

# 혈관활성 물질이 심근의 ATP-민감성 칼륨통로의 활성 조절에 미치는 영향

전남대학교 의과대학 약리과학교실,<sup>1</sup> 생리과학교실,<sup>2</sup> 순환기내과학교실<sup>3</sup>

김재하<sup>1</sup> · 주정민<sup>1</sup> · 박령화<sup>1</sup> · 김윤이<sup>1</sup> · 정한성<sup>2</sup> · 박형욱<sup>3</sup>

정대호<sup>3</sup> · 이상록<sup>3</sup> · 윤남식<sup>3</sup> · 김계훈<sup>3</sup> · 홍영준<sup>3</sup> · 김주한<sup>3</sup>

김 원<sup>3</sup> · 안영근<sup>3</sup> · 정명호<sup>3</sup> · 조정관<sup>3</sup> · 박종춘<sup>3</sup> · 강정채<sup>3</sup>

## Influence of Vasoactive Substances on the Regulation of Cardiac ATP-Sensitive Potassium Channel Activity

Jae-Ha Kim, MD<sup>1</sup>, Jeong-Min Ju, DVM<sup>1</sup>, Ling-Hua Piao, MD<sup>1</sup>, Yun-Yee Kim, MD<sup>1</sup>, Han-Seong Jeong, MD<sup>2</sup>, Hyung-Wook Park, MD<sup>3</sup>, Dae-Ho Jeong, MD<sup>3</sup>, Sang-Rok Lee, MD<sup>3</sup>, Nam-Sik Yoon, MD<sup>3</sup>, Kye-Hun Kim, MD<sup>3</sup>, Young-Joon Hong, MD<sup>3</sup>, Ju-Han Kim, MD<sup>3</sup>, Weon Kim, MD<sup>3</sup>, Young-Keun Ahn, MD<sup>3</sup>, Myung-Ho Jeong, MD<sup>3</sup>, Jeong-Gwan Cho, MD<sup>3</sup>, Jong-Chun Park, MD<sup>3</sup> and Jung-Chae Kang, MD<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Departments of Pharmacology, <sup>2</sup>Physiology and <sup>3</sup>Cardiovascular Medicine, Chonnam National University Medical School, Gwangju, Korea

### ABSTRACT

**Background and Objectives :** It has been known that various vasoactive agents are involved in the regulation of cardiac function through the modification of the K<sup>+</sup> channel activities, including the ATP-sensitive K<sup>+</sup> channel (K<sub>ATP</sub>). We examined the effects of several vasoactive agents on the cardiac K<sub>ATP</sub> currents in isolated cardiac myocytes. **Materials and Methods :** Ventricular myocytes were isolated from the hearts of ICR mice by enzymatic digestion. The channel currents were recorded by the excised inside-out and cell-attached patch clamp configurations. **Results :** In the excised inside-out patches, bradykinin (BRK; 1-10 μM) and prostaglandin I<sub>2</sub> (PGI; 10-50 μM) did not affect the channel activities, whereas the vasodilators increased the attenuated channel activities in the presence of 100 μM ATP. BRK and PGI in parallel shifted the dose-response curves of ATP (1-1,000 μM), and this inhibited the K<sub>ATP</sub> currents to the right. Endothelin (ET-1; 0.1-1 nM) and leukotriene D<sub>4</sub> (LTD; 3-10 μM) decreased the channel activities immediately after making the inside-out patches. However, the vasoconstrictors did not affect the attenuated channel activities by ATP. In the cell-attached patches, both BRK and PGI increased the channel activities and these effects were markedly attenuated by glibenclamide (50 μM). ET-1 and LTD did not affect the baseline channel activities in the cell-attached patches, but they markedly attenuated the dinitrophenol-induced activities. **Conclusion :** It was inferred that certain vasoactive substances are involved in the regulation of cardiac K<sub>ATP</sub> channel activities, and that bradykinin and PGI<sub>2</sub> enhance the channel activities, and ET-1 and LTD<sub>4</sub> inhibit the channel activities. (Korean Circulation J 2006;36:516-525)

**KEY WORDS :** ATP ; Potassium channels ; Vasoconstrictors ; Vasodilators.

논문접수일 : 2006년 2월 6일

수정논문접수일 : 2006년 5월 30일

심사완료일 : 2006년 6월 7일

교신저자 : 조정관, 501-757 광주광역시 동구 학동 8번지 전남대학교 의과대학 순환기내과학교실

전화 : (062) 220-6242 · 전송 : (062) 228-7174 · E-mail : chojg@unitel.co.kr

## 서론

$K^+$  통로는 심혈관계 세포의 막 전위와 흥분성을 조절하는 데 있어서 핵심적인 역할을 하는 이온통로로서, 이 통로의 닫힘과 열림에 따른 막전위의 탈분극과 과분극 현상은 심혈관계 평활근의 수축과 이완을 조절하는 중요한 기전이 되고 있다. 지금까지 십 수 종류의 서로 다른 특성을 갖는  $K^+$  통로들이 존재함이 밝혀져 있고 각각의  $K^+$  통로에는 다시 수개의 아형이 있음이 알려져 있다. 특성이 서로 다른 각각의  $K^+$  통로는 기능이 서로 다를 뿐만 아니라 조직이나 장기에 따라서 분포도 각각 다르다.

심혈관계 세포에 존재하는  $K^+$  통로 중 기능이 특징적인 것으로서 세포내 ATP 농도에 따라 활성이 조절되는 ATP-민감성  $K^+$  ( $K_{ATP}$ ) 통로가 있음이 널리 알려져 있다.<sup>1)</sup>  $K_{ATP}$  통로는 심근 세포에서 존재가 처음으로 확인된  $K^+$  통로로서 내향 정류성  $K^+$  통로 족(superfamily)과 유사한 구조를 가지고 있다. 이  $K_{ATP}$  통로는 활성이 세포내 대사산물인 ATP의 농도에 의해서 조절된다. 즉, 정상 대사상태의 세포에서는 닫혀 있다가 허혈 또는 대사 억제가 일어나고 있는 상태에서 세포내 ATP의 농도가 어느 한계점 이하로 감소하고 ATP/ADP 농도의 비가 낮아지면 활성이 증가한다. ATP의 감소뿐만 아니라 ADP 또는 GDP 같은 nucleotide diphosphate의 증가에 의해서도 통로의 활성이 증가한다. 활성이 증가된  $K_{ATP}$  통로를 통한  $K^+$  이온의 세포외로 배출(efflux)이 증가하게 되면 활동전위의 탈분극 후 재분극이 빨라져 활동전위의 고평부 기간(plateau phase)이 단축되고 칼슘의 세포내로 유입( $Ca^{2+}$  influx) 기간이 짧아지게 된다. 따라서 심근의 수축력이 약화되고 심근에서 에너지 소비가 감소하여 허혈 심근조직의 생존이 연장된다.  $K_{ATP}$  통로는 이와 같은 작용 방식에 의해서 심근 허혈과 같은 metabolic stress에 대하여 내인성으로 작동되는 대표적인 '심근 보호기전'으로 여겨지고 있다.<sup>2)</sup> 그러나 이러한 보호 작용과는 달리, 심근 허혈 시  $K_{ATP}$  통로의 활성이 증가하여  $K^+$  efflux가 촉진되면  $K^+$  이온의 세포외 축적이 일어나 세포막을 일정부분 탈분극화 시키면 활동전위 발현의 역치(threshold)가 낮아지고 결과적으로 허혈 심근에서 부정맥이 발생할 가능성이 높아지게 된다.<sup>3)</sup> 즉, 병태생리학적 측면에서 보면  $K_{ATP}$  통로 활성의 증가는 허혈 시 심혈관계 세포의 활동전위 기간 단축에 의한 심근 수축력 감소 및 혈관확장 등의 긍정적인 면과, 막전위의 탈분극에 의한 부정맥 발생의 부정적인 면이 동시에 존재하게 된다. 따라서 많은 연구자들이 이 이온통로의 활성도를 직접 또는 간접적으로 조절하는 내인성 및 외인성 물질에 관심을 갖게 되었고 이  $K_{ATP}$  통로의 기능과 활성 조절기전을 규명하기 위해 많은 연구가 이루어져 왔다.

$K_{ATP}$  통로는 심장뿐만 아니라 혈관 평활근에서도 발견되고 있다.<sup>4)</sup> 작용 방식은 심장에서의 경우와 마찬가지로 ATP에 의해서 억제되고 nucleotide diphosphates에 의해서는 활성

화된다. 저산소나 허혈에 의해서 나타나는 관상동맥 이완 현상에는  $K_{ATP}$  통로가 관여함이 알려져 있다.<sup>5)</sup> 현재까지 알려진  $K_{ATP}$  통로 활성 조절자는, 내인성인 것으로는 adenosine,<sup>6)</sup> CGRP, VIP, EDHF, 그리고 prostacyclin 등<sup>4)</sup>이다. 비교적 최근에 보고된 것으로는 산화질소(NO)를 비롯한 EDRF의 일부가  $K_{ATP}$  통로 활성 조절에 관여한다고 알려져 있다.<sup>7)</sup> 이밖에도 angiotensin II 또는 endothelin이  $K_{ATP}$  통로의 활성 조절에 관여한다는 간접적인 암시를 하는 보고가 있으나 아직은 확실하지 않은 것으로 보인다.<sup>8)</sup>

심장 또는 혈관 평활근의 수축 또는 이완에 관여하는 물질들은 매우 다양하다. 여기에는 외인성의 물질 뿐만 아니라 내인성으로 유리되어 작용하는 물질도 상당 수 있다. 심혈관계에서 평활근의 수축력을 조절하는 기전은 매우 다양한 것으로 추측되지만 한 가지 분명한 사실은 세포막  $K^+$  통로의 활성 정도와 심근의 수축력은 밀접한 상관관계를 가지고 있다는 것이다. 따라서 심근이나 혈관 평활근의 긴장도에 영향을 미치는 물질들의  $K^+$  통로 활성조절 관여 여부는 심혈관계의 혈류역학을 연구하는 분야에서 관심의 대상이다. 특히 심혈관계질환의 많은 부분을 차지하고 있는 허혈성 질환의 경우, 평활근 긴장도의 조절능력은 향후 심혈관계 기능의 보존에 지대한 영향을 미칠 것으로 생각된다.

심혈관계 평활근의 긴장도에 영향을 미치며 동시에  $K^+$  통로, 특히 심근의 허혈현상과 깊은 관련이 있는  $K_{ATP}$  통로의 활성조절에 있어서 무엇인가의 역할을 하고 있을 가능성이 있는 후보물질들은 매우 다양하다. 이들 중 일부는  $K_{ATP}$  통로 활성조절에 관여하는 작용기전이 밝혀진 것도 있으나 대부분은 아직 그 관련 여부가 분명하지 않으며, 관련이 밝혀진 것이 있더라도 간접적인 증거에 의한 것이 대부분이다.<sup>9)10)</sup>

본 연구는 이와 같이 다양한 종류의 혈관계 평활근의 긴장도에 영향을 미치는 혈관활성물질들이, 허혈 시 심근 보호 작용과 부정맥 발생에 관여하는  $K_{ATP}$  통로의 활성에 어떤 영향을 미치는지를 통로 활성의 증감을 측정 할 수 있는 전기생리학적인 방법으로 검토하였다.

## 재료 및 방법

### 단일 심실근 세포의 분리

본 연구의 patch clamp 실험에 사용된 심실근 세포는 박 등<sup>9)</sup>의 방법에 의한 체중 25 g 내외의 ICR계 생쥐의 심장으로 부터 분리하였다. 생쥐를 경추 탈구법으로 실신시킨 후 흉강을 열고 심장을 적출하였다. 적출한 심장을 100% 산소로 포화시킨 4℃의 Tyrode 용액(조성: 137 mM NaCl, 5.4 mM KCl, 1 mM  $MgCl_2$ , 1 mM  $CaCl_2$ , 0.33 mM  $NaH_2PO_4$ , 10 mM HEPES, 10 mM dextrose, pH는 NaOH로 7.4로 적정) 내에서 미세가위를 이용하여 주변 연결조직과 지방조직을 제거하고 대동맥에 도관을 삽입한 후 결찰하였다. 대동맥에 삽

입된 catheter를 Langendorff 장치에 연결하고 37°C의 Tyrode 용액을 1.5 mL/min의 속도로 5분간 관류시켰다. 이어 심장박동이 멈출 때까지  $\text{Ca}^{2+}$ -free Tyrode 용액으로 관류시키고 심장이 완전히 이완되면 0.6 mg/mL의 collagenase (type CLS2, Worthington Biochemical Co.)와 0.15 mg/mL의 protease(type XIV, Sigma Chemical Co.)를 함유한  $\text{Ca}^{2+}$ -free Tyrode 용액으로 25분간 관류시킨 다음, 마지막으로 high  $\text{K}^+$ , low  $\text{Cl}^-$  용액(조성: 20 mM taurine, 70 mM glutamic acid, 25 mM KCl, 10 mM  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 3 mM  $\text{MgCl}_2$ , 0.5 mM EGTA, 10 mM HEPES, 10 mM dextrose, KOH로 pH를 7.35로 적정)을 5분간 관류시켜 심장 내에 남아있는 효소를 제거시켰다. 소화된 심장에서부터 심실을 떼어내어 high  $\text{K}^+$ , low  $\text{Cl}^-$  용액에 넣고 작은 절편으로 자른 다음 pipette으로 가볍게 기계적 자극을 주어 단일 심실근세포로 분리하였다. 분리된 세포들은 high  $\text{K}^+$ , low  $\text{Cl}^-$  용액에 보관한 후 도립현미경(400×, MicroStar, American Optical Co.) 상에서 막대기 모양의 가로 무늬가 분명하며 윤곽이 뚜렷한 세포들만 골라 실험에 사용하였다.

#### 미세전극의 제작

Patch clamp 실험용 미세전극은, 내경 1.5 mm의 borosilicate 유리관(#7052, World Precision Instruments Co.)을 2-stage 미세전극제작기(PP-83, Narishige)를 이용하여 저항이 4~5 MΩ 정도 되게 뽑은 후, 광학현미경(SMZ-2B, Nikon) 하에서 미세전극의 말단근처 부위까지 Sylgard(Corning Co.)로 도포 후 건조시켰다. 미세전극의 말단을 다시 Microforge(MF-83, Narishige) 하에서 열을 가하여 다음은 후 저항이 5~10 MΩ 정도 되게 하여 실험에 사용하였다.

#### 단일통로 전류 측정 및 분석

단일통로 전류의 측정은 gigaohm-seal patch clamp 방법 중 excised inside-out 및 cell-attached patch clamp 방법<sup>10)</sup>을 사용하였다.

측정된 전기적인 신호는 patch clamp 증폭기(Axonpatch 200 A, Axon Instruments Inc.)를 통하여(cut-off frequency는 2 kHz) PCM 방식의 디지털 신호기록기(VR-10B, Instrutech Co.)를 거쳐 비디오레코더(SV-14D, Samsung)에 기록하였다. 단일통로 전류의 분석은 비디오테이프에 기록된 신호를 재생하여 A/D converter(Digidata 1200, Axon Instruments Inc.)를 통해 컴퓨터에 저장한 후 pClamp 프로그램(Ver 9.2, Axon Instruments Inc.)으로 분석하였다. 단일통로의 열리고 닫히는 상태의 변화는 half-maximum single-unit amplitude threshold 방법을 이용하여 측정하였는데, open time과 closed time은 30초 이상의 연속된 단일통로 전류 기록들을 500 Hz의 cut-off frequency로 filtering한 후 계산하였고, least-squares 분석방법의 지수 합

수적 확률 밀도 수식에 맞추어 fitting하였다. Open probability( $P_{(o)}$ )는 다음과 같은 식을 이용하여 계산하였다.

$$P_{(o)} = \left( \sum_{j=1}^n t_j \right) / (T_d n)$$

이 식에서  $t_j$ 는  $j=1, 2, \dots, n$ 개의 통로가 열릴 때 각각의 전류단계에서의 통로가 열려있는 시간,  $T_d$ 는 단일통로 전류를 기록한 시간,  $n$ 은 control 상태에서 최대로 활성화되는 통로의 수를 가리킨다.  $P_{(o)}$ 는 30초 이상의 연속된 단일통로 기록들을 사용하여 계산하였고, relative  $P_{(o)}$ 는 약물투여 전의  $P_{(o)}$ 와 투여후의  $P_{(o)}$ 의 차이를 약물투여전의  $P_{(o)}$ 에 대한 백분율로 표시하거나 excised inside-out patch 시행 직후의  $P_{(o)}$  또는 cell-attached patch에서 DNP에 의해서 최대로 활성화된 통로활성의  $P_{(o)}$ 를 1.0으로 하고 약물투여후의  $P_{(o)}$ 를 상대적으로 비교하여 표시하였다.

#### 실험 용액 및 약물

단일 통로전류 측정을 위한 용액은 internal, pipette 및 bath 용액으로서 각각 K-5 용액(조성: 140 mM KCl, 2 mM  $\text{MgCl}_2$ , 5 mM EGTA 및 10 mM HEPES, pH는 HCl로 7.2로 적정)을 사용하였다.

혈관활성물질로는 bradykinin, prostaglandin  $\text{I}_2$ , endothelin-1, leukotriene  $\text{D}_4$ 를 사용하였으며,  $\text{K}_{\text{ATP}}$  통로차단제는 glibenclamide, 대사억제제는 2, 4-dinitrophenol(DNP)을 사용하였고 그 밖에 adenosine triphosphate와 실험용액 조성에 필요한 시약을 사용하였다. 모든 시약은 Sigma Chemical Co.(St. Louis, USA)로부터 구입하였으며 glibenclamide는 dimethyl sulfoxide에 용해하여 실험 직전에 초음파 파쇄(sonication)하여 사용하였고 그 이외의 약물들은 증류수에 고농도의 원액을 만들고 실험 용액으로 희석하여 사용하였다.

#### 실험 결과의 검증

모든 실험 결과는  $\text{mean} \pm \text{SEM}$ 으로 표시하였다. 실험 성적의 비교와 유의성 검증에는 Student's  $t$ -test를 이용하였으며  $p < 0.05$ 일 경우를 두 실험군 간에 유의한 차이가 있는 것으로 해석하였다.

## 결 과

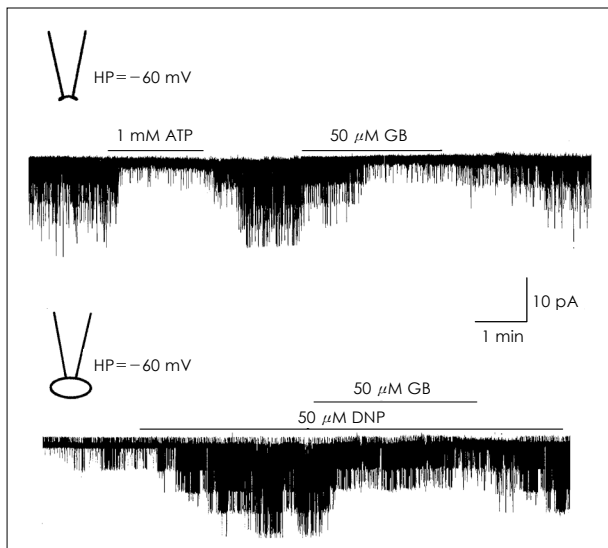
#### ATP-민감성 $\text{K}^+$ ( $\text{K}_{\text{ATP}}$ ) 통로 활성의 확인

Excised inside-out patch: ATP-free K-5 용액 관류 하에서 excised inside-out patch를 만들고 -60 mV의 유지전위(holding potential)를 가하면 내향성의 통로 활성이 나타났다. 이때 관류액에 1 mM의 ATP를 첨가하면 통로 활성이 점차 약화되어 1분경에는 없어졌고, 관류액을 ATP가 없

는 원래의 K-5 실험용액으로 교체하면 통로 활성이 다시 나타났다. 세포내액을 K<sub>ATP</sub> 통로 억제제인 glibenclamide (50  $\mu$ M)를 첨가한 실험용액으로 교체하면 통로 활성이 점차 약화되었다. Cell-attached patch: ATP-free K-5 용액 관류 하에서 cell-attached patch를 만들고 -60 mV의 유지전위를 가하면 미약한 내향성의 통로 활성이 나타났다 (Fig. 1). 이때 관류액에 대사억제제인 DNP(50  $\mu$ M)를 첨가하면 통로 활성이 점차 증가되고, 관류액을 다시 K<sub>ATP</sub> 통로 억제제인 glibenclamide(50  $\mu$ M)를 첨가한 실험용액으로 교체하면 통로 활성이 약화되었다(Fig. 1). 이와 같은 양상의 통로활성 특성은 본 연구의 excised inside-out 및 cell-attached patch에서의 내향성 통로 활성이 ATP-민감성 (K<sub>ATP</sub>) 통로 활성임을 말해주고 있다.

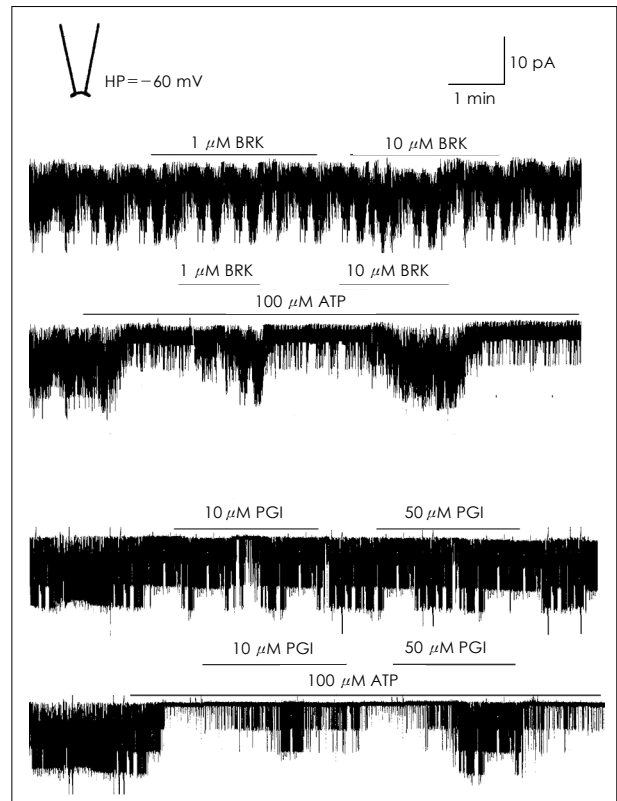
#### Excised inside-out patch에서 bradykinin과 prostaglandin I<sub>2</sub>가 K<sub>ATP</sub> 통로 활성에 미치는 효과

Bradykinin(BRK; 1 및 10  $\mu$ M)은 ATP-free K-5 용액 관류 하에서 excised inside-out patch 시행 후 나타나는 내향성의 통로 활성에 영향을 미치지 않았다. 그러나 관류액에 ATP 100  $\mu$ M을 투여하여 통로 활성을 약화시킨 상태에서 관류액에 첨가한 BRK 1 및 10  $\mu$ M은 각각 내향성의 통로 활성을 증가시켰고, 증가의 정도는 첨가한 BRK의 용량이 많을수록 컸다. Prostaglandin I<sub>2</sub>(PGI; 10 및 50  $\mu$ M)도 excised inside-out patch 시행 후 나타나는 내향성 통로 활성에는 거의 영향을 미치지 않았고 100  $\mu$ M의 ATP를 투여

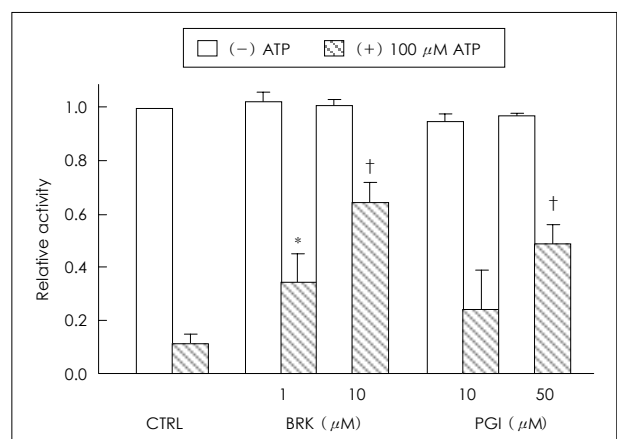


**Fig. 1.** Trace showing typical K<sub>ATP</sub> channel activities in the excised inside-out (IO; top) and the cell-attached (CA; bottom) patches of isolated mouse ventricular myocytes at -60 mV holding potential (HP). Channel activities appeared immediately after making IO and 1 mM ATP attenuated the channel activity almost completely. Channel activities revived when the ATP was washed out, and glibenclamide (GB) attenuated the channel activities again. Dinitrophenol (DNP) a metabolic inhibitor, induced channel activities in the CA, and the DNP-induced channel activities were attenuated by GB. ATP: adenosine triphosphate, K<sub>ATP</sub>: ATP-sensitive K<sup>+</sup> channel.

하여 통로 활성을 약화시킨 상태에서 관류액에 첨가한 PGI 10 및 50  $\mu$ M은 각각 용량에 비례하여 내향성의 통로 활성을 증가시켰다(Fig. 2, 3).



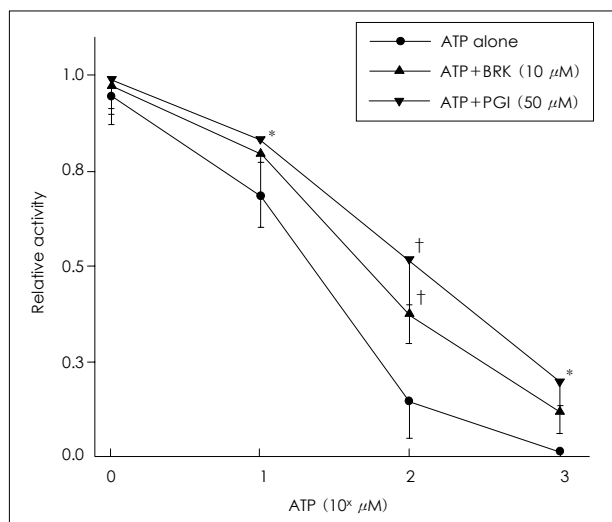
**Fig. 2.** Effects of bradykinin (BRK; upper 2 traces) and prostaglandin I<sub>2</sub> (PGI; lower 2 traces) on the K<sub>ATP</sub> channel activities in the excised inside-out patches. Both BRK and PGI did not affect the channel activities, but the channel activities, which were attenuated in the presence of 100  $\mu$ M ATP, were increased by BRK and PGI. HP: holding potential, ATP: adenosine triphosphate, K<sub>ATP</sub>: ATP-sensitive K<sup>+</sup> channel.



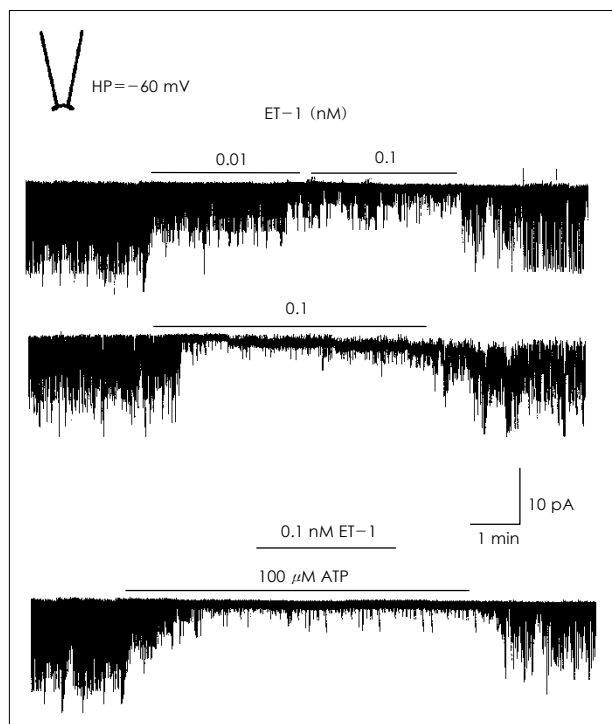
**Fig. 3.** Effects of bradykinin (BRK) and prostaglandin I<sub>2</sub> (PGI) on the K<sub>ATP</sub> channel activities in the excised inside-out patches. Relative channel activity 1.0 represents the channel activities for 30 sec immediately after making inside-out patch. Each column and vertical bar represent mean  $\pm$  SEM of 4-5 experiments. \*, †: denote significant differences at  $p < 0.05$  and  $p < 0.01$  respectively, compared with the 100  $\mu$ M ATP control (CTRL) group. SEM: standard error of mean, ATP: adenosine triphosphate, K<sub>ATP</sub>: ATP-sensitive K<sup>+</sup> channel.

# BRK 및 PGI의 K<sub>ATP</sub> 통로 활성 증가 효과와 관류액 ATP 용량과의 상관관계

BRK와 PGI에 의한 통로 활성 증가 효과와 세포내 측 관

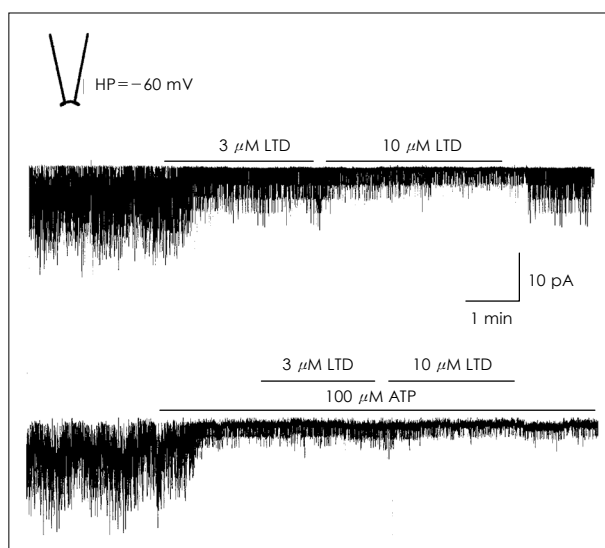


**Fig. 4.** Dose-response curves of ATP for inhibition of the K<sub>ATP</sub> channel activities in the excised inside-out patches. Bradykinin (BRK) and prostaglandin I<sub>2</sub> (PGI) shifted parallel the control dose-response curve (ATP alone) to the right. Each point represents mean  $\pm$  SEM of 4-5 experiments. \*, †: denote significant differences at  $p < 0.05$  and  $p < 0.01$  respectively, compared with the control. SEM: standard error of mean, ATP: adenosine triphosphate, K<sub>ATP</sub>: ATP-sensitive K<sup>+</sup> channel.

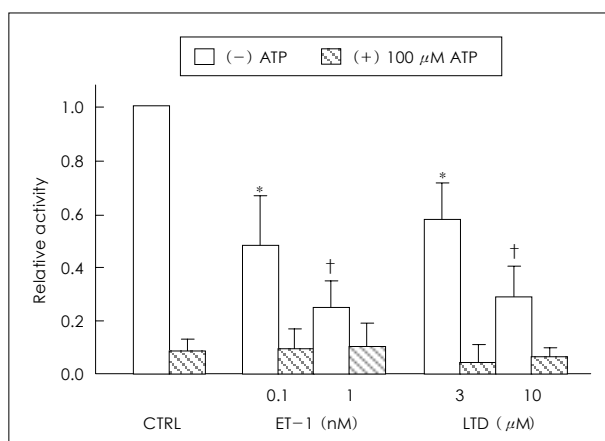


**Fig. 5.** Effects of endothelin-1 (ET-1) on the K<sub>ATP</sub> channel activities in the excised inside-out patches. ET-1 attenuated the channel activity in a dose-dependent manner (upper 2 traces). ET-1 did not affect the channel activity in the presence of 100  $\mu$ M ATP (bottom trace). HP: holding potential, ATP: adenosine triphosphate, K<sub>ATP</sub>: ATP-sensitive K<sup>+</sup> channel.

류액의 ATP 용량과의 상관관계를 알아보기 위하여 여러 용량(1~1,000  $\mu$ M)의 ATP를 각각 관류액에 첨가하고 이때 나타나는 BRK(10  $\mu$ M) 및 PGI(50  $\mu$ M)의 통로 활성 증가 효과를 각 용량의 ATP만을 투여했을 시의 통로 활성의 정도와 비교하였다. BRK 및 PGI에 의한 내향성의 통로 활성은 ATP만을 투여했을 시의 통로 활성에 비해서 증가하였고, 특히 ATP 100  $\mu$ M 투여 시에 그 증가 효과가 현저하였다. 즉, ATP만을 투여하였을 시의 용량-반응곡선은 BRK 및 PGI 첨가 투여 후 오른쪽으로 평행이동 하였으며 그 이동의 정도는 ATP 100  $\mu$ M 투여 시 가장 컸다(Fig. 4).



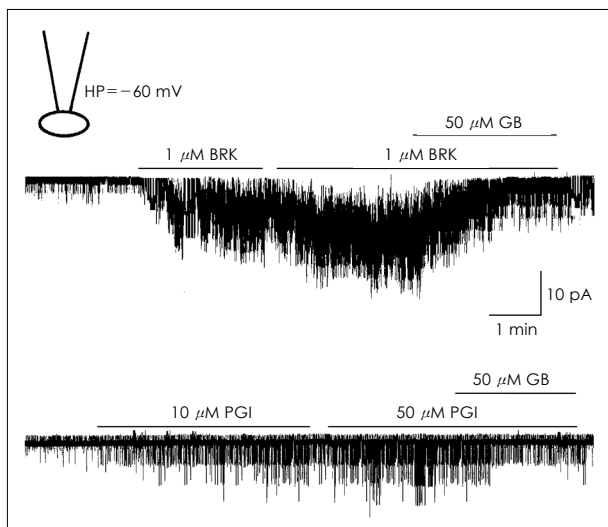
**Fig. 6.** Effects of leukotriene D<sub>4</sub> (LTD) on the K<sub>ATP</sub> channel activities in the excised inside-out patches. LTD decreased the channel activities in a dose dependent manner (upper trace), but the channel activities were not changed in the presence of 100  $\mu$ M ATP (lower trace). HP: holding potential, ATP: adenosine triphosphate, K<sub>ATP</sub>: ATP-sensitive K<sup>+</sup> channel.



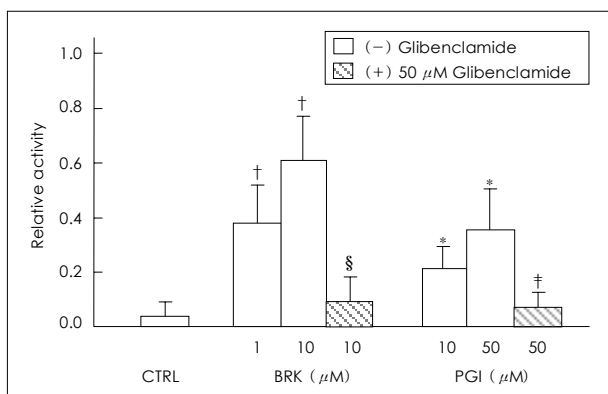
**Fig. 7.** Effects of endothelin-1 (ET-1) and leukotriene D<sub>4</sub> (LTD) on the K<sub>ATP</sub> channel activities in the excised inside-out patches. Relative channel activity 1.0 represents the channel activities for 30 sec immediately after making inside-out patch. Each column and vertical bar represent mean  $\pm$  SEM of 4-5 experiments. \*, †: denote significant differences at  $p < 0.05$  and  $p < 0.01$  respectively, compared with the ATP-free control (CTRL) group. SEM: standard error of mean, ATP: adenosine triphosphate, K<sub>ATP</sub>: ATP-sensitive K<sup>+</sup> channel.

### Excised inside-out patch에서 endothelin-1과 leukotriene D<sub>4</sub>가 K<sub>ATP</sub> 통로 활성에 미치는 효과

Endothelin-1(ET-1; 0.1 및 1.0 nM)은 ATP-free K-5 용액 관류 하에서 excised inside-out patch 시행 후 -60 mV의 유지전위 하에서 나타나는 내향성의 통로 활성을 감소시켰고 그 감소의 정도는 투여한 ET-1의 용량이 많을수록 더 컸다. ATP가 없는 실험용액 관류 하에서 excised inside-out patch를 시행한 직후에는 K<sub>ATP</sub> 통로의 활성이 최대로 나타나게 된다. 따라서 통로 활성을 증가시킬 수 있는 약물의 경우 그 효과가 은폐되어 나타나지 않을 수 있다. ET-1이 K<sub>ATP</sub> 통로의 활성을 증가시킬 수 있는 가능성을 알아보고자 세포내측에 ATP 100  $\mu$ M을 관류시켜 통로 활성을



**Fig. 8.** Effects of bradykinin (BRK) and prostaglandin I<sub>2</sub> (PGI) on the K<sub>ATP</sub> channel activities in the cell-attached patches. BRK (upper trace) and PGI (lower trace) increased the channel activities dose-dependently, and the increased channel activities were significantly attenuated by 50  $\mu$ M glibenclamide (GB). HP: holding potential, ATP: adenosine triphosphate, K<sub>ATP</sub>: ATP-sensitive K<sup>+</sup> channel.

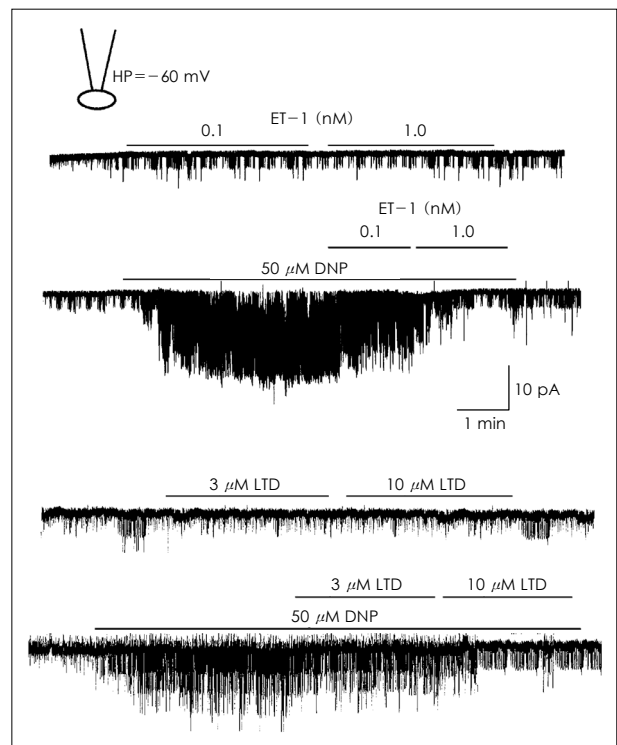


**Fig. 9.** Effects of bradykinin (BRK) and prostaglandin I<sub>2</sub> (PGI) on the K<sub>ATP</sub> channel activities in the cell-attached patches. Relative channel activity 1.0 represents the channel activities for 30 sec immediately after making inside-out patch. Each column and vertical bar represent mean  $\pm$  SEM of 4-5 experiments. \*, †: denote significant differences compared with the control (CTRL) group at  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$ , §, ‡: compared with the 50  $\mu$ M glibenclamide (GB) group at  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$  respectively. SEM: standard error of mean, ATP: adenosine triphosphate, K<sub>ATP</sub>: ATP-sensitive K<sup>+</sup> channel.

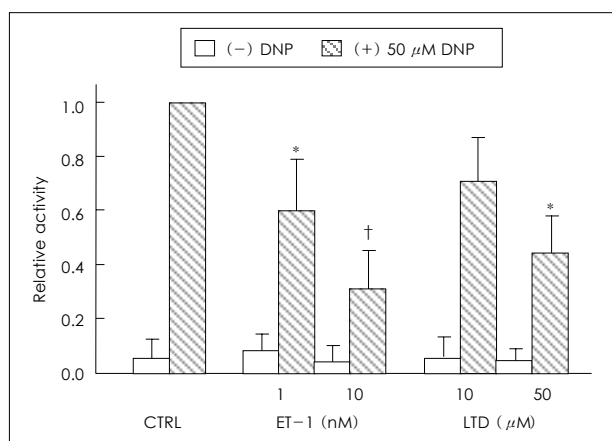
억제시킨 다음 여기에 ET-1(0.1 및 1.0 nM)을 관류시켰으나 통로의 활성은 증가하지 않았다(Fig. 5, 7). Leukotriene D<sub>4</sub>(LTD; 3 및 10  $\mu$ M)는 ATP-free K-5 용액 관류 하에서 excised inside-out patch 시행 후 나타나는 내향성의 통로 활성을 감소시켰고 그 감소의 정도는 투여한 LTD의 용량이 많을수록 더 컸다. 그러나 세포내측에 ATP 100  $\mu$ M을 관류시켜 통로 활성을 억제시킨 상태에서 LTD(3 및 10  $\mu$ M)는 통로 활성에 영향을 미치지 않았다(Fig. 6, 7).

### Cell-attached patch에서 bradykinin과 prostaglandin I<sub>2</sub>가 K<sub>ATP</sub> 통로 활성에 미치는 효과

ATP-free K-5 용액을 관류시키면서 cell-attached patch를 시행 후 투여한 BRK 1 및 10  $\mu$ M은 내향성의 통로 활성을 증가시켰고 그 증가의 정도는 투여한 BRK의 용량이 많을수록 더 컸다. BRK 10  $\mu$ M에 의한 내향성 전류의 통로 활성 증가효과는 glibenclamide에 의해서 현저히 약화되었다. PGI 10 및 50  $\mu$ M도, BRK의 경우와 마찬가지로, cell-attached patch에서 내향성의 통로 활성을 증가시켰으나 그 증가의 정도는 ATP 100  $\mu$ M 투여하의 excised inside-out patch 실험에서와 같은 용량의 PGI에 의한 증가 정도보다 현저히 더 작았다. 또한 PGI 50  $\mu$ M에 의한 내향성의 통로 활성 증가 효과는 glibenclamide에 의해서 일부 약화되었다(Fig. 8, 9).



**Fig. 10.** Effects of endothelin-1 (ET-1) and leukotriene D<sub>4</sub> (LTD) on the K<sub>ATP</sub> channel activities in the cell-attached patches. ET-1 (1st trace) and LTD (3rd trace) did not affect the channel activities at all, but the dinitrophenol (DNP)-induced channel activities were attenuated by ET-1 (2nd trace) and LTD (4th trace). HP: holding potential, ATP: adenosine triphosphate, K<sub>ATP</sub>: ATP-sensitive K<sup>+</sup> channel.



**Fig. 11.** Effects of endothelin-1 (ET-1) and leukotriene D<sub>4</sub> (LTD) on the K<sub>ATP</sub> channel activities in the cell-attached patches. Relative channel activity 1.0 represents the channel activities for 30 sec of the maximum dinitrophenol (DNP)-induced channel activities. Each column and vertical bar represent mean  $\pm$  SEM of 4-5 experiments. \*, †: denote significant differences, compared with the DNP control (CTRL) group, at  $p < 0.05$  and  $p < 0.01$  respectively. SEM: standard error of mean, ATP: adenosine triphosphate, K<sub>ATP</sub>: ATP-sensitive K<sup>+</sup> channel.

#### Cell-attached patch에서 endothelin-1과 leukotriene D<sub>4</sub>가 K<sub>ATP</sub> 통로 활성에 미치는 효과

ET-1 0.1 및 1.0 nM은, BRK 또는 PGI의 경우와는 달리, cell-attached patch 시행 후 통로 활성에 영향을 미치지 않았다. 그러나 관류액에 대사억제제인 dinitrophenol (DNP; 50  $\mu$ M)을 첨가하여 유도된 내향성의 K<sub>ATP</sub> 통로의 활성을 감소시켰고 그 감소의 정도는 ET-1의 용량이 많을수록 더 컸다. LTD 3 및 10  $\mu$ M은, ET-1의 경우와 마찬가지로, cell-attached patch 시행 후 통로 활성에 영향을 미치지 못하였으나, 대사억제제인 DNP(50  $\mu$ M)에 의해 유도된 K<sub>ATP</sub> 통로 활성을 감소시켰고 그 감소의 정도는 LTD의 용량이 많을수록 더 컸다(Fig. 10, 11).

## 고 찰

본 연구의 결과는 혈관 평활근의 긴장도에 영향을 미치는 물질들이 그 양상은 다르지만 심근의 ATP-민감성 K<sup>+</sup> 통로의 활성 조절에 관여하고 있음을 보여주고 있다.

심근 또는 혈관 평활근의 수축력에 영향을 미치며 동시에 K<sup>+</sup> 통로, 특히 심근허혈 현상과 관련이 있는 ATP-민감성 K<sup>+</sup> 통로의 활성 조절에 영향을 미칠 수 있는 물질은 다양하다. 본 연구에서는 심혈관계의 평활근의 긴장도에 뚜렷한 영향을 미치는 bradykinin(BRK), prostaglandin I<sub>2</sub>(PGI), endothelin-1(ET-1) 그리고 leukotriene D<sub>4</sub>(LTD)를 선택하여 심근세포막의 ATP-민감성 K<sup>+</sup>(K<sub>ATP</sub>) 통로의 활성에 미치는 효과를 전기생리학적 방법으로 검토하고 허혈 심근에서 이들 물질이 어떠한 역할을 할 수 있을 것인지를 규명하고자 하였다.

본 연구에서 실험대상으로 했던 통로의 활성은, ATP-free

용액 관류 하에서 excised inside-out patch 시행 직후, 즉, 세포내측에 ATP가 거의 없는 상태에서, 최대로 나타났고 세포내측에 ATP를 첨가하여 관류하면 그 활성이 약화되고 ATP를 제거하면 다시 활성이 나타나며 K<sub>ATP</sub> 통로차단제인 glibenclamide에 의해서 활성이 억제되는 점, 그리고 마찬가지로 cell-attached patch를 만들고 대사억제제인 dinitrophenol을 첨가하여 관류시키면 통로의 활성이 나타나고 이 통로의 활성이 glibenclamide에 의해서 억제되는 점 등으로 미루어 ATP-민감성 K<sup>+</sup> 통로 활성임을 알 수 있었다. 전류-전압 상관관계 곡선으로부터 얻은 통로의 전도도 (conductance)가 약 65 pS로서 다른 연구자들이 밝힌 심실근 세포에서의 단일통로 전도도 보다는 낮은 수준이었지만<sup>11)</sup> 이는 실험 조건이나 실험동물 종의 차이 때문인 것으로 추측된다.

Bradykinin(BRK)과 Prostaglandin I<sub>2</sub>(PGI)는 대표적인 혈관이완물질로서 K<sup>+</sup> 통로의 활성을 증가시킬 것이 예상되는 물질이다. BRK는 지금까지 알려져 있는 혈관이완 물질로는 가장 강력한 것 중의 하나이며, 그 혈관이완 효과는 bradykinin이 혈관내피세포를 자극하여 산화질소(NO), prostanoide들 그리고 내피세포유래 이완물질(EDRF) 같은 이완인자들을 유리시켜 나타난다고 알려져 있다.<sup>12)</sup> 서론에서 언급한 것처럼, 일부의 이완인자들이 K<sub>ATP</sub> 통로의 활성 조절에 관여하므로 bradykinin이 간접적으로 K<sub>ATP</sub> 통로의 활성 조절에 관여한다고 할 수 있으나 직접적인 작용의 근거는 아니다. 또한 Honing 등<sup>13)</sup>은 칼슘에 의해서 활성화되는 K<sup>+</sup> 통로인 K<sub>Ca</sub> 통로의 활성이 tetraethylammonium에 의해서 억제되면 혈관이완 효과가 현저히 감소하는 것으로 보아 bradykinin에 의한 혈관이완 효과에는 K<sup>+</sup> 통로의 활성 증가가 관련이 되어있음을 지적하고 있다. Prostaglandin I<sub>2</sub> (PGI)는 맨 처음 발견된 내피세포유래 혈관 이완인자로서<sup>14)</sup> shear stress나 thrombin, acetylcholine과 같은 물질에 의해서 내피세포에서 생성되어서 유리된다고 알려져 있다.<sup>15)</sup> Bouchard 등<sup>16)</sup>은 Langendorff 심장에서 prostaglandin E<sub>2</sub>, I<sub>2</sub>, D<sub>2</sub>가 K<sub>ATP</sub> 통로를 활성화시킨다는 보고하였고, 또한 Jackson 등<sup>17)</sup>은 토끼 심장에서도 prostaglandin I<sub>2</sub>가 혈관이완을 일으키는데 이 효과가 차단제인 glibenclamide에 의해서 부분적으로 억제됨을 보고한 바 있다. 이런 연구 결과들은 prostaglandin이 K<sub>ATP</sub> 통로 활성 조절에 관여함을 암시하는 내용들이다. 본 연구의 결과에서도 정도의 차이는 있었지만 PGI<sub>2</sub>가 excised inside-out 및 cell-attached patch에서의 K<sub>ATP</sub> 통로의 활성을 증가시켰다. BRK(1~10  $\mu$ M)와 PGI(10~50  $\mu$ M)는 excised inside-out patch 시행 직후 나타나는 K<sub>ATP</sub> 통로 활성에는 거의 영향을 미치지 않았다. 본 연구의 실험 조건에서는 excised inside-out patch 시행 직후 세포내측에는 ATP가 거의 존재하지 않는다. 따라서 K<sub>ATP</sub> 통로는 최대의 활성을 보일 것이며 BRK와 PGI가 이 통로의 활성을 증가시킬 수 있다 해도 더 이상의 통로 활성 증가는 볼

수가 없을 것이다. BRK와 PGI는, excised inside-out patch를 만든 후 세포내측에 ATP를 투여하여  $K_{ATP}$  통로의 활성을 억제시킨 상태에서는 서서히 통로 활성을 증가시켰고 이 증가 효과는 BRK와 PGI를 제거하면 나타나지 않았다. 즉, 본 연구의 BRK와 PGI는  $K_{ATP}$  통로의 활성이 억제된 상태에서 이 통로의 활성을 증가시킬 수 있다. 실제의 생체 세포에서, 비록 허혈상태와 같은 대사 억제가 일어나고 있는 세포 일지라도, 세포내의 ATP의 농도가 0이 될 경우는 없을 것이며 따라서  $K_{ATP}$  통로 활성이 최대로 나타날 리도 없을 것이다. 이런 상태에서 BRK 또는 PGI가  $K_{ATP}$  통로 활성을 증가시킬 수 있는 여지는 이론상으로 충분하다. 세포 내측 액에 각 용량의 ATP만을 투여했을 시의 통로 활성의 정도와 여기에 BRK 또는 PGI를 첨가한 경우의 통로 활성 정도를 각각 비교해서 ATP 용량에 대한 용량-반응곡선을 그려보면 이 두 물질을 첨가 투여했을 시의 용량-반응곡선이 정도의 차이는 있지만 모두 오른쪽으로 이동하는 것을 볼 수 있다. 이는 BRK 또는 PGI가  $K_{ATP}$  통로 활성을 증가시키며 이 효과는 세포 내에 일부의 ATP가 존재하는 경우에만 나타남을 입증하는 실험결과이다. BRK 또는 PGI에 의한  $K_{ATP}$  통로 활성 증가효과가 세포내측에 100  $\mu$ M의 ATP를 투여하여 통로 활성을 억제시킨 상황에서 다른 농도의 ATP를 투여한 경우와 비교하여 가장 현저하게 나타난 점은, 본 연구 결과만으로는 해석하기는 곤란하나, 100  $\mu$ M 이하의 ATP 농도에서는  $K_{ATP}$  통로 활성이 불완전하게 억제되고 따라서 통로 활성이 증가할 수 있는 범위가 한정될 것이며 100  $\mu$ M 이상에서는 ATP에 의한 통로 활성 억제가 강력하게 나타나서 통로의 활성이 증가할 수 없었기 때문이 아닌가 추측된다. 이는 통로의 ATP와의 친화도가 ATP의 농도에 따라 다름을 말해 주고 있으며 BRK 또는 PGI 같은 혈관이완 물질은 허혈의 초기에 세포내 ATP가 지나치게 감소하지 않은 상태에서  $K_{ATP}$  통로 활성의 증가 효과가 가장 크게 나타나 허혈 심근의 과도한 수축을 억제하고 심근을 보호하는 역할을 할 수 있을 것으로 기대가 된다.

Cell-attached patch의 bath액에 첨가하여 투여한 BRK와 PGI는 excised inside-out patch의 경우와는 달리 통로 활성을 증가시키지 않았다. Cell-attached patch에서는 세포내 ATP 수준이 거의 정상일 것이므로  $K_{ATP}$  통로 활성은 나타나지 않는다.  $K_{ATP}$  통로 활성은 bath 관류액에 대사의 억제제인 dinitrophenol(DNP)<sup>18)</sup>을 투여하여 유도할 수가 있다. BRK와 PGI는 이렇게 DNP에 의해서 유도된  $K_{ATP}$  통로 활성을 각각 증가시켰으나 그 증가의 정도는 BRK의 경우에는 excised inside-out patch 실험에서의 그 것과 비슷하였으나 PGI의 경우는 현저히 작았다. 이러한 실험 결과는 같은 혈관 이완 특성을 갖는 물질의  $K_{ATP}$  통로 활성 조절 방식이 서로 같지 않음을 가리키며, PGI의 통로 활성 증가 효과가 세포막의 외부보다는 내부의 어떤 부분에 작용하여 나타난 결과가 더 우세함을 의미한다. PGI의  $K_{ATP}$  통로 활성 증가

효과가 통로단백에 직접 작용하여 나타난 것인지 아니면 이차전령과 같은 다른 신호전달 체계를 통하여 나타난 것인지는 본 연구의 결과만으로는 알 수가 없다. Ordway 등<sup>19)</sup>은 PGI의 전구물질인 arachidonic acid가  $K^+$  통로에 직접 작용할 가능성을 시사 하는 연구결과를 발표한 바 있고, 김과 Clapham<sup>20)</sup>은 arachidonic acid의 대사산물인 prostaglandin이 통로주변의 지질조성을 변화시킨으로서  $K^+$  통로 활성을 변화시킨다는 보고를 한바 있다. 이 밖에도 많은 연구자들이 prostaglandin에 의해서 cAMP,  $IP_3$  그리고 diacylglycerol 같은 이차전령 물질의 세포내 농도가 바뀔 때 따라서 간접적으로 통로 활성이 조절된다고 보고한 바 있다.<sup>21)</sup>

Endothelin-1(ET-1)과 Leukotriene  $D_4$ (LTD)는, BRK 및 PGI와는 반대로 혈관 수축을 일으키는 대표적인 물질로서  $K^+$  통로의 활성을 감소시킬 것으로 예상되는 물질이다. Endothelin은 내인성의 강력한 혈관수축 물질로서 몇 가지의 아형(ET-1, 2, 3)이 있으며,<sup>22)</sup> 몇몇 연구에 의하면, ET-1은 혈관수축성 협심증<sup>23)</sup> 또는 심근경색<sup>24)</sup>과 같은 허혈성 심혈관질환 시 혈중 농도가 증가하는 것으로 알려져 있다. ET-1 수용체 길항제나 endothelin 전환효소 억제제를 투여하면 심근 허혈 후 재관류 시 나타나는 경색 부위의 크기가 감소한다<sup>25)</sup>고 알려져 있기도 하다. 이와 같은 점들로 미루어 endothelin이 심근의  $K_{ATP}$  통로의 활성 조절에 영향을 미칠 것으로 보이지만 그 정확한 역할에 대해서는 알려져 있지 않았다. Leukotriene은 arachidonic acid의 lipoxygenase 대사산물로서 심장과 혈관에서 강력한 효과를 나타내는 생물학적인 활성을 갖는 지방(lipid) 성분의 물질이다. 다양한 아형이 존재하며 심혈관계의 효과는 주로 leukotriene  $C_4$ (LTC<sub>4</sub>)와 leukotriene  $D_4$ (LTD<sub>4</sub>)에 의해서 일어나며 shock 상태에서 발생하는 증상과 비슷한 동맥 수축 현상이 일어난다.<sup>26)</sup> 이들 물질이 허혈 후에 나타나는 재관류 손상에 관여하는 지에 대해서는 알려져 있지 않으나 내인성의 prostacyclin(PGI<sub>2</sub>)과 thromboxane  $B_2$ 의 유리의 비(ratio)를 감소시킴으로써 혈관 수축을 일으키는 것으로 알려져 있다.<sup>27)</sup> 이와 같이 leukotriene에 의한 혈관 수축이 허혈현상과 동반되어 나타난다는 점은 leukotriene이  $K_{ATP}$  통로 활성 조절에 관여할 가능성이 있음을 시사하고 있다. 본 연구의 결과에서도 두 혈관 수축제는 정도의 차이는 있었지만 excised inside-out 및 cell-attached patch에서의  $K_{ATP}$  통로의 활성을 감소시켰다. ET-1과 LTD는 excised inside-out patch 시행직후 나타나는  $K_{ATP}$  통로 활성을 각각 용량 의존적으로 감소시켰다. Cell-attached patch 시행 후 나타나는 미약한 내향성의 통로 활성은 같은 용량의 ET-1과 LTD에 의해서는 거의 영향을 받지 않았다. 그러나 DNP에 의해서 유도된  $K_{ATP}$  통로의 활성은 두 혈관수축 물질에 의해서 각각 감소되었다. 이와 같은 연구 결과는 ET-1 또는 LTD 같은 혈관 평활근의 긴장도를 증가시키는 물질들은  $K_{ATP}$  통로의 활성을 감소시킴으로써 허혈 심근에는 유해한 작용을 할 가



능성이 있음을 시사하고 있다.

이론적인 관점에서, 허혈-재관류가 일어나는 동안  $K_{ATP}$  통로의 활성 증가에 의해서 활동전위기간이 단축되면 세포내로의 칼슘 유입을 억제하여 결과적으로 빠른 또는 지연 후 탈분극(early or delayed afterdepolarization)과 같은 칼슘 과부하와 연계된 부정맥 발생 요인이 감소하게 된다.<sup>28)29)</sup> 따라서 허혈 시  $K_{ATP}$  통로의 활성이 증가하면, 세포내 ATP의 고갈을 막고 세포의 손상을 지연시킬 수 있으므로, 허혈심근에는 좋은 방향으로 작용을 하게 될 것이다.  $K_{ATP}$  통로의 활성이 감소된다면 이러한 좋은 효과는 기대할 수가 없을 것이다. 그러나  $K_{ATP}$  통로의 활성 증가가 허혈부위에 국한되기 때문에 막전위, 활동전위기간, 불응기 및 전도 속도가 심근의 부위에 따라 다르게 나타나게 됨으로써, 회귀성 부정맥이 발생할 가능성이 높아진다.<sup>30)</sup> 따라서 허혈 시  $K_{ATP}$  통로 활성의 증가는 오히려 심각한 심실성 부정맥 발생에 중요한 역할을 할 수도 있다. 이런 경우  $K_{ATP}$  통로의 활성 억제는 허혈성 심실성 부정맥의 발생을 감소시키거나 예방할 수 있을 것이다.

결론적으로 본 연구에 사용된 혈관 활성 물질은 생쥐 심실근 세포막의  $K_{ATP}$  통로 활성 조절에 관여하며 혈관이완 물질인 BRK 및 PGI는 통로 활성 증가를, 혈관수축 물질인 ET-1 및 LTD는 통로 활성 감소를 일으킴으로써 각각 활동전위 기간을 단축 또는 연장시키는 방식으로 심근 허혈 손상을 보호 또는 조장하며 부정맥 발생에 관여할 수 있을 것으로 생각된다.

## 요 약

### 배경 및 목적 :

혈관 평활근의 긴장도 조절에 관여하는 다양한 종류의 혈관 활성 물질들이 심근에서도  $K^+$  통로의 활성 조절을 통한 심기능 조절에 관여함이 알려져 있다. 본 연구는 이들 심혈관계 활성 물질이, 심근 허혈 및 재관류 시 ATP-민감성  $K^+(K_{ATP})$  통로가 심근세포의 허혈 손상과 부정맥 발생에 어떤 역할을 하는지 알아보고자 하였다.

### 방 법 :

효소(collagenase) 분리법으로 분리한 생쥐의 단일 심실근 세포로부터 excised inside-out patch(IOP) 및 cell-attached patch(CAP)를 만들고, 각각 ATP-free 실험용액과 DNP 실험용액을 관류시켜  $K_{ATP}$  통로의 활성을 유도하고 혈관활성물질에 의한 통로 활성의 변동을 측정하였다.

### 결 과 :

Bradykinin(BRK, 1~10  $\mu M$ )과 Prostaglandin  $I_2$ (PGI, 10~50  $\mu M$ )는 IOP 시행 후 나타나는 내향성의 통로 활성에는 영향을 미치지 않았다. 그러나 세포내측에 ATP를 투여하여 통로 활성이 약화된 상태에서는 각각 용량-의존적으로 통로 활성을 증가시켰다. BRK와 PGI에 의한 내향성

통로 활성의 증가는 100  $\mu M$ 의 ATP 투여 시에 가장 현저하였다. Endothelin(ET-1, 0.01~1 nM)과 Leukotriene D<sub>4</sub>(LTD, 3~10  $\mu M$ )는 IOP 시행 후 나타나는 내향성의 통로 활성을 각각 용량-의존적으로 감소시켰다. BRK(1~10  $\mu M$ )와 PGI(10~50  $\mu M$ )는 CAP 시행 후 나타나는 내향성의 통로 활성을 각각 용량-의존적으로 증가시켰으며 이 통로 활성 증가 효과는 ATP-민감성  $K^+$  통로차단제인 glibenclamide (50  $\mu M$ )에 의해서 현저히 약화되었다. ET-1(0.01~1 nM)과 LTD(3~10  $\mu M$ )는 CAP 시행 후 나타나는 내향성의 통로 활성에 영향을 미치지 않았으나, 대사억제제 dinitrophenol (50  $\mu M$ )을 관류하여 유도된 통로의 활성은 용량-의존적으로 감소시켰다.

### 결 론 :

이상의 연구 결과로, 주요 혈관 활성 물질들은 ATP-민감성  $K^+(K_{ATP})$  통로의 활성 조절에 관여하고 혈관확장제인 BRK와 PGI는 통로 활성을 증가시키고, 혈관수축제인 ET-1과 LTD는 통로 활성을 감소시킴으로써 심근의 허혈 손상을 보호하거나 조장하며 부정맥을 유발하는 데 관여할 것으로 추론하였다.

**중심 단어 :** ATP-민감성  $K^+$  통로 ; 혈관수축물질 ; 혈관확장물질.

본 연구는 2003년 대한순환기학회 산학협동 연구비에 의해 이루어 졌음.

## REFERENCES

- 1) Weiss J, Lamp ST. Cardiac ATP-sensitive  $K^+$  channels: evidence for preferential regulation by glycolysis. *J Gen Physiol* 1989;94: 911-35.
- 2) Escande D, Caverio I.  $K^+$  channel openers and 'natural' cardioprotection. *Trends Pharmacol Sci* 1992;13:269-72.
- 3) Antzelevitch C, di Diego JM. Role of  $K^+$  channel activators in cardiac electrophysiology and arrhythmias. *Circulation* 1992;85: 1627-9.
- 4) Quayle JM, Standen NB.  $K_{ATP}$  channels in vascular smooth muscle. *Cardiovasc Res* 1994;28:797-804.
- 5) Escande D, Caverio I. Potassium channel openers in the heart. In: Escande D, Standen N, editors.  *$K^+$  Channels in Cardiovascular Medicine*. Paris: Springer-Verlag; 1993. p.225-44.
- 6) Merkel LA, Lappe RW, Rivera LM, Cox BF, Perrone MH. Demonstration of vasorelaxant activity with an A1-selective adenosine agonist in porcine coronary artery: involvement of potassium channels. *J Pharmacol Exp Ther* 1992;260:437-43.
- 7) Ju JM, Shin DH, Jeong HS, Park HW, Cho JG, Kim JH. Effects of endothelium-derived relaxing factors on the regulation of ATP-sensitive potassium channel activity in cardiac myocytes. *Korean Circ J* 2003;33:420-30.
- 8) Tsuchiya K, Horie M, Watanuki M, et al. Functional compartmentalization of ATP is involved in angiotensin II-mediated closure of cardiac ATP-sensitive  $K^+$  channels. *Circulation* 1997;96: 3129-35.
- 9) Park HW, Ju JM, Park OY, et al. Effects of oxygen free radicals on  $K_{ATP}$  channel activity in mouse cardiac myocytes. *Korean Circ J* 2003;33:1140-6.
- 10) Kim JH, Ju JM, Park J, et al. Influences of free fatty acids trans-

- membrane action potential and ATP-sensitive potassium channel activity in rat myocardium. *Korean Circ J* 2000;30:1589-601.
- 11) Kakei M, Noma A, Shibasaki T. Properties of adenosine-triphosphate-regulated potassium channels in guinea-pig ventricular cells. *J Physiol* 1985;363:441-62.
  - 12) O' Kane KP, Webb DJ, Collier JG, Vallance PJ. Local L-NG-monomethyl-arginine attenuates the vasodilator action of bradykinin in the human forearm. *Br J Clin Pharmacol* 1994;38:311-5.
  - 13) Honing ML, Smits P, Morrison PJ, Rabelink TJ. Bradykinin-induced vasodilation of human forearm resistance vessels is primarily mediated by endothelium-dependent hyperpolarization. *Hypertension* 2000;35:1314-8.
  - 14) Wesksler BB, Marcu AJ, Jaffe EA. Synthesis of prostaglandin I<sub>2</sub> (prostacyclin) by cultured human and bovine endothelial cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1977;74:3922-6.
  - 15) Campbell WB, Gebremadhin D, Pratt P, Harder DR. Identification of epoxyeicosatrienoic acid as endothelium-derived hyperpolarizing factors. *Circ Res* 1996;78:415-23.
  - 16) Bouchard J, Dumont E, Lamontagne D. Evidence that prostaglandins I<sub>2</sub>, E<sub>2</sub>, and D<sub>2</sub> may activate ATP-sensitive potassium channels in the isolated rat heart. *Cardiovasc Res* 1994;28:901-5.
  - 17) Jackson WF, Konig A, Dambacher T, Busse R. Prostacyclin-induced vasodilation in rabbit heart is mediated by ATP-sensitive potassium channels. *Am J Physiol* 1993;264:H238-43.
  - 18) Trube G, Hescheler J. Inward-rectifying channels in isolated patches of the heart cell membrane: ATP-dependence and comparison with cell-attached patches. *Pflügers Arch* 1984;401:178-84.
  - 19) Ordway RW, Walsh JV Jr, Singer JJ. Arachidonic acid and other fatty acids directly activate potassium channels in smooth muscle cells. *Science* 1989;244:1176-9.
  - 20) Kim D, Clapham DE. Potassium channels in cardiac cells activated by arachidonic acid and phospholipids. *Science* 1989;244:1174-6.
  - 21) Nakhostine N, Lamontagne D. Contribution of prostaglandins in hypoxia-induced vasodilation in isolated rabbit hearts: relation to adenosine and K<sub>ATP</sub> channels. *Pflügers Arch* 1994;428:526-32.
  - 22) Inoue A, Yanagisawa M, Kimura S, et al. The human endothelin family: three structurally and pharmacologically distinct isopeptides predicted by separate genes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989;86:2863-7.
  - 23) Toyooka T, Aizawa T, Suzuki N, et al. Increased plasma level of endothelin-1 and coronary spasm induction in patients with vasospastic angina pectoris. *Circulation* 1991;83:476-83.
  - 24) Miyauchi T, Yanagisawa M, Tomizawa T, et al. Increased plasma concentrations of endothelin-1 and big endothelin-1 in acute myocardial infarction. *Lancet* 1989;2:53-4.
  - 25) Grover GJ, Dzwonczyk S, Parham CS. The endothelin-1 receptor antagonist BQ-123 reduces infarct size in a canine model of coronary occlusion and reperfusion. *Cardiovasc Res* 1993;27:1613-8.
  - 26) Badr KF, Baylis C, Pfeffer JM, et al. Renal and systemic hemodynamic responses to intravenous infusion of leukotriene C<sub>4</sub> in the rat. *Circ Res* 1984;54:492-9.
  - 27) Myers SI, Hernandez R. Leukotriene C<sub>4</sub> regulation of splanchnic blood flow during ischemia. *Am J Surg* 1994;167:566-9.
  - 28) Carlsson L, Abrahamsson C, Drews L, et al. Antiarrhythmic effects of potassium channel openers in rhythms abnormalities related to delayed repolarization. *Circulation* 1992;85:1491-500.
  - 29) Takahashi N, Ito M, Saikawa T, Arita M. Nicorandil suppresses early afterdepolarization and ventricular arrhythmias induced by cesium chloride in rabbits in vivo. *Cardiovasc Res* 1991;25:445-52.
  - 30) Coronel R. Heterogeneity in extracellular potassium concentration during early myocardial ischemia and reperfusion: implications for arrhythmogenesis. *Cardiovasc Res* 1994;28:770-7.