

□ 원      저 □

## 흰쥐 폐동맥의 내피세포의존성 혈관이완과 급성 저산소성 폐동맥수축에서 산화질소의 역할

고려대학교 의과대학 내과학교실

인광호 · 이진구 · 조재연 · 심재정 · 강경호 · 유세화

=Abstract=

### A Study of Endothelium-dependent Pulmonary Arterial Relaxation and the Role of Nitric oxide on Acute Hypoxic Pulmonary Vasoconstriction in Rats

Kwang Ho In, M.D., Jin Goo Lee, M.D., Jae Youn Cho, M.D., Jae Jung Shim, M.D.  
Kyung Ho Kang, M.D. and Se Hwa Yoo, M.D.

*Department of Internal Medicine, College of Medicine, Korea University, Seoul, Korea*

**Background:** Since the demonstration of the fact that vascular relaxation by acetylcholine(Ach) results from the release of relaxing factor from the endothelium, the identity and physiology of this endothelium-derived relaxing factor(EDRF) has been the target for many researches. EDRF has been identified as nitric oxide(NO).

With the recent evidences that EDRF is an important mediator of vascular tone, there have been increasing interests in defining the role of the EDRF as a potential mediator of hypoxic pulmonary vasoconstriction. But the role of EDRF in modulating the pulmonary circulation is not completely clarified.

To investigate the endothelium-dependent pulmonary vasodilation and the role of EDRF during hypoxic pulmonary vasoconstriction, we studied the effects of N<sup>G</sup>-monomethyl-L-arginine(L-NMMA) and L-arginine on the precontracted pulmonary arterial rings of the rat in normoxia and hypoxia.

**Methods:** The pulmonary arteries of male Sprague Dawley(300~350g) were dissected free of surrounding tissue, and cut into rings. Rings were mounted over fine rigid wires, in organ chambers filled with 20ml of Krebs solution bubbled with 95 percent oxygen and 5 percent carbon dioxide and maintained at 37°C. Changes in isometric tension were recorded with a force transducer(FT. 03 Grass, Quincy, USA)

#### Results:

1) Precontraction of rat pulmonary artery with intact endothelium by phenylephrine(PE, 10<sup>-6</sup>M) was relaxed completely by acetylcholine(Ach, 10<sup>-9</sup>-10<sup>-5</sup>M) and sodium nitroprusside (SN, 10<sup>-9</sup>-10<sup>-5</sup>M), but relaxing response by Ach in rat pulmonary artery with denuded endothelium was significantly decreased.

2) L-NMMA(10<sup>-4</sup>M) pretreatment inhibited Ach(10<sup>-9</sup>-10<sup>-5</sup>M)-induced relaxation, but L-NMMA

( $10^{-4}$ M) had no effect on relaxation induced by SN( $10^{-9}$ - $10^{-5}$ M).

3) Pretreatment of the L-arginine( $10^{-4}$ M) significantly reversed the inhibition of the Ach( $10^{-9}$ - $10^{-5}$ M)-induced relaxation caused by L-NMMA( $10^{-4}$ M)

4) Pulmonary arterial contraction by PE( $10^{-6}$ M) was stronger in hypoxia than normoxia but relaxing response by Ach( $10^{-9}$ - $10^{-5}$ M) was decreased.

5) With pretreatment of L-arginine( $10^{-4}$ M), pulmonary arterial relaxation by Ach( $10^{-9}$ - $10^{-5}$ M) in hypoxia was reversed to the level of relaxation in normoxia.

**Conclusion:** It is concluded that rat pulmonary arterial relaxation by Ach is dependent on the intact endothelium and is largely mediated by NO. Acute hypoxic pulmonary vasoconstriction is related to the suppression on NO formation in the vascular endothelium.

**Key Words:** Hypoxia, pulmonary vasoconstriction, EDRF, L-NMMA, L-arginine

## 서 론

1980년 Furchgott와 Zawadzki등<sup>1)</sup>은 혈관이완에 혈관 내피세포가 중요한 역할을 한다고 발표하였다. 그후 Furchgott는 acetylcholine 및 bradykinin등 수종의 혈관활성 물질로 혈관을 자극시켰을 때, 혈관 내피세포에서 평활근을 이완시키는 내성인자가 유리되는 것을 발견하고 이것을 endothelium-derived relaxing factor(EDRF)라고 명명하였으며, 최근에 EDRF는 nitric oxide(NO)로 밝혀졌다<sup>2,3)</sup>.

내피세포에서 유래된 NO는 L-arginine의 guanidino 질소의 산화로 합성되며, 일단 합성되어 유리되면 혈관 평활근 세포로 확산되어 수용성 guanylate cyclase를 활성화시켜 평활근 세포내의 guanosine 3',5'-cyclic monophosphate(cGMP)농도를 증가시켜 평활근 이완을 유발한다<sup>4)</sup>. L-arginine의 동족체인 N<sup>G</sup>-monomethyl-L-arginine(L-NMMA)은 NO의 분비를 억제하여 내피세포 의존성 혈관이완을 억제하며, L-arginine은 이를 완전히 킨다는 것이 밝혀지면서, 이들을 이용하여 내피세포 의존성 혈관이완에 대한 많은 연구가 이루어졌다<sup>5-7)</sup>.

급성 저산소증이 폐혈관 수축을 일으키는 것은 잘 알려져 있으나 아직도 그 기전이 확실히 밝혀지지 않아 폐순환중 가장 활발한 연구 영역의 하나로 남아있다<sup>8)</sup>. 저산소성 폐혈관 수축의 매개물질에 대하여 여러 연구가 되어왔지만 아직 불분명한 상태이다. 최근에 EDRF의

합성을 저해시켜 저산소성 폐혈관 수축을 변경시킬 수 있는 것이 보고되면서 EDRF가 저산소성 혈관수축에 관여할 것으로 사료되어 여러 연구가 진행되고 있다<sup>9-11)</sup>.

내피세포 의존성 혈관이완에 대한 연구는 여러 종류의 실험 동물 및 각기 다른 장기의 혈관에서 시행되고 있지만, 폐순환계에서의 연구는 많지 않다<sup>12,13)</sup>. 또한 저산소성 폐혈관 수축의 매개체에 대해서는 논란이 있으나 NO는 가장 유력한 후보의 하나이다. 저자들은 폐동맥에서 내피세포 의존성 혈관 이완을 조사하고, 급성 저산소증에 의한 폐동맥 수축에 EDRF의 역할을 규명하고자 phenylephrine으로 수축시킨 흰쥐(Sprague-Dawley)의 폐동맥 절편에 L-NMMA 및 L-arginine을 투여하여 폐동맥이완 효과를 관찰하였고, 또한 저산소증에서의 폐동맥수축과 L-arginine의 이완효과를 관찰하였다.

## 재료 및 방법

300~350g의 수컷 흰쥐(Sprague-Dawley)에 thiopental sodium(50mg/Kg)을 복강내 주사하여 마취시킨 후 개흉하였다. 폐와 심장을 붙어있는 상태로 적출한 후 폐동맥을 박리하여 4℃ Krebs 용액에 넣은 후 미세점자(micro forceps)와 미세가위(micro scissors)로 내피세포가 손상되지 않게 조심스럽게 혈관 주위의 결체 조직을 깨끗이 제거하고 길이가 약 2~3mm되는 혈관고리(ring)를 만들었다. 본 실험에 사용된 Krebs 용액의 각

이온 농도(mM)는 NaCl 113, KCl 4.8, CaCl<sub>2</sub> 2.5, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.2, NaHCO<sub>3</sub> 25, glucose 5.7이었다.

혈관내피세포를 제거한 혈관 고리는 숨이 감긴 가는 막대를 이용하여 혈관 평활근이 손상되지 않게 조심스럽게 내피세포를 제거하여 만들었다. 37°C에 95% 산소, 5% 이산화탄소의 혼합가스로 평형을 이룬 Krebs 용액으로 채워져있는 magnus관(용량 20CC)에서 혈관고리를 가는 stainless 갈고리로 고정한 다음, Gilson사의 polygraph에 부착된 isometric transducer(FT .03 Grass, Quincy, USA)에 의해 등장성 수축곡선을 그리도록 장치하였다. 실험 용기 내에서 실험이 시작되기 전에 매 20분 마다 새로운 정상 Krebs용액을 갈아주면서 약 60분에 걸쳐 기초 장력이 0.5~0.7g이 되도록 부하하였다.

상기와 같은 실험 준비가 끝나면 내피세포 의존성 및 내피세포 비의존성 혈관이완을 관찰하기 위하여 phenylephrine(PE, 10<sup>-6</sup>M)을 투여하여 장력을 발생시킨 후 acetylcholine(Ach, 10<sup>-9</sup>-10<sup>-5</sup>M) 및 sodium nitroprusside(SN, 10<sup>-9</sup>-10<sup>-5</sup>M)을 투여하여 혈관이완을 관찰하였다.

내피세포가 있는 폐동맥에 L-NMMA(10<sup>-4</sup>M)을 약 10분전에 전처치하고 PE(10<sup>-6</sup>M)으로 장력을 발생시킨 후 Ach(10<sup>-9</sup>-10<sup>-5</sup>M) 및 SN(10<sup>-9</sup>-10<sup>-5</sup>M)을 투여하여 이완

효과를 관찰하였다. L-NMMA(10<sup>-4</sup>M)을 전처치하고 PE(10<sup>-6</sup>M)으로 장력을 발생시킨 혈관에 L-arginine(10<sup>-4</sup>M)을 투여한 후 Ach(10<sup>-9</sup>-10<sup>-5</sup>M)을 투여하여 이완 효과를 관찰하였다.

급성 저산소증에 의한 폐동맥 수축을 관찰하기 위하여 95% 질소, 5% 이산화탄소의 무산소 혼합 가스를 magnus관에 공급하여 실험하였다. 산소가 공급되는 magnus관(산소상태)과 무산소 혼합가스가 공급되는 magnus관(저산소상태)의 폐동맥고리에 각각 PE(10<sup>-6</sup>M)을 투여하여 장력을 발생시킨 후 Ach(10<sup>-9</sup>-10<sup>-5</sup>M) 및 SN(10<sup>-9</sup>-10<sup>-5</sup>M)을 투여하여 이완효과를 비교하였다. 저산소 상태의 폐동맥고리에 L-arginine(10<sup>-4</sup>M)을 전처치하고 PE(10<sup>-6</sup>M)로 장력을 발생시킨 후 Ach(10<sup>-9</sup>-10<sup>-5</sup>M)에 의한 혈관이완을 관찰하였다.

본 실험의 모든 측정치는 평균 ± 표준편차로 표시하였고, 통계처리는 student t-test를 이용하였고, P < 0.05를 통계학적 유의성이 있는 것으로 간주하였다.

## 결 과

### 1. 내피세포 유무에 따른 폐동맥 이완 효과

내피세포가 있는 폐동맥에서 PE(10<sup>-6</sup>M)에 의한 혈관

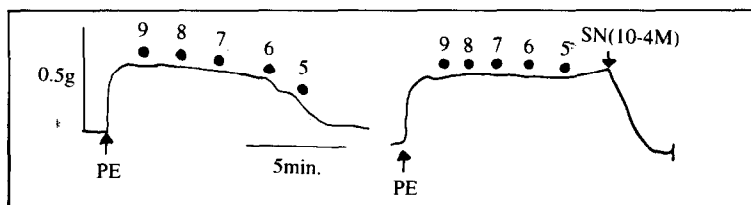


Fig. 1. Responses of endothelium intact and denuded rat pulmonary arterial rings to Ach. All rat pulmonary arterial rings were precontracted with 10<sup>-6</sup>M PE. Each number above a point indicates the concentration of Ach (-logM)

Table 1. Vascular Responses of Pulmonary Arterial Rings to Vasodilators after Precontraction with PE(10<sup>-6</sup>M)

| Vasodilators         | Maximal relaxation after vasodilators(%) |                     |
|----------------------|------------------------------------------|---------------------|
|                      | Endothelium intact                       | Endothelium removed |
| Acetylcholine        | 83.2 ± 4.1<br>(n=5)                      | 0.4 ± 0.3*<br>(n=5) |
| Sodium nitroprusside | 90.1 ± 2.5<br>(n=5)                      | 92.5 ± 2.3<br>(n=5) |

\* p<0.01

수축은 Ach( $10^{-9}$ M- $10^{-5}$ M) 및 SN( $10^{-9}$ - $10^{-5}$ M)의 농도에 비례해서 이완되어 거의 기초장력까지 이완되었으나, 내피세포를 제거한 폐동맥에서는 Ach( $10^{-9}$ - $10^{-5}$ M)에 의한 혈관이완은 거의 상실되었다(Table 1, Fig. 1).

## 2. L-NMMA가 폐동맥 이완에 미치는 영향

내피세포가 있는 폐동맥에 L-NMMA( $10^{-4}$ M)을 약 10 분전에 전처리하고 PE( $10^{-6}$ M)으로 장력을 발생시킨 후 Ach( $10^{-9}$ M- $10^{-5}$ M) 및 SN( $10^{-9}$ M- $10^{-5}$ M)으로 이완효과를 관찰한 결과 Ach에 의한 혈관이완 효과는 의미있게

감소하였다(Table 2, Fig. 2).

## 3. L-arginine이 폐동맥 이완에 미치는 영향

내피세포가 있는 폐동맥에 L-NMMA( $10^{-4}$ M)을 약 10 분전에 전처리하고 PE( $10^{-6}$ M)으로 장력을 발생시킨 혈관에 L-arginine( $10^{-4}$ M)을 투여한 후 약 5분 후에 Ach( $10^{-9}$ - $10^{-5}$ M)을 투여하여 이완효과를 관찰한 결과 L-NMMA에 의한 혈관 이완 억제 효과는 거의 상실되었다(Fig. 3).

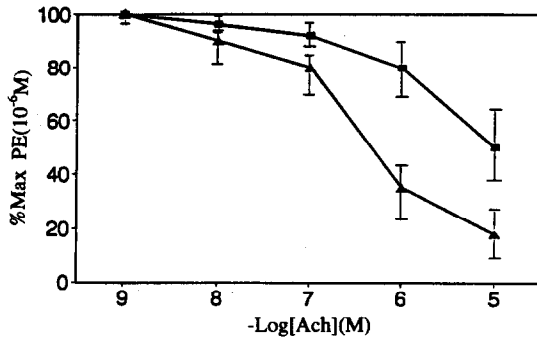


Fig. 2. Concentration-response curves for the relaxation induced by acetylcholine in the rat pulmonary arterial rings. Each point represents the mean(n=3).

■ L-NMMA(100μM) rings → control rings

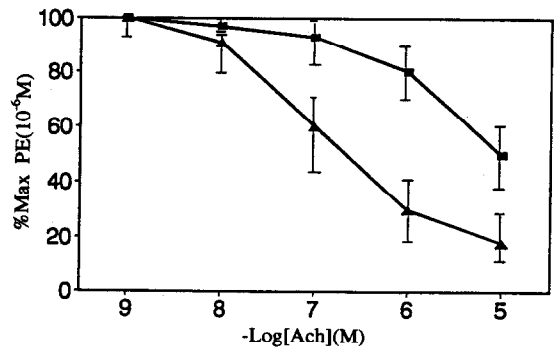


Fig. 3. Addition of L-arginine(100μM) reverses the inhibition of the Ach-dependent relaxation by L-NMMA(100μM)(n=3).

■ L-NMMA rings → L-arginine rings

Table 2. Vascular Responses of Pulmonary Arterial Rings to Vasodilators with and without L-NMMA after Precontraction with PE( $10^{-6}$ M)

| Vasodilators         | Maximal relaxation after vasodilators(%) |                     |
|----------------------|------------------------------------------|---------------------|
|                      | Untreated                                | L-NMMA-treated*     |
| Acetylcholine        | 81.3±2.5<br>(n=5)                        | 42.5±3.5**<br>(n=3) |
| Sodium nitroprusside | 91.2±3.5<br>(n=3)                        | 94.5±2.4<br>(n=5)   |

\* L-NMMA denotes N<sup>G</sup>-monomethyl-L-arginine

\*\* p<0.01 for the comparison with untreated rings

Table 3. Vascular Responses of Pulmonary Arterial Rings to PE( $10^{-6}$ M) in Normoxic and Hypoxic state

| Response               | Normoxia(95% O <sub>2</sub> /5% CO <sub>2</sub> ) | Hypoxia(95% N <sub>2</sub> /5% CO <sub>2</sub> ) |
|------------------------|---------------------------------------------------|--------------------------------------------------|
| Precontraction with PE | 328±15<br>(n=5)                                   | 478±12*<br>(n=3)                                 |

\* p<0.01

Table 4. Vascular Responses of Pulmonary Arterial Rings to Vasodilators after Precontraction with PE( $10^{-6}$ M) in Normoxia and Hypoxia

| Vasodilators         | Maximal relaxation after vasodilators(%)          |                                                  |
|----------------------|---------------------------------------------------|--------------------------------------------------|
|                      | Normoxia(95% O <sub>2</sub> /5% CO <sub>2</sub> ) | Hypoxia(95% N <sub>2</sub> /5% CO <sub>2</sub> ) |
| Acetylcholine        | 83.2 ± 4.1<br>(n=5)                               | 36.7 ± 8.4*<br>(n=3)                             |
| Sodium nitroprusside | 90.1 ± 2.5<br>(n=5)                               | 92.3 ± 2.2<br>(n=3)                              |

\* p<0.01

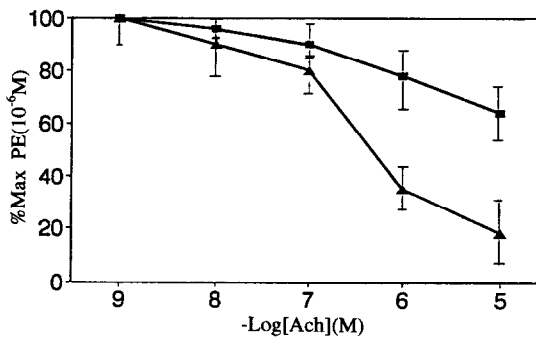


Fig. 4. Pulmonary arterial concentration-response curves for the relaxation induced by Ach in normoxia and hypoxia state(n=3).  
 ▲-Hypoxia      ■-Normoxia

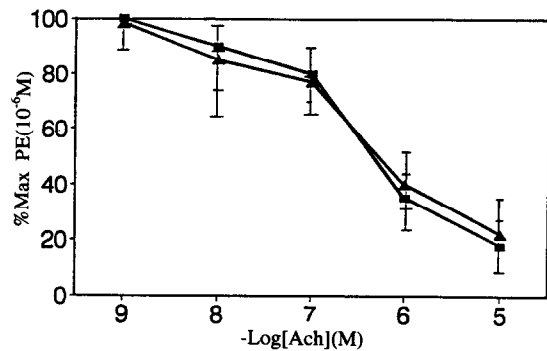


Fig. 5. L-arginine(100μM) reverses the inhibition of Ach-dependent relaxation by hypoxia  
 ■- Normoxia    ▲- L-arginine in hypoxia

#### 4. 저산소증이 폐동맥 수축-이완에 미치는 영향

저산소상태에서의 PE( $10^{-6}$ M)에 의한 폐동맥수축은 산소상태 보다 의미있게 증가하였으며(Table 3), Ach( $10^{-9}$ - $10^{-5}$ M)에 의한 혈관이완은 산소상태 보다 저산소 상태에서 의미있게 감소하였으나, SN( $10^{-9}$ - $10^{-5}$ M)에 의한 혈관이완은 차이가 없었다(Table 4, Fig.4).

#### 5. 저산소증에서 L-arginine이 폐동맥 이완에 미치는 영향

L-arginine( $10^{-4}$ M)을 전처리 하였을 경우 저산소 상태에서의 Ach( $10^{-9}$ - $10^{-5}$ M)에 의한 혈관 이완은 산소상태에서의 Ach에 의한 혈관 이완 정도로 회복되었다(Fig. 5).

### 고 찰

1946년 Von Euler등<sup>14)</sup>이 저산소증이 폐동맥 수축을 유발시킨다고 보고한 이래 그 기전에 관한 연구가 많이

시행되었지만 아직 규명되고 있지 않다. 저산소증에 의한 폐혈관수축의 매개물질에 대하여 많은 연구가 시행되었는데, 이들에 관한 지식들은 대부분 동물실험에서 얻어진 것들로 대표적인 것들을 보면, catecholamine, angiotensin, histamine, prostaglandin등을 들수있지만 어느 한가지 확실한 매개물질로 입증되고 있지 못하다<sup>15,16)</sup>. 최근에는 내피세포 기원 혈관수축제인 endothelin이 주목을 받기 시작했으나, 그 작용시간이 늦고 효과가 오래 지속되는 것이 저산소성 혈관수축이 신속히 나타나고 신속히 소실되는 것과 맞지않아 가능성이 적은 것으로 사료된다<sup>17-20)</sup>.

최근 혈관 내피세포에서 분비되는 EDRF가 저산소성 폐혈관 수축에 관여한다는 보고가 있으며, EDRF의 합성을 저해시켜 저산소성 폐혈관 수축을 변형시킬 수 있는 것이 보고되어 연구가 진행중에 있다<sup>9-11)</sup>. 또한 혈관 내피세포에는 혈관 수축물질과 혈관 이완물질이 생성 분비된다고 알려져왔는데, 이 두물질의 생성 및 분비의 변화가 혈관 긴장도에 중요한 역할을 한다고 생각되고

있다<sup>21)</sup>. 대순환 및 폐순환계에 강력히 작용하는 EDRF의 발견 이후 많은 연구가 이루어졌는데, Peach등<sup>22)</sup>은 토끼 및 쥐의 폐동맥에서 저산소혈증시 EDRF의 생산이 감소한다고 보고하였으나, 폐에서의 변화는 많은 연구가 되어있지 않다.

1986년 Furchgott<sup>23)</sup> 및 Ignarro등<sup>24)</sup>은 EDRF가 nitric oxide(NO) 혹은 이것과 연관된 물질일 것으로 추정하였다. 그후 1987년 Palmer등<sup>25)</sup>은 혈관 평활근에 미치는 EDRF와 NO의 약리학적 성질을 비교하여 EDRF와 NO는 같은 물질임을 주장하였다. 배양된 혈관 내피세포에서 분비되는 NO를 chemiluminescence 및 spectrophotometric assay 방법에 의하여 측정하여 EDRF는 NO임을 증명하였다<sup>26)</sup>. 고혈압 치료에 사용되어온 organic nitrate의 작용은 가용성 guanylate cyclase를 활성화시켜 cGMP를 상승시키므로써 이루어지며 또한 이 약제는 비효소 작용(noenzymatic reaction)에 의해 NO를 발생시키므로, EDRF의 혈관이완 작용도 guanylate cyclase의 활성화에 의한 cGMP에 의한 것으로 생각되었다<sup>4)</sup>.

Iyengar등<sup>27)</sup>은 활성화된 대식세포가 L-arginine으로부터 NO<sub>2</sub>, NO<sub>3</sub>를 형성하는 것을 관찰하여 NO의 전구 물질이 L-arginine일 것으로 생각하였다.

또한 혈관 내피세포에 L-arginine을 투여하여 배양한 결과 bradykinin 및 A23187에 의해 NO의 생성이 증가하는 것을 관찰하였다<sup>3)</sup>.

NO의 전구 물질이 L-arginine이라고 확인된 것은 mass spectrometry와 <sup>15</sup>N-L-arginine을 이용하여 L-arginine의 말단 guanidino nitrogen atom으로부터 <sup>15</sup>NO가 생성되는 것을 관찰한 이후이다<sup>5)</sup>.

Hibbs등<sup>28)</sup>은 L-arginine에서 NO가 되는 과정을 억제하는 물질이 N<sup>G</sup>-monomethyl-L-arginine(L-NMMA)이라는 것을 밝혀냄으로써 EDRF의 연구에 많은 도움을 주게되었으며, 그후 여러 종류의 동물 및 각기 다른 장기의 혈관에서 연구가 진행되었지만, 폐혈관에서의 연구는 많지 않은 편이다<sup>12,13)</sup>.

본 논문에서는 폐동맥에서의 혈관 내피세포 의존성 혈관이완을 조사하기 위하여 흰쥐의 폐동맥을 이용하여 실험하였다.

흰쥐 폐동맥의 내피세포 의존성 혈관 이완은 L-NMMA에 의하여 억제되므로, 내피세포 의존성 혈관

이완은 EDRF가 관여하는 것으로 사료된다. 또한 L-arginine에 의해 L-NMMA의 억제 효과가 감소됨으로써 EDRF의 전구 물질이 L-arginine임을 알 수 있었다. SN에 의한 혈관 이완은 L-NMMA에 의해 영향을 받지 않으므로 L-NMMA은 혈관 내피세포에 작용하는 것으로 사료된다.

본 실험에서 L-NMMA가 Ach에 의한 혈관 이완을 완전히 억제하지 못하였다. 그 이유에 대하여는 확실하지 않지만 몇가지 가능성을 생각할 수 있다. 흰쥐 폐동맥 혈관 내피세포에서 EDRF이외에 다른 혈관 이완 인자가 나오거나, L-NMMA에 의해 영향받지 않는 다른 곳에서도 EDRF가 유리될 수 있는 가능성이다. 특히 혈관 내피세포에 EDRF이외에 endothelium-derived hyperpolarizing factor(EDHF)<sup>29)</sup>가 있어 혈관 평활근을 과분극시켜 혈관 이완에 관여한다는 연구는 이것을 뒷받침해 주고 있지만 EDHF의 정체 및 분포가 확실히 밝혀져있지 않기 때문에 논란이 있다. 다른 가능성은 L-NMMA가 L-arginine으로부터 EDRF의 생성을 완전히 차단하지 못했을 경우인 데, 이것 또한 확실한 증거는 없지만 가능성이 제일 높은 것으로 생각된다.

본 실험에서 PE(10<sup>-6</sup>M)에 의한 폐동맥 수축은 산소상태 보다 저산소 상태에서 훨씬 강했다. Ach(10<sup>-9</sup>-10<sup>-5</sup>M)에 의한 혈관이완은 산소 상태보다 저산소 상태에서 의 미있게 감소하였고, L-arginine(10<sup>-4</sup>M)을 전처치 하였을 경우 저산소 상태에서의 Ach에 의한 혈관이완은 산소 상태에서의 Ach에 의한 혈관이완 정도로 회복되었다. 따라서 저산소증에 의한 폐동맥수축은 EDRF의 생성 저하와 관련이 있을 것으로 사료된다.

본 연구를 통하여 흰쥐 폐동맥은 내피세포 의존성 혈관 이완을 하며, EDRF가 관여하는 것으로 사료되어 폐동맥 수축 및 폐동맥 고혈압의 원인론 규명을 위한 실험 모델로 사용할 수 있을 것으로 사료된다.

## 요 약

연구배경: 저산소증에 의한 폐동맥수축의 기전은 저산소증 자체가 폐혈관 평활근에 직접 작용하여 수축을 유발한다는 것과, 저산소증에 의해 조직으로부터 여러 매개물질이 유리되어 혈관평활근을 수축시킨다는 설이 제시되고 있지만 정확히 밝혀져있지 않다. 최근에는 저

산소증이 EDRF의 생성을 억제하여 혈관수축을 유발시킨다고하여 관심이 되고 있다.

본 연구에서는 흰쥐 폐동맥에서 내피세포 의존성 혈관이완을 조사하고, 저산소증에 의한 폐동맥수축에 EDRF의 작용을 조사하였다.

방법: 300~350g의 수컷 흰쥐(Sprague Dawley)의 폐동맥을 바리하여 길이가 2mm되는 폐동맥고리를 Krebs용액으로 채워져 있으며, 95% O<sub>2</sub>/5% CO<sub>2</sub>(산소 상태)와 95% N<sub>2</sub>/5% CO<sub>2</sub>(저산소 상태)가 각각 공급되는 magnus관에서 가는 stainless 갈고리로 고정된 다음 Gilson사의 polygraph에 부착된 isometric transducer (FT .03 Grass, Quincy, USA)에 의해 등장성 수축곡선을 그리도록 장치하였다.

#### 결과:

1) 내피세포가 있는 폐동맥에서 PE(10<sup>-6</sup>M)에 의한 혈관수축은 Ach(10<sup>-9</sup>-10<sup>-5</sup>M) 및 SN(10<sup>-9</sup>-10<sup>-5</sup>M)의 농도에 비례해서 이완되어 거의 기초장력까지 이완되었으나, 내피세포를 제거한 폐동맥에서는 Ach (10<sup>-9</sup>-10<sup>-5</sup>M)에 의한 혈관이완은 거의 상실되었다.

2) L-NMMA(10<sup>-4</sup>M)으로 전처리한 경우 Ach(10<sup>-9</sup>-10<sup>-5</sup>M)에 의한 혈관이완은 전처리하지 않은 경우보다 의미있게 감소하였다.

3) L-arginine(10<sup>-4</sup>M)과 L-NMMA(10<sup>-4</sup>M)을 전처리 하였을 경우 Ach(10<sup>-9</sup>-10<sup>-5</sup>M)에 의한 혈관이완은 L-NMMA에 의해 거의 영향을 받지 않았다.

4) PE(10<sup>-6</sup>M)에 의한 폐동맥 수축은 산소상태보다 저산소 상태에서 훨씬 강했으며, Ach(10<sup>-9</sup>-10<sup>-5</sup>M)에 의한 혈관이완은 산소상태보다 저산소상태에서 의미있게 감소하였다.

5) L-arginine(10<sup>-4</sup>M)을 전처리 하였을 경우 저산소 상태에서의 Ach(10<sup>-9</sup>-10<sup>-5</sup>M)에 의한 혈관이완은 산소상태에서의 Ach에 의한 혈관이완 정도로 회복되었다.

결론: 흰쥐 폐동맥에서 내피세포의존성 혈관이완은 NO가 관여하며, 저산소증에 의한 폐동맥 수축은 내피세포내의 EDRF 생성의 저하와 관련이 있을 것으로 사료된다.

## REFERENCES

1) Furchgott RF, Zawadzki JV: The obligatory role

of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* **288**:373, 1980

- 2) Cherry PD, Furchgott RF, Zawadzki JV, Jothianandan D: Role of endothelial cells in relaxation of isolated arteries by bradykinin. *Proc Natl Acad Sci* **72**:2106, 1982
- 3) Palmer RMJ, Ashton DS, Moncada S: Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature* **333**:664, 1988
- 4) Sakuma ID, Stuehr DJ, Gross SS, Nathan C, Levi R: Identification of arginine as a precursor of endothelium-derived relaxing factor. *Proc Natl Acad Sci* **85**:8864, 1988
- 5) Schmidt HHHW, Nau H, Wittfoht W: Arginine is a physiological precursor of endothelium-derived nitric oxide. *Eur J Pharmacol* **154**:213, 1988
- 6) Rees DD, Palmer RMJ, Moncada S: Role of endothelium-derived nitric oxide in the regulation of blood pressure. *Proc Natl Acad Sci* **86**:3375, 1989
- 7) Palmer RMJ, Rees DD, Ashton DS, Moncada S: L-arginine is the physiological precursor for the formation of nitric oxide in endothelium dependent relaxation. *Biochem Biophys Res Commun* **153**:1251, 1988
- 8) 유세화: 폐순환의 혈관 운동조절- 저산소성 폐혈관 수축을 중심으로 결핵 및 호흡기 질환 **39**:299, 1992
- 9) Johns RA, Linden JM, Peach MT: Endothelium-dependent relaxation and cyclic GMP accumulation are selectively impaired by moderate hypoxia. *Circ Res* **65**:1508, 1989
- 10) Liu S, Crawley DE, Barnes PJ, Evans TW: Endothelium-derived relaxing factor inhibits hypoxic pulmonary vasoconstriction in rats. *Am Rev Respir Dis* **143**:32, 1991
- 11) Brashers VL, Peach MJ, Rose Jr CE: Augmentation of hypoxic pulmonary vasoconstriction in the vitro antagonists of endothelium-dependent

- relaxation. *J Clin Invest* **82**:1495, 1988
- 12) Chand N, Altura BM: Acetylcholine and bradykinin relax intrapulmonary arteries by acting on endothelial cells: Role in lung vascular diseases. *Science* **213**:1376, 1981
  - 13) Greenberg B, Rhoden K, Barnes PJ: Endothelium-dependent relaxation of human pulmonary arteries. *Am J Physiol* **252**:H434, 1987
  - 14) Von Euler US, Liejstrand G: Observations on the pulmonary arterial blood pressure in the cat. *Acta physiol scand* **12**:301, 1946
  - 15) Fishman AP: Hypoxia on the pulmonary circulation: How and Where it act. *Circ Res* **38**: 221, 1976
  - 16) Toker A, Weir EK, Reeves JT, Grover RF: Failure of histamine antagonists to prevent hypoxic pulmonary vasoconstriction in dogs. *J Appl Physiol* **40**:496, 1976
  - 17) Giad A, Yanagisawa M, Langleben D, Michel RP, Levy R, Shennib H, Kimura S, Masaki T, Duguid WP, Stewart DJ: Expression of endothelin-1 in the lungs of patients with pulmonary hypertension. *N Engl J Med* **328**:1732, 1993
  - 18) Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Tomobe Y, Kobayash M, Mitsui Y, Yazaki Y, Goto K, Masaki T: A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* **332**:411, 1988
  - 19) Inoue A, Yanagisawa M, Kimura S: The human endothelin family: three structurally and pharmacologically distinct isopeptides predicted by three separate genes. *Proc Natl Acad Sci* **86**:2863, 1989
  - 20) 인광호, 강경호, 유세화: Endothelin-1이 흰쥐의 기관 평활근 수축에 미치는 영향. *대한내과학회잡지* **42**:630, 1991
  - 21) Lerman A, Sandok EK, Hildebrand Jr. FL, Burnett Jr. JC: Inhibition of endothelium-derived relaxing factor enhances endothelin-mediated vasoconstriction. *Circulation* **85**:1894, 1992
  - 22) Peach MJ, Singer HA, Loeb AL: Mechanisms of endothelium-dependent vascular smooth muscle relaxation. *Biochem pharmacol* **34**:1867, 1985
  - 23) Furchgott RF: Studies on relaxation of rabbit aorta by sodium nitrite In: Vanhoutte PM, ed. *Vasodilatation: Vascular smooth muscle, peptides, autonomic nerves and endothelium*. New York: Raven Press, 1988
  - 24) Ignarro LJ, Byrns RE, Wood KS: Biochemical and Pharmacological properties of endothelium-derived relaxing factor and its similarity to nitric oxide radicals. In: Vanhoutte PM, ed. *Vasodilatation: Vascular smooth muscle, peptides, autonomic nerves and endothelium*. New York: Raven Press, 1988
  - 25) Palmer RMJ, Ferrige AG, Moncada S: Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* **327**: 524, 1987
  - 26) Moncada S, Radomski MW, Palmer RMJ: Endothelium-derived relaxing factor: Identification as nitric oxide and role in the control of vascular tone and platelet function. *Biochem Pharmacol* **37**:2495, 1988
  - 27) Iyengar R, Stuehr DJ, Marletta MA: Macrophage synthesis of nitrite, nitrate and N-nitrosamines: Precursors and role of the respiratory burst. *Proc Natl Acad Sci* **84**:6369, 1987
  - 28) Hibbs JB Jr, Vavrin Z, Taintor RR: L-arginine is required for expression of the activated macrophage effector mechanism causing selective metabolic inhibition in target cells. *J Immunol* **138**:550, 1987
  - 29) Nago T, Vanhoutte PM: Endothelium-derived hyperpolarizing factor and endothelium-dependent relaxation. *Am J Respir Cell Mol Biol* **8**:1, 1993