

신생 토끼의 폐동맥 성숙도가 내피 세포 의존성 혈관 이완에 미치는 영향

연세대학교 의과대학 소아과학교실, 아주대학교 의과대학 소아과학교실*

서봉희 · 이소현 · 박국인 · 박문성* · 이 철 · 한동관

= Abstract =

Effect of Maturation on Endothelium-Dependent Relaxation in Pulmonary Arteries of the Newborn Rabbit

Bong Hee Seo, M.D., So Hyun Lee, M.D., Kook In Park, M.D.,
Moon Sung Park, M.D.*, Chul Lee, M.D. and Dong Gwan Han, M.D.

Department of Pediatrics, College of Medicine, Yonsei University, Seoul, Korea

Department of Pediatrics, College of Medicine, Aju University, Suwon, Korea*

Purpose : This study was done to determine whether maturatin alters endothelium-dependent responses in pulmonary arteries.

Methods : Vascular rings of pulmonary arteries, with and without endothelium, taken from rabbits of 3 and 30 days of age were suspended in organ chambers filled with Krebs-Henseleit solution, bubbled with 95% O₂-5% CO₂ and maintained at 37°C. Immediately after mounting, the rings were stretched progressively until a maximal response to KCl was achieved. The rings were incubated with indomethacin and allowed to equilibrate before contraction and relaxation study.

Results : When the endothelium was intact in arterial rings from 3-day-old rabbits, acetylcholine (ACH) (10⁻⁶ M) relaxed precontracted rings with histamine (5×10⁻⁶ M) (98.1±4.7% relaxation, mean±SD). In rings without endothelium, KCl (10⁻² to 9×10⁻² M) and histamine (5×10⁻⁸ to 10⁻⁵ M) caused concentration-dependent contractions. When normalized to maximal contractions achieved to each agonist, the concentration-effect curves to KCl and histamine in rings without endothelium were similar to both ages. Rings with endothelium showed a progressive shift to the right of the concentration-effect curve to histamine. Relaxation to sodium nitroprusside were unaffected by age. In precontracted ring, ACH (10⁻⁸ to 5×10⁻⁶ M) caused relaxations in rings with endothelium which were greater at 30-day compared to 3-day-old rabbits.

Conclusion : These study demonstrates that endothelium-dependent relaxation increase with age, possibly due to changes in the release and/or effect of endothelium-derived relaxing factor (EDRF or nitric oxide) from pulmonary arteries during the neonatal period. (*J Korean Soc Neonatal* 2001;8:247-256)

Key Words : Endothelium-derived relaxing factor (EDRF), Pulmonary artery, Newborn rabbit

서 론

책임저자: 박국인, 서울시 강남구 도곡동 146-92
연세대학교 영동세브란스병원 소아과
Tel : 02)3497-3351 Fax : 02)3461-9473
E-mail : Kipark@yumc.yonsei.ac.kr

1980년 Furchgott와 Zawadzki는 유리 동맥윤(iso-

lated arterial rings)과 동맥절편에서 아세틸콜린(ace-tylcholine)의 혈관 이완 작용을 위해서는 혈관 내피가 필요하다는 것을 밝혔고,¹⁾ 내피세포를 자극함으로써 어떤 물질을 분비하게 하였는데 이 물질을 Furchgott는 내피 세포 기원 확장인자(endothelium-derived relaxing factor, EDRF)라고 명명하였다. 그 후 많은 연구를 통해 EDRF의 화학적 성질은 현재 산화질소(nitric oxide, NO) 또는 s-nitrosocystein 같은 nitrosothiol의 특징을 갖는다는 것을 알게되었다.²⁻⁴⁾ 그리고 혈관 내피가 여러 이완 및 수축 인자를 분비하여 혈관 평활근을 조절하고 있다는 개념으로 확대되었다.⁵⁾ EDRF/NO와 nitrovasodilators는 수용성 guanylate cyclase를 자극시킴으로써 cyclic GMP를 생성하게 된다. 이 cyclic GMP는 protein kinase를 활성화시켜 결국 myosine light chains의 탈인산화를 가져와 근육이완을 일으킨다.⁶⁾ 대부분의 포유동물은 자궁 내에서는 폐동맥압과 폐동맥 저항이 상승되어 있고 이것은 출생 후 산소압의 증가, 혈관 개형(vascular remodeling) 및 폐내에 prostaglandin이 생성됨에 따라 감소된다.⁷⁻⁹⁾ 이러한 자극들이 어떻게 위의 혈액학적 변화를 일으키는 지 아직 정확한 기전은 모르는 상태이다.

EDRF/NO 합성은 출생시 폐혈관 저항의 감소에 기여하고 주산기 순환에서 강력한 혈관이완 인자인 아세틸콜린과 bradykinin의 작용을 매개한다.¹⁰⁻¹²⁾ 이렇게 해서 EDRF/NO는 태아 및 신생아의 폐동맥에서 자극에 대한 반응으로 생성되어 기저 폐혈관 긴장도를 조절하고 있다. 또한 태아를 모델로 한 연구에서 산소화에 따라 EDRF/NO 생성으로 인해 폐혈류가 급증한다는 것이 증명되었다.^{13, 14)}

본 연구는 신생토끼의 폐동맥에 EDRF/NO가 존재하는지와 성숙도에 따라서 신생 토끼의 폐동맥으로부터 EDRF/NO의 분비 및 효과가 변화하는지를 알아보았다.

대상 및 방법

1. 동맥윤의 준비와 긴장도 측정

생후 3일(n=27)과 생후 30일(n=26)된 53 마리의 흰 토끼를 대상으로 측정하였는데, sodium pentobarbital 50 mg/kg를 복강내 주입하여 토끼를 마취시키고 방혈

한 후, 심장과 폐를 떼어내고 다음과 같은 조성의 4°C Krebs-Henseleit solution (mM: NaCl, 118; KCl, 4.8; CaCl₂, 2.5; MgSO₄, 1.2; KH₂PO₄, 1.2; NaHCO₃, 24; glucose, 11; disodium ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), 0.03; pH 7.4)에 담가놓았다.

폐동맥의 두 번째 분지를 폐 실질 조직으로부터 절개하여 단면으로 잘라 1.5-2.5 mm 길이의 환(vascular rings)으로 만든 후 혈관 내강이 손상받지 않도록 하면서 주위의 결합조직을 제거하였다. 몇몇 혈관윤은 가는(0.25 mm) stainless steel wire로 혈관 내강을 마찰시켜 내피를 조심스럽게 제거하였다. 혈관 내피 세포의 통합성(integrity)은 Furchgott and Zawadzki의 방법으로 알아보았다.¹⁾ 그런 다음 동맥윤은 두 개의 stainless steel 등자 사이에 부유시켰다. 하나는 organ chamber내 고정된 등자에 연결하였고 나머지 하나는 등장성 긴장도의 기록을 위해 Force transducer (Grass FT03)에 연결하였다(Model 7 grass polygraphy, Quinny, MA).

그 다음 혈관윤들을 20ml의 대조 용액으로 채운 organ chambers에 넣고, 95% O₂-5% CO₂로 기포를 만들면서 온도를 37°C로 유지하였다. 동맥윤들의 설치가 끝난 즉시 KCl (20 mM)에 대한 최대반응이 나타날 때까지 점차적으로 혈관윤들을 신축시켰다(optimal length/tension relationship).

혈관윤들을 indomethacin (10⁻⁵ M)에 배양하고 다음실험을 위해 40분간 안정시켰다. 약물투여 사이마다 organ chamber를 온도 변화 없이 대조 용액으로 씻었다.

2. EDRF/NO 생성의 측정

히스타민(5×10⁻⁶ M)으로 혈관윤들의 긴장도를 점차적으로 증가시킨 후 아세틸콜린에 대한 혈관 이완 효과를 측정하였는데, 아세틸콜린의 농도는 10⁻⁸, 5×10⁻⁸, 5×10⁻⁷, 10⁻⁶, 5×10⁻⁶ M 으로 변화시키면서 측정하였고, 혈관 내강의 내피가 건재한 혈관윤과 내강을 마찰시켜 내피를 제거한 혈관윤 (n=6) 모두에서 반응을 측정하였다. 내피가 건재한 혈관윤에는 히스타민에 의한 혈관 수축을 유도하기전에 헤모글로빈(hemoglobin, 10⁻⁵ M)을 첨가한 후 아세틸콜린 투여에 따른 혈관 이완 실험을 반복하였는데, methemoglobin 또는 헤모글로빈은 EDRF/NO에 결합하여 혈관 이완 작용

을 방해하는 것으로 알려져 있기 때문이다.⁸⁾ 또한 히스타민으로 혈관운들을 수축시키기 전에 methylene blue(5×10^{-5} 또는 10^{-4} M)를 내피가 건재한 혈관운이 들어있는 chamber에 첨가하였는데 methylene blue는 EDRF/ NO의 이완 작용과 cyclic GMP의 생성을 억제하기 때문이다.⁹⁾

3. 혈관 수축과 이완에 대한 연구

KCl에 대한 농도-반응 곡선은 이미 phentolamine (10^{-5} M)과 indomethacin (10^{-5} M)으로 40분 간 배양시킨 혈관 내피가 존재하지 않은 혈관운 (n=6)에서 측정하였다. 히스타민에 대한 수축 반응은 내피의 유무와 관련 없이 indomethacin (10^{-5} M) (n=7)에 배양시킨 모든 혈관운들에서 관찰하였다. 혈관 이완 작용을 연구하기 위하여 먼저 내피가 있는 혈관운을 indomethacin에 40분간 배양시킨 후 히스타민(5×10^{-6} M)에 노출시켰다. 히스타민에 의한 수축 반응이 평형 상태에 이른 후에 혈관 확장제에 대한 농도-반응 곡선을 얻었다. 긴장도가 적어도 100 mg을 보이지 않은 혈관운은 평활근이 손상된 것으로 생각하여 본 연구에서 제외시켰다. 내피가 건재한 혈관운은 길이-긴장도 (length-tension testing) 실험동안 일회량의 아세틸콜린 (10^{-6} M)에 노출시켰고, 히스타민에 의한 최대 혈관 수축의 적어도 30% 이상의 혈관 이완을 나타내지 못한 혈관은 실험에서 제외시켰다. 아세틸콜린에 대한 혈관 이완은 내피가 있는 것과 내피를 제거한 혈관운 모두에서 연구하였고(n=7) sodium nitroprusside에 대한 이완 반응은 내피가 없는 혈관운에서 측정하였다 (n=7).

4. 약 물

아세틸콜린, 히스타민(histamine hydrochloride), indomethacin과 sodium nitroprusside는 Sigma Chemical CO. (St. Louis, Mo)로부터 구하였고 phentolamine mesylate는 Ciba-Geigy Co (Summit, NJ)로부터 구하였다.

5. 통계분석

모든 실험에서 n은 혈관운을 분리한 실험동물의 숫자를 말한다. 결과는 평균치±표준편차(mean±SD)로 나

타내었다. 통계학적 분석은 혈관쌍으로 이루어졌고 (내피 존재 유무) Wilcoxon signed rank test를 사용하였다. 다른 나이군의 혈관운과의 결과를 비교하기 위해서는 Mann-Whitney test를 이용하였다. P 값이 0.05 미만일 때 통계적으로 의미있다고 판단하였다.

결 과

1. EDRF/NO의 존재

생후 3일된 토끼의 폐동맥 혈관에서 아세틸콜린으로 유도된 혈관 이완 작용이 혈관 내피 세포에 의해 나타나는 효과임을 polygraph를 이용하여 기록하였는데(Fig. 1), 혈관 이완은 히스타민으로 수축을 유도하는 동안 아세틸콜린 투여에 의한 혈관 긴장도 감소 정도를 %로 정의하였다. 예를 들면 히스타민(5×10^{-6} M) 투여로 인해 기저치로부터 500 mg 이상 혈관 긴장도가 증가되었고 아세틸콜린 투여시에는 기저치에서 100 mg의 혈관 긴장도를 보였다면 80%의 혈관 이완이 일어났다고 볼 수 있다. 아세틸콜린은 농도 의존성 이완 작용을 나타내었고(혈관 이완, $98.1 \pm 4.7\%$ at 10^{-6} M of acetylcholine), 이것은 혈관 내피 제거(혈관 이완, $3.8 \pm 12.5\%$), 헤모글로빈(5×10^{-5} M) 투여(혈관 이완 $1.2 \pm 1.3\%$)와 methylene blue (10^{-4} M) 투여(혈관 이완 $0.8 \pm 0.3\%$)에 의해 약화되었다(Fig. 1, 2).

2. 혈관 수축 작용

혈관 긴장도를 절대값인 mg으로 나타내었을 때 KCl 투여에 대한 생후 3일과 30일된 토끼에서 얻은 혈관 내피가 없는 혈관운들은 통계적으로 각각 다르게 수축을 보였는데, 생후 30일된 토끼의 혈관 수축 긴장도의 절대값이 생후 3일된 토끼에서보다 의미 있게 강하였다(Fig. 3). 생후 3일과 30일된 토끼에서 히스타민 투여로 유도한 혈관 수축은 절대값, mg으로 나타내었을 때 농도-반응 곡선에서 역시 한 형태를 보여주었는데, 30일된 토끼에서는 혈관내피가 없을 때 히스타민에 대한 혈관 수축이 3일된 토끼에서보다 더 강하게 나타났다(Fig. 4).

그러나 혈관 수축 길항제의 농도 변화 potassium chloride(10^{-2} to 9×10^{-2} M), histamine(5×10^{-8} to 10^{-5} M)에 따른 혈관 수축 정도를 혈관 최대 수축 긴장도

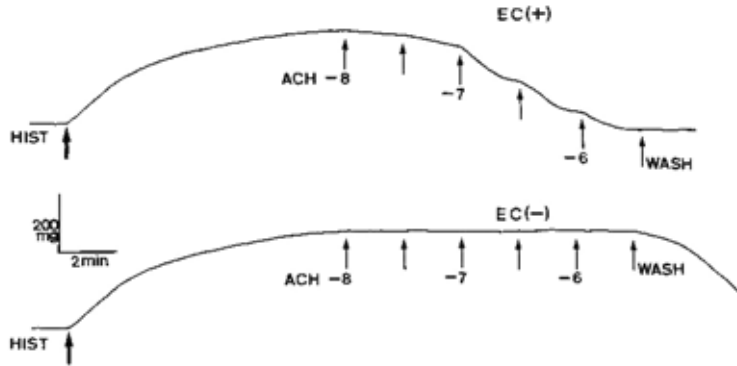


Fig. 1. Polygraph tracings demonstrating relaxation of a 3-day-old rabbit pulmonary artery rings with endothelium [EC(+)] by acetylcholine(ACH) during a contraction by histamine (HIST) (5×10^{-6} M). Removal of the endothelium [EC(-)] inhibited ACH-induced relaxation. Arrows indicate concentration of ACH (10^{-8} to 5×10^{-6} M)

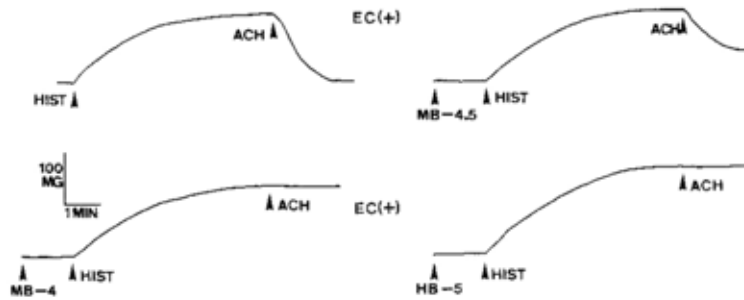


Fig. 2. Polygraph tracings demonstrating relaxation of a 3-day-old rabbit pulmonary artery rings with endothelium [EC(+)] by acetylcholine(ACH) (10^{-6} M) during a contraction by histamine (HIST) (5×10^{-6} M). Pre-incubation with methylene blue (MB) at concentrations of 5×10^{-5} M (-4.5) and 10^{-4} M (-4), and hemoglobin (HB) (10^{-5} M) markedly attenuated ACH-induced relaxation.

를 100%으로 설정한 후, 길항제의 농도 변화에 따른 수축 긴장도를 상대적인 비율로 표시할 경우 혈관 내피가 없는 생후 3일 및 30일 된 토끼의 폐혈관운의 혈관 수축 길항제 투여에 대한 농도-반응 곡선은 특별한 차이를 보이지 않았다(right panels in Fig. 3 and 4). 혈관 내피가 있는 폐혈관운들도 히스타민 투여 농도에 의존적으로 혈관 수축을 보였는데, 최대 혈관 수축을 100%으로 하고 상대적으로 히스타민 농도에 대한 혈관 수축 정도를 비율적으로 표시할 경우, 생후 3일된 토끼의 폐혈관운들은 혈관 내피가 있는 경우와 없는 경우에서 히스타민 농도-반응 곡선은 특별한 차이가 없었다(left panel in Fig. 5). 그러나 생후 30일된 토끼

의 폐혈관운들에서는 히스타민 투여 농도(특히 10^{-6} 및 5×10^{-6} M)에 대한 농도-반응 곡선은 혈관 내피가 있는 경우가 없는 경우에 비해 의의 있게 우측으로 이동되어 있음을 보였다(right panel in Fig. 5).

3. 혈관 이완 작용

아세틸콜린(10^{-8} to 5×10^{-6} M)을 투여할 경우 혈관 내피가 존재하는 폐혈관운에서 농도 의존성 혈관 이완 작용을 나타내었는데, 생후 3일된 토끼에서보다 생후 30일된 토끼의 폐혈관운들에서 더욱 현저하였다. 혈관 내피가 존재하지 않는 폐혈관에서는 농도 의존성 혈관 이완 반응이 없었다(Fig. 6).

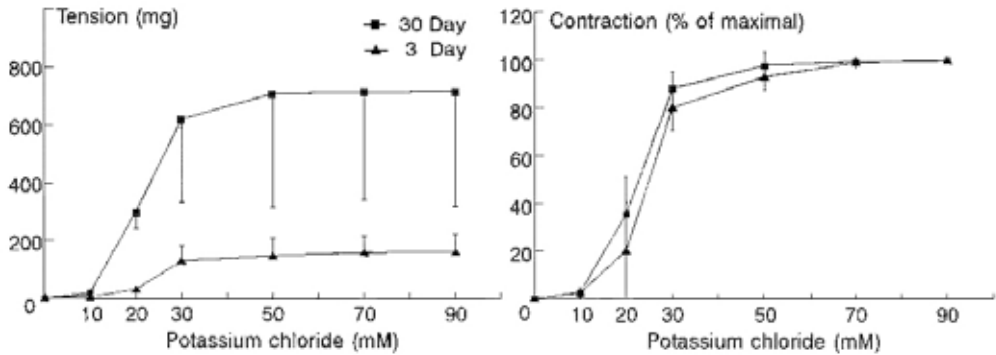


Fig. 3. Cumulative concentration-response curves to potassium chloride in pulmonary artery rings without endothelium, taken from 3 and 30-day-old rabbits (n=6). In the left panel, contractions are expressed in mg of tension developed to increasing cumulative concentrations of the agonist. In the right panel, these data are normalized to the maximal tension developed by the rings to the agonist and expressed as a percentage of change in tension to increasing cumulative concentrations of potassium chloride. Data are expressed as means±SD.

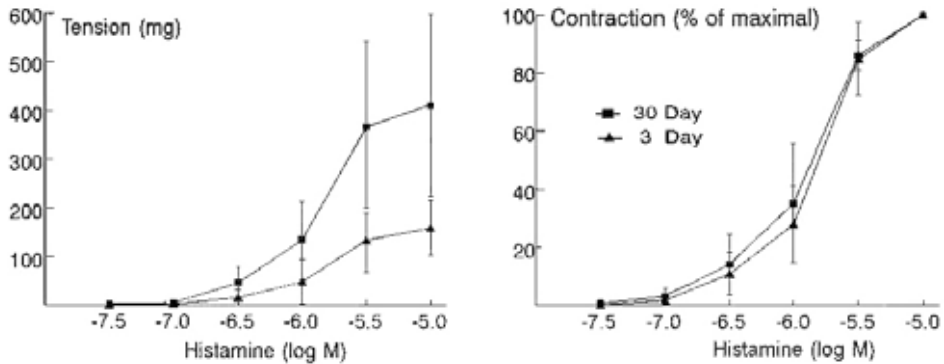


Fig. 4. Cumulative concentration-response curves to histamine in pulmonary artery rings without endothelium, taken from 3 and 30-day-old rabbits (n=7). In the left panel, contractions are expressed in mg of tension developed to increasing cumulative concentrations of the agonist. In the right panel, these data are normalized to the maximal tension developed by the rings to the agonist and expressed as a percentage of change in tension to increasing cumulative concentrations of histamine. Data are expressed as means±SD.

Sodium nitroprusside (10^{-8} to 5×10^{-6} M)는 혈관 내피가 존재하지 않는 폐혈관운에서 혈관 이완 작용을 나타내었는데 생후 3일과 30일의 폐혈관운들에서 비슷한 효과를 보였다(Fig. 7). 모든 혈관들이 길항제에 100% 이완되었다.

관 조절 기전에 의해 조절된다. 이런 기전에 대한 이해들이 그 동안 많은 연구를 통해 밝혀져 왔다. 혈관 내피가 EDRF/NO의 분비를 통해 혈관 긴장도 조절에 중요한 역할을 한다고 알려진 이래, 현재 NO,¹⁵⁾ prostacyclin,¹⁶⁾ bradykinin,¹⁷⁾ endothelium-derived hyperpolarizing factor (EDHF)¹⁸⁾와 같은 혈관 확장제와 endothelin (ET)-1,¹⁹⁾ thromboxane²⁰⁾ 같은 혈관 수축제가 혈관 내피로부터 분비되어 폐혈관 긴장도를 조절하는데 중요한 역할을 하는 것으로 알려졌다. 또한 한 가지 이상의 내피 세포 기원 매개 인자가 있고, 한 가

고 찰

혈류와 혈압은 반사적 기전, 체액성 기전과 국소 혈

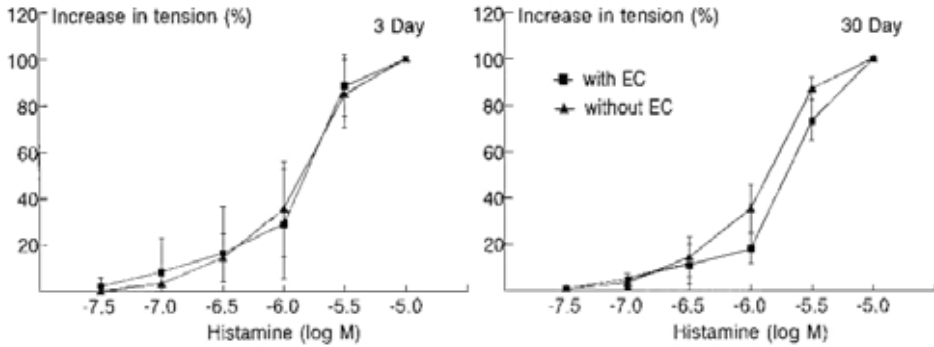


Fig. 5. Cumulative concentration-response curves to histamine in pulmonary artery rings with and without endothelium (EC) taken from 3 and 30-day-old piglets (n=7). These data are normalized to the maximal amount tension developed to the highest concentration of the agonist in each individual ring and expressed as the percentage of change (of the maximal contraction) in tension developed at each concentration. Data are expressed as the means±SD.

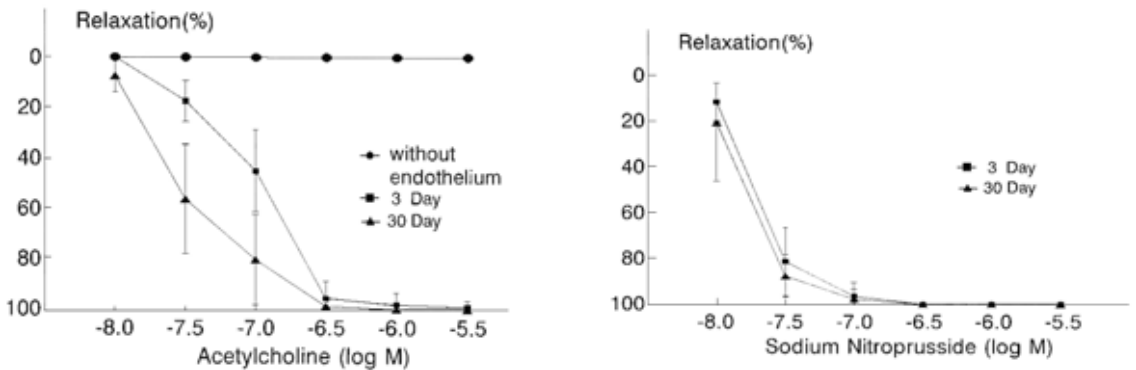


Fig. 6. Cumulative concentration-response curve to acetylcholine in pulmonary artery rings taken from 3 and 30-day-old rabbits (n=7). Rings were contracted with histamine (5×10^{-6} M), and the relaxations at each age group are expressed as the percentage of inhibition of the histamine contraction. Data are shown as means±SD.

Fig. 7. Cumulative concentration-response curve to sodium nitroprusside in pulmonary artery rings without endothelium taken from 3 and 30-day-old rabbits (n=6). The rings were contracted with histamine (5×10^{-6} M). Relaxations are expressed as the percentage of inhibition of the histamine contraction. Data are shown as means±SD.

지 매개 인자가 한 가지 이상의 여러 기전에 의해서 혈관을 확장시킨다고 제시되고 있다.^{18, 21-24)}

폐동맥압과 폐저항은 출생시 높은 상태를 보이다가 그 후 구조적인 변화와 기능적인 변화를 보이면서 빠르게 감소된다.^{8, 25-28)} 이런 변화를 보이는 정확한 기전은 아직 잘 모르지만 EDRF/NO가 그 중 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. EDRF/NO는 태생기나 신생동물의 폐로부터 분비되어 자궁내에서 기저 긴장도를 감소시키고 출생 후 폐혈관 저항의 감소에 기여한다.²⁸⁻³⁰⁾ 그러나 여러 길항제에 대한 내피 의존성 혈관 확장은 출생 후 3일까지는 없거나 약한 반응을 보

이며 그 후 생후 첫 주 동안 빠르게 그 반응이 증가한다.^{31, 32)}

혈관 평활근의 수축 반응은 내피가 없는 혈관의 KCl과 히스타민에 대한 농도-반응 곡선에서 보듯이 생후 3일과 30일된 폐혈관에서 질적으로는 비슷하다. 이것은 혈관 평활근의 수축 능력 또는 길항제에 대한 예민도에서 내피 의존성 반응이 폐혈관의 성숙함에 따른 차이가 없다는 것을 알 수 있다. 반대로 혈관 내피가 존재할 경우 내피가 없는 혈관과 비교하였을 때 생후 30일된 토끼의 폐혈관에서 히스타민에 대한 농도-폐혈관 수축 반응 곡선이 우측으로 이동하였음은 폐혈

관이 성숙함에 따라 EDRF/NO의 효과 또는 기저 분비 또는 그 효과가 증가한다는 것을 추측할 수 있다.³³ 성숙할수록 혈관 내피 세포에 의한 히스타민의 분해, 대사의 증가 또는 superoxide anions,^{35, 36} arachidonic acid^{37, 38}의 대사물, 또는 endothelin³⁹과 같은 내피 세포 기원 수축인자의 생성 저하가 또 다른 이유가 될 수 있다. 그러나 내피 세포에 의한 히스타민 대사의 변화를 증명하기는 어려우나 이러한 기전을 설명하는데 도움을 줄 수 있을 것으로 생각된다. superoxide anion 생성 또한 가능하나 EDRF/NO로 자극을 주기 전에 superoxide dismutase로 새끼 돼지의 혈관윤을 처치하였지만 이 혈관들의 반응이 바뀌지는 않았다.⁴⁰ 모든 실험에서 혈관윤을 indomethacin에 배양했기 때문에 cyclooxygenase 생성물 때문이라고도 말하기 어렵다. 성숙함에 따른 endothelin 생성의 감소가 원인일 가능성이 있지만 본 연구에서는 실험하지 않았다.

이 실험은 또한 EDRF/NO의 분비를 촉진하는 것으로 알려진 아세틸콜린³³에 대한 폐혈관 이완 반응이 성숙할수록 증가한다는 것을 증명하였다. Sodium nitroprusside에 대한 반응이 이 두 그룹의 혈관에서 비슷한 것으로 보아 이런 증가된 이완 반응은 혈관 평활근의 이완 능력의 변화 때문은 아닌 것으로 사료된다.

Cyclooxygenase의 억제제인 indomethacin이 있는 상태에서 실험하였기 때문에 혈관 확장제인 프로스타글란딘의 내인적 분비가 두 그룹에서의 이런 차이들을 설명할 수는 없다. 폐혈관이 성숙함에 따라 수용체 수의 증가나 수용체 결합의 증가 또한 두 그룹에서의 차이점을 설명할 가능성이 떨어진다. 왜냐하면 칼슘 이온 운반체인 A23187에 대한 반응이 수용체 매개로 인한 작용이 아님에도 불구하고 수용체 매개 길항제인 아세틸콜린 또는 bradykinin에서 보여지는 반응과 비슷하다.⁴¹

EDRF/NO 투여의 효과가 아세틸콜린, bradykinin, 칼슘 이온 운반체인 A23187를 투여하였을 때 관찰되는 것과 비슷하기 때문에 EDRF/NO의 분비 증가보다는 EDRF/NO에 대한 평활근 예민도의 증가가 이완 작용의 증가로 나타난다고 설명할 수 있다.⁴¹ 수용성 guanylate cyclase의 활성화 또는 양이 폐혈관이 성숙함에 따라 증가하고 결국 EDRF/NO에 대한 cyclic GMP 증가가 관여하는 분자 기전의 하나로 생각되나,⁴² sodium nitroprusside도 guanylate cyclase를 활

성화시키기 때문에⁴³ 내피를 제거한 혈관윤에서 보여지는 sodium nitroprusside에 대한 반응을 볼때 이 기전은 가능성이 떨어진다. EDRF/NO 또한 guanylate cyclase를 활성화시키나 EDRF/NO는 내피가 없는 혈관윤에서 농도 의존적 이완 작용을 일으켰는데 이것은 생후 3일된 토끼에서 보다 30일된 토끼에서 현저하게 나타났다.⁴¹ 그러나 sodium nitroprusside에 의해 유발된 이완은 sodium-potassium ATPase pump의 매개로 일어날 수 있다.⁴⁴ 이런 추가적인 기전이 EDRF/NO와 sodium nitroprusside에서 보여지는 결과들 사이의 모순을 설명할 수도 있을 것이다. 바꾸어 말해 EDRF/NO의 합성과 분비의 증가가 부분적으로는 성숙함에 따른 혈관 내피 의존적 길항제인 아세틸콜린에 대한 이완 반응의 증가를 설명할 수 있다. 그러나 EDRF/NO 실험은⁴¹ EDRF/NO에 대한 혈관 평활근의 예민도가 성숙함에 따라 변한다는 것을 강력하게 제시하고 있다.

생리학적으로 기저상태와 자극상태 모두에서 EDRF/NO의 효과 또는 분비의 증가가 신생아기동안 폐혈관 긴장도의 유지에 중요할 것으로 생각된다.

EDRF/NO의 기저 분비는 다른 종에서 분리한 동맥에서 이미 입증되었고^{34, 45} 혈관의 기저 긴장도의 유지에 관여 할 것으로 생각된다. EDRF/NO의 기저 분비의 감소는 고혈압이 있는 쥐에서 증명되었듯이⁴⁶ 아마도 고혈압이 가지는 말초 저항의 증가를 설명하는 데 도움이 될 것이다. 이런 주장은 EDRF/NO 생성의 길항제인 N^G-monomethyl-L-arginine 이 말초 저항과 혈압을 지속적으로 증가시키는 사실을 발견함으로써 설득력이 있게 되었다.⁴⁷ 비슷하게 이번 연구와 다른 실험에서 보았듯이 생후 3일된 토끼 또는 돼지를 생후 30일된 것과 비교하였을 때 EDRF/NO 효과 또는 분비가 자극상태와 기저상태 모두에서 감소된 것을 볼 수 있는데 이것은 출생직후에 보이는 폐혈압과 폐저항의 증가와 관련이 있을 것이다. 성숙함에 따른 EDRF/NO 분비 또는 효과의 증가가 주산기 폐동맥압과 폐동맥 저항의 감소에 중요한 역할을 할 것으로 생각된다. 본 연구의 결과들이 명확히 인과관계를 증명하지는 못했지만 EDRF/NO의 역할을 추측하는데 도움이 될 것으로 생각된다.

요 약

목적 : 1980년 혈관이 이완 작용을 위해서는 혈관 내피가 필요하다는 것을 알게된 이후로 많은 연구를 통해 혈관 내피가 여러 이완(EDRF/NO) 및 수축 인자를 분비하여 혈관 평활근을 조절하고 있다는 개념으로 확대되었다. EDRF/NO 합성은 출생시 폐혈관 저항의 감소에 기여하고 태아 및 신생아의 폐동맥에서 자극에 대한 반응으로 생성되어 기저 폐혈관 긴장도를 조절하고 있다. 본 연구는 신생 토끼의 폐동맥에서 EDRF/NO가 존재하는지와 성숙도에 따라서 신생토끼의 폐동맥으로부터 EDRF/NO의 분비 및 효과가 변화하는지를 알아보는 것을 목적으로 하였다.

방법 : 생후 3일(n=27)과 생후 30일(n=26)된 53마리의 흰 토끼를 대상으로 각 토끼의 폐동맥을 절개하여 동맥윤을 만든후 내피를 제거한 동맥윤과 내피가 건재한 동맥윤으로 나누었다. 히스타민으로 전처치한 각 동맥윤의 아세틸콜린에 대한 이완 반응을 아세틸콜린의 농도를 달리하여 관찰하였다. Wilcoxon signed rank test와 Mann-Whitney test를 사용하여 P 값이 0.05미만일 때 의미있다고 판단하였다.

결과 : 아세틸콜린은 농도 의존성 이완 작용을 나타내었고 이것은 혈관 내피 제거, 헤모글로빈과 methylene blue 투여에 의해 약화되었다. 생후 3일된 토끼에서 분리한 후 히스타민으로 전처치한 내피가 건재한 동맥윤에서 아세틸콜린은(10^{-6} M) 이완 작용을 나타내었다. 내피를 제거하였을 때에는 KCl과 (10^{-2} to 9×10^{-2} M) 히스타민 (5×10^{-8} to 10^{-5} M) 투여는 농도 의존성 폐혈관윤들의 수축을 보였다. 혈관 내피를 제거한 동맥윤에서 각 길항제에 대하여 최대 수축을 100%로 설정하고 길항제 투여 농도에 따른 혈관 수축 정도를 상대화 하였을 때 KCl과 히스타민에 대한 반응-수축 효과 곡선은 두 군에서 비슷하였다. 혈관 내피가 건재한 폐동맥윤에서 히스타민에 대한 농도-수축 효과 곡선은 생후 30일된 폐혈관윤에서 의의있게 우측 이동을 보였다. Sodium nitroprusside투여에 대한 혈관 이완 작용은 나이에 영향을 받지않았다. 혈관 내피가 건재할 때 아세틸콜린 투여는 (10^{-8} to 5×10^{-6} M) 생후 3일된 토끼에 비해 30일된 토끼의 동맥윤을 더욱

이완시켰다.

결론 : 본 연구에서는 혈관 내피 의존성 혈관 이완 작용이 성숙할수록 더욱 증가하는 것을 관찰할 수 있었는데 이것은 신생아기 동안 폐동맥으로부터의 EDRF/NO 분비 또는 효과의 변화 때문일 것이라고 생각된다.

참 고 문 헌

- 1) Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980; 288:373-6.
- 2) Palmer RMF, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 1987;327:524-6.
- 3) Ignarro LJ, Buga GM, Wood KS, Byrns RE, Chaudhuri G. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Pro Natl Acad Sci USA* 1987a; 84:9265-9.
- 4) Myers PR, Minor Jr RL, Guerra Jr R, Bates JN, Harrison DG. Vasorelaxant properties of the endothelium-derived relaxing factor more closely resemble S-nitrosocysteine than nitric oxide. *Nature* 1990;345:161-3.
- 5) Furchgott RF, Vanhoutte PM. The Endothelium-derived relaxing and contracting factors. *FASEB J* 1989;3:2007-18.
- 6) Angard E. Nitric oxide. mediator, murderer, and medicine. *Lancet* 1994;343:1199-206.
- 7) Rudolph AM. Fetal and neonatal pulmonary circulation. *Ann Rev Physiology* 1979;41:383-95.
- 8) Haworth SG, Hislop AA. Adaptation of the pulmonary circulation to extrauterine life in the pig and its relevance to the human infant. *Cardiovasc Res* 1981;15:108-19.
- 9) Leffler CW, Hessler JR. Perinatal pulmonary prostaglandin production. *Am J Physiol* 1981; 241:H756-9.
- 10) Davidson D, Eldemerdash A. Endothelium-derived relaxing factor. Presence in pulmonary and systemic arteries of the newborn guinea pig. *Pediatr Res* 1990;27:128-32.
- 11) Davidson D, Eldemerdash A. Endothelium-derived relaxing factor. Evidence that it regulates

- pulmonary vascular resistance in the isolated neonatal guinea pig lung. *Pediatr Res* 1991;29:538-42.
- 12) Abman SH, Chatfield BA, Hall SL, McMurtry IF. Role of endothelium-derived relaxing factor during transition of pulmonary circulation at birth. *Am J Physiol* 1990;259:H1921-7.
 - 13) Fineman JR, Soifer SJ, Heymann MA. The role of pulmonary vascular endothelium in perinatal pulmonary circulatory regulation. *Sem Perinatol* 1991;15:58-62.
 - 14) Zapol WM, Rimer S, Gillis N, Marletta M, Bosken CH. Nitric oxide and the lung. *Am J Respir Crit Care Med* 1994;149:1375-80.
 - 15) Fineman JR, Heymann MA, Soifer SJ. N ω -nitro-L-arginine-attenuates endothelium-dependent pulmonary vasodilation in lambs. *Am J Physiol* 1991;260:H1299-306.
 - 16) Davidson D. Pulmonary hemodynamics at birth : effect of acute cyclooxygenase inhibition in lambs. *J Appl Physiol* 1988;64:1676-82.
 - 17) Altura BM, Chand N. Bradykinin-induced relaxation of renal and pulmonary arteries in dependent upon and EDRF from rat blood vessels. *Br J pharmacol* 1981;74:10-1.
 - 18) Chen G, Suzuki H, Weston AH. Acetylcholine releases endothelium-derived hyperpolarizing factor and EDRF from rat blood vessels. *Br J pharmacol* 1988;95:1165-74.
 - 19) Yanagisawa M, Kurihara H, Kumara S, et al. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* 1988;332:411-5.
 - 20) Hamberg M, Svensson J, Samuelsson B. Thromboxanes. a new group of biologically active compounds derived from prostaglandin endoperoxides. *Pro Natl Acad Sci USA* 1975;72:2994-8.
 - 21) Cowan CL, Cohen RA. Two mechanisms mediate relaxation by bradykinin of pig coronary artery. NO-dependent and independent responses. *Am J Physiol* 1991;261:H830-5.
 - 22) Cowan CL, Palacino JJ, Najibi S, Cohen RA. Potassium channel-mediated relaxation to acetylcholine in rabbit arteries. *J Pharmacol Exp Ther* 1993;266:1482-9.
 - 23) Holzmann S, Kikovets WR, Windischhofer W, Paschke E, Graier WF. Pharmacologic differentiation between endothelium-dependent relaxations sensitive and resistant to nitro-L-arginine in coronary arteries. *J Cardiovasc Pharmacol* 1994;23:747-56.
 - 24) Pacicca C, Von Der Weid P, Beny JL. Effect of nitro-L-arginine on endothelium-dependent hyperpolarizations and relaxations of pig coronary arteries. *J Physiol* 1992;457:247-56.
 - 25) Hall S, Haworth SG. Conducting pulmonary arteries : structural adaptation to extra-uterine life. *Cardiovasc Res* 1986;21:208-16.
 - 26) Allen K, Haworth SG. Human post-natal pulmonary arterial remodelling. ultrastructural studies of smooth muscle cell and connective tissue maturation. *Lab Invest* 1988; 59:702-9.
 - 27) Zellers TM, Vanhoutte PM. Endothelium-dependent relaxations of piglet pulmonary arteries augment with maturation. *Pediatr Res* 1991;30:176-80.
 - 28) Perreault T, de Marte J. Maturation changes in endothelium-derived relaxations in newborn piglet pulmonary circulation. *Am J Physiol* 1993;264:H302-9.
 - 29) Abman SH, Chatfield BA, Hall SL, McMurtry IF. Role of endothelium-derived relaxing factor during transition of pulmonary circulation at birth. *Am J Physiol* 1990;259:H1921-7.
 - 30) Steinhorn RH, Morin FC III, Gugino SF, Giese EC, Russel JA. Developmental differences in endothelium-dependent responses in isolated ovine pulmonary arteries and veins. *Am J Physiol* 1993; 264:H2162-7.
 - 31) Liu SF, Hislop AA, Haworth SG, Barnes PJ. Developmental changes in endothelium-dependent pulmonary vasodilation in pigs. *Br J pharmacol* 1992;106:324-30.
 - 32) Abman SH, Chatfield BA, Rodman DM, Hall SL, McMurtry IF. Maturation changes in endothelium-derived relaxing factor activity of ovine pulmonary arteries in vitro. *Am J Physiol* 1991; 260:L280-5.
 - 33) Furchgott RF. Role of the endothelium in responses of vascular smooth muscle. *Circ Res* 1983;53:557-73.
 - 34) Martin W, furchgott RF, Villani GM, Lothianandan D. Depression of contractile responses in rat aorta by spontaneously released endothelium-derived relaxing factor. *J Pharmacol Exp Ther* 1986;237:529-38.
 - 35) Vanhoutte PM, Katusic ZS. Endothelium-derived contracting factor. endothelin and/or superoxide anion? *TIPS* 1988;9:229-30.
 - 36) Katusic ZS, Vanhoutte PM. Anoxic contractions in isolated canine cerebral arteries. Contribution of endothelium-derived factors, metabolites of arachidonic acid and calcium entry. *J Cardiovasc*

- Pharmacol 1986;8:S97-101.
- 37) Katusic ZS, Shepherd JT, Vanhoutte PM. Endothelium-dependent contractions to calcium ionophore A23187, arachidonic acid and acetylcholine in canine basilar arteries. *Stroke* 1988; 19:476-9.
- 38) Lushcer TF, Vanhoutte PM. Endothelium-dependent contractions to acetylcholine in the aorta of the spontaneously hypertensive rat. *Hypertension* 1986;8:344-8.
- 39) Yanagesawa M, Kurihara H, Kimura S, Tombe Y, Kobayoshi M, Mitsui Y, Yasaki Y, Goto K, Musaki T. A novel vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* 1988; 332:411-5.
- 40) Rubany GM, Vanhoutte PM. Superoxide anions and hyperoxia inactive endothelium-derived relaxing factors. *Am J Physiology* 1986;250:H822-7.
- 41) Zellers TM, Vanhoutte PM. Endothelium-dependent relaxations of piglet pulmonary arteries augment with maturation. *Pediatr Res* 1991;30: 176-80.
- 42) Rapoport RM, Murad F. Agonist-induced endothelium-dependent relaxations in rat thoracic aorta may be mediated through cGMP. *Circ Res* 1983;52:352-7.
- 43) Ignarro LJ, Kadowitz PJ. The pharmacological and physiological role of cyclic GMP in vascular smooth muscle relaxation. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1985;25:171-91.
- 44) Rapoport RM, Schwartz K, Murad F. Effect of sodium-potassium pump inhibitors and membrane-depolarizing agents on sodium nitroprusside-induced relaxation and cyclic guanosine monophosphate accumulation in rat aorta. *Circ Res* 1985;57:164-70.
- 45) Miller VM, Vanhoutte PM. Endothelial alpha-2-adrenoceptors in canine pulmonary and systemic blood vessels. *Eur J Pharmacol* 1985;118:123-9
- 46) Luscher TF, Raji L, Vanhoutte PM. Endothelium-dependent vascular responses in normotensive and hypertensive Dahl rats. *Hypertension* 1987b;9(suppl III):157-63
- 47) Rees DD, Palmer RMJ, Moncada S. Role of endothelium-derived nitric oxide in the regulation of blood pressure. *Proc Natl Acad sci USA* 1989;86:3375-8.