[UCI]I804:24011-200000231751

2006年 8月
碩士學位申請論文

생쥐 대장근에서 과분극으로 유발된 내향성 전류의 특성

朝鮮大學校 大學院
醫學科
李 恩 珠

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY
100355124 2006-09-07

생쥐 대장근에서 과분극으로 유발된 내향성 전류의 특성

The Characteristics of Hyperpolarization-induced Inward Current in Proximal Colonic Myocytes of Mouse

2006 年 8 月 日

朝鮮大學校 大學院

醫 學 科

李 恩 珠

생쥐 대장근에서 과분극으로 유발된 내향성 전류의 특성

指導敎授　尹 坪 晉

이 論文을 醫學碩士學位 申請論文으로 提出함

2006 年 4 月　日

朝鮮大學校 大學院

醫 學 科

李 恩 珠

李 恩 珠 의 碩士學位論文을 認准함

委員長　　大學校 敎授 _____ 印

委　員　　大學校 敎授 _____ 印

委　員　　大學校 敎授 _____ 印

2006 年 5 月　日

朝鮮大學校 大學院

목 차

그 림 설 명 ---------- 2

영 문 초 록 ---------- 3

I. 서 론 ---------- 5

II. 방 법 ----------7

1. 세포분리 ---------- 7

2. 세포막 전류의 기록 ---------- 7

3. 실험용액 ---------- 8

4. 실험에 사용한 약물 ---------- 8

III. 결 과 ---------- 9

1. 과분극에 의해 활성화되는 내향성 전류 ---------- 9

2. 세포외 K^+ 농도변화에 대한 효과 ---------- 10

3. 세포외 Na^+의 효과 ----------10

4. Ba^{2+}과 Cs^+의 효과 ----------11

IV. 고 찰 ----------21

V. 참고문헌 ---------- ---------- 25

그 림 설 명

Figure 1. Whole-cell hyperpolarization-induced inward currents were recorded in proximal colonic myocytes of mouse.

Figure 2. The single exponential function of hyperpolarization-induced inward currents and inactivation time constants.

Figure 3. Typical inactivation of hyperpolarization-induced inward currents by two pulse protocol.

Figure 4. Effects of changing external K^+ concentrations on the hyperpolarization-induced inward currents.

Figure 5. Effects of external Na^+-free on the hyperpolarization-induced inward currents.

Figure 6. Effects of external Ba^{2+} on the hyperpolarization-induced inward currents.

Figure 7. Pure Ba^{2+}-sensitive inward currents and current-voltage relationship.

Figure 8. Effects of external Cs^+ on the hyperpolarization-induced inward currents.

ABSTRACT

The characteristics of hyperpoarization-induced inward currents in proximal colonic myocytes of mouse

By Lee Hun Joo

Advisor: Prof. Yoon Pyung-Jin, Ph.D.

Department of Medicine, Graduate School, Chosun University

To characterize the hyperpolarization-induced inward currents, membrane currents were measured using a whole-cell patch clamp from isolated colonic myocytes of mouse. With 90 mM K^+ in bath, hyperpolarization-induced inward currents from -120 mV to 20 mV with 400 ms duration at a holding potential of -10 mV showed rapid activation, inactivation and inward rectification. The inactivation showed single exponential time course. Reduction of external K^+ to 60 mM decreased the amplitudes of the currents in whole test voltage range and shifted the reversal potential to more negative potential. The inactivation process and peak currents of hyperpolarization-induced inward currents were not affected by removing external Na^+. External Ba^{2+} blocked hyperpolarization-induced inward currents by dose-dependent manner and pure Ba^{2+}-sensitive currents showed strong inward rectification. Cs^+ also suppressed hyperpolarization-induced inward currents. Ba^{2+} and Cs^+-induced inhibition of hyperpolarization-induced inward currents was

voltage-dependent, and the extent of inhibition increasing with membrane hyperpolarization. These results suggest that inward rectifying K^+ channels may exist in proximal colonic smooth muscle and may play an important role in regulating membrane potential.

Key Words: Hyperpolarization-induced inward current, Inward rectifying K^+ current, Ba^{2+}-sensitive current, Colonic Myocytes.

I. 서 론

K^+ 통로는 평활근 세포막 전압을 유지하여 세포의 흥분성을 조절하고 있다. 평활근 수축은 세포외 Ca^{2+}의 유입이 필수적이며 세포막 전압의 변화에 의해서 유입이 결정된다. K^+ 통로의 폐쇄는 세포막의 저분극을 초래하고 이는 막전압-의존성 칼슘 통로 (voltage-dependent Ca^{2+} channel) 활성화를 유발하여 평활근 장력을 증가시킨다. 대조적으로 K^+ 통로의 개방은 세포막에 과분극이 초래됨으로써 막전압-의존성 칼슘 통로의 활성화가 억제되어 평활근 장력이 감소하게 된다. 평활근에는 약물학적 효과 및 생리학적 기능의 차이에 따라 크게 4가지 종류의 K^+ 통로가 존재한다 (Bolton & Beech, 1992). 칼슘-의존성 칼륨 통로(Ca^{2+}-dependent K^+ channel)는 세포막 전압의 저분극(depolarization)과 세포내 Ca^{2+} 농도의 상승에 의해 활성화되며 낮은 농도의 tetraethylammonium에 의해서 차단된다. 막전압-의존성 칼륨 통로 (voltage-dependent K^+ channel)는 세포막전압의 저분극에 의해서 활성화 되고 4-aminopyridine에 의해서 억제된다. 이 두 이온통로는 활동전압의 재분극에 관여하여 흥분을 종료시키는 생리학적 역할을 담당하고 있다. ATP-의존성 칼륨통로(ATP-dependent K^+ channel)는 세포의 대사와 관련된 통로로 세포내 ATP농도가 결핍시 활성화되는 막전압-비의존성을 보이며 sulfonylurea 계통의 약물(glibenclamide)에 의해 차단된다. Inward rectifier K^+ 통로는 세포막 전압의 과분극(hyperpolarization)과 세포외 K^+ 농도 증가에 의해서 활성화 되며 낮은 농도의 Ba^{2+}에 의해서 차단된다. 이 두 통로의 기능을 각각 차단하면 세포막 전압이 서서히 저분극 된다. 따라서 이 두 이온통로들은 세포의 안정막 전압을 유지시켜주는 매우 중요한 생리학적

역할을 담당하고 있다 (Quayle et al, 1995). 특히 inward rectifier K^+ 통로는 저분극시에도 강한 내향성 전류의 양상을 보여 저분극이 오랫동안 지속될 수 있도록 하는 생리학적 역할을 담당하고 있다. Inward rectifier K^+ 통로는 심장근 (Sakmann & Trube, 1984), 혈관 평활근 (Edwards et al, 1988) 및 골격근 (Gay & Stanfield, 1977)등 여러 조직에서 보고되었다. 또한 최근 고양이 식도 평활근에서도 이 통로가 존재한다고 보고되었다 (Ji et al, 2000). 그러나 다른 부위의 위장관 평활근에서의 존재는 전혀 알려져 있지 않다. 따라서 본 연구는 생쥐 대장 평활근 세포에서 과분극에 의해서 활성화되는 전류가 inward rectifier K^+ 전류임을 알아보고자 하며 약물학적, 생물리적 특성을 규명하여 대장 평활근에서의 생리학적 역할을 규명하고자 한다.

II. 실험방법

1. 세포분리

생후 20 일에서 30 일 사이의 마우스를 암수 구별 없이 실험동물로 사용하였다. Chloroform 를 사용하여 마취시킨 후 경척추를 탈구시켰다. 개복하여 근위부 대장부위를 적출하였다. 실온에서 Ca^{2+}이 들어있지 않는 Ca^{2+}-free Hanks' 용액(NaCl 125, KCl 5.36, NaOH 15.5, KH_2PO_4 0.44, Na_2HCO_3 0.36, glucose 10, sucrose 2.9, HEPES 11 mM, pH 7.35 by tris)으로 채워진 준비 용기 속에서 내강 부위를 노출 시켰다 현미경 밑에서 점막층을 박리하여 윤상근이 표면에 노출되게끔 깨끗이 분리하였다. 대장 평활근 조직을 0.1% collagenase, 0.1% trypsin inhibitor, 0.2% bovine serum albumin 이 들어있는 Ca^{2+}-free Hanks' 용액에 옮긴 다음 37°C 에서 10 - 12 분간 항온 소화시켰다. 소화시킨 후 Ca^{2+}-free Hanks' 용액으로 교체한 후 끝이 무딘 유리피펫을 사용하여 조심스럽게 진탕시켜 단일 세포를 분리하고 4°C 에 냉장 보관하였다. 모든 실험은 단일세포를 분리한 후 30 분 후에 시행하였으며 실온에서 시행하였다.

2. 막전류의 기록

분리된 세포들을 도립현미경(inverted microscope) 위에 설치되어 있는 작은 실험용기(300 μl)로 옮긴 후 분당 2-3 ml 속도로 세포외 용액을 관류시켰다. 유리전극의 저항은 3-5 MΩ의 것을 사용하였다. Patch clamp

증폭기(Axopatch 1-D, Axon Instruments, USA)를 통하여 나오는 신호는 digital oscilloscope(Hitachi, Japan), 생리기록기(Recorder 220, Gould, USA)를 통해서 관찰하였고, 고정전압과 자극전압의 조정 및 전류의 기록은 pClamp software v.6.0 (Axon Instruments, USA)와 IBM-compatible computer 를 사용하였다.

3. 실험용액

세포외 관류용액은 NaCl 52, KCl 90, $MnCl_2$ 1.8, glucose 5, $MgCl_2$ 1.2, HEPES 10 mM 을 사용하였으며 tris 를 사용하여 pH 를 7.4 로 교정하였다. 전극내 용액은 NaCl 10, KCl 102, $CaCl_2$ 1, ATP 5, GTP 1, $MgCl_2$ 1, EGTA 10 mM, pH 7.2 (KOH 로 교정)인 용액을 사용하였다.

4. 실험에 사용된 약물

$BaCl_2$, CsCl 은 Sigma 사로부터 구입하였다.

III. 실험결과

1. 과분극에 의해 활성화되는 내향성 전류

K^+ 전류의 크기를 증가시키기 위해 세포외를 90 mM K^+이 들어 있는 용액으로 관류하였으며 또한 낮은 농도의 Ca^{2+} (0.2 mM)를 사용하여 막전압-의존성 칼슘 통로와 칼슘-의존성 칼륨 통로의 활성화를 배제하였고 (Bauer et al, 1990; Quayle et al, 1993), 5 mM ATP를 전극내 첨가하여 ATP-의존성 칼륨 통로의 활성화를 배제하였다. 이러한 조건하에서 Nernst 식으로 계산한 K^+ 에 대한 평형전압은 -11 mV에 해당되었다. 유지전압 -10 mV에서 -120 mV 부터 20 mV 까지 400 ms 동안 10 mV씩 단계별로 과분극 자극을 주게 되면 내향성 방향으로 활성화 되는 전류가 발생이 된다 (Fig 1A and B). 내향성 방향으로 활성화된 전류는 과분극 자극시 빠른 활성화(activation)와 비활성화(inactivation)가 동반되었으며 과분극 전압이 증가할수록 빠르고 크게 초래되어 뇌하수체 세포 (Bauer et al, 1990)에서 기록된 전류와 유사하였다. 전류-전압(current-voltage relationship) 그래프에서 과분극에 의해 초래된 내향성 전류는 -120 mV에서 최대크기를 보였으며 역전전압은 약 -11 mV를 나타냈다 (Fig. 1C). 과분극에 의해 발생되는 비활성화는 일차 지수 함수양상을 보였으며 time constant는 -120 mV 에서는 47.7 ± 7.2 ms, -110 mV에서 64 ± 14.3 ms, -100 mV에서 93 ± 28.8 ms, -90 mV에서는 128.3 ± 42 ms를 각각 보였다 (Fig. 2A and B, n=5). 과분극에 의해 활성화되는 내향성 전류의 비활성화 양상을 알아보기 위하여 -120 mV에서부터 -10 mV 까지 2초 기간의 자극을 준 다음 이어서 -120 mV로 다시 과분극

자극을 주었다 (Fig. 3A). Fig. 3B는 자극의 결과 얻은 결과를 요약한 것이다. Boltzman 함수로 나타낸 비활성화-전압곡선에서 50 %로 비활성화 되는 전압 (half-inactivation potential)은 -91.4 ± 12.4 mV (n=6)를 보였다.

2. 세포외 K^+ 농도변화에 대한 효과

과분극에 의해 활성화 되는 전류의 이온 선택성 여부를 알아보기 위하여 세포외 K^+ 농도를 변화시켜 관류시켰다. K^+ 농도를 90 mM에서 60 mM로 치환 후 관류시 내향성 전류의 크기가 감소되었다 (Fig. 4A and B). 역전전압은 90 mM의 -11 mV에서 60 mM의 -21 mV로 K^+의 평형전압 값으로 이동되었다 (Fig. 4C).

3. 세포외 Na^+의 효과

과분극에 의해 활성화 되는 내향성 전류에 대한 Na^+의 효과를 관찰하기 위하여 세포외 Na^+농도를 0 mM로 (대신 동량의 NMDG로 치환하였음) 하여 관류시켰다. Fig. 5는 Na^+이 들어있는 상태에서 기록된 전류(B)와 Na^+이 제거된 용액에서 기록된 전류(C)를 보여주고 있다. Fig. 5D는 이 들 전류들에 대한 최대 크기를 전류-전압곡선에 나타낸 그림이다. Na^+제거 후 기록된 전류는 대조군과 큰 변화를 보이지 않았다. 전류의 크기가 일정하였으며 역전전압의 이동도 나타나지 않았다. 따라서 과분극에 의해 활성화 되는 내향성 전류는 세포외 Na^+농도와는 무관함을 알 수 있다.

4. Ba^{2+}과 Cs^{+}의 효과

Ba^{2+}는 inward rectifying K^{+} 전류의 효과적인 차단제로 알려져 있다. 그러나 Ba^{2+}에 대한 반응민감도는 세포들 마다 서로 다르게 보고되고 있다. 혈관 평활근 (Edwards & Hirst, 1988; Quayle et al, 1993), 신경세포 (Yamaguchi et al, 1990) 그리고 corticotropes (Kuryshev et al, 1997)에서는 Ba^{2+}이 μM농도에서 inward rectifying K^{+} 전류를 효과적으로 차단하는 것으로 알려져 있다. 그러나 뇌하수체 (Bauer et al, 1990)와 parotid 세포 (Ishikawa &Cook, 1993)에서는 inward rectifying K^{+} 전류를 차단하기 위해서는 상대적으로 높은 농도 (mM)가 필요한 것으로 보고되어 있다. 본 연구에서는 과분극에 의해 활성화 되는 내향성 전류가 2 mM의 Ba^{2+}에 의해서도 완전히 차단되지는 않았다. Fig. 6 A-D는 대조전류와 0.5 mM에서부터 2mM 까지 Ba^{2+}을 투여한 후 기록된 전류를 보여주고 있다. 과분극에 의해서 활성화된 전류는 Ba^{2+}에 의해 농도-의존적으로 억제되었다. -120 mV에서 2 mM Ba^{2+}에 의해 65 ± 2 % 억제되었으며 -100 mV에선 50 ± 3 % (n=4) 억제되었다 (Fig. 6E). Fig. 7B은 순수히 Ba^{2+} 에 민감한 전류만을 보여주고 있다. 대조군에서 2 mM Ba^{2+}에서 기록된 전류를 차감하여 얻은 결과를 전류-전압 곡선에 나타내면 inward rectification 양상을 나타낸다 (Fig. 7C). Cs^{+} 또한 여러 조직에서 막전압-의존적으로 inward rectifying K+ 전류를 차단시키는 것으로 알려져 있다 (Hagiwara et al, 1976; Tamaguchi et al, 1990). Fig. 8A-C는 Cs^{+} 1mM를 투여하기 전과 투여 후 과분극에 의해 활성화되는 내향성 전류를 나타내고 있다. Cs^{+} 1 mM 투여시 과분극에 의해 활성화되는 내향성 전류가 억제되었다. 1 mM Cs^{+}는 -

120 mV에서 47.8 ± 11.4 % (n=5)까지 차단하였다.

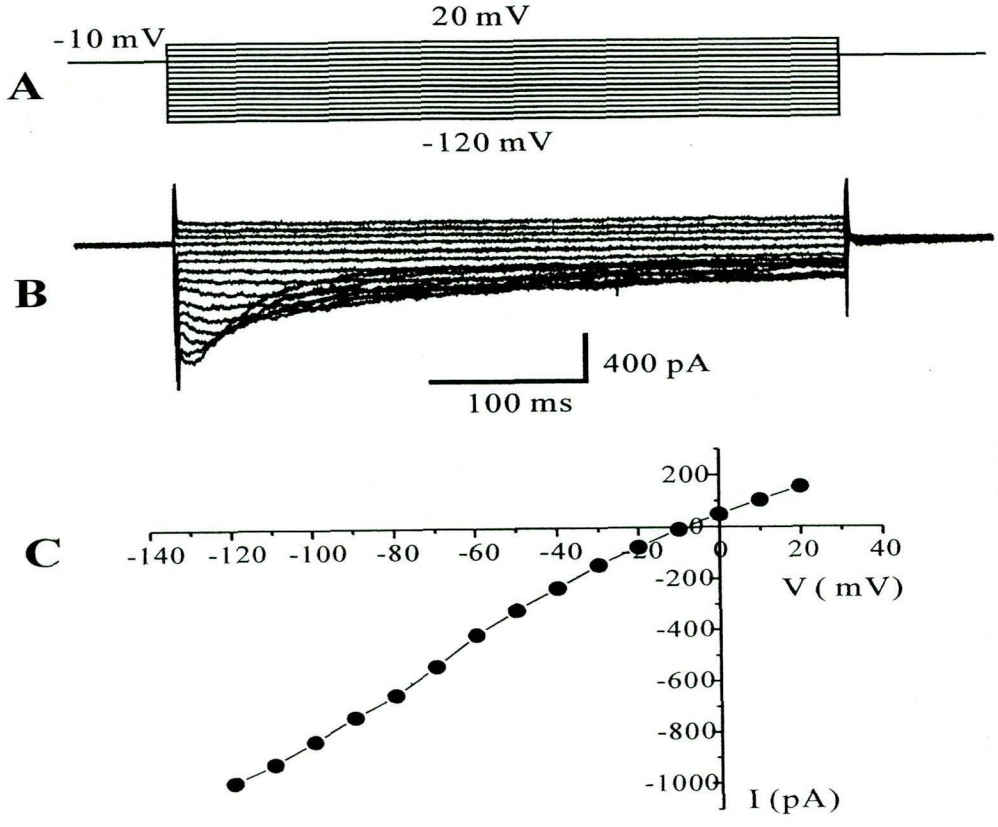

Figure 1. Whole cell hyperpolarization-induced inward current recorded in proximal colonic myocytes of mouse. A; hyperpolarizing voltage step protocol. Test pulses were applied from -120 mV to 20 mV with 400 ms duration at a holding potential of -10 mV. B; typical traces of whole cell inward currents were recorded by external 90 mM K^+. C; current-voltage relationship of the peak amplitudes of the inward currents showed strong inward rectification.

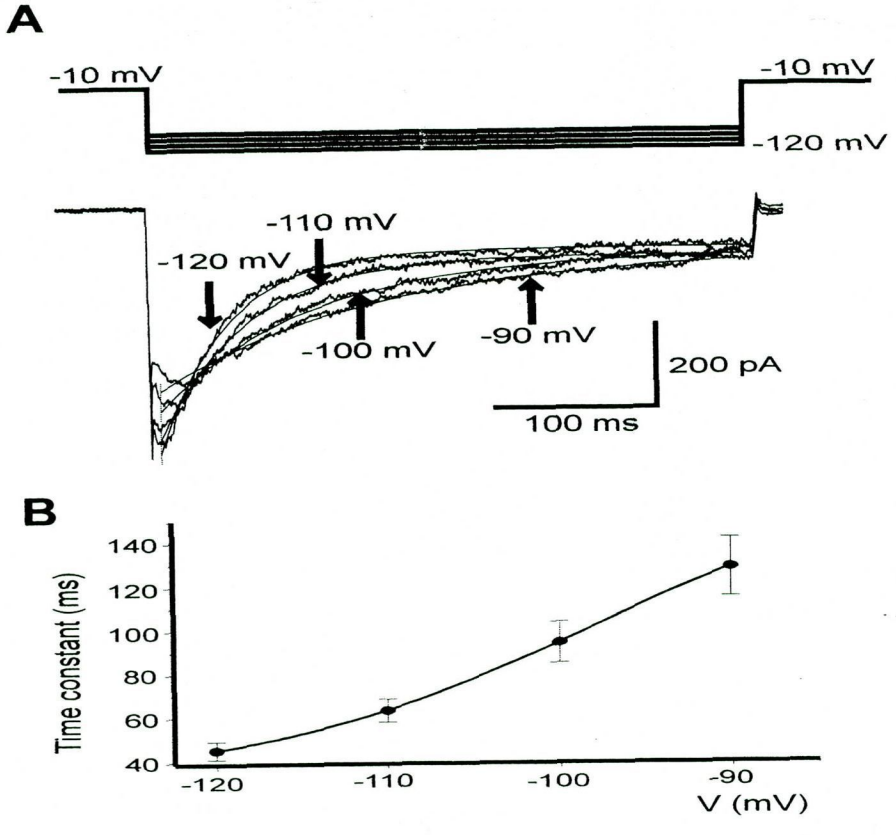

Figure 2. The single exponential function of hyperpolarization-induced inward currents and inactivation time constants. A; current traces recorded from -120 mV to -90 mV at a holding potential -10 mV. Single-exponential functions were fitted to the declining part of the current traces during hyperpolarization and are superimposed for hyperpolarization to -120, -110, -100 and -90 mV. B; time constants as a function of test potentials.

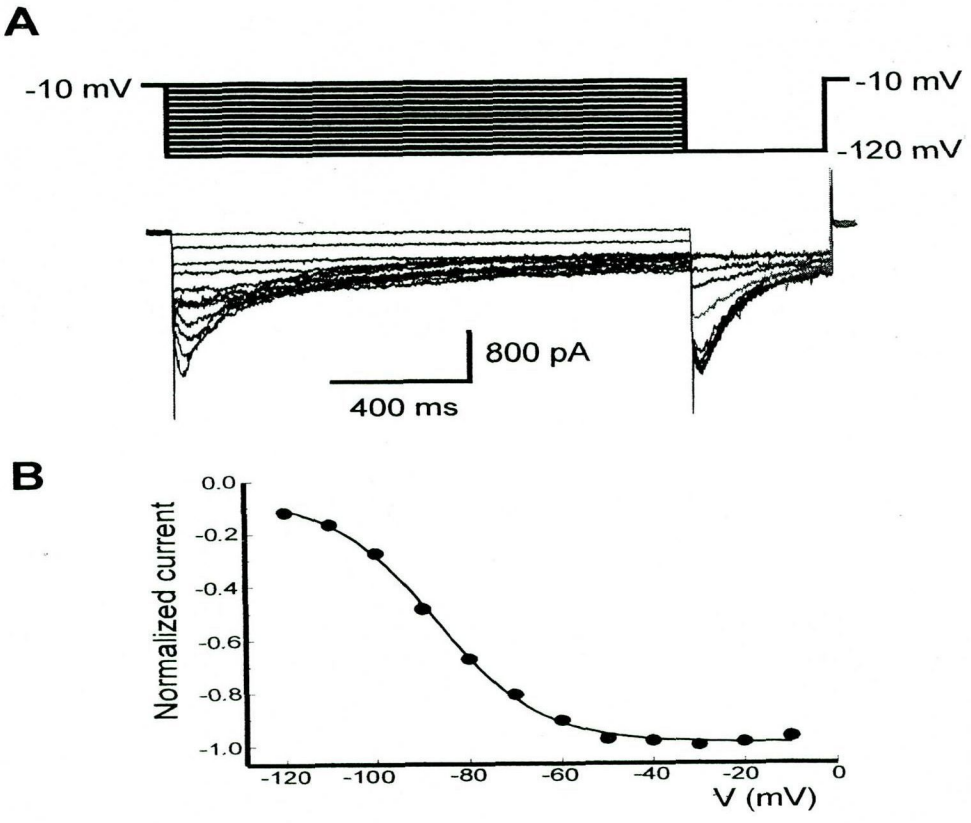

Figure 3. Typical inactivation of hyperpolarization-induced inward currents produced by two pulse protocol. Membrane potential was stepped to conditioning potentials between -120 mV to -10 mV for 2 sec and then stepped to a test potential of -120 mV. A; protocol and control current traces. B; the voltage dependence of inactivation of the hyperpolarization-induced inward current is shown as a plot of normalized peak inward currents during the test step as a function of the conditioning potential. Data were fitted to the function: $I/Imax = 1/1\{1+\exp(V-V_{half})/k\}$. Where Imax is the amplitude of the current, V is the value of the test potential, V_{half} is the potential at which 50 % of the current was inactivated, and k is the slop of the curves. V_{half} and k were -91.4 ± 12.4 mV and 6.8.

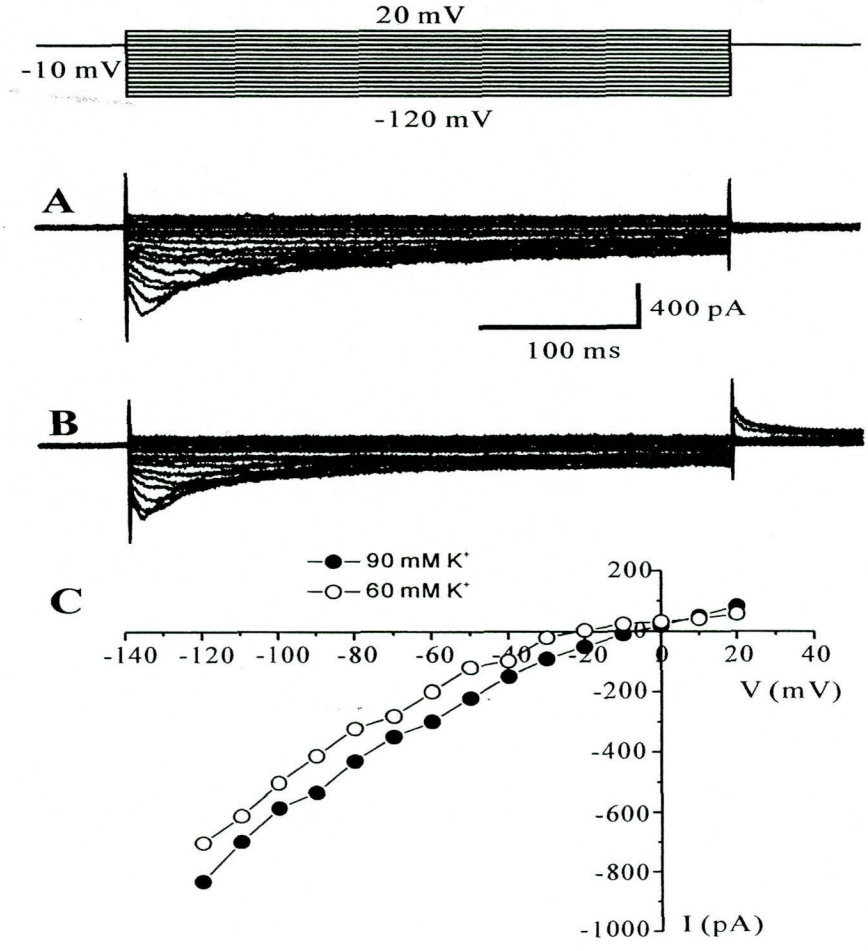

Figure 4. Whole cell hyperpolarization-induced inward currents recorded in colonic myocytes. A; control current traces in external 90 mM K^+. B; current traces in external 60 mM K^+. The amplitude of hyperpolarization-induced inward currents in external 60 mM K^+ was smaller than in external 90 mM K^+. C; current-voltage relationship of the peak amplitudes of the inward currents. The inward currents were decreased and the reversal potential shifted to more negative potential in external 60 mM K^+

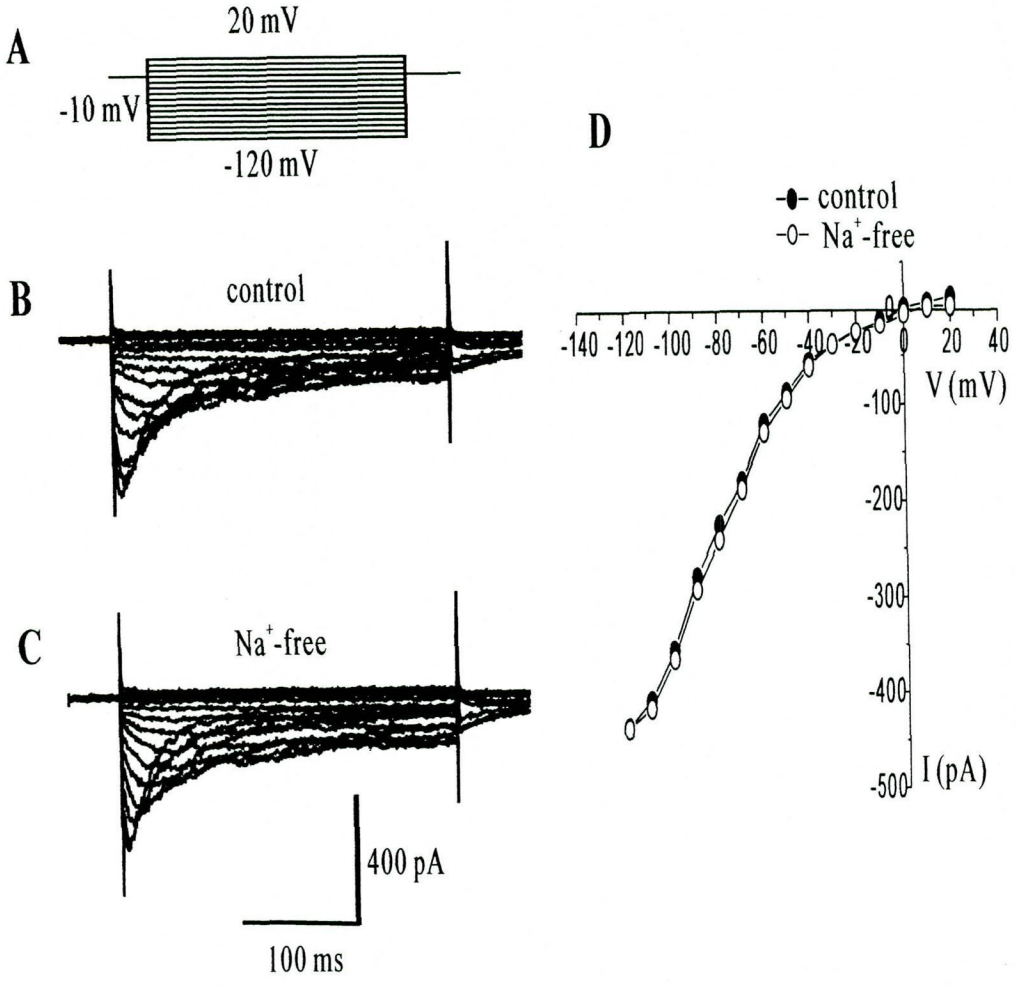

Figure 5. Effects of external Na^+-free on the hyperpolarization-induced inward currents. A; protocol. B; control membrane currents recorded by external 90 mM K^+. C; membrane currents recorded in the absence of external Na^+-free. The current amplitude was affected little by Na^+-free. External Na+ -free did not influence inactivation of the hyperpolarization-induced inward currents. D; current-voltage relationship of the peak currents, shown A and B. The reversal potential was not changed in the absence of external Na^+.

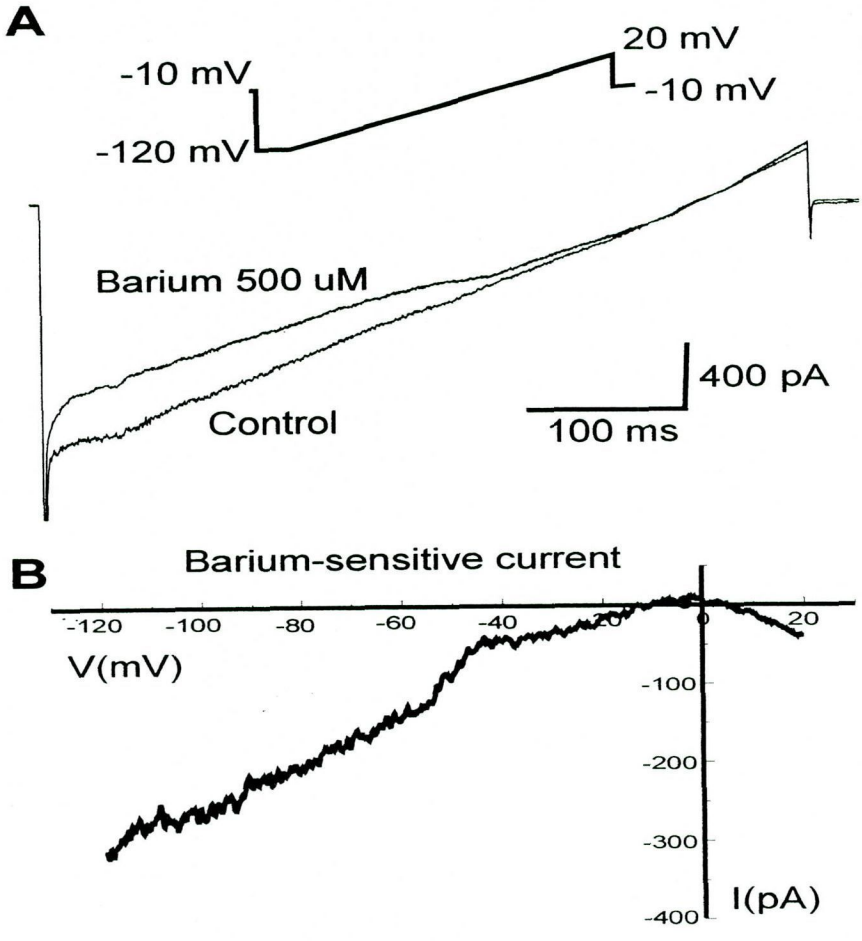

Figure 6. Effects of external Ba^{2+} on the hyperpolarization-induced inward currents. A-D; current traces in the control and after the application of Ba^{2+}. Ba^{2+} of 0.5 to 2 mM dose-dependently inhibited the currents. E; current-voltage relationship was obtained by plotting the peak amplitudes of the currents.

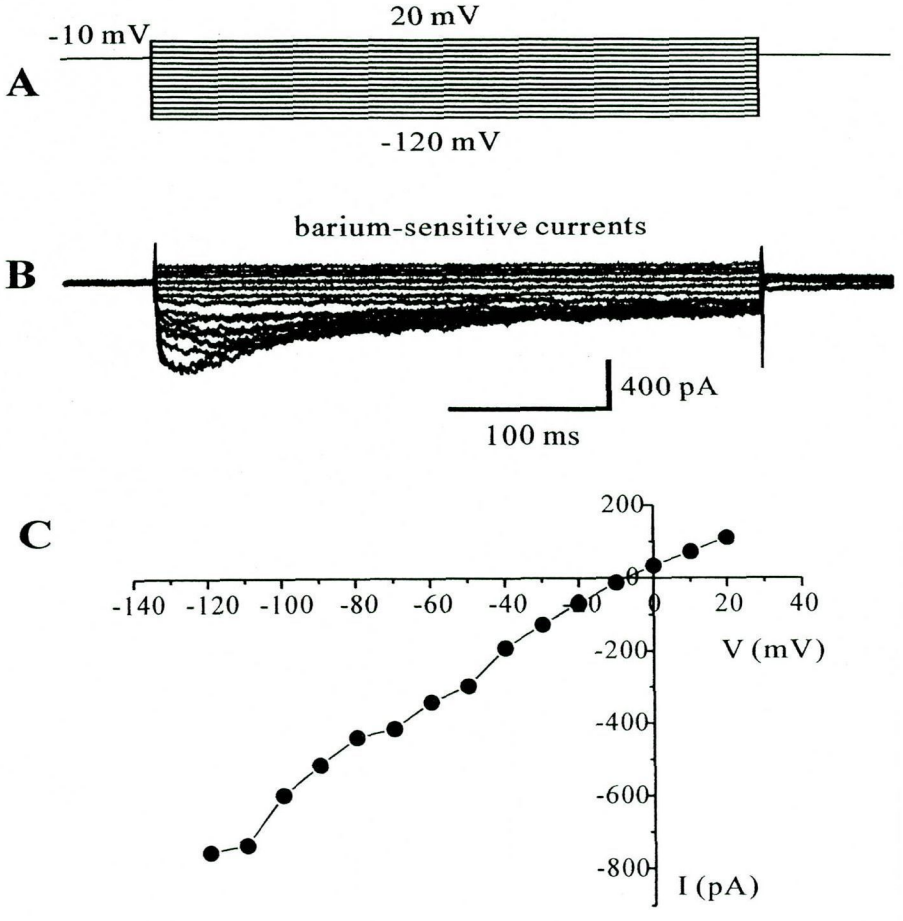

Figure 7. Ba^{2+}-sensitive currents of the hyperpolarization-induced inward currents. A; protocol. B; pure Ba^{2+}-sensitive currents. The difference currents obtained by subtracting currents obtained in the presence of Ba^{2+} (2 mM) from control currents. C; current-voltage relationship was obtained by plotting the peak amplitudes of the Ba^{2+}-sensitive currents.

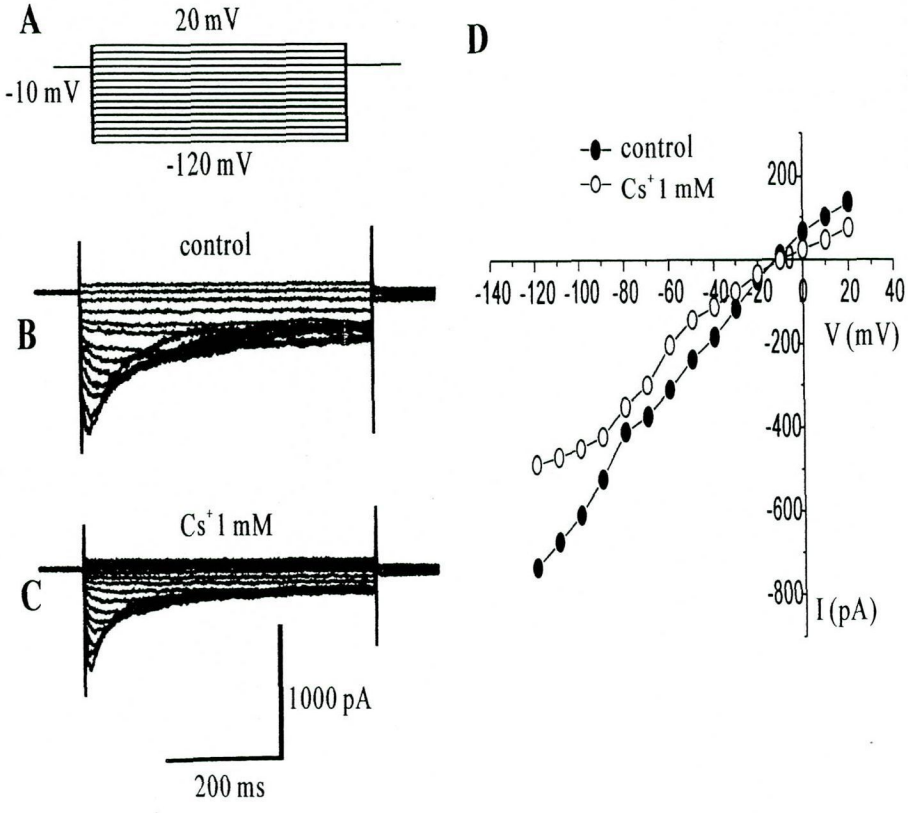

Figure 8. Effects of external Cs^+ on the hyperpolarization-induced inward currents. A; protocol. B; control membrane currents recorded by external 90 mM K^+. C; membrane currents recorded in the presence of Cs^+ (1 mM). Cs^+ inhibited the amplitudes of the hyperpolarization-induced inward currents. D; current-voltage relationship was obtained by plotting the peak amplitudes of the currents.

IV. 고 찰

본 연구에서 기록된 과분극에 의해서 활성화되는 전류는 다른 조직에서 보고된 inward rectifying K^+ 전류와 유사함을 나타내어 대장 평활근에도 inward rectifying K^+ 통로가 존재함을 확인하였다. Inward rectifying K^+ 전류의 공통적인 특징은 다음과 같다. 1) 전류의 비활성화 과정은 전압과 시간에 의존함을 나타냈다. Inward rectifying K^+ 전류의 비활성화 과정은 음성전압이 커질수록 빠르고 크게 이루어지고 단일 지수함수적인 시간경과를 나타낸다 (Bauer et al, 1990; Hoyer et al, 1991; Barros et al, 1992; Corrette et al, 1996). 본 연구에서 과분극에 의해 활성화된 전류는 시간과 전압에 의존하여 비활성화 진행양상을 보였다. 또한 비활성화가 단일 지수함수적인 시간경과를 나타냈다. 2) Inward rectifying K^+ 전류는 K^+ 이온에 대해 매우 선택적이며 세포외 K^+ 농도 증가시 이온 전도도가 증가된다 (Hagiwara & Takahashi, 1974; Quayle et al, 1996; Tare et al, 1998). 본 연구에서 세포외 K^+ 농도를 90 mM에서 60 mM로 감소시 전류의 크기가 자극 전압의 전 범위에서 감소되었으며 역전전압도 예측되는 K^+ 의한 평형전압 값으로 이동되었다. 3) Inward rectifying K^+ 전류는 세포밖 Ba^{2+} 또는 Cs^+에 민감하며 강한 내향성의 정류 (inward rectification)양상을 보인다. Ba^{2+}과 Cs^+는 inward rectifying K^+ 전류를 억제하며 그 정도는 음성전압이 커질수록 증가하여 막전압-의존성 억제양상을 나타낸다 (Edward & Hirst, 1988; Quayle et al, 1996; Jow & Numann, 1998). 본 연구에서 과분극에 의해 활성화된 전류는 Ba^{2+}과 Cs^+에 의해 억제되었으며 억제되는 정도는 음성전압이 커질수록 증가되었다. 또한 순수한 Ba^{2+}-민감성 전류는

강한 내향성 정류양상을 나타냈다. 따라서 본 연구에서 기록된 과분극에 의해 활성화 되는 전류는 다른 조직에서 보고된 inward rectifying K^+ 전류와 특성이 유사하여 대장 평활근에서도 inward rectifying K^+ 통로가 존재하며 평활근 운동성과 관련하여 생리학적 역할을 담당하고 있으리라는 것을 제시한다.

본 연구에서 과분극에 의해 활성화된 전류의 특성은 토끼 공장(Benham et al, 1987) 과 쥐 방광 평활근 (Green et al, 1996)에서 기록되는 전류와는 차이가 있다. 여기에서 기록된 전류는 심장이나 신경의 과분극에 의해 활성화되는 양이온 전류의 특성을 나타낸다. 이 들 조직에서 기록된 내향성 전류의 특성은 활성화가 서서히 나타나며 비활성화 과정은 보이지 않는다. 또한 상대적으로 세포외 Ba^{2+}에 의해서 억제되지 않으며 Na^+이 투과하는 양상을 보여 세포외 Na^+ 농도 변화시 역전전압이 변화하는 양상을 나타낸다. 그러나 본 연구에서 기록된 전류는 비활성화 과정이 발생되었고 또한 세포외 Na^+ 농도 변화시 전류의 크기 및 역전전압의 변화가 없었으며 오직 K^+ 농도 변화에 의해서 역전전압이 이동되었다. 따라서 생쥐 대장 평활근에서 기록되는 전류는 K^+ 에 매우 선택적임을 시사한다.

Inward rectifying K^+ 전류의 비활성화가 일어나는 기전이 일부 세포에서 보고되었다. 골격근에서는 세포외 K^+ 농도가 결핍되면서 시간-의존성 전도도의 변화에 의해서 발생된다고 보고되었으며 (Standen & Stanfield, 1979) 신경에서는 시간 및 전압-의존성으로 세포외 Na^+에 의한 차단으로 발생된다고 보고되었다 (Standen & Stanfield, 1979). 또한 심장근세포에서는 내인성 전압-의존성으로 인해 발생된다고 보고되었다 (Sakmann & Trube, 1984). 본 연구에서는 K^+ 농도를 저하시키거나 Na^+를 완전히 제거한

경우에도 여전히 비활성화가 발생되었다. 따라서 대장 평활근에서 기록되는 inward rectifying K^+ 전류의 비활성화는 내인성 시간 및 전압-의존성으로 인하여 발생되는 것으로 사료된다.

식도 평활근 세포에서 보고된 inward rectifying K^+ 전류 또한 K^+ 에 선택적이고 mM 농도의 Ba^{2+} 및 Cs^+에 차단됨을 보여주고 있다 (Ji et al, 2000). 그러나 본 연구와는 달리 비활성화 양상은 보이지 않고 있다. Inward rectifying K^+ 통로는 분자 아형에 따라 여러 종류로 나누어진다. 따라서 본 실험과의 차이는 아마도 서로 다른 inward rectifying K^+ 통로 때문으로 사료된다. 사람의 microglia (Arcangeli et al, 1995)에서 보고된 ether-a-go-go-related gene (HERG) K^+ channels은 또 다른 inward rectifying K^+ 통로로서 안정막 전압을 조절하는 통로로 알려져 있으며 식도 윤상근 세포에서도 이 전류와 유사한 특성을 기록하여 존재가능성을 제시하고 있다 (Akbarali et al, 1999). Inward rectifying K^+ 통로는 분자구조상 2개의 transmembrane domain으로 구성되어 있는 반면 HERG K^+ channel은 6개의 transmembrane domain으로 구성되어 있다 (Trudeau et al, 1995). 이 통로를 통해 기록된 전류 또한 과분극에 의해서 활성화되고 시간과 전압에 의존해서 비활성화가 발생된다. 그러나 이 전류의 특징은 상대적으로 높은 농도의 Ba^{2+} (mM 수준)에서 억제되는 양상을 보인다. 본 연구에서도 Ba^{2+}에 의해 억제되는 정도가 mM수준에서 이루어졌다. 따라서 생쥐 대장 평활근에서 과분극에 의해 활성화 되는 전류가 HERG K^+ 전류 유사한 전류임을 배제할 수 없으며 이를 확인하기 위해서 실험을 더 진행해야 하리라 생각된다.

결론적으로 생쥐 대장의 평활근에서도 inward rectifier K^+ 통로가 존재하리라

생각되며 위장관 평활근세포에서 안정막 전압 형성에 관여하여 세포의 흥분성을 조절하는 생리학적 역할을 하리라 생각된다.

V. 참고문헌

Akbarali HI, Hemant T, Xuo DH, Giles WR, Goyal RK. Role of HERG-like K^+ currents in opossum esophageal circular smooth muscle. Am J Physiol 277: C1284-C1290.

Arcangeli A, Bianchi L, Becchetti A, Faravelli L, Coronnello M, Mini E, Olivotto M, Wanke E. A novel inward rectifying K^+ current with a cell-cycle dependence governs the resting potential of mammalian neuroblastoma cells. J Physiol 489: 455-471, 1995.

Barros F, Delgado LM, Camino D, Pena P. Characteristics and modulation by thyrotropin-releasing hormone of an inwardly rectifying K^+ current in patch-perforated GH3 anterior pituitary cells. Pflügers Arch 422: 31-39, 1992.

Bauer CK, Meyerhof W, Schwarz JR. An inward-rectifying K^+ current in clonal rat pituitary cells and its modulation by thyrotropin-releasing hormone. J Physiol 429: 169-180, 1990.

Benham CD, Bolton TB, Denbigh JS, Lang RG. Inward rectification in freshly isolated single smooth muscle cells of the rabbit jejunum. J Physiol 383: 461-476, 1987.

Bolton TB, Beech DJ. Smooth muscle potassium channels; their electrophysiology and function. In Potassium Channel Modulators. Oxford:Blackwell Scientific Publications. Ed. Weston, A.H. & Hamilton, T.C. pp144-180, 1992.

Corrette BJ, Bauer CK, Schwarz JR. An inactivating inward rectifying K^+ current in prolactin cells from pituitary of lactating rats. J Mem Biol 150: 185-195, 1996.

Difrancesco D. The cardiac hyperpolarizing-activated current, i_f. Origins and developments. Pro Biophy Mole Biol 46: 163-183, 1985.

Edwards FR, Hirst GDS. Inward rectification in submucosal arterioles of guinea-pig ileum. J Physiol 404: 437-454, 1988.

Edwards FR, Hirst GDS, Silverberg GD. Inward rectification in rat cerebral arterioles: involvement of potassium ions in autoregulation. J Physiol 404: 455-466, 1988.

Gay LA, Stanfield PR. Cs^+ cause a voltage-dependent block of inward K currents in resting skeletal muscle fibers. Nature 267: 1068-1072, 1994.

Green ME, Edwards G, Kirkup AJ, Miller M, Weston AH. Pharmacological characterization of the inwardly-rectifying current in the smooth muscle cells of the rat bladder. Br J Pharmacol 119: 1509-1518, 1996.

Hagiwara S, Miyazaki S, Rosenthal NP. Potassium current and the effect of cesium on this current during anomalous rectification of egg cell membrane of a starfish. J Gen Physiol 67: 621-638, 1976.

Harvey RD, Ten Eick RE. Characerization of the inward rectifying potassium current in cat ventricular myocytes. J Gen Physiol 91: 593-604, 1988.

Hoyer J, Popp R, Meyer J, Galla HJ, Gogelein H. Angiotensin II, vasopressin and GTP[r-S] inhibits inward-rectifying K^+ channels in

porcine cerebral capillary endothelial cells. Memb Biol 123: 55-62, 1991.

Hu Q, Shi YL. Characterization of an inward-rectifying potassium current in NG108-15 neuroblastoma x glioma cells. Pfugers Arch 433: 617-625, 1997.

Ishikawa T, Cook DI. Effects of K^+ channel blockers on inwardly and outwardly rectifying whole-cell K currents in sheep parotid secretory cells. J Memb Biol 139: 29-41, 1993.

Ji J, Salapatpek AM, Diamant N. Inwardly rectifying K^+ channels in esophageal smooth muscle. Am J Physiol 279: G951-G960, 2000.

Jow F, Numann R. Divalent ion block of inward rectifier current in human capillary endothelial cells and effects on resting membrane potential. J Physiol 512: 119-128, 1998.

Knot HJ, Zimmermann PA, Nelson MT. External K^+ induced dilations of rat coronary and cerebral arteries involve inward rectifier K^+ channels. J Physiol 492: 419-430, 1996.

Kuryshev YA, Haak L, Childs GV, Ritchie K. Corticotropin releasing hormone inhibits an inwardly rectifying potassium current in rat corticotropes. J Physiol 502: 265-279, 1997.

Pape HC. Queer current and pacemaker: the hyperpolarization-activated cation current in neurons. Annu Rev Physiol 58: 299-327, 1996.

Quayle JM, Mccaron JG, Brayden JE, Nelson MT. Inward rectifier K^+ currents in smooth muscle cells from rat resistance-sized cerebral arteries. Am J Physiol 265: C1363-C1370, 1993.

Quayle JM, Dart C, Standen NB. The properties and distribution of inward rectifier potassium currents in pig coronary arterial smooth muscle cells. J Physiol 494: 715-726, 1996.

Quayle JM, Nelson MT, Stenden NB. ATP-sensitive and inward rectifying potassium channes in smooth muscle. Physiol Rev 77: 1165-1232, 1995.

Sakmann B, Trube G. Voltage-dependent inactivation of inward rectifying single-channel currents in the guinea-pig heart cell membrane. J Physiol 347: 659-683, 1984.

Standen NB, Stanfield PR. Potassium depletion and sodium block of potassium currents under hyperpolarization in frog sartorious muscle. J Physiol 294: 497-520, 1979.

Tare M, Prestwich SA, Gordienko DV, Parveen S, Carver JE, Robinson C, Bolton TB. Inwardly rectifying whole cell potassium current in human bolld eosinophils. J hysiol 506: 303-318, 1988.

Trudeau MC, Warmke JW, Ganetzky B, Robertson GA. HERG, a human inward rectifier in the voltage gated potassium channel family. Science 269: 92-95, 1995.

Yamaguchi K, Nakajima Y, Nakajima S, Stanfields PR. Modulation of inwardly rectifying channels by substance P in cholinergic neurons from rat brain in culture. J Physiol 426: 499-520, 1990.