

RENIN 分泌에 미치는 溫도의 影響

全北大學校 醫科大學 生理學敎室

曹 景 宇

= Abstract =

Effect of Temperature Changes on the Renin Release in Vitro Experiments

Kyung Woo. Cho

Department of Physiology, Jeonbuk National University, Medical School, Jeon Ju, Korea

It has been well known that beta-adrenoceptor is responsible for the renin release stimulatory and alpha-adrenoceptor may be inhibitory. It has been observed accidentally that alpha-adrenergic agonist can inhibit renin release by just changing the medium temperature in Vitro experiment in this laboratory.

A series of experiments were performed to clarify this interesting phenomena in Vitro experiment. Rat renal slices were incubated in PSS medium under gas phase at 37°C. The following results were observed.

- 1) Isoproterenol and norepinephrine resulted in renin release stimulatory in dose-dependent by the concentrations of 10^{-9} to 10^{-5} M/L at 37°C.
- 2) Norepinephrine resulted in renin release inhibitory in dose dependent by the concentrations of 10^{-7} to 10^{-5} M/L, and almost no effect by isoproterenol 10^{-6} M/L at 20°C.
- 3) Phenoxybenzamine pretreatment at 37°C accentuated isoproterenol stimulatory effect at 37°C.
- 4) Phenoxybenzamine pretreatment at 20°C attenuated isoproterenol stimulatory effect at 37°C.

These data suggest that the renal adrenoceptor(s) related to renin release maybe a single entity, and can be interconverted different forms in certain conditions.

緒 言

Renin 분비에 영향을 미칠 수 있는 要因들은 intra-renal factor 와 extrarenal factor 로 區別하여 생각할 수 있다. 즉 신장내 혈관벽의 상태(Tobian, 1959; Blaine 및 Davis, 1971; Blaine 등, 1971; Skinner 등, 1963), macula densa 의 기능(Vander 및 Miller, 1964; Thureau 등, 1967), juxtaglomerular apparatus 의 해부학적 상관관계(Barajas, 1971), 신장내혈류의 再配置(Abe 등, 1973) 등과, 자율신경계 기능의 항진(Gordon 등, 1967; Zanchetti 및 Stella, 1975), cat-

echolamines(Vander, 1965; De Champlaine 등 1966), 그밖의 몇가지 hormones(Bunag 등, 1967) 및 전해질등(Yamamoto 등, 1969; Kotchen 등, 1974)에 의한 영향등으로 생각할 수 있다. Blendstrup 등(1975)은 단순한 온도자체의 변화로도 renin 分泌에 영향을 미칠 수 있음을 보고하였다.

이러한 여러 要因들중 자율신경계는 renin 分泌調節에 있어서 많은 관심의 중심이 되어왔다. Adrenergic- β -receptor 의 흥분은 renin 분비에 흥분적으로 작용하나(Assaykeen 등, 1970; Nolly 등, 1974; Weinberger 등, 1975), α -receptor 는 억제적으로 작용함이 알려졌다(Pettinger 등, 1976; Morris 등, 1979; Capponi

및 Vallotton, 1976).

著者は生體外 實驗模型에 있어서 renin 분비의 성상을 이해하고자 그 온도를 변화시켰을때, 아직까지 알려진바 없는 흥미로운 결과를 관찰할 수 있었다. 즉 incubation temperature를 37°C에서 20°C로 내렸을때 α - 및 β -receptor agonist의 renin 분비에 미치는 영향이 기대와는 다른 역제적인 효과로 逆轉되는 것을 관찰하였다. 그래서 이러한 現象을 더 깊이 이해하기 위하여 본 실험을 시도하였다.

實驗方法

실험은 체중 150 g 내외의 암컷의 Charles-River rat를 주로 사용하였으며, 적은 예에서 Sprague-Dawley rat를 사용하여, Cho 등(1979)의 방법에 따라 행하였다. 실험에 사용한 쥐는 오전 8시경 순간적으로 단두하여 출혈사 시켰으며 양측 신장을 즉시 노출하여, capsule을 제거한 후 Staddie-Riggs microtome을 사용하여 약 0.5 mm 두께 되게 얇은 절편을 만들어 사용하였다.

약 2시간 동안의 preincubation後, 무게 100~150 mg의 조직절편을 25 ml 삼각후라스코에 넣어 실험하였다. 약물의 투여는 용액의 1/100 용적으로 필요한 농도가 되게 투여하였으며, 대조군은 약물대신 solvent를 적량 투여하여 실험군과 비교 계산하였다. Renin의 측정은 exogenous substrate를 加하여 radioimmunoassay 방법을 이용하였다. 계산은 아래와 같은 방식을 이용하였다.

$$\left(\frac{E_{80-20}}{C_{80-20}} - 1 \right) \times 100$$

E₈₀₋₂₀: 약물투여후 60분 동안의 renin 분비량

C₈₀₋₂₀: solvent 투여후 60분 동안의 renin 분비량

통계적인 처리는 student test에 의하였다.

實驗結果

1) 37°C에서 Isoproterenol 및 Norepinephrine의 Renin 분비에 미치는 효과

그림 1 및 표 1은 β -receptor 흥분제인 isoproterenol과 α -receptor 흥분제인 norepinephrine의 renin 분비에 미치는 영향을 보여주는데 두 agonist 모두에 있어서 양의 증가에 따른 dose-dependent한 response curve를 보여주고 있다. Isoproterenol은 10^{-9} M/L에서 평균 35.8%의 renin 분비의 증가를 보이나, nor-

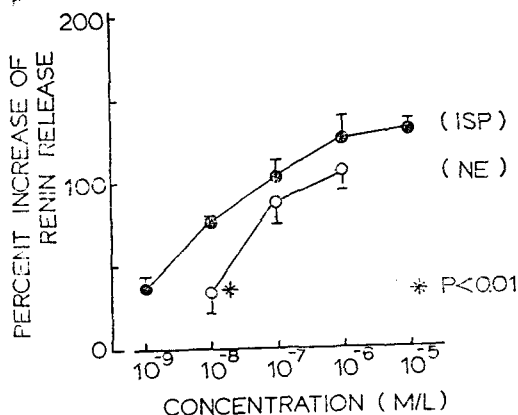


Fig. 1. The effect of isoproterenol and norepinephrine on the renin release at 37°C. Vertical lines: Standard error.

Table 1. The Effect of Catecholamines(Isoproterenol, Norepinephrine) on the Release of Renin at 37°C

		Percent increase of renin release				
		10^{-9}	10^{-8}	10^{-7}	10^{-6}	10^{-5} M/L
ISP	Mean	35.79	75.96	103.25	126.00	131.36
	±SE	8.36	4.27	11.09	13.81	6.80
	n	2	4	4	4	3
NE	Mean	-	33.67	89.47	106.94	-
	±SE	-	13.39	14.38	11.51	-
	n	-	4	4	5	-
p-value*			<0.01	NS	NS	-

* denotes Student's test between ISP and NE group.

NS, statistically not significant.

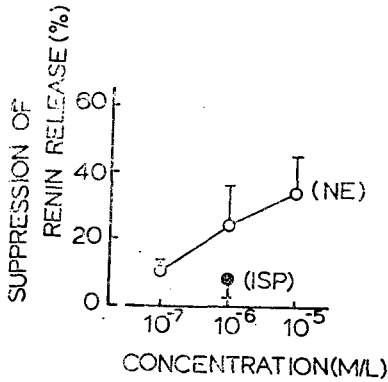


Fig. 2. Inhibitory effect of norepinephrine and isoproterenol on the renin release at 20°C.

epinephrine 은 그 10배가 되는 농도인 10⁻⁸ M/L에서 평균 33.7%의 증가를 보여 주며, 양을 올려 10⁻⁷, 10⁻⁶ M/L로 증량함에 따라 양물질간의 차이를 볼 수 없음에서, 저농도에서는 양자간의 효과에 차이가 있음을 알 수 있었다.

2) 20°C에서 Isoproterenol 과 Norepinephrine 의 Renin 분비에 미치는 영향

그림 2 및 표 2는 37°C에서 볼 수 있던 norepinephrine 의 renin 분비 증가효과를 볼 수 없고 오히려 분비 억제효과를 보이고 있다. 즉 norepinephrine 10⁻⁷ M/L에서 평균 10.9%의 renin 분비 억제효과를 보

Table 2. The Effect of Lower Temperature(20°C) on the Release of Renin by Norepinephrine and Isoproterenol(Suppression of renin release by norepinephrine and isoproterenol at 20°C)

		Suppression of renin release(%)		
		10 ⁻⁷	10 ⁻⁶	10 ⁻⁵ M/L
NE	Mean	10.92	23.85	33.92
	±SE	3.10	11.85	10.99
	n	2	3	2
ISP	Mean	—	7.90	—
	±SE	—	6.60	—
	n	—	4	—

Table 3. The Effect of Phenoxybenzamine(POB, 10⁻⁶ M/L) Treatment on the Release of Renin by Isoproterenol at Different Temperatures, 37°C and 20°C

		Percent increase of renin release			
		10 ⁻⁸	10 ⁻⁷	10 ⁻⁶	10 ⁻⁵ M/L
37°C	Mean	116.92	162.27	136.62	150.53
	±SE	2.61	12.58	2.71	11.94
	n	3	3	3	3
Student's test with control*	pva	<0.001	<0.017	—	—
20°C	Mean	—	67.14	68.14	69.83
	±SE	—	7.26	11.22	1.26
	n	—	3	3	3
Student's test with control	p	—	NS	<0.03	<0.003

Tissue slices were incubated in the presence of phenoxybenzamine 10⁻⁶ M/L at 37°C or 20°C for 40-50 min, and returned back to 37°C incubation medium which does not contain phenoxybenzamine any more. Isoproterenol was added into this medium, and this second incubation was just same procedure as control incubation at 37°C.

* See table 1.

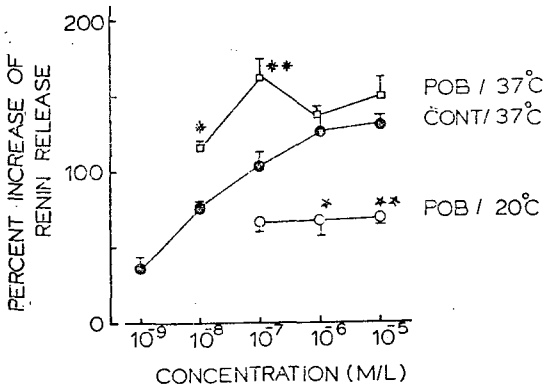


Fig. 3. The effect of phenoxybenzamine, 10⁻⁶ M/L) on the dose response curve of isoproterenol on renin release.

POB/37°C: Phenoxybenzamine pretreated at 37°C for 50 min and returned back to the medium without phenoxybenzamine any more. Incubation done at 37°C.

POB/20°C: Phenoxybenzamine pretreated at 20°C for 50 min and returned back to the medium without phenoxybenzamine anymore. Incubation done at 37°C.

CONT/37°C: Control incubation at 37°C.

*: p<0.001 compared with control

** : <0.001 compared with control

*: <0.03 compared with control

** : <0.003 compared with control

이고, 증량함에 따라 10⁻⁶, 10⁻⁵ M/L에서 각각 23.9%, 33.9%의 dose-dependent한 억제효과의 증가를 보이고 있다. 37°C에서 평균 126%의 renin 분비 증가효과를 보이던 isoproterenol 10⁻⁶ M/L에서 증가효과는 볼 수 없이 4에 평균 7.9%의 억제를 보이는 것으로 그 효과가 역전되는 것을 볼 수 있다. 온도의 변화에 의한 이러한 역전효과가 Kunos 및 Szentiranyi(1968), Kunos 및 Nickerson(1976) 등이 주장하는 adrenergic receptor의 interconversion 때문이 아닌지 확인하여 보고자 receptor에 비교적 tight하게 bound하는 것으로 알려진 Phenoxybenzamine을 사용하여 이를 증명코자 하였다.

3) Isoproterenol의 Renin 분비효과에 미치는 Phenoxybenzamine의 영향

37°C에서 phenoxybenzamine 10⁻⁶ M/L로 전처리 한후 isoproterenol에 대한 반응은 그림 3 및 표 3에

서 보이듯이 10⁻⁸ 및 10⁻⁷ M/L에서 대조군에 비하여 유의한 강화작용을 볼 수 있었다. 10⁻⁶, 10⁻⁵ M/L에서도 강화된 경향은 볼 수 있었으나, 통계적인 의의는 없었다. 반대로 20°C에서 phenoxybenzamine 10⁻⁶ M/L로 전처리한 후, 37°C에서 isoproterenol의 효과를 본 경우에는 10⁻⁶, 10⁻⁵ M/L에서 각각 유의한 renin 분비효과의 억제를 볼 수 있었다. 저온에서의 phenoxybenzamine 전처리와 37°C에서의 그것은, isoproterenol의 renin 분비효과에 전혀 반대의 결과를 나타내고 있었다.

考 察

Nickerson 및 Nomaguchi는 1950년에 α-adrenoceptor agonist가 개구리 심장에서 여름과 겨울 사이에 그 작용에 차이가 있는 현상을 보고하였다. 이러한 현상은 Kunos 및 Szentivanyi(1968)의 보고가 있기까지 이해되지 못했던 바, 이들은 심장의 perfusion temperature를 변화시킴으로써 adrenergic receptor가 상호간에 변할 수 있음을 암시하였다. 이러한 현상은 그 후 Kunos 및 Nickerson(1976)에 의하여 더욱 추구되어 lower temperature에서는 α-, higher temperature에서는 β-receptor의 activity 또는 population이 많아질 수 있을 것이라고 보고하였다. Ahlquist(1977)도 receptor의, 환경적 요인에 의하여 변화될 수 있는 형태의, 그러나 single adrenoceptor의 가능성을 암시함으로써, Kunos 등의 가설을 긍정적으로 받아들이고 있다. 그러나 Benfey(1977)는 이러한 변화를 발견할 수 없다고 보고하여 receptor interconversion hypothesis를 부정하고 있다.

분비에 관련된 adrenergic receptor의 형태가 온도의 변화에 의하여 변할 수 있으리란 암시는 아직 없는 것 같다.

그러나 본 실험에서 볼 수 있듯이 norepinephrine에 대한 효과가 37°C에서는 isoproterenol보다는 덜 예민한 경향을 보이고, 온도를 내려 20°C에서는 isoproterenol은 그 효과가 거의 안 나타나는 반면, norepinephrine에 대해서는 dose-dependent하게 억제적으로 나타나는 사실은, renin 분비에 있어서 β-receptor는 흥분적이나, α-receptor는 억제적으로 작용한다는 점을 생각할 때, 대단히 흥미있는 결과로 생각된다. 즉 renin 분비가 항진되어 있는 상태에서 adrenoceptor agonist에 의한 억제효과를 본다면, 또는 receptor 차단제를 사용함으로써 그 억제효과를 일으키는 것이

아니라, 前處置를 하지 않고도 어떤 조건 즉 온도만의 변화만으로도 norepinephrine의 억제효과를 볼 수 있다는 점이다. 이러한 점은 phenoxybenzamine 전처치로 더욱 확실히 할 수 있었다. 37°C에서는 adrenoceptor molecule이 20°C의 그것에 비하여 β -receptor form이 많고, 20°C에서는 α -receptor form이 많다고 가정한다면, 20°C에서 phenoxybenzamine의 前處置는 37°C에서 반응할 수 있는 β -receptor form으로의 전환이 안되어 상대적으로 β -receptor molecule의 감소를 일으켜 isoproterenol에는 반응성이 낮아지고 norepinephrine에 대해서는 억제적인 효과를 나타낼 것이다. 37°C에서의 phenoxybenzamine의 전처치는 억제적으로 작용할 수 있는 α -receptor를 차단함으로써 β -receptor agonist의 강화된 효과를 일으킬 것으로 생각할 수 있다. Enzyme molecule의 active site가 substrate와 결합하면, 그 enzyme molecule의 conformational change가 일어날 수 있기 때문에 (Koshland 및 Neet, 1968), 이상과 같은 가정하에서 phenoxybenzamine이 α -receptor form과 결합함으로써 결국 온도를 37°C로 환원한 뒤로라도, 그 molecular conformation이 β -receptor의 것으로의 전환이 아니될 것이다. Nickerson(1973)이 receptor의 變異 온도를 17~22°C로 보는 것과 본 실험이 20°C를 경계로 진행된 것은 흥미있는 비교이다.

Isoproterenol 및 norepinephrine의 온도에 의한 효과의 변화를, 낮은 온도에서는 α -adrenoceptor agonist가 더 예민하고 높은 온도에서는 β -adrenoceptor agonist가 더 예민하여 그럴수도 있을지 모르겠으나, phenoxybenzamine에 의한 효과는 그러나 설명할수가 없다.

本實驗結果를 包含하여 어떤 조건하에서는 renin 분비와 관련된 adrenergic receptor(s)가 서로 전환될 수 있다고 가정한다면 renin-dependent한 고혈압을 이해하는데 도움이 되리라 생각한다.

結 論

體外實驗模型에서 isoproterenol 및 norepinephrine의, 온도의 변화 및 α -receptor 차단제를 사용하여, renin 분비 효과를 비교함으로써 :

1) 37°C에서 isoproterenol은 10^{-9} 에서 10^{-5} M/L에 이르기까지 그 濃度를 증가함으로써 평균 35.8%에서 131.4%에 이르는 dose-dependent한 renin 분비 증가효과를 일으켰으며, norepinephrine은 10^{-8} 에서 10^{-6} M/L로 그 농도를 증가함으로써 평균 33.7%에서 106.9%에 이르는 renin 분비 증가효과를 보였다.

2) 20°C에서 isoproterenol 10^{-6} M/L는 renin 분비 증가대신 7.9%의 경미한 억제효과를 보였으며, norepinephrine 10^{-7} 에서 10^{-5} M/L에 이르는 농도에서 dose-dependent한 renin 분비 억제효과를 보였다.

3) 37°C에서의 phenoxybenzamine(10^{-6} M/L) 前處置는 isoproterenol의 작용을 강화시켰고, 20°C에서의 전처치는 isoproterenol의 작용을 억제시켰다.

4) 37°C에서의 phenoxybenzamine(10^{-6} M/L) 前處置는 isoproterenol의 작용을 강화시켰고, 20°C에서의 전처치는 isoproterenol의 작용을 억제시켰다.

5) 이상의 결과로서, renin 분비와 관련된 adrenoceptor는 單一한 molecule일지도 모르겠으며, 온도에 의하여 그 molecular configuration이 변함으로써 α - 및 β -receptor form으로의 전환이 가능할 것으로 추측된다. 이러한 가정은 어떤 종류의 고혈압의 병적생리학을 이해하는데 도움이 될 것으로 추론하였다.

REFERENCES

- 1) Abe, Y., T. Okahara, T. Kishimoto, K. Yamamoto, and J. Ueda.: *Relationship between intrarenal distribution of blood flow and renin secretion. Am. J. Physiol.*, 225:319, 1973.
- 2) Ahlquist, R.P.: *Adrenoceptor sensitivity in disease as assessed through response to temperature alteration. Federation Proc.*, 36:2572, 1977.
- 3) Assaykeen, T.A., P.L. Clayton, A. Goldfien, and W.F. Ganong: *Effect of alpha and beta-adrenergic blocking agents on the renin response to hypoglycemia and epinephrine in dogs. Endocrinol.*, 87:1318, 1970.
- 4) Barajas, L.: *Renin secretion: An anatomical basis for tubular control. Sci.*, 172:485, 1971.
- 5) Benfey, B.G.: *Cardiac adrenoceptors at low temperature and adrenoceptor interconversion hypothesis. Br. J. Pharmac.*, 61:167, 1977.
- 6) Blaine, E.H., and J.O. Davis: *Evidence for a renal vascular mechanism in renin release: New observations with graded stimulation by aortic constriction. Circ. Res.*, 28, 29(Suppl.2): 118, 1971.
- 7) Blaine, E.H., J.O. Davis, and R.L. Prewitt: *Evidence for a renal vascular receptor in control of renin secretion. Am. J. Physiol.*, 220

- :1593, 1971.
- 8) Blendstrup, K., P.P. Leyssac, K. Poulsen, and S.L. Skinner: *Characteristics of renin release from isolated superfused glomeruli in vitro. J. Physiol.*, 246:653, 1975.
 - 9) Bunag, R.D., I.H. Page, and J.W., McCubbin: *Inhibition of renin release by vasopressin and angiotensin. Cardiovasc. Res.*, 21:67, 1967.
 - 10) Capponi, A.M. and M.B. Vallotton: *Renin release by rat kidney slices incubated in vitro. Role of sodium and of alpha and beta-adrenergic receptors, and effect of vincristine. Circ. Res.*, 39:200, 1976.
 - 11) Cho, K.W. and R.L. Malvin: *Renin inactivation during in vitro experiments. Am. J. Physiol.*, 236:F501, 1979.
 - 12) De Champlain, J., J. Genest, R. Veyrat, and R. Boucher: *Factors controlling renin in man. Arch. Intern. Med.*, 117:355, 1966.
 - 13) Gordon, R.D., O. Kuchel, G.W. Liddle, and D.P. Island: *Role of the sympathetic nervous system in regulating renin and aldosterone production in man. J. Clin. Invest.*, 46:599, 1967.
 - 14) Koshland, DE Jr. and K.E. Neet: *Catalytic and regulatory properties of enzymes. Ann. Rev. Biochem.*, 37:359, 1968.
 - 15) Kotchen, T.A., K.I. Mauli, R. Luke, D. Rees, and W. Flamenbaum: *Effect of acute and chronic calcium administration on plasma renin. J. Clin. Invest.*, 54:1279, 1974.
 - 16) Kunos, G. and M. Nickerson: *Temperature-induced interconversion of alpha- and beta-adrenoceptors in the frog heart. J. Physiol.*, 256:23, 1976.
 - 17) Kunos, G. and M. Szentivanyi: *Evidence favouring the existence of a single adrenergic receptor. Nature*, 217:1077, 1968.
 - 18) Morris, B.J., A. Reid, and W.F. Ganong: *Inhibition by alpha-adrenoceptor agonists of renin release in vitro. European J. Pharmacol.*, 59:37, 1979.
 - 19) Nickerson, M.: *Adrenergic receptors. Circ. Res.*, 32,33(Suppl.1): 53, 1973.
 - 20) Nickerson, M. and G.M. Nomaguchi: *Blockade of epinephrine induced cardioacceleration in the frog. Am. J. Physiol.*, 163:484, 1950.
 - 21) Nolly, H.L., I.A. Reid, and W.F. Ganong: *Effect of theophylline and adrenergic blocking drugs on the renin response to norepinephrine in vitro. Circ. Res.*, 35:575, 1974.
 - 22) Pettinger, W.A., T.K. Keeton, W.B. Campbell, and D.C. Harper: *Evidence for a renal alpha-adrenergic receptor inhibiting renin release. Circ. Res.*, 38:338, 1976.
 - 23) Skinner, S.L., J.W. McCubbin, and I.H. Page: *Renal baroreceptor control of renin secretion. Sci.*, 141:814, 1963.
 - 24) Thurau, K.J. Schnermann, W. Nagel, M. Horster, and M. Wohl: *Composition of tubular fluid in the macula densa segment as a factor regulating the function of the juxtaglomerular apparatus. Circ. Res.*, 20,21(Supl.2):79, 1967.
 - 25) Tobian, L., A. Tomboulian, and J. Janecek: *The effect of high perfusion pressures on the granulation of juxtaglomerular cells in an isolated kidney. J. Clin. Invest.*, 38:605, 1959.
 - 26) Vander, A.J.: *Effect of catecholamines and the renal nerves on renin secretion in anesthetized dogs. Am. J. Physiol.*, 209:659, 1965.
 - 27) Vander, A.J. and R. Miller: *Control of renin secretion in the dog. Am. J. Physiol.*, 207:537, 1964.
 - 28) Weinberger, M.H., W. Aoi, and D.P. Henrey: *Direct effect of beta-adrenergic stimulation on renin release by the rat kidney slice in vitro. Circ. Res.*, 37:318, 1975
 - 29) Yamamoto, K., T. Hasegawa, M. Miyazaki, and J. Ueda: *Control of renin secretion in the anesthetized dog. II. Relationship between renin secretion, plasma sodium concentration and GFR in the perfused kidney. Jap. Circ. J.*, 33:593, 1969.
 - 30) Zanchetti, A. and A. Stella: *Neural control of renin release. Clin. Sci. Mol. Med.*, 48:215s, 1975.