

신성고혈압 백서의 신장절편에서 Renin 유리의 Negative Feedback 조절기전의 변조

전북대학교 의과대학 생리학교실

김 현 종 · 조 경 우

= Abstract =

On the Negative Feedback Control Mechanism of the Renin Release in Kidney Slices

Hyun J. Kim and Kyung W. Cho

Department of Physiology, Jeonbuk National University Medical School

Alterations of renin-angiotensin system have been suggested as one of the mechanisms increasing arterial blood pressure in experimental and clinical hypertension.

But the exact nature of high blood pressure in the early and late phase of renal hypertension is still controversial:

To clarify the nature of renin release in both unclipped and clipped kidney of two kidney one clip Goldblatt hypertensive rat, experiments have been done in kidney slices, which were obtained from the rats of 3 and 7 days of operation.

Basal rate of renin release was suppressed in unclipped kidney slices compared to clipped kidney. Norepinephrine increased renin release from unclipped kidney slices, but not from clipped kidney slices. Suppressions by angiotensin II and arginine vasopressin of renin release were attenuated in the clipped kidney slices compared to unclipped and sham-operated kidney slices.

Increases by verapamil and trifluoperazine of renin release were attenuated in the clipped kidney slices compared to unclipped and sham-operated kidney slices.

These results suggest that the negative feedback control mechanism of the renin-angiotensin system by angiotensin II and arginine vasopressin is attenuated in the clipped kidney of two kidney one clip Goldblatt hypertensive rat, and that one of the altered mechanisms may be caused by certain regulatory changes of intracellular calcium and/or calcium-calmodulin complex in the juxtaglomerular cells.

서 론

혈압의 조절에 신장이 깊이 관련되어 있음은 신장으로 부터 혈압상승물질을 발견함으로써 부터 인식되었다 (Tigerstedt and Bergman; 1898). Goldblatt 등(1934, 1937), Goldblatt(1937), Page(1939) 등은 일련의 실험을 통하여 일측 신혈류량을 감소시킴으로써 지속적인 고혈압을 일으킬 수 있는 신성고혈압의 모형을 제시하였다. Houssay 및 Tacchini(1938)는 고혈압이 발현되는 아주 초기에, 이러한 신혈류량이 감소되어 있는 신장으로부터

혈관수축성 물질이 많이 분비됨을 처음 보고하였다.

곧이어, Braun-Menendez 등(1939), Page 및 Helmer (1940)에 의하여 신장에서 유래하는 renin의 효소적 작용에 의하여 혈장단백으로 부터 hypertensin(Braun-Menendez et al., 1939) 또는 angiotenin(Page 및 Helmer, 1940)이 생성되고 이 물질들이 혈관근을 수축한다고 보고하였다. 그 후 두 상이한 이름의 물질은 동일한 것임이 밝혀져 angiotensin으로 재명명되었다 (Braun-Menendez 및 Page, 1958).

Skaggs 등(1954a, 1954b)은 그 후 renin에 의하여 생성된 혈관수축 물질은, 처음 hypertensin I 이 만들어

지고 끈이어 chloride ion의 존재하 혈장내 효소에 의하여 hypertensin II가 만들어진다고 보고하여 renin에 의하여 생성된 물질이 두가지로 존재함을 제시하였다.

또한, Gross(1958), Laragh 등(1960)은 renin에 의하여 생성된 angiotensin이 부신피질로 부터의 aldosterone 분비를 일으킬 수 있는 중요한 요인임을 밝히고, 고혈압의 병태생리학의 이해에 있어 renin-angiotensin-aldosterone계의 중요성을 암시하였다.

혈장 및 조직내 renin 활성화도 측정방법의 개선(Haber et al., 1969), renin의 생화학적 특성의 구명(Inagami 및 Murakami, 1977) 및 renin-angiotensin계의 각 단계마다의 선택적인 기능차단 방법의 발견등(Marshall et al., 1970; Ondetti et al., 1971; Haber, 1980)은 고혈압의 발생 및 유지와 관련된 renin-angiotensin계의 병태생리학의 발전에 중요한 역할을 하였다.

고혈압 발생기전이 같지 않음이 알려진 one-kidney Goldblatt 고혈압 모형(Miller et al., 1972)과, two-kidney one-clip Goldblatt 고혈압 모형(2K1C GH)(Coleman 및 Guyton, 1975)에서, 고혈압 발생의 초기에 angiotensin I-converting enzyme inhibitor를 사용함으로써 고혈압 발생을 억제할 수 있음이 밝혀져, 고혈압 발생의 기전으로써 renin-angiotensin계의 역할이 중요함이 더욱 확실하여졌다. 그러나 2K1C GH 백서 모형의 후기에 있어서는 renin-angiotensin계의 선택적인 차단제에 의하여 혈압하강을 발견할 수 없는 경우도 있고(Garvas et al., 1975; Ferrario et al., 1976; Carretero 및 Gulati, 1978), 또는 혈압의 하강을 일으키는 경우도 있어(Sen et al., 1979), 신성고혈압의 후기 고혈압의 유지에 있어 renin-angiotensin계의 역할은 아직도 많은 이론을 보이고 있다.

이용되는 동물, 일측 신장의 존재유무 등의 실험방법에 따라, 신성고혈압의 발생 및 그 유지의 기전은 차이가 있으며(Bianchi 및 Ferrari, 1983), 이러한 경우 혈장 renin 활성화도 및 신장 renin 함유에도 차이가 있음이 알려졌다(Gross et al., 1964). 실험적 신성고혈압의 경우 초기에는 혈장 renin 활성화도의 증가가 있음은 여러 학자들에 의하여 알려졌으며(Carretero 및 Gulati, 1978; Sen et al., 1979; Gross, 1971; Cho 및 Kim, 1982), 후기에서는 고혈압이 지속되고 있음에도 혈장 renin 활성화도는 정상 또는 억제되어 있음이 보고되었다(Carretero 및 Gulati, 1978; Sen et al., 1979). 백서 신성고혈압 모

형에 있어 혈장 renin 활성화도의 변동은 신장 renin 활성화도에 의존적임이 보고되었으며(Cho 및 Kim, 1982), 또한 신장으로부터의 renin 유리는 신장내 renin 함량과 밀접하게 관련되어 있음이 보고되었다(Park et al., 1978; Cho, 1979; Brooks et al., 1980).

Cho 및 Kim(1982)은 신장 renin 활성화도와 혈장 renin 활성화도사이의 상관관계로부터, 일측 신동맥 절찰에 의한 2K1C GH 백서모형의 초기에 나타나는 혈장 renin 활성화도 향진의 원인은 최소한 부분적으로는 정상대조 백서군에서 작동하지 않는 신장내외적 어떤 다른 요인의 영향에 의하여 신장으로 부터의 renin 유리의 항진때문에 나타날 것이라 주장하였다. Je-Gal 및 Cho(1986)는 2K1C GH 백서모형에서 신장으로 부터의 renin 유리의 negative feedback 조절기전인 angiotensin II(Vander 및 Geelhoed, 1965) arginine vasopressin(Bunag et al., 1967)에 의한 renin 유리의 억제가 감약되어 있음을 발견하였으며, Chang 및 Cho(1984)는 생체의 실험 모형에서 2K1C GH 백서의 초기에 angiotensin II에 의한 renin 유리 억제가 감약되어 있음을 보고하였다.

2K1C GH 백서 모형에 있어 고혈압이 발현된 후기의 renin-angiotensin system의 변화에 관하여서는 어느 정도 알려져 있으나, 고혈압이 발현되기 전의 초기에 있어서는 상술한 바의 renin 유리 조절기전의 short-loop negative feedback 조절기전에 이상이 있을 것이라는 점 등 외에는 잘 알려져 있지 않다.

본 연구에서는 2K1C GH 백서 모형에서 고혈압이 발현하기 전의 renin-angiotensin계의 변화를 구명할 목적으로 생체의 실험모형(Cho 및 Malvin, 1979)을 이용하여 untouched unclipped 신장으로 부터 renin이 완전히 소실하기 전인(Cho 및 Kim, 1982), 일측 신장의 clipping 후 3일과 7일때의 백서신장에서 short-loop negative feedback 조절기전의 변화를 검색하고자 하였다.

실 험 방 법

실험동물로는 생후 11~12주되는 Sprague-Dawley rat를 사용하였으며 2군으로 나누어 실험을 하였다.

I 군 : Two-kidney, one-clip Goldblatt hypertensive rats(2K1C GH 백서)

수술은 오전 9 : 00~12 : 00 사이에 Nembutal 50 mg/

kg 복강내 투여의 마취하에서 시행하였다. 가능한 한 무균적으로 left-flank incision을 가하여 좌측신동맥을 눈으로 볼 수 있는 신경과 정맥으로부터 분리한 후 여기에 내경 0.2 mm의 silver clip을 가하고 다시 절개부위를 봉합처리 하였다. 반대측 신장은 아무런 처치를 하지 않았다. 수술후 3일, 7일에 희생시켜 생체의 renin 유리실험에 사용하였다.

II군 : Sham-operated rats(Sham)

Flank incision 후 silver clip을 장치하는 과정만을 제외하고는 I군과 동일한 수술처치를 시행하였으며, 수술 후 3일, 7일에 I군과 함께 실험에 사용하였다.

1. Renin 유리 실험

실험은 신장조직편에서 행하였다. 실험에 사용하는 백서는 오전 8 : 30~9 : 30 사이에 guillotine을 사용하여 단두한 후 곧 신장을 제거하였다. 신장은 신피막을 제거하고, 두께 3mm 내외의 조그마한 크기로 자른후 찬 생리적 식염수에 보관하여 Stadie-Riggs microtome으로 두께 0.4~0.5 mm의 조직편을 만들었다. 조직편은 산소-탄산가스 혼합가스(95%~5%)하의 37°C “physiologic salt solution”에서 incubation하였다(Cho 및 Malvin, 1979).

Physiological salt solution의 조성(mM)은 NaCl, 118; KCl, 4.7; CaCl₂, 2.5; KH₂PO₄, 1.2; MgSO₄ · 7H₂O, 1.2; NaHCO₃, 25; glucose 10.0이었다. Incubation 용액의 osmolarity는 300 mOsm/kg H₂O이었으며, pH는 7.4이었다. 신장조직편은 preincubation 후 20~25 mg씩을 25 ml siliconized Erlenmeyer flask에 분리 incubation하였으며, incubation 용액은 5 ml씩 사용하였다. 매 실험시 sham군을 동시에 실험에 사용하였다.

Catecholamine은 incubation 15~30분 후에 첨가하는 것이 보다 안전하기 때문에(Haeggendal 및 Svedmus, 1967) 본 실험에서는 incubation 20분 때에 사용하는 약물을 투여하였다.

Incubation 후 신장조직편은 wet weight로 무게를 측정한 후 -20°C에 보관하여 renin activity의 정량에 사용하였다.

Tissue sample은 4°C에서 homogenize하여 세포파편을 제거한 후 supernant를 사용하였다.

Supernant내의 renin activity는 백서 substrate를 사

용하여 측정하였다.

2. Renin Substrate의 제조

Homologous substrate로써 백서혈장을 사용한 Substrate 제조는 Cho 및 Malvin(1979), Cho 및 Kim(1982)의 방법에 따라 양측 신장절제 72시간 후의 백서혈청을 사용하였으며, converting enzyme 및 angiotensinases의 억제제로는 EDTA(5 mg/ml of blood), phenylmethyl sulfonyl fluoride(7.5 mM); 및 8-hydroxyquinoline(3.4 mM)을 사용하였다.

3. Renin 활성도의 정량

증류수로 희석한 tissue supernant 및 incubation 용액은 충분한 substrate 존재하 37°C, 60분 동안 Dubnoff형의 incubator를 사용하여(120 cycles/min) angiotensin I을 생성시켰다. Incubation 용액, tissue supernant 그리고 substrate를 동시에 incubation시켜 angiotensin I의 endogenous level 및 non-specific binding을 측정하였다. 생성된 angiotensin I은 Sealey 등의 방법(Sealey 및 Laragh, 1973)을 변용한 Cho 및 Kim(1982)의 방법에 따라 측정하였다.

Angiotensin I의 항체는 Goodfriend등(1964)의 carbodiimide 방법에 따라 angiotensin I (5-Ile angiotensin I)을 가토 혈장 albumin에 conjugation시켜 동량의 Freund's complete adjuvant와 잘 섞어 6주간 매 주간 1회씩 여러 장소에 주사하였다. 채혈은 2주 후부터 하여 그 titer를 측정하였으며, 혈장은 56°C, 30분동안 incubation 후 사용하였다. Titer가 결정된 angiotensin I 항 혈청은 사용에 편리하도록 일단계 희석하여 소량씩 나누어 -20°C하에서 보관하였으며, 매번 사용후 남은 부분은 폐기하여 다시 사용하지 않았다.

I-125 angiotensin I {Angiotensin I (5-L-Ile), (tyrosyl-125-I)-monoiodinated; specific activity 1,500 μ Ci/ μ g}은 그 radioactivity에 따라 소량으로 나누어 사용시까지 보관하였으며, tube 당 10,000 cpm이 되도록하여 사용하였다.

Angiotensin I의 radioimmunoassay는 bovine serum albumin을 포함하는 Tris-acetate buffer(pH 7.40, 0.1 M)로 일반적인 방법에 따랐다. 4°C하에서 18~30시간 방치후 charcoal suspension(activated Norit A charcoal, 6.0 g; Dextran T 70, 0.625 g; so-

dium azide, 0.2%; Tris-acetate buffer, pH 7.40, 0.1 M로 IL되게 함)으로 bound form과 free form을 분리하였으며, gamma counter를 사용하여 radioactivity를 측정하였다. Radioactivity의 정량적인 환산은 동시에 행한 angiotensin I (5-Ile-AI)의 표준곡선으로부터 하였다. Substrate내의 angiotensin I의 함량 및 incubation medium, supernant등의 binding activity는 무시할 정도였기 때문에 측정치 계산에 고려하지 않았다.

4. 결과의 표시

결과의 표시는 $\text{ng angiotensin I} \cdot \text{mg}^{-1}$ of wet tissue $\cdot \text{hr}^{-1}$ 로 하였다. 약물에 의한 renin release의 percent change는 다음 식에 의하였다.

$$\left[\frac{E_{80} - 20}{C_{80} - 20} - 1 \right] \times 100 \quad \text{or} \quad \left[1 - \frac{E_{80} - 20}{C_{80} - 20} \right] \times 100$$

전자의 식은 percent increase, 후자의 식은 percent suppression을 의미한다.

E 80-20; 약물첨가 시간이 incubation 후 20분일때, 그후 60분동안에 유리된 renin activity를 의미하며,

C 80-20; 약물을 용해한 용액만을 약물 투여시의 동일한 양을 첨가하였을때 첨가후 60분동안의 유리된 renin activity를 의미하였다.

사용한 약물중 norepinephrine HCl, angiotensin II (Val⁵-angiotensin II), angiotensin I (5-L-Ile), arginine vasopressin, trifluoperazine, verapamil, 1-ethyl-3-(3-dimethyl-aminopropyl)carbodiimide hydrochloride, 가토 serum albumin, bovine serum albumin은 Sigma, Dextran T70은 Pharmacia, angiotensin I (5-L-isoleucine) {tyrosyl- I¹²⁵}은 New England Nuclear, Freund's complete adjuvant는 Difco제를 사용하였다.

통계적 처리는 clipped 및 non-clipped kidney간의 차이는 Student's paired t-test로, 그외는 unpaired t-test (Snedcor 및 Cochran, 1967)에 의하였으며 P-치가 최소 0.05이었을때 유의한 차이의 한계로 간주하였다.

실 험 결 과

1. 양측신장 절편으로 부터의 renin 유리

정상 신장 절편으로 부터 incubation medium내로 유

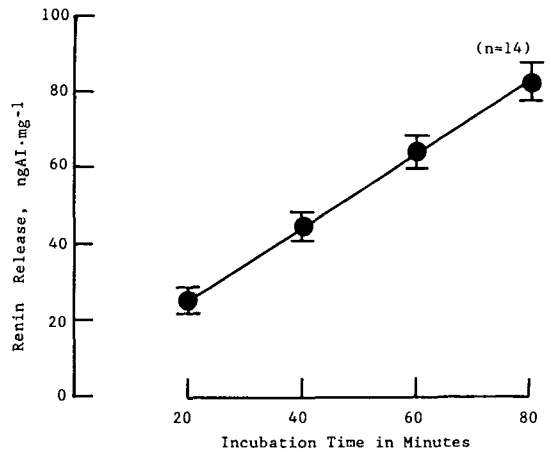


Fig. 1. Cumulative rate of renin release as a function of incubation time in control rats. Each point is mean \pm SE.

Table 1. Basal rate of renin release from unclipped and clipped kidney slices of the 2K1C GH and sham-operated rats

	UNCL	CL	SHAM
	ngAI \cdot mg ⁻¹ \cdot hr ⁻¹		
3 Days			
n	16		6
Mean \pm SE	17.31 \pm 3.04	23.86 \pm 3.37	72.04 \pm 6.93
P-value	NS		< .001*
7 Days			
n	18		15
Mean \pm SE	19.59 \pm 4.45	46.38 \pm 11.12	41.63 \pm 5.29
P-value	< .05		< .01**

* ; Compared to both the unclipped and clipped kidney.

** ; Compared to unclipped kidney.

리되는 renin 활성도는 incubation 시간 80분까지에는 시간에 비례적으로 증가함을 보여, incubation 시간 20분과 80분사이의 60분동안 유리되는 renin 활성도를 약물 첨가에 의한 반응 시간으로 관찰하는 데 적정함을 보여주고 있다(Fig. 1).

2K1C GH 백서 모형의 좌우측 신장절편의 renin 유리는 수술후 3일 까지는 양측에 차이가 없으나, 대조실험군에 비하여서는 억제됨을 보여주고 있다(Table 1).

그러나 수술후 7일때에는 unclipped 신장절편의 renin 유리는 clipped 및 대조실험군의 신장절편의 renin 유리에 비하여 유의하게 감소되어 있음을 보여주고 있다.

2. Angiotensin II 및 arginine vasopressin에 의한 renin 유리의 억제

Angiotensin II 대신 saline을 첨가한 대조치 평균 63.79(±6.72)에서 angiotensin II 10⁻⁸, 10⁻⁷ 및 10⁻⁶ M/L 투여에 의하여 incubation medium 내로의 renin 유리는 평균 49.25, 32.44(±3.25), 그리고 20.92(±2.98) ngAI · mg⁻¹ · hr⁻¹로, renin 유리가 억제되었으며, 이는 대조치에 비하여 각각 평균 11.1, 47.9(±3.9), 그리고 64.9(±5.5)%의 억제로 angiotensin II의 양의 증가에 따라 dose-dependent하게 억제반응을 보였다 (Fig. 2).

2K1C GH 백서 3일때의 unclipped 및 clipped 신장절편의 renin 유리는 angiotensin II에 의하여 유의하게 억제되었다(Table 2). 그러나 7일때의 unclipped 및 clipped 신장절편의 renin 유리는 angiotensin II에 의하여 억제되지 않았다. 이때 대조실험군 3일 및 7일때의 신장절편의 renin 유리는 angiotensin II에 의하여 유의한 억제 반응을 보였다. Figure 3은 이러한 결과를 percent change로 표시한바, 2K1C GH 백서 3일때의 unclipped 신장절편의 renin 유리는 angiotensin II에 의하여 평균 57.6(±5.4)%의 억제를 보였으며, clipped 신장절편의 renin 유리는 평균 34.0(±4.8)%의 억제를 보여 clipped 신장절편의 angiotensin II에 의한 renin 유리 억제기전이 유의하게 감약되어 있음을 보여 주고 있다. 이때 clipped 신장절편의 angiotensin II에 의한 renin 유리 억제반응의 감약현상은 대조실험군의 63.8(±4.6)%의 억제반응에 비교하여서도 유의한 차이를 보였다. 2K1C GH 백서 7일에 있어서 angiotensin II에 의한 renin 유리 억제반응의 percent change는 unclipped 신장절편의 평균 65.0(±7.1)%에 비하여 clipped 신장절편의 억제는 평균 31.6(±15.1)%를 보여, clipped 신장절편의 angiotensin II 억제작용이 현저하게 감약되어 있음을 보여주고 있다(Fig. 3).

Arginine vasopressin에 의한 renin 유리의 억제는 2 K1C GH 백서 3~7일에 unclipped 및 clipped 신장절편에서 모두 유의한 감소를 보였으며(Table 3, Fig. 4), 이러한 변동을 percent change로 표시한바, unclipped 신

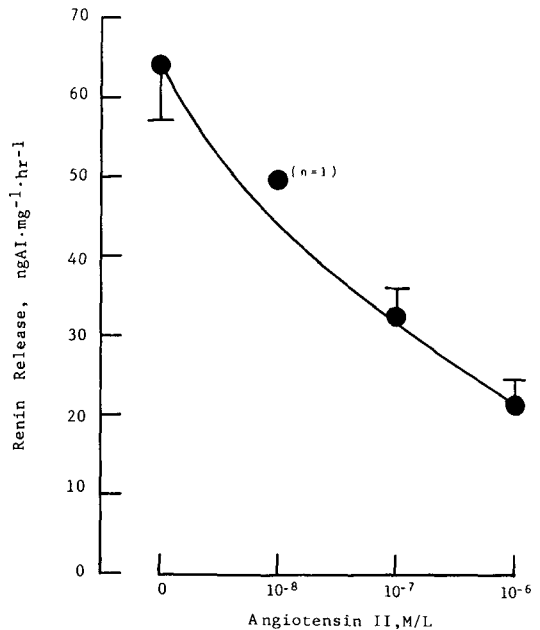


Fig. 2. Dose-dependency of renin suppression by angiotensin II in sham-operated rats. Each point is mean ± SE of 8 experiments.

Table 2. Effect of angiotensin II (10⁻⁶) on the renin release by the unclipped and clipped kidney slices from 2K1C GH and sham-operated rats

	UNCL		CL		SHAM	
	Cont.	Expt.	Cont.	Expt.	Cont.	Expt.
ngAI · mg ⁻¹ · min ⁻¹						
3 Days						
Mean	19.24	8.93	21.69	14.35	72.04	25.56
±SE	3.91	2.31	2.91	2.10	6.93	3.88
P-value	< .001		< .001		< .001	
7 Days						
Mean	10.44	4.30	50.35	27.77	41.63	15.03
±SE	5.14	2.42	29.64	16.02	5.29	1.99
P-value	= .73		NS		< .001	

Cont.; only vehicle was administered into incubation medium. Expt.; angiotensin II, 10⁻⁶ M/L was administered into incubation medium. N = 11 for 2K1C GH rats and n = 6 for sham operated of 3 days after operation. n = 6 for 2K1C GH rats and n = 15 for sham-operated of 7 days after operation.

장절편의 평균 43.2(±5.9)%의 억제에 비하여, clipped 신장절편의 renin 유리 억제는 18.7(±5.2)%로

—김현종의 1인 : 신성고혈압 백서의 신장절편에서 Renin 유리의 Negative Feedback 조절기전의 변조—

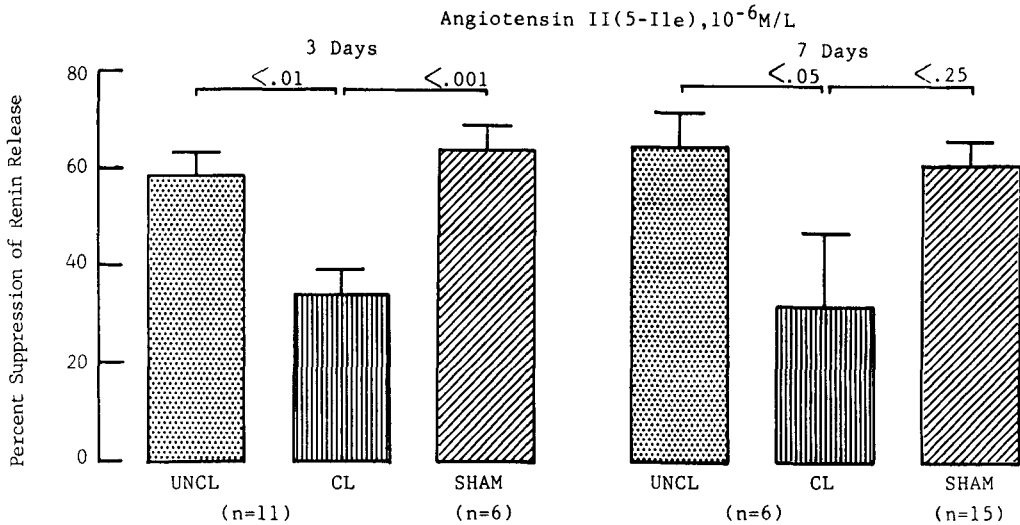


Fig. 3. Suppression by angiotensin II of renin release. UNCL, CL, and SHAM; unclipped kidney slices from two-kidney one-clip Goldblatt hypertensive rats and sham-operated.

Table 3. Effect of arginine vasopressin (10^{-6} M/L) on the renin release by the unclipped and clipped kidney from 2K1C GH rats

	UNCL		CL		SHAM	
	Cont.	Expt.	Cont.	Expt.	Cont.	Expt.
Mean	9.03	5.73	18.52	15.15	46.02	21.59
\pm SE	3.73	2.64	5.11	4.34	6.90	4.38
P-value	=.025		<.05		<.001	

Data were obtained from the 2K1C GH rats of 3 to 7 days. $n=8$ for 2K1C GH rats and $n=9$ for sham-operated.

Table 4. Effect of norepinephrine (10^{-6} M/L) on the renin release by the unclipped and clipped kidney slices from 2K1C GH rats

	UNCL		CL	
	Cont.	Expt.	Cont.	Expt.
Mean	44.64	65.14	65.68	82.41
\pm SE	4.39	4.38	20.66	28.55
P-value	<.025		NS	

Data were obtained from the 2K1C GH rats of 7 days. $n=4$.

arginine vasopressin에 의한 renin 유리 억제반응이 현저히 감약되어 있음을 보여주고 있다. Clipped 신장절편

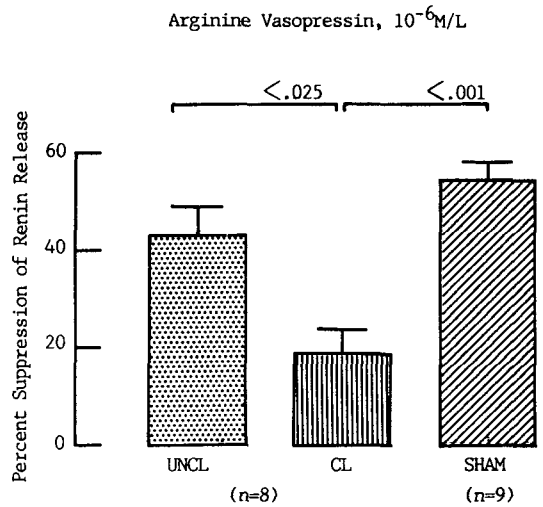


Fig. 4. Suppression by arginine vasopressin (10^{-6} M/L) of renin release. UNCL, and CL; unclipped and clipped kidney slices from two-kidney one clip Goldblatt hypertensive rats of 3 to 7 days after operation, SHAM; sham-operated.

의 renin 유리 억제반응의 감약현상은 대조실험군의 평균 $54.4(\pm 4.0)\%$ 에 비하여서도 유의한 차이를 보였다.

3. Norepinephrine에 의한 renin 유리의 촉진

2K1C GH 백서 7일째의 norepinephrine에 의한 renin

유리는, unclipped 신장절편의 대조치 평균 $44.64(\pm 4.39)$ 에서 $65.14(\pm 4.38)$ ngAI \cdot mg⁻¹ \cdot hr⁻¹로서 평균 $48.9(\pm 13.1)\%$ 의 증가를 보였다(Table 4). 그러나, clipped 신장절편의 renin 유리는 대조치 평균 $65.68(\pm 20.66)$ 에서 $82.41(\pm 28.55)$ ngAI \cdot mg⁻¹ \cdot hr⁻¹로 norepinephrine 투여에 의하여 renin 유리 촉진현상을 발견할 수 없었다.

4. Trifluoperazine에 의한 renin 유리 반응

세포내 calcium 조절 단백질인 calmodulin의 억제제가 renin 유리에 어떠한 영향을 미치는지 관찰하고자 하

였다. Table 5는 2K1C GH 백서 3~7일때의 unclipped 및 clipped 신장절편의 trifluoperazine에 의한 renin 유리를 보여주고 있으며, 양측 신장으로 부터 renin 유리의 유의한 증가를 나타내고 있다. 이들 양측 신장의 반응성의 차이를 밝히기 위하여 percent change로 표현한 바 (Fig. 5), clipped 신장절편의 renin 유리 촉진반응이 unclipped 신장절편에 비하여 현저히 감약되어 있음을 보여주었다.

5. Verapamil에 의한 renin 유리 반응

Calcium channel blocker인 verapamil의 renin 유

Table 6. Effect of verapamil (10^{-4} M/L) ON the renin release by the unclipped and clipped kidney from 2K1C GH rats

	UNCL		CL		SHAM	
	ngAI \cdot mg ⁻¹ \cdot hr ⁻¹					
	Cont.	Expt.	Cont.	Expt.	Cont.	Expt.
Mean	14.09	40.54	35.46	84.62	41.60	106.62
\pm SE	4.65	10.38	7.17	13.82	9.37	22.80
P-value	< .01		< .01		< .01	

Data were obtained from the 2K1C GH rats of 3 to 7 days. n=9 for 2K1C GH rats and n=8 for sham-operated.

Table 5. Effect of trifluoperazine (10^{-4} M/L) on the renin release by the unclipped and clipped kidney 2K1C GH rats

	UNCL		CL		SHAM	
	ngAI \cdot mg ⁻¹ \cdot hr ⁻¹					
	Cont.	Expt.	Cont.	Expt.	Cont.	Expt.
Mean	14.09	36.18	35.48	68.15	39.19	132.41
\pm SE	4.65	7.36	7.17	10.56	8.93	36.40
P-value	< .001		< .01		< .025	

Data were obtained from the 2K1C GH rats of 3 to 7 days. n=9 in both of 2K1C GH rats and sham-operated.

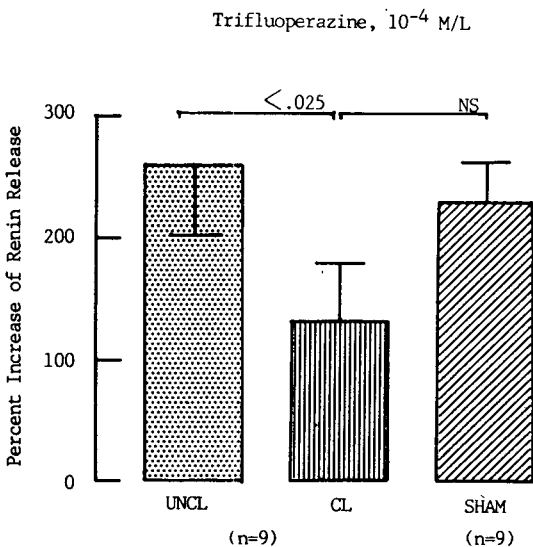


Fig. 5. Increase by trifluoperazine (10^{-4} M/L) of renin release.

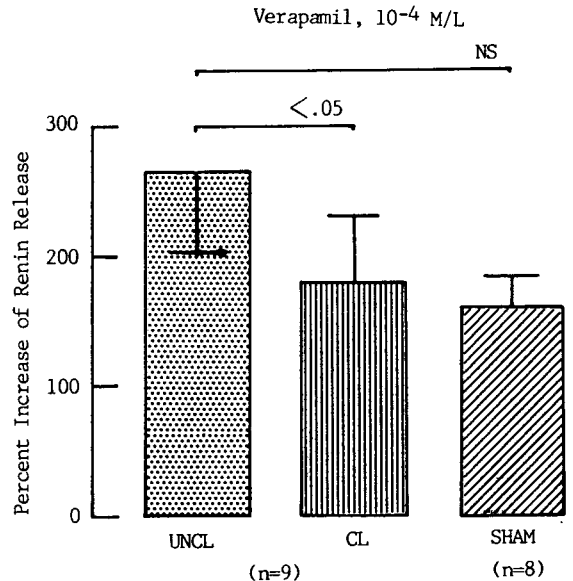


Fig. 6. Increase by verapamil (10^{-4} M/L) of renin release.

리에 미치는 영향을 관찰하고자 하였다.

Table 6은 2K1C GH백서 3~7일째의 unclipped 및 clipped 신장절편의 renin 유리현상을 보여주고 있으며, 양측 신장절편의 renin 유리는 모두 유의하게 증가하고 있음을 보여주고 있다. Fig. 6에서 보이는 바, renin 유리의 percent change는 clipped 신장절편의 renin 유리 반응에 비하여 unclipped 신장절편의 renin 유리반응이 훨씬 더 강화되어 있음을 보여주고 있다.

고 안

2K1C GH 백서 모형에 있어 그 원인은 확실하지 않으나 unclipped 신장의 renin 활성도의 감소 또는 소실(Cho 및 Kim, 1982; Chang 및 Cho, 1984; Gross 및 Lichtlen, 1958) 및 renin 유리의 감소(Cho 및 Kim, 1982; Chang 및 Cho, 1984)는 알려진 바 있으며 본 실험에서 다시 확인할 수 있었다.

정상 대조 백서군에 있어서, angiotensin II에 의한 renin 유리의 억제에는 dose-dependent 함을 보여주고 있다. 이러한 renin 유리억제가 2K1C GH 3일 및 7일 백서의 신장절편에서 감약되어 있음은 이미 Chang 및 Cho (1984)가 보고하고 있으며, 본 실험은 renin 유리 억제의 감약현상은 arginine vasopressin에 의해서도 나타남을 보여주고 있다. 2K1C GH 백서 모형에서 아주 초기에 반대측 unclipped 신장의 β -수용체 흥분제에 의한 renin 유리가 항진되기는 하나(Chang 및 Cho, 1984), 점차 renin 활성도의 감소(Cho 및 Kim, 1982; Chang 및 Cho, 1984; Gross 및 Lichtlen, 1958)가 일어나기 때문에 시간이 흐를수록 renin-angiotensin계의 양적인 면에서는 clipped 신장의 기능에 의존할 것이 기대된다.

고혈압 발생의 원인 및 유지의 한 기전으로서 renin-angiotensin-aldosterone계 (Gross, 1958; Laragh et al., 1960)가 제시된 후, Vander 및 Geelhoed(1965), Bunag등(1967)은 신동맥압 또는 전신혈압의 변화없이 angiotensin II 또는 arginine vasopressin이 신장으로 부터의 renin 유리를 억제할 수 있음을 발견하여, 혈장 내 angiotensin II 또는 arginine vasopressin이 혈압의 변화와는 무관하게 신장에 직접 작용함으로써 renin 유리를 negative feedback 기전으로 조절할 것이라는 것을 암시하였다.

Cho 및 Kim(1982)은 신장 renin 활성도와 혈장 renin

활성도 사이의 상관관계로부터 2K1C GH 백서모형의 초기에 나타나는 renin-angiotensin계의 항진의 원인으로서는 정상백서에서는 작동하지 않는 어떤 다른 요인에 의한 renin 분비의 항진 때문에 나타날 것이라 주장한 바 있으며, Je-Gal 및 Cho(1986)는 2K1C GH 백서 모형의 초기에 신장으로 부터 renin 유리의 negative feedback 조절기전인 angiotensin II 및 arginine vasopressin에 의한 혈장 renin 활성도 억제반응이 감약되어 있음을 보고하였다.

이러한 사실들과 함께 생각할 때에, 2K1C GH 백서 모형의 초기에 나타나는 clipped 신장으로 부터의 renin 유리 억제기전의 감약은 renin-angiotensin 항진의 직접적인 원인이 될 수 있을 것으로 생각된다.

Angiotensin II 및 arginine vasopressin에 의한 renin 유리 억제기전의 원인은 아직 확실하지 않다.

“Stimulus-secretion coupling”의 최근 지견으로는, 세포내 또는 세포막에 존재하는 calcium의 유리 및 세포밖으로부터 세포내로의 calcium의 이동에 의하여 나타나는 세포내 calcium 농도의 증가가 분비반응을 일으킬 수 있는 첫 단계임이 주장되고 있다(Douglas 및 Rubin, 1963; Douglas 및 Poisner, 1964). Renin 유리에 미치는 calcium 이온의 영향은 그러나 자극에 의한 분비과정의 일반적인 기전과는 정반대의 것임이 알려지고 있다. 생체의 실험모형에서 renin 유리에 미치는 calcium 이온의 영향이 흥분적이라는 보고(Michelakis, 1971; Yamamoto et al., 1974; Chen 및 Poisner, 1976)가 있으나, 많은 연구자들은 calcium ion의 영향은 억제적이라고 생각하고 있다(Vandongen 및 Peart, 1974; Churchill 및 Churchill, 1982). 현재로는 세포내 재배치에 의하거나, 또는 세포막의 투과성항진에 의한 세포내 calcium 농도의 증가는 renin 유리를 억제할 것으로 생각되고 있다(Park 및 Malvin, 1978; Fray et al., 1983).

Angiotensin II 및 arginine vasopressin에 의한 renin 유리 억제기전은 calcium 의존적(Hackenthal et al., 1983; Naftilan 및 Oparil, 1982; Churchil et al., 1981; Churchill, 1981; Churchill, 1980)이지만, voltage-dependent calcium channel blocker에 의하여 그 억제효과가 차단되지 않음(Churchill et al., 1981; Churchill, 1982; Churchill, 1980)이 알려져, renin 유리의 장소가 되는 JG cell에도 voltage-dependent calcium channel은 있으나, 이와는 독립적인 calcium

이동방식에 의하여 renin 유리의 억제가 일어나고 있음을 암시하고 있다.

이러한 사실 및 arginine vasopressin에 의한 renin 유리의 억제 또한 혈관수축기능과는 관계없이 나타난다는 점(Malayan 및 Reid, 1982) 등은, JG 세포의 혈관 수축 기능과는 관계없는 다른 직접작용에 의하여 renin 유리의 억제가 일어나고 있음을 암시하고 있다. Je-Gal 및 Cho(1986)는 2K1C GH 백서 모형에서 혈압반응-혈장 renin 활성화도 반응 관계로부터, angiotensin II에 의한 renin 유리 억제기전의 감약현상이 혈압 반응성의 변화 이외의 다른 요인에 의한 것임을 추측하였다.

장기에 따라 차이가 있지만은, angiotensin II 수용체는 체내 sodium balance와 관련하여 sodium loading 및 depletion 때 그 수용체수가 증가(Beaufils et al., 1976; Belluca 및 Wilkes, 1984)하거나 감소(Belluca 및 Wilkes, 1984; Skorecki et al., 1983)할 수 있으며, 이로 인하여 angiotensin II에 의한 renin 억제 반응성에 변화가 올 수 있을 것이나, sodium-depletion으로, angiotensin II 수용체의 down-regulation (Belluca 및 Wilkes, 1984; Skorecki et al., 1983)과는 반대로, 혈관 receptor의 수가 증가하는 arginine vasopressin (St. Louis 및 Schiffrin, 1984)에 의하여서도 동일하게 renin 억제가 일어난다는 점에서는 체내 salt balance의 변화에 의한 receptor수의 감소때문에 오는 것 같지는 않다. Angiotensin II의 혈관벽에 존재하는 수용체의 수는 혈장내 angiotensin II 농도에 의하여서도 역비례적으로 영향을 받을 수 있을 것이나(Agnilera et al., 1981), clipped 신장절편에서만 현저하게 나타나는 renin 유리억제 반응의 감약현상을 설명하기는 쉽지 않다. 또한 JG cell의 angiotensin II receptor의 특성이 알려져 있지 않은 현재로서는 더우기 어려운 설명이 될 것 같다. Angiotensin II에 의한 renin 유리 억제효과의 감약현상은, 2K1C GH 백서 모형에서 양측 신장의 angiotensinase의 함량의 차이가 없음(Blaquier et al., 1961)을 생각할 때, 신장절편에서의 angiotensin II의 생물학적 반감기와는 관련이 없을 것 같다.

생리적 기능은 밝혀져 있지 않으나, JG 세포내에 독립적으로, renin 뿐 아니라 angiotensin I (Naruse et al., 1982) 및 angiotensin II (Naruse et al., 1982; Taugner et al., 1984) 모두가 존재할 것이라는 보고는, 이들 peptide가 JG 세포내에서 renin-angiotensin계의 조절인

자로써 어떤 역할을 할수도 있을 것이나 생리적으로나 병리적인 어떤 상태에서의 그 변화가 잘 알려져 있지 않으므로 그 역할은 아직 알 수 없다.

생체의 실험조건의 변화는 norepinephrine에 의한 renin 유리의 증가효과가 억제적으로 나타날 수도 있다는 점(Cho, 1980; Corwin et al., 1982)을 생각할 때, angiotensin II에 의한 renin 유리의 억제가 교감신경 말단 또는 postsynaptic membrane에 대한 norepinephrine에 의할 수도 있을 것(Bell, 1972; Starke, 1971)이기 때문에 이러한 관계의 이상에 의하여 renin 유리 억제효과가 감약될 수도 있을 것이나, 본 실험조건에서 보이는 바는 외부에서 투여한 norepinephrine은 억제적으로 작용하지는 않는 것 같다.

Verapamil 투여에 의한 renin 분비 증가효과는 voltage dependent calcium channel의 blocker에 의한 calcium influx의 감소에 기인한 것으로 생각되며 대조군과의 사이에는 큰 차이가 없으나, unclipped 및 clipped 신장 사이에는 renin 유리와 관련된 calcium influx에 차이가 있음을 암시하고 있다. Calmodulin은 여러 종류의 세포에 널리 분포하고 있으며, calcium의 존적인 세포기능의 중요한 역할을 담당하고 있음이 알려졌다(Cheung, 1980). Calmodulin의 antagonist는 생체의 실험모형에서 renin 유리를 증가시킴(Hackenthal et al., 1983; Kawamura 및 Inagami, 1983; Matsumura et al., 1984)이 알려졌다며, 그러나 그 renin 증가기전이 세포내 cAMP를 경유하지는 않을 것이라 보고되었다(Kawamura 및 Inagami, 1983). Trifluoperazine 투여후 clipped 신장절편에서의 renin 유리 증가효과가 unclipped 신장절편에 비하여 현저히 억제되어 있음은 calcium-calmodulin complex에 의하여 renin 유리가 조절되고 있을 세포내 기전이 clipped 신장의 JG 세포에서 현저히 변조되어 있음을 암시하고 있다.

2K1C GH 백서 모형에 있어 renin 유리의 두 중요한 negative feedback 조절의 short loop인 angiotensin II와 arginine vasopressin의 renin 분비 억제효과가 clipped 신장에서 현저히 감약되어 있다는 사실은, 첫째, 2K1C GH 백서모형의 renin 활성화도 증가이유(Cho 및 Kim, 1982)의 설명이 될 수 있을 것이며, 둘째, 2K1C GH 백서의 전신모형에서 negative feedback 조절기전이 감약되어 있는 기전(Je-Gal 및 Cho, 1986)이 신장 자체내에 있을 것이라는 점을 강력히 암시하고 있다.

Angiotensin II와 arginine vasopressin에 의한 renin 유리 억제기전이 calcium 의존적이라는 점 (Hackenthal et al., 1983; Naftilan 및 Oparil, 1982; Churchill et al., 1981; Chruchill, 1981; Churchill, 1980), Calcium-calmodulin complex의 antagonist에 의하여 angiotensin II의 renin 억제 기전이 감약 또는 소실될 수 있다는 점 (Hackenthal et al., 1983) 등을 생각할 때에, verapamil 및 TFP에 의하여 나타나는 renin 유리 증가효과가 clipped 신장에서는 감약되어 있다는 점등은, 2K1 CGH 백서 모형의 초기에 clipped 신장내 JG 세포내로의 calcium의 이동, 세포내의 calcium 및 calcium-calmodulin complex에 의한 renin 유리 조절기전에 이상이 있음을 암시하고 있으며, angiotensin II 및 arginine vasopressin에 의한 renin 유리 억제효과의 감약현상은 JG 세포의 이러한 이상현상의 결과로 인한 것으로 추측된다. 그러나 이러한 이상이 어떠한 원인에서 발생한 것이며, calcium-calmodulin complex의 세포내의 조절기전의 변조가 어떻게 angiotensin II 또는 arginine vasopressin의 반응성에 영향을 미치는지는 아직 확실하지 않다.

결 론

Two kidney one clip Goldblatt 고혈압 백서모형의 초기에 나타나는 renin-angiotensin계의 변화의 기전을 구명하고자, clipped 및 non-clipped 신장의 절편에서 renin 유리의 특성을 탐색하였다.

Un-clipped 신장절편의 renin 유리는 clipped 및 대조 실험군의 신장절편의 renin 유리에 비하여 현저히 억제되어 있었다.

Norepinephrine의 renin 유리 증가효과는 unclipped 신장에 비하여 clipped 신장에서 현저히 감약되어 있었다.

Angiotensin II 및 arginine vasopressin의 renin 유리 억제효과는 clipped 신장에서 현저히 감약되어 있었다.

Verapamil 및 trifluoperazine의 renin 유리 증가효과는 clipped 신장에서 유의하게 감약되어 있었다.

이상의 결과로서, two kidney one dip Goldblatt 백서 모형의 초기에, clipped 신장에서는 renin 조절기전의 negative feedback short loop인 angiotensin II 및

arginine vasopressin에 의한 renin 유리 억제가 감약되어 있었으며, 이러한 감약현상의 원인중의 하나는 JG 세포내의 calcium 이온의 조절기전 또는 calcium-calmodulin complex에 의한 renin 유리 조절기전의 이상에 의하여 나타날 것이라 추론하였다.

Acknowledgment

본 연구를 도와주신 김선희, 설경환 선생께 감사의 뜻을 여기에 표하고자 합니다.

REFERENCES

- Agnilera, G., A. Capponi and K. Catt: *Regulation and properties of adrenal and vascular angiotensin II receptors. In Frontiers in hypertension research*, J.H. Laragh, F.R. Buehler, D.W. Seldin, Springer-Verlag, New York, 1981, pp. 598-603.
- Beaufils, M., J. Sraer, C. Lepreux and R.Ardailou: *Angiotensin II binding to renal glomeruli from sodium-loaded and sodium-depleted rats. Am. J. Physiol.*, 230:1187-1193, 1976.
- Bell, C.: *Mechanism of enhancement by angiotensin II of sympathetic adrenergic transmission in the guinea pig. Circ. Res.*, 31:348-355, 1972.
- Belluca, A. and B.M. Wilkes: *Mechanism of sodium modulation of glomerular angiotensin receptors in the rat. J. Clin. Invest.*, 74:1593-1600, 1984.
- Bianchi, G. and P. Ferrari: *Animal models for arterial hypertension. In Hypertension, 2nd ed.*, J. Genest, O. Kuchel, P. Hamet, M. Cantin. McGraw-Hill Book Co., New York, 1983, pp. 534-555.
- Blaquier, P., D.F. Bohr, A.C. Taquini, Jr. and S.W. Hoobler: *Renin and angiotensinases content of the kidney of normal and renal hypertensive rats. Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 108:711-715, 1961.
- Braun-Menendez, E., J.C. Fasciolo, L.F. Leloire and J.M. Munoz: *La substancia hipertensora de la sangre rinon isquemado. Rev. Soc. Arg. Biol.*, 15:401-425, 1939.
- Braun-Menendez, E. and I.H. Page: *Suggested revision of nomenclature-Angiotensin. Science*, 127:242, 1958.
- Brooks, V.L., K.W. Cho, R.L. Malvin and B.J. Cohen: *Central and hormonal regulation of renin release by baboon kidneys. Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 165:147-150, 1980.
- Bunag, R.D., I.H. Page and J.W. McCubbin: *Inhibition of*

- renin release by vasopressin and angiotensin. *Cardiovasc. Res.*, 1:67-73, 1967.
- Carretero, O.A. and O.P. Gulati: *Effects of angiotensin antagonist in rats with acute, subacute, and chronic two-kidney renal hypertension.* *J. Lab. Clin. Med.*, 91: 264-271, 1978.
- Chang, I.S. and K.W. Cho: *Characteristics of renin release in two-kidney, one-clip Goldblatt hypertensive rats.* *Chungnam Med. J.*, 11:218-228, 1984.
- Chen, D.S. and A.M. Poisner: *Direct stimulation of renin release by calcium.* *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 152: 565-567, 1976.
- Cheung, W.Y.: *Calmodulin plays a pivoted role in cellular regulation.* *Science*, 207:19-27, 1980.
- Cho, K.W.: *Renin-angiotensin system of the spontaneously hypertensive rats in vitro.* *Jeonbug Univ. Med. J.*, 3:83-93, 1979.
- Cho, K.W.: *Effect of temperature changes on the renin release in vitro experiments.* *Kor. J. Physiol.*, 14:25-30, 1980.
- Cho, K.W. and S.H. Kim.: *Factors affecting the relationship between renal renin activity and plasma renin activity.* *Kor. J. Physiol.*, 16:63-69, 1982.
- Cho, K.W. and S.H. Kim.: *Measurement of plasma renin activity by radioimmunoassay in microscale in small laboratory animals.* *Jeonbug National University Thesis Collection 24 (Natural Sciences): 355-359, 1982.*
- Cho, K.W. and R.L. Malvin.: *Renin inactivation during in vitro experiment.* *Am. J. Physiol.*, 236:F501-F504, 1979.
- Churchill, P.C.: *Effect of D-600 on inhibition of in vitro renin release in the rat by high extracellular potassium and angiotensin II.* *J. Physiol.*, 304:449-458, 1980.
- Churchill, P.C.: *Calcium dependency of the inhibitory effect of antidiuretic hormone on in vitro renin secretion in rats.* *J. Physiol.*, 315:21-30, 1981.
- Churchill, P.C. and M.C. Churchill.: *Isoproterenol-stimulated renin secretion in the rat: second messenger roles of Ca and cyclic AMP.* *Life Sci.*, 30:1313-1319, 1982.
- Churchill, P.C., F.D. McDonald and M.C. Churchill.: *Effect of diltiazem, a calcium antagonist, on renin secretion from rat kidney slices.* *Life Sci.*, 29:383-389, 1981.
- Coleman, T.G. and A.C. Guyton: *The pressor role of angiotensin in salt deprivation and renal hypertension in rats.* *Clin. Sci. Mol. Med.*, 48:45s-48s, 1975.
- Corwin, E.J., Cho, K.W. and R.L. Malvin.: *Temperature induced conversion of the renal adrenoceptor: modulating renin release.* *Am. J. Physiol.*, 243:F23-F28, 1982.
- Douglas, W.W. and A.M. Poisner: *Stimulus-secretion coupling in a neurosecretory organ: the role of calcium in the release of vasopressin from the neurohypophysis.* *J. Physiol. (London)*, 172:1-18, 1964.
- Douglas, W.W. and R.P. Rubin.: *The mechanism of catecholamine release from the adrenal medulla and the role of calcium in stimulus-secretion coupling.* *J. Physiol (London)* 167:288-310, 1963.
- Ferrario, C.M., F.M. Bumpus, Z. Masaki, M.C. Khosla and J.W. McCubbin: *Effects of angiotensin antagonists in various forms of experimental arterial hypertension. In drugs affecting the renin-angiotensin-aldosterone system.* Edited by G.S. Stokes, K. D.G. Edwards, New York, S. Karger. 1976. pp. 86-97.
- Fray, J.C.S., D.J. Lush and A.N.D. Vallentine: *Cellular mechanism of renin secretion.* *Fed. Proc.*, 42:3150-3154, 1983.
- Garvas, H., H.R. Brunnes, H. Thurston and J.H. Largh: *Reciprocation of renin dependency with sodium volume dependency in renal hypertension.* *Science*, 188:1316-1317, 1975.
- Goldblatt, H.: *Studies on experimental hypertension. III. The production of persistent hypertension in monkeys (Macaque) by renal ischemia.* *J. Exp. Med.*, 65: 671-675, 1937.
- Goldblatt, H., J. Gross and R.F. Hanzel: *Studies on experimental hypertension. II. The effect of resection of splanchnic nerves on experimental renal hypertension.* *J. Exp. Med.*, 65:233-241, 1937.
- Goldblatt, H., J. Lynch, R.F. Hanzel and W.W. Summerville: *Studies on experimental hypertension. I. The production of persistent elevation of systolic blood pressure by means of renal ischemia.* *J. Exp. Med.*, 59:347-379, 1934.
- Goodfriend, T.L., L. Levine and G.D. Fasman: *Antibodies to bradykinin and angiotensin: A use of carbodiimides in immunology.* *Science*, 144:1344-1346, 1964.
- Gross, F.: *Renin und hypertension, physiologische oder pathologische Wirkstoffe?* *Klin. Wochschr.*, 36:693-695, 1958.

- Gross, F.: *The renin-angiotensin system and hypertension. Ann. Intern. Med.*, 75:777-787, 1971.
- Gross, F. and P. Lichtlen: *Pressor substances in kidney of renal hypertensive rats with and without adrenals. Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 98:341-345, 1958.
- Gross, F., G. Schaehtelin, H. Brunner and G. Peters: *The role of the renin-angiotensin system in blood pressure regulation and kidney function. Can. Med. Assoc. J.*, 90:258-262, 1964.
- Haber, E: *Specific inhibitors of renin. Clin. Sci.*, 59:7s-19s, 1980.
- Haber, E., T. Koerner, L.B. Page, B. Kliman and A. Purnode.: *Application of a radioimmunoassay for angiotensin I to the physiologic measurements of plasma renin activity in normal human subjects. J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 29:1349-1355, 1969.
- Hackenthal, E., U. Schwertschlag, G. Schwenker and G. Zoller: *Calmodulin inhibitors and renin release. J. Hypertension I (Suppl 2):180-182, 1983.*
- Haeggendal, J. and N. Svedmus: *Studies on the duration of adrenaline in nutrient solution. Acta Pharmacol. et Toxicol.*, 25:367-368, 1967.
- Houssay, B.A. and A.C. Tacquini: *Accion vasoconstrictora de la sangre venosa del rinon isquemado. Rev. Soc. Argent. Biol.*, 14:5, 1938.
- Inagami, T. and K. Murakami: *Pure renin: isolation from hog renin and characterization. J. Biol. Chem.*, 252:2978-2983, 1977.
- Je-Gal, Y.J. and K.W. Cho: *Characteristics of control mechanism of renin angiotensin system in two kidney one clip Goldblatt hypertension. Kor. J. Physiol.*, 20:89-102, 1986.
- Kawamura, M. and T. Inagami: *Calmodulin antagonists stimulate renin release from isolated rat glomeruli. Endocrinol.* 112:1857-1859, 1983.
- Laragh, J.H., M. Angers, W.G. Kelly and S. Lieberman: *Hypotensive agents and pressor substances. The effect of epinephrine, norepinephrine, angiotensine II and others on the secretory rate of aldosterone in man. J. Am. Med. Assoc.*, 174:234-240, 1960.
- Malayan, S.A. and I.A. Reid: *Effects of non-pressor analogue of vasopressin on plasma renin activity and salt and water excretion in water-loaded, anesthetized dogs. Life Sci.*, 31:2757-2763, 1982.
- Marshal, G.R., W. Vine and P. Needleman: *Specific competitive inhibitor of angiotensin II. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, 67:1624-1630, 1970.
- Matsumura, Y., N. Miyawaki, Y. Ohno and S. Morimoto: *Stimulant effects of W-7, a calmodulin antagonist, on renin release from rat kidney cortical slices. J. Pharmacol. Dyn.*, 7:346-349, 1984.
- Michelakis, A.M.: *The effect of sodium and calcium on renin release in vitro. Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 137:833-836, 1971.
- Miller, E.D. Jr., A.I. Samuels, E. Haber and A.C. Barger: *Inhibition of angiotensin conversion in experimental renovascular hypertension. Science*, 22:1108-1109, 1972.
- Naftilan, A.J. and S. Oparil: *The role of calcium in the control of renin release. Hypertension*, 4:670-675, 1982.
- Naruse, K., T. Inagami, M.R. Celio, R.J. Workman and Y. Kakii: *Immunohistochemical evidence that angiotensin I and II are formed by intracellular mechanism in juxtaglomerular cells. Hypertension 4 (Suppl II):II-70-II-74, 1982.*
- Ondetti, M.A., N.J. Willams, E.F. Sabo, J. Pluscec, E.R. Weaber and O. Kocy: *Angiotensin-converting enzyme inhibitors from the venom of Bothrops jararaca. Isolation, elucidation of structure, and synthesis. Biochemistry*, 19:4033-4039, 1971.
- Page, I.H.: *The production of persistent arterial hypertension by cellophane perinephritis. J. Am. Med. Assoc.*, 113:2046-2048, 1939.
- Page, I.H. and O.H. Helmer: *Crystalline pressor substances, angiotensin, resulting from the reaction of renin and renin activator. J. Exp. Med.* 71:29-43, 1940.
- Park, C.S. and R.L. Malvin: *Calcium in the control of renin release. Am. J. Physiol.*, 235:F22-F25, 1978.
- Park, C.S., R.L. Malvin, R.D. Murray and K.W. Cho: *Renin secretion as a function of renal renin content in dogs. Am. J. Physiol.*, 234:F506-F509, 1978.
- Sealey, J.E. and I.H. Laragh: *Searching out low renin patients: Limitations of some commonly used methods. Am. J. Med.*, 55:303-314, 1973.
- Sen, S., R.R. Smeby, F.M. Bumpus and J.G. Turcotte: *Role of renin-angiotensin system in chronic renal hypertensive rats. Hypertension*, 1:427-434, 1979.
- Skeggs, L.T., W.H. Marsh, J.R. Kahn and N.P. Shumway: *The existence of two forms of hypertensin. J. Exp. Med.*, 99:275-282, 1954.
- Skeggs, L.T., W.H. Marsh, J.R. Kahn and N.P. Shumway: *The purification of hypertensin I. J. Exp. Med.*, 100:363-370, 1954.
- Skorecki, K.L., B.J. Ballermann, H.G. Rennke and B.M.

- Brenner: *Angiotensin II receptor regulation in isolated renal glomeruli. Fed. Proc.*, 42:3064-3070, 1983.
- Snedcor, G.W. and W.G. Cochran: *Statistical methods*, 6th ed., Ames: Iowa State Univ., 1967.
- Starke, K.: *Action of angiotensin on uptake, release and metabolism of ^{14}C noradrenaline by isolated rabbit hearts. Eur. J. Pharmacol.*, 14:112-123, 1971.
- St. Louis, J. and E.L. Schiffrin: *Biological action and binding sites for vasopressin on the mesenteric artery from normal and sodium-depleted rats. Life Sci.*, 35: 1489-1495, 1984.
- Taugner, R., E. Mannek, R. Nobiling, C.P. Buehrle, E. Hackenthal, D. Ganten, T. Inagami and H. Schroeder: *Coexistence of renin and angiotensin II in epitheloid cell secretory granules of rat kidney. Histochemistry*, 81:39-45, 1984.
- Tigerstedt, R. and P.G. Bergman: *Niere und Kreislauf. Skand. Arch. Physiol.* 8:223-271, 1898.
- Vandongen, R. and W.S. Peart: *Calcium dependence of the inhibitory effect of angiotensin on renin secretion in the isolated perfused kidney of the rat. Br. J. Pharmacol.*, 50:125-129, 1974.
- Vander, A.J. and G.W. Geelhoed: *Inhibition of renin secretion by angiotensin II. Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 120:399-403, 1965.
- Yamamoto, K., H. Iwao, Y. Abe and S. Morimoto: *Effect of Ca^{++} on renin release in vitro and in vivo. Jap. Circ. J.*, 38:1127-1131, 1974.