

# 가토의 신장기능과 Renin분비에 미치는 Adenosine Analogues의 영향

전북대학교 의과대학 생리학교실

송윤식 · 최병수 · 김선희 · 조경우

(1988년 10월 16일 접수)

= Abstract =

## Effect of Adenosine Analogues on the Renal Function and Renin Release

Yun Sik Song, Byung Soo Choi, Suh Hee Kim and Kyung Woo Cho

*Department of Physiology, Jeonbuk National University Medical School  
2-20 Keum-Am-Dong-San Jeonju 560-180, Korea*

The regulations of renal function and renin release are influenced by neural, humoral and physical factors. During the last decade, considerable progress has been made in the identification and characterization of these extrinsic renal control systems. Mechanisms intrinsic to the kidney are also important for renal function. These include the autoregulation of blood flow, and the local control of renin secretion. Fundamental questions regarding the mechanism of these intrinsic controls remain unanswered.

Recently, endogenous renal adenosine has been claimed to influence the tubuloglomerular feedback control and renin release. Two subclasses of adenosine receptors  $A_1$  and  $A_2$ , have been described. The present experiment was carried out to evaluate the effects of  $N_6$ -cyclohexyladenosine (CHA,  $A_1$  selective) and 5'-N-ethylcarbox-amide adenosine (NECA,  $A_2$  selective) on the renal function and renin release in the unanesthetized rabbit. Intra-renal arterial infusion of NECA (0.3~10.0 n mole/min/rabbit) or CHA (0.03~1.0 n mole/min/rabbit) caused a prompt and dose-dependent decrease in urine volume, glomerular filtration rate (GFR), renal plasma flow (RPF), filtration fraction (FF), electrolyte excretion and free water clearance ( $CH_2O$ ), the effect being much more profound with CHA than with NECA.

The NECA infusion resulted in a profound decrease of systemic blood pressure, but the CHA infusion did not. Both NECA and CHA infusions caused a prompt and dose-dependent decrease in renin secretion rate, again the effect being greater with CHA than with NECA.

These results suggest that both  $A_1$  and  $A_2$  adenosine receptors may be involved in the intrinsic control of renal function and renin release, and that the  $A_1$  receptors plays a more important role than the  $A_2$  receptor in the regulation of renal function.

**Key Words:** Renin, Adenosine, Kidney, Renal function, Rabbit.

### 서 론

신장기능의 조절과, 신장호르몬의 하나인 renin

의 분비조절은 자율신경계, 호르몬 및 생리적인 여러 요인들에 의하여 영향을 받고 있음은 잘 알려져 있는 사실이다. 이러한 조절 요인들은 신장외적인 요인과, 신장내에 존재하는 내재적인 요인으로 구

분될 수 있을 것이다. 신장내 혈류의 재분포, 신혈류량 및 사구체여과율의 자동조절, 신혈류역동과 전해질 배설과의 상호관계, renin 분비 등의 조절이 신장내재적인 요인들과 어떠한 관계를 가지고 상호 영향을 미치는지에 관하여서는 잘 알려져 있지 않다. 신혈류량의 자동조절에 관련하여, Thureau (1964)는 대사율의 변화(증가)에 의하여 신장내에서 혈관수축성 물질이 유리될 것이라고 암시하였다. 그 후 세뇨관에서의 Na 재흡수량 또는 세뇨관내 용액의 유속이 단일 nephron의 사구체여과율(SN-GFR)을 변화시킬 수 있다는 보고 (Schnermann et al., 1970; Wright & Briggs, 1979)와 더불어 세뇨관의 기능변화가 사구체에 전달되는 과정의 정보전달 기전이 세뇨관의 대사율과 관계가 있다고 주장 (Renkin & Gilmore, 1973)하고 있다. Osswald 등 (1982)은 tubuloglomerular feedback 조절요인으로써 신장내 대사산물인 adenosine이 중요함을 밝혀 신장내 내재적인 조절요인임을 주장하였다.

신장혈관을 포함하여 모든 혈관의 이완과 장기내 혈류량의 증가효과에도 불구하고 (Spielman & Thompson, 1982), 신장에서만 혈류량 특히 사구체여과율의 감소 (Osswald et al., 1975; Tagawa & Vander, 1970; Osswald, 1975; Osswald et al., 1978 a)를 보이는 adenosine의 신혈류량 변화효과에 대해서는 아직 의견이 일치하고 있지 않다. 생체내에 투여한 adenosine은 신혈류량을 감소 (Osswald et al., 1975; Spielman & Osswald, 1978a) 시킨다는 보고도 있고, 일반적인 감소 후에 증가시킨다는 보고도 있다 (Tagawa & Vander, 1970; Osswald et al., 1978 a; Spielman et al., 1980). Adenosine 투여 후 나타나는 전해질 배설량 감소의 효과는 신혈류량의 감소에 기인되는 것으로 알려져 있다 (Tagawa & Vander, 1970; Osswald et al., 1978 b).

신장으로 부터의 renin 분비를 조절할 수 있는 신장의 내재적인 요인으로써 adenosine이 처음 보고된 이래 (Tagawa & Vander, 1970), 여러 연구자들에 의하여 (Osswald, et al., 1982; Spielman & Thompson, 1982; Osswald, et al., 1978b), renin 분비의 억제적 조절인자로서 그 역할이 거듭 강조되었다. Renin 분비조절의 중요한 sensor가 되는 macula densa에 부과되는 NaCl양의 변화가 renin 분비를 변

화시킬 수 있다는 사실 (Keeton & Campbell, 1981; Itoh & Carretero, 1985; Vriggs & Schnerman, 1986)은 일반적으로 알려져 있다. 이러한 효과는 macula densa내의 NaCl 재흡수와 관련되는 대사산물인 adenosine을 경유하여 나타남이 주장되었으며 (Spielman & Thompson, 1982; Osswald et al., 1978 b), furosemide 투여에 의한 renin 분비증가의 기전에도 adenosine의 조절기전이 관련되어 있을 것이라 주장되었다 (Kang, 1986).

Adenosine의 renin 분비 억제효과는 신혈류역동학적 변화와 세뇨관의 기능변화와는 개별의 상이한 기전에 의하여 나타날 것이라는 가설이 있으며 (Osswald et al., 1982; Arend et al., 1984) 또는 calcium channel blocker (Arend & Spielman, 1983)에 의하여 차단될 수 있음이 알려졌다.

최근 세포막에는 두 종류의 adenosine 수용체가 존재한다는 사실 (Londos et al., 1980; Daly, 1982)이 밝혀졌다. 이 수용체의 특성은 주로 신장의외의 관상동맥, 뇌, 장평활근 등의 근조직세포에서 생화학적, 생리적 및 약리적 실험방법에 의해 특징지어졌다. A<sub>1</sub> adenosine 수용체는 비교적 높은 친화성을 가지고 있으며, adenylate cyclase 활성도를 억제시킴이 알려졌다으며, agonist 화합물 중 potency 정도는 N<sup>6</sup>-cyclohexyladenosine (CHA) > 2-chloroadenosine (2-CIA) = adenosine > 5'-N-ethylcarboxamido adenosine (NECA) 등의 순서임이 주장되었다 (Daly, 1982). 한편 A<sub>2</sub> adenosine 수용체는 낮은 친화성을 보이며, adenylate cyclase 활성도를 촉진시키는 데 potency 정도는 NECA > 2-CIA = adenosine > CHA 등의 순서라고 주장하고 있다.

이처럼 CHA와 NECA는 비교적 A<sub>1</sub>과 A<sub>2</sub> 수용체에 선택적인 agonist이며 adenosine과는 달리 생체내에서 대사되거나 세포내로 uptake 되지 않아 adenosine 수용체를 경유한 생체 반응을 연구하는데 널리 이용되어 왔다. 마취된 백서에 2-CIA에 의한 신장기능의 변화가 관찰 (Churchill, 1982) 되었으며, 적출된 백서 신장관류모형에서 NECA와 CHA에 의한 신장기능과 renin 분비율의 변화가 관찰된 바 (Murray & Churchill, 1984) 있으나, 신장기능과 renin 분비 조절 요인으로써 adenosine 수용체의 역할은 아직 잘 알려져 있지 않다.

이에 저자는 무마취 가토에서 신장내 직접 약물 투여방법에 의하여 adenosine 유사체 중 A<sub>2</sub> agonist 인 NECA와 A<sub>1</sub> agonist인 CHA에 의한 신장기능과 renin 분비에 미치는 효과를 조사하므로써 신장에서 의 두 adenosine 수용체의 기능상의 차이와 조절인 자로서의 역할을 규명하고 하였다.

## 실 험 방 법

### 1. 실험동물

실험동물은 체중 1.8 kg 내외의 백색가토를 암수 구별없이 사용하였으며, 실험전 일주일간은 물과 사료를 충분히 주어 안정시킨 후 사용하였다.

### 2. 좌측 신정맥내 canula의 삽입 및 신동맥내 약물의 주입

Cho 등 (1987 a, b)의 방법에 의거 시행하였다.

### 3. 용액의 주입 및 집뇨 방법

이정맥에 삽입된 24 G Neoflon needle tubing을 통하여 용액을 주입 하였다. 사용한 용액은 glucose 3%, NaCl 0.3%, creatinine 0.3%, 그리고 PAH 0.04 % 였으며, infusion pump를 사용하여 30 ml/kg/hr 의 속도로 주입하였다.

집뇨는 하복부에 작은 정중절개를 하여 수뇨관을 노출시키고 silicon관을 삽입하여 양측 요를 각각 분리하여 채집하였다. 약 150~180분 동안 PAH가 제외된 용액을 주입하여 hydration 시킨 후 좌측 신동맥 약물투여 cannula 끝의 위치가 확인된 후 PAH (8 mg/kg of priming dosage)를 정맥내에 투여함과 동시에 원래 용액조성으로 바꾸어 주입하였다. 그 후 10분 간격으로 양측뇨를 3~4회 집뇨하여 대조치로 사용하였으며, 약물투여 30분간과 그후에 10분 간격으로 5~6회 집뇨하여 실험치로 사용하였다.

### 4. 약물투여

Adenosine analogue 중 A<sub>2</sub> agonist의 대표적인 약물인 NECA와 A<sub>1</sub> agonist의 대표적인 약물인 CHA 를 좌측 신동맥내에 투여하였다. NECA는 0.2% inulin saline 에 녹혀 각각 0.3, 1.0, 3.0 및 10.0 n

mole/min로 30분간 투여 하였으며, CHA는 10% ethyl alcohol이 포함된 0.2% inulin saline에 녹혀 각각 0.03, 0.1, 0.3 및 1.0 n mole/min로 30분간 투여 하였다. 투여방법은 대퇴동맥 cannula를 Harvard infusion pump에 연결하여 주입속도 0.1 ml/min로 투여 하였으며, 상기한 약물은 일정한 비율로 inulin 이 들어있는 용액에 녹인 후 투여하여 실제 좌측 신동맥내로 투여된 양은 요중으로 배설되는 inulin의 양을 측정하여 산출하였다.

### 5. Renin 분비율

Renin 분비율 (renin secretion rate)을 보기 위한 신정맥과 동맥에서의 채혈은 각각의 신정맥 cannula와 대퇴동맥 또는 중심이동맥에 삽입된 cannula 를 통해 150 ul씩 약물투여 직전과, 투여중 15분과 25분에 하였다. 채혈후 바로 냉각, 원심분리하여 혈장 renin 활성도를 측정하였다.

Renin 분비율의 계산은 다음과 같다.

$$RSR = (\text{renin vein-artery}) \text{ PRA} \times \text{RPF}$$

RSR: Renin Secretion Rate, ng AI/kg/min

PRA: Plasma Renin Activity, ng AI/ml/hr

RPF: Renal Plasma Flow (C<sub>PAH</sub>), ml/kg/min

### 6. 신장기능 측정을 위한 채혈과 혈압의 측정

신장기능을 검사하기 위해 집뇨후에 대퇴동맥 cannula를 통해 2 ml 정도 채혈하여 냉각, 원심분리한 후 혈장을 화학적인 분석에 사용하였다. 혈압변동은 대퇴동맥 cannula를 pressure transducer에 연결하여 multi-channel recording system으로 기록하였다.

### 7. Renin 활성도 측정을 위한 방사면역측정법

혈장 renin 활성도 (PRA)는 소량(혈장 50 ul)의 시료에 대량의 renin 기질을 사용하여 생성된 angiotensin I을 측정하는 plasma renin concentration (PRC)으로 측정하였다.

Angiotensin I의 항체는 Goodfriend 등(1964)의 carbodiimide 방법을 변용한 Cho 등 (1987)의 방법에 따라 angiotensin I (5-Ile, 9-His)을 가토의 혈청 albumin에 conjugation시켜 동량의 Freund's ad-

juvant와 잘 섞어 6주간 주 1회씩 여러 부위에 주사하였다. 2주후 부터 채혈하여 그 titer를 측정하였으며, 혈장은 56°C에서 30분동안 불활성화하여 사용에 편리하도록 일단계 희석하여 소량씩 나누어 -70°C에 보관하여 사용하였다.

Renin 기질은 Cho 및 Malvin (1979)의 방법에 따라 만들었으며, renin 활성도의 측정을 위한 angiotensin I의 측정은 Sealey 및 Laragh (1973)의 방법을 변형시킨 Cho 및 Kim (1982)의 방법에 의하였다. Converting enzyme 및 angiotensinase의 억제제로는 EDTA, phenylmethylsulfonyl fluoride 및 8-hydroxyquinoline을 사용하였다.

Angiotensin I의 방사면역측정법은 bovine serum albumin을 포함한 Tris-acetate buffer (pH 7.4, 0.1 M)을 사용하는 일반적인 방법에 따랐다(Cho et al., 1987 b). 4°C하에서 18~30 시간 방치후 charcoal suspension으로 bound form과 free form을 분리하였으며, gamma counter를 사용하여 radioactivity를 측정하였다.

### 8. 화학적 분석

채집한 뇨와 혈액의 화학적 분석중 PAH는 Smith 등 (1945)의 방법으로 측정하였으며, creatinine의 측정은 Phillips (1944)의 spectrophotometer법에 의하였고, Na와 K의 측정은 flamephotometry에 의하였다. Cl의 측정에는 digital chloridimeter를 사용하였으며 삼투질농도 측정에는 빙점강하의 방법을 사용한 osmometer를 사용하였고, inulin 측정은 Vurek 및 Pegrem (1966)의 방법에 따른 fluorospectrophotometry에 의하였다.

### 9. 사용약물

사용한 약물중 5'-N-ethylcarboxamidoadenosine, N6-cyclohexyladenosine, angiotensin I (5-Ile, 9-His), I-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide hydrochloride, rabbit and bovine serum albumin, phenylmethylsulfonyl fluoride, neomycin, Trizma, phenylmercuric acetate, maleic acid, creatinine, para-aminohippuric acid, 및 inulin 은 Sigma 제, dextran T-70은 Pharmacia 제, glucose는 Fluka 제, angiotensin I [(5-Ile), (tyrosyl-I 125)]는 New Eng-

land Nuclear 제, 그리고 thiopental sodium은 대한약품제를 그리고 기타의 시약은 특급을 사용하였다.

### 10. 통계적 처리

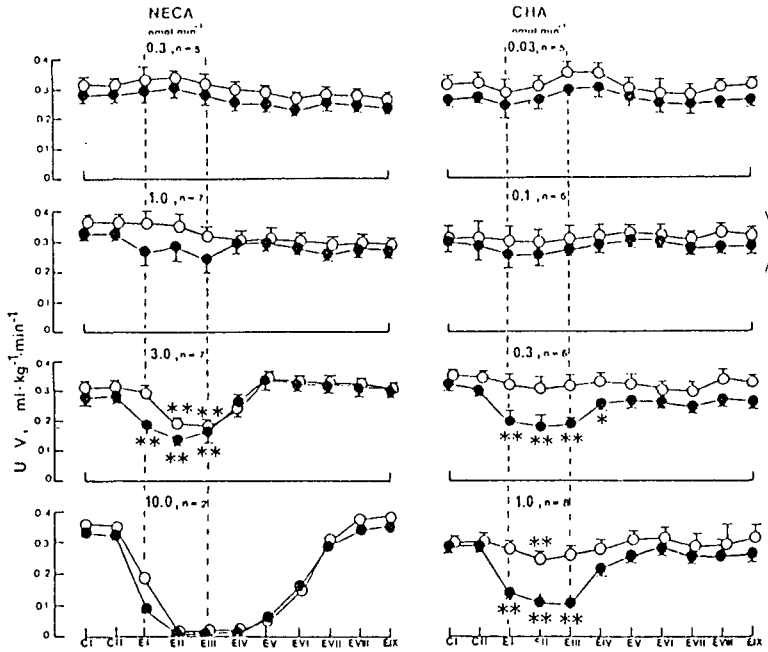
실험결과와 통계적 처리는 Student's paired t-test 와 Unpaired t-test (Snedecor & Cochran, 1967)에 의하였으며, P-value 0.05를 유의한 차이의 한계로 삼았다. 실험치의 표현은 mean±SE로 하였다.

## 실 험 결 과

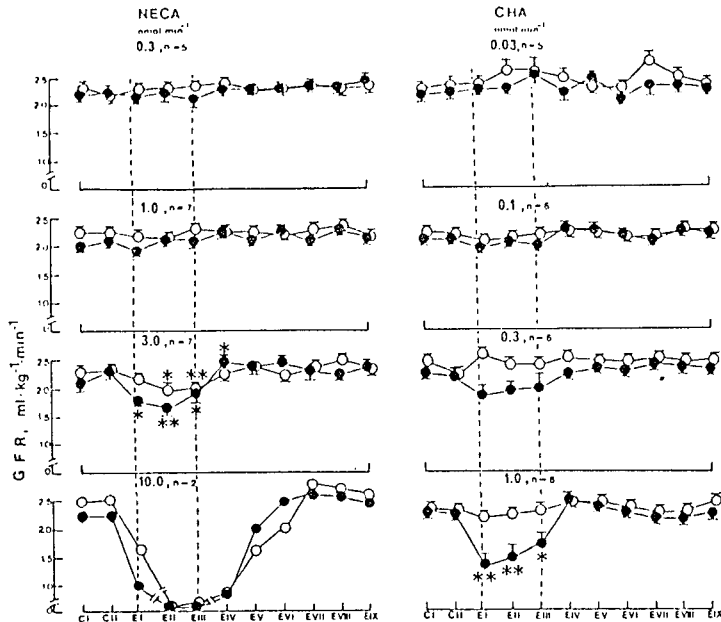
### 1. NECA와 CHA가 요량, 신혈류역학 및 전신혈압에 미치는 영향

전실험을 통하여 대조기간동안의 실험신장과 대조신장의 기능은 차이가 없었다. 실험신장에 NECA 0.3 n mole/min 투여시 신장기능에 변화를 보이지 않았으며, 증량하여 1.0 nmole/min 투여시 실험신장에만 국한하는 현저한 요량감소와 약간의 전신 혈압감소가 있었으나(Fig. 1,7), 신혈류역학적 변화는 관찰할 수 없었다(Fig. 2,3). NECA를 각각 3.0, 10.0 nmole/min 투여시 현저한 전신혈압의 하강(Fig. 7)과 더불어 실험신장과 대조신장 모두에서 요량, 사구체 여과율 및 신혈류량의 현저한 감소를 보였다(Fig.1-3). 투여기간중 혈압은 감소하였으나, 혈류역동학적 변화는 지속적이지 않았다. 3.0 nmole/min 투여군에서는 NECA 투여를 정지한 직후 사구체여과율은 대조기간때의  $2.28 \pm 0.11$ 에서  $2.46 \pm 0.10$  ml/kg/min로, 신혈류량은  $7.30 \pm 0.24$ 에서  $8.65 \pm 0.35$  ml/kg/min로 오히려 증가됨을 보였다. 여과분획은 NECA 3.0 nmole/min 투여시 투여기간과 직후에 실험신장은 현저한 감소현상을, 대조신장은 증가현상을 보였다. NECA 투여에 의한 이러한 변화는 투여후 20~30분이 경과한 때에 모두 원상으로 회복되었다.

사용한 양의 범위내에서 현저한 전신혈압하강을 동반하지않는 CHA 0.03~1.0 nmole/min의 투여량에서 실험신장에 국한하는 요량, 사구체여과율 및 신혈류량의 변화가, 시간경과별로 비교할 때 용량에 비례하여 감소함을 관찰할 수 있었다(Fig. 1-3). CHA 투여 첫 10분 내에 투여량에 비례하여 현저한



**Fig. 1.** Effect of intra-renal arterial infusion of NECA and CHA on the urine flow (UV) in unanesthetized rabbits. Black dots represent the experimental kidney, and white dots represent the control kidney. CI and CII are two 10 minute control periods; EI-EIII, three 10 minute drug infusion periods; EIV-EIX, six postinfusion periods each lasting 10 minutes. \*, \*\* Significantly different from the value of control period at  $p < 0.05$  and  $p < 0.01$ , respectively.



**Fig. 2.** Effect of intra-renal arterial infusion of NECA and CHA on the glomerular filtration rate (GFR) in unanesthetized rabbits. Other legends are the same as in Figure 1.

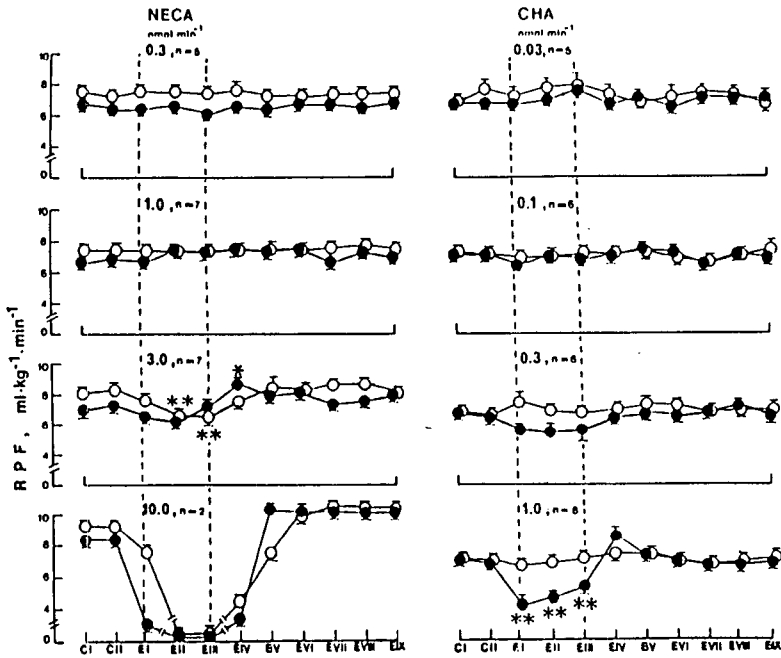


Fig. 3. Effect of intra-renal arterial infusion of NECA and CHA on the renal blood flow (RPF) in unanesthetized rabbits. Other legends are the same as in Figure 1.

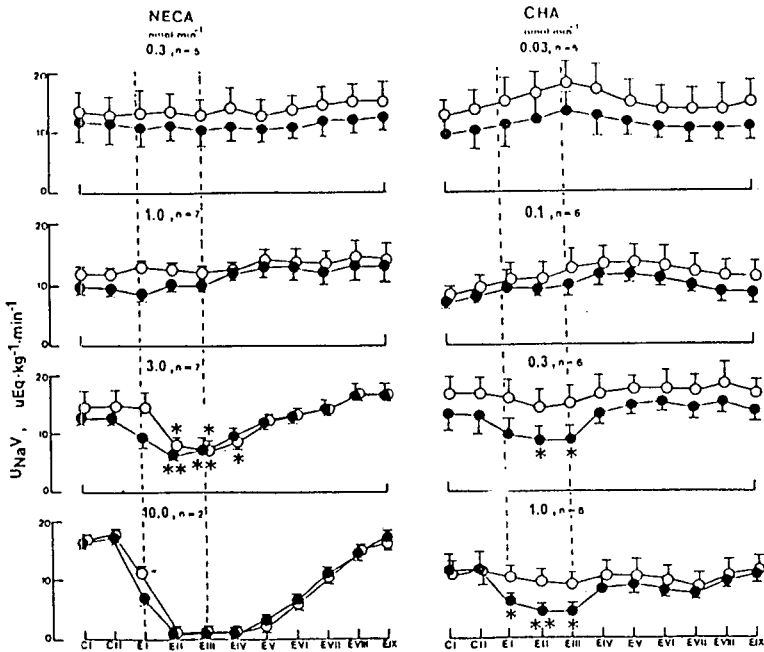


Fig. 4. Effect of intra-renal arterial infusion of NECA and CHA on the urinary excretion of sodium (UNaV) in unanesthetized rabbits. Other legends are the same as in Figure 1.

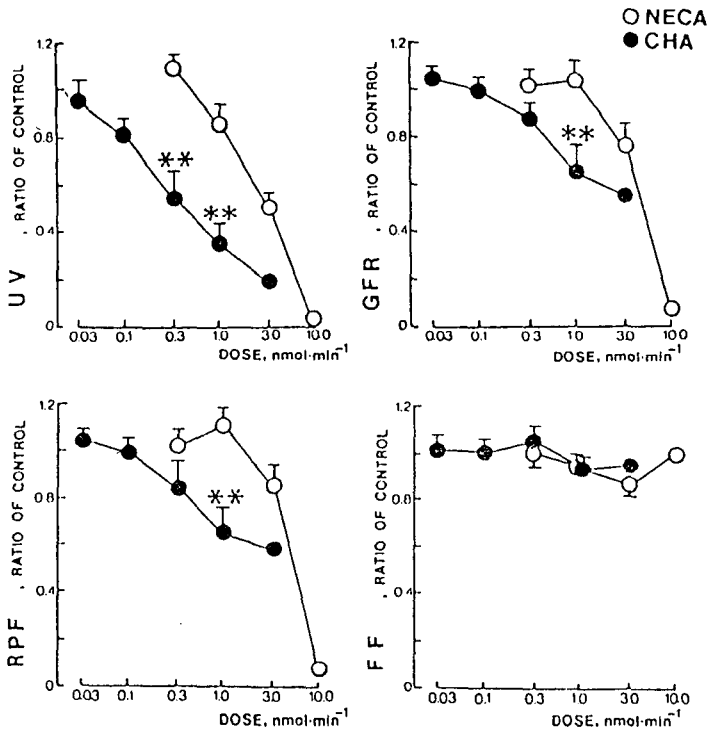


Fig. 5. Dose-response curves of intra-renal infusion of NECA and CHA in urine flow and renal hemodynamics. UV, Urine volume; GFR, glomerular filtration rate; RPF, renal plasma flow; FF, filtration fraction. \*, \*\*, Significantly different from NECA at  $p < 0.05$  and  $p < 0.01$ , respectively.

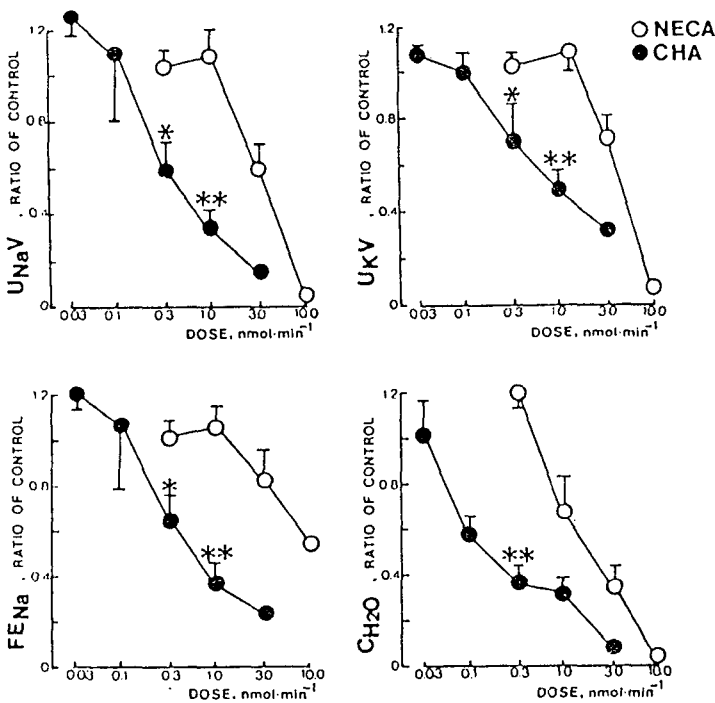


Fig. 6. Dose-response curves of intra-renal infusions of NECA and CHA in urinary excretions of electrolytes and free water clearance. UNaV and UKV are the amount of sodium and potassium excretion. FENa, Fractional excretion of sodium, CH<sub>2</sub>O, free water clearance. \*, \*\*, Significantly different from NECA at  $p < 0.05$  and  $p < 0.01$ , respectively.

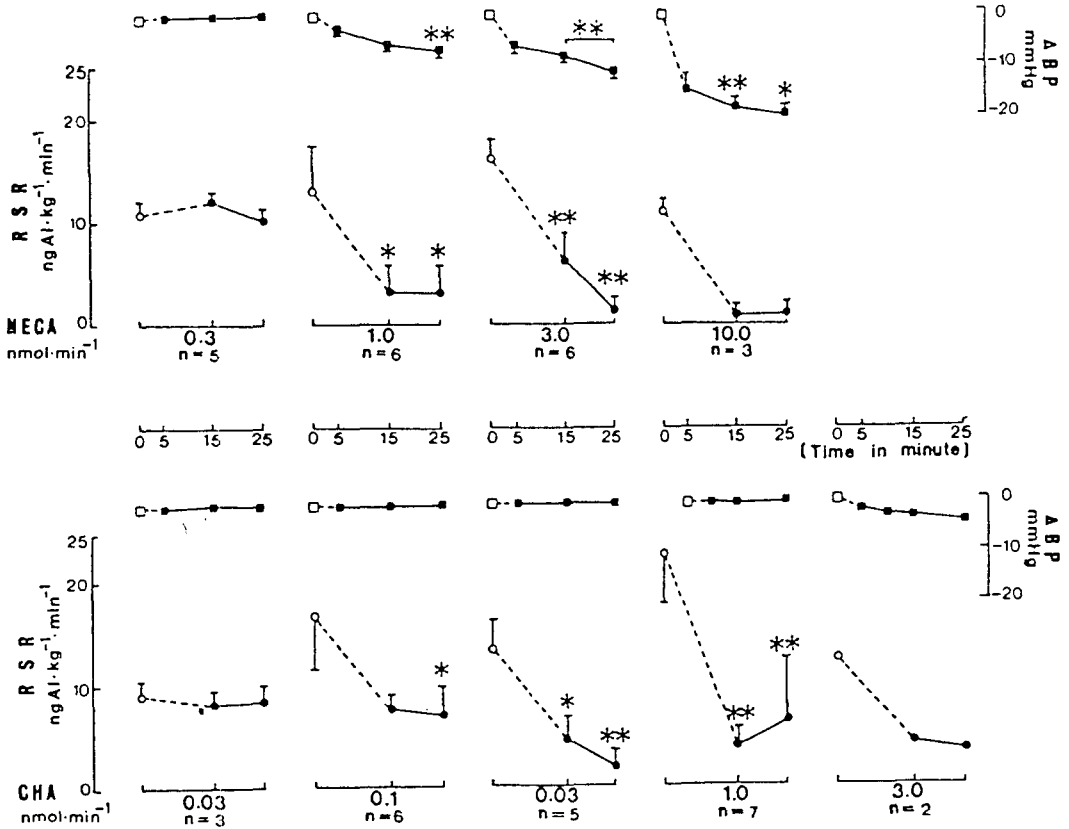


Fig. 7. Effect on intra-renal arterial infusion of NECA and CHA on the systemic blood pressure (BP) and renin secretion rate (RSR). \*, \*\*, Significantly different from control period at  $p < 0.05$  and  $p < 0.01$ , respectively.

감소를 보인 요량은, 계속 주입 투여함에도 불구하고 그 이상 변화가 일어나지 않았으며 사구체여과율과 신혈류량은 오히려 약간의 회복현상을 보였다. CHA 투여를 정지한 직후 1.0 nmole/min 투여군에서 신혈류량은 대조기간때의  $6.76 \pm 0.38$ 에서  $8.35 \pm 0.57$  ml/kg/min으로 약간 증가함을 보였다. CHA 투여는 여과분획에 별다른 영향을 미치지 않았다. CHA 투여에 의한 이러한 변화는 투여를 정지한 후 10분 경과한 때에 모두 원상으로 회복되었다.

Fig. 5는 약물투여 20분 때의 요량과 신혈류역동학적변화를 대조기간치를 기준으로 하여 용량반응곡선으로 표현한 것이다. 요량, 사구체여과율 및 신혈류량은 투여량에 비례하여 감소현상을 보였으며, CHA 용량반응곡선이 NECA 용량반응곡선에 비해 “좌방 이동”되어 있음은 CHA 효과가 NECA 효과

보다 훨씬 강력함을 나타낸다. 여과분획은 NECA나 CHA군에서 모두 용량에 무관하게 일정하였다.

## 2. NECA와 CHA가 전해질과 유리수분배설기능에 미치는 영향

NECA 0.3~10.0 nmole/min 투여량 범위내에서 요중 Na, Cl 및 K 배설량의 감소현상은 전신혈압 강이 현저한 30 및 10.0 nmole/min 투여시 실험신장과 대조신장 모두에서 일어났다(Fig. 4,6). 이러한 감소현상은 투여기간동안 시간별로 비교할 때 투여량에 비례하였으며 투여정지 후 30~40분이 경과한 때에 원상으로 회복되었다.

사구체여과율로 보정한 Na 배설량인 Na의 fractional excretion (FE Na)는 NECA 0.3 및 1.0 nmole/min 투여시 별다른 변화를 보이지 않았으나 3.0 nmole/min 투여시 투여 30분 때와 직후에 양측 신



장에서 모두 현저한 감소현상을 보였다(Fig. 6).

유리수분배설량은 NECA 1.0 nmole/min 투여시 양측 신장에서 모두 약간 감소하였으며, 3.0 nmole/min 투여시 투여기간동안 현저한 감소를 보였다(Fig. 6). FE Na와 유리수분배설량은 약물 투여 중단 후 원상으로 회복되었다.

CHA 0.03 및 0.1 nmole/min 투여시 요중 Na, Cl 및 K 배설량과 FE Na에서 별다른 효과를 관찰하지 못하였다. CHA 0.3 및 1.0 nmole/min 투여시 실험 신장에 국한하는 요중 Na, Cl 및 K 배설량의 현저한 감소현상은 투여기간동안 투여량에 비례하였다. CHA 투여 10분 만에 현저한 감소를 보인 이러한 전해질 배설량은 투여시간 경과에 따라 더 이상의 감소현상을 보이지 않았으며 투여정지후 곧 원상으로 회복되었다. FE Na도 투여기간동안 현저한 감소를 보였으며 10 nmole/min 투여시 투여 10분 때와 20분 때에 차이있는 감소를 나타내었고 투여정지후 곧 원상으로 회복되었다. 유리수분배설량은 신혈류역학 및 전해질의 배설효과에 영향을 미치지 않는 CHA 0.1 nmole/min 투여시 양측 신장에서 투여기간동안 현저한 감소를 보였으며, 증량 투여함에 따라 이러한 감소현상은 점차 커졌다.

CHA의 이러한 효과는 전신혈압의 변화없이 나타났다. Figure 6은 약물투여 20분 때의 전해질과 유리수분배설량의 변화를 대조기간치를 기준으로 하여 반응용량곡선으로 표현한 것이다. 요중 Na 배설량, FE Na 및 유리수분배설량은 투여량에 비례하여 감소현상을 보였으며, CHA 용량반응곡선이 NECA 용량반응곡선에 비해 “좌방이동” 되었음은 CHA 효과가 NECA 효과보다 훨씬 강력함을 의미한다.

### 3. NECA와 CHA가 Renin 분비에 미치는 영향

NECA와 CHA 투여 10분 전의 대조기간과 투여 개시 후 15분 및 25분 때에 renin 분비의 변화를 관찰하였다.

신장기능의 변화를 보이지 않는 NECA 1.0 nmole/min 투여시 현저한 renin 분비의 감소현상을 보였으며, 전신혈압의 하강과 신혈류량의 감소현상이 현저한 NECA 3.0 및 1.0 nmole/min 투여시

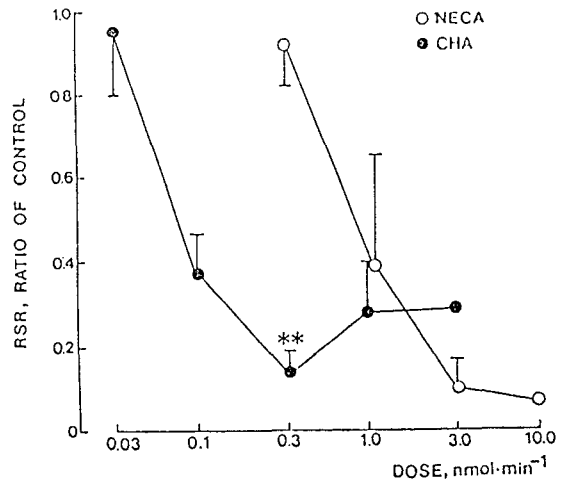


Fig. 8. Dose-response curves of intra-renal infusions of NECA and CHA in renin secretion. \*, \*\*, Significantly different from NECA at  $p < 0.05$  and  $p < 0.01$ , respectively.

renin 분비 감소현상은 더욱 현저하였다(Fig. 7).

신장기능의 별다른 변화를 보이지 않은 CHA 0.1 nmole/min 투여시에도 이미 renin 분비의 감소현상을 보였으며, 신혈류역동학적변화가 현저한 CHA 1.0 nmole/min 투여시 renin 분비가 유의하게 감소되었다.

Figure 8은 약물투여 25분 때의 renin 분비율을 대조기간치를 기준으로 하여 용량반응곡선으로 표현한 것이다. Renin 분비율은 adenosine analogue의 투여량에 비례적으로 감소함을 보였으며 CHA 용량반응곡선이 NECA 용량반응곡선에 비해 “좌방이동” 되었음은 CHA 효과가 NECA 효과보다 훨씬 강력함을 나타낸다.

## 고 안

신장내에 존재하는 adenosine의 두 수용체  $A_1$ 과  $A_2$ 의 기능상의 차이와 조절인자로써의 역할을 구명하고자 선택적인  $A_2$  agonist인 NECA와  $A_1$  agonist인 CHA를 submicromolar 농도로 투여하였다.

NECA와 CHA 투여시 투여량에 비례하여 신장기능과 renin 분비가 감소되었으며, CHA가 NECA에 비하여 훨씬 더 강력하게 작용함을 보였다. NECA

**Table 1.** Comparison of effects of adenosine and adenosine analogues on the renal function and renin secretion rate in the various experimental condition

Investigator	Experimental animal	Experimental condition	Adenosine analogues	GFR		RPF	UNaV	RSR	CH <sub>2</sub> O
				Afferent arteriole	Efferent arteriole				
Tagawa & Vander (1970)	Dog	IRA Anesthesia	Adenosine (200-500 ug/min)	↓		↷	↓	↓	?
Murray & Churchill (1984)	Rat	Isolated Perfused Kidney	NECA (1 uM)	Dilatation	Dilatation	Perfusate flow ↑	↑	↑	?
			CHA (1 uM)	Constriction	Constriction	Perfusate flow ↔	↓	↓	?
Song et al.	Rabbit	IRA Unanesthesia	NECA (0.03-1.0 nmol/min)	↓		↓	↓	↓	↓
			CHA (0.03-1.0 nmole/min)	↓↓		↓↓	↓↓	↓↓	↓↓

는 투여량 범위내에서 아마도 전신효과에 의하여서도 그러한 영향이 나타나는 것으로 생각되며, CHA는 투여량 범위내에서 전신혈압에 따른 별다른 변화를 보이지 않았다.

신장기능에 미치는 adenosine의 영향을 구명하고자 한 거의 모든 실험에서 사구체여과율의 감소현상이 보고된 바 있는데 (Spielman & Thompson, 1982; Spielman & Osswald, 1978; Spielman et al., 1980; Osswald, 1975), 본 실험에서도 adenosine 유사체 투여로, A<sub>1</sub> 또는 A<sub>2</sub> adenosine 수용체에 결합되는 adenosine 유사체의 투여시 언제나 사구체여과율이 감소 되었는데, 그 감소 정도는 A<sub>2</sub> 수용체에 결합되는 물질에 의해 더 크게 나타났다. 전신혈압의 하강을 동반한 NECA의 신장에 대한 영향이 신장에 대한 직접적인 영향인지, 전신혈압의 하강에 의하여 나타나는 것인지는 확실하지 않다. 전신혈압의 변화없이 CHA 투여동안 실험신장에 국한하는 사구체여과율의 감소를 보이는 본 실험 결과는 다른 실험결과와 비교 (Table 1)하여 볼 때, 1차적으로 구심성 소동맥을 축소시켜 일어난 것으로 생각된다. CHA의 계속 주입에도 불구하고 사구체여과율의 감소가 더 커지지 않는 점은 특이한 현상이며, 투여정지 직후 증가를 보인점은 adenosine 투여시 관찰되

는 신혈류량의 “biphasic” 변화 (Spielman & Osswald, 1978; Tagawa & Vander, 1970; Osswald et al., 1978 a)에 기인된 것으로 생각되며, 이러한 현상은 adenosine 유사체투여후 신혈류량의 변화에서도 관찰되었다. 실험조건에 따라 일치된 견해를 보이지 않는 adenosine 투여에 의한 신혈류량변화는 adenosine의 A<sub>1</sub> 및 A<sub>2</sub> agonist에 의하여 모두 가토에서 투여량에 비례하여 심해짐을 보였다. 혈압감소가 현저한 NECA 3.0 nmole/min 투여시 여과분획이 현저히 감소한 점은 사구체 여과율의 감소효과가 더 크기 때문인지 신혈류량의 감소효과가 작기 때문인지는 아직 확실하지 않다.

무마취 가토신장에 adenosine 유사체의 submicromolar 농도투여에 의한 renin 분비의 감소현상은 A<sub>1</sub> 및 A<sub>2</sub> 수용체에 대한 agonist의 투여량에 비례하여 나타났다. 또한 신장기능의 변화를 일으키지 않는 투여량에도 현저한 renin 분비 감소현상을 보였으며, A<sub>1</sub> 수용체 agonist에 훨씬 민감한 반응을 보였다. Adenosine의 신장기능과 renin 분비에 미치는 효과가 각기 개별의 기전에 의하여 나타날 것이라는 보고 (Osswald et al., 1982)가 있으며, 그 과정은 확실하지 않으나 사구체 여과율을 감소시키는 효과는 angiotensin II의 국소 생성량의 증가를 통하여

나타날 것이고, renin 분비억제효과는 renin을 포함하고 있는 사구방세포 (JG cell) 자체에 대한 효과일 것이라는 점이다. Itoh 및 Carretero (1985), Itoh 등 (1985)은 최근 macula densa를 포함하는 사구방세포간의 chemical messenger로써 adenosine에 의한 기능적 억제제가 있을 것이라는 생각을 하였다. 또한 adenosine의 renin 유리 억제 작용의 가능성으로 사구방세포에 대한 직접적인 작용외에도 신장신경의 말단에서 교감신경의 전달을 조절함으로써 (Hedqvist & Fredholm, 1976; Hedqvist et al., 1978; Wakade & Wakade, 1978; Katholi et al., 1982; Evoniuk et al., 1985) renin 분비를 조절할 수 있을 것이라고 제안된 바 있다. 본 실험조건상 신장에 내재하여있는 생리적 adenosine량이 다른 실험조건에 비해 정상에 근접해있을 것으로 가정할때, 아주 적은 농도의 A<sub>1</sub>과 A<sub>2</sub> agonist의 투여로 신장기능에 변화없이 renin 분비가 감소되는 것으로 보아, 가토 신장에서 adenosine 수용체에 작용하는 agonist가 renin 분비에 억제적으로 작용할 것이라 생각된다. 백서 신장절편에서 renin 분비가 A<sub>1</sub> 수용체에 의존적으로 억제된다는 보고 (Churchill & Churchill, 1984)와 적출된 백서 신장관류모형에서 renin 분비가 NECA에 의해서 증가되고, CHA에 의해서는 감소된다는 보고로 미루어 볼때, renin 분비 증가현상은 생리적 범위보다 훨씬 많은 양의 adenosine agonist가 작용한 결과일 것으로 생각된다.

Adenosine을 투여한 여러 연구결과와 adenosine 유사체를 투여한 몇몇 실험과 본 연구결과를 종합해 볼때 신장내에 존재하는 adenosine 수용체는 모두 renin 분비에 억제적 기능을 담당하고 있을 것으로 생각된다.

Renin 분비 억제와 관련된 adenosine 유사체와 수용체간의 상호관계는, A<sub>1</sub> 및 A<sub>2</sub> adenosine 수용체에 대한 선택적인 차단제를 이용한 연구결과에 의하여 더욱 확실하여 질 것으로 기대된다.

NECA 투여후 나타나는 요중 Na, Cl, 및 K 배설량과, FE<sub>Na</sub>의 감소는 NECA 투여에 의한 직접적인 신혈류역동학의 변화에 기인한 것인지, 또는 전신혈압의 하강에 의한 2차적인 신혈류역동학의 감소에 기인한 것인지, 또는 신세뇨관에 대한 직접적인 영향의 결과인지는 아직 확실하지 않다. 그러나, 혈

류역동학적 변화를 보이지 않는 CHA 0.3 nmole/min 투여시 실험신장에 국한하는 요중 Na 및 Cl 배설량의 감소현상은 A<sub>1</sub> agonist가 직접 신세뇨관에 작용하여 그 효과를 나타내고 있음을 나타내고 있으며, 사구체여과율로 보정한 결과는 이를 더욱 뒷받침해 주고 있다. 적출된 백서관류신장 모형에서 NECA와 CHA에 의한 요중 Na와 K 배설량의 증가 및 감소의 효과가 혈류역동학적인 변화에 기인하여 나타난다는 보고도 있으나 (Murray & Churchill, 1984), 신혈류역동학적 변화없이 CHA에 의한 요중 전해질배설량의 감소를 관찰한 본 연구결과는 A<sub>1</sub>-agonist에 의한 효과가 직접 신세뇨관의 기능변화를 통해 나타나고 있음을 시사한다. 신장 근위세뇨관의 전해질 재흡수기능은 대부분 교감신경계에 의존하고 있음이 알려져 있다 (Dibona, 1977; Kim et al., 1980). Adenosine은 실험방법과 투여하는 양에 따라 그 차이가 있어 교감신경말단에서 norepinephrine의 유리억제를 일으킨다는 보고 (Hedqvist & Fredholm, 1976; Hedqvist et al., 1978; Wakade & Wakade, 1978)도 있고, 교감신경 전달을 촉진한다는 보고 (Katholi et al., 1982; Evoniuk et al., 1985)도 있으며, 특히 개의 신장혈관에서 교감신경 전달을 강화시킨다는 보고 (Hashimoto & Kokobun, 1971)도 있다.

본 실험결과로는 신장기능의 변화와 관련된 A<sub>1</sub> 수용체가 교감신경전달과 어떠한 관계가 있는지는 아직 확실히 알 수 없다. 다른 한편으로는, adenosine 투여시 나타나는 외측피질에서 내측피질로의 신장내 혈액의 이동 (Macias et al., 1983)이 요중으로의 전해질 배설량을 감소시키는 하나의 기전이 될 수도 있다. Adenosine 유사체에 의해 유리수분 배설량이 현저히 감소한 점은 대단히 흥미있는 사실이다. Birnbaumer 등 (1974)은 adenosine이 소의 신장수질에 있는 vasopressin-sensitive adenylyl cyclase 활성도를 촉진시킨다고 보고하였으며, 백서와 사람의 신유두부에서 adenosine 수용체의 존재가 보고되었다 (Woodcock et al., 1984; Woodcock et al., 1986). Adenosine 유사체들은 백서와 사람의 신유두부 adenylyl cyclase 활성도를 증가시키며, 그 효과는 NECA > 2-CIA > CHA 등의 순서로 훨씬 A<sub>2</sub> agonist에 의존적이라 주장하였다. 그러나, A<sub>2</sub> agonist인

NECA를 신동맥내 투여시에는 전신혈압 하강과 현저한 신장기능의 변화를 동반하고 유리수분 배설량이 감소한데 비해, 신혈류역동학적 변화와 전해질 배설량의 변화를 유발하지 않는 낮은 농도의 CHA 투여시에도 유리수분배설량이 감소된 점은 가토 신유두부 adenosine 수용체가 백서와 사람 신장과는 달리 A<sub>2</sub> 보다는 A<sub>1</sub> 수용체에 의존적이며, vasopressin-sensitive adenylate cyclase 촉진작용을 갖고 있을 것이 기대되며, 이러한 기전을 통하여 집합관에서의 수분재흡수를 촉진시킬 것으로 생각된다.

### 결 론

무마취가토에서 신동맥내 직접약물 투여방법에 의하여 adenosine 유사체 중 대표적인 A<sub>2</sub> agonist인 NECA와 A<sub>1</sub> agonist인 CHA가 신장기능과 renin 분비에 미치는 영향을 밝힘으로써 신장에서 adenosine의 두 수용체의 기능상의 차이와 조절인자로써의 역할을 구명하고자 하였다.

NECA 0.3~10.0 nmole/min 투여량 범위내에서 투여량에 비례하여 요량, 사구체여과율, 신혈류량 및 여과분획이 현저히 감소되었으며, 이러한 변화는 양적인 차이는 있으나, NECA 대량(3, 10 nmole/min) 투여시 반대측 대조신장에도 나타났다. NECA 투여에 의하여 전신혈압은 하강하였다.

CHA 0.03~1.0 nmole/min 투여량 범위내에서 투여신장에 국한하여 요량, 사구체여과율 및 신혈류량이 시간 경과별로 투여량에 비례하여 감소하였다. 여과분획은 별다른 변화가 없었다. CHA 투여에 의하여 전신혈압은 변화를 보이지 않았다. 이러한 요량과 신혈류역동학적 변화를 용량반응곡선으로 비교해 볼 때 CHA의 효과가 NECA보다 훨씬 강력하였다.

NECA 0.3~10.0 nmole/min 투여량 범위내에서 요중 Na, Cl 및 K 배설량과 FE<sub>Na</sub>의 감소현상은 전신혈압 하강이 현저한 3.0 및 10.0 nmole/min 투여시 투여량에 비례하여 감소하였다. 이러한 전해질과 유리수분배설량의 감소효과는 CHA가 NECA보다 훨씬 강력함을 보였다.

NECA와 CHA에 의한 renin 분비 억제효과는 신장기능에 영향을 미치지 않는 낮은 농도에서도 현저

히 나타났으며 그 효과는 투여량에 비례하였다. CHA에 의한 renin 분비 억제효과가 NECA보다 강력하였다.

이상의 실험결과로 A<sub>1</sub> 및 A<sub>2</sub> 수용체에서 선택적인 adenosine 유사체는 신장기능 및 renin 분비에 모두 억제적으로 작용하여, renin 분비 억제효과는 신장기능변화와 무관하게 나타나고, A<sub>1</sub> agonist가 A<sub>2</sub> agonist에 비해 훨씬 강력한 효과를 보이는 것으로 보아 신장기능 조절에 있어 A<sub>1</sub> adenosine 수용체가 생리적으로 더 중요할 것이라 추론하였다.

### Acknowledgements

실험을 위하여 도와준 남경화, 나은진양에게 감사의 뜻을 여기에 표하고자 합니다.

### REFERENCES

- Arend LJ, Haramati A, Thompson CI & Spielman WS (1984). Adenosine-induced decreased in renin release: dissociation from hemodynamic effects. *Am J Physiol* 247, F447-F452
- Arend LJ & Spielman WS (1983). Dissociation of the renal hemodynamic and renin release effects of adenosine by verapamil. *Kid Int* 23, 272
- Birnbaumer L, Nakaahara T & Yang PO (1974). Adenosine stimulates the vasopressin-sensitive adenylate cyclase activity of the bovine kidney medulla. *J Biol Chem* 249, 7857-7866
- Briggs JP & Schnermann (1986). Macula densa control of renin secretion and glomerular vascular tone: evidence for common cellular mechanisms. *Renal Physiol* 9, 193-203
- Cho KW & Kim SH (1982). Factors affecting the relationship between renal renin activity and plasma renin activity. *Kor J Physiol* 16, 63-69 (in Korean)
- Cho KW, Kim SH & Koh GY (1987). Radioimmunoassay and characterization of renin-angiotensin system in the fresh-water turtle. *J Exp Zool* 242, 255-263
- Cho KW & Malvin RL (1979). Renin inactivation during in vitro experiment. *Am J Physiol* 236, F501-F504
- Cho KW, Koh GY, Kim SH & Seul KH (1987a). Unilateral renal arterial infusion and renal vein

- catheterization in rabbits. *Renal Physiol* (Basel) 10, 93-101
- Cho KW, Kim SH, Koh GY, Seul KH, Kim HJ & Song HS (1987b). Renal and renin effects of sodium thiopental in rabbits. *Renal Physiol* (Basel) 10, 61-271
- Churchill PC (1982). Renal effects of 2-chloroadenosine and their antagonism by aminophylline in anesthetized rats. *J Pharmacol Exp Ther* 222, 319-323
- Churchill PC & Churchill MC (1984). A<sub>1</sub> and A<sub>2</sub> adenosine receptor activation inhibits and stimulates renin secretion of rat cortical slices. *J Pharmacol Exp Ther* 232, 589-594
- Daly JW (1982). Adenosine receptors: targets for future drugs. *J Med Chem* 25, 197-207
- Dibina GF (1977). Neurogenic regulation of renal tubular sodium reabsorption. *Am J Physiol* 233, F73-F81
- Evoniuk GE, Von Borstel RW & Wurtman (1985). Adenosine affects sympathetic neurotransmission at multiple sites in vivo. *J Pharmacol Exp Ther* 236, 350-355
- Goodfriend TL, Levine L & Fasman GD (1964). Antibodies to bradykinin and angiotensin: A use of carbodiimides in immunology. *Science* 144, 1344-1346
- Hashimoto K & Kokobun H (1971). Adenosine-catecholamine interactions in the renal vascular response. *Proc Soc Exp Biol Med* 136, 1125-1128
- Hedqvist P & Fredholm BB (1976). Effects of adenosine on adrenergic neurotransmission: Prejunctional inhibition and postjunctional enhancement. *Naunyn-Schmiedberg's Arch Pharmacol* 293, 217-223
- Hedqvist P, Fredholm BB & Olundh (1978). Antagonistic effects of theophylline and adenosine on adrenergic neuroeffector transmission in the rabbit kidney. *Circ Res* 43, 592-598
- Itoh S & Carretero OA (1985). Role of the macula densa in renin release. *Hypertension* 7 (Suppl 1), 49-54
- Itoh S, Carretero OA & Murray RD (1985). Possible role of adenosine in the macula densa mechanism of renin release in rabbits. *J Clin Invest* 76, 1412-1417
- Kang HK (1986). Modulating effect of some factors on the changes of renal function and renin secretion by furosemide. Jeonbuk Nat Univ Grad Sch Doctor Degree Thesis (in Korean)
- Katholi RE, Whitlow PL & Woods WT (1982). Intrarenal adenosine procedures hypertension by activating the sympathetic nervous system via the renal nerves in the conscious dogs. *Clin Res* 30, 452
- Keeton TK & Campbell WB (1981). The pharmacological alternation of renin release. *Pharmacol Rev* 31, 81-227
- Kim JK, Linas SL & Schrier RW (1980). Catecholamines and sodium transport in the kidney. *Pharmacol Rev* 31, 169-178
- Londos C, Cooper DMF & Wolff J (1980). Subclasses of external adenosine receptors. *Proc Natl Acad Sci USA* 77, 2551-2554
- Macias JF, Fiksen-Olsen M, Cromero J & Knox FG (1983). Intrarenal blood flow distribution during adenosine-mediated vasoconstriction. *Am J Physiol* 244, H138-H141
- Murray RD & Churchill PC (1984). Effects of adenosine receptor agonists in the isolated, perfused rat kidney. *Am J Physiol* 247, H343-H348
- Osswald H (1975). Renal effects of adenosine and their inhibition by theophylline in dogs. *Naunyn-Schmiedberg's Arch Pharmacol* 288, 79-86
- Osswald H, Hermes HH & Nabakowski G (1982). Role of adenosine in signal transmission of tubuloglomerular feedback. *Kidney Int* 22, S136-S142
- Osswald H, Schmitz HJ & Heidenreich O (1975). Adenosine response of the rat kidney after saline loading, sodium restriction and hemorrhagia. *Pflugers Arch* 357, 323-333
- Osswald H, Schmitz HJ & Kemp R (1978b). Renal action of adenosine: Effect on renin secretion in the rat. *Naunyn-Schmiedberg's Arch Pharmacol* 303, 95-99
- Osswald H, Spielman WS & Know FG (1978a). Mechanism of adenosinemediated decreases in glomerular filtration rate in dogs. *Circ Res* 43, 465-469
- Phillips RA (1944) In, *Quantitative Clinical Chemistry*, Vol 2, Methods edited by JP Peter & DD vanslyke, Williams and Wilkins
- Penkin EM & Gilmore JP (1973). *Glomerular filtration rate in Handbook of Physiology: Renal Physiology*, edited by American Physiological Society, Washington D. C., p 220
- Schnerman J, Wright FS, Davis JM, Von Strakelberg W & Grill G (1970). Regulation of superficial ne-

- phron filtration rate by tubuloglomerular feedback. *Pflugers Arch* 318, 147-175
- Sealey JE & Laragh JH (1973). Searching out low renin patients limitation of some commonly used methods. *Am J Med* 55, 303-314
- Smith HW, Finkelstein N, Aliminosa L, Crawford B & Graber M (1945). The renal clearance of substituted hippuric acid derivatives of other aromatic acids in dogs and man. *Clin Invest* 24, 388-404
- Snedecor GH & Cochran WG (1967). *Statistical methods*, 6th ed., Amers Iowa State Univ
- Spielman WS (1984). Antagonistic effect of theophylline on the adenosine-induced decreased in renin release. *Am J Physiol* 247, F246-F251
- Spielman WS, Britton SL & Fiksen-Olsen MJ (1980). Effect of adenosine on the distribution of renal blood flow in dogs. *Cir Res* 16, 449-456
- Spielman WS & Osswald H (1978). Characterization of the post occlusive response of renal blood flow in the cat. *Am J Physiol* 235, F286-F290
- Spielman WS & Thompson CI (1982). A proposed role for adenosine in the regulation of renal hemodynamics and renin release. *Am J Physiol* 242, F423-F435
- Tagawa H & Vander AJ (1970). Effects of adenosine compounds on renal function and renin secretion in dogs. *Circ Res* 26, 327-338
- Thurau K (1964). Renal hemodynamics. *AM J Med* 36, 698-719
- Vurek GG & Pegrem SE (1966). Fluorometric method for the determination of nanogram quantities of inulin. *Anal Biochem* 16, 409-419
- Wakade A & Wakade T (1978). Inhibition of norepinephrine release by adenosine. *J Physiol (London)* 282, 35-49
- Woodcock EA, Leung E & Johnston CI (1986). Adenosine receptors in papilla of human kidneys. *Clin Sci* 70, 353-357
- Woodcock EA, Loxley R, Leung E & Johnston CI (1984). Demonstration of R-adenosine receptors in rat renal papilla. *Biochem Biophys Res Commun* 12, 434-440
- Wright FS & Briggs JP (1979). Feedback control of glomerular blood flow, pressure and filtration rate. *Physiol Rev* 59, 958-1006