

足少陰腎經 然谷·陰谷과 手少陰心經 少府·少海 鍼刺가 腎臟 Aquaporin-2 發現과 腎交感神經活性, 血壓 및 血清 ANP, renin, norepinephrine에 미치는 影響

尹大煥¹·朴燦圭¹·金貞相²·蔡禹錫³·羅昌洙¹

동신대학교 한의과대학 ¹경혈학교실, ²해부학교실, ³침구학교실

Effects of Acupuncture at the Acupoint Yongok(KI₂), Umgok(KI₁₀), Sobu(HT₈), Sohae(HT₃) on Aquaporin-2 expression, RSNA, MAP, HR, serum ANP, renin and norepinephrine in Rats

Dae-Hwan Youn¹, Chna-Kyu Park¹, Jeong-Sang Kim², Woo-Seok Chae³, Chang-Su Na¹

Dept. of ¹Meridian & Acupoint, ²Anatomy, ³Acupuncture & Moxibustion,
College of Oriental Medicine, Dongshin University

Abstract

Objectives : This research was performed to investigate the effect of acupuncture at the KI₂, KI₁₀, HT₈, HT₃ on Aquaporin-2(AQP2) expression related with the renal functions in rats

Methods : Acupuncture was performed during 100-seconds, 6-times, at 150-seconds intervals under anesthesia in rats. We observed rats' mean arterial pressure(MAP), heart rate(HR), renal sympathetic nerve activity(RSNA) during acupuncture and AQP2 expression by western blot method and atrial natriuretic peptide(ANP), renin, norepinephrine of plasma after decapitation.

Results : The AQP2 expression was significantly increased in HT₈ group, but decreased in KI₁₀ group. Average MAP during 6-times acupuncture was significantly increased in HT₈ group. Average HR was significantly increased in HT₈ group, Average RSNA was increased in KI₁₀ group, but that was marginally increased in KI₁₀ group. Plasma renin concentration was increased in KI₂, HT₃ groups. Plasma ANP show a tendency to decrease in KI₁₀, HT₃ groups, increased in KI₂, HT₈ but not significant. Plasma norepinephrine concentration was significantly decreased in KI₁₀, HT₃ groups.

Conclusions : These results suggested that acupuncture at HT₈ activate renal function to reuptake, but KI₁₀ show a decline on effect of AQP2 expression, blood pressure, nerve activity and renin.

Key words : Aquaporin-2, acupuncture, KI₂·KI₁₀, HT₈·HT₃, renal function.

· 교신저자: 나창수, 전남 나주시 대호동 252 동신대학교 한의과대학
경혈학교실, Tel. 061-330-3522, Fax. 061-330-2900,
E-mail: namuci@hanmail.net

· 접수 : 2004/02/04 · 수정 : 2004/03/05 · 채택 : 2004/03/10

I. 緒 論

腎臟은 生殖機能과 泌尿機能을 위주로 하고 있으며, 여과분비 및 배변의 '主水' 작용과 精을 貯藏하고 施泄하는 '藏精'의 작용을 포괄하고 있다. 수액의 조절은 腎臟의 開關 작용에 의하여 수행되는 작용으로 정상적인 상태에서 수액의 수출·배설과 개폐·저장 작용이 발현되며, 失調된 상태에서 수액조절의 開關 작용이 원활하지 못하여 체액의 유실과다 또는 감소 현상이 발생하게 된다¹⁾.

腎臟 수액조정 失調에 대한 鍼灸治療는 다양한데, 五輸穴의 특성을 적용한 治法도 활용되고 있다. 腎臟機能 失調를 水火 機能 失調로 보아 足少陰腎經과 手少陰心經의 水穴, 火穴이 치료에 많이 응용되고 있다^{2,3)}.

腎臟機能 調整에 鍼灸療法을 적용한 연구들이 보고되고 있다. 鍼刺療法을 활용한 연구보고로는 Li 등⁴⁾은 環跳 鍼刺가 체성교감신경 A와 C 반사공을 억제하였다고 하였으며, Lin 등⁵⁾은 楡谷電鍼 刺戟은 신교감신경을 활성화하고 혈압을 상승시키며, 교감신경을 선택적으로 활성화시켜 rhythmic micturition contraction을 연장시킴을 보고하였다.

藥鍼療法을 활용한 연구보고로는 黃 등⁶⁾이 杜沖藥鍼을, 金 등⁷⁾이 丹參藥鍼을, 李 등⁸⁾이 白茯苓藥鍼을, 朴 등⁹⁾이 豬苓藥鍼을 사용하여 腎臟機能에 미치는 영향을 보고하였으며, 艾灸療法을 활용한 연구보고로는 李 등¹⁰⁾이 命門 艾灸를, 金 등¹¹⁾이 三焦俞 膀胱俞 艾灸를 시행하여 腎臟機能에 미치는 영향을 보고하였다.

이들 보고들은 鍼灸治療 효과를 판단하기 위한 실험적 연구로 주종을 이루고 있으나, 鍼灸治療의 기전을 經絡 腧穴의 이론과 연계시켜 검증하는 연구로는 아직 미흡한 실정이다.

經絡 腧穴의 작용이 신장에 미치는 영향을 실

험적으로 접근하기 위하여, 經脈에 있어서는 本臟 經脈인 足少陰腎經과 水火 관계로 밀접한 연관을 갖는 手少陰心經을 선정하고, 이 經脈의 五輸穴 중 腎經의 火穴인 然谷, 水穴인 陰谷, 心經의 火穴인 少府, 水穴인 少海를 취하여 각각에 鍼刺하였을 시에 변화되는 양상을 관찰하고자 하였다. 즉 然谷, 陰谷, 少府, 少海 鍼刺에 의하여 변화되어지는 腎臟 기능 중 수분의 흡수에 관여하는 aquaporin-2(AQP2)의 변화를, 신교감신경의 활성(renal sympathetic nerve activity, RSNA)을 관찰하였고, 또한 평균동맥압(mean arterial pressure, MAP), 심박수(heart rate, HR), 혈장 심방이뇨호르몬(atrial natriuretic peptide, ANP), renin, norepinephrine의 변화를 관찰한 바 다음과 같은 知見을 얻었다.

II. 材料 및 方法

1. 材料

1) 동물

체중이 약 250~350g의 Sprague Dawley계 수컷 흰쥐를 사육장 (실내온도, 24~26℃)내에서 물과 사료를 충분히 섭취하게 하면서 사육하였다가 실험에 사용하였다.

2. 方法

1) 동물 처치

실험동물은 EntobarTM(pentobarbital sodium, 50mg/kg, i.p.)로 초기마취 유도 후 실험대에 고정하고 우측 대퇴부 내측의 대퇴정맥(femoral vein)을 노출시 주입용 튜브(PE-50)를 연결한 다음 기도폐쇄 방지를 위해 기관절개를 시행한 후 카테터를 삽입하였다. 항속주입기 syringe pump(WPI, USA)를 사용하여 Eno-

足少陰腎經 然谷·陰谷과 手少陰心經 少府·少海 鍼刺가 腎臟 Aquaporin-2 發現과 腎交感神經活性, 血壓 및 血清 ANP, renin, norèpinephrine에 미치는 影響

bar™ (pent -obarbitalsodium, 5mg/kg/hr, i.v.) 를 전 실험시간동안 주입하여 마취를 유지하였다.

2) 取穴 및 鍼刺

원쥐의 然谷(KI₂) 부위는 hind limb의 내과 하부와 중족골 기저부 연결상에서, 陰谷(KI₁₀) 부위는 hind limb의 슬관절 내측부에서 인체와 상응하는 부위를 취하였으며, 少府(HT₈) 부위는 fore limb의 4, 5 metacarpals 사이에서, 少海(HT₃) 부위는 fore limb의 주관절 내측상과 부위에서 인체와 상응하는 부위를 취하였다. 침은 지름 170 μ m의 stainless steel(Dongbang co., korea) 침이 사용되었으며, 鍼刺의 깊이는 피부층 하부에 위치하게 하는데 대략 2~3mm 정도의 깊이가 되게 하며, 緊澁한 得氣感을 얻을 때까지 捻轉 手技를 시행하였다. 鍼刺는 우측에 시행되었으며, 유침 시간은 약 100초간 유지되었고, 150초의 간격후 다시 鍼刺하는 과정 모두 6회 반복하여 鍼刺가 시행되었다.

3) Aquaporin-2 단백질 발현 측정

(1) Protein preparation

모든 鍼刺 처치가 끝난 후 혈액을 채취한 다음, 신장을 적출하여 액체 질소에 급속 냉동시키고 분석할 때까지 -70℃에서 보관하여, western blot방식을 이용하여 발현을 측정했다. 급속 냉동된 백서의 whole kidney를 homogenization buffer(pH8.0 50mM Tris, 250mM Sucrose, 1mM EDTA) 2ml, 0.2mM PMSF(Phenylmethyl -sulfonylfluoride)50 μ l, 0.01% bacitracine 125 μ l씩 넣어 2,600rpm에서 5초 간격으로 3회 homogenization한다. 이 sample을 1,000 \times 에서 20분간(4℃상태) 원심분리한 후 상층액 1ml을 ultra tube에 담아 100,000 \times 에서 1시간(4℃상태)동안 초고속원심분리로 분리한다. 하층액

에 membrane resuspending buffer(pH7.6 50mM Tris 10ml, 0.1M EDTA 100 μ l, 2% Bacitracine 50 μ l) 1ml을 넣어 sonication한다. 이 sample은 bicinchnonic acid assay kit(Bio Rad, CA)를 사용해 정량한다. Sample을 10배 희석해 5 μ l를 tube에 넣어 BCA 용액(A:B=20:1) 2ml을 넣어 60℃에서 30분간 방치시킨 후, 562nm에서 spectrophotometer를 사용해 측정하였다.

(2) Electrophoresis

12.5% polyacrylamide resolving gel은 alumina plate와 glass plate 사이에 부어 30분간 굳힌다. 5% polyacrylamide staking gel은 resolving gel 위에 붓고 comb를 꽂아 30분간 굳힌다. Gel caster에서 gel을 떼어낸 후 gel running tank에 장착하고 pH8.8의 10 \times running buffer(0.025M Tris, 0.192M glycine, 0.1% SDS)를 붓는다. SDS sample buffer(pH 6.8 0.125M Tris, 4% SDS, 20% glycerol, 10% 2-mercaptoethanol, 0.2% bromophenol blue) 5 μ l에 정량된 단백질 sample을 넣어 100℃에서 3분간 heating한 후 loading시킨다. Bromophenol blue dye가 바닥에 올 때까지 80V(200mA)로 전기영동한다.

(3) Electrotransfer

전기영동이 끝난 gel은 transfer buffer (25mM Tris, 192mM glycine, 20% methanol)에 filter paper, nitrocellulose membrane을 얹고 60V에서 3시간 transfer한다. Membrane은 5% nonfat milk와 TBST(0.1% Tween20 in pH7.4 Tris-based saline buffer)에 1시간 동안 blocking하고 TBST로 2회 washing한다. Anti-rabbit polyclonal AQP2(1:1200 dilution) antibody(Alomone Lab, Israel)를 붙이고 2% non-

fat milk/TBST에서 4℃에서 overnight한다. TBST로 4회 washing 후 horseradish peroxidase-labeled goat anti-rabbit IgG(1:2000 dilution)를 붙이고 2% nonfat milk/TBST에서 1시간 blocking 하고 TBST로 4회 washing한다. Membrane은 TBST를 제거한 후 enhanced chemiluminescence(Amersham, UK)를 넣은 후 1분 30초 동안 반응시키고 transmitter scanning videodensitometer (Bioneer, Korea)에 넣고 감광시킨다. 발현된 aquaporin-2의 band는 image master VDS(1D ver.2.1, pharmacía biotech, USA)로 그 intensity를 정량하였다.

4) RSNA 측정

신장으로 가는 sympathetic nerve의 activity를 측정하기 위하여 복강을 절개한 후 신장으로 가는 sympathetic nerve의 branch가 노출되게 하였다. 신경을 약 2~3mm 분리시킨 후 bipolar platinum-iridium wire electrode를 micromanipulator (MD4R, WPI)에 고정시켜 이를 이용하여 신경에 위치시켰으며, olive oil을 신경위에 적셔주어 신경이 건조되는 것을 방지하였다. 신호는 preamplifier(DAM80, WPI)로 10,000배 증폭하였으며, 또한 low filter는 10Hz, high filter는 3kHz로 하여 제거시켰다. Preamplifier를 통하여 나온 신호는 data acquisition system (Biopac, U.S.A)으로 다시 20배 증폭하여 초당 1,000spike/sec로 기록 및 저장되도록 하였다.

5) MAP 및 HR 측정

좌측 대퇴부 내측의 대퇴동맥을 노출시켜 주입용 튜브(PE-90)를 연결하였으며, 혈압측정 센서(BLPR, WPI)를 4-channel transducer amplifier(TBM4, WPI)에 연결하여 100배 증폭하였고, 이를 통하여 나온 신호는 data acquisi-

tion system(Biopac, USA)으로 다시 200배 증폭하여 초당 200spike/sec로 기록 및 저장되도록 하였다.

6) 채혈 및 혈청 분리

대조군과 각 실험군별로 6회째 鍼刺가 시행된 후 단두하여 혈액을 얻었으며, 혈청분리관에 담아 각 실험방법에 맞게 전처리를 시행하여 측정 시료로 사용하였다.

7) 혈장 renin, ANP 측정

채혈 시 tube에 anticoagulant & converting inhibitor(EDTA 50mg/ml) 100 μ l, proteolytic enzyme inhibitor mixture(Soybean trypsin inhibitor:SBTI 50units/ml, aprotinin 200KIU/ml, phenylmethylsulfonylfluoride : PMSF 600M/ml) 100 μ l를 넣고 4℃상태를 유지하였다. 혈액은 4℃에서 3,500rpm으로 20분간 원심분리 후 상층액을 분리하였다. Renin 측정을 위해 50 μ l plasma와 ANP 측정을 위해 1ml plasma를 준비하였다.

Renin 측정을 위하여 흰쥐의 한쪽 신장은 절단하고 다른 한쪽 신장은 동맥을 묶은 후 48시간 후에 채혈하였다. 혈액채취 시 tube에 EDTA(50mg/ml) 100 μ l를 넣고 원심분리하여 plasma를 분리하였다. Angiotensinogen(renin substrate)은 maleate buffer(1.5M, pH 5.88) 50 μ l, 8-Hydroxyquinoline(3.4mM) 10 μ l, neomycin sulf-ate(20%) 10 μ l, phenylmethylsulfonyl-fluoride(PMSF 305 mM)10 μ l, plasma 200 μ l, D-W 170 μ l로 만들었다. Renin의 radioimmuno assay는 plasma 50 μ l에 450 μ l substrate(angiotensinogen)를 넣은 후 37℃에서 3시간정도 incubation하였다. Incubation된 시료는 4℃에 보관하였다. 시료 50 μ l에 renin buffer 50 μ l, AI* tracer 100 μ l, AI·Ab 100 μ l를 넣고

足少陰腎經 然谷·陰谷과 手少陰心經 少府·少海 鍼刺가 腎臟 Aquaporin-2 發現과 腎交感神經活性, 血壓 및 血清 ANP, renin, norepinephrine에 미치는 影響

4℃에서 24시간 incubation 후, charcoal 1ml을 넣고 3,000 rpm 15분간 원심분리 후 assay 하였다.

ANP 측정은 SEP-PAK C18 cartridge에 100% acetonitrile 5ml를 syringe로 통과시킨 후 0.1% TFA(Trifluoroacetic acid) 5ml로 통과시키고 plasma 1ml을 천천히 통과시킨 후, 0.1% TFA(Trifluoroacetic acid) 5ml를 통과시키고 60% acetonitrile 2ml을 천천히 통과시켜 tube에 sample을 받아 speed vacuum으로 건조시켰다. 건조된 tube에 ANP buffer 150 μ l를 넣고 4℃로 10분 정도 incubation 후, 4℃에서 10,000 rpm 5분간 원심분리해서 상층액 100 μ l를 tube에 분리해 ANP Ab 100 μ l를 넣고, 4℃에서 24시간 incubation 후, ANP tracer 100 μ l를 넣고 4℃에서 24시간 incubation 후 charcoal 1ml을 넣고 3,000 rpm 15분간 원심분리 후 assay 하였다.

8) 혈장 norepinephrine 측정

혈액을 EDTA가 담겨있는 tube에 넣어 고속 원심분리기에서 3,000 rpm으로 20분간 시행한 후 plasma를 분리한다. Norepinephrine 검사는 plasma catecholamine kit(BIO-RAD, America)를 사용해 neuroblastoma analyzer(BIO-RAD, America)로 측정하였다. Cation exchange resin을 column의 lower portion까지 채워 넣고 standard tube에 norepinephrine standard(Norepinephrine barbiturate 28.3mg in 0.1M HClO₄ 50ml)를 50배 희석한 working standard 50 μ l를 넣었다. Standard, control, sample tube에 DHBA(15.8mg/ml 3,4-dihydroxybenzylamine in 0.1M HClO₄ 100ml)를 1,000배 희석해 20 μ l를 넣었다. 모든 tube에 Tris buffer 15ml씩 넣고 pH 6.5로 조절하였다. Column에 plasma를 붓고 완전히 drain시키고,

10ml D-W로 세척한 후 0.7M H₂SO₄ 1.5ml를 넣었다. 10ml D-W로 세척한 후 2M (NH₄)₂SO₄ 4ml를 넣었다. 각 vial에 alumina 50mg를 넣고 3M Tris/EDTA buffer(pH8.6) 1.5ml를 가한 후, 즉시 뚜껑을 덮고 교반하였다. 상층액을 aspirator로 제거한 후 3rd D-W로 2회 세척하고 0.1M HClO₄ 500 μ l를 넣고서 vortex mixer로 혼합한 후 수분간 방치하였다. 다시 가볍게 혼합한 후 원심분리(2,000 rpm, 3분)하였다. Filter로 거른 후 Neuroblastoma analyzer에 injection해서 측정하였다.

9) 평가 및 통계처리

모든 측정값은 Excel statistic program(Excel 2002, Microsoft)을 이용하여 평균치와 표준오차(mean \pm standard error)로 표시하였고, 각 실험군 간의 통계학적 분석은 Window용 SPSS(ver 10.0.5, SPSS)을 사용하여 비모수적 방법으로 Mann-Whitney U test를 시행하였다. 각 실험군은 대조군에 비하여 $\alpha = 0.05$ 수준($P < 0.05$)에서 유의성을 검정하였으며, 단 $\alpha = 0.05$ 수준보다 크고 $\alpha = 0.1$ 수준보다 작은 경우 ($0.05 < P < 0.1$) 한계적으로 유의한 것(marginally significant)으로 간주하였다¹²⁾.

III. 結 果

1. AQP2 단백질 발현 변화

腎經의 火穴 KI₂, 水穴 KI₁₀과 心經의 火穴 HT₈, 水穴 HT₃에 침자한 후 AQP2 발현의 변화를 관찰한 결과, 대조군이 $40.2 \pm 3.44 (\times 10^3 \text{ OD})$ 인 것에 비하여 KI₂군이 $45.0 \pm 9.09 (\times 10^3 \text{ OD})$ 을 나타내었고, KI₁₀군이 $29.3 \pm 2.43 (\times 10^3 \text{ OD})$ 를 나타내었으며, HT₈군이 $58.1 \pm 7.39 (\times 10^3 \text{ OD})$ 을 나타내었고, HT₃군이 $35.3 \pm 7.95 (\times 10^3 \text{ OD})$ 을 나타내었고,

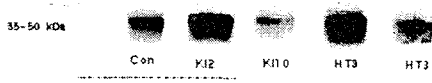


Fig. 1 Effects of acupuncture at acupoint KI₂, KI₁₀, HT₈, HT₃ on expression of aquaporin-2 in rats. Representative immunoblots of aquaporin-2 and intensity are shown. Acupuncturing, maintain and interval times were 6 times, 100 seconds and 150 seconds respectively.

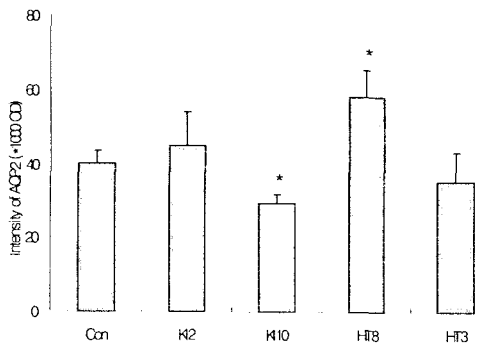


Fig. 2. Effects of acupuncture at acupoint KI₂, KI₁₀, HT₈, HT₃ on expression of aquaporin-2 in rat. Results are shown as mean±S.E. Acupuncturing, maintain and interval times were 6 times, 100 seconds and 150 seconds respectively. * represents significant difference compared with control(P<0.05).

타내었다.

즉 대조군에 비하여 腎經의 水穴 KI₁₀군이 유의한 감소(P<0.05)를 나타내었고, 心經의 火穴 HT₈군이 유의한 증가(P<0.05)를 나타내었으며, 腎經의 火穴 KI₂군과 心經의 水穴 HT₃군은 각각 증가의 경향과 감소의 경향을 보였으나 유의성은 나타내지 않았다(Fig 1, 2).

2. RSNA 변화

腎經의 火穴 KI₂, 水穴 KI₁₀과 心經의 火穴 H

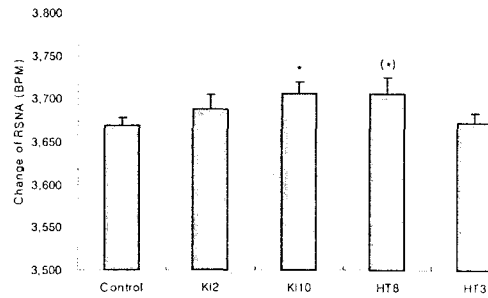


Fig. 3. Effects of acupuncture at acupoint KI₂, HT₈(fire property among the five evolutive phases) and KI₁₀, HT₃(water property among the five evolutive phases) on RSNA in the rat. Acupuncturing, maintain and interval times were 6 times, 100 seconds and 150 seconds respectively. This data were present average of value after acupuncture for 6 times respectively. Results are shown as mean±S.E. * represents significant difference compared with control (P<0.05). (*), represents significant different compared with control (0.05<P<0.1).

T₈, 水穴 HT₃에 침자한 후 RSNA변화를 관찰한 결과, 대조군이 3,668.9±8.54bpm인 것에 비하여 KI₂군이 3,687.9±17.16bpm을 나타내었고, KI₁₀군이 3,705.5±14.07bpm을 나타내었으며, HT₈군이 3,705.8±18.67bpm을 나타내었고, HT₃군이 3,672.4±10.96bpm을 나타내었다.

즉 대조군에 비하여 腎經의 水穴 KI₁₀에서 유의한 증가(P<0.05)를 나타내었고, 心經의 火穴 HT₈에서는 한계적으로 유의한 증가(0.05<P<0.1)를 나타내었으며, 腎經의 火穴 KI₂와 心經의 水穴 HT₃에서는 유의한 차이를 보이지 않았다 (Fig. 3).

3. MAP 변화

腎經의 火穴 KI₂, 水穴 KI₁₀과 心經의 火穴 HT₈, 水穴 HT₃에 침자한 후 MAP 변화를 관찰한 결과, 대조군이 121.4±2.62mmHg인 것에 비하

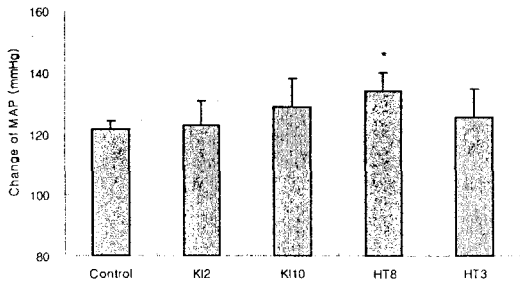


Fig. 4. Effects of acupuncture at acupoint KI₂, HT₈(fire property among the five evolutive phases) and KI₁₀, HT₃(water property among the five evolutive phases) on MAP in the rat. Acupuncturing, maintain and interval times were 6 times, 100 seconds and 150 seconds respectively. This data were present average of value after acupuncture for 6 times respectively. Results are shown as mean±S.E. * represents significant difference compared with control(P<0.05).

여 HT₈군은 134.1±5.85mmHg로 유의한 증가(P<0.05)를 보였으며, KI₁₀군이 128.8±8.98mmHg, HT₃군이 125.4±9.05mmHg로 각각 증가의 경향을 보였으나 유의성은 없었으며, KI₂군은 122.64±8.11mmHg로 변화를 나타내지 않았다.

즉 대조군에 비하여 心經의 火穴 HT₈군에서 유의하게 증가(P<0.05)한 반면, 腎經의 火·水穴 KI₂, KI₁₀, 心經의 水穴 HT₃군에서 유의한 변화를 나타내지 않았다(Fig. 4).

4. HR 변화

腎經의 火穴 KI₂, 水穴 KI₁₀과 心經의 火穴 HT₈, 水穴 HT₃에 침자한 후 HR 변화를 관찰한 결과, 대조군이 355.3±9.19bpm인 것에 비하여 KI₂군이 352.1±29.71bpm을 나타내었고, KI₁₀군이 368.9±13.66bpm을 나타내었으며, HT₈군이 396.1±16.36bpm을 나타내었고, HT₃군이 352.1±25.11bpm을 나타내었다.

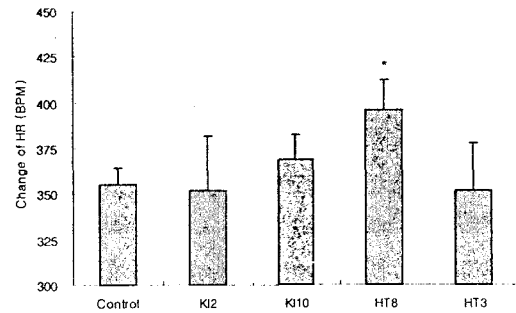


Fig. 5. Effects of acupuncture at acupoint KI₂, HT₈(fire property among the five evolutive phases) and KI₁₀, HT₃(water property among the five evolutive phases) on HR in the rat. Acupuncturing, maintain and interval times were 6 times, 100 seconds and 150 seconds respectively. This data were present average of value after acupuncture for 6 times respectively. Results are shown as mean±S.E. *, represents significant difference compared with control(P<0.05).

즉 대조군에 비하여 心經의 火穴 HT₈에서 유의한 증가(P<0.05)를 나타내었으나, 腎經의 火穴 KI₂군, 水穴 KI₁₀군, 心經의 水穴 HT₃군에서는 유의한 차이를 보이지 않았다(Fig. 5).

5. 혈장 Renin 변화

腎經의 火穴 KI₂, 水穴 KI₁₀과 心經의 火穴 HT₈, 水穴 HT₃에 침자한 후 혈장 renin의 변화를 관찰한 결과, 대조군이 35.64±2.96(ng/ml/h)인 것에 비하여 KI₂군이 39.62±4.46(ng/ml/h)을 나타내었고, KI₁₀군이 53.24±7.17(ng/ml/h)을 나타내었으며, HT₈군이 40.59±3.51(ng/ml/h)을 나타내었고, HT₃군이 45.80±3.45(ng/ml/h)을 나타내었다.

즉 대조군에 비하여 腎經의 火穴 KI₂군에서 유의한 증가(P<0.05)를 나타내었고, 心經의 水穴 HT₃에서도 유의한 증가(P<0.01)를 나타내었

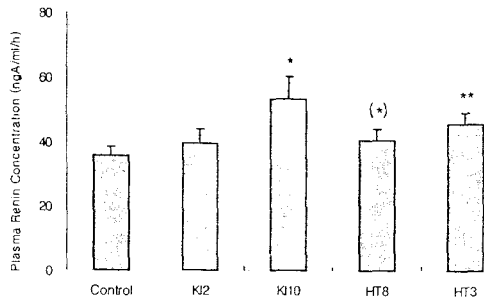


Fig. 6. Effects of acupuncture at acupoint KI₂, KI₁₀, HT₈, HT₃ on plasma renin concentration in the rat. Results are shown as mean±S.E. Acupuncturing, maintain and interval times were 6 times, 100 seconds and 150 seconds respectively. *, represents significant difference compared with control(P<0.05). (*), represents significant different compared with control (0.05<P<0.1). **, represents significant difference compared with control(P<0.01).

으며, 心經의 火穴 HT₈에서는 한계적으로 유의한 감소(0.05<P<0.1)를 나타내었으며, 腎經의 火穴 KI₁₀에서는 유의한 차이를 보이지 않았다(Fig. 6).

6. 혈장 ANP 변화

腎經의 火穴 KI₂, 水穴 KI₁₀과 心經의 火穴 HT₈, 水穴 HT₃에 침자한 후 혈장 ANP의 변화를 관찰한 결과, 대조군이 17.36±1.97pg/ml인 것에 비하여 KI₂군이 22.74±5.22pg/ml을 나타내었고, KI₁₀군이 16.50±2.30pg/ml을 나타내었으며, HT₈군이 25.18±5.64pg/ml을 나타내었고, HT₃군이 15.09±2.27pg/ml을 나타내었다.

즉 대조군에 비하여 腎經의 火穴 KI₂, 心經의 火穴 HT₈에서는 증가의 경향을, 腎經의 水穴 KI₁₀, 心經의 水穴 HT₃에서는 감소의 경향을 각각 나타내었으나 유의한 차이는 보이지 않았다(Fig 7).

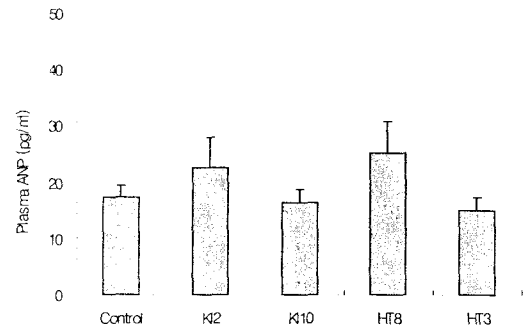


Fig. 7. Effects of acupuncture at acupoint KI₂, KI₁₀, HT₈, HT₃ on plasma ANP concentration in the rat. Results are shown as mean±S.E. Acupuncturing, maintain and interval times were 6 times, 100 seconds and 150 seconds respectively. *, represents significant difference compared with control(P<0.05).

7. 혈장 Norepinephrine 변화

腎經의 火穴 KI₂, 水穴 KI₁₀과 心經의 火穴 HT₈, 水穴 HT₃에 침자한 후 혈장 norepinephrine 변화를 관찰한 결과, 대조군이 2,104.3±604.2(pg/ml)인 것에 비하여 KI₂군이 1,999.0±983.6(pg/ml)을 나타내었고, KI₁₀군이 385.6±152.0(pg/ml)을 나타내었으며, HT₈군이 1,255.2±589.6(pg/ml)을 나타내었고, HT₃군이 711.4±221.2(pg/ml)을 나타내었다.

즉 대조군에 비하여 腎經의 水穴 KI₁₀군에서 유의한 감소(P<0.05)를 나타내었고, 心經의 水穴 HT₃군에서도 유의한 감소(P<0.05)를 나타내었으나, 腎經의 火穴 KI₂군과 心經의 火穴 HT₈군에서는 유의한 차이를 보이지 않았다(Fig. 8).

IV. 考 察

鍼刺治病의 원리는 자극 부위의 腧穴을 鍼刺로 소통시켜 經絡의 調整 및 傳導作用을 발휘하

足少陰腎經 然谷·陰谷과 手少陰心經 少府·少海 鍼刺가 腎臟 Aquaporin-2 發現과 腎交感神經活性, 血壓 및 血清 ANP, renin, norepinephrine에 미치는 影響

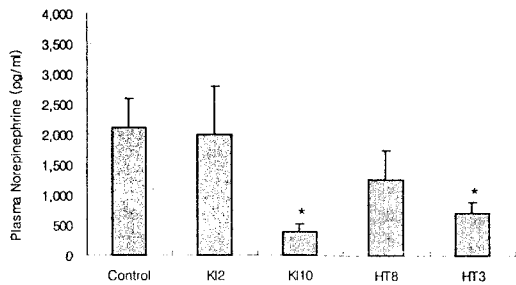


Fig. 8. Effects of acupuncture at acupoint KI₂, KI₁₀, HT₈, HT₃ on plasma norepinephrine concentration in rat. Results are shown as mean±S.E. Acupuncturing, maintain and interval times were 6 times, 100 seconds and 150 seconds respectively. *, represents significant difference compared with control(P<0.05).

계 한 후 臟腑에 전달되어 機體의 整體性에 영향을 미쳐 陰平陽秘, 邪去正復하는 것이다¹³⁾. 《素問五臟生成論》¹⁴⁾에 “人有大谷十二分, 小溪三百五十四名, 少十二俞, 此皆衛氣所留止, 邪氣之所客也, 鍼石緣而去之.”라 하였듯이 腧穴은 氣血이 輸注하는 곳이면서 邪氣가 머무는 곳임을 가리키며, 鍼灸治療의 자극점임을 의미한다. 즉 腧穴은 經絡상 脈氣所發의 孔隙으로 체표와 장부를 연결하는 相通의 침구시술 부위로서 病症의 반응점이며, 치료점이다. 腧穴의 主治는 穴位의 특성과 연계되어 있는데, 그 중 五輸穴은 五行屬性에 따라 분류된 穴位로서 각 특성에 근거하여 운용된다¹⁵⁾.

근래 鍼刺의 특성에 관한 연구가 보고되고 있는데, 五輸穴에 관한 연구 보고로는 陸 등¹⁶⁾이 太淵 鍼刺에 의한 手太陰肺經上 五輸穴 부분의 온도 변화에 미침을 보고하였고, 金 등¹⁷⁾은 五輸穴을 이용한 鍼法에 관한 문헌적 고찰을 보고하였는데, 이들 보고들은 經絡의 특성과 五輸穴의 특성 연구로는 미흡한 실정이다.

본 연구에서는 經絡의 순행과 穴位의 특성을

실험적으로 연구해보고자 신장 기능 중 '主水'의 기능에 영향을 미칠 수 있는 經脈인 水屬性 足少陰腎經과 水火 관계로 연관성을 갖는 火屬性 手少陰心經을 선택하였고, 이들 經脈 중 五行屬性 중 水穴과 火穴을 선정하여 실험에 적용하였다. 즉 足少陰腎經의 火穴인 然谷, 水穴인 陰谷과 手少陰心經의 火穴인 少府, 水穴인 少海를 선정하였다.

선정된 穴位들의 기능 및 主治로는 비뇨기계, 순환기계 등의 병증 치료에 적용되고 있다. 然谷은 足少陰腎經의 榮火穴로 益腎固泄, 導赤清心的 기능이 있어서 潮熱, 煩心, 消渴, 咳血, 心悸, 月經不調, 帶下, 陰痒 등에 활용되며^{1-3,18-21)}, 陰谷은 足少陰腎經의 合水穴로 益腎興陽, 調理前陰의 기능이 있어서 小便不通, 小便黃赤, 消渴, 陽痿, 疝痛, 漏下赤白, 婦人月事不調 등에 활용되며^{2,3,19,20,22,23)}, 少府는 手少陰心經의 榮火로 清心寧神의 기능이 있어서 煩滿少氣, 胸中痛 등 心胸部 煩熱症과 小便不利, 遺尿, 卒疝, 陰挺 등 비뇨생식기의 熱症을 主治하며^{2,3,20,22)}, 少海는 手少陰心經의 合水穴로 化痰涎, 疏心氣, 降火活絡의 기능이 있어서 氣逆, 呼吸噫噦嘔, 頭痛, 目黃目眩, 項強 등에 활용되는데^{2,3,20,22)}, 《古法新解會元鍼灸學》²⁴⁾에서는 “手少陰心經脈所入爲合水. 苦咸相合, 入藏而主降, 能鎮心安心定魄, 有除痰降火之功, 能活絡以通腦府”라 하였다.

經脈과 腧穴이 水火의 특성을 갖는 穴位인 然谷, 陰谷, 少府, 少海 침자에 의하여 변화되어지는 신장 기능 중 수분의 흡수에 관여하는 AQP2의 변화를 관찰하였다. 아울러 신장으로 가는 신교감신경의 활성을 관찰하였으며, 또한 평균동맥압, 심박수, 혈장 심방이노호르몬, renin, norepinephrine의 변화를 관찰하였다.

신장에 병변이 있게 되면 뇨의 형성, 체액의 조절, 대사물의 배출, 삼투압 및 산염기평형조절

등의 장애로 부종, 단백뇨, 고혈압, 뇨독, 요통 등이 유발되거나 惡心, 乾區, 頭痛 不氣息, 全身身弱, 尿濁 등의 증상이 출현한다¹⁾.

근래 이루어진 일련의 연구에서 상피세포막을 통한 수분 이동은 aquaporin-2(AQP2)수분통로에 의한다고 하며, 이는 신장의 연결세관과 집합관에 분포하며 주로 바소프레신에 의하여 조절 받아 소변 농축에 중요한 작용을 한다. 체액 유지 기전 가운데 하나로서 신장은 수분 배설 및 재흡수를 조절하여 개체의 수분 균형조절에 공헌하고 있으며, 출혈 등에 의한 유효 순환 혈액 용적 감소는 체액 용적 회복을 위한 기전의 하나로서 항이뇨 호르몬(arginine vasopressin, AVP)의 이차 전령인 cAMP에 의해 세포질 소포로부터 내강측 막에 융합되어 이의 분비를 증가시켜 신장의 수분 재흡수를 촉진한다. 이때 신장의 세뇨관 상피세포를 통한 수분 이동은 AQP 수분 통로를 경유함이 알려져 있다²⁵⁾. 신장에 존재하는 여러 가지 AQP 아형 가운데 AQP2는 AVP의 조절을 받아 집합관에서 물의 재흡수와 요 농축 정도를 결정하게 된다. AQP2는 집합관 주세포의 내강측 하부의 세포질 내 소포에 주로 분포하지만, 내수질 집합관 세포에서는 기저외측막에도 부분적으로 분포한다고 알려져 있다^{26,27)}. 기저외측막에 위치한 수분통로로는 AQP3 및 AQP4가 있으며, 이들은 AQP2에 의해 세포 내로 유입된 수분을 세포 외로 배출시키는 출구 역할을 할 것으로 추정된다^{28,29)}. 그러나 기저외측막에 분포하는 AQP2의 역할이나 그 생리적 조절기전에 대하여 아직 밝혀진 바 없다.

현재까지의 연구로는 여러 신성 요붕증 동물 모델에서 혈장 바소프레신 농도가 상승하지만 신장의 AQP2 단백질 발현은 감소하고, 리튬으로 신성 요붕증을 유발시킨 쥐에서 회복기에 탈수시키면 충분한 항이뇨 효과를 가지는 용량의

1-desamino-8-D-arginine vasopressin(dDAVP)를 투여한 경우보다 AQP2 단백질 발현이 훨씬 더 증가하였다^{30,31)}. 또한 dDAVP를 지속적으로 투여하여 혈장 바소프레신 농도를 계속 높게 유지하면서 수분 부하를 시키면(vasopressin escape) AQP2단백 발현이 감소하면서 이뇨가 발생한다^{32,33)}.

본 연구에서 AQP2의 단백질 발현을 관찰한 결과, 腎經과 心經의 火穴은 증가하였고, 水穴은 감소하였다. 즉 대조군에 비하여 心經의 火穴 HT8에서 44.5%의 유의한 증가를 나타내었고, 腎經의 火穴 KI2에서는 11.9%의 증가 경향을 나타내었으며, 腎經의 水穴 KI10에서 27.2%의 유의한 감소를 나타내었고, 心經의 火穴 HT3에서 12.2%의 감소 경향을 나타내었다.

이러한 결과는 AQP2는 AVP의 조절을 받아 집합관에서 수분의 재흡수와 농축 정도를 결정하게 되는데, dDAVP를 지속적으로 투여하여 혈장 바소프레신 농도를 계속 높게 유지하면서 수분 부하를 시키면 AQP2 단백질 발현이 감소하면서 이뇨가 발생한다^{33,34)}고 하였듯이 腎經의 水穴에서 AQP2의 발현이 증가한 것으로 보아 재흡수를 억제하여 이뇨작용이 발현된 것으로 사료되며, 이러한 작용은 비록 정도는 腎經의 水穴보다 작지만 心經의 水穴에서도 발휘되는 것으로 사료된다. 腎經의 火穴과 心經의 火穴에서는 AQP2의 발현이 증가한 것은 이뇨작용보다는 뇨를 저류시키고 재흡수시키는 利水, 滲濕시키는 작용으로 사료된다.

신교감신경의 활성화는 수분의 재흡수와 이뇨작용과 밀접한 연관성을 지닌다. Kline 등³⁴⁾은 신교감신경 활성화의 감소는 이뇨작용이 증가함을 보고하였는데, 즉 신장 교감계 활성화는 tubule의 나트륨과 수분 재흡수를 증가시킨다. 본 연구에서 心經의 火穴인 HT8과 腎經의 水穴인 KI

足少陰腎經 然谷·陰谷과 手少陰心經 少府·少海 鍼刺가 腎臟 Aquaporin-2 發現과 腎交感神經活性, 血壓 및 血清 ANP, renin, norepinephrine에 미치는 影響

10에서 유의한 증가를 나타내었는데, 이는 신장의 재흡수 기능을 촉진하는 쪽으로 작용이 발휘됨을 나타낸다고 사료되며, HT₈ 鍼刺시 AQP2 단백 발현의 증가와도 부합되는 결과를 보여주었으나, KI₁₀의 경우에는 AQP2 단백 발현이 감소한 것과는 다른 결과를 나타내었다.

교감신경과 부교감신경의 활동은 평형상태를 유지하고 있는데, 교감신경의 활동이 상승되면 심장박동수 증가, 혈압 증가, 변비가 발생한다³⁵⁾. 본 연구에서 HT₈ 鍼刺시 혈압과 심박수가 증가하였는데, 이는 교감신경의 활성이 상승된 것과 부합되는 결과로 사료된다.

Renin은 간장에서 합성된 angiotensinogen을 angiotensin I로 변환시키고, 이것은 다시 변환효소에 의하여 angiotensin II로 되며, angiotensin II의 작용은 혈관에 직접 작용하여 혈관 수축을 일으키는데, 특히 동맥계에 강력한 수축을 유발시킨다. 이것은 중추와 말초구조의 교감신경계를 활성화하며, 그 결과 혈관의 말초 저항을 증가시키게 되고, 혈압을 상승시킨다. 또한 부신피질에 작용하여 aldosterone 분비를 촉진시켜 Na⁺ 및 수분의 재흡수시킨다. Renin-angiotensin 기전이 충분히 가동되기까지 소요되는 시간은 20분이고 그 후 약간의 기능저하는 있지만 오랫동안 유지되며, 특히 저혈압 또는 혈액량 감소의 경우 이 기전은 순환계의 기능을 정상으로 회복시키는 크게 기여하게 된다³⁵⁾. 본 연구에서 KI₁₀, HT₈, HT₃ 鍼刺시 혈장 renin이 증가하였는데, 이는 鍼刺가 renin-angiotensin system에 작용하여 수분의 재흡수를 촉진시키고 혈압을 상승시키는 것으로 사료되며, 이 결과 중 HT₈의 경우는 AQP2 단백 발현의 증가, RSNA의 상승, MAP 및 HR의 상승과 부합하는 결과이며, KI₁₀의 경우는 AQP2 단백 발현의 감소와는 부합하지 않고 RSNA 상승과는 부합

하는 결과이다.

심방이뇨호르몬(ANP)는 신장에서 신혈류량 증가, 사구체 여과율 증가, 신세뇨관의 나트륨 재흡수의 감소, 그리고 레닌 생성세포에 직접 작용하여 레닌 분비를 감소시키며, angiotensin II 생성 및 aldosterone 생합성을 억제하는 작용을 하는 것으로 알려져 있다³⁶⁾. 본 연구에서는 ANP의 경우 유의한 차이를 보이지 않았으며, 본 연구에서 선택된 각 穴位 침자는 ANP에 영향이 미치지 않는 것으로 사료된다.

자율신경이 흥분하면 그들의 절전섬유 말단에서 acetylcholine이 분비되며, 이 acetylcholine이 신경절에서 시냅스를 통해 절후신경을 흥분시키면, 내장기관에 분포하고 있는 절후섬유의 말단에서는 교감신경의 경우에는 norepinephrine이, 부교감신경의 경우에는 acetylcholine이 분비된다. Axon terminal에서 유리된 norepinephrine은 확산에 의해 이동하여 effector cell이나 presynaptic membrane의 수용체를 만나서 결합할 수 있으며, 수용체 결합여부를 불문하고 norepinephrine은 매우 빠른 속도로 세포막을 통해 재흡수되며, 신경말단으로 흡수된 norepinephrine은 vesicle에 다시 저장되거나, mitochondria에 있는 monoamine oxidase에 의해 oxidative deamination방법으로 불활성화 된다³⁷⁾. 본 연구에서는 腎經의 水穴 KI₁₀군과, 心經의 水穴 HT₃군 감소를 나타내었는데, 鍼刺에 의하여 감소된 것은 작용 후 빠른 속도로 세포막에 재흡수되고 불활성화된다고 하는 것³⁸⁾에 의한 것으로 사료된다.

본 연구의 결과들을 볼 때 신장 기능에 영향을 미치는 일련의 작용은 火經 心經의 火穴 HT₈에서 나타났는데, 즉 AQP2 단백 발현의 증가, RSNA의 상승, renin의 증가, MAP 및 HR의 상승을 보였는데, 이는 신장의 재흡수를 촉진하는

영향이 발휘됨을 알 수 있다. HT₈의 작용상 小便不利, 遺尿, 卒疝, 陰挺 등 비뇨생식기 병증을 主治한다고 하는 것에서^{2,3,21,23}, 볼 수 있듯이 소변 상태를 조절할 수 있다고 하였는데, 즉 수분의 재흡수를 촉진함으로써 利水滲濕의 작용이 발휘되는 것으로 사료된다. 또한 腎水를 조절하는데는 心火의 도움이 필요한데, 본 연구의 결과도 이와 연관되는 것으로 사료된다. 腎經의 水穴 KI₁₀의 경우에는 AQP2 단백질 발현은 감소를 보여 利尿 작용이 발휘되는 것으로 나타났으나 RSNA의 상승, renin의 증가를 나타내어 서로 부합되는 결과를 보여주지는 못하였다. 이에 대하여서는 검증 연구가 필요할 것으로 사료된다.

V. 結 論

足少陰腎經의 火穴 KI₂, 水穴 KI₁₀과 手少陰心經의 火穴인 HT₈, 水穴인 HT₃를 취하여 각각에 鍼刺하였을 때 신장 기능에 미치는 영향을 알아보기 위하여 aquaporin-2(AQP2) 단백질 발현 및 신교감신경활성(RSNA), 평균동맥압(MAP), 심박수(HR), renin, 심방이노호르몬(ANP) 및 norepinephrine를 관찰한 바 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. AQP2 단백질 발현에 있어서 대조군에 비하여 腎經의 KI₁₀군이 유의한 감소를, 心經의 HT₈군이 유의한 증가를 나타내었다.
2. RSNA의 변화에 있어서 대조군에 비하여 腎經의 KI₁₀과 心經의 HT₈에서 유의한 증가를 나타내었다.
3. MAP의 변화에 있어서 대조군에 비하여 心經의 HT₈군에서 유의한 증가를 나타내었다.
4. HR의 변화에 있어서 대조군에 비하여 心經의 HT₈군에서 유의한 증가를 나타내었다.

다.

5. 혈장 renin 변화에 있어서 대조군에 비하여 腎經의 KI₂군과 心經의 HT₃에서 유의한 증가를 나타내었다.
6. 혈장 ANP 변화에 있어서 대조군에 비하여 腎經의 KI₂, 心經의 HT₈에서는 증가의 경향을, 腎經의 KI₁₀, 心經의 HT₃에서는 감소의 경향을 각각 나타내었으나 유의한 차이는 보이지 않았다.
7. 혈장 norepinephrine 변화에 있어서 대조군에 비하여 腎經의 KI₁₀군과 心經의 HT₃군에서 유의한 감소를 나타내었다.

이상의 결과로 보아 心經의 火穴 HT₈은 腎臟에서 수분 재흡수를 촉진하게 하는 일련의 작용이 발휘되는데, 이는 心火가 腎水에 相濟하게 하는 영향으로 사료된다.

參考文獻

1. 두호경 편저. 동의신계내과학. 서울 : 동양의학 연구원. 1987 : 5, 28.
2. 전국한의학대학원 연구회 편저. 침구학 (상, 하). 서울 : 집문당. 3판. 1993 : 45-7, 421, 431-2, 531-2, 537-8, 548-7, 1199-203.
3. 임종국. 침구치료학. 서울 : 집문당. 1983 : 330-1, 333, 393, 397-8, 739-43.
4. Li WM, Wu GC, Arita H, Hanaoka K. Acupuncture stimulation inhibits somato-renal sympathetic A- and C-reflexes in anesthetized rats. Acupunct Electrother Res. 2002 ; 27(2) : 119-27.
5. Lin TB, Fu TC, Chen CF, Lin YJ, Chien CT. Low and high frequency electroacupuncture at Hoku elicits a distinct mechanism to activate sympathetic nervous system in anesthetized rats. Neurosci Lett. 1998 ;

足少陰腎經 然谷·陰谷과 手少陰心經 少府·少海 鍼刺가 腎臟 Aquaporin-2 發現과 腎交感神經活性, 血壓 및 血清 ANP, renin, norepinephrine에 미치는 影響

- 247(2-3) : 155-8.
6. 황유진, 조한백, 이건목. 두충약침이 백서의 신장기능에 미치는 영향. 대한침구학회지. 1999 ; 16(4) : 377-86.
 7. 김상희, 김경식, 이호섭. 단삼약침의 백서 신장기능에 미치는 영향. 대한침구학회지. 1998 ; 15(1) : 297-303.
 8. 이호섭, 문병우. 백복령 약침의 백서 신장기능에 미치는 영향. 대한침구학회지. 1997 ; 14(2) : 199-207.
 9. 박수영, 김경식, 이호섭. 저령 전탕액약침의 백서 신장기능에 미치는 영향. 대한침구학회지. 1997 ; 14(1) : 512-26.
 10. 이호섭, 윤여충, 유운조. 명문 애구 및 Laser 자극이 실험적 신성고혈압 백서의 신장기능에 미치는 영향. 대한침구학회지. 1995 ; 12(1) : 340-5.
 11. 김경식, 임종국. 애구가 가토신장기능에 미치는 영향. 대한침구학회지. 1985 ; 2(1) : 13-31.
 12. 정영해. SAS를 이용한 통계분석과 실습. 광주 : 도서출판월산. 1997 : 131-7, 159-75.
 13. 羅昌洙 編著. 經絡腧穴學 理論. 서울 : 정문각. 3판. 2001 : 57, 60-1, 224-34.
 14. 배병철 역. 금석황제내경소문. 서울 : 성보사. 1999 : 144.
 15. 崔容泰, 李秀鎬. 精解鍼灸學. 서울 : 행림서원. 1974 : 45-9, 153-5, 180.
 16. 육태한, 송범용. 태연(L9)자침이 수태음폐경의 오수혈 영역 온도변화에 미치는 영향. 대한침구학회지 2000 ; 17(3) : 219-32.
 17. 김창환, 강성길, 정인기. 오수혈을 이용한 침법의 비교 고찰 : 사암침법, 태극침법, 팔체질침법 중심으로. 대한침구학회지. 2001 ; 18(2) : 186-99.
 18. 劉冠軍主編. 中醫鍼灸經穴集成. 江西 : 江西科學技術出版社. 1997 : 200, 325, 330.
 19. 黃龍祥校注. 鍼灸甲乙經(新校本). 北京 : 中國醫藥科學技術出版社. 1990 : 431, 506, 553.
 20. 李景榮等 校釋(孫思邈 著). 備急千金要方 校釋. 北京 : 人民衛生出版社. 1997 : 729, 1062, 1081, 1088.
 21. 張介賓. 類經圖翼. 서울 : 대성문화사. 1996 : 156.
 22. 丹波康賴. 醫心方. 北京 : 人民衛生出版社. 1993 : 46.
 23. 黃龍祥主編. 鍼灸名著集成(扁鵲神應鍼灸玉龍經). 北京 : 華夏出版社. 1997 : 440.
 24. 王德深主編. 中國鍼灸穴位通鑒(古法新解會元鍼灸學). 青島 : 青島出版社. 1994 : 392
 25. Nielsen S, Frokiaer J, Marples D, Kwon TH, Agre P, Knepper MA. Aquaporins in the kidney ; From molecules to medicine. *Physiol Rev.* 2002 ; 82 : 205-44.
 26. Knepper MA. Molecular physiology of urinary concentration mechanism. Regulation of aquaporin water channels by vasopressin. *Am J Physiol.* 1997 ; 272 : F3-12.
 27. Nielsen S, DiGiovanni SR, Christensen EI, Knepper MA, Harris HW. Cellular and subcellular immunolocalization of vasopressin-regulated water channel in rat kidney. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1993 ; 90 : 11663-7.
 28. Ecelbarger CA, Terris J, Frindt G, Echevarria M, Marples D, Nielsen S, Knepper MA. Aquaporin-3 water channel localization and regulation in rat kidney. *Am J Physiol.* 1995 ; 269 : F663-72.
 29. Terris J, Ecelbarger CA, Marples D, Knepper MA, Nielsen S. Distribution of aquaporin-4 water channel expression wi-

- thin rat kidney. *Am J Physiol.* 1995 ; 269 : F775-85.
30. Earm JH, Christensen BM, Frokiaer J, Marples K, Han JS, Knepper MA, Nielsen S. Decreased aquaporin-2 expression and apical plasma membrane delivery in kidney collecting ducts of polyuric hypercalcemic rats. *J Am Soc Nephrol.* 1998 ; 9 : 2181-93.
31. Marples D, Frokiaer, Dorup J, Knepper MA, Nielsen S. Hypokalemia-induced downregulation of aquaporin-2 water channel expression in rat kidney medulla and cortex. *J Clin Invest.* 1996 ; 97 : 1960-8.
32. Ecelbarger CA, Nielsen S, Olson BR, Murase T, Baker EA, Knepper MA, Verbalis JG. Role of renal aquaporins in escape from vasopressin-induced antidiuresis in rat. *J Clin Invest.* 1997 ; 99(8): 1852-63.
33. Ecelbarger CA, Chou CL, Lee AJ, DiGiovanni SR, Verbalis JG, Knepper MA. Escape from vasopressin-induced antidiuresis: role of vasopressin resistance of the collecting duct. *Am J Physiol.* 1998 ; 274(6 Pt 2) : F1161-6.
34. Kline RL, Cechetto DF. Renal effects of rilmenidine in anesthetized rats : importance of renal nerves. *J Pharmacol Exp Ther.* 1993 ; 266(3) : 1556-62.
35. 김정진. 은사생리학. 서울 : 고문사. 1994 : 97-115, 225-7, 460.
36. Martinez-Maldonado M, Benabe JE, Cordova HR. Chronic clinical intrinsic renal failure, in *The Kidney ; Physiology and Pathology.* 2nd ed. edited by Seldin DW, Geibisch G. New York : Raven Press. 1992 : 3227-82.
37. 길원식. 자율신경계. 서울 : 고문사. 2판. 1995 : 44-8, 142-4.