

家兎腎皮質切片에서의 有機酸移動에 關한 研究*

—특히 電解質의 影響에 對하여—

晋州農科大學 獸醫學科 生理學敎室

延世大學校 醫科大學 生理學敎室

<指導 洪 礪 基 敎授>

鄭 淳 東

—Abstract—

Studies on the Transport of Organic Acids in the Rabbit Kindey Slice, with Special Reference to the Role of Various Electrolytes

Soon Tong Chung

*Department of Veterinary Physiology, Chinju Agricultural College
and*

Department of Physiology, Yonsei University College of Medicine

(Directed by Dr. Suk Ki Hong)

The uptake of phenolsulfonphthalein (PSP) and of paraaminohippuric acid (PAH) by cortical slices of the rabbit kidney was investigated while varying the composition of medium. The overall uptake of these substances displayed typical active transport characteristics and was significantly enhanced in presence of acetate. When the phosphate buffer was used the optimal pH was 7.4 for both substances. However, when the tris-buffer was used the optimal pH was 7.4 for PSP and 8.3 for PAH. Removal of Na⁺ from the medium resulted in a significant reduction in the uptake. Similar results, though lesser in magnitude, were obtained when either K⁺ or Ca⁺⁺ was removed from the medium. However, there was no additive effect when K⁺ and/or Ca⁺⁺ were additionally removed from the Na⁺-free medium. The presence of NH₄⁺ greatly reduced while Li⁺ and Mg⁺⁺ moderately reduced the uptake of both substances. However, choline had no effect. In substrate-leached slices, acetate greatly enhanced the uptake of organic acids; but this action was not demonstrable in absence of Na,⁺ K⁺ or Ca⁺⁺.

I. 緒 論

腎臟을 통하여 物質이 排泄되는 經路의 하나로 細尿管分泌가 있으며 그例로 各種 有機物의 分泌를 들 수 있다. 이러한 有機物의 分泌經路는 크게 두가지 즉 有機酸系統(或은 hippurate system) (Sperber, 1959)과 有機鹽基系統(Peters, 1960)으로 區分되는데 前者의 경우 대

部分의 弱有機酸이 이에 屬한다. 이러한 弱有機酸 중 가장 廣範하게 研究된 것으로는 phenolsulfonphthalein (PSP)系色素들과 sulfonic acid, sulfonamide, paraaminohippuric acid (PAH) 및 其他 hippurates, benzoates, probenecid 그리고 heterocyclic carboxylic acid系에 屬하는 Diodrast 및 penicillin 등이 있다. 腎細尿管을 통한 이러한 有機酸들의 分泌過程은 일찌기 Rowntree 및 Geraghty (1910)에 의하여 PSP가 腎臟機能調査에 導入된 이래 여러 動物에서 研究되었는데 그 分泌機轉의 特

* 本論文의 要旨는 제 19 회 大韓生理學會 學術大會에서 發表하였음.

性은 代謝에 너지를 必要로 하는 能動的過程이며(Chamber et al., 1935; Forster 및 Taggart, 1950; Taggart 및 Forster, 1950; Cross 및 Taggart, 1950; Mudge 및 Taggart, 1950; Shideman et al., 1952; Forster 및 Copenhaver, 1956; Rennick 및 Farah, 1956; Farah 및 Rennick, 1956; Hong 및 Forster, 1958) 最大分泌能(Tm)을 나타내고 있음(Shannon, 1935; Smith et al., 1945; Forster 및 Hong, 1962; Cho et al., 1960)이 證明되고 있다. 이처럼 最大分泌能을 보이는 것은 腎細尿管을 통한 이들 物質의 移動이 細尿管 細胞內에 存在하는 一定한 數의 運搬體에 의하여 遂行되고 있음을 의미하는데, 有機酸들은 分泌過程에서 서로 相競的抑制現象을 나타내는 것으로 보아 同一한 運搬體에 의하여 運搬될 것이라고 알려져 있다(Taggart, 1958). 그런데 이러한 有機酸의 能動的分泌部位가 近位 細尿管임은 直接 顯微鏡을 통한 色素移動觀察(Forster 및 Copenhaver, 1956)이나 stop flow 研究(Malvin et al., 1958; Foulkes 및 Miller, 1959)로써 證明되고 있는 바이므로 近位細尿管의 大部分을 包含하고 있는 皮質層의 切片을 使用함으로써 有機酸 分泌에 對한 여러가지 化學的乃至 物理學的 要因의 影響을 直接的으로 追求할 수 있을 뿐만 아니라 代謝活動의 攪亂, 促進, 그리고 特定한 物質移動에 特殊하게 作用하는 物質의 影響 등을 研究함으로써 分泌過程의 本體를 究明함에 있어서 많은 進전을 가져왔다.

腎細尿管에서의 弱有機酸의 能動的移動過程이 各種電解質의 影響을 받는다는 事實이 여러 가지로 報告되고 있다. 즉 가재미 單細尿管標本에서 PSP 分子가 移動함에 있어서 第一段階에서는 K^+ 를 必要로 하며 第二段階에서는 Ca^{++} 를 必要로 한다는 것을 Puck et al. (1952)이 報告한 바 있으며 同一한 事實을 Wasserman et al. (1953), Forster 및 Hong(1958), 吳(1965) 등은 PSP, chlorphenol red (CPR), Bromphenol blue (BPB), Brom cresol green (BCG) 등을 使用한 가재미 實驗에서 確認한 바 있다.

한편 高等動物에서는 1953年 Taggart et al.이 家兔腎皮質切片의 PAH 蓄積에 K^+ 이 重要한 影響을 미치고 있음을 報告한 바 있는데 그 후 Burg 및 Orloff(1962)에 의해서도 이러한 事實이 지적되었으며 其他 여러가지 無機 이온의 影響도 여러 學者들에 의하여 단편적으로 報告되고 있다(Farah 및 Rennick, 1956; Farah et al., 1959; Vander, 1963).

이처럼 腎臟을 통한 有機酸排泄에 對한 K^+ , Ca^{++} , 其他 電解質의 影響이 冷血動物과 哺乳類에서 여러가지로 報告되고 있지만 Na^+ 의 影響에 對해서는 별로 言及된 바 없다. 그러나 腎細尿管細胞의 glucose 蓄積과 amino acid

蓄積에 Na^+ 이 重要한 役割을 함이 Gordon 및 Maier(1964)와 Thier et al.(1963)에 의하여 各各 報告되고 있으며 特別히 消化管에서의 포도당 吸收(Csáky 및 Zollicoffer, 1960; Csáky 및 Thale, 1960; Csáky, 1961) 및 amino acid의 吸收(Csáky, 1961; Alvarado 및 Monreal, 1967)에도 역시 Na^+ 이 크게 影響을 미치고 있다는 사실이 兩棲類와 哺乳類에서 證明되고 있다. 따라서 著者は 家兔腎皮質切片에서의 有機酸移動에 對한 各種電解質의 影響을 연구함에 있어 同一한 機轉에 의하여 排泄된다고 알려져 있는 PSP와 PAH(Forster 및 Taggart, 1950; Beyer et al., 1951; Forster 및 Copenhaver, 1956; Lotspeich, 1959)의 腎皮質組織內蓄積에 미치는 여러가지 電解質 特別히 Na^+ 의 影響을 系統的으로 究明하고자 本研究에 着手하였으며 그 成績을 報告하는 바이다.

II. 材料 및 方法

1. 實驗動物

體重 2.0kg 內외의 家兔 160마리를 使用하였다.

2. 實驗進行方法

가. 材料의 處理; 家兔의 耳靜脈에 空氣를 注入하여 죽인 다음 即時 兩側 腎臟을 摘出하여 被膜을 벗기고 미리 酸素를 供給하면서 約 $2^{\circ}C$ 로 冷却시켜둔 chilling 溶液(0.13M NaCl—0.02M KCl)(Copenhaver 및 Forster, 1958)에 옮겨 代謝에 너지의 消耗을 最少로 줄인 후 Stadie-Riggs microtome (Stadie 및 Riggs, 1944)을 使用하여 0.3~0.5 mm 두께의 腎皮質切片을 만들어 前記한 chilling 溶液에 모아 두었는데 이러한 모든 操作은 25~30分內에 끝마쳤다.

나. 實驗操作;

1) 皮質切片의 PSP 및 PAH 蓄積調查; 上記操作이 끝난 후 chilling 溶液으로부터 切片을 꺼내어 濾過紙로 가볍게 물기를 除去한 後 torsion balance로 約 300 mg 씩 달아 incubation 溶液이 들어 있는 大型試驗管(2×20 cm)에 넣고 繼續的인 酸素供給下에 $25^{\circ}C$ 恒溫水槽內에서 60分間 incubation 하였다. Incubation 이 끝난 후 組織을 꺼내어 PSP 혹은 PAH가 蓄積된 정도를 調査하였는데 이에 對해서는 分析欄에서 詳述하겠다.

本實驗에 使用된 基本溶液의 電解質 組成은 Cross 및 Taggart(1950)의 phosphate 溶液과 同一하였다. 即 Na^+ 110, K^+ 40, Ca^{++} 1.5, Cl^- 139, phosphate 22 mEq/L로서 여기에 $6.7 \times 10^{-5}M$ 의 PAH 혹은 PSP를 포함시키되 pH 7.4, 滲透質濃度 300 mOsm/L 전후로 調整하였다. Acetate의 添加나 電解質組成의 變動 등으로惹起된 滲透壓의 變化는 當量의 NaCl을 除去하거나 choline chloride,

sucrose 등으로 補充하였으며, 어떤 境遇에는 phosphate buffer 代身 tris-buffer(Gomori, 1946)를 使用하기도 하였는데 이에 關하여는 成績欄에서 다시 論議하겠다.

2) 皮質切片的 酸素消費量 調査; 溶液의 電解質組成 및 pH 變動이 組織의 代謝作用에 미치는 影響을 究明코자 Warburg 壓力計를 使用하여 切片의 酸素消費量을 調査하였는데 그 方法은 Cross 및 Taggart(1950)가 記述한 바와 同一하였으며 酸素消費量은 $\mu\text{I}/\text{mg}$ initial wet wt./hr 로 표시하였다.

3) 組織內 K^+ 의 濃度分析; 組織內의 代謝基質 또는 電解質을 leaching 시켰을때, 또는 여러가지 電解質組成의 溶液內에 incubation 했을 때 組織의 K^+ 含量的 變化를 調査하였는데 Mudge(1951)의 方法에 따라 一定量의 組織을 濃窒酸으로 溶解시킨 후 K^+ 을 Patwin flame photometer 로 測定하여 그 값을 mEq/kg wet wt. 로 표시하였다.

다. PSP 와 PAH 의 定量;

Incubation 이 끝난 후 즉시 組織과 溶液內의 PSP 또는 PAH 濃度を 측정하였는데 組織內의 濃度は 組織切片을 꺼내어 여과지상에서 물기를 완전히 除去한 후 정확하게 秤量하고 組織磨碎管(tissue grinder)內에서 증류수로 homogenate 를 만든 후 PSP 는 Forster 및 Copenhaver (1956)의 方法에 따라, 그리고 PAH 는 血漿中의 PAH 定量을 爲한 Smith 氏의 Bratton 및 Marshall 의 變法(1945)을 適用하여 자기 測定하였다. 溶液內의 濃度も 자기 同一한 方法으로 測定하였는데 組織內에 蓄積된 程度는 切片濃度/溶液濃度の 比 즉 S/M 比로 나타냈다.

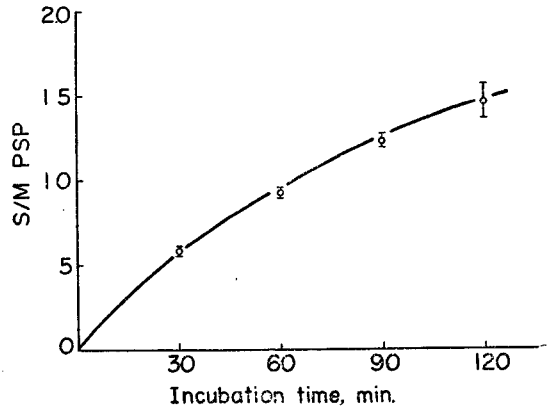
III. 實驗 成績

가. 一般의 樣相

腎皮質에 PSP 및 PAH 가 蓄積되는 一般의인 樣相을 알아보기 爲하여 正常電解質濃度下에서의 incubation 時間에 따른 變化, incubation 溶液中の PSP 및 PAH 濃度の 影響, 性別에 따른 差, pH 의 影響, 代謝基質로서 의 acetate 의 影響等을 觀察하였다.

1) Incubation 時間에 따른 S/M 比의 變化;

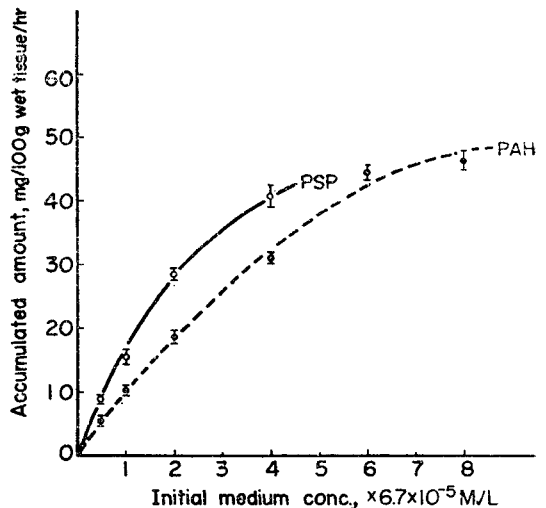
PSP 의 경우 incubation 時間이 길어짐에 따라 組織內 蓄積도 계속 增加하여 2時間만에 S/M 比가 約 15에 達하였는데(제 1 도) 이러한 增加樣相은 Cross 및 Taggart (1950)가 報告한 PAH 蓄積樣相과 同一하다. 이처럼 S/M 比가 時間에 따라 계속 增加하여 短時間內에 最大 值를보여주지 않았으므로 著者는 以後의 모든 實驗에서 1時間 incubation 後의 S/M 比를 比較함으로써 여러가지 條件의 影響을 分析하였다.



제 1 도 Incubation 時間에 따른 組織內 PSP 蓄積의 變化(6回 測定の 平均値±標準誤差)

2) PSP 및 PAH 濃度の 影響;

溶液內의 PSP 또는 PAH 의 濃도가 增加함에 따라 組織切片에 蓄積되는 量도 增加하였다. 그러나 제 2 도에서 보는 바와 같이 1時間 incubation 後의 組織內 蓄積量과 溶液內 濃도와는 正比例하지 않고 曲線的인 變化를 보였다. 이러한 사실은 組織內로의 PSP 와 PAH 의 蓄積이 전형적인 Michaelis-Menten kinetics 를 따르고 있음을 示唆하므로 double reciprocal analysis 를 통하여 最大蓄積值를 산출하였던바 $71.2 \text{ mg PSP}/100 \text{ gm wet wt.}/\text{hr}$ 와 $100 \text{ mg PAH}/100 \text{ gm wet wt.}/\text{hr}$ 였다. 한편 S/M 比를 算出한 結果 溶液內의 濃도가 $6.7 \times 10^{-5} \text{ M}$ 일때 PSP 및 PAH 에서 各各 平均 10.9 및 8.4 이.



제 2 도 Incubation 溶液內의 PSP 및 PAH 濃도에 따른 組織內 蓄積量의 變化(4~6回 測定の 平均値±標準誤差)

있으나 濃도가 增加할수록 계속 낮아짐을 보여 주었는데 이 역시 Cross 및 Taggart(1950)의 PAH 研究結果와 同一한 樣相을 보여 주었으므로 이후 모든 實驗에서 溶液內濃도를 $6.7 \times 10^{-6} M$ 로 고정하였다.

3) pH가 PSP 및 PAH의 組織內 蓄積에 미치는 影響;

pH의 變動이 PSP와 PAH의 組織內 蓄積에 미치는 影響을 조사하기 爲하여 緩衝溶液의 pH를 광범하게 變化시켰다.

제 3도 (a)에서 볼 수 있는 바와 같이 incubation 前 溶液의 pH를 기준으로 할 때 pH 7.4, 즉 生體와 同一한 條件에서 PSP와 PAH 兩者의 경우에서 모두 最大蓄積值를 보여 주었다. 한편 pH의 變化에도 불구하고 組織의 酸素消費量에는 거의 變動을 보이지 않는 것으로 보아 이러한 範圍의 pH 變化는 組織의 全體代謝作用에는 거의 影響을 미치지 않음을 알 수 있었다. 그런데 組織蛋白質自體가 緩衝能을 가지고 있을 것이므로 溶液의 pH를 7.4 以上 혹은 그 以下로 變化시킨다고 해도 incubation 하는 동안 실제로는 원래의 pH를 유지하지 못하고 7.4를 向하여 기울어진다. 따라서 pH 7.4의 溶液에서는 incubation 이 끝난 後에도 pH의 變化가 거의 없고 또 最大蓄積值를 보였으므로 以後의 모든 電解質 또는 acetate의 影響에 關한 實驗은 pH 7.4에서 遂行되었지만 pH의 影響을 좀더 明確히 考察하기 爲하여 incubation 끝난후의 溶液의 pH를 기준으로 分析하였던 바 제 3도(b,c)에서 보는 바와 같이 phosphate buffer

에서는 PSP와 PAH 모두 pH 7.4~7.5 근방에서 最大로 蓄積되는 傾向을 보였다. 그러나 alkali 領域에서 안정한 buffer system 인 tris-buffer ($pK_a=8.24$)의 경우에는 PSP의 最大蓄積은 pH 7.6 근방에서 이루어졌으나 PAH의 경우는 pH 8.3에서 最大蓄積值를 나타내었다. 한편 이와같은 兩 buffer에서의 相異한 結果가 phosphate buffer 인 경우 pH 7.4 이상에서는 Ca^{++} 이 침전된 結果일 수도 있으므로 溶液中의 Ca^{++} 을 除去한 後 實驗한 結果 Ca^{++} 存在時와 同一한 樣相을 보였다.

4) Acetate의 影響;

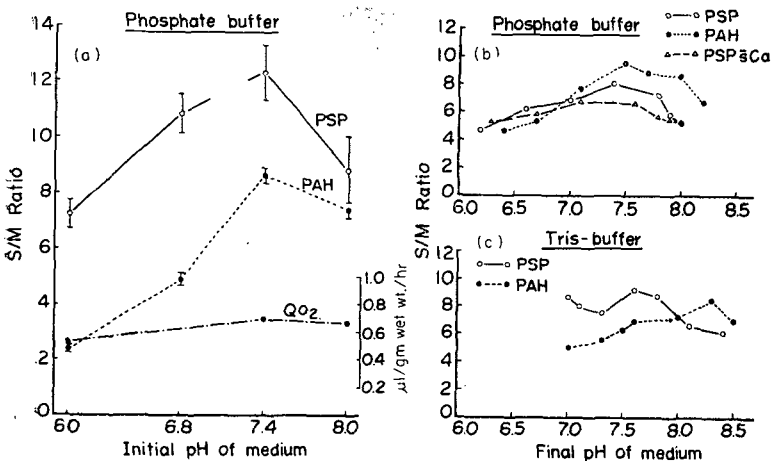
Acetate가 腎臟을 통한 有機酸排泄을 促進시키는 널리 알려진 事實이지만 그 作用機轉에 對해서는 아직 完全히 밝혀지지 않고 있다.

著者は acetate가 腎皮質切片의 PAH와 PSP 蓄積에 미치는 影響을 再檢討하기 爲하여 먼저 正常時의 acetate의 影響을 觀察하고, 다음 組織內의 代謝基質을 leaching 한 後 acetate의 影響을 觀察하였다. Acetate는 sodium-acetate를 使用하였으므로 當量의 Na^+ 을 NaCl에서 빼내어 總 Na^+ 濃도가 110 mEq/L가 되도록 調節하였다.

a. 正常時의 acetate의 影響; 正常時의 S/M比는 제 1 표에서 보는 바와 같이 PSP가 11.56 그리고 PAH가 5.88이었던 것이 溶液에 10mM의 acetate를 첨가함으로써 PSP는 平均 13.45로 그리고 PAH는 平均 7.79로 增加하여, 各各 17% ($P < 0.02$) 및 32% ($P < 0.001$)의 增加를 보였으며 이때 組織의 酸素消費量 역시 增加하였다. 한편 acetate 濃도에 따른 影響을 觀察하였던 바 1mM에서 最大의 效果를 나타내

고 그 以上 濃度を 增加시켜도 더 큰 影響을 보여주지 않았다. 그러나 大部分의 先進研究者들이 10mM을 썼으므로 著者도 以後의 研究에서는 10mM을 使用하므로써 그 效果를 比較하였다.

b. 代謝基質을 leaching 한 切片에서의 acetate의 影響; NaCl 0.13 M-KCl 0.02 M 溶液 約 1l 속에 腎皮質切片을 넣어 酸素공급하에 25°C에서 3時間동안 代謝基質을 leaching 시킨 後 acetate를 10mM 濃도로 포함하고 있는 溶液內에 incubation 함으로써 acetate의 效果를 觀察하였는데, leaching 결과 PSP의 S/M比는 5.31($P < 0.01$) 그리고 PAH에서는 1.62($P < 0.001$)로 leaching



제 3도 溶液內 pH 變動이 PSP 및 PAH의 組織內蓄積 및 酸素消費에 미치는 影響

(a): incubation 前 pH의 影響(4~6 회 測定의 平均值土標準誤差)

(b) 및 (c): incubation 後 pH

註 1) (b) 및 (c)의 경우 incubation 前 pH는 5.0에서 9.0까지였음.

2) PSP/PAH: Ca^{++} 를 除去한 phosphate buffer 溶液에서의 PSP 蓄積을 나타냄.

제 1 표 PSP 및 PAH 蓄積에 대한 Acetate 의 影響

Acetate 濃度 (mM/L)	S/M 比		酸 素 消 費 量 (μ l/mg.wet wt./hr)
	PSP	PAH	
正 常 切 片			
0	11.56 \pm 0.30(75)	5.88 \pm 0.24(61)	0.720 \pm 0.024(14)
10	13.45 \pm 0.72(14)*	7.79 \pm 0.37(15)*	0.940 \pm 0.023(7)
代 謝 基 質 이 leaching 된 切片 ⁺			
0	5.31 \pm 0.54(8)	1.62 \pm 0.20(9)	0.594 \pm 0.015(4)
10	8.70 \pm 0.66(8)*	3.89 \pm 0.58(9)*	0.800 \pm 0.057(7)

(平均値±標準誤差)

() 測定例數

* Acetate 가 없을 때에 比하여 統計學的으로 意義있는 增加입(P<0.02).

⁺ 酸素로 포화되어 있는 25°C 의 0.13M NaCl-0.02M KCl 溶液內에 3時間동안 넣어둔 切片.

제 2 표 PSP 및 PAH 蓄積에 對한 性別差

性 別	S/M 比		酸 素 消 費 量 (μ l/mg wet wt./hr)
	PSP	PAH	
雄	11.95 \pm 0.41(22)	6.41 \pm 0.32(29)	0.807 \pm 0.040(4)
雌	11.72 \pm 0.56(32)	5.06 \pm 0.27(29)*	0.700 \pm 0.019(12)
Acetate(10mM/L) 存在時			
雄	13.50(2)	7.93 \pm 0.42(11)	0.914 \pm 0.033(4)
雌	13.44 \pm 0.72(12)	7.44 \pm 0.80(4)	0.975 \pm 0.016(4)

(平均値±標準誤差)

() 測定例數

☆ 雌性值에 比하여 統計學的으로 意義있는 差입 (P<0.005)

하지 않는 것에 比하여 현저한 減少를 보였으나 이때 acetate 를 첨가함으로써 各各 8.70 (P<0.001)과 3.89 (P<0.001)로써 leaching 後 acetate가 없는 溶液에 incubation 했을 때보다 意義있는 增加를 보였다(제 1 표).

Acetate 를 첨가 하므로써 組織의 酸素消費量은 모든 경우에 있어서 增加樣相을 보였다.

5) 性別에 依한 差;

제 2 표에서 보는 바와 같이 acetate 를 포함하지 않은 溶液에서는 PAH의 S/M 比가 雄性에서는 平均 6.41 이고 雌性에서는 平均 5.06 으로서 뚜렷한 性別의 差를 보였으나 (P<0.005) PSP 의 경우는 性別에 따른 差를 認定할 수 없었다. 한편 acetate 存在時에는 PSP 蓄積은 물론 PAH 蓄積 에서도 역시 性別의 差를 볼 수 없었지만 兩者의 경우에서 모두 S/M 値와 酸素消費量의 增加를 볼 수 있었다.

나. 各種電解質의 影響

各種電解質이 組織內 PSP 및 PAH 蓄積에 미치는 影響을 調査하기 爲하여 incubation 溶液內의 電解質組成을 廣範하게 變化시키면서 그 影響을 分析하였다.

1) Na⁺의 影響;

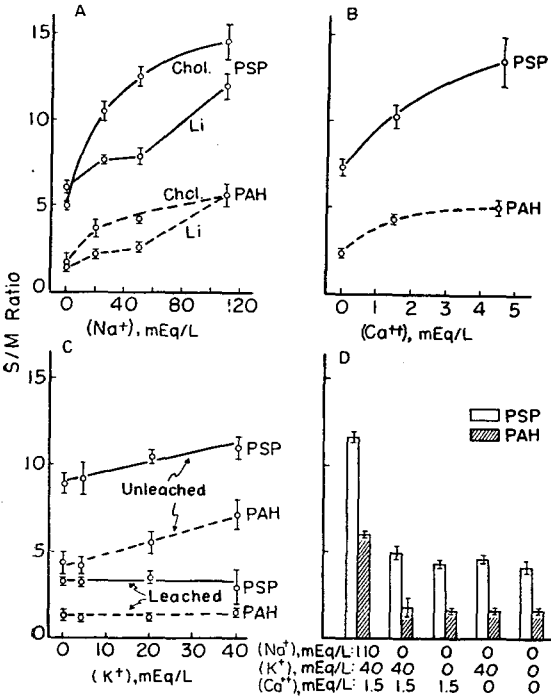
Incubation 溶液內의 Na 濃도를 0 으로부터 110 mEq/L 까지 變化시킨 결과 제 4 도(A)에 圖示한 바와 같았다. 이때 NaCl 은 當量의 LiCl 또는 choline chloride 로 代置되었는데 兩者의 경우 모두 incubation 溶液內의 Na⁺ 濃도가 減少함에 따라 PSP 및 PAH 의 組織內 蓄積이 減少하는 것을 볼 수 있었다. 그러나 이때 組織의 代謝活動은 減少하지 않았다(제 3 표).

2). Ca⁺⁺의 影響;

Ca⁺⁺이 PSP 및 PAH 의 組織內 蓄積에 미치는 影響을 究明하기 爲하여 먼저 組織切片을 0.2% disodium EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid)를 포함하는 chilling 溶液내에 넣어 10 分間 Ca⁺⁺을 leaching 시킨 후 各其 相異한 濃도로 Ca⁺⁺을 포함하고 있는 incubation 溶液內에 incubation 한 후 PSP 및 PAH 가 組織內로 蓄積되는 樣相을 調査하였는데 그 結果는 제 4 도(B)에 圖示한 바와 같다. 즉 incubation 溶液內에 Ca⁺⁺濃도가 增加함에 따라 組織內로 蓄積되는 量이 점차 增加하여 Ca⁺⁺濃도 5 mEq/L 에서의 S/M 比는 PSP 가 13.5, PAH 가 5.0 으로서, Ca⁺⁺이 없을 때의 S/M 比 7.3 과 2.2 에 比하여 各各 80% 및 100% 이상의 현저한 增加를 보였다.

3) K⁺의 影響;

PSP 및 PAH의 組織內 蓄積에 미치는 K⁺의 影響을 調査하기 爲하여 먼저 incubation 溶液內의 K⁺濃度를 變化시킨 결과 제 4도(C)에 圖示한 바와 같이 PSP와 PAH 兩者의 경우에서 모두 K⁺濃度가 낮아짐에 따라 組織內로 蓄積되는 量이 감소되었다. 그러나 組織內의 K⁺을 미리 leaching 한 후 K⁺濃度가 각기 다른 여러가지 溶液內에 incubation 했을 때는 PSP나 PAH 蓄積이 모두 K⁺濃度와는 相關性을 보이지 않았다.



제 4도 PSP 및 PAH의 組織內 蓄積에 對한 各種 電解質의 影響(6~14回 測定의 平均值±標準誤差)

- 註 1) 各圖의 橫軸은 incubation 前 溶液中의 該電解質濃度
 2) 溶液으로부터 除去된 該電解質은 當量의 choline으로 代置되었으며 Na⁺의 경우는 Li⁺으로 代置된 때도 있음.
 3) K⁺ leaching 은 0.15M NaCl 溶液內에서 3시간 동안 시행하였음.

4) Na⁺, K⁺, Ca⁺⁺ 을 同時에 變化시켰을 때의 影響;

以上 記述한 바와 같이 Na⁺, K⁺, 그리고 Ca⁺⁺이 모두 PSP 및 PAH의 組織內 蓄積에 影響을 미쳤지만 그 중 Na⁺의 影響이 가장 顯저하였다. 따라서 이들 陽 離子의 效果를 同時에 縱的으로 比較하기 爲하여 基本溶液의 電解質中에서 Na⁺뿐만 아니라 K⁺, Ca⁺⁺ 등을 함께 除去함으로써 그 影響은 比較하였던 바 제 4도(D)에 나타난 바와 같이 이들 電解質을 모두 포함한 溶液에서의 S/M 비

제 3표 各種電解質이 酸素消費量에 미치는 影響

Incubation 溶液	酸素消費量(μl/mg wet wt./hr)		
	Na ⁺ K ⁺ Ca ⁺ (mEq/L)	正常切片	代謝基質이* leaching 된 切片
110 40 1.5	0.718	0.684	0.528
0 40 1.5	0.806	—	—
110 0 1.5	0.765	0.842	0.684
110 40 0	0.755	—	—
0 0 1.5	0.657	—	—
0 40 0	0.712	—	—
0 0 0	0.670	—	—

(2~3回 測定의 平均值)

* 酸素로 飽和된 25°C 0.13M NaCl-0.02M KCl 溶液內에 3時間동안 넣어진 切片

+ 酸素로 飽和된 25°C 0.15M NaCl 溶液內에 3時間동안 넣어진 切片

註) Incubation 溶液中에서 除去된 電解質은 모두 當量의 choline⁺으로 代置되었음.

가 PSP와 PAH에 對해 각각 11.6과 5.9이었던 것이 Na⁺을 除去함으로써 PSP에서 4.6 그리고 PAH에서 1.8로서 各其 約 60%와 70%의 下降을 보였는데, K⁺이나 Ca⁺⁺을 함께 除去하더라도 그 影響이 더 심하지 않았다. 特히 Na⁺, K⁺ 그리고 Ca⁺⁺을 모두 除去한 경우에도 Na⁺ 單獨除去時의 影響과 同一하였다. 以上 모든 경우에서 除去한 陽 離子은 當量의 choline으로 代置되어 全體滲透 質濃度에는 變化가 없었으며 組織의 酸素消費量 역시 제 3표에 나타난 바와 같이 큰 變化를 나타내지 않았다.

5) Cl⁻의 影響;

腎皮質切片에서의 有機酸移動에 對해 最適의 條件을 부여하기 爲해서는 incubation 溶液內의 陰 離子 組成이 반드시 體液(細胞外液)과 同一할 必要가 없다는 것은 이미 알려진 事實이다(Cross 및 Taggart, 1950). 本實驗에서는 基本溶液中의 Cl⁻(139 mEq/L)를 SO₄²⁻로 代置한 후 그 影響을 調査하였던 바 제 4표에 표시한 바와 같이 PSP의 蓄積에는 별 影響이 없었으나 PAH의 경우에는 約 20% 程度로 S/M 비가 減少되었다.

제 4표 Cl⁻이 PSP 및 PAH 蓄積에 미치는 影響

Incubation 溶液	Cl ⁻ SO ₄ ²⁻ (mEq/L)	PSP 蓄積	PAH 蓄積
		(S/M)	
139	—	13.98±1.46	6.02±0.33
1.5	137.5	11.28±0.58	4.73±0.30

(6回測定의 平均值 ±標準誤差)

6) 其他物質들의 影響;

前記한 各種 無機陽 離子의 影響을 究明할 때 除去된

제 5 표 PSP 및 PAH 蓄積에 對한 sucrose 및 其他物質의 影響

Incubation 溶液		PSP 蓄積 (S/M)	PAH 蓄積	酸素消費量
物質濃度	Na 濃度 (mM/L)			$\mu\text{l}/\text{mg wet wt.}/\text{hr}$
Sucrose	120 50	11.80 \pm 0.71(19)	5.29 \pm 0.41(17)	0.804(2)
Choline	60 50	11.13 \pm 0.85(12)	5.03 \pm 0.38(8)	0.745(2)
Li ⁺	60 50	10.13 \pm 0.67(12)	2.78 \pm 0.19(9)*	0.663(2)
Mg ⁺⁺	30 50	9.54 \pm 0.80(7)	2.69 \pm 0.30(8)*	0.594(2)
NH ₄ ⁺	60 50	4.19 \pm 0.16*(11)	1.11 \pm 0.05(11)*	0.748(2)

(平均値±標準誤差)

() 測定例數

* Sucrose 群과 統計學的으로 意義있게 다름($p < 0.001$)

陽이온을 當量의 choline 으로 代置하였던 바이므로 或是 前述한 成績이 반드시 該電解質濃度の 下降에만 依한 것이 아니고 choline 의 影響일 수도 있다. 더구나 제 4 도(A)에서 보는바와 같이 Na⁺를 Li⁺으로 代置하였을 境遇 choline 으로 代置하였을 때보다 더 顯著한 影響을 미치는 경향을 보였는데 이와 같은 現象은 역시 Na⁺濃度下降의 影響以外에 代置된 Li⁺의 影響도 있을 을 示唆한다.

따라서 基本溶液의 Na⁺中 60 mM 을 當量의 sucrose, Li⁺, choline, Mg⁺⁺ 또는 NH₄⁺로 代置한 後 sucrose 로 代置한 경우(對照群)와 比較하여 보면 제 5 표에 표시한 바와 같다. 즉 choline 은 PSP 나 PAH 의 蓄積에 별 影響을 주지 않았으나 Li⁺은 PAH 축적을 약 45% 程度 抑制시켰다. Mg⁺⁺ 역시 PSP 移動에는 크게 影響을 미치지 않았으나 PAH 의 移動에는 約 50% 程度로 顯著한 抑制作用을 나타내었고 NH₄⁺은 PSP 및 PAH 의 移動을 모두 甚하게 抑制하여 各各 약 60%와 80% 가량의 억제 現象을 나타내었다. 組織의 酸素消費量은 Li⁺과 Mg⁺⁺으로 代置했을 경우 다소 減少하였다.

다. Acetate 作用에 對한 各種電解質의 影響

일찌기 Cross 및 Taggart(1950)에 依하여 acetate 가 家兎腎臟切片的 PAH 蓄積을 顯著하게 增加시킨다는 事實이 報告된 以來 여러 動物의 腎臟에서 이 物質이 有機酸移動을 促進하고 있음이 널리 알려져 있다. 그뿐 아니라 PAH 蓄積에 대한 이러한 acetate 의 作用에 적당한 濃度の K⁺이 要求된다는 것이 Taggart et al. (1953)에 依하여 報告되고 있다.

따라서 著者は 腎皮質切片的 PSP 및 PAH 의 蓄積에 對한 acetate 의 効果가 各種電解質과 어떤 相關性을 가지고 있는지를 究明하기 爲하여 서로 다른 3가지 過程을 通하여 그 關係를 追求하였다. 즉

① 腎皮質切片을 만든 後 즉시 PSP 와 PAH 蓄積能을 調査한다.

② 切片을 0.13 M NaCl—0.02M KCl 溶液內에 3時

間동안 넣어 內在의 代謝基質을 미리 leaching 시킨 後 PSP 와 PAH 의 蓄積能을 調査한다.

③ 特히 K⁺과 acetate 의 關係를 究明하기 爲해서 0.15 M NaCl 溶液中에서 3時間동안 組織內의 K⁺를 leaching 시킨 後 PSP 및 PAH 의 蓄積能을 調査한다.

1) Acetate 의 作用에 對한 Na⁺의 影響;

제 5 도 (A)에서 볼 수 있는 바와 같이 內在性代謝基質을 leaching 하지 않은 正常切片을 Na⁺濃度 110 mM 의 溶液中에 incubation 했을 때 PSP 및 PAH 의 S/M 比가 각기 9.3 과 4.3 이었던 것이 代謝基質을 leaching 한 後 Na⁺濃度 10mM 의 溶液中에 incubation 한 경우 S/M 比가 각기 3.8 과 1.04 로 감소되었다. 이때 acetate 를 첨가 했을 때나, acetate 를 첨가하지 않고 Na⁺의 濃度만을 110 mM 로 올렸을 때는 leaching 하지 않은 正常切片의 水準에 도달하지 못했으나 acetate 와 Na⁺을 동시에 첨가 했을 경우에는 PSP 및 PAH 의 S/M 比가 각기 8.8 과 3.8 로서 正常値에 接近했다.

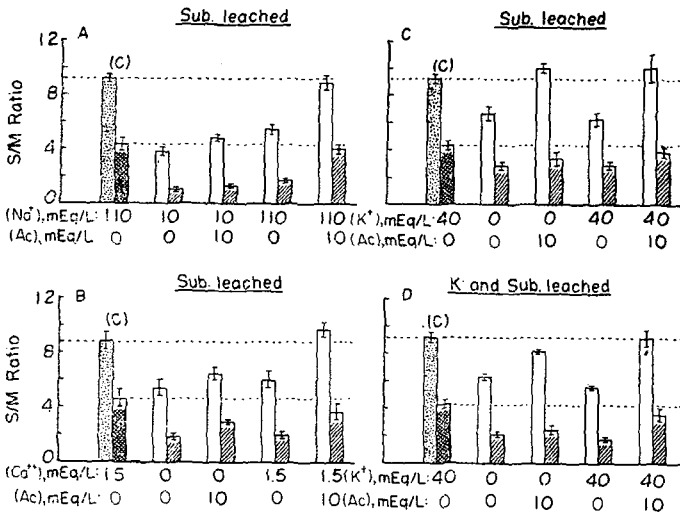
2) Acetate 의 作用에 對한 Ca⁺⁺의 影響;

Ca⁺⁺의 경우에도 代謝基質을 leaching 한 後 acetate 또는 Ca⁺⁺을 단독으로 첨가했을 때는 效果가 없었으나 Ca⁺⁺과 acetate 를 同時에 첨가함으로써 leaching 하지 않은 正常切片의 S/M 比에 接近했다(제 5 도 (B)).

3) Acetate 作用에 對한 K⁺의 影響

먼저 代謝基質만을 leaching 한 切片에서 보면 (제 5 도 (c)) leaching 後 K⁺을 포함하지 않는 溶液中에 incubation 했을 때, PSP 및 PAH 의 S/M 比가 각기 6.67 및 2.76 으로서 leaching 하지 않은 正常切片의 S/M 比 9.26 과 4.24 에 비해 약 70%로 下墜하였다. 이 때 K⁺만을 첨가했을 경우에는 效果가 없었지만 acetate 만을 첨가했을 때는 acetate 와 K⁺을 同時에 첨가했을 때와 마찬가지로 兩物質의 蓄積이 모두 正常切片의 水準에 도달하였다.

한편 組織內의 K⁺과 代謝基質을 모두 leaching 한 切片에서는 (제 5 도 (D)) K⁺과 acetate 를 同時에 투여하였을 경우에만 正常切片의 水準에 도달하였다.



제 5 도 Acetate 와 各種電解質이 PSP 및 PAH 蓄積에 미치는 影響 (4~15回 測定의 平均値±標準誤差)

- 註 1) □ : PSP ■ : PAH
- 2) (C):leaching 하지 않은 切片.
- 3) 代謝基質의 leaching 은 0.13 M NaCl-0.02 M KCl 溶液內에서, K의 leaching 은 0.15 M NaCl 溶液內에서 酸素供給下에 3時間동안 시행하였음.

제 6 표 組織切片의 K⁺含量的 變化(mEq/kg wet wt.)

Incubation 前			
Chilling 前	Chilling 後	代謝基質 leaching 後	K ⁺ 및 代謝基質 leaching 後
78±1.6(12)	54±3.6(18)	62±5.0(5)	26(3)
Incubation 後			
Incubation 溶液	K ⁺ 濃度		
Na ⁺ K ⁺ Ca ⁺⁺ (mEq/L)	正常切片	代謝基質이 leaching 된 切片	K ⁺ 및 代謝基質이 leaching 된 切片
110 40 1.5	65(6)	55(2)	55(2)
0 40 1.5	105(3)		
110 0 1.5	30(3)	68(3)	34(3)
0 0 1.5	39(1)		
0 40 0	67(1)		
0 0 0	45(1)		

其他物質을 包含하는 溶液內에 incubation 後

Incubation 溶液*	Sucrose	Cho-line	Li ⁺	Mg ⁺⁺	NH ₄ ⁺
K ⁺ 濃度	74(2)	68(2)	66(2)	68(2)	50(2)

(平均値±標準誤差)

() 測定例數

* 60 mEq의 Na⁺이 該 物質로 代置된 溶液

IV. 考 察

가. 一般의인 樣相

Incuation 時間과 濃度の 影響;

일찌기 Forster(1948)에 依하여 切片法 (slice technique)이 腎臟의 分泌過程研究에 導入된 以來 많은 研究者들(Cross 및 Taggart, 1950; Shideman et al., 1952; Taggart et al, 1953; Forster 및 Copenhagen 1956; McIntosh 및 Childress, 1957; White, 1957; Copenhagen 및 Forster, 1958; Foulkes 및 Miller 1959; Essig 및 Taggart, 1960; Burg 및 Orloff, 1962; Despopoulos 및 Segerfeldt, 1964; Copenhagen 및 Davis, 1965; Murthy 및 Foulkes, 1967)에 依하여 이 方法이 各種有機酸分泌過程研究에 利用되어 그 分泌機轉을 좀더 詳히 究明할 수 있게 되었다.

이러한 弱有機酸의 分泌過程이 代謝에 너지를 要하는 能動的過程임은 여러 面으로 證明되었으며 따라서 效果의으로 그 機能이 遂行되기 爲해서는 적절한 條件이 구비되어야 한다는 것이 여러가지로 示唆되고 있다.

著者の 實驗에서 溶液內의 PSP 및 PAH의 濃도가 增加함에 따라 組織內로의 蓄積이 能動的運搬機轉이 포화될 때 까지는 계속 增加되는 樣相을 보였는데(제2도) 이는 Cross 및 Taggart(1950)의 PAH 研究成績과 同一하였다. McIntosh 및 Childress(1957)는 家兔腎臟切片을 使用한 實驗에서 溶液의 PAH 濃도가 2 μM/ml 以上일 때는 能動的運搬機轉이 飽和된다고 報告한 바 있다. 그런데 本實驗에 使用된 濃度內에서는 PSP 나 PAH의 경우에서 모두 포화점에 이르지지는 않았으므로 Michaelis-Menten 식 (Christensen 및 Palmer, 1967)을 적용하여 最大蓄積値를 算出하였던 바 PAH에서는 100 mg/100 g wet wt.(약 5 μM/gm)로서 McIntosh 및 Childress(1957)가 報告한 10.10 μM/gm에 비해 현저히 낮았으나 Foulkes 및 Miller(1959)가 家兔를 使用한 in vivo 實驗에서 腎皮質에 能動的으로 蓄積되는 PAH의 量이 4~5 μM/gm이라고 報告한 것과 一致한다.

pH의 影響;

溶液의 pH變動이 PSP 및 PAH 蓄積에 미치는 影響을 研究한 결과(제3도) incubation 전 溶液의 pH를 기준으로 할때 phosphate buffer인 경우 pH 7.4에서 兩者 모두 最大로 蓄積되었다. 1954년에 Carhart et al.은 개 腎臟切片의 PAH 蓄積이 phosphate buffer를 使用한 경우 溶液內에 acetate의 存在如否에 상관없이 酸性 領域

에서 가장 높게 이루어지며 sodium-acetate가 존재할 경우 이 물질의代謝結果生成되는 OH^- 에 의하여 incubation이進行됨에 따라 점차 pH는 alkali 쪽으로 기울어지므로 그結果 PAH의組織內蓄積이減少된다고 하였다. 그러나 bicarbonate buffer를 사용할 경우에는 이런現象이 없었다고 보고하였으며 그後 Farah et al. (1959)은 역시酸性인 pH 6.5에서 개腎臟切片的 PAH蓄積이最大로 이루어짐을報告하였는데 이와 같은差異는動物種의差에 기인함인지도 모르겠다. 한편 incubation 끝난 후 溶液의 pH를 기준으로 그效果를分析하였던바 phosphate buffer에서는 PSP 및 PAH의蓄積이 모두 역시 pH 7.4附近에서 最大値를 보였지만 tris-(hydroxymethyl aminomethane) buffer에서는 PSP와 PAH가 서로 달라前者는 pH 7.6附近에서 그리고 後者는 8.3附近에서 最大値를 보였는데 PAH의 경우는 Copenhagen와 Davis (1965)가報告한바 propanediol buffer를 썼을때 pH 8.3에서 PAH의蓄積이 最大였던 것과 同一하다. 그런데 phosphate buffer인 경우 pH 7.4 이상에서는 phosphate濃도가 높아지기 때문에 calcium phosphate를 형성하여 溶液中の Ca^{++} 濃도를 낮춘結果로 S/M비가 낮아질수도 있으나 Ca^{++} 을除去한 phosphate buffer 溶液에서도 역시 最大値는 pH 7.4前後에서 나타나는 것으로 보아 Ca^{++} 이 침전된데 기인하는 것은 아닌것 같다. 또 Cross 및 Taggart (1950)가報告한바 溶液中の Cl^- 를 phosphate로 代置하더라도 PAH蓄積에는影響이 없다는 사실로 미루어 볼 때 pH 7.4 이상에서組織內蓄積量이減少하는 것이 phosphate濃도가 높아진 때문임도 아님을 알 수 있다. 따라서 PAH蓄積에對한 이兩buffer의差가 어디에 기인함인지 明確히 알 수는 없다. Alkali 영역에서는 PSP(pK=7.8)나 PAH(pK=3.8) 모두非이온性擴散(nonionic diffusion)은 매우 적을 것이다. 따라서 pH의影響은組織의代謝作用과 관련될 가능성이 있으나 제 3도에서 보는 바와 같이組織의酸素消費量에는 큰變化가 없었다. 따라서 PSP나 PAH의組織內運搬體에 대한親和力이나 그외의能動的移動機轉이 pH의變動으로影響을 받았을 것으로 思料된다.

Acetate의影響;

Acetate가 토끼, 개, 쥐등 여러가지動物에서 PAH 및 PSP의排泄을促進하고 있음은組織切片을使用한 in vitro實驗(Cross 및 Taggart, 1950; Shideman et al. 1952; Schachter et al., 1955; Støren, 1958)에서나 in vivo實驗(Mudge 및 Taggart, 1950; Shideman et al., 1952; Woo 및 Hong, 1963)으로 널리證明되고 있는事實이지만 그詳細한作用機轉은 아직도 明確하지 않다. Schachter et al. (1955)은 acetate가腎臟에서 PAH의移動을促進시키는 것은代謝基質로서 뿐만아니라 acet-

ylglycine을形成함으로써 fatty acid들의 acylglycine形成을抑制하여 PAH의移動에對한內在性抑制要因은除去하기 때문이라고 하였다. 그러나本實驗結果(제1표)나先進研究者들의實驗結果에依하면 PAH와分子構造가 전혀 다른 PSP에對해서도促進效果가 있으므로 이는代謝基質로서의役割이主된 것으로 생각되어內在性代謝基質을 leaching한 후 acetate의效果를觀察하였던바 leaching하지 않은組織에서는 PSP 및 PAH의蓄積이 각각 17% 및 30%가增加한데比하여 leaching한組織에서는 각각 65% 및 140%의 현저한增加를 보였으므로 보아 acetate가腎臟을 통한有機酸排泄過程에代謝基質로서 공헌하고 있는 것으로 思料된다.

나. 各種電解質의影響

Na^+ 의影響;

腎臟組織切片的 amino acid(Thier et al., 1963) 또는 glucose蓄積(Gordon 및 Maeir, 1964)에 Na^+ 이必要하다는 사실은報告되고 있지만有機酸蓄積에 Na^+ 이要求됨은報告된 바가없다. 最近 Vogel等 (Vogel 및 Kröger, 1965; Vogel et al., 1965; Vogel et al., 1966; Vogel 및 Kröger, 1966; Vogel 및 Stoeckert, 1966)은腎臟灌流法(perfusion)에 의하여 개구리細尿管細胞의 PAH移動에 Na^+ 이必要함을 보고한 바 있다. 즉 PAH의移動率 또는 最大分泌能(T_m)은灌流溶液內的 Na^+ 濃도에 의존하며, 여러가지利尿劑, 또는吸收도가 낮은陰이온을 가진 Na^+ 鹽을使用하여 Na^+ 移動을減少시키거나細尿管細胞內的 Na^+ 濃도를減少시킬 때 PAH移動이減少되는 것으로 보아溶液內的 Na^+ 濃도뿐만 아니라 Na^+ 移動率 및細胞內 Na^+ 濃도에 의하여 PAH의移動이 좌우된다고 하였다. 그반면 Deetjen 및 Sonnenberg(1964)는 쥐의近位細尿管微細灌流實驗(microperfusion)결과溶液內 Na^+ 濃도를 100 mEq/L까지 낮추거나 Na^+ 移動을 감소시켰을 때 PAH移動에는影響이 없었다고報告하였는데, 이러한成績은前記한 Vogel의成績과는相異한데 그후 그는 이러한差는動物種의差에 기인할 것이라고報告하였다(Deetjen, 1967). 그러나本實驗에서는 incubation 溶液中에 Na^+ 이 없을 때는組織의酸素消費量에는變化가 없었음(제3표)에도 불구하고 PSP 및 PAH蓄積이 모두 현저히減少되었다(제4도(A)). 그런데 Na^+ 이 없는溶液이라 할지라도 incubation하는 동안組織內的 Na^+ 이 나올 것이므로實際로는 완전히 Na^+ 이 없는溶液은 아니며實際로 incubation이 끝난 후溶液內的 Na^+ 濃도를測定하였던바 5.24 ± 0.34 mEq/L임을 알 수 있었다. 따라서 Na^+ 濃도가 낮은데서 PSP 및 PAH의蓄積이 심히減少되는 것은高等動物에서도 이들物質의移動에 Na^+ 이必要함을示唆하며, Deetjen의實驗結果는

Na⁺ 濃度を 100 mEq/L 까지 밖에 下降시키지 않았기 때문에 超來된 것으로 思料된다.

K⁺의 影響

Burg 및 Orloff(1962)는 strophanthidine 을 使用하여 家兔腎皮質切片의 K⁺ 濃度を 減少시킨 結果 PAH의 組織內 蓄積이 減少됨을 觀察하였다. 그러나 溶液內의 K⁺ 濃度を 높이면 PAH의 蓄積이 減少되지 않음을 들어 PAH의 移動過程에 K⁺이 必要함을 指摘한바 있다. 本實驗에서는(제 4도(C)) PSP 나 PAH의 蓄積이 모두 正常切片에서는 溶液中の K⁺ 濃도가 낮아짐에 따라 組織內蓄積이 점차 下降하였는데 이는 K⁺이 이들 物質의 移動에 必要함을 示唆한다고 하겠다. 그러나 K⁺을 leaching 했을 때는 PSP 및 PAH의 蓄積이 모두 K⁺ 濃도와는 相關性을 보이지 않았는데 이 때는 K⁺이 leaching 되는 동안 組織內의 代謝基質도 함께 leaching 되었기 때문이라고 생각된다.

한편 Forster 및 Copenhaver(1956)는 家兔腎皮質切片의 PSP 蓄積에 K⁺의 影響이 없다고 報告하였고, Farah 및 Rennick(1956)은 개의 腎皮質切片의 PAH 蓄積이 K⁺을 포함하지 않는 溶液에서는 현저히 抑制된다고 報告하였는데 이처럼 相異한 結果는 아마도 이들 著者들의 實驗操作上的 差에 依하여 組織切片을 만드는 동안 K⁺ 또는 代謝基質이 leaching 되는 程度가 다른데에 起因한 結果인 것 같다.

Ca⁺⁺의 影響

Ca⁺⁺ 역시 incubation 溶液內의 濃도가 減少함에 따라 PSP 및 PAH의 組織內 蓄積을 顯著히 減少시켰는데(제 4도(B)) 이러한 成績은 Farah 및 Rennick(1956)이 報告한 바 개의 腎皮質切片의 PAH 蓄積이 Ca⁺⁺이 없을 경우 20~40%가 減少한다는 事實과 一致한다. 그러나 基本溶液의 Ca⁺⁺濃도(1.5 mEq/L)보다 더 높은 Ca⁺⁺濃도에서도 有機酸의 組織內蓄積이 繼續 增加되었는데 이는 Cross 및 Taggart(1950)가 報告한 바 PAH의 組織內 蓄積을 爲한 最適 Ca⁺⁺濃도가 1.5 mEq/L 라는 事實과는 相異하다. 특히 가재미 單細尿管標本에서 細尿管腔內로의 PSP 蓄積이 Ca⁺⁺에 依해 影響받는다(Puck et al., 1952; Forster 및 Hong, 1958)는 事實을 상기할 때 高等動物이나 下等動物에서나 腎臟을 통한 物質移動의 根本機轉에는 어느 程度 類似性이 있다고 하겠다.

以上 記述한 바와 같이 Na⁺, K⁺ 및 Ca⁺⁺ 등이 PSP 및 PAH 移動에 各各 影響을 미치나 그중에서도 Na⁺ 결핍의 影響 가장 顯著하였으며 Na⁺ 뿐만 아니라 K⁺이나 Ca⁺⁺을 追加하여 除去하더라도 더 큰 抑制效果가 없는 것(제 4도(D))으로 보아 PSP 및 PAH의 移動에 對한 이들 電解質의 作用機轉이 同一하든지 아니면 적어도 겹치는 部

分이 있는 것으로 생각된다.

其他電解質의 影響

Li⁺과 Mg⁺⁺의 경우 PSP의 組織內蓄積에는 影響을 미치지 못했으나 PAH의 蓄積은 兩者 모두 50% 程度로 顯著한 減少를 招來하였다(제 5표). 따라서 이들 電解質들은 PSP 보다 PAH 移動에 더 影響이 크다고 하겠다.

Cross 및 Taggart(1950)는 基本溶液에 Mg⁺⁺을 첨가할 경우 PAH 運搬에 아무런 影響이 없다고 했으며 그 後에도 Taggart et al.(1953)은 Mg⁺⁺, Mn⁺⁺, Co⁺⁺등을 10 mM 까지 첨가했을 때 家兔腎臟組織의 PAH 蓄積뿐만 아니라 組織의 酸素消費에는 아무런 影響이 없었다고 하였다. 그러나 本實驗에서는 60 mEq 을 使用함으로써 PAH의 組織內蓄積뿐만 아니라 酸素消費量도 減少한 것으로 보아(제 5표) 이들 電解質들이 高濃도로 존재할 경우 代謝活動을 減少시키는 것 같다. 한편 NH₄⁺의 경우는 組織의 酸素消費量에는 큰 影響이 없이 PSP 및 PAH의 蓄積을 모두 극심하게(64~79%) 減少시켰다(제 5표). Foulkes 및 Miller(1959)와 Orloff et al. (1961)의 報告에 依하면 NH₄⁺는 腎皮質切片의 K⁺ 含量을 減少시킨다고 한다. 最近 Friedman 등(1967)도 이러한 事實을 개구리 皮膚에서 證明한 바 있는데, 그들은 NH₄⁺가 組織細胞의 酸素消費量에는 影響을 미치지 없이 上皮細胞와 外液間의 K⁺⇌H⁺ 交換을 促進시켜 結果적으로 組織內 K⁺ 濃度を 減少시킨다고 하였다. 本實驗에서도 NH₄⁺溶液內에 incubation 한 후 組織의 pH는 酸性쪽으로 기울어진 것을 볼 수 있었고, 또 K⁺ 含量도 줄어드는 傾向을 볼 수 있었다(제 6표). 따라서 NH₄⁺에 의한 有機酸蓄積의 減少는 組織內 K⁺이 줄어들어 2次的으로 나타난 結果로 思料된다.

各種電解質이 acetate 作用에 미치는 影響

먼저 Na⁺의 경우(제 5도(A)) 代謝基質을 leaching 한 후 acetate 만을 投與했을 때나 Na⁺만을 投與했을 때는 PSP 나 PAH의 蓄積에 전연 效果가 없었다. 즉 代謝基質이 없을 때는 Na⁺의 效果가 없고, 동시에 Na⁺이 없을 때는 acetate의 效果가 없음을 의미한다. 그러나 acetate와 Na⁺을 同時에 投與함으로써 PSP 및 PAH의 S/M比가 正常値에 복귀되는 것으로 보아 Na⁺이 作用하기 위해서는 acetate를 必要로 하며 acetate가 作用하기 위해서는 Na⁺이 必要함을 알 수 있었다.

Ca⁺⁺의 경우(제 5도(B))에도 Na⁺과 同一한 樣으로 나타났다. 따라서 Ca⁺⁺ 역시 acetate의 作用에 연관을 가지고 있으며, 동시에 代謝基質이 없을 때는 Ca⁺⁺의 作用도 없다고 하겠다.

다음 K⁺의 경우에는 代謝基質만 leaching 했을 때는 溶液內의 K⁺有無에는 상관없이 acetate 效果는 나타났으나 代謝基質과 K⁺을 모두 leaching 했을 때는(제 5도(D))ace-

tate와 K⁺을 동시에 投與했을 때만 正常値로 복귀하였다.

이것은 代謝基質만 leaching 한 후 K⁺이 없는 溶液內에 incubation 할 때 組織內에는 acetate가 作用하기에 충분한 量의 K⁺이 存在함을 의미하는데 제 6 표에서 보는바와 같이 代謝基質 leaching 후 K⁺ 40 mM의 溶液內에 incubation 한 경우보다 組織內 K⁺ 含量이 減少되지 않았음을 보아도 알 수 있다.

腎皮質切片의 有機酸移動에 對한 acetate의 作用에 K이 必要하다는 사실은 Taggart et al.(1953)에 의해서도 報告된 바 있다. 한편 代謝基質만 leaching 되었을 경우나 (제 5 도(C)), 代謝基質과 K⁺이 모두 leaching 되었을 경우 (제 5 도(D))를 막론하고 acetate 없이 K⁺만 첨가했을 때는 K의 影響이 나타나지 않은 것으로 보아 K의 作用에는 代謝基質이 必要함을 알 수 있다.

V. 結 論

家兔腎皮質切片의 PSP 및 PAH 蓄積作用에 對한 一般的인 樣相과 incubation 溶液內의 電解質組成이 이에 미치는 影響 및 acetate의 作用에 對한 電解質의 影響을 追求하여 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 腎皮質切片의 PSP 및 PAH 蓄積過程은 典型的인 能動的移動過程의 特徵을 보였다.

2. 代謝基質을 leaching 한 경우나, 하지 않은 경우나 acetate는 PSP 및 PAH의 移動을 促進시켰다.

3. PSP 및 PAH의 移動過程은 incubation 溶液의 pH 變動에 影響을 받았으며 phosphate buffer를 使用하는 경우 兩物質 모두 pH 7.4에서 最大蓄積을 보였으며 tris-buffer를 使用한 경우 PSP는 pH 7.6에서, 그리고 PAH는 pH 8.3 근방에서 最大蓄積値를 보였다.

4. 各種 電解質中 Na⁺이 없을 때 PSP 및 PAH의 組織內蓄積이 가장 크게 感少하였으며, K⁺ 또는 Ca⁺⁺만 없을 때 나타나는 感少 効果는 Na⁺이 함께 없을 때는 나타나지 않고 Na⁺ 單獨除去時와 同一하였다.

5. PSP 및 PAH의 組織內蓄積에 대하여 Choline은 影響이 없었으며 Li⁺과 Mg⁺⁺은 輕한 그리고 NH₄⁺는 심한 抑制 效果가 있었다.

6. 代謝基質을 leaching 했을 때는 PSP 및 PAH의 組織內蓄積에 대하여 各種 電解質의 影響은 나타나지 않았으며, acetate가 存在할 경우에만 影響이 나타났다.

7. 代謝基質을 leaching 한 境遇 PSP 및 PAH의 組織內蓄積에 대하여 acetate가 作用을 하기 爲해서는 Na⁺, K⁺ 그리고 Ca⁺⁺ 등을 必要로 하였다.

이와 같은 事實로 미루어 보아 腎臟을 통한 有機酸移動過程에 各種 電解質이 큰 影響을 미치고 있는데 이들 電解質의 作用은 代謝基質의 存在時에만 나타나며 acetate가 作用하기 爲해서도 各種電解質을 必要로 한다고 思料된다.

本研究을 始終 指導鞭撻하여 주신 洪福錫教授께 感謝드리오며, 여러面으로 協助하여 주신 延世醫大 生理學敎室 朴陽生先生 및 敎室員 여러분께 謝意를 表한다.

REFERENCES

- Alvarado, F. and J. Monreal: *Na⁺-dependent active transport of phenylglucosides in the chicken small intestine. Comp. Biochem. Physiol.*, 20:471, 1967.
- Beyer, K.H., H.F. Russo, E.K. Tillson, A.K. Miller, W.F. Verwey and S.R. Gass: 'Benemid', *p* (di-n-propylsulfamyl)-benzoic acid: its renal affinity and its elimination. *Am. J. Physiol.*, 166:625, 1951.
- Burg, M.B. and J. Orloff: *Effect of strophanthidine on electrolyte content and PAH accumulation of rabbit kidney slices. Am. J. Physiol.*, 202: 565, 1962.
- Carhart, E., F. Koda, and A. Farah: *Influence of incubation time, pH changes on uptake of p-aminohippurate by renal slices. Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 85:248, 1954.
- Chambers, R., L.V. Beck, and M. Belkin: *Secretion in tissue culture. 1. Interaction of phenolred accumulation in the chick kidney. J. Cell. and Comp. Physiol.*, 6:425, 1935.
- Cho, K.C., J.H. Kim, S.K. Hong and W.C. Lee: *Kinetic studies on the competition between para-aminohippuric acid(PAH) and Diodrast for renal transport in the dog. Yonsei Med. J.*, 1: 25, 1960.
- Christensen, H.N. and G.A. Palmer: *Enzyme kinetics, W.B. Saunders Company. Philadelphia and London, 1967.*
- Copenhaver, J.H., Jr. and J.R. Davis.: *Effect of hydrogen ion concentration on transport characteristics of p-aminohippurate by rabbit kidney slices. Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 119:611, 1965.
- Copenhaver, J.H., Jr. and R.P. Forster: *Displacement characteristics of intra-cellularly accumulated p-aminohippurate in a mammalian renal transport system in vitro. Am. J. Physiol.*, 195: 327, 1958.
- Cross, R.J. and J.V. Taggart: *Renal tubular transport: Accumulation of p-aminohippurate by rabbit kidney slices. Am. J. Physiol.*, 161:181, 1950.

- Csáky, T.Z.: *Significance of sodium ions in active intestinal transport of nonelectrolytes.* *Am. J. Physiol.*, 201:999, 1961.
- Csáky, T.Z. and M. Thale: *Effect of ionic environment on intestinal sugar transport.* *J. Physiol.*, 151:59, 1960.
- Csáky, T.Z. and L. Zollicoffer: *Ionic effect on intestinal transport of glucose in the rat.* *Am. J. Physiol.*, 198:1056, 1960.
- Deetjen, P.: *Zellulärer transport organischer Säuren: 1967, cited from Thurau, K., H. Vatin and J. Schermann: Kidney. Ann. Rev. Physiol.*, 30:441, 1968.
- Deetjen, P. and H. Sonnenberg: *Der tubuläre transport von PAH. Microperfusions Versuche am Einzelnephron der Rattenniere in situ.*, *Pfeügers Archiv*, 285 : 35, 1964
- Despopoulos, A. and A. Segerfeldt: *Efflux of organic acids from rabbit kidney cortex.* *Am. J. Physiol.*, 207:118, 1964.
- Essig, A. and J.V. Taggart: *Competitive inhibition of renal transport of PAH by other monosubstituted hippurates.* *Am. J. Physiol.*, 199:509, 1960.
- Farah, A., M. Frazer and E. Porter: *Studies on the uptake of N'-methylnicotinamide by renal slices of the dog.* *J. Pharmacol. & Expt. Therap.*, 126:202, 1959.
- Farah, A. and B. Rennick: *Studies on the renal tubular transport of tetraethylammonium ion in renal slices of the dog.* *J. Pharmacol. & Expt. Therap.*, 117:478, 1956.
- Forster, R.P.: *Use of thin kidney slices and isolated renal tubules for direct study of cellular transport kinetics.* *Science*, 108:65, 1948.
- Forster, R.P. and J.H. Copenhaver, Jr.: *Intracellular accumulation as an active process in a mammalian renal transport system in vitro. Energy dependence and competitive phenomena.* *Am. J. Physiol.*, 186:167, 1956.
- Forster, R.P. and S.K. Hong: *In vitro transport of dyes by isolated renal tubules of the flounder as disclosed by direct visualization. Intracellular accumulation and transcellular movement.* *J. Cell. and Comp. Physiol.*, 51:259, 1958.
- Forster, R.P. and S.K. Hong: *Tubular Transport Maxima of PAH and Diodrast measured Individually in the Glomerular Kidney of Lophius, and Simultaneously as Competitors on the Conditions of Equimolar Loading.* *J. Gen. Physiol.*, 45:811, 1962.
- Forster, R.P. and J.V. Taggart: *Use of isolated renal tubules for the examination of metabolic processes associated with active cellular transport.* *J. Cell. & Comp. Physiol.*, 36:251, 1950.
- Foulkes E. and B.F. Miller: *Transport of p-aminohippurate from cell to lumen in kidney tubule.* *Am. J. Physiol.*, 196:83, 1959.
- Friedman, R.T., R.H. Aigawar, W.D. Houghes and E.G. Huf: *Effects of NH₄⁺ ions on acid-base properties and ion movements in isolated frog skin.* *Comp. Biochem. Physiol.*, 23:847, 1967.
- Gomori, G.: *Buffers in the range of pH 6.5-9.6.* *Proc. Soc. Expt. Biol. Med.*, 62:33, 1946.
- Gordon, E.E. and D.M. Maeir: *Effect of ionic environment on metabolism and structure of rat kidney slices.* *Am. J. Physiol.*, 207:71, 1964.
- Hong, S.K. and R.P. Forster: *Run-out of chlorphenolred following luminal accumulation by isolated renal tubule of the flounder in vitro.* *J. Cell. and Comp. Physiol.*, 51:241, 1958.
- Lotspeich, W.D.: *Metabolic aspects of renal function.* Charles C. Thomas, Springfield, 1959.
- Malvin, R.L., W.S. Wilde and L.P. Sullivan: *Localization of nephron transport by stop flow analysis.* *Am. J. Physiol.*, 194:135, 1958.
- McIntosh, B.J. and C.C. Childress: *Volume of rabbit and rat cortical slices permeable to PAH, Diodrast and Urokon.* *Am. J. Physiol.*, 188:360, 1957.
- Mudge, G.H.: *Studies on potassium accumulation by rabbit kidney slices: Effect of metabolic activity.* *Am. J. Physiol.*, 165:113, 1951.
- Mudge, G.H. and J.V. Taggart: *Effect of acetate on the renal excretion of PAH in the dog.* *Am. J. Physiol.*, 161:191, 1950.
- Murthy, L. and E.C. Foulkes: *Movement of solutes across luminal cell membrane in kidney tubules of the rabbit.* *Nature*, 213:180, 1967.
- Orloff, J., M. Kahn and L. Brenes: *Renal tubular effects of ammonium salts on electrolyte transport.* *Am. J. Physiol.*, 201 : 747, 1961.

- 吳弼謨: 가재미 單細尿管標本에서의 *phenol red* 誘導體의 分泌機轉에 關하여. 大韓內科學會雜誌, 8(2):87, 1965.
- Peters, L.: *Renal tubular excretion of organic bases. Pharmacol. Rev.*, 12:1, 1960.
- Puck, T.T., K. Wasserman and A.P. Fishman: *Some effects of inorganic ions on the active transport of phenol red by isolated kidney tubules of the flounder. J. Cell. and Comp. Physiol.*, 40:73, 1952.
- Rennick, B. and A. Farah: *Studies on the tubular transport of tetraethylammonium ion in the dog. J. Pharmacol. & Expt. Therap.*, 116:287, 1956.
- Rowntree and Geraghty: *Cited from Smith, H.H. The kidney: Structure and function in health and disease. Oxford University Press, New York, 1951. p 171.*
- Schachter, D., J. G. Manis and J. V. Taggart: *Renal synthesis, degradation and active transport of aliphatic acyl amino acids. Relationship to p-aminohippurate transport. Am. J. Physiol.*, 182: 537, 1955.
- Shannon, J.A.: *Excretion of phenol red by the dog. Am. J. Physiol.*, 113:602, 1935.
- Shideman, F.E., R.C. Rathbun and F. Stoneman: *Inhibition of the renal tubular transport of p-aminohippurate (PAH) and phenolsulfonphthalein (PSP) as affected by acetate. Am. J. Physiol.*, 170:31, 1952.
- Smith, H.W., N. Finkelstein, L. Aliminosa, B. Crawford, and M. Graber: *The renal clearances of substituted hippuric acid derivatives and other aromatic acids in dog and man. J. Clin. Invest.*, 24:388, 1945.
- Sperber, I.: *Secretion of organic acids in the formation of urine and bile. Pharmacol. Rev.*, 11:1 09, 1959.
- Stadie, W.C. and Riggs, B.C.: *Microtome for the preparation of tissue slices for metabolic studies of surviving tissues in vitro. J. Biol. Chem.*, 154:687, 1944.
- Støphen, E.J.: *Effect of pentobarbital sodium on uptake of PAH by rat kidney cortex slices in vitro. Am. J. Physiol.*, 195:343, 1958.
- Taggart, J.V.: *Mechanisms of Renal Tubular Transport. Am. J. Med.* 24:774, 1958.
- Taggart, J.V. and R.P. Forster: *Renal tubular transport: Effect of 2,4-dinitrophenol and related compounds on phenol red transport in the isolated tubules of the flounder. Am. J. Physiol.*, 161:167, 1950.
- Taggart, J.V., L. Silverman and E.M. Trayner: *Influence of renal electrolyte composition on the tubular excretion of PAH. Am. J. Physiol.*, 173:345, 1953.
- Thier, S.O., M. Fox., L.E. Rosenberg and S. Segal: *The ionic requirement for amino acid accumulation by rat kidney cortex slices. Fed. Proc.*, 22:166, 1963.
- Vander, A.J.: *Effects of Zn, Cd, Hg on renal transport system. Am. J. Physiol.*, 204:781, 1963.
- Vogel, G. und W. Kröger: *Das Tm PAH der Niere als Na⁺-abhängige Größe. Pflügers Archiv*, 286 317, 1965.
- Vogel, G. und W. Kröger: *Die Bedeutung des Transportes, der Konzentration und der Darbietungsrichtung von Na⁺ für den tubulären Glucose- und PAH-Transport. Pflügers Archiv*, 288: 342, 1966.
- Vogel, G., F. Lauterbach und W. Kröger: *Die Bedeutung des Natriums für die renalen Transporte von Glucose und Par a-aminohippursäure. Pflügers Archiv*, 283:151, 1965.
- Vogel, G. und I. Stoekert: *Die Bedeutung des Anions für den renaltubulären Transport von Na⁺ und die Transporte von Glucose und PAH. Pflügers Archiv*, 292:1966.
- Vogel G., I. Stoekert und U. Tervooren: *Hemmung renal tubulärer Substanztransporte durch Diuretica. Nauyn-Schmiedebergs Arch. Pharmak. U. exp. Path.*, 255:245, 1966.
- Wasserman, K.E., L. Baker and A.P. Fishman: *Transport of phenol red in the flounder renal tubule. J. Cell. & Comp. Physiol.*, 42:385, 1953.
- White, A.G.: *Mechanisms regulating the renal transport of p-aminohippurate. Am. J. Physiol.*, 191: 50, 1957.
- Woo, T.H. and S.K. Hong: *Renal and hepatic excretion of phenol red and bromsulphalein in the dog. Am. J. Physiol.*, 204:776, 1963.