

Na⁺농도 및 삼투압의 변화가 신피질 절편에서의 Renin 분비에 미치는 영향

연세대학교 의과대학 생리학교실

강 선 옥 · 김 인 교 · 강 두 희

=Abstract=

Effects of Sodium Concentration and Osmolality on Renin Release of the Renal Cortical Slice

Sun Ok Kang In Kyo Kim, and Doo Hee Kang

Department of Physiology, Yonsei University College of Medicine

Most investigators have come to stress two different concepts of mechanism controlling renin release; intrarenal baroreceptor theory and the macula densa theory(Vander 1967, Thureau and Masson 1974). In the macula densa theory, the specific macula densa parameter, most commonly suggested as a possible signal, is either the osmolality or the concentration of sodium in the tubular fluid (Thureau1964, Vander and Miller 1964, Reeves and Sommers 1965). It has been shown that sodium plays an important role in the release of renin either in vivo (Thureau 1964, Vander and Miller 1964, Thureau et al 1972) or in vitro experiments(Oelkers et al 1970, Hammerson et al 1971, Michelakis 1971). On the other hand the osmolality appears to have no effect on the release of renin in vivo (Vander 1967, Thureau and Masson 1974). However, there has been little attempt to study the effect of osmolality on in vitro renin release.

We therefore undertook the present investigation to elucidate the effect of osmolality on renin release and to further test the sodium influence upon the release of renin from isolated kidney slice preparations.

Isolated renal cortical slices were washed with normal Krebs-Hensenleit bicarbonate buffer solution and incubated for 30 minutes in a medium containing an appropriate concentration of sodium and osmolality. The renin released into the medium was measured by the method of radioimmunoassay(Haber et al 1969).

The results obtained are as follows;

1. The release of renin from renal cortical slices was progressively inhibited as the sodium concentration in the medium increased.
2. No significant alteration in renin release was observed when osmolality of the medium was changed.

These results suggest that the release of renin from the renal cortical slices is directly affected by the changes in sodium concentration in the medium, but is not influenced by the alterations in osmolality.

* 본 연구는 1973년 및 1974년도 유한연구비의 지원으로 이루어졌음.

I. 서 론

Renin 분비의 조절기능에 관한 학설로는 baroreceptor 설과 macula densa 설이 있는데 macula densa 설에서는 신세뇨관내용액의 삼투압 및 Na⁺ 농도가 renin 분비를 조절하는 가장 중요한 요인이라고 한다(Thurau 1964, Vander 및 Miller 1964, Reeves 및 Sommers 1965). 그런데 Na⁺의 영향에 관해서는 원위세뇨관내 Na⁺ 농도 혹은 Na⁺ load가 증가될 때 renin 분비가 증가된다는 설(Thurau 1964, Thurau 등 1972, Thurau 및 Masson 1974)과 반대로 그것들이 감소될 때 renin 분비가 증가된다는(Vander 및 Miller 1964, Vander 1967) 상반된 두가지 설이 있다. 또한 in vitro 실험에서도 용액내의 Na⁺ 농도가 증가할 때 신조직절편 혹은 분리된 사구체에서 renin 분비가 증가된다는 보고와(Oelkers 등 1970, Hammerson 등 1971), 그 반대로 Na⁺ 농도가 감소할 때 renin 분비가 증가된다는(Michelakis 1971) 상반된 보고가 있다. 한편 삼투압의 영향에 대해서는 in vivo 실험결과에 의하면 삼투압의 변화가 직접 renin 분비에 영향을 미치는 것이 아니라 삼투물질의 배설에 의하여 증가된 Na⁺의 영향이라고 한다(Vander 1967, Thurau 및 Masson 1974). 이러한 삼투압의 영향에 대해서는 in vitro에서는 연구된 바가 없다. 따라서 저자들은 삼투압의 변화가 분리된 신조직절편에서 renin 분비에 어떠한 영향을 미치는지를 규명코저 본 실험에 착수하였으며 동시에 논란이 많은 Na⁺ 농도의 영향에 대해서도 관찰하였다.

II. 실험방법

1. 신피질절편의 제작

1.8 kg 내외의 가토를 두부강타로 죽사시킨 후 즉시 양쪽 신장은 적출하여 4°C 이하로 냉각된 Krebs-Hensenleit ringer 용액이 담긴 petri dish에 놓고 신동맥을 통하여 K-H ringer로 관류하여 신장내 남아있는 혈액을 모두 제거하였다. 그후 Stadie-Riggs microtome을 사용하여 신절편을 얻은 다음 신수질을 제거하고 4°C 이하로 냉각된 K-H ringer에 담가 두었는데 이 절편들은 30분 이내에 실험에 이용하였다.

2. 용액의 조성

본 실험에 사용된 기본용액은 Krebs-Hensenleit bi-

carbonate buffer 로써 그 조성은 NaCl 115 mM, KCl 4.5 ml, NaHCO₃ 25.0 mM, KH₂PO₄ 1.2 mM, MgSO₄ 1.2 mM, CaCl₂ 2.5 mM, glucose 10.0 mM 이고 삼투압은 312 mOsm이었으며 pH는 95% O₂ 와 5% CO₂의 혼합가스를 주입할 때 7.4를 나타내었다. Na⁺ 농도에 대한 영향을 조사할 때는 상기한 용액내의 Na⁺ 농도를 50, 100 그리고 140 mM로 변화시켰으며 이때 용액내의 삼투압은 sucrose를 사용하여 312 mOsm로 일정하게 조절하였다. 한편 삼투압의 영향을 조사할 때는 용액내의 Na⁺ 농도를 50 mM로 일정하게 유지시키고 sucrose를 사용하여 삼투압을 130, 230 그리고 330 mOsm이 되도록 변화시켰다.

3. Incubation 과정

신피질절편 1g을 용액 10 cc가 들어있는 삼각 flask에 넣고 37°C의 수조에서 천천히 흔들어 주면서 30분간 incubation하였다. Incubation이 끝난 다음 조직절편을 flask로 부터 제거하고 incubation 용액만을 모아 renin 측정을 위해 -20°C이하의 냉동고에 보관하였다.

4. Renin 측정

Renin substrate로 사용하기 위하여 가토의 양측신장을 절제한 후 48시간만에 심장천자로써 채취한 혈액을 4°C이하에서 원심침전시켜 혈장을 분리한 다음 4°C이하의 냉동고에 보관하였다. 이때 항응고제로는 EDTA(1mg/ml of blood)를 사용하였다. Renin의 측정은 Haber 등(1969)의 radioimmunoassay법을 이용하여 시행하였는데 일본 Dainabot Radioisotope Lab.제의 Renin-Riakit를 사용하였다.

III. 실험성적

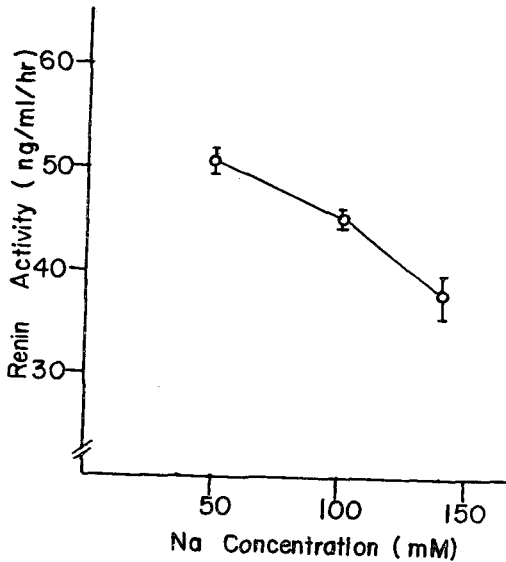
1. Renin 분비에 대한 용액내 Na⁺ 농도의 영향

신피질 절편으로부터 용액내로 유리되는 renin의 양은 용액내의 Na⁺ 농도에 따라 현저한 변화를 보였다. 즉 용액내의 Na⁺ 농도가 50 mM일 때 incubation이 끝난 후 용액내의 renin 활성도는 50.9±1.2 ng/ml/hr이었으나 농도가 100 mM, 그리고 140 mM로 증가됨에 따라 renin 활성도는 45.3±0.9와 38.1±2.1 ng/ml/hr로 각각 의의있게 감소하였다(p<0.05 제 1표 제 1도). 전술한 바와 같이 본 실험에서는 용액내의 삼투압을 312 mOsm로 일정하게 유지시켰으므로 이상과

제 1 표 : Na⁺ 농도가 신장절편에서 renin 분비에 미치는 영향

Na 농도	Renin 활성화도 (ng/ml/hr)
50 mM	50.9±1.2
100 mM	45.3±0.9*
140 mM	38.1±2.1*

*P<0.05 M Mean±S.E.



제 1 도 : Renin 분비에 대한 Na⁺의 영향

같은 결과는 순전히 용액내 Na⁺의 농도변화에 직접적으로 기인된 것이라고 하겠다.

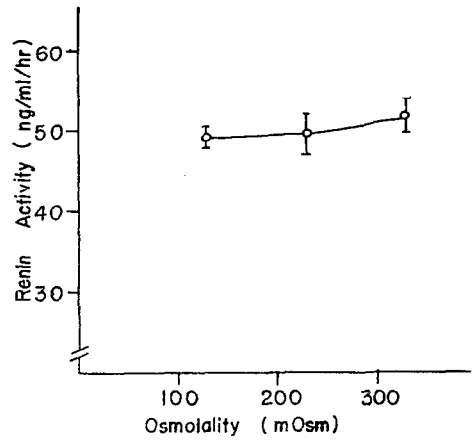
제 2 표 : 삼투질농도가 신장절편에서 renin 분비에 영향

삼투질농도	Renin 활성화도(ng/ml/hr)
130 mOsm	49.2±1.0
230 mOsm	49.6±3.0
330 mOsm	51.7±2.0

Mean±S.E.

2. Renin 분비에 대한 용액내 삼투압의 영향

다음은 용액내 삼투압의 변화가 renin 유리에 어떠한 영향을 미치는지를 규명코저 조절절편을 삼투압이 각각 다른 여러 용액에 incubation 하였다. 이때 용액



제 2 도 : Renin 분비에 대한 삼투질농도의 영향

내의 Na⁺ 농도는 모든 용액에서 공히 50 mM 로 조절되었다. 제 2 표와 제 2 도에서 보는 바와 같이 용액내의 삼투질 농도가 130 mOsm 일 때 incubation 후의 용액내 renin 활성화도는 49.2±1.0 ng/ml/hr 였으며 삼투질 농도가 230 mOsm 그리고, 330 mOsm 로 증가되에도 불구하고 renin 활성화도는 49.6±3.0 ng/ml/hr 와 51.7±2.0 ng/ml/hr renin 로써 유의있는 변화를 보여 주지 않았다.

IV. 고 찰

신장에서의 renin 분비에 대한 연구는 많은 학자들에 의하여 수행된 바 있으나 그 기전은 아직도 확실히 밝혀지지 않고 있다. 특히 juxtaglomerula cell에서 renin 분비를 유발하는 적절한 요인에 대해서는 아직 모르는 바가 많다. 이러한 요인을 규명함에 있어서 신장절편과 같은 in vitro 실험은 신혈류 역학이나 신경호르몬등의 영향을 배제할 수 있으므로 많은 연구자들에 의하여 이용되어 왔다(Aoi 등 1974). 대표적인 예로 Hammerson 등(1971)과 Oelkers 등(1970)은 신절편과 분리된 사구체를 이용하여 용액내 Na⁺ 농도가 renin 분비에 미치는 영향을 연구한 바 있는데 그들은 용액내 Na⁺ 농도가 증가함에 따라 renin 분비 역시 증가한다고 하였다. 또 Braverman 등(1971)도 용액내 Na⁺ 농도가 증가될 때 신장절편의 Qc₂ 및 renin 분비가 증가한다고 보고한 바 있다. 이와같은 Na⁺ 농도에 따른 renin 분비의 변화는 in vivo 실험에서도 관찰된 바 있는데 Thureau 및 그의 공동연구자들(Thureau 1964, Thureau 등 1972, Thureau 및 Masson 1974)은 macula densa 근방을 관류하는 노증의 Na⁺의 농도 혹

은 load가 증가될 때 renin 분비가 촉진된다고 하였다. 그러나 본 실험에서는 incubation 용액내의 Na⁺ 농도가 증가되면 renin 분비가 오히려 감소하였는데(제 1 표, 제 1 도) 이와 같은 현상은 Michelakis(1971)에 의해서도 보고된 바 있다. 그런데 Na⁺이 어떻게 renin 분비에 영향을 미치는지 그 기전은 아직도 명확하게 밝혀지지 않고 있으나 Michelakis(1971)는 Na⁺이온이 신장세포에 직접 작용하여 renin 분비를 억제시킨다고 하였다. 한편 Reeves 및 Sommers(1965)는 renin 분비를 조절하는 transmitter substance와 renin 합성에 관계하며, 신장내의 renin 함유량에 직접 비례하는 macula densa 효소중의 하나인 glucose-6-phosphate dehydrogenase의 활성을 Na⁺이 in vitro에서 억제한다고 하였다. 이런 사실들은 Vander 및 그의 공동연구자(Vander 및 Miller 1964, Vander 1967) 주장하는 바, 즉 macula densa의 Na⁺이 in vivo에서 renin 분비를 직접 억제한다는 설과 일치한다. 이상에 언급된 in vitro 실험들(Braverman 등 1971, Hammerson 등 1971, Michelakis 1971, Oelkers 등 1970)과 본 실험에서는 renin 분비에 대한 Na⁺의 영향만을 보되자 용액내의 삼투압을 manitol이나 sucrose를 사용하여 일정하게 조절하였으므로 삼투압의 영향은 완전히 배제되었다고 하겠다.

한편 Aoi 등(1974)은 용액내의 Na⁺농도가 증가될 때 renin 분비가 증가되나, Na⁺ 농도변화에 따른 용액내의 삼투압의 변화가 manitol에 의하여 방지될 때는 Na⁺의 영향을 관찰할 수 없다고 하여 Na⁺ 농도 변화에 의한 renin 분비의 변화는 삼투압에 의한 영향이라고 하였다. 본 실험에서는 용액내의 삼투압변화는 용액내의 Na⁺ 농도가 일정하게 유지되는 한 renin 분비에 하등의 영향을 미치지 않음을 보여주었다(제 2 표, 제 2 도). 이러한 결과는 Thureau 및 그의 공동연구자들(Thureau 1964, Thureau 등 1972)에 의하여 보고된 일련의 in vitro 실험결과와 일치하는데 상기 연구자들은 micropipette을 이용하여 원위세뇨관 기시부에 등장성 NaCl 용액을 주입했을 때는 그 세뇨관의 근위 세뇨관부위가 협착을 일으키며 또 renin 분비가 증가하지만 manitol을 주입시에는 아무런 변화가 없음을 관찰한 바 있다. 그들은 또 세뇨관을 retrograde로 perfusion 할 때도 동일한 결과를 얻어 근위세뇨관의 협착 혹은 renin 분비의 증가는 macula densa 주위의 삼투압증가에 기인하는 것이 아니라 Na⁺이 macula densa cell을 직접 자극하기 때문이라고 하였다(Thureau 1972, Thureau 및 Masson 1974). 이러한 가설은 세포막의 Na⁺

투과도를 감소시키는 약물인 amiloride를 NaCl 용액과 함께 세뇨관을 관류시켰을 때는 renin 분비에 변화가 없음을 증명함으로써 더욱 공고히 되었다(Thureau 등 1972). Vander(1967) 역시 macula densa의 삼투압 보다 Na⁺이 renin 분비에 결정적인 역할을 한다고 보고한바 있으나 Thureau(1964)와는 달리 Na⁺ load가 증가할 때 renin 분비가 감소한다고 하였다.

이와같은 사실을 종합해 볼 때 신장에서의 renin 분비는 삼투압보다는 Na⁺ 농도에 의해 좌우됨을 알 수 있는데 본 실험결과는 Na⁺ 농도가 높아질 때 renin 분비가 억제됨을 보여주고 있다.

V. 결 론

신피질절편에서 삼투압 및 Na⁺이 renin 분비에 미치는 영향을 관찰하고자 신피질절편을 Na⁺ 농도 및 삼투압이 각각 다른 용액에 incubation 한 후 용액내로 유리된 renin을 측정하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 용액내의 Na⁺ 농도가 증가함에 따라 신장조직으로부터 renin의 유리가 감소되었다.
2. 삼투압의 변화는 renin 유리에 아무런 영향도 미치지 않았다.

이상과 같은 결과는 Na⁺이 renin 분비를 직접 억제함을 나타내는 것이라고 사료된다.

참고문헌

- 1) Aoi, W., M.B. Wade, D.R. Rosner, and M.H. Weinberger.: *Renin release by rat kidney slices in vitro: effects of cation and catecholamines.* *Am. J. Physiol.* 227:630, 1974.
- 2) Braverman, B., R.H. Freeman, and H. H. Rosstorfer.: *The influence of dietary sodium chloride on in vitro release from rat kidney slices.* *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.* 138:81, 1971.
- 3) Haber, E., Koerner, T., Page, L.B., Kliman, B, and Purnode, A.: *Application of radioimmunoassay for angiotensin I to the physiologic measurements of plasma renin activity in normal human subjects.* *J. Clin. Endocr.* 20: 1349, 1969.
- 4) Hammerson, G., Karsunky, K.P., Fischinger, J., Rosenthal, J, and Taugner, K.: *Einfluss der*

- natriumkonzentration auf die reninabgabe aus Nierenyinderschnitten und isolieten Glomerula. Pflügers, Arch. Ges. Physiol. 328:344, 1971.*
- 5) Michelakis, A.M.: *The effect of sodium and calcium on renin release, in vitro. Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 137:833, 1971.*
- 6) Oelkers, W., Molzahn, M., Samwer, K.F., Kreiser, H. and Iutschke, H.: *Reninabgabe aus Nierenschnitten Abhangigkeit von der Elektrolytzusammensetzung des Mediums. Pflüger. Arch. Ges. Physiol. 321:67, 1970.*
- 7) Reeves, G., and S.C. Sommers.: *Sensitivity of the renal macula densa to urinary sodium. Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 120:324, 1965.*
- 8) Thurau, K.: *Renal hemodynamics. Am. J. Med. 36:698, 1964.*
- 9) Thurau, K., Dahlheim, H., Gruner, A., Mason, J, and Granger, P.: *Activation of renin in the single JGA by NaCl in the tubular fluid at the macula densa. Circ. Res. 31(Suppl II): 182, 1972.*
- 10) Thurau, K, and J. Masson: *The intrarenal function of the juxtaglomerular apparatus. Kidney and urinary tract physiology edited by A.C. Guyton and K. Thurau. Butterworths Univ. Park press, butterworth, 1974.*
- 11) Vander, A.J.: *Control of renin release. Physiol. Rev. 47:359, 1967.*
- 12) Vander, A.J., and R. Miller.: *Control of renin secretion in the anesthetized dog. Am. J. Physiol. 207:537, 1964.*