

家兔의 腎臟機能에 미치는 側腦室內 cAMP의 影響

全南大學校 醫科大學 藥理學教室

鞠 永 棕 · 崔 峰 奎

=Abstract=

Influence of Intraventricular cAMP on the Renal Function of the Rabbit

Young Johng Kook and Bong Kyu Choi

Department of Pharmacology, Chonnam University Medical School
Kwangju, Korea

Cyclic adenosine monophosphate (cAMP), known as a versatile regulator of cellular processes and as a secondary messenger of various hormones and other biogenic agents, such as prostaglandins and histamine, induced prompt and transient antidiuresis followed by mild natriuresis and diuresis, when it was administered into the lateral ventricle of the rabbit in doses ranging from 100 μ g to 1 mg. The initial antidiuresis was brought about by the systemic hypotension, whereas the secondary diuresis seemed to be resulted from the decreased tubular reabsorption of sodium, suggestive of participation of certain endogenous natriuretic agent. This observation suggests that cAMP might be involved in the center-mediated renal action of prostaglandins.

하여 腎臟機能의 變動을 觀察하였다.

緒 言

Cyclic adenosine monophosphate(cAMP)는 1956년에 肝臟 phosphorylase의 活性化에 있어서 epinephrine과 glucagon의 作用을 媒介하는 物質로서 처음 알려진 以來¹⁾ 많은 研究가 行하여져서 哺乳類의 大部分의 組織에서 이 cAMP가 여러 hormone의 second messenger로서 役割을 하며 가장 重要한 調節因子로서 認定받게 되었다^{2,3)}.

한편 prostaglandin도 生體의 많은 組織에서 生成되어 homeostasis의 調節에 있어서 重要한 物質로 알려져 있으며⁴⁾ 最近에는 中樞神經系를 통한 腎臟機能의 調節에 있어서도 影響을 미치는 것이 알려졌다^{5,6)}. 이 prostaglandin역시 catecholamine, glucagon, hypophyseal hormones等처럼 여러 組織에 있어서 cAMP를 통하여 그 作用을 미칠 수 있음이 알려졌다^{7,8,9)}. 따라서 本 研究에 있어서는 prostaglandin의 中樞를 통한 腎臟作用에 있어서도 cAMP가 關與하는 것인지에 關하여 知見을 얻고자하여 우선 側腦室內로 cAMP를 直接投與

實驗材料 및 方法

實驗動物로는 1.8~2.2 kg의 成熟家兔를 雌雄區別없이 使用하였으며 麻醉는 urethane 1g/kg皮下注射로 行하였다. 토끼는 背位로 固定, 氣管카누레를 넣고 一側頸靜脈에도 PE管을 넣어 Harvard pump로써 注射液하였다. 注入液은 0.3% creatinine, 40 mg% PAH, 3% glucose와 0.3% NaCl을 含有하는 溶液이며 0.5 ml/min의 速度로 注入하였다.

集尿는 左右輸尿管에 各各 PE管을 挿入集尿하였으며 側腦室內 藥物投與는 文¹⁰⁾의 方法에 따랐으며 藥物은 投藥直前に 生理食鹽水에 溶解시켰으며 容量은 0.2 ml로 하였다. 實驗後에는 腦室을 切開하여 側腦室內 投藥을 確認하였다.

血漿 및 尿試料의 creatinine定量은 Phillips¹¹⁾의 方法에 따랐고 PAH는 Smith等¹²⁾의 方法에 依하였으며 Na^+ 및 K^+ 는 flame photometry로써, osmolarity는 "Advanced" osmometer로써 測定하였다.

Table 1. Effect of intraventricular cAMP 100 μ g on the renal function of rabbits

	Control	0'~10'	10'~20'	20~40'	40'~60'	60'~80'
Vol.(ml/min)	0.23±0.05	0.19±0.03	0.27±0.06	0.29±0.07	0.19±0.04	0.15±0.03
C _{PAH} (ml/min)	14.8 ±0.9	12.0 ±2.1	16.1 ±2.1	16.5 ±3.3	12.6 ±2.8	11.3 ±2.7
C _{Cr} (ml/min)	6.49±0.90	5.80±0.95	7.05±1.16	6.29±1.83	5.75±1.31	5.46±1.31
FF(%)	44.1 ±1.9	49.0 ±2.5	43.9 ±3.3	43.2 ±3.7	45.8 ±3.5	48.6 ±3.0
U _{Na} V(μ Eq/min)	10.2 ±3.0	7.2 ±2.1	12.9 ±3.5	23.0 ±7.5	12.6 ±3.3	7.6 ±2.0
U _K V(μ Eq/min)	5.3 ±0.9	4.5 ±1.0	5.8 ±1.0	6.3 ±1.0	5.0 ±1.2	4.7 ±2.3
R _{Na} (%)	98.8 ±0.4	99.0 ±0.4	98.6 ±0.4	97.8 ±0.5	98.5 ±0.3	99.0 ±0.2
C _{osm} (ml/min)	0.50±0.07	0.40±0.05	0.54±0.08	0.58±0.11	0.44±0.08	0.39±0.08
T ^c H ₂ O(ml/min)	0.27±0.04	0.21±0.04	0.27±0.05	0.29±0.06	0.26±0.03	0.25±0.06

Mean±S.E. from 6 experiments. Vol=urine flow rate; C_{PAH}, C_{Cr} and C_{osm} are clearances of Para-aminohippuric acid, creatinine and osmolar substances, resp.; FF=filtration fraction; U_{Na}V and U_KV are excreted amounts of sodium and potassium; R_{Na} is percentage reabsorption of filtered sodium; and T^cH₂O is free water reabsorption.

實驗結果

側腦室內로 cAMP 100 μ g을 投與하였을 때의 腎臟의 變動을 第 1 表에 綜合하였다. 여기에서는 6例의 實驗例의 平均値와 標準誤差를 나타내고 있다. 尿量은 0.23 ml/min의 對照値로부터 投藥直後 10分間에 있어서 0.19로 一時的으로 若干의 減少後에 10~40分 사이에는 約 0.6ml/min의 增加를 보였으며 그 後에는 다시 減少하였다. C_{PAH}와 C_{Cr}도 大體로 尿量變動과 一致하여 投藥直後에 一時的인 減少後에 10~40分 사이에는 增加를 보였다. 이 때 濾過分割(filtration fraction, FF)도 44.1%에서 10分後에 49.0%로 增加한 뒤 다시 10~40分 사이에 減少하였다. 電解質排洩量도 一適性인

減少後에 增加의 pattern을 보여주었으며 再吸收率도 Na⁺排洩量의 增加時에 若干의 減少의 傾向을 보였으며 C_{osm} 및 T^cH₂O의 變動도 大體로 尿量變動과 비슷하였으나 有意성은 없었다. 投與量은 올려서 300 μ g을 側腦室內로 投與한 6例의 成績을 第 2 表에 綜合하였다. 300 μ g 投與時에도 腎臟機能의 變動은 100 μ g 投與時와 비슷하게 投與直後 10分間의 若干의 減少後에 10~40分 사이에 若干의 增加傾向을 보였다. 第 1 圖은 300 μ g 投與後 腎臟機能의 變動을 對照値로부터의 增減으로서 表示한 것이다. 投與直後 10分間의 變動은 腎血流 및 絲絨體濾過率의 減少에 起因하는 것임을 알 수 있으며, 다음 10~40分 사이의 尿量 및 Na⁺排洩量의 若干의 增加는 絲絨體濾過率의 增加와 並行하지 않고 오히려 腎細尿管에서의 再吸收率의 減少에 起因한 듯한 印象을

Table 2. Effect of 300 μ g cAMP ivt. on the renal function of rabbits

	Control	0'~10'	10~20'	20'~40'	40'~60'	60'~80'
Vol(ml/min)	0.36±0.05	0.30±0.03	0.39±0.08	0.37±0.06	0.26±0.05	0.23±0.04
C _{PAH} (ml/min)	20.2 ±3.3	15.6 ±2.8	18.6 ±3.1	16.3 ±1.9	15.7 ±7.9	13.1 ±1.6
C _{Cr} (ml/min)	7.58±1.07	7.00±0.98	7.85±1.27	6.65±0.82	6.35±0.62	5.93±0.57
FF(%)	39.7 ±3.2	47.4 ±5.1	43.0 ±2.5	41.0 ±3.9	42.5 ±3.9	46.4 ±2.8
U _{Na} V(μ Eq/min)	19.5 ±4.3	18.3 ±3.8	34.0 ±15.2	32.8 ±8.4	17.0 ±3.7	11.2 ±2.9
U _K V(μ Eq/min)	12.3 ±1.8	9.2 ±3.0	11.5 ±1.6	10.4 ±1.3	8.5 ±1.0	7.5 ±1.3
R _{Na} (%)	97.9 ±0.4	98.1 ±0.2	96.7 ±1.3	96.2 ±0.9	97.9 ±0.5	98.5 ±0.5
C _{osm} (ml/min)	0.66±0.10	0.59±0.04	0.75±0.10	0.73±0.10	0.55±0.88	0.49±0.07
T ^c H ₂ O(ml/min)	0.30±0.07	0.29±0.08	0.36±0.05	0.36±0.06	0.30±0.04	0.27±0.04

Data from 6 experiments. Legends as in Table 1.

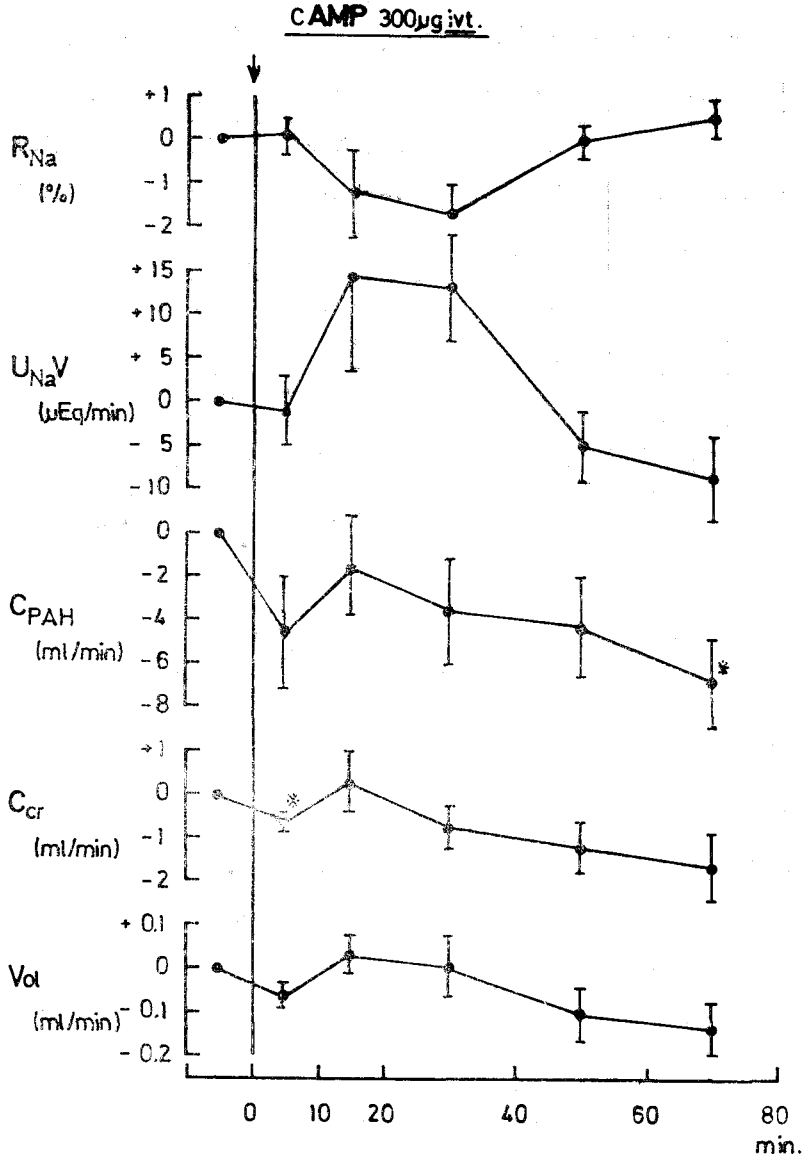


Fig. 1. Changes of renal function by the intraventricular administration of 300 µg cAMP in the rabbit. Mean changes from the control periods with standard errors are shown. At 0 min, the agent was given. ×=p<0.05. Other legends are as the Table 1.

받게 된다.

다음 第3表는 cAMP 1mg을 側腦室內로 投與한 實驗 5例의 成績을 綜合한 것이다. 여기에서도 投與直後 10分間은 모든 尺度의 減少를 가져오고 다음 10分~20分間의는 오히려 若干의 增加를 가져오며 그 効果도 300 µg 投與時와 큰 差異가 없었다.

3例의 實驗例에서 全身血壓의 變動을 觀察하였는바 300 µg의 側腦室內 投與 直後부터 血壓은 점차 下降하여 10~20分 後에 平均 20.0±4.2 mmHg의 下降을 가

져오며 約 1時間 以上 持續되었다.

考 按

cAMP를 家兔의 側腦室內에 投與하면 10分間에는 尿量의 減少와 電解質排泄量의 減少가 오며 이때 腎血流와 絲球體濾過率도 減少하였고 濾過分割은 增加하였다. 그러나 腎臟機能은 곧 回復하여 다음 30分間에는 對照值 以上으로 尿量, 電解質排泄量의 增加를 가져왔으며

Table 3. Effect of 1mg cAMP ivt. on the renal function of rabbits

	Control	0'~10'	10'~20'	20.~40'	40'~60'	60~80
Vol.(ml/min)	0.28±0.03	0.22±0.01	0.31±0.06	0.28±0.06	0.20±0.02	0.18±0.2
C _{PAH} (ml/min)	12.1 ±1.5	10.5 ±1.3	10.5 ±4.0	11.4 ±1.1	11.7 ±1.4	11.6 ±1.4
C _c (ml/min)	5.10±0.69	4.51±0.67	5.55±0.82	4.78±0.48	4.80±0.62	4.80±0.51
FF(%)	42.2 ±1.4	42.8 ±1.7	45.4 ±2.1	41.9 ±0.8	40.9 ±1.6	42.1 ±1.7
U _{Na} V(μEq/min)	18.9 ±5.2	14.5 ±4.3	25.5 ±10.2	23.9 ±7.1	14.29±2.9	12.0 ±3.3
U _K V(μEq/min)	5.5 ±0.7	4.4 ±0.5	6.6 ±0.9	5.2 ±0.2	4.8 ±0.7	4.2 ±0.5
R _{Na} (%)	97.1 ±0.9	97.4 ±0.8	96.4 ±1.3	95.8 ±1.4	97.5 ±0.7	97.8 ±0.8
C _{osm} (ml/min)	0.48±0.04	0.39±0.03	0.56±0.8	0.47±0.08	0.43±0.05	0.40±0.55
T ^c _{H₂O} (ml/min)	0.20±0.02	0.18±0.03	0.25±0.03	0.19±0.05	0.23±0.04	0.22±0.02

Mean±S.E. from 5 experiments.

이때 腎血流 및 絲絨體濾過율은 반드시 尿量增加와 一致하여 增加하지는 않았고, 細尿管에서의 再吸收率 이 減少하였다. 即 側腦室內 cAMP의 腎臟作用은 二相性이며 一過性인 抗利尿作用 後에 利尿作用이 나타 났다.

cAMP 投與直後의 抗利尿作用時에는 腎血流과 絲絨 體濾過율이 同時에 減少하였으나 濾過分劃이 增加하였 으므로 血流의 減少가 絲絨體濾過율의 減少보다 甚하였 음을 보여주며, 이와같은 變化는 輸入管(vas afferens)의 tone의 增加에 起因하거나 또는 全身血壓의 下降에 依해 招來될 것이다. 前者의 境遇는 大概 sympathoadrenal stimulation時에 觀察할 수 있으나 血壓變動을 觀察한 實驗例에서 血壓의 上昇은 나타나지 않았으며 오히려 20±4.2 mmHg의 持續的인 血壓下降을 觀察하 였으므로 後者の 境遇라고 推測된다.

一過性인 抗利尿後에 約 30분에 걸쳐 輕하게 出現하 는 利尿效果는 本研究에서는 뚜렷한 統計學的 有意性 을 얻을 수 없었으나, 그것은 元來 Na⁺ 排泄量 및 尿量 의 個體差가 크기 때문이며 더 많은 實驗例에서는 有 意한 增加를 나타낼 수 있을 것으로 생각된다. 또한 이 와같은 natriuresis 效果는 投藥直後의 抗利尿作用과 相 反되기 때문에 一部 減弱 또는 陰蔽된 것으로 생각할 수 있으며 全身血壓下降을 防止하여 주면 더 뚜렷히 나 타날 것으로 期待된다. 이때의 natriuresis는 腎血流量學的인 變動에 依해 出現되는 것이 아니고 細尿管機能 의 抑制에 起因한 것으로 생각되며 C_{osm}의 增加와 아 울러 T^c_{H₂O}의 增加를 볼 수 있었으므로 近位細尿管에서 Na⁺ 再吸收가 減少된 것이라 推測된다.

이때의 natriuresis를 招來하는 機轉에 關하여서는 神 經系를 통한 作用 또는 어떤 內因性物質을 통한 作用

이겠으나 어느 쪽인지에 關해서는 아직 確實한 端緒가 없다. 다만 prostaglandin의 利尿作用에 어떤 humoral agent가 關與하고 있다는 事實^{6,6)}과 또한 prostaglandin이 組織內 cAMP를 增加시킨다는 報告⁷⁻⁹⁾에 비추어 보면 cAMP도 그와같은 機轉에 依하여 natriuresis를 招來하지 않는가 推測되며 앞으로 더욱 追求할 課題이 다.

cAMP는 肝臟 phosphorylase의 活性化에 主要한 役 割을 하고 있음이 發見된 뒤 이제는 多數의 細胞內過 程의 速度를 調節하는 多能한 調節因子로서 認定되고 있으며 catecholamines, glucagon, insulin, ACTH, LH, TRH, TSH, MSH, parathormone, vasopressin 등 의 hormone의 secondary messenger로서, 그의 prostaglandin, histamine, serotonin 등의 作用의 媒介體로서 알려졌다²⁾. 中樞神經系에는 특히 腦의 灰白質에 가장 높은 adenylyl cyclase와 phosphodiesterase의 活性이 發 見되었으나¹³⁾ cAMP의 役割은 아직 뚜렷치 않다. 그 러나 norepinephrine이나 histamine은 腦의 cAMP를 증가시키미 알려졌고^{14,15)}, cAMP의 dibutyryl 誘導體 를 쥐, 고양이, 家兎 등의 側腦室內로 投與하면 呼吸促 進 痙攣 등의 中樞神經興奮이 招來됨이 알려졌다¹⁶⁾. 本 研究의 結果는 中樞神經系의 cAMP가 腎臟機能의 調 節에 關與할 수 있음을 보여주는 것이라 생각되며, 특 히 prostaglandin의 作用과 關聯해서 追究해 볼 일이라 생각된다.

本研究結果에서 cAMP의 側腦室內 投與量을 100 μg 에서 1 mg까지 增量해도 그 效果의 增大가 뚜렷하지 않았음은 아마도 cAMP가 大部分의 細胞에 있어서 透 過性이 적다는 事實과 phosphodiesterase에 依하여 迅速 히 加水分解된다는 事實과 有關한 듯 하며 theophylline

같은 phosphodiesterase 抑制劑의 存在下에서 效果를 追
究해 보면 뚜렷한 作用을 볼 수 있을 것으로 推測된다.

總 括

家兔의 側腦室內에 cAMP를 投與하면 約 10分間의
抗利尿後에 30分間에 걸쳐 尿量, 電解質排泄의 增加를
볼 수 있었으며, 抗利尿는 全身血壓下降에 起因한 듯
하였으나 利尿效果는 細尿管에 對한 어떤 內的因자의
作用인 것으로 推測되었다.

참 고 문 헌

- 1) Rall, T.W., Sutherland, E.W. and Berthet, J.: *The relationship of epinephrine and glucagon to liver phosphorylase. IV. The effect of epinephrine and glucagon on the reactivation of phosphorylase in liver homogenates.* *J. Biol. Chem.* 224:483-495, 1957.
- 2) Robison, G.A., Butcher, R.W. and Sutherland, E.W.: *Cyclic AMP.* Academic Press, 1971.
- 3) Orloff, J. and Handler, J.S.: *The role of adenosine 3',5'-phosphate in the action of the antidiuretic hormone.* *Am. J. Med.* 42:757-768, 1967.
- 4) Horton, E.W.: *Prostaglandins. Monographs of endocrinology, Vol. 7, Springer-Verlag, 1972.*
- 5) Kook, W.Y.: *Influence of Prostaglandin E₂ administered intraventricularly on the renal function of the rabbit.* *Chonnam Med. J.* 11: 883-893, 1974.
- 6) Kook, Y.J. and K.H. Ko.: *Influence of prostaglandin F_{2α} given intracerebroventricularly on the renal function of the rabbits.* *Korean J. Pharmacol.* 12:125-131, 1976.
- 7) Butcher, R.W. and Baird, C.E.: *Effects of prostaglandins on adenosine 3', 5'-monophosphate levels in fat and other tissues.* *J. Biol. Chem.* 243:1713-1717, 1968.
- 8) Sobel, B.E. and Robison, A.K.: *Activation of guinea pig myocardial adenylyl cyclase by prostaglandins.* *Circulation* 40: Suppl. III, 189, 1969.
- 9) Fleischer, N., Donald, R.A. and Butcher, R.W.: *Involvement of adenosine 3', 5'-monophosphate in release of ACTH.* *Am. J. Physiol.* 217: 1287-1291, 1969.
- 10) Moon, Y.B.: *Influence of intraventricular phenoxybenzamine on some actions of 5-hydroxytryptamine.* *Chonnam Med. J.* 1:131-142, 1964.
- 11) Phillips, R.A.: *In: Quantitative clinical chemistry, Vol. 2, Methods, edited by J.P. Peters and D.D. van Slyke, Williams & Wilkins, 1944.*
- 12) Smith, H.W., Finkelstein, N., Alimososa, L., Crawford, B. and Graber, B.: *The renal clearances of substituted hippuric acid derivatives and other aromatic acids in dog and man.* *J. Clin. Invest.* 24:388-404, 1945.
- 13) Sutherland, E.W., Rall, T.W. and Menon, T.: *Adenylyl cyclase. I. Distribution, preparation, and properties.* *J. Biol. Chem.* 237, 1220-1227, 1962.
- 14) Kakiuchi, S. and Rall, T.W.: *Studies on adenosine 3', 5'-phosphate in rabbit cerebral cortex.* *Mol. Pharmacol.* 4:379-388, 1968.
- 15) Kakiuchi, S. and Rall, T.W.: *The influence of chemical agents on the accumulation of adenosine 3', 5'-phosphate in slices of rabbit cerebellum.* *Mol. Pharmacol.* 4:367-378, 1968.
- 16) Krishna, G. Ditzion, B.R. and Gessa, G.L.: *Proc. Int. Union Physiol. Sci.* 7:247, 1968, cited fom. 2.