

신성 고혈압 백서에서 Atrial Natriuretic Peptide의 신장기능에 미치는 효과

전북대학교 의과대학 생리학교실

조경우 · 김선희 · 소준노 · 류 훈 · 설경환

(1989년 4월 19일 접수)

= Abstract =

Effect of Atrial Natriuretic Peptide on the Renal Function in Two-Kidney One-Clip Hypertensive Rats

Kyung Woo Cho, Suhn Hee Kim, June No So, Hoon Ryu and Kyung Hwan Seul

*Department of Physiology, Jeonbuk National University Medical School
Jeonju 560-180, Korea*

Since the atrial receptor was suggested to be involved in the control of extracellular fluid volume, it has been shown that the granularity of atrial cardiocytes can be changed by water and salt depletion, and that an extract of atrial tissue, when injected intravenously into anesthetized rats, causes a large and rapid increase in renal excretions of sodium and water. The immunoreactive atrial natriuretic peptide (ANP) has been found in the plasma of patients suffering from various cardiovascular diseases. A high level of ANP in the plasma has been reported in essential hypertension. Several studies on the effects of ANP on renal function and arterial blood pressure have presented contradictory results showing attenuated or accentuated responses. Thus, involvement of the ANP in the development of hypertension remains unresolved.

Present study was undertaken to investigate whether the ANP is involved in the development of hypertension in two-kidney one-clip Goldblatt hypertensive rats. The plasma concentration of immunoreactive ANP appeared to be significantly elevated in hypertensive rats as compared with normotensive Goldblatt operated and sham-operated rats. Plasma renin concentration was higher in hypertensive rats than in normotensive rats, as observed in earlier experiments.

Intravenous infusions of ANP resulted in increases of urine flow and urinary excretions of sodium and potassium in both hypertensive and normotensive rats. The renal response to ANP was markedly accentuated in Goldblatt hypertensive rats. The plasma concentration of ANP showed a linear relationship with the arterial blood pressure. Infusions of ANP reduced blood pressure both in hypertensive and normotensive rats.

These results suggest that in Goldblatt hypertensive rats an elevation of ANP level in the plasma may not be a cause, but instead a consequence of hypertension, and that the renal responsiveness to the ANP is accentuated by some unknown mechanisms.

Key Words: Atrial natriuretic peptide renin renal function hypertension

* 이 논문은 1987년도 문교부 자유공모과제 학술연구조성비에 의하여 수행된 결과임

서 론

고혈압의 발생과 그 유지에 있어 가장 중요한 병태생리학적 이론은 renin-angiotensin-aldosterone 계의 변조라고 인식되고 있다. 신장의 방사구체세포로부터 유리되어 혈액중에 존재하는 renin은 체액 및 전해질, 그리고 혈압의 조절이 그 기본적인 생리적 역할임이 알려져 있다.

과거 본 연구실에서 시행된 연구결과에 의하면 본태성 고혈압의 동물모형인 spontaneously hypertensive rat에서나, 신성고혈압의 동물모형인 Goldblatt 고혈압 백서에서 모두 renin 분비의 중요한 negative feedback 조절인자인 angiotensin II 와 arginine vasopressin에 의한 renin 분비조절기전이 변조되어 있다(Chung & Cho, 1985; Je-Gal & Cho, 1986). 그러나 이러한 negative feedback 조절기전의 변조 이유는 아직 밝혀진바 없으며 또한 이러한 negative feedback 조절기전의 변조가 고혈압 발생 및 유지의 직접적인 원인이 되는가에 대해서도 아직 확실하지 않다. 최근에 이르러 고혈압의 발생 원인으로서는 renin-angiotensin aldosterone 계의 이론만으로는 설명할 수 없는 많은 문제점이 나타났으며, 체내에 Na를 저류시키는 hormone인 aldosterone과 반대적인 작용을 하는, Na를 체외로 내보내는 hormone에 대하여 많은 관심을 갖게 되었다. 이러한 시점에서 체내 Na를 체외로 배설시킬 수 있는 강력한 물질인 atrial natriuretic peptide (심방에서 유리되는 이노호르몬, atrial natriuretic hormone)가 발견되어 이 물질이 고혈압 발생원인의, 설명되지 못하고 있는 부분의, 이유가 될 수 있을 것으로 기대되고 있다.

심장의 심방세포중에 분비성 과립이 존재한다는 사실은 1956년 Kisch(1956)에 의하여 처음 알려졌다. Marie등(1976)은 수분 또는 전해질 환경의 변화에 의하여 백서 심방세포내의 특수과립의 밀도가 변동됨을 발견하였고, De Bold (1979)는 수분 또는 전해질을 감소시킬때 심방세포내의 granularity가 증가함을 발견하여, 심방의 specific granule이 수분 및 전해질평형의 조절과 유관함을 암시하였다. 1981년 De Bold등은 심방 extract를 마취백서 정맥내에 투여하여 신속하고 강력한 diuretic 및 natriur-

etic 효과가 있음을 발견하였으며, 이때 심실 extract는 하등의 효과를 나타내지 않았으므로, 심방에 국한하여 존재하는 "specific atrial granule" 만이 이러한 효과가 있음을 암시하였다. 그후 몇몇 연구자들에게 의하여 심방추출액은 신장뿐 아니라 혈관근의 이완과 혈압하강을 일으킬 수 있음이 밝혀졌다.

이러한 보고들의 의의는 심장의 분비성 granule이 체액 및 전해질 대사와 혈압의 조절에 관련이 되어 심장이 그 조절기관이 될 수 있다는 암시라고 하겠다. 고혈압의 발생 및 그 유지 이전에 관하여 아직도 이해하지 못하고 남아있는 체액량 및 전해질 대사의 이상 상태를 설명할 수 있을 것이라는 기대와, 고혈압에 있어서 분비성 granule에서 유리되는 atrial natriuretic peptide (ANP)의 분비 이상이 고혈압 발생의 원인이 될 수 있을 것이라는 가정 그리고 ANP가 생체내에서 유래하는 가장 자연스러운 이노제일 가능성등 때문에 ANP에 대한 연구는 대단히 활발하게 진행되어 왔다. 그러나 지금까지의 연구는 ANP에 대한 생화학적 연구가 대부분이었으며, 생리적으로 또는 병태생리적으로 어떠한 기능, 역할을 하는지는 명확히 밝혀진 바 없다.

혈장 ANP 농도는 급격한 수분 및 식염섭취에 의해서는 증가하나 탈수나 실혈에 의해서는 감소하며, 울혈성심부전증, 빈맥, 만성신부전증의 환자, 그리고 고혈압 환자에서는 현저히 증가된다고 보고되었다(Atlas & Laragh, 1986).

고혈압의 발생과 유지의 가장 중요한 기전은 renin-angiotensin-aldosterone 계의 조절인데, 이는 ANP와는 반대의 역할을 하고 있다. 즉 ANP는 대략 4가지의 경로로 renin-angiotensin-aldosterone 계를 억제할 수 있다. ① 혈관이완 : 이는 angiotensin II에 의한 혈관수축-혈압상승의 확실한 생리적 반대기능이며, ② Angiotensin II에 의하여 유리되는 aldosterone의 분비 차단 : 이는 aldosterone 분비에 의한 체내 소금(NaCl) 및 수분저류를 억제할 수 있으며, ③ 신장으로 부터의 renin 분비 억제, ④ ANP의 이노효과 : 이는 aldosterone에 의한 Na 저류를 차단할 수 있을 것이다.

심방에서 분비되는 ANP는 고혈압의 발생과 유지에 가장 중요한 기전인 renin-angiotensin-aldosterone 계와는 반대의 역할을 하고 있어서 아직까지 설

명되지 못한 고혈압의 발생원인을 부분적으로 설명할 수 있을 것이라고 기대되고 있다.

1934년 Goldblatt에 의해 선성고혈압 모형으로 대두된 two-kidney one-clip hypertensive rat (2K1-CHR)은 고혈압의 연구에 가장 많이 사용되는 모형이나 이들의 고혈압 발생기전에 있어서 부분적으로 설명하지 못하거나 이해하지 못한 문제점을 가지고 있다. 선성고혈압 백서나 본태성 고혈압 백서에서 ANP가 현저히 증가하고(Gauquelin et al, 1988; Garcia et al, 1987), 장기간 ANP 주입에 의해 혈압은 정상으로 돌아온다고 보고되어 있으나, 신장관류압력을 증가시키기에 따라 ANP 투여에 의한 신기능변화가 연구자마다 상이하며, 더구나 선성고혈압 모형에서 ANP 투여가 신기능에 미치는 효과에 대한 보고는 많지 않다.

본 연구는 선성고혈압 백서에서 혈장 renin 활성도와 ANP의 변동, 그리고 ANP에 대한 신장의 반응성에 관하여 조사하였다.

실 험 방 법

1. 선성고혈압 백서 모형

실험동물로는 200 gm 내외의 Sprague-Dawley rat를 사용하였는데, 대조군 및 실험군으로 나누어 실험하였다. 오전 9:00~12:00 사이에 Nembutal 30 mg/kg을 복강내 투여하여 마취하고, 수술부위의 털을 제거한 다음 가능한 한 무균적으로 측부절개 후 좌측 신동맥을 조심스럽게 신경과 정맥으로부터 분리한 후 여기에 내경 0.2 mm의 silver clip을 장치하고 절개 부위를 봉합처리 하였으며, 신장은 아무런 처리를 하지 않았다. 대조군은 측부절개 후 silver clip을 장치하는 과정만을 제외하고는 실험군과 동일한 수술처치를 하였다. 각군의 동물은 metabolic cage에 넣고 2주일 동안 신기능의 변화를 조사하였으며, 7일, 14일에 아래와 같은 방법으로 혈압을 측정하고 실험에 사용하였다.

2. 혈압의 측정

실험에 사용할 백서는 수술 2일전에 physiograph (Narco)를 사용하여 꼬리에서 혈압을 측정하였다. 무마취 백서를 가능한 한 움직이지 못하도록 고안된

restraint cage에 넣은 후 $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ 로 5분간 몸을 따뜻하게 하여 꼬리의 혈관이 이완되기를 기다려 rat tail cuff와 pneumatic transducer을 사용하여 수축기혈압을 4~5회 측정하고 이를 대조치로 간주하였다. 수술 후 7일 및 14일에 위와 동일한 방법으로 수축기 혈압을 측정하였다.

3. 신장기능의 검색

선성고혈압 백서는 수술 2주와 8주후 Nembutal 30 mg/kg을 복강내 투여하여 마취후 실험을 시행하였다. 용액 및 약물의 주입을 위해 경정맥에 24 G polyethylene (PE)관을 삽입하고, 혈압의 측정 및 채혈을 위해 경동맥에 관을 삽입하여 이를 physiograph에 연결하였다. Hypertonic solution을 5 ml/hr의 속도로 infusion pump를 사용하여 정맥내 주입하였는데, 이 용액의 조성은 mannitol 5%, NaCl 0.3%, paraamino-hippuric acid 0.03%였다. 요의 채취를 위해 suprapubic incision후 양측 수뇨관에 26 G PE관을 삽입하고 절개부위를 완전히 봉합하여 prone position으로 고정시켰다. 40분동안 hypertonic solution을 주입하여 hydration시킨후 10분 간격으로 2~3회 집뇨하여 이를 대조치로 하고 atriopeptin III (Novabiochem)를 3ug/kg을 투여한 후 5~6회 집뇨하였다. 각군의 대조군은 위와 동일한 방법으로 수술, 처치한 후 2~3회 집뇨하고 ANP 대신 동량의 생리적 식염수를 투여하여 동일한 방법으로 실험하였다. 혈장 ANP와 renin 활성도 간의 관계를 보기위해 실험하여 채취하고 이를 원심 분리시킨 후 상층액을 -20°C 에 보관하였으며, 혈압은 전 실험기간 동안 측정하였다.

채집한 요 중의 creatinine은 Phillips의 방법(1944)으로 발색시켜 spectrophotometer를 이용하여 측정하였으며, para-amino-hippuric acid는 Smith등(1945)의 방법을 이용하여 측정하였다. 요 중 Na과 K의 측정은 flame photometry에 의하였으며, osmolality의 측정은 freezing-point depression을 이용한 osmometer에 의하였다.

4. Renin 활성도의 측정

혈장 renin 활성도 및 신장내 renin 활성도는 50 ul의 시료에 대량의 renin 기질을 가할때 생성되는

angiotensin I 을 측정하는 plasma renin concentration (PRC)법으로 측정하였다(Cho et al, 1987).

I-125 angiotensin I [(5-Ile), (tyrosyl-125-I)-monoiodinated: specific activity 1,500 uCi/ μ g]은 New England Nuclear사로부터 구입하여, 그 radioactivity에 따라 소량으로 나누어 사용시까지 -20°C에서 보관하며 tube 당 10,000 cpm이 되도록 하여 사용하였다.

Angiotensin I 의 항체생성을 위해 Goodfriend등(1966)의 carbodiimide 방법에 따라 angiotensin I (5-Ile, 9-His)을 가토의 혈청 albumin에 conjugation시켜 동량의 Freund's adjuvant와 잘 섞어 6주간 1회씩 여러 부위에 주사하였으며, 2주후부터 채혈하여 그 titer를 측정하고, 혈장은 56°C에서 30분동안 complement를 inactivation하여 사용하였다. Titer가 결정된 angiotensin I 항혈청은 사용에 편리하도록 일단계 희석하여 소량씩 나누어 -70°C에 보관하며, 사용 후 남은 부분은 폐기하였다.

Renin 기질은 Cho 및 Malvin등(1979)의 방법에 따라 만들었으며, renin 활성도의 측정은 Sealey 및 Laragh등(1973)의 방법을 변용한 Cho와 Kim등(1982 a, b)의 방법으로 시행하였다. Converting enzyme 및 angiotensinases 억제제로는 EDTA, phenylmethylsulfonyl fluoride 및 8-hydroxyquinoline 을 사용하였다.

Angiotensin I 의 방사면역측정은 bovine serum albumin을 포함하는 Tris-acetate buffer (pH 7.40, 0.1 M)를 사용하는 일반적인 방법에 따랐다. 4°C에서 18~30 시간 방치 후 charcoal suspension (activated Norit A charcoal, 6.0 g; Dextran T-70, 0.625 g; phenylmercuric acetate, 34 mg; Tris-acetate buffer, pH 7.40, 0.1 M로 1 liter 되게함)으로 bound form을 분리하고, gamma counter를 사용하여 radioactivity를 측정하였다.

5. Atrial Natriuretic Peptide의 측정을 위한 radioimmunoassay

1) ANP 항체 제조 : ANP 항체제조는 angiotensin I 항체제조와 유사한 방법을 사용하였다(Cho et al, 1987). ANP를 albumin에 conjugation시켜 동량의 Freund's complete adjuvant와 잘 섞어 4주일에

1회씩 가토의 여러 부위에 주사하였는데, 4회 주사 이후부터 채혈하여 그 titer를 측정하였으며, 혈장은 56°C에서 30분동안 inactivation 한 후 사용하였다(Cho et al, 1988 a, b).

2) I-125 labelled ANP: Hunter등(1962)의 chromine-T의 방법에 의하여 iodination 한 후, 대량의 bovine serum albumin을 가하여 반응을 정지시키고, 곧 Sephadex-G 25를 통하여 분리 정제하였다. Trasylol 500 KIU/ml, glycine 0.05 M 및 lysozyme 0.3%를 포함하는 0.1 M acetic acid로 elution 하였으며, 분리정제 직후 200~400 만 cpm/0.5 ml 되게 분주하여 -20°C에 보관하여 사용하였다. 상업적인 source에서 대량 구입한 I-125 ANP도 소량으로 희석 분리하여 사용시까지 보관하며 tube 당 10,000 cpm이 되도록 하여 사용하였다.

3) ANP의 Radioimmunoassay (RIA): 기본적인 것은 Cho등(1988 a, b)의 방법과 동일하나, sensitivity를 높이기 위하여 disequibrated condition에서도 시도되었으며, bound form과 free form의 분리는 charcoal에 의한 방법과 second antibody를 사용하는 double antibody technique를 병용하였다.

4) 시료의 처리 : 심방내의 ANP의 측정은 심방적출후 0.1 M acetic acid로 boiling 후 Polytron homogenizer로 조직균질액을 만들고, 그 supernant를 적당히 희석하여 측정에 사용하였다(Cho et al, 1988 a). 혈장의 측정은 RIA를 방해하는 물질이 존재함이 의심되므로 Sep-Pak C 18 cartridge를 사용한 extraction 방법을 사용하였다.

5) 통계적 처리 : 실험결과의 통계적 처리는 Student paired t-test와 unpaired t-test에 의하였으며, P-value가 최소 0.05를 유의한 차이의 한계로 삼았다. 실험치는 $\text{mean} \pm \text{SE}$ 로 나타내었다.

실 험 결 과

1. 신성 고혈압 백서에서 혈압, 혈장 renin 활성도 및 ANP 농도의 변화

고혈압 백서군의 혈압은 수술전 115.3 ± 3.0 mmHg (n=12)에서 수술후 7 및 14일에 각각 154.8 ± 5.5 및 152.3 ± 3.7 mmHg로 유의하게 증가하였다(Fig. 1). 대조군인 sham 수술군에서는 수술전

118.9±3.8 mmHg (n=9)에서 수술후 7 및 14일에 각각 111.3±5.3 및 115.8±3.9 mmHg로 혈압변화를 보이지 않았다. Goldblatt 수술군에서 혈압이 증가

하지 않았던 12에는 모두 정상 범위의 혈압을 보였다.

고혈압군에서의 혈장 ANP 농도는 216.80±8.90 pg/ml로서 정상 혈압군의 166.80±4.42 pg/ml보다 유의한 증가를 보였다(Table 1). 이때 정상혈압을 보이는 Goldblatt 수술군의 혈장 ANP농도는 177.20±12.01 pg/ml로서 정상혈압 sham 수술군과 유의한 차이를 보이지 않았다.

혈장 renin 활성도는 정상혈압의 sham 수술군에서는 40.82±4.28 ng AI/ml/hr였으며, 고혈압 백서군에서는 105.93±26.88 ng AI/ml/hr로 대조군에 비해 유의하게 높았으며 정상혈압의 Goldblatt 수술군에서는 52.84±9.63 ng AI/ml/hr로 정상혈압의 sham 수술군과 차이가 없었다.

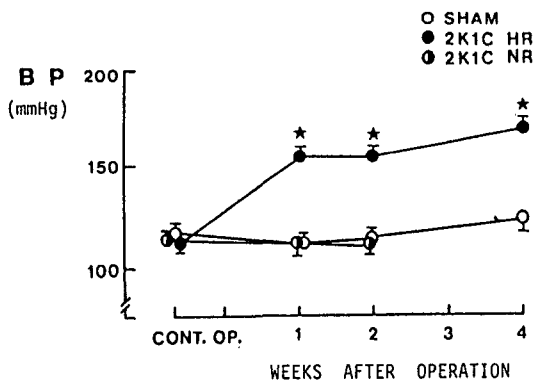


Fig. 1. Blood pressure in two-kidney one-clip hypertensive rats (2K1CHR, n=12), two-kidney one-clip normotensive rats (2K1CNR, n=12) and sham-operated rats (n=9). CONT, Control period; OP, operation; BP, blood pressure. *Significantly different from control period, *p<0.05, **p<0.01.

2. 혈장 ANP 농도와 혈압 및 혈장 renin 활성도의 상관관계

혈압의 상승 또는 하강은 ANP 농도에 직접적인 영향을 미치고 있으며, 혈장내 ANP의 양은 혈장 renin활성도에 영향을 미칠 수 있을 것이기 때문에

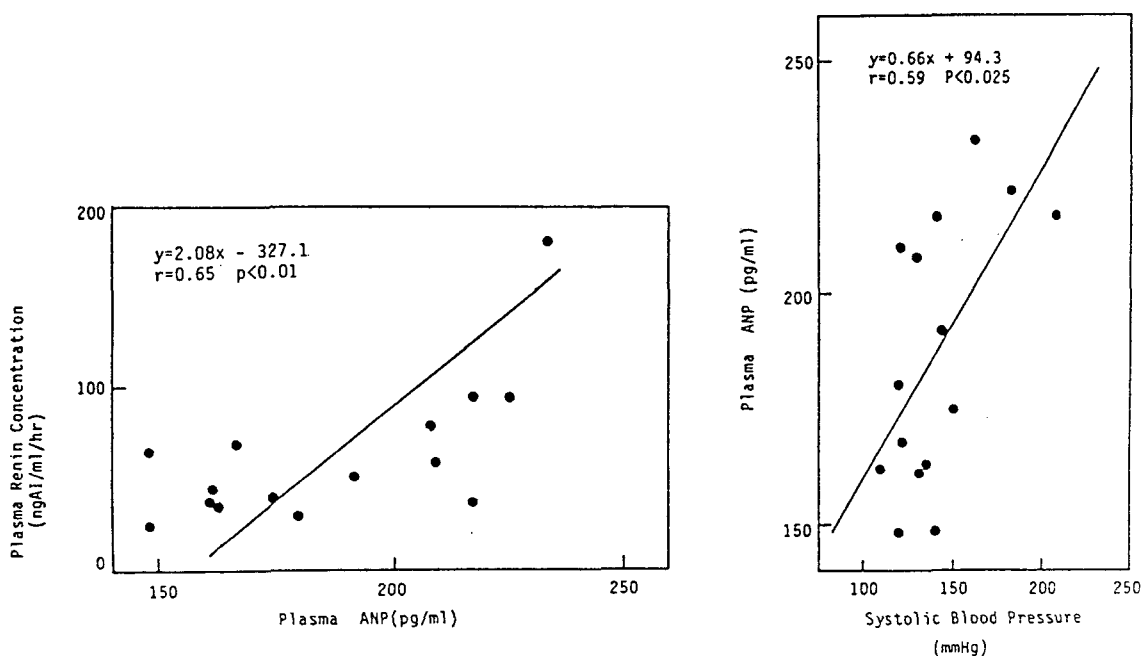


Fig. 2. Interrelationship between blood pressure (BP), plasma concentrations of atrial natriuretic peptide (ANP) and renin.

고혈압 백서에서 이러한 관련성을 확인하고자 하였다.

Fig. 2는 혈압의 증가가 혈장 ANP 농도증가와 밀접한 관련이 있음을 보여주고 있다. 혈장내 ANP 농도의 증가는 혈장 renin 활성도와 비례관계를 보였

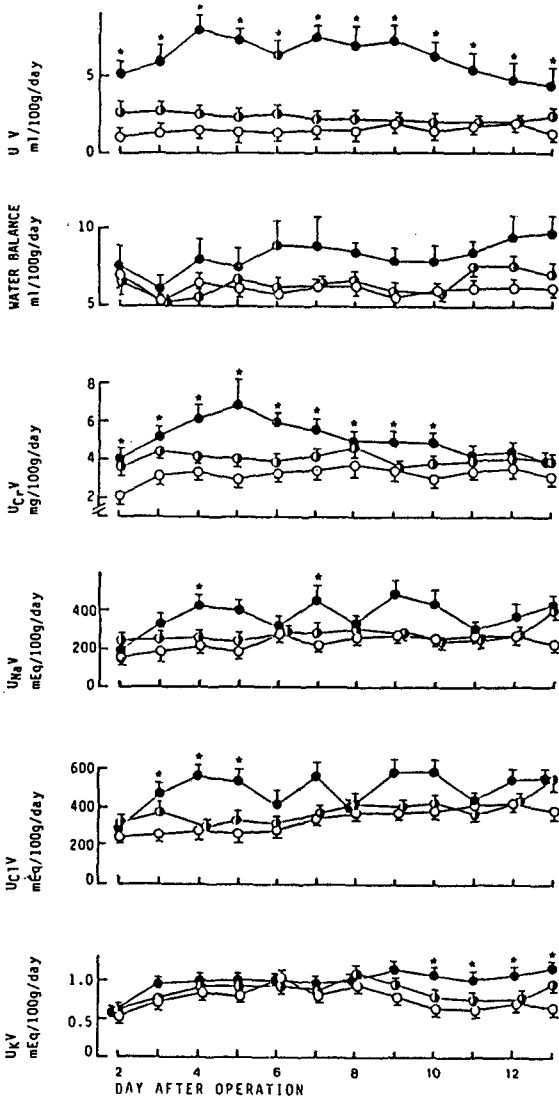


Fig. 3. Changes in urine volume (UV), water balance, and urinary excretion of creatinine (UCrV), sodium (UNaV), chloride (UClV) and potassium (UKV) in 2K1CHR (n=12, ●), 2K1CNR (n=12, ●), and sham-operated rats (n=9, ○). *Significantly different from sham-operated rats, $p < 0.01$.

다.

3. 고혈압 백서에서 수분 및 전해질 대사의 평형

대조군에 비하여 고혈압 백서군에서는 수술 2일째부터 현저한 요량의 증가를 보였으며, 이러한 현상은 수술 2주 후에도 지속적으로 나타났다(Fig. 3). 정상혈압의 Goldblatt 수술군에서는 이러한 요량 증가현상을 관찰할 수 없었다. 고혈압 백서군에서 수분평형은 대조군에 비하여 현저히 증가되어 있었으며, 요중 creatinine의 배설량은 유의하게 증가되었다. 요중 Na, K, Cl의 배설량은 고혈압군에서 유의한 증가를 보였다.

4. 고혈압 백서에서 ANP 투여에 의한 혈압의 변동

마취한 고혈압 백서에서 수축기 혈압은 ANP (atriopeptin III) 3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 투여시 164.3 ± 7.5 에서 145.5 ± 5.16 mmHg로, 그리고 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 투여시는 166.0 ± 6.82 에서 144.0 ± 6.11 mmHg로 유의하게 감소하였다(Fig. 4). 대조군인 sham 수술군에서는 ANP 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 투여시 128.5 ± 6.94 에서 86.3 ± 10.1 mmHg로 더욱 감소하였다(Fig. 5).

5. 고혈압 백서에서 ANP 투여에 의한 신혈류 역동학적 변화 및 전해질 배설의 증가

고혈압 백서(4주)에서 ANP 3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 의 정맥내 투여는 반대측 신장(contralateral kidney)의 요량을 현저하게 증가시켰다(Fig. 4). 신장기능의 여러지표는 신장무게로 환산하여 비교하였다. ANP 투여량을 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 로 높였을때 그 효과는 더욱 현저하였으며 사구체여과율(Ccr) 및 신혈장류(C_{PAH}) 역시 유의하게 증가하였다.

고혈압 백서군에서 ANP 투여에 의하여 요중 Na, K, Cl의 배설량이 현저히 증가되었으며(Fig. 4), 그 효과는 ANP의 투여량이 많을수록 컸다. Sham 수술군의 ANP에 대한 반응성은 고혈압군의 그것과 정성적으로는 유사하였으나 정량적으로는 큰 차이를 보였다(Fig. 5). ANP 투여에 의한 신혈류역동학적 지표와 요중 전해질 배설증가 효과는 고혈압 백서에서 현저하였다(Fig. 6).

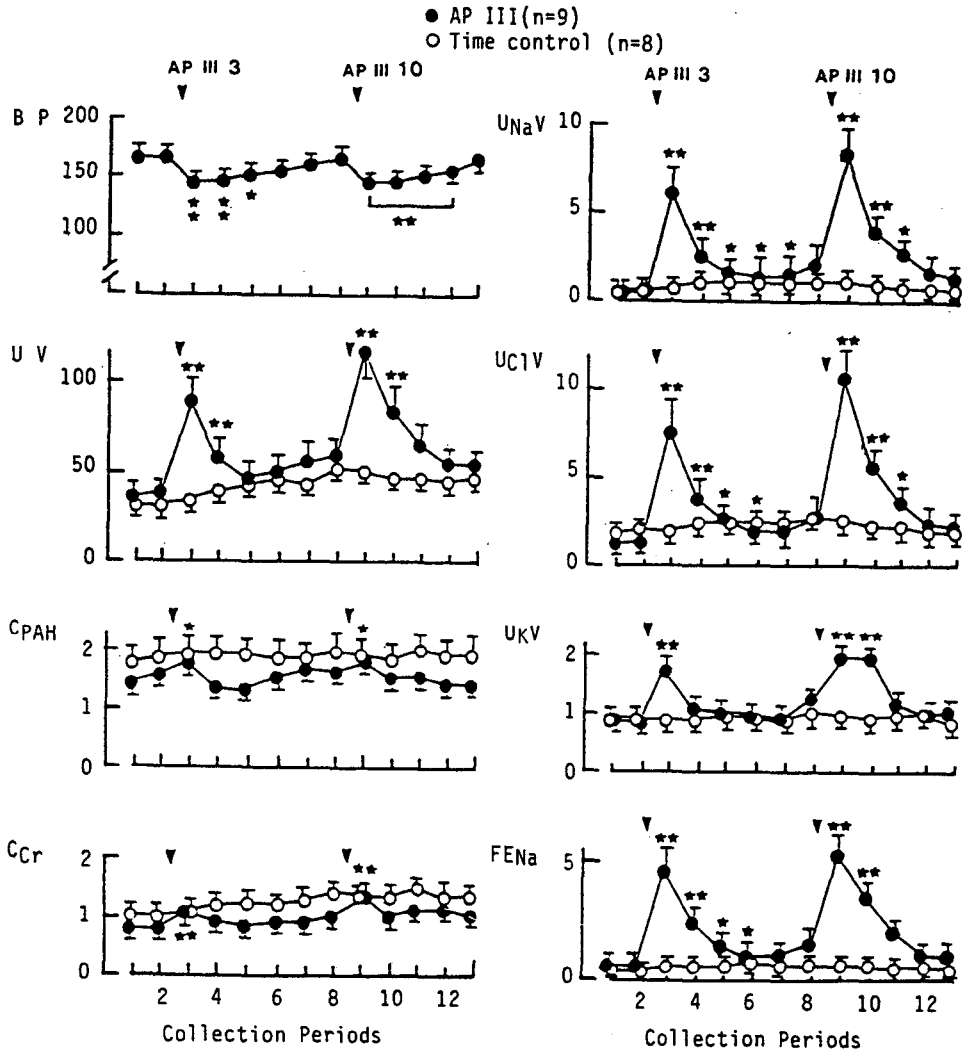


Fig. 4. Effect of intravenous administration of atriopeptin III at a dose of 3 ug/kg or 10 ug/kg on the blood pressure, renal hemodynamics and electrolyte excretions in 2K1CHR (n=9). BP, Blood pressure in mmHg; UV, urine volume in ul/min/g kidney weight; CPAH and CCr, clearances of para-aminohippuric acid and creatinine, in ml/min/g kidney weight, respectively; FENa, fractional excretion of sodium in %; UNaV, UKV, UC1V, urinary excretion of sodium, potassium and chloride in μ Eq/min/g kidney weight, respectively. *Significantly different from the control period, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

6. 고혈압 백서에서 ANP 반응성의 좌우 신장 차이

정맥에 투여한 ANP에 대한 신장의 반응성이 좌우신장사이에 정상적인 차이가 있는지 연구하였다. Fig. 7에서 보이는 바와 같이 ANP 투여가 요량증가

반응, RPF와 GFR에 미치는 효과 및 전해질 배설에 미치는 영향이 모두 양신장사이에 차이를 보이지 않았다.

고 안

ANP가 고혈압의 발생 및 지속적인 유지에 있어

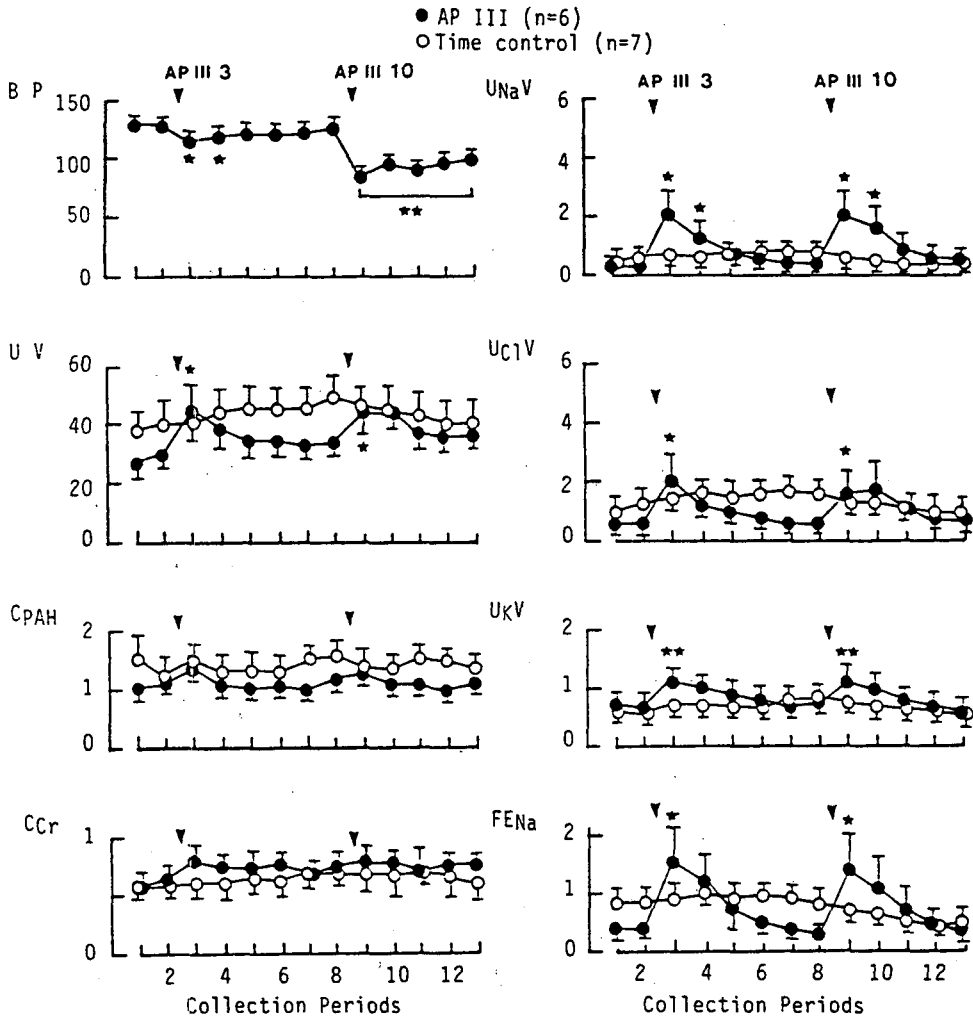


Fig. 5. Effect of intravenous administration of atriopeptin III at a dose of 3 ug/kg or 10 ug/kg on the blood pressure, renal hemodynamics and electrolyte excretions in sham-operated rats (n=6). Other legends are the same as in Fig. 4.

중요한 역할을 할것이라는 것은 ANP가 발견된 이래 계속 추측되어 왔다. 그 이유는 고혈압의 병태생리를 이해하는데 있어 가장 중요한 이론인 renin-angiotensin-aldosterone계의 각단계를 ANP가 차단할 수 있음이 알려졌기 때문이다(Atlas & Laragh, 1986). 즉 ANP는 renin 및 aldosterone 분비와 angiotensin II에 의한 혈관수축 반응을 감약 또는 차단시킬 수 있을 뿐만 아니라, 신장에서 요량 및 전해질 배설량을 항진시킬 수 있기 때문이었다. 본 연구의 결과는 고혈압이 발현되어 있는 동물에서 혈

장내 ANP 농도가 유의하게 증가되어 있음을 보여 주고 있다. 본태성 고혈압이나, 신성고혈압에서 혈장내 ANP 농도가 감소한다는 보고는 아직 없는 것 같다(Genest et al, 1988). 이는 전술한 고혈압발병의 원인이 심방으로 부터의 ANP 분비 또는 대사의 이상에 의하여 나타나는 것이 아님을 간접적으로 시사하는 것이다. 본태성 고혈압 환자(Sugawara et al, 1985; Sangnell et al, 1986), 본태성 고혈압 백서(Imada et al, 1985; Gutkowska et al, 1986 a; Kim et al, 1988), 전해질대사의 이상에 의하여 유발되는

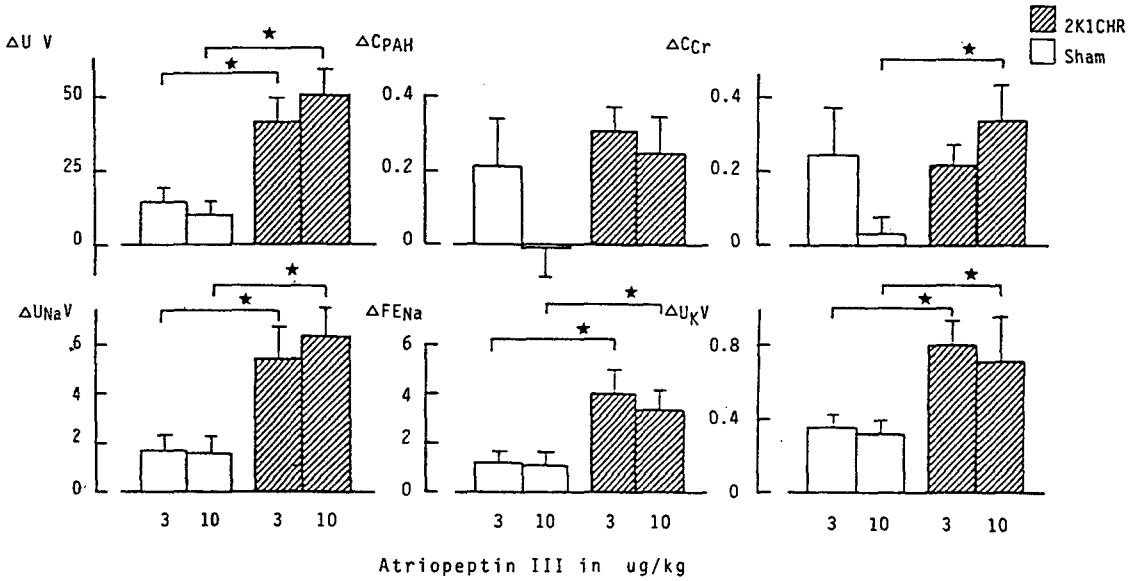


Fig. 6. Comparison of the renal responses of 2K1CHR and sham-operated normotensive rats to the atriopeptin III. Values were based on Fig. 4 and 5. Other legends are the same as in Fig. 4.

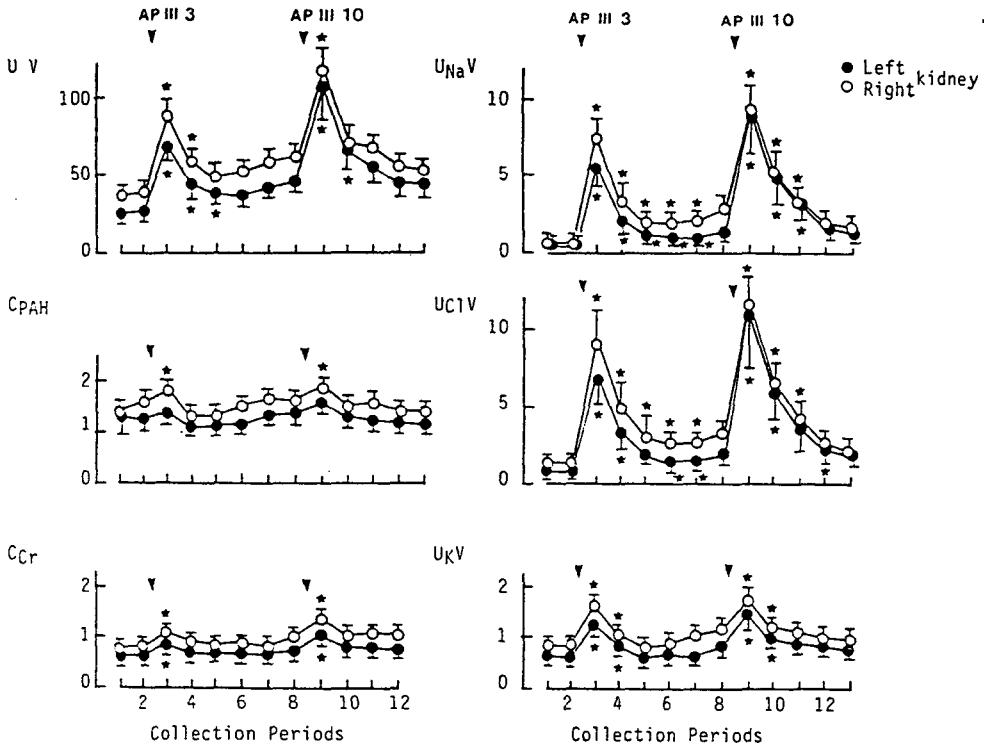


Fig. 7. Comparison of the effects of atriopeptin III on the renal function in clipped left kidney and untouched contralateral right kidney of 2K1CHR ($n=8$). Other legends are the same as in Fig. 4.

Table 1. Plasma concentrations of atrial natriuretic peptide, renin in two-kidney one-clip hypertensive rats (2K1CHR), two-kidney one-clip normotensive rats (2K1CNR), and sham-operated rats

Plasma ANP (pg/ml)	Sham	166.80 ± 4.42
	2K1CHR	216.80 ± 8.90**
	2K1CNR	177.20 ± 12.01
PRC (ngAI/ml/hr)	Sham	40.82 ± 4.28
	2K1CHR	105.93 ± 26.88*
	2K1CNR	52.84 ± 9.63

Values are the means ± SEM, ANP, atrial natriuretic peptide; PRC, plasma renin concentration. *Significantly different from the sham-operated group, *p < 0.05, **p < 0.01

고혈압의 백서모형 (Gutkowska et al, 1986 b; Snajdar & Rapp, 1986; Sugimoto et al, 1986; Grekin et al, 1986), 그리고 신성 고혈압 백서에서 모두 혈장 ANP 농도는 유의하게 증가한다. 본 연구에서와 같이 고혈압상태에서 혈장 ANP 농도가 증가하는 것은 혈압의 증가에 따른 atrial distension의 결과 이차적으로 나타난다는 가설 (Cho et al, 1988 b; Cho et al, 1988c; Lang et al, 1985; Ledsome et al, 1985)과 일치한다. 이러한 것은 혈압증가와 ANP 농도가 정비례하는 사실 (Fig. 2)로 뒷받침되고 있다. 혈장 renin 활성도의 증가도 기대한 바와 같이 신성고혈압의 한 특성으로서 나타났으며, 이때 혈장 ANP 농도 변화와 비례적인 관계를 보임은 대단히 흥미있는 현상으로서, 본 고혈압 모형에 있어서 ANP에 의한 renin 분비 억제 기전이 변조되어 있을 가능성을 시사하고 있는데 이점은 앞으로 더욱 연구되어야 할 것으로 생각된다.

신장의 renin 분비에 대한 ANP의 억제효과 뿐만 아니라 (Atlas & Laragh, 1986), 본 실험에서 보이는 체내 수분 저류에도 불구하고 혈장내 renin 활성도가 증가하는 사실 (Table 1)은 그러한 가능성을 강하게 시사한다. 또 다른 가능성으로는 renin 계에 대한 ANP 계의 지속적인 억제효과 때문에 혈장내 renin 활성도가 그 정도로 유지되고 있다고도 볼 수는 있을 것이다.

고혈압의 발생 원인이 근본적으로는 신장기능의 변조일 것이나, 본 연구에서 보이는 바는 ANP 투여에 의해 신장효과가 고혈압 백서에서 강화된다는 점이다. 이러한 결과는 본 실험과 유사한 실험모형을 사용한 Huang등(1989)의 보고와는 차이가 있는데, 그들은 정상혈압군과 반응성에 차이를 발견하지 못하였다. 본태성 고혈압의 동물모형인 spontaneously hypertensive rat에서 ANP에 대한 신장반응이 억제되어 있음을 고려할때 (Kim et al, 1988) 이러한 차이는 흥미있는 사실이다. 고혈압의 모델에 따라 ANP에 대한 신장반응성에 차이가 나는 기전은 아직 명확히 알 수 없으나, 고혈압의 발생원인에 따라 ANP에 대한 신장효과가 달라지는 것으로 사료된다. 이러한 신장반응성의 차이가 신기능에 대한 혈압의 영향과 연관할 가능성도 상상할 수 있다. 즉 본 연구에서 사용한 신성고혈압 모형은 좌신의 clipping에 의하여 유도 되었으므로 신장내 동맥압은 좌우신간에 차이가 있을 것이다. 그러나, 좌우 신장의 ANP에 대한 반응성을 동시에 비교한 실험군에서 양자간에 아무런 차이도 발견할 수 없었다 (Fig. 7). Huang등(1989)은 clipped 신장에서는 ANP의 신장효과를 보이지 않는다고 보고 하였으며, Gauquelin등(1988)은 신성고혈압 백서(2K1C)의 양측 신장 ANP binding 수용체에 차이가 있다고 주장한바 있다. 이러한 선행의 연구들과 본 연구결과를 비교할 때 고혈압 백서모형에 따라, 사용한 마취제에 따라, 그리고 hydration 정도에 따라 신장기능에 대한 ANP의 영향이 상이 할 것으로 사료된다. 특히 본 연구에서 유발한 mannitol 이뇨는 양측신장의 기능을 변화시켜 심장호르몬에 대한 반응성을 향진시킬 가능성이 있는데, 이 점은 앞으로 더욱 추구하여야 할 과제이다.

결 론

신성고혈압의 동물모형인 two-kidney one-clip Goldblatt 고혈압 백서에서 혈장 atrial natriuretic peptide (ANP) 농도의 변화 및 ANP에 대한 혈압 및 신장의 반응성에 관하여 연구하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

고혈압 백서의 혈장 ANP 농도는 유의하게 증가

하였으며, 이는 혈압과 밀접한 관련성을 보여주었다. ANP 투여에 의하여 혈압은 현저히 하강하였다. ANP 투여에 의하여 신혈류역동학은 유의한 변화를 보이지 않았으나, 요량 및 전해질 배설량은 유의하게 증가되어 있었다. 이러한 ANP의 신장효과는 고혈압 백서에서 더 현저하였다.

이상의 결과로 미루어 볼때 지속적인 고혈압때 나타나는 ANP 농도의 변동은 신성고혈압의 병인으로서가 아니라, 병의 결과 이차적으로 나타나는 현상으로 추측된다.

ACKNOWLEDGEMENTS

실험을 위하여 도움을 주신 남경화, 나은진양과 원고를 준비하는데 도움을 주신 설경미양에게 깊은 감사를 드립니다.

REFERENCES

- Atlas SA & Laragh JH (1986). Atrial natriuretic peptide: A new factor in hormonal control of blood pressure and electrolyte homeostasis. *Ann Rev Med* 37, 397-414
- Cho KW & Malvin RL (1979). Renin inactivation during *in vitro* experiment. *Am J Physiol* 236(5), F501-F504
- Cho KW & Kim SH (1982 a). Factors affecting the relationship between renal renin activity and plasma renin activity I. Experiments in the two-kidney one clip Goldblatt hypertensive rats. *Kor J Physiol* 16, 564-569 (in Korean)
- Cho KW & Kim SH (1982 b). Measurement of plasma renin activity by radioimmunoassay in microscale in small laboratory animals. *Jeonbuk Nat Univ Thesis Coll Nat Sci* 24, 355-359 (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, 255-262
- Cho KW, Seul KH, Ryu H, Kim SH & Koh GY (1988 a). Characteristics of distension-induced release of immunoreactive atrial natriuretic peptide in isolated rabbit atria. *Regul Peptides* 22, 333-345
- Cho KW, Seul KH, Kim SH, Ryu H & Koh GY (1988 b). Epicardial release of immunoreactive atrial natriuretic peptides in inside-out perfused rabbit atria. *Biochem Biophys Res Commun* 153, 811-817
- Chung SK & Cho KW (1985). Some aberrations of the renin-angiotensin system in spontaneously hypertensive rat. *Kor J Physiol* 19, 189-202 (in Korean)
- De Bold AJ, Borenstein HB, Veress AT & Sonnenberg H (1981). A rapid and potent natriuretic response to intravenous injection of atrial myocardial extract in rats *Life Sci* 28, 89-94
- De Bold AJ (1979). Heart atria granularity effects of changes in water electrolytes balance. *Proc Soc Exp Biol Med* 161, 508-511
- Garcia R, Cantin M, Thibault G, Ong H & Thibault G (1982). Relationship of specific granules to the natriuretic and diuretic activity of rat atria. *Experientia* 38, 1071-1073
- Garcia R, Cantin M, Genest J, Gutkowska J & Thibault G (1987). Body fluids and plasma atrial natriuretic peptide after its chronic infusion in hypertensive rats. *Proc Soc Exp Biol Med* 185, 352-358
- Gauquelin G, Schiffrin EL, Cantin M & Garcia R (1988). Atrial natriuretic factor: specific binding to renal glomeruli during the development of two-kidney, one-clip hypertension in the rat. *J Hypertension* 6, 587-592
- Genest J, Laroche P, Cusson JR, Garcia R, Gutkowska J & Cantin M (1988). The atrial natriuretic factor in hypertension. *Am J Med Sci* 295, 299-304
- Goodfriend T, Fasman G, Kemp D & Levine L (1966). Immunochemical studies of angiotensin. *Immunochemistry* 3, 223-231
- Grekin RJ, Ling WD, Shenker Y & Bohr DF (1986). Immunoreactive atrial natriuretic hormone levels in deoxycorticosterone acetate-treated pigs. *Hypertension* 8 (suppl II), 1116-1120
- Gutkowska J, Horkey K, Lachance C, Racz K, Garcia R, Thibault G, Kuchel O, Genest J & Cantin M (1986 a). Atrial natriuretic factor in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 8 (suppl I), 1137-1140
- Gutkowska J, Kuchel O, Racz K, Buu NT, Cantin M & Genest J (1986 b). Increased plasma immunoreactive atrial natriuretic factor concentrations in salt sensitive Dahl rats. *Biochem Biophys Res Commun* 136, 411-416
- Huang WC, Wu JN & Chao DH (1989). Differential renal response to atrial natriuretic peptide in two-

- kidney, one-clip Goldblatt hypertensive rats. *J Cardioasc Pharmacol* 13, 7-15
- Hunter WM & Greenwood FC (1962). Preparation of iodine 131 labelled human growth hormone of high specific activity. *Nature* 194, 495-496
- Imada T, Takayanagi R & Inagami T (1985). Changes in the content of atrial natriuretic factor with the progression of hypertension in spontaneously hypertensive rats. *Biochem Biophys Res Commun* 133, 759-765
- Je-Gal YJ & Cho KW (1986). Characteristics of control mechanism of renin-angiotensin system in two-kidney one clip hypertension. *Kor J Physiol* 20, 89-102 (in Korean)
- Kim SH, Kim SH, Seul KH & Cho KW (1988). Effects of atrial natriuretic peptide on renal and endocrine functions in spontaneously hypertensive rats. *Kor J Physiol* 22, 41-53 (in Korean)
- Kisch B (1956). Electron microscopy of the atrium of the heart. I. Guinea pig. *Exp Med Surg* 14, 99-112
- Lang RE, Tholken H, Ganten K, Luft FC, Ruskoaho H & Unger TH (1985). Atrial natriuretic factor—a circulating hormone stimulated by volume loading. *Nature (Lond.)* 314, 264-266
- Ledsome JR, Wilson N, Courneya CA & Rankin AJ (1985). Release of atrial natriuretic peptide by atrial distension. *Can J Physiol Pharmacol* 63, 739-742
- Marie JP, Guillemot H & Hatt PY (1976). Le degre de granulation des cardiocytes auriculaires. *Pathol Biol* 24, 549-554.
- Phillips RA (1944). In. *Quantitative Clinical Chemistry*, vol 2, Methods, edited by Peter J.P. and Vanslyke D.D., Williams and Wilkins
- Sangnella G, Markandu ND, Shore AC & MacGregor GA (1986). Raised circulating levels of atrial natriuretic peptide in essential hypertension. *Lancet* 1, 179-181
- Sealey JE & Laragh JH (1973). Searching out low renin patients: Limitation of some commonly used methods. *Am J Med* 5, 303-314
- Seymour AA, Smith SG & Mazack ED (1987). Effects of renal perfusion pressure on the natriuresis induced by atrial natriuretic factor. *Am J Physiol* 253 (2), F234-F238
- Smith HW, Finkelstein N, Aliminoso L, Crawford B & Graber M (1945). The renal clearance of substituted hippuric acid derivatives and other aromatic acids in dog and man. *J Clin Invest* 24, 388-404
- Snajdar RM & Rapp JP (1986). Elevated atrial natriuretic polypeptide in plasma of hypertensive Dahl salt-sensitive rats. *Biochem Biophys Res Commun* 137, 876-83
- Sugawara A, Nakao K, Sakamoto M, Morii N, Yamada T, Itoh H, Shiono S & Imura H (1985). Plasma concentration of atrial natriuretic polypeptide in essential hypertension. *Lancet* 2, 1426-1427
- Sugimoto T, Ishii M, Hirata Y, Matsuoka H, Sugimoto T, Miyata A, Toshimori T, Masuda H, Kangawa K & Matsuo H (1986). Increased release of atrial natriuretic polypeptides in rats with DOCA-salt hypertension. *Life Sci* 38, 1351-1358