

가토의 신장기능과 Renin 분비에 미치는 Adenosine 수용체 차단제의 영향

전북대학교 의과대학 생리학교실 및 충남대학교 의과대학 소아과학교실

이건수 · 김영진 · 김선희 · 조경우

(1989년 10월 23일 접수)

== Abstract ==

Effect of Adenosine Receptor Antagonists on the Renal Function and Renin Release in Rabbits

Keon Su Rhee*, Young Jin Kim, Suhn Hee Kim and Kyung Woo Cho

Department of Physiology, Jeonbuk National University Medical School

**Department of Pediatrics, Chungnam National University Medical School*

Recently it was suggested that the endogenous adenosine might be the mediator for the intercellular communication in the regulation of tubuloglomerular feedback control and renin release. Even though the previous data showed more important regulatory roles in the renal hemodynamics and renin release for the A1 adenosine receptor, it has not yet been settled down about the functional subclassification of renal adenosine receptors. The purpose of the present experiment was to clarify the importance of the renal adenosine receptors for the regulations of the hemodynamic, excretory and secretory functions. Experiments have been done in unanesthetized rabbits. Intrarenal arterial infusion of A1 adenosine antagonist, 8-phenyltheophylline, 3~30 nmole/min, increased urine flow, renal hemodynamics and urinary excretion of sodium. Intrarenal arterial infusion of A1 antagonist, 1-3-diethyl-8-phenylxanthine (DPX), 10~100 nmole/min, increased renal hemodynamics and excretory functions. Non-specific adenosine antagonist, theophylline, 30~300 nmole/min, resulted in dose dependent increases in renal hemodynamics and excretory function. All of the three adenosine antagonists for the increases in renal hemodynamics, excretory and secretory functions was 8-phenyltheophylline > DPX > theophylline. These results suggest that the endogenous adenosine is important for the intrinsic regulatory roles for the renal functions through the adenosine receptors, and that the A1 adenosine receptor is more important than the A2 receptor in the regulation of renal hemodynamics, excretory and renin secretory functions.

Key Words: Adenosine antagonist, Renin, Renal function, Rabbit

서 론

신장내 생성된 adenosine은 신장기능의 일부 즉 신혈류역동 및 renin 분비등의 기능을 역으로 조절하는 내재적 인자임이 알려져 왔다. Adenosine이 대부분의 혈관에서 이완효과(Hashimoto & Kuma-

kura, 1965; Haddy & Scott, 1968)를 보이는 데 반하여 신장혈관에서는 수축 반응(Spielman & Thompson, 1982)을 일으켜 사구체여과율의 감소, 신혈류량의 일시적 감소후 증가하는 biphasic 현상(Arena et al, 1984; Osswald, 1986; Osswald et al, 1978; Spielman et al, 1986; Tagawa & Vander, 1970)을 보이는 점등은 매우 흥미있는 사실이다. Adenosine

은 전해질 배설조절기전에 있어서도 중요한 조절인자로 역할하고 있을 것이라고 주장되었다. 즉, 신세뇨관의 Na 재흡수 과정이 증가되었을 때 ATP 분해에 따라 adenosine의 생성량이 증가하며, 이 adenosine은 "tubuloglomerular feedback" 조절기전에 의하여 사구체 여과율의 감소를 일으킬 것이라고 Osswald등(1980), Spielman등(1982)은 주장하였다.

신장에서 에너지 의존적 재흡수과정 이외에 ischemia (Miller et al, 1978)와 같은 에너지 결핍시에도 생성된 adenosine이 신혈관을 수축 시킴으로써 급성신부전 발생초기의 병태생리와 관련이 있음이 보고(Arnold et al, 1986; Lin et al, 1987)되었다. Adenosine은 renin분비를 억제함이 알려져 있으며, 그 작용기전은 adenosine의 직접적인 작용(Itoh et al, 1985; Skott & Baumbach, 1985), angiotensin II에 의한 "negative feedback" 조절(Keeton & Campbell, 1980) 및 교감신경계 기능억제(Deray et al, 1987) 등에 의한 과정으로 추론하고 있다.

세포막에는 두 종류의 adenosine 수용체가 존재함이(Londos et al, 1980; Daly et al, 1982) 보고되었으며, adenosine 유사체 중 N-6-cyclohexyladenosine (CHA)은 A1-adenosine 수용체에, 5'-N-carboxamido adenosine (NECA)는 A2-adenosine 수용체에 보다 선택적으로 작용함이 밝혀졌다. 적출된 관류신장모형(Murray & Churchill, 1984), 정맥내 투여방법(Churchill & Bidani, 1987), 신장의 조직간질액내 투여방법(Pawlowska et al, 1987) 및 신동맥내 직접 약물투여방법(Song et al, 1988) 등에 의하여 비록 그 결과가 일치하고 있지는 않으나, 신장기능의 조절에도 두 종류의 adenosine 수용체가 관련되어 있음이 주장되었다.

Adenosine 또는 adenosine 유사체에 의한 신혈류 역동학적 변화, "tubuloglomerular feedback" 조절, 급성신부전증 발생, 또는 renin 분비효과등이 methylxanthine 유도체인 theophylline에 의하여 억제될 수 있음이 보고된 바 있으며(Arena et al, 1984; Bowmer et al, 1986; Lin et al, 1986; Lin et al, 1987; Osswald, 1986; Spielman, 1984) 이는 오랫동안 흥미의 대상이 되었던 xanthine계 물질들이 신장기능에 미치는 효과를 이해하는데 의미를 갖게 하였다. 다른 장기에 있어 adenosine 차단효과에 대한

연구는 많은 진전을 보이고 있으나(Fredholm et al, 1987; Snyder et al, 1981; Ukena et al, 1986), 신장기능에 미치는 효과에 대해서는 아직 많은 연구가 되어 있지 않다(Collis et al, 1986).

따라서 저자는 xanthine 유도체들 중 A1 및 A2 adenosine 수용체의 비선택적 길항제이면서 대표적 methylxanthine 유도체인 theophylline (1, 3-dimethylxanthine)과 phenylxanthine 유도체 중 A1 adenosine 수용체에 선택적 길항제인 8-phenyltheophylline (1, 3-dimethyl-8-phenylxanthine, 8-PT) 및 1, 3-diethyl-8-phenylxanthine (DPX)를 무마취 가토 실험동물에 직접 투여하여 신장에 내재하여 신장기능과 renin분비에 영향을 미치는 adenosine 작용의 차단 효과 또는 이 약물자체의 작용과 유용성을 구명함과 동시에 potency를 정량적으로 비교분석하고자 본 연구를 시도하였다.

실 험 방 법

1. 실험동물

실험동물은 체중 1.8 Kg내외의 백색가토를 암수 구별없이 사용하였으며, 실험전 일주일간은 물과 사료를 충분히 주어 안정시킨 후 사용하였다.

2. 좌측 신정맥내 cannula삽입 및 신동맥내 약물의 주입

Cho등(1987)의 방법에 따라 하였다. 실험 1~2일 전에 thiopental sodium, 20 mg/kg의 정맥투여로 마취하여 좌측 측복절개를 5~6 cm 가하였다. 장을 0.9% NaCl용액의 젖은 천으로 복강내에서 약간 한쪽으로 밀어 좌측 신정맥을 조심스럽게 노출시켰다. 1,000 IU heparinized saline이 채워진 23G PE관에 연결된 24G Neoflon needle tubing을 좌측 신정맥에 삽입하였으며, 실험당일까지 혈액이 응고되지 않도록 하루에 두번씩 heparin saline으로 관류하였다.

실험당일에는 thiopental sodium 20 mg/kg의 정맥투여로 마취하여 토기 고정대에 양와위로 고정하였다. 대퇴동맥의 일정한 부위에서 23G PE관을 13.5 cm정도 상방으로 삽입하여 추정되는 양측 신동맥 분지사이에 cannula의 경사진 끝이 좌측으로 위치하도록 하였다. Cannula 끝의 위치는 양측 신장의

para-aminohippuric acid (PAH) 배설량의 비율을 비교함으로써 추정할 수 있었으며, 실험 후 부검하여 cannula 끝의 위치를 확인하였다.

3. 용액의 주입 및 집뇨 방법

이정맥에 24G Neoflon needle tubing을 통하여 용액을 주입하였다. 사용한 용액의 조성은 glucose 3%, NaCl 0.3%, creatinine 0.3%, 그리고 PAH 0.04%였으며, infusion pump를 사용하여 30 ml/kg/hr의 속도로 주입하였다.

집뇨는 하복부에 작은 중앙절개를 하여 수뇨관을 노출시키고 silicon관을 삽입하여 양측 요를 각각 분리하여 채취하였다. 약 150~180분 동안 용액조성 중 PAH만 제외된 용액을 주입하여 hydration시킨 다음 PAH (8 mg/kg)의 정맥내 투여와 동시에 원래 조성용액으로 바꾸어 주입하였다. 그 후 10분 간격으로 양측뇨를 3~4회 집뇨하여 대조치로 사용하였으며, 약물투여 30분간과 그후에 10분 간격으로 5~6회 집뇨하여 실험치로 사용하였다.

4. 약물투여

Theophylline과 DPX는 saline에, 8-PT는 0.04N NaOH용액에 녹혀 투여 직전 saline에 희석하여 사용하였으며, 예비실험을 하여 신장기능과 renin 분비율의 변화를 보이는 양을 선택하였다.

투여방법은 대퇴동맥 cannula를 Harvard infusion pump에 연결하여 주입속도 0.1 ml/min로 투여하였으며, 상기한 약물은 일정한 비율로 inulin이 들어있는 용액에 녹힌 후 투여하여 요중 배설되는 inulin양을 측정함으로써 실제 좌측 신동맥내로 투여한 양을 산출하였다.

5. Renin 분비율

Renin 분비율 (renin secretion rate)을 보기 위한 신정맥과 동맥에서의 채혈은 각각 신정맥 cannula와 대퇴동맥 또는 중심이동맥에 삽입된 cannula를 통해 150 µl씩 약물투여 직전과, 투여중 15분과 25분에 하였다. 채혈 후 바로 냉각, 원심분리하여 혈장 renin 활성도를 측정하였다. Renin 분비율은 계산에 의하였다.

6. 신장기능 측정을 위한 채혈과 혈압의 측정

신장기능을 검색하기 위한 채혈은 집뇨후에 대퇴동맥 cannula를 통해 2 ml정도 채취하여 냉각, 원심분리하여 화학적인 분석에 사용하였다. 혈압변동의 관찰은 대퇴동맥 cannula를 pressure transducer에 연결하여 multichannel recording system으로 기록하였다.

7. 화학적 분석

채집한 요와 혈액의 화학적 분석중 PAH는 Smith 등(1945)의 방법으로 측정하였으며, 사구체여과율을 보기 위해 측정된 creatinine은 Phillips (1944)의 방법에 따른 spectrophotometry에 의하였다. Na와 K는 flame-photometer, Cl은 digital chloridometer, osmolarity는 빙점강하의 원리를 이용한 osmometer를 사용하여 측정하였다. Inulin측정은 Vurek 및 Pegram (1966)의 방법에 따른 fluorospectrophotometry에 의하였다.

8. Renin 활성도 측정을 위한 방사면역측정법

혈장 renin 활성도는 소량(혈장 50 µl)의 시료에 대량의 renin 기질을 사용하여, 생성된 angiotensin I을 측정하는 plasma renin concentration (PRC)으로 측정하였다. Renin 활성도의 측정은 Cho 등 (1987, 1989)의 방법에 의하였다.

9. 사용약물

사용한 약물중 8-phenyltheophylline과 1, 3-diethyl-8-phenyl-xanthine (DPX)는 Research Biochemicals Inc.제, theophylline, angiotensin I (5-Ile, 9-His), 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide hydrochloride, rabbit and bovine serum albumin, phenylmethylsulfonylfluoride, neomycin, Trizma, phenylmercuric acetate, maleic acid, creatinine, para-amino-hippuric acid, inulin은 Sigma제, Dextran T-70은 Pharmacia제, glucose는 Fluka제, angiotensin I [(5-Ile), (tyrosyl-I-125)]는 New England Nuclear제, 그리고 thiopental sodium은 대한약품제를 그리고 기타의 시약은 특급을 사용하였다.

10. 통계적 처리

실험결과의 통계적 처리는 Student paired t-test와 unpaired t-test에 의하였으며, p-value가 최소 0.05의 값을 보이는 경우 유의한 차이의 한계로 삼았다. 실험치의 표현은 mean±SE로 하였다.

실 험 결 과

1. Theophylline, 8-PT 및 DPX가 요량, 신혈류역동학적 변화 및 전신혈압에 미치는 영향

실험신장내 theophylline을 각각 30, 100 및 300 nmole/min을 투여할 때에 실험신장의 요량은 투여기간동안 투여량에 비례하여 증가하였으며, 신혈류량과 사구체여과율은 투여량에 관계없이 일정수준 증가하였다(Fig. 1).

약물투여 정지후 300 nmole/min투여군에서 대조기간에 비해 신혈류량과 사구체여과율의 10~30분 간에 걸친 감소효과를 제외하고 모든 투여군에서 원상으로 회복되었다. 대조신장인 반대측 신장에서는 별다른 변화를 관찰할 수 없었다. 실험신장내 8-PT를 각각 3.0, 10.0 및 30.0 nmole/min을 투여할 때에 실험신장의 요량은 투여기간동안 투여량에 비례하여 증가하였으며 투여 첫 10분 때에 최대 효과를 나타내었다(Fig. 2). 8-PT를 계속 투여함에도 불구하고 그 이상 증가현상이 일어나지 않았으며, 30 nmole/min투여군에서 투여 20분 때에 반대측 신장에서 요량증가를 나타내었다. 투여 정지후 40~50분간에 걸쳐 10.0 및 30.0 nmole/min투여군에서 실험 및 대조신장의 요량이 현저히 감소하였다. 8-PT투여 첫 10분 때에 신혈류량과 사구체여과율의 최대효과를 나타내었고 투여량중 10.0 nmole/min투여시 가장 효과가 현저하였으며, 계속 투여함에도 불구하고 그 이상 증가효과는 나타나지 않았다. 8-PT, 30 nmole/min투여군에서 투여 정지후 40분간에 걸쳐 실험신장과 대조신장의 신혈류량과 사구체여과율의 현저한 감소를 볼 수 있었다. 소량의 8-PT 투여시는 반대측 신장에 하등의 영향을 보이지 않았다. 실험신장내 DPX를 각각 10, 30 및 100 nmole/min투여시 실험신장의 요량 증가효과와 투여 정지

후 양측신장의 요량 감소효과는 8-PT에 의한 효과와 유사하였다(Fig. 3). 신혈류량은 DPX, 30 nmole/min투여 첫 10분 때에 유의한 증가를 보였다.

사구체여과율은 DPX 10 및 30 nmole/min투여군에서 투여기간동안 일정수준의 증가를 보였으나 100 nmole/min투여군에서는 별다른 변화가 없었다. 상기의 변화가 일어나는 동안 전신혈압의 변동은 관찰되지 않았다. Fig. 4는 약물 투여 10분 때의 요량과 신혈류역동학적 변화를 대조기간치를 기준으로 하여 용량반응곡선으로 표현한 것이다. 요량, 신혈류량 및 사구체여과율의 뚜렷한 용량곡선을 볼 수 있었다.

용량곡선으로 비교해 볼 때 potency는 8-PT > DPX > theophylline의 순서였다.

2. Theophylline, 8-PT 및 DPX가 전해질과 유리수분배설량에 미치는 영향

실험신장내 theophylline을 각각 30, 100 및 300 nmole/min투여시 투여량과 투여시간에 비례하여 실험신장은 투여 10분 이내에, 반대측 대조신장은 투여 20~30분 후에 요중 Na, K 및 Cl 배설량과 Na의 분획 배설량(FENa)의 증가를 보였으며, 투여 정지후 30~60분까지 양측신장에서 상기 증가효과가 지속됨을 관찰하였다(Fig. 1). 유리수분배설량은 30 및 100 nmole/min투여군에서 별다른 변화를 발견하지 못했으나, 증량하여 300 nmole/min을 투여할 때에 투여 첫 10분 때에 양측신장의 증가효과와 더불어 투여정지후 20분 부터 실험종료 때까지 감소효과를 나타내었다. 8-PT를 각각 3.0, 10.0 및 30.0 nmole/min투여시 시간적으로나 양적으로 효과에 차이는 있으나 투여량에 비례하여 요중 Na, K 및 Cl 배설량과 FENa의 증가를 양측신장에서 관찰할 수 있었다(Fig. 2).

요중 Na 배설량과 FENa의 증가효과는 실험신장에서 투여 20분때 최고의 반응을 보였으며 그 이상의 증가현상은 나타나지 않았다. 약물투여 정지후 10분 이내에 요중 전해질 배설량의 효과는 원상으로 회복되었다. 유리수분배설량은 각 투여군에서 투여 10분 때에 증가의 최대효과를 나타낸 뒤 감소되었으며 10.0 및 30.0 nmole/min투여군에서 투여 정지후

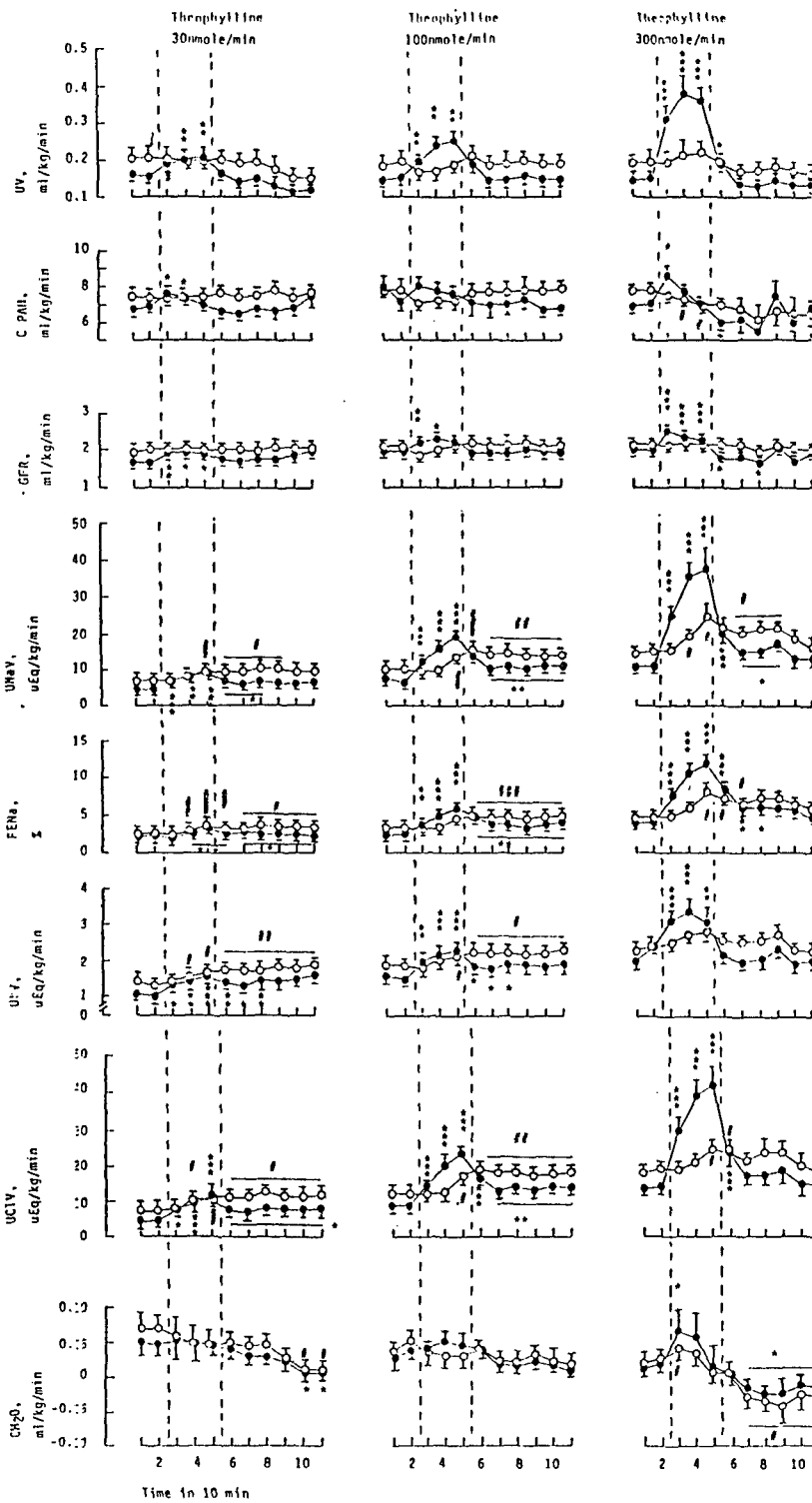


Fig. 1. Effect of intrarenal arterial infusion of theophylline for 30 min on renal functions in unanesthetized rabbits. UV, Urine flow; CPAH, clearance of para-amino-hippuric acid; GFR, glomerular filtration rate; UNaV, urinary excreted amount of sodium; UCIV, urinary excreted amount of chloride; UKV, urinary excreted amount of potassium; FENa, fractional excretion of sodium; CH₂O, clearance of free water. Open dots indicate control right kidney and closed dots indicate experimental left kidney. *, Significantly different from control period in experimental kidney, *, $p < 0.05$, **, $p < 0.01$, ***, $p < 0.001$. #, Significantly different from control period in control kidney, #, $p < 0.05$, ##, $p < 0.01$, ###, $p < 0.001$.

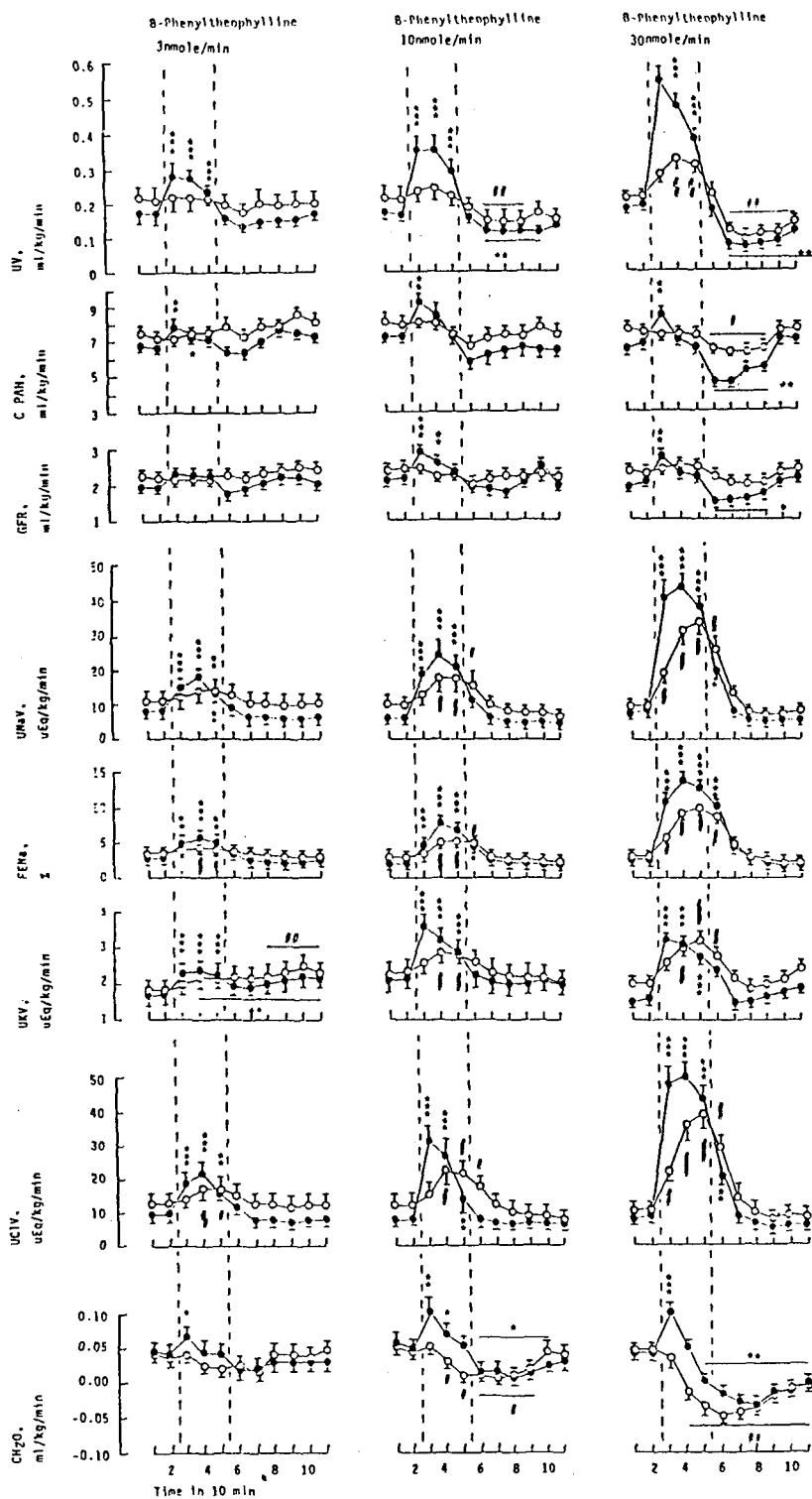


Fig. 2. Effect of intrarenal arterial infusion of 8-phenyltheophylline for 30 min on renal functions in unanesthetized rabbits. Other legends are the same as in Figure 1.

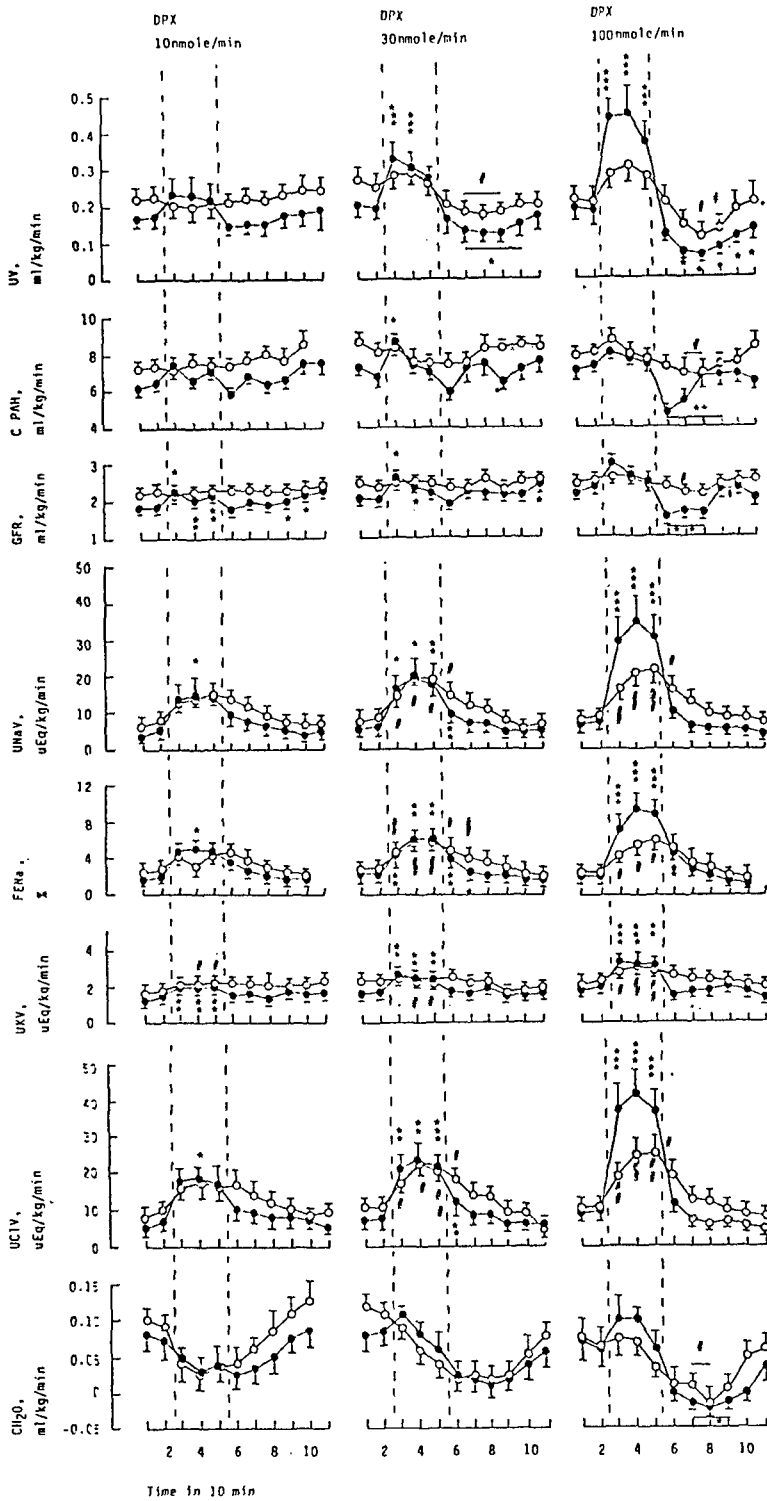


Fig. 3. Effect of intrarenal arterial infusion of 1, 3-diethyl-9-phenylxanthine (DPX) on renal functions in unanesthetized rabbits. Other legends are the same as in Figure 2.

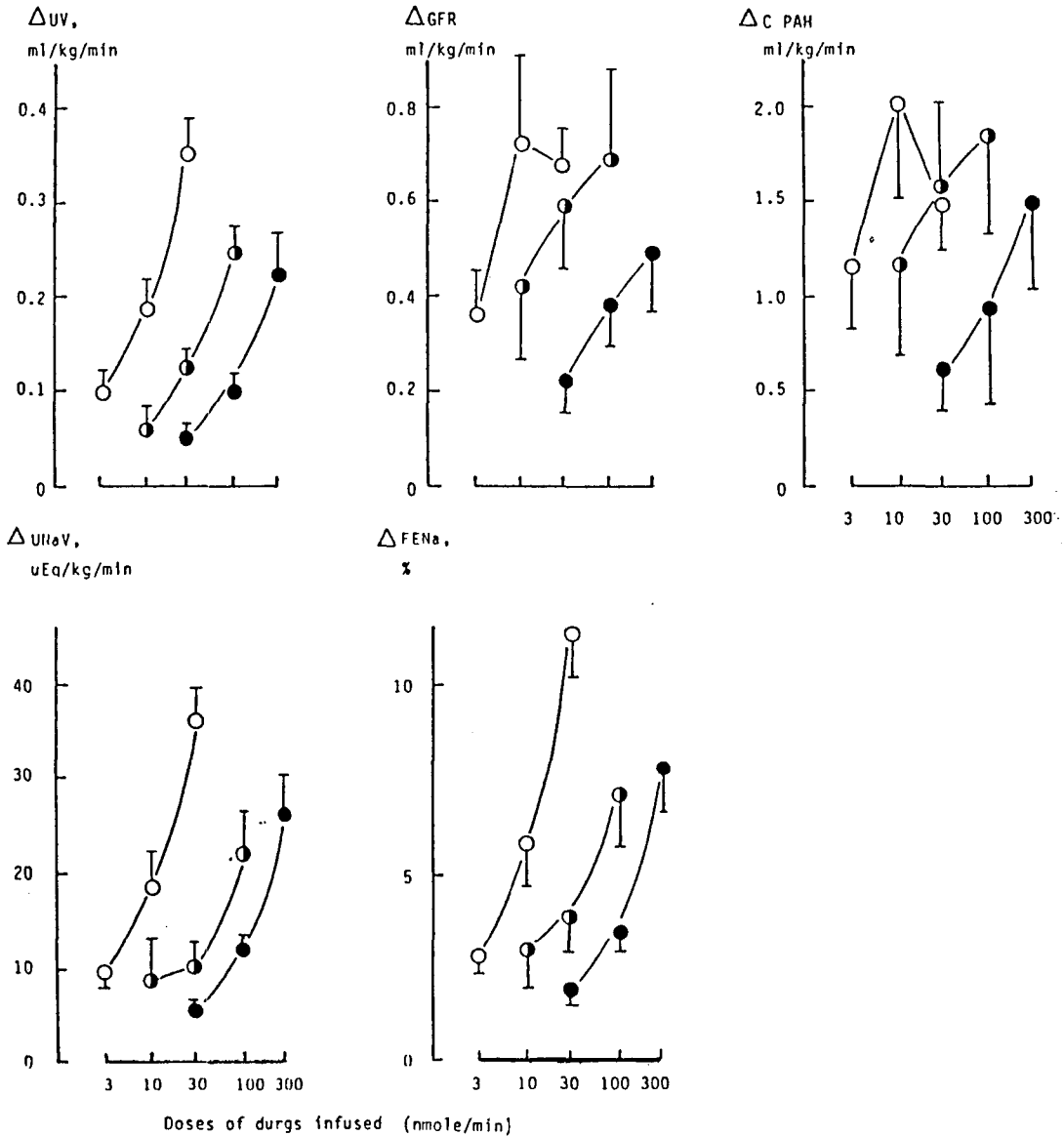


Fig. 4. Peak renal effects in response to theophylline (●), 8-phenyltheophylline (○), and 1, 3-diethyl-8-phenylxanthine (●), Other legends are the same as in Figure 1.

양측신장 모두 40~50분간 지속되는 감소의 변화를 보였다. 8-PT, 10 및 30 nmole/min 투여시 투여신장에서 유리수분 증가반응에도 불구하고 반대측 신장의 유리수분 배설량은 유의한 감소를 보였다. 실험신장내 DPX를 10, 30 및 100 nmole/min 투여시 양측 신장 모두 요중 Na 및 Cl 배설량과 FENa의 증가, 일정수준의 요중 K 배설량의 증가를 관찰할 수

있었다(Table 7~9, Fig. 6). DPX 투여기간 동안 유리수분배설량의 유의한 변화는 나타나지 않았으나 30 및 100 nmole/min 투여시 투여정지후 감소의 경향을 보였으며 다시 원상으로 회복되었다.

Fig. 4는 약물투여 10분 때의 요중 Na 배설량과 FENa의 변화를 대조기간치를 기준으로 하여 용량 반응곡선으로 표현한 것이다. 요중 Na 배설량 및

Table 1. Effect of intrarenal arterial infusion of 8-phenyltheophylline, 1,3-diethyl-8-phenylxanthine, and theophylline on renin secretion rate in unanesthetized rabbit

	Time after infusion	Doses of Antagonists (nmole/min)				
		3	10	30	100	300
8-Phenyltheophylline	-20 min	-2.93 ± 6.50	17.14 ± 6.81	15.29 ± 6.70		
	10 min	10.56 ± 8.10**	74.01 ± 22.09*	109.15 ± 46.62*		
	30 min	14.34 ± 7.27*	60.62 ± 16.33	77.28 ± 17.03**		
Diethyl-8-phenylxanthine	-20 min		6.49 ± 9.66	-7.80 ± 17.50	27.87 ± 8.99	
	10 min		17.81 ± 13.42	29.41 ± 9.16*	84.07 ± 29.17	
	30 min		-2.54 ± 10.14	-5.55 ± 9.71	140.96 ± 46.99*	
Theophylline	-20 min			19.81 ± 9.14	23.63 ± 8.38	37.56 ± 11.89
	10 min			58.98 ± 14.45*	81.32 ± 40.16	88.44 ± 35.29
	30 min			47.98 ± 12.59	47.98 ± 24.64	69.60 ± 97.68

Values are the means ± SEM. *, Significantly different from control period, *p<0.05, **p<0.01.

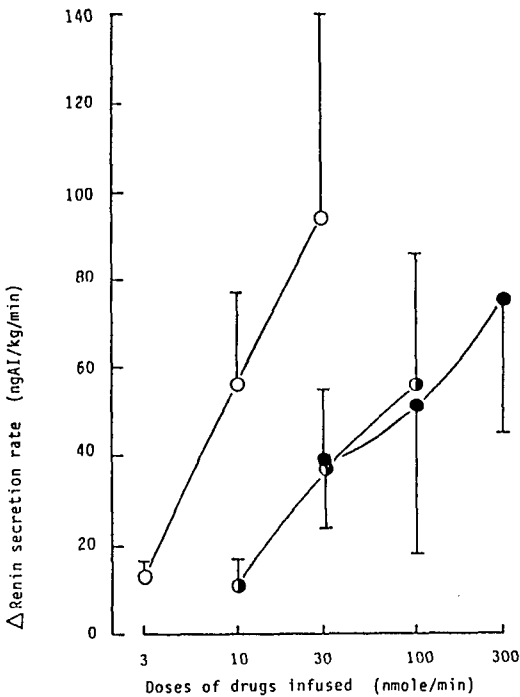


Fig. 5. Peak effects of renin secretion rate in response to theophylline (●), 8-phenyltheophylline (○), and 1, 3-diethyl-8-phenylxanthine (○). Other legends are the same as in Figure 1.

theophylline의 순서였다.

3. Theophylline, 8-PT 및 DPX가 renin 분비에 미치는 영향

실험신장내 theophylline, 8-PT 및 DPX를 투여하기 10분전의 대조기간과 투여 15분 및 25분때에 나타난 renin 분비의 변화를 관찰하였다(Table 1).

Theophylline, 30, 100 및 300 nmole/min 투여시 대조기간에 비해 투여 15분 및 25분 때에 모두 증가하였으나, 투여량에 비례하지는 않았다. 8-PT, 10 nmole/min 투여시 현저한 증가를 관찰하지 못했으나, 30 및 100 nmole/min 투여시 증가하였으며 약물을 계속 투여함에도 불구하고 그 이상의 증가는 없었다. DPX는 사용한 양의 범위내에서 투여 15분 때에 투여량에 비례하여 renin 분비의 증가를 나타내었으나, 투여 25분 때는 30 nmole/min 투여군에서만 유의한 증가를 나타냈다.

Fig. 5는 약물투여 15분 때의 renin 분비율의 변화를 대조기간치를 기준으로하여 용량반응곡선으로 표현한 것이다. Renin 분비 증가효과를 나타내는 약물의 potency는 8-PT > DPX > theophylline의 순서였다.

고 안

FENa는 투여량에 비례하여 증가하였으며 용량반응 곡선으로 비교해 볼 때 potency가 8-PT > DPX >

Xanthine 유도체들이 세포에 미치는 효과는 ①

세포내의 calcium 이동, ② 세포내의 cyclic nucleotide의 phosphodiesterase (PDE)억제, ③ 세포막외벽에 존재하여 있는 adenosine 수용체의 길항작용 등에 의하여 나타남이 알려져 있다(Rall, 1980). 본 실험에서 사용한 theophylline이 ① 및 ②의 효과를 나타내려면 millimolar 농도가 필요(가토 신피질 c-AMP PDE를 50% 억제하려면 600 μ M필요함)하나 ③의 효과를 나타내는 데는 micromolar 농도에서 나타남이 알려졌다(Fredholm et al, 1978).

Xanthine 유도체중 phenylxanthine 유도체인 8-PT와 DPX는 ①과 ②의 효과를 거의 나타내지 않고 ③의 효과만을 독특하게 나타낸다고 알려져 있다(Smellie et al, 1979). 세포막에 존재하는 A1과 A2 adenosine 수용체 중 theophylline은 비특이적으로 A1과 A2 adenosine 수용체에, 8-PT와 DPX는 A1 adenosine 수용체에 선택적으로 길항작용(Fredholm & Persson, 1982; Ciemo et al, 1987)을 나타낸다고 하며, 심혈관계와 중추신경계에 대한 A1 adenosine 수용체 길항작용을 비교해 볼 때 그 potency는 DPX > 8-PT > theophylline의 순서로 보고(Snyder et al, 1981; Ukena et al, 1986; Fredholm et al, 1987) 되었다. 따라서 본 실험에 사용한 약물의 농도는 세포내의 calcium 농도나 c-AMP양의 변조를 통해 일어난 효과가 아니며, 신세포내(Arch & Newsholme, 1978) 및 세포간질액(Trimble & Coulson, 1984)에 0.1~20 μ M로 존재하여 신세포막의 A1 및 A2 adenosine 수용체에 작용하는 adenosine의 생리적인 역할의 길항작용에 의해 나타난 결과라 생각된다.

다른 장기와 마찬가지로 신장기능도 신장자체에서 생성된 대사물질 즉 adenosine에 의해 내적조절됨이 알려져 있다(Thurau, 1964; Osswald et al, 1978; Osswald et al, 1980) 신혈류량 및 사구체여과율이 증가하여 신세뇨관에 부과되는 Na양이 많아지면, 신세뇨관의 Na재흡수량이 증가하고 Na 재흡수시 ATP분해가 증가할 것이며 따라서 대사산물로써 adenosine생성량이 증가할 것이다. 이 adenosine은 신장혈관을 수축시켜 사구체 여과율을 감소시킴으로써 신세뇨관에 부과되는 Na량을 감소시킨다는 이른바 "tubuloglomerular feedback system"의 조절인자로 작용할 것이다.

이 사실을 증명하고자, 실험동물에 고농도의 saline을 직접 신동맥내 투여하여 adenosine 생성량의 증가와 더불어 사구체여과율의 감소효과(Osswald et al, 1980)를 관찰한 바 있으며, 신동맥내 adenosine을 투여하여 투여량에 비례하여 사구체여과율이 감소됨이 보고되었다(Tagawa & Vander, 1970; Osswald et al, 1978; Arena et al, 1984; Osswald et al, 1986; Spielman et al, 1986) 이러한 현상을 관찰한 많은 연구에서 보고자들에 따라 약간 상이하나 대체적으로 adenosine은 사구체의 수입세동맥을 수축시키거나 수출세동맥을 이완시켜 사구체여과율을 감소시킨다 하며 이러한 효과는 adenosine의 직접작용(Spielman & Thompson, 1982; Arena et al, 1984; Osswald, 1986) 또는 adenosine을 경유한 신장내 angiotensin II와의 상호작용(Spielman & Osswald, 1979; Hall & Granger, 1986) 및 교감신경의 변조(Hedqvist et al, 1978; Katholi et al, 1983)등에 의하여 나타난다고 주장되었다. 신동맥내 adenosine 투여시 신혈류량은 일시적으로 감소한 후 증가하는 "biphasic 현상"을 보이는 데 이 현상에 대해서는 아직 그 기전이 확실하지 않다(Spielman & Thompson, 1982).

상술한 adenosine에 대한 신혈류역동학적 효과는 PDE 활성도에 영향을 주지않고 adenosine의 작용만을 차단하는 양의 theophylline에 의해 차단됨이 관찰되었다(Bowmer, 1986; Osswald, 1986; Pawlowska et al, 1987). 이와같은 사실들은 신장의 혈관벽에는 adenosine 수용체가 신혈류역동학적 기능을 조절함으로써 신장내적 조절기전에 중요한 역할을 담당하고 있음을 확실하게 하였다.

신혈류역동학에 관하여 adenosine 유사체를 적용한 최근의 연구에 의하면 A1과 A2 adenosine 수용체가 독립적으로 존재함이 밝혀졌다. Murray와 Churchill 등의 일련의 실험을 통한 보고(Murray & Churchill, 1984; Murray & Churchill, 1985)에 의하면, A1 adenosine agonist인 CHA를 소량(submicromolar) 투여시 수입세동맥의 저항성 증가, 다량(micromolar) 투여시 감소를 일으켜 사구체여과율의 증가 및 감소를 일으키는 이중효과를 나타내나, A2 adenosine agonist인 NECA 투여시는 micromolar 이하에서 투여량에 관계없이 수입 및 수출

세동맥의 감소를 가져와 사구체여과율 증가를 가져온다 하였다. Pawlowska 등의 보고(1987)와, Song 등(1988)의 본 실험에서 사용한 바의 동일한 모형에서 A1 adenosine agonist뿐만 아니라 A2 adenosine agonist도 신장혈관을 수축시켜 사구체여과율을 감소시킨다 하여 A2 adenosine 수용체의 역할에 관한 상반된 결과를 보고하였다. 본 실험결과에서 보이는 바 theophylline을 신동맥내 투여할 때에 신혈류량과 사구체여과율은 일과성으로 증가하는데 이는 A1 및 A2 adenosine 수용체에 관계없이 비선택적으로 신혈관벽의 adenosine 수용체에 작용하는 내재성인 adenosine의 차단효과에서 비롯된 것으로 생각된다. 8-PT 및 DPX 투여시 첫 10분 때에 신혈류량과 사구체여과율 증가의 최대효과를 보이며 계속 투여함에도 불구하고 그 이상 증가가 일어나지 않는 이유는 확실하지 않다. 신혈류역동학의 adenosine 작용에 대한 길항효과의 potency는 본 연구결과, 신혈관계나 중추신경계의 DPX > 8-PT > theophylline순서(Snyder et al, 1981; Ukena et al, 1986; Fredholm et al, 1987)와는 달리 8-PT > DPX > theophylline순서이었다. 투여 정지후 양측신장에서 신혈류역동학의 감소는 전신으로 흘러 들어가 나타난 8-PT와 DPX의 중추를 포함하는 전신효과인지 확실하지 않다.

신세뇨관내 Na 재흡수에 따른 대사증가 이외에도 ischemia (Miller et al, 1978; Arnold et al, 1986) 또는 급성신부전 모형에서 신장내의 adenosine 생성량이 증가하며, 증가한 adenosine이 급성신부전 발생 초기에 중요한 매체(Bowmer et al, 1986; Lin et al, 1986; Lin et al, 1987)로 작용할 수 있음이 보고되었다. 이러한 급성신부전 실험모형에서 adenosine수용체의 길항제인 theophylline투여는 신부전 발생을 방지하나, 세포내로의 adenosine uptake를 차단하여 adenosine의 작용을 강화시키는 dipyrindamole의 투여는 신부전 발생을 악화시킨다 하여 신부전 발생에 adenosine의 역할을 강조하였다. 본 실험에서 사용한 xanthine 유도체들에 의해 나타난 신혈류 역동학적 증가는 급성신부전 발생에 작용하는 adenosine의 작용을 방지할 수 있다는 기초적인 자료를 제공한 것으로 생각된다.

Theophylline, 8-PT 및 DPX를 무마취 가토 신동

맥내 투여시 투여량에 비례하여 나타나는 요중 Na, K 및 Cl 배설량의 증가기전은 상기 발생한 신혈류역동학적 증가와 더불어 신세뇨관에 직접적인 효과에 기인하는 것 같다. 근자에 전신으로 aminophylline 또는 8-PT를 투여하여 전해질배설량의 증가를 관찰한 연구(Brader et al, 1983; Collins et al, 1986)에서 그 기전을 신세뇨관에 직접 작용하는 adenosine의 차단효과라 설명하였다. 또한, 적출 백서신장 관류모형(Murray & Churchill, 1984)에서 CHA는 요중 Na배설량 및 FENa의 감소를, NECA는 요중 Na 배설량 및 FENa의 증가를 나타내어 adenosine 수용체 subtype에 따라 상이한 작용을 보인다 하였으나, 송의 연구(Song et al, 1988)에 의하면 CHA와 NECA공히 요중 Na 배설량 및 FENa를 감소시키며 A1 adenosine 수용체의 역할이 훨씬 강력하다 하였다. 본 실험결과에서 약물투여기간동안 사구체여과율로 보정한 요중 Na 배설량 즉, FENa의 증가는 A1 adenosine 수용체에 작용하는 adenosine의 역할은 직접 전해질 재흡수와 관련되어 있음을 암시하고 있다. Adenosine의 전해질 재흡수의 길항작용에 관한한 theophylline 및 phenylxanthine 유도체 모두가 직접 신장효과와 전신효과가 동일함을 보여주었다. 용량반응곡선으로 비교해 볼 때 본 실험에 사용한 약물의 potency는 신혈류역동학에 미치는 효과와 동일하였다. 본 실험에서 보이는 theophylline, 8-PT 및 DPX의 요량증가는 신혈류역동학과 전해질 재흡수 기능에 작용하는 신장내재 adenosine의 길항효과가 종합되어 나타남을 추론케 하였다.

사람과 백서의 신유두에서 arginine vasopressin (AVP)의 작용과 관련된 adenylate cyclase 활성화에 대한 adenosine 유사체의 효과를 본 연구(Woodcock et al, 1984; Woodcock et al, 1986)에 의하면, 주로 A2 adenosine수용체에 의존적이며 adenylate cyclase활성도의 증가로 arginine vasopressin의 작용이 강화되며 길항제로써는 DPX가 8-PT에 비해 10배 정도 그 potency가 강력하다 하였다. 배양된 가토 신장 집합관 세포의 AVP-stimulated adenylate cyclase에 대한 연구(Arend et al, 1987)에서 A1 adenosine agonist 투여시 억제를 A2 adenosine agonist 투여시 촉진효과를 보였는데, 본 실험결과

와 비교해 볼 때 theophylline 및 A1 adenosine 길항제 투여시 투여 10분때에 최대효과를 나타낸 유리수분 배설량의 증가원인은 아마도 AVP-stimulated adenylate cyclase가 억제되어 나타난 결과로 생각된다. 약물투여 정지후 나타나는 양측신장의 유리수분 배설량의 감소기전은 아직 알 수 없다.

Submicromolar 투여량 범위내의 theophylline, 8-PT 및 DPX의 투여는 투여량에 비례하여 renin 분비율을 증가시켰으며, 증가효과의 potency는 8-PT > DPX > theophylline의 순서였다. Xanthine 유도체와 renin 분비를 연구한 초기 보고(Reid et al, 1972; John & Singer, 1973)에 의하면 theophylline을 정맥내 투여할 때에 혈장 renin 활성도가 증가하였으며 그 기전으로는 theophylline에 의해 juxtaglomerular (JG) 세포내 PDE가 억제되어 세포내 증가된 cAMP의 이차적인 renin 분비 증가작용이라 설명하였다. 그러나, Peart등(1975)은 renin 분비 증가를 일으킨 신조직에서 cAMP의 증가를 관찰하지 못하여 확실한 기전을 알 수 없다 하였다. 체외 실험모형을 이용한 Skott등(1985)은 adenosine이 직접 사구방세포에 작용하여 renin 분비를 억제한다고 하였고, Itoh 등(1985)은 adenosine이 macula densa 세포와 사구방 세포간의 화학적 전달체로서 renin 분비를 억제한다고 하였으며, PDE 활성도에 영향을 주지 않는 농도의 theophylline (10 μ M)에 의하여 이 작용이 억제됨을 보고하여 adenosine의 직접작용임을 강력히 시사하였다. 신동맥내 adenosine의 직접 투여시 renin 분비율의 감소가 일어나는데 이러한 renin 분비 억제효과는 adenosine에 의한 신혈류역동학 효과와 개별의 상이한 기전(Arena et al, 1984)에 의해 나타나며 theophylline 투여에 의하여 차단됨을 관찰하여 adenosine에 의한 renin 분비 억제는 체외실험과 마찬가지로 직접 효과로 설명되었다.

마취된 개의 신동맥내 theophylline 50 μ M/min을 30분간 투여했을 때 신피질내 cAMP 농도의 변화없이 renin 분비율의 현저한 증가를 보인 실험결과(Spielman, 1984)와 본 실험에서 사용한 theophylline 최대 투여량인 300 nmole/min의 30분간 투여의 결과와 비교해 볼 때에 theophylline의 효과는 adenosine의 renin 분비 억제작용의 길항효과로 생

각된다.

백서에서의 체내 및 체외 실험(Murray & Churchill, 1984; Churchill & Bidani, 1987)에서 A1 adenosine 수용체 activation시 renin 분비의 감소를 나타내고 A2 adenosine 수용체 activation시 renin 분비의 증가를 나타내어 adenosine 수용체 subtype에 따라 renin 분비조절의 상이함을 나타내는 반면, 가토(Barchowsky et al, 1987; Song et al, 1988)에서는 A1 및 A2 adenosine 수용체 activation시 renin 분비에 변화가 없거나 A2 adenosine 수용체보다는 A1 adenosine 수용체에 의존적으로 renin 분비의 억제 효과가 나타남이 보고되었다.

따라서 본 실험에 사용한 8-PT와 DPX는 A1 adenosine 수용체에 강력한 길항제로 가토 신장에 내재하여 renin 분비를 억제하는 adenosine의 작용을 차단하여 renin 분비의 증가현상을 일으키는 것으로 사료된다. 이와는 달리 adenosine이 신장신경(Hedqvist et al, 1978; Katholi et al, 1983)이나 beta-adrenergic 수용체(Barchowsky et al, 1987; Deray et al, 1987)의 기능을 경유하는 renin 분비의 기전을 조절함으로써 renin 분비를 조절할 수도 있을 터인데 본 실험에 사용한 약물의 작용이 얼마나 이러한 기전에 영향을 미치는지에 대해서는 앞으로 더욱 연구가 필요하다.

총 관

Xanthine 유도체들 중 A1 및 A2 adenosine 수용체의 비선택적인 길항제이면서 대표적 methylxanthine 유도체인 theophylline과 phenylxanthine 유도체 중 A1 adenosine 수용체에 선택적인 길항제인 8-phenyltheophylline (8-PT)와 1, 3-diethyl-8-phenylxanthine (DPX)를 무마취 가토 신동맥내 직접 투여하여, 신장에 내재하여 신장기능과 renin 분비에 영향을 미치는 adenosine작용의 차단효과 및 이 약물자체의 작용을 구명함과 동시에 potency를 정량적으로 비교분석하고자 하였다.

Theophylline을 각각 30, 100 및 300 nmole/min 투여시 요량은 투여량에 비례하여 증가하였으며, 신혈류량과 사구체여과율은 증가하였다. 요중 전해질 배설량과 FENa의 증가는 약물 투여기간과 투여

정지후 30~60분까지 나타났다.

8-PT를 각각 3.0, 10.0 및 30.0 nmol/min 투여시 투여기간 동안 투여량에 비례하여 요량, 신혈류량 및 사구체여과율이 증가하였으며, 투여 첫 10분 때에 최대효과를 나타내었다. 요중 전해질 배설량과 FENa의 증가는 양측 신장에서 투여량에 비례하여 나타났으며, 투여정지후 10분 이내에 회복되었다. 유리수분 배설량은 투여 10분 때에 증가의 최대효과를 나타낸 뒤 감소하였다.

DPX를 각각 10, 30 및 100 nmole/min 투여시 8-PT 효과와 유사한 신장기능의 변화를 나타내었다.

Theophylline, 8-PT 및 DPX의 submicromolar 투여량 범위내에서 전신혈압의 변동은 없었으며, renin 분비율은 각 약물 투여량에 비례하여 증가하였으나 시간경과에 따른 증가현상의 pattern은 일정하지 않았다.

용량반응곡선으로 비교해 볼 때 요량, 신혈류량, 사구체여과율, 요중 전해질 배설량, FENa 및 renin 분비율의 증가효과의 potency는 8-PT > DPX > theophylline순서였다.

이상과 같은 결과로써 가토 신장에 내재하여 있는 adenosine은 A1 및 A2 adenosine 수용체에 작용함으로써 신혈류역동학, 요중 전해질과 물의 재흡수 및 renin분비의 내적조절에 밀접히 관련되어 있을 것이라 추론하였다.

ACKNOWLEDGEMENTS

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

REFERENCES

- Arch AJ & Newsholme EA (1978). The control of the metabolism and the hormonal role of adenosine. *J Biochem* 14, 82-123
- Arena LJ, Haramati A, Thompson CI & Spielman WS (1984). Adenosine-induced decrease in renin release: dissociation from hemodynamic effects. *Am J Physiol* 247, F447-F452
- Arend LJ, Sonnenberg WK, Smith WL & Spielman WS (1987). A1 and A2 adenosine receptors in rabbits cortical collecting tubular cells. *J Clin Invest* 79, 710-714
- Arnold PE, Vanpatten VJ, Lumlertgul D, Burke TJ & Schrier RW (1986). Adenosine nucleotide metabolism and mitochondrial calcium transport following renal ischemia. *Am J Physiol* 250, F357-F363
- Barchowsky A, Data JL & Whorton AR (1987). Inhibition of renin release by analogues of adenosine in rabbit renal cortical slices. *Hypertension* 9, 619-623
- Bowmer CJ, Collis MG & Yates MS (1986). Effects of the adenosine antagonist 8-phenyltheophylline on glycerol-induced acute renal failure in the rat. *Br J Pharmacol* 88, 205-212
- Brater DC, Kaojarern S & Chennavasin P (1983). Pharmacodynamics of the diuretic effects of aminophylline and acetazolamide alone and combined with furosemide in normal subjects. *J Pharmacol Exp Thera* 227, 92-97
- Cho KW, Kim SH, Koh, GY, Seul KH, Huh KS, Chu D, Rapp Ns, Moon HB, Kim KK & Kook YJ (1989). Plasma concentration of atrial natriuretic peptide in different phases of Korean hemorrhagic fever. *Nephron* 51, 215-219
- Cho KW, Koh GY, Kim SH & Seul KH (1987). Unilateral renal arterial infusion and renal vein catheterization in rabbits. *Renal Physiol* 10, 93-101
- Churchill PC & Bidani A (1987). Renal effects of selective adenosine receptor agonists in anesthetized rats. *Am J Physiol* 252, F299-F303
- Clemo HF, Bourassa A, Linden J & Belardinelli L (1987). Antagonism of the adenosine and hypoxia on atrioventricular conduction time by two novel alkylxanthines: Correlation with binding to adenosine A1 receptors. *J Pharmacol Exp Thera* 242, 478-484
- Collis MG, Baxter GS & Keddie JR (1986). The adenosine receptor antagonist, 8-phenyltheophylline, causes diuresis and saliuresis in the rat. *J Pharm Pharmacol* 38, 850-852
- Daly JW (1982). Adenosine receptors: targets for future drugs. *J Med Chem* 25, 197-207
- Deray G, Branch RA, Herzer WA, Ohnishi A & Jackshn EK (1987). Adenosine inhibits beta-adrenoceptor but not DBcAMP-induced renin release. *Am J*

- Physiol* 252, F46-F52
- Fredholm BB, Hedqvist P & Vernet L (1978). Effect of theophylline and other drugs on rabbit renal cyclic nucleotide phosphodiesterase, 5'-nucleotidase and adenosine deaminase. *Biochem Pharmacol* 27, 2845
- Fredholm BB, Jacobson KA, Jonzon B, Kirk KL, Li YO & Daly JW (1987). Evidence that a novel 8-phenyl-substituted xanthine derivatives is a cardioselective adenosine receptor antagonist in vivo. *J Cardiovasc Pharmacol* 9, 396-400
- Fredholm BB & Persson CG (1982). Xanthine derivatives as adenosine receptor antagonists. *Eur J Pharmacol* 81, 673-676
- Haddy FJ & Scott JB (1968). Metabolically linked vasoactive chemicals in local regulation of blood flow. *Physiol Rev* 48, 688-707
- Hall JE & Granger JP (1986). Adenosine alters glomerular filtration control by angiotensin II. *Am J Physiol* 250, F917-F923
- Hashimoto K & Kumakura K (1965). The pharmacological features of the coronary, renal, mesenteric and femoral arteries. *Jpn J Physiol* 15, 540-551
- Hedqvist, Fredholm BB & Olundh S (1978). Antagonistic effects of theophylline and adenosine on neuroeffector transmission in the rabbit kidney. *Circ Res* 43, 592-598
- Itoh S, Carretero OA & Murray RD (1985). Possible role of adenosine in the macula densa mechanism of renin release in rabbits. *J Clin Invest* 76, 1412-1417
- Johns EJ & Singler (1973). Effect of propranolol and theophylline on renin release caused by furosemide in the cat. *Eur J Pharmacol* 23, 67-73
- Katholi RE, Hageman GR, Whitlow PL & Woods WT (1983). Hemodynamic and afferent renal nerve response to intrarenal adenosine in the dogs. *Hypertension* 5, Suppl I I149-I154
- Keeton TK & Campbell WB (1980). The pharmacologic alterations of renin release. *Pharmacol Rev* 31, 81-227
- Lin JJ, Churchill PC & Bidani AK (1986). The effect of theophylline on the initiation phase of postischemic acute renal failure in rats. *J Lab Clin Med* 108, 150-154
- Lin JJ, Churchill PC & Bidani AK (1987). The effect of dipyridamole on the initiation phase of postischemic acute renal failure in rats. *Can J Physiol Pharmacol* 65, 1491-1495
- Londos C, Cooper DMF & Wolff J (1980). Subclasses of external adenosine receptors. *Proc Natl Acad Sci USA* 77, 2552-2554
- Miller WL, Thomas RA, Berne RM & Rubio R (1978). Adenosine production in the ischemic kidney. *Circ Res* 43, 390-397
- Murray RD & Churchill PC (1984). Effects of adenosine receptor agonists in the isolated, perfused kidney. *Am J Physiol* 247, H343-H348
- Murray RD & Churchill PC (1985). Concentration dependency of the renal vascular and renin secretory responses to adenosine receptor agonists. *J Pharmacol Exp Ther* 232, 189-193
- Osswald H (1986). Renal effects of adenosine and their inhibition by theophylline. *Naunyn-Schmiedeberg Arch Pharmacol* 288, 79-86
- Osswald H, Germes HH & Nabakowski G (1980). Adenosine as a possible mediator of metabolic control of glomerular filtration rate. *J Biochem* 12, 263-267
- Osswald H, Spielman S & Knox FG (1978). Mechanisms of adenosine-mediated decreases in glomerular filtration rate in dogs. *Circ Res* 43, 465-469
- Pawlowska D, Granger JP & Knox FG (1987). Effects of adenosine infusion into renal interstitium on renal hemodynamics. *Am J Physiol* 252, F678-F682
- Peart WS, Quesada T & Tenyi I (1975). The effect of cyclic monophosphate and theophylline on renin secretion in isolated perfused kidney of the rat. *Br J Pharmacol* 54, 55-60
- Phillips RA (1964). In: *Peter, Vanslyke, Quantitative Clinical Chemistry*, Vol 2: Methods, Williams & Wilkins, Baltimore
- Rall TW (1980). The xanthines. In: Gilman AG, Goodman LS, *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, New York, MacMillan, p592-607
- Reid IA, Stockigt JR, Golfien A & Ganong WF (1972). Stimulation of renin secretion in dogs by theophylline. *Eur J Pharmacol* 23, 67-73
- Skott O & Baumbach L (1985). Effects of adenosine on renin release from isolated rat glomeruli and kidney slices. *Pflugers Arch* 404, 232-237
- Smellie FW, Davis CW, Daly JW & Wells JN (1979). Akyloxanthines: Inhibition of adenosine-flicited accu-

- mulation of cyclic AMP in brain slices and of brain phosphodiesterase activity. *Life Sci* 24, 2475-2482
- Smith HW, Finkelstein N, Aliminosa A, Crawford B & Graber M (1945). The renal clearances of substituted hippuric acid derivatives and other aromatic acids in dogs and man. *J Clin Invest* 24, 388-404
- Snyder SH, Katims JJ, Annau Z, Bruns RF & Daly JW (1981). Adenosine receptors and behavioral actions of methylxanthines. *Proc Natl Acad Sci USA* 78, 3260-3264
- Song YS, Choi BS, Kim SH & Cho KW (1988). Effects of adenosine analogues on the renal function and renin release. *Kor J Physiol* 22, 319-332 (in Korean)
- Spielman WS (1984). Antagonistic effect of theophylline on the adenosine-induced decrease in renin release. *Am J Physiol* 247, F246-F251
- Spielman WS, Britton SL & Fiksen-Olsen MJ (1986). Effect of adenosine on the distribution of renal blood flow in dogs. *Circ Res* 46, 449-456
- Spielman WS & Osswald H (1979). Blockade of postocclusive renal vasoconstriction by an angiotensin II antagonist: evidence for an angiotensin-adenosine interaction. *Am J Physiol* 237, F463-F467
- Spielman WS & Thompson CI (1982). A proposed role for adenosine in the regulation of renal hemodynamics and renin release. *Am J Physiol* 242, F423-F435
- Tagawa H & Vander AJ (1970). Effects of adenosine compounds on renal function and renin secretion in dogs. *Circ Res* 26, 327-338
- Thurau K (1964). Renal hemodynamics. *Am J Med* 36, 698-719
- Trimble ME & Coulson R (1984). Adenosine transport in perfused rat kidney and renal cortical membrane vesicles. *Am J Physiol* 246, F794-F803
- Ukena D, Shamin MT, Padgett W & Daly JW (1986). Analogs of caffeine: antagonists with selectivity for A2 adenosine receptors. *Life Sci* 39, 742-750
- Vurek GG & Pegram SE (1966). Fluorometric method for the determination of nanogram quantities of inulin. *Anal Biochem* 16, 409-419
- Woodcock EA, Leung E & Johnston CI (1986). Adenosine receptors in papilla of human kidney. *Clin Sci* 70, 353-357
- Woodcock EA, Loxley R, Leung E & Johnston CI (1984). Demonstration of Ra-adenosine receptors in rat renal papillae. *Biochem Biophys Res Commun* 121, 434-440