

Adenosine 유사체의 신장효과에 미치는 Adenosine 차단제의 영향

전북대학교 의과대학 생리학교실

윤영의 · 고규영 · 김선희 · 조경우

(1990년 11월 2일 접수)

== Abstract ==

Receptor Specificity of Adenosine Analogs in Terms of Renal Function and Renin Release

Young Yi Yun, Gou Young Koh, Suhn Hee Kim and Kyung Woo Cho

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

The purpose of the present experiment was to determine the functional subclassification of renal adenosine receptor for the hemodynamic, excretory and secretory functions in unanesthetized rabbits.

Adenosine antagonist, 8-phenyltheophylline (8-PT) or theophylline, was infused into the left renal artery followed by an infusion of adenosine agonist, cyclohexyladenosine (CHA) or 5'-N-ethylcarboxamidoadenosine (NECA). Intrarenal arterial infusion of CHA or NECA caused decreases in urine volume, glomerular filtration rate, renal plasma flow and excreted amount of electrolytes and renin release in a dose-dependent manner. Dose-response curves in renal function by CHA or NECA was similar and shifted to the right with pretreatment of 8-PT or theophylline. No significant differences in renal response to CHA and NECA in antagonist-treated rabbits were observed. However, the decrease in renin secretion rate was not affected by the administration of adenosine antagonists.

These results suggest that the renal effect of adenosine receptor agonists appears by way of specific adenosine receptor, but which is not functionally subclassified in the rabbit.

서 론

신장대사의 과정으로 생성된 신장내 adenosine은 대부분의 혈관에서 이완효과(Hashimoto & Kumakure, 1965; Haddy & Scott, 1968)를 보이는데 반하여 신장의 혈관은 수축(Spielman & Thompson, 1982)시켜 사구체여과율의 감소(Arena et al, 1984; Osswald, 1986; Tagawa & Vander, 1970; Osswald, 1978; Spielman et al, 1986)와 신혈류량의 일시적 감소 후 증가하는 biphasic 현상을 일으킨다고(Arena et al, 1984; Osswald, 1986; Tagawa & Vander, 1970; Spielman et al, 1986; Osswald et al, 1978) 알려져 있다. 또한 adenosine은 전해질 배설 조절기

전에 있어서도 중요한 내재적 조절인자로 작용하고 있을 것이라고 보고되었다. Osswald 등(1980)과 Spielman 등(1982)은 신세뇨관의 Na 재흡수가 증가 되었을 때 ATP 분해에 따라 adenosine의 생성량이 증가하며, 이 adenosine은 “tubuloglomerular feedback” 조절기전에 의하여 사구체여과율의 감소를 일으킨다고 하였다. 또한 adenosine은 renin 분비를 억제함이 알려져 있으며, 그 작용기전은 아직 확실 하지 않으나, adenosine의 직접적인 작용(Skott & Baumbach, 1985; Itoh et al, 1985), angiotensin II에 의한 “negative feedback” 조절(Keeton & Campbell, 1980) 및 교감신경계 기능억제(Deray et al, 1987) 등에 의한 효과로 추론하고 있다.

최근 세포막에는 두 종류의 adenosine 수용체가

존재한다는 사실(Londos et al, 1980; Daly, 1982)이 밝혀졌으며, 이 수용체의 특성은 주로 신장의 외관 상동맥, 뇌, 장평활근등의 근섬유세포에서 생화학적, 생리학 및 약리학 실험방법에 의해 특정지워졌다. A1 adenosine 수용체는 adenosine에 비교적 높은 친화성을 가지고 있으며, adenylylase 활성도를 억제시킴이 알려졌다으며, agonist 화합물중 potency 정도는 N6-cyclohexyladenosine (CHA) > 2-chloroadenosine (2-CLA) = adenosine > 5'-N-ethylcarboxamidoadenosine (NECA) 등의 순서임이 보고되었다(Daly, 1982). 한편 A2 adenosine 수용체는 adenosine에 낮은 친화성을 보이며, adenylylase 활성도를 증가시키는 데 potency 정도 NECA > 2-CLA = adenosine > CHA 등의 순서라고 보고되었다.

Adenosine의 신혈류역동학적 기능과 renin 분비 조절에 대한 역할을 연구하는 과정에서 신장에도 다른 장기와 비슷하게 두 종류의 adenosine 수용체가 존재(Murray & Churchill, 1984, 1985; Churchill & Bidani, 1986; Pawlwska et al, 1987)함이 밝혀졌다. 적출관류모형(Murray & Churchill, 1984, 1985; Churchill & Bidani, 1986), 정맥내 투여방법(Churchill & Bidani, 1986) 및 신장의 조직간질액내 투여방법(Pawlowska et al, 1987) 및 신동맥내 직접 약물투여방법(Rhee et al, 1989)등에 의하여, 비록 그 결과가 서로 일치하고 있지는 않으나, 신장기능과 renin 분비조절에 A1 및 A2 adenosine 수용체가 독립적으로 작용하고 있음이 보고되었다. 신혈류역동학적 효과에 있어서 A1 adenosine 유사체는 수입세동맥을 이완시키고 수출세동맥을 수축 또는 이완시켜 사구체여과율을 증가시킨다는 보고(Murray & Churchill, 1984, 1985)도 있다. 또한 신세뇨관에서 A1 adenosine 유사체는 Na의 재흡수를 증가시키는 반면 A2 adenosine 유사체는 Na의 재흡수를 감소시키거나 그 작용이 미약함을 보고(Murray & Churchill, 1984, 1985)하였다. Renin 분비율은 A1 adenosine 유사체에 의해 감소되며 A2 adenosine 유사체에 의해 증가된다는 보고(Arena et al, 1984; Osswald, 1986; Tagawa & Vander, 1970; Osswald et al, 1978, 1980; Spielman et al, 1986; Skott & Baumbach, 1985; Itoh et al, 1985; Keeton & Campbell,

1980; Deray et al, 1987; Londos et al, 1980; Daly, 1982; Murray & Churchill, 1984, 1985; Hackenthal & Munter, 1987; Churchill et al, 1987)가 있는 반면 A1 및 A2 adenosine 유사체 공히 감소시킨다는 보고(Barchowsky et al, 1987)도 있다. 그러나, 가토에서의 신동맥에 직접약물 투여방법에 의하여 행한 adenosine 유사체에 의한 신장기능 및 renin 분비율의 변화는 A1 및 A2 adenosine 수용체 사이에 있어 정량적인 차이는 있으나 정성적인 차이는 없음을 보고(Rhee et al, 1989)하여, 가토의 신장에서는 adenosine 수용체가 분화되어 있지 않을 가능성이 있음을 제시하였다. 이처럼 가토에서 A1 및 A2 adenosine 유사체에 의한 신장기능효과가 차이가 없는 것이 adenosine 수용체의 분화에 관련이 있는 것인가를 알아보기 위해, A1 adenosine 수용체 antagonist인 8-phenyltheophylline과 adenosine 수용체에 비특이적으로 작용하는 antagonist인 theophylline을 사용하여 CHA와 NECA에 의한 신장기능 및 renin 분비율의 변화를 정량적으로 비교 분석하였다.

실험재료 및 방법

1. 실험 동물

실험동물은 체중 1.8 kg 내외의 New Zealand계 백색 가토를 암수 구별없이 사용하였으며, 실험전 1주일간은 물과 사료를 충분히 주어 안정시켰다.

2. 좌측 신정맥 cannula 삽입 및 신동맥내 약물의 주입

Renin 분비율을 측정하기 위해, Cho 등(1987)의 방법을 이용하여 신정맥내 관을 삽입하였다. 실험 1~2일전에 절식시킨 가토의 정맥내에 20 mg/kg의 thiopental sodium을 투여하여 마취시키고 배를 위로하여 고정대에 고정시킨후 좌측에 5~6 cm의 paramedian incision을 가하였다. 장을 생리적 식염수에 젖은 천으로 복강내에 한쪽으로 밀어 좌측 신정맥을 조심스럽게 노출시키고, 1,000 IU/ml 헤파린으로 채워진 23G Neoflon needle tubing(Viggo, Sweden)을 신장에서 1.5 cm 떨어진 좌측 신정맥에 삽입하여 복근육에 고정시켰으며, PE관의 반대쪽

끝은 절개부위를 통해 밖으로 노출시켰다. 실험당일까지 혈액이 응고되지 않도록 하루에 두번씩 heparinized saline 으로 관류시켰으며, 이러한 조작은 무균적으로 하였다. 실험당일 30 mg/kg thio-pental sodium 으로 마취시키고 고정대에 배를 위로 하여 고정하였다. 이정맥에 24G Neoflon needle tubing을 통하여 저장성 용액을 15 ml/kg/hr의 속도로 주입하였으며, 이때 사용한 용액의 조성은 glucose 3%, NaCl 0.3% 그리고 creatinine 0.3%였다. 중심이동맥에 polyethylene (PE) 관을 삽입하여 필요에 따라 채혈하고, 전신동맥압은 중심이동맥에 삽입된 PE관에 Statham pressure transducer를 연결하여 physiograph(MK IV, Narco Bio-system, Houston, Texas, U. S. A)에 기록하였다. 집뇨는 하복부에 중앙절개를 하여 요관을 노출시키고 silicon 관을 삽입하여 양측 요를 각각 분리하여 채취하였다. 3시간동안 hydration 시킨후 좌측 신동맥내 직접 약물투여는 Cho 등(1987)의 방법에 따라 실시하였다. 즉대퇴동맥의 일정한 부위에서 23G PE 관을 13.5 cm 정도 상방으로 삽입하여 추정되는 양측 신동맥 분지사이에 cannula의 경사진 끝이 좌측으로 위치하도록 하였다. Cannula 끝의 위치는 양측 신장의 para-amimo-hippuric acid (PAH) 배설량의 비율을 비교하므로써 추정하였으며, PAH 배설량의 비율은 다음과 같이 계산하였다.

$$\text{Ratio of PAH extraction} \\ = L(U \text{ PAH } V) / R(U \text{ PAH } V)$$

U PAH V: 요중 PAH 배설량

L.R: 좌, 우측신장

실험후 부검하여 cannula 끝의 위치를 확인하였다.

3. 집뇨방법 및 채혈

PE 관이 좌측신동맥 분지 앞에 위치하도록 조작한 후 PAH 8 mg/kg을 초기 투여하고 PAH 0.04%를 함유한 저장성용액으로 hydration 시켰다. 요량이 일정해짐에 따라 10분 간격으로 양측뇨를 3~4회 집뇨하여 대조치로 사용하였으며, 10분간 약물을 투여하고 계속하여 5~6회 집뇨하였다. 혈장 renin 활성도의 변화를 보기 위한 채혈은 약물투여 20분전과 약물투여 8분후, 약물투여 종료 20분후에 eth-

ylenediaminetetraacetic acid(EDTA, 혈액 1 ml당 1 mg)가 들어 있는 polypropylene 시험관에 하였고, 신정맥과 중심이 동맥에서 동시에 하였다. 혈장 creatinine과 PAH 측정을 위한 채혈은 실험이 끝난 후 대동맥에 삽입된 PE 관을 통하여 실시하였으며 채혈후 즉시 냉각, 원심분리 하였다.

4. 약물투여

A1 adenosine antagonist인 8-phenyltheophylline 을 30 nmol/min로 투여하거나 adenosine 수용체에 비선택적으로 작용하는 antagonist인 theophylline을 300 nmole/min 되게 20분간 투여하면서 마지막 10분때에 A1 adenosine 유사체인 CHA 나 A2 adenosine 유사체인 NECA를 동시 투여하였다. 약물투여는 대퇴동맥 cannula를 Harvard infusion pump 에 연결하여 0.1 ml/min의 속도로 투여하였으며, 상기한 약물은 일정한 비율로 inulin이 들어있는 용액에 녹인 후 투여하여 실제 일측 신동맥내로 투여된 양은 요중 배설되는 inulin 량을 측정하여 산출하였다(Cho et al, 1987). 약물투여 전과 약물투여 후에는 생리적식염수를 계속해서 주입하였다.

5. 화학적 분석

채집한 요와 혈액의 화학적 분석중 PAH는 Smith 등(1945)의 방법을 이용하여 발색시켰고, 사구체여과율을 보기 위해 측정된 creatinine은 Phillips (1964)의 방법을 이용하여 발색시켜 spectrophotometer(Beckman, U.S.A.)로 측정하였으며, inulin 측정은 Vurek 등(1966)의 방법에 따른 fluorospectrophotometry (Farrand사, U.S.A.)에 의하였다. Na⁺와 K⁺의 측정은 flamephotometer(Beckman, Fullerton, CA, U.S.A)에 의하였으며, Cl⁻는 digital chloridometer(Buchler Inc, FortLee, NJ, U.S.A)를 사용하였고, osmolality 측정은 빙점강하를 이용한 osmometer(Advanced Instruments, Needham Heights, MA, U.S.A)를 사용하였다.

6. Renin 활성도 측정을 위한 방사면역측정법

Angiotensin I항체는 Goodfriend 등(1964)의 carbodiimide 방법을 변용한 Cho 등(1987, 1988)의 방법에 따라 만들었으며 I-125 angiotensin I은 chlo-

ramine-T 방법에 의하였다.

혈장 renin 활성도(plasma renin activity, PRA) 및 신장내 renin 함량은 소량의 시료에 대량의 renin 기질을 사용하여 생성된 angiotensin I을 측정하는 plasma renin concentration (PRC)로 측정하였다. Renin 기질은 Cho 등(1979)의 방법에 따라 만들었으며, renin 활성도의 측정을 위한 angiotensin I의 측정은 Sealey 등(1973)의 방법을 변용한 Cho 등(1987)의 방법에 의하였다. Converting enzyme 및 angiotensinases의 억제제로는 EDTA, phenylmethylsulfonylfluoride 및 8-hydroxyquinoline을 사용하였다.

Angiotensin I의 방사면역측정법은 BSA를 포함한 Trisacetate buffer(pH 7.4, 0.1M)을 사용하는 일반적인 방법에 의하였다. 4°C 하에서 18~30 시간 방치후 charcoal suspension으로 bound form과 free form을 분리하여, gamma counter를 사용하여 radioactivity를 측정하였다.

7. 사용약물

사용한 약물중 가토 및 우혈청 albumin, EDTA, 8-hydroxyquinoline, NaCl, angiotensin I, phenylmethylsulfonylfluoride, neomycin, Trizma, phenylmercuric acetate, maleic acid, creatinine, paraaminohippuric acid, inulin, trypsin, SBTI, carbodiimide, heparin, charcoal, theophylline은 Sigma사, 8-PT, NECA, CHA는 RBI사, Dextran T-70과 Sephadex는 Pharmacia사, glucose는 Fluka사, 그리고 Na I-125는 Amersham 제를 사용하였다.

8. 통계적 처리

실험결과의 통계적처리는 ANOVA와 Dunnett test, Student's 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. 8-Phenyltheophylline 투여에 의한 CHA의 신기능효과의 변화

Al adenosine 수용체 agonist 인 CHA를 0.03,

0.1, 0.3 nmole/min 투여시 요량은 0.18±0.02에서 0.15±0.02로, 0.20±0.02에서, 0.10±0.02로, 그리고 0.17±0.03에서 0.04±0.01 ml/kg/min로 각각 용량 의존적으로 현저히 감소하였다. Al adenosine antagonist인 8-PT를 30 nmole/min 투여하면서 CHA를 0.03과 0.1 nmole/min 투여시 요량은 유의한 감소를 보이지 않았으며 CHA를 증가하여 0.3과 1.0 nmole/min 투여시에는 0.47±0.04에서 0.39±0.03으로 0.49±0.03에서 0.27±0.04 ml/kg/min로 현저히 감소하였으며 CHA 투여에 의한 요량감소효과가 8-PT 투여에 의해 현저히 감약되었다(Fig. 1).

CHA를 0.03, 0.1, 0.3 nmole/min 투여시 신혈류량은 7.71±0.49에서 6.80±0.49로, 8.25±0.45에서 5.11±0.62로 7.46±0.80에서 2.05±0.39 ml/kg/min로 각각 용량의존적으로 감소하였으며, 8-PT를 투여하면서 CHA를 0.03, 0.1, 0.3, 1.0 nmole/min 투여시에는 8.69±0.76에서 8.27±0.79로, 8.80±0.80에서 7.76±0.98로 9.26±1.28에서 7.745±0.95로, 그리고 11.80±1.47에서 8.06±1.03 ml/kg/min로 각각 용량의존적으로 감소하였다. CHA 투여에 의한 신혈류량의 감소효과는 8-PT 투여에 의해 현저히 억제되어 있었다(Fig. 1).

CHA 투여시 사구체여과율은 용량의존적으로 감소하였으며 8-PT를 투여하면서 CHA를 동시에 투여시 소량에서는 유의한 변화를 보이지 않았으나 대량의 CHA 투여시는 용량의존적으로 감소하였다. CHA 투여에 의한 사구체여과율의 감소효과는 8-PT 투여에 의해 현저히 감약되어 있었다(Fig. 1).

요중 Na⁺ 배설량은 CHA 0.03, 0.1, 0.3 nmole/min 투여시 사용한 용량에서 모두 현저히 감소하였으며 8-PT와 CHA를 동시 투여시 0.03, 0.10 nmole/min에서는 요중 Na⁺ 배설량은 30.75±5.95에서 41.60±6.23으로, 26.88±6.56에서 33.34±6.23 μEq/kg/min로 증가하였으며 CHA 0.3 nmole/min 투여시는 30.84±4.35에서 28.54±3.20 μEq/kg/min로 감소하였다. 요중 Cl⁻ 배설량역시 이와 유사한 양상으로 변화하여 CHA 투여에 의한 요중 Na⁺ 및 Cl⁻ 배설량의 변화는 Al adenosine antagonist인 8-PT 투여에 의해 현저히 약화되어 CHA의 용량곡선을 우측으로 이동시켰다(Fig. 1).

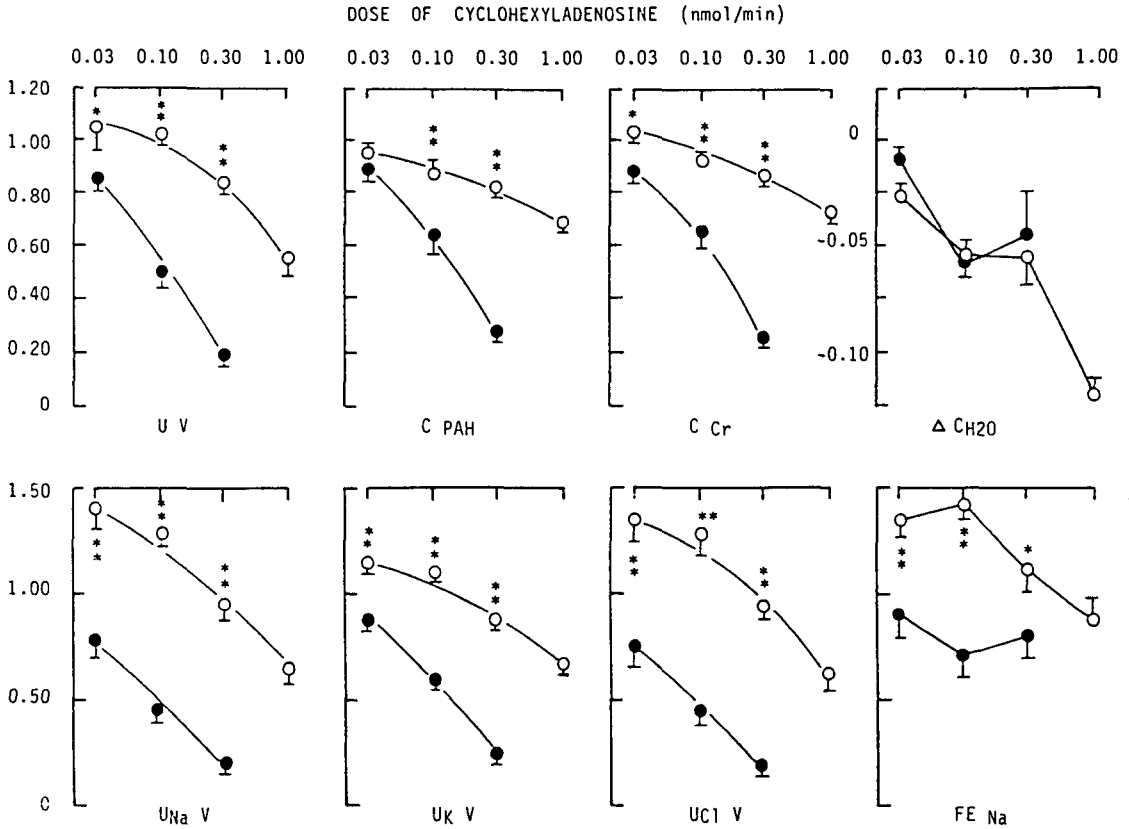


Fig. 1. Dose response curve of changes in renal function caused by CHA in 8-phenyltheophylline-treated (○) and-untreated (●) rabbit. UV, Urine volume; CPAH, CCr, clearance of para-aminohippuric acid and creatinine, respectively; CH20, free water clearance; UNaV, UKV, UCIV, urinary excretion of sodium, potassium and chloride; FENa, fractional excretion of sodium. The values for each parameter but not CH20 indicate the ratio of value for CHA infusion period to that for control period. Data are mean±SE of 7~9 animals. *, **, compared to control group untreated with antagonist, $p < 0.05$, $p < 0.01$, respectively.

요중 K^+ 배설량은 CHA 0.03, 0.1, 0.3 nmole/min 투여시 1.47 ± 0.26 에서 1.30 ± 0.23 $\mu\text{Eq/kg/min}$ 로, 1.59 ± 0.22 에서 0.96 ± 0.22 로, 2.03 ± 0.22 에서 0.48 ± 0.07 $\mu\text{Eq/kg/min}$ 로 현저히 감소되었으며, 8-PT와 동시 투여시 소량에서는 증가하는 경향을 보이다가 0.3과 1.0 nmole/min 투여시에는 4.04 ± 0.34 에서 3.42 ± 0.21 로, 3.42 ± 0.21 로, 3.01 ± 0.32 에서 1.98 ± 0.19 $\mu\text{Eq/kg/min}$ 로 감소하였다. CHA에 의한 요중 K^+ 배설량 감소효과는 8-PT 투여에 의해 현저히 감약되어 있었다(Fig. 1).

Na^+ 의 분획배설량은 CHA 0.03, 0.1, 0.3 nmole/min 투여시 2.10 ± 0.12 에서 1.84 ± 0.12 로,

1.82 ± 0.42 에서 1.40 ± 0.41 로, 2.82 ± 0.40 에서 $2.22 \pm 0.37\%$ 로 감소되었으나 용량의존적이지는 않았다. 8-PT를 투여하면서 CHA 0.03, 0.1 nmole/min 투여시 Na^+ 의 분획배설량은 7.77 ± 1.81 에서 10.25 ± 1.88 로, 6.47 ± 1.46 에서 $9.22 \pm 1.68\%$ 로 현저히 증가하였으며 1.0 nmole/min 투여시에는 6.61 ± 1.91 에서 $5.91 \pm 1.58\%$ 에서 감소하는 경향을 보였다. 이처럼 CHA에 의한 Na^+ 분획배설량의 감소는 8-PT 동시투여시에 의해 현저히 약화되어 있었다(Fig. 1).

CHA 투여에 의해 유리수분배설량은 감소하였으나 용량의존적이지는 않았다. 8-PT를 투여하면서

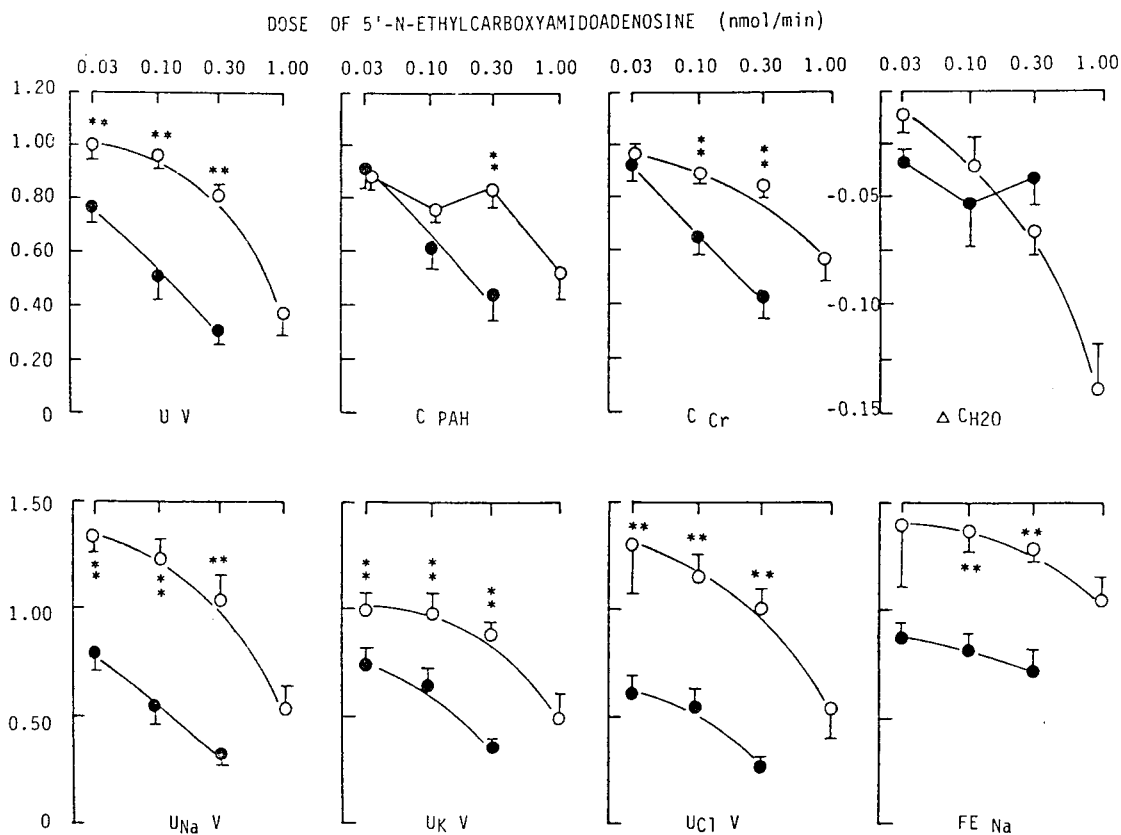


Fig. 2. Dose response curve of changes in renal function caused by NECA in 8-phenyltheophylline-treated (○) and untreated (●) rabbits. Legends are the same as in Fig. 1.

CHA를 투여할 때에도 유리수분배설량은 감소하였으나 CHA 단독 투여시와 유의한 차이는 아니었다 (Fig. 1).

2. 8-Phenyltheophylline 투여에 의한 NECA의 신기능효과의 변화

A2 adenosine agonist인 NECA를 0.03, 0.1, 0.3 nmole/min 투여시 요량은 0.22 ± 0.04 에서 0.17 ± 0.03 으로, 0.22 ± 0.03 에서 0.11 ± 0.03 으로, 0.18 ± 0.04 에서 0.06 ± 0.02 ml/kg/min로 각각 요량의존적으로 감소하였으나 A1 adenosine antagonist인 8-PT를 투여하면서 NECA를 투여할때 요량은 0.47 ± 0.05 에서 0.49 ± 0.06 으로, 0.46 ± 0.06 에서 0.44 ± 0.05 ml/kg/min로 유의한 변화를 보이지 않았으며, NECA를 0.3, 1.0 nmole/min로 증량시 0.46 ± 0.40 에서 0.37 ± 0.03 으로, 0.41 ± 0.04 에서

0.17 ± 0.05 nmole/min로 현저히 감소하였다. 이러한 NECA의 용량반응곡선은 8-PT 처리에 의해 우측으로 이동하여 NECA의 효과가 현저히 약화되어 있음을 알 수 있었다 (Fig. 2).

NECA를 0.03, 0.1, 0.3 nmole/min 투여할때 신혈류량 및 사구체 여과율은 각각 용량의존적으로 감소하였으며, 8-PT와 NECA를 동시투여하면 유사한 감소를 보였으나 NECA 단독투여시보다 현저히 약화되었다 (Fig. 2).

NECA를 증량시킴에 따라 요중 Na⁺ 배설량은 용량의존적으로 현저히 감소하였으며, 8-PT와 NECA 0.03, 0.1 nmole/min 투여시는 22.49 ± 7.13 에서 27.41 ± 9.50 으로, 23.53 ± 6.96 에서 27.95 ± 7.27 μ Eq/kg/min로 증가하였다. 그러나 8-PT를 투여하면서 NECA 0.3 nmole/min를 동시 투여시에는 유의한 변화를 보이지 않았고 1.0 nmole/min 투

여시에는 20.44 ± 3.47 에서 $12.67 \pm 4.24 \mu\text{Eq/kg/min}$ 로 현저히 감소하였다. 요중 Cl^- 배설량 역시 Na 배설량의 변화와 유사한 양상으로 감소하였으며, 8-PT 처리에 의해서 그 감소효과가 현저히 억제되어 있었다(Fig. 2).

NECA 0.03, 0.1, 0.3 nmole/min 투여시 요중 K^+ 배설량은 각각 용량의존적으로 감소하였으며 8-PT 처리후 NECA 0.03, 0.1 nmole/min 투여시는 유의한 변화를 보이지 않다가 0.3, 1.0 nmole/min 로 증량시킴에 따라 3.97 ± 0.29 에서 3.50 ± 0.36 로, 3.37 ± 0.35 에서 $1.62 \pm 0.36 \mu\text{Eq/kg/min}$ 로 현저히 감소하였다. NECA에 의한 요중 K^+ 배설량의 감소효과 역시 8-PT 투여에 의해 현저히 감소되었다(Fig. 2).

Na^+ 의 분획배설량은 NECA를 증량시켜 투여함에 따라 용량의존적으로 감소하였으며, 8-PT와 동

시투여시에는 소량에서는 오히려 증가하였고 대량에서는 거의 변화를 보이지 않았다(Fig. 2). NECA 투여시 유리수분배설량은 현저히 감소하였으나 용량의존적인 양은 아니었다(Fig. 2).

3. Theophylline 투여에 의한 CHA의 신기능 효과의 변화

Adenosine 수용체에 비선택적으로 작용하는 antagonist인 theophylline을 미리 투여하면서 CHA를 0.1, 0.3, 1.0 nmole/min 투여시 요량은 0.46 ± 0.03 에서 0.40 ± 0.03 으로 0.46 ± 0.03 에서 0.24 ± 0.03 으로, 0.39 ± 0.04 에서 $0.06 \pm 0.01 \text{ ml/kg/min}$ 로 용량의존적으로 감소하였으나 차단제 투여에 의하여 현저히 그 효과가 약화되어 있었다(Fig. 3).

Theophylline을 투여하면서 CHA 0.1, 0.3, 1.0 nmole/min 투여시 요중 Na^+ 배설량은 33.61 ± 3.87

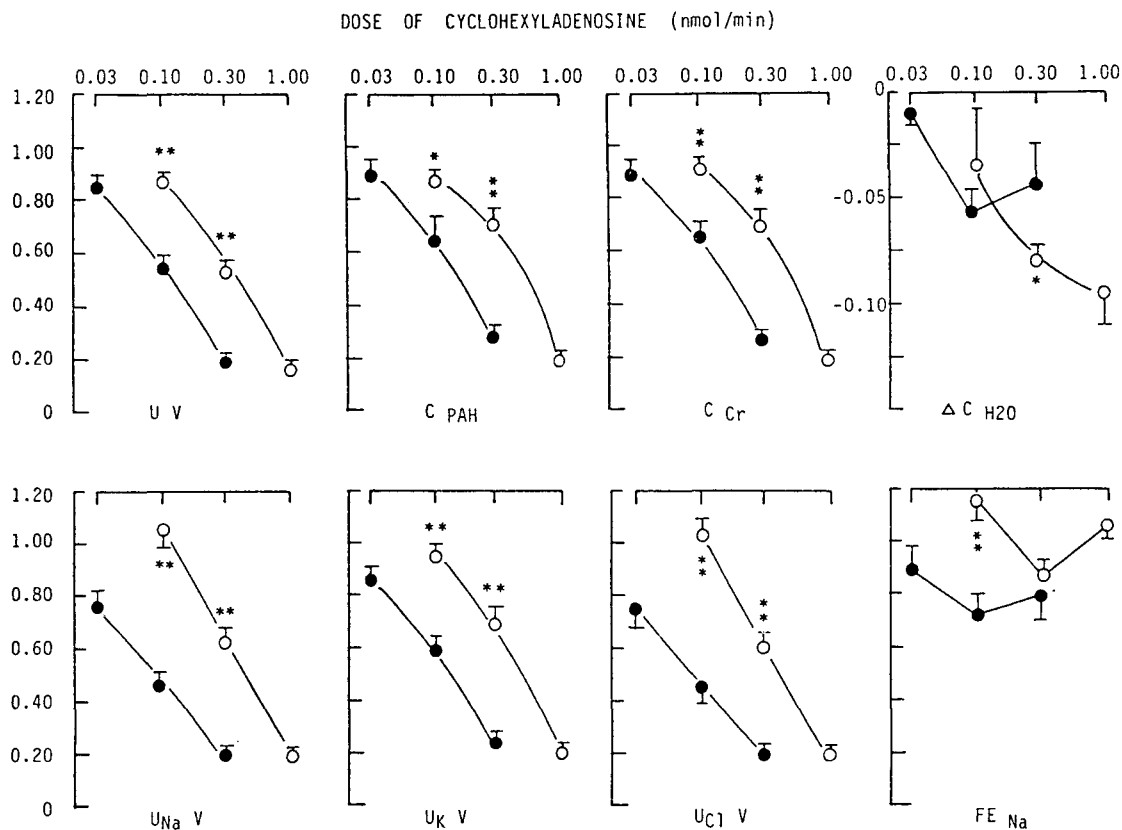


Fig. 3. Dose response curve of changes in renal function caused by CHA in theophylline-treated (○) and untreated (●) rabbits. Legends are the same as in Fig. 1.

에서 34.58 ± 3.31 로, 34.56 ± 3.80 에서 21.42 ± 3.41 로, 27.64 ± 2.47 에서 5.64 ± 1.11 uEq/kg/min 로 각각 용량의존적으로 감소하였으며 이는 CHA 단독 투여시에 비해 현저히 감약되어 있었다. 요중 Cl^- 배설량 역시 Na^+ 배설량의 변화와 유사하게 변화하였다(Fig. 3).

요중 K^+ 배설량은 theophylline과 CHA 동시투여 시에는 용량의존적으로 감소하였으며 CHA 단독투여시에 비해 현저히 감약되어 있었다. Na^+ 의 분획 배설량은 theophylline 투여에 의하여 CHA의 효과가 크게 영향을 받지 않았다(Fig. 3).

4. Theophylline 투여에 의한 NECA의 신기능효과의 변화

Theophylline을 투여하면서 NECA를 0.1, 0.3, 1.0 nmole/min을 동시투여시 요량은 0.46 ± 0.05 에

서 0.42 ± 0.05 로 0.46 ± 0.06 에서 0.35 ± 0.04 로, 0.41 ± 0.05 에서 0.16 ± 0.02 ml/kg/min로 현저히 감소되었으며 이런 요량의 감소효과는 NECA 단독 투여시에 비해 현저히 감소되었다(Fig. 4).

Theophylline과 NECA를 동시에 투여시 신혈류량 및 사구체여과율 역시 중량함에 따라 용량의존적으로 감소하였으며 NECA 단독투여시에 비해 감소효과는 현저히 억제되어 있었다(Fig. 4).

요중 Na^+ , K^+ 및 Cl^- 배설량은 theophylline을 투여하면서 소량의 NECA를 투여할때에는 유의한 변화를 보이지 않았으며 대량의 NECA 투여시에는 현저히 감약되어 NECA의 용량반응곡선은 antagonist인 theophylline 투여에 의해 우측으로 이동되었다(Fig. 4).

Na^+ 의 분획배설량은 theophylline을 투여하면서 NECA 0.1 nmole/min 투여시 8.74 ± 0.99 에서 10.

DOSE OF 5'-N-EHTYLCARBOXAMIDOADENOSINE (nmol/min)

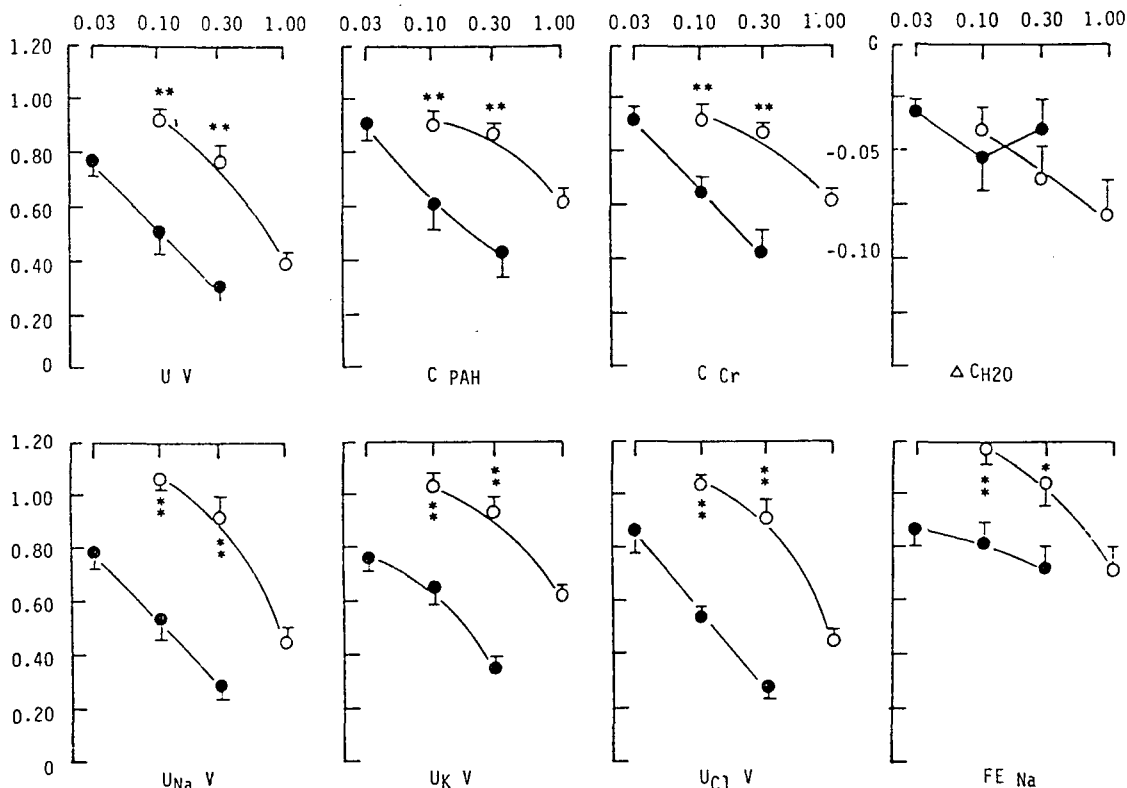


Fig. 4. Dose response curve of changes in renal function caused by NECA in theophylline-treated (○) and untreated (●) rabbits. Legends are the same as in Fig. 1.

Table 1. Effect of adenosine receptor antagonists on the renin secretion rate caused by administration of adenosine receptor agonists

Group	Dose of C H A (nmol/min)			Dose of NECA (nmol/min)		
	0.03	0.1	0.3	0.03	0.1	0.3
Cont	19.15 ± 6.49	30.61 ± 29.29	41.77 ± 42.07	14.00 ± 10.29	6.44 ± 3.31	8.94 ± 4.19
I Expt	10.70 ± 7.53	6.02 ± 10.25*	3.27 ± 3.04*	0.59 ± 3.84*	0.14 ± 1.04*	1.86 ± 2.66*
Recovery	12.16 ± 9.10	4.51 ± 7.57	19.07 ± 14.57	8.30 ± 5.24	4.27 ± 1.84	0.58 ± 6.17
Cont	14.00 ± 10.29	17.80 ± 10.00	-0.39 ± 14.98	22.35 ± 11.26	28.43 ± 5.18	3.58 ± 14.99
II Expt 1	108.10 ± 21.64	74.92 ± 24.52	56.23 ± 1.22	125.49 ± 57.08	106.01 ± 55.20	30.53 ± 19.32
Expt 2	69.28 ± 26.07	20.83 ± 6.46*	19.10 ± 9.33*	60.03 ± 14.21	54.08 ± 30.73	37.59 ± 17.44
Recovery	14.92 ± 7.50	16.27 ± 9.02	4.02 ± 6.48	1.54 ± 12.65	19.01 ± 7.17	23.75 ± 9.40
Cont		14.48 ± 10.48	6.02 ± 7.71		19.66 ± 10.75	7.78 ± 17.59
III Expt 1		49.09 ± 16.87	60.16 ± 18.97		60.21 ± 21.72	15.72 ± 28.06
Expt 2		21.64 ± 13.38*	6.78 ± 3.02*		29.90 ± 11.56*	29.59 ± 6.71
Recovery		28.58 ± 7.85	14.82 ± 6.98		31.37 ± 15.38	34.21 ± 9.53

Values are the mean ± SEM. Cont, 20 min before drug administration as control period; Expt 1, 8 min after start of infusion of adenosine antagonist; Expt 2, 8 min after start of infusion of adenosine agonist; Recovery, 20 min after cessation of agonist infusion. Group I rats received adenosine agonist and group II rats received both 8-phenyltheophylline and adenosine agonist. Group III rats received both theophylline and adenosine agonist. *, Significantly different from control value, p < 0.01. *, Significantly different from Expt 1 value, p < 0.05.

59 ± 1.61로 증가하였고 0.3 nmole/min을 투여시에는 8.82 ± 0.83에서 6.27 ± 0.74%로 감소하였다. 유리수분배설량은 theophylline을 투여하면서 NECA를 중량투여시 용량의존적으로 감소하였으나 NECA 단독투여시와 유의한 차이는 아니었다(Fig. 4).

5. Adenosine agonist의 renin 분비억제효과에 대한 antagonist의 효과

Adenosine antagonist인 8-PT와 theophylline을 투여시 renin 분비율은 증가하였다가 CHA나 NECA를 동시에 투여할때 renin 분비율은 감소하였다 (Table 1).

고 안

Adenosine A1 및 A2 수용체에 비교적 특이하게 작용하는 CHA나 NECA를 가토의 일측 신동맥내 투여할때 나타나는 신장기능의 변화는 매우 유사하였으며 renin 분비율 역시 유사한 양상으로 감소하

였다. A1 adenosine 수용체는 adenosine에 비교적 높은 친화성을 가지고 adenylylate cyclase activity를 억제시키며 수입세동맥의 수축을 야기하여 사구체 여과율을 감소시킨다고 알려져 있다(Daly, 1982). 또한 세뇨관에서 Na의 재흡수를 촉진시키고 renin 분비율을 감소시킨다고 한다. A2 adenosine 수용체는 이와 반대로 adenylylate cyclase activity를 향상시키고 수입세동맥을 이완시키며 수출세동맥은 수축 시킴으로써 사구체여과율이 증가하고 세뇨관에서 Na 재흡수를 억제하며 renin 분비율을 증가시킨다고 하였다(Daly, 1982). 그러나 실험모형이나 사용하는 종에 따라 그 결과가 일치하지 않고 있다.

Churchill과 Bidani(1986)는 마취한 백서에서 NECA나 CHA를 정맥내에 투여할 때에 나타나는 신기능의 변화는 유사하였으며 혈장 renin 활성도에 미치는 영향은 반대라고 보고하였다. 그러나 Murray와 Churchill(1984)은 적출관류 백서신장에서 신기능에 미치는 NECA와 CHA의 영향이 정반대라고 보고하였다. 특히 Song등(1987)은 가토의 일측 신동맥내 A1과 A2 adenosine agonist를 투여

할때에 신장기능 및 renin 분비율에 미치는 영향이 유사하다고 하였으며, adenosine antagonist의 사용시에도 비슷하였다(Rhee et al, 1989). 가토의 신피질 절편에서는 A2 adenosine agonist인 NECA에 의해 renin 분비가 억제된다고 보고(Barchowsky et al, 1987)도 있다. Arend 등(Arend et al, 1987)은 가토의 신피질에 있는 신장 집합관세포에서 저농도의 adenosine agonist는 C-AMP 합성을 억제하고 그 potency는 $CHA > N6-(L-2\text{-phenylisopropyl})\text{-adenosine (PIA)} > NECA$ 순이며, 고농도에서는 C-AMP 합성을 촉진시키며 potency는 $NECA > PIA > CHA$ 순이라고 보고하였다.

가토에서 A1 및 A2 adenosine agonist에 의한 신기능 및 renin 분비의 변화가 adenosine 수용체를 경유하여 나타나는 특이한 것인지를 규명하기 위해, A1 adenosine antagonist인 8-PT와 비특이적으로 작용하는 theophylline을 CHA나 NECA와 동시에 투여할때 CHA와 NECA 단독투여시 나타나는 신기능의 변화보다 현저히 약화되어 있었다. 본 실험결과는 adenosine 유사체에 의한 신기능의 변화가 aminophylline(Churchill, 1982)이나 theophylline(Spielman, 1984)에 의해 차단되었다는 보고와 일치하였으며 adenosine antagonist 투여에 의해서 요량, 요중 Na^+ 배설량이 현저히 증가한 것은 Rhee(1988)의 보고와 일치하였다. 이로서 가토의 신정맥내 CHA나 NECA 투여시 나타나는 신기능의 변화는 adenosine 수용체를 경유하여 나타나는 것임을 알 수 있었다.

A1 adenosine 수용체에 특이적으로 작용하는 antagonist인 8-PT의 전처리에 의해 A1 adenosine agonist인 CHA의 신기능 차단효과와 A2 adenosine agonist인 NECA의 신기능 차단효과가 매우 유사하였다. 이러한 결과는 가토의 신장에서 adenosine 수용체가 두개의 subtype로 명확하게 구분되어 있지 않음을 암시하였다. 그러나 사용하는 약물의 양을 1,000배 이상으로 증가 또는 감소시킬 때 사용한 adenosine antagonist인 8-PT는 신장기능에 영향을 미치는 potency가 theophylline보다 10배 이상 크기 때문에(Rhee, 1988) theophylline에 의한 CHA와 NECA의 신기능 차단효과를 8-PT 투여시와 정량적으로 비교할 수가 없으며, 보다 선택적이며 강력

한 A2 adenosine antagonist가 아직 없기 때문에 가토의 신장에서 adenosine 수용체를 구분하여 결론짓기에는 어려운 문제가 아직 남아 있다. A1 adenosine antagonist에 의한 agonist 작용의 차단효과에 대한 보고(Arend et al, 1987; Churchill, 1982)의 대부분이 한가지의 adenosine antagonist를 사용하였거나 이 antagonist에 의한 agonist들의 작용차단 정도를 정량적으로 비교 분석하지 않았기 때문에 A1 adenosine antagonist에 의한 차단효과가 얼마나 특이하게 A1 adenosine 수용체에 작용하는지를 알 수 없을 것이다.

Murray 등(1985)등과 Churchill 등(1985)은 백서의 신절편에서 A1 adenosine agonist인 NECA는 renin 분비를 증가시킨다고 하였으나 Song등(1987)은 가토에서 양자 모두 renin 분비를 감소시킨다고 보고하였다. 본 실험에서 CHA와 NECA에 의한 renin 분비율의 감소는 8-PT나 theophylline 처리에 의해서는 전혀 영향을 받지 않았다. Churchill 등(1985)은 백서 신피질 절편에서 CHA에 의한 renin 분비의 변화가 theophylline에 의해 약화되었다고 보고하였으며 Spielman(1984)은 adenosine에 의한 renin 분비의 감소가 theophylline 처리에 의해 영향을 받지 않았으며 신기능의 변화는 현저히 약화되었다고 하였다. Spielman(1984)은 이러한 결과로부터 adenosine의 신장효과가 renin 분비에 미치는 효과와 분리됨을 발견하고 이는 renin 분비 억제에 대한 adenosine agonist의 수용체 친화성이 혈관에 대한 것과는 상이하다고 보고하였다. 본 실험에서 사용한 antagonist의 양을 증가시키거나 또는 agonist 양을 감소시켜서 투여하면 renin 분비율의 감소효과에 또 다른 결과를 초래될지는 모른다.

이상의 결과로 가토의 신동맥내로 투여한 CHA와 NECA에 의한 신장기능의 변화는 adenosine 수용체를 경유하여 나타나는 것임을 알 수 있었다. 또한 A1과 A2 adenosine agonist에 의한 신기능의 변화가 유사하고 antagonist에 의한 A1과 A2 adenosine agonist의 신장효과의 차단 정도가 유사한 것으로 미루어 가토의 신장에서는 adenosine 수용체의 분화가 이루어지지 않은 것으로 사료된다.

총 관

무마취 가토의 신동맥내에 A1 adenosine 수용체의 선택적길항제인 8-PT와 adenosine 수용체의 비선택적 길항제인 theophylline을 직접투여하면서 A1 및 A2 adenosine 수용체 agonist인 CHA와 NECA를 동시에 투여하여 CHA와 NECA의 신장기능 및 renin 분비율의 변화에 대한 차단효과를 정량적으로 비교 분석하고자 하였다.

1) 8-PT과 CHA 또는 NECA와 동시에 투여시 CHA와 NECA 단독투여시보다 신기능의 변화는 현저히 억제되었다.

2) Theophylline 투여에 의해서도 CHA와 NECA의 신기능 효과는 현저히 감소되었다.

3) 8-PT 나 theophylline 투여에 의해 CHA와 NECA에 의한 renin 분비율의 감소효과는 하등의 영향을 받지 않았다.

이상의 결과는 가토의 신동맥에 NECA와 CHA를 투여하여 나타나는 신기능의 변화는 adenosine 수용체를 경유하여 나타나며, 가토의 신장에서는 adenosine 수용체 구분이 명확하지 않음을 암시한다.

ACKNOWLEDGEMENTS

실험을 위하여 도움을 주신 남경화, 나은진양과 왕경숙양에게 깊은 감사를 드립니다.

REFERENCES

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 rabbit cortical collecting tubule cells: modulation of hormone-stimulated cAMP. *J Clin Invest* 79, 710-714

Barchowsky A, Data JL & Whorton AR (1987). Inhibition of renin release by analogues of adenosine in rabbit renal cortical slices. *Hypertension* 9, 619-623

Cho KW & Malvin RL (1979). Renin inactivation during in vitro experiment. *Am J Physiol* 236, F501-F504

Cho KW, Kim SH & Koh GY (1987). Radioimmunoassay and characterization of renin-angiotensin system in the fresh-water turtle. *J Exp Zool* 242, 255-263

Cho KW, Koh GY, Kim SH & Seul KH (1987). Unilateral renal arterial infusion and renal vein catheterization in rabbits: Study of renal function and renin release. *Renal Physiol Basel* 10, 93-101

Cho KW, Seul KH, Ryu H, Kim SH & Koh GY (1988). Characteristics of distension-induced release of immunoreactive atrial natriuretic peptide in isolated perfused rabbit atria. *Regul Peptides* 22, 333-345

Churchill PC (1982). Renal effects of 2-chloroadenosine and their antagonism by aminophylline in anesthetized rats. *J Pharmacol Exp Ther* 222, 319-323

Churchill PC & Churchill MC (1985). A1 and A2 adenosine receptor activation inhibits and stimulates renin secretion of ratrenal cortical slices. *J Pharmacol Exp Ther* 232, 589-594

Churchill PC & Bidani A (1986). Neural effects of selective adenosine receptor agonists in anesthetized rats. *Am J Physiol* 252, F299-F303

Churchill PC, Jacobson KA & Churchill MC (1987). XAC, a functionalized congener of 1, 3-dialkylxanthine, antagonizes A1 adenosine receptor-mediated inhibition of renin secretion in vitro. *Arch Int Pharmacodyn* 290, 293-301

Daly JW (1982). Adenosine receptors: targets for future drugs. *J Med Chem* 25, 197-207

Ceray G, Branch RA, Herzer WA, Ohnishi A & Jackson EK (1987). Adenosine inhibits beea-adrenoceptor but not DRcAMP-induced renin release. *Am J Physiol* 252, F46-F52

Goodfriend TL, Levine L & Fasman (1964). Antibodies to bradylinin and angiotensin: A use of carbodiimides in immunology. *Science* 144, 1344-1346

Hackenthal E & Menter K (1987). Effects of adenosine receptor agonists and antagonists in the perfused rat kidney. *J Hypertens* 5 (Suppl 5), s393-s395

Hashimoto K & Kumakura K (1965). The pharmacological features of the coronary, renal, mesenteric and femoral arteries. *Jpn J Physiol* 15, 540-551

Haddy FJ & Scott JB (1968). Metabolically linked vasoactive chemicals in local regulation of blood

- flow. *Physiol Rev* 48, 688-707
- 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
- Keeton TK & Campbell WB (1980). The pharmacologic alterations of renin release. *Pharmacol Rev* 31, 81-227
- Londos C, Cooper DMF & Wolff J (1980). Subclasses of external adenosine receptors. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 77, 2552-2554
- Murray RD & Churchill PC (1984). Effects of adenosine receptor agonists in the isolated, perfused rat kidney. *Am J Physiol* 247, H343-H348
- Murray RD & Churchill PC (1985). Concentration dependency of the renal vascular and renin secretory responses to adenosine receptors agonists. *J Pharmacol Exp Ther* 232, 189-193
- Osswald H, Spielman S & Knox FG (1978). Mechanisms of adenosine-mediated decreases in glomerular filtration rate in dogs. *Circ Res* 43, 465-469
- Osswald H, Hermes H & Nabakowski G (1980). Adenosine as a possible mediator of metabolic control of glomerular filtration rate. *J Biochem* 12, 263-267
- Osswald H (1986). Renal effects of adenosine and their inhibition by theophylline. *Naunyn-Schmiedeberg Arch Pharmacol* 288, 79-86
- Pawlaska D, Granger JP & Knox FG (1987). Effects of adenosine infusion into renal interstitium on renal hemodynamics. *Am J Physiol* 252, F678-F682
- Phillips RA (1967). *Quantitative clinical chemistry*. Vol. 2: Methods, Williams and Wilkins, Baltimore, 1964
- Rhee KS, Kim YJ, Kim SH & Cho KW (1989). Effect of adenosine receptor antagonists on the renal function and renin release in unanesthetized rabbits. *Kor J Physiol* 23, 377-391 (in Korean)
- Sealey JE & Laragh IH (1973). Searching out low renin patients: Limitations of some commonly used methods. *Am J Med* 55, 303-314
- Skott O & Baumbach L (1985). Effects of adenosine on renin release from isolated rat glomeruli and kidney slices. *Pflugers Arch* 404, 232-237
- Smith HW, Finkelstein N, Alminosa A, Crawford B & Graber M (1945). The renal clearance of substituted hippuric acid derivatives and other aromatic acids in dogs and man. *J Clin Invest* 24, 388-404
- Song YS, Choi BS, Kim SH & Cho KW (1988). Effect of adenosine analogues on the renal function and renin release. *Kor J Physiol* 22, 319-332 (in Korean)
- 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
- 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
- Tagawa H & Vand AJ (1970). Effects of adenosine compounds on renal function and renin secretion in dogs. *Circ Res* 26, 327-338
- Vurek GG & Pegram SE (1966). Fluorometric method for the determination of nanogram quantities of inulin. *Analyt Biochem* 16, 409-419