

Adenosine 수용체 작동제 장기 투여의 신장효과

김택희 · 김선희 · 허 증 · 조경우

전북대학교 의과대학 생리학교실, 전북대학교 의과학연구소

Renal Effects of Chronic Treatment of Adenosine Analogues. Tack Hee Kim, Suhn Hee Kim, Jong Huh, and Kyung Woo Cho Department of Physiology, Jeonbuk National University Medical School, Jeonju 560-180, Korea

Evidence for the existence of at least two subclasses of renal adenosine receptors has been presented. N-6-cyclohexyladenosine (CHA) is a relatively selective A_1 adenosine agonists, whereas 5'-N-ethylcarboxamidoadenosine (NECA) acts as a preferential agonist of A_2 adenosine receptor. N6-(L-2-phenylisopropyl)-adenosine (PIA) almost unselectively activates both A_1 and A_2 adenosine receptors at micromolar concentrations. During the characterization of adenosine receptor in the kidney, we have discovered a novel phenomenon, that is, an intramuscular administration of CHA for 3 days caused a diuresis and a suppression of urinary concentrating ability. To further characterize this novel phenomenon, an intramuscular administration of adenosine and other adenosine agonists, PIA and NECA, and prior treatment of adenosine antagonists, caffeine, theophylline and 1,3-diethyl-8-phenylxanthine (DPX) were performed.

Systemic administration of CHA, PIA, and NECA for 3 days caused a suppression in heart rate, blood pressure and general motor activity without change in rectal temperature.

Systemic administration of CHA, 0.5, 1 and 2 mg/kg/day, for 3 days caused a dose-dependent increase in urine volume and decrease in urinary osmolarity and free water reabsorption. This phenomenon was reversible and repeatable. Administration of adenosine (40 mg/kg/day) produced no apparent effect on the renal function, whereas PIA (2 mg/kg/day) produced an similar effect to CHA on the renal function.

Systemic administration of NECA, 0.025, 0.05 and 0.25 mg/kg/day, for 3 days caused a dose-dependent increase in urine volume and dose-dependent increases in excreted amount of creatinine, urinary osmolarity and free water reabsorption. These renal effects of adenosine agonist were maximum at second day during the drug administration. In terms of increase in urine volume and the suppression of urinary concentrating ability, NECA was potent than CHA.

Prior treatment of caffeine (50 mg/kg/day) or theophylline (50 mg/kg/day) abolished the diuretic effect of CHA, whereas DPX (50 mg/kg/day) did not affect the CHA effect. CHA, 0.5 mg/kg/day, produced no change in plasma renin activity and plasma levels of aldosterone, epinephrine, and norepinephrine.

These results suggest that this novel phenomenon produced by an activation of renal adenosine receptors plays an important role in urinary concentrating mechanism.

Key Words: Adenosine, Kidney, Agonist, Antagonist, Renin, Catecholamine, Aldosterone, Blood pressure, Heart rate, Temperature

서 론

신혈류역동학적 기능과 renin 분비조절에 대한 adeno-

sine의 역할을 연구하는 과정에서 신장에도 다른 장기와 유사하게 두 종류의 adenosine 수용체가 존재함이 밝혀졌다(Murray & Churchill, 1984; 1985; Churchill & Bidani, 1987; Holz & Steinhausen, 1987; Hackenthal & Munter, 1987; Churchill et al, 1987). Adenosine 유사체중 2-chloro-adenosine(CA)와 N6-(L-2-phenylisopropyl) adenosine(PIA)

책임저자 : 조경우, ☎ 561-182 전북 전주시 덕진구 금암 2 동 산 2-20 전북대학교 의과대학 생리학교실

는 A₁ 및 A₂ adenosine 수용체에 비선택적으로 작용하나, N-6-cyclohexyladenosine(CHA)는 A₁ adenosine 수용체에, 5'-N-ethylcarboxamidoadenosine(NECA)는 A₂ adenosine 수용체에 보다 선택적으로 작용함이 알려졌다(Londos et al, 1980; Day, 1982).

적출관류모형(Murray & Churchill, 1984; 1985; Hackenthal & Munter, 1987), 정맥내 투여방법(Churchill & Bidani, 1987) 및 신장의 조직간질액내 투여방법(Barchowsky et al, 1987) 등에 의하여, 비록 그 결과가 서로 일치하고 있지는 않으나, 신장기능과 renin 분비조절에 A₁ 및 A₂ adenosine 수용체가 독립적으로 작용하고 있음이 주장되었다. 신혈류역동학적 효과에 있어서 A₁ adenosine 유사체는 수입세동맥을 수축시켜 사구체여과율을 감소시키는 반면 A₂ adenosine 유사체는 수입세동맥을 이완시키고 수출세동맥을 수축 또는 이완시켜 사구체여과율을 증가시킨다는 보고(Murray & Churchill, 1984; 1985; Holz & Steinhausen, 1987)도 있다. 또한 신세뇨관에서 A₁ adenosine 유사체는 Na⁺의 재흡수를 증가시키는 반면 A₂ adenosine 수용체는 Na⁺의 재흡수를 감소시키거나 그 작용이 미약하다는 보고(Murray & Churchill, 1984; 1985)도 있다. Renin 분비율은 A₁ adenosine 유사체에 의해서는 감소되나 A₂ adenosine 유사체에 의해서는 증가된다는 보고(Murray & Churchill, 1984; 1985; Churchill & Bidani, 1987; Hackenthal & Munter, 1987; Churchill et al, 1987)가 있는 반면 A₁ 및 A₂ adenosine 유사체 모두가 감소시킨다는 보고(Barchowsky et al, 1987)도 있다. 그러나 신동맥내 직접 약물투여 방법에 의하여 관찰한 가토에서의 adenosine 유사체에 의한 신장 및 renin 분비율의 효과는 A₁ 및 A₂ adenosine 수용체사이에 있어 정량적인 차이는 없음이 밝혀져(Song et al, 1988) 종간의 차이 또한 신장에서 adenosine 효과가 가토에서 분화되어 있지않을 가능성이 제시되었다. 백서와 사람의 신유두부에 있는 adenylyl cyclase (Woodcock et al, 1984; 1986) 또는 가토 집합관의 cGMP 생성률(Arend et al, 1987)이 A₁ adenosine 유사체에 의해서는 억제되는 반면 A₂ adenosine 유사체에 의해서는 촉진됨이 알려져 adenosine 수용체가 신장의 수분대사 조절에 관련될 수 있음이 제시되었다. 지금까지 신장에서의 adenosine 수용체에 대한 이들 대부분의 연구는 급성효과를 관찰한 것이었으며 장기간 투여시 일어나는 신장기능과 신장호르몬 분비조절에 대한 효과가 무엇인지는 잘 알려져 있지 않다.

이 연구는 백서에서 CHA를 비롯한 adenosine 계 약물의 장기간 근육내 주사에 의한 신장기능과 호르몬의 혈장 농도에 미치는 영향을 규명한 것이다. 이 연구에서는 adenosine, adenosine 유사체 - CHA, PIA 또는 NECA -

그리고 adenosine 길항제 - caffeine, theophylline 또는 1,3-diethyl-8-phenylxanthine(DPX)를 사용하여 신장효과를 비교검토하였으며, CHA 전신투여에 의한 혈장 renin 활성화도, catecholamine 그리고 aldosterone 등의 변동을 분석하였다.

실 험 방 법

실험동물

실험동물은 체중 180~200 gm 내외의 Sprague-Dawley 계 백서를 암수구별없이 사용하였다. 실험은 대사케이지에 넣어 하였으며 실험전 3~4일 동안 대사케이지에서 적응시켰다.

약물투여방법

CHA 전신투여에 의한 신장효과를 구명하고자 다음과 같이 4군으로 나누어 실험하였다.

제 1 군: CHA 전신투여에 의한 신장효과가 투여량에 비례하는지를 알아보하고자 오전 9시와 오후 6시, 두차례에 걸쳐 3일간 CHA를 0.5, 1 또는 2 mg/kg/day를 각각 둔부근육에 주사하였다. CHA는 10% alcohol-saline에 용해하였다. 대조백서에는 vehicle로 10% alcohol-saline을 CHA 투여백서와 동일하게 주사하였다.

제 2 군: CHA 전신투여에 의한 신장효과가 가역적인지를 알아보하고자 CHA(0.5 mg/kg/day)를 2일간 투여, 2일간 투여 중단 및 2일간 재투여하는 과정을 제 1 군과 동일한 방법으로 하였다.

제 3 군: Adenosine과 adenosine 유사체, 즉 PIA 및 NECA의 신장효과를 관찰하고자 adenosine(40 mg/kg/day), PIA(2 mg/kg/day), 그리고 NECA(0.025, 0.05, 및 0.25 mg/kg/day)를 제 1 군과 동일한 방법으로 투여하였다. Adenosine은 saline에, PIA 및 NECA는 10% alcohol-saline에 용해하였다.

제 4 군: CHA 전신투여에 의한 이뇨효과가 adenosine 길항제에 의해 차단되는지를 구명하고자 caffeine(50 mg/kg/day), theophylline(50 mg/kg/day) 그리고 DPX(4 mg/kg/day)를, CHA(0.5 mg/kg/day) 투여 24시간전부터 실험종료일까지 반대측 둔부에 제 1 군과 동일한 방법으로 투여하였다. Caffeine은 70C saline에, theophylline은 실온의 saline에 그리고 DPX는 0.1 N NaOH 용액에 각각 용해하였다.

수분섭취량 측정, 채뇨 및 채혈

수분섭취량 측정 및 채뇨는 전 실험기간동안 매일 하였으며, 대조기간의 2일간과 실험기간의 3일 또는 4일간

을 비교분석하였다.

채혈은 약물투여 3일째 오전 9시부터 10시 사이에 절두하여 하였다. 혈장 renin 활성도 측정을 위한 채혈은 EDTA(혈액 1 ml 당 1 mg) 시험관을, catecholamine 측정을 위한 채혈은 20 ul의 1,000 IU heparin 용액(EDTA 100 mg/ml, reduced glutathione 200 mg/ml 포함, pH 6.5)이 포함된 Eppendorf 시험관을, aldosterone 및 혈중 삼투질 농도 측정을 위한 채혈은 heparin 용액(혈액 1 ml 당 400 IU) 시험관을 이용하였다. 혈장은 냉장원심분리하여 측정하기전까지 -20°C 에 보관하였다.

Hematocrit는 heparinized capillary tube를 이용하여 채혈하고 microhematocrit centrifuge를 이용하여 분리한 후 측정하였다.

심박수, 혈압 및 직장체온 측정

혈압측정은 약물투여 2일째 오전 9시부터 10시 사이에 tail cuff 방법을 이용하였으며, 동시에 심박수 측정을 위해 피부에 pin electrode를 부착하여 multichannel recording system에 기록하였다.

직장체온은 실험전일과 약물투여 3일째에 digital thermometer를 이용하여 측정하였다.

요와 혈장의 화학적 분석

채집한 요와 혈액의 화학분석 중 creatinine은 선행한 방법(Kim & Cho, 1982)에 따른 spectrophotometry에 의하였으며, Na^+ 과 K^+ 의 측정은 flamephotometry에 의하였다. 삼투질농도의 측정은 빙점 강하의 원리를 이용한 osmometer를 사용하여 측정하였다.

혈장 호르몬의 측정

혈장 renin 활성도는 소량(혈장 50 ul)의 시료에 대량의 renin 기질을 사용하여 생성된 angiotensin I을 방사면역 측정법으로 측정하였다. Renin 활성도의 측정은 Cho 등(1987)의 방법으로 하였다.

혈장 catecholamine의 측정은 Peuler 등(1977)과 Bosak 등(1980)의 방법에 의하였다. 35 ul의 100 mM, Tris buffer (30 mM MgCl_2 와 10 mM EGTA 포함), 10 ul의 catechol-O-methyltransferase(COMT, 370 ug protein) 및 5 ul의 5 uCi의 $[3\text{H}]\text{-S-adenosyl-methionine}(\text{SAM})$ 이 들어있는 reaction mixture에 50 ul의 혈장을 가하여 37°C 에서 1시간동안 incubation 하였다. Incubation 후 ice bath에서 50 ul의 0.8 mM, borate buffer(80 mM, $\text{Na}_2\text{-EDTA}$ 와 각각 4 mM의 metanephrine, normetanephrine 포함)로 반응을 정지시켰다. Toluene/isoamyl alcohol(3:2, vol/vol) 혼합액, 2 ml를 가해 organic phase로 반응물을 추출한 후, acetic acid 100

ul(0.1 M)를 가해 acidic phase로 추출하였다. 추출은 acetone-dry ice bath에서 행하였다. Methylation된 반응물은 silica gel plate에 spotting 한 후 chloroform/methanol/ ethylamine 70%(80 ml/15 ml/10 ml)에서 20분간 전개하였다. UV lamp(254 nm) 하에서 metanephrine 과 normetanephrine 부위를 scraping하여 5 ml의 Aquasol(New England Nuclear)에 넣어 scintillation counter 로 beta activity를 측정하였다. Internal standard는 37°C incubation 하기전부터 reaction mixture에 각각 250 pg의 epinephrine과 norepinephrine을 넣어 recovery rate를 산출하였다. 이때 사용한 COMT의 제조는 Axelrod 등(1958)과 Hussain 등(1985)의 방법에 의하였다. 혈장 aldosterone의 측정은 radioimmunoassay kit를 이용하여 측정하였다.

통계처리

실험결과의 통계처리는 Student paired t-test와 unpaired t-test에 의하였으며(Snedecor & Cochran, 1967), p-value가 0.05 이하의 값을 보이는 경우 유의한 차이의 한계로 삼았다. 실험치의 표현은 $\text{mean} \pm \text{SE}$ 로 하였다.

실 험 결 과

Adenosine 유사체의 전신투여가 심박수, 혈압, 직장체온 및 활동성에 미치는 효과

CHA, 0.5 mg/kg/day, 전신투여 2일에, 실험군의 심박수는 212 ± 7 beats/min으로 대조군의 심박수 385 ± 5 beats/min에 비해 현저하게 감소하였다. 대조군의 수축기 혈압은 123 ± 3 mmHg인데 비해 CHA 투여군의 혈압은 75 ± 4 mmHg로 현저하게 감소하였다. PIA, 2 mg/kg/day, 전신 투여시 직장체온의 변동은 보이지 않았다.

CHA(0.5~2 mg/kg/day), PIA(2 mg/kg/day) 또는 NECA(0.025~0.25 mg/kg/day)의 투여량 범위내에서 활동성이 감소하였다 (Table 1, Fig. 1).

CHA 전신투여가 신장기능 및 수분섭취량에 미치는 효과

CHA, 0.5 mg/kg/day를 전신투여시 요량은 대조기간치 2.49 ± 0.10 에서 약물 투여 1, 2, 3일에 4.14 ± 0.39 , 4.77 ± 0.38 , 4.53 ± 0.51 ml/100g 체중/1일로 각각 현저하게 증가하였다. Creatinine 배설량은 변화가 없었으며, 요 중 Na^+ 배설량은 약물투여 2~3일에 증가하였다. 요중 삼투질 농도는 대조 기간치 2424 ± 80 에서 약물투여 1, 2, 3일에 1521 ± 89 , 1534 ± 96 , 1609 ± 91 mOsm/L로 현저하게 감소하였으나, 유리수분 재흡수율은 변화가 없었다.

Table 1. Effects of N6-cyclohexyladenosine (CHA) and N6-(L-2-phenylisopropyl)-adenosine (PIA) on the heart rate, systolic blood pressure, and rectal temperature at the second day after drug administration in the rat

	Control (n=13)	CHA (0.5 mg/kg/day) (n=12)	PIA (2 mg/kg/day) (n=9)
Heart rate (beat/min)	385 ± 5	212 ± 7*	133 ± 7*
Systolic blood pressure(mmHg)	123 ± 3	75 ± 4*	83 ± 4*
Rectal temperature(C)	37.3 ± 0.2	37.2 ± 0.2	-

Values are the mean ± SEM. *: Significantly different from control group, p<0.05

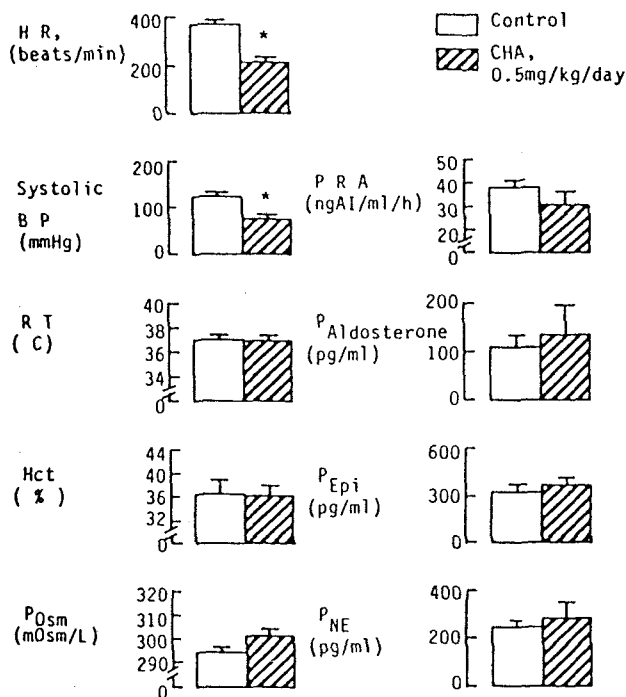


Fig. 1. Effects of cyclohexyladenosine(CHA, 0.5 mg/kg/day) on the heart rate(HR), systolic blood pressure(BP), rectal temperature(RT), hematocrit(HcT), plasma osmolarity(POsm), plasma renin activity(PRA) plasma levels of aldosterone, epinephrine(PEpi) and norepinephrine(PNE) in the rat.

발견되지 않았다.

Fig. 7은 약물투여 2일째 최대효과를 나타내는 요량 증가와 요농축능 감소의 변화를 대조기간치를 기준으로하여 용량반응 곡선으로 표현한 것이다. 요량 증가 및 요중 삼투질 농도의 감소가 투여량에 비례하였으며, NECA 용량반응곡선이 CHA 용량반응곡선에 비해 좌방이동되었음은 NECA 효과가 CHA 효과에 비해 훨씬 강력함을 암시하였다. 유리수분 재흡수율은 CHA나 NECA 투여에 의해 뚜렷한 용량반응곡선이 성립되지 않았다.

Adenosine 길항제 전처리가 CHA의 신장효과에 미치는 영향

Caffeine, 50 mg/kg/day를 4일간 전신투여시 요량의 심

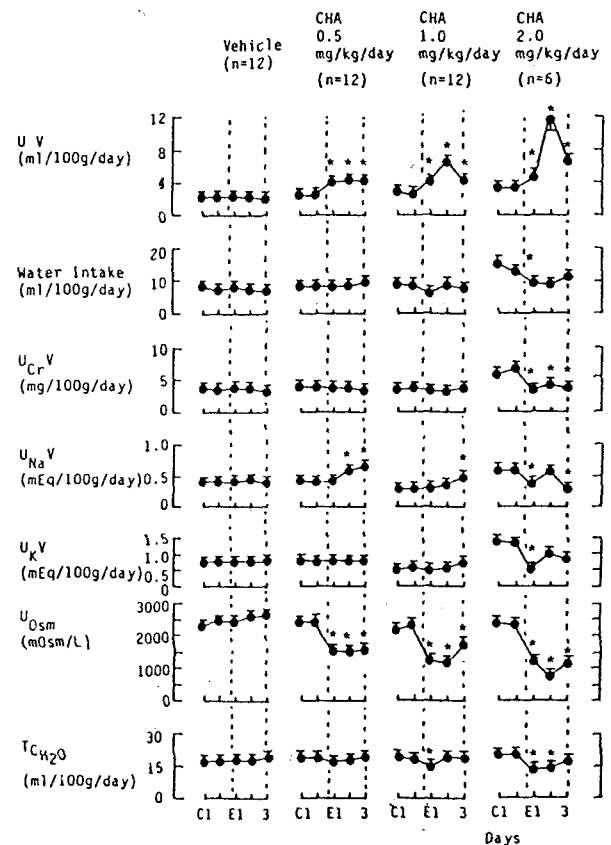


Fig. 2. Effects of CHA, 0.5, 1, and 2 mg/kg/day, on the renal function and water intake in the rat. UV, Urine volume; UCrV, urinary excreted amount of creatinine; UNaV, UKV, urinary excreted amount of sodium and potassium, respectively; UOsm, urinary osmolality; TCH₂O, free water reabsorption. C1-2, Control period; E1-3, experimental period. *, Significantly different from control period, p<0.05

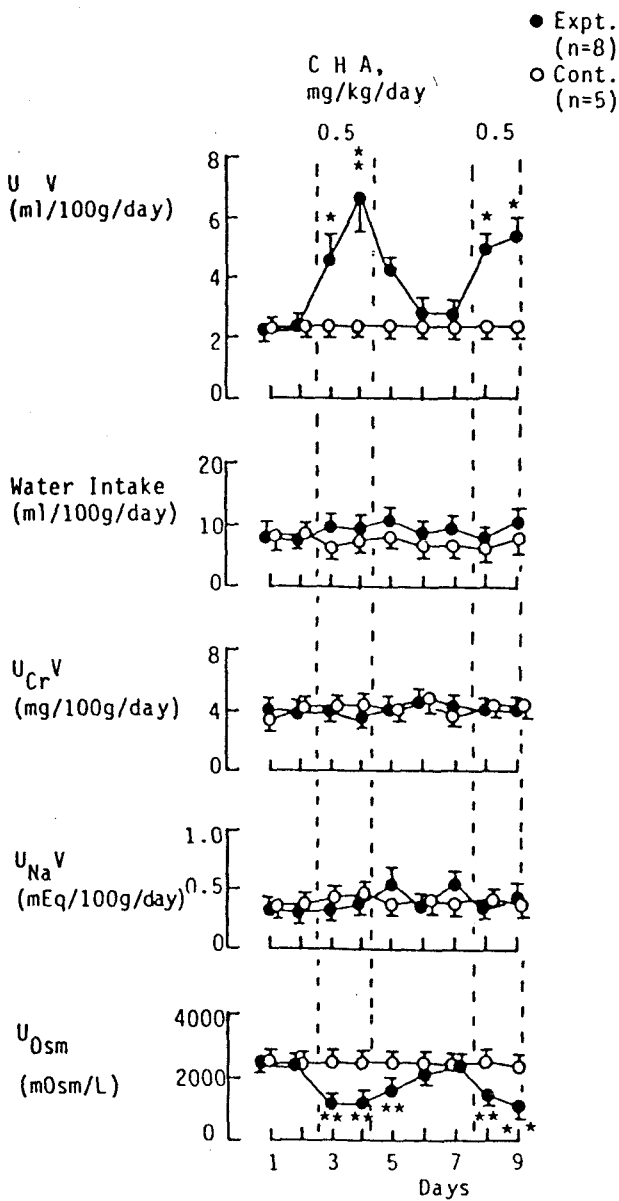


Fig. 3. Reversible and repeatable effect of CHA(0.5 mg/kg/day, for 3 days) on urine volume and urinary osmolality. Other legends are the same as in Fig. 2.

증량하여 CHA, 1 및 2 mg/kg/day 투여시 투여량에 비례하여 요량의 증가 및 요중 삼투질 농도와 유리 수분 재흡수의 감소를 관찰할 수 있었다. CHA, 2 mg/kg/day 투여시 creatinine 배설량의 감소가 투여 첫날부터 나타났으며 실험 종료전까지 감소하였다. 수분섭취량과 요중 K⁺ 배설량의 감소는 투여 1일에, 요중 Na⁺ 배설량의 감소는 투여 1일과 3일에 관찰되었다. 용매 10% alcohol-

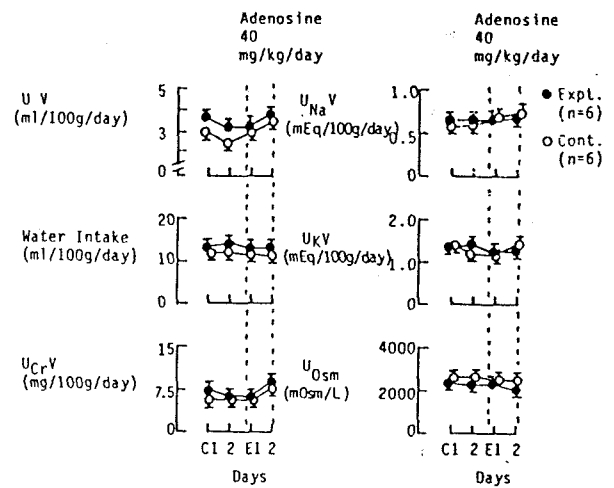


Fig. 4. Effect of adenosine(40 mg/kg/day for 2 days) on the renal function and water intake. Other legends are the same as in Fig. 2.

saline 을 투여한 대조군에서 신장기능 및 수분섭취량의 별다른 변화를 관찰할 수 없었다(Fig. 2).

Fig. 3은 CHA, 0.5 mg/kg/day, 전신투여시 나타난 이뇨 효과에 대한 가역반응을 보인 것이다. CHA 투여중단 2일에 증가한 요량 및 감소한 요중 삼투질농도는 원상로의 회복을 보였으며, 투여중단 4일에 동량의 CHA 를 재투여 할 때 처음 투여 때와 유사한 신장기능의 변화를 관찰할 수 있었다.

Adenosine, PIA 및 NECA 전신투여에 의한 신장기능 및 수분 섭취량에 미치는 효과

Adenosine, 40 mg/kg/day, 전신 투여시 별다른 신장기능의 변화가 나타나지 않았다(Fig. 4). PIA, 2 mg/kg/day, 전신 투여시 CHA의 신장효과와 유사하게 투여 첫날부터 점진적인 요량의 증가와 요중 삼투질 농도 및 유리수분 재흡수율의 현저한 감소를 관찰할 수 있었다(Fig. 5). PIA 투여 3일째 요중 K⁺ 배설량의 감소가 관찰되었다.

NECA, 0.025, 0.05 및 0.25 mg/kg/day 를 각각 전신투여 하였던 바, 약물투여 기간동안 요량은 투여량에 비례하여 증가하였으나, creatinine 배설량, 요중 삼투질 농도 및 유리수분 재흡수율의 감소는 투여량에 비례하지 않았다(Fig. 6).

실험기간 동안 대조군에서 신장기능의 변화는 보이지 않았으며, NECA, 0.25 mg/kg/day 투여시의 감소를 제외하고 다른 실험군 및 대조군 모두 수분 섭취량의 변화도

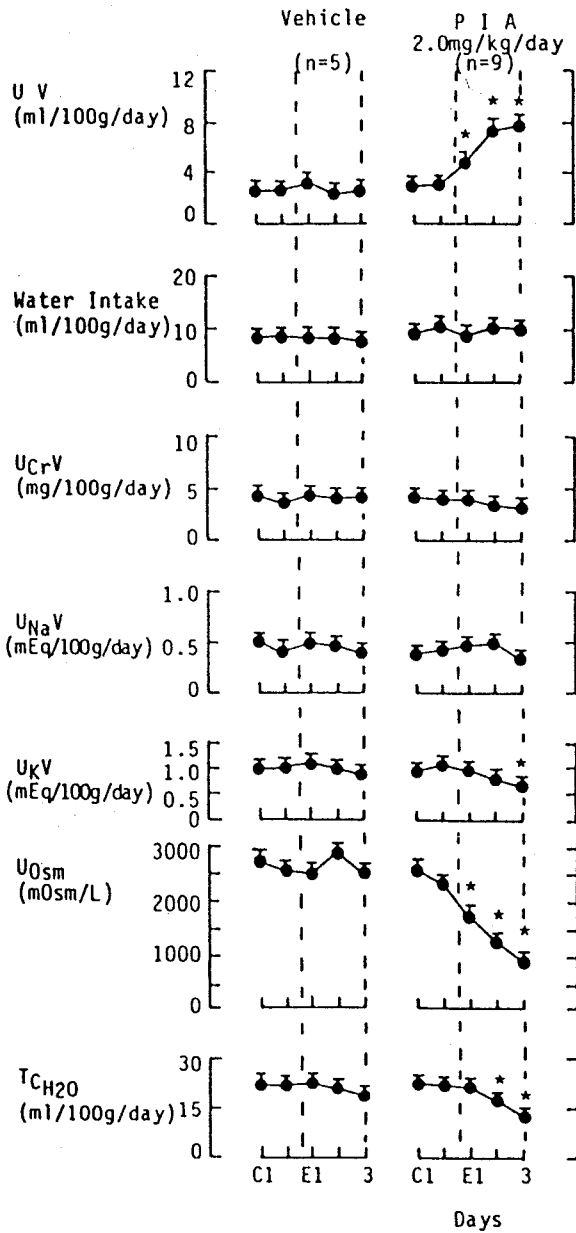


Fig. 5. Effects of PIA(2 mg/kg/day for 3 days) on the renal function and water intake in the rat. Other legends are the same as in Fig. 2.

한 변화를 보였으나 다른 신장기능의 변화는 보이지 않았다. Caffeine, 50 mg/kg/day 전처리 후 CHA, 0.5 mg/kg/day 전신투여에 의한 요량증가와 요중 삼투질 농도의 감소현상은 유의하게 차단되어 그 증가효과가 나타나지 않았다(Fig. 8 & 9). Theophylline, 50 mg/kg/day 전처리 후 CHA 0.5 mg/kg/day 전신투여에 의한 요량증가와 요중 삼

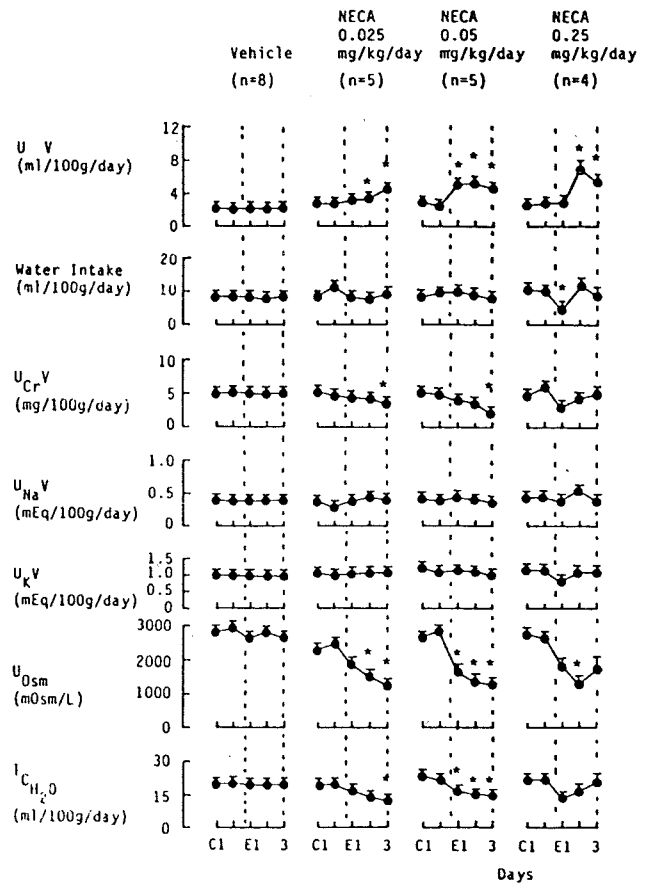


Fig. 6. Effects of NECA, 0.025, 0.05, and 0.25 mg/kg/day, on the renal function and water intake in the rat. Other legends are the same as in Fig. 2.

투질 농도의 감소현상은 실험에는 적으나 차단되었다(Fig. 8). 그러나 DPX, 4 mg/kg/day 전처리하는 CHA 신장효과와 특이한 현상을 차단하지 못하였다.

Adenosine 길항제 용해시 사용한 saline 또는 0.1 N NaOH를 용매로 주사한 백서에서 CHA의 신장효과가 동일하게 반복되어 재현되었다.

CHA 전신투여가 hematocrit 치, 혈장 삼투질농도 및 혈장 호르몬들의 농도에 미치는 효과

CHA, 0.5 mg/kg/day, 전신투여시 대조군(36.5±3.0%, n=4)에 비해 hematocrit 치는 별다른 차이가 없었으나(36.0±2.1%, n=10), 혈중 삼투질 농도는 증가한 경향을 보였다(294.0±2.0, n=6 vs 301.0±3.0 mOsm/L, n=13).

수분 및 전해질대사에 밀접히 관련되어 있는 혈중 al-

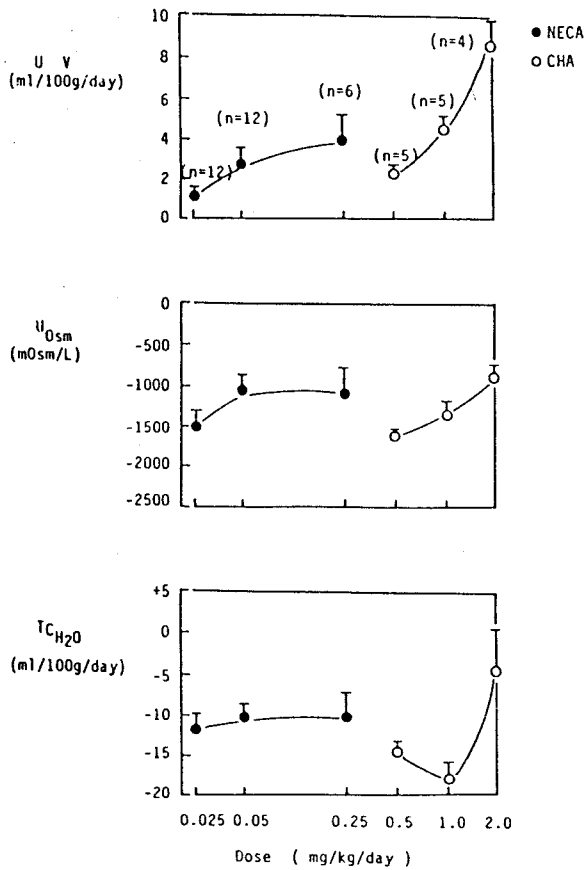


Fig. 7. Dose-response curves in urine volume (UV), urinary osmolality (UOsm), and free water reabsorption (TCH₂O) by systemic administration of CHA and NECA.

dosterone 농도 및 혈장 renin 활성도도 대조군에 비해 유의한 차이를 발견 할 수 없었다(Fig. 1).

혈중 epinephrine과 norepinephrine 농도는 대조군에 비해 별다른 차이를 보이지 않았다(Fig. 1).

고 찰

이 실험결과에서 보이는 adenosine 유사체의 근육주사에 의한 심박수와 혈압의 감소는 대부분 정맥을 경유하여 전신투여한 효과와 비슷하며(Churchill & Bidani, 1987; Jonzon et al, 1986), 간접적으로 약물의 흡수가 잘 되고 있음을 보여주고 있다. Adenosine 유사체에 의한 심혈관계 작용기전은 알려져 있는 바이며(Fredholm & Sollevi, 1986; Hamilton et al, 1987), 심박수의 감소는 심장예 주로

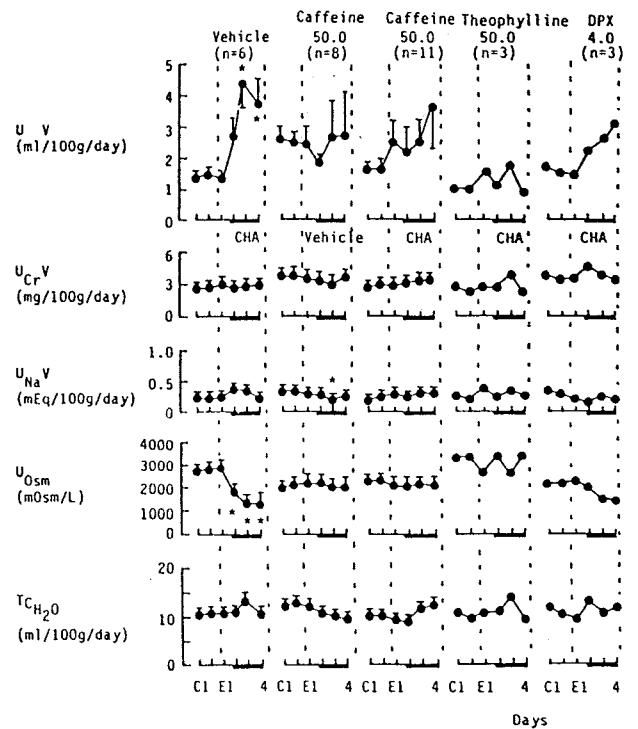


Fig. 8. Effects of prior treatment with adenosine antagonist, caffeine(50 mg/kg/day), theophylline(50 mg/kg/day), and DPX (4 mg/kg/day) on the diuretic effect of CHA(0.5 mg/kg/day) in the rat. Other legends are the same as in Fig. 2.

존재하는 A₁ adenosine 수용체 자극에 의해 일어나고, 혈압의 감소는 혈관평활근에 주로 존재하는 A₂ adenosine 수용체 자극에 의해 말초혈관의 확장에 기인(Fredholm & Sollevi, 1986; Hamilton et al, 1987) 되는 것으로 알려져 있다. Adenosine 및 adenosine 유사체의 정맥투여에 의해 혈관확장, 근육 shivering의 감소 및 중추효과로 체온이 감소함이 알려져 있는데(Snedecor & Cochran, 1967; Mehta & Kulkarni, 1983), 이 실험에서는 체온의 변화를 발견할 수 없었으며, 이는 약물 투여방법 및 기간의 차이로 생각된다. Adenosine 및 adenosine 유사체가 전신활동성과 반사 작용을 감소시키는 작용을 함이 또한 밝혀져 있는데 이는 sedative 효과와 전신혈압 감소효과(Coffin & Spealman, 1987; Snyder et al, 1981; Maragos & Boulenger, 1985; Spealman & Coffin, 1981) 및 골격근을 수축시키는 신경 전달물질의 분비 및 작용의 억제(Ribeiro & Sebastiao, 1986)에 의한 것으로 알려져 있다.

A₁ adenosine 수용체에 보다 더 선택적으로 작용하는 CHA를 근육주사 할 때에 투여량에 비례하여 요농축능

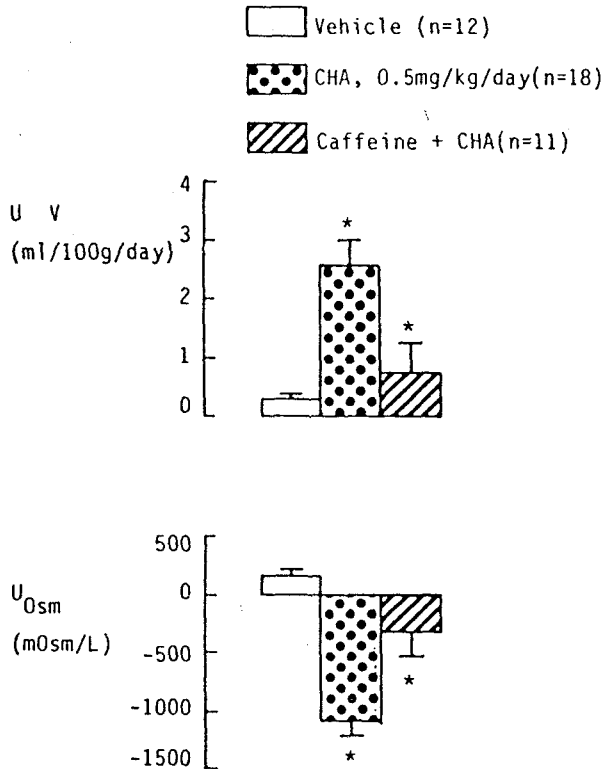


Fig. 9. Effect of caffeine(50 mg/kg/day) on the increase of urine volume and urinary osmolality by systemic administration of CHA(0.5 mg/kg/day). Caffeine was administered previously. *, Significantly different from control group, $p < 0.05$.

감소와 더불어 요량이 증가한 현상은 매우 특이하다. 이러한 현상은 A₂ adenosine 수용체에 선택적으로 작용하는 NECA의 전신투여와 A₁ 및 A₂ adenosine 수용체에 비선택적으로 작용하는 PIA의 전신투여에 의해서도 나타났다. 신장기능의 현저한 변화중 요량증가, 요농축능 및 유리수분 재흡수율의 감소 효과가, 첫째, 용량반응곡선으로 비교해 볼 때(Fig. 7), NECA 효과가 CHA 효과에 비해 훨씬 강력하며, 둘째, A₁ 및 A₂ adenosine 수용체에 모두 길항적으로 작용하는 caffeine 또는 theophylline 전처리에 의해 차단되었으나, A₁ adenosine 수용체에 선택적으로 길항작용을 나타내는 DPX 전처리에 의해서는 그 차단효과를 발견할 수 없는 점들은 이 특이한 현상이 A₂ adenosine 수용체를 경유하는 것임을 암시하고 있다.

Adenosine 유사체들의 신장혈류역학과 신세뇨관 효과에 대한 대부분의 연구는 A₁ 및 A₂ adenosine 수용체가 서로 상반된 역할을 한다고 보고 하였다(Murray & Churchill,

1984; Murray & Churchill, 1985; Churchill & Bidani, 1987; Holz & Steinhausen, 1987). 백서신장 적출관류모형(Murray & Churchill, 1984; Murray & Churchill, 1985)에서 CHA 투여는 수입세동맥을 수축시켜 신혈류역학을 감소시키며 전해질 배설량을 감소시키는 반면, NECA 투여(Churchill & Bidani, 1987)는 수입 및 수출 세동맥을 이완시켜 신혈류역동을 증가시키고 전해질 배설량을 증가시킨다고 하였다. 마취 백서의 정맥내 CHA 및 NECA의 투여는 모두 현저한 혈압감소를 일으키며, 이에 따라 요량, 신혈류역동학 및 전해질 배설량의 현저한 감소가 일어남이 관찰되었다. 그러나 이제까지 adenosine 및 adenosine 유사체의 투여에 의한 요량증가 및 요농축능 감소효과를 보고한 연구는 많지 않은 것 같다. 신장의 세뇨관 및 집합관에서 수분의 재흡수 기능이 세포막의 adenylyl cyclase를 경유한 세포내 cAMP의 함량 변화에 의해 조절됨은 잘 알려진 바이다(Schlondorff & Levine, 1985; Abramow et al, 1987). Adenylyl cyclase 활성도 및 세포내 cAMP 생성 조절에 대한 adenosine의 역할을 연구한 보고들에 의하면, 백서(Woodcock et al, 1984)와 사람(Woodcock et al, 1986)의 신유두부에서 A₁ adenosine 유사체는 adenylyl cyclase 활성도를 억제하며, A₂ adenosine 유사체는 adenylyl cyclase 활성도를 촉진시킴이 알려졌다. 이러한 사실로 미루어 adenosine 계의 신장 효과는 adenylyl cyclase와 연관되어 세포내 cAMP 생성을 통해 그 효과를 나타내는 ADH의 작용 기전과 관련이 있음을 예상할 수 있다. 상술한 바와 더불어 가토 신피질 집합관세포에서 A₁ adenosine 유사체는 cAMP 생성물을 억제시키는 반면, A₂ adenosine 유사체는 cAMP 생성물을 증가시킨다는 보고(Arend et al, 1987)는 신장의 집합관에 대한 A₁ 및 A₂ adenosine 수용체의 작용이 상반됨을 보여주고 있다. 따라서 CHA 전신투여시 신혈류역동학은 감소하나 adenylyl cyclase 활성도의 억제, 세뇨관과 집합관 세포내 cAMP 생성의 감소 및 ADH 작용감소가 일어날 것이며, NECA 전신투여시 신혈류역동학의 증가, adenylyl cyclase 활성도의 항진, 세뇨관과 집합관 세포내 cAMP 생성의 증가 및 ADH 작용증가가 일어날 것으로 추측되나, 본 연구에서 보이는 바는 이와는 달리 A₁ 및 A₂ adenosine 수용체의 선택적인 역할에 관계없이 현저한 요량 증가와 요농축능 감소가 발견되었다. 최근 백서의 medullary thick ascending limb (mTAL)과 medullary collecting duct(MCD)의 조직에 sub-micromolar 농도의 PIA 투여시 조직세포내 basal cAMP 함량에는 변화가 없으나 ADH-dependent cAMP 생성물이 감소하는 현상을 관찰하여, adenosine 수용체를 경유하여 요농축능이 감소할 것이라는 보고가 있다(Torikai, 1987). 또한 이 보고자는 ischemia 나 저산소증시 신장내 ade-

nosine 함량이 증가(Miller et al, 1978 ; Lin et al, 1988) 하여 급성 신부전증이 일어나는데 이때 일어나는 요농축능 감소현상이 이러한 경로를 거쳐 일어난다고 시사하였다. 그러므로 본 연구에서, 생체내에서 대사되지 않은 adenosine 유사체의 전신투여는 유효한 농도로 신장의 세뇨관과 집합관에 작용하여 ADH-dependent cAMP 생성을 감소시켜 현저한 요농축능의 감소현상을 일으킬 가능성이 있다. 이 특이한 현상의 특징은 첫째, adenosine 유사체들의 투여량에 비례하여 요농축능의 감소현상을 보이며, 둘째, 가역적으로 일어나며, 셋째, xanthine 유도체들, 즉, caffeine 및 theophylline 에 의해 차단되나 A₁ adenosine 길항제인 DPX 의해 차단되지 않은 점이다. 이로 미루어 볼 때에 adenosine 유사체의 이노 작용기전은 특수한 adenosine 수용체를 경유하는 것 같으며, 생리적인 의미가 있는 것으로 생각된다. Adenosine 투여에 의해서는 이러한 현상이 일어나지 않는 이유는 확실하지 않으나, 근육에서 흡수되면서 생체내 어느 곳이나 많이 존재(Van der Weyden & Kelly, 1976; Geiger & Nagy, 1986)하여 있는 adenosine deaminase 에 의해 대사되기 때문인 것으로 생각된다.

CHA와 NECA의 대량 투여시 creatinine 배설량의 감소는 신장의 직접효과라기보다는 전신혈압 하강에 의한 사구체여과율의 감소 또는 운동성의 감소에 기인하는 creatinine 생성량의 감소 등의 간접효과로 생각된다. CHA, 0.5 및 1 mg/kg/day 투여시 전신혈압의 하강에도 불구하고 요중 Na⁺의 증가 원인은 아직 확실하지 않다. CHA의 대 투여시와 PIA 투여시 요중 Na⁺과 K⁺ 배설량의 감소는 전신혈압 하강에 의한 것으로 생각된다.

3일간에 걸친 현저한 요량 증가로 생체내 수분소실이 있었음에도 불구하고 수분섭취량에 변동이 없었으며, 혈중 hematocrit치가 변화하지 않은 이유는 분명하지 않다. 통계적으로 유의하지 않으나 혈중 삼투질 농도의 증가는 수분소실에 의한 것으로 추측된다.

전신혈압 하강과 요농축능 소실에 의한 수분소실에도 불구하고 renin-angiotensin-aldosterone계와 catecholamine의 혈중 분비에 변화가 없는 점은 주목할만하다. 다양한 실험방법을 통한 많은 연구들(Tagawa & Vander, 1970; Spielman, 1984; Skott & Baumbach, 1985; Itoh et al, 1985; Deray et al, 1987)에 의하면, adenosine이 renin 분비를 억제시키는 잘 알려져 있다. Adenosine 유사체들을 이용하여 renin 분비율의 영향을 구명한 연구에 의하면, A₁ adenosine 유사체에 의해 renin 분비율은 감소되며 A₂ adenosine 유사체에 의해 renin 분비율이 증가 된다는 보고(Murray & Churchill, 1984; Murray & Churchill, 1985; Churchill & Bidani, 1987; Churchill et al, 1987)가 있는 반면, A₁ 및 A₂

adenosine 유사체에 의하여 모두 감소된다는 보고(Hackenthal & Munter, 1987; Barchowsky et al, 1987; Song, 1987)도 있다. 출혈에 의한 저혈압 유발시 증가되는 renin 분비가 adenosine 투여에 의해 차단된다는 보고(Lagerkranser et al, 1985)는 전신혈압 감소와 수분소실에 의해 항진되어 있을 renin 및 aldosterone 분비가 adenosine 유사체들의 전신투여에 의해 변화가 없이 나타난 본 실험 결과와 비교할만 하다. Adenosine 및 adenosine 유사체 투여에 의해 교감신경계 전달물질의 전달이나 작용에 변조(Fredholm & Hedqvist, 1980; Fredholm & Dunwiddie, 1988)가 있음은 잘 알려져 있으나 혈중으로 분비되는 교감신경물질 즉, norepinephrine과 epinephrine에 대한 연구는 매우 드물다. 사람에게 adenosine을 정맥내 투여시 혈중 norepinephrine과 epinephrine이 증가함은 adenosine이 교감신경계 및 부신수질을 자극하여 나타난 효과라고 설명하는 보고(Smits et al, 1987)가 있으나, 오히려 adenosine이 교감신경계 전달물질의 유리를 감소시킨다는 대부분의 연구결과로 미루어 볼 때 확실하지 않다. 따라서 본 실험에서 adenosine 유사체에 의해 혈중 norepinephrine과 epinephrine의 변화가 없는 상세한 이유는 분명하지 않다. 요농축능에 중요하게 작용하는 뇌하수체 후엽 호르몬인 ADH의 분비에 대한 adenosine 유사체의 영향에 대한 연구가 요구된다. 또한 혈장 atrial natriuretic peptide의 변동에 관한 연구가 필요하다.

이 실험결과들을 종합하면, adenosine 유사체들을 3일간 근육주사하면 요농축능의 감소로 인한 요량증가의 특이한 현상을 나타냈으며, 이 현상이 adenosine 길항제에 의해 차단된 점으로 미루어 볼 때, 신장의 adenosine 수용체를 경유해서 일어난 것임을 추측케 하였다. 아울러 신장기능에 영향을 미치는 호르몬들의 동태에 대해서는 보다 더 상세한 연구가 요구된다.

결 론

백서에서 N-6-cyclohexyladenosine(CHA) 장기투여(3일간)로 야기된 현저한 요량증가와 요중 삼투질 농도의 감소 현상을 구명하고자 하여 adenosine, adenosine 유사체-CHA, N₆-L₂-phenylisopropyl adenosine(PIA), 5'-N-ethylcarboxamidoadenosine(NECA) 그리고 adenosine 길항제-caffeine, theophylline, 1,3-diethyl-8-phenylxanthine(DPX) 등을 사용하여 신장효과를 비교검토했으며, CHA 전신투여에 의하여 변화될 수 있고, 신장기능에 영향을 미칠수 있는 몇 가지 호르몬 즉, 혈장 renin 활성도, catecholamine 및 aldosterone 등의 동태를 분석하였다.

Adenosine 유사체, CHA, PIA 및 NECA의 전신투여시 대조군에 비해 현저한 심박수, 혈압 및 전신헌동성이 감소하였으며 직장체온은 변동이 없었다. CHA를 각각 0.5, 1 및 2 mg/kg/day 전신투여시 투여량에 비례하여 요량증가 및 요중 삼투질농도와 유리수분 재흡수율의 감소를 일으켰다. CHA의 이러한 신장효과는 3일간 지속적으로 나타났으며, 가역적으로 반복해서 나타났다. Adenosine (40 mg/kg/day)을 전신투여시 별 다른 신장기능의 변화가 나타나지 않았다. PIA, 2 mg/kg/day, 전신투여시 CHA의 신장효과와 유사한 현상을 나타냈다. NECA를 각각 0.025, 0.05 및 0.25 mg/kg/day 전신투여시 3일간에 걸쳐 투여량에 비례하여 요량의 증가현상을 보였으며, creatinine 배설량, 요중 삼투질 농도 및 유리수분 재흡수율의 감소를 보였으나 투여량에 비례하지는 않았다.

Adenosine 유사체들의 투여에 의한 이 신장효과는 약물투여 2일째에 최대효과를 나타냈다. 요량증가와 요농축능 감소효과를 용량반응곡선으로 비교해 볼 때 NECA의 효과가 CHA의 효과보다 훨씬 더 강력하였다.

수분섭취량의 감소는 CHA와 NECA의 대량 투여시에만 관찰되었다.

CHA, 0.5 mg/kg/day, 전신투여에 의한 요량증가와 요중 삼투질 농도의 감소 현상이 caffeine(50 mg/kg/day) 또는 theophylline(50 mg/kg/day)의 전처리에 의해 차단되었으나, DPX(4 mg/kg/day)의 전처리에 의해서는 차단되지 않았다. CHA, 0.5 mg/kg/day, 전신투여시 대조군에 비해 hematocrit 치는 변동이 없었으나, 혈중 삼투질 농도는 증가의 경향을 보였다. 혈장 renin 활성도, aldosterone, epinephrine 및 norepinephrine 농도는 대조군에 비해 별 다른 차이를 보이지 않았다.

이상의 실험결과는 adenosine 유사체들의 장기간 투여에 의한 요농축능의 감소로 인한 요량증가의 특이한 현상을 구명한 것이며, 이 현상은 adenosine 길항제에 의해 차단된 점으로 미루어 보아, adenosine 수용체를 경유해서 일어난 선택적인 것임을 알 수 있었다.

감사의 글

실험을 위하여 도움을 주신 남경화양과 은여래양에게 깊은 감사를 드립니다.

참 고 문 헌

Abramow M, Beauwens R, Cogan E. Cellular events in vaso-

- pressin action. *Kidney Int* 32(suppl 21): s56-s66, 1987
- Arend LJ, Sonnenberg WK, Smith WL, Spielman WS. A₁ and A₂ adenosine receptors in rabbit cortical collecting tubule cells: modulation of hormone-stimulated cAMP. *J Clin Invest* 79: 710-714, 1987
- Axelrod J, Tomchick R. Enzymatic O-methylation of epinephrine and other catechols. *J Biol Chem* 233: 702-705, 1958s
- Barchowsky A, Data JL, Whorton AR. Inhibition of renin release by analogues of adenosine in rabbit renal cortical slices. *Hypertension* 9: 619-623, 1987
- Bosak J, Knoll E, Ratge D, Wisser H. Single-isotope enzymatic derivative method for measuring catecholamines in human plasma. *J Clin Chem Clin Biochem* 18: 413-421, 1980
- Cho KW, Kim SH, Koh GY, Seul KH, Kim JH, Song HS. Renal and renin effects of sodium thiopental in rabbits. *Renal Physiol Basel* 10: 261-271, 1987
- Churchill PC, Bidani A. Renal effects of selective adenosine receptor agonists in anesthetized rats. *Am J Physiol* 252: F299-F303, 1987
- Churchill PC, Jacobson KA, Churchill MC. 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, 1987
- Coffin VL, Spealman RD. Behavioral and cardiovascular effects of analogs of adenosine in cynomolgus monkey. *J Pharmacol Exp Ther* 241: 76-83, 1987
- Daly JW. Adenosine receptors: targets for future drugs. *J Med Chem* 25: 197-207, 1982
- Deray G, Branch RA, Herzer WA, Ohnishi A, Jackson EK. Adenosine inhibits beta-adrenoceptor but not DBc-AMP-induced renin release. *Am J Physiol* 252: F46-F52, 1987
- Fredholm BB, Dunwiddie TV. How dose adenosine inhibit transmitter release? *TIPS* 9: 130-134, 1988
- Fredholm BB, Hedqvist P. Modulation of neurotransmission by purine nucleotide and nucleosides. *Biochem Pharmacol* 29: 1635-1643, 1980
- Fredholm BB, Sollevi A. Cardiovascular effects of adenosine. *Clin Physiol* 6: 1-21, 1986
- Geiger JD, Nagy JI. Distribution of adenosine deaminase in rat brain and spinal cord. *J Neurosci* 6: 2707-2714, 1986
- Hackenthal E, Munter K. Effects of adenosine receptor agonists and antagonists in the isolated perfused rat kidney. *J Hypertension* 5(suppl 5): s393-s395, 1987
- Hamilton HW, Taylor MD, Steffen RP, Haleen SJ, Bruns RFR. Correlation of adenosine receptor affinities and cardiovascular activity. *Life Sci* 41: 2295-2302, 1987
- Holz FG, Steinhausen M. Renovascular effects of adenosine

- receptor agonists. *Renal Physiol* 10: 272-282, 1987
- Hussain MN, Benedict CR. Radioenzymatic microassay for simultaneous estimation of dopamine, norepinephrine, and epinephrine in plasma, urine, and tissues. *Clin Chem* 31: 1861-1864, 1985^a
- Itoh S, Carretero OA, Murray RD. Possible role of adenosine in the macula densa mechanism of renin release in rabbits. *J Clin Invest* 76: 1412-1417, 1985
- Jonzon GB, Bergquist A, Li YO, Fredholm BB. Effects of adenosine and two stable adenosine analogues on blood pressure, heart rate and colonic temperature in the rat. *Acta Physiol Scand* 126: 491-498, 1986
- Kim SH, Cho KW. Effect of vasoactive intestinal peptide on renal function in rats. *Kor J Physiol* 16: 159-163, 1982
- Lagerkranser M, Sollevi A, Irestedt L, Tidgren B, Odreen M. Renin release during controlled hypotension with sodium nitroprusside, nitroglycerin and adenosine: a comparative study in the dog. *Acta Anaesthesiol Scand* 29: 45-49, 1985
- Lin JJ, Churchill PC, Bidani AK. Theophylline in rat during maintenance phase of post-ischemic acute renal failure. *Kidney Int* 33: 24-28, 1988
- Londos C, Cooper DMF, Wolff J. Subclasses of external adenosine receptors. *Proc Natl Acad Sci USA* 77: 2552-2554, 1980
- Maragos PJ, Boulenger JP. Basic and clinical aspects of adenosinergic neuromodulations. *Neurosci Biobehav Rev* 9: 421-430, 1985
- Mehta AK, Kulkarni SK. Effect of purinergic substances on rectal temperature in mice: involvement of P1-purinoceptors. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 264: 180-186, 1983
- Miller WL, Thomas RA, Berne RM, Rubio R. Adenosine production in the ischemic kidney. *Circ Res* 43: 390-397, 1978
- Murray RD, Churchill PC. Effects of adenosine receptor agonists in the isolated perfused rat kidney. *Am J Physiol* 247: H343-H348, 1984
- Murray RD, Churchill PC. Concentration dependency of the renal vascular and renin secretory responses to adenosine receptor agonists. *J Pharmacol Exp Ther* 232: 189-193, 1985
- Pawlowska D, Granger JP, Knox FG. Effects of adenosine infusion into renal interstitium on renal hemodynamics. *Am J Physiol* 252: F678-F682, 1987
- Peuler JD, Johnston GA. Simultaneous single isotope radio-enzymatic assay of plasma norepinephrine, epinephrine and dopamine. *Life Sci* 21: 625-636, 1977
- Ribeiro JA, Sebastiao AM. Adenosine receptors and calcium basis for proposing a third(A3) adenosine receptor. *Progr Neurobiol* 26: 179-209, 1986
- Schlondorff D, Levine SD. Inhibition of vasopressin stimulated water flow in toad bladder by phorbol myristate acetate, dioctanoylglycerol, and RHC-80267. *J Clin Invest* 76: 1071-1078, 1985
- Skott O, Baumbach L. Effects of adenosine on renin release from isolated rat glomeruli and kidney slices. *Pfluger Arch* 404: 232-237, 1985
- Smits P, Boekema P, De Abreu R, Thien T, Van't Laar A. Evidence for an antagonism between caffeine and adenosine in the human cardiovascular system. *J Cardiovasc Pharmacol* 10: 136-143, 1987
- Snedecor GH, Cochran WC. Statistical methods, 6th ed., Ames, Iowa State Univ, 1967
- Snyder SH, Katims JJ, Annau Z, Bruns RF, Daly JW. Adenosine receptors and behavioral actions of methylxanthines. *Proc Natl Acad Sci USA* 78: 3268-3264, 1981
- Song YS, Choi BS, Kim SH, Cho KW. Effect of adenosine analogues on the renal function and renin release. *Kor J Physiol* 22: 319-332, 1988
- Speelman RD, Coffin VL. Behavioral effects of adenosine analogs in squirrel monkeys: relation to adenosine A₂ receptors. *Psychopharmacol* 90: 419-421, 1981
- Spielman WS. Antagonistic effects of theophylline on the adenosine-induced decrease in renin release. *Am J Physiol* 247: F246-F251, 1984
- Tagawa H, Vander AJ. Effect of adenosine compounds on renal function and renin secretion in dogs. *Circ Res* 26: 327-337, 1970
- Torikai S. Effect of phenylisopropyladenosine on vasopressin-dependent cyclic AMP generation in defined nephron segments from rat. *Renal Physiol* 10: 33-39, 1987
- Van der Weyden MB, Kelly WN. Human adenosine deaminase: distribution and properties. *J Biol Chem* 251: 5448-5456, 1976
- Woodcock EA, Loxley R, Leung E, Johnston CI. Demonstration of Ra-adenosine receptors in rat renal papillae. *Biochem Biophys Res Commun* 121: 434-440, 1984
- Woodcock WA, Leung E, Johnston C. Adenosine receptors in papilla of human kidney. *Clin Sci* 70: 353-357, 1986