

목 차

| | |
|-----------------|----|
| <i>Abstract</i> | 4 |
| I. 서 론 | 6 |
| II. 실험방법 | 8 |
| 1. 실험동물 | 8 |
| 2. 혈관의 장력기록 | 8 |
| 3. 분석 및 통계 | 11 |
| III. 결 과 | 12 |
| IV. 고 찰 | 24 |
| V. 결 론 | 29 |
| 참고문헌 | 30 |

도 목 차

- Fig. 1. A schematic representation of the recording system for isometric contraction with 15 mL tissue bath.----- 10
- Fig. 2. Systolic blood pressure in sham-clipped control and 2K1C hypertensive rats. ----- 14
- Fig. 3. Schematic tracing showing the effect of ANP on basal tone in control rats. ----- 15
- Fig. 4. Schematic tracing showing the effect of ANP on basal tone in 2K1C rats. ----- 16
- Fig. 5. Effects of ANP on basal tone in sham-operated and 2K1C rats. ----- 17
- Fig. 6. Effects of ANP on basal tone in aortic rings with and without Endo from 2K1C rats. ----- 18
- Fig. 7. Effects of ANP on basal tone in 2K1C rats. The results obtained in the pre-treatment with MB are also shown. ----- 19

Fig. 8. Effects of L-NAME on dose-response curve of the relaxing effect of ANP in 2K1C rats. ----- 20

Fig. 9. Comparative effects of acetylcholine on basal tone in 2K1C rats. ----- 21

Fig. 10. Effects of calcium-free Krebs on basal tone in 2K1C rats. The effects of ANP on the basal tone are also shown. ----- 22

Fig. 11. Effects of STA and CalC on basal tone in 2K1C rats. The effects of ANP on the basal tone are also shown. ----- 23

ABSTRACT

Effects of Atrial Natriuretic Peptide on the Arterial Basal Tone in
Renovascular Hypertensive Rats

by *Kim Meung Ryong*

Advisor : Prof. Cho Nam-Soo, M.D.

Department of Medicine, Graduate School, Chosun University

Hypertension may be involved an alteration of intrinsic basal tone in vascular smooth muscle. The purpose of this study was to investigate the vasorelaxant effect of atrial natriuretic peptide (ANP) on isolated non-contracted aorta from two-kidney, one clip (2K1C) renovascular hypertensive rats. 2K1C hypertension was induced by clipping the left renal artery and were used 6 weeks later. Age-matched rats receiving a sham treatment, which served as controls. The thoracic aortae were mounted in tissue baths to measure the isometric tension. ANP diminished basal tone in previously unstimulated thoracic aortic rings from 2K1C hypertensive rats, while it had no effect in the control rats. Endothelial destruction potentiated the vasorelaxant effect of ANP on basal tone in 2K1C rats. A similar potentiation of the ANP response was observed by pre-treatment with N ω -nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME) or methylene blue in aortic rings with endothelium.

Treatment with calcium-free Krebs decreased basal tone and abolished ANP-response. These effects were observed only in aortic rings from 2K1C rats. Similarly, staurosporine and calphostin C, inhibitors of protein kinase C (PKC), lowered basal tone and abolished ANP-response in hypertensive rats. Acetylcholine had a small relaxant action on the basal tone of unrubbed aorta, which was attenuated in 2K1C rats as compared with control rats.

These results demonstrate that ANP has a vasorelaxant effect on basal tone in 2K1C renovascular hypertension. Inhibition of ANP effects on basal tone by calcium-free Krebs and PKC antagonists suggests that altered Ca^{2+} -active tone is involved in hypertension, that modifies the response of vascular smooth muscle to the ANP.

I. 서 론

심방세포는 수축기능 이외에 체액량의 변화를 감지하여 심방 이뇨 호르몬 (atrial natriuretic peptide, ANP)을 분비함으로써 노중 Na^+ 배설을 증가시켜 세포외액량을 조절한다.¹⁾ ANP는 신장을 통한 배설기능과 더불어 직접적으로 혈관에 작용하여 혈관 평활근을 이완시켜 혈압하강효과를 나타냄으로써²⁾ 혈압조절 및 체액의 항상성을 유지하는데 생리적으로 중요한 역할을 하고 있다. ANP의 혈관 이완효과는 angiotensin II, norepinephrine 및 histamine과 같은 활성물질로 혈관을 미리 수축시킨 상태에서 주로 확인되었으며^{3,4)} ANP가 혈관 평활근에 존재하는 수용체막에 결합되어 있는 particulate guanylate cyclase의 활성화를 통하여⁵⁾ 세포내 칼슘의 유리를 억제시킴으로써 혈관 평활근을 이완시키는 것으로 알려져 있다.⁶⁾

ANP의 혈관작용에 대한 검토가 다각도로 진행되어 왔으나 혈관을 인위적으로 수축시키지 않는 기초상태 (basal state), 즉 기초장력 (basal tone)에 대한 ANP의 효과에 대해서는 제한적으로 알려져 있다. ANP가 신장에서 수입소동맥의 저항을 감소시킴이 제시되었으나,⁷⁾ 기초상태의 장관이나 골격근의 미세순환 및 말초혈관의 근원성 수축이 생리적 범위를 초과한 고농도 ANP에 의해 영향받지 않음이 확인되었다.^{8,9)} Peral de Bruno 등¹⁰⁾은 ANP가 angiotensin II로 미리 감작 (sensitized) 시킨 경우에 한해서만 대동맥의 기초장력을 감소시킴을 처음으로 보고하였으며 이완효과가 혈관 내피층으로부터 유래된 nitric oxide (NO)의

활성억제에 의한 혈관 기초긴장의 증가와 관련이 있다고 하였다.¹¹⁾ 또한 대동맥 협착 고혈압 (coarctation hypertension)의 경우 ANP가 고혈압이 유지되는 부위의 혈관에서만 기초장력을 이완시키며 그 작용이 고혈압상태의 혈관 평활근에서 기초긴장의 변화 및 칼슘활성의 증가와 연관됨을 시사하였다.¹²⁾

고혈압은 궁극적으로 혈관의 구조적 및 기능적 변화에 의한 말초저항의 상승이 수반되며^{6,13)} 실제로 고혈압상태에서는 칼슘 투과성 증가에 기인하여 혈관 평활근의 근원성 기초긴장이 증가된다.¹⁴⁾ Two-kidney, one clip (2K1C) 실험관성 고혈압에서도 혈관 평활근 세포막을 통한 칼슘의 유입이 증가되며¹⁵⁾ 혈관의 기초긴장을 조절하는 것으로 알려져 있는¹⁶⁾ NO 합성효소인 NO synthase (NOS)의 활성이 감소되기 때문에¹⁷⁾ 혈관의 기초장력이 체내 심혈관 기능의 항상성 유지에 기여하는 ANP의 영향을 받을 가능성을 추측케 한다.

본 연구는 2K1C 실험관성 고혈압 흰쥐의 적출 흉부 대동맥 표본에서 ANP가 혈관의 기초장력에 미치는 영향을 확인하고 나아가서 그 작용에 대한 NO와 칼슘의 역할을 구명하고자 시도하였다.

II. 실험 방법

1. 실험동물

1) 2K1C 신혈관성 고혈압의 유발

동일한 조건에서 번식 사육한 체중 150~200 g의 흰쥐 (Sprague-Dawley, ♂)를 thiopental (40 mg/kg, IP) 마취하에 개복한 후 좌측 신동맥에 내경 0.2 mm의 silver clip을 장치하고 신속히 봉합하였다. 마취에서 깨어난 후 사료와 물을 충분히 공급하면서 1주 간격으로 꼬리 혈압을 간접법으로 (Harvard, K10766) 측정하여 고혈압 유발과정을 확인하였으며 renin-angiotensin system 활성의 영향을 배제하기 위하여 6주 후에¹⁸⁾ 사용하였고 수축기혈압이 160 mmHg 이하인 경우는 실험대 상에서 제외하였다.

2) 정상혈압쥐

신성고혈압쥐와 동일한 조건이나 다만 clip을 장치하지 않은 군 (sham-clipped)을 대조군으로 하였다.

2. 혈관의 장력기록

흉부 대동맥 혈관을 적출하여 길이 2~3 mm의 환상표본을 만들어 15 mL 수조에 매달고 37° C를 유지하면서 95% O₂와 5% CO₂의 혼합기체를 지속적으로 공급하였다. 동맥환 표본의 한쪽 끝은 수조 하단에 고정

하고 반대쪽은 등장성 장력변환기 (Grass, FTO3)에 연결하여 그 장력 변동을 Polygraph (Grass, Model 79)상에 기록하였다. 사용한 Krebs-Ringer 용액의 조성은 NaCl 118.3, KCl 4.7, NaHCO₃ 25, MgCl₂ 1.2, KH₂PO₄ 1.2, CaCl₂ 2.5, glucose 11.1 mM 이었으며 pH는 7.4로 유지하였다(Fig. 1). 경우에 따라 혈관 내피층을 제거하였으며 phenylephrine (10⁻⁶ M)으로 수축시켜 acetylcholine (10⁻⁵ M)에 의해 이완되지 않으면 내피층이 제거된 것으로 간주하였다. 혈관표본에 2 g의 장력을 주어 15분 간격으로 수조내 영양액을 교체하면서 약 90~120분 동안 평형시켜 장력이 안정되었을 때 본 실험을 시작하였다.

먼저 혈관 내피층 존재하에서 기초장력을 유지하면서 ANP (10⁻⁷ M)를 투여하고 15분 동안 장력변화를 기록하였으며 NO 합성 억제제인 N ω-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME, 3×10⁻⁴ M) 전처치가 ANP의 작용에 미치는 영향을 고혈압군과 대조군에서 비교 검토하였다. 아울러 혈관 내피층 제거에 의한 ANP의 반응을 확인하였으며 NO 전구물질인 L-arginine (10⁻³ M), soluble guanylate cyclase 억제제인 methylene blue (2×10⁻⁵ M) 및 cyclooxygenase 억제제인 indomethacin (10⁻⁵ M)을 각각 전처치한 상태에서 혈관 기초장력에 미치는 ANP의 효과를 분석하였다. 더불어 혈관 내피층 존재 유무에 따라 기초장력에 미치는 acetylcholine (10⁻⁷ M)에 의한 반응을 기록하였다. 나아가서 칼슘이 제거된 Krebs-Ringer 용액이나, protein kinase C (PKC) 억제제인 staurosporine (10⁻⁷ M) 및 calphostin C (10⁻⁶ M)의 전처치가 혈관의 기초장력 및 ANP의 효과에 미치는 영향을 고혈압군과 대조군에서 조사하였다. 약물의 전처치는 각각 30분 전¹²⁾에 시행하였다. 사용된 약물

Fig. 1. A schematic representation of the recording system for isometric contraction with 15 mL tissue bath.

은 모두 Sigma사 (미국 미주리주, ST. Louis) 제품이었다. Staurosporine과 calphostin C 는 dimethylsulfoxide (DMSO)에 용해하였으며 그 외의 시약은 3차 증류수에 용해하였다. 수조내 DMSO의 최종농도는 0.05% 이내로 하였다.

3. 분석 및 통계

실험결과는 평균±표준오차로 표시하였다. IC₅₀ 값은 logistic 공식 (Origin Software)에 의해 산출하여 pD₂ 치 (the mean of the negative log molar concentration)로 환산하였다. 각 군간 차이는 ANOVA (analysis of variance) 또는 Student's t test를 이용하여 p<0.05인 경우 통계적 유의성이 있는 것으로 판단하였다.

Ⅲ. 결 과

6주째에 간접법으로 측정한 수축기 혈압은 2K1C 고혈압군 (187 ± 8 mmHg, $n=39$)이 대조군 (135 ± 5 , $n=36$)에 비해 유의하게 ($p < 0.05$) 높았다(Fig. 2).

ANP 투여시 혈관의 기초장력은 2K1C 고혈압군에서 감소되었으나 대조군은 변화가 없었다. ANP의 이완효과는 L-NAME 전처치시 고혈압군에서 강화되었으나 대조군은 영향받지 않았다. L-NAME 단독투여에 의한 혈관 장력변화는 없었다(Fig. 3~5). L-NAME 투여에 의한 ANP 이완반응의 증가는 L-arginine을 전처치할 경우 소실되었다. 고혈압군에서 ANP의 기초장력 이완효과는 혈관 내피층을 제거하거나 (-398 ± 65 mg), methylene blue 전처치 시에도 (-387 ± 62 mg) L-NAME 처치의 경우 (-448 ± 78 mg)와 유사하게 항진되었으며(Fig. 6, Fig. 7) indomethacin은 영향을 미치지 않았다. 혈관 내피층이 제거된 상태에서 ANP의 기초장력 이완반응은 농도의존성을 보였으며 L-NAME 처치에 영향받지 않았다(IC_{50} : 7.79 ± 0.12 및 7.75 ± 0.13 , Fig. 8).

기초상태에서 acetylcholine에 의한 반응은 대조군에서 약한 이완을 보였으나 2K1C 고혈압군은 거의 이완되지 않음으로써 유의한 차이가 있었다. 혈관 내피층 제거시에는 양군 모두 이완반응이 소실되면서 서로 유사한 양상을 보였다(Fig. 9).

칼슘이 제거된 Krebs-Ringer 용액은 2K1C 고혈압군에서 혈관 기초장력을 이완시켰으며 (-135 ± 32 mg) 칼슘이 없는 상태에서는 ANP의 이완반응이 소실되었다(Fig. 10). 또한 staurosporine이나 calphostin C에

의해 기초장력은 각각 칼슘이 제거된 경우와 유사한 크기로 이완되었으며(-178 ± 47 mg 및 -189 ± 40 mg) PKC 억제제 존재하에서도 ANP의 이완 반응은 소실되었다(Fig. 11). 대조군은 칼슘이 없는 Krebs-Ringer 용액이나 PKC 억제제에 의해 영향받지 않았다.

Fig. 2. Systolic blood pressure (SBP) in sham-operated control and two-kidney, one clip (2K1C) hypertensive rats. * $p < 0.05$, compared with the sham value.

Fig. 3. Schematic tracing showing the effect of atrial natriuretic peptide (ANP) on basal tone in aortic rings from control rats in the absence (A) and in the presence (B) of N ω -nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME).

Fig. 4. Schematic tracing showing the effect of atrial natriuretic peptide (ANP) on basal tone in aortic rings from 2K1C rats in the absence (A) and in the presence (B) of N ω -nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME).

Fig. 5. Effects of atrial natriuretic peptide (ANP) on basal tone in aortic rings from sham-operated and 2K1C rats. The results obtained in the pre-treatment with L-NAME are also shown. Values are mean±SE for number of experiments in parentheses. *p<0.05, compared with corresponding sham values. † p<0.05, compared with the control value.

Fig. 6. Effects of atrial natriuretic peptide (ANP) on basal tone in aortic rings with (+) and without (-) endothelium (Endo) from 2K1C rats. * $P < 0.05$, compared with the +Endo value.

Fig. 7. Effects of atrial natriuretic peptide (ANP) on basal tone in aortic rings from 2K1C rats. The results obtained in the pre-treatment with methylene blue (MB) are also shown. * $p < 0.05$, compared with the control value.

Fig. 8. Effects of L-NAME on dose-response curve of the relaxing effect of atrial natriuretic peptide (ANP) in aortic rings without endothelium from 2K1C rats.

Fig. 9. Comparative effects of acetylcholine on basal tone in aortic rings with (+) and without (-) endothelium (Endo) from control and 2K1C rats. * $p < 0.05$, compared with the corresponding sham value.

Fig. 10. Effects of calcium-free Krebs on basal tone in aortic rings from 2K1C rats. The effects of atrial natriuretic peptide (ANP) on the basal tone in the presence of calcium-free (Ca-free) Krebs are also shown. * $p < 0.05$, compared with the Ca-free value.

Fig. 11. Effects of staurosporine (STA) and calphostin C (CalC) on basal tone in aortic rings from 2K1C rats. The effects of atrial natriuretic peptide (ANP) on the basal tone in the presence of STA and CalC are also shown. * $p < 0.05$, compared with corresponding vehicle values.

IV. 고찰

본 연구에서 대동맥 표본의 기초장력은 ANP에 의해 대조군의 경우 변화가 없었으나 2K1C 고혈압군은 이완을 보임으로써 생리적으로 체내 심혈관 기능의 항상성을 유지하는데 기여하고 있는 ANP의 내원성 혈관긴장에 대한 작용이 고혈압 상태에서 더 활성화 될 수 있음을 의미한다. 고혈압과 혈관 기초장력에 대하여 대동맥 협착 고혈압의 경우 ANP가 고혈압이 유지되는 흉부 대동맥의 기초긴장을 감소시킨 반면에 고혈압과 무관한 복부 대동맥에는 영향을 미치지 않으며 또한 혈압상승 정도에 따라 ANP의 이완효과가 비례적으로 증가됨이 확인되어 ANP의 작용이 고혈압상태의 혈관 기초긴장의 변화와 관련됨이 시사된 바 있다.¹²⁾ 따라서 대동맥 협착 고혈압의 경우와는 달리 전신성 고혈압인 2K1C 신혈관성 고혈압에서도 혈관 장력에 대한 ANP의 효과가 실험적으로 유발시킨 고혈압에 의한 혈관 기초긴장의 변동과 관계가 있을 것으로 추정된다. 이와 관련되어 혈관 기초장력의 변화는 근본적으로 혈관의 구조적 및 기능적 변화를 수반할 것이며 2K1C 고혈압의 경우에도 평활근 세포막을 통한 이온투과성이나 혈관 내피층의 기능이 변조됨이 보고된 바 있다.^{15,19)} 더불어 고혈압 상태에서 나타나는 혈관의 내원성 기초긴장의 증가는 저항혈관보다는 대동맥과 같이 직경이 큰 혈관에서 확인되었고, 내원성 긴장의 활성이 항고혈압제 처치시 소실되기 때문에 고혈압상태에서의 혈관 기초긴장의 증가는 고혈압 유발요인이 아니라 고혈압의 결과에 기인하며 또한 고혈압의 정도를 결정하는 주요한 요소임이 제시되었다.²⁰⁾

2K1C 고혈압군에서 ANP의 혈관 기초장력 이완효과는 L-NAME 처치시 항진됨으로써 이전의 보고와¹²⁾ 유사한 양상을 보였다. L-NAME에

의한 ANP 이완반응의 증가는 NO 전구물질인 L-arginine 전처치시 소실되었으나 혈관 내피층 제거시에는 유사한 양상을 보였으며 또한 내피층이 제거된 상태에서 ANP의 이완반응은 농도 의존성을 보이면서 L-NAME의 영향을 받지 않았다. 이러한 결과들은 고혈압상태에서 L-NAME 처치시 보인 ANP의 이완효과에 혈관 내피층으로부터 유래되는 NO의 활성이 관여함을 의미한다. 이는 구체적으로 혈관을 확장시키는 NO의 활성이 억제된 상태에서 ANP의 기초장력에 대한 이완효과가 항진됨을 시사한 바 혈관 기초긴장에 미치는 ANP 효과에 대한 NO의 길항적 조절 (counter-regulator) 작용¹²⁾으로 해석된다. 즉 NO 활성 억제에 의한 반사적 수축효과가 혈관 기초긴장의 활성을 증가시켜 ANP의 이완반응이 항진된 것으로 생각되며 본 실험에서 ANP가 혈관 기초장력에 대해 대조군과 달리 2K1C 고혈압군에서만 이완반응을 보인 결과는 고혈압 상태에서 NO 활성이 억제되었을 가능성을 추정케 한다. 실제로 저자 등은 이전의 연구에서 내피층 존재유무에 따라 여러가지 혈관 활성물질에 의한 수축반응을 통해 2K1C 고혈압군에서 혈관 내피층의 기능이 변이됨을 제시하였다.¹⁹⁾ 또한 NO 합성 억제제의 일종인 N^G-nitro-L-arginine (L-NNA)에 의한 혈관 수축반응이 2K1C 고혈압군에서 대조군에 비해 약화됨으로써 고혈압군에서 NO 긴장이 대조군과 차이가 있음을 확인하였으며 그러한 차이는 혈관에서 NO 합성효소인 NOS 단백 발현정도가 고혈압군에서 대조군에 비해 유의하게 감소됨에 기인함을 시사한 바 있다.¹⁷⁾ 따라서 본 연구에서도 2K1C 고혈압군에서 NO 활성 억제에 의해 혈관 기초장력이 증가된 상태에서 ANP의 이완효과가 나타났을 것으로 추측된다. 이와 관련되어 NOS의 활성변화가

직접적으로 혈관 기초긴장에 영향을 미침이 보고된 바 있으며¹⁶⁾ NOS 활성억제에 의한 고혈압이나 혈관 내피층 기능의 변조를 동반한 유전성 고혈압상태에서도 ANP의 활성이 증가하거나 혈관 이완효과가 향진됨이 알려져 있다.²¹⁾

나아가서 ANP와 NO는 모두 세포내 cGMP 치를 상승시켜 혈관 이완작용을 나타내지만^{5,22)} 그 작용경로는 서로 다르다. NO의 수용체는 soluble guanylate cyclase의 heme moiety인 바 NO는 평활근 세포의 이 효소를 자극하며 ANP는 혈관 평활근에 존재하는 수용체 막에 결합되어 있는 particulate guanylate cyclase를 활성화시킴으로써⁵⁾ 각각 cGMP 농도를 증가시킨다. 따라서 고혈압군에서 나타난 기초장력에 대한 ANP의 이완효과가 soluble guanylate cyclase 억제제인 methylene blue 전처치시 향진됨을 보인 결과는 NO 활성의 변화가 ANP의 작용에 관여함을 재입증하고 있으며 또한 혈관 기초긴장에 대한 ANP의 작용도 활성물질로 미리 수축시킨 혈관 평활근에서의 경우와 유사하게 particulate form의 활성화 경로를 통해 나타났을 것으로 추정할 수 있다.²³⁾

NO는 혈관 내피층으로부터 유리되는 이완인자로서 대표적인 물질인 바 2K1C 고혈압군에서만 보인 ANP의 혈관 기초장력에 대한 이완효과가 NO 활성 억제와 관련이 있다면 내피층 의존 이완물질로 알려진 acetylcholine의 혈관 기초긴장에 대한 효과가 고혈압상태에서 달라질 가능성을 배제할 수 없다. 실제로 본 실험에서 acetylcholine에 의한 반응은 대조군에서는 약한 이완을 보였으나 고혈압군은 거의 이완되지 않았으며 이는 기초상태에서 NO 활성의 차이에 기인할 것으로 추측된다.

한편 acetylcholine에 의한 이완효과는 대부분 혈관이 활성물질에 의해 수축된 상태에서 검토되었으며 고혈압상태에서는 혈관 내피층의 변이에 의해 2K1C 고혈압이나¹⁹⁾ 또는 다른 고혈압의 모델에서²⁴⁾ 이완 반응이 억제됨이 확인된 바 있다.

고혈압상태에서 혈관의 기초장력은 세포막을 통한 칼슘의 이동에 의해 조절됨이 알려져 있는바,¹⁴⁾ 고혈압동물의 혈관 평활근에서 수조내 칼슘을 제거할 경우 이완이 유발되며²⁵⁾ 칼슘통로 차단제에 의해 기초긴장의 활성이 소실된다.²⁶⁾ 이는 혈관의 내원성 근긴장이 혈관세포막을 통한 칼슘 투과성의 증가에 기인하여 향진됨을 의미하며 그러한 사실은 여러 연구자에 의해 확인되었다.^{20,27,28)} 2K1C 고혈압군에서도 칼슘이 없는 영양액 존재하에서 대조군과 달리 이완을 보임으로써 평활근 세포내 칼슘 활성의 변화가 혈관의 내원성 기초긴장을 유지하는데 기여하고 있음을 시사한다. 또한 칼슘이 제거된 상태에서는 ANP의 혈관 기초장력에 대한 이완효과가 소실됨으로써 고혈압군에서 나타난 ANP의 혈관 기초긴장에 대한 이완효과가 평활근 세포내 칼슘 활성의 증가와 관련됨을 의미하며 실제로 2K1C 고혈압군에서는 세포막을 통한 칼슘의 유입이 증가됨이 보고되어 있다.¹⁵⁾ 따라서 2K1C 고혈압 동물의 경우에도 동맥 협착 고혈압의 경우와¹²⁾ 유사하게 세포내 칼슘 활성이 향진되어 혈관의 내원성 기초긴장이 증가된 상태에서 ANP의 이완효과가 야기되었을 것으로 추측된다. 더불어 PKC는 평활근 세포내에서 칼슘의 활성을 조절하여 수축을 지속적으로 유지시키는 것으로 알려진 바²⁹⁾ 고혈압군에서 혈관의 기초장력은 PKC 억제제인 staurosporine 및 calphostin C에 의해 각각 칼슘이 제거된 경우와 유사한 크기의 이완을 보였으며,

또한 PKC 억제제 존재하에서도 ANP의 이완반응이 소실됨으로써 칼슘의 활성이 혈관 기초긴장이나 ANP의 효과에 관여하고 있음을 재입증하고 있다.

이상의 실험결과를 요약하면 ANP는 2K1C 신혈관성 고혈압에서 혈관 기초장력을 이완시키며 ANP의 이완반응은 고혈압상태에서 NO 활성 및 평활근 세포내 칼슘 활성 변화에 의한 기초긴장의 증가와 관련될 것으로 사료된다.

V. 결 론

신혈관성 고혈압쥐에서 심방 이뇨 호르몬 (atrial natriuretic peptide, ANP)이 혈관의 기초장력에 미치는 영향을 확인하고 나아가서 그 작용에 대한 nitric oxide (NO)와 칼슘의 역할을 구명하고자 본 연구를 시행하였다.

흰쥐 일측 신동맥에 clip을 장치하고 6주 동안 사육하여 two-kidney, one clip (2K1C) 신혈관성 고혈압을 유발시켰다. 실험 당일 흉부 대동맥을 적출하여 수조에 현수하고 ANP 투여에 의한 혈관의 등장성 장력 변화를 기록하여 대조군과 비교 검토하였다. ANP는 2K1C 고혈압군에서 혈관의 기초장력을 감소시켰으나 대조군은 변화가 없었다. ANP의 이완효과는 N ω -nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME) 처치시 강화되었다. L-NAME에 의한 ANP 이완반응의 증가는 혈관 내피층을 제거하거나 methylene blue 전처치시 유사하게 항진되었다. 혈관 기초긴장에 대한 acetylcholine의 이완반응은 2K1C 고혈압군에서 대조군에 비해 억제되었다. 수조내 칼슘을 제거하거나 staurosporine 및 calphostin C를 각각 전처치할 경우 혈관의 기초장력은 감소되었으며 이때 ANP의 이완효과는 소실되었다.

이상의 실험결과로 보아 2K1C 신혈관성 고혈압 상태에서 ANP의 혈관 기초장력 이완효과는 세포내 칼슘 활성의 증가와 관련될 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

- 1) De Bold AJ, Borenstein HB, Veress AT, Sonnenberg AH. A rapid and potent natriuretic response to intravenous injection of atrial myocardial extract in rats. *Life Sci* 1981;28:89-94.
- 2) Flynn TG. Past and current perspectives on the natriuretic peptides. *Proc Soc Exp Biol Med* 1996;213:98-104.
- 3) Currie MG, Geller DM, Cole BR, Boylan JG, Yusheng W, Holmberg SW, Needleman P. Bioactive cardiac substances: potent vasorelaxant activity in mammalian aorta. *Science* 1983;221:71-3.
- 4) Garcia R, Thibault G, Genest J, Cantin M. Effect of a purified atrial natriuretic factor on a rat and rabbit strips and vascular beds. *Am J Physiol* 1984;247:R34-9.
- 5) Schulz S, Waldmann SA. The guanylyl cyclase of natriuretic peptide receptors. *Vitam Horm* 57:123-151.
- 6) Meisneri KD, Taylor CJ, Saneii H. Synthetic atrial peptide inhibit intracellular calcium release in smooth muscle. *Am J Physiol* 1986;250:C171-4.
- 7) Marin-Grez M, Fleming JT, Steinhausen M. Atrial natriuretic peptide preglomerular vasodilatation and postglomerular vasoconstriction in rat kidney. *Nature* 1986;324:473-6.

- 8) Proctor KG, Bealer SL, Selective antagonism of hormone induced vasoconstriction by synthetic atrial natriuretic factor in the rat microcirculation. *Circ Res* 1987;61:42-9.
- 9) Faber JE, Gettes DR, Gianturco DP. Microvascular effect of atrial natriuretic factor: interaction with α_1 -and α_2 -adrenoceptors. *Circ Res* 1998;63:415-28.
- 10) Peral de Bruno M, Coviello A, Meyer M, Forssmann WG. Relaxation of non-contracted smooth muscle by atrial natriuretic peptide. *Clin Exper Hyper* 1992;14:1125-39.
- 11) Romano L, Coviello A, Jerez S, Peral de Bruno M. Role of nitric oxide on the vasorelaxant effect of atrial natriuretic peptide on rabbit aorta basal tone. *Can J Physiol Pharmacol* 2002;80:1022-9.
- 12) Peral de Bruno M, Romano L, Proto M, Coviello A. Atrial natriuretic peptide relaxes arterial basal tone induced by coarctation hypertension. *Peptides* 1999;20:485-91.
- 13) Webb RC. Vascular changes in hypertension. In: Antonaccio MJ. *Cardiovascular pharmacology*, 2nd ed. Raven Press: New York; 1984:215-25.
- 14) Noon JP, Rice PJ, Baldessarini RJ. Calcium leakage as a cause of the high resting tension in vascular smooth muscle from the spontaneously hypertensive rat. *Proc Natl Acad Sci USA* 1978;75:1605-7.

- 15) Callera GE, Varanda WA, Bendhack LM. Ca^{2+} influx is increased in 2-kidney, 1-clip hypertensive rat aorta. *Hypertension* 2001;38:592-6.
- 16) Nakamura T, Vollmar B, Menger MD, Inui K, Wada H, Schafers HJ. Heme oxygenase does not contribute to control of basal vascular tone in isolated blood-perfused rat lung. *J Heart Lung Transplant* 2004;23:599-605.
- 17) Yeum CH, Choi KC, Lee JU, Chung JH, Jun JY, Yoon PJ, Yeum CH. Altered resting nitric oxide vasodilator tone in two-kidney, one clip rats. *Kor J Nephrol* 2001;20:955-63.
- 18) Okamura T, Miyazaki M, Inagami T, Toda N. Vascular renin-angiotensin system in two kidney, one clip hypertensive rats. *Hypertension* 1986;8:560-5.
- 19) Jun JY, Yeum CH, Moon SH, Cho CH, Jun KB, Chung JH, Yoon PJ. Altered endothelial modulation of vasoconstriction in chronic two-kidney, one clip hypertensive rats. *Kor J Nephrol* 2001;20:381-92.
- 20) Sunano S, Sekiguchi F, Takeuchi K, Shibutani S, Matsuda K, Shimamura K. Attenuation of intrinsic active tone by endothelium-derived nitric oxide in aortae of spontaneously hypertensive rats with different levels of blood pressure. *Clin Exp Hypertens* 1996;18:873-90.
- 22) Hampl V, Huang JM, Weir EK, Archer SL. Activation of the

- c-GMP-dependent protein kinase mimics the stimulatory effect of nitric oxide and c-GMP on calcium gated potassium channels. *Physiol Res* 1995;44:39-44.
- 23) Sato M, Abe K, Takeuchi K, Yasujima M, Omata K, Hiwatari M, Kasai Y, Tanno M, Kohzuki M, Kudo K, Yoshinaga K, Inagami T. Atrial natriuretic factor and cyclic guanosine 3', 5' monophosphate in vascular smooth muscle. *Hypertension* 1986;8:562-71.
- 24) Van de Voorde J, Vanheel B, Leusen I. Depressed endothelium-dependent relaxation in steroid hypertension: Relation to increased blood pressure and reversibility. *Pflugers Arch* 1988;411:500-4.
- 25) Sada T, Koike H, Nishio H, Oizumi K. Chronic inhibition of angiotensin converting enzyme decreases Ca^{2+} -dependent tone of aorta in hypertensive rats. *Hypertension* 1989;13:582-8.
- 26) Linder V, Heinle H. Ca^{2+} influx in spontaneously hypertensive rats is sensitive to calcium antagonists. *Eur J Pharmacol* 1987;138:147-9.
- 27) Thompson LP, Bruner YA, Lamb FS, King CM, Webb RC. Calcium influx and vascular reactivity in systemic hypertension. *Am J Cardiol* 1987;59:A29-34.
- 28) Gonzalez JM, Suki WN. Cell calcium and arterial blood pressure. *Semin Nephrol* 1995;15:564-8.

- 29) Francis SH, Corbin JD. Structure and function of cyclic nucleotide-dependent protein kinases. *Ann Rev Physiol* 1994;56:237-72.

2007年2月
博士學位論文

신혈관성 고혈압쥐에서 *Atrial*
*Natriuretic Peptide*가 혈관 기초장력에
미치는 영향

朝鮮大學校 大學院

醫學科

金明龍

신혈관성 고혈압쥐에서 *Atrial*
*Natriuretic Peptide*가 혈관 기초장력에
미치는 영향

*Effects of Atrial Natriuretic Peptide on the Arterial
Basal Tone in Renovascular Hypertensive Rats*

2007 年 2 月 日

朝鮮大學校 大學院

醫學科

金 明 龍

신혈관성 고혈압쥐에서 *Atrial*
*Natriuretic Peptide*가 혈관 기초장력에
미치는 영향

指導教授 趙 南 秀

이 論文을 醫學博士學位 申請論文으로 提出함

2006 年 10 月 日

朝鮮大學校 大學院

醫 學 科

金 明 龍

金 明 龍 의 博士學位論文을 認准함

委員長 大學校 教授 _____ 印

委 員 大學校 教授 _____ 印

委 員 大學校 教授 _____ 印

委 員 大學校 教授 _____ 印

委 員 大學校 教授 _____ 印

2006 年 12 月 日

朝鮮大學校 大學院