

흰쥐에서 Nitric Oxide 합성억제가 심방이노 호르몬의 감압효과에 미치는 영향

조선대학교 의과대학 생리학교실,¹ 내과학교실²

김 형¹ · 정수아¹ · 유임준¹ · 김준수¹ · 최 석¹
전제열¹ · 윤평진¹ · 김명용¹ · 홍순표² · 엄철호¹

Effects of Nitric Oxide Synthesis Inhibition on the Depressor Response of Atrial Natriuretic Peptide in Rats

Hyoung Kim, MD¹, Soo-Ah Jeong, MD¹, Im-June Yoo, MD¹, Jun-Soo Kim, MD¹,
Seok Choi, PhD¹, Jae-Yeoul Jun, MD¹, Pyung-Jin Yoon, PhD¹,
Myung-Young Kim, MD¹, Soon-Pyo Hong, MD² and Cheol-Ho Yeum, PhD¹

¹Department of Physiology and ²Internal Medicine, College of Medicine, Chosun University, Gwangju, Korea

ABSTRACT

Background and Objectives : It has been suggested that nitric oxide (NO) and atrial natriuretic peptide (ANP) share a final common pathway for vascular smooth muscle relaxation. The aim of the present study was to determine the role of NO on the hypotensive and vasorelaxant effects of ANP. **Materials and Methods :** Sprague-Dawley rats weighing 250-300 g each were anesthetized with thiopental (50 mg/kg IP). The femoral artery was cannulated and the arterial blood pressure and heart rate were continuously monitored in the anesthetized rats (n=19). ANP was administered into the jugular vein after L-NAME treatment. In vitro experiments were performed on intact and endothelium-denuded isolated thoracic aortic rings (n=51) in the presence of either L-NAME or methylene blue. **Results :** Intravenous administration of ANP (5 ug/kg bolus and 0.2 ug/kg/min infusion) caused a decrease in the mean arterial pressure. L-NAME-pretreatment (1 mg/kg) suppressed the depressor response of ANP. In vitro, the ANP caused a dose-dependent relaxation, and the relaxation response to ANP was attenuated by L-NAME (10⁻⁴ M). Endothelium removal or methylene blue (10⁻⁵ M) also inhibited the ANP-induced vascular relaxation. **Conclusion :** These results suggest that the hypotensive and the vasorelaxant effect of ANP are, at least in part, NO-dependent. (Korean Circulation J 2005;35:891-896)

KEY WORDS : Atrial natriuretic peptides ; Nitric oxide.

서 론

혈관을 수축 및 이완시키는 여러가지 물질이 혈관 내피층으로부터 유리되어 혈관 평활근 긴장을 조절하는 것으로 알

려져 있으며 이 가운데 이완인자로서 대표적인 물질이 nitric oxide(NO)이다.^{1,2)} NO는 체내 아미노산인 L-arginine으로부터 NO synthase(NOS)에 의해 합성되며³⁾ L-arginine과 구조적으로 유사한 N^G-nitro-L-arginine methyl ester(L-NAME), N^G-nitro-L-arginine(L-NNA) 및 N^G-monomethyl-L-arginine(L-NMMA) 등과 같은 NO 합성억제제가 개발됨으로써⁴⁾ 심혈관 기능의 조절에 있어 NO의 역할을 구명하는데 널리 사용되고 있다.^{5,6)}

심방세포는 체액량의 증가에 따라 심방이노 호르몬(atrial natriuretic peptide, ANP)을 분비시켜 뇨량 및 뇨중 Na⁺ 배

논문접수일 : 2005년 6월 29일

수정논문접수일 : 2005년 10월 5일

심사완료일 : 2005년 11월 2일

교신저자 : 엄철호, 501-759 광주광역시 동구 서석동 375

조선대학교 의과대학 생리학교실

전화 : (062) 230-6411 · 전송 : (062) 232-4943

E-mail : chyum@mail.chosun.ac.kr

설량을 증가시킴으로써 세포외액량을 조절함이 알려져 있다.⁷⁾ ANP는 신장을 통한 배설기능 이외에 직접적으로 혈관에 작용하여 혈관평활근을 이완시켜 혈압하강효과를 나타냄으로써⁸⁾ 생리적으로 체액량의 항상성과 혈압의 조절에 중요한 역할을 하고 있다.

ANP와 NO의 혈관에 대한 작용은 비록 수용체를 통한 작용경로가 다르지만 결과적으로 세포내 cGMP 농도의 증가가 수반되어 이완효과를 나타내기 때문에⁹⁾¹⁰⁾ 양자간의 생리적 기능과 관련된 상호작용이 여러 연구자들에 의해 검토되고 있다. ANP에 의한 감압반응이 L-NAME 전처치시 억제됨으로써 ANP에 의한 혈압하강효과가 혈관내피층에서 NOS 활성의 증가에 기인함이 보고된 바 있으며¹¹⁾ 임상적으로도 ANP에 의한 혈관확장효과에 NO가 매개함이 시사된 바 있으나,¹²⁾ ANP의 혈관이완작용이 혈관내피층 존재 유무와 관계없이 독립적으로 유지된다는 의견도 있으며¹³⁾ 또한 NO 합성억제제나 내피층 제거시 ANP의 혈관이완효과가 오히려 항진된다는 보고도 있는 바¹⁴⁾ 연구자에 따라 의견이 일치되지 않고 있다.

따라서 본 연구는 ANP에 의한 감압효과 및 혈관 이완작용에 NO가 관여하는지 구명하고자 마취 흰쥐의 혈압과 심박수를 기록하면서 L-NAME 전처치의 영향을 조사하였으며 적출 흉부 대동맥 표본을 이용하여 생체의 반응도 아울러 검토하였다.

재료 및 방법

실험동물

일정한 조건하에서 사육된 체중 250~300 g의 흰쥐(Sprague-Dawley)를 암수 구별 없이 사용하였다.

혈압 및 심박수 측정

Thiopental(50 mg/kg)을 복강내에 주입하여 마취시킨 후 호흡이 용이하도록 기도 cannula를 장치하고 우측 대퇴동맥에 heparin(300 IU/mL) 식염수로 채워진 polyethylene tube(PE 60)를 삽입하여 pressure transducer(Gould, P23Db)를 통해 physiograph(Beckman, R511A) 상에 기록하였다. 평균혈압(mean arterial pressure, MAP)은 공식(diastolic pressure+pulse pressure/3)에 의거하여 산출하였다. 실험은 Vehicle 투여군(n=7), ANP 주입군(n=6) 및 L-NAME 전처치군(n=6)으로 구분하여 시행하였다. 수술이 끝나고 약 60~90분 동안 기다려 혈압이 안정된 후 대퇴정맥을 통해 ANP(5 ug/kg 일시주입 및 0.2 ug/kg/min 지속주입)를 45.9 uL/min 속도로 90분 동안 주입하였으며¹¹⁾ 처음에는 5분째, 그후 15분 간격으로 혈압과 심박수 변화를 측정하였다. 한편 L-NAME(1 mg/kg)는 ANP 투여 30분 전에 정맥을 통하여 전처치 하였다.

혈관의 등장성 장력 기록

적출 흉부 대동맥 혈관을 적출하여 길이 2~3 mm의 환상 표본을 만들어 15 mL 수조에 매달고 37℃를 유지하면서 95% O₂와 5% CO₂의 혼합기체를 지속적으로 공급하였다. 동맥환 표본의 한쪽 끝은 수조 하단에 고정하고 반대쪽은 등장성 장력변환기(Grass, FT03)에 연결하여 그 장력변동을 Polygraph(Grass, Model 79)상에 기록하였다. 사용한 영양액의 조성은 NaCl 118.3, KCl 4.7, NaHCO₃ 25, MgCl₂ 1.2, KH₂PO₄ 1.2, CaCl₂ 2.5, glucose 11.1 mM이었으며 pH는 7.4로 유지되도록 하였다. 경우에 따라 가느다란 면봉을 사용하여 혈관 내피층을 조심스럽게 제거하였으며 phenylephrine(10⁻⁶ M)으로 수축시켜 acetylcholine(10⁻⁷ M)에 의해 이완되지 않으면 내피층이 제거된 것으로 간주하였다. 먼저 혈관표본에 2 g의 장력을 주어 약 90~120분 동안 평형시켜 더 이상 장력 변동없이 평형에 이르렀다고 판단될 때 본 실험을 시작하였다. 실험은 ANP 투여군(내피층 존재군: n=15, 내피층 제거군: n=7, L-NAME 처치군: n=6, methylene blue 처치군: n=8)과 sodium nitroprusside 투여군(내피층 존재군: n=8, 내피층 제거군: n=7)으로 구분하였다.

Phenylephrine(10⁻⁶ M)으로 수축시켜 그 크기가 안정되었을 때 ANP(10⁻¹⁰~10⁻⁷ M) 또는 sodium nitroprusside(10⁻¹⁰~10⁻⁷ M)를 각각 반복투여 하여 농도에 따른 이완반응을 기록하였다. ANP의 이완반응에 미치는 영향을 검토하기 위하여 L-NAME(10⁻⁴ M) 또는 cGMP 억제제인 methylene blue(10⁻⁵ M)를 각각 ANP 투여 30분 전에 전처치 하였다. 사용된 약물은 모두 Sigma사(USA, ST.Louis) 제품이었으며 정맥내 주입시 생리식염수에 용해하였고 생체의 실험의 경우 3차 증류수에 용해하였다.

통계분석

실험결과는 평균±표준오차로 나타내었으며 이완반응의 크기는 최대 수축반응에 대한 %로 표시하였다. IC₅₀ 값은 logistic 공식(Origin Software)에 의해 산출하여 pD₂치(the mean of the negative log molar concentration)로 환산하였다. 한 군에서 평균의 차는 t-test를 통해 검정하였고 각 군간의 차이는 ANOVA with Bonferroni test를 이용하였으며 유의수준은 p<0.05로 하였다.

결 과

ANP의 감압효과에 미치는 L-NAME의 영향

정맥내 ANP 주입시 혈압은 하강하기 시작하여 5분째부터 유의한 차이를 보였으며 감압효과는 ANP 주입이 지속되는 90분 동안 유지되었다. Vehicle(생리식염수) 투여는 혈압에 영향을 미치지 않았다. L-NAME 처치군(127±5.9 mmHg)의 평균혈압은 0시간에서 ANP 주입군(112±3.6 mmHg)에 비해 유의하게(p<0.05) 높았다. L-NAME 전처치 상태에서

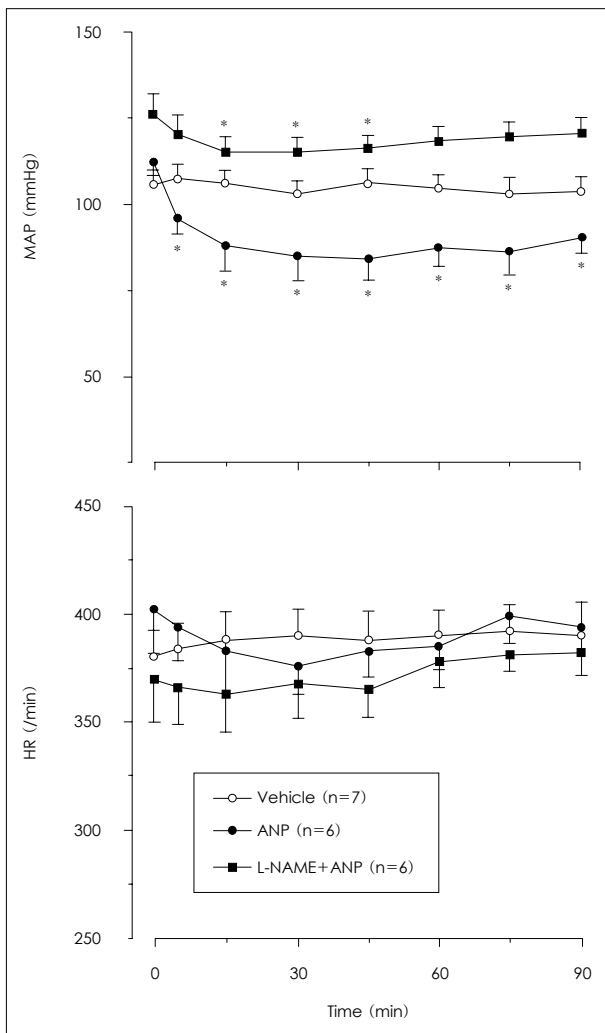


Fig. 1. Effects of N^G-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME) on mean arterial pressure (MAP) and heart rate (HR) during intravenous administration of vehicle or atrial natriuretic peptide (ANP, 5 ug/kg bolus and 0.2 ug/kg/min infusion). ANP was infused from 0 to 90 min and L-NAME (1 mg/kg) was injected 30 min before the ANP. Values are mean \pm SE of n animals. *: $p < 0.05$, compared with the 0 time value in each group.

ANP 주입시 혈압은 15분째부터 45분째까지 일시적으로 하강되었으나 대조군(ANP 주입군)과 달리 시간이 지남에 따라 회복되는 양상을 보였다. ANP 주입시 또는 L-NAME 전처치 상태에서 심박수는 유의한 변화를 보이지 않았다(Fig. 1). ANP 주입에 의한 최대 혈압 변동치는 L-NAME 처치군이 대조군에 비해 유의하게 약화되었다(Fig. 2).

ANP의 혈관 이완반응에 미치는 L-NAME 및 methylene blue의 영향

Phenylephrine으로 수축시킨 후 ANP 투여는 용량의존 이완반응을 보였다. ANP에 의한 이완반응은 L-NAME를 전처치하거나 혈관내피층 제거시 대조군(내피층 존재군)에 비해 곡선이 우측으로 이동됨으로써 유의하게($p < 0.05$) 억제되었다(pD_2 : 8.85 ± 0.08 에서 8.41 ± 0.09 및 8.44 ± 0.06)(Fig. 3). ANP의 이완반응은 methylene blue를 전처치한 경우에도

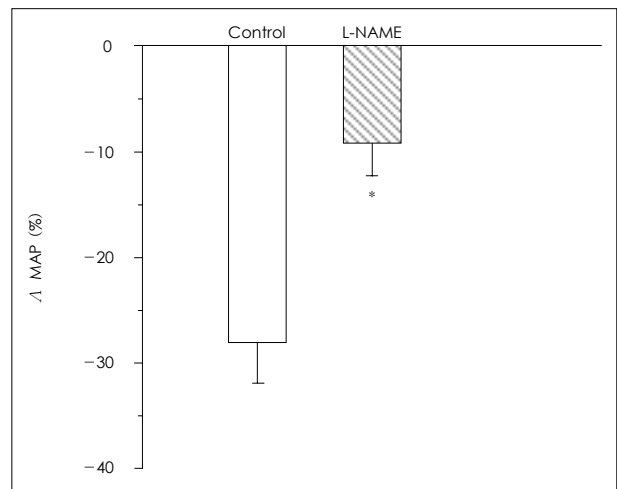


Fig. 2. Percent changes in maximal depressor responses to atrial natriuretic peptide (ANP) in N^G-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME) treated rats. *: $p < 0.05$, compared with the control value. Other legends as in Fig. 1. MAP: mean arterial pressure.

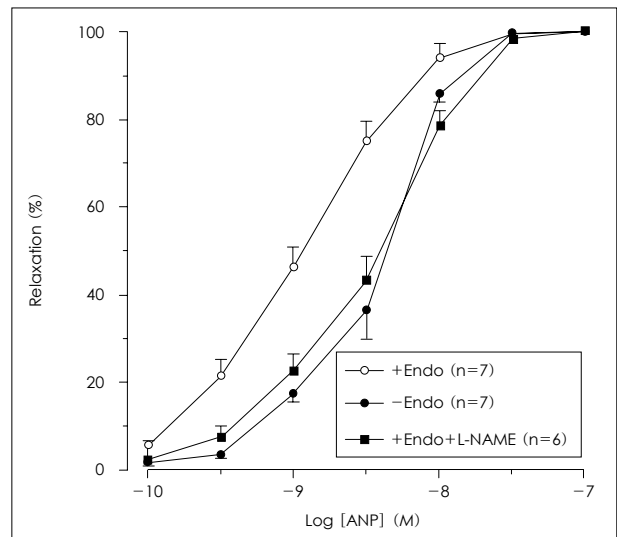


Fig. 3. Dose-relaxation curves to atrial natriuretic peptide (ANP) of rat aortic rings with (+) and without (-) endothelium (Endo). The results obtained in rings with Endo in the presence of N^G-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME, 10^{-4} M) are also shown. Values are mean \pm SE of n experiments.

역시 억제되었다(pD_2 : 8.88 ± 0.11 에서 8.53 ± 0.07 , $p < 0.05$)(Fig. 4). 기초상태에서 L-NAME 및 methylene blue 단독 투여는 혈관장력에 영향을 미치지 않았다. 한편 sodium nitroprusside에 의한 이완반응은 내피층 존재 유무에 관계없이 차이가 없었다(pD_2 : 8.74 ± 0.07 및 8.69 ± 0.08)(Fig. 5).

고찰

정맥 내 주입된 ANP는 혈압을 하강시켰으며 감압정도는 이전의 보고와¹¹⁾ 유사하였다. ANP에 의한 감압효과가 유지되는 동안 심박수는 유의한 변화를 보이지 않음으로써 ANP의 감압작용이 신경계의 활성화보다는 체액의 조절이나 혈관

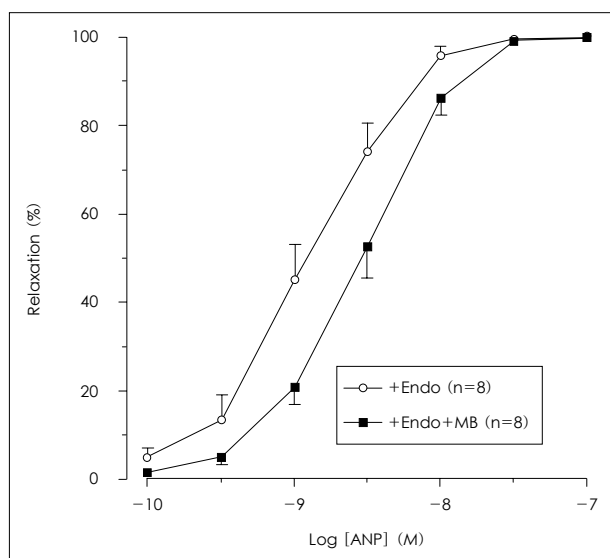


Fig. 4. Dose-relaxation curves to atrial natriuretic peptide (ANP) of rat aortic rings with (+) endothelium (Endo). The results obtained in rings with Endo in the presence of methylene blue (MB, 10^{-5} M) are also shown.

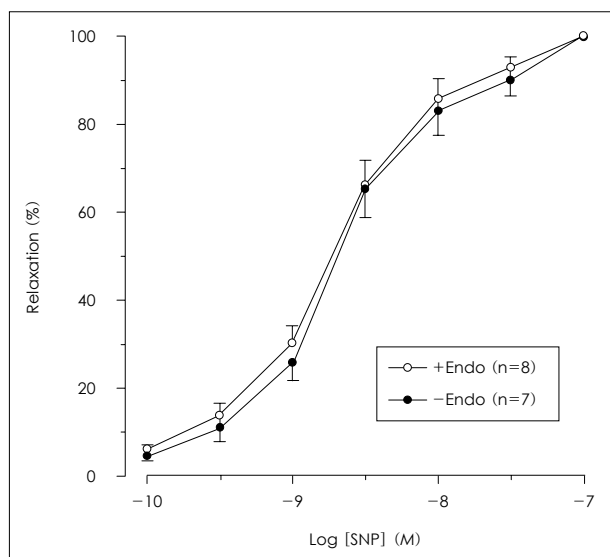


Fig. 5. Dose-relaxation curves to sodium nitroprusside (SNP) of rat aortic rings with (+) and without (-) endothelium (Endo).

운동의 변화 등을 통해 나타났을 가능성을 추측케 한다. 한편 L-NAME 전처리군은 대조군에 비해 평균혈압이 약 15~20 mmHg 상승됨을 보임으로써 다른 NO 합성억제제인 L-NNA를 정맥 투여하여 본 교실에서 이미 확인했던 결과와¹⁵⁾ 비슷하였으며 이러한 현상은 기초상태에서 말초 저항혈관으로부터 NO가 지속적으로 유리되어 혈관확장을 야기시켜 정상혈압조절에 기여하고 있음을 시사한다. ANP에 의한 감압 효과는 L-NAME 처리하에서도 일시적으로 유지되었으나 감압의 크기가 유의하게 약화됨으로써 ANP의 감압효과에 부분적으로 NO가 관여하고 있음을 의미한다. 이와 관련되어 Costa 등¹¹⁾은 생체 내 ANP 투여시 NOS 활성의 지표로 알

려져 있는¹⁶⁾ NADPH-diaphorase의 조직화학적 활성이 혈관 내피층에서 항진되며 또한 NO의 대사산물인 nitrate나 nitrite의 뇨중 배설이 증가됨을 확인하고 ANP가 NO합성을 증가시킴을 시사하였으며 이는 다른 연구자들에 의해서도 확인된 바 있다.¹⁷⁾¹⁸⁾ 더불어 NO 합성의 억제제 체내 ANP 유리를 항진시킴이 보고된 바 있으나¹⁹⁾ 본 실험에서 사용한 L-NAME의 용량은 혈중 ANP치를 증가시킨 NO 합성 억제제의 용량 (25 mg/kg)¹⁹⁾에 비해 아주 소량이기 때문에 L-NAME 자체가 체내 ANP 활성에 직접적으로 영향을 미치지 않았을 것으로 추정된다. 본 실험에서는 ANP의 감압효과가 L-NAME에 의해 억제되는데 있어 NOS 활성이나 NO 배설량 및 ANP치의 변화 등이 검토되지 않았으나 ANP계와 NO와의 상관관계를 보다 명확히 구명하기 위한 일환으로 생체의 혈관반응을 조사하였다.

Phenylephrine으로 수축시킨 동맥표본은 ANP에 의해 용량의존성 있게 이완되었으며 ANP의 이완반응은 L-NAME를 전처리할 경우 유의하게 억제됨으로써 ANP에 의한 이완작용에 부분적으로 NO가 관여함을 의미한다. 더구나 sodium nitroprusside에 의한 이완반응이 혈관내피층 존재유무에 관계없이 유사한 양상을 보임에 반하여 ANP의 이완반응은 내피층 제거시 L-NAME 처리의 경우와 마찬가지로 억제됨을 보임으로써 혈관 내피층으로부터 유래되는 L-arginine-NO 경로가²⁾ ANP의 이완반응에 기여하고 있음을 시사한다. 이와 관련되어 Sugamori 등¹²⁾은 임상적으로 동맥을 통해 ANP를 주입하면서 전완을 통한 혈류량을 측정하여 NO 합성억제제인 L-NMMA 전처리시 혈류량이 유의하게 감소됨을 확인하고 ANP에 의한 혈관확장이 부분적으로 NO를 매개함을 보고한 바 있다.

ANP는 NO와 유사하게 궁극적으로 세포내 cGMP치를 상승시켜 세포내 Ca^{2+} 농도를 감소시키거나 Ca^{2+} -의존성 K^{+} 통로를 활성화시켜 혈관을 이완시키는 것으로 알려져 있다.⁹⁾²⁰⁾²¹⁾ 즉 세포내 cGMP의 증가가 cGMP-의존성 protein kinase를 활성화시켜 myosin light chain의 탈인산화(dephosphorylation)를 유도함으로써 평활근 이완을 야기시킨다.²²⁾ ANP와 NO는 둘 다 세포내 cGMP를 상승시켜 혈관 이완작용을 나타내지만 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 활성화시킴으로써¹⁰⁾ 각각 cGMP 농도를 증가시킨다. 따라서 본 실험에서 ANP에 의한 이완반응이 methylene blue에 의해 유의하게 억제되는 결과는 이전의 보고에서¹²⁾²³⁾ 시사된 바와 같이 ANP가 NO와 유사하게 soluble guanylate cyclase의 활성을 변화시켜 혈관을 이완시켰을 가능성을 추측케 한다. 더불어 L-NAME 처리후 ANP의 혈관 이완효과가 약화되는데 대하여 ANP가 내피층으로부터 유래된 NO 생성에 직접적으로 영향을 미쳤는지 또는 ANP에 의해 생성된 이차 매

개체에 의한 간접적 효과인지 알 수 없으나 ANP 수용체가 혈관 내피세포에도 존재함이 여러 연구자에 의해 보고되었으며¹¹⁾²⁴⁾²⁵⁾ 또한 내피세포 배양을 통하여 ANP가 cGMP 생성을 유도함이 확인된 바 있다.^{25,26)} 더구나 본 실험에서도 ANP의 혈관 이완반응에 대한 억제효과가 내피층 제거시에도 L-NAME 처치의 경우와 유사하게 나타남을 비추어 볼때 ANP가 내피층에 직접적으로 작용하였을 가능성이 높다.

한편 Murohara 등¹³⁾은 임상적으로 혈관 확장제로 이용되는 nitroglycerin과 같은 nitrovasodilator의 내성(tolerance) 실험에서 돼지의 관상동맥을 이용하여 ANP에 의한 혈관 이완반응이 혈관 내피층 제거에 의해 영향받지 않음을 확인하고 ANP에 의한 혈관확장에 NO가 관여하지 않음을 시사한 바 있으며 또한 angiotensin II로 감각(sensitization)시킨 토끼 대동맥혈관의 기초장력에 미치는 ANP의 이완반응이 내피층 제거시 오히려 항진됨이 확인된 바¹⁴⁾ 이러한 보고들은 본 실험의 결과와 차이를 보이고 있다. 이러한 차이는 이론적으로 설명되기는 어려우나 실험방법이나 실험동물의 종 및 혈관부위의 차이 등에 기인할 가능성²⁷⁾을 배제할 수 없을 듯하다.

이상의 실험결과를 종합하면 생체 내에서 ANP에 의한 감압효과에 부분적으로 NO 활성이 관여하며 ANP의 혈관이완 반응 역시 내피층으로부터 유래된 NO를 매개하여 유지될 것으로 사료된다.

요 약

배경 및 목적 :

혈관 내피층으로부터 유리되어 혈관을 확장시키는 nitric oxide(NO)의 활성이 심방이뇨 호르몬(atrial natriuretic peptide, ANP)의 감압효과에 관여하는지 구명하고자 본 연구를 시행하였다.

방 법 :

마취 흰쥐(n=19)의 대퇴동맥을 통해 혈압과 심박수를 기록하면서 정맥을 통해 ANP를 주입하였고 NO 합성억제제인 L-NAME 전처치의 영향을 검토하였다. 아울러 생체의 실험으로서 흉부 대동맥 표본(n=51)을 적출하여 ANP에 의한 이완반응을 기록하면서 L-NAME 및 cGMP 억제제인 methylene blue 전처치의 영향을 조사하였다.

결 과 :

ANP는 혈압을 하강시켰으며 ANP의 감압효과는 L-NAME 전처치시 유의하게 약화되었다. ANP는 용량의존 이완을 보였으며 ANP의 이완반응은 L-NAME를 처치하거나 혈관 내피층 제거시 대조군에 비해 억제되었다. ANP에 의한 이완반응은 methylene blue를 전처치한 경우에도 억제되었다.

결 론 :

이상의 실험결과를 ANP에 의한 감압효과 및 혈관이완반응에 부분적으로 NO의 활성이 관여함을 시사한다.

중심 단어 : 심방이뇨 호르몬 ; 산화질소.

본 논문은 2004년도 조선대학교 학술연구비의 지원을 받아 연구되었음.

REFERENCES

- 1) Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980;288:373-6.
- 2) Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol Rev* 1991;43:109-42.
- 3) Forstermann U, Closs EI, Pollock JS, et al. Nitric oxide synthase isozymes: characterization, purification, molecular cloning, and functions. *Hypertension* 1994;23:1121-31.
- 4) Rees DD, Palmer RM, Schulz R, Hodson HF, Moncada S. Characterization of three inhibitors of endothelial nitric oxide synthase in vitro and in vivo. *Br J Pharmacol* 1990;101:746-52.
- 5) Yeum CH, Moon IK, Jun JY, Lee JH, Cheon KB, Yoon PJ. Effects of endogenous nitric oxide synthesis inhibition on the depressor response to intracerebroventricular calcium. *Korean Circ J* 2000;30:326-33.
- 6) Jeong SA, Kim H, Cha KH, et al. Influence of vascular endothelium in contraction induced by phorbol ester in renal hypertensive rats. *Korean Circ J* 2003;33:1036-43.
- 7) de Bold AJ, Borenstein HB, Veress AT, Sonnenberg H. A rapid and potent natriuretic response to intravenous injection of atrial myocardial extract in rats. *Life Sci* 1981;28:89-94.
- 8) Flynn TG. Past and current perspectives on the natriuretic peptides. *Proc Soc Exp Biol Med* 1996;213:98-104.
- 9) 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.
- 10) Waldman SA, Rapoport RM, Murad F. Atrial natriuretic factor selectively activates particulate guanylate cyclase and elevates cyclic GMP in rat tissues. *J Biol Chem* 1984;259:14332-4.
- 11) Costa MA, Bosc LV, Majowicz MP, Vidal NA, Balaszczuk AM, Arranz CT. Atrial natriuretic peptide modifies arterial blood pressure through nitric oxide pathway in rats. *Hypertension* 2000;35:1119-23.
- 12) Sugamori T, Ishibashi Y, Shimada T, et al. Nitric oxide-mediated vasodilatory effect of atrial natriuretic peptide in forearm vessels of healthy humans. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2002;29:92-7.
- 13) Murohara T, Kugiyama K, Yasue H. Interactions of nitrovasodilators, atrial natriuretic peptide and endothelium-derived nitric oxide. *J Vasc Res* 1996;33:78-85.
- 14) 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.
- 15) Yeum CH, Choi KC, Lee JU, et al. Altered resting nitric oxide vasodilator tone in two-kidney, one clip rats. *Korean J Nephrol* 2001;20:955-63.
- 16) Rothe F, Canzler U, Wolf G. Subcellular localization of the neuronal isoform of nitric oxide synthase in the rat brain: a critical evaluation. *Neuroscience* 1998;83:259-69.
- 17) Yamamoto K, Ikeda U, Shimada K. Natriuretic peptides modulate nitric oxide synthesis in cytokine-stimulated cardiac myocytes. *J Mol Cell Cardiol* 1997;29:2375-82.
- 18) Marumo T, Nakaki T, Hishikawa K, et al. Natriuretic peptide-augmented induction of nitric oxide synthase through cyclic guanosine 3', 5'-monophosphate elevation in vascular smooth muscle

- cells. Endocrinology 1995;136:2135-42.*
- 19) Carnio EC, Rettori V, del Bel EA, McCann SM, Antunes-Rodrigues J. Hypertension induced by nitric oxide synthase inhibition activates the atrial natriuretic peptide (ANP) system. *Regul Pept* 2004;117:117-22.
- 20) Tanaka I, Aida M, Tanaka H, Shigenobu K, Toro L. Involvement of maxi-K (Ca) channel activation in atrial natriuretic peptide-induced vasorelaxation. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 1998;357:705-8.
- 21) Jeon SH, Seol GH, Suh SH, Park SH. Nitric oxide-induced intracellular Ca^{2+} modulation in macrovascular endothelial cells. *Korean Circ J* 2004;34:600-9.
- 22) Brenner BM, Ballermann BJ, Gunning ME, Zeidel ML. Diverse biological actions of atrial natriuretic peptide. *Physiol Rev* 1990;70:665-99.
- 23) Vollmar AM, Schulz R. Atrial natriuretic peptide inhibits nitric oxide synthesis in mouse macrophages. *Life Sci* 1995;56:149-55.
- 24) Schenk DB, Johnson LK, Schwartz K, Sista H, Scarborough RM, Lewicki JA. Distinct atrial natriuretic factor receptor sites on cultured bovine aortic smooth muscle and endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1985;127:433-42.
- 25) Leitman DC, Andersen JW, Kuno T, Kamisaki Y, Chang JK, Murad F. Identification of multiple binding sites for atrial natriuretic factor by affinity cross-linking in cultured endothelial cells. *J Biol Chem* 1986;261:11650-5.
- 26) Martin W, White DG, Henderson AH. Endothelium-derived relaxing factor and atriopeptin II elevate cyclic GMP levels in pig aortic endothelial cells. *Br J Pharmacol* 1988;93:229-39.
- 27) Maack T. Receptors of atrial natriuretic factor. *Annu Rev Physiol* 1992;54:11-27.