1994년 신진 연구비 수혜논문 Korean Circulation J 1999;29(3):322-334

백서의 실험적 급성 심근경색후 순환 및 국소 Angiotensinogen mRNA 발현의 변화

서울대학교 의과대학 내과학교실
김 효 수

Change of Angiotensinogen mRNA Expression in Myocardium and Liver after Myocardial Infarction in Rat

Hyo-Soo Kim, MD
Division of Cardiology, Department of Internal Medicine, Seoul National University Hospital, Seoul, Korea

ABSTRACT

Background：The renin-angiotensin system (RAS) plays a crucial role in pathophysiology of congestive heart failure and ventricular remodeling after myocardial infarction (MI). There are two components, systemic and local, in RAS. There has not been a study to analyze differentially the sequential changes of systemic and local RAS after MI. The aim of this study was to analyze the sequential change of the expression of angiotensinogen mRNA, the first component of the renin-angiotensin system, in liver and non-infarcted myocardium in rats after myocardial infarction. **Methods**：Female Sprague-Dawley rats (body weight 200 – 250 g) were subjected either to left coronary artery occlusion or to sham operation. And the rats were sacrificed at 1, 4, 18, 24 hours, 3 days, 2, 3 weeks. Hemodynamic measurement was performed and RNA was extracted from various tissues including liver and ventricle for the analysis of the expression of the angiotensinogen mRNA by northern blot analysis or RT-PCR. **Results**：Coronary artery ligation resulted in comparable infarct sizes among rats at 3 weeks after MI and was accompanied by significant increases of LVEDP (preMI 11±2 vs postMI 21±3 mmHg, n=4). Systolic arterial pressure was reduced in animals with infarction (preMI 130±15 vs postMI 90±10 mmHgn n=4). The liver angiotensinogen mRNA levels increased at 4, 18, 24 hours after myocardial infarction and decreased at 3rd day to control values (Angiotensinogen/GAPDH；preMI 1.35±0.20 vs postMI 5.97±0.25, max 4-fold, n=3). After sham operation, the liver angiotensinogen mRNA levels increased also at 4, 18, 24 hours, but in a less degree (Angiotensinogen/GAPDH；preop. 2.15±1.17 vs postop. 3.41±1.76, max 1.5-fold, n=3). In contrast to the liver, small amounts of angiotensinogen mRNA were detectable in normal left ventricle of rat with RT-PCR. The myocardial angiotensinogen mRNA levels decreased transiently in acute phase after MI, and recovered at 3-day after MI and increased further afterwards upto 3rd month after MI. **Conclusion**：The angiotensinogen in liver was activated early during acute phase after MI and decreased toward normal as the stable state was achieved. In contrast to the circulating RAS that was activated in acute phase after MI, the local RAS in heart was activated in chronic phase after MI. **(Korean Circulation J 1999;29(3):322-334)**

KEY WORDS：Myocardial infarction · Remodeling · Angiotensinogen · Gene expression.

교신저자 : 김효수, 110 - 744 서울 종로구 연건동 28 서울대학교 의과대학 내과학교실
전화 : (02) 760 - 2226 · 전송 : (02) 766 - 8904
E - mail : hyosoo@plaza.sun.ac.kr

서 론

급성 심근 경색증 후, 레진-안지오텐신계는 활성화되며 이것은 임상적으로 중요하다. 즉 심근 경색이후의 예후를 결정하는 중요한 인자인 심실의 재구성(ventricular remodeling)에 레닌-안지오텐신계가 깊숙이 관여한다는 것은 이미 정설로 되어 있다. 심근 경색후 심근에서 일어나는 조직학적 소견을 살펴보면, 첫째, 경색부위가 괴사한 후 그곳에는 반흔이 형성되고 동시에 심근섬유사이의 미끄러짐에 의해서 벽이 얇아지고 국소적으로 확장이 된다(infarct expansion). 둘째, 비경색부위에서도 변화가 일어나는데, 확장기 벽 스트레스가 증가하여 심근이 비후해지며, 심근세포사이의 미끄러짐에 의해서 비경색부위도 확장이 일어난다(noninfarct hypertrophy and dilatation). 이러한 심실의 재구성은 임상적으로 중요한 의미를 띠고 있다. 즉, 심근경색후 심실의 확장의 정도는 심기능의 악화와,[1)2)] 그리고 운동능력의 저하와(Gaudron 등 1992) 비례하며, 생존의 가장 중요한 예후인자로서 알려져 있다.[4-6)] 이러한 심실의 재구성에 레닌-안지오텐신계가 관여한다는 증거가 여러 동물실험과 임상실험에서 증명이 되어, 심근경색 후의 레닌-안지오텐신계의 중요성을 부각시켰다. 즉, 쥐를 이용한 동물실험결과에 의하면, captopril,[7-9)] enalapril,[10)] losartan[11)] 등의 약제는 경색후 좌심실 확장을 억제시키며, 좌심실 충만 압력을 감소시켜 생존율을 높이는 긍정적인 효과를 발휘하였다. 임상적으로도 전환효소 억제제는 경색후 좌심실의 충만압력을 완화시키며, 좌심실의 확장을 억제하고, 운동능력을 개선시키는 것으로 나타났다.[12-14)] 최근의 대규모 연구(SAVE, AIRE, GISSI-3, ISIS-4)에서는 사망율까지 감소시키는 효과가 보고되었다.[15-18)] 전환효소 억제제와 안지오텐신 수용체 차단제를 이용한 위의 보고들을 종합해보면, 심근 경색후에 레닌-안지오텐신계는 활성화되며, 이로 인한 심실의 재구성이 심근경색증 환자의 예후를 결정할 정도로 심근 경색증에서의 레닌-안지오텐신계의 의미는 중요하다고 생각할 수 있다.

이러한 레닌-안지오텐신계는 순환체계와 국소체계로 이원화되어 있다. 전형적인 순환 레닌-안지오텐신계의 구성을 보면, 먼저 간에서 생성된 안지오텐신노젠이 콩팥에서 유리되는 레닌에 의해서 안지오텐신 1이 되고 안지오텐신 1은 순환하다가 허파에서 전환효소에 의해서 안지오텐신 2로 된다. 안지오텐신 2는 안지오텐신 2 수용체를 거쳐서, 첫째 혈관에 대해서는 직접 또는 교감신경의 항진을 통해서 수축작용을 발휘하여 혈압을 상승시키며, 둘째 부신에 대해서는 알도스테론의 분비를 촉진하여 신장으로붙의 체액의 흡수를 증진시켜서 혈액량을 증가시켜 혈압을 상승시키게 된다는 것이 순환 레닌-안지오텐신계인 것이다. 그러나 최근에는 이 개념에 약간의 수정이 가해져서, 순환하는 안지오텐신노젠과 레닌에 의해서 생긴 안지오텐신 1이, 각 장기에 풍부하게 존재하는 전환효소에 의해서 각 장기 별로 국소적으로 안지오텐신 2로 전환될 수 있으며, 국소적으로 생성된 안지오텐신 2가 넘쳐 흘러서 순환하게 되는 부분도 무시할 수 없다고 알려져 있다. 이 두 체계는 공존하고 있지만, 각각 임상적 의의는 약간 차이가 난다. 즉 순환 레닌-안지오텐신계는 갑작스러운 혈압과 체액량의 변화에 대처하여 초기에 활성화되어 개체의 恒常性을 민첩하게 복구하는 기능을 담당하고 있으며, 국소 레닌-안지오텐신계는 이러한 외부의 스트레스에 대해서 좀더 지속적으로 각 장기의 개별적인 조절, 예를 들면, 혈관수축능, 심박출능, 신장의 배뇨설능등의 조정을 담당하는 것이다.[19)]

레닌-안지오텐신계를 이루는 네가지 요소중에서 첫째 요소인 안지오텐신노젠은, 간에서 가장 많이 발현되나, 뇌, 대동맥, 신장, 부신, 심방, 폐 등에서도 발현된다. 유전자의 5조절 부위에 glucocorticoid responsive elements(GRE), thyroid hormone responsive element(TRE), estrogen responsive element(ERE) 등이 준재하므로, 임신, 에스트로젠 치료, 쿠싱증후군등에서 발현이 항진되며, 갑상선 절제술후, 에디슨씨병등에서는 발현이 억제된다. 또한 acute phase responsive element(APRE)도 존재하여, 일반적 스트레스 상황, 예를 들면, endotoxemia,[20)] nephrectomy[21)22)] 등의 상황에서 발현이 항진된다.[23)] 그러나, 심근 경색후에 안지오텐신노젠 mRNA 발현의 변화를 관찰한 연구는 거의 없다. 경색후 5일과 25일에 심근에서의 안지오텐신노젠 mRNA 발현을 관찰한 연구[24)]와 경색후 6주, 12주에 간장과 신장의 안지오텐신노젠 mRNA 발현을 비교 검토한 연구[25)26)]가 있을 뿐이다.

이상을 종합하면, 심근경색후 급성기에 시간대별로 순환과 국소 레닌-안지오텐신계의 유전자 변화 상황을

보고한 논문은 없으며, 특히 레닌-안지오텐신계의 축이 되는 안지오텐신노젠 유전자 발현 양상을 간과 심근에서 시간대별로 비교 관찰한 연구는 아직 보고되고 있지 않다. 심근경색증에서 전환효소 억제제가 유용하다는 것은 입증되어 있으나, 언제 치료를 시작하는 것이 더 유용한지 명확하게 되어 있지 않은 시점에서, 이 문제는 규명되어야 할 가치가 있다.

따라서 본 연구의 목적은, 쥐의 심근경색후 시간에 따른 안지오텐신노젠 유전자 발현의 변화 양상을 밝히고자 하는 것이며 이를 위하여 ; 첫째, 쥐에서 미세 수술 방법으로 심근 경색을 만든 후 3주이상 생존시킬 수 있는 실험 동물 모델을 확립하고, 둘째, 레닌-안지오텐신계의 주축 유전자인 안지오텐시노젠 유전자의 cDNA를 클로닝하여 northern blotting을 위한 probe를 제작한 후, 세째, 위의 동물모델과 제작된 probe를 이용하여, 심근경색후 각 시간대에서 얻은 肝과 心筋에서 각각 northern blot analysis법과 RTPCR 방법을 이용하여, 심근경색후 급성기에서의 순환과 국소 안지오텐신노젠 mRNA 발현의 변화를 밝히고자 하였다.

대상 및 방법

연구 디자인

실험은 두 군으로 나누어서 시행하였다. 심근경색군은 좌관동맥을 결찰하여 심근경색을 유발한 군이며, 대조군으로서는 개흉까지의 수술은 시행하되 좌관동맥 결찰은 시행하지 않았던 군이다. Table 1에서 보는 바와 같이 심근경색 전후의 각 시간대 별로 순환, 국소, 안지오텐신노젠 발현의 변화를 관찰하기 위하여, 수술전, 경색후 1시간, 4시간, 18시간, 하루, 3일, 2주, 3주, 3개월의 각각의 시점에 도달하는 쥐에서 肝과 心臟을 적출하여 급속 냉동하고 여기서 안지오텐신노젠 mRNA 의 발현의 변화를 분석하였다.

실험동물

단일성별이며 무게가 비슷한 종의 쥐를 이용했다 (Female Sprague-Dawley rat, weight 200 250 g).

심근경색의 모델 및 수수적 처이

심근 경색의 모델은 쥐에서 통벽성 심근경색을 유발하여 이용하였다.

1) 마취 및 수술적 처치동안 백열등을 이용하여 체온이 하강되지 않도록 하였다.

2) 마취 30분전 atropine을 0.05 mg/kg 피하주사한 뒤 pentobarbital 25 mg/kg을 복강내 주사하여 마취하였다.

3) 마취된 쥐를 supine position으로 눕힌후 삽관을 하고 rodent ventilator (Harvard apparatus)로 호흡을 유지시킨 후 해부 현미경하에서 좌측 4번째 늑간에서 개흉을 하여 심장을 노출 시킨후 심낭을 열었다. 좌심방이와 우심실 유출로 사이에서 좌관동맥을 기시부에서 curved needle과 6 0 silk를 이용하여 완전히 결찰을 한후 심장을 흉곽내로 넣고 흉곽을 닫았다.

4) 일정한 시간이 지난후에(1시간, 4시간, 18시간, 24시간, 3일, 7일, 2주, 3주) 쥐를 희생시킨후 간과 비경색 심근을 일정부위 분리하여 액화질소(-70℃ liquid nitrogen)에 급속 냉동시킨후 -70℃ 냉장고에서 보관하였다.

5) 정상 쥐를 마취하여 희생시켜 같은 방법으로 간과 심근조직을 얻어 정상 control(0시간)으로 삼고, 심근경색에 대한 sham control을 위해 개흉을 하여 심장을 노출시킨후 심낭만 열고 다시 심장을 흉곽내로 넣고 흉곽을 닫은후 일정한 시간이 지난후에 쥐를 희생시켜 같은 방법으로 간과 심근의 조직을 얻었다.

조직으로부터 RNA 추출

1) -70℃ 냉동 보관된 조직으로부터 RNAzol-B (CINNA/BIOTECX Lab, Inc.성분 : Guanidine thiocyanate, 2-Mercaptoethanol, Phenol)을 이용하여 다음과 같은 방법으로 RNA를 추출하였다. -70℃에 보관된 조직 100 mg에 RNAzol 2 ml을 넣은 후 분쇄기(homogenizer)를 이용하여 30초씩 3회 조직을 분쇄

Table 1. 연구 디자인(각군의 각 시간대의 샘플 수는 4마리임.)

0 hour	수술	1st hour	4th hour	18th hour	24th hour	3rd day	2nd week	3rd week	3rd month
N=4	AMI	N=4	N=4	N=4	N=4	N=4	N=4	N=4	N=4
N=4	sham op.	N=4	N=4	N=4	N=4	N=4	N=4	N=4	N=4

하였다. 분쇄된 조직 sample에 1/10 부피의 chloroform을 넣고 15초간 세게 흔든 후 얼음속에서 15분간 반응 시킨후 15000 rpm으로 15분간 4℃로 원심분리한 후 상층액을 얻었다. 이렇게 얻은 상층액에 같은 양의 isopropanol을 추가한 후 잘섞고 -20℃에서 45분간 반응시킨후 15000 rpm으로 15분간 원심분리하여 RNA의 침전을 확인하고 75% ethanol로 세척한 후 12000 rpm으로 8분간 원심분리하여 RNA를 얻었다. 이와 같은 RNA 침전에 0.5% SDS(sodium dodecylsulfate, pH 7.2)를 넣어 suspension을 얻었다. 이후 샘플은 -70℃ 또는 -20℃에서 보관하였다.

2) 각 샘플에서의 RNA 양은 파장 260 nm에서 spectrophotometer를 이용하여 측정하고, 각 샘플에서 같은 양을 취하여 0.8% agarose gel(ethidium bromide stained)에 전기영동한 후 UV transilluminator(UVP)로 관찰하여 RNA의 분해(degradation) 여부 및 각 샘플의 18S와 28S band를 통해 같은 양임을 확인하였다.

안지오텐신노젠 유전자 probe의 생산

Angiotensinogen probe 생산

1) 안지오텐신노젠의 probe제작을 위해서, 알려진 쥐의 안지오테신노젠 cDNA 염기서열을 바탕으로,[27] BamH1과 Hind III 효소절단부위를 갖게끔 다음의 두가지 primer를 제작하였다.

: sense promer

5/-ACTGCCGGATCCCCCGGGCTG-3/(+501-+522nt),+1=변역개시부위

: antisense primer

5/-CCCGCTTCGAAGATTC-3/(+1038-+1052)

그리고 간의 poly(A)-RNA로부터 역전사된 cDNA로부터 위의 두 primer를 이용하여 PCR을 시행하고, 증폭된 DNA단편을 pBluescript SKII(-)의 BamH1-Hind III위치에 subcloning하였다. 염기배열의 분석은 model 373A DNA sequencing system(Applied Biosystem)을 이용하였다.

2) 이와같이 얻은 안지오텐신노젠 유전자 절편을 함유한 recombinant plasmid(pBluescript II SK, Genbank)를 함유한 E.coli를, LB agar plate(Bacto agar 15 g, LB medium 1l, ampicillin 100mg)에서 배양한 후 colony만을 떼어내 LB media broth에서 배양하였다(during overnight with 37℃ shaking incubator).

3) 배양한 E.coli로부터 Quigen plasmid preparation kit를 이용하여 세포를 용해(lysis)시켜 plasmid만을 얻은후 절단 효소(restriction enzyme ; BamH1, Hind III, Boehringer Mannheim)를 넣고 37℃에서 12시간 동안 반응시켰다.

4) 이와같이 얻은 probe 샘플을 전기영동하여 recombinant plasmid의 절단을 확인하고 Genomed사의 Jetsorb gel extraction kit를 이용하여 gel로부터 안지오텐신노젠 절편을 추출하고 이것을 TE buffer(10 mM Tris/HCl, 1 mM EDTA, pH 8.0)에 suspension 시킨 후 실험에 사용하기 전까지 -20℃에 보관하였다.

GAPDH probe의 생산

Internal control로써 사용될 GAPDH(GlycerAldehyde-3-Phosphate DeHydrogenase)의 probe의 제작을 위해서는, 우선 마우스 GAPDH cDNA 염기배열순서를 바탕으로,[28] 각각 EcoRV, EcoRI의 酵素절단부위를 갖는 다음의 두가지 primer를 만들었다.

: sense primer

5′-GCCAAGGATATCATGACAACT-3′

(+474-+495 nt), +1=번역개시부위

: antisense primer

5′-CATCCACAGAATTCTGGGTGGCAGTGAT-3′

(+534-+561 nt).

그리고 마우스 肝의 poly(A)-RNA로부터 逆轉寫된 cDNA에 위의 두 primer를 이용하여 PCR을 시행하여 증폭된 87염기 단편을 pBluescript II SK(-)(Stratagene Inc, La Jolla, USA)의 EcoR1-EcoRV 위치에 subcloning하였다. 증폭된 염기 절편이 진짜 절편인지를 확인하기 위하여 DNA thermal cycler 480 (Perkin-Elmer Corp, Norwalk, Cetus Corp, Calif, USA)와 Taq dye terminator cycle sequencing kit (Applied Biosystems Inc, Foster city, Calif, USA)를 이용하여 염기배열 결정 반응을 시행하였다. 염기 배열의 분석은 model 373A DNA sequencing systems (Applied Biosystems)를 이용하였다.

Northern blot analysis

전기영동과 capillary transfer to membrane

1) 0.5% SDS(sodium dodecyl sulfate, pH 7.2)에 suspension되어 있는 RNA 샘플에 1/10 부피의 2M Na acetate(pH 5.6)와 2.5배 부피의 100% ethanol을 넣고 작섞은 후 -70℃에서 20분간 반응시켜 침전시켰다. 이 샘플을 15,000rpm에서 20분간 원심분리하여 침전물을 얻고 이렇게 얻은 침전물을 70% ethanol로 세척한 후 다시 15,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 RNA 침전물을 얻었다. 이러한 RNA 침전물에 3 ul의 DEPC(diethyl pyrocarbonate)-treated water를 넣고 잘 섞은 후 20 ul의 RNA loading buffer (deionized formamide, 37% deionized formaldehyde, 10× MOPS, 50% glycerol)를 넣고 잘 섞은 후 37% formaldehyde를 포함한 1% agarose gel(ehidium bromide stained)에 18 24시간 천천히 전기영동시켰다.

2) 전기영동시킨 agarose gel을 UV transillumi-nator로 관찰하여 RNA 분해여부 및 같은양이 loading 되었다는 것을 확인한 후 DEPC-treated water로 상온에서 shaking incubator로 20분간 세척한 후 20× SSPE(NaCl, $NaH_2PO_4 \cdot H_2O$, EDTA, pH 7.4)로 20분간 세척하였다. 이렇게 세척한 anarose gel을 paper tower를 이용하여 24시간동안 핵산 transfer membrane (Hybond-N+, Amersham)에 capillary transfer시켰다. Transfer buffer는 20× SSPE를 사용하였다.

3) Transfer된 membrane을 UV transilluminator를 통하여 transfer 여부를 확인하고 UV cross-linker (UVP, model CL-1000)를 이용하여 12×104J 로 cross-link 시켰다. 이후 membrane은 hybrid 이전가지 -20℃에서 보관하였다.

Hybridization

1) Membrane을 hybridization봉에 넣고 거품이 생기지 않도록 prehybrid buffer(deionized formamide, 20× SSPE, 100× Denhardt's solution, 0.5% SDS, denatured Salmom sperm DNA)를 넣은 후 42℃ rolling incubator에서 천천히 rolling 시키면서 2시간 내지 overnight prehybridization시켰다.

2) Amersham사의 Megaprime DNA labelling kit (RPN 1606)를 이용하여 다음과 같은 방법으로 32P-labelled angiotensinogen DNA probe를 얻었다. Angiotensinogen DNA template 25 ng(2 ul)에 primer 5 ul, dH2O 26 ul를 넣고 95 100℃에서 5분간 denature 시킨후 이후 상온에서 보관하고, 위와같이 denatured DNA에 dATP, GTP, TTP가 포함된 reaction buffer 10 ul와 radiolabelled dCTP 5 ul를 넣은후 DNA polymerase 효소(Klenow enzyme) 2 ul를 넣고 부드럽게 섞은후 37℃에서 40분간 incubation 시켰다. DNA polymerase 효소는 사용전에 -20℃ 또는 -70℃에서 보관하고 운반시에도 dry ice를 이용하여 -20℃를 유지하여 효소작용이 소멸되는 것을 방지하였다. 이것을 microcon(Amicon, 30,000 dalton)을 이용하여 32P labelled angiotensinogen DNA probe만을 추출한 뒤 100℃에서 5분간 denature 시킨후 ice에 snap cooling하여 isotope labelled angiotensinogen DNA probe를 얻었다.

3) Isotope labelled angiotensinogen DNA probe를 hybrid buffer(성분은 prehybrid buffer와 동일)에 넣고 42℃ rolling incubator에서 20시간 hybridization 시켰다.

4) Hybridization 시킨 membrane을 다음과 같은 방법으로 42 50℃에서 세축한다. 먼저 2× SSPE로 rinse한후 2× SSPE, 0.1% SDS에 담구어 부드럽게 shaking시키면서 10분간 세척한다. 이와같은 방법으로 3 5번 세척후 1 1.5 kcpm의 radioactivity를 확인후 랩으로 싸서 film cassette에 넣고 -70℃에서 film (X-OMAT, Kodak Co.)에 노출시켜 autoradiography를 얻었다.

RT-PCR(Reverse Transcription and Polymerase Chain Reaction) and Southern blot analysis

Reverse transcription

Promega사의 reverse transcription system을 사용하여 수행하였다. 경색후 각 시간대별로 얻은 심근조직으로부터 추출한 RNA를 각각 2 ug을 취하고, 여기에 25 mM $MgCl_2$ 4 ul, 10× buffer 2 ul, 10 mM dNTP mixture 2 ul, rRNasin ribonuclease inhibitor 0.5 ul, AMV reverse transcriptase 15 units를 혼합하고 최종 용량이 20 ul가 되게끔 RNase-free water를 넣었다. 42도에서 30분간 반응시킨후, 99 도 5분, 0도

5분씩 연속으로 처리하여 잔존한 reverse transcrip - tase를 불활성화 시켰다.

PCR of cDNA from post - infarction ventricle

안지오텐신젠 mRNA 발현양을 측정하기 위한 primer로서는 안지오텐신노젠 cDNA[27]의 엑손2에 해당하는 부위(cDNA상 718 738번째 염기)와 엑손 5에 해당하는 부위(1321 1301번째 염기)를 증폭할 수 있도록, 다음과 같이 프라이머를 고안하여 제작하였다.

uptream primer

5′ - CGCCATCTTCCCTCGCTCTCT - 3′(718 738 nt)

downstream primer

5′ - CTGCTCCTCCTCGCCTGCTTG - 3′(1321 1301 nt)

두 프라이머의 위치로 인해서, 서로 다른 엑손에 걸쳐서 증폭되기 때문에 오염된 genomic DNA의 증폭과 혼돈될 염려가 없도록 고안되었다. 이것을 도표로 표현하면 Fig. 1과 같다. 그 결과 약 610 염기의 길이를 가진 절편이 증폭되도록 되어 있으며 그 염기 배열과 위치는 Fig. 2와 같다.

Reverse transcription product 20 ul중 5 ul을 취하여 PCR 반응을 수행하였다. PCR 조건은 다음과 같으며, 사이클 수는 30, 35, 40회로 다양하게 시행하여 각 사이클 수에 따른 증폭량을 분석하였다.

denaturation at 94℃, for 60 sec
annealing at 60℃, for 60 sec
extension at 72℃, for 120 sec

Internal control로써 사용될 GAPDH(GlycerAl - dehyde - 3 - Phosphate DeHydro - genase)의 발현양을 측정하기 위한 프라이머로서는, 마우스 GAPDH cDNA 염기배열순서를 바탕으로,[28] 각각 다음의 두가지 primer를 만들었다.

upstream primer

5′ - GCCAAGGATATCATGACAACT - 3′ (+474 - +495 nt), +1=번역개시부위

downstream primer

5′ - ATCCACAGAATTCTGGGTGGCAGTGAT - 3′ (+534 - +561 nt).

따라서 GAPDH의 발현은 약 190염기의 길이를 가

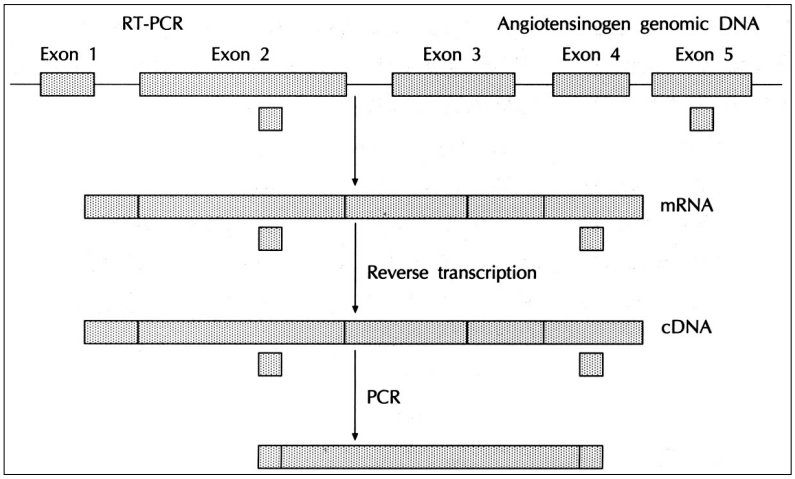

Fig. 1.

Sequences and loci of primers for PCR and PCR product on cDNA of angiotensiongen

718 738

cgccatcttccctcgctctctggacttatccactgacccagttcttgctgcccagaaatcaacaggtttgtgc
aggctgtgacagggtggaagatgaacttgccactagaggggtcagcacggacagcaccctatttttcaa
cacctacgttcacttccaaggaagatgagaggcttctcccagctgactgggctccatgagttctgggtgga
caacagcacctcagtgtctgtgcccatgctctcgggcactggcaacttccagcactggagtgacgcccag
aacaacttctccgtgacacagcgtgccctgggtgagagtgtcaccctgctgctgatccagccccagtgcg
cctcagatctcgacagggtggaggtcctcgtcttccagcacgacttcctgacttggataaagaacccgcct
cctcgggccatccgtctgaccctgccgcagctggaaattcggggattcctacaacctgcaggacctgctgg
ctcaggccaagctgtctacccttttgggtgctgaggcaaatctgggcaagatgggtgacaccaaccccg
agtgggagaggttctcaacagcatcctccttgaactccaagcaggcgaggaggagcag

1300 1321

Ohkubo Proc Natl Acad Sci USA 1983

Fig. 2.

진 절편의 증폭량으로 측정할 수 있다.

Southern blot analysis of RT - PCR products

증폭된 염기 절편이 정말 안지오텐신노젠 mRNA에 의한 것인지를 확인하기 위하여, 또한 각 시간대별로 발현양의 차이를 정량화하기 위하여, 안지오텐신노젠 cDNA의 일부분을 탐식자로 이용하여 Southern blotting을 시행하였다.

사용된 탐식자는 안지오텐신노젠 cDAN 상의 572 1107번째 염기사이의 부분으로서, 증폭된 PCR product와 겹치는 부위이다. 이것을 그림으로 표현하면 Fig. 3과 같다.

탐식자의 레이블링과 Southern blotting은 Amersham사의 Fluorescence Gene Image System을 이용하였다.

결 과

심근 경색증 군에서의 혈역학적 변화

심근 경색증후 3주째의 혈역학적 변화를 분석한 결과, 대조군에 비해서 좌심실 확장기말 압력이 증가하였으며(preMI 11 2 vs postMI 21 3 mmHg, n=4), 수축기 혈압은 감소하였다(preMI 130 15 vs postMI 90 10 mmHg, n=4).

안지오텐신노젠 탐식자의 클로닝과 염기 배열 결정

안지오텐신노젠 탐식자의 클로닝과 염기 배열 결정을 한 결과, 다음과 같은 염기 배열을 가진 부위로서, 안지오텐신노젠 cDNA 상의 572에서 1107번째 사이의 절편을 얻었다는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 4).

경색후 간에서의 안지오텐신노젠 mRNA 발현의 변화 양상

심근 경색후 간에서의 안지오텐신노젠 mRNA 발현양을 northern blot analysis 방법으로 분석한 결과, 경색후 4, 18, 24시간에 유의하게 증가하였으며(Fig. 5), 안지오텐신노젠 mRNA/GAPDH mRNA비는 이때 최고 4배까지 상승하였다(Angiotensinogen/GAPDH ; preMI 1.35±0.20 vs postMI 5.97±0.25, max 4 - fold, n=3). 그 이후 3일째부터는 정상회되었다. 한편, Sham - operation을 한 경우에는, 안지오틴신노젠 mRNA/GAPDH mRNA비가 최고 1.5배에 머물렀다(Angiotensinogn/GAPDH ; preop. 2.15±1.17 vs postop 3.41±1.76, max 1.5 - fold, n=3)(Fig. 6).

즉 안지오텐신노젠 mRNA 발현은 심근 경색 뿐만 아니라, 단순한 수술적 스트레스에 의해서도 항진되어, 안지오텐신노젠이 acute phase reactant라는 것을 시사한다.

그러나, sham - op의 경우보다 심근 경색증 이후에 안지오텐신노젠 mRNA 발현양의 증가가 의미있게 현저히 높은 것은, 경색후 안지오텐신노젠 mRNA 발현은 acute phase response 이상의 발현인 것을 시사하며, 이는 심근 경색 고유의 자극에 의한 것이라고 생각된다.

한편, 경색후 3개월된 심부전 쥐의 간에서의 안지오

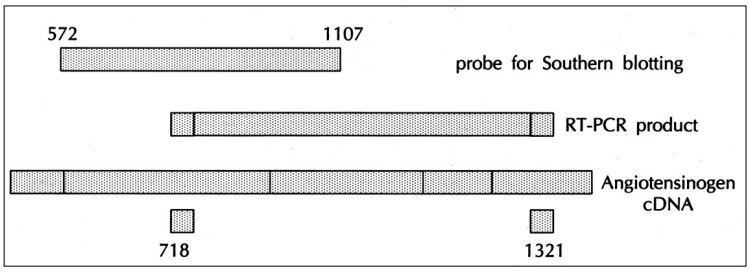

Fig. 3. Scheme of southern blotting of RT-PCR product.

CTGCAGGCTGTTCAGGGCTTGCTGGTCACCCAGGGTGGAAGCAGCAGTC
CAGACACCCCTGCTACAGTCCACCGTGGTGGGCCTCTTCACTGCCCCAGGC
TTGCGCCTAAAACAGCCATTTGTTGAGAGCTTGGGTCCCTTCACCCCCGCC
ATCTTCCCTCGCTCTCTGGACTTATCCACTGACCCAGTTCTTGCTGCCCAG
AAAATCAACAGGTTTGTGCAGGCTGTGACAGGGTGGAAGATGAACTTGCCA
CTAGAGGGGGTCAGCACGGACAGCACCCTATTTTTCAACACCTACGTTCAC
TTCCAAGGAAGATGAGAGGCTTCTCCCAGCTGACTGGGCTCCATGAGTTCT
GGGTGGACAACAGCACCTCAGTGTCTGTGCCCATGCTCTCGGGCACTGGC
AACTTCCAGCACTGGAGTGAGCCCAGAACAACTTCTCCGTGACACGCGTG
CCCCTGGGTCAGAGTGTCACCCTGCTGCTGATCCAGCCCCAGTGCGCCT
CAGATCTCGACAGGGTGGAGGTCCTCGTCTTC

Fig. 4. 클로닝된 안지오텐신노젠 탐식자의 염기 배열 순서.

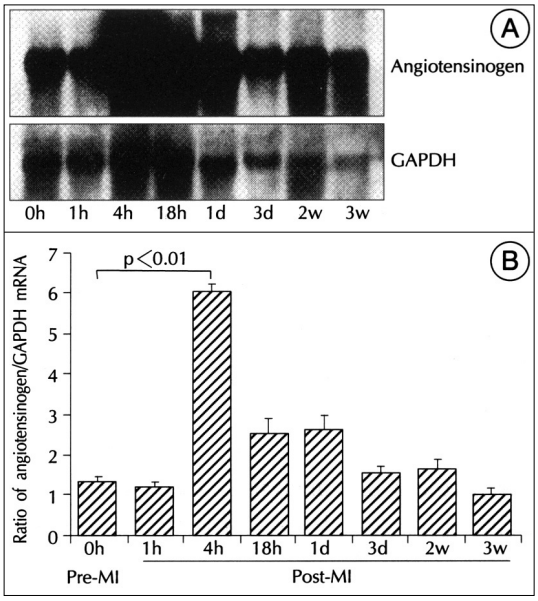

Fig. 5. Sequential change in angiotensinogen (Ao) mRNA expression (a) and the ratio of Ao/GAPDH mRNA (b) in liver after experimental MI. Ao expression remarkably increased from 4 to 24h after MI and returned to its baseline level in 3 days. The increase during the acute phase after MI was greater than that after the sham operation.

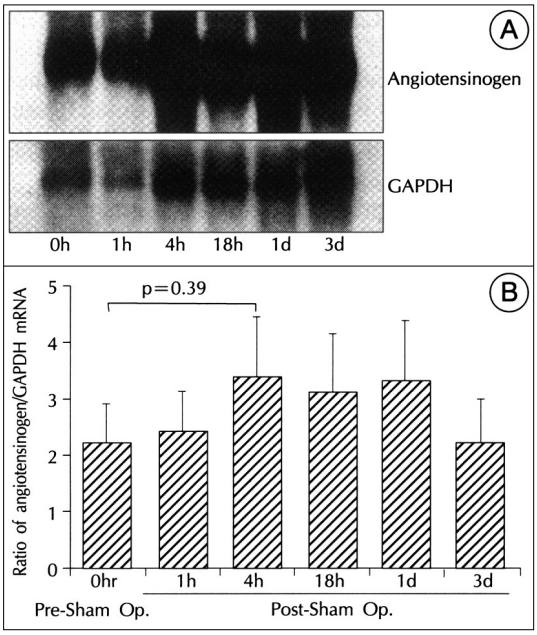

Fig. 6. Sequential change of expression of angiotensinogen (Ao) mRNA (a) and the ratio of Ao/GAPDH mRNA (b) in liver after sham operation. Ao expression increased slightly from 4 to 24h after sham operation, indicating that Ao behaves as an acute phase reactant. GAPDH, glyceral-dehyde-3-phosphate dehydrogenase ; h, hours ; d, days ; w, weeks ; m, months

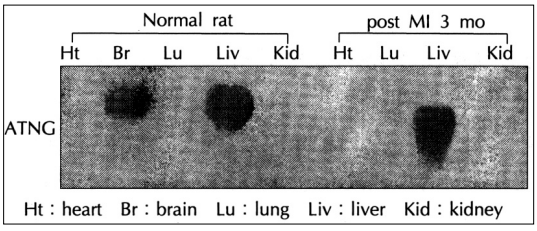

Fig. 7. Angiotensinogen mRNA expression in various tissues in normal or post MI rats.

텐신노젠 mRNA의 발현양은 정상 쥐의 간에서의 발현양과 차이가 없었다(Fig. 7). 즉 간에서의 안지오텐신노젠 mRNA 발현은 경색후 급성기에만 변화를 보이며, 만성기에는 정상화된다.

심근경색후 비경색심근에서의 안지오텐신노젠 mRNA발현의 변화 양상

심근의 국소 안지오텐신노젠 mRNA 발현양은 Fig. 7에서 보는 바와 같이, 그 양이 미미해서 northern blot analysis로는 불가능하였다. 따라서 보다 예민한 검사법인 semiquantitative RT - PCR방법을 이용하였다.

경색후 비경색심근에서의 안지오텐신노젠 mRNA 발현양은 24시간이내의 급성기에는 오히려 감소하였다가, 3일에 정상화되면서 그 이후 3주, 3개월에 증가하는 양상을 보였다. 이에 반해 GAPDH mRNA 발현양은 경색후 시간 경과에 따른 변화를 보이지 않았다(Fig. 8). 이를 안지오텐신노젠 탐식자로 Southern blotting을 한 후, 각 시간대의 안지오텐신노젠 mRNA 의 radioactivity를 densitometry로 비교한 결과, Fig. 8에서 보는 바와 같이 안지오텐신노젠 mRNA/GAPDH mRNA 比는 경색후 3일 이후부터 증가하기 시작하여, 3개월째에는 정상 심근의 1.7배에 달하였다.

간과 심근에서의 안지오텐신노젠 mRNA 발현의 시간차

이상의 소견을 요약하면 Fig. 9에서 보는 바와 같이, 심근에서의 안지오텐신노젠 mRNA 발현은 경색후 급성기에는 일시적으로 감소하였다가, 순환 레닌 - 안지오텐신계이 활성이 정상화되는 3일후부터, 심근에서의 안지오텐신노젠 mRNA 발현은 증가하기 시작하여, 만성기에 해당하는 3주, 3개월째에는 정상 심근의 거의 2배에 이른다.

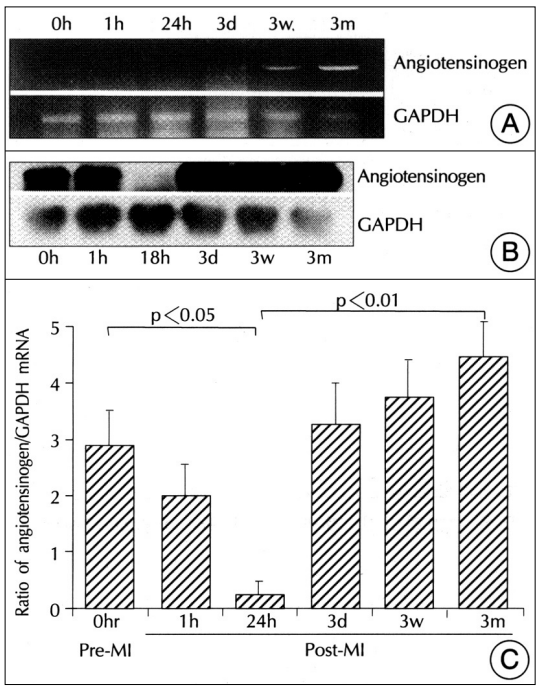

Fig. 8. Sequential change in angiotensinogen (Ao) mRNA expression as shown the reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) (a), and southern blot analysis (b), and the ratio of Ao/GAPDH mRNA (c) in noninfarcted myocardium after MI. RT-PCR for 40 cycles and Southern blotting showed that the expression decreased transiently within 24h of MI, but recovered within 3 days.

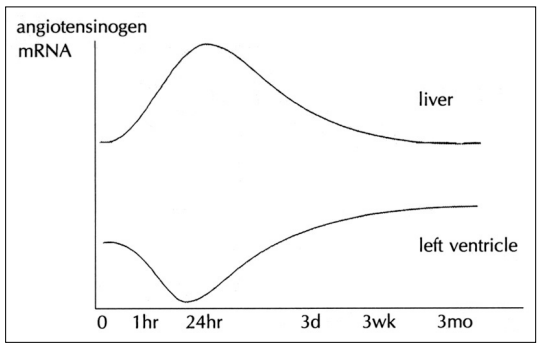

Fig. 9. Sequential change of angiotensinogen mRNA expression in liver and left ventricle after MI.

고 찰

본 연구의 결과, 심근경색후 초기와 후기에 각각 간과 심장에서 안지오텐신노젠, mRNA 발현이 증가한다는 사실은, 경색후 급성기에는 순환 레닌-안지오텐신계가 활성화되어 혈압의 항상성을 유지하고, 경색후 만성기에는 심장에서의 국소 레닌-안지오텐신가 활성화되어 심근 재형성에 관여한다는 것을 시사한다.

순환과 국소 안지오텐신노젠 mRNA 발현의 시간적 차이

본 연구에서 처럼, 심근경색 전후로 각 시간대별로, 간과 심근의 안지오텐신노젠 mRNA 발현의 변화를 함께 분석하여, 순환과 국소 레닌-안지오텐신계의 활성화에 시간적 차이가 있다는 것을 보고한 논문은 없었다. 유사한 연구로서는, 백서의 심근경색후 12주에 간과 콩팥의 안지오텐노신노젠 mRNA의 변화를 분석한 연구가 있는데, 간에서의 안지오텐신노젠 mRNA 발현을 비롯하여 순환 안지오텐신노젠, 안지오텐신, 레닌 등의 농도는 대조군과 차이가 없었고, 콩팥에서만 안지오텐신노젠 mRNA의 발현이 증가되어 있었다.[26] 심근 경색증이외의 모델에서도 순환과 국소 레닌-안지오텐신계의 활성의 시간적 차이가 보고된 적이 있는데, 신혈관성 고혈압의 경우를 예를 들면, 신동맥의 협착에 의해서 고혈압이 시작되는 초기에는 순환 레닌-안지오텐신계가 활성화 되어 고혈압을 초래하지만, 만성적으로 고혈압이 확립된 시기에는 순환 레닌-안지오텐신계의 활성은 정상화된다는 보고가 있다. 따라서 이 시기의 고혈압은 국소-안지오텐신계가 기여하는 것으로 생각되고 있다. 이 시기의 전환효소 억제제의 혈압강하 효과는 혈장의 전환효소 활성을 차단하는데 비례하지 않고, 대동맥의 국소 전환효소 활성도의 차단에 비례한다는 결과는[29-31] 신동맥 고혈압의 만성기에서의 국소 레닌-안지오텐신계의 중요성을 시사하는 것이다. 이와 같이 순환과 국소 레닌-안지오텐신계가 시차를 두고 활성화되는 기전에 대해서는 연구된 바가 없다. 아마도 여기에는 안지오텐신노젠 유전자를 비롯한 레닌-안지오텐신계 유전자의 발현을 조절하는 기전이 각 장기마다 다른데 연유하지 않을까 추측된다.[32]

경색후 간에서의 안지오텐신노젠 mRNA 발현 양상과 그 기전

본 연구에서는, 심근경색후 4시간 만에 간에서 안지오텐신노젠 mRNA 발현이 급증하였는데, 이러한 반응은 심근경색증이 아닌 일반적인 스트레스적 상황, 예를 들면 endotoxemia, surgery 직후[22)23)]에서도 비슷한 시간대에 나타나는 것으로 보고되고 있다. 이러한 현상에 대한 해석으로는 안지오텐신노젠 유전자의 조절 부

위에 acute stress responsive element(APRE)가 존재하기 때문에 어떠한 스트레스에 대해서도 간에서의 안지오텐신노젠 mRNA 발현은 증가한다는 것이다. 그러나 본 연구의 결과를 보면, sham - operation 한 대조군보다도 심근경색증 군에서 안지오텐신노젠 mRNA 발현의 증가량이 유의하게 높았다. 이러한 사실은 간에서의 안지오텐신노젠 mRNA 발현이 모든 스트레스에 대해서 동일하게 증가하는 것이 아니고, 자극에 따라서 반응도가 다르다는 것을 시사한다. 즉, 심근 경색증 특유의 자극이 개재할 가능성이 있는 것인데, 심근 경색증 특유의 자극으로서는, 예를 들면, 급성 심부전에 의한 간울혈, 카테콜아민의 상승등을 생각할 수 있으나, 아직 확인되어 있지는 않다. 실제로 간에서의 안지오텐신노젠 mRNA발현 양상은, 진정한 급성 반응 단백(acute phase protein)인 alpha 1 - acid glycoprotein이나 alpha 2 macroglobulin 등의 발현 양상과는 다른 것으로 보고되고 있다. 즉, 대표적인 2대 자극인 Interleukin (IL) - 1, IL - 6에 대해서 전술한 두 급성 반응 단백은 발현이 항진되지만, 간에서의 안지오텐신노젠 mRNA발현은 IL - 1에 대해서는 오히려 감소하는 것으로 보고되어,[22] 비록 유전자 발현 조절 부위에 APRE가 존재하지만, 안지오텐신노젠은 진정한 급성 반응 단백은 아닌 것으로 보기도 한다.

경색후 심근에서의 안지오텐신노젠 mRNA 발현 양상과 그 기전

급성 심근 경색증후 심근에서의 안지오텐신노젠 mRNA 발현을 분석한 연구는 드물다. 유일한 Lindpainter 등의 연구 결과에 의하면, 백서의 심근에서 안지오텐신노젠 mRNA 발현은, 경색후 5일째에는 증가되어 있으나, 25일째에는 정상화되어 있다는 것이다.[24] 본 연구에서는 경색후, 보다 자세한 시간적 변화를 분석하였는데, 경색후 초급성기인 1 2일에는 오히려 심근의 안지오텐신노젠 mRNA발현이 일시적으로 감소하였으며, 3일 이후에 회복되어 3주, 3개월까지 그 발현이 증가된 상태를 보였다. Lindpainter 등의 보고와는 만성기에 차이를 보이는데, 아마도 이 차이는 심근 경색의 크기, 즉 경색후 심부전 또는 심실의 스트레스의 차이에 기인하는 것이 아닌가 여겨진다. 왜냐하면, Lindpainter등의 보고에서도 심근경색이 큰 개체에서는 25일째에도 심근에서의 안지오텐신노젠 mRNA 발현이 증가해 있었다는 결과가 있기 때문이다.

심근에서 안지오텐신노젠 mRNA 발현이 항진되는 기전으로는 아직 명확히 증명된 바는 없지만, 심근경색의 크기가 클수록 심근에서의 안지오텐신노젠 mRNA 발현이 높고,[24] 국소 콩팥에서의 안지오텐신노젠 mRNA 발현이 높으며,[25] 경색후 심실 확장이 클수록 심근에서의 전환효소 활성도가 높으며,[33] 압력 과부하 심근에서 안지오텐신노젠 mRNA 발현이 증가한다는 실험 결과[34] 등을 고려한다면, 경색후 심부전에 의해서 심실벽 tension이 증가하는 것이 심근에서의 안지오텐신노젠 mRNA 발현을 유도하는 인자가 아닐까 추정된다. 심근에 장력이 증가되었을 때 나타나는 변화로서는 in vitro 실험 결과에 따르면,[35] protein kinase C계로가 활성화되며, 초기 유전자(immediate early gene)인 c - fos, c - myc, c - jun등과, 후기 유전자(late response gene)인 beta - myosin heavy chain, skeletal alpha - actin 등의 유전자가 차례로 활성하되는 것으로 보고되었지만, 장력에 의한 안지오텐신노젠 mRNA 발현의 변화에 대해서는 보고된 바가 없다.

심실벽 장력이 증가함에 따라서 안지오텐신노젠 mRNA 발현이 증가하는 것 이외에도, 심근 안지오텐신노젠 mRNA 발현을 증가시키는 인자로서는, 초기에 활성화되었던 순환 안지오텐신에 의한 positive feedback 기전을 들 수가 있다. 간세포를 이용한 실험결과에 의하면,[36] 간세포에 안지오텐신을 투여하면, 안지오텐신노젠 mRNA 발현이 증가하는데, 이것이 안지오텐신노젠 mRNA발현의 positive feedback 기전이다. 이러한 기전을 통해서도, 심근에서의 안지오텐신노젠 mRNA발현이 더욱 상승되리라고 생각할 수도 있다.

심근에서의 안지오텐신노젠 mRNA 발현 양상 중에서도 특히 시선을 크는 것은 초급성기인 1 2일째 그 발현이 일시적으로 억제된다는 것이다. 이러한 현상은, 수술후 초급성기에 수술에 따른 출혈, 탈수등으로 인해서 hypovolemia, hypotension 등이 초래되고 이 결과 일시적으로 심실벽 tension이 감소한 것도 일부분 기여했으리라고 추측되지만, 추후 규명되어야 할 문제이다.

임상적 의의

심근 경색 이우의 예후를 결정하는 중요한 인자인 심실의 재형성(ventricular remodeling) 과정에 레닌 - 안지오텐신계가 깊숙히 관여한다는 것은 이미 정설로

되어 있으나, 심근경색후 순환 및 국소 레닌 안지오텐신계 활성의 변화양상은 시간에 따라 어떠한 변화를 나타내는지를 아직까지 규명되지 않은 상태였으며, 따라서 심근경색에서 전환효소 억제제의 유용한 효과는 입증되어 있으나, 언제 치료를 시작하는 것이 더 유용한지는 명확하게 규명되어 있지 않다. 이러한 맥락에서 본 연구의 결과는 가치가 있다고 생각된다.

본 연구의 결과 국소 심근에서의 안지오텐신노젠 mRNA 발현은 3주, 3개월까지도 증가되어 있음이 드러났다. 이러한 시간대는, 일반적으로 알려진 경색의 치유기에 해당하는 경색후 2일 내지 14일과 다른 시간대이다. 즉 급성 치유기 이후에도 심근의 국소 레닌-안지오텐신계는 활성화되어 있으며, 이것이 심실의 재형성에 관여할 것으로 생각된다. 이러한 소견은 임상적으로 심근경색을 앓은 환자에게 안지오텐신 전환효소 억제제를 투여할 때, 중요한 시간적 지침을 제공하여 줄 수 있다고 생각할 수 있다.

심근경색후 전환효소 억제제의 치료시작 시각에 따른 치료 성적에 대한 보고를 분석비교해 보면, 먼저 동물실험 결과로서는 ; Pfeffer 등의 실험에서는[7] 쥐의 심근경색후 3개월간의 captopril 투여의 시작을 경색후 2일에 시작한 군과 경색후 21일부터 시작한 군과의 사이에 유의한 성적의 차이는 없었다. 단 쥐에선느 경색후 2일이면 벌써 경색부위의 확장이 발생하며, 3주면 완전히 경색의 치유가 완료된다. Gay 등의 실험에서는,[37] 3군으로 나누어서 치료를 달리 하였는데, 제 1군은 경색후 2시간이내에 captopril을 투여하기 시작하여 3주동안 지속했으며, 제 2 군은 경색후 2시간이내에 시작하여 4개월동안 지속하였으며, 제3군은 경색후 3주에 치료를 시작하여 4개월동안 지속하였다. 세군 사이에 성적의 유의한 차이는 없었다. 즉 경색후 초기의 치료는 효과가 있으나, 후기에 치료를 시작하여도 무방한 결과이었다. 그러나 Shoemaker등은[38] 경색후 1일에서 3주간 captpril을 투여하였을 때 혈역학적 소견의 악화를 보였으나, 경색이후 3주부터 5주사이에 치료한 경우는 혈역학적 개선을 보여, 초기(치유기) 동안의 전환효소 억제제는 해로운 효과를 발휘한다고 주장하였다.

한편 임상적으로 심근경색 후 경색의 치유기에 해당하는 2일 내지 14일후에 시작한 전환효소 억제제의 장기 투여는 좌심실 확장을 개선하고,[12)13)39)] 이와 비슷한 시기 3 16일 후(SAVE study),[15)] 혹은 3 10일 후(AIRE study)[17)]에 투여를 시작한 경우에는 일관되게 생존율이 증가하였으며, 이 보다 더 조기인 24시간 이내에 투여를 시작한 경우에는 생존율이 증가하였다는 보고(GISSI-3, ISIS-4)[16)18)]외에도, 생존율에서 별 이득이 없었다는 보고도 있다(CONSENSUS-2).[47)] 그리고 경색 후 비교적 초기인 24시간 이내에 투여를 시작하여 2개월 동안 투여하였을 때, 좌심실의 확장을 완화하고 초기의 remodeling을 개선하며,[41)] 36시간 이내에 시작하여 1개월 동안 투여하여도 혈역학적 개선효과가 있다는 보고[42)]도 있다. 여기서 전환효소 억제제에 의해서 가장 많은 이익을 보는 군은 고위험군이었는데, 심부전 또는 이전에 심근경색의 병력을 가진 환자에서 가장 큰 긍정적인 효과를 거두었다(ISIS-4).[16)]

위와 같은 전환효소 억제제의 투여시기에 따른 실험적, 임상적 결과를 종합하면, 혈역학적으로 안정된 아급성기 이후에 투여하는 경우는 별 부작용 없이 긍정적인 효과를 발휘하는 반면, 초급성기부터 투여할 경우는 긍정적인 효과는 있지만, 혈역학적인 악화가 있을 수 있기 때문에 주의를 요한다고 볼 수 있다. 이러한 요약을 본 연구 결과와 함께 검토한다면, 급성기의 순환 레닌-안지오텐진계 든지, 아급성기 이후의 국소 레닌-안지오텐신계이든지 간에 차단하는 것이 심실의 재형성을 막고 예후를 향상시키는 것으로 판단되지만, 급성기의 순환 레닌-안지오텐신계는 급성 스트레스에 대해서 혈역학적인 항상성을 유지하는 합목적적인 역할을 띠고 있으므로 이를 차단하는데 주의를 요한다고 보인다. 즉, 혈역학적 恒常性을 깨뜨리지 않으면서, 심실 재형성을 차단하는 선에서 전환효소 억제제를 사용해야 할 것으로 생각된다.

요 약

연구배경 :

심근경색후 경색부위와 비경색 부위는 구조적 변화를 겪게되는데, 이러한 재형성 과정으로 인한 좌심실 확장은 경색후 생존의 중요한 예후 인자로 알려져 있다. 그런데, 경색후 좌심실의 재형성과정에는 레닌-안지오텐신계가 관여하리라고 여겨지고 있다. 이에 백서의 실험적 급성 심근경색 모델을 이용하여 경색후 순환 및 국소 레닌-안지오텐신계의 변화를 알아보고자, 경색후 시

간대별로, 간과 심장에서의 안지오텐신노젠 mRNA 발현의 변화를 관찰하였다.

방 법 :

마취시킨 백서에서 좌관동맥을 결찰하여 실험적 급성 심근경색을 유도한 후, 일정한 시간 간격(1시간, 4시간, 18시간, 24시간, 3일, 2주, 3주, 3개월)으로 간 및 심장조직을 얻고 RNA를 분리하였다. 심부전의 확인을 위하여 심근경색후 3주에 수축기 혈압과 좌심실 확장기말 압력을 측정하였다. 심근경색후 간에서의 안지오텐노젠 mRNA 발현의 변화는 Northern blot analysis를 통하여 관찰하였고, 심장에서의 안지오텐신노젠 mRNA 발현의 변화는 RT - PCR을 통해 관찰하였다.

결 과 :

경색후 순환 레닌 - 안지오텐신계의 변화를 반영할 수 있는 간에서의 안지오텐신노젠 유전자의 발현 양상을 관찰한 바, 급성 심근경색후 4, 8, 24시간에 간에서의 안지오텐신노겐 mRNA 발현은 증가하였으며 3일 후에는 심근경색전의 정상 수준으로 돌아왔다. 한편 심장의 국소 레닌 - 안지오텐신계의 변화를 반영할 수 있는 심근에서의 안지오텐신노젠 유전자의 발현 양상은, 심근경색후 초기에는 관찰되지 않다가, 3일 이후에 안지오텐신노젠 mRNA 발현이 관찰되기 시작하여, 이후 3주, 3개월의 시간경과에 따라 그 발현이 증가하였다.

결 론 :

심근경색후 초기에는 순환 레닌 - 안지오텐신계인 간에서의 안지오텐신노젠 유전자가 활성화되며, 경색후 후기에는 국소 레닌 - 안지오텐신계인 심장에서 안지오텐신노젠 mRNA 발현이 증가한다는 사실은, 경색후 급성 심근경색기에는 순환 레닌 - 안지오텐신계가 활성화되어 혈압의 항상성을 유지하고, 경색후 만성기에는 심장에서의 국소 레닌 - 안지오텐신계가 활성화되어 심실재형성에 기여한다는 것을 의미하며, 나아가서 경색후 투여하는 레닌 - 안지오텐센계의 억제제의 효과가 급성기와 아급성기 이후에 각각 달리 나타날 수 있다는 것을 시사한다.

중심 단어 : Angiotensinogen · MI · Myocardium · Liver

본 연구는 대한순환기학회 신진연구비의 보조로 이루어진 것임.

REFERENCES

1) Gaudron P, Eilles C, Kugler I, Ertl G. *Progressive left ventricular dysfunction and remodeling after myocardial infarction: Potential mechanism and early predictors. Circulation 1993;87:755-63.*
2) Gaudron P, Eilles C, Ertl G, Kochsiek K. *Adaptation to cardiac dysfunction after myocardial infarction. Circulation 1993;8(Suppl IV):83-9.*
3) Gaudron P, Eilles C, Ertl G, Kochsiek K. *Compensatory and non-compensatory left ventricular dilatation after myocardial infarction: Time course, hemodynamic consequences at rest and exercise. Am Heart J 1992;123:377-85.*
4) Hammermeister KE, DeRouen TA, Dodge HT. *Variables predictive of survival in patients with coronary disease: Selection by univariate and multivariate analysis from the clinical, echocardiographic, exercise, arteriographic and quantitative angiographic evaluations. Circulation 1979;59:421-30.*
5) Norris RM, Barnaby PF, Brandt PWT, Geary GG, Whitlock RML, Wild CJ, Barrat-Boyes BG. *Prognosis after recovery from first acute myocardial infarction: Determinants of reinfarction and sudden death. Am J Cardiol 1984;53:408-13.*
6) White HD, Norris RM, Brown MA, Brandt PWT, Whitlock RML, Wild CJ. *Left ventricular end-systolic volume as the major determainat of survival after recovery form myocardial infarction. Circulation 1987;76:44-51.*
7) Pfeffer JM, Pfeffer MA, Braunwald E. *Influnce of chronic captopril therapy on the infarcted left ventricle of rat. Circ Res 1985;57:84-95.*
8) Pfeffer MA, Pfeffer JM, Steinberg C, Finn P. *Survival after an experimental infarction: Beneficial effects of long-term therapy with captopril. Circulation 1985;72:406-12.*
9) Raya TE, Fonken SJ, Lee RW, Daugherty S, Goldman S, Wong PC, Timmermans PBMWM, Morkin E. *Hemodynamic effects of direct angiotensin Ⅱ blockade compared to converting enzyme inhibition in rat model of heart filure. Am J Hypertens 1991;4:334S-340S.*
10) Sweet CS, Ludden CT, Stabilito II, Emmert SE, Heyse JF. *Beneficial effects of milrinone and enalapril on long-term survival of rats with healed myocardial infarction. Eur J Pharmacol 1988;147:27-37.*
11) Schieffer B, Wirger A, Meybrunn M, Seitz S, Holtz J, Riede UN, *et al. Comparative effects of chronic angiotensin-converting enzyme inhibition and angiotensin Ⅱ type 1 receptor blockade on cardiac remodeling after myocardial infarction in the rat. Circulation 1994;89:2273-82.*
12) Pfeffer MA, Lamas GA, Vaughan DE, Parisi AF, Braunwald E. *Effects of captopril on progressive left ventricular dilatation after anterior myocardial infarction. N Engl J Med 1988;319:80-6.*
13) Sharpe N, Murphy J, Smith H, Hannan S. *Treatment of patients with symptomless left ventricular dysfunction after myocardial infarction. Lancet 1988;1:255-9.*
14) Lamas GA, Vaughan DE, Parisi AF, Pfeffer MA. *Effects of left ventricular shape and captopril therapy on exercise capacity after anterior wall acute myocardial infarction. Am J Cardil 1989;63:1167-73.*

15) Pfeffer MA, Braunwald E, Moye LA, *et al. Effect of captopril on mortality and morbidity in patients with left ventricular dysfunction after myocardial infarction: Results of the survival and ventricular enlargement trial. N Engl J Med 1992;327:667-77.*
16) ISIS-4(Fourth International Study of Infarct Survival) Collaborative Group. *ISIS-4 randomized factorial trial assessing early oral captopril, oral mononitrate, and intravenous magnesium sulphate in 58,050 patients with suspected acute myocardial infarction. Lancet 1995;18:669-85.*
17) The Acute Infarction Ramipril Efficacy (AIRE) Study Investigators. *Effect of ramipril on mortality and morbidity of survivors of acute myocardial infarction with clinical evidence of heart failure. Lancet 1993;342:821-8.*
18) GISSI-3 (Gruppo Italiano per Io Studio della Sopravvivenza nell'infarto Miocardico) Study Group. GIS-SI-3: *Effects of lisinopril and transdermal glyceryl trinitrate single and together on 6-week mortality and ventricular function after acute myocardial infarction. Lancet 1994; 343:1115-22.*
19) Dzau VJ. *Circulating versus local renin-angiotensin system in cardiovascular homeostasis. Circulation 1988;7 7(suppl 1):1-4.*
20) Kegeyama R, Ohkubo H, Nakanishi S. *Induction of rat liver angiotensinogen mRNA following acute inflammation. Biochem Biophys Res Commun 1985;129:826-32.*
21) Iwao H, Kimura S, Fukui K, *et al. Elevated angiotensinogen mRNA levels in rat liver by nephrectomy. Am J Physiol 1990;258:E413-E417.*
22) Soden M, Klett C, Hasmann T, *et al. Angiotensinogen; An acute-phase protein? Hypertension 1994;23(suppl 1): I126-I130.*
23) Ron D, Brasier AR, Habener JF. *Angiotensinogen gene-inducible enhancer-binding protein 1, a member of a new family of large nuclear proteins that recognize nuclear factor kB-binding sites through a zinc finger motif. Mol Cell Biol 1991;11:2887-95.*
24) Lindpainter K, Lu W, Niedermajer N, Schieffer B, Just H, Gantern D, *et al. Selective activation of cardiac angiotensinogen gene expression in post-infarction ventricular remodeling in the rat. J Mol Cell Cardiol 1993;25:133-43.*
25) Schunkert H, Ingelfinger JR, Hirsch AT, Tang SS, Litwin SE, Talsness CE *et al. Evidence for tissure-specific activation of renal angiotensinogen mRNA expression in chronic stable experimental heart failure. J Clin Invest 1992;90:1523-9.*
26) Schunkert H, Tang SS, Litwin SE, *et al. Regulation of intrarenal and circulating renin-angiotensin systems in severe heart failure in the rat. Cardiovasc Res 1993;27: 731-5.*
27) Ohkubo H, Kageyama R, Ujihara M, Hirose T, Inayama S, Nakanishi S. *Cloning and sequence analysis of cDNA for rat angiotensinogen. Proc Natl Acad Sci USA 1983; 80:2196-200.*
28) Sabath D, Boome HE, Prystowsky MB. *Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase mRNA is a major interleukin 2-induced transcript in a cloned T-helper lymphocyte. Gene 1990;91:185-91.*
29) Cohen ML, Kurz KD. *Angiotensin converting enzyme inhibition in tissues from spontaneously hypertensive rats after treatment with captopril or MK-421. J Pharmacol Exp Ther 1982;220:63.*
30) Unger T, Ganten D, Lang RE, *et al. Is tissue converting inhibition a determinant of the antihypertensive efficacy of converting enzyme inhibitors? Studies wikth the two different compounds Hoe398 and MK421, in spontaneoulsy hypertensive rat. J Cardiovasc Pharmacol 1984;6:872.*
31) Unger T, Ganten D, Lang RE, *et al. Peristent tissue convering enzyme inhibition following treatment with Hoe498 and MK421 in spontaneously hypertensive rats. J Cardiovasc Pharmacol 1985;7:36.*
32) Campbell DJ, Habener JF. *Angiotensinogen gene is expressed and differentially regulated in multiple tissues of the rat. J Clin Invest 1986;78:31-9.*
33) Hirsch AT, Talsness CE, Schunkert H, *et al. Tissue-specific activation of cardiac angiotensin converting enzyme in experimental heart failure. circ Res 1991;69:475-82.*
34) Baker K, Chernin MI, Wixson SK Aceto JF. *Renin-angiotensin system involvement in pressure overload cardiac hypertrophy in rats. Am J Physiol 1990;259:H324-32.*
35) Yamazaki T, Komuro I, Yazaki Y. *Moleuclar mechanism of cardiac cellular hypertrophy by mechanical stress. J Mol Cell Cardiol 1995;27:133-40.*
36) Klett C, Hellmann T, Suzuki F, Nakanishi S, Ohkubo H, Ganten D, *et al. Induction of angiotensinogen mRNA in hepatocytes by angiotensin Ⅱ and glucocorticoids. Clin Exp Hypertens 1988;10:1009-22.*
37) Gay RG. *Early and late effects of captopril treatment after large myocardial infarction in rats. J Am Coll Cardiol 1990;16:967-77.*
38) Schoemaker RG, Debets JJM, Struyker-Boudier HAJ, Smits JFM. *Delayed but not immediate captopril therapy improves cardiac function on conscious rats following myocardial infarction. J Moll Cell Cardiol 1991;23:187-97.*
39) Sharpe N, Smith H, Murphy J, Greaves S, Hart H, Gamble G. *Early prevention of left ventricular dysfunction after myocardial infarction with angiotensin-converting-enzyme inhibition. Lancet 1991;337:872-6.*
40) Swedberg K, Held P, Kjekshus J, Rasmussen K, Ryden L, Wedel H. *Effects of the early administration of enalapril on mortality in patients with acute myocardial infarction: Results of the Cooperative New Scandinavian Enalapril Study Ⅱ (CONSENSUS Ⅱ). N Engl J Med 1992;327: 678-84.*
41) Oldroyd KG, Pye MP, Ray SG, Christe J, Ford I, Cobbe SM, *et al. Effects of early captopril adminst ministration on infarct expansion, left ventricular remodeling and exercise capacity after acute myocardial infarction. Am J Cardiol 1991;68:713-7.*
42) Pipilis A, Flather M, Collins R, Coats A, Conway M, Appleby P, *et al. Hemodynamic effects of topril and isosorbide mononitrate started early in acute myocardial infarction: A randomized placebo-controlled study. J Am Coll Cardiol 1993;21:73-9.*