

심근비후에 의한 Natriuretic Peptides 유전자 표현에 대한 연구

계명대학교 의과대학 약리학교실 및 의과학연구소

방정현 · 김수경

Natriuretic Peptide Gene Expressions in Hypertrophic Hearts of Rats

Jung Hyeon Bang, M.D. and Soo Kyung Kim, M.D.

*Department of Pharmacology, Keimyung University School of Medicine
and Institute for Medical Science, Taegu, Korea*

= Abstract =

Atrial natriuretic peptide (ANP) and brain natriuretic peptide (BNP) are hormones secreted from the heart, and their plasma levels have been shown to be increased in patients with congestive heart failure (CHF). However, the precise mechanism for secretion of ANP and BNP are not known in CHF.

This study was designed to determine the mechanisms regulating the increased levels of ANP and BNP gene expression in response to cardiac hypertrophy induced by isoproterenol (5 mg/kg, ip, for 5 days) in rats. The increased levels of ANP and BNP were investigated by RT-PCR method in the right atria and the left ventricles of hypertrophic hearts of rats. The extent of elevated expressions of ANP and BNP mRNA were more prominent in the left ventricles than those of the right atria. The increased expressions of ANP and BNP mRNA in the right atria were not inhibited by propranolol and clonidine, but those of ANP and BNP mRNA in the left ventricles were inhibited markedly by propranolol, clonidine, and metoprolol. Regarding the renin angiotensin system (RAS) on the ANP and BNP gene expressions, saralasin inhibited the increased levels of ANP and BNP mRNA in both the right atria and the left ventricles of the hypertrophic hearts, but captopril did not attenuate the elevated levels of the ANP and BNP gene expression.

These findings suggest that the patterns of ANP and BNP gene expression provide better evidences for a pathologic condition of left ventricle than that of right atrium. The underlying mechanisms of the observed ANP and BNP gene expression might be controlled by sympathetic system and RAS, mediated by angiotensin II from cardiac and extracardiac origin.

Key Words: Cardiac hypertrophy, Atrial natriuretic peptide, Brain natriuretic peptide

서 론

Natriuretic peptide인 atrial natriuretic peptide (ANP)와 B-type 또는 brain natriuretic peptide (BNP)는 주로 심장에서 분비되어 이뇨작용, 나트륨배설 증가작용 및 혈압하강 작용을 나타내는 심장 호르몬이며 (De Bold, 1986; Needleman *et al.*, 1989; Brenner *et al.*, 1990), C-type natriuretic peptide (CNP)는 주로 혈관 내피세포에서 분비되는 것으로서 그 주변 혈관의 긴장성을 조절한다 (Suga *et al.*, 1992).

ANP의 분비는 주로 심방에 가해지는 압력에 의해서 조절되며 (Mäntymaa *et al.*, 1993), 울혈성 심부전증 환자나 심근증이 있는 경우에 ANP의 혈장치가 매우 증가하는 것으로 보고되어 있다 (Tikkanen *et al.*, 1985; Rainne *et al.*, 1986; Burnett *et al.*, 1986). 이 때 ANP의 증가는 coronary sinus를 통하여거나 심방세포로 부터 분비되어 증가되며 특이하게 심실에서 그 분비가 증가된다 (Saito *et al.*, 1989; Takemura *et al.*, 1991). 심실에서의 ANP의 분비는 태생기에서는 볼 수 있지만 정상 성인의 심실에서는 극히 미비하다고 한다 (Bloch *et al.*, 1986; Kikuchi *et al.*, 1987). 그러나 여러 가지의 심장의 병적 상태에서 성인의 심실로부터 ANP의 분비가 증가된다 (Saito *et al.*, 1989; Takemura *et al.*, 1991).

BNP는 porcine brain에서 처음 분리되어 알려졌지만 (Sudoh *et al.*, 1988), 그 후 심실에서 주로 합성되어 유리되는 심장 호르몬으로 밝혀진 물질로서 그의 아미노산 배열 및 약리 작용은 ANP와 매우 유사하다. 정상에서는 BNP 혈장치가 ANP 보다 매우 낮지만 울혈성 심부전이나 심실의 기능이 정상적이지 못한 경우에는 ANP와 함께 매우 증가되므로써 심장 기능의 이상이 있음을 나타내어

(Mukoyama *et al.*, 1991) ANP와 BNP 증가의 정도가 질병의 진단이나 예후 판정에 도움을 주기도 한다. 심장의 병적인 상태에서 ANP와 BNP는 모두 증가하지만 BNP 증가의 비율이 ANP 증가의 비율을 능가하므로 이 둘 중에서 BNP가 더 임상적으로 의미가 있다고 한다 (Mukoyama *et al.*, 1990 & 1991; Tateyama *et al.*, 1992). 그러나 이들의 증가에 대한 기전에 대해서는 아직 명확하지 못하며, natriuretic peptide 수용체들의 존재는 심장의 심근세포 뿐 만 아니라 심근외의 세포에서도 밝혀지는 등 그 작용이 점점 알려지고 있다 (Lin *et al.*, 1995).

심근비후는 교감신경성 흥분 및 renin-angiotensin system (RAS)에 의해서 유발될 수가 있다 (Morgan & Baker, 1991). 교감신경성 심근비후는 α - (Edwards *et al.*, 1989; Knowlton *et al.*, 1993)와 β -adrenergic 수용체 자극에 의해서 일어날 수 있는데, β -adrenergic 수용체 효험제인 isoproterenol로서 수일 이내에 심근비후가 유도된다는 보고에 근거하여 (Laks *et al.*, 1973; Zeirhut & Zimmer, 1989; Allard *et al.*, 1990), 본 연구에서는 isoproterenol을 사용하여 심근비후를 유발하고 이에 따른 ANP와 BNP 증가의 기전을 알아 보고자 하였다. 그리하여 isoproterenol을 투여하여 심근비후가 유발된 흰쥐의 우심방과 좌심실 조직에서 교감신경계 약물 propranolol, metoprolol, clonidine 및 RAS에 작용하는 약물인 angiotensin II (Ang II) 길항제인 saralasin과 angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitor인 captopril들에 의한 ANP와 BNP 유전자 표현의 변화를 조사한 결과, 심근비후시 나타난 ANP와 BNP의 증가는 교감신경계 자극 또는 Ang II의 매개에 의해서 이루어진다는 흥미있는 결과를 얻었다.

재료 및 방법

1. 동물 실험

실험동물은 동일 장소에서 3 주 이상 일정한 사료로 사육한 체중 250 g 내외의 흰쥐 (Sprague-Dawley)를 암수 구별없이 사용하였다. Cervical dislocation으로 동물을 즉사시킨 후 즉시 심장을 적출하여 차가운 생리식염수로 씻은 후 우심방과 좌심실의 조직 200 mg씩 분리하여 실험에 사용하였다.

2. 심근비후의 유도 및 실험군

심근비후는 isoproterenol (5 mg /kg)을 5 일 동안 복강 내 주사하여 유도하였다. 심근비후만 유도된 군을 대조군으로 하고 심근비후에 대한 억제 작용을 보기 위하여 교감신경계 차단약물인 propranolol (5 mg /kg 및 10 mg /kg), metoprolol (5 mg /kg 및 10 mg /kg), clonidine (30 μ g /kg 및 50 μ g /kg), Ang II 길항제인 saralasin (50 μ g /kg 및 100 μ g /kg), ACE inhibitor인 captopril (5 mg /kg 및 10 mg /kg)을 각각 저농도 및 고농도로 하여 isoproterenol과 병행하여 투여한 군으로 구분하였다. 실험에 사용된 위의 모든 약물은 Sigma Chemical Company (U.S.A.)사 제품이었다.

3. Total RNA의 분리

Chomczynski와 Sacchi (1987)의 방법을 다소 수정하여 total RNA를 분리하였다. 혈액이 완전히 제거된 심근 조직 100 mg당 RNazolTMB (Biotecx Laboratories, U.S.A.) 1 ml를 넣고 심실근을 균질화 시킨 후 균질액 1 ml 당 0.1 ml의 chloroform을 넣고 15초간 잘 혼합하고 4°C에 5분간 두었다가 4°C에서 12,000 rpm으로 15분간 원심한 후 상층액을 취하여 차가운 isopropanol을 넣고 -70°C에 4시간 이상 두었다. 그 후 4°C에서 12,000 rpm으로 15분간 원심 침전하여

얻은 RNA pellet을 75% 차가운 ethanol로 세척하고 SpeedVac (Savant Instrument, U.S.A.)을 이용하여 건조시켰다. 건조시킨 pellet을 diethylpyrocarbonate (DEPC)로 처리된 중류수를 넣어 녹인 후 260 nm 파장에서 분광광도계로 농도 및 순도를 측정하고 -20°C에 보관하여 사용하였다. 추출한 total RNA의 integrity는 agarose /formaldehyde gel에 영동하여 확인하였다.

4. cDNA 합성

분리된 total RNA 2 μ g을 DEPC 처리된 중류수로 전체가 3 μ l가 되게 한 다음 oligo dT (16 mer)를 포함한 반응액을 총량 20 μ l로 하여 역전사 시켰다. 반응 혼합액의 조성은 다음과 같다. 5 mM MgCl₂, 50 mM KCl, 10 mM Tris-HCl(pH 8.3), 1 mM dATP, 1 mM dTTP, 1 mM dCTP, 1 mM dGTP, 1U/ μ l RNase inhibitor (Perkin Elmer Co, U.S.A.), 2.5U/ μ l MuLV reverse transcriptase (Perkin Elmer Co, U.S.A.) 및 2.5 μ M oligo d(T)16 등이었으며 이 혼합액과 RNA 2 μ g을 42°C에서 60분 동안 역전사 반응시켰다.

5. 축합효소연쇄반응

축합효소연쇄반응 (polymerase chain reaction; PCR)은 5 μ l의 10 x reaction buffer (100 mM Tris-HCl pH 8.3, 500 mM KCl)와 2 mM MgCl₂, 1 mM dATP, 1 mM dTTP, 1 mM dCTP, 1 mM dGTP와 20 pmol의 sense 및 antisense primer를 넣은 혼합액에 2 μ l의 반응시킨 cDNA reaction 액과 2.5 unit의 taq polymerase (Perkin Elmer Co, U.S.A.)를 넣은 후 멸균된 중류수로 총량을 50 μ l로 맞추고 동량의 mineral oil을 넣고 DNA thermal cycler (Perkin Elmer Co., 2400, U.S.A.)를 사용하여 PCR을 시행하였다. 본실험에 사용한 ANP의 염

기서열은 sense 5'-ATGGATCTCCAGAA-GGTGCT-3', antisense 5'-CTGCATCGT-GGATTGTTCTG-3' (크기 116 bps)이었으며, BNP의 염기서열은 sense 5'-ATGGA-TCTCCAGAAGGTGC-3', antisense 5'-CT-AAAACAACCTCAGCCCC-3' (크기 366 bps)이었다.

6. 전기영동 및 분석

증폭된 PCR 산물 $10 \mu\text{l}$ 를 1.5% 또는 2% agarose gel에 전기영동하여 gel documentation system (Bio-Rad Lab, U.S.A.)을 이용하여 밀도를 측정·비교하였다.

성 적

1. ANP 유전자 표현에 대한 교감신경계의 영향

Isoproterenol (5 mg/kg, ip)을 5일간 투여받은 흰쥐의 우심방의 ANP 유전자 표현은 다소 증가하는 경향을 보인데 반해 좌심실의 ANP 유전자 표현은 현저하게 증가하였다 (Figure 1). Isoproterenol에 의한 우심방의 ANP 유전자 표현에는 propranolol, clonidine에 의해서는 뚜렷한 변화를 보이지 않았고, β_1 -선택적인 길항제 metoprolol에 의해서는 다소 억제되는 경향을 나타내었으나 유의하지는 않았다 (Figure 2). Isoproterenol에 의해 증가된 좌심실의 ANP 유전자 표현은 propranolol, metoprolol 및 clonidine에 의해서 현저하게 억제되었다 (Figure 2).

2. ANP 유전자 표현에 대한 RAS의 영향

Isoproterenol에 의해 증가된 우심방의 ANP 유전자 표현은 saralasin 및 captopril에 의해서는 뚜렷한 변화를 보이지 않았고, isoproterenol에 의해 증가된 좌심실의 ANP 유전자 표현은 saralasin에 의해서는 억제되었으나 captopril에 의해서는 억제되지 않았다 (Figure 3).

3. BNP 유전자 표현에 대한 교감신경계의 영향

Isoproterenol (5 mg/kg, ip)을 5일간 투여받은 흰쥐의 우심방의 BNP 유전자 표현은 대조군에 비하여 별 변화를 보이지 않았지만 좌심실의 BNP 유전자 표현은 현저하게 증가되었다 (Figure 1). Isoproterenol에 의한 우심방의 BNP 유전자 표현에는 propranolol, clonidine에 의해서는 뚜렷한 변화를 보이지 않았고, β_1 -선택적인 길항제 metoprolol에 의해서는 다소 억제되는 경향을 나타내었으나 유의하지는 않았다 (Figure 4). Isoproterenol에 의해 증가된 좌심실의 BNP 유전자 표현은 propranolol, metoprolol 및 clonidine에 의해서 현저하게 억제되었다 (Figure 4).

4. BNP 유전자 표현에 대한 RAS의 영향

Isoproterenol에 의해 증가된 우심방의 BNP 유전자 표현은 saralasin 및 captopril에 의해서는 뚜렷한 변화를 보이지 않았고, isoproterenol에 의해 증가된 좌심실의 BNP 유전자 표현은 saralasin에 의해서는 억제되었으나 captopril에 의해서는 억제되지 않았다 (Figure 5).

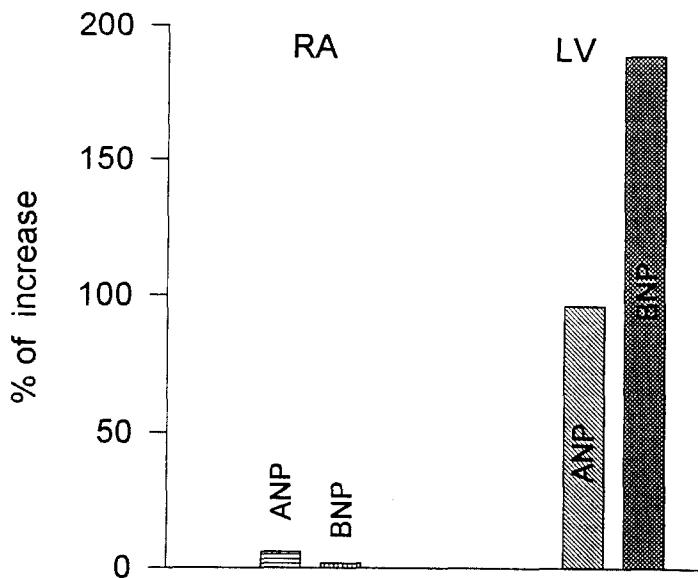


Figure 1. Increased mRNA expressions of ANP and BNP in the right atria(RA) and the left ventricles(LV) of rats upon isoproterenol-induced cardiac hypertrophy.

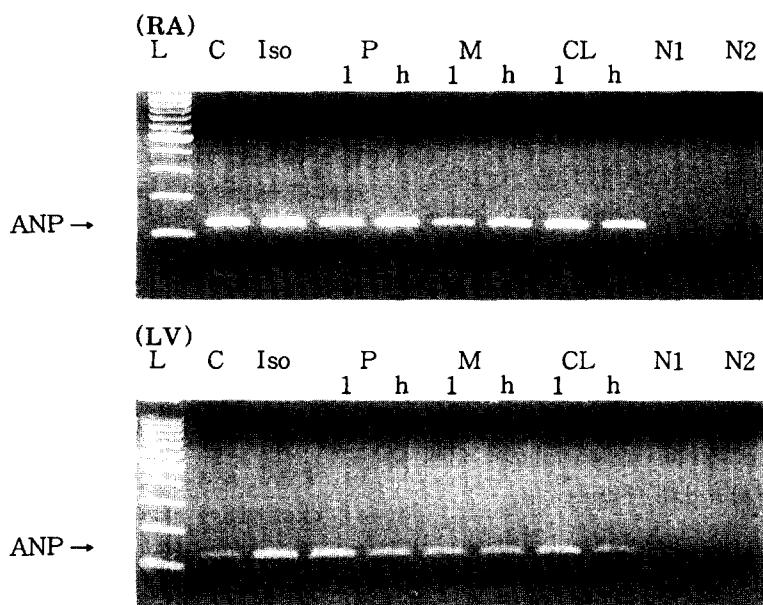


Figure 2. Effects of propranolol, metoprolol, and clonidine on the ANP gene expression in the right atria(RA) and the left ventricles(LV) of rats upon isoproterenol-induced cardiac hypertrophy.

L: 100 bp DNA ladder, C: control, Iso: isoproterenol only, P: Iso + propranolol, M: Iso + metoprolol, CL: Iso + clonidine, l: low dose, h: high dose, N1: RT-PCR control (no RNA), N2: RT-PCR control (no reverse transcriptase)

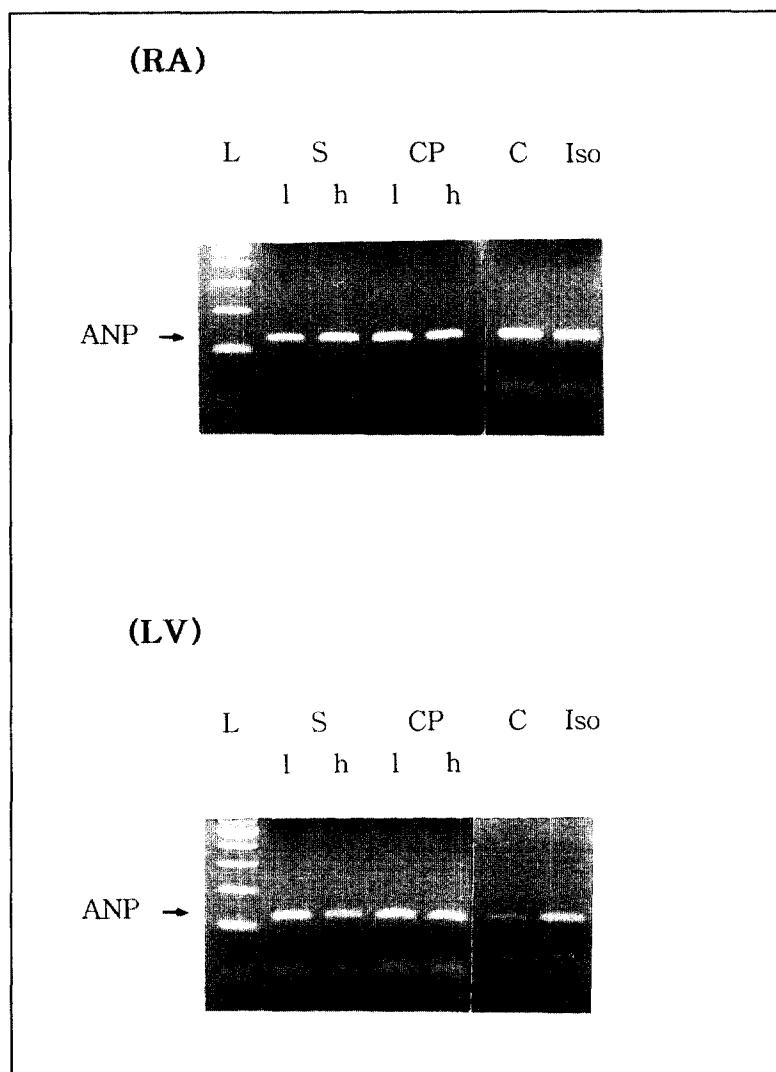


Figure 3. Effects of saralasin and captopril on the ANP gene expression in the right atria (RA) and the left ventricles (LV) of rats upon isoproterenol-induced cardiac hypertrophy.
L: 100 bp DNA ladder, S: Iso + saralasin, CP: Iso + captopril, C: control, Iso: isoproterenol only, l: low dose, h: high dose

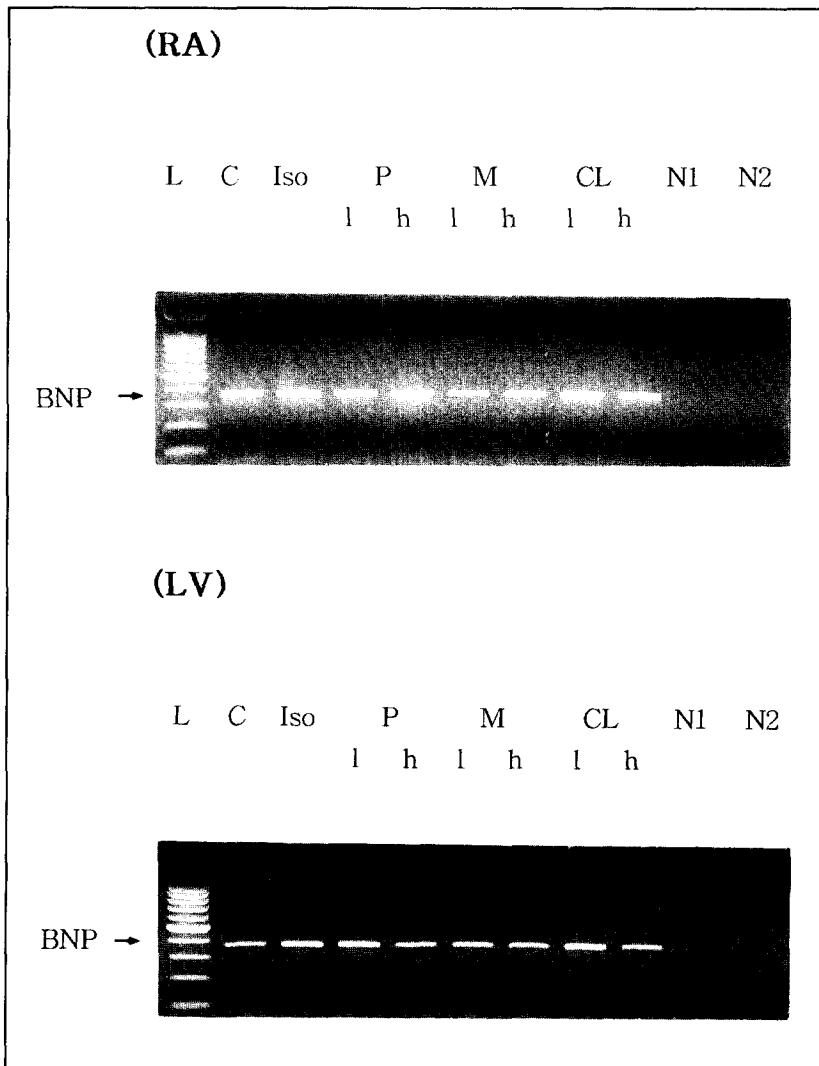


Figure 4. Effects of propranolol, metoprolol, and clonidine on the BNP gene expression in the right atria (RA) and the left ventriles (LV) of rats upon isoproterenol-induced cardiac hypertrophy.

L: 100 bp DNA ladder, C: control, Iso: isoproterenol only, P: Iso + propranolol, M: Iso + metoprolol, CL: Iso + clonidine, l: low dose, h: high dose, N1: RT-PCR control (no RNA), N2: RT-PCR control (no reverse transcriptase)

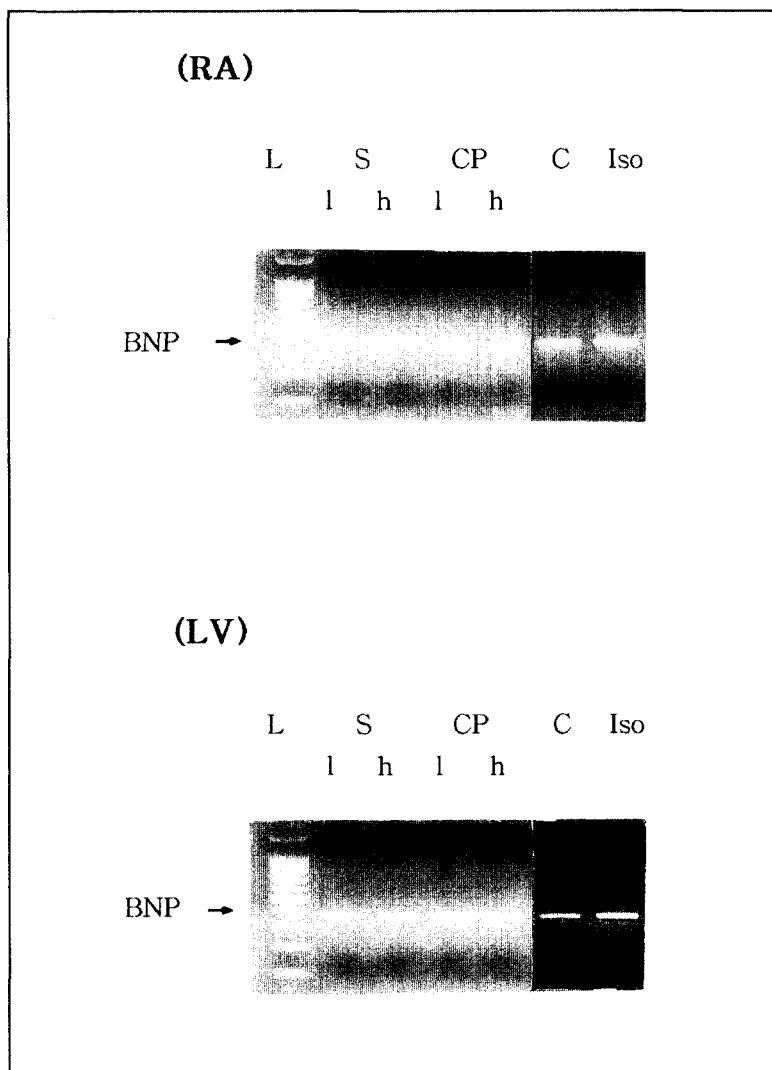


Figure 5. Effects of saralasin and captopril on the BNP gene expression in the right atria (RA) and the left ventricles (LV) of rats upon isoproterenol-induced cardiac hypertrophy.

L: 100 bp DNA ladder, S: Iso + saralasin, CP: Iso + captopril, C: control, Iso: isoproterenol only, l: low dose, h: high dose

고 쟈

고혈압이나 심근비후는 교감 신경계 흥분에 의해서 동시에 나타날 수 있는 임상증상이다. 그러나 norepinephrine을 subhypertensive dose로 장기간 투여한다거나 isoproterenol을 반복해서 투여하면 혈압에는 아무 변동 없이 심근비후를 실험적으로 일으킬 수 있다 (Laks *et al.*, 1973; Zeirhut & Zimmer, 1989; Allard *et al.*, 1990). 이 실험에서는 isoproterenol로 심근비후를 유도하였는데, isoproterenol의 작용은 심장의 β -adrenergic 수용체에 대한 직접작용 이외에도 RAS 등을 경유하는 간접작용 등의 여러 인자들을 고려 할 수 있다. Isoproterenol (5 mg/kg)을 투여하여 심근비후가 일어난 경우에 plasma renin 농도가 현저하게 증가되며 Ang II의 생성이 증가되었다는 보고 (Nagano *et al.*, 1992)가 있으므로 isoproterenol에 의한 심근비후에는 직접 및 간접작용이 모두 관여한다고 생각된다. 분비된 Ang II는 중추적으로 cardiovascular regulatory site에 작용하거나 aldosterone 생성 및 유리를 증가시키므로써 직접 혈관을 수축시키며 심장 기능 부전시에 직접 심장의 재형성 (remodeling)에 참여하여 심근비후를 유발한다 (Schorb *et al.*, 1994). 또한 Ang II가 직접 심근세포 뿐만 아니라 심장의 심근외 세포 종식을 일으킨다는 보고들이 있다 (Sadoshima & Izumo, 1993; Schieffer *et al.*, 1994; Kim *et al.*, 1995). 그러므로 임상에서는 angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitor 제제들이 심부전증, 심근경색증, 고혈압 등의 치료에 널리 사용되고 있다.

ANP는 심방에서 처음 발견된 이후 혈관 이완작용과 이뇨작용을 나타내는 물질로 알려져 있다. 정상에서는 주로 심방에서 분비되지만 심근비후가 일어나면 심방 뿐만 아니라

심실에서 분비되므로 심장의 병리 상태를 나타내는 하나의 지표가 된다 (Saito *et al.*, 1989; Takemura *et al.*, 1991). BNP는 태생기때에는 심실에서 발현되지만 정상 성인에서는 나타나지 않는 fetal gene들의 하나로서, 울혈성 심부전이나 심근비후 등으로 심실에 과부하가 주어질 때 그 정도에 비례해서 표현이 증가한다고 하며 (Mukoyama *et al.*, 1990 & 1991; Yoshimura *et al.*, 1993), 심실 기능 부전시에 BNP의 혈중 농도의 증가는 ANP 혈중 농도의 증가 보다도 현저하다고 한다 (Mukoyama *et al.*, 1990 & 1991; Tateyama *et al.*, 1992; Matsumoto *et al.*, 1995). 이처럼 심부전증 환자에서 혈장 ANP 및 BNP치 증가에 대한 보고는 다수 있으나, 어떤 종류의 자극이 ANP 및 BNP 농도를 증가시키는지에 대해서는 아직 확실하지는 않다.

Yasue *et al.* (1994)은 심부전증 환자에서 혈장 ANP 및 BNP치가 증가되며 이는 좌심실에 가해지는 압력에 의해 조절된다고 하였다. 그러나 Matsumoto *et al.* (1995)은 승모판 협착증에 의한 심부전증 환자의 혈장에서의 ANP 증가는 좌심실 박출계수 (left ventricular ejection fraction)와 이완말기 용적지수 (end-diastolic volume index)와는 관계없이 폐동맥쐐기압 (pulmonary capillary wedge pressure)에 비례하는 것으로 보아 ANP 혈장치가 항상 좌심실 기능을 반영해 준다고 할 수 없다고 하였으며, 반면에 BNP 혈장치는 심방에 가해진 압력과 별 상관없이 좌심실 이완말기압 (left ventricular end-diastolic pressure)에 비례하므로 심실의 상태를 나타낸다고 하였다.

이 실험에서 심근비후가 isoproterenol에 의해서 유발되었을 때 우심방에서 ANP와 BNP 유전자의 표현이 약간 증가된데 비해 좌심실에서의 ANP와 BNP 유전자 발현의 증가는 우심방보다 더욱 현저하여 (Figure

1) 이것들의 혈장치를 측정한 여러 보고들과 일치하였다 (Mukoyama *et al.*, 1990 & 1991; Tateyama *et al.*, 1992). 우심방에서 관찰된 ANP 유전자 표현의 증가는 propranolol 및 clonidine 병합 투여에 의해서는 영향을 받지 않았으나 선택적 β_1 길항제인 metoprolol 병합 투여에 의해서는 억제되었다 (Figure 2). 또한 RAS에 관련된 약물 Ang II 길항제인 saralasin 또는 ACE 억제제인 captopril의 병합 투여에 의해서 뚜렷한 영향을 받지 않았다 (Figure 3). 이러한 경향은 BNP 유전자 표현계에서도 관찰되었다 (Figure 4와 5). 한편 좌심실에서 관찰된 BNP 유전자 표현은 isoproterenol로 심근비후를 유도하였을 때 정상 좌심실에 비하여 현저하게 증가됨을 관찰할 수 있었으며 (Figure 1), propranolol, metoprolol 및 clonidine 병합 투여에 의해서는 현저하게 억제됨을 관찰하였다 (Figure 2). 그리고 isoproterenol로 유발된 심근비후로 증가된 좌심실의 BNP 유전자 표현계는 saralasin 병합 투여에 의해서 다소 억제되었으나, captopril에 의해서는 별 영향을 받지 않았다 (Figure 5). 이와같이 심근비후에 의한 좌심실의 BNP 유전자의 표현계도 ANP와 유사한 경향을 나타내었다. 즉 Ang II 수용체 길항제에 의해서는 억제되지만 Ang II 생성 전단계를 조절하는 ACE 억제제인 captopril에 의해서는 억제됨을 보이지 않으므로써, 심근비후에 관여하는 Ang II는 심장외의 조직에서 생성되어 혈액을 통해 심장으로 유입되어 들어온 Ang II가 주로 작용한 것으로 추측하였다.

이 실험에서 isoproterenol로 심근비후를 유발시킨 경우에 심방보다는 심실에서 현저하게 ANP 및 BNP 유전자의 표현계가 증가된 것으로 보아, 혈장 ANP나 BNP 농도 변화로 좌심실 내의 혈역학적 변화 및 심근비후를 예측 할 수 있을 것으로 생각한다. 우심방의 ANP 및 BNP 유전자의 표현계는 교감

신경 차단제에 의해서 다소 억제되는 경향을 보였으나 그 억제의 정도는 뚜렷하지 않았다. 그러나 좌심실에서의 isoproterenol에 의한 ANP 및 BNP 유전자 표현계는 captopril에 의해서는 억제되지 않았지만 교감 신경계 차단제들과 Ang II 길항제인 saralasin에 의해서 현저하게 억제되었다.

이러한 결과로 미루어 볼 때, 심근비후에 의한 ANP와 BNP의 증가는 좌심실에서 현저하였으며, 특히 BNP의 증가가 현저한 것으로 보아 BNP가 좌심실의 기능적 상태를 나타내는 하나의 지표가 될 수 있다고 생각한다. 이러한 증가의 기전에는 교감신경계뿐만 아니라 Ang II가 관여하며 이때의 Ang II는 심장에서 생성된 것 이외에 심장외의 조직에서 생성된 Ang II도 관여하고 있는 것으로 생각한다.

요 약

본 연구에서는 심근비후에 따른 ANP와 BNP 유전자의 표현 증가의 기전을 알아 보고자 β -adrenergic 수용체 효현제인 isoproterenol (5 mg/kg)을 5일 동안 흰쥐의 복강내에 주사하여 심근비후를 유도하였다. 심근비후가 유도된 흰쥐의 우심방과 좌심실에서 교감신경계 및 RAS에 작용하는 약물에 의한 ANP와 BNP 유전자의 변화를 RT-PCR 방법으로 조사하였다. 심근비후시 나타난 ANP와 BNP의 증가는 우심방보다는 좌심실에서 현저하였다. 우심방의 ANP 및 BNP 유전자의 표현은 교감신경계 차단제에 의해서 다소 억제되는 경향을 보였으나 유의하지는 않았다. 그러나 좌심실에서의 ANP 및 BNP 유전자의 표현계는 captopril에 의해서는 억제되지 않았지만 교감 신경계 차단제들과 Ang II 길항제인 saralasin에 의해서 현저하게 억제되었다. 이러한 결과로 미루어 볼 때, 심근비후에 의한 ANP와 BNP의 증가는

우심방보다는 좌심실의 상태를 더 잘 반영하는 것으로 생각되며, 특히 BNP의 증가는 좌심실의 병리상태를 나타내는 중요한 지표가 될 수 있다고 생각한다. 아울러 이러한 증가의 기전은 교감신경계 뿐만 아니라 Ang II의 매개에 의해서 이루어진다는 흥미있는 결과를 얻었으며 이때의 Ang II는 심장에서 생성된 것 이외에 심장외의 조직에서 생성된 Ang II도 관여하고 있는 것으로 생각한다.

참 고 문 헌

- Allard MF, Doss LK, Bishop SP: Verapamil dose not prevent isoproterenol-induced cardiac hypertrophy. *Am J Cardiovasc Pathol* 1990;3:167-174.
- Bloch KD, Seidman JG, Naftilan JD, Fallon JT, Seidman CE: Neonatal atria and ventricles secrete atrial natriuretic factor via tissue-specific secretory pathways. *Cell* 1986;47:695-702.
- Brenner BM, Ballermann BJ, Gunning ME, Zeidel ML: Diverse biological actions of atrial natriuretic peptide. *Physiol Rev* 1990;70:665-699.
- Burnett JC Jr, Kao PC, Hu DC, et al: Atrial natriuretic peptide elevation in congestive heart failure in the human. *Science* 1986;231:1145-1147.
- Chomczynski P, Sacchi N: Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal Biochem* 1987;162(1): 156-159.
- De Bold AJ: Atrial natriuretic factor: an overview. *Fed Proc* 1986;45:3081-3085.
- Edwards SJ, Rattigan S, Colquhoun EQ, Lockwood SC, Woodcock EA, Clark MG: α_1 -Adrenergic control of contrac-
- tility and coronary flow in the perfused rat heart. *Am J Physiol* 1989;256: H334-H340.
- Kikuchi K, Nakao K, Hayashi K, et al: Ontogeny of atrial natriuretic polypeptide in the human heart. *Acta Endocrinol* 1987;115:211-217.
- Kim NN, Villarreal FJ, Printz MP, Lee AA, Dillmann WH: Trophic effects of angiotensin II on neonatal rat cardiac myocytes are mediated by cardiac fibroblasts. *Am J Physiol* 1995;269(Endocrinol Metab 32):E426-E437.
- Knowlton KU, Michel MC, Itani M, et al: The α_1 -adrenergic receptor subtype mediates biochemical, molecular, and morphologic features of cultured myocardial cell hypertrophy. *J Biol Chem* 1993;268(21):15374-15380.
- Laks MM, Morady F, Swan BA, Swan HJC: Myocardial hypertrophy produced by chronic infusion of subhypertensive doses of norepinephrine in the dog. *Chest* 1973;64:75-79.
- Lin X, Hanze J, Heese F, Sodmann R, Lang RF: Gene expression of natriuretic peptide receptors in myocardial cells. *Circ Res* 1995;77:750-758.
- Mäntymäa P, Vuolteenaho O, Marttila M, Ruskoaho H: Atrial stretch induces rapid increase in brain natriuretic peptide but not in atrial natriuretic peptide gene expression in vitro. *Endocrinology* 1993; 133(3):1470-1473.
- Matsumoto A, Hirata Y, Momomura SI, et al: Effects of exercise on plasma level of brain natriuretic peptide in congestive heart failure with and without left ventricular dysfunction. *Am*

- Heart J* 1995;129:139-145.
- Morgan HE, Baker KM: Cardiac hypertrophy. *Circulation* 1991;83(1):13-25.
- Mukoyama M, Nakao K, Saito Y, et al: Increased human brain natriuretic peptide in congestive heart failure. *N Engl J Med.* 1990;313:757-758.
- Mukoyama M, Nakao K, Hosoda K, et al: Brain natriuretic peptide as a novel cardiac hormone in humans. *J Clin Invest* 1991;87:1402-1412.
- Nagano M, Higaki J, Nakamura F, et al: Role of cardiac angiotensin II in isoproterenol-induced left ventricular hypertrophy. *Hypertension Dallas* 1992;19:708-712.
- Needleman P, Blaine EH, Greenwald JE, et al: The biochemical pharmacology of atrial peptides. *Annu Rev Toxicol* 1989; 29:23-54.
- Raine AEG, Erne P, Burgisser E, et al: Atrial natriuretic peptide and atrial pressure in patients with congestive heart failure. *N Engl J Med* 1986; 315:533-537.
- Sadoshima JI, Izumo S: Molecular characterization of angiotensin II-induced hypertrophy of cardiac myocytes and hyperplasia of cardiac fibroblasts: Critical role of the AT1 receptor subtype. *Circulation Res* 1993;73:413-423.
- Saito Y, Nakao K, Arai H, et al: Augmented expression of atrial natriuretic polypeptide gene in ventricle of human failing heart. *J Clin Invest* 1989;83:298-305.
- Schieffer B, Wirger A, Meybrunn M, 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;89:2273-2282.
- Schorb W, Peeler TC, Madigan NN, Conrad KM, Baker KM: Angiotensin II-induced protein tyrosine phosphorylation in neonatal rat cardiac fibroblasts. *J Biol Chem* 1994;269(30):19626-19632.
- Sudoh T, Kangawa K, Minamino N, Matsuo H: A new natriuretic peptide in porcine brain. *Nature* 1988;332:78-81.
- Suga S, Nakao K, Itoh H, et al: Endothelial production of C-type natriuretic peptide and its marked augmentation by transforming growth factor-B: Possible existence of "vascular natriuretic peptide system". *J Clin Invest* 1992;90: 1145-1149.
- Takemura G, Fujiwara H, Mukoyama M, et al: Expression and distribution of atrial natriuretic polypeptide in human hypertrophic ventricle of hypertensive hearts and hearts with hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation* 1991;83:181-190.
- Tateyama H, Hino J, Minamino N, Kangawa K, Ogihara T, Matsuo H: Concentrations and molecular forms of human brain natriuretic peptide in plasma. *Biochem Biophys Res Commun* 1992; 185:760-767.
- Tikkanen I, Fyrhrquist F, Metsarinne K, Leidenius R: Plasma atrial natriuretic peptide in cardiac disease and during infusion in healthy volunteers. *Lancet* 1985;2:66-69.
- Yasue H, Yoshimura M, Sumida H, et al: Localization and mechanism of secreti-

- on of B-type natriuretic peptide in comparison with those of A-type natriuretic peptide in normal subjects and patients with heart failure. *Circulation* 1994; 90:195-203.
- Yoshimura M, Yasue H, Okumura K, *et al*: Different secretion patterns of atrial natriuretic peptide and brain natriuretic peptide in patients with congestive heart failure. *Circulation* 1993;87(2) :464-469.
- Zeirhut W, Zimmer HG: Significance of myocardial α - and β -receptors in catecholamine induced cardiac hypertrophy. *Circ Res* 1989;65:1417-1425.