C11

유세포분석(Flow cytometry)에 의한 스테로이드 반응성 소아 신증후군의 호중구 Respiratory Burst 활성도 연구

인제대 부속 서울 백병원 소아과학 교실, 임상병리학 교실*
조재호, 엄태현*, 이종국

목적: 호중구 살균작용에 중요한 Respiratory Burst의 활성도측정을 통해 세균감염의 빈도가 높은 신증후군 환아에서 호중구의 Respiratory Burst 활성도 감소가 병인의 하나가 될 수 있는지 여부를 알아보고자 하였다.
대상 및 방법: 스테로이드 반응성 신증후군으로 진단받은 환아 11명을 대상으로 하였으며 재발 상태 8명, 관해 상태 6명 이었다.(이중 3명은 재발과 관해시 2번 검사 되었다) 대조군은 건강한 의대생 11명으로 하였다. 방법은 2',7'-dichlorofluoroscein diacetate(DCF-DA)가 활성화된 호중구에서 만들어지는 활성화 산소와 결합하면 자가형광을 내는 DCF로 변하는 성질을 이용해서 자가형광을 내는 호중구를 유세포분석기로 평균형광량(MFC)을 측정하여 Respiratory Burst 활성도를 나타냈다. 대상과 대조군을 동시에 검사하였으며 EDTA 전혈 300 uL에 DCF-DA 6 uL섞은후 PMA를 넣어 자극된 호중구와 완충액을 넣어 자극되지않은 호중구를 유세포분석기로 분리한후 각각에서 동시에 평균형광량을 측정하였다. 본 연구에서의 Respiratory Burst 활성도는 PMA 자극시 평균형광량과 자극안된 평균형광량과의 비(자극시평균형광량/안정시평균형광량)로 표시하여 환자군과 대조군, 신증후군환아에서 재발군과 관해군, 고콜레스테롤혈증군과 정상대조군으로 나누어 비교하였다. 고콜레스테롤혈증은 혈청 콜레스테롤 240 mg/dL이상으로 하였고 통계처리는 SAS 6.04로 Median test와 Wilcoxon signed rank test로 검증하였다.
결과: 정상 대조군과 환자군, 그리고 각군의 안정과 자극시 평균형광량과 Respiratory Burst 활성도는 표와 같다.

	Control(N=11) mean±SD	T-NS(N=11) mean±SD	RL-NS(N=8) mean±SD	RM-NS(N=6) mean±SD	H-Chol(N=10) mean±SD
Rest	61.8±65.6	85.7±80.6	98.7±92.5	46.7±6.8	111.8±88.9
PMA	278.6±166.7	259.2±141.1	245.0±160.9	239.11±102.0	245.6±148.0
RBA	5.0±2.1	4.0±2.5	3.1±2.4	5.0±1.7	2.8±2.2

T-NS: Total No. of SRNS, RL-NS: Relapsed NS, RM-NS: Remitted NS
RBA: Respiratory Burst Activity, H-Chol: Hypercholesterolemia

1) 정상대조군 RBA 5.0±2.1 와 신증후군환아 RBA 4.0±2.5 사이에 통계적 유의성 없었다.(P>0.05) 2) 신증후군 환아에서는 재발군 RBA 3.1±2.4, 관해군 5.0±1.7로 두군간에 유의한 차이가 있었다.(P<0.05) 3) 고콜레스테롤혈증군 RBA 2.8±2.2은 정상대조군의 RBA 5.0±2.1와 비교할 때 유의한 차이가 있었다.(P<0.05)
결론: 이상의 관찰에서 고콜레스테롤혈증이 호중구의 Respiratory Burst 활성도를 감소시킬수 있으며 이것이 신증후군 환아의 감염성을 높이는 인자로 작용할수 있음을 알수 있다. 재발군과 관해군의 차이도 고콜레스테롤혈증과 관련있다고 생각되지만 좀더 많은 예에서의 연구가 필요할 것이다.

C12

신혈관성 및 DOCA-salt 고혈압 혈관에서 nitric oxide synthase 및 guanylate cyclase isozyme의 변화

최기철, 김인광*, 강대길*, 안미라*, 김수완, 김남호, 이종은*, 감영준
전남대학교 의과대학 내과학교실 및 생리학교실*

고혈압은 혈관내피층 기능이상과 관련되어 있음이 잘 알려져 있으나 그 세포내 기전은 아직 확립되어 있지 않은 실정이다. Nitric oxide synthase (NOS)에는 brain NOS (bNOS), endothelial constitutive NOS (ecNOS) 및 inducible NOS (iNOS) 세 가지의 isoenzyme이 존재하지만 고혈압 상태에서 이들 효소의 변화는 비교된 바 없다. 뿐만 아니라 고혈압 때에 감약된 nitric oxide (NO) 매개 혈관이완 기전이 단순히 NO 생성감소에 의한 것인지 또는 NO 매개에 의해 생산된 이차 매개자인 cGMP 형성이 감약된 결과인지도 명확하게 밝혀지지 않았다. 또한 혈관내 cGMP 형성은 NO에 의한 soluble guanylate cyclase (sGC) 활성화이외에도 atrial natriuretic peptide (ANP)에 의한 membrane-bound particulate guanylate cyclase (mGC) 효소 활성화에 의해서도 일어나지만 고혈압 때에 이 두 가지 동위효소가 어떻게 영향받는지도 알려지지 않았다. 연구자들은 고혈압 때에 혈관 cGMP 형성과 NOS가 어떻게 변화되는가 조사함으로써 고혈압 기전을 규명하기 위하여 본연구를 시행하였다.

흰쥐에서 two-kidney, one clip (2K1C) 고혈압과 deoxycorticosterone acetate (DOCA)-salt 고혈압을 일으키고 이들에서 적출한 흉부대동맥 표본의 약물에 대한 cGMP 형성반응과 혈관내 세가지 NOS isoenzyme 발현을 조사하여 다음과 같은 결과를 얻었다. 2K1C 고혈압 흰쥐에서는 혈관표본 세포질 분획의 sodium nitroprusside (SNP)에 대한 cGMP 생성은 증감되었으며, 막분획의 ANP에 대한 cGMP 생성은 영향받지 않았다. 반면 DOCA-salt 고혈압에서는 SNP에 대한 cGMP 생성은 감약되고, ANP에 대한 cGMP 생성은 증강되었다. 2K1C 및 DOCA-salt 고혈압 흉부 대동맥 표본의 bNOS 및 ecNOS 단백 발현은 감소되며 iNOS 단백량은 변화를 보이지 않았다.

이상의 실험성적으로 미루어 보아 DOCA-salt 고혈압에서 혈관의 NOS 활성 감소 및 soluble GC에 의한 cGMP 생성감소가 고혈압병인에 관여하며, 2K1C 고혈압에서는 역시 혈관의 NOS 발현이 감소되나 고혈압의 결과로 sGC 효소 활성은 보상성 증가됨을 알 수 있었다.