

### 생쥐콩팥내 사이세포의 분류: 면역조직화학적 연구

김영희, 한기환, 김완영, 차정호, \*K.M. Madsen, 김 진  
가톨릭대학교 의과대학 해부학교실,

\*Division of Nephrology, University of Florida, Gainesville, Florida

포유동물의 신장에서 사이세포는 proton과 bicarbonate분비에 주요한 역할을 담당하는 세포로써, 연결세관(connecting tubule)과 피질집합관(cortical collecting duct), 및 바깥수질집합관(outer medullary collecting duct)의 세포 중 30-40%를 구성하고 있다. 지금까지 사이세포는 proton을 분비하는 A형 사이세포와  $\text{HCO}_3^-$ 를 분비하는 B형사이세포가 있는 것으로 알려져 있으나, 최근 면역세포화학적 및 미세구조적 특징이 기존의 두 세포와는 전혀다른 제 3형의 사이세포가 있음이 밝혀졌다. 본 교실에서는 흰쥐 콩팥에서의 이들 사이세포들의 분포에 대하여 보고한 바 있는데, 실험동물로 많이 사용하고 있는 생쥐 콩팥을 대상으로 한 본 실험에서 요세관내 사이세포의 분포양상이 흰쥐의 것과 매우 달라 그 결과를 보고하는 바이다. ICR계 생쥐(체중 20-25g) 콩팥을 periodate-lysine-paraformaldehyde로 원편 ventricle을 통해 관류고정한 다음, 50um vibratome조직절편을 제작하여 thiazide sensitive  $\text{Na}^+/\text{Cl}^-$  cotransporter (TSC)와  $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$  exchanger에 대한 항체로 포매전면염색을 시행하여 원위곱슬세관과 A형 사이세포를 우선 선택적으로 표지하였다(DAB). 그 후 이 조직에  $\text{H}^+$ -ATPase와 AQP-2에 대한 항체를 사용한 이중 또는 삼중염색을 시행, 광학현미경으로 관찰함으로써 사이세포의 종류를 세분하고 집합관의 주세포를 구분하였다. 원위곱슬세관의 late part에서 사이세포는 TSC에 양성반응을 보이는 원위곱슬세관세포들 사이사이에 소수만이 관찰되었는데, 대부분이 제 3형 사이세포(51%)거나 A형 사이세포(46%)이었으며 B형 사이세포는 3%로 극히 드물었다. 연결세관의 경우, 사이세포의 약 절반가량이 제3형 사이세포(57%)에 속하였고, A형 사이세포는 34%, B형 사이세포는 8%를 차지하고 있었다. 연결세관에서 집합관으로 이행되는 부분인 초부집합관에서는 제3형 사이세포와 A형 사이세포가 39%, B형 사이세포는 13%를 차지하고 있었으며, 피질집합관에서는 A형 사이세포(50%)가 가장 많았고, 제3형사이세포는 22%, B형 사이세포가 16%였다.  $\text{H}^+$ -ATPase를 자유면세포막 뿐 아니라 기저의측면세포막에도 갖고있는 양극성 사이세포가 관찰되었는데, 초부집합관과 피질집합관에서 약 10%를 차지하고 있었다. 이전의 흰쥐에서의 실험결과와 비교해볼 때, 흰쥐에서는 A형 및 B형 사이세포가 일반적인 유형의 사이세포인 데 반해 생쥐에서는 제 3형의 사이세포들이 주된 사이세포 형태로 존재하였다. 이들 제 3형의 사이세포의 기능에 대해서는 알려진 바가 없으나 세포의 자유면 세포막에  $\text{H}^+$ -ATPase가 있는 것으로 보아 이들이 산 분비에 관여할 것으로 생각된다.

### 성체와 발생중인 흰쥐 콩팥에서 protein kinase C의 발현

한기환, 김완영, 김영희, 차정호, 하현주\*, 김 진

가톨릭대학교 의과대학 해부학교실, 연세대학교 의과대학 약리학교실\*

세포내 신호변환뿐 아니라 발생중 성장과 분화에 중요한 역할을 하는 것으로 알려진 PKC isoform중 고전적 PKC에 속하는  $\alpha$ ,  $\beta_1$ ,  $\beta_2$  및  $\gamma$ 의 콩팥내 요세관에서 분포와 발생과정에서의 발현을 관찰하고자 하였다. 실험동물은 Sprague-Dawley계 흰쥐를 사용하였고 임신 16일, 18일 및 20일, 출생후 1일, 4일, 7일, 14일 및 21일, 그리고 성체 콩팥을 채취하여 면역조직화학적법과 immunoblotting을 시행하였다. 성체 흰쥐에서 PKC  $\alpha$ 에 대한 면역반응성은 연결세관세포와 집합관내 주세포의 기저의측세포막에서, 연결세관과 피질집합관내 사이세포는 세포질에서 강하였다. 콩팥소체, 근위세관 및 원위세관은 세포질에 약한 양성반응을 띠었다. PKC  $\beta_1$ 에 대한 면역반응성은 연결세관과 피질집합관내 사이세포에서는 강하였으나, 근위곱슬세관, 콩팥소체내 혈관사이세포와 벽쪽상피의 세포질에서는 약하였다. PKC  $\beta_2$ 에 대한 면역반응성은 원위세관, 연결세관, 집합관의 기저의측세포막에 강하게 나타났으며, 근위세관의 기저의측세포막에서는 약하였다. PKC  $\gamma$ 는 성체 흰쥐 콩팥에서는 양성반응을 관찰할 수 없었다. 발생중인 흰쥐에서 PKC  $\alpha$ 는 집합관이 될 요관씩, 그리고 근위세관원기와 원위세관원기에서 출생전에 강한 면역반응성을 보이다가 출생후 서서히 감소하였다. PKC  $\beta_1$ 은 집합관이 될 요관씩, 그리고 근위세관원기에서 출생전에 강한 면역반응성을 보이다가 출생후 감소하다가 사라졌다. PKC  $\beta_2$ 는 출생전 원위세관원기에만 선택적으로 나타났으며, 출생직후에 강한 면역반응성을 보였다. 집합관의 경우는 출생후에 면역반응성이 나타나 서서히 증가하였다. PKC  $\gamma$ 에 대한 면역반응성은 출생전후에 근위세관에서만 아주 강하게 나타나다가 점차 감소하여 사라졌다. 이 상과 같이 흰쥐 콩팥에는 전형적 PKC중  $\alpha$ ,  $\beta_1$  및  $\beta_2$ 는 성체에서 나타났으며, 발생과정에서는  $\alpha$ ,  $\beta_1$  및  $\beta_2$ 뿐 아니라  $\gamma$ 도 발현되나, isoform에 따라 요세관내 분포가 서로 다르고, 발생연령에 따라 나타나는 부위와 면역반응 정도가 다른 것으로 보아 요세관의 기능과 분화에 작용하는 부분이 서로 다를 수 있었다.