

## 사람의 혈관간세포에서 세포증식과 monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) 발현에 대한 칼슘통로차단제의 효과

가톨릭대학교 의과대학 내과학교실  
신 영신, 김 용수, 방 병기

만성신질환에서 혈관간세포의 증식과 단백질의 신조직내 침착은 초기의 중요한 소견으로 사구체경화증 및 간질섬유화증을 유발하게 된다. 이에 칼슘통로차단제가 혈관간세포의 증식을 억제하는지, 또한 신조직내 단백질 침착에 중요한 역할을 하는 MCP-1의 혈관간세포에서의 발현을 억제하는지 알아보고자 하였다. 혈관간세포의 증식에 대하여는 배양된 혈관간세포에 칼슘통로차단제인 amlodipine을 여러농도로 전처치후 thrombin으로 자극하여 [<sup>3</sup>H]thymidine incorporation 정도를 측정하였다. MCP-1 발현에 관하여는 혈관간세포를 여러농도의 amlodipine으로 전처치후 thrombin으로 24시간 자극하고 RNA를 분리하여 MCP-1 mRNA 발현을 Northern blotting으로 조사하였다.

1. Thrombin (5U/ml)은 혈관간세포의 [<sup>3</sup>H]thymidine uptake를 유의있게 증가시켰으며 ( $203 \pm 23$ cpm/well vs.  $2853 \pm 513$ cpm/well,  $p < 0.05$ ), 세포수도 유의하게 증가시켰다 ( $36.38 \pm 4.02 \times 10^3$ /well vs.  $56.48 \pm 2.19 \times 10^3$ /well,  $p < 0.01$ ).
2. Amlodipine은 thrombin에 의해 증가된 [<sup>3</sup>H]thymidine uptake를 용량 비례적으로 억제하였고 ( $4 \times 10^{-6}$ M;  $1571 \pm 101$ cpm/well,  $6 \times 10^{-6}$ M;  $730 \pm 62$ cpm/well,  $8 \times 10^{-6}$ M;  $723 \pm 142$ cpm/well,  $1 \times 10^{-5}$ M;  $591 \pm 77$ cpm/well,  $p < 0.05$ ), 세포수도 amlodipine ( $4 \times 10^{-6}$ M)에 의해 전처치시  $47.33 \pm 2.36 \times 10^3$ 개/well로 유의하게 감소되었다 ( $p < 0.05$ ).
3. Thrombin (5U/ml)은 혈관간세포의 MCP-1 mRNA 발현을 의미있게 증가시켰다.
4. Amlodipine ( $5 \times 10^{-6}$ M,  $1 \times 10^{-5}$ M,  $5 \times 10^{-5}$ M)은 thrombin에 의해 자극된 혈관간세포의 MCP-1 mRNA 발현을 용량에 비례하여 억제하였다.

이 실험의 결과 amlodipine은 thrombin에 의해 자극되는 혈관간세포 증식과 MCP-1 발현을 억제하여 여러 사구체 질환에서 유발되는 신장 손상을 지연시킬 수 있으리라 여겨진다.

## 메산지움 세포에서 Monocyte chemoattractant protein-1(MCP-1) 발현에 대한 Endothelin-1(ET-1), Endothelin-2(ET-2) 및 Endothelin-3(ET-3)의 효과

가톨릭대학교 의과대학 내과학교실  
김 용 수, 방 병 기

단핵세포 및 임파구등 면역세포들의 신조직내 침윤은 여러 사구체 및 간질성 신질환에서 초기에 나타나는 중요한 소견이나 순환 혈액내의 면역세포들이 어떤 기전에 의하여 신조직내로 이동하는지 자세히 밝혀지지 않고 있다. ET-1은 메산지움 세포에서 분비되며, 증식성 사구체신염을 유발한 쥐의 신조직에서 발현이 증가된다고 알려졌다. 증식성 사구체신염은 신조직내 면역세포의 침윤이 특징적인 질환이며, 이때 MCP-1의 발현이 증가된다고 알려져 있다. 이에 저자들은 ET-1, ET-2 및 ET-3가 신조직내 염증세포의 침윤에 관여하는지 알기위해 배양된 쥐의 메산지움 세포를 ET-1, ET-2 및 ET-3로 자극하여 MCP-1 발현에 대한 효과를 관찰하였다. 메산지움 세포에서 분비하는 monocyte chemotactic activity는 modified Boyden chamber를 이용하여 측정하였으며, 메산지움 세포에서 발현되는 MCP-1 mRNA는 Northern blot 방법으로 측정하였다. 혈청이 없는 배양액에 배양된 메산지움 세포는 기본적으로 4시간부터 72시간까지 시간에 비례하여 monocyte chemotactic activity를 분비하였으며, 이는 JE 항체에 의하여 70% 억제되었고, ET-1, ET-2 및 ET-3는  $10^{-10}$ - $10^{-7}$ M의 농도에서 용량에 비례하여 monocyte chemotactic activity를 증가시켰다. 메산지움 세포를 혈청이 없는 배양액에 배양하면서 다양한 농도의 ET-1, ET-2 및 ET-3로 24시간 자극한 후 총 RNA를 분리하여 Northern blot을 실시한 결과 ET-1( $10^{-8}$ M), ET-2( $10^{-8}$ M) 및 ET-3( $10^{-9}$ - $10^{-7}$ M)는 모두 메산지움 세포에서 MCP-1 발현을 증가시켰다.  $10^{-8}$ M 농도의 ET-1, ET-2 및 ET-3로 메산지움 세포를 1, 2, 4, 8, 12, 24 및 48시간 자극 후 분리한 RNA로 실시한 Northern blot에서 MCP-1 발현은 12-24시간에 가장 증가되었으며, 48시간에는 다시 감소되었다. 이상의 결론으로 메산지움 세포는 주로 MCP-1에 의하여 monocyte chemotactic activity를 분비하고, ET-1, ET-2 및 ET-3는 메산지움 세포에서 MCP-1 유전자 발현 및 단백질 분비를 증가시키며, 여러 신질환에서 ET-1, ET-2 및 ET-3는 MCP-1 분비를 증가시켜 면역세포의 침윤 및 활성화에 일부 관여할 것으로 사료된다.