

혈액부식개시후 단핵구세포 배양 상정액에 의한 인근위세뇨관 상피세포에서의 Fas 유전자 발현양상에 관한 연구

조상경, 윤중우, 한상엽, 이소영, 강영선, 차대룡, 조원용, 김형규
고려대학교 의과대학 내과학 교실, 신장병연구소

서론:혈액부식은 복막부식보다 더 급격한 잔여신기능의 감소를 보인다. 이는 병리적으로 잔존 네프론의 사구체 및 세뇨관간질의 경화, 위축의 진행과 관계되며 부식막의 생체부적합성등이 원인으로 거론되고 있다. 그중 활성화된 단핵구로부터 생성되는 Interleukin-1 β 및 Tumor necrosis factor- α 등은 염증성 싸이토카인으로 직접적 또는 이차적 세포손상을 일으키며혈액부식막 정복후 증가되는 것으로 보고되고 있어 말기신부전환자의 잔여신기능 감소와 관련이 있을것으로 예측된다. 저자는 혈액부식전과 개시 1개월후 환자의 단핵구에서 IL-1 β , TNF- α 의 유전자 발현 및 상정액에서 level을 관찰하고 이들 단핵구 배양액의 상정액 및 기지의 싸이트카인을 배양된 인 근위세뇨관상피세포에 주입한후 이들 상피세포에서 아포프토시스 관련 Fas유전자의 발현을 관찰하여 염증성 싸이토카인의 biological effect와 함께 부식개시후 잔여신기능 감소의 기전을 밝히고자 한다. 방법: 부식개시전과 부식개시 1개월후 환자의 혈액으로부터 단핵구를 분리하여 RNA를 추출한뒤 RT-PCR 및 부유액에서 ELISA법으로 IL-1 β 및 TNF- α 의 발현을 mRNA와 단백질수준에서 정량하였다. 인근위세뇨관 상피세포를 배양한 뒤 6-well plate에 10⁵씩 분주하고 IL-1 β , TNF- α 를 각각 20 pg/ml, 0.1ng/ml, 혈액부식개시 1개월후 분리한 단핵구 배양 부유액을 분주하여 4시간, 24시간동안 노출시킨 다음 Fas 유전자 발현을 RT-PCR법으로 정량하였다. 결과 :

1) mRNA and protein expression of IL-1 β , TNF- α in PBMC

	RT-PCR		ELISA	
	IL-1 β	TNF- α	IL-1 β	TNF- α
Prehemo	0.99 \pm 0.43	1.82 \pm 1.24	2.25 \pm 0.5	3.5 \pm 2.08
posthemo	1.13 \pm 0.14*	1.67 \pm 0.55	4.25 \pm 3.77	4.0 \pm 4.3

* p < 0.05

2) Fas mRNA expression in human proximal tubular cells

control	0.43 \pm 0.35
IL-1 β 4hr	2.23 \pm 2.12*
IL-1 β 24hr	0.91 \pm 0.31
TNF- α 4hr	0.65 \pm 0.43
TNF- α 24hr	2.7 \pm 2.35*
PBMC SN4hr	1.03 \pm 0.14
PBMC SN24hr	0.95 \pm 0.54

* p < 0.05 compared to control

결론:부식막의 생체부적합성에 의해 생성이 증가하는 IL-1 β , TNF- α 는 근위세뇨관 상피세포에서 Fas 유전자를 통해 매개되는 아포프토시스를 유발하고 이는 혈액부식개시후 잔여신기능감소의 한 기전으로 작용할 것으로 생각된다.

신장 근위세뇨관세포의 ⁴⁵Ca²⁺ uptake 에 대한 estradiol-17 β -BSA 의 효과: cAMP 및 PKC 신호전달계와의 관련성. 한호재, 이연희, 박수현, 최현주, 이산수 전남대학교 수의과대학 생리학교실, 호르몬연구센터, 광주, 500-757.

생체 내에서 estrogen 은 calcium 의 항상성 조절에 관여하며 폐경기 여성에서 estrogen 결핍으로 인한 골다공증이 다발하고 있는 것으로 보고되고 있다. 신장 근위세뇨관은 calcium 재흡수에 중요한 부위로 보고되고 있으나 estrogen 에 의한 calcium 조절기전은 아직 밝혀지지 않고 있다. 따라서 본 연구에서는 estradiol-17 β -BSA (E₂-BSA)를 이용하여 estrogen 이 non-genomic 효과를 통하여 calcium 의 조절 작용에 관여하는지를 ⁴⁵Ca²⁺ uptake 를 통해 알아보았고 이와 관련된 신호전달계를 조사해보았다.

Estradiol-17 β (10⁻⁹ M) 처리 시 ⁴⁵Ca²⁺ uptake 는 4 일까지는 대조군과 차이가 없었으나 5 일째부터는 유의성 있게 감소하였다. 그러나 E₂-BSA (10⁻⁹ M) 처리 시 ⁴⁵Ca²⁺ uptake 는 2 시간 이후부터 증가되었다. 이러한 E₂-BSA 의 작용은 tamoxifen (10⁻⁸ M, 세포내 estrogen 길항제), actinomycin D (10⁻⁷ M, 전사 억제제) 그리고 cycloheximide (4 x 10⁻⁵ M, 번역 억제제)에 의해서는 차단되지 않았으나, methoxyverapamil 또는 nifedifine (10⁻⁶ M, L type calcium channel 차단제들)에 의해서는 차단되었다. 이 결과들은 E₂-BSA 가 nongenomic 한 경로를 통하여 ⁴⁵Ca²⁺ uptake 를 증가시키며, 그 calcium 은 주로 세포의 calcium 에 의존한다는 것을 말해주고 있다. 그래서 이와 관련된 신호전달계를 알아보았다.

신장 근위세뇨관세포에 8-Br-cAMP (10⁻⁶ M) 및 TPA (0.02 ng/ μ l)를 단독처리 시 또는 이들과 E₂-BSA (10⁻⁹ M)를 병합처리 시 모든 처리군에서 ⁴⁵Ca²⁺ uptake 는 대조군에 비해 유의성 있게 증가하였다. 그러나 이러한 ⁴⁵Ca²⁺ uptake 증가는 cAMP 경로 차단제인 SQ 22536 (10⁻⁶ M, adenylate cyclase 억제제), myristoylated protein kinase A inhibitor amide 14-22 (PKI) (10⁻⁶ M, protein kinase A 억제제) 및 PLC 억제제인 U 73122 (10⁻⁶ M) 및 PKC 의 억제제인 bisindoylmaleimide I (10⁻⁶ M)의 전처리에 의해서 차단되었다. 그리고 E₂-BSA 처리 후 세포내 cAMP 의 생성과 PKC 활성이 증가되었다.

결론적으로 신장 근위세뇨관세포에서 E₂-BSA (10⁻⁹ M)는 cAMP 및 PKC 신호전달계를 통하여 ⁴⁵Ca²⁺ uptake 를 증가 시켰다.