

신 집합관의 수분 및 산 염기 대사 조절

서울대학교 의과대학 내과학교실

한 진 석

서 론

신 집합관에는 주세포(principal cell), 사이세포(intercalated cell A, B, non-A non-B)와 내수질 집합관 세포(inner medullary collecting duct cell: IMCD cell)가 있어 요농축과 산 배설(요 암모늄 생성)을 통하여 수분 및 산 염기 대사를 조절한다. 주세포와 사이세포는 연결세관(connecting tubule: CNT), 피질 집합관(cortical collecting duct: CCD), 외수질 집합관(outer medullary collecting duct: OMCD)과 기시부 내수질 집합관(initial IMCD)에서 관찰되며, IMCD 세포는 말단부 내수질 집합관(terminal IMCD)에서만 관찰된다.

주세포는 aldosterone에 의하여 활성화되는 epithelial Na channel(ENaC: amiloride sensitive Na channel)과 K channel이 있고, vasopressin에 의하여 활성화되는 수분통로(Aquaporin 2: AQP₂)가 내강면 막(apical membrane)에 있다(Fig. 1). 집합관 중 말단부 IMCD를 제외한 모든 부위에서 관찰되는 사이세포는 현재까지 A, B형과 non-A non-B형으로 알려져 있다. A형 사이 세포는 내강면 막에 H⁺-

ATPase(proton pump)와 기저외측 막에 HCO₃⁻-Cl⁻ exchanger(band 3)가 있는 전형적인 신장을 통한 산 배설 기능을 가지고 있다(Fig. 2). 이렇게 A형 세포를 통하여 요세관 내강으로 배설된 H⁺ 이온은 NH₃와 결합하여 요 암모늄을 생성(ammoniogenesis)을 한다. IMCD세포에는 vasopressin에 의하여 활성화되는 AQP₂와 urea transporter(UT)가 있어 수분과 요소를 재흡수한다(Fig. 3). 주세포나 IMCD 세포의 기저외측 막(basolateral membrane)에는 AQP₃, AQP₄가 있지만 그 조절 기전이나 기능은 아직은 명확하지 않다.

집합관의 수분대사의 조절기전과 oxytocin의 역할

주세포와 IMCD세포에서 수분 통로(water channel) AQP₂는 세포질 내에 있다가 vasopressin의 존재 하에, 단기적으로는 V₂ 수용체를 통한 adenylyl cyclase의 활성화로 내강면 막(apical membrane)으로 이동 재배치하여 수분을 운반하며, 장기적으로는 AQP₂를 생성한다. AQP₂ 매개 수분 재흡수는 신 집합관의 요농축 기능에 있어 가장 중요한 역할을 하고

Fig. 1. Principal cells of collecting duct.

Fig. 2. Intercalated cells of collecting duct.

Fig. 3. IMCD cells.

있다. 최근의 저자를 포함한 여러 연구자들은 요농축 저해가 있으면 신 집합관의 AQP₂가 감소함을 밝혔다.

그러나, vasopressin 이의 집합관의 AQP₂를 조절하는 인자는 규명된 적이 없었다. 저자는 oxytocin도 최근 vasopressin과 같은 항이뇨 효과가 있음을 증명하였고, 아울러 oxytocin의 수분 대사 조절 기전을 규명하고자 하였다.

1. oxytocin에 의한 미세 해부 백서 단일 내수질 집합관의 cAMP 생성률

용성 Sprague-Dawley 백서의 단일 내수질 집합관 (single IMCD)을 미세해부(microissection)하여 10 pM과 10nM의 vasopressin, oxytocin에 노출한 후 cAMP 생성을 관찰하였다. cAMP 생성은 호르몬에 노출이 없었던 대조군(n=6)에서 3.2 ± 0.2 fmol/mm였으나 vasopressin 10pM(n=7)에서는 48.9 ± 4.7 fmol/mm, 10nM(n=7)에서는 94.6 ± 5.3 fmol/mm로 증가하였고, oxytocin 10pM(n=6)에서는 11.3 ± 2.9 fmol/mm, 10nM(n=6)에서는 65.7 ± 6.1 fmol/mm로 증가하였다.

2. oxytocin투여 후 백서 집합관의 AQP₂의 재배치

용성 Sprague-Dawley rat을 대상으로 oxytocin 10u를 복강내 투여한 후 면역조직 화학법으로 신 조직 내 AQP₂의 분포를, immunoblot 법으로 내수질 부에서 AQP₂ 단백질의 발현을 관찰하여, 이를 생리식 염수를 주사한 대조군, vasopressin(lysine vasopressin 5u 복강내) 투여군 및 48시간 탈수군과 비교하였다.

요량은 대조군에 비하여 oxytocin 투여군에서는 차이가 없었고, 탈수군과 vasopressin 투여군에서

는 유의하게 감소하였다. 요 삼투질 농도는 oxytocin 투여군, 탈수군과 vasopressin 투여군에서 모두 대조군에 비하여 높았다. 요 cAMP 배설율은 대조군에 비하여 oxytocin 투여군과 탈수군에서 높았고, vasopressin 투여군에서는 차이가 없었다.

신조직내 AQP₂의 분포는 내수질 부에서 가장 뚜렷한 변화가 관찰되었다. AQP₂는 대조군에서 집합관 주세포의 세포질 내에 미만 성으로 염색되었고, vasopressin 투여군과 탈수군에서는 세포질 내에서 내강면 막으로 재분포하였다. Oxytocin 투여군에서는 세포질 내의 염색은 거의 소실되었고, 내강면 막과 기저외측 막의 양측 세포막에 모두 강하게 염색되어 AQP₂가 세포질 내에서 양측 세포막으로 재분포하였다. 연결 세관에서 AQP₂는 대조군에서 내강면 막과 기저 외측막 양측에 모두 염색되었고, 탈수군과 vasopressin 투여군에서 주로 내강면 막에 염색되어서 연결 세관에서도 AQP₂의 재분포가 일어남을 관찰할 수 있었다.

신장 내수질 부에서 시행한 immunoblot의 결과에서 AQP₂의 단백질량은 대조군(n=8: $100 \pm 12.7\%$)에 비하여 oxytocin 투여군(n=8: $223.5 \pm 50.1\%$)과 탈수군(n=8: $203.1 \pm 34.0\%$)에서 유의하게 증가하였고, vasopressin 투여군(n=8)에서도 $218.8 \pm 84.8\%$ 로 증가하였다.

3. 정상인과 요붕증 환자에서 oxytocin 투여후 요농축능 및 요 AQP₂의 배설의 변화

정상인 10명, 중심성 요붕증 7명 및 신성 요붕증 환자 3명에서 oxytocin 30u를 정주하고, 이를 동일한 환자에서 dDAVP 2 μg 피하주사, 탈수한 상태와 비교하였다.

옥시토신을 시간당 20mU의 속도로 지속 정주하였을 때, 정상 대조군에서 2시간 요량은 감소하였으나 유의하지 않았다. 중심성 요붕증 환자에서는 옥시토신 투여 후 2시간 요량이 유의하게 감소하였으나, 신성 요붕증 환자에서는 요량의 변화를 관찰할 수 없었다. dDAVP 2 μg을 피하 주사한 후, 2시간 동안의 요량은 정상인과 중심성 요붕증 환자에서 유의하게 감소하였으나, 신성 요붕증 환자에서는 변화를 관찰할 수 없었다. 요 오스몰 농도는 옥시토신을 투여한 후 정상인과 중심성 요붕증 환자에서 유의하게 증가하였으며, dDAVP 투여 후에도 증가하였다. 그러나, 신성 요붕증 환자에서는 옥시토신 또는 dDAVP 투여에 따른 요 오스몰 농도의 변화를 관찰할 수 없었다. 정

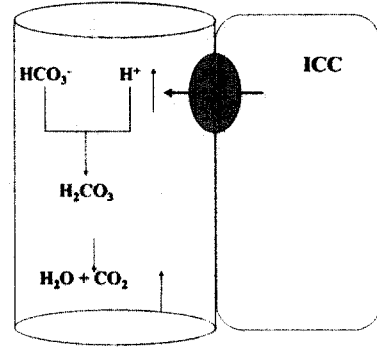


Fig. 5. Evaluation of H^+ excretion in collecting duct.

Fig. 4. Urine acidification by hydrogen excretion.

상인 8명, 중심성 요붕증 6명, 신성 요붕증 2명에서 요 AQP2의 상대적 양을 Western blot 후 density로 비교하였다. 정상인 대상 8명중 1명에서 기저치의 band가 관찰되지 않았으며, 중심성 요붕증 환자 6명중 3명에서 기저치의 band를 관찰할 수 없었다. 정상인에서 옥시토신을 투여한 후 요 AQP2의 배설율은 증가하였으며, dDAVP를 투여하거나 탈수를 시켰을 때 기저치에 비하여 증가하였다. 중심성 요붕증 환자의 요 AQP2 배설율은 옥시토신이나 dDAVP를 투여한 후에 모두 증가하였다. 그러나 신성 요붕증 환자에서는 호르몬 투여에 따른 요 AQP2 배설율의 변화가 없었다.

집합관의 산 염기 대사 조절과 원위부 신 세뇨관성 산증

A형 세포를 통하여 요세관 내강으로 배설된 H^+ 이온은 NH_3 와 결합하여 요 암모늄을 생성(ammonia-genesis)을 한다(Fig. 4). 산증이 있으면 요 암모늄 생성은 10-30배 증가하며 이는 신장의 요산성화 기능을 통한 가장 중요한 산 염기 대사 조절 기능을 한다. 한편, 기저측면 막을 통하여 혈중으로 HCO_3^- 이 재 흡수되므로 산 배설은 동량의 HCO_3^- 재 흡수(HCO_3^- reclamation)와 같게 된다. B형 사이세포는 A형과 전혀 달리 $HCO_3^- - Cl^-$ exchanger가 내강면 막에 있는 HCO_3^- 배설 기능을 하며, 알칼리증이 있을 때 활성화되는 세포이다. Non-A non-B 세포는 아직 그 본체와 기능을 정확히 알지 못하고 있어 앞으로의 연구과제로 남아 있다.

저자는 중탄산염 부하 검사를 통하여(Fig. 5) 기능적으로 A형 세포의 $H^+ - ATPase$ 결손이 의심되는 원위부 신 세뇨관성 산증 환자 11명의 신생검 조직에

서 $H^+ - ATPase$ 와 $HCO_3^- - Cl^-$ exchanger를 면역조직 화학법으로 관찰한 결과 이들 모두에서 A형 사이세포의 $H^+ - ATPase$ 와 $HCO_3^- - Cl^-$ exchanger의 결손이 있음을 증명하였다.

감사의 글

본 심포지움의 내용은 가톨릭의대 해부학 김진 교수, 김영희 박사, 경상의대 내과 전은실 교수, 가천의대 내과 주권욱 교수, 제주대의대 내과 진호준 교수, 충북의대 내과 엄재호, 김혜영 교수, 성균관의대 내과 허우성 교수, 전남의대 내과 최기철, 김수환 교수, 동국의대 생리학 권태환 교수, 지방공사 강남병원 조윤숙 선생, 서울의대 내과 나기영 선생들의 도움으로 이루어졌다. 지면을 통하여 깊은 감사를 드린다.

참고 문헌

- 1) Han JS, Maeda Y, Knepper MA: Dual action of vasopressin and oxytocin in regulation of water permeability in terminal collecting duct. *Am J Physiol* 265:26-34, 1993
- 2) Earm JH, Christensen BM, Froekiaer J, Marples D, Han JS, Knepper MA, Nielsen S: Decreased aquaporin-2 expression and apical plasma membrane delivery in kidney collecting ducts of polyuric hypercalcemic rats. *J Am Soc Nephrol* 9:2181-2193, 1998
- 3) Joo KW, Jeon US, Han JS, Ahn C, Kim S, Lee JS, Kim G-H, Cho YS, Kim YH, Kim J: Absence of $H^+ - ATPase$ in the intercalated cells of renal tissues in classic distal renal tubular acidosis. *Clin Nephrol* 49:226-231, 1998
- 4) Jeon US, Han JS, Joo KW, Kim HY, Kim G-H, Lee JS, Kim YH, Kim J, Lee SE: Does defect in

- proton pump exist in functionally diagnosed proximal and distal RTA patient?(Abstract). *J Am Soc Nephrol* 9:107A, 1998
- 5) Jeon US, Joo KW, Ahn C, Han JS, Lee JS, Kim YH, Kim J, Nielsen S, Knepper MA: Redistribution and upregulation of AQP₂ induced by oxytocin in rat kidney(Abstract). *FASEB J(Exp Biol 99)* 13:A717, 1999
 - 6) Joo KW, Jeon US, Kim YS, Ahn C, Han JS, Kim S, Lee JS: Oxytocin induces antidiuresis in patients with central diabetes insipidus(CDI)(Abstract). *J Am Soc Nephrol* 10:112A, 1999
 - 7) 나기영, 전은실, 주권욱, 허우성, 이종건, 정우경, 김강석, 김연수, 안규리, 한진석, 김성권, 이정상: Oxytocin에 의한 내수질 집합관의 cAMP 생성 및 요배설의 변화. *대한신장학회지* 19:58-63, 2000
 - 8) Kim SW, Jeon YS, Lee JU, Kang DG, Kook H, Ahn KY, Kim SZ, Cho KW, Kim NH, Han JS, Choi KC: Decreased expression and trafficking of aquaporin 2 in ischemic acute renal failure rats. *Kidney Int* 2000(in press)
 - 9) Kwon TH, Froekiaer J, Han JS, Knepper MA, Nielsen S: Decreased abundance of Na⁺ transporters in kidneys of rats with ischemia-induced acute renal failure. *Am J Physiol* 2000(in press)
 - 10) Na KY, Han JS, Joo KW, Kim HY, Kim G-H, Lee JS, Kim J, Lee SE: Secretory defect distal RTA is associated with acid-base transport defect(Abstract). *FASEB J(Exp Biol 2000)*, 2000(in press)
 - 11) Han JS, Jeon US, Joo KW, Chin HJ, Huh WS, Lee JS, Kim, G-H, Kim J, Nielsen S, Knepper MA: Oxytocin: one of the factors for regulating AQP₂ localization and urinary AQP₂ excretion. *Proced Internat'l Symposium on AQP(MIP 2000)* 2000(in press)
-