

유산염과 pH가 사람의 복막 중피 세포 기능에 미치는 영향

순천향대학교 부설 현암신장연구소, 연세대학교 의과대학 약리학교실*

김영민 · 하현주* · 유미라* · 이희발

목적: 현재 주로 사용되고 있는 상용 복막 투석액은 고농도의 포도당과 유산염을 함유한 산성의 고장성 비생리적 용액으로 이들 비생리적 성분이 각각 또는 함께 복막 세포의 기능을 변화 시켜 장기 복막 투석 환자에서 복막의 섬유화를 유발할 것으로 생각된다. 본 연구는 높은 농도의 유산염과 낮은 pH가 복막 중피 세포의 생존과 증식 그리고 세포외기질 단백질 fibronectin과 세포외기질 단백질 유발 사이토카인인 전환 성장 인자(transforming growth factor:TGF)- β 1의 단백질 표현에 미치는 영향을 관찰함으로써 투석액이 복막 섬유화에 미치는 역할과 그 기전을 검색하고자 하였다. **방법:** 제왕절개술을 받은 건강한 임산부의 복막편을 얻어 중피 세포를 분리 배양하고 2-3 회 계대 배양 후 실험에 이용하였으며 세포의 생존은 생존 세포수 측정과 lactate dehydrogenase(LDH) 유리로, 세포 증식은 thymidine incorporation으로 측정하였다. Fibronectin과 TGF- β 1의 단백질 합성은 Western blot 분석과 ELISA로 분석하였다. **성적:** (1) 복막 중피 세포의 LDH 유리는 유산염의 용량(5-40 mM)과 pH(5.5-7.4) 및 시간(24-96 시간) 의존적으로 증가하였다. 1.5 %와 4.25 % 포도당 함유 투석액 인액은 24 시간 이내에 LDH 유리를 80 %이상 증가시켰고 회색율이 증가할수록 LDH 유리가 감소하였으며, 두 용액에 의한 LDH 유리에는 정도의 차이가 없었다. (2) 유산염 20 mM에 의해서 48 시간부터 세포수의 감소를 보였고 72 시간부터는 5, 10 mM 유산염 농도에서도 세포수의 감소를 보였다. pH 5.5에서는 96 시간후에 세포수가 의미 있게 감소하였다. 4 배로 희석한 1.5 % 포도당 함유 투석액은 96 시간에 세포수를 현저하게 감소시켰다. (3) 세포 증식은 유산염 5 mM의 농도에서부터 현저하게 감소되었고, pH 5.5에서도 세포 증식이 의미 있게 감소하였다. 4 배와 8 배로 희석한 1.5 %와 4.25 % 포도당 함유 투석액도 세포 증식을 현저하게 억제하였다. (4) 복막 중피 세포의 fibronectin 단백질 생산은 유산염의 농도 의존적으로 감소하였고, pH 5.5에서도 fibronectin 단백질 생산이 감소하였다. 유산염과 낮은 pH에 의해서 TGF- β 1 단백질 감소하는 경향을 보였으나 통계적으로 의미 있는 차이는 없었다. 중탄산염이 배제된 배양액에 비해서는 유산염 5, 10 및 20 mM을 포함한 배양액에서 TGF- β 1과 fibronectin 단백질 생산이 증가한 것으로 보이나 통계적으로 의미 있는 차이는 없었다. **결론:** 본 연구의 결과로 상용 투석액과 동일한 농도의 유산염이나 낮은 pH는 사람의 복막 중피 세포의 생존과 증식을 현저하게 억제함을 알 수 있었다. 유산염과 낮은 pH 자체는 복막 중피 세포의 fibronectin 단백질 합성을 감소시켰으나 세포 사망률 조직 손상을 유발함으로써 치유 과정에서 복막 섬유화를 유발할 수 있는 원인을 제공할 수도 있을 것으로 생각된다.

복막 중피세포에서 nitric oxide가 VCAM-1의 발현에 미치는 영향: cGMP 및 NF-B의 역할

울산의대 내과학 교실

김지훈, 이미숙, 장상필, 이준승, 양원석, 이상구

목적: 복막 중피로의 염증세포 유착은 복막염의 발생에 매우 중요한 과정이며 vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) 등의 유착물질에 의해 매개되는 것으로 알려져 있다. Nitric oxide(NO)는 염증 세포의 유착을 억제하는 것으로 알려져 있으나 사람의 복막 중피세포에서 NO가 VCAM-1의 발현에 미치는 영향에 대해서는 아직 알려진 바 없다. 이에 연구자들은 NO가 VCAM-1의 발현에 미치는 영향 및 그 기전으로 cGMP 및 NF-B의 역할에 대해 알아보고자 하였다.

방법: 복막 중피세포에 NO donor인 3-morpholino-sydnnonimide (SIN-1) 혹은 nitroprusside (NP)를 미리 첨가한 후 다시 proinflammatory cytokine인 tumor necrosis factor- (TNF-)로 자극하여 VCAM-1의 발현 정도를 측정하였다. VCAM-1 mRNA 및 VCAM-1 molecule의 cell surface발현은 Northern blot analysis와 flow cytometry를 이용하였고 VCAM-1 유전자의 transcription factor로 알려진 NF-B에 NO가 미치는 영향을 알아보기 위해 electrophoretic mobility shift assay (EMSA)를 시행하였다. NO의 일반적인 작용 경로로 알려진 cGMP의존성 경로를 확인하기 위해 guanylate cyclase의 억제제인 ODQ와 cGMP의 analogue인 8-bromo-cGMP를 사용하였다.

결과: SIN-1 및 NP는 농도에 비례하여 TNF-에 의한 VCAM-1 mRNA의 발현을 억제하였으며 SIN-1은 TNF-에 의한 VCAM-1 molecule의 cell surface발현도 억제하였다. 뿐만 아니라 SIN-1 및 NP는 interleukin-1 및 lipopolysaccharide에 의한 VCAM-1 mRNA의 발현도 억제하였다. 또한 SIN-1은 EMSA에서 TNF-에 의한 NF-B binding activity의 증가를 억제하였다. 반면 8-bromo-cGMP는 TNF-에 의한 VCAM-1 mRNA의 발현을 억제하지 못했으며 ODQ 또한 SIN-1의 억제 효과에 영향을 주지 못했다.

결론: NO는 복막 중피세포에서 VCAM-1의 발현을 억제시킴으로써 복막염에서의 염증 매개 과정에 중요한 역할을 할 것으로 생각하며, 그 기전은 cGMP 비의존성 경로를 통해 NF-B의 활성화를 억제시킴으로써 작용할 것으로 생각한다.