

Gene Delivery into the Rat Renal Glomerulus using a Mesangial Cell Vector

순천향대학교 부설 현암 신장 연구소

김 성일, 김 해진, 윤 익진, 박 준혁, 이 희발

사구체 경화증의 병태생리에 대한 정확한 이해와 유전자 치료법의 개발을 위하여 혈관간세포를 전달체로 이용하는 ex vivo 유전자 전이 방법 개발을 시도하였다. 혈관간세포에 β -galactosidase 유전자를 발현하는 retrovirus를 도입하여 β -galactosidase를 과발현하는 혈관간 세포를 얻었고 이를 배양하여 29 gauge 주사 바늘을 이용하여 신동맥을 통하여 정상의 좌측 신장에 주입한 후 부위 특이적 전이 (local gene delivery)의 효율을 평가하였다. 주입된 세포의 수가 신장에 전이되는 효율을 확인하기 위하여 세포 수를 1×10^4 , 1×10^5 그리고 1×10^6 으로 달리 하였을 경우 1×10^6 세포를 주입한 경우가 가장 전이 효율이 높았으며 1×10^4 세포를 주입한 경우는 사구체로 전이된 세포가 발견되지 않았다. 주입 후 1 시간, 1, 4, 그리고 14 일 후 양쪽 신장을 각각 얻은 후 사구체를 분리하고 X-gal 을 이용하여 염색하는 방법으로 β -galactosidase 활성을 비교하였다. 세포 주입 후 1 시간과 1 일 후에는 분리된 사구체의 90 % (1 시간 후), 80 % (1 일 후) 이상이 강하게 염색되었다. 그러나 X-gal 로 염색되는 사구체 수는 시간이 경과함에 따라 감소하여 세포 주입 14 일 후에는 약 30 %의 사구체 만이 염색되었으며 염색된 정도도 약하였다. 주입된 세포의 위치를 확인하기 위하여 주입 후 14 일에 얻은 신장의 동결 절편을 X-gal 과 PAS 염색을 시도하였다. 주입된 세포들은 주로 혈관 간질, 사구체 모세혈관 그리고 근위 세뇨관의 세 부위에 위치하고 존재하였고, 특히 주입된 세포의 80 % 이상이 사구체 모세혈관에 위치하고 있었다. 혈관 간질과 근위 세뇨관에는 각각 8-9 % 정도의 세포가 위치하고 있었다. 이러한 결과는 혈관간 세포를 이용한 정상 신장으로의 ex vivo 유전자 전이 방법은 성공적이며 간편하지만 이 방법을 통한 혈관 간질로의 부위 특이적 유전자 전달을 위하여는 더 나은 전달방법이 고안되어야 할 것으로 생각된다.

D10

Decreased Nitric Oxide Synthesis in Rats with Chronic Renal Failure

Myong Yun Nah, Soo Wan Kim, Jong-Un Lee*, Yun Woong Paek*, Dae Gill Kang*,

Ki Chul Choi, Young Joon Kang

Departments of Internal Medicine and Physiology*, Chonnam National University Medical School, Kwangju, Korea

The present study was aimed at investigating whether an alteration of nitric oxide (NO) system is involved in chronic renal failure (CRF). Rats were subjected to a 5/6 nephrectomy to induce CRF, and examined 6 weeks later. Trunk blood was collected and thoracic aorta and kidney were rapidly taken. NO metabolites (NOx: NO₂ and NO₃) were determined in the plasma, urine, aorta and kidney. The expression of NO synthase (NOS) isozymes was determined in the kidney and aorta by Western blot analysis. There were significant increases in mean arterial pressure and serum creatinine levels in CRF. Urine NOx levels were decreased in CRF compared with those in the control, whereas plasma NOx levels were not different. Aorta and kidney tissue NOx levels were also decreased in CRF. The expression of endothelial constitutive (ec) and inducible (i) isoforms of NOS proteins were decreased in the kidney and aorta in CRF. Accordingly, the expression of ecNOS and iNOS mRNA was decreased in the glomeruli in CRF. In conclusion, the development of CRF is associated with decreased NOS expression and NO synthesis in the kidney and vasculature.