

Adriamycin에 의해 유도된 사구체 내피세포 Apoptosis에서 Vascular Endothelial Growth factor와 Angiopoietin-1의 Apoptosis억제효과

전북대학교 의과대학 내과학교실, 심장근재생연구단*

김 원, 문치영, 강성귀, 고규영*, 박성광

사구체신염 또는 사구체 경화에서 사구체 내피세포 손상은 신기능을 감소시키는 중요한 요인이다. 따라서 사구체내피세포 손상을 줄이거나 방지할 수 있는 물질은 진행성 신질환의 치료와 예방에 중요한 역할을 할 것이다. Angiopoietin-1(Ang1)은 Tie2에 결합하는 ligand이고 vascular endothelial growth factor (VEGF)는 VEGF-Receptors에 결합는 ligand로서 태생기에는 혈관형성에 관여하고 태생후에도 암, 동맥경화 그리고 당뇨병 등의 혈관과 관련된 질환에 관여한다. 이 연구에서는 adriamycin에 의해 유도된 사구체 내피세포 apoptosis에서 VEGF와 Ang1의 apoptosis억제효과를 알아보려고 하였다.

사구체 내피세포를 배양하여 2% fetal bovine serum(FBS)에서 배양한 세포들을 대조군으로하고 adriamycin 5 μ M에서 30분간 노출시킨후 12시간후 apoptosis정도를 관찰하였고 VEGF (10 ng/ml), Ang1(20ng/ml) 그리고 VEGF+Ang1을 같이 부여한 경우에서 apoptosis정도를 측정하였다. Phosphatidylinositol 3'-kinase 억제제인 wortmannin (30 nmol/L)과 LY294002 (100 nmol/L)을 Ang1과 같이 처리하여 apoptosis정도를 보았다.

Apoptosis가 일어난 정도는 2% FBS 세포에서는 8%, adriamycin에만 노출된 세포에서는 35%, adriamycin과 VEGF를 같이 부여하는 경우에는 25%, adriamycin과 Ang1을 같이 부여하는 경우에는 22%, adriamycin+VEGF+Ang1을 모두 부여하는 경우에 18%으로 adriamycin에 의해 유도된 사구체 내피세포 apoptotis를 억제하는 효과에서 Ang1이 VEGF보다 높았고 Ang1과 VEGF를 같이 부여하는 경우에 apoptotis를 억제하는 효과는 더 높았다.

Adriamycin에 노출된 세포에서 apoptosis가 38%일때, wortmannin과 Ang1을 같이 부여하는 경우 35%, LY294002와 Ang1을 같이부여하는 경우39%으로 Ang1이 phosphatidylinositol 3'-kinase 억제제에 anti-apoptosis 효과가 감소되는 것으로 보아 Ang1은 phosphatidylinositol 3'-kinase을 통하여 anti-apoptosis 효과를 나타내는 것으로 사료되었다.

이런 결과들을 종합하여 보면 adriamycin에 의해 유도된 사구체 내피세포 apoptosis에서 VEGF와 Ang1은 apoptotis를 억제하는 효과를 가지며 Ang1의 신호전달통로는 phosphatidylinositol 3'-kinase을 경유하는 것으로 사료되었다.

D24

급성 허혈성 신손상 백서에서 α -Melanocyte stimulating hormone이 아포토시스 및 Fas, FasL 발현에 미치는 영향에 관한 연구

고려대학교 의과대학 내과학교실, 병리학교실*신장병 연구소**

조상경, 윤종우, 차대룡, 조원용, 김형규, 원남희*, 윤수영**, 장경현**

서론 및 방법:허혈성 신손상 백서에서 아포토시스의 발생 및 역할을 규명하고 관련된 유전자중 Fas항원 및 FasL의 발현 양상을 연구하기 위해 암컷 S-D rat에서 일측 신적출후 반대편 신동맥을 40분간 결찰하여 허혈성 신손상을. 만트후 신조직에서 DNA fragmentation과 Fas, FasL 발현을 각각 TUNEL법 및 Immunoblot 분석을 이용하여 관찰하였다. 또한 최근 급성 신손상을 경감시킬수 있는 것으로 알려진 α -MSH를 투여한후 아포토시스 및 Fas, FasL 발현을 관찰함으로써 허혈성 신손상에서 아포토시스 및 Fas, FasL의 역할에 대해 연구하고자 하였다. 결과:1)허혈직후부터 투여하기 시작한 α -MSH는 40분 신동맥 결찰 허혈성 신손상 백서에서 재판류 24시간에 측정할 혈장 BUN, creatinine치가 허혈 대조군과 α -MSH군이 각각 24시간에 BUN 125.2 \pm 14.6mg/dl, 46 \pm 19.6mg/dl, creatinine 3.65 \pm 0.81mg/dl, 1.47 \pm 0.5mg/dl로 α -MSH군에서 유의하게 낮았다.2) 조직학적 scoring system 상 재판류 24시간에서 vehicle 군의 6.37 \pm 0.81에 비해 α -MSH투여군의 경우 2.63 \pm 0.88로 통계적으로 유의하게 낮았다(p=0.003).3)아포토시스는 비허혈대조군에서 40배 시야에서 평균 7.5 \pm 2.88개가 관찰되었고 재판류 4시간, 24시간에 허혈 대조군에서 각각 19 \pm 14.75, 31.6 \pm 27.6개로 증가하였으며 α -MSH 투여군에서는 재판류 4시간에 9.8 \pm 5.7개로 허혈대조군에 비해 의미있게 감소하였고 재판류 24시간에서도 α -MSH투여군에서 19.5 \pm 10.8로 감소되는 경향이었으나 통계적인 유의성은 없었다.4)Fas단백질 발현은 sham군의 1409 \pm 355.4DI (desnsitometric index)에서 허혈대조군의 경우 재판류 24시간에 2818 \pm 1100DI, 72시간에 5541.5 \pm 1597.5DI로 증가하였으며 α -MSH투여군에서는 24시간에 1306 \pm 643.4DI, 72시간에 2866.7 \pm 788.9DI로 감소하였다(p=0.069, p=0.047).5)FasL단백질 발현은 비허혈대조군의 1221 \pm 361DI에 비해 재판류 4시간, 24시간에 2589.7 \pm 146DI, 4376 \pm 464.9DI로 증가하였으며 α -MSH투여군에서 각각 1279 \pm 291.9DI, 2432 \pm 639.7DI로 유의한 감소를 보였다 (p=0.002, p=0.013).결론:이상의 결과로서 허혈성 신손상 초기 세뇨관 상피세포의 아포토시스가 상피세포사이에 세포사멸의 중요한 기전이며, 이는 상피세포에 존재하는 Fas, FasL단백 발현증가와 관련 있을것으로 생각된다. 또한 α -MSH의 신손상 경감효과는 부분적으로 이들 단백질발현을 억제함으로써 얻어지는 아포토시스의 감소와 관련있을것으로 생각된다.