D19

Cyclosporine 과 배양한 인체의 혈관간세포에서의 반응성 산소종의 발생과의 관련성과 반응성 산소종의 발생이 세포외 기질 증가에 미치는 영향

한양대학교 의과대학 내과학교실, 병리학교실*
강종명, 강경원, 채현기, 이수진,* 김현진*, 공구*

목적 : 신장이식환자에서 cyclosporine(CsA)을 장기간 투여함에 따라 신장에서는 간질의 섬유화와 사구체의 경화증이 발생하게 된다. 이와 같은 기질의 축적은 세포외 기질의 합성이나 분해 사이의 균형이 깨어지면 일어나는데, CsA 을 투여하면 기질의 합성이나 분해에 변화가 발생한다는 것이 보고되고 있다. 반응성 산소종(reactive oxygen species; ROS)은 세포외 기질의 축적에 영향을 미치는데, CsA 이 배양세포에서 ROS 를 발생시킬 수 있다는 보고가 있으나 아직은 확실하지 않다. 따라서 연자들은 CsA 이 ROS 의 발생과 연관이 있는지 확인하고 CsA 에 의해 발생한 ROS 가 배양세포에서 세포외 기질의 축적에 어떤 영향을 미치는 지 조사하고자 본 연구를 시행하였다. **방법:** 4 대에서 7 대사이의 계대 배양한 인간의 혈관간세포에 CsA 을 각각 다른 농도로(0, 2, 4, 8μ g/ml) 투여하였고, 또 다른 4μ g/ml 의 농도로 CsA 을 투여한 세포군에 항산화제인 N-acetylcysteine(NAC)을 같이 투여하였다. Flow cytometry 로 ROS 의 발생을 확인하였고, Collagen III, MMP2, TIMP2, MT1-MMP 의 m-RNA 의 발현을 RT-PCR 로 비교하였으며, zymogram 으로 MMP2 의 활성도를 측정하였다. **결과** : 실험한 세포들에서 생존율에는 변화가 없었으나 flow cytometry 에서 CsA 투여 시 ROS 발생을 확인하였다. CsA 농도증가에 따라 세포 증식이 감소하였다가 NAC 의 투여로 세포 증식의 감소가 회복되었다. MMP2, TIMP2, MT1-MMP, Collagen III 에 대한 RT-PCR 상에서는 투여농도나 NAC 투여에 따른 변화가 없었으나, zymogram 상에서 MMP2 의 활성도는 CsA 농도가 증가함에 따라 감소하였고 이는 다시 NAC 에 의해 회복되는 것을 확인할 수 있었다. **결론** : 이상의 결과에 의해 CsA 투여로 ROS 가 발생하며, 이때 발생한 ROS 가 세포의 증식을 감소시키는 원인으로 작용하였을 것으로 생각한다. 따라서 CsA 장기 투여에 따른 사구체 경화증의 한 기전으로 ROS 가 관계가 있을 것으로 생각된다.

D20

MYCOPHENOLATE MOFETIL PROTECTS AGAINST RENAL ISCHEMIA/REPERFUSION INJURY BY INHIBITING OSTEOPONTIN AND ICAM-1 EXPRESSION

SH Lee, BS Kim, CW Yang, KB Choi*, Y-S Kim, YS Chang, L Chan, BK Bang,
Department of internal medicine, The Catholic University, Ewha University of Korea*, Seoul, Korea

Mycophenolate mofetil (MMF), the morpholinoethyl ester of mycophenolic acid, inhibits de novo purine synthesis which results in decreased mannosylation of adhesion molecule, some of which play important roles in ischemia/reperfusion (I/R) injury. It has been successfully used in the prevention of renal allograft rejection. Recently, MMF has also been shown to attenuate I/R injury in an experimental model of rat heart allograft transplant. We hypothesized that MMF might attenuate renal I/R injury by inhibiting osteopontin (OPN) expression. The present study was therefore designed to examine the therapeutic implication of MMF in renal allograft transplantation. Methods: Both in vitro and in vivo models were performed and Sprague-Dawiey rats were used. In in vitro study, kidneys were canulated, harvested and flushed with cold UW solution. Inulin clearance (C_{in}) was examined one hour after cold ischemia. Results: Rats pretreated with MMF (20 mg/kg, gavage) had significantly higher C_{in} ($214\pm19\mu l$/min) than those of rats without treatment ($58\pm7\mu l$/min, n = 5, $p<0.05$). To further explore the possible mechanism of this protective effect, in vivo study was done. Rat I/R injury was made by bilateral renal pedicle clamping for 45 mins., followed by 24 hrs. of reperfusion (n = 7). Western blot analyses of osteopontin (OPN) and intercellular adhesion molecule-1(ICAM-1) were then conducted in renal cortex using monoclonal and polyclonal antibodies respectively. The results showed that both OPN and ICAM-1 were dramatically up-regulated in the renal cortex (3.8 and 2.5 times respectively compared to sham operated rats). When MF (20 mg/kg, gavage) was administrated 24hrs. prior to and 4 hrs. after renal I/R (n = 8), OPN expression was significantly attenuated by 35% and ICAM-1 expression was almost completely abolished. Conclusion: 1) MMF provides protection against I/R renal injury; 2) MMF-induced inhibition of OPN and ICAM-1 expression in the I/R injury kidney may be important in reducing the subsequent host inflammatory responses after transplantation; 3) the data provide new insight into the mechanisms through which MMF improves graft function and survival in renal transplantation .