

고농도 포도당에 의한 백서 혈관간세포내 ICAM-1 발현 양상  
박철희, 신영신, 김용수, 김석영, 최희진, 장운식, 방병기  
가톨릭 의과대학

당뇨성 신증 환자에서 신사구체내의 혈관간세포수의 증가, 세포의 기질 증가 및 염증세포의 사구체내 침윤이 초기 당뇨병성 신증의 특징적인 소견이나, 그 기전에 대해서는 잘 알려져 있지 않다. 이에 저자들은 초기 당뇨병성 신증에서 염증세포의 침윤과 관련된 세포결합단백 발현 및 혈관간세포의 증식 효과를 알아보고자 배양된 NMS2 백서 혈관간세포제를 이용하여, 혈관간세포 표면에서의 ICAM-1과 VCAM-1 단백질과 mRNA 발현 및 혈관간세포 증식 효과를 알아보았다. 또한 이와 관계되는 세포내 신호전달체계를 알아보고자 PKC 억제제, protein tyrosine kinase 억제제, 그리고 NF- $\kappa$ B 억제제를 투여하여 혈관간세포의 증식과 ICAM-1 발현 증가에 대한 반응을 관찰하였다. 정상포도당 농도(5 mM, NG), 고농도 포도당(HG; 15 mM, 15 HG; 30mM, 30 HG; 60 mM, 60 HG) 및 고농도 mannitol군(5 mM 포도당에 10 mM, 15 HM; 25 mM, 30 HM; 55 mM mannitol 추가, 60 HM)에서 배양액 농도 및 시간경과에 따른 ICAM-1과 VCAM-1 단백질 및 mRNA의 변화를 백서 혈관간세포에서 flow cytometry 및 반정량적 RT-PCR로 측정하여 양성 대조군인 TNF- $\alpha$ 와 IL-1 $\beta$ 과 비교하였다. 또한, 세포증식에 미치는 영향을 알아보기 위하여 [ $^3$ H]-thymidine DNA 용합반응을 측정한 결과, 고농도 포도당 배양액에서 정상포도당 농도 배양액에 비해 24 시간 이후 현저한 세포 증식을 나타냈으며, 72 시간에는 정상포도당 농도와 같은 정도의 세포 증식을 나타냈다( $p < 0.05$ ). 이러한 변화는 mannitol군과 친염증 cytokine 대조군에서는 관찰되지 않았다. 고농도 포도당 및 고농도 mannitol 배양액에서 ICAM-1의 세포 표면 내의 단백질 발현은 양성 정상 대조군인 TNF- $\alpha$ 와 IL-1 $\beta$ 에서와 같은 변화를 보여, 24 시간 후부터 증가하여, 24시간과 48 시간에서 각각 최고 2.6 배씩 증가되었고, 이후 72 시간 후에는 정상포도당 농도와 같은 정도로 감소하였다. 세포내 ICAM-1 mRNA의 증가는 정상포도당 농도, 고농도 포도당 및 고농도 mannitol 배양액 모두에서 6시간 이후에 증가하기 시작하여 12 시간 및 24 시간에 최고의 발현을 나타내었고, 이러한 변화는 농도 의존적으로 증가됨을 관찰하였다. 고농도 포도당에 의한 초기 혈관간세포 증식과 고농도 포도당 및 고농도 mannitol에 의한 ICAM-1 mRNA의 발현증가는 PKC 억제제인 calphostin C, staurosporine 및 NF- $\kappa$ B 억제제 N-tosyl-L-phenylalanine chloromethyl ketone에 의해 억제되었다. 그러나 VCAM-1 발현은 정상포도당 농도, 고농도 포도당 및 고농도 mannitol 모두에서 관찰되지 않았다.

결론적으로 초기 당뇨병성 신증의 발병기전에서 사구체내 혈관간세포의 세포증식은 고농도 포도당 자체의 효과이며, 염증세포 침윤에 관계되는 주된 결합단백은 ICAM-1으로 생각된다. 또한 고농도 포도당 및 고농도 mannitol에서 ICAM-1 및 ICAM-1 mRNA의 농도에 따른 발현증가는 세포내 삼투질 농도에 의한 효과로 생각된다. 한편, 고농도 포도당에 의한 혈관간세포 증식 및 삼투질 농도 증가에 의한 ICAM-1 및 ICAM-1 mRNA 발현 증가는 세포내 전달 체계중 PKC-NF $\kappa$ B 체계가 관여될 것으로 생각된다.

당뇨병으로 인한 신장 포도당 재흡수 기능 변화와 관련된 신호전달계 연구

전남대학교 수의과대학 생리학교실  
한호재, 박수현, 최현주, 윤병철

당뇨병성 신증은 당뇨병으로 인한 죽음의 주요한 원인으로 알려져 있으나 신장에서 물질 재흡수의 대부분을 담당하는 근위세뇨관세포에서의 물질운반체에 관련된 연구는 아직까지 전혀 보고되고 있지 않고 있다. 따라서 본 실험에서는 초대배양한 토끼 신장 근위세뇨관세포를 이용하여 고포도당이 포도당 운반체에 미치는 영향 및 이 작용과 관련된 신호전달계(cAMP, PKC, PLA<sub>2</sub>)를 알아보았다. 25mM(고포도당) 이상의 포도당은 대조군인 5mM(정상)의 포도당에 비해  $\alpha$ -MG uptake를 유의성 있게 억제하였으나, 같은 농도의 mannitol 및 L-glucose는 영향을 미치지 않았다. 고포도당에 의한  $\alpha$ -MG uptake억제 작용은 adenylate cyclase inhibitor인 SQ 22536 또는 protein kinase A inhibitor인 myristoylated protein kinase A inhibitor amide 14-22(PKI)에 의해 차단되었으며, PKC inhibitor인 staurosporine, H-7, 또는 bisindolylmaleimide I에 의해 완벽하게 차단되었으며, PLA<sub>2</sub> inhibitor인 mepacrine 또는 AACOCF<sub>3</sub>에 의해서도 역시 차단되었다. 더욱이 이러한 고포도당의 효과는 lipoxigenase inhibitor인 NDGA 및 cytochrome P-450 epoxygenase inhibitor인 econazole에 의해서는 영향을 받지 않았으나, cyclooxygenase inhibitor인 indomethacin 처리 시 유의성 있게 차단되었다. 실제적으로, 고포도당 처리군에서 세포질 내 cAMP 및  $^3$ H-arachidonic acid(AA) release가 증가되었으며, PKC 및 cPLA<sub>2</sub>의 세포질에서의 세포막으로의 translocation이 관찰되었다. 결론적으로 고포도당은 cAMP, PKC, 및 PLA<sub>2</sub> 신호전달계를 활성화시켜 근위세뇨관세포의 Na/glucose 공동운반체를 억제하는 것으로 나타났다.

참고문헌: Han HJ et al (2000) Kidney Int 57(3):918-926  
Han HJ et al (2000) J Cell Physiol 183(3):in press