A5

신장 근위세뇨관상피세포에서 hydrogen peroxide의 세포손상 기전.

박성민, 정현철, 곽임수, 나하연, 김용근. 부산의대 내과학교실 및 생리학교실

Superoxide, hydrogen peroxide 및 hydroxyl radical과 같은 반응성산소기들 (reactive oxygen species)이 허혈 및 여러 종류의 신독성약물에 의한 급성신부전의 병인에 관련되어 있는 것으로 알려졌으나 이들이 세포손상을 일으키는 기전에 대해서는 분명하지 않다. 반응성산소기들은 세포막에 다량 함유하고 있는 불포화지방산을 공격하여 지질의 과산화를 유발하기 때문에 많은 연구자들이 지질의 과산화를 반응성산소기의 발생으로 인한 세포손상의 간접지표로 이용하고 있다. 그렇지만 지질의 과산화가 반응성산소기에 의한 세포손상의 직접적인 원인인 지에 대해서는 이론이 많다. 따라서 본 연구에서는 신장 근위세뇨관 유래 세포주인 opossum kidney (OK) 세포에서 지질의 과산화가 반응성산소기들에 의한 세포손상의 직접적인 원인인 지를 확인하기 위하여 inorganic peroxide인 H_2O_2와 organic peroxide인 *t*-butylhydroperoxide (*t*BHP)를 이용하여 조사하였다. H_2O_2 및 *t*BHP의 독성작용는 thiols (dithiothreitol 및 glutathione), iron chelators (deferoxamine 및 phenanthroline) 및 hydroxyl radical scavengers (dimethylthiourea 및 pyruvate)에 의해 방지되었다. H_2O_2에 노출된 세포에서 지질의 과산화가 증가하였고, 이러한 증가는 항산화제들 (DPPD 및 butylated hydroxyanisole)에 의해 유의하게 억제되었으나 H_2O_2에 의한 세포사망은 영향을 받지 않았다. 그러나 *t*BHP에 의한 세포사망은 항산화제들에 의해 방지되었다. Poly (ADP-ribose) polymerase (PARP)억제제인 3-aminobenzamide는 H_2O_2에 의한 세포사망을 효과적으로 방지하였으나 *t*BHP에 의한 세포사망에는 영향을 미치지 못하였다. H_2O_2에 의한 ATP고갈은 항산화제에 의해 영향을 받지 않았으나 3-aminobenzamide에 의해서는 유의하게 방지되었고, *t*BHP에 의한 ATP고갈은 3-aminobenzamide에 의해서는 영향을 받지 않았으나 항산화제에 의해서 방지되었다. 토끼 신피질절편을 이용한 실험에서는 OK세포와는 달리 H_2O_2의 세포독성효과는 항산화제에 의해 방지되었다. 일차배양된 토끼 근위세뇨관세포에서 이들의 독성에 대한 항산화제 및 3-aminobenzamide의 방지효과는 OK세포에서와 유사하였다.

이러한 실험결과는 배양된 근위세뇨관세포에서 H_2O_2에 의한 세포사망은 지질의 과산화가 아닌 PARP활성에 의한 세포내 ATP고갈에 기인하나, *t*BHP에 의한 세포사망은 지질의 과산화가 직접적인 원인임을 가르킨다. 또한 본 실험의 결과는 배양된 세포에서 H_2O_2에 의한 세포 사망의 기전이 intact (natural) tubule에서 그것과는 다름을 암시하고 있다.

A6

Caffeine decreases the expression of Na,K-ATPase and NHE3 transporters in the kidney in rats

Jae Sung Kim, JongUn Lee, Soo Wan Kim
Chonnam National University Research Institute of Medical Sciences, Gwangju

The present study was aimed to determine the mechanisms whereby caffeine induces natriuresis and diuresis. Male Sprague-Dawley rats were treated with caffeine, consisting of a single oral bolus (0.2%, 20 mL/kg) followed by supplementation in drinking water (0.2%) for 1 day. Rats treated the same without caffeine served as control. The tissue protein expression of a1 and b1 subunits of Na, K-ATPase, and type 3 Na+/H+ exchanger (NHE3) was determined in the kidney by Western blot analysis. The enzymatic activity of Na, K-ATPase was also determined. To examine a role for atrial natriuretic peptide (ANP) and nitric oxide systems, the tissue expression of ANP mRNA and nitric oxide synthase (NOS) proteins was also determined by reverse transcription-polymerase chain reaction and Western bot analysis, respectively. Following the treatment with caffeine, the enzymatic activity of Na, K-ATPase was decreased in the kidney. Accordingly, the expression of a1 and b1 subunits of Na, K-ATPase as well as that of NHE3 was decreased. The renal ANP mRNA expression was increased by caffeine-treatment, although either the plasma level of ANP or the atrial expression of ANP mRNA was not significantly altered. The renal expression of endothelial isoform of NOS protein was increased by caffeine treatment along with increased tissue nitrite/nitrate levels. On the other hand, the expression of aquaporin-1 protein was not significantly altered. These results suggest that the reduced activity of Na, K-ATPase and NHE3 transporters accounts in part for the caffeine-induced natriuresis and diuresis. Increased renal activity of ANP and NO systems may also in part contribute to the increased sodium and water excretion.