B17

배양된 인형 근위세뇨관 상피세포(HK2 cell)에서 고농도포도당, Angiotensin II, 알부민 및 면역글로부린이 Vascular Endothelial Growth Factor(VEGF)의 생성에 미치는 효과

한상엽, 이소영, 신진호, 차대룡, 권영주, 조원용, 표희정, 김형규, 지이화*, 고려의대 내과학교실, 신장병연구소*

Vascular Endothelial Growth Factor(VEGF)는 강력히 혈관의 투과력을 증가시키고 내피세포의 증식을 유발하는 일종의 싸이토카인으로 당뇨병성 망막병증의 주요 매개체로 알려져 있다. 당뇨환자에서 관찰되는 3대 미세혈관 합병증의 기본 병태생리가 내피세포의 이상, 즉 세포의 증식 및 혈관투과도의 증가인 점을 고려할 때 VEGF는 당뇨병성 신증을 포함한 단백뇨를 수반하는 각종 신질환에서 중요한 역할을 하리라 추정된다. 그러나 현재까지 세뇨관 상피세포에서 VEGF의 생성에 관한 연구는 드문 상태로 본 연구에서는 배양액내 고포도당, 안지오텐신 II 및 단백뇨에서 관찰되는 알부민 및 면역글로부린이 배양된 근위세뇨관 상피세포에서 VEGF 생성에 미치는 효과를 알아보고자 RT-PCR기법 및 ELISA기법을 사용하여 다음과 같은 결과를 얻었다. 고농도포도당(30mM) 배양액에서 6시간과 72시간 후 VEGF mRNA 발현은 정상 포도당배양액에 비해 유의한 증가를 보였다(6시간 : 0.59±0.06 vs 0.90±0.12, p=0.01, 72시간 : 0.51±0.01 vs 0.77±0.08, p=0.031). VEGF 단백의 양은 mRNA와 유사하게 고포도당 배양액에서 증가하였으나 통계적 유의성은 없었다(72시간 : 18.39±9.19 vs 35.91±9.62 pg/10^5 cell, p>0.05). 안지오텐신 II(1μM) 투여시 VEGF mRNA 및 단백합성은 투여 6시간 및 72시간 후 모두 유의하게 증가하였다(6시간 mRNA : 0.59±0.06 vs 0.91±0.03, p=0.002, 72시간 mRNA : 0.51±0.01 vs 0.61±0.02, p<0.05, VEGF 단백 : 6시간 5.77±0.36 vs 8.93±3.28, 72시간 18.39±9.19 vs 32.21±2.84 pg/10^5 cell, p<0.05). 그러나 안지오텐신 II의 농도를 높일 경우 농도의 증가에 따른 VEGF 발현의 증가는 관찰되지 않았다. 배양액내 BSA(10μM) 첨가시 VEGF 유전자발현은 6시간 후 0.75±0.07(p=0.034), 72시간 후 0.84±0.05(p=0.012) 유의한 증가를 보였고, 단백양도 6시간 13.03±2.63 pg/10^5 cell(p=0.006), 72시간 59.99±19.27 pg/10^5 cel(p=0.019)후 유의한 증가가 관찰되었으나 BSA 농도증가에 따른 변화는 없었다. 배양액내 IgG (10μM) 첨가시에는 6, 24시간 후 유전자발현은 각각 0.83±6.06(p=0.012)와 0.96±0.09(p=0.031)으로 증가하였으나 단백분비는 24시간 후에만 16.01±1.54 pg/10^5 cel(p=0.007)로 유의한 변화가 관찰되었다. 배양액내 첨가되는 단백의 종류에 따른 VEGF 생성은 IgG가 BSA에 비해 더욱 강력하여 24시간 후 유전자발현은 0.75±0.03 vs 0.96±0.09, p<0.0001, 단백발현은 9.01±1.03 vs 16.01±1.54 pg/10^5 cel, p<0.0001로 유의하게 증가하였다. 이상의 결과로부터 세뇨관 상피세포에서도 VEGF의 합성이 일어나며, 이는 고포도당상태, 안지오텐신 II, 알부민 및 글로부린등의 단백에 의해 생성이 증가됨을 알 수 있었다.

B18

NIDDM 당뇨모델인 OLETF쥐에서 신증의 진행에 따른 Vascular Endothelial Growth Factor(VEGF)의 역할

차대룡, 이소영, 한상엽, 신진호, 권영주, 조원용, 표희정, 김형규, 김영식*, 한지영**, 지이화***, 고려의대 내과학교실, 병리학교실*, 인하의대 병리학교실**, 신장병연구소***

VEGF는 혈관내피세포의 투과력을 증진시키고 신생혈관의 생성을 촉진시킨다고 알려져 있으며, 당뇨병성 망막병증의 병인에서 중요한 역할을 하는 것으로 추정되고 있다. 신조직에서 VEGF는 정상적으로 사구체 상피세포에서 합성되며, 최근의 연구에 의하면 메산지움세포에서도 이들의 합성이 일어난다는 보고는 당뇨병성 신증의 발병기전이 미세혈관 합병증인 점을 고려할 때 VEGF가 중요한 역할을 할 가능성을 제시한다고 하겠다. 그러나 현재까지 당뇨병성 신증에서 VEGF와 단백뇨의 직접적인 인과관계는 확실치 않으며 이에 본 연구에서는 생후 약 20주 이후가 되면 자연적으로 제2형 당뇨병이 발병하는 OLETF rat를 사용하여 제2형 당뇨병에서 신증의 자연경과를 알아보고, VEGF의 변화를 관찰하여 다음의 결과를 얻었다. 당뇨군인 OLETF rat에서 생후 37주이후부터 비당뇨대조군인 LETO rat에 비해 혈당(131.5±29.08mg/dl vs 250±63.63mg/dl,p=0.028), 신장의 무게(2.61±0.01 vs 2.98±0.05mg/g BW, p=0.012), 메산지움의 용적증가(0.001±0.0001 vs 1.75±0.28, p<0.0001)와 메산지움(0.001±0.003 vs 0.50±0.40, p=0.015) 및 신세뇨관(0.001±0.003 vs 1.37±0.25, p=0.002)의 TGFβ 단백발현이 관찰되었다. 생후 55주에는 사구체경화(0.43±0.49 vs 3.00±0.01, p<0.0001) 및 국소적인 세뇨관 위축 및 간질의 섬유화가 관찰되었으나 통계적인 유의성은 없었다. 혈청 Cr은 전 실험기간동안 양군간에 유의한 차이가 없었고(0.69±0.06 vs 0.41±0.05), 24시간 소변내 총단백량(3.36±1.09 vs 6.54±2.24mg/mgCr, p=0.001), 미세단백량(18.86±4.84 vs 197.78±100.22μg/mgCr, p=0.02) 및 세뇨관 손상의 지표인 NAG(N-actyl-β-D-glucosaminidase)의 배설량(2.03±1.18 vs 43.73±7.44, p=0.001)은 생후 25주이후 부터 유의한 증가가 관찰되었다. 신조직내 Type IV collagen 및 TGFβ유전자 발현은 25주이후부터 유의한 차이가 관찰되었고, VEGF의 유전자 발현은 생후 25주경에 일시적으로 증가한 후(1.10±0.58 vs 1.02±0.07, p<0.05) 감소하는 경향을 보였다. 24시간 소변내 VEGF 배설은 통계적 유의성은 없었으나 전 실험기간 동안 OLETF rat에서 높은 경향을 보였다. 신조직에서 VEGF 단백발현은 37주까지는 당뇨군에서 사구체내 높은 경향(0.91±0.49 vs 1.5±0.57, 0=0.12)을 보이다가 55주에는 유의한 차이가 관찰되었다. 동일 개체내에서의 시간의 변화에 따른 VEGF의 변화는 특히 단백뇨 및 미세단백뇨의 상승이 최고조에 이르는 생후 25주와 유사하였다. 이상의 결과로부터 당뇨병성 신증에서 VEGF는 단백뇨 및 미세단백뇨의 발병기전에 관여하리라 추측된다.