

**Effect of epidermal growth factor on the morphogenesis of neonatal rat renal papilla.**

이승헌, 김병수, 양철우, 김용수, 방병기, \*김진, 가톨릭 대학교 의과대학 내과학 교실, \*해부학 교실

원위 콩팥 유두 형태발생에 apoptosis가 중요한 역할을 하며, 표피성장인자(epidermal growth factor, EGF)는 apoptosis 조절인자 중의 하나로 알려져 있다. 본 연구에서는 발생중인 원위 콩팥에서 EGF의 발현시기와 위치를 그리고 기능을 알아 보자 하였다. 발생과정에서 EGF의 발현시기를 관찰하기 위해서 Sprague-Dawley의 흰쥐를 임신 16일, 18일 및 20일 그리고 출생 후 1일, 4일, 7일, 14일, 21일 및 성체 (3개월)로부터 콩팥을 절제하여 EGF에 대한 광학 및 전자 현미경적 면역세포화학법을 시행하였다. EGF의 기능을 관찰하기 위해서는 출생직후부터 EGF (0.3 μg/g 체중)를 6시간 간격으로 1일 4회씩 4일간(EGF투여 4일군) 또는 7일간(EGF투여 7일군) 투여에 주사하였으며 대조군은 매체액(0.1% BSA를 포함한 PBS)를 같은 방법으로 6시간 간격으로 1일 4회 투여에 4일간(대조 4일군) 또는 7일간(대조 7일군) 주사하였다. Thick ascending limb(TAL)은 Na/K-ATPase (α1) 또는 bumetanide-sensitive Na/K/2Cl cotransporter(BSC1)로 표지하였고, 집합관내 사이세포는 band 3 protein으로 표지 하였으며, apoptosis는 TUNEL법으로, 세포증식은 PCNA로 표지 하여 관찰하였다.

1. 원위 콩팥에서 EGF의 발현
  - (1) 성체 원위에서 EGF 면역반응성은 distal tubule 중 macular densa를 제외한 TAL과 distal convoluted tubule(DCT)에 잘 국한되어 나타났고 다른 요세관에서는 관찰할 수 없었다.
  - (2) 발생중인 원위콩팥에서 EGF-양성세포가 juxtamedullary nephron의 cortical TAL에는 출생 후 3일군부터, DCT에는 7일군부터 출현하였다. 출생 후 14일부터 juxtamedullary nephron 뿐 아니라 cortical nephron의 TAL과 DCT에도 EGF-양성세포가 출현하기 시작하였다. medullary TAL에는 출생 후 14일부터 EGF가 발현되기 시작하여 21일군에서는 면역반응성이 증가하여 성체와 비슷하여졌다.
2. 출생 후 원위 콩팥에서 EGF의 영향
  - (1) EGF 투여군의 체중과 콩팥의 무게는 대조군에 비하여 감소되어 있었으며, 콩팥유두의 길이도 감소하였다.
  - (2) EGF 투여군에서 Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase(α1)-양성 TAL은 대조군과는 달리 4일군의 경우 콩팥유두의 끝 부분에서도 관찰되었으며 7일군에서는 콩팥유두 중간에서도 관찰되어 있어, TAL이 ascending thin limb으로의 transformation이 대조군에 비하여 있었다.
  - (3) band 3 protein-양성 A형 사이세포(intercalated cell)가 EGF 투여 4일군의 inner medullary collecting duct의 terminal part와 7일군의 inner medullary collecting duct 중간 및 말단부위에도 많은 A형 사이세포가 남아 있어 대조군에 비하여 A형 사이세포의 제거가 늦어짐을 알 수 있었다.
  - (4) apoptosis는 EGF투여 후 전관중인 TAL과 collecting duct에서 대조군에 비하여 감소되어 있었다.
  - (5) 세포증식은 EGF 투여 후 대조군에 비하여 감소되어 있었다.

이상의 결과를 볼 때 출생 직후 EGF 투여로 apoptosis와 세포증식이 억제되고 발생과정에서 EGF-양성세포가 세포분열이 활발한 태생 및 출생 직후에는 나타나지 않고 세포분화 시기인 출생 후 7일 이후 급격히 많아지는 것으로 보아, 콩팥 원위세관에서 생산하여 분비되는 EGF는 원위세관 이후의 상피세포 분화에 관여하리라 생각된다.

**Cisplatin Decreases the Abundance of Aquaporin Water Channels in the Kidney in Rats**

Soo Wan Kim, JongUn Lee, Myong Yun Nah, Dae Gill Kang, Ki Chul Choi

Departments of Internal Medicine and Physiology, Chonnam National University Medical School, Gwangju

The present study was aimed at examining whether the cisplatin-induced urinary concentration defect can be related to an altered regulation of aquaporin (AQP) water channels in the kidney. Male Sprague-Dawley rats were injected with cisplatin (8 mg/kg, i.p.). The control group was without cisplatin-treatment. Four days later, the expression of AQP1, AQP2, and AQP3 proteins was determined in the kidney. To further specify the primary point of derangement in the pathway activating the arginine vasopressin (AVP)-mediated AQP channels, different components of adenylyl cyclase complex were separately examined of their activities generating cAMP. The cisplatin-treatment caused a polyuric renal failure in association with decreases of free water reabsorption. The expression of AQP1 and AQP2 was decreased in the cortex, outer medulla, and inner medulla, while that of AQP3 was decreased in the outer medulla and inner medulla. The expression of AQP2 proteins in the apical membrane-enriched fraction decreased in parallel with that in the subapical vesicle-enriched fraction, indicating a preserved targeting. Immunohistochemistry of the outer medulla also revealed that cisplatin decreased immunoreactivities for AQP1, AQP2, and AQP3. The AVP-evoked generation of cAMP was attenuated by cisplatin, being most prominent in the outer medulla. On the other hand, the cAMP generation in response to forskolin was not affected, while that to sodium fluoride was significantly diminished. Cisplatin also decreased the expression of Gsα proteins in the outer medulla and inner medulla. These results suggest that a reduced expression of AQP water channels accounts at least in part for the cisplatin-induced urinary concentration defect.