

고포도당에 의한 사구체 혈관간 세포의 plasminogen activator inhibitor-1
표현 조절에 있어서 활성산소종의 역할

서지연², Zongpei Jiang¹, 하현주¹, 김유선², 이희발¹

순천향대학교 현암신장연구소¹, 연세대학교 의과대학 BK21의과학사업단²

고포도당에 의한 사구체내 세포외기질 (extracellular matrix) 축적은 당뇨병성 신증의 주된 병리 소견이다. 활성산소종 (reactive oxygen species)은 포도당의 신호전달분자로서 혈관간세포에 의한 세포외기질 축적에 관여한다. 본 연구에서는 사구체내 세포외기질 재구성에 중요한 역할을 하는 plasminogen activator (PA)/plasmin/PA inhibitor (PAI) 계에 미치는 고포도당의 영향과 그에 관여하는 활성산소종의 역할을 검색하였다. Sprague-Dawley계 흰쥐의 사구체 혈관간 세포를 배양하여 성장이 동일화된 세포를 포도당과 과산화수소를 합성하는 glucose oxidase (GO)로 지속적으로 자극하였다. 활성산소종의 역할을 검색하기 위하여 세포내 항산화제인 glutathione의 고갈을 초래하는 DL-buthionine-(S,R)-sulfoximine (BSO) 1mM로 24시간 전처리하거나 항산화제인 N-acetylcystein (NAC) 5mM, catalase 500U/ml 및 trolox 500µM로 1시간 전처리하였다. Tissue-type PA (tPA), urokinase-type PA (uPA), PAI-1 mRNA는 RT-PCR 과 Northern blot 분석으로 각 단백질의 발현은 Western blot 분석으로 측정하였다. tPA, uPA, plasmin의 활성은 효소활성으로 측정하였다. 포도당 30mM (고포도당)과 GO 10mU/ml는 투여 후 6시간부터 대조군에 비하여 PAI-1 mRNA 수준을 의미있게 증가시켜 24시간까지 지속시켰고, 단백질량은 48시간에 증가시켰다. 고포도당과 GO는 uPA mRNA 수준을 24시간에 의미있게 감소시켰으나, tPA mRNA에는 영향을 주지 않았다. 그러나 tPA, uPA 및 plasmin의 활성은 모두 고포도당과 GO에 의하여 감소하였다. 고포도당과 GO에 의해 변화하는 uPA와 PAI-1 mRNA 표현은 BSO 전처리에 의하여 더욱 증폭되었고 항산화제에 의하여 효과적으로 억제되었다. 또한 고포도당과 GO는 세포내 활성산소종 생성을 증가시켰다. 이상의 결과는 고포도당에 의한 혈관간세포의 PAI-1 상향조절에 활성산소종이 중요한 역할을 하고, PAI-1 증가가 PA와 plasmin의 활성을 억제하므로써 세포외기질의 분해를 억제하고 축적을 유발하는 한 원인이 될 수 있음을 시사하였다.

Decreases of Glomerular Ganglioside GM3 Expression in Diabetic Rats

Kyu Yong Jung,¹ Seon Ho Ahn,² Ju Hong Song,² Bong Kyu Choi,¹ and Young Kug Choo³

¹Department of Pharmacology, ²Division of Nephrology, Department of Internal Medicine, Wonkwang University School of Medicine, ³Division of Biological Science, College of Natural Sciences, Wonkwang University, Jeonbuk 570-749, Korea

Gangliosides are involved in the regulation of cell proliferation in many cell types and maintenance of the charge-selective filtration barrier of glomeruli, and changes of ganglioside expression may be important in the pathogenesis of proteinuria. Therefore, this study investigated whether glomerular hypertrophy and proteinuria induced by diabetes are associated with the change of ganglioside contents in streptozotocin-induced diabetic rats. At 15 days after the induction of diabetes, glomerular volume and fibrotic matrix were dramatically elevated, whereas glomerular sialic acid contents were significantly reduced when compared with control rats. Based upon mobility on high-performance thin-layer chromatography (HPTLC) and reactivity to anti-GM3 monoclonal antibody, diabetes caused a severe reduction of ganglioside expression. Semiquantitative analysis by HPTLC showed that ganglioside GM3 was reduced to 57% of control in diabetic glomeruli. A prominent immunofluorescence microscopy and *in situ* hybridization were the dramatic disappearance of GM3 and GM3 synthase expressions, respectively. It is concluded that glomerular hypertrophy induced by diabetes involves decreases of ganglioside, and decrease of glomerular GM3 resulted from the reduction of GM3 synthase expression. Decreases of glomerular ganglioside contents might be account, at least in part, for the development of glomerular hypertrophy and proteinuria seen in the early stage of diabetic glomerulopathy.