

흰쥐 혈청 알부민이 흰쥐 사구체 상피세포의 형태와 Heparan Sulfate Proteoglycan mRNA 발현에 미치는 영향

고철우, 조민현, 장희숙, 구자훈 경북의대 소아과학교실

미세변화신증후군의 단백질은 highly selective하여 주로 알부민으로 구성된다. 심한 알부민뇨는 사구체 상피세포에 손상을 가하며, 부종 치료를 위한 알부민 주입은 더욱 알부민뇨를 조장한다는 보고가 있다. 이에 본 연구자는 알부민이 사구체 상피세포에 미치는 직접적인 영향을 알아보려고 본 연구를 시행하였다.

흰쥐의 사구체 상피세포를 배양한 후 흰쥐 혈청 알부민(RSA)을 100 mg%, 1000 mg%로 가한 후 12 시간, 24 시간 및 72 시간에 위상차 현미경으로 상피세포의 형태를 관찰하고, total RNA를 추출하였다. 사구체 상피세포의 HSPG mRNA 발현은 mutant HSPG cDNA (mRPDI-285)를 사용하여 competitive PCR법을 시행하여 정량적으로 측정하였다.

위상차 현미경적 관찰에서 RSA 1000 mg 군에서 첨가후 12 시간부터 사구체 상피세포의 형태학적 변화가 관찰되었고, 첨가후 72 시간 후에는 사구체 상피세포가 배양용기에서 분리되었다. 대조군에서는 이러한 변화가 관찰되지 않았다. HSPG mRNA 발현은 대조군에서 RSA 첨가 후 24와 72 시간 후에 각각 54%, 67% 증가하였으나, RSA 1000 mg% 군에서는 오히려 15%, 26% 감소하였다.

요약하면 대조군에서는 시간 경과에 따라 사구체 상피세포의 HSPG mRNA 발현이 증가하였으나 신증후군시 단백질의 농도에 해당하는 RSA 1000 mg%에서는 사구체 상피세포의 HSPG mRNA 발현이 오히려 감소하고 형태학적인 변화가 초래되었다. 이는 신증후군시 단백질 자체에 의하여 사구체 상피세포의 기능적, 형태학적 변화가 초래될 수 있음을 시사한다고 할 수 있다.

사람의 mesangial cell에서 exogenous nitric oxide가 pro-inflammatory cytokine에 의한 MCP-1 발현 증가에 미치는 영향: I $\kappa$ B- $\alpha$  및 cGMP의 역할

울산의대 내과학교실: 이상구, 장재원, 양원석, 김순배, 박수길, 박정식

목적: Nitric oxide (NO)의 사구체 신염에서의 역할에 대해서는 논란이 있으나 최근 여러 실험 동물 모델에서 renal NO activity를 증진시키면 좋은 효과를 얻을 수 있음이 보고되고 있다. 하지만 아직 이에 대한 기전은 밝혀진 바가 많지 않다. Monocyte chemoattractant protein-1(MCP-1)은 사구체 손상의 유발 및 진행에 중요한 역할을 담당하는 매개물질로 알려져 있어 연구자들은 3-morpholino-sydnonimide (SIN-1) 혹은 nitroprusside (NP) 같은 exogenous NO donor가 사람의 mesangial cell에서 proinflammatory cytokine에 의한 MCP-1의 발현에 미치는 영향 및 그 signal transduction pathway를 알아보려고 하였다.

방법: Mesangial cell에 SIN-1 혹은 NP를 미리 첨가한 후 proinflammatory cytokine인 tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ , 10ng/ml)와 interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ , 1ng/ml)로 자극하였다. MCP-1 mRNA 및 단백질 발현은 Northern blot analysis와 ELISA를 이용하였고 transcriptional factor인 NF- $\kappa$ B의 binding activity와 NF- $\kappa$ B의 inhibitor protein인 I $\kappa$ B- $\alpha$ 의 변화는 electrophoretic mobility shift assay 와 Western blot 방법을 각각 이용하였다. SIN-1의 효과가 cGMP 의존성 경로를 거치는 지의 여부를 알아보기 위해 guanylate cyclase의 억제제인 ODQ와 cGMP의 analogue인 8-bromo-cGMP를 사용하였다.

결과: SIN-1은 농도에 비례하여 proinflammatory cytokine에 의한 MCP-1 mRNA의 발현 증가를 억제하였으며 (0.1-1mM) 또한 단백질 발현도 억제하였다. NP 역시 MCP-1 mRNA의 발현 증가를 억제하였다. SIN-1은 농도에 비례하여 proinflammatory cytokine에 의한 NF- $\kappa$ B의 binding activity 증가를 억제하였으며 또한 TNF- $\alpha$ 에 의한 I $\kappa$ B- $\alpha$ 의 분해를 억제하였다. Guanylate cyclase의 억제제인 ODQ는 SIN-1의 MCP-1 억제 효과에 영향을 주지 못했으며 8-bromo-cGMP 또한 TNF- $\alpha$ 에 의한 MCP-1 mRNA의 발현을 억제하지 못하였다.

결론: Exogenous NO는 cGMP 비의존성 경로를 통해 I $\kappa$ B- $\alpha$ 의 분해 억제 및 NF- $\kappa$ B의 활성화도 억제를 유발시켜 MCP-1의 발현을 억제함으로써 사구체신염의 치료에 유용할 가능성이 있을 것으로 생각한다.