A25

발생과정의 흰쥐 콩팥에서 furosemide 투여로 인한 HSP70의 발현 변화

정주영, 임선우, 김완영, 한기환, 차정호, 김 진
가톨릭대학교 의과대학 해부학교실

Heat Shock Protein (HSP)은 분자량의 크기에 따라 sHSP, HSP60, HSP70, HSP90 등으로 나누며 그 기능 또한 다양한 것으로 알려져 있다. 이들 중 대부분이 콩팥에도 존재하며 특히 HSP70은 콩팥수질에 주로 존재하여 고장성 환경과 관련이 있을 것으로 생각되나 정확한 기능에 대하여는 모르는 상태이다. 이 연구에서는 흰쥐 콩팥 발생 과정 중 furosemide를 투여하여 유발된 저장성환경에서 HSP70 발현변화를 형태학적으로 관찰하고자 하였다. 실험동물로는 Sprague-Dawly계 흰쥐를 사용하여, 임신 18일 및 20일과 출생후 1일, 4일, 7일 및 14일, 그리고 성체 흰쥐 콩팥을 사용하였고, HSP70의 조절을 관찰하기 위해서는 출생직후부터 furosemide (10mg/kg 체중)를 12시간 간격으로 1일 2회씩 4일간 (furosemide투여 4일군) 또는 7일간 (furosemide투여 7일군) 피하에 주사하였다. 콩팥은 PLP로 관류 고정한 후 포매전면역화학법을 시행하여 다음과 같은 결과를 얻었다. 성체에서의 HSP70은 주로 속수질집합관(inner medullary collecting duct, IMCD)과 헨레고리의 오름가는부분(ascending thin limb, ATL)에 국한하여 분포하였고, 다른 요세관에서는 관찰할 수 없었다. 정상 콩팥 발생과정에서 HSP70은 출생 전에는 발현되지 않았으며, 출생후 1일에 IMCD와 헨레고리의 내림가는부분(descending thin limb) 말단부위에 발현하기 시작하였으며, 4일과 7일군에서는 속수질 말단부위 뿐 아니라 중간부위의 IMCD와 ATL에 발현되었으며, 14일군에서는 바깥수질과 속수질의 경계부위까지 발현부위가 확대되어 성체와 비슷한 양상을 나타내었다. Furosemide 투여 후 4일군과 7일군에서는 HSP70 면역반응성이 현저히 감소하여 속수질의 말단부위에서만 발현하였고, 대조군에 비해 자유면 세포막에 주로 분포하였다. 이상의 결과를 요약해보면 HSP70은 성체 콩팥에서 속수질내 IMCD와 ATL에 국한하여 분포하고, 발생중인 콩팥에서는 출생 후부터 콩팥유두 끝에서 발현되기 시작하여 속수질의 성장에 따라 증가하며, 발생과정에 furosemide를 투여해 유발한 저장성 환경에 의해서는 발현이 감소하였다. 이러한 사실은 HSP70 단백질 발현이 삼투압 농도와 밀접한 관련이 있음을 시사한다고 생각한다.

A26

B형 간염 바이러스 관련 신병증의 신조직에서 pre-S/S 유전자 돌연변이에 대한 관찰

인제의대 부산백병원 소아과, 내과*, 생화학교실**
하창우, 유혁진*, 김영훈*, 박영홍**, 정우영

B형 간염 바이러스(HBV)-관련 신병증 환자를 대상으로 얻은 신조직에서 HBV의 pre-S/S 유전자의 염기서열을 분석하여 돌연변이의 빈도를 조사하고 소아와 성인사이에 돌연변이 양상의 차이를 관찰하였다. 혈청 HBsAg 양성이면서 신생검에서 HBV 관련 신병증으로 진단된 17예의 소아와 성인 환자를 대상으로 pre-S/S 유전자 영역의 PCR을 실시하여 그 산물을 직접염기서열 분석을 실시하였다.
결과: Pre-S1 부위에서는 12예(70.6%)에서 돌연변이가 관찰되었는데 점 돌연변이는 12예(100%) 모두에서 관찰되었고 Q80P(CAG→CCG)와 L112I(CTA→ATA)의 아미노산 치환을 나타내었다. 결손변이는 2예(16.7%)에서 나타났는데 1예는 27 bp(nt3149-3175)크기의 결손을, 다른 1예는 2개 위치(15 bp; nt2847-2861, 60 bp; nt3143-3202)에서 결손을 가지고 있었다. Pre-S2 부위에서는 11예(67.4%)에서 돌연변이가 관찰되었다. 점 돌연변이는 10예(90.9%)에서 관찰되었으며 4예에서 T37I(ACT→ATT)의 아미노산 치환이 나타났다. 결손변이는 3예(27.3%)에서 관찰되었는데 1예는 pre-S1 결손과 연속되는 66 bp(nt3202-3213, 1-55)의 결손을 가지고 있었고 나머지 2예에서는 각각 48 bp(nt8-55)와 60 bp(nt3208-3213, 1-54)의 결손이 검출되었다. S 유전자에서는 17예 모두에서 돌연변이가 관찰되었으나 모두 점 돌연변이였고 결손변이는 관찰되지 않았다. 이 중 "a" determinant(aa124-147)에 해당되는 3개 위치에서 I126N, T131A 및 G145R 아미노산 치환이 관찰되었다. 소아와 성인 환자에서 돌연변이를 비교한 결과 아미노산 치환이 일어나는 위치를 포함하여 빈도가 높은 돌연변이는 대부분이 소아에서 관찰되었다. 특히 pre-S1의 Q80P(4예)와 pre-S2의 T37I(4예) 및 유전자에서의 T131A는 모두 소아에서만 검출되었다. 결론: HBV-관련 신병증 환자에서HBV pre-S/S 유전자의 염기서열에 다양한 종류의 점 돌연변이와 결손변이를 관찰할 수 있었다. 그리고 소아와 성인의 비교 분석에서 돌연변이 양상에 뚜렷한 차이를 보여 주었다. 이런 차이의 임상적인 의미에 대해서는 추가 연구가 필요할 것으로 생각한다.