

**Carvedilol이 PDGF에 의한 배양된 사람 혈관평활근세포의 증식과
세포내 활성산소종 및 ERK, p38 MAPK에 미치는 영향**

박제현^{1,2}, 하현주³, 서지연^{1,2}, 한대석², 김유선^{1,2}

연세대학교 의과대학 BK21의과학사업단¹ 및 장기이식연구소², 순천향대학교 현암신장연구소³

서론: 혈관평활근세포의 증식은 장기 이식의 만성 거부반응과 동맥경화증의 발생과 진행의 중요한 기전이다. 고혈압 치료제인 carvedilol은 다양한 약리 작용을 지닌 약제이다. 특히 carvedilol이 다양한 자극에 의한 혈관평활근세포 증식을 억제함은 이 약물이 증식에 관여하는 공통 신호전달계에 작용함을 시사하는데 이는 아마도 mitogen-activated protein kinase (MAPK) 활성화를 억제하기 때문일 것이라는 보고가 있다. 그러나 아직까지 이 제제가 어떤 기전에 의해서 세포의 증식을 억제하는지에 대한 체계적인 연구는 없는 실정이다. 혈관평활근세포의 증식에는 활성산소종 (reactive oxygen species; ROS)과 MAPK 활성화가 관여하기 때문에, 본 연구는 carvedilol이 배양된 사람 혈관평활근세포의 증식과, 활성산소종, ERK 및 p38 MAPK에 미치는 영향을 검색하였다.

방법: 사람 혈관 평활근 세포는 ATCC (American type culture collection, CRL-1999)에서 구입하여 사용하였다. 세포는 유타아혈청이 함유된 10% RPMI-1640 배지를 사용하였다. 세포가 배양용기를 채웠을 때 혈청 배제 배양액으로 48시간 동안 배양하여 세포의 성장을 동일화시킨 후 PDGF-BB 10ng/ml을 사용하여 5분에서 48시간까지 자극하였고, Carvedilol은 한시간 전에 처리하였다. 세포의 증식은 [³H]thymidine-incorporation으로 측정하였다. 활성산소종은 dichlorofluorescein-diacetate(DCFH-DA)를 사용하여 FACS로 측정하였다. ERK와 p38 MAPK 활성화는 Western blot analysis로 측정된 후 densitometer를 사용하여 정량하였다. 결과는 분산분석 (ANOVA)과 Fisher's least significance difference로 분석하였다.

결과: PDGF-BB 처리 후 24시간과 48시간에 사람 혈관평활근세포의 증식은 각각 대조군의 1.7배, 1.8배 증가하였고, 5분에 활성산소종을 1.6배, ERK1/2를 2.1배, p38 MAPK를 1.9배 활성화시켰다. Carvedilol 1 μM은 혈관평활근세포의 증식을 통계적으로 억제하였고, 100nM 이상에서 활성산소종을, 10 μM에서 ERK와 p38 MAPK를 억제하였다.

결론: 본 결과는 Carvedilol이 활성산소종 및 ERK와 p38 MAPK를 억제함으로써 배양된 사람 혈관평활근세포의 증식을 억제할 수 있음을 시사한다.

Increased abundance of NHE3 and NBCn1 in kidney mTAL cells of hypokalemic rats*

Tae-Hwan Kwon

Department of Physiology, School of Medicine, Dongguk University

Hypokalemia is associated with an altered acid-base metabolism and an impaired urinary concentration. The molecular mechanisms in kidney tubules which are involved in these manifestations are not well defined. The present study was aimed to examine the changes of the several mTAL transporters which are involved in the medullary NH₄⁺ reabsorption and/or acid-base regulation in rat kidney. This was performed by semiquantitative immunoblotting and immunohistochemistry. Rats which were free access to water and K⁺-free diet for 4 days (n=8) had markedly decreased plasma K⁺ levels (2.5 0.1 vs 3.8 0.1mmol/L) and FEK (fractional excretion of potassium: 15.3 2.3 vs 31.2 1.1%), as compared to control rats (n=8). Whole blood HCO₃⁻ levels were not significantly altered: 27.4 0.2 vs 26.9 0.3 mmol/L (n.s.). Semiquantitative immunoblotting of membrane fraction from the inner stripe of the outer medulla demonstrated that Na-H exchanger NHE3 abundance was significantly increased (201 24% of control levels), whereas Na-K-2Cl cotransporter BSC-1 was markedly decreased (76 3%). Immunohistochemistry further revealed these changes in mTAL cells. The abundance of electroneutral Na-HCO₃⁻ cotransporter NBCn1 was dramatically increased in kidneys of hypokalemic rats (870 68%). Consistent with this, immunohistochemistry showed a dramatic increase of the NBCn1 labeling in the basolateral plasma membranes of the mTAL cells, whereas the basolateral labeling of the intercalated cells was unchanged. Taken together, increased expression of the NHE3 and NBCn1 in mTAL cells may be involved in the regulation of pHi levels, and reduced expression of the BSC-1 may contribute to the decreased urine concentration, in parallel with the previously observed AQP2 downregulation. Moreover, the upregulated electroneutral NBCn1 in mTAL cells could be involved in the increased NH₄⁺ reabsorption and excretion in kidneys of rats with hypokalemia.

* This study was supported by the KOSEF (2001-2-21400-001-2).