

안지오텐신 II와 고포도당이 배양된 마우스 Podocyte의 Cyclin-dependent Kinase Inhibitor의 발현에 미치는 영향

연세대학교 의과대학 내과학교실, BK의과학사업단*

박형천 · 허정호* · 이수현* · 김진주* · 정동섭*
강신욱 · 최규현 · 하성규 · 이호영 · 한대석

목적: 당뇨병성 신증의 초기 단계에서부터 족세포 (podocyte)의 손상이 관찰되며 고포도당 자극은 배양된 족세포의 비후 (hypertrophy)를 유발하는 것으로 알려져 있다. 세포의 비후는 세포주기를 조절하는 일련의 세포주기 조절단백에 의해 결정되며, 최종단계에서는 cyclin-dependent kinase inhibitor (CKI)의 작용으로 cyclin과 cyclin-dependent kinase 복합체가 억제되어 G1 phase arrest가 발생하는 것으로 보고되고 있다. 당뇨병성 신증의 병태생리도 고포도당과 세포주기 조절단백들이 관여할 것으로 알려져 있으나 아직까지 고포도당과 족세포 세포주기 조절단백들과의 상관관계에 관한 연구는 드물다. 본 연구는 고포도당 및 안지오텐신 II 자극에 의한 족세포의 CKI mRNA와 단백질 발현 변화를 관찰하고 angiotensin II receptor antagonist (ARA) 투여가 CKI 변화에 미치는 영향을 알아보고자 하였다.

방법: 마우스 족세포의 배양은 33°C의 permissive condition에서 interferon을 투여하여 세포의 증식을 유발시킨 후 37°C의 non-permissive condition에서 interferon을 첨가하지 않은 상태에서 14일간 배양하여 족세포의 분화를 유발하였다. 분화된 족세포를 포도당 농도와 약물의 농도가 각각 5.5 mM (NG), 30 mM (HG), NG+mannitol (MN, 30 mM), NG+안지오텐신 II (10-7M), NG+ARA (L-158,809, Merk, 10-6M), NG+안지오텐신 II+ARA, HG+ARA군으로 나누어 각각 7일 동안 배양하였다. 배양된 족세포에서 세포비후 여부를 관찰하기 위해 세포수와 총 단백량을 측정하였고, CKI의 mRNA와 단백질 발현 양상을 관찰하기 위해 RT-PCR과 western blot analysis를 시행하였다.

결과: 고포도당 (HG)과 안지오텐신 II로 자극한 분화된 족세포는 대조군 (NG)에 비해 유의한 세포비후가 관찰되었고 (각각 $33.3 \pm 9.2\%$, $32.4 \pm 11.2\%$, $p < 0.05$), ARA 투여는 이러한 족세포 비후를 유의하게 감소시켰다. HG와 안지오텐신 II 자극은 대조군 (NG)에 비해 CKI p27Kip1 단백질 (% of NG, HG: $196 \pm 32\%$, 안지오텐신 II: $183 \pm 31\%$, $p < 0.05$)과 p27Kip1 mRNA (ratio of p27Kip/GAPDH) 발현을 유의하게 증가시켰고, ARA 투여는 이러한 p27Kip1 단백질의 증가를 억제하였다 (각각 $29 \pm 10\%$, $43 \pm 12\%$, $p < 0.05$). 고포도당군, NG+안지오텐신 II군과 대조군 (NG) 사이에 CKI p21Cip1과 p57Kip2 단백질은 유의한 차이가 관찰되지 않았다.

결론: 고포도당과 안지오텐신 II는 배양한 마우스 족세포의 세포비후와 CKI 중의 하나인 p27Kip1 mRNA와 단백질 발현을 유의하게 증가시켰고, ARA는 고포도당과 안지오텐신 II의 이러한 작용을 효과적으로 억제하였다.