

고포도당으로 자극한 백서 메산지움 배양세포에서 자극 시간에 따른 p38 MAPK와 fibronectin의 변화

연세대학교 의과대학 내과학교실

유태현, 류동열, 이수현, 김진주, 정동섭, 최규현, 이호영, 한대석, 강신욱

배 경: 현재 말기 신부전증의 가장 많은 원인 질환인 당뇨병성 신병증은 병리학적으로 세포 비후 및 세포의 기질의 축적이 특징적인 소견이다. 이러한 병리학적 변화에는 여러 신호전달경로가 관여하는 것으로 알려져 있는데, 최근에 초기 당뇨 사구체와 고포도당으로 자극한 메산지움 배양세포에서 p38 mitogen-activated protein kinase (MAPK)의 활성이 증가되었다는 보고가 있다. 그러나, 고포도당으로 자극한 메산지움 배양세포에서 p38 MAPK의 상부인자인 MAPK kinase 3/6 (MKK3/6)나 하부인자인 c-AMP responsive element binding protein (CREB)에 관한 연구는 미미한 실정이며, 자극 시간에 따른 변화를 관찰한 연구는 거의 없는 실정이다. 이에 본 연구자 등은 고포도당으로 자극한 백서 메산지움 배양세포에서 p38 MAPK의 활성화뿐만 아니라 p38 MAPK의 상부와 하부인자로 알려져 있는 MKK3/6와 CREB의 활성화, 그리고 fibronectin의 합성을 자극 시간에 따라 관찰하였으며, fibronectin의 합성과 p38 MAPK와의 연관성을 연구하였다.

방 법: 백서 메산지움 배양세포를 정상 포도당 (5.6 mM), 고포도당 (30 mM), 또는 정상 포도당 + 만니톨 (24.4 mM)로 자극한 후 (1) p38 MAPK; (2) p38 MAPK의 상부 인자인 MKK3/6; (3) p38 MAPK의 하부인자인 CREB; (4) MAPK phosphatase-1 (MKP-1)의 변화를 자극 시간 (5 분-48 시간)에 따라 Western blot을 이용하여 관찰하였으며, (5) fibronectin의 변화는 RT-PCR과 ELISA를 이용하여 확인하였다.

결 과: 고포도당으로 자극한 백서 사구체 메산지움 배양세포에서 p38 MAPK 경로가 활성화되었다. Total p38 MAPK 단백질은 변화가 없었으나, 활성화된 phospho-p38 MAPK 단백질은 고포도당군에서 자극 30분 후부터 정상 포도당군에 비해 유의하게 증가되었으며 (평균 2.1배), phospho-CREB 단백질 역시 고포도당군에서 자극 30분 후부터 유의하게 증가되었다 (평균 1.8배). 이에 비해 p38 MAPK의 상부인자인 phospho-MKK3/6는 고포도당군에서 자극 5분 후부터 유의하게 증가되었다 (평균 1.9배). 또한, MKP-1 단백질 발현은 고포도당군에서 p38 MAPK의 활성이 증가하기 시작한 시기와 동일한 시기 (자극 30분 후)부터 증가하기 시작하였다. p38 MAPK 억제제인 SB203580 (1 μ M)은 고포도당에 의한 fibronectin mRNA와 세포 배양액내 fibronectin 증가를 각각 79%, 64% 억제시켰다.

결 론: 고포도당으로 자극한 백서 사구체 메산지움 배양세포에서 p38 MAPK 경로의 활성을 확인하였으며, p38 MAPK 억제제가 고포도당에 의한 fibronectin의 합성 증가를 억제시키는 것으로 보아 당뇨병성 신병증에서 관찰되어지는 fibronectin의 축적에 p38 MAPK 경로가 관여할 것으로 생각된다.