

## 세포배양모델을 이용한 TonEBP의 신장내 조절기전에 관한 연구

분당서울대학교병원 내과, 서울대학교병원 내과\*

나기영 · 이재욱\* · 진호준 · 주권욱\* · 김연수\* · 채동완 · 안규리\* · 한진석\* · 김성권\* · 이정상\*

**목적 :** 신장내의 높은 NaCl 농도는 신수질 (renal medulla) 세포내 이온농도를 상승시켜 세포에 유해한 효과를 미친다. 이러한 고장성 자극 (hypertonicity)에 대하여 TonEBP (tonicity-responsive enhancer binding protein)는 여러 유전자들의 전사를 조절하여 세포내에 무해한 유기용질 (compatible osmolytes)을 축적시켜 상승한 이온농도를 낮춤으로서 세포를 보호한다. 단기간의 tonicity 변화에 따른 TonEBP의 조절에 관한 연구는 있었으나 신수질처럼 장기간 고장성 환경하에서 TonEBP의 조절기전은 잘 밝혀져 있지 않다. 또 최근의 연구에 의하면 신장내 TonEBP의 조절양상은 세포실험결과와는 차이가 있는 것으로 알려지고 있다. 본 연구에서는 장기간 신장과 유사한 환경에서 배양한 세포를 이용하여 생체내 신장에서 TonEBP의 조절기전을 규명해 보고자 하였다.

**방법 :** 1) MDCK (Mardin-darby canine kidney) 세포를 단일층으로 밀집시켜 키운 후 분할시켜 각각 저장성, 등장성, 고장성배지로 옮긴 후 5 계대간 장기간 배양하였다. 2) 등장성 배지에서 밀집시켜 키운 세포에 NaCl나 요소를 첨가한 후 서서히 농도를 올려 각기 다른 조건에서 5일간 배양하였고 이 때 조건에 따라 유기용질인 betaine을 첨가하였다. 3) 고장성 배지에서 장기간 적응된 세포에 NaCl나 요소를 첨가한 후 서서히 농도를 올려 등장성 조건보다 최대 300 mM의 NaCl와 600 mM의 요소가 첨가된 조건을 만들었다. 각기 다른 조건에서 6일간 배양하였고 조건에 따라 betaine을 첨가하였다. 1-3의 조건에서 배양한 세포들을 수확한 후 Northern 분석, Western 분석, 면역형광염색을 시행하여 TonEBP와 관련 유전자들의 변화를 관찰하였다.

### 결과 :

- 1) tonicity 변화에 따른 TonEBP의 활성화 변화는 5 계대가 지나도록 장기간 지속되었다.
- 2) 고장성 자극에 의한 TonEBP 활성화 증가는 요소에 의해 감소되었다. Betaine은 TonEBP 단백질양을 감소시켰고 핵에서 세포질로 위치를 이동시켰다.
- 3) 최대의 고장성 조건하에서 요소의 TonEBP 활성화도 약화효과는 더 뚜렷하게 관찰되었고 betaine에 의한 TonEBP의 위치이동도 더 뚜렷하게 나타났다. 300 mM의 NaCl가 등장성 배지에 첨가된 경우에 SMIT (sodium myo-inositol cotransporter) mRNA의 발현은 오히려 감소하였다.

**결론 :** 장기간의 tonicity 변화에서 TonEBP는 단기간 tonicity 변화에서와 유사하게 조절되고 있다. 장기간 고장성 조건하에서 betaine과 요소는 TonEBP를 핵에서 세포질로 이동시켜 TonEBP 활성화도 와 관련 유전자들의 발현을 감소시켰다.