

## 당과 후기당화합물에 의한 사구체 상피세포 $\alpha$ -actinin-4의 변화

충북대학교 의과대학 소아과학교실, 의학연구소\*

하태선 · 송창주 · 목승희 · 이해수\* · 윤옥자\*

**목적 :** 당뇨병성 신증을 포함한 단백뇨질환에서 자주 관찰할 수 있는 사구체 상피세포 족돌기의 확장, 탈락과 소실 등의 형태학적 변화의 기전에 있어서 사구체 상피세포의 세포골격을 담당하는 F-actin과 연관된 단백질로서  $\alpha$ -actinin-4의 변화를 알아보고자 하였다.

**방법 :** 사구체 투과단위의 중요한 구성요소로서 단백질의 발생에 중요한 역할을 하는 백서 사구체 상피세포를 배양하고 여기에 고농도의 당 외에 advanced glycosylation endproducts (AGE)를 적용하여 보다 체내 병리적인 상황, 즉, 장기간의 당뇨병 환경을 설정한 뒤  $\alpha$ -actinin-4양은 western 분석으로, 분포변화는 confocal 현미경으로, 이에 대한 유전자의 표현의 변화는 RT-PCR로 관찰함으로써 AGE와 당의 사구체 상피세포에 대한 형태학적 변화의 기전을 알고자 하였다. 실험군은 배양액 속 당의 농도를 5또는 30 mM로, AGE와 BSA를 첨가하고 osmotic control로서 당 5 mM에 mannitol 25 mM을 섞은 것을 각각 A5, A30, B5, B30, Aosm로 group을 지었다.

**결과 :** Confocal microscopy로 관찰한  $\alpha$ -actinin-4는 정상 생리적인 환경인 B5에서 B30, A5, 가장 병적인 A30 환경으로 진행할수록 세포질의 바깥에서 안쪽 actin filaments 집합체로 이동하는 양상 (cytoplasmic translocation)을 보였다. Western 분석을 이용한  $\alpha$ -actinin-4 성분량을 B5 결과를 대조군으로 하여 비교하였을 때, 당을 첨가한 B30에서 22.3%의 감소를 보였고 AGE를 추가한 조건인 A5와 A30에서 각각 28.1%와 53.6%의 감소를 보였다. 즉, 고농도의 당과 함께 AGE에 의해 더욱 감소하는 양상을 보였다. 이러한 감소 소견은 osmotic control (Aosm)에서는 유의한 변화를 관찰할 수 없었다. RT-PCR을 통하여  $\alpha$ -actinin-4 mRNA의 표현양을 GAPDH mRNA의 표현양으로 교정한 후 B5의 결과에 대한 각 군의 결과를 비교하였을 때,  $\alpha$ -actinin-4의 band density는 고농도의 당을 첨가한 B30에서 10.3%의 증가와 A5에서 4.2%의 감소를 보였으나 통계학적인 의의가 없었고, A30에서 15.7%의 의의 있는 감소를 보였다. Osmotic control (Aosm)에서는 B30과 유사한 소견을 보였으나 (13.0% 증가) 통계학적인 의의는 없었다. Western 분석의 결과와 종합하면 고농도의 당 자체는  $\alpha$ -actinin-4를 단백 수준에서 감소를 일으키지만 AGE는 유전자 수준에서  $\alpha$ -actinin-4를 억제시켜 단백질의 생성감소를 초래하는 것으로 사료된다.

**결론 :** 본 연구에서 관찰할 수 있었던 고농도의 당과 AGE에 의한 사구체 상피세포의  $\alpha$ -actinin-4의 분포변화와 양의 감소로서 당뇨병 환경에서 사구체 상피세포의 형태학적 변화 기전을 설명할 수 있었으며, 추후 AGE에 의한  $\alpha$ -actinin-4의 변화 기전에 대한 연구가 필요할 것으로 사료된다.