

사람의 복막 중피세포에서 고포도당에 의한 MMP, TIMP, 그리고 Collagen의 변화

관동대학교 의과대학 내과학교실

윤 수 영

배 경 : 장기적으로 CAPD를 시행받고 있는 환자에서 발생할 수 있는 합병증 중 하나가 복막 섬유화(peritoneal fibrosis)인데, 병리학적 특징인 세포의 기질(extracellular matrix)의 축적에 대한 병태생리학적인 연구는 아직 미미한 실정이다. 당뇨병성 신병증의 경우에서도 세포의 비후와 세포의 기질의 축적이 특징적인 소견으로, 기존의 연구들에 의하면 고포도당에 의한 growth factor-induced 세포비후, 세포 외 기질의 생성 증가, 세포의 기질 단백 분해 효소의 생성 감소 등이 관여하는 것으로 알려져 있다. 이러한 기능 및 형태학적인 변화가 고포도당에 지속적으로 노출되는 복막 중피세포에서도 일어날 수 있다는 가정 하에 연구가 진행되었으며, 최근에는 고포도당이 복막 중피세포에서 protein kinase C 및 p38 mitogen-activated protein kinase 경로를 활성화시켰으며, 이 결과 TGF- β 와 fibronectin의 생성이 증가되었다는 보고가 있었다. 위에서 언급한 바와 같이 세포의 기질의 축적에는 세포의 기질의 합성 증가뿐만 아니라 세포의 기질 단백질의 분해 감소가 관여한다는 많은 연구들이 보고되고 있다. 즉, 세포의 기질의 합성 증가에 관여하는 대표적인 인자로 TGF- β , 그리고 세포의 기질의 분해에 관여하는 인자로 matrix metalloproteinases (MMPs)와 MMPs의 내부 억제제(endogenous inhibitor)인 tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs)에 관한 연구가 꾸준히 지속되고 있다. 당뇨병성 신병증의 경우 대표적인 세포의 기질인 collagen의 합성에 관여하는 인자뿐만 아니라 이의 분해에 관여하는 인자인 MMP-2와 MMP-9, 그리고 TIMP-1과 TIMP-2에 대한 연구가 많은 실정이다. 이에 반해, 복막 중피세포에서 세포의 기질 축적의 병태생리로 MMP와 TIMP를 알아본 연구는 거의 없는 실정으로, 최근에 사람의 복막 중피세포를 이용한 연구에서 TNF- α 에 의해 MMP-9 mRNA의 발현 증가와 TIMP-1 및 TIMP-2 mRNA의 발현 감소를 관찰한 연구가 유일하다 할 수 있다. 이에 본 연구자는 사람의 복막 중피세포를 이용하여 고포도당으로 자극한 후 ① collagen I의 합성, ② MMP-2와 MMP-9의 발현, ③ MMP 활성화도, 그리고 ④ TIMP-1과 TIMP-2의 발현 변화를 관찰하였다.

방 법 : 사람의 복막 중피 배양세포를 72시간 동안 정상 포도당(5.6 mM, LG)과 고포도당(30 mM, HG)으로 자극한 후 ① collagen I 합성은 ELISA; ② MMP-2와 MMP-9 mRNA와 단백질 발현은 각각 RT-PCR과 Western blot; ③ MMP 활성화도는 zymography; 그리고 ④ TIMP-1과 TIMP-2 mRNA와 단백질 발현은 RT-PCR과 Western blot을 이용하여 알아보았다.

결 과 : 세포 용해액내 collagen I 농도는 HG군에서 LG군에 비해 2.5배 높았다($p < 0.05$). 세포 용해액을 이용하여 시행한 RT-PCR과 Western blot 결과, MMP-2, MMP-9, TIMP-1, 그리고 TIMP-2 mRNA와 단백질 발현은 양군 사이에 의미있는 차이가 없었다. 반면에, 세포 배양액을 이용한 Western blot 결과, HG군에서 MMP-2와 MMP-9의 단백질 발현이 LG군의 46% ($p < 0.05$)와 79% 수준으로 감소되었으며, zymography를 이용하여 측정된 MMP 활성화 역시 HG군에서 유의하게 낮았다($p < 0.05$). 세포 배양액내 TIMP-1의 단백질 발현은 HG군에서 LG군에 비해 1.7배 증가되었던($p < 0.05$) 반면, TIMP-2의 단백질 발현은 양군 사이에 차이가 없었다.

결 론 : 고포도당에 의한 MMP 발현과 활성화의 감소 및 TIMP-1의 증가로 인한 세포의 기질인 collagen의 축적이 장기 CAPD 환자에서 복막 섬유화의 발생에 관여할 것으로 생각된다.