

후기당화합물과 고농도 당에 의한 사구체 상피세포 ZO-1의 변화

충북대학교 의과대학 소아과학교실, 의학연구소*

하태선 · 이진석 · 이해수* · 윤옥자*

목적 : Zonula occludens-1 (ZO-1)은 사구체 상피세포사이의 slit diaphragm에 분포하는 tight junction 단백질로 사구체 투과단위의 중요한 구성인 slit diaphragm과 cytoskeleton 성분인 actin을 연결시키는 역할을 하므로 사구체 투과에 매우 중요한 역할을 한다. 이에 당뇨병성 신증을 포함한 단백뇨 질환에서 자주 관찰할 수 있는 사구체 상피세포의 형태학적, 기능적 이상에 있어서 ZO-1의 변화를 생체 외 배양실험을 통하여 알아보하고자 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, ZO-1 단백질은 western 분석으로, 분포변화는 confocal 현미경으로, 이에 대한 유전자의 표현의 변화는 RT-PCR로 관찰함으로써 AGE와 당의 사구체 상피세포에 대한 투과구조의 변화기전을 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 ZO-1은 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 ZO-1의 성분량을 B5 결과를 대조군으로 하여 비교하였을 때, 당을 첨가한 B30에서 11.1%의 감소를 보였고 AGE를 추가한 조건인 A5와 A30에서 각각 2.3%와 19%의 감소를 보였으나 의미 있는 감소변화는 A30에서만 볼 수 있었다. 이러한 감소 소견은 osmotic control (Aosm)에서는 유의한 변화를 관찰할 수 없었다. RT-PCR을 통하여 ZO-1 mRNA의 표현양을 GAPDH mRNA의 표현양으로 교정한 후 B5의 결과에 대한 각 군의 결과를 비교하였을 때, ZO-1의 band density는 고농도의 당을 첨가한 B30에서 8.2%의 감소를 보였으나 통계학적인 의의가 없었고, A5와 A30에서 각각 5%와 12%의 의의 있는 감소를 보였다. Osmotic control (Aosm)에서는 유의한 변화를 관찰할 수 없었다. 즉, 고농도의 당과 AGE에 의하여 사구체 상피세포의 ZO-1의 mRNA의 표현양상의 감소와 함께 단백 수준에서 생성감소를 초래하며 분포도 세포질내로 이동하는 양상을 보였다.

결론 : AGE와 고농도의 당에 의한 사구체 상피세포의 ZO-1의 분포변화와 양의 감소로서 장기간 당뇨병환경에서 족돌기의 형태학적 변화와 투과기능의 이상을 설명할 수 있으며, 추후 AGE에 의한 ZO-1의 변화 기전에 대한 연구가 필요할 것으로 사료된다.