

## 족세포에서 고평도당과 싸이클로스포린이 세포사멸에 미치는 영향

연세대학교 의과대학 내과학교실, BK 21 의과학 사업단\*

정동섭 · 김진주\* · 광승재\* · 이금희\* · 한승혁 · 김주성 · 최훈영 · 한대석 · 강신욱

**목적** : 싸이클로스포린 (CsA)은 신이식 후 사용하는 강력한 면역억제제로 이식신 생존율을 유의하게 호전시켰다. 그러나 CsA을 장기간 사용할 경우 구심성 신소동맥 병변, 세뇨관 위축, 세뇨관-간질성 섬유화, 그리고 사구체경화증 등이 동반되는 만성 CsA 신독성이 발생하게 된다. 이러한 만성 CsA 신독성, 당뇨병성 신병증의 특징 중 하나인 족세포 수의 감소, 그리고 급성 거부반응 등에 세포사멸이 관여하는 것으로 알려져 있다. 당뇨병성 신병증에 의한 말기 신부전증 환자의 증가로 인하여 신이식을 시행받는 당뇨병 환자도 더욱 증가할 것으로 예상되나, 이들 환자에서의 이식 후 신생존율은 감염이나 급성 거부반응 등으로 인하여 비당뇨병 말기 신부전증 환자에 비하여 낮은 것으로 보고되고 있다. 이에 본 연구자들은 당뇨병 신이식 환자에서의 낮은 신생존율이 CsA와 고혈당에 의한 족세포 사멸과 관련이 있는지를 규명하고자 하였다.

**방법** : 세포 실험은 생쥐 불멸 족세포를 이용하여 시행하였다. 족세포를 33°C에서 감마인터페론이 포함된 배양액으로 계대 배양하였으며, 이후 37°C에서 감마인터페론이 없는 배양액으로 배양하면서 분화를 시켰다. 족세포의 분화를 확인한 후 우태아혈청이 없는 배양액으로 24시간 동안 배양한 다음, 5.6 mM 포도당 (NG), NG+24.4 mM 만니톨 (NG+M), NG+10<sup>-6</sup> M CsA (NG+CsA), 30 mM 포도당 (HG), 그리고 HG+10<sup>-6</sup> M CsA (HG+CsA) 배양액으로 72시간 동안 배양하였다. mRNA 발현은 real time-PCR로, 단백 발현은 Western blot로, 그리고 세포사멸은 Hoechst 33258 염색과 FACS를 이용하여 분석하였다.

**결과** : 족세포에서 Bax/Bcl-2 mRNA 발현비는 NG+CsA군과 HG+CsA군에서 NG군에 비하여 각각 2.3배, 2.8배 증가되었으며 (p<0.05), Bax/Bcl-2의 단백 발현비도 NG군에 비하여 NG+CsA군과 HG+CsA군에서 각각 1.7배, 2.2배 증가되었다 (p<0.01). Bax/Bcl-2 mRNA 및 단백 발현비가 NG+CsA군에 비하여 HG+CsA군에서 높은 경향을 보였으나, 통계학적 의의는 없었다. TGF-β mRNA 및 단백 발현도 NG군에 비하여 NG+CsA군과 HG+CsA군에서 유의있게 증가되었다 (p<0.05). 만니톨은 족세포의 Bax, Bcl-2, 그리고 TGF-β mRNA 및 단백의 발현에 영향을 미치지 않았다. Hoechst 33258 염색에 의한 사멸 세포 수는 NG군에 비하여 CsA 처치군에서 유의있게 증가되었다 (p<0.05). FACS를 이용한 분석상으로도 CsA 처치군에서 사멸 세포의 비율이 유의하게 높게 나타났으며 (p<0.01), CsA 처치군 중에서도 NG+CsA군에 비하여 HG+CsA군에서 사멸 세포의 비율이 43% 증가되었다 (p<0.05).

**결론** : 이상의 결과로, 족세포에서 CsA가 세포사멸을 증가시켰으며, CsA에 의한 세포사멸이 고평도당 조건 하에서 더 심화될 것으로 생각된다.