

실험적 당뇨 사구체 및 고포도당으로 자극한 메산지움 세포에서 p38 MAPK 억제제(FR167653)가 세포사멸에 미치는 영향

의과학 사업단¹, 연세대학교 의과대학 내과학교실²

정동섭¹ · 박승재¹ · 이금희¹ · 박제현¹ · 이순하¹ · 한승혁² · 이정은² · 김동기² · 문성진² · 한대석² · 강신욱²

The Effects of p38 MAPK Inhibitor (FR167563) on Apoptosis in Experimental Diabetic Glomeruli and Mesangial Cells Exposed to High Glucose

Dong Sub Jung¹, Seung Jae Kwak¹, Jin Ji Lee¹, Jehyun Park¹, Sun Ha Lee¹, Seung Hyeok Han²
Jung Eun Lee², Dong Ki Kim², Sung Jin Moon², Dae Suk Han², Shin-Wook Kang²

Brain Korea 21¹, Department of Internal Medicine² Yonsei University College of Medicine

배 경 : 세포사멸은 모든 다세포 기관의 정상 발달과 항상성에 필수적인 자연적 세포사로, 각종 질환의 발생과 밀접한 관련이 있으며, 이 과정에 p38 MAPK 경로가 관여하는 것으로 보고되고 있다. 신장 질환 중에서는 허혈-재관류 손상, 폐쇄성 심장 질환, 당뇨병성 신질환, 그리고 당뇨병성 신병증 등의 병태생리에 세포사멸이 관여하는 것으로 알려져 있다. 생체 내 및 생체 외 실험을 통하여 실험적 당뇨 사구체와 고포도당으로 자극한 사구체 메산지움 세포에서 세포사멸 뿐만 아니라 p38 MAPK의 활성화가 증명되었으나, 당뇨병성 신병증에서 세포사멸과 p38 MAPK 경로 사이의 직접적 연관성을 관찰한 연구는 극히 미미한 실정이다. 이에 본 연구에서는 실험적 당뇨 사구체 및 고포도당으로 자극한 메산지움 세포에서 p38 MAPK 억제제가 세포사멸에 미치는 영향을 알아보려고 하였다.

방 법 : 생체 내 실험은 Sprague-Dawley 백서 32마리를 대상으로, 대조군 (C), p38 MAPK 억제제 투여 대조군 (C+P38i), 당뇨군 (DM), 그리고 p38 MAPK 억제제 투여 당뇨군 (DM+P38i)으로 나누어 3개월 후에 24시간 소변을 채집한 다음 희생시켜 신장을 적출한 후 사구체를 분리하였다. 또한, 생체 외 실험으로는 사구체 메산지움 세포를 정상 포도당 (5.6 mM, LG), LG+mannitol (24.4 mM), LG+P38i (10⁻⁶ M), 고포도당 (30 mM, HG), 그리고 HG+P38i (10⁻⁶ M) 배양액으로 24시간 동안 처리하였다. 사구체와 메산지움 배양세포에서의 세포사멸은 Western blot을 이용한 Bax, Bcl-2, 그리고 caspase-3 단백질의 발현 분석을 통하여 측정하였다. 또한, 신장 조직 및 cover slip에 배양한 메산지움 세포를 이용한 TUNEL 분석도 시행하였다.

결 과 : 24시간 뇨단백 배설량은 DM군에서 C군에 비하여 의미있게 증가되었으며, p38 MAPK 억제제 투여로 DM군에서 단백뇨가 유의하게 감소되었다 (C, 0.40±0.06; DM, 1.99±0.22; DM+P38i, 0.91±0.13 mg/day, p<0.05). C군에 비하여 DM군 사구체에서 Bax와 caspase-3의 단백질 발현이 각각 78%, 123% 증가되었으며 (p<0.05), p38 MAPK 억제제 투여가 DM군에서의 Bax와 caspase-3 단백질의 발현 증가를 유의있게 억제시켰다 (p<0.05). 반면에, DM 사구체에서 Bcl-2의 단백질 발현은 C군에 비하여 47% 감소되었으며 (p<0.05), 이러한 발현 감소는 p38 MAPK 억제제 투여로 의미있게 억제되었다 (p<0.05). HG로 자극한 메산지움 세포에서도 Bax와 caspase-3의 단백질 발현은 증가되었으며, 이러한 발현 증가는 p38 MAPK 억제제 처리에 의하여 억제되었다. TUNEL 분석상 세포사멸이 동반된 세포수도 DM 사구체 및 HG 세포에서 유의하게 증가되었으며, p38 MAPK 억제제 투여로 인하여 세포사멸이 유의있게 감소되었다 (p<0.05).

결 론 : 이상의 결과로, p38 MAPK 경로가 당뇨 조건 하에서의 메산지움 세포사멸과 직접적인 관련이 있으며, p38 MAPK 억제제가 당뇨병성 신병증의 치료에 도움이 될 것으로 생각된다.