

흰쥐 신장에서 kNBC1의 조절인자 연구

전남대학교 의과대학 해부학교실

이창배 · 조혜정 · 이지연 · 이송은 · 안규윤

Regulatory Factor of kNBC1 in Rat Kidney

Lee Chang Bae, Cho Hye Jung, Lee Ji Youn, Lee Song Eun and Ahn Kyu Youn

Department of Anatomy, Chonnam National University Medical School

목적 : 본 연구는 칼륨 제한식에 따른 흰쥐 신장조직에서 얻어진 **microarray data**를 바탕으로 **Nrf2** 전사인자를 찾아내고, 이 유전자가 **kNBC1**의 유전자를 어떻게 조절하는지를 구명하고자 한 것이다.

방법 : 정상 식이 흰쥐 조직에서 **Nrf2 mRNA**발현은 **Northern** 분석과 **in situ Hybridization** 조직화학실험으로, 칼륨제한 식이 시기에 따른 흰쥐 신장의 **Nrf2 mRNA**와 단백질 발현 변화를 **RT-PCR**, **Northern** 및 **Western** 분석으로, 그리고 **ex vivo CV-1** 세포배양 실험을 통해 **luciferase**값을 측정하여 **promoter**의 반응성을 비교하였다.

결과 : **Northern** 분석을 통한 **Nrf2 mRNA**의 조직내 발현은 위에서 강한 **signal**을 관찰할 수 있었고 고환, 신장, 큰창자, 십이지장, 부신에서는 중등도의 발현을 보였으며 뇌, 심장, 비장, 침샘, 간 및 폐에서는 미약하였다. **in situ Hybridization** 조직화학소견상 신장에서의 **Nrf2** 유전자의 발현은 결질의 **S3 segment**, 먼쪽곱슬세관 및 결질집합관에서만 관찰되었고, 수질에서는 관찰할 수 없었다. 위와 큰창자에서는 아래 **1/2**의 장선에서만 관찰되었고, 고환에서는 정세관의 기저부 정조세포에서 관찰되었다. 비장에서는 종중심의 작은 림파구에서 발현되었고, 부신에서는 속질세포에서만 발현되었고 피질에서는 발현되지 않았다. 폐에서는 거의 발현이 되지 않았다. 칼륨제한 식이 시기에 따른 흰쥐 신장의 **Nrf2 mRNA**와 단백질 발현 변화는 칼륨제한 식이가 진행될수록 점진적으로 증가하는 것을 알 수 있었다. 칼륨 농도 및 시간에 따른 **CV-1** 세포의 **Nrf2**의 발현 변화는 농도 및 시간에 의존하여 증가하였고, 이는 저칼륨 배양조건에서 **luciferase** 값을 측정한 결과와 유사하였다. 또한 저칼륨 상태에서 증가한 **luciferase** 값이 **Nrf2 dominant-negative**를 처리하였을 때는 다시 감소하였다. 정상 조건에서 **Nrf2**, **Sp1** 및 **co-transfection**을 통한 **promoter**의 반응성은 **Nrf2**의 **transfection** 양이 증가할수록 **kNBC1**의 **luciferase** 값은 증가하였고, **Sp1**에서도 동일하였다. 또한 두 **effect molecule**의 **co-transfection**에 따른 **kNBC1 promoter**의 반응성은 각각 **transfection**하는 것에 비해 **luciferase** 값이 높게 나타났다.

결론 : 이상의 결과로 **Nrf2**와 **Sp1**이 상호작용을 통하여 **kNBC1**의 발현을 조절할 것으로 생각되며, 앞으로 **Nrf2**와 **Sp1**이 서로 결합하여 **ion transporter promoter**의 특정 부위를 조절하는지 아니면 각각의 결합부위에서 개별적으로 조절하는지를 구명해야 할 것이다.

Key Words : 저칼륨, **Nrf2**, Na/HCO_3^- , Cotransporter

Low K, **Nrf2**, Na/HCO_3^- , Cotransporter