

당뇨병성 신증의 손상기전에서 메산지움 세포의 역할

고려대학교 의과대학 신장내과

강 영 선

The Role of Mesangial Cell Injury in Diabetic Nephropathy

Young Sun Kang

Department of Nephrology, Korea University Medical Center, Ansan Hospital, Ansan, Korea

당뇨병성 신증은 말기 신부전의 주요 원인으로 그 비중이 점차 커지면서 당뇨병성 신손상의 진행을 늦추고자 하는 많은 노력이 이뤄지고 있다. 1950년대 후반 당뇨병성 신증의 병리소견과 임상소견에 대한 관찰이 이뤄진 이후 최근까지 당뇨병성 신증의 병리 소견을 분류하고자 하는 시도들이 있었는데 이는 병리의사와 임상사간의 원활한 의사소통을 통하여 치료방침 결정 혹은 예후를 결정하는데 중요하다 (Table 1). 당뇨병성 신증의 병리소견은 신사구체와 세뇨관간질, 혈관등에서 전반적으로 나타나며 전형적인 또는 비전형적인 형태를 보인다. 특히 사구체 병변에 대한 분류에서는 class II에서 메산지움 확장과 증식 부분을 확인할 수 있는데 이는 현미경으로 관찰할 수 있는 비교적 초기 병변이다.

메산지움은 메산지움 세포와 기질로 이루어져서 신사구체를 구조적으로 지지하는 중심역할을 한다. 메산지움 세포는 메산지움 기질의 성분과 조절을 하는 한편 족세포와 혈관내피세포와 긴밀하게 상호작용하여 사구체 혈류량을 조절하여 한외여과를 결정하는 중요한 역할을 하고 있다 (Fig. 1). 최근에는 메산지움 세포가 메산지움 생성과 증식에 관여하는 물질들은 분비하여 조절하면서 면역학적 기전에도 관여하여 여러 가지 면역 물질들을 생성하고 이들의 수용체도 존재한다는 사실이 알려졌다. 과거 20년 이상 당뇨병성 신손상의 기전에서 메산지움 세포의 역할에 대한 무수히 많은 연구들이 발표되어서 나열하기 어려울 정도이다. 최근에는 어떤 세포에 특이적인 단백물질을 knockout 하는 유전자 조작 기법들이 발달하면서 세포배양 실험과 동물 실험을 유기적으로 이용하여 이해를 넓히고 있는데, 족세포의 경우 다른 신사구체 세포보다 연구가 보다 활발히 진행되고 있어서 많은 연구 결과들이 보고 되고 있다. 이러한 유전적인 실험 기법들의 발달에도 불구하고 메산지움 세포에서는 안타깝게도 세포의 특이적으로 발현하는 유전자 물질의 부재로 이러한 실험 기법이 아직까지는 유용하지 않지만, 메산지움 확장과 증식에서 다른 신사구체 세포인 족세포와 내피세포와 서로 연결하여 신손상의 기전에서 중심적인 역할을 하고 있는 것은 분명하다.

Table 1. 당뇨병성 신증의 사구체 병변에 따른 분류

Class	Description	Inclusion Criteria
I	Mild or nonspecific LM changes and EM-proven GBM thickening	Biopsy does not meet any of the criteria mentioned below for class II, III, or IVGBM > 395 nm in female and >430 nm in male individuals 9 years of age and older
IIa	Mild mesangial expansion	Biopsy does not meet criteria for class III or IVMild mesangial expansion in >25% of the observed mesangium
IIb	Severe mesangial expansion	Biopsy does not meet criteria for class III or IVSevere mesangial expansion in >25% of the observed mesangium
III	Nodular sclerosis (Kimmelstiel-Wilson lesion)	Biopsy does not meet criteria for class IVAt least one convincing Kimmelstiel-Wilson lesion
IV	Advanced diabetic glomerulosclerosis	Global glomerular sclerosis in >50% of glomeruliLesions from classes I through III

Tervaert, T. W. C. et al. J Am Soc Nephrol 2010;21:556-563

당뇨병성 신증에서 고포도당 노출시 메산지움 세포의 손상기전은 protein kinase C 활성화, advanced glycosylation end products (AGEs) 증가, polyol/hexosamine pathway 활성화, 세포주기관련 단백질의 변화, reactive oxygen species (ROS) 증가, nitric oxide (NO) 대사변화 등이 일어나며 다른 신사구체 세포손상에서도 유사하게 일어난다 (Fig. 2). 당뇨병성 신손상의 초기에 혈압이 정상임에도 불구하고 신사구체내 고혈압이 발생하는데 이는 메산지움 세포의 stretch로 인한 여러 가지 물질들을 분비시켜서 메산지움 세포의 비대와 증식과 더불어 메산지움 확장을 유발시킨다. 게다가 고포도당 자극에 의하여 메

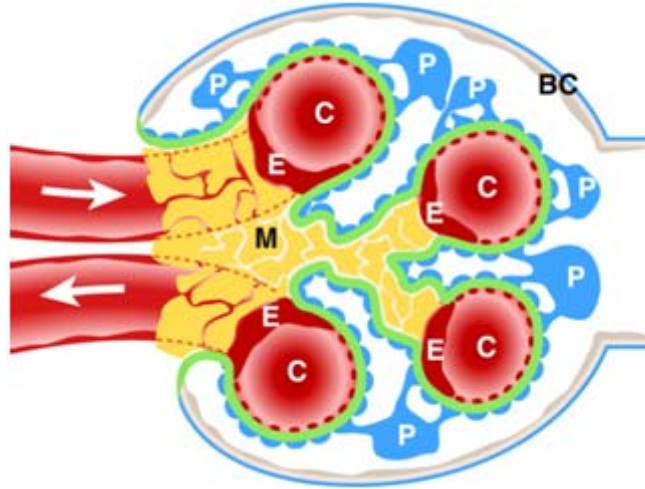


Fig. 1. 사구체내 메산지움 세포. Quaggin S E, Kreidberg J A Development 2008;135:609-620.

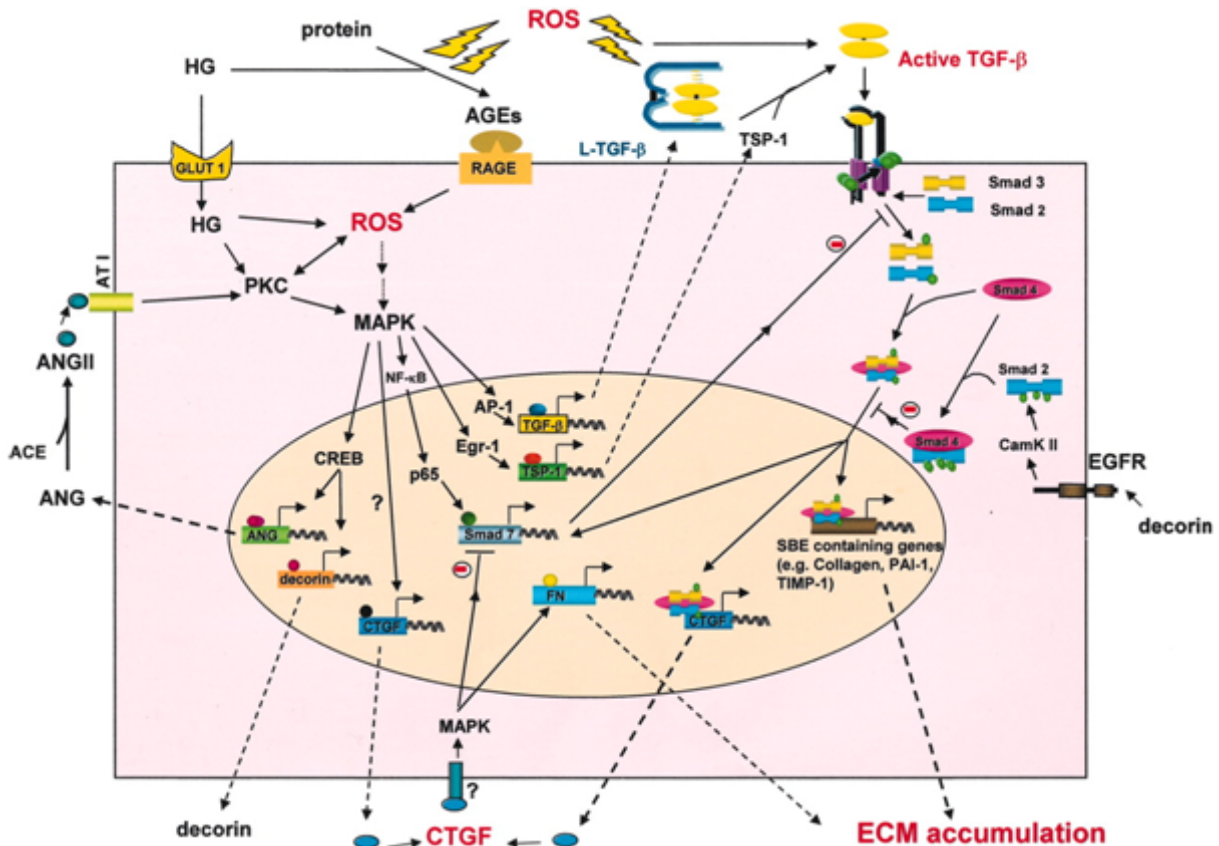


Fig. 2. 고혈당 자극에 의한 메산지움 세포의 손상 기전. Mason, R. M. et al. J Am Soc Nephrol 2003;14:1358-1373.

산지움 세포는 여러가지 염증 세포를 집결시키는 물질들을 분비하여 염증세포의 침착과 신사구체 섬유화에 관여하는 여러 가지 단백질 물질들의 합성을 증가시켜서 신손상을 악화시킨다. 현재까지 당뇨병성 신손상의 기전에서 어떠한 세포가 주요한 역할을 하는지는 정확히 밝혀지지 않았지만 이 모든 과정들이 각각이 아닌 서로 유기적인 관계 속에서 영향을 미쳐서 신손상 진행되는 것으로 생각된다. 이러한 신사구체 세포들간의 상호 작용의 중심에는 현재까지 메산지움 세포가 상당한 역할을 하고 있고 아직도 앞으로 밝혀지지 않은 부분이 상당히 있다. 다음은 메산지움 세포의 손상 기전에 대한 현재까지 연구 내용들로 향후 당뇨병성 신증의 치료약제를 개발하기 위하여 많은 연구가 필요하리라 생각된다.

세포외기질(Extracellular matrix, ECM)의 대사장애

고포도당에 의한 메산지움 세포의 손상기전에서 세포막의 transporter에 의하여 세포 내로의 glucose 유입은 세포내 손상 신호전달체계를 활성화 시킨다. 정상포도당 노출에서 GLUT-1을 과발현하는 메산지움 세포를 배양하였을 때 세포외기질 (extracellular matrix, ECM)의 생성이 증가하고, 반대로 GLUT-1 유전자 결함시 fibronectin의 합성이 감소하는 것이 보고되었는데 이는 세포손상기전에서 세포내 glucose 유입이 중요하다는 것을 알 수가 있다. 최근에는 비만과 신질환과의 관계에 대한 연구가 활발한데 지방세포와 메산지움 세포와의 관계에서 지방세포가 분비한 여러가지 물질 (adipokines) 등이 메산지움 세포에도 영향을 미치는 것이 알려졌다. 저자는 이 중에서 visfatin 자극에 의하여 배양된 메산지움 세포에서 세포막의 GLUT-1이 세포내로 이동하여 메산지움 세포내로의 glucose 유입을 증가시켜, 이후 세포내 손상기전이 활성화 되는 것을 확인하였다. 이 외에 adiponectin, leptin, Fetuin-A 등에 대한 보고들도 있다.

세포내로 유입된 glucose는 인산화되어 fructose 6-phosphate와 glyceraldehydes 3-phosphate (G 3-P)로 전환되고, 다양한 transferase와 phosphatase G3-P에 의하여 glycerol phosphate로 전환되는데, 이는 diacylglycerol (DAG)의 전구체이다. Fructose-6-phosphate는 glutamine:fructose-6-phosphate-aminotransferase에 의하여 glutamine-6-phosphate로 또한 전환되어 phosphorylation transcription factor Sp1를 통한 신호전달체계를 통하여 TGF- β 1와 plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1)의 합성을 조절하여 ECM합성에 관여한다. 고포도당의 조건은 polyol pathway를 활성화 시키는데 glucose는 NADPH-dependent enzyme인 aldose reductase (AR)에 의하여 sorbitol로 환원된다. Sorbitol은 NAD⁺를 cofactor로 사용하여 sorbitol dehydrogenase에 의하여 fructose로 산화되고 이는 NADPH 소멸시키고 glutathione (GSH)을 감소시켜서 NADH/NAD⁺ 비율을 증가시켜 nitric oxide (NO)를 감소시키고 세포내 산화반응을 변화시켜서 oxidant, osmolar stress를 유발한다.

Advanced glycosylation end products (AGEs)

Advanced glycosylation end products (AGEs)는 단백질과 지질, 핵산등의 아미노기와 당이 비효소 합성에 의하여 결합하여 만들어진 다양한 그룹의 고분자물질이다. 이는 고포도당 조건에서 그 생성이 증가하여 연쇄반응을 일으켜서 amadori rearrangement, 탈수, polymerization, AGEs등을 형성한다. AGEs는 세포외에서는 당으로부터 형성되어 수용체인 RAGE, OST-48, 80K-H, galectin-3등과 결합하여 다양한 반응을 일으키며, 세포내에서는 dicarbonyl로부터 형성되어 PKC, MAP kinase, NF- κ B등의 신호전달체계를 활성화 시킨다. 이는 결국 다양한 성장인자의 중심역할을 하는 TGF- β 1 등을 활성화시켜서 ECM 단백질질 생성을 변화시킨다. 제1형 콜라겐과 제3형 콜라겐 합성은 증가하고 proteoglycan의 합성은 감소하여 ECM polymerization, expansion을 증가시킨다. 또한 AGEs 그 자신은 다양한 단백질과 결합하여 여러 장기 손상을 악화시킨다. AGEs에 의한 ROS의 활성화 역시 염증 반응을 악화시켜 비슷한 결과를 초래하는 것으로 알려져 있다.

Protein kinase C (PKC)

다양한 세포 신호전달체계 중에서 PKC가 중요한 역할을 하는데 이는 diacylglycerol (DAG)에 의하여 활성화 되고, 세포막에서 AGEs/RAGE 결합에 의하여 세포내 칼슘 유입이 증가하면서 활성화된 phospholipase C에 의하여 활성화 된다. PKC와

Table 2. 배양된 메산지움 세포에서 밝혀진 신호전달물질과 수용체

Mesangial cells are source of

- glomerular structure and matrix compounds
 - collagen IV^a
 - fibronectin^a
 - hyaluronan^a
 - MMP2, MMP7, MMP9, TIMP-1^a
 - α actinin 1 and 4^a
- Vasoactive agents
 - cyclooxygenase, epoxygenase, and lipoxygenase products^a
 - NO^a
 - HETE^a
- growth factors
 - PDGF^a
 - CCN2/CTGF^a
 - VEGF^a
 - TGF- β 1^a
 - FGF-1^a
 - FGF-2^a
- cytokines
 - ILs^a
 - osteopontin
- chemokines
 - CXCL1, CXCL5, CXCL8, CXCL10, CCL2, CCL3, CCL5^a
- complement system
 - complement factor D^a
 - PTX3 (long pentraxin)^a
- Receptors expressed by mesangial cells (and their respective ligands) for
- vasoactive agents
 - prostaglandin E2 receptor subtypes E1, E3, and E4 (prostaglandin E2 and I2)
 - prostacyclin receptor IP (prostacyclin)
 - adenosine A(2B) receptor (adenosine)
 - ANP type A receptor (atrial natriuretic peptide)^a
 - ANP type B receptor (brain natriuretic peptide)^a
 - AT1R (angiotensin II)^a
 - vasopressin V(1a) receptor (vasopressin)
 - endothelin ETB receptor (endothelin)^a
 - α 1 adrenergic receptor (norepinephrine)
- growth factor receptors
 - TGF- β R (activated by TGF β and BMP7)
 - PDGF-RB (PDGF-B/-D)^a
 - EGF-R (EGF)^a
 - hepatocyte growth factor receptor (HGF)^a
 - CTGF-R (CTGF)
 - FGF-R^a (FGF)
- adhesion molecules
 - β 1 integrins (collagen I and IV)
 - α v β 3 integrin (osteopontin)
 - CD44 (hyaluronan)^a
 - ICAM-1^a
 - vitronectin^a
 - thrombospondin^a
- cytokine receptors
 - cytokine receptors (TNFR, ILR, IFN γ R)^a
 - Fn14/TWEAK receptor (TNF like weak inducer of apoptosis)^a
- chemokine receptors
 - chemokine receptors CCR1, CCR7, CXCR3^a
- Toll-like receptors
 - TLR-3 (viral nucleic acids)^a
 - TLR-4 (LPS)^a
 - TLR-2 (bacterial lipoproteins)
- other receptors
 - Fc-receptor (immune complexes)
 - mannose receptor^a
 - transferrin receptor/CD71 (transferrin)^a
 - sphingosine-1-phosphate receptor (S1P)
 - AGE receptors

AGE, advanced glycation end products; BMP, bone morphogenic protein; FGF, fibroblast growth factor; ICAM, intracellular adhesion molecule; MMP, matrix metalloproteinase; NO, nitric oxide; TIMP, tissue inhibitor of metalloproteinase

Schlöndorff D and Banas B. J Am Soc Nephrol. 2009 Jun;20(6):1179-87

DAG의 주기적인 평형 관계는 신호전달체계에서 중요하다. PKC는 메산지움 세포뿐 아니라 내피세포에서 활성화하여 NO 합성을 저하시키고 endothelin-1와 vascular endothelial growth factor (VEGF) 발현을 증가시켜서 혈류량과 혈관투과성에 영향을 미쳐서 ECM 단백질의 합성을 증가시킨다. 또한 NF- κ B와 PAI-1 발현은 NADPH 산화환원반응에 의한 ROS 생성에 의하여 더욱 활성화된다. 따라서 PKC는 다양한 전달체계 기전에 의하여 활성화되고 메산지움 세포 손상기전에서 중요한 역할을 한다.

TGF- β 1

위에서 언급한 AGEs와 PKC 이외에 ROS, DAG, hexoxamine 등은 TGF- β 1 전달체계를 활성화 시킨다. 현재 TGF- β 1은 ECM 병변에 관여하는 단백질 중에서도 가장 중요한 물질로 알려져 있고, 이는 angiotensin II와 thromboxan, endothelin, 메산지움 세포의 주기적인 stretch, relaxation 등의 자극에 의하여서도 활성화 된다. TGF- β 1은 제2형 수용체에 결합하여 Smad2, Smad3와 결합하여 target gene인 콜라겐, fibronectin, PAI-1, Jun-B, c-June 등의 발현을 조절한다. 고포도당에 의하여 Smad 신호전달체계가 활성화되고, 이외에 extracellular signal regulated kinases 1/2 (ERKs1/2)와 c-Jun N-terminal kinase/stress-activated protein kinases (JNK/SAPK)와 p38MAP kinase 등의 mitogen activated protein kinases (MAPKs) 전달체계도 활성화 되어 TGF- β 1 발현을 증가시키는데 이는 AP-1과 같은 전사인자를 통하여 target gene의 발현을 증가시킴으로써 고포도당에 의한 TGF- β 1 활성화의 신호전달체계에서 Smad-MAPK 일련의 관계가 중요하다고 할 수 있다. 또 다른 증식 성장인자인 CTGF 역시 TGF- β 1에 의하여 활성화되는데 Smad와 CTGF 유전자내 transcription enhancer factor (TEF)의 관계가 알려져 있다. 당뇨병성 신증의 메산지움 세포의 손상기전에서 ECM 단백질들의 발현과 관련하여 TGF- β 1 신호전달체계는 이미 많이 연구가 되었지만 다양한 신호전달체계와 관련하여 많은 부분이 과제로 남아 있다.

Reactive oxygen species (ROS)

ROS는 위에서 언급한 고포도당 자극에 의한 메산지움 세포의 손상기전을 더 확대시키는데 역할을 하며, 신손상을 유발시키는 ROS로는 superoxide anion (O_2^-), H_2O_2 , hydroxyl radical, peroxynitrite 등이 있고 이들의 산화 환원반응은 cytoplasmic Cu/Zn superoxide (Cu/ZnSOD)와 미토콘드리아 manganese SOD (MnSOD), heme oxygenase-1 (HO-1) 등과 같은 효소에 의하여 유지된다. 대부분의 ROS는 미토콘드리아 내에서 산화 인산화 과정 중에 발생하지만 NADPH-oxidase system에서도 발생한다. NADPH-oxidase에 의하여 형성되는 ROS는 세포막의 flavocytochrome b558 (gp91^{phox}와 p22^{phox}의 heterodimer)와 다양한 세포질내 단백질인 p47^{phox}, p67^{phox}, p40^{phox}, GTP-binding protein, p21rac과 결합한 결과 이뤄진다. 고포도당 자극에 의하여 AGEs, PKC, DAG, IP-3 (inositol 1,4,5-trophosphate), TGF- β 1, cyclo-oxygenase (COX) pathway 등에 의해 NADPH oxidase가 활성화되어 메산지움 세포 손상 기전이 더욱 활성화 된다.

Renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS)

고포도당 환경에서는 신사구체내 혈압조절의 불균형이 발생하고, 동시에 신사구체내 혈압에 대해서 신손상 기전이 민감하게 반응하여 쉽게 메산지움 세포의 비대와 증식을 초래한다. 이 부분의 정확한 기전은 알려져 있지 않으나 혈역학적 혹은 대사성 손상 기전으로 설명되고 있다. 여기서 angiotensin II의 신사구체내 농도와 역할이 중요하며 TGF- β 1, CTGF, IL-6, monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1), VEGF 등이 관여하여 ECM을 증식시킨다. angiotensin II는 또한 AGE/RAGE작용에 의한 ROS 생성에도 관여한다. 최근에는 angiotensin II와 독립적으로 메산지움 세포에서의 aldosterone이나 renin의 직접적인 손상기전도 보고되고 있다. 저자는 메산지움 세포에서 aldosterone 자극에 의하여 TGF- β 1, CTGF, MCP-1, 콜라겐 등 합성이 증가하는 것을 확인하였는데 이는 NF- κ B pathway를 통하여 발생하였다. 다른 연구에서는 glucose 자극에 의하

여 메산지움 세포에서 (pro)renin-receptor (PRR) 발현이 증가되고 IL-1 β 와 cyclooxygenase (COX), NF- κ B pathway를 통하여 활성화되는 내용이 확인되었다. 이외에 non-ACE pathway의 Chymase, angiotensin converting enzyme 2 (ACE2), angiotensin receptor 4 (AT4R), angiotensin1-7 등이 당뇨병성 신증의 손상기전에 관여한다는 내용들도 보고 되었다.

Phenotypic transition and fibrosis

당뇨병성 신증의 손상기전에서 신사구체와 세뇨관간질 섬유화증의 원인을 설명할 때 세포간의 형질변화에 대한 연구 내용들이 보고된 바 있다. 세포간의 형태변화는 두 종류로 메산지움 세포의 Myofibroblast transdifferentiation (MFT)와 신세뇨관 세포와 족세포에서 일어나는 Epithelial mesenchymal transition (EMT)으로 분류된다. 메산지움 세포가 고포도당 자극에 의하여 여러가지 세포섬유질화에 관여하는 염증 반응 물질들이 생성하고 그 결과 세포 형질이 다른 ECM 물질을 분비하고 생성하는 세포로 전환되는 것이다. TGF- β 1, CTGF, angiotensin II, fibroblast growth factor (FGF) 등이 이에 관여한다고 알려져 있다. 다른 형질의 세포로 전환된 메산지움 세포는 α -smooth muscle actin (α -SMA), 콜라겐, fibronectin등 물질을 분비하게 되고 이것은 다른 신세포에서 유래한 전환된 세포들과 유기적으로 관계하여 일련의 과정이 일어나게 된다 (Fig. 3).

GTP-binding protein

GTP-binding protein에 관해서는 많이 알려져 있지 않으나 고포도당 자극에 의하여 활성화되는 주요 GTP로는 Ras와 Rho family와 관련된 연구들이다. 세포의 자극 신호를 세포내로 전달함으로써 세포의 증식, 성장, 형질전환 등에 관여한다. 당뇨병성 신증에서 Ras와 Rho는 Ras/Raf/MEK pathway 등이 알려져 있다. Rho GTPase-induced SAPK/JNK kinases는 cAMP-responsive element binding protein (CREB)을 활성화 시켜 ECM 단백질발현을 증가시킨다. 한편 당뇨병성 신증에서 cell cycle protein인 cyclin, cyclin-dependent kinases (CDK) 등의 감소와 이들의 억제제인 CDIs로 Cip/Kip (p21^{Cip1}, p27^{Kip1}), INK4/ARF (p16^{INK4}, p14^{ARF})의 발현 증가는 Ras/Rho 활성화와 함께 메산지움 세포 증식과 관련이 있다.

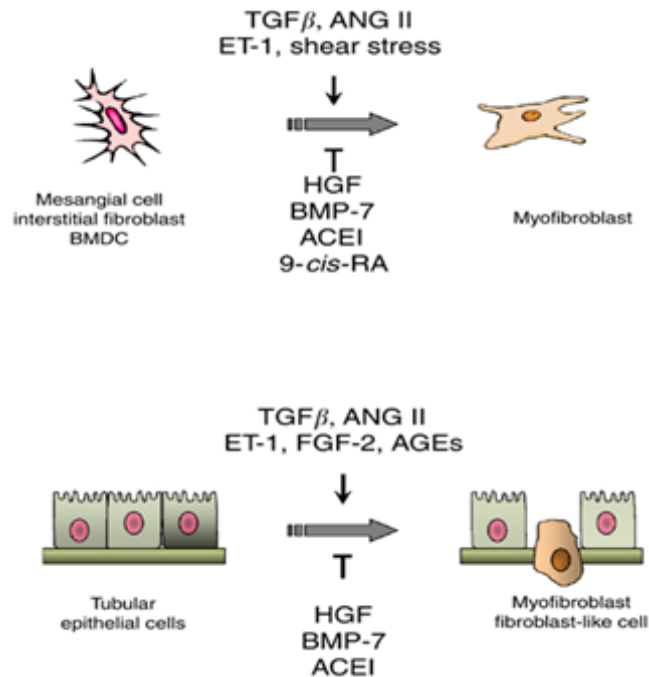


Fig. 3. 당뇨병성 신증의 손상 기전에서 세포 형질전환. Simonson MS: Kidney Int. 2007 May;71(9):846-54.

참 고 문 헌

- 1) Tervaert TW, Mooyaart AL, Amann K, Cohen AH, Cook HT, Drachenberg CB, Ferrario F, Fogo AB, Haas M, de Heer E, Joh K, Noël LH, Radhakrishnan J, Seshan SV, Bajema IM, Bruijn JA; Renal Pathology : Pathologic classification of diabetic nephropathy. Society. J Am Soc Nephrol. 2010 Apr;21(4):556-63.
- 2) Couchman JR, Beavan LA, McCarthy KJ: Glomerular matrix: Synthesis, turnover and role in mesangial expansion. Kidney Int 45:328-335, 1994
- 3) Mason RM, Wahab NA: Extracellular matrix metabolism in diabetic nephropathy. J Am Soc Nephrol 14: 1358-1373, 2003
- 4) Schlöndorff D, Banas B: The mesangial cell revisited: no cell is an island. J Am Soc Nephrol, 2009 Jun;20 (6):1179-87. Review.
- 5) Schena FP, Gesualdo L: Pathogenetic mechanisms of diabetic nephropathy. J Am Soc Nephrol 16 [Suppl 1]: S30-S33, 2005
- 6) Kanwar YS, Wada J, Sun L, Xie P, Wallner EI, Chen S, Chugh S, Danesh FR: Diabetic nephropathy: Mechanisms of renal disease progression. Exp Biol Med (Maywood) 233:4-11, 2008
- 7) Simonson MS: Phenotypic transitions and fibrosis in diabetic nephropathy. Kidney Int. 2007 May;71(9):846-54. Review.
- 8) Cove-Smith A, Hendry BM: The regulation of mesangial cell proliferation. Nephron Exp Nephrol. 2008;108 (4):e74-9. Review.
- 9) Huang J and Siragy HM: Glucose promotes the production of interleukine-1beta and cyclooxygenase-2 in mesangial cells via enhanced (Pro)renin receptor expression. Endocrinology. 2009 Dec;150(12):5557-65.
- 10) Kang YS, Cha DR: Aldosterone and diabetic kidney disease. Curr Diab Rep. 2009 Dec;9(6):453-9.
- 11) Han KH, Kang YS, Han SY, Jee YH, Lee MH, Han JY, Kim HK, Kim YS, Cha DR: Spironolactone ameliorates renal injury and connective tissue growth factor expression in type II diabetic rats. Kidney Int. 2006 Jul;70 (1):111-20
- 12) Han SY, Kim CH, Kim HS, Jee YH, Song HK, Lee MH, Han KH, Kim HK, Kang YS, Han JY, Kim YS, Cha DR: Spironolactone prevents diabetic nephropathy through an anti-inflammatory mechanism in type 2 diabetic rats. J Am Soc Nephrol. 2006 May;17(5):1362-72
- 13) Song HK, Lee MH, Kim BK, Park YG, Ko GJ, Kang YS, Han JY, Han SY, Han KH, Kim HK, Cha DR: Visfatin: A New Player in Mesangial Cell Physiology and Diabetic Nephropathy. Am J Physiol Renal Physiol. 2008 Nov;295(5):F1485-94.