

말초혈액단핵세포에서 니페디핀과 캡토프릴이 염증유발 사이토카인 생성에 미치는 영향에 대한 ex-vivo 연구

아주대학교 의과대학 신장내과

정가영, 이화정, 강은정, 박인휘, 김흥수, 신규태

An Ex Vivo Study on the Effect of Nifedipine and Captopril on the Production of Pro-inflammatory Cytokines by Peripheral Blood Mononuclear Cells

Ka-young Jung, Hwa jung Lee, Eunjung Kang, Inwhee Park, Heungsoo Kim, Gyu-Tae Shin

Department of Nephrology, Ajou University School of Medicine

배경: 말초혈액단핵세포(Peripheral blood mononuclear cells, PBMC)는 혈액의 tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha)와 interleukin-6 (IL-6)와 같은 염증 물질이 주로 생성되는 세포이다. 기존의 연구 결과에 의하면 TNF-alpha)와 IL-6는 신손상을 유발하며 심부전을 악화시키고 또한 당뇨병에서 인슐린 저항성을 유도하는 것으로도 알려져 있다. 본 연구에서는 고혈압 약제인 니페디핀과 캡토프릴이 PBMC에서 유래한 각 혈구 세포에 의한 염증성 사이토카인 생성에 미치는 영향을 연구하였다.

연구방법: 건강 자원자로부터 10 ml 정도의 혈액을 헤파린 tube에 채취한 다음, Ficoll-Paque 원심 분리를 하여 PBMC를 얻어 내고, 37°C에서 2시간 배양하여 flask에 부착되지 않는 림프구(lymphocyte)와 부착되는 단핵구(monocyte)를 분리하였다. 또한 단핵구를 GM-CSF와 IL-4에 일주일간 배양하여 수지상세포(dendritic cell)로 분화시켰다. 림프구는 ionomycin과 phorbol myristic acetate (PMA)로, 단핵구와 수지상세포는 100 ng/ml의 lipopolysaccharide (LPS)로 24시간 자극하여 얻은 배양액에서 TNF-alpha와 IL-6의 농도를 enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)를 이용하여 측정하였다. 또한 림프구를 ionomycin, PMA와 brefeldin A과 함께 16시간 배양한 후 anti-human CD3와 CD8 항체로 염색한 다음 TNF-alpha 항체로 다시 염색하여 FACS를 이용하여 분석하였고, 이때 CD3+CD8- 림프구를 CD4+로 가정하였다. 니페디핀은 100µM의 농도로 캡토프릴은 10 µM의 농도로 사용하였다. 각 군과의 비교는 Student t-test를 이용하였다.

결과: ELISA 분석에서는 림프구에서 TNF-alpha와 IL-6 농도가 니페디핀군, 캡토프릴군 및 두 약제 병합군 모두 대조군에 비하여 현저히 낮았으며, 특히 병합군의 TNF-alpha 농도는 두 약제 단독군에 비하여도 통계적으로 의미있게 낮았다($p=0.002$). 단핵구에서도 TNF-alpha 농도는 니페디핀군, 캡토프릴군 및 병합군 모두에서 대조군에 비하여 현저히 낮았으며, 특히 병합군의 TNF-alpha 농도는 두 약제 단독군에 비하여도 통계적으로 의미있게 낮았다. 그러나 단핵구에서 IL-6 농도는 대조군에 비하여 캡토프릴군에서는 낮은 경향을 보였고 병합군에서도 의미 있게 낮았으나($p=0.016$) 니페디핀군에서는 별 차이가 없었다. 단핵구 유래 수지상세포에서는 TNF-alpha 및 IL-6 농도가 대조군에 비하여 캡토프릴군 및 병합군에서는 현저히 낮았으나 니페디핀군에서는 별 차이가 없었다. FACS분석에서는 CD4 림프구에서 TNF-alpha 발현이 대조군에 비하여 니페디핀군과 병합군에서 의미있게 낮았으나 캡토프릴군에서는 별 차이가 없었다. CD8 림프구에서는 TNF-alpha 발현이 대조군에 비하여 병합군에서만 의미 있게 낮았고($p=0.009$), 두 단독군에서는 별 차이가 없었다.

결론: 말초혈액단핵세포의 각 세포 종류에 따라 니페디핀과 캡토프릴은 TNF-alpha와 IL-6 억제 효과에 다소 차이를 보였다. 또한 니페디핀과 캡토프릴의 병합 투여는 TNF-alpha와 IL-6 억제에 대하여 각 약제 단독 사용 시에 나타나는 효과의 부가적인 효과를 나타내었다.

Key Words: 말초혈액단핵세포, 사이토카인
PBMC, TNF-alpha, Interleukin-6