저칼륨혈증시 신장 집합관의 적응반응

전남대학교 의과대학 해부학교실

안 규 윤

세포내 주 양이온인 K는 세포성장과 분열, 산-염기 평형, 세포용적 조절, 많은 효소반응, 전기적인 세포분극, 신경흥분 그리고 근수축을 포함한 세포기능에 중요한 역할을 담당하고 있어 K 평형조절은 모든 세포의 생리에 필수적이다. K 결핍은 그 자체로 혈압을 올리고, 기존의 고혈압을 더 악화시키는 것으로 알려져 있다. 저칼륨혈증은 임상적으로 이뇨제와 혈압강하제를 동시에 투여시 부작용으로 올 수도 있고 중증의 저칼륨혈증은 심근수축장애, 심부정맥, digitalis 독성소인, 그리고 신경근육 기능장애를 동반할 수도 있다.

체내 K 균형은 신장에서의 K 배설조절과 소화관에서의 K 흡수조절에 의해서 이루어지지만 거의 대부분은 신장이 담당한다. 즉 K는 신원을 따라서 재흡수와 분비의 일련의 과정을 거치면서 조절되는데 분비된 K의 대부분은 여과액이 원위곡요세관에 도달하기 전에 재흡수되고 요중 K 배설의 최종적인 조절은 집합관에서 이루어진다. 정상상태에서 K는 연결세관과 피질집합관에서 분비되고 수질집합관에서 일부 재흡수된다. 이와는 대조적으로 K 제한시 피질집합관에서의 K 순분비(net K secretion)는 상당히 감소되거나 없어지는 반면 외수질집합관의 내층과 내수질집합관에서 K 재흡수가 촉진된다고 한다. 그래서 신장은 K 평형의 1차적인 조절 기관이고 Na/K-ATPase와 H/K-ATPase는 K 농도를 유지하는데 있어서 중요한 ion pumps로 이의 발현과 작용의 변화는 산·염기 평형에 지대한 영향을 미칠 수 있을 것으로 사료된다. 본 연구의 광범위한 목적은 저칼륨혈증시 신상피세포 특히 집합관세포의 형태학적 적응반응과 H/K-ATPase와 Na/K-ATPase isoforms의 기능, 조절, 그리고 상호작용에 대한 분자적인 기초와 전반적인 K 항상성 유지에 그들의 독특한 공헌도를 구명하고자 한다.

Na/K-ATPase는 적어도 두 종류의 subunit로 구성되어 있는데 α subunit는 분자량이 ~100KDa 정도이고 holoenzyme의 촉매작용이나 이온수송을 담당할 뿐만 아니라 cardiac glycoside(ouabain)에 대한 세포수용기로 작용한다. β subunit는 분자량이 40-50KDa의 당단백으로 α subunit를 형질막에 부착시키거나, Na/K-ATPase 활성을 조절하는데 중요한 역할을 할 것으로 알려져있다. 지금까지 포유류에서 4종류의 α subunit와 3종류의 β subunit 동위효소가 밝혀져있다. 백서 신장에서 다양한 α와 β subunit를 해독하는 전사물질이 검출되었지만, 생화학적, 약리학적 및 immunoblot 분석방법을 이용한 연구에서 Na/K-ATPase α_1과 β_1 subunit가 거의 모든 신장의 Na-K-pump 활성을 나타낸다고 하였다. 저칼륨혈증에 대한 적응반응은 Na/K-ATPase 활성이 외수질집합관 내층에서 7배 증가하고, α_1 subunit 단백이 3배 이상 증가한다 하였다. McDonough 등(1994)은 미세현미술을 이용한 정상 및 저칼륨혈증 백서 요세관의 Na/K-ATPase 활성과 immunoblot 분석 소견에서 Na/K-ATPase α와 β subunit 동위효소를 정량화하였는데 저칼륨혈증 백서 피질집합관에서는 α_1과 β_1 단백이 정상과 유의한 차이가 없었으나 외수질집합관에서는 α_1이 3배, β_1이 2배 이상 증가한다 하였다. 이와 같은 결과를 종합해보면 저칼륨혈증이 외수질집합관의 Na/K-ATPase 활성을 증가시키고 Na/K-ATPase α_1 과 β_1 subunit의 숫적 증가도 동반 되는 것으로 사료된다. 그러나 이러한 연구들은 투과성 요세관이나 homogenated 요세관을 사용한 Na/K-ATPase 단백연구이기 때문에 증가된 Na/K-ATPase pool 크기가 형질세포막 sodium pump가 증가한 것인지, Na/K-ATPase 세포내 pool이 증가한 것인지를 알 수 없을 뿐아니라 또한 새로이 만들어진 Na/K-ATPase가 강측세포막에 있는지, 기저외측세포막에 존재하는지 또는 어떤 형의 세포(주세포 혹은 개재세포)에 존재하는지를 알 수가 없고, 또한 번역전단계인 mRNA의 변화를 알 수 없는 단점이 있다. 지속적인 K 제한시 Na/K-ATPase 수나 활성

의 증가가 외수질집합관의 기저외측세포막에서 일어난다면 K 분비를 항진시킬 것으로 추측할 수 있고 또 다른 K 수송경로가 없다면 저칼륨혈증을 심화시킬 것으로 사료된다. 이러한 부조화 때문에 Hayashi와 Katz(1987)는 저칼륨혈증시 K 재흡수를 위해 Na/K-ATPase가 외수질집합관의 강측세포막에도 분포할 것이라는 가설을 내세웠다.

Linas 등(1979)은 K 교정은 원위요세관 및 집합관에서 일어남을 암시한 이후 많은 in vitro 연구에서 원위요세관 말단부위와 집합관에서 H/K-ATPase 활성이 존재한다는 것을 증명하였고 저칼륨혈증때 K 보존에 이 ion pump가 중요한 역할을 할 것이라고 추측하였다. 최근에 molecular cloning이나 이형발현에 관한 연구는 H/K-ATPase가 적어도 4개의 α subunit 동위효소와 1개의 β subunit로 구성되는 다인자족으로 구성되어 있음을 증명해 주었다. 현재까지 고도의 상동형의 H/K-ATPase α subunit를 encoding하는 cDNAs가 포유류 위($HK\alpha_1$), 대장($HK\alpha_2$), 양서류 방광($HK\alpha_3$), 그리고 사람 피부($HK\alpha_4$)에서 clone 되었다. 이들 유전자의 이형발현은 H/K-ATPase가 Sch 28080에 의해 다르게 억제된다는 것을 암시한다. 위에서 분리된 $HK\alpha_1$과 Spodoptera frugiperda(Sf 9) 세포에서 baculovirus와 함께 발현되는 $HK\alpha_2$는 ouabain insensitive이지만 Xenopus oocytes에서 이형발현되는 $HK\alpha_3$와 $HK\alpha_4$는 ouabain sensitive이다. $HK\alpha_1$과 $HK\alpha_2$ mRNA는 백서 신장에서 발현됨이 밝혀졌지만 $HK\alpha_4$ 유전자는 백서 신장에서 검출되지 못했고, 더구나 포유류 신장에서 $HK\alpha_3$ 유전자 발현은 아직 보고되지 않았다.

저자는 신장에서 molecular cloning, Northern분석, in situ hybridization 조직화학 그리고 미세현미술을 이용한 집합관의 RT-PCR 기법으로 $HK\alpha_1$과 $HK\alpha_2$ mRNA가 정상 백서 연결세관과 전 집합관에서 발현됨을 보고하였고 또한 저칼륨혈증 백서에서 정상 백서보다 $HK\alpha_1$ mRNA는 신피질에서 2배 이상 증가하나 외수질 및 내수질에서는 유의한 차이가 없었고, $HK\alpha_2$ mRNA는 외수질 및 내수질에서 정상에 비해 5배 이상 증가되어 발현되나 피질에서는 두 그룹간에 유의한 차이가 없음을 보고하였다. 또 저칼륨혈증 백서에서 정상 백서보다 Na/K-ATPase isoforms mRNA가 내수질에서 2-3배 증가되어 발현됨을 보여주었다. 상기 연구들을 종합해 보면 저칼륨혈증시 $HK\alpha_1$, $HK\alpha_2$, 및 Na/K-ATPase isoform 유전자들이 집합관의 부위에 따라 적응반응을 조절할 것으로 사료되었다.