급성 세뇨관괴사에서의 접착분자와 APOPTOSIS의 역할

경희대학교 의과대학 내과학교실

임 천 규

급성 세뇨관괴사에서의 접착분자의 발현과 그 역할

세포와 세포 또는 세포와 기질 단백 사이의 접착을 통한 상호작용은 세포 생리의 기초로서, 조직의 구조 유지와 면역과 염증반응 등에서 중요하다. 이러한 접착을 매개하는 세포표면의 주요 접착분자들(cell adhesion molecule; CAMs)은 integrin, immunoglobulin superfamily, cadherin, selectin, mucin과, 다른 selectin ligand들이 알려져 있으며, 각각의 결합하는 ligand가 있고, 세포분포도 각기 다르다[1]. 신장의 세뇨관 상피세포와 주위 내피, 사구체의 내피세포, 메산지움 세포 및 상피세포 등이 cytokine에 의해 유도되는 대부분의 CAMs들을 발현한다. 또한 신 질환들에서 백혈구나 신세포사이에 발현되는 CAMs들과 그 ligand 사이의 접착에 의한 상호 작용이 알려지고 있다.

신허혈증에 의한 급성신부전 초기의 세포와 분자의 병변은 1) 내피 기능장애와 신장내 혈관 수축, 2) 세뇨관세포의 cytoskeleton이 유지되지 못하고 세포용적과 이온 교환이 되지 않고, 3) 세뇨관 세포와 세포, 세포와 기질 사이의 상호작용이 깨져서 상피세포의 투과능이 변하고 세포탈락, 세뇨관 강내 원주 형성과 폐색이 일어난다고 요약될 수 있다.

급성 신부전에서 세뇨관 세포와 세포사이의 CAMs인 integrin들과 cytoskeleton인 F actin의 손상으로, 또는 integrin 수용체와 연결되는 cytoskeleton 단백인 talin이 소실되어 세포들의 탈락이 일어날 것으로 생각되고 있다[2]. 시험관 실험에서 세뇨관 세포들의 기질단백으로 덮힌 배양 well에 대한 접착력이 떨어짐이 관찰되었다. 따라서 세뇨관 세포 탈락으로 손상된 세뇨관 상피를 통해 사구체 여과액의 backleak가 일어날 수 있다고 설명된다. 한편 급성신부전 환자의 소변에 배설되는 세뇨관 세포들의 30-100%가 살아있는 세포들임이 관찰되었다[3]. 따라서 접착성이 있는 탈락된 세포들의 응집과 그 잔재들에 의해 세포성 원주가 형성되고 세뇨관 폐색이 일어날 가능성을 생각할 수 있다. 이 두 현상 즉, backleak와 세뇨관 폐색은 급성 신부전을 일으키는 주된 기전들에 속한다.

최근에 허혈증에 의한 oxidative stress에 노출된 세뇨관 세포배양에서 α_3 integrin이 basal에서 apical 부위로 재분포된 연구결과가 보고되었다[4]. 이처럼 ectopic 하게 재분포 발현된 apical integrin은 기능적으로는 정상이어서 세포와 세포사이의 접착을 매개할 수 있음이 실험으로 밝혀졌다. 따라서 basolateral integrin의 소실은 세뇨관 세포들의 탈락을 일으키고, apical integrin의 새 발현은 세포사이의 접착을 증가시켜 세뇨관 폐색을 초래한다고 생각된다. 이는 허혈성 신부전의 쥐 모델에서 integrin 억제제 투여로 세뇨관내압의 증가가 예방됨으로써 뒷받침되었다. 이로써 이들 integrin의 수용체를 차단하여 세포와 세포 접착과 그로 인한 응집을 막는 치료법을 임상에 응용할 수 있을 것이다.

또한 β_1 integrin도 무산소 손상시 생쥐의 근위세뇨관 세포들의 apical 부위 표면에서 발현되며 Arg-Gly-Asp(RGD)를 함유한 peptide와 접착하는 본래의 기능도 유지함이 보고되었다. 허혈성 신질환 쥐 모델에서 RGD 결합부위를 mapping한 연구에서도 근위 세뇨관 세포의 apical과 basolateral aspect와 세뇨관 강내의 탈락된 세포에서 염색됨이 관찰되었다[5]. 나아가서 이 RGD peptide를 허혈성 급성 신부전 쥐 모델에 투여했을때 세포와 세포의 접착을 억제하여 개선효과를 나타냄이 in vivo로도 보고되고 있다[6].

급성 신부전에서 백혈구의 신장내 침윤이 특징적이지는 않다고 알려져 왔으나 특수염색을 하면 허혈성 신장으로의 중성구 침윤이 증가되어 있음을 볼 수 있다고 한다[7]. 또한 신 허혈증-재관류에 의한 급성 신부전에서 백혈구와 그로 인한 산소자유기가 손상발생 기

Table 1. Influence of Leukocyte Adhesion Molecule Blockade/Deficiency on Renal Ischemic-Reperfusion Injury

Species	Molecule	Blocker	Preparation of antibody	Dose	Timing	Protection
Rabbit	CD18	Ab 60.3	Intact	2mg/kg i.v.	Before	No
Rabbit	CD18	Ab R15.7	Intact	2mg/kg i.v.	Before	No
	ICAM-1	Ab R6.5	Intact	2mg/kg i.v.	Before	No
Rat	CD11a & CD11b	Ab TA-3 Ab OX42	Intact	2mg/kg i.v.	Before	Yes
Rat	ICAM-1	Ab IA29	Intact	2mg/kg i.v.	Before	Yes
Rat	CD11a	Ab WT.1	Intact	0.12-1mg i.v.	Before	Yes
	ICAM-1	Ab IA29	Intact	0.12-1mg i.v.	Before	Yes
Rat	ICAM-1	Ab IA29	Intact	200 μg i.p.	Before	Yes
Rat	ICAM-1	Anti-sense oligo-nucleotide		2mg/kg i.v.	Before	Yes
Rat	VLA-4	Ab Ta-2	Intact	2mg/kg i.v.	Before	No
	PECAM-1	Polyclonal	Intact		Before	No
Mouse	L-selectin	Knok-out	–	–	–	No
Mouse	ICAM-1	Ab	Intact	200 μl i.v.	Before	Yes
	ICAM-1	Knock-out	–	–	–	Tes

(from Kidney Int 51:1463-1468, 1997)

전상 중요하다고 생각되어 백혈구 CAMs에 관한 연구들이 계속 나오고 있다[8]. 신동맥 결찰로 유도된 허혈증-재관류 동물 모델에서 24시간내에 중성구 침윤이 증가되고 intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1)의 발현이 현저히 증가되어 나타남이 관찰되었다. 최근 시험관내 저산소 배양시 인체 근위 세뇨관 세포들에서 ICAM-1 발현이 증가됨이 보고되었다[9]. 또한 백혈구와 내피세포와의 접착도 RGD peptide를 투여하여 억제됨이 시험관내에서 관찰되었다. 나아가서 ICAM-1이나 CDlla에 대한 단클론 중화항체가 기능적, 조직학적으로 방지효과가 있음이 관찰되어, 백혈구와 신장 세포 상호작용이 급성 신부전에서의 치료대상일 수 있음을 제시하였다(Table 1). 일례로 분리된 쥐 신장의 관류 실험에서 ICAM-1에 대한 중화항체 투여로 oxidant 매개 손상과 중성구 침윤을 방지할 수 있었다[10]. 최근에는 ICAM-1의 antisense oligonucleotide로 ICAM-1의 생합성을 차단하거나 gene "knock-out"으로 ICAM-1을 소모시킴으로써 급성 신부전의 병태생리를 감소시킴이 보고되었다. 흥미로운 사실은 CDlla나 CDllb에 대한 중화 항체나 ICAM-1에 대한 중화 항체의 예방효과가 실험동물 종족에 따라 달리 나타난다는 점이다.

급성 세뇨관괴사에서의 APOPTOSIS의 역할

급성 신부전의 주된 모델인 허혈증과 신독성의 경우에서 apoptosis가 일어난다는 증거들이 관찰되고 신부전에서의 신원 손상에 한 역할을 할 것으로 생각되고 있다. 괴사(necrosis)와 apoptosis사이의 차이점은 다음과 같이 요약된다[11].

APOPTOSIS :
- Physiologic programmed cell death
- Controlled deletion of unwanted cells
- Condensation of nuclear heterochromatin and cytoplasm
- Cell shrinkage with retention of organelles
- Maintain the integrity of the plasma membrane for hours
- Activation of endogenous endonuclease
- Certain genes are preferentially expressed
- Safe removal of cells by phagocytes

NECROSIS :
- Accidental unplanned death Plasma membrane is damaged and abnormally permeable

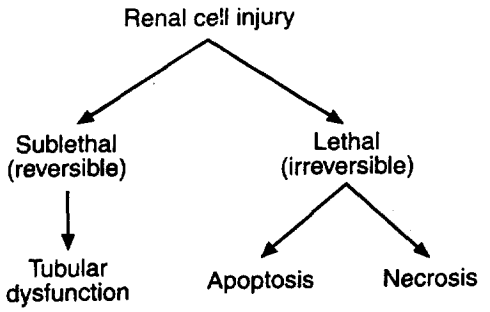


Fig. 1. Nature of the renal tubular cell injury in ischemic acute renal failure(from Kidney Int 51:1341-1351, 1997).

Organelles such as mitochondria are disrupted
Lose metabolic activity
Leakage of cell contents, provoking tissue injury and inflammation

신동맥결찰로 허혈성 급성 신부전을 백서에서 유발시킨 보고에서 5분간의 결찰로도 세뇨관 상피세포의 apoptosis가 관찰되며, 재관류시 약 12시간부터 apoptosis가 시작되고 clusterin(SGP-2) 같은 유전자 발현이 함께 증가됨이 관찰되므로써, 허혈증-재관류 신손상에 apoptosis가 관여됨이 주장되고 있다[12]. 저산소 상태의 초기에는 apoptosis가 일어나고, 시간 경과에 따라서는 세포괴사가 증가하였다(Fig. 1).

짧은 저산소증 또는 신독성 등의 자극에 따라 일어나는 급성 신부전에서는 종종 세뇨관괴사의 조직학적 증거가 적은데 이는 apoptosis에 의해 세포들이 급속도로 소실되기 때문으로 추정된다. 분리된 쥐 신장에 저산소로 관류하고 관찰한 다른 보고에 의해서도 apoptosis의 한 표식자인 DNA 분절현상을 조사하면 thick ascending limb에서 10분 정도로 초기에 나타난다고 한다[13]. 방사조영제에 의한 급성신부전에서도 조직학적 손상이 분명해지기전인 초기 15분에 나타난다고 한다. 이는 필요없는 세포들을 처리함으로써 염증반응과 세뇨관 폐쇄를 최소한으로 줄이는 역할을 할 가능성이 있다.

또한 괴사를 일으키기엔 정도가 약한 손상에 의해서도 apoptosis가 일어나는데, 예를 들면 일측성 요관결찰뒤에 apoptosis에 의한 세포 결손과 주변 세뇨관 세포들에 의한 apoptotic body의 탐식작용이 일어나고 세뇨관 강내로 이들 apoptotic 세포들을 배출하게 된다. 이는 세포 생존과 관련된 상피성장인자(EGF) 등의 mRNA와 단백생산의 감소와 일치하여 일어난다고 제시되고 있다[14]. 또한 apoptosis의 유도와 관련된 Fas mRNA가 증가되고 항 apoptosis 유전자인 bcl-2 proto-oncogene의 감소가 독성 모델에서 보고되기도 하였다. 이처럼 apoptosis의 조직학적 또는 분자생물학적 증거에 의해 독소와 허혈증에 의한 세뇨관 손상에 apoptosis가 관여된다는 증거들이 있다. 그러나 손상이 심하면 괴사가 주된 세포소실의 모양이 될 것이다[15]. 현재로서 세뇨관 세포들의 apoptosis는 급성신부전 병인의 보조인자일 수 있으나 어느 정도로 apoptosis가 중요한지는 아직 불확실하다. 그 밖에도 cisplatin 독성 모델에서도 apoptosis가 일어난다는 보고들이 있다. 또한 apoptosis는 자가면역, 염증, 상처화, 위축 등의 병변에서도 그 역할이 거론되고 있다.

REFERENCES

1) Canton AD : *Adhesion molecules in renal disease. Kidney int 48:1687-1696, 1995*
2) Bock HA : *Pathogenesis of acute renal failure : new aspects. Nephron 76:130-142, 1997*
3) Graber M, Lane B, Lamia R, Pastoriza-Munoz E : *Bubble cells : Renal tubular cells inthe urinary sediment with characteristics of viability. J Am Soc Nephrol 1:999-1004, 1991*
4) Goligorsky MS, Di Bona GF : *Pathogenetic role of Arg-Gly-Asp-recognizing integrins in acute renal failure. Proc Natl Acad Sci USA 90: 5700-5704, 1993*
5) Romanov V, Noiri E, Czerwinski G, Finsinger D, Kessler H, Goligorsky MS : *Two novel probes reveal tubular and vascular Arg-Gly-Asp(RGD) binding sites in the ischemic rat kidney. Kidney Int 52:93-102, 1997*
6) Goligorsky MS, Noiri E, Kessler H, Romanov V : *Therapeutic potential of RGD peptides in acute renal injury. Kidney int 51:1487-1492, 1997*
7) Hellberg PO, Kallskog TO : *Neutrophil-mediated post-ischemic tubular leakage in the rat kidney. Kidney Int 36:555-561, 1989*
8) Rabb H, O'Meara YM, Maderna P, Coleman P, Brady HR : *Leukocytes, cell adhesion molecules and ischemic acute renal failure. Kidney Int. 51:1463-1468, 1997*
9) Combe C, Burton CJ, Dufourco P, Weston S, Horsburgh T, Walls J, Harris KPG : *Hypoxia*

induces intercellular adhesion molecule-1 on cultured human tubular cells. Kidney Int 51:1703-1709, 1997

10) Linas SL, Whittenburg D, Parsons PE, Repine JE : *Ischemia increases neutrophil retention and worsens acute renal failure : Role of oxygen metabolites and ICAM 1. Kidney Int. 48:1584-1591, 1995*

11) Savill J : *Apoptosis and the kidney. J Am Soc Nephrol 5:12-21, 1994*

12) Schumer M, Colombel MC, Sawczuk IS, Gobe G, Connor J, O'Toole KM, Olsson CA, Wise GJ, Buttyan R : *Morphologic, biochemical, and molecular evidence of apoptosis during the reperfusion phase after brief periods of renal ischemia. Am J Pathol 140:831-838, 1992*

13) Beeri R, Symon Z, Brezis M, Ben-sasson SA, Baehr PH, Rosen S, Zager RA : *Rapid DNA fragmentation from hypoxia along the thick ascending limb of rat kidneys. Kidey Int 47:1806-1810, 1995*

14) Kennedy WA, Buttyan, Sawczuk IS : *Epidermal growth factor suppresses renal tubular apoptosis following ureteral obstruction. I Am Soc Nephrol 4:738, 1993*

15) Edelstein CL, Ling H, Schrier RW : *The nature of renal cell injury. Kidney Int 51:1341-1351, 1997*