

저칼륨식에 의한 생쥐 콩팥에서 aquaporin-1과 urea transporter-B의 발현

정주영, 김완영, 류경아, 한기환, 차정호, 정진웅, 김진
가톨릭대학교 의과대학 해부학교실

저칼륨혈증은 임상에서 가장 흔히 접할수 있는 전해질 대사이상의 하나로, 콩팥에서 요붕증을 동반하는 하는 것으로 알려져 있으나 그 조절기전에 대하여는 잘 모르는 상태이다. 콩팥내 수질의 곧은혈관(vasa recta)은 대항류교환계로서 수분 및 요소의 재순환에 관여하여 수질의 고장성환경을 유지시킴으로서 요농축 기전에 중요한 역할을 한다. 수질의 곧은혈관은 내림가는부분(descending vasa recta)과 오름가는부분(ascending vasa recta)으로 이루어져 있다. 오름가는부분은 유창내피세포(fenestrated endothelial cell)로 이루어진 모세혈관으로서 수분과 요소의 이동이 자유스러운데 반하여, 내림가는부분은 연속내피세포(continuous endothelial cell)로 이루어져 있어 세포막에 수분통로(aquaporin, AQP)와 요소운반체(urea transporter, UT)가 있어 수분과 요소의 이동에 관여하는 것으로 알려져 있다. 수분통로인 AQP에는 현재까지 AQP-1부터 AQP10까지 10종류가 있는 것으로 알려져 있으며, 이중 AQP-1, -2, -3, -4, -6, -7, -8 등이 콩팥에서 발현되며, 내림가는부분의 내피세포에는 AQP-1이 위치한다. 요소운반체에는 UT-A(UT-A1, UT-A2 및 UT-A3)와 UT-B가 있으며, 이중 내림가는부분의 내피세포에는 UT-B가 위치한다. 이 연구에서는 저칼륨 식이에 의한 오줌농축기전의 파괴시 내림곧은혈관내 내피세포에서의 AQP-1 과 UT-B의 발현변화를 관찰함으로써 콩팥에서 일어나는 소변농축 능력의 변화에 대한 기전을 이해하고자 하였다.

실험동물로는 C57BL/6 생쥐를 사용하여, 저칼륨식을 2주간 투여한 후 대사상자(metabolic cage)에서 오줌의 양과 생화학적 자료를 측정하였으며, 콩팥조직을 periodate-lysine-2%paraformaldehyde로 관류고정한 후 50 μm 두께의 조직절편을 vibratome으로 제작한 후 1 nm 면역금입자 또는 DAB를 이용한 포매전면역조직화화법을 시행하였다.

2주간 저칼륨식을 투여한 결과 혈액내 K농도는 4.60mM/L에서 2.91mM/L로 감소하였으며, 오줌의 삼투압 역시 1918 mOsm/kgH₂O에서 833 mOsm/kgH₂O 로 유의성있게 감소하였다.

Table 1. Body weight, urine osmolality and concentration of Na, K and osmolality of serum in control and potassium deprivation mouse

	Control	K-depletion
Balance		
Body weight, g	22 ± 1.8	19 ± 1.1*
Kidney weight, g	0.18 ± 0.01	0.22 ± 0.03*
KW/BW, %	0.81 ± 0.05	1.15 ± 0.14*
Δ KW/BW, %	100	141.54 ± 15.36*
Water intake, ml/day	3.35 ± 1.25	8.33 ± 0.47*
Urine volume, ml/day	1.91 ± 0.66	4.25 ± 0.24*
Blood		
Plasma [Na], mM/L	155.4 ± 3.58	155 ± 2.88
Plasma [K], mM/L	4.60 ± 1.06	2.91 ± 0.2*
Plasma [Cl], mM/L	107.6 ± 4.88	103.71 ± 6.3
Urine		
Osmolality, mOsm/kgH ₂ O	1918.75 ± 173.58	833.67 ± 30.16*
Na excretion, μM/day	286.02 ± 22.55	349.92 ± 17.81
K excretion, μM/day	351.01 ± 15.87	81.6 ± 2.68*
Cl excretion, μM/day	307.03 ± 33.78	334.33 ± 21.75

Values are given as means ± SEM (n = 9 to 12); KW/BW, kidney weight as a percentage of total body weight; U_{OSM} values are different from each other (P < 0.001); Serum K⁺ concentration is decreased in potassium-deprivation animals (P < 0.05).

내림골은혈관에서 AQP-1은 바깥수질(outer medulla)과 속수질(inner medulla) 전부위에서 강하게 발현되는데 비하여, UT-B는 바깥수질(outer medulla)의 바깥띠(outer stripe) 부위에는 발현되지 않으며, 속띠(inner stripe)에서부터 강하게 발현되어 속수질 (inner medulla) 중간이하부터는 면역반응성이 점차 감소하였다. 전자현미경상 AQP-1과 UT-B는 내피세포의 자유면(apical plasma membrane)과 기저면(basolateral membrane) 세포막에 주로 분포하고 있었으며, 세포질에는 미약한 면역반응성을 띠었다. 그러나 내림골은혈관내 주위세포(pericyte)에서는 AQP-1과 UT-B에 대한 면역반응성을 관찰할 수 없었다.

저칼륨혈증시 AQP-1과 UT-B에 대한 면역반응성이 저하 되어있었으며, western blot에서도 같은 결과를 얻었다. 전자현미경상 내림골은혈관 내피세포의 세포막에서 AQP-1과 UT-B에 대한 면역금입자가 대조군에 비하여 감소되어 있었다. 한편 내림골은혈관 내피세포내에는 저칼륨혈증시 발생하는 독특한 구조물인 세포질작은방울(cytoplasmic droplet)로 차 있었으며, 이러한 세포질작은방울 주위에 UT-B에 대한 면역금입자가 관찰되었으나 (Fig. 1), AQP-1에 대한 면역금입자는 관찰되지 않았다 (Fig. 2).

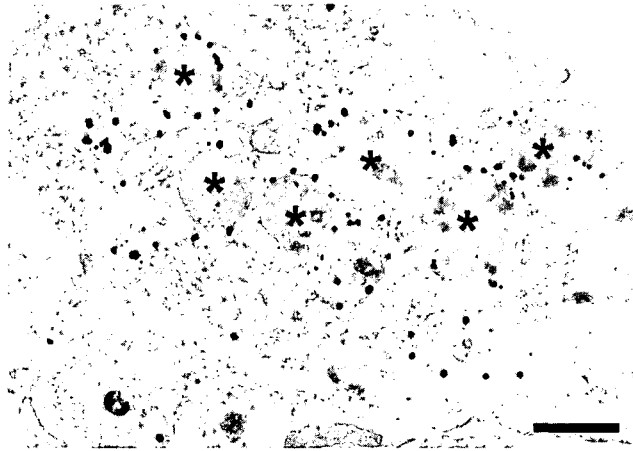


Fig. 1. Transmission electron microscopic localization of UT-B in the descending vasa recta (DVR) in the inner medulla of mouse kidney from potassium-depleted animals. UT-B immunostaining was found in the vesicular membrane of cytoplasmic droplets (asterisks). Bar = 1 μ m.



Fig. 2. Transmission electron microscopic localization of AQP-1 in the descending vasa recta (DVR) in the inner medulla of mouse kidney from potassium-depleted animals. UT-B immunostaining was observed in both apical and basolateral plasma membranes of the continuous endothelial cells of the DVR. Bar = 1 μ m.

이상의 결과로 보아 저칼륨식이에 의해 내림꾼은혈관내의 AQP-1과 요UT-B의 발현이 감소하며, 특히 UT-B는 세포막에서 세포질로 이동 함으로서 저칼륨혈증에서 발생하는 오줌농축능력의 변화에 이들이 중요한 인자로 작용할 것으로 생각한다.