

## 양극형 사이세포의 $H^+$ -ATPase에 대한 전자현미경적 면역세포화학적 특징

김완영, 이현욱, 송병국, 박은영, 정진웅, 김진  
가톨릭대학교 의과대학 해부학교실, 세포사멸질환연구센터

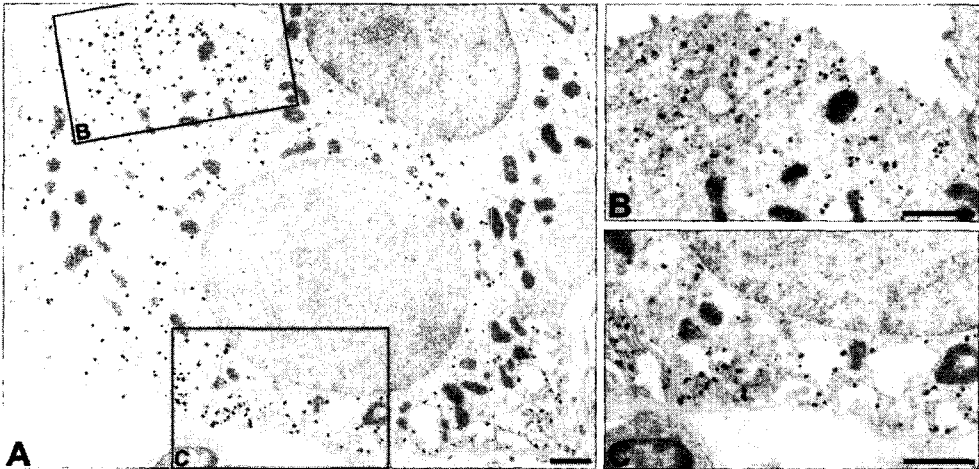
콩팥은 중탄산 이온( $HCO_3^-$ )의 재흡수와 비휘발성 산의 배설을 통하여 산-염기 평형을 조절한다. 연결세관과 집합관내 사이세포는  $HCO_3^-$ 재흡수 뿐 아니라 분비에 관여하여 산-염기 평형을 최종 조절하는 것으로 알려져 있다. 사이세포에서  $HCO_3^-$ 의 흡수와 분비는 두 종류의  $Cl^-/HCO_3^-$ -exchanger, 즉 anion exchanger 1 (AE1)과 pendrin에 의하여 이루어진다. 광학현미경적 면역조직화학법으로 사이세포는 AE1-양성/pendrin-음성 사이세포와 AE1-음성/pendrin-양성 사이세포로 나눌 수 있다. 기저외측세포막에 AE1를 가지고 있는 세포는 모두 자유면세포막에  $H^+$ -ATPase를 가지고 있는 A형 사이세포인 반면, AE1-음성세포는 모두 자유면세포막에 pendrin을 가지고 있으나  $H^+$ -ATPase의 위치에 따라 3가지 세포로 나눌 수 있다. 즉 pendrin-양성 사이세포는  $H^+$ -ATPase를 기저외측세포막에 가지고 있는 B형 사이세포, 기저외측세포막과 자유면세포막에 모두 가지고 있는 양극형 사이세포, 자유면세포막에 pendrin과 함께 가지고 있는 nonA-nonB형 사이세포로 분류할 수 있다. 본 연구에서는 이러한 pendrin-양성 사이세포 중 양극형 사이세포의 기능을 밝히는 실험의 일환으로 여러 가지 대사성 산증과 알카리증 및 발생과정에서  $H^+$ -ATPase의 세포내 위치를 전자현미경으로 관찰하였다.

항체는 pendrin (Dr. Soren Nielsen 제공, University of Aarhus, Aarhus, Denmark),  $H^+$ -ATPase (Dr. Dennis Ston 제공, University of Texas Southwestern, Dallas, Texas 아니면 Santa Cruz, Delaware, USA) 및 AE1에 대한 rabbit polyclonal antibody (Dr. Philip S. Low 제공, Purdue University, West Lafayette, IN 아니면 Alpha Diagnostic, San Antonio)를 이용하였다. 또한 연결세관과 피질집합관은 calbindin D28K와 aquaporin-2 (AQP-2)에 대한 rabbit polyclonal antibody (Chemicon Inc., Temecula, CA)를 사용하여 각각 표지하였다.

전자현미경 관찰을 위한 pendrin, AE1 및  $H^+$ -ATPase에 대한 면역염색은 1 nm protein gold를 이용한 포매전면역세포화학법을 사용하였다.

pendrin-양성 사이세포들은 모두 대사성 알카리증에서는 활성화되어 그 크기가 커져 있었으며, 대사성 산증에서는 비활성화되어 그 크기가 작아져 있었다. 활성화되거나 비활성화된 pendrin-양성 사이세포와 발생과정에서의 pendrin-양성 사이세포 모두에서

$H^+$ -ATPase에 대한 면역금입자는 다음과 같은 공통적인 특징을 가지고 있었다. 1) 기저외측세포막에  $H^+$ -ATPase를 가지고 있는 세포 중 자유면세포막에  $H^+$ -ATPase를 가지고 있는 세포는 없었다. 2) 기저외측세포막에  $H^+$ -ATPase를 가지고 있는 세포들은 핵상부 세포질에서 다양한  $H^+$ -ATPase 면역 반응성이 관찰되었다. 3) 자유면세포막에  $H^+$ -ATPase를 가지고 있는 세포에서는 기저외측세포막에서  $H^+$ -ATPase를 관찰할 수 없었다. 이러한 결과로 보아 광학현미경상 양극성을 띠는 사이세포는 B형 사이세포로서 생리적 상태에 따라 B형 사이세포가 활성화 되거나 비활성화 될 때 핵상부 세포질의  $H^+$ -ATPase가 증가한 결과로 생각된다. 또한 B형 사이세포에서  $H^+$ -ATPase는 핵상부세포질의 소포와 기저외측세포막 간에 이동이 이루어지는 것으로 생각한다.



**Fig. 1.** Transmission electron microscopic localization of vacuolar  $H^+$ -ATPase in type B intercalated cell.  $H^+$ -ATPase positive immunogold particles were located at supranuclear region and basolateral plasma membrane. Note that there was no  $H^+$ -ATPase positive immunogold particles on the apical plasma membrane. B & C were higher magnification of the area indicated by rectangle in A. Bar = 1  $\mu$ m.