

배양한 사구체 상피세포에서 고농도 당과 후기 당화합물에 의한 P-cadherin의 변화

충북대학교 의과대학 소아과학교실, 의학연구소*

하태선 · 구현희 · 이해수* · 윤옥자*

= Abstract =

High Glucose and Advanced Glycosylation Endproducts(AGE) Modulate the P-cadherin Expression in Glomerular Epithelial Cells(GEpC)

Tae-Sun Ha, M.D., Hyun-Hoe Koo, M.D., Hae-Soo Lee, B.S.* and Ok-Ja Yoon, B.S.*

Department of Pediatrics, Medical Research Institute,
Chungbuk National University, Cheongju, Chungbuk, Korea*

Purpose : Podocytes are critical in maintaining the filtration barrier of the glomerulus and are dependent on the integrity of slit diaphragm(SD) proteins including nephrin, P-cadherin, and others. Diabetic proteinuric condition demonstrates defects in SD molecules as well as ultrastructural changes in podocytes. We examined the molecular basis for this alteration of SD molecules especially on P-cadherin as a candidate regulating the modulation of pathogenic changes in the barrier to protein filtration.

Methods : To investigate whether high glucose and AGE induce changes in SD, we cultured rat GEpC under normal(5 mM) or high glucose(30 mM) and AGE- or BSA-added conditions and measured the change of P-cadherin expression by Western blotting and RT-PCR.

Results : We found that administration of high glucose decreased the P-cadherin production significantly in the presence or absence of AGE by Western blotting. In RT-PCR high glucose with or without AGE also significantly decreased the expression of P-cadherin mRNA compared to those of controls. Such changes were not seen in the osmotic control.

Conclusion : We suggest that high glucose with or without AGE suppresses the production of P-cadherin at the transcriptional level and that these changes may explain the functional changes of SD in diabetic conditions. (**J Korean Soc Pediatr Nephrol 2005;9:119-127**)

Key Words : Diabetic nephropathy, Advanced glycosylation endproducts, P-cadherin, Glomerular epithelial cells, Podocyte

이 연구는 2004년 한국과학재단 특정기초연구사업 (KOSEF, R01-2002-000-00251-0)의 보조로 수행되었음.

접수 : 2005년 9월 12일, 승인 : 2005년 9월 22일
책임저자 : 하태선, 충북 청주시 흥덕구 개신동 62
충북대학교병원 소아과
Tel : 043)269-6374 Fax : 043)264-6620
E-mail : tsha@chungbuk.ac.kr

서 론

당뇨병성 신병증은 당뇨병 환자 중 20-30% 가량에서 발생하는데, 임상적으로는 단백뇨와 점진적인 신기능 부전을 보이며 병리학적으로는 사구체 기저막의 비후 및 세포 외 기질의 증가와

혈관간세포의 비후를 보인다[1]. 특히, 당뇨병성 신병증에서 단백뇨의 발생은 사구체의 변화와 관련있는데, 사구체 기저막의 비대, 사구체 상피세포(glomerular epithelial cells, GEpC) 또는 족세포(podocyte)의 족돌기(foot process)의 확장, 탈락 또는 소실 등의 형태학적 이상을 보이고, non-proteoglycan 성분의 증가로 인한 integrity의 변화에 따른 크기장벽의 손상과 proteoglycan과 같은 음전하 성분 감소에 의한 전하장벽기능의 감소에 의해 단백뇨가 발생하는 것으로 설명한다[2-4]. 당뇨병성 신병증의 이러한 소견은 고혈당이나 이차적인 당화합단백 또는 비가역적 산물인 후기 당화합 최종생성물(advanced glycosylation endproducts, AGE)에 의해 유발된다[5, 6].

최근 20세기 후반의 분자유전학 분석의 발전에 힘입어 족돌기의 세극막(slit diaphragm)에 존재하는 특정 성분이 Finnish형 선천성 신증후군(Finnish type congenital nephrotic syndrome, CNF)의 유전적 결손 단백질이 밝혀지고 이를 nephrin으로 명명한 후[7] 사구체 족세포와 단백뇨 기전에 대한 연구가 다시 활발하게 이루

어지기 시작하였다. 특히 세극막의 주된 구성성분들은 nephrin, Neph1, podocin, FAT 등과 함께 P-cadherin이 세극막 골격을 이루고 이들은 ZO-1, CD2AP, alpha-catenin 등에 의해 사구체 족세포의 세포골격과 연결되어 있다[8-11](Fig. 1).

세극막의 한 성분으로 알려진 P-cadherin의 세포 외 부분은 HAV motif가 칼슘에 의해 연결되면서 양측 족돌기로부터 나와 세극막과 같은 zipper 구조를 이루며 세포 내 부분은 catenin family를 통하여 actin filament와 연결되어 족돌기와 간벽의 구조적, 기능적으로 역할을 수행한다[8, 11, 12]. 그러나 nephrin과는 달리 현재까지 당뇨병성 신병증을 포함한 사구체 질환에서 P-cadherin의 역할에 대한 연구는 드문 실정이다.

Bains 등[13]은 미세변화 증후군과 막성 사구체신염 환자의 신조직에서 대조군과 비교하여 간접 면역형광법으로 관찰한 cadherin의 발현에 의미있는 차이가 없었다고 보고하였다. 그러나 Singh 등[14]은 당화 단백질로 자극한 사구체 상피세포에서 cadherin 발현이 감소하였다고 보고

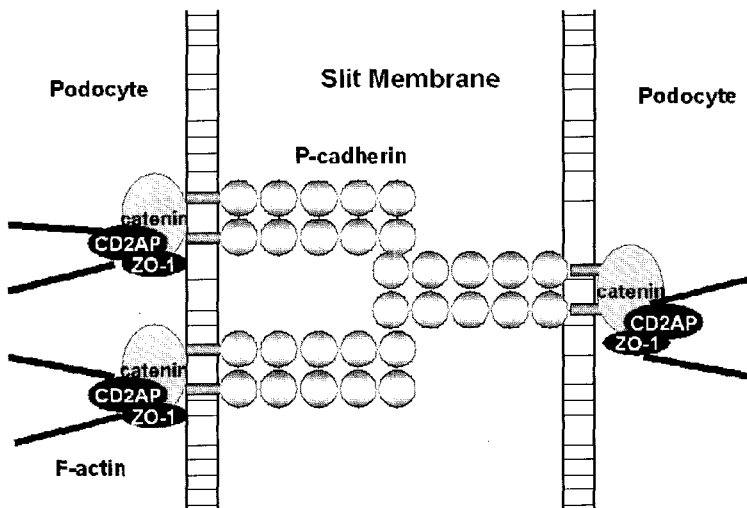


Fig. 1. P-cadherin is located in slit diaphragms and has been demonstrated to interact with the components of cell-cell junctions(α -catenin, ZO-1, etc.) and cytoskeletal networks(F-actin).

하였으나, 이들이 사용한 항체가 pan-cadherin에 대한 항체이었기 때문에 P-cadherin 단독의 변화를 관찰할 수는 없었을 것으로 생각된다. Xu 등[15]은 고농도 당으로 자극한 사구체 족세포에서 PKC를 통하여 P-cadherin 발현이 감소하였다고 보고하였다. 본 연구자들은 당뇨병성 신병증을 포함한 단백뇨 질환에서 자주 관찰할 수 있는 GEpC의 세극막 이상에 있어서 AGE와 당에 의한 P-cadherin의 변화를 생체 외 배양실험을 통하여 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

1. 백서 사구체 상피세포의 배양

Kreisberg가 성상을 확인하고 공여한 백서의 GEpC를 배양하여 실험에 이용하였다[16, 17]. 유지 배양액으로는 10% fetal bovine serum(FBS), 16.6 mM Hepes, 3.3 mM L-glutamine, 0.66 unit/mL insulin 그리고 antibiotics를 혼합한 RPMI 1640 배양액(GIBCO BRL, Gaithersburg, MD)을 사용하였고 background를 줄이기 위해 각각의 실험 전에 FBS 0.5%만을 첨가하였다. 배양액 교환은 3일에 한번씩 하였고 계대배양은 0.05% trypsin으로 이탈시킨 후 위의 배양액으로 다시 배양하였다[17, 18].

2. AGE와 당이 포함된 배양액 투여

흔히 당뇨병성 신병증의 배양실험 모델로서 주로 이용하는 당뇨병 환경으로는 5 mM 정도의 생리적 농도의 당과 30 mM 전후의 병리적 고농도의 당을 배양액에 혼합하여 흔히 비교한다. 따라서 전술한 유지배양액에 5 mM의 당에 insulin을 생리적 농도인 0.66 unit/mL를 포함시킨 배양액과 insulin을 섞지 않은 30 mM의 glucose를 배합한 배양액으로 48시간 동안 배양하여 이들 세포를 실험에 이용하였다. 이때 배양액은 4일에 한차례 교환하고 분리 전 background를 줄이기 위하여 FBS는 0.5%를 섞고 insulin은 생리학 적 농도의 당환경에서만 0.66 unit/mL를 혼합

하였다. 이에 대한 의미는 이전 논문에서 상세히 서술하였다[19]. AGE는 이전에 기술한 방법대로 준비한 것을 이용하였고 동시에 준비한 BSA를 control로 하여 5 μ g/mL의 농도로 배양액에 희석하여 투여하였다[18, 20, 21]. 이를 요약하여 배양액 속 당의 농도를 5 또는 30 mM로, AGE와 BSA를 첨가하고 osmotic control로서 당 5 mM에 mannitol 25 mM을 섞은 것을 조합하여 A5, A30, Aosm, B5, B30으로 group을 지었다[18, 21]. 각 군의 의미는 이전 논문에서 상세히 서술하였다[21, 22].

3. P-cadherin 단백질 측정

플라스틱 배양용기에 48시간 동안 배양한 각 조건의 세포들을 PBS로 2회 세척한 다음 세포분획을 4 M guanidinium-HCl, 2% CHAPS, 단백질효소억제제(100 mM 6-aminohexanoic acid, 10 mM benzamidine HCl, 1 mM phenylmethylsulfonyl fluoride)를 이용하여 4°C overnight 시켜 분리하였다. 세포분획의 단백질을 결정된 후 30 μ g을 8% polyacrylamide gradient gel에 분주하고 전기영동으로 분리시킨 후 1-3시간 동안 PVDF membrane에 전사시키고 5% skim milk를 포함한 TBST로 비특이적인 반응을 억제시켰다. 다음 전술한 polyclonal rabbit anti P-cadherin(Santa Cruz Biotechnology, Inc. CA, USA) 항체로 실온에서 1.5시간 동안 반응시키고 TBST(washing buffer)로 5-10분 간격으로 2-3회 세척한 다음, 이차항체로 HRP conjugated goat anti-rabbit IgG 항체(Santa Cruz Biotechnology, Inc. Santa Cruz, CA, USA)를 60분간 반응시키고 TBST로 세척한 후 LumiGLO chemiluminescent substrate를 이용하여 X-ray film에 노출시켰다. Band density를 densitometry(LabWorks 4.0, UVP, Inc. Upland, CA, USA)로 각각 측정하여 각 조건의 결과를 비교하였다.

4. P-cadherin에 대한 RT-PCR

48시간 동안 각 조건에서 배양한 GEpC의 RNA를 분리하기 위해 RNA isolation solution과 chloroform으로 추출 후 isopropanol과 3% sodium acetate, 100% ethanol을 이용하여 precipitation시킨 다음 전체 RNA를 분리하였다. 전체 RNA 5 µg의 농도로 M-MLV reverse transcriptase(Intron, Korea)과 oligo-dT(KDR, Korea), 2.5 mM dNTP(Intron, Korea), 그리고 증류수로 최종 20 µL로 부피를 맞춘 후 37°C에서 20분간 반응 후 90°C에서 효소의 반응을 불활성화시킨 후 합성된 cDNA를 주형으로 RT-PCR을 수행하였다. 사용한 백서의 P-cadherin sense의 염기서열은 5'-CTTACAATGGGGTGGTG-G-3'이고, antisense의 염기서열은 5'-GCCACGGTGAAATGATCC-3'이었으며 housekeeper로서 백서의 GAPDH sense의 염기서열은 5'-CTCTACCCACGGCAAGTTCAA-3'이고, antisense의 염기서열은 5'-GGATGACCTTGCC-CACAGC-3'이었고 Bionics(Korea)에 주문 제작하였다. 10× PCR buffer(Intron, Korea), 2.5 mM dNTP(Intron, Korea)과 각각의 특정 primer에 증류수를 더하여 전체 양을 50 µL으로 맞춘 후 94°C에서 5분간 가열한 다음 94°C 30초, 각각에 맞는 annealing 온도에서 30초간, 72°C에서 30초간 30 cycles을 시행하였다. 생성물을 1.5% agarose gel을 이용하여 각 시료의 PCR 생성물을 dye을 포함하여 15 µL의 양을 전기영동하고 ethidium bromide로 염색하여 UV light 하에서 polaroid film에 감광시키고 densitometry(LabWorks 4.0, UVP, Inc. Upland, CA, USA)로 각각 측정된 후 GAPDH의 값으로 보정하였다.

5. 통계적 분석

대조군과 함께 각 항목에 대하여 Western 분석은 5회, RT-PCR은 4회 실험한 후 결과를 비

모수적 Mann-Whitney U test 방법으로 통계 처리하였으며 *P*값이 0.05 미만일 때 통계학적으로 유의성을 두었다.

결 과

1. Western 분석을 이용한 P-cadherin 성분 측정

Bands는 118 kD 부위에서 관찰할 수 있었으며 actin양으로 교정한 후 B5 결과를 대조군으로 하여 각 군의 P-cadherin의 band density를 비교하였을 때 당을 첨가한 B30에서 50.4%의 감소 ($P < 0.01$), AGE를 추가한 조건인 A5와 A30에서 각각 7.4% ($P < 0.05$)와 30.4% ($P < 0.01$)의 의미 있는 감소를 보였다(Fig. 2). 이러한 감소 소견은 osmotic control(Aosm)에서는 관찰할 수 없었다. 따라서 고농도의 당은 GEpC의 P-cadherin의 단백량을 의미 있게 감소시키고 이는 AGE를 첨가하여도 의미 있게 감소시키며 이는 단순한 삼투압효과가 아닌 당과 AGE에 의한 효과임을 알 수 있었다.

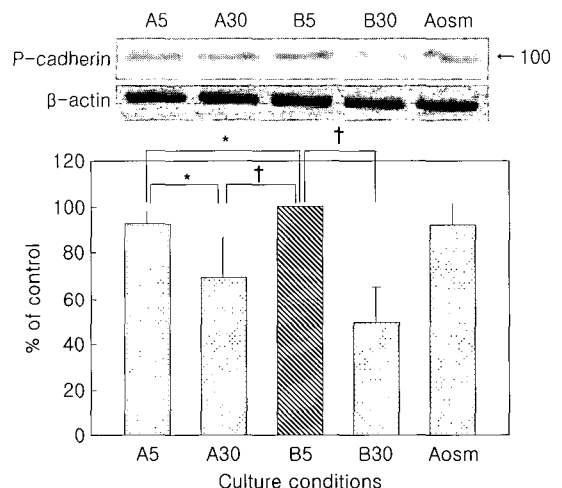


Fig. 2. Effects of glucose and AGE on cellular P-cadherin protein levels of cultured glomerular epithelial cells assayed by Western blotting (n=5). Values for P-cadherin protein and a representative immunoblot showing decreased cellular P-cadherin protein levels in A5, A30, and B30 conditions. Control(100%); the value of B5. * $P < 0.05$ and † $P < 0.01$, compared with the value for B5.

2. RT-PCR을 통한 P-cadherin의 expression 측정

P-cadherin에 대한 PCR 생성물을 397 base pairs에서 확인할 수 있었으며 P-cadherin mRNA의 표현양을 GAPDH mRNA의 표현양으로 교정한 후 B5의 결과에 대한 각 군의 결과를 비교하였다. RT-PCR에 의한 P-cadherin의 band density는 고농도의 당을 첨가한 B30에서 40.3%의 감소($P<0.01$), A30에서 27.2%의 유의 있는 감소($P<0.01$)를 보였다(Fig. 3). A5에 비하여 A30에서도 유의 있는 감소를 보였다($P<0.05$). 이러한 감소 소견은 osmotic control (Aosm)에서는 관찰할 수 없었다. 즉, 고농도의 당은 유전자 수준에서 GEpC의 P-cadherin의 생성을 의미 있게 감소시키고 이는 AGE를 첨가하여도 의미 있게 감소시키며 이는 단순한 삼투압 효과가 아닌 당에 의한 효과임을 알 수 있었다.

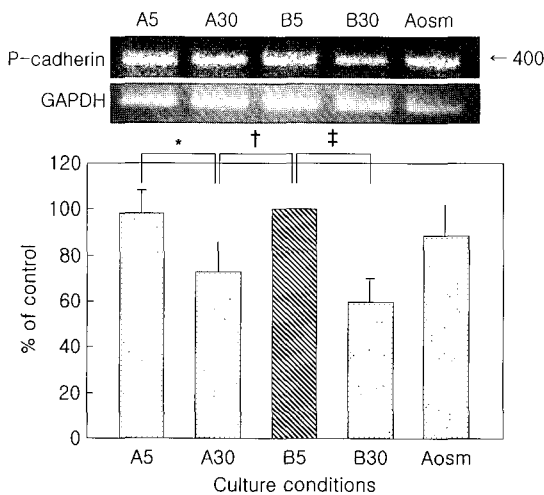


Fig. 3. Effects of glucose and AGE on the mRNA expression of P-cadherin of cultured glomerular epithelial cells assayed by RT-PCR. Values for mRNA expression of P-cadherin and a representative gel showing decreased RT-PCR products of P-cadherin in A30 and B30 conditions (n=4). Control (100%); the value of B5. * $P<0.05$, the value of A30 compared with that for A5 and † $P<0.01$, compared with the value for B5 and ‡ $P<0.05$, B5 vs. B30.

고 찰

GEpC은 사구체 기저막의 외측면을 감싸면서 여과 기능과 함께 단백질 소실의 최종 장벽을 형성하기 때문에 이것이 손상되면 단백뇨가 발생한다[23]. 단백뇨를 동반하는 질환에서 자주 관찰할 수 있는 족세포 족돌기의 확장, 탈락과 소실 등의 형태학적 변화의 기전은 족세포간의 세극막의 변화, 족세포와 사구체 기저막간의 변화, 음이온을 띠고 있는 족세포의 apical membrane domain의 변화, 족세포의 세포골격을 담당하는 actin과 이와 연관된 단백질의 변화 또는 족세포의 분화에 관여하는 조절물질의 이상으로 설명한다 [10, 11, 23, 24]. 이 중 세극막은 서로 다른 족세포로부터 나온 인접한 족돌기들 사이를 연결하는 유일한 구조로서, 간상체(rod-like units)들이 지퍼형태의 선상구조를 이루고 있다[8, 25]. 전형적 상피세포는 분자량이 큰 물질들이 세포간 공간을 통과하지 못하게 하는 폐쇄소대나 zonulae occludentes와 복합체를 이루고 있으므로 세극막도 폐쇄소대의 일종이라고도 여겨졌으나, 사구체의 족세포는 이러한 소대나 세포간 공간 대신 서로 맞물려 있는 족돌기로 구성된 세극막을 가지고 있으면서 분자들의 통과를 용이하게 하므로 전형적 폐쇄소대라기 보다는 변형된 점착소대로 여겨진다[8, 26].

최근 몇 년 사이의 연구에서 세극막 부위에 존재하는 여러 가지 단백질로서 nephrin, ZO-1, P-cadherin, FAT, podocin, catenin, CD2AP 등이 밝혀졌고(Fig. 1), 이러한 분자들의 변화가 사구체 질환에서 단백뇨의 병인일 수 있다고 추측되고 있다[10, 11, 23, 24]. 이 중에 nephrin은 세극막을 구성하는 단백 중 최초로 보고된 단백질로[7], 사구체 여과기능을 유지하는데 중요한 역할을 한다고 밝혀져 있으며[24, 27], 핀란드형 선천성 신증후군 환자에서 돌연변이를 보이는 NPHS1 유전자의 산물이다[7, 28].

Cadherin 족은 대부분의 장기에서 상피세포조직의 세포와 세포 사이 부착에 관여하는 칼슘-의존적 당단백으로, 상피 조직의 구조 유지, 조직의 발생, 그리고 일부 악성 종양 세포의 전이 등에 중요한 역할을 한다[29, 30]. 전형적 cadherin을 조직특이성에 따라 E(epithelial)-, N(neural)-, VE(vascular endothelial)- 그리고 P(placental)-cadherin 등으로 분류한다[31, 32]. E-cadherin은 대부분의 상피세포, N-cadherin은 신경세포에, VE-cadherin은 혈관내피세포에 존재하며, P-cadherin은 태반 외에 피부와 전립선의 기저세포층에 국한하여 존재한다[12, 31, 32]. 사구체에도 E-, P-, R-cadherin이 초기 생식 시기에 주로 존재하는 것으로 보고되었지만[8, 33, 34], 정상 상태나 병적 상태에서 이들 cadherin의 역할에 대해서는 거의 알려진 바가 없다. Nakopoulou 등[35]은 E-cadherin이 주로 사구체의 상피세포에서 발현되며, 증식성 사구체신염 환자에서 E-cadherin의 발현이 증가되었다는 보고하였으나, Yaoita 등[33]은 신생백서에서 사구체 상피세포에 보이던 pan-cadherin 염색이 성숙한 백서 뿐 아니라 puromycin aminonucleoside nephrosis에서도 pan-cadherin의 존재를 발견할 수 없었다고 하였다. 그러나 이들이 목표 단백질과 사용한 항체가 서로 다르고 특이성 정도도 확인하기 힘들다. 한편, 세극막의 골격 역할을 하는 것으로 알려져 있는 P-cadherin의 변화에 대한 연구는 거의 없는 실정이다.

P-cadherin은 세포 사이의 부착에 관여하는 당단백인 전형적 cadherin 족의 하나로, 피부와 전립선의 기저세포, 유선의 근상피세포, 그리고 사구체에 존재하는데, 사구체 내에서는 세극막에 존재하는 것으로 미루어 P-cadherin이 세극막의 골격 역할과 동시에 nephrin과 같은 단백질과 연관되어 여과 선택성 유지에 관여할 것으로 여겨지고 있다[8, 12]. 그러나 nephrin과는 달리 단백질과 P-cadherin 사이의 연관성을 증명한 연구는 거의 없는 실정이다. Singh 등[14]은 당화 단백질

(glycated protein)으로 자극한 사구체 상피세포에서 cadherin 발현이 감소하였다고 보고하였으나, Bains 등[13]은 간접면역형광법으로 관찰한 cadherin의 발현을 대조군 신조직과 비교하여 미세변화 증후군과 막성 사구체신염 환자의 신조직에서 의미있는 차이를 발견할 수 없었다고 하였으며, Yaoita 등[33]은 신생백서에서 사구체 상피세포에 보이던 pan-cadherin 염색이 성숙한 백서 뿐 아니라 puromycin aminonucleoside nephrosis에서도 pan-cadherin의 존재를 발견할 수 없었다고 하였다. 그러나 이들이 사용한 항체가 pan-cadherin에 대한 항체이었기 때문에 P-cadherin 단독의 변화를 의미할 수는 없었을 것으로 생각되며 이들 항체가 서로 다르고 특이성 정도도 확인하기 힘들다. 그러나 Xu 등[15]은 P-cadherin에 대한 항체를 사용하여 고농도 당에 의해 사구체 족세포의 P-cadherin 단백질양의 감소를 확인하였고 mRNA의 발현감소도 보고하였다. 특히 이들의 보고는 본 연구결과와 매우 유사하나 고농도 당을 7일이나 노출시켜 내부 유래 당화합물의 역할도 있으리라 사료된다. 또한, nephrin이 결여된 핀란드형 선천성 신증후군에서 P-cadherin이 정상적으로 표현된다는 사실[36]과 P-cadherin 결여 마우스에서 심한 단백질뇨가 동반되지 않는다는 사실[37]로 미루어 단백질뇨의 발생과 P-cadherin 사이에 밀접한 관계가 없을 것으로 생각할 수도 있다. 그러나, Xu 등[15]은 실험적 당뇨병성 신병증모델에서 단백질뇨와 함께 사구체 족세포 부위의 P-cadherin 단백질염색의 감소를 확인하였다. 또한 Otero 등[38]은 본 연구에서 사용한 AGE에 의하여 배양한 혈관내피세포에서 이들 세포의 접착에 중요한 VE-cadherin의 의의 있는 감소를 확인하여 혈관 투과성의 증가를 설명하였다.

따라서 본 연구자가 이전 실험에서 확인한 AGE에 의한 실험적 사구체 여과모델에서의 투과율 증가[39]와 Otero 등[38]의 AGE에 의한 혈관내피세포간 cadherin의 감소와 혈관 투과성의

증가결과와 함께 본 연구에서의 GEPc의 P-cadherin에 대한 결과를 종합하면, 당뇨병환에서 사구체투과율의 증가에 있어서 최소한 부분적으로 고농도의 당과 AGE에 의한 P-cadherin의 유전자 수준에서의 억제에 의한 단백질의 생성 감소에 따른 세극막 성분의 변화로서 설명할 수 있을 것이다. P-cadherin 외에도 다른 세극막 관련성분의 변화는 계속 연구 중에 있으며[21, 22], 추후 이의 변화 기전에 대한 연구가 필요하리라 사료된다.

한 글 요 약

목 적 : 단백뇨 질환에서 볼 수 있는 사구체 상피세포(glomerular epithelial cells, GEPc) 죽들기 사이에 위치한 세극막(slit diaphragm)의 P-cadherin의 당뇨조건에 따른 병리학적 변화를 알아보고자 하였다.

방 법 : 백서 GEPc을 배양하고 고농도의 당과 후기당화합물(advanced glycosylation endproducts, AGE)을 적용하여 당뇨병 환경에 가까운 조건을 설정한 후, P-cadherin 단백질양은 Western 분석으로, 유전자 표현의 변화는 RT-PCR로 관찰하였다. 실험군은 당의 농도를 5 또는 30 mM로, AGE와 BSA를 첨가하고 osmotic control로서 당 5 mM에 mannitol 25 mM을 섞은 것을 조합하여 A5, A30, B5, B30, Aosm로 하였다.

결 과 : P-cadherin 단백질양은 B5 결과를 대조군으로 비교하여 당을 첨가한 B30에서 50.4%의 감소, AGE를 추가한 조건인 A5와 A30에서 각각 7.4%와 30.4%의 의미 있는 감소를 보였다. 또한 P-cadherin mRNA의 표현은 B30에서 40.3%의 감소, A30에서 27.2%의 의미 있는 감소를 보였다. 이러한 감소 소견은 osmotic control(Aosm)에서는 관찰할 수 없었다.

결 론 : 고농도의 당과 AGE에 의한 GEPc의 P-cadherin을 유전자 수준에서의 억제로 단백질의

생성 감소를 초래함으로써, 당뇨병환에서 세극막 성분의 변화를 설명할 수 있으며, 추후 이의 변화 기전에 대한 연구가 필요할 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

- 1) Fauci AS, Braunwald E, Isselbacher KJ, Wilson JD, Martin JB, Kasper DL, et al. Pathogenetic mechanisms of glomerular injury. In: Brady HR, Brenner BM, editors. Harrison's Internal Medicine. 14th ed. New York: McGraw-Hill Co, 1998:1534-6.
- 2) Scandling J, Myers B. Glomerular size-selectivity and micro-albuminuria in early diabetic glomerular disease. *Kidney Int* 1992;41:840-6.
- 3) Westberg NG, Michael AF. Human glomerular basement membrane chemical composition in diabetes mellitus. *Acta Med Scand* 1973;194:39-47.
- 4) Ha TS. Researches on the pathophysiology of proteinuria in diabetic nephropathy. *Korean J Pediatr* 1998;41(Suppl 1):69-74.
- 5) Sharma K, Ziyadeh FN. Biochemical events and cytokine interactions linking glucose metabolism to the development of diabetic nephropathy. *Semin Nephrol* 1997;17:80-92.
- 6) Vlassara H. Protein glycation in the kidney: Role in diabetes and aging. *Kidney Int* 1996;49:1795-804.
- 7) Tryggvason K. Unraveling the mechanisms of glomerular ultrafiltration: nephrin, a key component of the slit diaphragm. *J Am Soc Nephrol* 1999;10:2440-5.
- 8) Reiser J, Kriz W, Kretzler M, Mundel P. The glomerular slit diaphragm is a modified adherens junction. *J Am Soc Nephrol* 2000; 11:1-8.
- 9) Mundel P, Shankland SJ. Podocyte biology and response to injury. *J Am Soc Nephrol* 2002;13:3005-15.
- 10) Asanuma K, Mundel P. The role of podocytes in glomerular pathobiology. *Clin Exp Nephrol* 2003;7:255-9.
- 11) Ha TS, Park KB. Pathophysiology of Proteinuria. *Korean J Pediatr* 2004;47(Suppl 4):

- 877-85.
- 12) Shimoyama Y, Hirohashi S, Hirano S, Noguchi M, Shimosato Y, Takeichi M, et al. Cadherin cell adhesion molecules in human epithelial tissues and carcinomas. *Cancer Res* 1989;49:2128-33.
 - 13) Bains R, Furness PN, Critchley DR. A quantitative immunofluorescence study of glomerular cell adhesion proteins in proteinuric states. *J Pathol* 1997;183:272-80.
 - 14) Singh AK, Mo W, Dunea G, Arruda JA. Effect of glycated proteins on the matrix of glomerular epithelial cells. *J Am Soc Nephrol* 1998;9:802-10.
 - 15) Xu ZG, Ryu DR, Yoo TH, Jung DS, Kim JJ, Kim HJ, et al. P-Cadherin is decreased in diabetic glomeruli and in glucose-stimulated podocytes in vivo and in vitro studies. *Nephrol Dial Transplant* 2005;20:524-31.
 - 16) Kreisberg JI, Hoover RL, Karnovsky MJ. Isolation and characterization of rat glomerular epithelial cells in vitro. *Kidney Int* 1978;14:21-30.
 - 17) Song CJ, Ha TS, Lee HS, Yoon OJ. Effects of angiotensin II on glomerular epithelial cells permeability model; role of oxidative stress. *Korean J Nephrol* 2004;23:396-404.
 - 18) Ha TS. Effects of high glucose and advanced glycosylation endproducts(AGE) on the α -actinin-4 expressed by glomerular epithelial cells(GEpC). *Korean J Nephrol* 2004;23:694-702.
 - 19) Ha TS, Duraisamy S, Faulkner JL, Kasinath BS. Regulation of glomerular endothelial cell proteoglycans by glucose. *J Korean Med Sci* 2004;19:245-52.
 - 20) Ha TS, Kim HS. Effects of advanced glycation endproducts on rat glomerular epithelial cells: Roles of reactive oxygen species. *Korean J Nephrol* 2003;22:285-93.
 - 21) Ha TS. High glucose and advanced glycosylation endproducts(AGE) modulate the CD2AP expression in glomerular epithelial cells(GEpC) *Korean J Nephrol* 2005;24(in press).
 - 22) Ha TS, Lee JS, Lee HS, Yoon OJ. Effects of high glucose and advanced glycosylation endproducts(AGE) on the ZO-1 expression in glomerular epithelial cells(GEpC). *J Korean Soc Pediatr Nephrol* 2004;8:138-48.
 - 23) Chugh SS, Kaw B, Kanwar YS. Molecular structure-function relationship in the slit diaphragm. *Semin Nephrol* 2003;23:544-55.
 - 24) Oh J, Reiser J, Mundel P. Dynamic (re) organization of the podocyte actin cytoskeleton in the nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2004;19:130-7.
 - 25) Rodewald R, Karnovsky MJ. Porous substructure of the glomerular slit diaphragm in the rat and mouse. *J Cell Biol* 1974;60:423-33.
 - 26) Schnabel E, Anderson JM, Farquhar MG. The tight junction protein ZO-1 is concentrated along slit diaphragms of the glomerular epithelium. *J Cell Biol* 1990;111:1255-63.
 - 27) Dreyer SD, Morello R, German MS, Zabel B, Winterpacht A, Lunstrum GP, et al. LMX1B transactivation and expression in nail-patella syndrome. *Hum Mol Genet* 2000;9:1067-74.
 - 28) Tryggvason K, Wartiovaara J. Molecular basis of glomerular permselectivity. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2001;10:543-9.
 - 29) Grunwald GB. The structural and functional analysis of cadherin calcium-dependent cell adhesion molecules. *Curr Opin Cell Biol* 1993;5:797-805.
 - 30) Vleminckx K, Vakaet L Jr, Mareel M, Fiers W, van Roy F. Genetic manipulation of E-cadherin expression by epithelial tumour cells reveals an invasion suppressor role. *Cell* 1991;66:107-19.
 - 31) Geiger B, Ayalon O. Cadherins. *Annu Rev Cell Biol* 1992;8:307-32.
 - 32) Goodwin M, Yap AS. Classical cadherin adhesion molecules: coordinating cell adhesion, signaling and the cytoskeleton *J Mol Histol* 2004;35:839-44.
 - 33) Yaoita E, Sato N, Yoshida Y, Nameta M, Yamamoto T. Cadherin and catenin staining in podocytes in development and puromycin aminonucleoside nephrosis *Nephrol Dial Transplant* 2002;17(Suppl 9):16-9.

- 34) Goto S, Yaoita E, Matsunami H, Kondo D, Yamamoto T, Kawasaki K, et al. Involvement of R-cadherin in the early stage of glomerulogenesis. *J Am Soc Nephrol* 1998;9:1234-41.
- 35) Nakopoulou L, Lazaris ACh, Boletis IN, Michail S, Giannopoulou I, Zeis PM, et al. Evaluation of E-cadherin/catenin complex in primary and secondary glomerulonephritis. *Am J Kidney Dis* 2002;39:469-74.
- 36) Ruotsalainen V, Patrakka J, Tissari P, Reponen P, Hess M, Kestila M, et al. Role of nephrin in cell junction formation in human nephrogenesis. *Am J Pathol* 2000;157:1905-16.
- 37) Radice GL, Ferreira-Cornwell MC, Robinson SD, Rayburn H, Chodosh LA, Takeichi M, et al. Precocious mammary gland development in P-cadherin-deficient mice. *J Cell Biol* 1997;139:1025-32.
- 38) Otero K, Martinez F, Beltran A, Gonzalez D, Herrera B, Quintero G, et al. Albumin-derived advanced glycation end-products trigger the disruption of the vascular endothelial cadherin complex in cultured human and murine endothelial cells. *Biochem J* 2001;359:567-74.
- 39) Ha TS. Effects of high glucose and advanced glycosylation endproducts(AGE) on the in vitro permeability model using semi-permeable membrane. (abstract) *J Am Soc Nephrol* 2001;12:835A.