

당뇨병성 신증에서 퍼록시솜 증식 활성화 수용체 감마 촉진제, 안지오텐신 II 수용체 억제제 및 알파-리포산이 신장 혈관 내피세포 성장인자의 발현에 미치는 영향

연세대학교 원주의과대학 내과학교실, 건국대학교 내과학교실¹, 순천향대학교 내과학교실²

고장현·이 연·김미진¹·신영구·이은영²·정춘희

Effect of Peroxisome Proliferator Activated Receptor- γ Agonist, Angiotensin II Receptor
Blocker and α -lipoic Acid on Renal VEGF Expression in Diabetic Nephropathy

Jang Hyun Koh, Yeon Lee, Mi Jin Kim, Young Goo Shin,
Eun Young Lee, and Choon Hee Chung

Department of Internal Medicine, Yonsei University Wonju College of Medicine, Wonju Korea

Department of Internal Medicine, Konkuk University College of Medicine, Seoul, Korea¹

Department of Internal Medicine, Soonchunhyang University College of Medicine, Cheonan, Korea²

- Abstract -

Background: Diabetic nephropathy is one of the most serious complications in diabetes mellitus, and it is the leading cause of end stage renal disease. It has been reported that angiotensin converting enzyme inhibitor (ACEi) reduces the vascular endothelial growth factor (VEGF) expression, and so it plays an important role in reducing the renal damage. Peroxisome proliferator activated receptor- γ (PPAR- γ) agonist is known to reduce insulin resistance in type 2 diabetic patients. In the previous study, PPAR- γ agonist was shown to lower VEGF expression in the retina, but it increased the plasma VEGF level. Alpha-lipoic acid (α -LA), which is an antioxidant, lowers the increased level of VEGF in retina as well. The precise role of PPAR- γ agonist and α -LA on renal VEGF expression in diabetic nephropathy is still uncertain. We studied the effect of PPAR- γ agonist, angiotensin II receptor blocker (ATIIIRB) and α -LA on the renal VEGF expression in diabetic rats.

Methods: We used 60 Sprague-Dawley male rats, those were 8 weeks old and weighted about 300 g each as the study subjects. Among them, 48 rats were chosen and injected with streptozotocin (70 mg/kg) into peritoneal cavity to induce diabetes mellitus. The rats were then divided into 5 groups. Group I was a normal control group (n=12), group II was diabetic control group (n=12), group III

was diabetic group that was given with PPAR- γ agonist (n=12), group IV was the diabetic group that was given ATIIRB (n=12), and group V was the diabetic rats that were given α -LA (n=12). We measured their body weight, blood glucose levels, 24 hour urine protein and albumin levels at the baseline, the 8th and the 16th weeks of the experiment. On the 16th weeks of our experiment we extracted the kidneys to measure the glomerular volume, the optical density of the VEGF staining and VEGF mRNA expression.

Results: At the beginning of the study, the 5 groups all showed similar 24 hour urine albumin levels. At the 8th week, group II showed an increased urine albumin level of 143.4 ± 117.2 mg/day; this was greater than that of group IV (60.7 ± 30.6 mg/day) ($p < 0.05$). The glomerular volume and optical densities of VEGF expression were significantly reduced in group III, IV and V compared to group II. For group IV and V, the renal VEGF mRNA expression was significantly lower than that of group II, but group III showed no significant difference. from group II.

Conclusion: Angiotensin II receptor blocker delayed the progression of diabetic nephropathy. PPAR- γ agonist and α -lipoic acid did not have any protective effect against the progression of diabetic nephropathy in spite of the decreased VEGF expression noted in this study (*J Kor Diabetes Assoc* 28:367 ~ 376, 2004).

Key Words: Diabetes mellitus, Diabetic nephropathy, VEGF, Angiotensin II receptor blocker, Peroxisome proliferator activated receptor- γ agonist, α -Lipoic acid

서 론

당뇨병성 신증은 당뇨병의 합병증 중 가장 심각한 것으로 말기 신부전증의 가장 많은 원인에 속한다¹⁾. 당뇨병성 신증은 초기에 신장의 용적이 증가하고 단백뇨 배설이 증가하며 이후 사구체 간질의 비후, 세포의 기질 축적, 그리고 사구체 경화증으로 진행하게 되며 여기에 고혈당과 고혈압이 이러한 변화를 유발하는 중요한 요인이 된다. 이러한 신장의 손상기전에 있어서 transforming growth factor- β (TGF- β), epidermal growth factor (EGF), vascular endothelial growth factor (VEGF), insulin-like growth factor-1 (IGF-1) 등의 여러 cytokine들이 당뇨병에 의한 신손상을 매개하는 것으로 알려져 있다²⁾.

이중 VEGF는 4개의 isoforms으로 구성된 glycoprotein으로 신장의 상피세포에서 발현되며 신생혈관 형성에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. VEGF는 Senger 등 (1983년)에 의해 혈관투과성 인자로서

처음 알려졌으며 다수의 과증식성 질환에서 그 발현이 증가한다³⁾. VEGF는 당뇨병성 망막병증의 병인에 중요한 역할을 하며 angiotensin-converting enzyme inhibitor (ACEi)가 VEGF의 발현을 감소시킬 수 있다고 보고되고 있다^{3~6)}. VEGF는 당뇨병성 신증에서 사구체 과다여과와 단백뇨 발생의 중요한 매개체로 작용하며 안지오텐신II 수용체 억제제 (angiotensin II receptor blocker, ATIIRB)투여는 VEGF의 발현을 억제하여 당뇨병성 신증을 경감시킨다고 알려져 있다^{7,8)}.

당뇨병 환자에서 인슐린저항성을 개선시키는 작용이 있는 퍼옥시솜 증식 활성화 수용체 감마 자극제 (peroxisome proliferator activated receptor- γ agonist, PPAR- γ agonist)는 망막에서 VEGF의 발현을 억제하여 신생혈관의 형성을 억제한다^{9,10)}. 그러나 혈관 평활근 세포 및 지방세포에서는 PPAR- γ agonist가 VEGF 분비를 증가시키고 혈장 VEGF 농도를 증가시킨다는 상반된 보고가 있다^{11,12)}.

한편 항산화제의 하나인 알파-리포산 (α -lipoic acid,

α -LA)은 알부민뇨를 개선시키고 망막에서 증가된 VEGF를 낮춰 당뇨병성 망막병증의 발현 또는 진행을 예방하고 초기의 사구체 손상을 예방한다고 보고되고 있다^{13~15)}. 저자는 당뇨병성 신증을 유발시킨 쥐에서 PPAR- γ agonist, AT IIRB와 α -LA의 투여가 신장 VEGF 발현에 미치는 영향을 관찰하고자 하였다.

대상 및 방법

1. 재료

체중 약 300 g의 생후 8주된 수컷 흰쥐 (Sprague-Dawley rat) 60 마리를 준비하여 체중을 측정한다 다음 대사우리에 넣어 24시간 소변을 모아 기저 소변 단백을 측정하였다. 12마리를 정상 대조군으로 구분 후 나머지 48마리에 당뇨병을 유발시키기 위하여 streptozotocin (Sigma chemical Co., St. Louis, MD, USA)을 70 mg/kg의 용량으로 복강내로 주사하였으며, 1주 후에 꼬리에서 채취한 혈액으로 측정한 혈당이 11.1 mmol/L 이상이면 당뇨가 유발된 것으로 보았다.

당뇨군을 무작위로 4군으로 구분하여 PPAR- γ agonist (rosiglitazone, GSK)투여군, AT IIRB (L-158,809, MSD Korea)투여군, α -LA (thioctacid, 부광약품)투여군과 어느 약물도 투여하지 않은 군으로 구분하였다. 각 군의 특징은 다음과 같다.

I 군은 정상쥐 대조군, II군은 당뇨쥐 대조군, III군은 당뇨쥐 PPAR- γ agonist 투여군으로 증류수에 섞은 rosiglitazone을 식수로 5 mg/kg/day 투여하였고, IV군은 당뇨쥐 AT IIRB 투여군으로 증류수에 섞은 L-158,809를 식수로 30 mg/kg/day 투여하였고, V군은 당뇨쥐 α -LA 투여군으로 증류수에 섞은 thioctacid를 식수로 30 mg/kg/day 투여하였다. 각 군의 쥐는 모두 12 마리씩이었다.

2. 방법

1) 기초 자료 수집

8주 간격으로 총 3회 체중을 측정하였으며 혈당 조절을 위해 매주 1회 자가 혈당 측정기 (Surestep, Lifescan Inc., MA, USA)로 혈당을 측정하였고 필요시 인슐린 (Humulin-N, Lilly, IN)을 0.2 ~ 0.3 U/kg로 근육주사하였다.

8주 간격으로 총 3회 대사우리에서 24시간동안 사육하여 24시간 소변을 채취하여 소변 단백질 (Nephurat, Exocell Inc., PA, USA)을 측정하였다.

2) 신장의 적출

실험 16주에 쥐를 에테르로 마취하고 복부를 절개하여 양측 신장을 적출한 다음 단축을 따라 두 부분으로 절단하였다. 모든 신장의 한쪽 절반을 4% paraformaldehyde용액에 48 시간 이상 고정시킨 후 파라핀에 포매하였고 나머지 절반은 질소용액으로 급속 냉동시켜서 보존하였다.

3) 신장 사구체의 용적 산출

파라핀에 포매된 조직을 5 μ m 두께로 절편을 만들어 hematoxylin and eosin 염색을 한 후 image analyzer (SIS, GmbH 3.0 software)를 이용하여 각 군에서 사구체의 용적을 측정하였다. Charged coupled device camera (Pulnix, MA, USA)를 부착시킨 광학현미경 하에서 관찰된 사구체의 화상을 컴퓨터의 모니터로 전송하고 image analyzer를 이용하여 사구체의 면적을 구한 다음 그 평균면적을 이용하여 Weibel과 Gomez의 방법에 의하여 다음의 공식으로 각 사구체의 용적 (V_G)을 산출하였다.

$$\text{Glomerular volume } (V_G) = \text{Area}^{1.5} \times 1.38 / 1.01$$

(1.38: shape coefficient, 1.01: size distribution coefficient)

4) 신조직에서의 VEGF 면역조직화학 검사

신장을 적출하여 4% paraformaldehyde에 고정한 후 수세, 탈수 및 파라핀 포매 과정을 거친 후 5 μ m 두께로 연속 절편을 제작하였다. 이렇게 얻어진 신장 조직 절편을 pH 6.0의 10 mm/L citrated buffer로 옮긴 후 증류수로 세척하고 0.05% H_2O_2 -methanol에 15 분간 처리하였다. 전처리를 마친 조직 절편에 1차 항체인 monoclonal anti-VEGF antibody (Santa Cruz Biotechnology Inc., SC, USA)를 실온에서 1:1000으로 희석하여 첨가하였다. rat ABC staining system (Santa Cruz Biotechnology Inc., SC)에 있는 biotinylated secondary antibody를 첨가한 뒤 avidin and biotinylated horseradish peroxidase (ABC reagents)

Table 1. Changes in Body Weight (Gram)

Group	Basal	8th week	16th week
I. Normal	328.6±5.6	447.9±23.9	484.4±38.2
II. DM	330.8±16.7	344.8±44.0*	396.3±34.3†
III. DM + PPAR- γ agonist	330.4±6.6	341.6±53.8*	432.7±58.4
IV. DM + ATIIRB	333.1±8.8	312.0±20.2*	376.2±26.2†
V. DM + α -LA	329.1±15.0	303.1±22.5*	373.0±21.6†

Data express mean±SD.

* : p<0.05 compared with group I

†: p<0.05 compared with group I.

를 처리하였다. 이 조직 절편을 0.01% H₂O₂를 포함하는 0.05% 3', 3'-diaminoben-zidine (DAB)로 발색시켰다. 염색된 조직은 charged-coupled devices camera (Pulnix, MA)를 부착시킨 광학현미경 하에서 관찰하여 사구체의 화상을 컴퓨터의 모니터로 전송하고 image analyzer를 이용하여 사구체에서 염색된 VEGF의 optical density를 측정하였다.

5) 신조직에서의 반정량 역전사중합연쇄반응법 (semiquantitative reverse transcription-polymerase chain reaction)을 이용한 VEGF mRNA의 발현검사

-70°C로 냉동 보존하였던 신장조직을 TRIzol LS reagent (Life Technologies, Gaithers-burg, MD)를 이용하여 RNA를 추출하였고 oligo- (dT) primer를 이용하여 2 μ g의 총 RNA를 역전사하여 cDNA를 합성하였다. PCR cycle은 94°C에서 30초간, 58°C에서 30초간, 72°C에서 90초간 시행하였다. rat VEGF primer로는 rat VEGF mRNA의 세가지 variant (VEGF₁₂₀, VEGF₁₆₄, VEGF₁₈₈)를 사용하였다. 세가지 variant의 PCR 생산물의 기대되는 length는 VEGF₁₂₀이 330 base pairs (bp)이고, VEGF₁₆₄이 462 bp이고, VEGF₁₈₈이 514 bp였다. 각 primer의 oligonucleotide sequences는 sense 5'-GACCCTGGTGGACATCTTCCAGGA-3'이고 antisense 5'-GGTGAGAGGTCTAGTTCCCGA3'였다. β_2 -microglobulin을 transcription의 internal control로서 사용하였으며 oligonucleotide sequences는 sense 5'-CGAATCTGTCCTTCAGCAAG-3'였고 antisense 5'-GGAGTAACTGGTCCAGATG-3'이었다. 10

μ L의 PCR 생산물을 1.5% agarose 겔에 전기영동하여 분리하였고 자외선에 비쳐진 PCR product band를 scan하여 densitometric analysis (National Ins. of Health Image 1.61 software)를 시행하였다.

6) 통계분석

실험 성적은 평균±표준편차로 표시하였다. 통계분석은 윈도우즈용 SPSS 11.0을 사용하여 oneway ANOVA, Turkey test (multiple comparison)방식으로 분석하였으며 p값이 0.05 미만일 때 통계적으로 유의하다고 판정하였다.

결 과

1. 기초 자료의 비교

1) 체중의 변화

체중은 8주에 II군, III군, IV군 및 V군에서 I군에 비해, 16주에 II군, IV군 및 V군에서 I군에 비해 통계적으로 유의하게 감소하였다 (Table 1).

2) 혈당 측정

II군, III군, IV군 및 V군의 혈당은 16.7~27.8 mmol/L를 유지하였다 (Fig. 1).

3) 24시간 소변 단백질량과 알부민량의 변화

24시간 소변 단백질량은 16주에서 I군과 IV군이 II군에 비해서 유의하게 감소되어 있었다 (Table 2-1). 24시간 소변 알부민량은 8주에서 IV군이 II군에 비해, 16주에서 I군과 IV군이 II군에 비해 감소되어 있었다

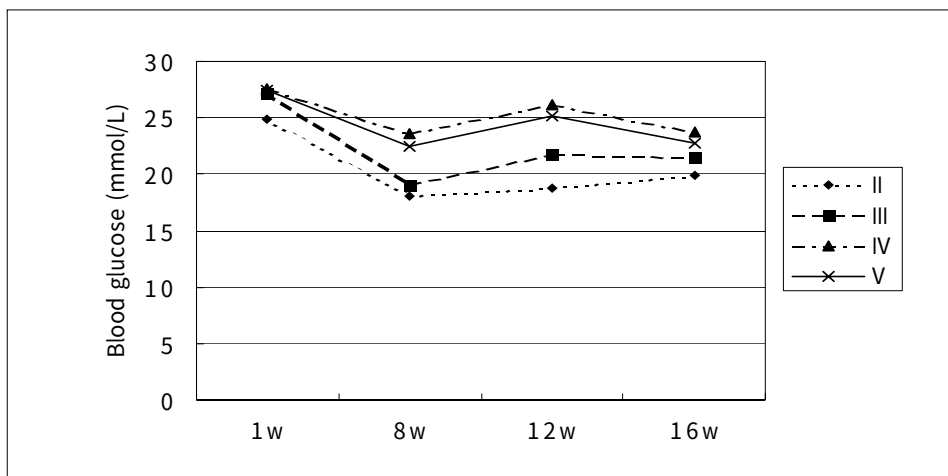


Fig. 1. Changes of blood glucose levels in four groups.

Table 2-1. Changes in 24-hour Urine Protein (mg/day)

Group	Basal	8th week	16th week
I. Normal	102.7±42.3	224.1±111.3	243.4±145.9*
II. DM	92.7±48.8	261.6±186.7	754.6±405.1
III. DM+PPAR-γ agonist	155.4±115.3	375.6±159.9	588.2±678.5
IV. DM+AT IIRB	118.7±52.3	197.6±54.0	339.5±141.9*
V. DM+α-LA	109.7±37.0	350.0±147.5	969.1±573.9

Data express mean±SD.

* : p<0.05 compared with group II at 16th weeks.

Table 2-2. Changes in 24-hour Urine Albumin (mg/day)

Group	Basal	8th week	16th week
I. Normal	35.4±23.6	114.2±110.5	316.9±272.1†
II. DM	32.0±23.1	143.4±117.2	845.3±635.3
III. DM+PPAR-γ agonist	140.3±89.5	224.0±110.5	754.2±996.9
IV. DM+AT IIRB	39.7±32.2	60.7±30.6*	299.5±203.0†
V. DM+α-LA	62.5±24.8	307.3±	839.5±466.8

Data express mean ± SD.

* : p<0.05 compared with group II at 8th weeks

†: p<0.05 compared with group II at 16th weeks.

(Table 2-2).

2. 신장 사구체의 용적 변화

병리조직학적인 소견은 II군이 나머지군에 비해 사구체 간질의 확장이 심하고 사구체의 용적이 증가되어

있었다(Fig. 2, Table 3).

3. 신장 VEGF 발현의 비교

VEGF의 발현은 면역조직화학 염색에서 I 군, III 군, IV군, V군이 II군에 비해 감소되어 있었다(Fig. 3,

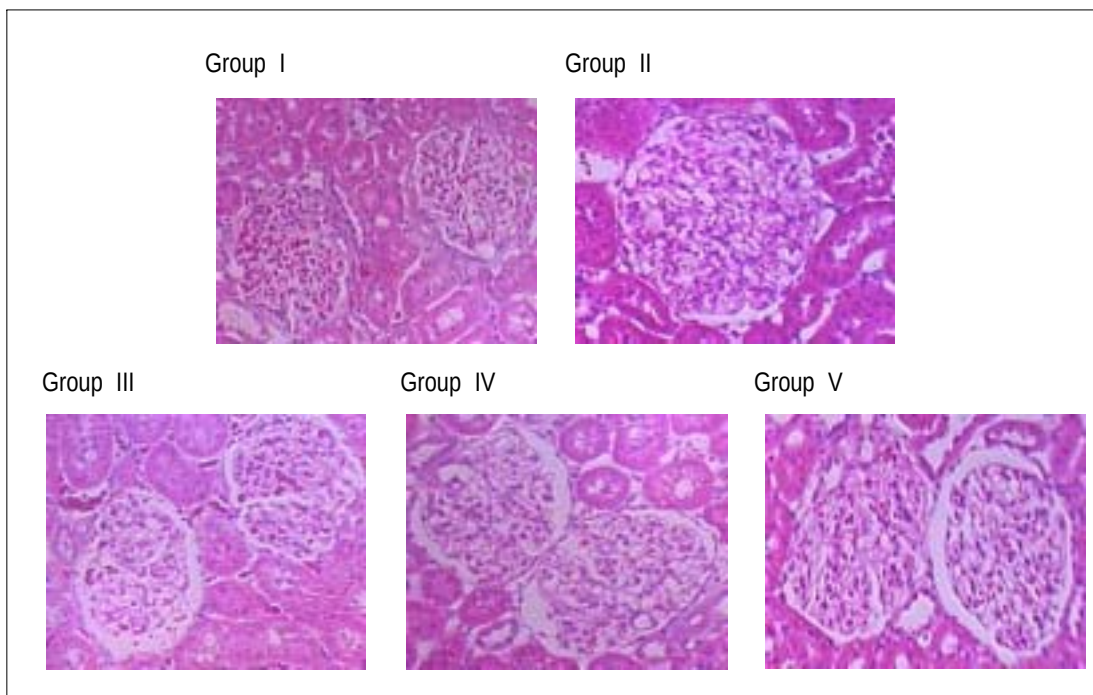


Fig. 2. Morphological characteristics of the glomeruli observed in renal sections stained with hematoxylin and eosin.

Table 3. Comparisons of Glomerular Volume Following Administration of PPAR- γ Agonist, AT IIRB and α -LA in Diabetic Rat

Group	Volume of glomerulus ($\times 10^3$, μm^3)
I. Normal	1269.2 $\pm$ 190.4*
II. DM	2660.2 $\pm$ 351.9
III. DM+PPAR- γ agonist	1608.3 $\pm$ 189.7*
IV. DM+AT IIRB	1666.4 $\pm$ 136.7*
V. DM+ α -LA	2026.9 $\pm$ 482.0*

Data express mean $\pm$ SD.

* : p<0.05 compared with group II.

Table 4).

고 찰

- 신조직에서의 반정량 역전사중합연쇄반응법 (semi-quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction)을 이용한 VEGF mRNA의 발현 비교

RT-PCR을 이용하여 얻은 VEGF mRNA의 발현에서는 II군에 비해 I군, IV군 및 V군이 감소된 소견을 보였다 (Fig. 4).

당뇨병성 신증은 말기 신부전증의 가장 많은 원인에 속하며 당뇨병의 합병증 중 가장 심각한 원인 중 하나이다¹⁾. 단백뇨가 있는 당뇨병성 신증 환자에서 요독증 및 심혈관계 질환과 연관된 사망률이 더욱 크게 증가한다고 보고되어 있다¹⁶⁾. 따라서 당뇨병성 신증으로 진행하는데 관여하는 인자를 찾아내는 것과 이의 예방이 매우 중요할 것으로 생각된다.

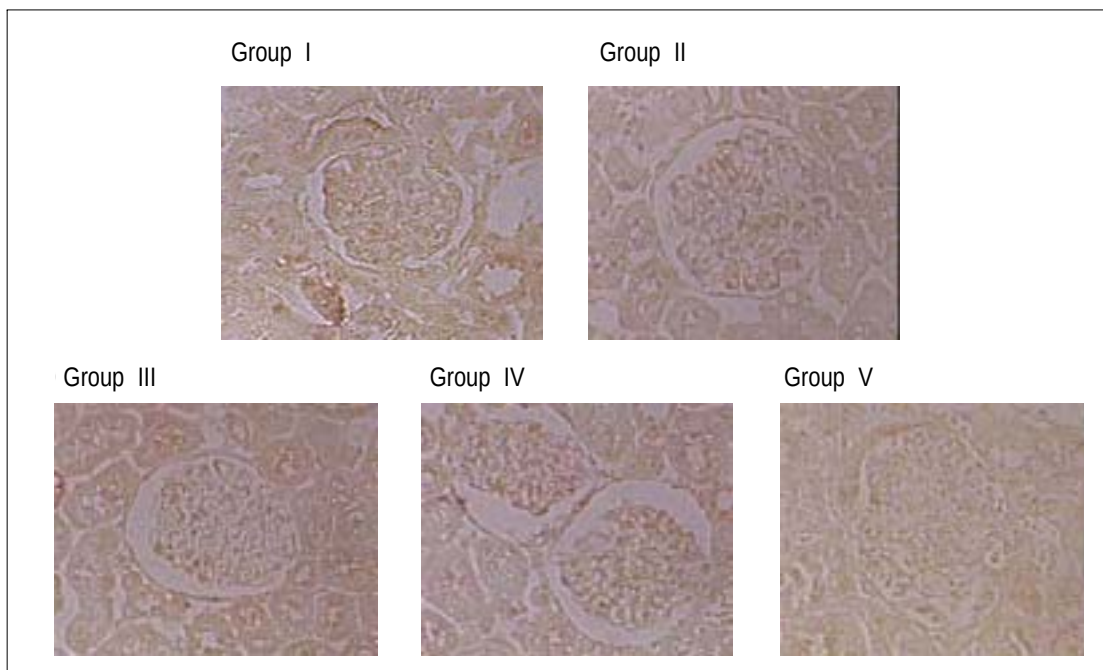


Fig. 3. Immunohistochemical stain of VEGF in glomerular area.

Table 4. Optical Densities of VEGF in Glomerulus

Group	Optical density
I. Normal	146.2±5.5*
II. DM	162.0±5.2
III. DM+PPAR-γ agonist	153.5±4.8*
IV. DM+AT IIRB	151.3±4.8*
V. DM+α-LA	152.7±5.1*

Data express mean ± SD.

* : p<0.05 compared with group II.

당뇨병성 신증의 발생은 사구체의 비후, 사구체 간질의 확장, 그리고 차후 사구체 경화로의 진행과 연관이 있으며 여기에는 platelet-derived growth factor (PDGF), transforming growth factor-β (TGF-β)를 비롯한 여러 성장인자의 과대증식을 동반한다³⁾. 이러한 변화를 초래하는 기전은 아직까지 확립된 것은 없지만, 고혈당 및 고혈압 등이 중요한 역할로 작용할 것으로 생각되고 있다³⁾.

당뇨병성 신증의 발생에 관여하는 여러 성장 인자들 중 VEGF는 강력한 혈관 투과성과 신생혈관 형성

능력을 갖고 있는 당단백으로 사구체의 족세포와 집합관 등에서 발현된다. VEGF receptors는 Flt-1와 Flk/KDR의 2가지로 구성되어 있고 신장의 간질세포, 단핵구, 조혈모세포와 망막에서 주로 발현된다. 당뇨병성 신증과 관련하여 안지오텐신 II는 VEGF를 증가시키는 것으로 알려져 있고 AT IIRB의 투여가 VEGF의 발현을 억제하며 단백뇨의 발생을 억제한다는 보고가 있다⁸⁾.

VEGF의 당뇨병성 망막병증의 관련성을 살펴보면, 망막병증이 있는 환자의 포도막 액에서 측정된 VEGF

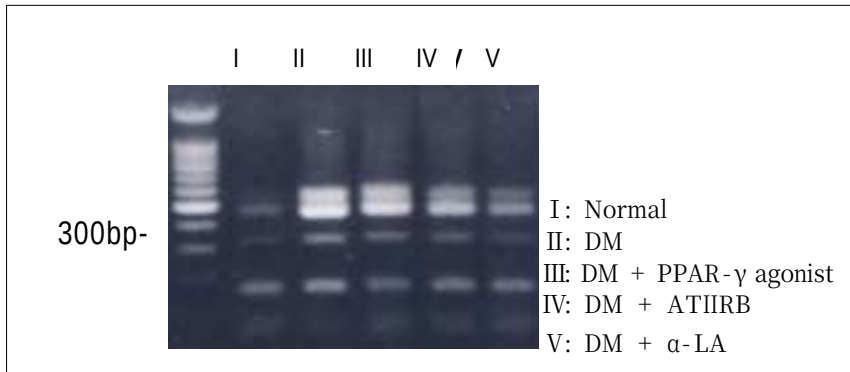


Fig. 4. Renal VEGF mRNA expression in five groups

가 증가되어 있고 ACEi의 투여로 포도막 내의 VEGF 농도가 감소한다는 보고가 있다⁵⁾. 당뇨병 환자에서 인슐린 저항성을 개선시키는 작용이 있는 PPAR- γ agonist는 망막에서 VEGF의 발현을 억제하여 신생혈관형성을 억제한다고 알려져 있다^{9,10)}. 그러나 혈관 평활근 세포 및 지방세포에서는 PPAR- γ agonist가 VEGF 분비를 증가시키고 혈장 VEGF 농도를 증가시킨다는 상반된 보고가 있다^{11,12)}. 한편 항산화제의 하나인 α -LA는 알부민뇨를 개선시키고 망막에서 증가된 VEGF를 낮춰 당뇨병성 망막병증의 발현 또는 진행을 예방하고 초기의 사구체 손상을 예방한다고 보고되고 있다^{13~15)}. 그러나 PPAR- γ agonist와 α -LA가 당뇨병성 신증과 관련하여 VEGF 발현에 어떤 영향을 미치는가에 대해서는 아직 알려져 있지 않다.

본 연구에서는 당뇨병을 유발한 백서에서 ATIIRB, PPAR- γ agonist와 α -LA를 투여하여 당뇨병성 신증이 예방될 수 있는 지에 대하여 알아보았으며 연관된 인자로 신장 VEGF의 발현 정도를 알아보려고 하였다. 당뇨병성 신증이 발생하게 되면 신장 사구체 내부의 혈압이 증가하게 되며 당뇨병성 신증이 심해질수록 소변으로 단백질의 배설이 증가하게 된다. 본 실험에서는 ATIIRB 투여군(IV군)에서 16주에 소변으로 배설되는 단백질과 알부민이 감소하였으며 특히 알부민은 8주에서도 감소하였다. PPAR- γ agonist 투여군(III군)과 α -LA 투여군(V군)에서는 당뇨유발 대조군(II군)과 비교해 차이가 없었다.

당뇨병성 신증이 신장의 조직학적인 구조에 미치는 영향은 사구체 간질의 확장과 세포외 기질의 과다 축적으로 나타나게 되고 더 진행되면 사구체 경화에 이르게 된다. 또한 사구체의 용적이 증가하게 되는 데 이를 광학현미경하에서 알아볼 수 있으며 사구체의 면적을 측정하여 Weibel과 Gomez의 방법에 의해 계산할 수 있다^{17,18)}. 본 연구에서 당뇨 대조군(II군)과 비교해 약물 투여군(III, IV 및 V군)에서 사구체의 용적이 통계적으로 유의하게 ($p < 0.05$) 감소된 소견을 보였다. 이것으로 미루어 보아 ATIIRB(IV군)는 형태학적, 기능적으로 모두 당뇨병성 신증을 억제하며 PPAR- γ agonist(III군)과 α -LA(V군)는 단백뇨를 억제하지는 못하나 형태학적으로 사구체의 확장을 억제하는 것으로 생각되었다.

본 실험에서는 신장 조직의 VEGF의 발현 정도를 알아보기 위해 면역조직화학 염색과 반정량 역전사중합연쇄반응법을 이용하여 신장의 VEGF 단백질과 mRNA양을 측정하였다. 신장에서 VEGF 단백질의 발현은 당뇨 대조군(II군)과 비교해 모든 약물 투여군에서 감소된 소견을 보였고, VEGF mRNA의 발현은 ATIIRB(IV군)과 α -LA(V군) 투여군에서 감소하였다.

요약하면 ATIIRB 투여군(IV군)은 24시간 소변 단백질과 알부민의 배설 및 신장 VEGF의 발현을 감소시켰다. 한편 PPAR- γ agonist 투여군(III군)에서는 소변 단백질은 감소하지 않았으나 사구체 용적은 당뇨군(II군)에 비해 감소하였고 VEGF mRNA는 다소 감소를

보였고 VEGF 단백질의 양은 감소하였다. α -LA 투여군(V군)에서는 소변 단백뇨는 차이를 보이지 않았으나 사구체 용적은 감소하였고 VEGF의 발현이 감소하였다. 따라서 PPAR- γ agonist와 α -LA의 두 약물은 당뇨병성 신증에서 단백질의 감소는 일으키지 않지만 사구체의 확장을 막고, 신장 VEGF의 감소는 사구체 간질의 확장이나 세포외 기질의 과다축적 등을 지연시켜 당뇨병성 신증을 완화하는 데 기여할 것이라 추측되며 소변 단백뇨와 VEGF 발현의 상반된 결과는 소변 검사에서의 문제점과 transforming growth factor- β (TGF- β), insulin like growth factor-1(IGF-1) 또는 fibronectin 등의 작용 가능성을 생각할 수 있으며 이에 대한 연구가 보완되어야 할 것으로 생각된다.

요 약

연구배경: 당뇨병성 신증은 당뇨병의 합병증 중 가장 심각한 것으로 말기 신부전증의 가장 많은 원인에 속한다. 신장의 손상 기전 가운데 혈관 내피세포 성장인자(vascular endothelial growth factor, VEGF)가 중요한 역할을 하며 안지오텐신II 수용체 억제제(angiotensin II receptor blocker, ATIRB)가 혈관 내피세포 성장인자의 발현을 감소시킬 수 있다고 알려져 있다. 퍼록시솜 증식 활성화 수용체 감마 자극제(peroxisome proliferator activated receptor- γ agonist, PPAR- γ agonist)는 당뇨병 환자에서 인슐린저항성의 진행을 막아주고, 제2형 당뇨병과 이와 관련된 합병증의 진행을 막을 수 있다고 알려져 있으며, 이것은 망막에서 혈관 내피세포 성장인자를 낮춘다는 보고가 있으나 이와 상반되게 혈장 혈관 내피세포 성장인자를 증가시킨다는 보고도 있었다. 항산화제의 일종인 알파-리포산(α -lipoic acid, α -LA)은 망막에서 증가된 혈관 내피세포 성장인자를 낮춘다는 보고가 있다. 당뇨병성 신증에서 이들 퍼록시솜 증식 활성화 수용체 감마 자극제와 알파-리포산이 혈관 내피세포 성장인자 발현에 미치는 영향은 아직 불확실하다. 따라서 저자는 당뇨병성 신증에서 퍼록시솜 증식 활성화 수용체 감마 자극제, 안지오텐신II 수용체 억제제와 알파-리포산의 투여가 혈관 내피세포 성장인자 발현에 미치는 영향을 관찰하고

자 하였다.

방법: 생후 8주된 약 300 g의 Sprague-Dawley rat 60마리를 12마리씩 5군으로 구분하여 이 중 48마리에게 streptozotocin 70 mg/kg을 복강내로 주사하여 당뇨병을 유발하였다. 실험군은 I군(normal 대조군, n=12), II군(diabetes, n=12), III군(diabetes+PPAR- γ agonist, n=12), IV군(diabetes+ATIRB, n=12), V군(diabetes+ α -LA, n=12)로 분류하였으며, 실험 0, 8, 16주에 각각 기초 자료(체중, 24시간 소변 알부민, 혈당)를 수집하고 실험 16주에 신장을 적출하여 신장의 사구체용적, 혈관 내피세포 성장인자의 발현과 반정량 역전사 중합연쇄반응법을 이용하여 혈관 내피세포 성장인자 mRNA의 발현을 비교하였다.

결과: 실험 시작시의 기초자료에서는 다섯 군이 모두 비슷한 체중과 24시간 소변 알부민량을 보였다. 실험 8주째의 요알부민치는 II군이 143.4 ± 117.2 mg/day, IV군이 60.7 ± 30.6 mg/day로 두 군간에 유의한 차이가 있었다($p < 0.05$). 신장 사구체 용적과 면역조직화학염색을 이용하여 측정한 혈관 내피세포 성장인자의 발현은 III군, IV군 및 V군이 II군과 비교하여 감소되었다($p < 0.05$). 혈관 내피세포 성장인자 mRNA 발현은 IV군과 V군은 II군과 비교하여 감소하였으나 III군은 의미있는 차이를 보이지 않았다.

결론: 안지오텐신 II 수용체 억제제는 24시간 소변 단백과 알부민의 배설 및 신장 혈관 내피세포 성장인자의 발현을 감소시켜 신보호 효과를 나타냈으며 퍼록시솜 증식 활성화 수용체 감마 자극제와 알파-리포산은 신장 혈관 내피세포 성장인자의 발현을 감소시켰으나 단백뇨를 감소시키지 못하였다.

참 고 문 헌

1. 이지현, 정의달, 손호상, 안기성, 정덕수: 제2형 당뇨병성 신증환자의 신동맥 내 혈류역동학적 차이. *당뇨병* 23:822-830, 1999
2. Flyvbjerg A: Putative pathophysiological role of growth factors and cytokines in experimental diabetic kidney disease. *Diabetol* 43:1205-1223, 2000
3. Aiello LP, Wong JS: Role of vascular endothe-

- lial growth factor in diabetic vascular complications. Kidney Int 77:113-119, 2000*
4. Cha DR, Kim NH, Yoon JW, Jo SK, Cho WY, Kim HK: *Role of vascular endothelial growth factor in diabetic nephropathy. Kidney Int 77: 104-112, 2000*
5. Gilbert RE, Kelly DJ, Cox AJ, Wilkinson-Berka JL, Rumble JR, Oosicka T: *Angiotensin converting enzyme inhibition reduces retinal overexpression of vascular endothelial growth factor and hyperpermeability in experimental diabetes. Diabetol 43:1360-1367, 2000*
6. Aiello LP, Duh E: *Vascular endothelial growth factor and diabetes: The agonist versus antagonist paradox. Diabetes 48:1899-1906, 1999*
7. Kim NH, Jung HH, Cha DR, Choi DS: *Expression of vascular endothelial growth factor in response to high glucose in rat mesangial cells. J Endocrinol 165:617-624, 2000*
8. 심명숙, 김미진, 김문규, 장현진, 신영구, 김주남, 송재만, 강호석, 이은영, 송기학, 정춘희: *당뇨병성 신증에서 안지오텐신 II 수용체 길항제의 VEGF 발현 억제 효과. 당뇨병 27:106-114, 2003*
9. Smith SA, Lister CA, Toseland CD, Buckingham RE: *Rosiglitazone prevents the onset of hyperglycemia and proteinuria in the Zucker diabetic fatty rat. Diabetes Obes Metab 2:363-372, 2000*
10. Murata T, Hata Y, Ishibashi T, Kim S, Hsueh WA, Law RE, Hinton DR: *Response of experimental retinal neovascularization to thiazolidinediones. Arch Ophthalmol 119:709-717, 2001*
11. Asano A, Irie Y, Saito M: *Isoform-specific regulation of vascular endothelial growth factor (VEGF) family mRNA expression in cultured mouse brown adipocytes. Mol Cell Endocrinol 28:71-76, 2001*
12. Baba T, Shimada K, Neugebauer S, Yamada D, Hashimoto S, Watanabe T: *The oral insulin sensitizer, thiazolidinedione, increases plasma vascular endothelial growth factor in type2 diabetic patients. Diabetes care 24:953-954, 2001*
13. Borcea V, Nourooz-Zadeh J, Wolff SP, Slevesath M, Hoffmann M, Urich H: *Alpha-lipoic acid decreases oxidative stress even in diabetic patients with poor glycemic control and albuminuria. Free Radic Biol Med 26:1495-1500, 1999*
14. Obrosova IG, Minchenko AG, Marinescu V, Fathallah L, Kennedy A: *Antioxidants attenuate early up regulation of retinal vascular endothelial growth factor in streptozotocin-diabetic rats. Diabetol 44:1102-1110, 2001*
15. Melhem MF, Craven PA, Derubertis FR: *Effects of dietary supplementation of α -lipoic acid on early glomerular injury in diabetes mellitus. J Am Soc Nephrol 12:124-133, 2001*
16. Nelson RG, Pettitt DJ, Carraher MJ, Baird HR, Knowler WC: *Effect of proteinuria on mortality in NIDDM. Diabetes 37:1499-1504, 1988*
17. Lane PH, Stffes MW, Mauer SM: *Estimation of glomerular volume: A comparison of four methods. Kidney Int 141:1085-1089, 1992*
18. De Vriese AD, Tilton R, Egler M, Stephan CC, Kriz W, Lameire H: *Antibodies against endothelial growth factor improve early renal dysfunction in experimental diabetes. J Am Soc Nephrol 12:993-1000, 2001*