

제 목	국 문	Cadmium처리한 인간 폐 섬유아 세포주에서 IL-6 발현		
	영 문	Expression of IL-6 mRNA by human lung fibroblast cell line treated with cadmium		
저 자 및 소 속	국 문	이미영, 신동훈, 서석권 계명대의대 예방의학교실		
	영 문	Mi-Young Lee, Dong-Hoon Shin, Suk-Kwon Suh <i>Dept. of Prev. Med. Keimyung Univ.</i>		
분 야	산업독성학	발 표 자	이 미 영 (전공의)	
발표 형식	구 연	발표 시간	15분	
진행 상황	연구완료 ( ), 연구중 ( 0 ) → 완료 예정 시기 : 95 년 12 월			
<p>1. 연구 목적</p> <p>카드뮴은 면역세포기능에 다양한 영향을 미치는 것으로 알려진 독성 중금속으로 만성적인 폭포로 인한 인체의 영향은 다계통에 나타나며 그중 폐에 대한 독작용은 기종성변화나 조직의 섬유화등을 일으키며 발생가능한 발암물질로 알려져 있다.</p> <p>폐의 간질복합체내의 가장 풍부한 세포형태는 섬유아 세포로서, 세포의 기질성분을 합성하여 폐의 구조를 유지하고 손상된 조직을 회복시키는데 총체적인 역할을 하고 있으며 이들 섬유아 세포의 증식은 다양한 cytokine이 관여하며 면역체계와 상호작용을 이루고 있다. 이들 cytokine중 IL-6는 다형성 cytokine으로 급성 염증반응의 일차적 조절작용, 세포증식 및 억제 그리고 분화유도등의 기능을 가지고 있으므로 IL-6의 조절은 정상적인 생물학적 항상성 유지에 중요한 부분이 될 수 있다. 그러므로 카드뮴으로 처리한 인간 폐 섬유아 세포주에서의 세포독성과 IL-6 mRNA 발현에 미치는 영향을 조사함으로써 폐 조직의 기본적인 염증반응과 섬유화의 병리기전을 연구하는데 기본자료를 제공하고자 한다.</p> <p>2. 연구 방법</p> <p>세포배양은 인간 폐 섬유아 세포주(MRC-5)를 10% Fetal calf serum 및 penicilline, streptomycin, antifungal agents가 함유된 DMEM에서 유지배양 하면서 실험하였다. MRC-5세포를 일정수가 되도록 접종한 다음 24시간 배양한 후 카드뮴을 최종농도 0.1 - 1.0mM 되도록 하여 시간대별 및 농도별 세포변화를 현미경하에서 관찰후 사진촬영을 실시하고 trypan blue dye exclusion방법으로 생존세포수를 조사 하였다.</p> <p>각 계대 배양된 카드뮴 농도별 세포주로 부터 RNA를 분리한 다음 정량하고 역전사반응을 실시 하였다. 역전사 산물을 이용하여 중합효소 연쇄반응을 실시하였고 산물을 전기영동하여 사진촬영을 하였다.</p>				

### 3. 연구결과

MRC-5 세포의 카드뮴처리 후 2시간 배양때까지는 카드뮴 농도별에 따른 생존세포수의 차이는 없었으나 배양 24시간, 48시간에서는 각각 카드뮴의 농도가 증가할수록 생존 세포수가 감소하는 경향을 보였다.

카드뮴 처리한 MRC-5 세포의 형태는 배양 2시간후 가늘고 긴 모양에서 다각형의 형태로 변화하는 양상을 보였으며 카드뮴 농도 및 시간이 증가할수록, 변화정도가 커지는 결과를 나타내었다.

대조군과 카드뮴 처리한 MRC-5 세포의 cytokine의 발현양상을 조사한 결과 IL-6 와 TGF- $\beta$ 는 양군 모두에서 발현이 되었으며 IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-10, IL-12, TNF-a는 양군 모두에서 발현이 되지 않았다.

IL-6의 발현양상은 카드뮴처리 후 2시간에서는 대조군에 비해 각 카드뮴 농도 별로 증가하는 경향이였으나 일정한 양-반응관계는 나타나지 않았으며, 24시간 배양했을때는 2시간 배양에서보다 IL-6 발현이 0.1mM농도에서는 증가하는 양상이었으나, 0.2mM농도에서는 감소하는 양상을 보였으며 0.4mM이상의 농도에서는 발현을 볼 수 없었다. TGF- $\beta$ 의 발현양상은 카드뮴 농도별 일정한 양-반응 관계는 없었다.

### 4. 고찰

카드뮴의 세포독성으로 인한 인간 폐 섬유아 배양세포들의 세포생존수 및 세포의 증식이 감소되었으며, 카드뮴은 MRC-5 세포에서 초기염증반응 동안 폐에서의 collagen 합성과 섬유아 세포의 증식을 자극하는 fibrogenic cytokine으로 알려진 것 중 IL-6 와 TGF(transforming growth factor)- $\beta$  발현에 영향을 미치는 것으로 생각되며, 24시간 배양에서 0.2mM이상의 농도에서 IL-6의 발현이 2시간 배양에서 보다 감소 되거나 발현이 나타나지 않은 것은 카드뮴의 고농도로 인한 세포사(cell death)로 인한 것으로 생각된다. 추후 저농도(0.1mM이하)에서의 cytokine의 발현 양상, cytokine 복합망의 상호관계에 대한 연구 및 chelating agents(EDTA)의 투여에 따른 cytokine 발현양상에 카드뮴이 미치는 영향에 대한 조사가 필요할 것으로 생각된다.