대한소아신장학회지 3(2) : 109~116, 1999

□ 원 저 □

신장발육 및 재생에 따른 insulin-like growth factor(IGF)-I 및 IGF-binding protein의 변화

전북대학교 의과대학 소아과학교실, 내과학교실*, 심장근재생연구단**, 의과학연구소

이대열, 박성광*, 고규영**

< 한 글 요 약 >

목 적 : Insuln-like growth factor (IGF)-I 및 -II는 성장인자로 일군의 IGF-binding protein(IGFBP)에 의하여 그 작용이 조절된다. IGF-I은 백서 신장에서 발견되고 대사효과와 성장효과를 갖고 있다. 이번 연구는 백서에서 신장발육과 허혈성 신손상 후 재생과정 동안에 IGFBP의 발현이 변화하는지를 보고자 한다.

방 법 : 태생 15주부터 성숙 할때까지 백서 신장에서 IGFBP 발현의 변화를 알아보기 위해 Northern blotting을 시행하였고, 급성신부전 백서의 신장에서 IGF-IGBP axis의 변화를 보기 위해 Northern blotting과 Immunohistochemistry를 이용하였다.

결 과 : IGFBP-1과 -3는 태생기에는 거의 발현되지 않다가 출생 후 7일째부터 성숙이 끝날 때까지 점진적으로 증가하였다. 반면에 IGFBP-2와 -5는 태생기에 많이 발현되고, IGFBP-2는 출생 후 7일째까지 IGFBP-5는 30일째까지 높은 농도를 유지하다가 급격히 감소하였다. 한편 IGFBP-4는 태생기에 중등도로 발현되는데 출생 후 증가하기 시작하여 7일째 가장 많이 발현되다가 급격히 감소하였다. 신손상 후 IGFBP의 변화를 보면 IGFBP-1과 -4는 재생기간 동안 3-5배 증가되다가 정상으로 회복된 반면 IGFBP-3와 IGFBP Related Protein-1(IGFBPrP-1)은 신손상 1일째에는 약간 감소하다가 그후 증가하여 정상보다 약간 높은 수준을 유지하였다.

결 론 : 백서 신장에서 신장구조나 기능의 발달, 분화 및 재생에 대한 IGF의 작용을 조절할 수 있는 IGFBP 발현에 현저한 변화가 있었다.

서 론

신장형성은 발생기 동안 요관싹(ureteric bud)의 상피세포와 주위의 nephrogenic mesenchyme이 서로 상호관계를 가지면서 형성된 후신(metanephros)의 분열과 분화에 의해 이루어진다[1,2]. 이때 요관싹의 상피세포는 집합관 부위를 형성하고 nephrogenic mesenchyme 부근은 신세뇨관과 사구체 일부를 형성한다. 신장을 형성하는 후신은 발생기 동안 왕성한 세포분열 과정을 거치는 반면 출생 후에는 세포분열 과정이 거의 소멸되고 세포분화 과정이 지속된다. Epidermal growth factor(EGF), Transforming growth factors (TGFs), Insulin-like growth factor(IGF)-I and -II등이 신장발생에 관여하는 것으로 알려져 있다[3-5]. 급성 신부전은 신허혈이나 신독성 약물에 의한 신세뇨관 세포가 손상되어 일어나고 손상된 신세뇨관 세포의 재생은 성장인자, cytokine, 생리적 인자 및 주위 환경 등의 복잡한 상호관계에 의해 매개되는 것으로 알려져 있으며 이에 대한 연구가 진행되고 있다[6-8].

IGF-I and -II는 여러 세포에서 분열유발성 효과와 분화 효과를 나타낸다[9,10]. 사람의 태아 조직에서 IGF-II mRNA와 IGF 수용체가 발견되고 metanephric organ culture상에서 IGF-I이 후신의 성장과 발육을 촉진시키고, 이와 같은 사실은 IGF-I이 신장 발생에 중요하다는 사실을 암시해 준다[11-13]. IGF의 생체내 이용율은 일군의 IGF-binding proteins(IGFBPs)에 의해 조절되

접수: 1999년 8월 20일, 승인: 1999년 9월 28일
책임저자: 이대열, 전북대 소아과학교실
Tel : (0652)250-1469 Fax : (0652)250-1464
Email : leedy@moak.chonbuk.ac.kr
• 이 논문은 1997년도 학술진흥재단 연구비 지원 (1997-001-F00152)에 의해 이루어졌음.

는데 지금까지 6개의 다른 IGFBP이 알려져 있고 (IGFBP 1 - 6) 각각의 IGFBP는 여러 조직에서 합성되고 발현되는 양상이 다르다[14]. 신장발생에서의 IGFBP의 역할은 정확하게는 알려져 있지는 않으나 신장을 포함한 사람의 태아조직에서 IGF mRNA와 함께 IGFBP mRNA가 발현된다는 사실은 IGF와 IGFBP가 태아 신장에서 국소적으로 합성되고 신장발생의 여러 과정에 관여할 수 있다는 것을 암시해 준다.

이번 연구는 신장 발육과 허혈성 신손상 후 재생 과정에 IGF-IGFBP axis가 어떤 변화를 보이는지를 알아보고자 한다.

대상 및 방법

1. 실험동물과 실험군

이번 실험에 사용된 동물은 Sprague-Dawley rat로 12시간 광주기와 암주기하에서 일반적인 사료로 사육하였다.

1) 신장의 발생기 단계별 모형

암컷 백서에서 임신시작은 질내의 침전물 검사로 확인하였고 임신한 백서는 15일째 절두하여 태아를 꺼낸 후 신장을 적출하여 냉각질소에 냉동보관하였다. 출생 후 신장은 같은 방법으로 생후 1일, 7일, 30일과 90일째에 적출하였다.

2) 급성신부전 모형

16-20주된 숫컷 백서(체중 250-300 g)에 체중(Kg)당 pentobarbital sodium 30 mg을 복강내 투여하여 마취시키고 좌우 신동맥을 노출시켜 45분 동안 결찰한 후에 결찰을 풀어주고 상처를 봉합하였다.

수술 후 1일, 3일, 5일, 7일, 10일과 14일째 백서를 절두하여 신장을 적출한 후 액화질소에 실험시까지 보관하였다.

2. IGF-I의 tracer 제조

Chloramine-T method를 약간 변형시킨 방법으로서 0.2 M sodium phosphate buffer(pH 7.4) 10 ul에 rhIGF-I 1 ug을 첨가한 후 iodide(Amersham Life science, IL, USA) 1 mCi를 첨가하고, chloramin-T 0.04 mg/10 ul를 넣어서 신속히 pipetting 한 후 cellulose CF-11(Bio-Rad, CA, USA) column에 혼합물을 가한 다음 barbital buffer로 column를 세척하였다. 그후 12% bovine serum albumin 완충액으로 column을 용출시켜 fraction collector를 이용하여 시험관 당 20 방울을 받아서 gamma counter(Packard, USA)로 방사능을 측정하고 높은 방사활성도에 의한 iodinated rhIGF-I의 파괴를 방지하기 위하여 각각 분획한 시험관의 용출 용액을 3 $\times 10^6$ cpm이 되도록 분주하여 -70℃에 냉동 보관하였다.

3. Western ligand blot

동결건조된 0.5g 정도의 신장조직을 각종 protease inhibitor가 함유된 1% NP-40 용액에 분쇄하고 Bradford assay(Bio-Rad, Hercules, CA, USA)를 이용하여 용해질내에 있는 단백질 농도를 측정하였다.

시료를 2x sample buffer로 10분간 끓인 후 10% SDS-PAGE를 이용하여 환원조건하에서 전기영동을 실시하여 단백질을 크기 순서로 분리시키고 nitrocellulose membrane에 이전시켰다. 이 membrane을 3% NP-40가 함유된 tris buffered saline(TBS)으로 3회 세척하고 1% BSA 용액으로 비특이성 결합을 차단시킨 후 3×10^6 cmp의 ^{125}I-IGF-I과 실온에서 2시간 반응시킨 다음 TBS 용액으로 3회 세척, 건조시켰다. 방사능 검액은 Hossenlopp등의 방법에 준한 자가방사법에 의하였다[15].

4. Northern blot

신장 조직을 Polytron homogenizer로 1% beta mercaptoethanol를 함유한 0.4M guanidinium thiocyanate 용액에서 분쇄시켜 total RNA를 추출하고 분리된 total RNA를 5.7M CsCl용액하에서 원침시켜 정제하였으며 total RNA의 농도는 분광광도계를 이용하여 측정하였다[16]. Northern analysis를 하기 위하여 20 ug의 RNA시료를 glyoxal로 변성시킨 후에 1.2% agarose gel상에서 total RNA를 전개시킨 후 GeneScreen(NEN Research Product, USA)에 전이시켰다. IGFBP-1, -2, -3, -4 및 -5의 cDNA probe는 Dr. Shimasaki(University of California Sandiego, CA, USA), IGFBPrP-1(Mac 25)은 Dr. Rosenfeld(Oregon Health Science University, Portland, Oregon, USA)로부터 받은 rat cDNA를 이용하였으며 이들 cDNA probing은 random primer method(Prime-a-Gene; Promega, USA)에 준하였다.

각각의 probe의 specific activity는 $2\text{-}3 \times 10^9$ dpm/ug 이었다. Hybridization은 4x SSC, 2x Denhardt's, 0.1% SDS, 1 mg/ml의 salmon sperm DNA 용액하에서 65℃에서 20시간 동안 시행하였고 이 blot를 2x SSC, 0.1% SDS 용액으로 65℃하에서 세척하였으며 singal은 autoradiography를 이용하여 검색하였다. 각각의 실험

시 RNA시료의 완전성(intergrity), 동량의 부하(loading)와 전이 여부는 hybridization전의 UV shadowing과 glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase(GAPDH) hybridization으로 확인하였다. 각각의 data는 densitometry(Prism; Improve VIsion, UK)를 이용하여 정량화하였고 이를 각각의 GAPDH signal로 보정하였다.

5. 면역조직화학법

IGF-I항체를 이용한 신장 조직의 면역조직화학법은 일반적인 방법에 준하였고 간단하게 기술하면 다음과 같다. 관류를 통해 혈액이 제거된 신장을 10% neutral buffered formalin 용액에 넣고 실온에서 24시간 이상 고정한 후 70% ethanol로 두 번 씻어내고 ethanol series를 거치고 난 뒤 xylene으로 처리한 후 paraffin 포매를 하였다. 조직을 5 um 두께로 절단하여 gelatin 처리된 slide에 부착하고 xylene과 ethanol 처리로 paraffin을 제거하고 탈수시킨 다음 실온에서 30분간 0.6% H_2O_2가 포함된 methanol에 slide를 넣어 내재적 peroxidase를 차단한 후 0.1% BSA가 포함된 PBS로 slide를 씻어낸 뒤 10% goat serum 하에서 차단한 후 1:100 희석배율의 일차 항체를 1% BSA(bovine serum albumin)/PBS에 녹여 4℃에서 18시간 반응시킨 후 세척하였다. Biotin이 결합된 이차 항체로 1시간 반응시킨 후 세척하고 horseradish peroxidase에 결합된 avidin과 반응시키고 세척후 DAB(3, 3-diaminobenzidine tetrahydrochloride)으로 발색하여 IGF-I의 생성과 분포를 파악하였다.

결 과

1. 신장발육에 따른 insulin-like growth factor binding protein의 변화

태생기부터 성숙이 완전히 끝날 때까지의 신장조직에서의 IGFBP 단백질의 변화를 보면 그림 1과 같다. 태생 15일째 신장에서는 4개의 band가 관찰되었고 각 band의 크기는 24.0, 26.3, 33.5과 51.2 kDa 이었으며 이중 24 kDa 크기의 band가 가장 많았다. 생후 1일째부터 완전히 성숙이 끝난 90일째까지 변화를 보면 모든 band가 감소하는 양상을 보였고, 특히 26.3과 33.5 크기의 band는 90일째의 신장에서는 거의 관찰되지 않았다.

신장발육에 따른 IGFBP 발현의 변화를 보기 위해 northern blot을 시행하였다. 태생 15일째의 신장에서는 주로 IGFBP-2, -4, -5가 발현되었고 이외에 IGFBP-1과 -3도 약간 발현되었다(Fig 2). 태생 15일째에 강하게 발현된 IGFBP-2와 -5는 출생 후 현저히 감소되었는데 IGFBP-2는 30일째, IGFBP-5는 60일째부터 현저히 감소되었다(Fig 2 & 3). IGFBP-1과 -3는 출생 후 점차 증가하기 시작하여 모두 60일째에 가장 많이 발현되었다가 감소하는 양상을 보였다. IGFBP-4는 출생 후 증가하기 시작하여 7일째에 현저하게 증가되었다가 60일째부터는 현저하게 감소되었다.

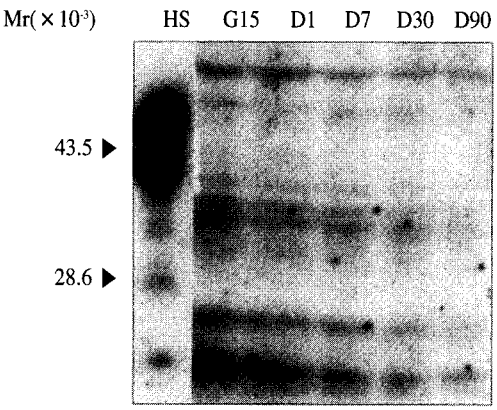

Fig 1. Western ligand blot analysis of protein levels of IGFBPs during renal development. Embryonic kidney was from day 15(G15) and kidneys after birth were from day 1(D1), day 7(D7), day 30(D30) and day 90(D90). HS means pooled adult human sera. A representative gel from one of three experiments is shown.

2. 허혈성 신손상 후 신장조직에서 IGF-I 및 IGFBP의 변화

급성 허혈성 손상 후의 신장에서의 IGFBP발현의 변화를 보기위해 northern blot을 시행하였다. 태생 15일째의 신장에서는 IGFBP-2, -3 및 -4가 주로 발현되었고 IGFBP-1 및 IGFBP related protein(IGFBPrP)-1은 거의 발현되지 않았으며 성숙한 백서에서는 태아에서 주로 발현되었던 IGFBP는 현저하게 감소한 반면 IGFBP-1과 IGFBPrP-1 이 약간 발현되었다(Fig 4). 허혈성 손상을 받은 신장에서는 IGFBP발현이 현저한 변화를 보였는데 IGFBP-1은 수술 후 1일째부터 현저하게 증가되어 5일째까지 지속되었고 IGFBP-4는 1일

째부터 현저하게 증가되기 시작하여 14일째까지 지속되었다. 반면에 IGFBP-3와 IGFBPrP-1은 1일째에 일시적으로 감소하였으나 3일째부터 회복되어 14일째까지 증가된 소견을 보였다(Fig 4 & 5).

신장조직에서의 immunostainable IGF-I의 분포를 알아보기 위하여 anti-IGF-I 항체를 이용하여 면역조직화학법을 시행하였다. 정상 신장에서는 주로 신피질의 신세뇨관에 IGF-I이 분포하였는데 급성 허혈성 신손상 3일째의 IGF-I 분포양상은 정상 신장과 비슷하였으나 염색 정도는 현저하게 감소하였다(Fig 6).

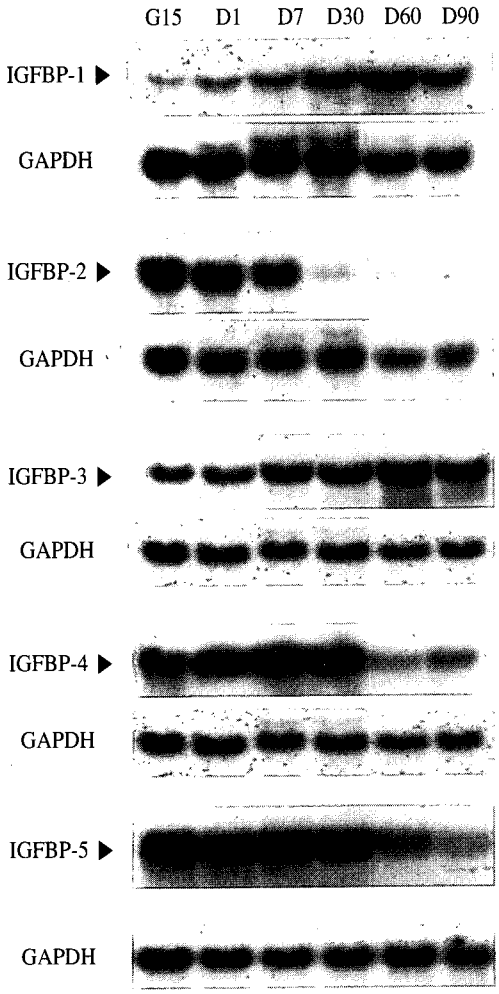

Fig 2. Northern blot analysis of gene expression of IGFBP-1, -2, -3 -4, and -5 during renal development. Embryonic kidney was from day 15(G15) and kidneys after birth were from day 1(D1), day 7(D7), day 30(D30), day 60(D60) and day 90(D90). Each blot was hybridized with a GAPDH probe to verify equal loading of RNA. A representative gel from one of three experiments is shown.

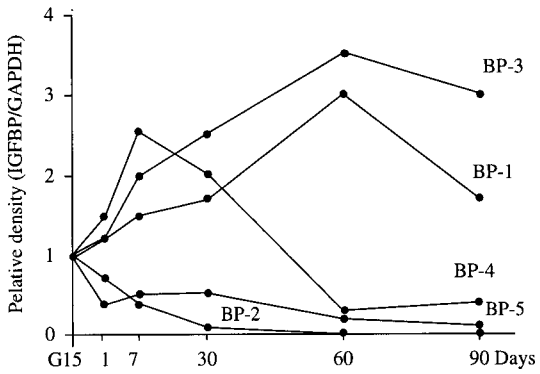

Fig 3. Densitometric analysis of signal of IGFBP-1 - 5 during renal development. From fig. 2A & B, signals were normalized by corresponding GAPDH signals. Density of each embryonic 15 days IGFBP is presented as 1.

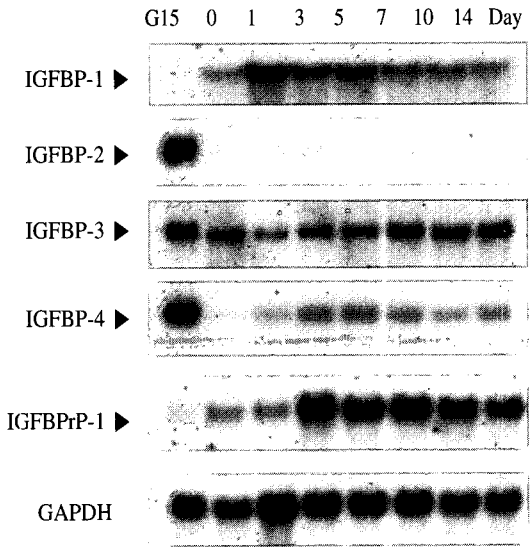

Fig 4. Northern blot analysis of gene expression of IGFBPs after acute ischemic renal injury. The kidneys were obtained from embryo(G15), before(0), and after 1, 3, 5, 7, 10 and 14 days of ischemic renal injury. Each blot was hybridized with a GAPDH probe to verify equal loading of RNA. A representative gel from one of three experiments is shown.

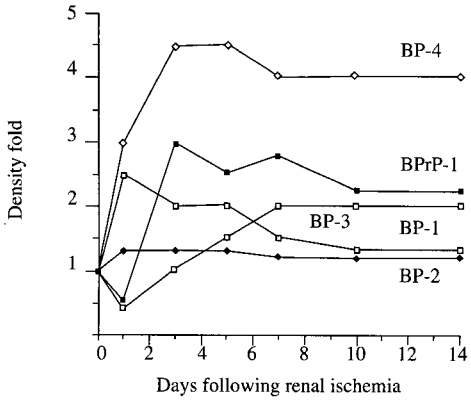

Fig 5. Densitometric analysis of signal of IGFBP-1, -2, -3, -4 and IGFBPrP-1 after acute ischemic renal injury. From fig. 4, signals were normalized by corresponding GAPDH signals. Density of each preischemic IGFBP is presented as 1.

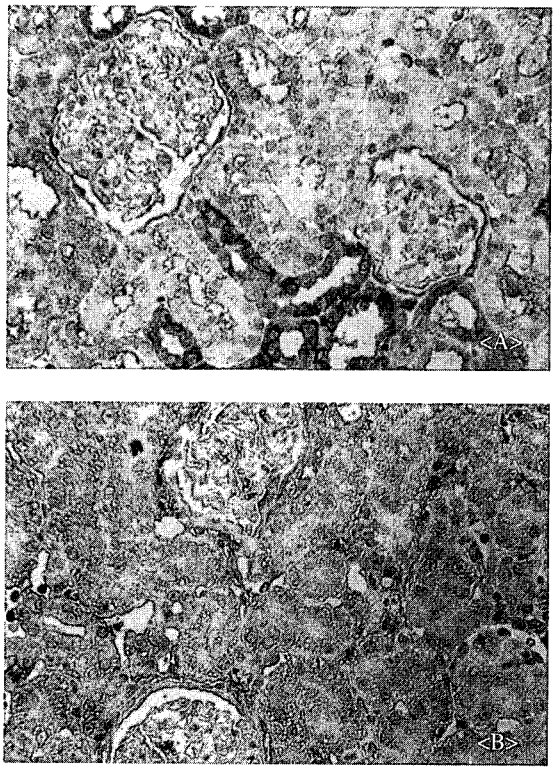

Fig 6. Immunohistochemical analysis of IGF-I in rat kidney. A. Kidney sections(cortex) from preischemic rat. B. Kidney sections(cortex) from 3 days after ischemic renal injury.

고 찰

Insulin-like growth factor(IGF)-I과 -II는 여러기관의 세포 성장과 분화를 조절하는 중요한 성장인자로 혈중에 존재하는 대부분의 IGF는 간에서 합성된 것이다[9,10]. 실험동물 및 사람에서 IGF-I은 사구체 여과율 및 신혈류량을 증가시키고 혈관 저항성을 감소시킨다[17]. IGF는 높은 특이성과 친화력을 갖고 IGF 수용체와 결합하는 것 이외에 일군의 IGF-binding protein(IGFBP)과 결합한다. 지금까지 여섯종의 IGFBP(IGFBP-1 - 6)가 알려져 있는데 모든 IGFBP는 염기서열의 상동성이 높고 백서와 사람의 IGFBP의 cDNA, 아미노산 숫자 및 분자량이 아주 유사하다[14,18]. IGF-I과 II는 IGFBP-1, -3와 -4에 대한 결합력은 비슷하나 IGFBP-2, -5와 -6에 대해서는 IGF-I 보다 IGF-II가 결합력이 높다. 혈중에 존재하는 IGF의 99% 이상은 IGFBP와 결합하여 150 kDa이나 50 kDa 복합체로 존재한다[19]. 따라서 IGFBP는 IGF의 생체내 이용율을 결정하는 중요한 인자이다. 최근에는 IGFBP-1-6에 비해 결합력이 낮은 IGFBP related protein(IGFBPrP)이 발견되었고 이 중 leptomeningeal cell에서 유래한 mac 25을 IGFBPrP-1이라 명명하였다[20]. 성숙된 백서 신장에 성장호르몬 수용체, IGF-I, IGF-II, IGF 수용체가 정상적으로 발현되고 신원(nephron)의 부위에 따라 발현양상이 다르다는 것이 밝혀지졌으며, 이는 성장호르몬이나 IGF-I이 내분비 양상 이외에 자가분비나 측분비 양상으로 작용한다는 사실를 암시해 준다.

배아(embryo)가 발달하는 동안 전신(pronephros), 중신(mesonephros)과 후신(metanephros)이 연속적으로 나타나는데 이중 후신이 신장으로 발달된다[1,2,21]. 후신에서 신원 형성은 태생 8주경에 요관싹(ureteric bud) 가까이에 있는 중간엽으로부터 시작되는데 11주경에는 기능이 시작된다. 후신은 발생기 동안 왕성한 세포분열 과정을 거치는 반면 출생 후에는 세포분열 과정이 거의 소멸되고 세포분화 과정이 지속된다.

Metanephric kidney 형성은 IGFs, EGF, TGFα, TGFβ, PDGF 등의 여러 성장인자들이 연속적이고 시간적 차이를 두고 발현되므로써 아주 정밀하게 조절된다[3-5,22]. 만약 이 시기에 IGF-IGFBP system의 발현이 변화한다면 이 과정에 IGF-IGFBP system이 어떤 역할을 한다는 것을 의미하며 여러 실험을 통하여 IGF-I이 정상적인 후신발달에 꼭 필요하다는 것이 밝혀졌다[3,23].

IGF-I, -II 및 IGF-I 수용체가 태생신(embryonic kidney)에서 발현되지만 어떻게 발현이 조절되는지는

완전히 밝혀져 있지는 않다[3,23]. IGF-II 수용체도 태생신에서 발현되지만 이는 출생 후에는 급격히 감소되며 IGF-II는 주로 사구체의 progenitor cell에 발현되고 이외에도 수질 부위 간질에서도 IGFBP-2와 함께 발현되고 사람의 태생신에서는 IGFBP-4가 많이 발현된다[24]. 이번 연구에서는 IGFBP-2, -4, -5가 주로 태생 15일째 신장에서 발현되었고 IGFBP-1, -3는 약간만 발현되었다. IGFBP 단백질을 보기 위해 실시한 Western Ligand Blot(WLB) 상에서는 4개의 band가 관찰되었으나 아직까지 설치류의 IGFBP와 반응하는 항체가 상품화되지 않아 이 band가 어떤 IGFBP인지를 정확하게는 알 수 없었다.

출생 후에는 신장에서 IGF-IGFBP system에 여러 변화가 일어나는 것으로 알려져 있다. 백서에서는 IGF-II 수용체와 IGF-II mRNA 농도가 출생 후에는 급격히 감소되는데 사람에서는 혈청 IGF-II 농도가 IGF-I 보다 훨씬 높다[25]. 출생 후 신장 발육은 상당히 뇌하수체 의존적인데 뇌하수체가 제거된 신생 백서에서 혈청 IGF-I, -II와 간에서의 IGF-II mRNA 농도는 급격히 감소되고 IGFBP-2는 증가된다[26]. 한편 출생시에 낮은 IGFBP-3 농도의 점진적인 증가도 없다. Funk 등[27]에 의하면 3개월 영아의 신장에서는 WLB 상 IGFBP-3는 존재하나 IGFBP-2는 없었다. 그러나 성장호르몬 또는 IGF 결핍 백서에서와 Laron형 왜소증에서 확실한 신장 발육장애에 대한 보고가 없기 때문에 신장발육에 대한 성장호르몬과 IGF의 중요성에 이의를 제기할 수도 있다. 이번 연구에서는 특히 IGFBP의 변화를 보았는데 IGFBP-2와 -5가 가장 현저한 변화를 보였다. 태생 15일째 강하게 발현된 IGFBP-2와 -5는 출생 후 현저하게 감소하였는데 IGFBP-2는 30일째, IGFBP-5는 60일째부터 현저히 감소되었다. 반면에 태생신에서 적게 발현되었던 IGFBP-1, -3는 출생 후 점차 증가하는 양상을 보였다.

이번 연구에서 급성 허혈성 신손상 후의 신장조직에서의 IGFBP발현의 변화를 보면 허혈성 신손상 1일째에 IGFBP-3와 IGFBPrP-1 감소되었고 IGFBP-1과 -4는 증가하였으며 감소된 IGFBP-3와 IGFBPrP-1은 3일째부터 회복되었고 신장기능이 거의 회복된 10일째까지도 정상보다 증가된 상태로 지속되었다. 한편 Tsao 등[28]은 저자들의 연구와는 달리 IGFBP-2, -3, -4 및 -5 mRNA가 모두 신부전 2일째에 감소됨을 보고하였다. 정상 신장에서 IGF-I은 주로 신피질의 세뇨관에 분포하고 사구체에는 존재하지 않았고 허혈성 신손상 후에 IGF-I이 현저하게 감소하였는데 이는 급성 신손상 기전에서의 IGF-I의 역할를 의미한다.

신장조직에서의 이러한 IGFBPs mRNA의 변화 의미와 개개의 IGFBP의 신장에서의 역할은 정확하게 밝혀져 있지는 않지만 이들 IGFBP가 IGF-I과 결합하여 표적세포로 IGF-I을 공급해주는 *carrier*로서 또는 조직 저장소로의 역할을 할 수 있을 것으로 생각된다. 따라서 신장이 발육하는 동안이나 신부전 백서 신장에서의 IGFBP mRNA의 변화는 IGF-I의 생체내 이용율에 영향을 미쳐 신장 발생이나 재생에 IGFBP가 영향을 줄 것으로 생각되며 이에 대한 많은 연구가 필요할 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

1. Saxen L : Organogenesis of the kidney. Cambriddge, Cambridge University Press, 1987
2. Nigam SK, Aperia AC, Brenner BM : *Development and maturation of the kidney, in* The Kideny(5th ed), edited by Brenner BM, Philadelphia, W.B. Saunders Company, 1996 p72-98,
3. Rogers SA, Ryan G, Hammerman MR : Insulin-like growth factor I and II are produced in the metanephros and are required for growth and development *in vitro*. J Cell Biol 113:1447-53, 1991
4. Rogers SA, Ryan G, hammerman MR : Metanephric transforming growth factor-α is required for renal organogenesis in vitro. Am J Physiol 262:F533-F9, 1992
5. Hammerman MR : Growth factors in renal development. Semin Nephrol 15:291-9, 1995
6. Bonventre JV : Mechanisms of ischemic acute renal failure, Kidney Int 43:1160-78, 1993
7. Liu S, humes HD : Cellular and molecular aspects of renal repair in acute renal failure. Cur Opin Nephrol Hypertens 2:618-24, 1993
8. Toback FG : regeneration after acute tubular necrosis. Kidney Int 41:226-46, 1992
9. Nissley SP, Rechler MM : Insulin-like growth factors, Biosynthesis, receptors and carrier proteins. In : Li CH, ed. hormonal protein and peptides. new York. Academic press 12:128-203, 1985

10. Daughaday WH, Rotwein P : Insulin-like growth factors I and II. Peptide, messenger ribouncleic acid and gene structure, serum and tissue concentration. Endocr Rev 10:68-91, 1989
11. Hirvonen H, Sandberg M, Kalimo H, Hukkanen V, Vuorio E, Salmi TT, Alitalo K : The n-myc proto-oncogene and IGF II growth factor mRNAs are expressed by distinct cells in human fetal kidney and brain. J Cell Biol 108:1093-104, 1989
12. Hammerman MR : The growth hormone-insulin-like growth factor axis in the kidney. Am J Physiol 275:F503-F14, 1989
13. Rogers SA, Ryan G, Hammerman MR : Insulin-like growth factors I and II are produced in the metanephros and are required for growth and development in vitro. J Cell Biol 113:1447-53, 1991
14. Shimasaki S, Ling N : Identification and molecular characterization of insulin-like growth factor binding proteins (IGFBP-1, -2, -3, -4, -5, and -6). Prog Growth factor Res 3:243-66, 1991
15. Hossenlopp P, Seurin D, Segovia-Quinson B, hardouin S, Binoux M : Analysis of serum insulin-like growth factor binding proteins using western blotting: Use of the method for titration of the binding proteins and competitive binding studies. Anal Biochem 154:138-43, 1986
16. Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis W : Molecular Cloning. A Laboratory manual(2nd ed). Cold Spring harbor, Cold Spring harbor Laboratory Press Chapter 7, 1989
17. Hammerman MR, Miller SB : The growth hormone insulin-like growth factor axis in kidney revised. Am J Physiol 265:F1-14, 1993
19. Martin JL, Baxter RC : Insulin-like growth factor binding protein-3 : Biochemical and physiology. Growth Regulation 2:88-99, 1992
20. Oh Y, Nagalla SR, Yamanaka Y, Rosenfeld RG : Synthesis and characterization of insulin-like growth factor binding protein(IGFBP)-7. J Biol Chem 271:30322-5, 1996
21. Thisher C, Madsen K : Anatomy of the kidney. In : Brenner B, Rector F (eds) The Kidney. W.B. Saunders Co, Philadelphia, p3-60, 1985
22. Hammerman MR, Rogers SA, Ryan G : Growth factors and kidney development. Pediatr Nephrol 7:616-20, 1993
23. Hammerman MR, Ryan G, Miller SB : Expression of insulin-like growth factor in adult and embryonic kidney. Miner Electrolyte Metab 18:253-5, 1992
24. Chin E, Zhou J, Bondy C : Gene expression of insulin-like growth factors and their receptors in nephrogenesis. Program of the 73rd Ann Meeting of The Endocrine Society Washington DC, 1991(Abstract 449), 1991
25. Nissley P, Kiess W, Sklar M : Developmental expression of the IGF-II/mannose 6-phosphate receptor. Mol reprod Dev 35:408-13, 1993
26. Glasscok GF, Gelber SE, Lamson G, McGee-Tekula R, Rosenfeld RG : Pituitary control of growth in the neonatal rat: effects of neonatal hypophysectomy on somatic and organ growth, serum insulin-like growth factors (IGF)-I and -II levels, and expression of IGF binding proteins. Endocrinology 127:1792-803,1990
27. Funk B, Kessler U, Eisenmenger W, hansmann A, Kolb HJ, Kiess W : The expression of insulin-like growth factor binding proteins is tissue specific during human fetal life and early infancy. Acta Endocrinol (Copenh) 127:107-14, 1992
28. Tsao T, Wang J, Fervenza FC, Vu Th, Jin IH, Hoffman AR, Rabkin R : Renal growth hormone-insulin-like growth factor-I system in acute renal failure. Kidney Int 47:1658-68, 1995

= Abstract =

Alteration of Insulin-like GrowthFactor(IGF)-I and IGF-Binding Proteins in Renal Development and Regeneration

Dae-Yeol Lee, Sung Kwang Park*, Gou Young Koh**

Department of Pediatrics, Internal Medicine, Institute of Cardiac Regeneration Group** and Institute of Medical Science, Chonbuk National University Medical School, Chonju, Chonbuk, Korea*

Purpose: Insulin-like growth factor(IGF)-I and -II are peptide growth factor whose activity is modulated by interaction with the family of six IGF-binding proteins(IGFBPs). IGF-I is detected in rat kidney and has metabolic and growth effects. This study was designed to examine temporal expression of IGFBPs in kidney during renal development and postischemic regeneration in rat.

Method: The expression of IGFBPs in kidney during renal development from 15th day of gestation to adult life by using Northern blot analysis. We also examined the renal IGF-IGFBP axis in uremic rat by using Northern blot and immunohistochemistry.

Results: The mRNA of IGFBP-1 and -3 were not or barely detected in fetal stages. However, the mRNA level of IGFBP-1 and -3 were increased gradually from day 7 after birth to adult. In contrast, the mRNA of IGFBP-2 and -5 were highly expressed in fetal stages and maintained almost same levels until day 7 (IGFBP-2) or day 30 (IGFBP-5) after birth, then their levels decreased markedly. The mRNA of IGFBP-4 were expressed moderately in fetal kidney and increased gradually after birth. Interestingly, the mRNA of IGFBP-1 and-4 were induced up to 3-5 fold during maximum regeneration period and were recovered to normal levels after acute ischemic injury. In contrast, the mRNA level of IGFBP-3 and-IGFBPrP-1 were decreased slightly at 1 day after ischemic injury, then recovered to normal level during maximum regeneration period.

Conclusion: There were differential expressions of IGFBPs in kidney that can modulate IGF action on developing, differentiating, maintaining, and regenerating renal structure and function.

Key words: IGF-I, IGFBPs, Rat, Kidney, Development, Regeneration