

전환성장인자에 의한 사구체 혈관세포의 plasminogen activator inhibitor-1

상향 조절에 있어서 활성산소종의 역할

이희발¹, Zongpei Jiang¹, 서지연², 김유선², 하현주¹

순천향대학교 현암신장연구소¹, 연세대학교 의과대학 BK21의과학사업단²

전환성장인자-β1 (transforming growth factor-β1: TGF-β1)은 당뇨병성 신증에서 사구체내 세포외기질 축적을 유발하는 최종 매개인자이다. TGF-β1은 세포외기질 단백질의 생산을 증가시킬 뿐 아니라 plasminogen activator inhibitor (PAI)-1을 상향조절하므로써 세포외기질 단백질의 분해를 억제하여 세포외기질 축적을 유발한다. 본 연구에서는 TGF-β1에 의한 사구체 혈관세포의 plasminogen activator (PA)/plasmin/PAI 계 표현의 조절에서 활성산소종의 역할을 검색하므로써 TGF-β1의 신호전달분자로서의 활성산소종 역할을 알아보았다. 성장이 동일화된 흰쥐 혈관세포를 여러 농도의 TGF-β1과 과산화수소를 합성하는 glucose oxidase (GO)로 지속적으로 자극하였다. 활성산소종의 역할을 검색하기 위하여 세포내 항산화제인 glutathione의 고갈을 초래하는 DL-buthionine-(S,R)-sulfoximine (BSO) 1mM로 24시간 전처리하거나 항산화제인 N-acetylcystein (NAC) 5mM, catalase 500U/ml 및 trolox 500μM로 1시간 전처리하였다. Tissue-type PA (tPA), urokinase-type PA (uPA), PAI-1 mRNA는 RT-PCR 과 Northern blot 분석으로 각 단백질의 발현은 Western blot 분석으로 측정하였다. tPA, uPA, plasmin의 활성은 효소활성으로 측정하였다. 2ng/ml TGF-β1과 10mU/ml GO는 투여 후 6시간에 대조군에 비하여 PAI-1 mRNA 수준을 각각 2.1배와 1.8배 증가시켰고 이는 24시간까지 지속되었다. 분비된 PAI-1 단백질은 TGF-β1과 GO에 의하여 48시간에 각각 2.1배와 2.2배 증가하였다. TGF-β1과 GO는 uPA의 mRNA 수준을 24시간에 50%까지 감소시켰으나, tPA의 mRNA에는 영향을 주지않았다. 그러나 tPA와 uPA의 활성은 TGF-β1과 GO에 의하여 감소하였고 plasmin 활성 역시 TGF-β1과 GO에 의하여 감소하였다. TGF-β1과 GO에 의해 변화하는 uPA와 PAI-1 mRNA 표현은 BSO 24시간 전처리에 의하여 더욱 증폭되었고, 항산화제에 의하여 효과적으로 억제되었다. 이상의 결과는 활성산소종이 TGF-β1에 의한 혈관세포에서의 PAI-1 상향조절과 tPA, uPA 및 plasmin 활성 억제에 중요한 역할을 함을 시사하였다.

Early activation of MAP kinase followed by Cyclooxygenase-2 (COX-2) is required for uric acid-induced proliferation of vascular smooth muscle cells (VSMC)

Division of Nephrology, Ewha University College of Medicine, Seoul and Baylor College of Medicine, TX
Duk-Hee Kang, Young-Ok Hahm, Kyun-Il Yoon, Richard J Johnson

Recently we reported that mild hyperuricemia results in hypertension and renal injury with characteristic afferent arteriopathy. Uric acid induced vascular disease was independent of blood pressure, which suggested a potential direct effect of uric acid on smooth muscle cells (SMC). We hypothesized that uric acid may stimulate the proliferation of vascular SMC, which contributes to the development of arteriopathy, increased vascular resistance and progressive renal disease.

1. Stimulation of rat vascular SMC (ATCC, CRL-2018) with uric acid (0.3, 3, 5, 10 mg/dl) resulted in dose- and time-dependent increase in SMC number from 6 to 72 hours.
2. Uric acid induced a marked increase in COX-2 mRNA whereas comparable COX-1 mRNA expression. Selective COX-2 inhibitor (NS398, 10 μM/L) significantly inhibited uric acid-induced SMC proliferation. Interestingly, TX-A₂ antagonist (SQ-29548, 2.5 M/ml) also reduced uric acid-induced SMC proliferation.
3. Exposure of uric acid to SMC was associated with marked upregulation of p38 and erk phosphorylation from 15 minutes to 2 hours. Selective inhibitor of p38 (PD98059) and erk (SB203580) inhibited the mitogenic effect of uric acid on SMC.

These findings suggest that a prostanoid derived from COX-2, possibly TX-A₂, may contribute to SMC proliferation through MAP kinase-mediated signaling pathway in progressive renal disease or any other conditions associated with elevated uric acid level. Further studies investigating the therapeutic effect of inhibitors of MAP kinase or COX-2 are necessary in these pathologic conditions.