배양된 mouse podocyte에서 angiotensin(AT) Ⅱ 자극에 의한 vascular endothelial growth factor(VEGF) 합성에서의 p38 MAPK pathway의 역할

고려의대 안산병원 내과학교실, 의학연구소[1], 인제의대 내과학교실[2], 연세의대 내과학교실[3]

강영선, 지이화[1], 홍동기[1], 소경아[1], 한금현, 한상엽[2], 차대룡, 강신욱[3], 한대석[3]

VEGF는 혈관 내피세포에 작용하여 혈관의 투과력을 증가시키고 세포분열을 통한 내피 세포의 증식에 관여하며 ATⅡ는 VEGF 생성을 증가시키는 것은 알려져 있지만, 유전자 조절 단계에서의 정확한 기전은 확실치 않다. 이에 본 연구에서는 ATⅡ 자극시에 p38 MAPK pathway의 역할을 알아보고자 p38 MAPkinase, MKK3/6, CREB, ATF2 등의 변화를 관찰하였고, p38 MAPkinase 억제제인 SB 203580을 처리한 후 ATⅡ로 자극하였을 때 VEGF 합성의 변화를 조사하여 다음의 결과를 얻었다. 1. ATⅡ (100nM) 투여후 대조군에 비해 30분, 1시간이 지난 후 p38MAPK mRNA의 발현은 증가하는 경향을 나타내었고, 6, 24시간에서는 유의하게 증가하였다(0.462±8.86 vs 1.07±2.57 vs 1.58±0.11 vs 1.86±9.58 vs 3.25±1.19, $p<0.05$). p38과 pp38 MAPkinase 단백은 ATⅡ의 농도 및 시간경과에 따라 증가하였다. 2. MKK3/6의 경우, ATⅡ투여군에서는 대조군보다 30분, 1시간에는 증가하는 경향을 보였고 6, 24시간에 의미있게 증가하였다(0.47±2.23 vs 0.90±2.01 vs 0.87±4.26 vs 1.31±0.14 vs 2.58±6.23, $p<0.05$). MKK3/6의 단백발현은 대조군과 비교하여 30분, 1, 6시간까지 점차 증가하다가 24, 72시간으로 갈수록 감소하였고 phosphorylated MKK3/6도 유사한 결과를 보였다. 3. CREB의 경우는 ATⅡ 투여군에서 30분, 1시간에서 증가하는 추세를 나타냈고 6, 24시간에서는 유의한 증가를 보였다(0.60±1.01 vs 1.86±0.47 vs 2.38±0.51 vs 3.45±5.07 vs 5.05±2.37, $p<0.05$). CREB의 단백발현은 ATⅡ의 농도에 따라 증가하였지만 시간에 따른 변화는 없었다. 활성화된 phosphorylated CREB은 ATⅡ의 농도에 따라 증가하였고 6시간까지 증가하다가 24, 72시간에서 점차 감소하였다. phosphorylated ATF2의 단백발현은 ATⅡ의 농도에 따라 증가하였고 24시간까지 시간에 따라 증가하다가 72시간에서 감소하였다. 4. ATⅡ 투여후 30분, 1, 6, 24시간에 따른 VEGF의 mRNA의 발현은 정상 대조군에 비하여 1시간 이후 시간경과에 따라 의미있게 증가하였다(0.28±4.36 vs 0.40±3.51 vs 0.98±0.11 vs 1.95±6.66 vs 4.25±0.62, $p<0.05$). 5. p38 MAPkinase억제제(SB 203580)를 농도(1 μM, 10 μM)에 따라 처리한 후, AT Ⅱ를 투여하였을 경우 30분, 1, 6, 24시간에 따른 VEGF mRNA 발현은 유의한 억제소견을 보였으며(0.27±4.36 vs 0.46±0.12 vs 0.53±0.17 vs 1.38±0.38, $p<0.05$), VEGF의 단백발현 역시 유의한 감소가 관찰되었다. 이상의 결과로 부터 ATⅡ에 의한 VEGF 합성 기전에 p38 MAPK signaling pathway가 관여할 것으로 여겨진다.