

Mycophenolic Acid가 배양된 흰쥐 혈관평활근세포에서 PDGF에 의한 NAD(P)H Oxidase, 활성산소족, Mitogen-activated Protein Kinase에 미치는 영향

연세대학교 의과대학 외과학교실, 순천향대학교 현암신장연구소*

김유선 · 박제현 · 하현주*

목적 : 혈관평활근세포의 증식은 장기이식에서 발생하는 혈관경화증 및 동맥경화증 등의 발생과 진행의 중요한 기전이다. Mycophenolic acid (MPA)는 강력한 면역억제제로서 다양한 세포에서 강력한 증식억제 효과를 보이고 있으나, 세포특이적인 반응에 따라 다른 기전의 가능성이 제시되면서 본 연구진은 MPA가 세포내 공통신호전달계인 활성산소족 (reactive oxygen species)과 mitogen-activated protein kinases (MAPK)에 대한 억제효과를 보이는 기존 연구결과를 토대로 PDGF에 의해 유도된 흰쥐 혈관평활근세포의 증식에서 활성산소족의 주된 생성경로로 알려져 있는 NAD(P)H oxidase에 대한 MPA의 효과를 연구하였다.

방법 : Sprague-Dawley계 흰쥐대동맥에서 분리한 혈관평활근세포를 10% 우태아혈청이 함유된 MEM 배지에서 배양하여 실험에 사용하였다. 혈청 배제 배양액으로 48시간 동안 배양하여 세포의 성장을 동일화시킨 후 PDGF-BB 10 ng/mL을 사용하여 자극하였고, 각 약물의 투여는 PDGF를 투여하기 1시간 전에 처리하였다. 세포의 증식은 [H3]-thymidine incorporation 및 MTT, NAD(P)H oxidase subunit의 mRNA양은 RT-PCR, 세포내 활성산소족은 산화에 민감한 DCFH-DA를 사용한 flow cytometry, 그리고 MAPK 분석은 Western blot analysis 방법을 사용하였다.

결과 : PDGF 투여 후 48시간에 [H3]-thymidine incorporation과 MTT는 각각 대조군의 3.4배와 1.7배, 5분에 세포내 활성산소족은 1.6배, p38 MAPK 활성화는 3.9배, 그리고 10분에 ERK 활성화는 3.3배 증가되었다. MPA의 세포증식에 대한 IC50은 100 nM-1 μM 사이였고, 10 nM 이상에서 활성산소족을, 1 μM 이상에서 ERK와 p38 MAPK 활성화를 억제하였다. NAD(P)H oxidase subunit에 대한 mRNA 분석은 PDGF 투여 후 p22phox, p47phox 및 MOX1의 mRNA가 시간과 함께 증가하여 24시간에 최대치를 보였다. MPA는 PDGF에 의한 p22phox mRNA 수준을 유의하게 억제하였다. 또한, NAD(P)H oxidase 억제제인 diphenyliodonium (DPI) 100 nM은 세포의 증식, 세포내 활성산소족 및 ERK와 p38 MAPK를 억제하였다.

결론 : 본 연구결과는 PDGF 투여 후 유도되는 혈관평활근세포의 증식에서 활성산소족과 MAPK 경로가 관여하며, MPA가 활성산소족의 주된 생성경로인 NAD(P)H oxidase subunit 중 p22phox의 작용을 억제하여 세포내 활성산소족 및 MAPK 활성화를 억제하고, 궁극적으로 세포의 증식을 억제함을 시사한다.

5월 24일 크리스탈 볼룸 II