P117

HGF prevents H2O2-induced cell death via Erk-dependent pathway in MDCK cells

동아대학교 의과대학 생리학교실, 병리학교실[1], 내과학교실[2]

배혜란, 나서희[1], 안원석[2], 김성은[2], 김기현[2]

목 적: 급성 신부전의 독성 및 허혈성 신손상 동물모델에서 간세포성장인자(HGF)가 신세뇨관 상피세포의 재생을 촉진할 뿐 아니라 신독성물질에 의한 신세뇨관 세포 자멸사를 방지하는 것으로 보고된 바 있으나 그 기전은 충분히 밝혀져 있지 않다. 그런데 급성 신부전 발생의 주요한 형태인 허혈-재관류 손상에서 산소화합물이 근위 및 원위 세뇨관세포 손상의 중요한 매개 역할을 하는 것으로 알려져 있으므로 본 저자들은 산화 스트레스로 인한 신세뇨관의 세포 손상을 HGF로 방지할 수 있는지와 작용경로를 알아보고자 하였다.

방 법: MDCK세포에 H2O2를 이용하여 산화 스트레스를 유발시켰으며, 세포배양액에 유전자 재조합 HGF를 투여하여 억제 효과를 관찰하였다. 세포 자멸사는 resin-emdedded toluidine blue stain을 이용하여 형태학적으로 확인하고, PI 염색 후 flow cytometry로 정량하였다. 미토콘드리아 막전압은 5,5′,6,6′-tetrachloro-1,1′,3,3′-tetraethylbenzimidazol carbocyanine iodide (JC-1)을 이용하여 flow cytometry로, cytochrome C 유리는 면역형광방법으로 정량하였다. 신호전달물질들의 활성화는 인산화된 단백질에 대한 immunoblot으로 분석하였다.

결 과: H2O2 (0.25mM-5mM)에 의해 농도 의존적으로 세포 자멸사가 증가되었다. 1mM H2O2 처리 24시간 경과 후 세포 자멸사는 10ng/ml HGF 처리시 46% 억제되었다 (H2O2 처리군 19.5%, H2O2와 HGF 처리군 10.5%). H2O2로 유도한 세포 자멸사에 동반되는 미토콘드리아 막전압의 증가와 cytochorome C 유리는 HGF 처리로 유의하게 억제되었다. HGF 처리시 H2O2에 의해 억제되었던 phospho-Erk가 유의하게 증가되었으나, phospho-p38은 변화가 없었다. H2O2에 의한 세포 사멸사를 억제하는 HGF의 효과는 ERK inhibitor인 PD198306에 의해 소실되었다.

결 론: HGF는 MDCK 세포에서 H2O2에 의해 유도되는 세포 자멸사를 억제하며, 이는 Erk 활성화 경로를 매개하여 일어나는 것으로 추측된다.