

Growth Arrest and DNA Damage 45-gamma에 의하여 활성화된 p38 mitogen activated protein kinase의 역할

아주대학교 의과대학 신장내과

임정은 · 김흥수 · 신규태

The Role of p38 Mitogen Activated Protein Kinase Activated by Growth Arrest and DNA Damage 45-gamma

Jeung-Eun Lim, Heungsoo Kim and Gyu-Tae Shin

Department of Nephrology Ajou University School of Medicine

배 경 : Growth Arrest and DNA Damage 45-gamma (GADD45-gamma)는 세포주기조절 및 세포 사멸, 특정 세포에서 mitogen activated protein kinase (MAPK)의 활성화 등에 관여하는 것으로 알려져 있다. GADD45-gamma와 신장 질환에 대한 기존의 연구는 아직 없으나, 최근 우리 기관의 연구에서 GADD45-gamma가 일측 요관 폐색 신장에서 증가하고 만성 사구체 신염의 신조직에서 발현하며, 신세뇨관 세포에서 p38 MAPK를 활성화 하고 chemokine (C-C motif) ligand 20 (CCL-20), chemokine (C-X3-C motif) ligand 1 (CX3CL-1), interleukin 8 (IL-8)같은 염증을 일으키는 chemokine이나 metalloproteinase (MMP) 같은 섬유화 관련 물질 들의 및 생성에 관여 함이 밝혀졌다 (Kidney International, 2008). 또한 기존의 여러 연구에서 p38 MAPK는 신질환의 염증 및 섬유화를 매개하는 물질로 알려져 있으므로, 본 연구에서는 GADD45-gamma에 의한 p38 MAPK 활성화와 chemokine 및 MMP의 발현과의 관계를 연구하고자 하였다.

방 법 : 인간 GADD45-gamma의 open reading frame이 삽입되어 GADD45-gamma단백을 생성하는 adenovirus를 제작하였고, 50 multiplicity of infection의 양을 human renal epithelial 배양 세포에 감염시켰다. 대조군으로는 LacZ 유전자를 가진 adenovirus를 이용하였다. GADD45-gamma 단백질 발현 및 p38 MAPK, 활성화된 p38 MAPK인 p-p38 발현은 Western blot으로 확인 하였다. p38 MAPK를 억제하기 위하여 SB203580을 10 uM 농도로 배양 세포에 같이 처리하였다. 배양된 세포에서 mRNA를 분리하였고, 역전사 후 CCL-20, CX3CL1, IL-8, MMP-1와 MMP-10에 대한 중합연쇄효소반응을 실시하였고 결과를 glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH)에 대한 비로 비교하였다.

결 과 : GADD45-gamma군에서 LacZ 대조군과 비교하여 p-p38 발현이 증가하였고, 또한 CCL-20, CX3CL1, IL-8, MMP-1와 MMP-10도 현저히 증가하였다. GADD45-gamma adenovirus와 SB203580을 동시에 처리하여 24시간 배양한 세포에서는 CCL-20, CX3CL1, IL-8, MMP-10의 발현 증가가 억제되었으나 MMP-1은 발현이 증가되었다. GADD45-gamma adenovirus를 처리한 후 24시간 경과하여 SB203580을 처리하여 24시간 더 배양한 세포에서는 CCL-20, CX3CL1는 여전히 감소하였으나 IL-8, MMP-10의 발현은 증가되었다. MMP-1은 여전히 증가된 결과를 보였다.

결 론 : Human renal epithelial 배양 세포에서 GADD45-gamma에 의한 CCL-20, CX3CL1, IL-8, MMP-10 증가는 p38이 매개하였고, p38이 활성화 되기 전에 이를 억제하면 이들 물질의 증가를 억제할 수 있었으나, 그 이후의 p38억제는 IL-8과 MMP-10의 증가를 막을 수 없었다. MMP-1은 p38 MAPK 경로와 무관하였다.

Key Words : GADD45-gamma, p38, 케모카인
GADD45-gamma, p38, chemokine