

Ruboxistaurin 및 Carbamylated Erythropoietin이 만성 콩팥병의 발생 및 악화에 미치는 영향

이화여자대학교 의학전문대학원 내과학교실¹, 경북대학교 의과대학 내과²

강덕희¹ · 장양희¹ · 유은선¹ · 유민아¹ · 최순연¹ · 김찬덕¹ · 박선희² · 김용림²

배 경: 신장세포의 epithelial-to-mesenchymal transition (EMT)는 신장 섬유화의 주요기전으로 최근 EMT를 억제하거나 역전시키는 치료의 신보호 효과에 관한 관심이 증가되고 있다. Protein kinase C- β (PKC- β)는 당뇨병성 신증의 병태 생리에 주요 기능을 하는 것으로 알려져 있으나 최근 개발된 PKC- β 의 선택적 억제제인 ruboxistaurin의 신보호 효과에 관해서는 아직 논란이 있는 상태이다. 또한 Erythropoietin (EPO)은 기존의 조혈 효과이외에도 신보호 효과가 있는 것으로 알려져 있으나 조혈 작용과 동반되어 나타나는 고혈압이나, 혈전 생성 등의 부작용이 있어 최근에는 조혈작용이 일어나지 않으면서 조직 보호 효과가 있는 EPO 단백질의 carbamylation으로 생성된 CEPO에 대한 관심이 증가되고 있다. 본 연구는 ruboxistaurin 및 CEPO가 TGF- β 에 의해서 유도된 EMT를 억제할 수 있는지를 확인하고자 하였다.

방 법: 신장 상피세포에 TGF- β (1-10 ng/ml)를 48시간 처리한 후, EMT로의 전이를 확인하기 위해 mesenchymal marker (α -SMA)와 epithelial cell marker (E-cadherin)를 Western blot으로 확인하였다. TGF- β 에 의한 EMT에 ruboxistaurin (1 μ M)의 전처리 효과와 이미 EMT가 발생한 후의 CEPO (100 ng/mL) 혹은 EPO (500ng/ml)의 처치가 미치는 영향을 Western blot과 Real-time PCR로 EMT marker를 확인하였다. 각각의 실험에서 MAPKinase 및 Smad pathway 활성화를 Western blot으로 확인하였고, 세포 사멸의 변화를 Annexin V/PI 염색과 FACscan analysis로 조사하였다.

결 과: NRK 세포 및 MDCK 세포주에 TGF- β (1-10 ng/mL) 처리 결과, 48시간째부터 α -SMA가 증가하고, E-cadherin이 감소되었다. TGF- β 에 의해 유도된 EMT는 ruboxistaurin 전처리로 유의하게 억제되었다 또한 CEPO (100 ng/mL, 500 ng/mL) 혹은 EPO (100 ng/mL, 500 ng/mL)를 48시간 처리함으로써 α -SMA의 증가가 TGF- β 단독 처리군에 비해 감소되었다 (CEPO: $p < 0.05$, EPO: $p < 0.05$). 신장상피세포에서 TGF- β 처리는 Erk1/2, p38 MAPKinase 및 smad2의 인산화를 증가시켰으나 ruboxistaurin은 Erk1/2의 활성화만을 억제하였다. TGF- β 에 의해 증가된 p-smad2은 CEPO 혹은 EPO 처리에 의해 감소되었다. Ruboxistaurin은 TGF- β 에 의한 NRK 세포의 사멸에 유의한 효과가 없었다.

결 론: Ruboxistaurin 및 CEPO는 TGF- β 에 의해서 유도된 EMT를 억제하고 이는 각각 Erk1/2 MAPKinase 및 smad 경로를 통하여 이루어짐을 확인하였다.