

급성 고장성 자극에 의한 세포손상의 기전: IKBa 분해 및 NF-KB 활성화 억제

의료법인 열린의료재단 동대문열린의원¹, 서울대학교병원 신장학연구소², 메릴랜드 의과대학 내과학교실³

전은실¹, 양승희², 권혁무³

Acute Hypertonic Stress Induced Early Cell Damage by the Inhibition of IKBa Degradation and NF-KB Activity Independent to TonEBP (NFAT5)

Un Sil Jeon¹, Seung Hee Yang², Hung Moo Kwon³

Yeolin Medical Foundation Dongdaemoon Yeolin Medical Clinic¹
Kidney Research Institute Seoul National University²
University of Maryland College of Med Dept Int Med³

고장성 자극은 세포용적을 감소시키고 세포내 ionic strength를 증가시킴으로써 세포손상과 세포사를 유발하는 유해한 자극이다. 신장 내수질은 생리적 상태에서 600-1,200 mOsm에 이르는 고장성 자극에 노출되므로, 이에 대하여 TonEBP (NFAT5)를 매개로 하는 세포내 비독성 고삼투질 농도를 증가시킴으로써 세포손상을 막는 방어 기전이 존재한다. 그러나 TonEBP는 작용하기까지 수시간이 필요한 것으로 알려져 있다. 한편, NF-kB는 TonEBP와 유사한 분자구조를 가지고 있으며 고장성 자극에 의하여 활성화가 변화됨이 보고되었고, 연구자들은 이전 고장성 자극에 의하여 활성화되는 물질들을 확인하는 연구에서 IKBa 증가를 확인한 바 있다. 이에 본 연구에서 급성 고장성 자극에 의한 세포손상에서 NF-KB의 역할과 이와 TonEBP와의 관련성을 확인하고자 하였다. 먼저, HeLa 세포에서 NaCl (50, 100mM)를 추가하여 시간에 따른 NF-KB 활성화, 관련물질 및 세포손상을 확인하였다. 그 결과, NF-KB 활성 억제물질인 IKBa 단백질은 고장성 자극 후 30분 후부터 증가하여 4시간 후 기저상태로 감소한 후 이후 다시 증가하였고, IKBa mRNA는 자극 2시간 후부터 지속적으로 증가하여 24시간까지 증가상태를 유지하였다. NF-KB target 물질인 MCP-1, cFLIP mRNA는 고장성 자극 30분 후부터 감소하여 4시간까지 감소상태로 지속된 후 8시간 이후로 증가하였다. TNFα에 의하여 유도된 NF-KB-driven luciferase 활성도는 급성 고장성 자극에 의하여 억제되었고, NF-KB 주요단백인 p65의 세포핵 내 이동 및 phosphorylation 역시 고장성 자극에 의하여 억제되어서, 이러한 결과는 급성 고장성 자극에 의하여 NF-KB 활성도가 억제됨을 보여주었다. 한편, 삼투질 농도는 증가시키나 tonicity 변화를 유발하지 않는 동량의 urea는 NF-KB 활성화에 영향을 주지 않았다. IKBa는 NF-KB 단백질과 결합하여 NF-KB의 세포내 이동을 막음으로써 NF-KB 활성도를 억제하는 물질로, 급성 고장성 자극에 의한 NF-KB 활성도 억제의 기전을 확인하기 위하여 IKBa 단백질변화를 하였고, 그 결과 급성 고장성 자극은 TNFα에 의한 IKBa 단백질 분해의 저해 및 이에 동반하여 IKKβ의 작용과 무관한 IKBa인산화의 감소를 유발하였다. 급성 고장성 자극에 의한 세포손상 여부를 확인하기 위하여 caspase 3 활성화도 및 TUNEL 염색을 시행하였고, 그 결과 고장성 자극에 의한 apoptosis가 발생하였고, 같은 농도의 urea 자극은 apoptosis를 유발하지 않았다. Proteasome 길항제인 MG-132를 처리한 결과 급성 고장성 자극에 의한 TUNEL 염색 양성인 세포 분획의 감소 및 caspase 3 활성화의 억제를 관찰하였다. 또한 MG 132 처리는 급성 고장성 자극에 의한 IKBa mRNA 발현을 억제하였다. 이러한 결과는 급성 고장성 자극에 의한 NF-KB 활성도의 억제가 고장성 자극에 의한 세포손상 및 apoptosis의 작용함을 보여준다. 한편, 고장성 자극을 24시간 이상 지속하는 경우 NF-KB 활성도의 억제는 발생하지 않아서, 이는 수시간내의 급성기 자극에 국한됨을 알 수 있었다. 마지막으로, 급성 고장성 자극에 의한 TonEBP 활성도를 측정할 결과 본 연구에서 시행한 급성기에서는 TonEBP의 활성도나 세포핵 내 이동을 유발하지 않아서 이러한 결과는 TonEBP와 무관하게 발생하였다. 이상의 결과는 TonEBP가 활성화되기 전 급성 고장성 자극은 세포내 IKBa의 분해를 억제함으로써 NF-KB의 활성화를 억제하고, apoptosis에 의한 세포손상에 발생함을 보여주는 것으로, 이는 NF-KB가 급성기 고장성 자극에 의한 세포 손상에서 보호기전으로 작용함을 시사해준다.

Key Words: NF-KB, IKBa, 급성 고장성 자극, 세포손상
NF-KB, IKBa, Acute hypertonic stress, Cellular injury