

Epithelial-Mesenchymal Transition (EMT) in Renal Disease Progression

경북대학교 의과대학 내과학교실

박 선 희

서 론

만성신질환은 비가역적 (irreversibility)이고 진행성 (progression)이라는 특징을 가지며, 결국 말기신부전에 이르러 신 대체요법을 필요로 하게 된다. 최근 건강검진 등으로 만성신부전 고 위험군의 조기발견이 증가하나, 아직도 임상적으로 만성신부전 환자에서 신기능의 회복을 기대할 수 있는 근본적인 치료는 없는 실정이다. 이러한 만성신질환은 병리학적으로 사구체경화와 간질 섬유화, 세뇨관 위축 등을 특징으로 한다. 신장의 간질 섬유화 (interstitial fibrosis)는 당뇨병성 신증, 고혈압, 사구체신염 등의 다양한 원인에 의한 신손상에서 공통적으로 나타나는 병리 현상이다.

고전적으로 신 섬유화에 관계되는 주된 세포는 간질 섬유화세포 (interstitial fibroblast)로, 간질에 침윤된 염증세포에서 나오는 cytokine 및 성장인자의 자극, 저산소증 등의 외부자극으로 활성화 섬유화세포로 증식이 되며, 이러한 세포에 의해 세포의 기질의 합성이 증가되고 분해가 감소되면서, 간질 섬유화가 점차 진행되어 신기능이 감소되는 것이다^{1, 2)}.

그러나 최근의 여러 연구에서 신 상피세포가 이러한 섬유화 과정에 참여하는 주된 세포로 제기되고 있다³⁾. 즉 상처치유 과정과 달리, 초기 원인인자가 제거된 후에도 섬유화 과정이 진행되는 것은 신 상피세포가 외부자극에 의해 근섬유화세포 (myofibroblast)로 전환되고, 활성화된 근섬유화세포가 지속적으로 신 섬유화를 진행하게 한다는 것이다.

상피세포의 간엽세포화 (Epithelial-mesenchymal transition, EMT)란 상피세포가 상피세포로서의 특성을 잃고 간엽세포 (mesenchyme)로서의 특성을 가지게 됨을 의미한다.

집합관을 제외한 신장의 상피세포가 발생기간 동안

간엽세포의 상피세포화 (mesenchymal to epithelial transdifferentiation, MET)로 형성된 점을 생각할 때, 이러한 EMT는 발생과정을 역행하는 것이라고 볼 수 있다⁴⁾. EMT는 신 섬유화 이외에도 간, 폐 섬유화 및 배아세포의 발생과정, 상피세포 종양의 전이과정에 관여한다^{5, 6)}.

이에 저자는 신 상피세포의 EMT를 중심으로 신 섬유화의 기전을 살펴보고, EMT를 실험적으로 증명한 연구를 통해 구체적인 EMT과정을 알아보려고 한다. 또 EMT과정을 유발하는 인자 및 신호전달체계에 대해 알아보고 EMT를 차단하여 신질환의 진행을 억제할 수 있는 치료의 근간에 대해 알아보려고 한다.

1. 신 섬유화의 기전 (Mechanism of renal fibrosis)

신 상피세포는 과거에 생각하던 것보다 신 섬유화의 진행에 훨씬 능동적이고 주된 역할을 하는 세포라고 여겨진다. 즉 단백질, 고혈당, 활성 산소종 등에 의해 사구체세포가 자극되는 이외에도 이차적으로 신 상피세포가 자극되면 신 상피세포에서 chemokine이 분비되며 adhesion molecule이 증가되고 간질에 단핵구 등의 염증세포가 침윤되면서 염증이 증폭된다.

간질에 존재하던 섬유화세포가 활성화되어 세포의 기질 합성이 증가되고 분해가 감소되면서 섬유화가 진행된다. 초기에 있었던 자극인자가 없어진 이후에도 신 상피세포가 염증매개성 물질을 지속적으로 분비하거나, 외부자극에 의한 신 상피세포의 apoptosis 또는 근섬유화세포로의 전환 (EMT)에 의해 섬유화가 지속된다 (Table 1)³⁾.

2. EMT : 이론에서 현상까지 (From hypothesis to Evidence)

Strutz 등은 fibroblast specific protein-1 (FSP-1)이 섬유화 세포 이외에 섬유화가 진행되는 신조직

Table 1. Phase of Renal Fibrosis

Induction phase
Release of chemokines by tubular epithelial cells
Infiltration of mononuclear cells
Release of pro-fibrogenic cytokines
Activation and proliferation of resident fibroblast
Inflammatory matrix synthesis
Increased matrix synthesis and deposition
Continued release of pro-fibrogenic cytokines by inflammatory cells
Post-inflammatory matrix synthesis
Cessation of the primary inflammatory stimuli
Secretion of pro-fibrogenic cytokines by tubular epithelial cells
Autocrine proliferation of myofibroblast
Possible epithelial-mesenchymal transformation

Source : adapted from Zeisberg et al.³¹

의 상피세포에서도 발현된다는 보고를 통하여 이론적으로 생각하던 EMT 과정을 처음으로 구체화시켰다⁷⁾. FSP-1은 발생과정에서 postgastrulation 8.5일에 간엽세포 조직에서 처음 발현되는 cytoskeleton associated, calcium binding protein이다. 정상 신조직을 Anti-FSP-1 항체로 염색하는 경우, 신 상피세포에서는 발현되지 않고 간엽조직 및 섬유화세포에서 발현된다. 그러나 섬유화가 진행되는 신조직에서는 간질조직의 섬유화세포 외 염증 주위의 신 상피세포에서도 발현이 되며 이것으로 간질의 섬유화세포가 주위에 있는 신 상피세포에서 기원할 수 있을 것으로 생각하게 되었다. 실제 FSP-1 cDNA를 과발현시키는 경우, 상피세포 사이의 유착이 감소하며 cytokeratin의 감소, vimentin의 증가 등 간엽세포로의 특성을 가지게 되는 것을 확인하였다⁷⁾. 또 antisense oligomers로 FSP-1의 발현을 억제한 경우, EMT 표지자의 발현이 감소하고 세포의 이동능 (motility)이 감소함을 보고하였다⁸⁾. 그 외에도 5/6 신 절제술을 시행한 remnant kidney model과 일측 요관결찰 (Unilateral ureteral obstruction, UUO)모델에서, 신 손상 이후, 신 상피세포 표지자인 E-cadherin이 소실되고 간엽세포 표지자인 α -smooth muscle actin (SMA), vimentin의 발현이 증가되며 신 상피세포의 극성 (polarity)이 소실되고 세포내 cytoskeleton이 변하여 세포의 형태학적 변화와 함께 간질로 이동이 증가함을 보고하였다^{9, 10)}. 또한 동물실험 외 신조직검사를 시행한 사람 조

직에서도 EMT를 관찰할 수 있다. Jinde 등은 다양한 사구체질환으로 진단된 신조직에서 면역조직화학염색으로 α -SMA, cytokeratin, collagen I, III 등을 검사하여 cytokeratin이 감소하고 α -SMA의 발현이 증가하는 등 신 상피세포의 표현형이 변화하는 것이 신 섬유화의 진행과 관계 있다고 보고하였다¹¹⁾.

3. EMT의 병태생리학적 의의

신 섬유화가 진행되는 다양한 동물모델 및 임상연구에서 EMT를 관찰할 수 있는데, 그렇다면 신 섬유화 과정에 EMT가 필수적인 요소인지 의문을 가질 수 있다. 이유는 신 섬유화 과정에 주된 역할을 하는 간질 섬유화세포는 EMT를 통해 상피세포에서 기인하는 것 이외에도, 혈중 전구세포 (circulating precursor cell) 및 혈관주위 평활근 세포 (perivascular smooth muscle cell)에서도 유래할 수 있기 때문이다. 따라서 전체 섬유화 세포 중 EMT를 통해 형성된 섬유화세포가 어느 정도인지, 또는 EMT 과정을 차단할 경우 신 섬유화의 진행을 막을 수 있는지 확인할 필요가 있다. Iwano 등은 LacZ를 붙인 상피세포를 이용하여 FSP-1 양성 섬유화세포의 36%가 EMT 과정을 통해 형성되고 14-15%는 골수에서 유래되며 나머지는 원래 간질조직에 존재하는 섬유화세포의 증식에 의해 형성됨을 보고하였다¹²⁾. 또 Yang 등은 tissue-type plasminogen activator (tPA) $-/-$ mice에서 tPA의 활성이 차단되면 matrix metalloproteinase-9 (MMP-9)의 생성이 저하되어 상피세포의 기저막이 분해되지 않으므로 EMT가 진행되지 않으며 이 경우, 근 섬유화세포가 축적되지 않아 신 섬유화가 진행되지 않음을 보고하였다¹³⁾. 즉 EMT 없이 기존에 신 간질조직에 존재하는 섬유화세포 단독으로는 신 섬유화가 진행되지 않음을 보여주었다. 따라서 신 섬유화의 진행에 있어 EMT는 필수적인 요소라고 생각할 수 있다.

4. EMT의 과정

세포란 상피세포가 간질의 근섬유화세포로 전환되는 과정은 세포 외 조절인자와 세포내의 변화가 정교하게 상호작용하여 단계적으로 진행되며 다음과 같은 4단계로 요약할 수 있다.

첫째, 상피세포 사이의 접착이 소실되고 둘째, α -SMA이 발현되고 세포내 actin cytoskeleton의 재배

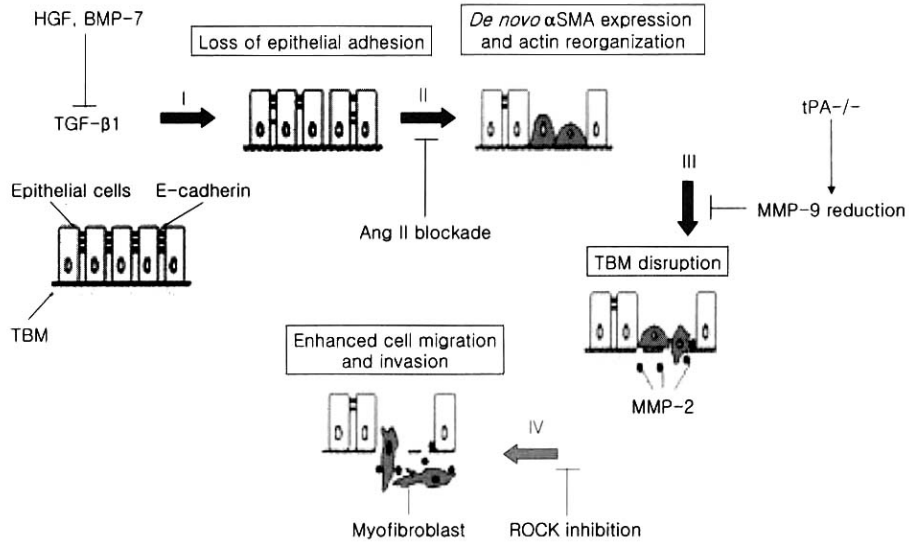


Fig. 1. Schematic illustration depicting key events during tubular EMT and therapeutic intervention. I) loss of epithelial adhesion properties, II) de novo expression of α -SMA and actin reorganization, III) disruption of the tubular basement membrane, IV) enhanced migration and invasive capacity of the transformed cells. Abbreviations: HGF, hepatocyte growth factor; BMP-7, bone morphogenic protein-7; Ang II, angiotensin II; tPA, tissue type plasminogen activator; MMP-9, matrix metalloproteinase-9; ROCK, Rho kinase; TBM, tubular basement membrane; α SMA, α smooth muscle actin^{10, 14}.

치가 일어나며 셋째, 상피세포와 간질을 분리하고 있는 세포 기저막이 분해되며 넷째, 세포의 이동과 간질 조직으로의 침투가 일어난다 (Fig. 1)^{10, 14}.

1) 상피세포 접착의 소실

정상적인 상피세포는 E-cadherin, ZO-1 등의 세포 접착단백에 의해 이웃세포와 연결되어 있으며 세포의 극성 (polarity)이 유지된다. EMT 과정을 유발하는 TGF- β 에 의해 처음 나타나는 변화는 접착단백의 발현이 감소하는 것으로 세포 사이의 접착이 소실되어 극성을 소실하게 된다.

2) Actin cytoskeleton의 재배치 및 α -SMA의 발현

E-cadherin은 세포내의 actin cytoskeleton과 연결되어 있어 E-cadherin이 소실되면서 세포내의 actin cytoskeleton이 재배치되고 α -SMA이 발현되어 세포의 이동이나 침윤 과정에 필요한 수축성 등 간엽세포로서의 특징을 갖게 된다.

3) 세포 기저막의 분해

세포의 기저막은 상피세포와 간질 조직을 분리하는 구조물로 상피세포가 간질로 이동하기 위하여 기저막의 분해가 반드시 필요하다. 실험상 EMT를 유도하면

MMP-2, MMP-9 등의 기저막을 분해할 수 있는 단백분해효소의 활성이 증가함을 알 수 있다.

4) 간질조직으로의 세포이동 및 침투

EMT 과정을 거쳐 변형된 세포는 수축 및 이동능 (motility)이 증가되어 간질조직으로 이동할 수 있다.

5. EMT의 기전 및 신호전달체계

1) EMT의 조절인자 (Table 2)¹⁴

EMT는 여러 가지 성장인자나 cytokine, 호르몬 또는 세포외 인자 등에 의해 시작될 수 있으며 TGF- β 는 EMT를 유도할 수 있는 대표적인 성장인자로, EMT 전 과정에 모두 관계한다. 또 Epidermal growth factor (EGF)⁸, Fibroblast growth factor (FGF)-2¹⁵ 그리고 Connective tissue growth factor (CTGF)¹⁶도 EMT를 유도할 수 있는 성장인자이며 그 외 IL-1¹⁷ 또는 MMP-2¹⁸, advanced glycation end products (AGEs)¹⁹ 등도 EMT를 유도할 수 있다.

또 신장질환의 진행과 관계되는 레닌계의 주된 요소인 Angiotensin II (Ang II)는 단독으로 EMT를 유도할 수는 없으나 TGF- β 에 의해 유도된 EMT를

Table 2. Extrinsic Factors that Regulate EMT

Factors that induce and/or promote EMT	Factors that suppress EMT
TGF- β 1	HGF
EGF	BMP-7
FGF-2	
IL-1	
Ang II	
AGEs	
CTGF	
MMP-2	
Type I collagen	

Source : adapted from Liu¹⁴⁾

Abbreviations : EGF, epidermal growth factor; FGF, fibroblast growth factor; Ang II, angiotensin II; AGEs, Advanced glycation end products; CTGF, connective tissue growth factor; MMP-2, matrix metalloproteinase-2; HGF, hepatocyte growth factor; BMP-7, bone morphogenic protein-7

강화하는 새로운 EMT 조절인자로 알려지고 있다²⁰⁾. 그 외 세포외 인자인 type I collagen도 EMT를 유도할 수 있다^{8, 21)}.

특히 CTGF는 TGF- β 에 의해 유도되어 TGF- β 와 함께, 섬유화의 진행에 관여하는 중요한 성장인자로 알려져 있다. Zhang 등은 배양된 신 상피세포를 TGF- β 1으로 자극하여 시간에 따른 CTGF, α -SMA, fibronectin, plasminogen-activator inhibitor (PAI-1) 유전자의 발현을 측정하였다²²⁾. TGF- β 1에 의한 CTGF의 발현이 가장 먼저 선행하였고 CTGF antisense oligodeoxynucleotide를 처리하면 세포내의 α -SMA, PAI-1의 발현이 감소되는 것을 보고하였다. CTGF는 TGF- β 에 의한 세포외 기질 합성, 세포 비후를 매개하는 이외에도, TGF- β 와 상호작용하여 EMT 과정에 관여한다¹⁶⁾. 즉 TGF- β 는 CTGF를 유도하고 CTGF는 억제성 Smad인 Smad7의 활성을 차단하여 TGF- β /Smad 신호전달체계를 강화함으로써 EMT 과정에 관여하는 것으로 보인다²³⁾.

EMT 과정을 억제하는 것으로 알려진 대표적인 인자는 Hepatocyte growth factor (HGF)와 Bone morphogenic protein (BMP)-7이 있다. HGF는 in vitro 및 UUO 모델에서 TGF- β 에 의한 α -SMA의 발현을 차단하고 E-cadherin의 소실을 정상화하여 신 상피세포가 근섬유화세포로 전환되는 것을 차단한다^{20, 24, 27)}.

BMP-7도 in vitro와 in vivo에서 TGF- β 에 의한 EMT를 차단하여 근섬유화세포의 활성을 차단한다^{28, 29)}.

2) EMT의 신호전달체계

EMT 과정이 일어나는데 관여하는 세포내 신호전달체계는 세포의 종류, 또는 EMT를 유발하는 자극인에 따라 다르며 각 단계마다 다양한 신호전달체계가 관여한다. 복잡한 신호전달체계 중 신 섬유화의 기전으로 중요한, TGF- β 에 의한 신 상피세포에서 섬유화 세포로의 EMT에 관여하는 신호전달체계에 대해 정리하면 아래와 같다.

(1) TGF- β /Smad pathway

TGF- β 는 Smad 의존성 전사과정 또는 Smad 비의존성 p38 mitogen-activated protein kinase (MAPK) 활성화와 GTPase 매개 신호전달을 통해 작용한다 (Fig. 2)^{14, 30)}.

TGF- β 는 세포막에 있는 transmembrane serine/threonine kinase type I and II receptor를 통해 세포내에 있는 Smads를 통해 신호가 전달된다. Smad를 통한 신호전달의 하부에는 Integrin-linked kinase (ILK)가 있다³¹⁾. ILK는 TGF- β /Smad 전달계에서 중추적인 기능을 하는 세포내 serine/threonine kinase로 β -integrin의 세포내 domain 또는 다양한 cytoskeleton과 관계된 단백질과 작용한다. 활성화된 ILK는 Akt와 glycogen synthase kinase (GSK)-3를 인산화하며, 활성화된 Akt는 apoptosis를 억제하고 EMT 과정을 유도한다. 인산화된 GSK-3는 활성이 억제되어 β -catenin을 안정화시키며 β -catenin의 핵내 이동이 증가되어 EMT가 진행된다. 또 AP-1을 자극하여 MMP-9의 발현을 증가시켜 기저막의 분해에 관여한다. 또 ILK는 myosin light chain을 인산화시켜 세포의 이동과 수축, 세포침윤에 관여한다.

또 다른 경로로 small GTPase인 Rho A도 TGF- β 에 의한 EMT 과정에 관여한다. Rho A는 stress fiber 및 actin-based cytoskeleton의 재배치에 관여하며 actin-myosin 수축을 자극하여 세포의 이동에 필요한 표현형을 갖게 한다.

이러한 신호전달물질 이외 EMT 관여하는 transcription factor로 Erk-1/2, Snail/Slug, Wnt, Notch 등이 알려져 있다. 그러나 Erk-1/2, Snail/Slug 등은 신 상피세포의 EMT에 관여하지 않는다는 보고도 있으며 Wnt, Notch signal은 아직 정확히 알려져 있지

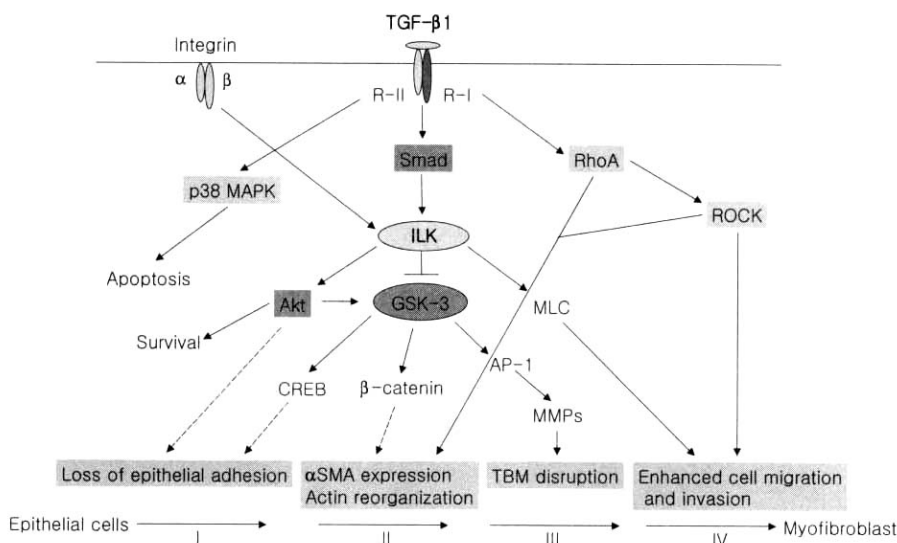


Fig. 2. Simplified model depicts the major intracellular signal transduction pathways that mediate TGF- β -induced EMT. Abbreviations: ILK, integrin-linked kinase; GSK, glycogen synthase kinase; MAPK, mitogen activated protein kinase; MLC, myosin light chain; MMP, matrix metalloproteinase; α SMA, α smooth muscle actin; CREB, cyclic AMP response element binding protein; AP-1, activator protein-1; ROCK, Rho kinase^{14, 31}.

않다.

6. EMT는 가역적인가?

EMT 과정을 통해 형성된 세포는 외부자극이 일시적인 경우 신 상피세포로 다시 전환되거나, 지속적으로 증식하여 섬유화세포로 남을 수 있으며 섬유화세포는 apoptosis에 의해 죽거나 재생과 관련된 다른 자극인자에 의해 다시 신 상피세포로 역전환될 수 있다 (re-differentiation).

EMT 초기는 가역적인 과정으로 Liu 등은 TGF- β 에 의해 신 상피세포를 자극하여 α -SMA의 발현이 증가되는 것을 확인한 후 초기 자극이 48시간 지속되지 않는 경우, EMT가 더 이상 진행되지 않는다고 보고하였다³². 또 EMT를 통해 변환된 세포가 HGF, BMP-7 등의 재생인자에 의해 다시 역전환되는 것을 보고하였다. UUO 동물 모델에서 신 섬유화가 진행되는 것을 확인하고 3일 후 HGF를 주사하여 신조직의 α -SMA의 발현 및 collagen양, 기질 섬유화 정도가 감소됨을 확인하였다²⁶. 또 Zeisberg 등은 in vitro와 in vivo에서 유전자 재조합 BMP-7에 의해 TGF- β 에 의한 EMT 과정을 역전환할 수 있음을 보고하였다²⁸.

7. 치료적 EMT의 차단

만성 신질환의 공통적 요소인 간질 섬유화의 진행을 억제할 수 있는 근본적인 치료는 아직 없으나 이러한 EMT 과정을 이해하고 EMT를 차단할 수 있는 내재성 인자를 찾으면 신 섬유화의 진행을 막을 수 있을 것으로 생각된다.

HGF는 obstructive nephropathy^{20, 24-26}, remnant kidney^{27, 33}, 당뇨병성 신증³⁴, 만성식이신 기능부전³⁵, cyclosporine A 신독성³⁶ 등 여러 만성신부전 동물모델에서 신 섬유화의 진행을 감소시킨다고 보고되었다. Remnant kidney 모델에서 내재성 HGF를 차단하는 경우, 신 상피세포의 α -SMA의 발현이 증가하며 섬유화세포로 표현형이 변화하는 것을 보고, HGF는 EMT 과정의 억제에 관여하는 내재인자로 제기되었³⁷ 이후 다양한 in vitro 및 in vivo 실험을 통하여 TGF- β 에 의한 EMT를 역전환시킬 수 있는 것으로 확인되었다. 그 기전은 TGF- β 에 의한 Smad-2에 직접 작용하는 것이 아니라 HGF에 의해 Smad corepressor인 SnoN의 전사가 증가되고 SnoN은 Smad-2 transcription factor와 결합하여 Smad-2의 활성을 차단함으로써 TGF- β 에 의한 EMT 과정을 차단한다³⁸.

BMP-7은 TGF- β superfamily의 일종으로 신 상피세포를 BMP-7으로 자극하는 경우 E-cadherin을 유도하여 TGF- β 에 의한 EMT를 역전환 할 수 있으며 만성 신질환 동물모델에서도 지속적인 BMP-7의 투여로 간질섬유화의 감소와 신기능의 호전을 유도할 수 있었다²⁸⁾.

그 외 Ang II의 차단이나 ROCK inhibitor도 EMT 과정을 차단하여 신질환의 진행을 막을 수 있을 것으로 생각된다^{20, 39)}. 향후 ILK 등 EMT 과정에 관여하는 신호전달물질을 차단하여 EMT를 차단할 수 있을지, 더 많은 연구가 필요할 것으로 생각된다.

결 론

신 섬유화에 대한 많은 연구들이 있었으나 아직도 임상에서 신질환을 가역적으로 호전시킬 수 있는 뚜렷한 치료제가 없는 실정이다. 그러나, EMT가 신 섬유화의 중요한 기전으로 제기되고 최근의 많은 연구에 의해 그 기전과 신호전달물질이 알려지면서 EMT 과정을 차단하여 신 섬유화를 치료할 수 있는 가능성이 증가되었다. 향후 더 많은 연구를 통해 EMT 과정이 구체적으로 규명되고, 그 과정을 차단하는 새로운 인자가 발견되면 임상적으로 사용할 수 있는 신질환 치료제가 개발될 수 있을 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

- 1) Kuncio GS, Neilson EG, Haverty T: Mechanism of tubulointerstitial fibrosis. *Kidney Int* **39**:550-556, 1991
- 2) Zeisberg M, Strutz F, Muller GA: Role of fibroblast activation in inducing interstitial fibrosis. *J Nephrol* **13**(Suppl 3):S111-120, 2000
- 3) Zeisberg M, Strutz F, Muller GA: Renal fibrosis: an update. *Curr Opin Nephrol Hypertens* **10**(3): 315-320, 2001
- 4) Horster MF, Braun GS, Huber SM: Embryonic renal epithelia: induction, nephrogenesis, and cell differentiation. *Physiol Rev* **79**(4):1157-1191, 1999
- 5) Arias AM: Epithelial mesenchymal interactions in cancer and development. *Cell* **18**:105(4):425-431, 2001
- 6) Flanders KC: Smad3 as a mediator of the fibrotic response. *Int J Exp Pathol* **85**(2):47-64, 2004
- 7) Strutz F, Okada H, Lo CW, Danoff T, Carone RL, Tomaszewski JE, Neilson EG: Identification and characterization of a fibroblast marker: FSP1. *J Cell Biol* **130**(2):393-405, 1995
- 8) Okada H, Danoff TM, Kalluri R, Neilson EG: Early role of Fsp1 in epithelial-mesenchymal transformation. *Am J Physiol* **273**:F563-574, 1997
- 9) Ng YY, Huang TP, Yang WC, Chen ZP, Yang AH, Mu W, Nikolic-Paterson DJ, Atkins RC, Lan HY: Tubular epithelial-myofibroblast transdifferentiation in progressive tubulointerstitial fibrosis in 5/6 nephrectomized rats. *Kidney Int* **54**(3):864-876, 1998
- 10) Yang J, Liu Y: Dissection of key events in tubular epithelial to myofibroblast transition and its implications in renal interstitial fibrosis. *Am J Pathol* **159**(4):1465-1475, 2001
- 11) Jinde K, Nikolic-Paterson DJ, Huang XR, Sakai H, Kurokawa K, Atkins RC, Lan HY: Tubular phenotypic change in progressive tubulointerstitial fibrosis in human glomerulonephritis. *Am J Kidney Dis* **38**(4):761-769, 2001
- 12) Iwano M, Plieth D, Danoff TM, Xue C, Okada H, Neilson EG: Evidence that fibroblasts derive from epithelium during tissue fibrosis. *J Clin Invest* **110**(3):341-350, 2002
- 13) Yang J, Shultz RW, Mars WM, Wegner RE, Li Y, Dai C, Nejak K, Liu Y: Disruption of tissue-type plasminogen activator gene in mice reduces renal interstitial fibrosis in obstructive nephropathy. *J Clin Invest* **110**(10):1525-1538, 2002
- 14) Liu Y: Epithelial to mesenchymal transition in renal fibrogenesis: pathologic significance, molecular mechanism, and therapeutic intervention. *J Am Soc Nephrol* **15**(1):1-12, 2004
- 15) Strutz F, Zeisberg M, Ziyadeh FN, Yang CQ, Kalluri R, Muller GA, Neilson EG: Role of basic fibroblast growth factor-2 in epithelial-mesenchymal transformation. *Kidney Int* **61**(5):1714-1728, 2002
- 16) Gore-Hyer E, Shegogue D, Markiewicz M, Lo S, Hazen-Martin D, Greene EL, Grotendorst G, Trojanowska M: TGF-beta and CTGF have overlapping and distinct fibrogenic effects on human renal cells. *Am J Physiol Renal Physiol* **283**(4):F707-716, 2002
- 17) Fan JM, Huang XR, Ng YY, Nikolic-Paterson DJ, Mu W, Atkins RC, Lan HY: Interleukin-1 induces tubular epithelial-myofibroblast transdifferentiation through a transforming growth factor-beta1-dependent mechanism in vitro. *Am J Kidney Dis* **37**(4):820-831, 2001
- 18) Cheng S, Lovett DH: Gelatinase A (MMP-2) is necessary and sufficient for renal tubular cell epithelial mesenchymal transformation. *Am J*

- Pathol* **162**(6):1937-1949, 2003
- 19) Oldfield MD, Bach LA, Forbes JM, Nikolic-Patterson D, McRobert A, Thallas V, Atkins RC, Osicka T, Jerums G, Cooper ME: Advanced glycation end products cause epithelial-myofibroblast transdifferentiation via the receptor for advanced glycation end products (RAGE). *J Clin Invest* **108**(12):1853-1863, 2001
 - 20) Yang J, Dai C, Liu Y: Hepatocyte growth factor gene therapy and angiotensin II blockade synergistically attenuate renal interstitial fibrosis in mice. *J Am Soc Nephrol* **13**(10):2464-2477, 2002
 - 21) Zeisberg M, Bonner G, Maeshima Y, Colorado P, Muller GA, Strutz F, Kalluri R: Renal fibrosis: collagen composition and assembly regulates epithelial-mesenchymal transdifferentiation. *Am J Pathol* **159**(4):1313-1321, 2001
 - 22) Zhang C, Meng X, Zhu Z, Yang X, Deng A: Role of connective tissue growth factor in renal tubular epithelial-myofibroblast transdifferentiation and extracellular matrix accumulation in vitro. *Life Sci* **75**(3):367-379, 2004
 - 23) Abdel Wahab N, Mason RM: Connective tissue growth factor and renal diseases: some answers, more questions. *Curr Opin Nephrol Hypertens* **13**(1):53-58, 2004
 - 24) Yang J, Liu Y: Blockage of tubular epithelial to myofibroblast transition by hepatocyte growth factor prevents renal interstitial fibrosis. *J Am Soc Nephrol* **13**(1):96-107, 2002
 - 25) Gao X, Mae H, Ayabe N, Takai T, Oshima K, Hattori M, Ueki T, Fujimoto J, Tanizawa T: Hepatocyte growth factor gene therapy retards the progression of chronic obstructive nephropathy. *Kidney Int* **62**(4):1238-1248, 2002
 - 26) Yang J, Liu Y: Delayed administration of hepatocyte growth factor reduces renal fibrosis in obstructive nephropathy. *Am J Physiol Renal Physiol* **284**(2):F349-357, 2003
 - 27) Inoue T, Okada H, Kobayashi T, Watanabe Y, Kanno Y, Kopp JB, Nishida T, Takigawa M, Ueno M, Nakamura T, Suzuki H: Hepatocyte growth factor counteracts transforming growth factor-beta1, through attenuation of connective tissue growth factor induction, and prevents renal fibrogenesis in 5/6 nephrectomized mice. *FASEB J* **17**(2):268-270, 2003
 - 28) Zeisberg M, Hanai J, Sugimoto H, Mammoto T, Charytan D, Strutz F, Kalluri R: BMP-7 counteracts TGF-beta1-induced epithelial-to-mesenchymal transition and reverses chronic renal injury. *Nat Med* **9**(7):964-968, 2003
 - 29) Zeisberg M, Muller GA, Kalluri R: Are there endogenous molecules that protect kidneys from injury? The case for bone morphogenetic protein-7 (BMP-7). *Nephrol Dial Transplant* **19**(4):759-761, 2004
 - 30) Kalluri R, Neilson EG: Epithelial-mesenchymal transition and its implications for fibrosis. *J Clin Invest* **112**(12):1776-1784, 2003
 - 31) Li Y, Yang J, Dai C, Wu C, Liu Y: Role for integrin-linked kinase in mediating tubular epithelial to mesenchymal transition and renal interstitial fibrogenesis. *J Clin Invest* **112**(4):503-516, 2003
 - 32) Li Y, Yu YP, Yang J, Dai C, Luo JH, Lin Y: Alterations in gene expression during tubular epithelial to mesenchymal transition induced by transforming growth factor-beta1 (Abstract). *J Am Soc Nephrol* **13**:120A, 2002
 - 33) Dworkin LD, Gong R, Tolbert E, Centracchio J, Yano N, Zanabli AR, Esparza A, Rifai A: Hepatocyte growth factor ameliorates progression of interstitial fibrosis in rats with established renal injury. *Kidney Int* **65**(2):409-419, 2004
 - 34) Cruzado JM, Lloberas N, Torras J, Riera M, Fillet C, Herrero-Fresneda I, Aran JM, Alperovich G, Vidal A, Grinyo JM: Regression of advanced diabetic nephropathy by hepatocyte growth factor gene therapy in rats. *Diabetes* **53**(4):1119-1127, 2004
 - 35) Azuma H, Takahara S, Matsumoto K, Ichimaru N, Wang JD, Moriyama T, Waaga AM, Kitamura M, Otsuki Y, Okuyama A, Katsuoka Y, Chandraker A, Sayegh MH, Nakamura T: Hepatocyte growth factor prevents the development of chronic allograft nephropathy in rats. *J Am Soc Nephrol* **12**(6):1280-1292, 2001
 - 36) Mizui M, Isaka Y, Takabatake Y, Mizuno S, Nakamura T, Ito T, Imai E, Hori M: Electroporation-mediated HGF gene transfer ameliorated cyclosporine nephrotoxicity. *Kidney Int* **65**(6):2041-2053, 2004
 - 37) Liu Y, Rajur K, Tolbert E, Dworkin LD: Endogenous hepatocyte growth factor ameliorates chronic renal injury by activating matrix degradation pathways. *Kidney Int* **58**(5):2028-2043, 2000
 - 38) Liu Y: Hepatocyte growth factor in kidney fibrosis: therapeutic potential and mechanisms of action. *Am J Physiol Renal Physiol* **287**(1):F7-16, 2004
 - 39) Nagatoya K, Moriyama T, Kawada N, Takeji M, Oseto S, Murozono T, Ando A, Imai E, Hori M: Y-27632 prevents tubulointerstitial fibrosis in mouse kidneys with unilateral ureteral obstruction. *Kidney Int* **61**(5):1684-1695, 2002