

## 당뇨병성신증에서의 Rho GTPases

순천향대학교 의과대학 내과학교실

한 동 철

### Rho GTPases in Diabetic Nephropathy

Dong Cheol Han, M.D.

Department of Internal Medicine, College of Medicine, SoonChunHyang University, Seoul, Korea

#### 〈요 약〉

최근 사용되고 있는 심혈관계 질환의 치료제 - statin과 Rho-kinase (ROCK) 억제제 - 가 Rho GTPases (Rho) 활성화조절과 관련되어 있다. 심혈관계 질환에서 statin은 콜레스테롤을 저하시킬 뿐만 아니라, Rho 활성화를 억제한다. ROCK는 Rho의 downstream molecule로 심혈관계 조직에 표현되며, 각종 심혈관계 질환에서 Rho-ROCK 경로 이상이 관찰된다. ROCK 억제제는 고혈압 실험동물에 처음 적용되어, 폐쇄성요증 실험모델에서도 신보호 효과를 나타낸다.

Rho는 actin cytoskeleton assembly 등 여러 가지 기능을 가지고 있다. 고포도당의 혈관간 세포에서 actin cytoskeleton 조절단백질 표현이 증가되어 있고, 당뇨쥐의 사구체에서 Rho 표현 증가와 actin cytoskeleton 이상이 관찰된다. 또한 고포도당의 혈관간세포에서 Rho 활성화 억제제는 fibronectin 표현을 호전시킨다. 이상은 당뇨병성신증 환자에서 Rho-ROCK 경로와 ROCK 억제제의 신손상예방 효과에 대한 연구필요성을 제시하고 있다.

#### 서 론

각종 세포에 미치는 고포도당의 효과는 매우 광범위한 변화를 초래하여, 당뇨병성합병증의 병인을 통합하여 설명하는 시도가 되고 있다. Brownlee는 당뇨병성합병증의 병인은 산화성스트레스가 주된 기전이며, 이는 미토콘드리아 내에서 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)의 과다생성에 의한 것이라고 하였다<sup>1)</sup>. 주된 병인으로 polyol, hexosamine, protein kinase C 및 advanced glycosylation endproducts 경로 등을 제시하였다.

이러한 통합이론의 연구 분석은 단일물질에 대한 기능적 연구에 의존하였다. 최근에 보고된 대용량 profiling 연구에서도 고포도당에 의한 신세포 변화가 산화성스트레스에 기인하였다. 고포도당에 의한 혈관

간세포의 대용량 mRNA 표현을 suppression-subtractive hybridization으로 연구한 결과, 주된 변화는 TGF- $\beta$  혹은 PKC 보다는 산화성스트레스에 의한 것이라고 하였다<sup>2)</sup>. 특히 고포도당에 의한 변화는 actin cytoskeleton 조절단백질의 표현증가가 나타나고, 항산화제 carbonyl cyanide *m*-chlorophenyl-hydrazone를 투여하여 억제된다.

실험적 당뇨병성신증 모델에서 actin 표현 이상에 대한 연구가 보고되고 있다. 고포도당의 배양혈관간 세포에서는 F-actin disassembly가 나타나고 이러한 반응에는 PKC- $\zeta$ 가 관련되어 있다<sup>3)</sup>. 배양혈관간세포에서 TGF- $\beta$ 를 투여하면 국소유착과 스트레스섬유가 나타난다<sup>4)</sup>. 또한 질병이 상당히 진행된 당뇨쥐의 사구체에서는 F-actin filament 해체 등이 확인되었다<sup>5)</sup>. 이상과 같은 연구와 함께 actin 조절인자인 Rho GTPases (Rho) 영역에서 신질환에 대한 보고가 최근 들어 증가하고 있어, 이를 요약하고자 한다.

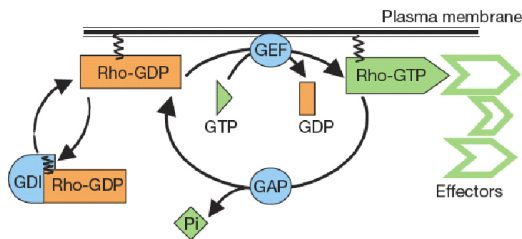
이 연구는 과학재단 목적기초연구비 (R01-2003-000-10377-0)의 지원을 받아 시행되었음

### Small GTPases의 종류와 기능

단일 polypeptide로 된 small GTPases는 20-40 Kda의 저분자량으로 GTP를 가수분해하여, small GTP-binding proteins (small G proteins)라고도 한다. 이들 small GTPases는 Ras, Rho, Rab, Arf, Ran 등 5종류가 있다. Small GTPases는 다양한 기능을 가지고 있어, 유전자 표현조절, 세포증식 및 이동, cytoskeletal rearrangement 등과 관련되어 있다. 세포의 신호전달시 small GTPases는 분자스위치로 작용하여, 비활성화된 GDP 결합상태 (세포질내에 대부분 존재)와 활성화된 GTP 결합상태 (세포막에 주로 존재)를 오고 가게 된다<sup>6)</sup>. 대부분의 small GTPases는 C-말단에 isoprenoid들이 결합, post-translational modification되어 활성화된다. Isoprenoid는 farnesyl과 geranylgeranyl의 두 종류가 있어, Ras는 farnesylation에 의하여, Rho는 geranylgeranylation에 의하여 활성화된다. 활성화에는 guanine nucleotide exchange factor (GEF)가 필요하며, 비활성 GTPase를 활성화상태로 변환시킨다. 비활성화에는 GTPase activating protein (GAP)이 필요하며, GTP 가수분해를 촉진시켜 GTPase가 비활성화된 GDP 결합상태로 변환시킨다<sup>6)</sup>. 또한 GTPase 기능조절인자로 GDP dissociation inhibitor (GDI)가 있으며 이들의 기능연구도 활발히 되고 있다 (Fig. 1).

### Rho GTPases의 종류와 기능

Rho는 인체 내에 20여 가지가 알려져 있다. Rho는 actin cytoskeleton assembly, 평활근 수축, 세포와

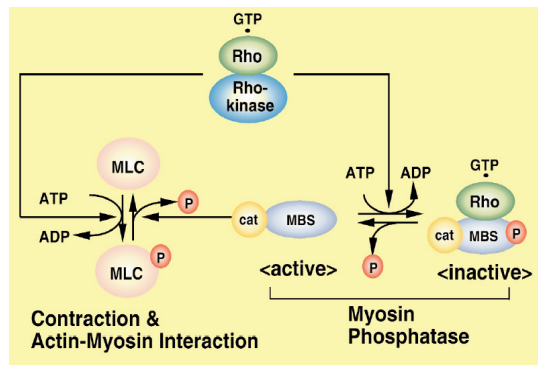


**Fig. 1.** Rho GTPase 활성화. Abbreviations: GEF, guanine nucleotide exchange factor; GAP, GTPase activating protein; GDI, GDP dissociation inhibitor; GDF, GDI dissociation factor (from ref. 6).

세포의 부착 (adhesion), 세포운동과 이동, 유전자전사, 효소활성화 등의 여러 가지 기능을 가지고 있다<sup>7)</sup>. Rho는 Rho, Rac, Cdc42 세 가지로 크게 나눌 수 있고, 각각은 서로의 기능에 영향을 미친다. RhoA, B, C, Rac1, 2, 3, Cdc42, RhoD, Rnd1, Rnd2, RhoE/Rnd3, RhoG, TC10 등이 밝혀져 있다. Actin cytoskeleton assembly에서 Rho는 스트레스 섬유 (stress fiber)와 국소 유착 (focal adhesion)<sup>8)</sup>을, Rac는 세포 주변에 lamellipodia를 형성하고<sup>9)</sup>, Cdc42는 microspikes 혹은 filopodia를 형성한다<sup>10)</sup>. 성장인자나 자극물질에 의하여 이러한 기능을 나타내는 데 Rho는 lysophosphatidic acid (LPA)<sup>8)</sup>, Rac는 PDGF<sup>8)</sup>, insulin<sup>11)</sup>, Cdc42는 bradykinin<sup>12)</sup>, IL-1 등<sup>7)</sup>에 의하여 유발된다. 인체내 Rho는 85가지의 활성화자들 (GEFs)과 70가지의 비활성자들 (GAPs)에 의하여 조절된다<sup>10)</sup>. GDIs는 현재 Rho GDI  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  세 종류가 알려져 있다<sup>13)</sup>. 이들 조절인자는 아직까지도 그 기능이 정확하게 알려진 게 많지 않다.

### 1. Actin cytoskeleton

Rho, Rac, Cdc42는 actin cytoskeleton의 organization (filament bundling)과 formation (actin polymerization)을 조래하는 신호전달계를 활성화한다. Rho에 의한 organization의 기전은 두 가지의 목표물질-p160 Rho kinase (ROCK)와 mDia-을 활성화하여 actin-myosin filament assembly를 조래한다. p160 ROCK는 여러 가지 기질을 가지고 있으나 myosin light chain (MLC) phosphatase가 중요물질



**Fig. 2.** Rho/ROCK에 의한 myosin light chain (MLC) 인산화조절. Abbreviations: cat, catalytic subunit; MBS, myosin binding subunit (from ref. 15).

이다 (Fig. 2). 인산화가 되면 phosphatase가 비활성화되고 인산화된 MLC가 증가되어 myosin II와 actin의 cross-linking이 증가된다<sup>7)</sup>.

Swiss 3T3 세포에 LPA를 부가하면 Rho가 활성화되고 앞서 언급한 actin assembly 경로를 통하여 스트레스섬유가 형성되고 국소유착이 초래된다. 국소유착 부위에는 스트레스섬유가 fibronectin과 같은 세포외기질에 integrin을 통하여 연결되어 있다<sup>14)</sup>. Vinculin,  $\alpha$ -actinin, talin 같은 분자들이 integrin과 함께 집합되어 스트레스섬유의 고정장치 (anchor)로 작용한다 (Fig. 3). Dominant active ROCK는 Swiss 3T3와 MDCK 세포에서 스트레스섬유를 형성하게 하고, dominant negative ROCK는 LPA 혹은 Rho<sup>AV14</sup> (Rho 활성화형태)에 의한 스트레스섬유 형성을 억제한다<sup>15)</sup>.

Actin polymerization은 Arp2/3 (actin-related protein 2/3)와 Formin과 같은 인자들에 의하여 이루어진다. Rac와 Cdc42는 다른 형태의 actin-rich protrusion (lamellipodia와 filopodia)을 생성하지만 Wiskott-Aldrich syndrome protein (WASP) family를 통하여 Arp2/3를 간접적으로 활성화한다<sup>7)</sup>. 즉 Rac는 WASP family verprolin homologous protein를, Cdc42는 WASP를 통하여 활성화한다. Formin은 Rho에 의하여 활성화되어 filaments의 linear elongation을 유도한다<sup>16)</sup>.

## 2. 평활근 수축

비근육세포에서는 Rho에 의하여 actin assembly가 이루어지지만 평활근세포에서는 수축이 일어난다.

여러 종류의 agonist들에 의하여 동맥평활근세포에서 Rho 활성화가 이루어진다. 이는 actin과 myosin 수축을 증진시키기 위하여 p160 ROCK가 MLC 인산화를 자극하여 이루어진다<sup>17)</sup>. 활성화된 Rho가 ROCK와 myosin phosphatase의 myosin binding subunit (MBS)와 결합된다. 활성화된 ROCK가 MBS를 인산화하면 myosin phosphatase가 억제된다<sup>15)</sup>. ROCK dominant active를 부가하면 MLC 인산화를 통하여 혈관평활근 수축이 나타난다<sup>18)</sup>. p160 ROCK 억제제 (Y27632)는 각종 고혈압 실험쥐에서 혈압을 저하시키고 agonist들에 의한 혈관과 기관지 평활근 수축을 억제한다<sup>19)</sup>. ROCK에 의한 평활근근육 수축이 고혈압의 병인으로 제시되고 있다<sup>15)</sup>.

## 3. 세포유착

세포와 세포의 유착들에는 tight junctions와 adherens junctions를 포함한 여러 가지 형태로 나눌 수 있다. 원주상피 (columnar epithelium)의 연결복합체 (junctional complex)에서 tight junctions는 가장 상단에 위치하여 이온과 수용성물질들의 확산장벽으로 작용한다. Rho는 상피세포의 tight junction이 울타리 역할을 유지하도록 한다<sup>20)</sup>. Adherens junctions는 actin filaments가 밀집하여 결합된 구조물로 cadherin과 같은 adhesion molecules로 이루어져 있다.  $\alpha$ -catenin과  $\beta$ -catenin 등은 cadherin 연관 세포질단백으로  $\beta$ -catenin은 cadherin과  $\alpha$ -catenin를 연결하는 다리 역할을 한다. Rac와 Cdc42에 의하여 filopodia와 lamellipodia 같은 actin-rich protrusion 형성이 cadherin 결합과 연관되면 adherens junction assembly가 초래된다<sup>21)</sup>.

Rac GEF로 알려진 Tiam1은 MDCK 세포에서 adherens junctions를 형성하고 유지하도록 한다<sup>22)</sup>. Tiam1은 E-cadherin에 의하여 유도되는 세포와 세포유착을 증가시키고 세포유착부위에 actin polymerization이 동반되게 한다<sup>23)</sup>. 반면에 collagen에 부착된 MDCK 세포에서 Rac 활성화가 되면 세포유착이 되기보다는 세포이동이 유도된다<sup>24)</sup>. Rac에 의하여 세포의 이동과 유착과 같이 서로 다른 작용을 하게 되는 것은 세포의 종류와 환경에 따라 크게 영향을 받는 것 같다<sup>21)</sup>.

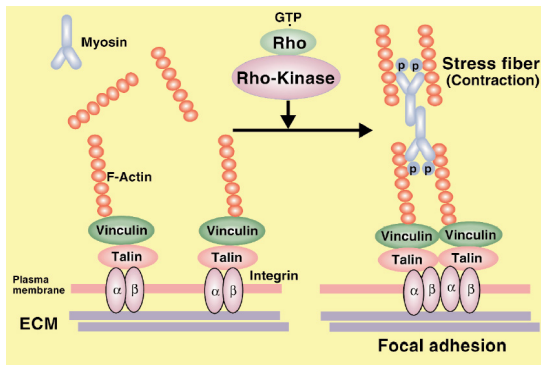


Fig. 3. Rho/ROCK에 의한 국소유착 형성 (from ref. 15).

#### 4. 유전자 전사

Rac, Cdc42는 c-jun N-terminal kinase와 p38 mitogen-activated protein kinase (MAPK)를 활성화하고<sup>16, 25)</sup>, Rho, Rac, Cdc42는 전사인자인 serum responsive factor (SRF)를 자극한다<sup>26)</sup>. MAPK 경로 활성화는 actin cytoskeleton 변화와 관련이 없으나, SRF 활성화는 unpolymerized actin 농도와 직접적으로 관련이 있다. 염증성 cytokine 자극에 의하여 Rho, Rac, Cdc42는 NF- $\kappa$ B를 활성화한다<sup>27)</sup>. 이상은 신질환과 관련된 Rho 기능을 간추린 것으로 이외에도 Rho의 다른 기능에 대한 보고들이 최근 발표되었다<sup>6, 7, 21)</sup>.

#### Rho GTPase와 혈관질환

혈관계질환에서 각종 위험인자에 의하여 Rho-ROCK 경로가 활성화되면 혈관의 폐쇄가 초래된다<sup>28)</sup>. RhoA와 ROCK는 MLC의 인산화를 통해 내피세포의 barrier 기능부진을 초래하며<sup>29)</sup>, 혈관수축에도 관여한다. 혈관평활근 세포의 증식이 일어나는 각종 혈관손상 모델에서 Rho-ROCK 경로를 통해 혈관이 증식된다<sup>30)</sup>. ROCK는 두 종류, ROCK-1 (p160-ROCK, ROK $\beta$ )와 ROCK-2 (ROK $\alpha$ )가 있으며 고혈압, 동맥경화증, 재협착, 폐고혈압, 심비대에서 Rho-ROCK 경로 이상이 발견된다<sup>31)</sup>.

포식세포 (phagocyte)에서 Rac1의 ROS 생성에 관한 기전은 대부분의 비포식세포에서도 확인되었다. 혈관내피세포와 평활근세포는 Rac1을 표현하고 있는데, NADPH oxidase의 구성성분이 되며 혈관조직에서 ROS의 주된 공급원이 된다. Rac에 의하여 생성되는 ROS는 Rho 활성도를 억제하고 low-molecular-weight protein tyrosine phosphatase의 억제를 통하여 이루어져서 lamellipodia가 나타난다<sup>32)</sup>. 최근 당뇨병성신증<sup>33)</sup>에서 Rac1과 NOX, NADPH에 관한 리뷰저널이 발표되었다.

#### Statin과 신질환

콜레스테롤 대사와 관련된 statin 효과는 Fig. 4와 같은 경로를 통하여 나타난다. 혈관평활근세포에 lipophilic statin을 투여하면 RhoA prenylation이 억

제되고, apoptosis가 유발되어 동맥경화증 병변의 세포가 조절된다<sup>34)</sup>. 혈관간세포에서 vascular endothelial growth factor (VEGF)는 RhoA와  $\beta$ -integrin을 활성화하여 4형 collagen을 축적시키고, simvastatin이 이를 억제한다<sup>35)</sup>. Fluvastatin은 puromycin aminonucleoside (PAN)에 의하여 활성화된 RhoA와 actin cytoskeletal reorganization을 억제한다<sup>36)</sup>. 또한 ROCK 억제제인 fasudil는 PAN에 의한 podocyte 손상과 단백뇨를 호전시킨다<sup>36)</sup>. Lovastatin을 처리한 근위세관은 tissue-type plasminogen activator (tPA)와 urokinase (uPA) 활성도가 증가되고 plasminogen activator inhibitor-1는 감소된다<sup>37)</sup>. Lovastatin은 actin 스트레스섬유 형성을 방해하고, 이러한 효과는 geranylgeranyl isoprenoid 투여로 되돌아온다. 근위세관에 Rho 억제제인 C3 exoenzyme를 투여하면 lovastatin과 같은 효과를 보인다<sup>37)</sup>. 즉 lovastatin은 세관세포에서 proteolytic 활성도를 증가시켜 세포외기질의 축적과 간질섬유화를 억제한다.

당뇨병성신증에서도 statin과 Rho와의 연관성이 관찰되었다. Lovastatin을 투여하면 고포도당에 의하여 증가된 TGF- $\beta$ <sup>38, 39)</sup>와 fibronectin 표현이 회복된다<sup>40)</sup>. Statin의 효과는 farnesyl 보다는 geranylgeranyl isoprenoid가 관여되고, C3 exoenzyme에 의하여 고포도당에 의하여 증가된 fibronectin 표현이 회

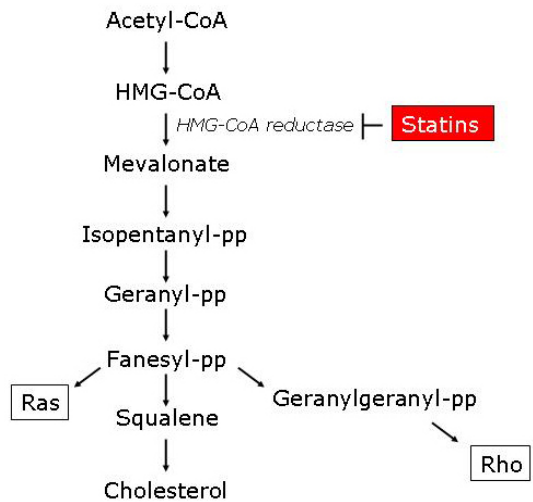


Fig. 4. 콜레스테롤 경로와 statin. Abbreviations : PP, pyrophosphate.

복된다<sup>40</sup>). 이는 당뇨병성 신증의 세포외기질 함성증가에 Rho가 관여하며, statin은 특히 Rho에 대한 효과가 있다는 것을 의미한다<sup>40</sup>. 혈관간세포에서 고포도당과 angiotensin II에 의한 collagen IV 형성과 janus kinase (JAK)2-signal transducers and activators of transcription (STAT) 경로가 활성화되는 것을 simvastatin이 억제한다<sup>41</sup>. 이러한 JAK-STAT 활성화에는 Rho에 의존되는 것 같다<sup>41</sup>.

Rho는 세포외기질 뿐만 아니라 세포주기에도 관여한다. 배양 혈관간세포에서 lovastatin을 투여한 결과 고포도당에 의한 세포증식이 감소되고, Rho와 관련된 p21 단백질 표현조절과 연관이 있다<sup>42</sup> (당뇨병성신증에 대한 statin의 역할은 ref. 43 참조).

### Rho GTPases와 신질환

Streptozotocin 당뇨쥐에서 당뇨초기에 RhoA 활성화가 관찰되고 actin cytoskeleton disruption이 나타난다 (JASN 16:403A, 2005). *db/db* 생쥐의 사구체 면역조직화학검사에서 RhoA, Rac1 표현이 증가되고, 세포막 결합 RhoA, Rac1이 증가하고 GDI- $\alpha$  표현이 현저히 감소되어 있다 (JASN 16:203A, 2005). 혈관간세포의 고포도당 처리 5-10분에 활성화된 RhoA가 증가되고, RhoA dominant negative와 Rho siRNA 처리는 고포도당에 의하여 증가된 혈관간세포 fibronectin 표현증가를 회복시킨다 (JASN, 2006).

GDI- $\alpha$  결핍 유전자를 지닌 생쥐는 생식기에 치명적인 결함을 초래하고, 사구체 경화증과 단백뇨가 심하게 나타난다. 이러한 생쥐의 신장에는 혈관간질의 확장이 심하고 세관세포의 actin cytoskeleton에 결함이 나타난다<sup>44</sup>. 스트레스섬유 형성에 integrin이 관여하는 데, 혈관간세포에서도 integrin  $\beta 8$ 을 자극하면  $\beta 8$ -GDI가 작용이 증가하고 Rac1이 활성화된다. 반면 GDI 혹은 integrin  $\beta 8$ 이 결핍되면 RhoA가 활성화되고  $\alpha$ -smooth muscle actin assembly가 나타나며 혈관간세포가 myofibroblast로 변한다<sup>45</sup>. 이상의 결과로 보아 당뇨쥐의 사구체에서 GDI- $\alpha$ 의 기능이 저하되어 혈관간세포의 기능이 변하게 되고 RhoA의 활성화가 나타나는 것으로 추정되지만 보다 더 연구가 되어야 하겠다.

Synaptopodin (synpo)은 podocyte에 표현되는 ac-

tin 관련단백질이다. Podocyte에서 synpo gene silencing은 스트레스섬유형성이 방해되고, 세포이동을 억제한다<sup>46</sup>. Synpo는 RhoA에 대한 ubiquitination 즉 proteasomal degradation을 억제하여 스트레스섬유를 형성한다<sup>46</sup>. Podocyte에 관한 Rho 연구는 synpo라는 특정 연결접합체에만 연구가 되어 있다. 이는 사구체의 podocyte에는 많은 종류의 연결접합체 구조물이 있으므로 Rho가 세포유착에 미치는 영향을 유추한다면 더 많은 연구가 기대된다.

VEGF는 사구체내피세포에서 RhoA를 활성화하고 MLC 인산화를 통하여 세포간격을 늘리고 투과성이 증가한다<sup>47</sup>. Simvastatin은 이러한 VEGF 작용을 억제하여 세포투과성을 호전시킨다<sup>47</sup>. 이는 VEGF와 thrombin을 배양내피세포에 투여하면 세포투과성이 증가하고 Y27632에 의하여 억제되는 것과 같은 결과이다<sup>48</sup>.

### Rho GTPases와 TGF- $\beta$

신질환에서 TGF- $\beta$  억제에 대한 연구는 여러 분야에서 진행되었으며, statin이 TGF- $\beta$ 를 억제하는 것<sup>38, 39</sup>은 Rho와 관련있다<sup>40</sup>. 세포의 종류에 따라 달리 나타나지만 TGF- $\beta$ 는 RhoA, Rac, cdc42를 빠르게 활성화 한다. TGF- $\beta 1$ 에 의한 epithelial to mesenchymal transdifferentiation (EMT)에는 p38MAPK가 관련되는데 dominant negative Rac1<sup>N17</sup>에 의하여 억제된다<sup>49</sup>. 상피세포에서 TGF- $\beta$ 에 의하여 EMT가 유발되면 N-cadherin 표현이 증가하고 E-cadherin의 소실이 나타난다. EMT는 활성화된 RhoA가 관련이 있고, RhoA와 ROCK의 dominant negative들에 의하여 억제된다<sup>50</sup>. 당뇨병성신증에서 TGF- $\beta$ 의 역할은 매우 잘 알려져 있으므로 TGF- $\beta$ 와 관련된 Rho-ROCK경로는 향후 연구가 활발히 될 것으로 예측된다.

### 결 론

Rho와 관련된 연구가 신세포에서는 아직 활발히 되지 않아 각종 신질환과의 연관성이 확실하지 않다. 당뇨병성신증은 특징적인 혈관간세포 확장, podocyte 소실, 세관세포손상 등의 병변과 사구체내피세포의 기능부전이 잘 알려져 있으므로, Rho의 다양한 기능

을 유추하여 볼 때 서로간의 연관관계를 연구하는 것은 필수적이라 하겠다. Statin은 Rho 상위신호전달체계에 영향을 미쳐서 치료효과가 광범위하게 미칠 영향이 있겠으나, ROCK는 Rho에 제한된 작용으로 혈관간세포, 내피세포, podocyte, 세관세포에 보다 특이한 영향을 줄 것으로 생각된다. 또한 당뇨병환자에서는 각종 장기합병증의 경과 (신경과 신장)가 달리 진행되며, 당뇨병성신증 환자의 치료에서 사용되었던 항산화제들이 아직까지 치료효과가 현저하지 못하다. 이상과 같은 이유로 고포도당 유발 산화성스트레스에 의하여 유도되는 하부신호전달체계와 관련된 actin cytoskeleton 관련물질들을 규명하고, 실험적 당뇨병성신증 모델에서 Rho-ROCK 경로에 대한 연구가 선행되어야 하겠다.

### 참 고 문 헌

- 1) Brownlee M: Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature* **414**: 813-820, 2001
- 2) Clarkson MR, Murphy M, Gupta S, Lambe T, Mackenzie HS, Godson C, Martin F, Brady HR: High glucose-altered gene expression in mesangial cells. Actin-regulatory protein gene expression is triggered by oxidative stress and cytoskeletal disassembly. *J Biol Chem* **277**: 9707-9712, 2002
- 3) Dlugosz JA, Munk S, Ispanovic E, Goldberg HJ, Whiteside CI: Mesangial cell filamentous-actin disassembly and mesangial cell and hypocontractility in high glucose are mediated by protein kinase C- $\zeta$ . *Am J Physiol Renal Physiol* **282**: F151-F163, 2002.
- 4) Hubchak SC, Runyan CE, Kreisberg JI, Schnaper HW: Cytoskeletal rearrangement and signal transduction in TGF- $\beta$ 1-stimulated mesangial cell collagen accumulation. *J Am Soc Nephrol* **14**:1969-1980, 2003
- 5) Cortes P, Mendez M, Riser BL, Guerin CJ, Rodriguez-Barbero A, Hassett C, Yee J: F-actin fiber distribution in glomerular cells: Structural and functional implications. *Kidney Int* **58**:2452-2461, 2000
- 6) Etienne-Manneville S, Hall A: Rho GTPases in cell biology. *Nature* **420**:629-35, 2002
- 7) Hall A: Rho GTPases and the control of cell behaviour. *Biochem Soc Trans* **33**:891-895, 2005
- 8) Ridley AJ, Hall A: The small GTP-binding protein rho regulates the assembly of focal adhesions and actin stress fibers in response to growth factors. *Cell* **70**:389-399, 1992
- 9) Ridley AJ, Paterson HF, Johnston CL, Diekmann D, Hall A: The small GTP-binding protein rac regulates growth factor-induced membrane ruffling. *Cell* **70**:401-410, 1992
- 10) Nobes CD, Hall A: Rho, rac, and cdc42 GTPases regulate the assembly of multimolecular focal complexes associated with actin stress fibers, lamellipodia, and filopodia. *Cell* **78**:53-62, 1995
- 11) Nishiyama T, Sasaki T, Takaishi K, Kato M, Yaku H, Araki K, Matsuura Y, Takai Y: rac p21 is involved in insulin-induced membrane ruffling and rho p21 is involved in hepatocyte growth factor- and 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA)-induced membrane ruffling in KB cells. *Mol Cell Biol* **14**:2447-2356, 1994
- 12) Kozma R, Ahmed, S, Best A, Lim, L: The Ras-related protein Cdc42Hs and bradykinin promote formation of peripheral actin microspikes and filopodia in Swiss 3T3 Fibroblasts. *Mol Cell Biol* **15**:1942-1952, 1995
- 13) DerMardirossian C, Bokoch G: GDIs: Central regulatory molecules in Rho GTPase activation. *Trends Cell Biol* **15**:356-63, 2005
- 14) Huttenlocher A, Sandborg RR, Horwitz AF: Adhesion in cell migration. *Curr Opin Cell Biol* **7**:697-706, 1995
- 15) Kaibuchi K, Kuroda S, Amano M: Regulation of the cytoskeleton and cell adhesion by the Rho family GTPases in mammalian cells. *Annu Rev Biochem* **68**:459-486, 1999
- 16) Coso OA, Chiariello M, Yu JC, Teramoto H, Crespo P, Xu N, Miki T, Gutkind JS: The small GTP-binding proteins Rac1 and Cdc42 regulate the activity of the JNK/SAPK signaling pathway. *Cell* **81**:1137-1146, 1995
- 17) Sakurada S, Okamoto H, Takuwa N, Sugimoto N, Takuwa Y: Rho activation in excitatory agonist-stimulated vascular smooth muscle. *Am J Physiol Cell Physiol* **281**:C571-578, 2001
- 18) Kureishi Y, Kobayashi S, Amano M, Kimura K, Kanaide H, Nakano T, Kaibuchi K, Ito M: Rho-associated kinase directly induces smooth muscle contraction through myosin light chain phosphorylation. *J Biol Chem* **272**:12257-12260, 1997
- 19) Uehata M, Ishizaki T, Satoh H, Ono T, Kawahara T, Morishita T, Tamakawa H, Yamagami

- K, Inui J, Maekawa M, Narumiya S: Calcium sensitization of smooth muscle mediated by a Rho-associated protein kinase in hypertension. *Nature* **389**:990-994, 1997
- 20) Nusrat A, Giry M, Turner JR, Colgan SP, Parkos CA, Carnes D, Lemichez E, Boquet P, Madara JL: Rho protein regulates tight junctions and perijunctional actin organization in polarized epithelia. *Proc Natl Acad Sci USA* **92**:10629-10633, 1995
- 21) Jaffe AB, Hall A: Rho GTPase: Biochemistry and biology. *Annu Rev Cell Dev Biol* **21**:247-269, 2005
- 22) Malliri A, van Es S, Huveneers S, Collard JG: The Rac exchange factor Tiam1 is required for the establishment and maintenance of cadherin-based adhesions. *J Biol Chem* **279**:30092-30098, 2004
- 23) Hordijk PL, ten Klooster JP, van der Kammen RA, Michiels F, Oomen LC, Collard JG: Inhibition of invasion of epithelial cells by Tiam1-Rac signaling. *Science* **278**:1464-1466, 1997
- 24) Sander EE, van Delft S, ten Klooster JP, Reid T, van der Kammen RA, Michiels F, Collard JG: Matrix-dependent Tiam1/Rac signaling in epithelial cells promotes either cell-cell adhesion or cell migration and is regulated by phosphatidylinositol 3-kinase. *J Cell Biol* **143**:1385-1398, 1998
- 25) Minden A, Lin A, Claret FX, Abo A, Karin M: Selective activation of the JNK signaling cascade and c-Jun transcriptional activity by the small GTPases Rac and Cdc42Hs. *Cell* **81**:1147-1157, 1995
- 26) Hill CS, Wynne J, Treisman R: The Rho family GTPases RhoA, Rac1, and CDC42Hs regulate transcriptional activation by SRF. *Cell* **81**:1159-1170, 1995
- 27) Perona R, Montaner S, Saniger L, Sanchez-Perez I, Bravo R, Lacal JC: Activation of the nuclear factor- $\kappa$ B by Rho, CDC42, and Rac-1 proteins. *Genes Dev* **11**:463-475, 1997
- 28) Eto M, Barandier C, Rathgeb L, Kozai T, Joch H, Yang Z, Luscher TF: Thrombin suppresses endothelial nitric oxide synthase and upregulates endothelin-converting enzyme-1 expression by distinct pathways: role of Rho/ROCK and mitogen-activated protein kinase. *Circ Res* **89**:583-590, 2001.
- 29) Somlyo AP and Somlyo AV. Signal transduction by G-proteins, Rho-kinase and protein phosphatase to smooth muscle and non-muscle myosin II. *J Physiol* **522**:177185, 2000.
- 30) Seasholtz TM, Zhang T, Morissette MR, Howes AL, Yang AH, Brown JH: Increased expression and activity of RhoA are associated with increased DNA synthesis and reduced p27(Kip1) expression in the vasculature of hypertensive rats. *Circ Res* **89**:488495, 2001
- 31) Loirand G, Guerin P, Pacaud P: Rho kinases in cardiovascular physiology and pathophysiology. *Cir Res* **98**:322-334 2006
- 32) Nimnual AS, Taylor LJ, Bar-Sagi D: Redox-dependent downregulation of Rho by Rac. *Nature Cell Biol* **5**:236-241, 2003
- 33) Li JM, Shah AM: ROS generation by nonphagocytic NADPH oxidase: Potential relevance in diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol* **14**: S221-S226, 2003
- 34) Blanco-Colio LM, Villa A, Ortego M, Hernandez-Presa MA, Pascual A, Plaza JJ, Egido J: 3-Hydroxy-3-methyl-glutaryl coenzyme A reductase inhibitors, atorvastatin and simvastatin, induce apoptosis of vascular smooth muscle cells by downregulation of Bcl-2 expression and Rho A prenylation. *Atherosclerosis* **161**:17-26, 2002
- 35) Xu H, Zeng L, Peng H, Chen S, Jones J, Chew TL, Sadeghi MM, Kanwar YS, Danesh FR: HMG-CoA reductase inhibitor simvastatin mitigates VEGF-Induced "Inside-Out" signaling to extracellular matrix by preventing RhoA activation. *Am J Physiol Renal Physiol Epub* doi: 10.1152/ajprenal.00092.2006
- 36) Shibata S, Nagase M, Fujita T: Fluvastatin ameliorates podocyte injury in proteinuric rats via modulation of excessive Rho signaling. *J Am Soc Nephrol* **17**:754-764, 2006
- 37) Essig M, Vrtovsnik F, Nguyen G, Sraer JD, Friedlander G: Lovastatin modulates in vivo and in vitro the plasminogen activator/plasmin system of rat proximal tubular cells: role of geranylgeranylation and Rho proteins. *J Am Soc Nephrol* **9**:1377-1388, 1998
- 38) Han DC, Kim JH, Cha MK, Song KI, Hwang SD, Lee HB: Effect of HMG-CoA reductase inhibition on TGF- $\beta$ 1 mRNA expression in diabetic rat glomeruli. *Kidney Int* **48**(Suppl 51): S61-S65, 1995
- 39) Kim SI, Han DC, Lee HB: Lovastatin inhibits transforming growth factor- $\beta$ 1 expression in diabetic rat glomeruli and cultured rat mesangial

- cells. *J Am Soc Nephrol* **11**:80-87, 2000
- 40) Kim SI, Kim HJ, Han DC, Lee HB. Effect of lovastatin on small GTP binding proteins and on TGF- $\beta$ 1 and fibronectin expression. *Kidney Int* **58**(Suppl 77):S88-S92, 2000
- 41) Banes-Berceli AK, Shaw S, Ma G, Brands M, Eaton DC, Stern DM, Fulton D, Caldwell RW, Marrero MB: Effect of simvastatin on high glucose- and angiotensin II-induced activation of the JAK/STAT pathway in mesangial cells. *Am J Physiol Renal Physiol* **291**:F116-121, 2006
- 42) Danesh FR, Sadeghi MM, Amro N, Philips C, Zeng L, Lin S, Sahai A, Kanwar YS: 3-Hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductase inhibitors prevent high glucose-induced proliferation of mesangial cells via modulation of Rho GTPase p21 signaling pathway: Implications for diabetic nephropathy. *Proc Natl Acad Sci USA* **99**:8301-8305, 2002
- 43) Danesh FR, Kanwar YS: Modulatory effects of HMG-CoA reductase inhibitors in diabetic microangiopathy. *FASEB J* **18**:805-815, 2004
- 44) Togawa A, Miyoshi J, Ishizaki H, Tanaka M, Takakura A, Nishioka H, Yoshida H, Doi T, Mizoguchi A, Matsuura N, Niho Y, Nishimune Y, Nishikawa S, Takai Y. Togawa A: Progressive impairment of kidneys and reproductive organs in mice lacking Rho GDI $\alpha$ . *Oncogene* **18**:5373-5380, 1999
- 45) Lakhe-Reddy S, Khan S, Konieczkowski M, Jarad G, Wu KL, Reichardt LF, Takai Y, Bruggeman LA, Wang B, Sedor JR, Schelling JR:  $\beta$ 8 integrin binds Rho GDP dissociation inhibitor-1 and activates Rac1 to inhibit mesangial cell myofibroblast differentiation. *J Biol Chem* **281**:19688-19699, 2006
- 46) Asanuma K, Yanagida-Asanuma E, Faul C, Tomino Y, Kim K, Mundel P: Synaptopodin orchestrates actin organization and cell motility via regulation of RhoA signalling. *Nat Cell Biol* **8**:485-491, 2006
- 47) Zeng L, Xu H, Chew TL, Eng E, Sadeghi MM, Adler S, Kanwar YS, Danesh FR: HMG CoA reductase inhibition modulates VEGF-induced endothelial cell hyperpermeability by preventing RhoA activation and myosin regulatory light chain phosphorylation. *FASEB J* **19**:1845-1847, 2005
- 48) van Nieuw Amerongen GP, van Delft S, Vermeer MA, Collard JG, van Hinsbergh VW: Activation of RhoA by thrombin in endothelial hyperpermeability: role of Rho kinase and protein tyrosine kinases. *Circ Res* **87**:335-40, 2000
- 49) Bakin AV, Rinehart C, Tomlinson AK, Arteaga CL: p38 mitogen-activated protein kinase is required for TGF $\beta$ -mediated fibroblastic transdifferentiation and cell migration. *J Cell Sci* **115**:3193-206, 2002
- 50) Bhowmick NA, Ghiassi M, Bakin A, Aakre M, Lundquist CA, Engel ME, Arteaga CL, Moses HL: Transforming growth factor- $\beta$ 1 mediates epithelial to mesenchymal transdifferentiation through a RhoA-dependent mechanism. *Mol Biol Cell* **12**:27-36, 2001