

최종당화산물에 의한 혈관평활근세포 증식

계명대학교 의과대학 내과학교실

김 혜 순 · 이 인 규

서 론

당뇨병 환자의 만성 혈관합병증인 대혈관합병증(동맥경화증)과 미세혈관병증은 당뇨병 환자의 사망률 증가에 중요 원인이다. 이러한 혈관합병증의 중요한 원인으로서는 고혈당 그 자체를 들 수 있으며 최근 DCCT (Diabetes Control and Complication Trial)의 연구결과로 이와 같은 사실은 더욱 분명해졌다¹⁾. 그러나 고혈당이 어떤 경로를 통하여 만성혈관합병증을 초래하는지는 확실하지 않으며 현재까지 다음과 같은 여러가지 가설이 주장되고 있다. 즉, 당화단백질 및 최종당화산물(advanced glycosylation end product)의 형성²⁾, 폴리올(polyol) 경로의 이상³⁾, 미오인노시톨(myoinositol)의 감소⁴⁾, Na⁺-K⁺ ATPase 활성의 감소⁵⁾, Superoxide와 산화지질단백(oxidized lipoprotein)을 포함하는 포도당산화(glycoxidation) 산물의 생성^{5,6)} 및 Diacylglycerol (DAG), Protein Kinase C (PKC) 경로의 활성화^{7,8,9)} 등의 가설이 있다.

비효소성 당화과정은 포도당과 활성단백질의 아미노산 사이의 부가반응에 의해 Schiff base 부가물이 생성되고 Amadori 재배열을 거쳐 안정적인 당-단백질 산물을 형성한다¹⁰⁻¹⁷⁾. 이들 당화 Amadori 산물은 더욱 진행되어 비가역적 화학 반응을 일으키고 최종당화산물(advanced glycation end products, AGE)이 된다. 당뇨병 환자에서 증가된 최종당화산물은 LDL과 복합체를 형성하여 혈관벽에 축적되어 산화질소(nitric oxide, NO)의 불활성화를 유발하고 대식세포/단핵세포, 내피세포 등의 수용체와 결합하여 세포 활성화를

통해 동맥경화증을 유발하는데 기여하는 것으로 생각된다¹³⁾. 또한 최종당화산물은 특정 세포수용체와 결합하여 작용하는데 이 중 가장 잘 알려진 것이 AGE 수용체(RAGE)이다^{14,15)}. AGE 수용체는 내피세포, 단핵구/대식세포, 신경세포 및 혈관평활근세포 등에서 발견되는데, AGE-RAGE 상호작용에 의해 세포에 산화적 스트레스가 유도되면 세포내에서 p21ras와 MAPK (mitogen-activated protein kinase)와 연관된 전달경로가 증폭되어 이와 관련된 전사인자가 활성화된다고 알려져 있다¹⁶⁾. 또한 당뇨병 환자에서 혈장내 최종당화산물의 농도는 대략 ~15 µg/mL로 보고된다¹⁷⁾.

송 등¹⁸⁾은 최종당화산물이 혈관평활근세포 증식에 미치는 영향을 규명하기 위한 실험에서 백서의 혈관평활근세포에 AGE-BSA를 2.5 µg/mL, 5.0 µg/mL를 가하였을 때 혈관평활근세포의 증식이 각각 1.5배, 1.6배로 유의하게 증가하였다고 보고 하였다. 또한 anti-AGE 항체를 함께 가하였을 때는 혈관평활근세포의 증식이 차단되는 것을 관찰하였다. 이 실험을 통하여 송 등¹⁸⁾은 최종당화산물이 혈관평활근세포의 증식에 직접 관여하여, 동맥경화증 유발에 중요한, 혈관 평활근세포를 증식 시킨다는 가설을 증명할 수 있었다. 그리고 혈관평활근세포에 MAPK 억제제인 PD98059을 AGE-BSA와 동시에 가하였을 때는 혈관평활근세포의 증식이 대조군 수준으로 감소되었으므로 AGE에 의한 혈관평활근 증식은 MAPK 경로를 통한 것이라는 것을 시사하였다. 이상의 결과는 Satoh 등¹⁹⁾이 토끼의 혈관 평활근세포를 이용한 실험에서 이미 보고한 결과와 큰 차이가 없다. 끝으로 송 등¹⁸⁾은 최종당화산물이

혈관평활근세포 증식에 미치는 영향이 세포내 산화 스트레스와 연관 있는지를 알아보기 위해 AGE-BSA로 자극한 혈관평활근세포에 항산화제인 N-acetylcystein (NAC)과 butylated hydroxyanisole (BHA)을 처리하였다. 그 결과 혈관평활근세포의 증식이 유의하게 억제되어 이 신호전달 과정에 산화 스트레스 기전이 관여됨을 추측할 수 있었다. 이상의 송 등¹⁸⁾의 실험에서는 다음과 같은 추가 연구가 필요하다고 사료된다. 즉 MAPK의 억제제만 써서 결과를 추측하기보다는 MAPK의 활성화를 직접 밝히는 실험, AGE-BSA 투여 후 혈관 평활근세포에서 직접적인 산화스트레스의 증가가 있는지를 confocal 혹은 fluorescent 현미경을 통하여 확인한 뒤 NAC나 BHA 등을 투여하여 이의 감소와 더불어 혈관평활근세포의 증식감소를 함께 확인하는 실험 및 어떤 신호전달경로의 활성화를 통하여 이런 결과가 나타나는가를 설명할 수 있는 실험 등의 추가 연구가 필요하다고 사료된다.

최근 보고에 의하면 초기당화산물 (Amadori) 알부민도, 동물실험에서, 전반적으로 혈관병증을 가속화하고 당뇨병성 신병증과 망막증을 발생시킨다²⁰⁻²²⁾고 한다. 또한 당화알부민과 당뇨병성 혈관 합병증 간에 밀접한 상관관계를 보여주는 임상연구도 보고되었다²³⁻²⁵⁾. 이상의 결과들은 당화알부민 같은 초기당화산물도 특정 세포 수용체와 전달경로를 활성화시켜 혈관합병증을 유발할 수 있다는 것은 시사한다.

Hattori 등²⁶⁾은 당화알부민 (glycated serum albumin, GAS)이 혈관평활근세포에서 redox-responsive 전사인자인 NF- κ B와 AP-1을 활성화시키고 MAPKs (mitogen-activated protein kinases)와 ERK (extracellular signal-regulated kinase) 및 p38 MAPK의 활성을 증가시키는 것을 밝혔다. 그들은 혈관평활근세포 배양실험을 통하여 당화알부민은 초기 반응유전자 c-fos와 c-jun 및 염증반응 유전자 MCP-1 (monocyte chemoattractant peptide)과 IL-6의 발현을 증가시킨다는 것을 보여주었다. 당화알부민이 혈관평활근세포를 활성화 시키는 전달경로 중 하나는 NF- κ B를 활성화시켜 MCP-1과 IL-6 유전자 발현을 유도하는 것인데 이것은 lipopolysaccharide, TNF-(α), IL-1(β)의 작용과 유사하다. 당화알부민이 혈관평활근세포를

활성화 시키는 다른 전달경로는 ERK \rightarrow c-Fos \rightarrow AP-1을 통해 세포분열과 이주를 자극하는 것인데 이것은 Ang II, EGF, PMA의 작용과 유사하다. 또한 Hattori 등²⁶⁾에 의하면 혈관평활근세포를 항산화제인 N-acetylcystein (NAC)과 함께 배양하면 당화알부민에 의한 MCP-1과 IL-6 mRNA 유도를 억제할 수 있고, p38 MAPK를 차단하여도 MCP-1과 IL-6 mRNA 유도가 감소되었다. 이들은 이러한 효과가 이미 잔존하는 최종당화산물에 의한 것임을 배제하기 위해 최종당화산물에 대한 가용성 수용체로 세포를 치료한 후 당화알부민의 영향을 다시 검사한 결과 당화알부민 투여에 의한 NF- κ B와 AP-1 활성화증가는 최종당화산물에 대한 가용성 수용체로 세포를 치료한 후에도 변화가 없었다. 이상의 결과는 초기당화산물인 당화알부민이 최종당화산물과 관계 없이 혈관평활근세포 증식에 작용한다는 것을 보여준다. 그리고 당화알부민에 의해 MCP-1과 IL-6 mRNA 발현이 유도되는 것으로 보아 초기당화산물인 당화알부민이 혈관평활근세포 성장과 이주를 자극할 뿐 아니라 혈관벽에서 염증반응 매개체를 유도하여 당뇨병 환자에서 동맥경화증을 유발하는데 기여하는 것으로 생각된다. 이와 같은 결과는 동맥경화증이 염증반응으로 인식되고 있는 최근의 여러 논문의 주장을 뒷받침할 수 있는 결과로 사료된다.

이상의 결과에서 볼때 AGE-BSA 및 당화알부민은 혈관 평활근세포의 성장과 이주를 촉진시키며 이는 NF- κ B와 AP-1을 활성화시키고 MAPK와 ERK 및 p38 MAPK의 활성증가를 통하여 유발된다는 것을 알 수 있다. 그러나 어떻게 AGE-BSA 및 당화알부민이 이러한 광범위한 신호전달경로의 활성을 유발할 수 있는가 하는 것과 AGE-BSA 및 당화알부민이 당뇨병 환자의 체내에서도 혈관평활근세포의 증식과 이주를 증가시킬 것인가 하는 문제는 향후 규명되어야 할 문제이다. 이를 위하여 AGE-BSA 및 당화알부민 수용체와 수용체후 전달체계를 규명하고 AGE-BSA 및 당화알부민에 의한 염증반응의 시작 그리고 동맥경화증의 발생과 이로 인한 만성 당뇨병성 대혈관합병증에 대한 분자생물학적 기전을 설명하기 위한 연구가 필요할 것으로 사료된다. 또한 향후 당화산물과 수용체 및 수용체후 다양한 신호전달 체계를 이해하고 이를 차단하는

효과적인 방법을 연구함으로써 당뇨병성 혈관합병증에 대한 새로운 치료법들이 개발될 수 있으리라 사료된다.

참 고 문 헌

1. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group: *The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus.* *N Engl J Med* 329:977-986, 1993
2. Brownlee M, Cerami A, Vilassara H: *Advanced glycosylation end products in tissue and the biochemical basis of diabetic complication.* *N Engl J Med* 320:1161-65, 1989
3. Sato Y, Rifkin DB: *Inhibition of endothelial cell movement by pericytes and smooth muscle cells: Activation of a latent transforming growth factor B1 like molecule by plasmin during coculture.* *J Cell Biol* 109:309-15, 1989
4. Greene DA, Lattimer SA, Sima AF: *Sorbitol, phosphoinositides, and sodium-potassium-ATPase in the pathogenesis of diabetic complication.* *N Engl J Med* 316:599-606, 1987
5. Williamson JR, Chang K, Frangos M, Hasan KS, Ido Y, Kawamura T, Nyengaard JR, Van den Enden M, Kilo C, Tilton RG: *Hyperglycemic pseudohypoxia and diabetic complication.* *Diabetes* 42:801-13, 1993
6. Larkins RG, dunlop ME: *The link between hyperglycemia and diabetic neuropathy.* *Diabetologia* 35:499-504, 1992
7. Craven PA, DeRubertis FR: *Protein kinase C is activated in glomeruli from streptozocin diabetic rats: Possible medication by glucose.* *J Clin Invest* 83:1667-75, 1989
8. Inoguchi T, Battan R, Handler E, Sortman JR, Heath W, King GL: *Proferential elevation of protein kinase C isoform BII and diacylglycerol levels in the aorta and heart of diabetic rat: Differential reversibility to glycemic control by islet cell transplantation.* *Proc Natl Acad Sci* 89:11059-63, 1992
9. Ayo SH, Radnik R, Garoni J, Troyer Da, Kreisberg II: *High glucose increases diacylglycerol mass and activates protein kinase C in mesangial cell cultures.* *Am J Physiol* 260: F185-91, 1990
10. Bunn HF, Haney DN, Kamin S, Gabbay KH, Gallop PM: *The biosynthesis of human hemoglobin A1c: slow glycosylation of hemoglobin in vivo.* *J Clin Invest.* 57:1652-1659, 1976
11. Bunn HF, Gabbay KH, Gallop PM: *The glycosylation of hemoglobin: relevance to diabetes mellitus.* *Science* 200:21-27, 1978
12. Higgins PJ, Bunn HF: *Kinetic analysis of the nonenzymatic glycosylation of hemoglobin.* *J Biol Chem* 256:5204-5, 1981
13. Vlassara H: *Recent progress in advanced glycation endproducts and diabetic complications.* *Diabetes* 46(Suppl. 2):S19-S25, 1997
14. Neeper M, Schmidt AM, Brett J, Yan SD, Wang F, Pan YC, Elliston K, Stern D, Shaw A: *Cloning and expression of a cell surface receptor for advanced glycosylation end products of proteins.* *J Biol Chem* 267:14998-15004, 1992
15. Brett J, Schmidt AM, Yan SD, Zou YS, Weidman E, Pinsky D, Nowygrod R, Neeper M, Przysiecki C, Shaw A, et al: *Survey of the distribution of a newly characterized receptor for advanced glycation end products in tissues.* *Am J Pathol* 143:1699-1712, 1993
16. Lander HM, Tauras JM, Ogiste JS, Hori O, Moss RA, Schmidt AM: *Activation of the receptor for advanced glycation end products triggers a p21(ras)-dependent mitogen-activated protein kinase pathway regulated by oxidant*

- stress. *J Biol Chem* 272:17810-17814, 1997
17. Schimoike T, Inoguchi T, Umeda F, Nawata H, Kawano K, Ochi H: *The meaning of serum levels of advanced glycosylation end products in diabetic nephropathy. Metabolism* 49:1030-1035, 2000
 18. 송진영, 임성희, 서지영, 조영중, 유형준, 박성우, 임자혜: 최종당화산물이 혈관평활근세포 증식에 미치는 영향 및 그 기전. *당뇨병* 26:91-99, 2002
 19. Satoh H, Togo M, Hara M, Miyata T, Han K, Maekawa H, Ohno M, Hashimoto Y, Kurokawa K, Watanabe T: *Advanced glycation endproducts stimulate mitogen-activated protein kinase and proliferation in rabbit vascular smooth muscle cells. Biochem Biophys Res Commun* 239:111-115, 1997
 20. Cohen MP, Hud E, Wu VY: *Amelioration of diabetic nephropathy by treatment with monoclonal antibodies against glycated albumin. Kidney Int* 45:1673-1679, 1994
 21. Cohen MP, Ziyadeh FN: *Role of Amadori-modified nonenzymatically glycated serum proteins in the pathogenesis of diabetic nephropathy. J Am Soc Nephrol* 7:183-190, 1996
 22. Clements RSJr, Robison WGJr, Cohen MP: *Anti-glycated albumin therapy ameliorates early retinal microvascular pathology in db/db mice. J Diabetic Complications* 12:28-33, 1998
 23. McCance DR, Dyer DG, Dunn JA, Bailie KE, Thorpe SR, Baynes JW, Lyons TJ: *Maillard reaction products and their relation to complications in insulin-dependent diabetes mellitus. J Clin Invest* 91:2470-2478, 1993
 24. Sakai H, Jinde K, Suzuki D, Yagame M, Nomoto Y: *Localization of glycated proteins in the glomeruli of patients with diabetic nephropathy. Nephrol Dialysis Transplant* S5: 66-71, 1996
 25. Schalkwijk CG, Ligetvoet N, Twaalfhoven H, Jager A, Blaauwgeers HG, Schlingemann RO, Tarnow L, Parving HH, Stehouwer CD, van Hinsbergh VW: *Amadori albumin in type 1 diabetic patients: correlation with markers of endothelial function, association with diabetic nephropathy, and localization in retinal capillaries. Diabetes* 48:2446-2453, 1999
 26. Hattori Y, Suzuki M, Hattori S, Kasai K: *Vascular smooth muscle cell activation by glycated albumin (Amadori Adduct). Hypertension* 39:22-28, 2002