당독소와 신장 독성: 메틸글리옥살-유래 당독소(AGE-4)에 의한 정상 신장 세포에서의 기질 금속단백분해효소 및세포자멸사 활성화 및 신장 세포암종 세포에서의 증식 촉진

Advanced glycation end products-induced renal toxicity: Methylglyoxal-derived advanced glycation end products (AGE-4) stimulate matrix metalloproteinases and apoptosis in kidney cells, while promoting cell proliferation in renal cell carcinoma cells

이광원[1,2*], 정소라[1], 남한결[1]
Kwang-Won Lee[1*], So-Ra Jeong[1], Han-Kyul Nam[1]

[1] 고려대학교 생명공학과, [2] 고려대학교 식품공학과

[1] Department of Biotechnology, College of Life Sciences and Biotechnology, Korea University, Seoul, 02841, Republic of Korea
[2] Department of Food Bioscience and Technology, College of Life Sciences and Biotechnology, Korea University, Seoul, 02841, Republic of Korea

이 광 원

Correspondence to
Kwang-Won Lee,
Department of Biotechnology, College of Life Sciences and Biotechnology, Korea University, Seoul, 02841, Republic of Korea; Department of Food Bioscience and Technology, College of Life Sciences and Biotechnology, Korea University, Seoul, 02841, Republic of Korea
Tel: +82-2-3290-3027
Fax: +82-2-3290-3040
E-mail: kwangwon@korea.ac.kr

서론

당독소는 최종당화산물(Advanced glycation end products; AGEs)이라고도 알려져 있고, 환원당과 단백질 또는 지질 내 카보닐 화합물과의 당화 반응으로 생성된다(Ahmed, 2005; Zhang et al., 2009). 식품을 통해 섭취되거나 인체 내 생성되는 당독소가 체내에 축적되어 신장을 포함한 기관에 구조 · 기능적 변화를 일으켜서(Linden et al., 2008; Yu et al., 2007), 죽상 동맥경화증, 당뇨망막병증, 신경병증, 만성 신장 질환 등의 질병을 유발하게 된다(Moldogazieva et al., 2019; Byun et al., 2017; Ahmed, 2005). 당뇨병성 신증 환자에서는 신장의 배출 기능이 감소하여 신장에서의 당독소축적으로(Bhat et al., 2017; Goh and Cooper, 2008; Vlassara and Uribarri, 2014), 사구체 여과율에 영향을 미쳐 만성 신부전을 유발한다(Rabbani and Thornalley, 2018). 아울러, 당독소 축적은 세포의 DNA 손상을 일으켜 세포사멸 또는 세포증식을 유발하기도 한다(Ahmad et al., 2011). 당독소는 세포 표면에 존재하는 당독소 수용체(RAGE, Receptor for AGEs)와 결합하여 당독소-수용체(AGE-RAGE)의 축을 통해 활성산소종(ROS, reactive oxygen species)을 증가시키고(Shi et al., 2013), 다양한 신호전달 경로로 통하여 사이토카인을 발현시키며 염증성 질환으로 이르게 하며(Del Pozo et al., 2017; Singh et al., 2017), 세포 내 DNA 손상, 전이 증가 및 악성 암종양의 발병을 가져오는 침습적 특성을 유도하기도 한다(Rhee and Kim, 2018; Ahmad et al., 2018; Sparvero et al., 2009).

Takeuchi et al.(2000)은 5가지 당독소(AGE-1, 글루코스 유도 당독소; AGE-

2, 글리세르알데하이드 유도 당독소; AGE-3, 글리콜알데히드 유도 당독소; AGE-4, 메틸글리옥살(MGO) 유도 당독소; AGE-5, 글리옥살 유도 당독소)와 카복시메틸 라이신(CML) 유도 당독소 항원을 특이적으로 인식하는 항체를 만들어 이들 항체를 5종류의 당독소 또는 CML 유도 당독소를 결합한 기질로 충진된 칼럼에 각각 넣어서 CML 유도 당독소를 인식하지 못하는 항체-2에서 -5까지의 (non-CML-AGE-Ab-2~5) 당독소 특이항체를 제작하여, 이들 당독소 항체를 가지고 혈액투석을 받는 당뇨병 환자의 혈청에서 CML로부터 유도되지 않은 당독소을 면역적으로 인식하게 하였다(Takeuchi et al., 2004). 글리세르알데하이드 유래 당독소(AGE-2)는 ROS를 증가시키고 NLRP3 인플라마좀을 활성화하여 인간 진피 섬유아세포에서 세포자멸사를 유도한다(Dai et al., 2019). 연구에 따르면 메틸글리옥살과 그로부터 유도된 당독소(AGE-4)가 신부전을 유발하는 것으로 나타났다(Groener et al., 2017; Singh et al., 2001). 메틸글리옥살은 디카보닐 화합물이자 당독소를 형성할 수 있는 강력한 전구체이며 글루코스보다 반응성이 높다(Rabbani and Thornalley, 2014). 메틸글리옥살은 설탕이 첨가된 식품을 섭취하거나 해당 대사경로를 통해 내인적으로 형성된다(Rabbani et al., 2016). 체내의 메틸글리옥살 농도의 증가는 신장 독성이 있는 메틸글리옥살 유래 당독소(AGE-4) 생성을 증가시킨다(Rabbani and Thornalley, 2014). 그러나 AGE-4가 신장 상피세포의 어떠한 신호전달 경로로 독성의 영향을 주는지에 대한 연구는 많이 수행되어 있지 않다.

다른 한편으로는 암의 진행과 관련하여 당독소는 기질 금속단백분해효소(MMPs, matrix metalloproteinases)를 활성화하여 세포증식과 이동을 촉진시키는데 기여한다(Sharaf et al., 2015). 메틸글리옥살의 당화반응으로 세포자멸사에 대한 저항성과 DNA 손상과 돌연변이에 의해 악성 종양이 증가한다(Bellier et al., 2019; Thilavech et al., 2018). 세포자멸사는 암의 전이와 진행에 있어서 중요한 역할을 한다(Bold et al, 1997). 이 세포자멸사 경로는 악성 신장암의 80% 이상을 차지하는 가장 흔한 형태의 신장암인 신장 세포암종(RCC, renal cell carcinoma) 진행의 핵심이 된다(Gobé et al., 2002; Dabestani et al., 2016). 노화가 진행됨에 따라 50~70세 연령층에서 RCC가 발병되기에 심각한 질병이기는 하지만, 초기에 치료하면 완치될 가능성이 높다(Pantuck et al., 2001; Klapper et al., 2006). 이전 연구에서는 당독소 수용체가 RCC 세포에서 더 많이 발현되고 세포 성장에 관여하는 것으로 보고하였으나(Abe and Yamagishi, 2008), RCC 세포에서, 당독소로 인한 암세포 증식 및 항-세포자멸사 영향에 관해서는 여전히 연구가 미흡하다. 따라서 이 총설에서는 본 연구실에서 현재까지 수행하였던 정상 신장 세포에서의 메틸글리옥살 유래 AGE(AGE-4)의 역할과 신장 세포암종 암세포에서 세포자멸사에 대한 연구결과를 소개하고자 한다.

메틸글리옥살 유래 당독소(AGE-4)의 쥐 신장 근위상피세포 ERK/JNK/NF-κB 경로를 통한 기질 금속단백분해효소(MMPs)의 활성화

본 연구실은 4종류 당독소 AGE-1(글루코스 유도 당독소), AGE-2(글리세르알데하이드 유도 당독소), AGE-3(글리콜알데히드 유도 당독소), AGE-4(메틸글리옥살 유도 당독소)를 흰쥐 신장 근위 상피세포주인 NRK-52E 세포에 24시간 처리하였을 때, AGE-4 당독소에서만 ERK와 JNK의 인산화가 증가함을 보고하였다(Jeong et al., 2020). 또한 MMP-2와 MMP-9의 mRNA 발현과 젤라틴 분해 활성이 AGE-4 처리로 증가하였는데, MAPK 경로가 관여하는 지를 조사하기 위해 ERK 억제제인 PD98059와 JNK 억제제인 SP600125로 전처리하였는데, PD98059와 SP600125 전처리 모두 AGE-4가 유도하는 MMP-2와 MMP-9의 mRNA 발현을 억제하였다. 이는 NRK-52E세포에서 AGE-4가 ERK/JNK 경로를 통해 기질 금속단백분해효소(MMPs)의 활성을 조절함을 보여준다. 한편 MMP-2 및 MMP-9의 활성화는 전사시작 부분에 있는 NF-κB 유전자 결합 부위에 의해 유도

된다(Kanwar et al., 2011). 따라서 본 연구실은 NRK-52E세포에 AGE-4를 처리하였을 때 세포핵에서 NF-κB의 발현을 보았는데, 핵으로의 이동과 양이 증가하였고, 다른 AGE를 처리할 때보다 AGE-4로 처리할 때 가장 높은 루시페라아제 활성이 측정되어 AGE-4가 NF-κB의 이동을 통해서도 MMP-2 및 MMP-9 발현을 활성화한다는 것을 보여주었다. 이 실험에서는 AGE-4의 화학구조 특성을 조사하지는 않았지만 메틸글리옥살에 의한 당화반응은 주로 알기닌 아미노산에 영향을 주는 것으로 알려졌다. 하이드로이미다졸론(MG-Hs)이 수용체와 상호작용하여 신부전을 유발하는 것으로 알려져 있다(Xue et al., 2014). 이어서 MMP-2와 MMP-9의 유도에 대한 AGE-4 당독소 수용체인 RAGE의 역할을 조사하기 위해 NRK-52E 세포에 siRAGE를 형질주입하여 RAGE를 녹다운시킨 결과 AGE-4에 의해 상향조절된 MMP-2/MMP-9 발현이 억제되었다. 이는 AGE-4가 RAGE 수용체에 결합하여 관련 단백질을 활성화한다는 것을 보여준다. 이전에 본 연구실에서 글루코스와 유청 단백질 당화결합체는 HepG2 간세포에서 ERK와 JNK를 활성화하는 반면(Pyo et al., 2016), 라이소자임과 갈락토만난의 당화 결합체는 JNK, ERK 및 NF-κB 경로의 활성화를 보고하였다(Ha et al., 2013). 당독소 수용체가 매개하는 세포 신호전달 연쇄반응은 세포 유형뿐만 아니라 당독소 종류가 신호전달 경로에 차별적으로 영향을 줄 수 있다는 것을 보여준다.

위에서 언급한 5가지 당독소 외에도 Takeuchi et al.(2000)은 면역화학적 특이항체를 사용하여 당뇨병 환자의 혈청에서 두 가지 당독소(3-deoxyglucosone 유래 당독소인 AGE-6 및 acetaldehyde 유래 당독소인 AA-AGE를 추가로 보고하였다. 생체 내에서 발생할 수 있는 다양한 유형의 당독소 중 AGE-2(글리세르알데하이드 유도 당독소) 및 AA-AGE가 250-2000 μg/mL 농도에서 신경독성을 유발하는 연구결과가 있다(Stitt, 2001). 참고로 본 연구실에 사용한 100 μg/mL의 AGE-4 농도에서는 NRK-52E 세포 독성이 관찰되지 않았다. AGE-4는 당뇨병 및 혈관 합병증을 유발하고(Rodrigues et al., 2014), 이 당독소가 유도하는 수용체의 발현은 MAPK/JNK 독립적이 아닌 MAPK/ERK 및 p38 의존적 경로에 의해 매개되는 것으로 나타났다(Sun et al., 2009). 이와 연관하여 우리의 연구결과를 종합해 보면 AGE-1,-2, -3로 처리한 것에 비해 AGE-4는 수용체와 결합하여 p38를 제외하고 ERK와 JNK를 활성화고, 전사조절인자 NF-κB를 세포의 핵에서 활성화한다. 이러한 당독소-수용체(AGE-RAGE) 축을 통한 상호작용 ERK/JNK 신호전달 경로를 통해 AGE-4 당독소가 MMPs를 활성화하여 당뇨병성 신증을 유도하는 가능성을 보여준다(그림 1). 다른 연구들에서도 AGE-RAGE 축 상호작용이 신호전달 경로를 통한 MMPs의 활성화를 보고하였다(Zhu et al., 2012). MMPs 계열은 만성 신장 질환(CKD)을 유발하는 것으로 알려져 있으며, 신장 섬유증은 진행성 CKD에서 상처가 지속될 때 나타난다(Klein et al., 2004). MMP-2 및 MMP-9는 암세포의 전이를 포함하여 암세포 성장을 촉진하며(Deng et al., 2017), 신세뇨관 세포 상피-중간엽 전이(EMT, epithelial-mesenchymal transition)의

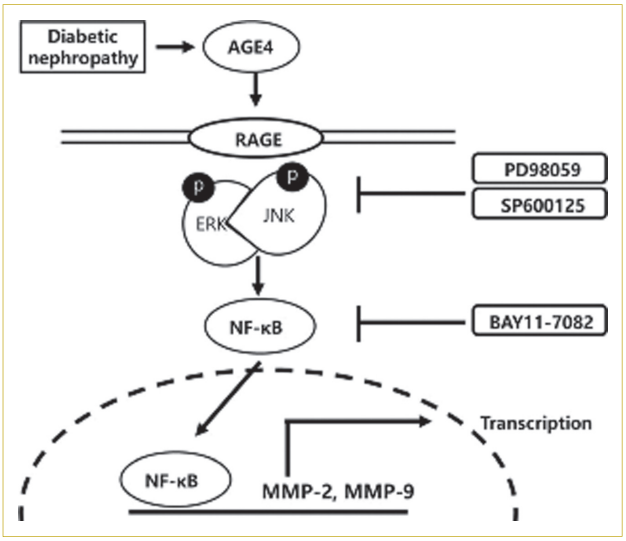

Figure 1. Proposed mechanism by which AGE-4 induced with fibrosis marker expression. Exposure to AGE-4 activate RAGE (source: Jeong et al., 2020).

유도를 통해 섬유화를 촉진한다(Zhu et al., 2012). 따라서 메틸글리옥살에 의해 유도된 AGE-4는 당뇨병성 신증을 유발하는 데 중요한 역할을 할 것으로 예상하며, 그에 의한 신장 섬유증에 대한 기초 연구에도 도움이 될 것으로 기대한다. 그러나, 신장 섬유증 기능 장애의 맥락에서 AGE-4가 과도한 단백질 분해 활성을 유도하는지 확인하기 동물 모델에서 실험을 통해 확인할 필요가 있다.

메틸글리옥살 유래 당독소(AGE-4)의 인간 신장 근위상피세포 RAGE/JNK 경로를 통한 미토콘드리아 기능 장애 및 소포체 스트레스로 신장 세포자멸사 유발

소포체(ER, endoplasmic reticulum) 스트레스가 미토콘드리아에 직 · 간접적으로 영향을 주지만(Burgos-Morón et al., 2019), ER 스트레스 및 세포사멸과 관련된 신호전달 경로에 대한 당독소 AGE-4의 정확한 영향에 대한 메커니즘은 알려지지 않았다. 따라서 본 연구실은 in vitro 및 in vivo 모델을 사용하여 세포자멸사에 기여하는 ER 스트레스와 미토콘드리아 기능 장애를 유도하는 AGE-4와 RAGE 축 및 관련되어 있는 특정 신호전달 경로를 연구하였다(Jeong and Lee, 2021).

전술한 대로 글루코스 대사 과정에서 생성된 반응성 디카르보닐화합물 메틸글리옥살은 당뇨병 환자에 축적이 되고(Takeuchi, 2001), 여기서 유래된 당독소 AGE-4는 당뇨병과 암을 비롯한 여러 질병을 일으키는 것으로 알려져 있다(Bellier et al., 2019). 본 연구실의 연구에서 AGE-4로 처리된 인간 신장 근위 상피 세포주 HK-2세포는 cyclin D1 단백질 수준이 상당히 감소하였다. cyclin D1은 세포 이동을 유발하는 세포 G1 주기의 후속 진행에 필요한 단백질이다(Neumeister et al., 2003). 이 단백질의 감소로 인해 sub-G1 및 G1 주기 단계로 세포가 머물게 된다. 또한 AGE-4 처리로 활성화되는 NF-κB는 JNK 신호전달 경로를 통해 조절이 되어, AGE-4-RAGE 축으로 유도된 세포자멸사는 JNK 경로를 통한 CHOP, ATF4 및 GRP78과 같은 ER 스트레스 마커의 유도와도 상관관계가 있게 된다. 우리의 이전 연구에서 AGE-4 처리는 ERK, JNK 및 NF-κB 경로를 통해 쥐의 신장 근위상피세포(NRK-52E)에서 RAGE 의존성 MMPs를 활성화를 유도하였다(Jeong et al., 2020). 이러한 JNK 및 NF-κB는 비알코올성 지방간염 및 간세포 암종으로 이어지는 ER 스트레스와 관련된 주요 발암성 신호전달 경로에 기여하기도 한다(Xu et al., 2017).

당독소는 심근 기능 장애 및 죽상 동맥경화증과 같은 질병의 발병에 중요한 역할을 하고(Kold-Christensen et al., 2020; Yua et al., 2017), 수용체와의 상호작용을 통해 ROS를 유도하여 JNK 신호 경로를 조절한다(Son et al., 2016; Chen et al., 2016). 미토콘드리아 호흡 복합체에서 ROS가 생성되며, JNK 경로는 미토콘드리아 세포자멸사에 관여한다(Su et al., 2019; Ding et al., 2020). 본 연구실의 실험에서는 인간 신장 근위상피세포주 HK-2세포에 AGE-4 처리를 하면, 이 당독소가 RAGE와 상호작용을 하여 ROS 생산을 유도하였고, 세포자멸사에 중요한 역할을 하는 JNK 신호전달 경로를 활성화시켰다. 최근의 연구에 따르면 세포 내 ROS로 유발되는 만성 염증은 미토콘드리아의 세포 신호전달 및 당뇨병과 같은 대사질환의 발병과 관련이 있다(Wang et al., 2019; Newsholme et al., 2016; DeHart et al., 2018). 세포자멸사는 Bcl-2 계열 단백질과 관련된 세포사멸과 관련된 산화 스트레스를 유도하는 신호전달 때문에 일어난다(Spinelli and Haigis, 2018; Mao et al., 2018). Bcl-2 계열 단백질이 미토콘드리아 외부 막과 상호 작용하면 세포자멸사 단백질이 활성화된다(Ashkenazi et al., 2017; O'Neill et al., 2016). 반면에, 생리 · 병리학적 조건으로 인한 ER 스트레스는 염증 및 세포자멸사를 유발한다(Luna-Vargas and Chipuk, 2016; Meyerovich et al., 2016; Liu et al., 2017). ER 스트레스는 eIF2 α의 인산화를 통해 GRP78과 ATF4를 활성화하고 C/EBP 계열에 속하는 CHOP 유전자를 촉진하여 세포자멸사를 유도한다(Abdullah and Ravanan, 2018).

본 연구실의 연구결과는 첫째 당독소-수용체 축이 신장 근의 상피세포에서 ER 스트레스를 통해 세포자멸사를

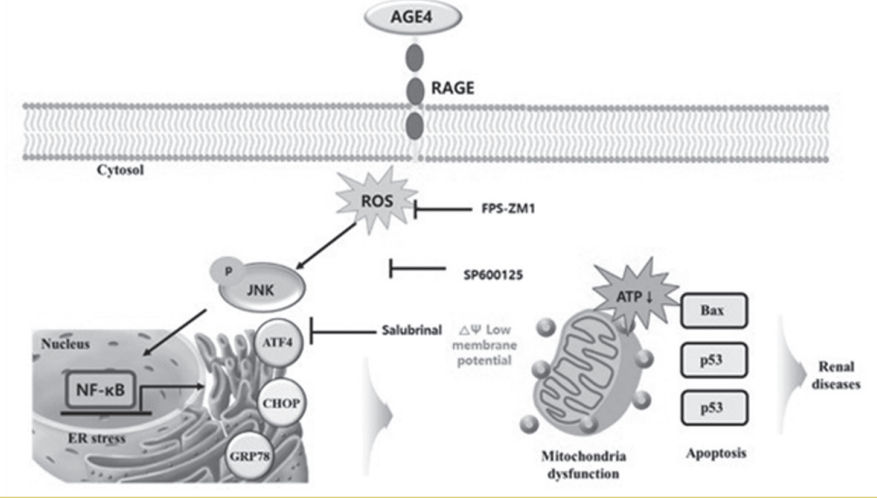

Figure 2. Proposed mechanism in which that AGE4 treatment causes apoptosis in kidney cells (source: Jeong et al., 2021).

유발할 수 있고, 둘째 ER과 미토콘드리아의 기능은 서로 연결되어, 당독소-수용체 축을 통한 JNK 신호 경로에 의해 신장 세포의 장애가 일어난다는 것을 보여준다(그림 2). 당뇨병성 신증에서 AGE-4가 ER 스트레스와 미토콘드리아 기능 장애를 유발하는 메커니즘을 이해하는 것은 새로운 치료 방법의 기초를 제공할 수 있다. 당독소의 한 종류인 AGE-4는 세포의 신장 세포사멸을 유발하기 때문에 AGE-4의 활성 성분을 규명하고 이를 바탕으로 하는 향후 연구는 당뇨병 합병증 치료에 이바지할 수 있을 것이다.

메틸글리옥살 유래 당독소(AGE-4)의 신장 세포암종(RCC, renal cell carcinoma)세포 RAGE/Akt/ERK 경로를 통한 세포증식 및 생존 촉진

많은 연구에 따르면 당독소는 신장 조직에 독성이 있어 신장 세포암종(RCC)를 비롯한 암에서 전이를 일으킨다(Bellier et al., 2019; Qie et al., 2015). 세포외기질(ECM, extracellular matrix) 리모델링과 비정상적인 세포증식을 통해 종양 형성을 하게 된다(Larsen et al, 2006). 당독소 AGE-4 처리로 인해 정상 인간 신장 근위상피 세포주 HK-2세포는 생존이 감소했지만, 인간 신장암 세포주(786-O 및 A498) 세포는 증식에 영향을 받지 않았다. 이런 이유는 정상 세포와 악성 세포 사이의 대사 경로 차이에 기인할 수 있다. Senavirathna et al. (2021)은 췌관 상피세포에 글리세르알데하이드를 처리하면 정상 세포(HPDE)와 암세포(PANC-1 및 MIA PaCa-2)에서 당독소 형성이 차이가 나며, HPDE 세포가 당독소의 영향에 더 민감함을 보고하였다. 아울러 암세포에서 당독소의 전구체인 메틸글리옥살을 해독하는 글리옥살분해효소(GLO 1, glyoxalase 1)의 발현 증가로 인해, PANC-1 암세포가 HPDE 정상 세포보다 당독소를 적게 형성한다고 제안했다. 암세포에서 증식 바이오마커인 PCNA 단백질 및 기질금속단백분해효소의 역할이 보고되었다(Weigel et al., 2012). 본 연구실은 메틸글리옥살 유래 당독소 AGE-4 처리가 신장 세포 암종 세포에서 증식 및 침윤 등을 통해 상처 치유과정을 촉진하고, PCNA 단백질 및 기질 금속단백분해효소인 MMP-2/-9 발현을 상향 조절하는 것을 관찰했다(Nam et al., 2021).

정상 세포에서는 산화 스트레스, DNA 손상, 성장인자의 손실 등의 세포 간 자극으로 인해 세포자멸사가 일어나는 반면, 종양세포에서는 세포자멸사가 조절되지 않아 비정상적인 성장을 한다(Evan and Vousden, 2001). 본 연구실의 실험에서 AGE-4는 종양 억제인자 p53, Bax, caspase3를 유의하게 하향조절하고 항-세포사멸 마커인 Bcl-2를 상향조절하였다(Nam et al., 2021). 이러한 결과는 AGE-4가 역으로 세포자멸사를 조절함으로써 RCC 세포증식을 촉진할 수 있다는 것을 보여준다. Akt 및 ERK 신호전달 경로는 다양한 암 과정, 특히 세포사멸 및 증식에 관여하며 이러한 신호전달 경로를 조절하는 것이 암 치료의 중요한 부분이 될 수 있다(Franke et

al., 2003; Cagnol and Chambard, 2010). 이전 연구에 따르면 Akt 경로는 세포 생존을 조절하고 인간의 암에서 중요한 역할을 한다(Franke et al., 2003). 또한 ERK 경로는 내인성 또는 외인성 세포 기능에 필수적이며 세포자멸사 및 증식을 조절한다(Cagnol and Chambard, 2010). 본 연구실은 AGE-4가 매개하는 항-세포자멸사 및 세포의 상처 치유가 Akt 및 ERK 신호전달 경로의 활성화로 일어남을 보여 보여주었다. 또한, PI3K/Akt 및 ERK 경로는 RCC 세포의 침입 및 이동을 조절하는 데 관여한다(Miricescu et al., 2021). ERK 억제제 PD98059 및 PI3K/Akt 억제제 LY294002는 AGE-4에 의해 자극된 786-O 및 A498 신장 암세포의 이동을 억제하여, AGE-4가 Akt 및 EKR 신호전달 경로를 통해 RCC에서 이동 및 항-세포자멸사를 유도하는데 관여를 하였다. 이전 연구에서는 MEK 억제제 AZD6244와 저용량의 항종양 시약으로 조합 처리한 일차 RCC 세포에서 세포자멸사를 유도하여 세포증식 감소 및 종양 성장 억제하였다(Yuen et al., 2012). 본 연구실은 AGE-4 치료가 RCC 세포에서 Akt 및 ERK 경로의 활성화로 세포증식, 이동 및 항-세포자멸사가 진행되는 것을 확인하였다. 하지만, AGE-4가 동물실험에서도 RCC 세포 성장을 촉진하는지와 RAGE, Akt 또는 ERK 신호전달의 특정 억제제가 이러한 신장의 종양 성장을 억제하는지를 확인하는 추가 연구가 필요하다.

ERK와 Akt의 활성화, 세포자멸사 억제, RCC의 세포증식에 대한 AGE-4의 영향은 당독소-수용체(AGE-4-RAGE) 축을 통해 조절될 수 있다. 암 환자와 건강한 개인의 RAGE 발현을 비교하는 연구는 우리가 아는 한 아직 수행되지 않았지만, Wu et al.(2018)는 30명의 환자로부터 수집된 RCC 조직 및 종양 주변의 쌍을 이루는 정상 신장 조직 시료에서 정상 조직보다 종양 조직에서 수용체 RAGE의 발현이 증가함을 보고하였다. 주목해야 할 점은 RAGE는 당독소뿐만 아니라 S100 단백질, High Mobility Group Box 1(HMGB1) 및 아밀로이드 β-펩타이드 등의 다중 리간드들과 결합 할 수 있는 수용체이고, 이 수용체를 통해 세포에 영향을 준다는 것이다(Tesarova et al., 2016). 당독소에 의해 생성된 활성산소종과 RAGE와의 상호작용은 HMB1 및 S100의 생성을 증가시킨다(Prasad, 2019). 따라서 본 연구실에서 AGE-4 처리로 RCC 세포의 증식 및 이동이 실제로는 HMB1 및 S100 생성의 증가로 인한 가능성도 배제할 수 없다. 50 μg/mL의 AGE-4 처리가 BSA 처리보다 유의하게 대식세포에서 ROS 함량을 증가시켰다(Yu et al., 2018). Wu et al.(2018)은 HMGB1 단백질이 RAGE 수용체와 상호작용하고 RCC 암의 발달과 혈관 신생에서 중요한 조절자로서 기능한다는 것을 보여주었다. 이런 이유로 HMGB1 및 S100 단백질, AGE-4를 포함한 다양한 리간드에 의한 RAGE의 활성화로 RCC 세포의 증식 및 이동을 증가시킬 수 있다는 것도 주목할 필요가 있다.

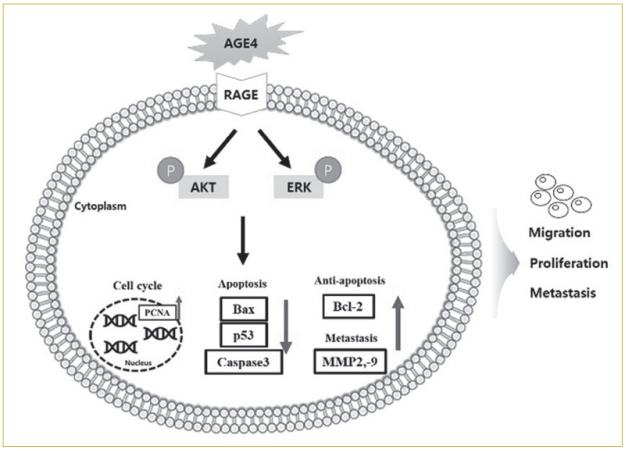

Figure 3. Proposed mechanism in which that AGE4 treatment causes cell migration and proliferation in renal cell carcinoma cells (source: Nam et al., 2021).

결론적으로, RAGE와 AGE-4의 상호작용이 신장 세포암종 RCC 세포의 증식 및 이동을 증가시키면서 동시에 ERK 및 Akt 신호전달 경로의 활성화 및 MMP-2/-9의 상향조절을 통해 RCC 세포사멸을 억제한다는 것을 보여준다(그림 3). 신장 세포암종에 대한 병리학적 기전과 AGE-4의 임상적 관련성을 결정하기 위해서는 더 많은 연구가 필요하다고 할 수 있다.

결론

당독소 AGE-4는 당독소-수용체 축(AGE-RAGE axis)을 통하여 활성화되는 신호전달 경로인 MAPK/JNK/ERK, NF-κB, Akt를 통해 신장 세포 기능 이상에 기여할 수 있음을 보여준다. 해당 당독소로 인한 신장 이상은 정상 신장 세포에서는 기질 금속단백분해효소의 활성화를 일으켜 신장섬유화를 유발할 가능성을 보여주었고, 미토콘드리아 기능 불균형과 ER 스트레스를 통해 신장 세포사멸을 초래했지만, 신장 세포암종 세포에서는 세포사멸 억제를 통한 세포의 증식을 가져왔다. 식품에서 생성되거나, 인체 내에서 생성되는 AGE-4 당독소로 인한 신장에 대한 독성작용은 신장 기능 장애를 이해하는 새로운 시각을 제공한다고 할 수 있다.

감사의 글

본 연구는 2021년도 고려대학교 연구개발비(K2121931)와 생명공학과 BK21 PLUS 프로그램의 지원으로 수행되었으며 이에 감사드립니다. 아울러 장비와 시설을 제공해준 고려대학교-CJ 식품생의학 연구소의 지원에 대해서도 감사드립니다.

참고 문헌

1. Abe, R. and Yamagishi, S.I., 2008. AGE-RAGE system and carcinogenesis. Current pharmaceutical design, 14(10), pp.940-945.

2. Abdullah, A. and Ravanan, P., 2018. Kaempferol mitigates endoplasmic reticulum stress induced cell death by targeting caspase 3/7. Scientific reports, 8(1), pp.1-15.

3. Ahmad, S., Dixit, K., Shahab, U., Alam, K. and Ali, A., 2011. Genotoxicity and immunogenicity of DNA-advanced glycation end products formed by methylglyoxal and lysine in presence of Cu2+. Biochemical and biophysical research communications, 407(3), pp.568-574.

4. Ahmad, S., Khan, H., Siddiqui, Z., Khan, M.Y., Rehman, S., Shahab, U., Godovikova, T. and Silnikov, V., 2018, April. AGEs, RAGEs and s-RAGE; friend or foe for cancer. In Seminars in cancer biology (Vol. 49, pp. 44-55). Academic Press.

5. Ahmed, N., 2005. Advanced glycation endproducts—role in pathology of diabetic complications. Diabetes research and clinical practice, 67(1), pp.3-21.

6. Ashkenazi, A., Fairbrother, W.J., Leverson, J.D. and Souers, A.J., 2017. From basic apoptosis discoveries to advanced selective BCL-2 family inhibitors. Nature reviews drug discovery, 16(4), pp.273-284.

7. Bellier, J., Nokin, M.J., Lardé, E., Karoyan, P., Peulen, O., Castronovo, V. and Bellahcène, A., 2019. Methylglyoxal, a potent inducer of AGEs, connects between diabetes and cancer. Diabetes research and clinical practice, 148, pp.200-211.

8. Bhat, S., Mary, S., Giri, A.P. and Kulkarni, M.J., 2017. Advanced glycation end products (AGEs) in diabetic complications. In Mechanisms of vascular defects in diabetes mellitus (pp. 423-449). Springer, Cham.

9. Bold, R.J., Termuhlen, P.M. and McConkey, D.J., 1997. Apoptosis, cancer and cancer therapy. Surgical oncology, 6(3), pp.133-142.

10. Burgos-Morón, E., Abad-Jiménez, Z., Martinez de Maranon, A., Iannantuoni, F., Escribano-López, I., López-Domènech, S., Salom, C., Jover, A., Mora, V., Roldan, I. and Solá, E., 2019. Relationship between oxidative stress, ER stress, and inflammation in type 2 diabetes: the battle continues. Journal of clinical medicine, 8(9), p.1385.

11. Byun, K., Yoo, Y., Son, M., Lee, J., Jeong, G.B., Park, Y.M., Salekdeh, G.H. and Lee, B., 2017. Advanced glycation end-products produced systemically and by macrophages: A common contributor to inflammation and degenerative diseases. Pharmacology & therapeutics, 177, pp.44-55.

12. Cagnol, S. and Chambard, J.C., 2010. ERK and cell death: mechanisms of ERK-induced cell death -

apoptosis, autophagy and senescence. The FEBS journal, 277(1), pp.2-21.

13. Chen, J., Jing, J., Yu, S., Song, M., Tan, H., Cui, B. and Huang, L., 2016. Advanced glycation endproducts induce apoptosis of endothelial progenitor cells by activating receptor RAGE and NADPH oxidase/JNK signaling axis. American journal of translational research, 8(5), p.2169-2178.

14. Dabestani, S., Thorstenson, A., Lindblad, P., Harmenberg, U., Ljungberg, B. and Lundstam, S., 2016. Renal cell carcinoma recurrences and metastases in primary non-metastatic patients: a population-based study. World journal of urology, 34(8), pp.1081-1086.

15. Dai, J., Chen, H., and Chai, Y., 2019. Advanced glycation end products (AGEs) induce apoptosis of fibroblasts by activation of NLRP3 inflammasome via reactive oxygen species (ROS) signaling pathway. Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research, 25, pp.7499-7508.

16. DeHart, D.N., Fang, D., Heslop, K., Li, L., Lemasters, J.J. and Maldonado, E.N., 2018. Opening of voltage dependent anion channels promotes reactive oxygen species generation, mitochondrial dysfunction and cell death in cancer cells. Biochemical pharmacology, 148, pp.155-162.

17. Del Pozo, C.H., Shekhtman, A., Ramasamy, R. and Schmidt, A.M., 2017. The receptor for advanced glycation end products: Mechanism and therapeutic opportunities in obesity and diabetes. Enzymology and metabolism journal, 2(1), pp.1-10.

18. Deng, R., Mo, F., Chang, B., Zhang, Q., Ran, H., Yang, S., Zhu, Z., Hu, L. and Su, Q., 2017. Glucose-derived AGEs enhance human gastric cancer metastasis through RAGE/ERK/Sp1/MMP2 cascade. Oncotarget, 8(61), p.104216.

19. Ding, Y., Xie, Q., Liu, W., Pan, Z., Fan, X., Chen, X., Li, M., Zhao, W., Li, D. and Zheng, Q., 2020. Neochamaejasmin A induces mitochondrial-mediated apoptosis in human hepatoma cells via ROS-dependent activation of the ERK1/2/JNK signaling pathway. Oxidative medicine and cellular longevity, 2020.

20. Evan, G.I. and Vousden, K.H., 2001. Proliferation, cell cycle and apoptosis in cancer. Nature, 411(6835), pp.342-348.

21. Franke, T.F., Hornik, C.P., Segev, L., Shostak, G.A. and Sugimoto, C., 2003. PI3K/Akt and apoptosis: size matters. Oncogene, 22(56), pp.8983-8998.

22. Gobé, G., Rubin, M., Williams, G., Sawczuk, I. and Buttyan, R., 2002. Apoptosis and expression of Bcl-2, Bcl-XL, and Bax in renal cell carcinomas. Cancer investigation, 20(3), pp.324-332.

23. Goh, S.Y. and Cooper, M.E., 2008. The role of advanced glycation end products in progression and complications of diabetes. Journal of clinical endocrinology & metabolism, 93(4), pp.1143-1152.

24. Ha, Y.M., Chun, S.H., Hong, S.T., Koo, Y.C., Choi, H.D. and Lee, K.W., 2013. Immune enhancing effect of a Maillard-type lysozyme-galactomannan conjugate via signaling pathways. International journal of biological macromolecules, 60, pp.399-404.

25. Jan, R., 2019. Understanding apoptosis and apoptotic pathways targeted cancer therapeutics. Advanced pharmaceutical bulletin, 9(2), p.205.

26. Jeong, S.R., Park, H.Y., Kim, Y. and Lee, K.W., 2020. Methylglyoxal-derived advanced glycation end products induce matrix metalloproteinases through activation of ERK/JNK/NF-κB pathway in kidney proximal epithelial cells. Food science and biotechnology, 29(5), pp.675-682.

27. Jeong, S.R. and Lee, K.W., 2021. Methylglyoxal-Derived Advanced Glycation End Product (AGE4)-Induced Apoptosis Leads to Mitochondrial Dysfunction and Endoplasmic Reticulum Stress through the RAGE/JNK Pathway in Kidney Cells. International journal of molecular sciences, 22(12), p.6530.

28. Kanwar, Y.S., Sun, L., Xie, P., Liu, F.Y. and Chen, S., 2011. A glimpse of various pathogenetic mechanisms of diabetic nephropathy. Annual review of pathology: Mechanisms of disease, 6, pp.395-423.

29. Klapper, J.A., Downey, S.G., Smith, F.O., Yang, J.C., Hughes, M.S., Kammula, U.S., Sherry, R.M., Royal, R.E., Steinberg, S.M. and Rosenberg, S., 2008. High-dose interleukin-2 for the treatment of metastatic renal

cell carcinoma: a retrospective analysis of response and survival in patients treated in the surgery branch at the National Cancer Institute between 1986 and 2006. Cancer, 113(2), pp.293-301.

30. Klein, G., Vellenga, E., Fraaije, M.W., Kamps, W.A. and De Bont, E.S.J.M., 2004. The possible role of matrix metalloproteinase (MMP)-2 and MMP-9 in cancer, eg acute leukemia. Critical reviews in oncology/hematology, 50(2), pp.87-100.

31. Kold-Christensen, R. and Johannsen, M., 2020. Methylglyoxal metabolism and aging-related disease: moving from correlation toward causation. Trends in endocrinology & metabolism, 31(2), pp.81-92.

32. Larsen, M., Artym, V.V., Green, J.A. and Yamada, K.M., 2006. The matrix reorganized: extracellular matrix remodeling and integrin signaling. Current opinion in cell biology, 18(5), pp.463-471.

33. Linden, E., Cai, W., He, J.C., Xue, C., Li, Z., Winston, J., Vlassara, H. and Uribarri, J., 2008. Endothelial dysfunction in patients with chronic kidney disease results from advanced glycation end products (AGE)-mediated inhibition of endothelial nitric oxide synthase through RAGE activation. Clinical journal of the american society of nephrology, 3(3), pp.691-698.

34. Liu, Z., Gu, H., Gan, L., Xu, Y., Feng, F., Saeed, M. and Sun, C., 2017. Reducing Smad3/ATF4 was essential for Sirt1 inhibiting ER stress-induced apoptosis in mice brown adipose tissue. Oncotarget, 8(6), p.9267.

35. Luna-Vargas, M.P. and Chipuk, J.E., 2016. The deadly landscape of pro-apoptotic BCL-2 proteins in the outer mitochondrial membrane. The FEBS journal, 283(14), pp.2676-2689.

36. Mao, Y.X., Cai, W.J., Sun, X.Y., Dai, P.P., Li, X.M., Wang, Q., Huang, X.L., He, B., Wang, P.P., Wu, G. and Ma, J.F., 2018. RAGE-dependent mitochondria pathway: a novel target of silibinin against apoptosis of osteoblastic cells induced by advanced glycation end products. Cell death & disease, 9(6), pp.1-14.

37. Meyerovich, K., Ortis, F., Allagnat, F. and Cardozo, A.K., 2016. Endoplasmic reticulum stress and the unfolded protein response in pancreatic islet inflammation. Journal of molecular endocrinology, 57(1), pp.R1-R17.

38. Miricescu, D., Balan, D.G., Tulin, A., Stiru, O., Vacaroiu, I.A., Mihai, D.A., Popa, C.C., Papacocea, R.I., Enyedi, M., Sorin, N.A. and Vatachki, G., 2021. PI3K/AKT/mTOR signalling pathway involvement in renal cell carcinoma pathogenesis. Experimental and therapeutic Medicine, 21(5), pp.1-7.

39. Moldogazieva, N.T., Mokhosoev, I.M., Mel'nikova, T.I., Porozov, Y.B. and Terentiev, A.A., 2019. Oxidative stress and advanced lipoxidation and glycation end products (ALEs and AGEs) in aging and age-related diseases. Oxidative medicine and cellular longevity, 2019.

40. Neumeister, P., Pixley, F.J., Xiong, Y., Xie, H., Wu, K., Ashton, A., Cammer, M., Chan, A., Symons, M., Stanley, E.R. and Pestell, R.G., 2003. Cyclin D1 governs adhesion and motility of macrophages. Molecular biology of the cell, 14(5), pp.2005-2015.

41. Nam, H.K., Jeong, S.R., Pyo, M.C., Ha, S.K., Nam, M.H. and Lee, K.W., 2021. Methylglyoxal-Derived Advanced Glycation End Products (AGE4) Promote Cell Proliferation and Survival in Renal Cell Carcinoma Cells through the RAGE/Akt/ERK Signaling Pathways. Biological and pharmaceutical bulletin, 44(11), pp.1697-1706.

42. Newsholme, P., Cruzat, V.F., Keane, K.N., Carlessi, R. and de Bittencourt Jr, P.I.H., 2016. Molecular mechanisms of ROS production and oxidative stress in diabetes. Biochemical journal, 473(24), pp.4527-4550.

43. O'Neill, K.L., Huang, K., Zhang, J., Chen, Y. and Luo, X., 2016. Inactivation of prosurvival Bcl-2 proteins activates Bax/Bak through the outer mitochondrial membrane. Genes & development, 30(8), pp.973-988.

44. Pantuck, A.J., Zisman, A. and Belldegrun, A.S., 2001. The changing natural history of renal cell carcinoma. Journal of urology, 166(5), pp.1611-1623.

45. Prasad, K., 2019. AGE-RAGE stress: A changing landscape in pathology and treatment of Alzheimer's disease. Molecular and cellular biochemistry, 459(1), pp.95-112.

46. Pyo, M.C., Yang, S.Y., Chun, S.H., Oh, N.S. and Lee, K.W., 2016. Protective effects of Maillard reaction products of whey protein concentrate against oxidative stress through an Nrf2-dependent pathway in HepG2

cells. Biological and pharmaceutical bulletin, pp.b16-00029.

47. Qie, G.Q., Wang, C.T., Chu, Y.F. and Wang, R., 2015. Expression of HMGB1/RAGE protein in renal carcinoma and its clinical significance. International journal of clinical and experimental pathology, 8(6), p.6262.

48. Rabbani, N. and Thornalley, P.J., 2014. The critical role of methylglyoxal and glyoxalase 1 in diabetic nephropathy. Diabetes, 63(1), pp.50-52.

49. Rabbani, N., Xue, M. and Thornalley, P.J., 2016. Dicarbonyls and glyoxalase in disease mechanisms and clinical therapeutics. Glycoconjugate journal, 33(4), pp.513-525.

50. Rabbani, N. and Thornalley, P.J., 2018. Advanced glycation end products in the pathogenesis of chronic kidney disease. Kidney international, 93(4), pp.803-813.

51. Rhee, S.Y. and Kim, Y.S., 2018. The role of advanced glycation end products in diabetic vascular complications. Diabetes & metabolism journal, 42(3), pp.188-195.

52. Rodrigues, L., Matafome, P., Crisóstomo, J., Santos-Silva, D., Sena, C., Pereira, P. and Seiça, R., 2014. Advanced glycation end products and diabetic nephropathy: a comparative study using diabetic and normal rats with methylglyoxal-induced glycation. Journal of physiology and biochemistry, 70(1), pp.173-184.

53. Senavirathna, L., Ma, C., Chen, R. and Pan, S., 2021. Proteomic Investigation of Glyceraldehyde-Derived Intracellular AGEs and Their Potential Influence on Pancreatic Ductal Cells. Cells, 10(5), p.1005.

54. Sharaf, H., Matou-Nasri, S., Wang, Q., Rabhan, Z., Al-Eidi, H., Al Abdulrahman, A. and Ahmed, N., 2015. Advanced glycation endproducts increase proliferation, migration and invasion of the breast cancer cell line MDA-MB-231. Biochimica et biophysica acta (BBA)-Molecular Basis of Disease, 1852(3), pp.429-441.

55. Shi, L., Yu, X., Yang, H. and Wu, X., 2013. Advanced glycation end products induce human corneal epithelial cells apoptosis through generation of reactive oxygen species and activation of JNK and p38 MAPK pathways. PloS one, 8(6), p.e66781.

56. Singh, J., Chaudhari, B.P. and Kakkar, P., 2017. Baicalin and chrysin mixture imparts cyto-protection against methylglyoxal induced cytotoxicity and diabetic tubular injury by modulating RAGE, oxidative stress and inflammation. Environmental toxicology and pharmacology, 50, pp.67-75.

57. Son, W.R., Nam, M.H., Hong, C.O., Kim, Y. and Lee, K.W., 2017. Plantamajoside from Plantago asiatica modulates human umbilical vein endothelial cell dysfunction by glyceraldehyde-induced AGEs via MAPK/NF-κB. BMC complementary and alternative medicine, 17(1), pp.1-12.

58. Sparvero, L.J., Asafu-Adjei, D., Kang, R., Tang, D., Amin, N., Im, J., Rutledge, R., Lin, B., Amoscato, A.A., Zeh, H.J. and Lotze, M.T., 2009. RAGE (Receptor for Advanced Glycation Endproducts), RAGE ligands, and their role in cancer and inflammation. Journal of translational medicine, 7(1), pp.1-21.

59. Spinelli, J.B. and Haigis, M.C., 2018. The multifaceted contributions of mitochondria to cellular metabolism. Nature cell biology, 20(7), pp.745-754.

60. Stitt, A.W., 2001. Advanced glycation: an important pathological event in diabetic and age related ocular disease. British journal of ophthalmology, 85(6), pp.746-753.

61. Su, S.C., Hung, Y.J., Huang, C.L., Shieh, Y.S., Chien, C.Y., Chiang, C.F., Liu, J.S., Lu, C.H., Hsieh, C.H., Lin, C.M. and Lee, C.H., 2019. Cilostazol inhibits hyperglucose-induced vascular smooth muscle cell dysfunction by modulating the RAGE/ERK/NF-κB signaling pathways. Journal of biomedical science, 26(1), pp.1-13.

62. Sun, C., Liang, C., Ren, Y., Zhen, Y., He, Z., Wang, H., Tan, H., Pan, X. and Wu, Z., 2009. Advanced glycation end products depress function of endothelial progenitor cells via p38 and ERK 1/2 mitogen-activated protein kinase pathways. Basic research in cardiology, 104(1), pp.42-49.

63. Takeuchi, M., Makita, Z., Bucala, R., Suzuki, T., Koike, T. and Kameda, Y., 2000. Immunological evidence that non-carboxymethyllysine advanced glycation end-products are produced from short chain sugars and dicarbonyl compounds in vivo. Molecular medicine, 6(2), pp.114-125.

64. Takeuchi, M., Yanase, Y., Matsuura, N., Yamagishi, S.I., Kameda, Y., Bucala, R. and Makita, Z., 2001. Immunological detection of a novel advanced glycation end-product. Molecular medicine, 7(11), pp.783-791.

65. Takeuchi, M., Kikuchi, S., Sasaki, N., Suzuki, T., Watai, T., Iwaki, M., Bucala, R. and Yamagishi, S.I., 2004. Involvement of advanced glycation end-products (AGEs) in Alzheimer's disease. Current alzheimer research, 1(1), pp.39-46.

66. Tesarova, P., Kalousova, M., Zima, T. and Tesarc, V., 2016. HMGB1, S100 proteins and other RAGE ligands in cancer-markers, mediators and putative therapeutic targets. Biomedical Papers of the Medical Faculty of Palacky University in Olomouc, 160(1).

67. Thilavech, T., Abeywardena, M.Y., Dallimore, J., Adams, M. and Adisakwattana, S., 2018. Cyanidin-3-rutinoside alleviates methylglyoxal-induced cardiovascular abnormalities in the rat. Journal of functional foods, 49, pp.258-266.

68. Vlassara, H. and Uribarri, J., 2014. Advanced glycation end products (AGE) and diabetes: cause, effect, or both?. Current diabetes reports, 14(1), pp.1-10.

69. Wang, S., Ren, X., Hu, X., Zhou, L., Zhang, C. and Zhang, M., 2019. Cadmium-induced apoptosis through reactive oxygen species-mediated mitochondrial oxidative stress and the JNK signaling pathway in TM3 cells, a model of mouse Leydig cells. Toxicology and applied pharmacology, 368, pp.37-48.

70. Weigel, M.T., Krämer, J., Schem, C., Wenners, A., Alkatout, I., Jonat, W., Maass, N. and Mundhenke, C., 2012. Differential expression of MMP-2, MMP-9 and PCNA in endometriosis and endometrial carcinoma. European journal of obstetrics & gynecology and reproductive biology, 160(1), pp.74-78.

71. Wu, C.Z., Zheng, J.J., Bai, Y.H., Xia, P., Zhang, H.C. and Guo, Y., 2018. HMGB1/RAGE axis mediates the apoptosis, invasion, autophagy, and angiogenesis of the renal cell carcinoma. Oncotargets and therapy, 11, p.4501.

72. Xu, W., Zhang, X., Wu, J.L., Fu, L., Liu, K., Liu, D., Chen, G.G., Bo-san Lai, P., Wong, N. and Yu, J., 2017. O-GlcNAc transferase promotes fatty liver-associated liver cancer through inducing palmitic acid and activating endoplasmic reticulum stress. Journal of hepatology, 67(2), pp.310-320.

73. Xue, J., Ray, R., Singer, D., Böhme, D., Burz, D.S., Rai, V., Hoffmann, R. and Shekhtman, A., 2014. The receptor for advanced glycation end products (RAGE) specifically recognizes methylglyoxal-derived AGEs. Biochemistry, 53(20), pp.3327-3335.

74. Yu, L., Zhang, Y., Zhang, H. and Li, Y., 2017. SOCS3 overexpression inhibits advanced glycation end product-induced EMT in proximal tubule epithelial cells. Experimental and therapeutic medicine, 13(6), pp.3109-3115.

75. Yu, W., Hu, X. and Wang, M., 2018. Pterostilbene inhibited advanced glycation end products (AGEs)-induced oxidative stress and inflammation by regulation of RAGE/MAPK/NF-κB in RAW264. 7 cells. Journal of functional foods, 40, pp.272-279.

76. Yua, Y., Wang, L., Delguste, F., Durand, A., Guilbaud, A., Rousselin, C., Schmidt, A.M., Tessier, F., Boulanger, E. and Neviere, R., 2017. Advanced glycation end products receptor RAGE controls myocardial dysfunction and oxidative stress in high-fat fed mice by sustaining mitochondrial dynamics and autophagy-lysosome pathway. Free radical biology and medicine, 112, pp.397-410.

77. Yuen, J.S.P., Sim, M.Y., Sim, H.G., Chong, T.W., Lau, W.K.O., Cheng, C.W.S., Ong, R.W. and Huynh, H., 2012. Combination of the ERK inhibitor AZD6244 and low-dose sorafenib in a xenograft model of human renal cell carcinoma. International journal of oncology, 41(2), pp.712-720.

78. Zhang, Q., Ames, J.M., Smith, R.D., Baynes, J.W. and Metz, T.O., 2009. A perspective on the Maillard reaction and the analysis of protein glycation by mass spectrometry: probing the pathogenesis of chronic disease. Journal of proteome research, 8(2), pp.754-769.

79. Zhu, P., Ren, M., Yang, C., Hu, Y.X., Ran, J.M. and Yan, L., 2012. Involvement of RAGE, MAPK and NF-κB pathways in AGEs-induced MMP-9 activation in HaCaT keratinocytes. Experimental dermatology, 21(2), pp.123-129.