啓明醫大學術誌 第28券 1號
Keimyung Med J
Vol. 28, No. 1, June, 2009

Cisplatin에 의해 유도된 신장 손상시의 유전자 발현

계명대학교 신장연구소

백철민 · 곽춘식 · 하은영 · 김여희 · 최혜정 · 황은아 · 박성배 · 김현철 · 문교철

Gene Expression in the Renal Damage Induced by Cisplatin

Chul Min Baek, M.D., Chun Sik Kwak, Ph.D., Eunyoung Ha, M.D.,
You Hee Kim, M.D., Hye Jung Choi, Ph.D., Eun A Hwang, M.D.,
Sung Bae Park, M.D., Hyun Chul Kim, M.D., Kyo Cheol Mun, M.D.

Dongsan Kidney Institute, Keimyung University,
Daegu, Korea

Abstract : Cisplatin, an antitumor agent widely used in the treatment of a variety of human solid tumors, has nephrotoxicity. To understand the mechanism for the nephrotoxicity, the gene expression patterns of renal tissues were measured. Sprague-Dawley rats received a single intraperitoneal injection of 8 mg/kg of cisplatin and sacrificed 6 days after cisplatin injection. The genes showed significant changes in expression are 111 genes, are associated with a broad range of functional activities, including apoptosis, cell cycle, cell growth/maintenance, immunoresponse, response to stress, signal transduction, transcription, and metabolism. The expression of the fifty two genes was increased, and that of fifty nine genes was decreased. Especially, the expression of the genes associated with apoptosis such as Spp1, Tubb5, Hmox1 and Clu was increased. And the expression of the genes associated with cell cycle such as Pttg1, Ccng1 and Anxa1 was also increasd. These results suggest that cisplatin induce nephrotoxicity by the changes of gene expression involved in apoptosis and cell cycle.

Key Words : Cisplatin, Gene expression, Renal Damage

교신저자: 문교철, 700-712 대구광역시 중구 달성로 216, 계명대학교 의과대학 생화학교실
Kyo Cheol Mun, M.D., Dongsan kidney Institute, Keimyung University
216, Dalseongno, Jung-gu, Daegu, 700-712 KOREA
Tel: +82-53-250-7786 E-mail: mun@dsmc.or.kr

서 론

Cisplatin(cis-diamminedichloroplatinum II)은 각종 고형암 특히 고환, 방광 및 전립선암에 널리 사용되는 항암제이나, 신장 기능 손상, 위장관 장애, 골수 장애, 신경 장애 등의 부작용이 있어 그 사용이 제한되고 있다[1-4]. 이러한 cisplatin에 의한 부작용 중 신장 기능 손상에 대해서는 그 기전이 약간 밝혀져 있기는 하나 명확하지는 않다. 현재 추정하고 있는 cisplatin에 의한 신장 기능 손상 기전은 cisplatin에 의한 지질 과산화의 촉진, 효소 불활성화, 세포 내 비효소적 및 효소적 항산화 방어 체계의 변화와 glutathione 상태의 변화 등으로 인한 산화적 손상의 초래이며[5-10], 또 다른 기전으로는 cisplatin에 의한 DNA 합성의 억제인 것으로 알려져 있으며 이러한 결과로 신장 세포에서는 특이적으로 발현하는 mRNA 발현의 변화를 초래하게 된다[11].

일반적으로 신장 기능 검사로 혈중요소질소(BUN) 혹은 혈청 크레아티닌 수치를 확인하지만, 이러한 표지자의 혈중 농도가 증가했을 때는 이미 신장 손상이 상당히 진행된 상태로 임상적으로 신장 손상을 평가하기엔 민감도가 매우 낮다[12]. 신장 손상이 초래되면 손상된 신장에서 일부 유전자의 발현 변화가 있는 것으로 알려져 있다[13].

최근 신독성과 관련된 유전자 발현 변화를 동정할 수 있는 새로운 기술인 microarray-based gene 기법이 개발되었다. Microarray 방법은 1995년에 소개되었으며[14], 발생[15], 질병[16-18] 및 약물 노출[19,20]과 관련된 전반전인 유전자 발현 변화를 조사할 수 있는 유용한 방법이다. 이 기법은 수천 개의 유전자를 동시에 검색할 수 있는 분자학적인 기술이며, 대규모 유전자 발현 분석에 의한 생물학적 원리 규명의 가장 강력한 수단이다. 따라서 microarray 분석법은 유전자 수준에서 약물의 효과와 약물 대사기전을 밝힐 수 있으며, 나아가 임상적 진단 검사에 응용될 수 있다.

이 연구는 cisplatin에 의해 손상된 신장에서 발현되는 유전자 변화를 알아보기 위하여 cisplatin을 투여한 흰쥐의 신장에 대해 cDNA microarray를 시행하여 유전자 발현의 변화를 조사하였다.

재료 및 방법

1. 동물 및 처치

동물은 4주 이상 같은 조건으로 사육한 체중 320—360 g이 되는 Sprague-Dawley종의 숫 흰쥐를 사용하였으며 2 군으로 나누어 실험하였다. 대조군은 총 5 마리로 쥐를 12시간 금식시킨 후, 5% ethanolic saline 용액 4 mL와 생리식염수 1 mL을 복강내로 주입하고, 72 시간 후 5% ethanolic saline 용액을 다시 4 mL 주사한 다음, 최초 주사 후 6일에 쥐를 희생시켜 신장을 적출한 후 각종 측정 시료로 사용하였다. Cisplatin 투여군은 동물 실험 종료까지 생존한 총 5 마리로 Rybak 등[2]의 방법에 따라 쥐를 12시간 금식시킨 후, 5% ethanolic saline 용액 4 mL과, 체중 kg당 8 mg의 cisplatin(Sigma, St. Louis, MO, 미국)을 생리 식염수 1 mL에 녹여 복강내로 주입하였다. 최초 주사 72시간에 다시 5% ethanolic saline 4 mL을 주사하였으며, 최초 주사 6일에 쥐를 희생시켜 신장을 적출한 후 각종 측정 시료로 사용하였다. 각 실험군은 개별 분리 수용하였으며, 실험 전후에 일정한 조건으로 사육하였다. 사료는 시판되는 삼양유지사료주식회사 제품인 실험동물 사료를 물과 함께 자유로이 먹도록 하였다.

2. 시료채취

혈액 및 신장의 채취는 가벼운 ether 마취하에서 시행하였으며, 복부대동맥으로부터 혈액을 채취하여 쥐를 실혈사시키고, 신장을 적출하였다. 채혈한 혈액은 실온에서 30분간 방치한 후, 3,000 rpm으로 10분간 원심분리하여 혈청을 얻어 측정용 시료로 사용하였다. 적출한 신장은 RNA를 분리하기 전까지 액체질소에 보관하였다.

3. RNA 분리

신장 조직 50 mg을 1 mL의 RNAzol™B 용액(Biotech Laboratory, Houston, TX, 미국)으로 균질화시킨 후, 0.2 mL의 chloroform을 가하여 실온에 5분간 방치한 다음 15초간 혼합하여 실온에서 10분간 방치하였다. 균질액은 4℃에서 12,000 × g (average relative centrifugal force)로 15분간 원심분리하여 유기용매층의 DNA와 변성된 단백질을 제거하고, 수용액층의 RNA를 얻었다. 1/10배의 7.5 mol/L sodium acetate를 가하고, 동량의 isopropanol을 첨가하여 실온에서 10분간 방치한 후, 12,000 × g로 15분간 원심분리하여 RNA를 침전시켰다. 침전된 RNA에 75% ethanol 1 mL을 가한 뒤 교반기로 혼합한 후, 7,500 × g로 5분간 원심분리하여 RNA를 세척한 다음 5분간 자연건조시켰다. 건조된 RNA를 RNase-free water로 녹인 후, 정량하여 시료로 사용하였다.

4. Microarray

cDNA microarray는 디지털지노믹스(주)사(서울, 한국)에 의뢰하였다. 즉, 20 ㎍의 RNA에 2 ㎕의 oligo(dT) primer(0.5 ㎍/㎕)를 첨가하고 RNase-free water로 최종 31 ㎕로 맞추어 잘 혼합한 뒤 70℃에서 10분간 반응시킨 후, 얼음으로 1분간 식히고 7,500 × g로 5분간 원심분리하여 RNA 혼합액을 얻었다. RNA 혼합액에 5 × first stand buffer 10 ㎕, 0.1 mol/L DTT 5 ㎕, Rnasin 1 ㎕, 50 × aminoallyl-dNTP mix 1 ㎕, SuperScript II(200 U/㎕) 2 ㎕를 첨가하여 42℃에서 1시간 반응시켰다. RNA 혼합액에 1 mol/L NaOH 16.5 ㎕와 0.5 mol/L EDTA 16.5 ㎕를 첨가하여 잘 섞은 다음 65℃에서 15분간 RNA를 가수분해하고, 1 mol/L HCl 16.5 ㎕를 가하여 중화시켰다. cDNA 반응액을 Microcon YM-30 (Millipore, Bedford, MA, 미국)로 정제하여 cDNA를 얻고 곧 진공으로 건조하였다. 건조된 cDNA는 증류수와 1 mol/L sodium carbonate buffer로 녹인 후, NHS-ester Cy dye 2 ㎕를 첨가하여 실온의 암실에서 1시간동안 반응시켰다. 반응액을 QIAquick PCR purification kit로 정제한 다음 진공으로 건조하였다. 건조된 시료를 hybridization buffer 220 ㎕로 녹인 후, 95℃에서 5분간 끓인 다음 30초 동안 침강시켰다. Hybridization chamber에 slide (GenePlorer TwinChip Rat-5K, 디지털지노믹스(주), 한국)를 놓고 slide 표면 위의 표식된 지점에 시료를 점적한 후, coverslip으로 덮어 42℃에서 16시간 반응시켰다. Hybridization된 slide는 세척한 다음 건조시켜 Scanarray Lite(PerkinElmer Life Science, Billerica, MA, 미국) 장치와 GenePix Pro 3.0 프로그램을 이용하여 스캔하였다.

성 적

1. 신장조직의 유전자 발현 변화

Cisplatin 8 mg/kg/day을 투여한 후, 신장에서의 유전자 발현 변화를 4,800개의 유전자가 집적된 칩을 사용하여 분석하였다. 유전자 발현 변화는 2배 이상 또는 0.5배 이하의 값을 나타내는 유전자를 선정하였다. Fig. 1은 Cy5 염색(cisplatin 투여군)에 의한 signal(붉은색)과 Cy3 염색(대조군)에 의한 signal(녹색)을 중첩한 그림으로, 유전자 발현이 증가했을 때는 붉은색을, 유전자 발현 감소했을 때는 녹색을 나타내었다. 노란색은 변화가 없음을 나타내며, scanner의 값을 초과했을 때는 하얀색을 나타내었다. Cisplatin을 투여한 군과 대조군의 신장 조직에서 발현된 유전자는 총 4,800개의 유전자가 점적된 cDNA 칩에서 266(15.6%)개의 유전자가 발현되었다. Table. 1은 발현이 증가 또는 감소된 유전자를 세포자멸, 세포주기, 세포성장/유지, 면역반응, 스트레스반응, 신호전달, 전사, 대사 및 기타의 9개의 기능적인 범주로 분류하였다. 발현된 유전자 중 2배 또는 0.5배 이하로 발현된 유전자는 111(41.7%)개로 (Table. 1), 52개의 유전자는 발현이 증가하였으며, 59개의 유전자는 발현이 감소하였다. Table. 2와 3은 발현이 증가된 유전자와 감소된 유전자의 이름과 상대적인 발현 비율을 수치화하여 각각 나타낸 것이다. 특히, 세포자멸에 관

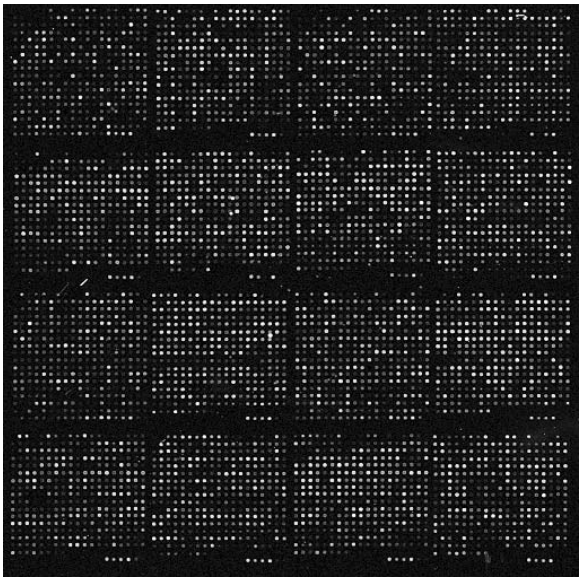

Fig. 1. Scanned images of cDNA microarray of kidney in cisplatin treated rats.

Table 1. Functional classification of up- or down-regulated genes of kidney in cisplatin treated rats

Category	Up-regulated genes	Down-regulated genes
Apoptosis	4	-
Cell cycle	3	-
Cell growth/Maintenance	3	6
Immune response	2	1
Response to stress	1	1
Signal transduction	4	3
Transcription	3	1
Metabolism	5	15
Others	27	32
Total	52	59

The genes were selected as significant when the ratio of mRNA levels were more than 2.0 or less than 0.5 in the cDNA microarray analysis.

련된 유전자인 Spp1(5.21배), Tubb5(3.57배), Hmox1(2.76배) 및 Clu(2.07배)와 세포주기에 관련된 유전자인 Pttg1(4.06배), Ccng1(2.25배) 및 Anxa1(2.03배)의 발현이 증가하였다. 세포 성장/유지와 관련된 Slc4a4(3.14배), Gap43(2.41배) 및 Arf6(2.18배)가 발현이 증가하였고, Syp(0.49배), Bmp4(0.45배), Cltb(0.44배), Rbp4(0.31배), Igfbp3(0.24배) 및 Gc(0.19배)는 발현이 감소하였다. 그리고, 면역반응에 관련된 유전자인 Tmsb4x(2.28배)와 RT1-M3(2.08배)는 발현이 증가하였고, Gm1960(0.40배)은 감소하였다. Fgb와 Cryab는 스트레스 반응에 관련된 유전자로 각각 3.62배와 0.28배 발현하였다. 신호전달과 전사에 관련된 유전자는 각각 4개(2.03-2.63배)와 3개(2.22-5.60배)가 증가하였고, 3개(0.34-0.47배)와 1개(0.37배)는 발현이 감소하였다. 그리고, 대사에 관련된 유전자는 5개(2.07-6.04배)가 증가하였고, 15개(0.37-0.48배)는 감소하였다.

고 찰

Cisplatin은 여러 동물종[21-23] 뿐만 아니라 환자[24,25]에 대해서 신독성을 나타내어 그 사용이 제한되고 있다. Cisplatin에 의해 신장 손상이 초래되면 손상된 신장에서 일부 유전자의 발현변화가 있는 것으로 알려져 있다[13]. 이 연구는 cisplatin에 의한 신장 손상시 유전자 발현 변화를 확인하기 위하여 수행하였다.

이 연구에서는 cisplatin에 의한 유전자 발현을 cDNA microarray 분석법으로 탐색하여 발현이 증가 또는 감소된 유전자를 세포자멸, 세포주기, 세포성장/유지, 면역반응, 스트레스 반응, 신호전달, 전사, 대사 및 기타의 9가지 범주로 분류하였다. 이러한 유전자들은 cisplatin의 독성 기전(세포자멸과 세포주기) 및 이차적인 반응(염증반응, 내성반응 및 조직 재생)과 관련될 수 있다. Cisplatin의 독성 기전은 DNA 합성 저해[11], 산화적 손상[6]과 칼슘 농도의 불균형[26]에 의해 이루어지는 것으로 알려져 있으며 이러한 변화는 신장세포의 자멸

Table 2. Up-regulated genes profile of kidney in cisplatin treated rats

(Category) Gene name	Chromosomal position	GenBank. ACC. NO.	Fold
(Apoptosis)			
Clusterin (Clu)	15p12	AA818413	2.07
Heme oxygenase (decycling) 1 (Hmox 1)	19p11	AA874884	2.76
Tubulin, beta 5 (Tubb5)	20p12	AA858888	3.57
Secreted phosphoprotein 1 (Spp1)	14p22	AA964431	5.21
(Cell cycle)			
Annexin A 1 (Anxa1)	1q51	AA964960	2.03
Cyclin G 1 (Ccng1)	10q12	AA925280	2.25
Pituitary tumor-transforming 1 (Pttg1)	10q21	AA899221	4.06
(Cell growth and maintenance)			
ADP-ribosylation factor 6 (Arf6)	6q24	AA923862	2.18
Growth associated protein 43 (Gap43)	11q21	AI043649	2.41
Solute carrier family 4, member 4 (Slc4a4)	14p22	AI144995	3.14
(Immuno response)			
RT1 class Ib, locus M3 (RT1-M3)	20p12	AI144896	2.08
Thymosin beta-4 (Tmsb4x)	Xq31	AA819102	2.28
(Response to stress)			
Fibrinogen, B beta polypeptide (Fgb)	2q31-q34	AI071033	3.62
(Signal transduction)			
Regulator of G-protein signaling protein 2 (Rgs2)	13q21	AA858950	2.03
Chimerin (chimaerin) 1 (Chn1)	3q23	AA964207	2.08
Luteinizing hormone/choriogonadotropin receptor (Lhcgr)	6q120	AI059739	2.27
LIM motif-containing protein kinase 2 (Limk2)	14q21	AI058790	2.62
(Transcription)			
Transcription elongation factor B (SIII), polypeptide 3 (Tceb3)	5q36	AA818727	2.24
V-maf musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene family, protein B (avian) (Mafb)	3q42	AA819244	2.24
Kruppel-like factor 3 (basic) (Klf3)	14p11	AA818963	5.60
(Metabolism)			
Epoxide hydrolase 1 (Ephx1)	13q26	AA900551	2.07
Protein-L-isoaspartate (D-aspartate) O-methyltransfer- ase 1 (Pcmt1)	6	AA900413	2.20
Zinc finger protein 265 (Zfp265)	2q45	AA964576	2.22
Acyl-Coenzyme A dehydrogenase, short/branched chain (Acadsb)	1q41	AA924117	2.82
Tissue inhibitor of metalloproteinase 1 (Timp1)	Xq12	AA957593	6.04

(Continued)

(Category) Gene name	Chromosomal position	GenBank. ACC. NO.	Fold
(Others)			
CD151 antigen (Cd151)	1q41	AA818768	2.04
Transgelin 3 (Tagln3)	11q21	AI044424	2.04
CEA-related cell adhesion molecule 10 (Ceacam10)	1q21	AA964489	2.08
Complement factor 1 (Cfi)	2q43	AA900791	2.12
MAP/microtubule affinity-regulating kinase 3 (Mark3)	6q32	AA924012	2.14
Eukaryotic translation initiation factor 2 alpha kinase 4 (Eif2ak4)	3q35	AA923910	2.20
Serine/threonin kiase 10 (Stk10)	-	AA998657	2.25
Putative phosphate-phosphoenolpyruvate translocator (LOC266687)	14q21	AA901129	2.30
Phospholipase C, beta 4 (Plcb4)	3q36	AI045980	2.42
Small zinc finger-like protein (Timm10)	3q24	AA901141	2.50
SH2-B PH domain containing signaling mediator 1 (Sh2bpsm1)	-	AA963098	2.55
Epididymal secretory protein 4 (re4)	3q42	AA866255	2.67
Protein disulfide isomerase-related protein (P5)	-	AA901143	2.68
Tropomyosin 1, alpha (Tpm1)	8q24	AA859231	2.69
Synaptojanin 2 binding protein (Synj2bp)	6q24	AA924552	2.81
Pancreatic secretory trypsin inhibitor type II (PSTI-II) (LOC266602)	18p11	AA858673	2.81
CD164 antigen (Cd164)	20q12	AA924404	3.11
Drebrin 1 (Dbn1)	17p14	AA900039	3.19
Lectin, galactose binding, soluble 3 (Lgals3)	15p14	AA859797	3.47
Claudin 11 (Cldn11)	2q24	AA924120	3.53
Matrix Gla protein (Mgp)	4q43	AA874853	3.85
Annexin A2 (Anxa2)	8q24	AA964578	4.04
Reticulon 4 (Rtn4)	14q22	AA901032	4.20
Transmembrane 4 superfamily member 3 (Tm4sf3)	7q22	AA957483	4.71
High mobility group protein 17 (Hmgn2)	5q36	AA900357	6.08
GATA binding protein 3 (Gata3)	17q12.3	AA900737	6.11
Vimentin (Vim)	17q12.3	AA819712	7.90

Table 3. Down-regulated genes profile of kidney in cisplatin treated rats

(Category) Gene name	Chromosomal position	GenBank. ACC. NO.	Fold
(Cell growth and maintenance)			
Group specific component (Gc)	14p22q14	AA818706	0.19
Insulin-like growth factor binding protein 3 (Lgfbp3)	14q21	AA819611	0.24
Retinol binding protein 4, plasma (Rbp4)	1q53	AA858962A	0.31
Clathrin, light polypeptide (Lcb) (Cltb)	17p14	A818168	0.44
Bone morphogenetic protein 4 (Bmp4)	15p14	AI136500	0.45
Synaptophysin (Syp)	Xq13-q	AI136413	0.49
(Immuno response)			
Gene model 1960, (NCBI) (Gm1960)	14p22	AI045017	0.40
(Response to stress)			
Crystallin, alpha B (Cryab)	8q23	AA818795	0.28
(Signal transduction)			
Prostaglandin E receptor 4 (subtype EP4) (Ptger4)	2q16	AI044939	0.34
Prostaglandin E receptor 1 (Ptger1)	19q11	AA858510	0.42
Delta-like 1 (Drosophila) (Dll1)	1q12	AI136950	0.47
(Transcription)			
Early growth response 4 (Egr4)	4q34	AI030088	0.38
(Metabolism)			
Cytosolic cysteine dioxygenase 1 (Cdo1)	18q11	AA818579	0.16
Ornithine decarboxylase 1 (Odc1)	6q16	AA860013	0.20
Sialyltransferase 1 (Siat1)	11q23	AA818636	0.25
Ureidopropionase, beta (Upb1)	20p12	AI059491	0.33
Phosphoribosylpyrophosphate synthetase-associated protein (39 kDa) (Prpsap1)	10q32.3	AA818439	0.34
Expressed in non-metastatic cells 1 (Nme1)	10q26	AI145542	0.37
Glutamate cysteine ligase, modifier subunit (Gclm)	2q41	AA965220	0.39
CUG triplet repeat, RNA-binding protein 2 (Cugbp2)	17q12.3	AA819637	0.39
Nerve growth factor, gamma (Ngfg)	1q22	AA925291	0.41
Membrane metallo endopeptidase (Mme)	2q31	AI136717	0.41
Dipeptidylpeptidase 4 (Dpp4)	3q21	AA818443	0.42
Glutamine synthetase 1 (Glu1)	13q22	AA817866	0.43
Phosphoribosyl pyrophosphate synthetase 2 (Prps2)	Xq21	AA924597	0.46
Acetyl-coenzyme A dehydrogenase, medium chain (Acadm)	2q45	AA925220	0.47
Glutamate dehydrogenase 1 (Glud1)	16p16	AA859423	0.48
(Others)			
Cardiotrophin 1 (Ctf1)	1q36	AI071126	0.18
Ornithine aminotransferase (Oat)	1q14	AA818680	0.21

(Continued)

(Category) Gene name	Chromosomal position	GenBank. ACC. NO.	Fold
(Others)			
Ubiquinol-cytochrome c reductase core protein I (Uqcrc1)	8q32	AA819233	0.27
Cytochrome c, somatic (Cycs)	4q24	AA866442	0.28
Solute carrier family 28 (sodium-coupled nucleoside transporter), member 2 (Slc28a2)	3q35	AA819257	0.29
GDNF-family receptor alpha 3 (Gfra3)	18p12	AA925330	0.33
Wound inducible transcript 3.0 (Wit3.0)	4q44	AA819213	0.35
Coatomer protein complex, subunit beta 1 (Copb1)	1q34	AA859202	0.37
Gamma-glutamyl hydrolase (Ggh)	5q21	AI072186	0.39
Calcium binding protein 1 (Cabp1)	12q16	AI111726	0.40
Mitogen-activated protein kinase kinase 6 (Map2k6)	10q32.1	AA900899	0.40
Heat-responsive protein 12 (Hrsp12)	7q22	AA900546	0.40
MYB binding protein (P160) 1a (Mybbp1a)	-	AA899306	0.41
3-Hydroxyisobutyrate dehydrogenase (Hibadh)	4q24	AA859729	0.41
Kidney androgen regulated protein (Kap)	4q43	AI070884	0.42
Alanine-glyoxylate aminotransferase 2 (Agxt2)	2q16	AA818440	0.44
Sulfotransferase, hydroxysteroid preferring 2 (Sth2)	1q21.3-q22.1	AA818024	0.45
Kidney-specific protein (KS) (LOC246263)	1q35	AA818332	0.45
Killer cell lectin-like receptor subfamily B member 1B (Klrb1b)	4q42	AA901140	0.45
Proopiomelanocortin, beta (endorphin, beta) (Pomc2)	6q14	AI044281	0.45
Cytochrome P450, family 3, subfamily a, polypeptide 13 (Cyp3a13)	12q11	AI136404	0.46
Pyridoxal (pyridoxine, vitamin B6) kinase (Pdxk)	20p12	AI059567	0.46
Uromodulin (Umod)	1q36-q37	AI059479	0.46
Integrin alpha L (Itgal)	1q36	AA858880	0.47
NAD(P)H dehydrogenase, quinine 1 (Nqo1)	19q12	AA899180	0.47
Crystallin, beta B3 (Crybb3)	-	AI070226	0.49
RAP1B, member of RAP oncogene family (Rap1b)	7q22	AA925069	0.49
Propionyl coenzyme A carboxylase, beta polypeptide (Pccb)	8q31	AI136137	0.49
UDP-N-acetyl-alpha-D-galactosamine:polypeptide N-acetylgalactosaminyltransferase 11(Galnt11)	4q11	AA924791	0.49
DnaJ (Hsp40) homolog, subfamily B, member 9 (Dnajb9)	6q16-q23	AI136414	0.50
Polymerase (RNA) II (DNA directed) polypeptide G (Polr2g)	1q43	AA899179	0.50
Selenoprotein P, plasma, 1 (Sepp1)	2q16	AA963445	0.50

을 가져올 수 있다. 이 연구에서 microarray법에 의해 탐색된 유전자, 특히 세포 자멸과 관련된 유전자 인 Clu (clusterin), Hmox 1 (heme oxygenase 1), Tubb 5 (Tubulin, beta 5) 및 Spp 1 (secreted phosphoprotein 1) 발현의 증가는 이러한 이론을 뒷받침할 수 있다.

이상의 문헌적 고찰과 실험 결과로 보아, cisplatin은 신장에서 유전자 발현 특히 세포 자멸과 관련된 유전자 발현의 변화를 초래하고 신장 조직의 손상을 초래하여 신장 기능을 저하시키는 것으로 생각된다.

요 약

Cisplatin은 항암제로 널리 사용되고 있으나 신장 등에 부작용을 초래하는 것으로 알려져 있다. 그러나 그 독성의 기전은 명확히 규명되어 있지 않다. Cisplatin에 의한 신장 독성의 기전을 규명하기 위하여 흰쥐를 대조군과 cisplatin 투여군으로 나눈 후, cisplatin에 의해 손상된 신장에서 발현되는 유전자 발현 변화를 검색하기 위하여 신장 조직에서 cDNA microarray를 실행하였다. cDNA microarray 결과, 세포자멸, 세포주기, 세포성장/유지, 면역반응, 스트레스반응, 신호전달, 전사, 대사 및 기타의 기능적 범주로 분류된 유전자 중 111개의 유전자가 발현하였으며, 이 중 52개의 유전자는 발현이 증가하였고, 59개의 유전자는 발현이 감소하였다. 특히 cisplatin 투여군의 신장에서 세포자멸과 관련된 유전자인 Spp1, Tubb5, Hmox1 및 Clu와 세포주기에 관련된 유전자인 Pttg1, Ccng1 및 Anxa1의 발현이 증가하였다. 이 실험 결과로 볼 때, cisplatin은 신장에서 유전자 발현 특히 세포 자멸과 관련된 유전자 발현 변화를 초래하고 신장 조직의 손상을 초래하여 신장 기능을 저하시키는 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

1. Walker EM Jr, Gale GR. Methods of reduction of cisplatin nephrotoxicity. *Ann Clin Lab Sci* 1981;**11**:397-410.
2. Rybak LP, Husain K, Whitworth C, Somani SM. Dose dependent protection by lipoic acid against cisplatin-induced ototoxicity in rats: antioxidant defense system. *Toxicol Sci* 1999;**47**:195-202.
3. Rybak LP, Whitworth C, Somani S. Application of antioxidants and other agents to prevent cisplatin ototoxicity. *Laryngoscope* 1999;**109**:1740-4.
4. Teranishi M, Nakashima T, Wakabayashi T. Effects of alpha-tocopherol on cisplatin-induced ototoxicity in guinea pigs. *Hear Res* 2001;**151**:61-70.
5. Xia Y, Zweier JL. Substrate control of free radical generation from xanthine oxidase in the postischemic heart. *J Biol Chem* 1995;**270**:18797-803.
6. Kuhlmann MK, Burkhart G, Köhler H. Insight into potential cellular mechanisms of cisplatin nephrotoxicity and their clinical application. *Nephrol Dial Transplant* 1997;**12**:2478-80.
7. Baliga R, Ueda N, Walker PD, Shah SV. Oxidant mechanisms in toxic acute renal failure. *Drug Metab Rev* 1999;**31**:971-97.
8. Greggi Antunes LM, Darin JD, Bianchi MD. Protective effects of vitamin C against cisplatin-induced nephrotoxicity and lipid peroxidation in adult rats: a dose-dependent study. *Pharmacol Res* 2000;**41**:405-11.
9. Davis CA, Nick HS, Agarwal A. Manganese superoxide dismutase attenuates cisplatin-induced renal injury: importance of superoxide. *J Am Soc Nephrol* 2001;**12**:2683-90.
10. Özyurt H, Yildirim Z, Kotuk M, Yilmaz HR, Yağmurca M, Iraz M, *et al.* Cisplatin-induced acute renal failure is ameliorated by erdosteine in a dose-dependent manner. *J Appl Toxicol* 2004;**24**:269-75.
11. Howle JA, Gale GR. Cis-dichlorodiammineplatinum (II): Persisitent and selective inhibition of

deoxyribonucleic acid systhesis *in vivo*. *Biochem Pharmacol* 1970;**19**:2757-62.

12. Loeb WF. The measurement of renal injury. *Toxicol Pathol* 1998;**26**:26-8.
13. Huang Q, Dunn RT II, Jayadev S, DiSorbo O, Pack FD, Farr SB, *et al*. Assessment of cisplatin-induced nephrotoxicity by microarray technology. *Toxicol Sci* 2001;**63**:196-207.
14. Schena M, Shalon D, Davis RW, Brown PO. Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA microarray. *Science* 1995;**270**:467-70.
15. Tanaka TS, Jaradat SA, Lim MK, Kargul GJ, Wang X, Grahovac MJ, *et al*. Genome-wide expression profiling of mid-gestation placenta and embryo using a 15,000 mouse developmental cDNA microarray. *Proc Natl Acad Sci* 2000;**97**:9127-32.
16. Elek J, Park KH, Narayanan R. Microarray-based expression profiling in prostate tumors. *In Vivo* 2000;**14**:173-82.
17. Heller RA, Schena M, Chai A, Shalon D, Bedilion T, Gilmore J, *et al*. Discovery and analysis of inflammatory disease-related genes using cDNA microarrays. *Proc Natl Acad Sci* 1997;**94**:2150-5.
18. Wang K, Gan L, Jeffery E, Gayle M, Gown AM, Skelly M, *et al*. Monitoring gene expression profile changes in ovarian carcinomas using cDNA microarray. *Gene* 1999;**229**:101-8.
19. Puga A, Maier A, Medvedovic M. The transcriptional signature of dioxin in human hepatoma HepG2 cells. *Biochem Pharmacol* 2000;**60**:1129-42.
20. Zimmermann J, Erdmann D, Lalande I, Grossenbacher R, Noorani M, Fürst P. Proteasome inhibitor induced gene expression profiles reveal overexpression of transcriptional regulators ATF3, GADD153 and MAD1. *Oncogene* 2000;**19**:2913-20.
21. McKeage MJ, Morgan SE, Boxall FE, Murrer BA, Hard GC, Harrap KR. Lack of nephrotoxicity of oral ammine/amine paltinum (IV) dicarboxylate complexes in rodents. *British J Cancer* 1993;**67**:996-1000.
22. Badary OA, Nagi MN, al-Sawaf HA, al-Harbi M, al-Bekairi AM. Effect of L-histidinol on cisplatin nephrotoxicity in the rat. *Nephron* 1997a;**77**:435-9.
23. Badary OA, Nagi MN, al-Shabanah OA, al-Sawaf HA, al-Sohaibani MO, aL-Bekairi AM. Thymoquinone ameliorates the nephrotoxicity induced by cisplatin in rodents and potentiates its antitumor acitivity. *Can J Physiol Pharmacol* 1997b;**75**:1356-61.
24. DeConti RC, Toftness BR, Lange RC, Creasey WA. Clinical and pahrmacological studies with cis-diamminedichloroplatinum (II). *Cancer Res* 1973;**33**:1310-5.
25. Daugaard G, Abildgaard U, Holstein-Rathlou NH, Bruunshuus I, Bucher D, Leyssac PP. Renal tubular function in patients treated with high-dose cisplatin. *Clin Pharmacol Ther* 1988;**44**:164-72.
26. De Witt LM, Jones TW, Moore L. Stimulation of the renal endoplasmic reticulum calcium pump: a possible biomarker for platinate toxicity. *Toxicol Appl Pharmacol* 1988;**92**:157-69.