



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

박 사 학 위 논 문

고지방식이로 유도한 고혈압 쥐에서
히스톤 탈아세틸화 효소 억제제를 이용한
혈압상승 억제 효과 및 기전에 관한 연구계 명 대 학 교 대 학 원
의 학 과

윤 가 은

윤
가
은

지도교수 김 지 인

2
0
2
2
년
2
월

2 0 2 2 년 2 월

고지방식이로 유도한 고혈압 쥐에서
히스톤 탈아세틸화 효소 억제제를 이용한
혈압상승 억제 효과 및 기전에 관한 연구

지도교수 김 지 인

이 논문을 박사학위 논문으로 제출함

2 0 2 2 년 2 월

계 명 대 학 교 대 학 원
의 학 과

윤 가 은

윤가은의 박사학위 논문을 인준함

주 심 장 병 철

부 심 김 지 인

부 심 이 윤 한

부 심 권 택 규

부 심 김 인 겸

계 명 대 학 교 대 학 원

2 0 2 2 년 2 월

목 차

1. 서 론	1
2. 재료 및 방법	3
3. 성 적	10
4. 고 찰	40
5. 요 약	44
참고문헌	45
Abstract	51
국문초록	53

List of Tables

Table 1. List of Primers for Quantitative Real-Time Polymerase Chain Reaction	9
--	---

List of Figures

Figure 1. Effects of high-fat diet on body weight and blood pressure in mice	20
Figure 2. Effects of high-fat diet and various concentrations of CG200745 on blood pressure and body weight in mice	21
Figure 3. Effects of various concentrations of CG200745 on the expression of angiotensinogen in the kidney of normal diet-fed mice	22
Figure 4. Effects of high-fat diet and CG200745 on blood pressure, body weight, food intake, and water intake in mice	23
Figure 5. Effects of high-fat diet and CG200745 on the expressions of class I and class IIb histone deacetylases in mice kidney ..	25
Figure 6. Effects of high-fat diet and CG200745 on the activities of histone deacetylases in mice kidney	27
Figure 7. Effects of high-fat diet and CG200745 on the expressions of pro-inflammatory cytokines in mice kidney	28

Figure 8. Effects of high-fat diet and CG200745 on the expressions of renin-angiotensin system components in mice kidney, lung, and serum	29
Figure 9. Effects of high-fat diet and CG200745 on the expressions of sodium transporters in mice kidney	31
Figure 10. Effects of high-fat diet and CG200745 on the expression of aquaporin 1 in mice kidney	32
Figure 11. Effects of high-fat diet and CG200745 on the constriction of mice mesenteric arteries	33
Figure 12. Effects of high-fat diet and RGFP966 on blood pressure, body weight, food intake, and water intake in mice	35
Figure 13. Effects of high-fat diet and RGFP966 on the activity of histone deacetylases 3 in mice kidney	37
Figure 14. Effects of high-fat diet and RGFP966 on the expressions of pro-inflammatory cytokines in mice kidney	38
Figure 15. Effects of high-fat diet and RGFP966 on the angiotensin II level in mice serum	39

1. 서론

서구화된 식습관으로 인한 과도한 에너지 섭취와 신체 활동 부족으로 인해 비만과 과체중 인구가 전 세계적으로 증가하고 있다(1). 비만은 고콜레스테롤혈증, 당뇨병과 같은 질환을 동반하며 고혈압 발병의 중요 위험 요소이다(2,3). 최근 발간된 2019년 국민건강통계 자료에서 만성질환 유병률을 살펴보면 비만은 35.6%, 고혈압은 27.2%로 현재 성인 3명 중 1명이 비만이고, 4명 중 1명은 고혈압을 앓고 있다(4). 비만과 고혈압의 상관성은 분명하지만, 비만성 고혈압에 관한 연구는 최근에서야 연구가 되기 시작했다.

비만성 고혈압을 일으키는 기전은 과도한 내장 지방 축적으로 인한 호르몬의 생성과 분비, 염증 발생, 혈관 내피 이상 등이 있고(5), 신장에서 레닌-안지오텐신계가 활성화되는 것이 고혈압 발생의 중요한 기전 중 하나인 것으로 보고되었다(6,7). 특히 레닌-안지오텐신계의 최종 생성물인 안지오텐신 II는 신장에서 나트륨/물의 재흡수를 촉진하여 나트륨/물 보유량을 증가시키거나, 혈관을 수축시켜 고혈압을 유발한다(8,9).

현재 고혈압 치료제로는 레닌-안지오텐신계 저해제들이 사용되고 있으나 다양한 부작용과 저항성이 보고되었으며 특히 약물 내성이 높은 비만성 고혈압 환자들의 경우 효과가 더욱 제한적이다(10-12). 따라서 비만성 고혈압 환자들을 위한 보다 효과적이고 안전한 치료제에 관한 연구가 필요하다.

후성유전학은 디옥시리보핵산(deoxyribonucleic acid, DNA) 염기서열이 변하지 않은 상태에서 유전자 발현의 변화가 이루어지는 유전적 변화를 말하며(13) 성인이 되어 과식 또는 고지방식을 오랜 시간 유지하게 되면 후성유전학적 변형을 유발하게 된다(14). 최근 비만 및 관련 장애를 포함한 여러 질병에 대한 새로운 접근 방식이 후성유전학을 통해 제안되고 있다(15). 이중 히스톤 탈아세틸화 효소는 뉴클레오솜의 히스톤의 탈아세틸화를 일으켜 유전자 발현을 조절하는 요소로 많은 수의 히스톤 탈아세틸화

효소 억제제가 미국 식품의약국에 항암제로서 승인을 받았거나 임상시험 중인 약제들이 많다(16). 그런데 최근에는 심혈관 질환에서도 히스톤 탈아세틸화 효소 억제제를 이용한 연구들이 보고되었으며(17, 18) 히스톤 탈아세틸화 효소 억제제가 다양한 고혈압 모델에서 혈압을 조절한다는 연구결과들이 보고되었다. 광범위 히스톤 탈아세틸화 효소 억제제인 발프로산의 경우 본태성 고혈압 쥐 모델에서 염증과 활성산소, 안지오텐신 II 타입 1 수용체를 감소시킴으로써 혈압을 낮추는 것으로 확인되었다(19). 최재일 등(20)은 고지방식이로 유도한 고혈압 모델에서 발프로산이 신장 안지오텐시노겐 발현을 억제함으로써 혈압을 낮춘다고 처음으로 보고하였고, 이는 광범위 히스톤 탈아세틸화 효소 억제제가 비만성 고혈압의 치료제로서 사용될 수 있음을 시사해준다.

최근 개발된 CG200745는 클래스 I 및 클래스 IIb 히스톤 탈아세틸화 효소를 억제하는 약물이며, 현재 췌장암, 골수형성이상증후군, 급성골수성백혈병, 간암, 고형암 등 다양한 항암 효과에 대한 임상연구가 진행 중이다(21, 22). 이은조 등(23)의 보고에 따르면 CG200745는 데옥시코르티코스테론 아세테이트로 유도된 고혈압 쥐에서 CCAAT/증폭자-결합 단백질 베타/튜베린 경로의 상향 조절을 통해 포유류 라파마이신 표적 복합체 1 신호 전달을 억제시켜 심장 비대를 개선하였다. 한편 데옥시코르티코스테론 아세테이트로 유도된 고혈압 쥐에서 발프로산을 처리하여 히스톤 탈아세틸화 효소 3을 억제시켰을 때 고혈압이 개선되었고(24), 안지오텐신 II로 유도한 고혈압 쥐에서 히스톤 탈아세틸화 효소 3의 선택적 억제제인 RGFP966가 증가된 혈압을 낮추는 것으로 확인되었다(25). 이는 CG200745와 RGFP966이 다른 고혈압 모델에서도 혈압을 떨어트리는 효과를 보여줄 수 있음을 암시한다. 따라서 본 연구에서는 비만 매개 고혈압 치료제로서 CG200745와 RGFP966의 활용 가능성을 검증하기 위해 고지방식이로 유도한 고혈압 모델에서 CG200745와 RGFP966의 혈압 강하 효과와 그 기전을 조사하였다.

2. 재료 및 방법

2.1 실험동물:

미국 국립 보건원의 실험동물 관리 및 사용에 대한 지침에 따라 모든 동물실험을 수행하였다. 계명대학교 의과대학 동물실험 윤리 위원회에서 동물실험계획(KM-2017-34R1, KM-2021-01)을 승인 받았으며 연구 진행 시 모든 윤리 규정을 준수하였다. 실험동물은 9주령 C57BL/6 수컷 쥐(코아텍사, 경기도, 한국)를 구매한 후 사용하였다. 실험식이를 시작하기 전 쥐의 정상 혈압을 확인하였고, 혈압과 체중에 상관없이 난피법을 이용하여 균을 나누었다. 쥐의 실험식이는 지방이 각 10% Kcal, 60% Kcal가 포함된 일반식이(할란-스프라그 다울리사, 매디슨, 위스콘신주, 미국)와 고지방식이(할란-스프라그 다울리사, 매디슨, 위스콘신주, 미국)를 공급하는 군으로 나누어 식이를 공급하였다. 고지방식이군의 수축기 혈압이 고혈압 단계인 140 mmHg 이상 된 시점에 도달하였을 때, 난피법을 이용하여 일반식이-대조군, 일반식이-투여군(CG200745, RGFP966), 고지방식이-대조군, 고지방식이-투여군(CG200745, RGFP966)으로 나누고, 생리식염수 또는 CG200745(크리스탈지노믹스사, 경기도, 한국), RGFP966(케이먼 케미컬사, 앤아버, 미시간주, 미국)를 복강 내 주사로 하루에 한 번 체중 kg당 CG200745는 0.2 mg, 1.0 mg, 2.0 mg을 투여하였고, RGFP966는 0.5 mg을 투여하였다. 약물 처리는 고지방식이-투여군이 130 mmHg 이하로 정상 혈압을 유지할 때 종료하였다.

2.2 체중 측정:

고혈압기에 도달하기 전까지 실험식이를 공급하면서 1주에 한 번 저울(한국에이엔디사, 서울, 한국)을 사용하여 쥐의 체중을 측정하였다. 고혈

압기에 도달한 후 약물을 투여하는 기간 동안에는 혈압을 측정하기 전 매일 체중을 측정하였다.

2.3 혈압 측정:

비-침습적 혈압측정 분석기인 코다(켄트 사이언티픽 코포레이션사, 토링턴, 코네티컷주, 미국)를 이용하여 제조사의 지침에 따라 쥐의 혈압을 측정하였다. 혈압 측정을 하기 전 쥐를 35 °C 가열 패드에서 10분 동안 예열하였다. 꼬리의 온도가 32-35 °C 사이에 도달하면 쥐의 움직임을 제지할 수 있는 홀더에 쥐를 고정하고 꼬리에 압박대와 혈류검출기를 장착하여 꼬리 동맥의 혈압을 측정하였다.

2.4 식이섭취량 및 수분섭취량 측정:

고혈압기에 도달 후 약물을 투여하는 기간 동안 저울(한국에이엔디사, 서울, 한국)을 사용하여 쥐의 식이섭취량과 수분섭취량을 매일 측정하였다.

2.5 시료 채취 및 전처리:

엔토발(한림제약사, 경기도, 한국) 50 mg/kg을 복강 주사하여 쥐를 마취하였고 마취가 된 쥐의 복부를 절개한 후에 심장에서 혈액을 채취하였다. 채취한 혈액을 실온에서 30분간 거치한 후에 원심분리기를 이용하여 4 °C 에서 2,500 rpm으로 10분간 원심분리하여 얻은 상층액 혈청을 사용하였다. 신장, 폐, 장간막 동맥을 채취한 후 액체질소를 사용하여 급속 동결시켰으며, 분석 전까지 -80 °C 초저온 냉동고에 보관하였다.

용해 완충액[5 mM 하이드록시에틸피페라진에테인설포산(pH 7.4), 5 mM 에틸렌비스(옥시에틸렌니트릴로)테트라아세트산, 1 mM 나트륨 오르토바나

드산염, 1% 트리톤엑스-100, 10% 글리세롤, 1 mM 디티오프레이톨, 5 mM 플루오르화나트륨, 1 mM 페닐메탄술폰닐플루오르화물, 5 µg/mL 류펩틴, 2 µg/mL 아프로티닌, 1% 디옥시콜산나트륨]을 유리 호모게나이저에 넣고 신장, 폐, 장간막 동맥을 균질화시켜 조직 용해물을 제조하여 실험에 사용하였다.

2.6 정량적 실시간 중합효소연쇄반응 실험:

쥐의 신장과 폐 용해물에서 뉴클레올 리보핵산(ribonucleic acid, RNA) 추출 용액(마체리-나겔사, 뒤렌, 독일)을 사용하여 RNA를 추출하고 디아스타 실시간 키트(솔젠트사, 대전, 한국)를 이용하여 RNA 1 µg으로부터 상보성 디옥시리보핵산(complementary DNA, cDNA)을 합성하였다. 플레이트 라이트사이클러 480 사이비알 그린 I 마스터 믹스 10 µL와 증류수 4 µL, 정방향, 역방향 프라이머 0.5 µL씩을 넣은 혼합물을 넣은 후 cDNA 50 ng/5 µL를 첨가했다. 라이트사이클러 기기(로슈 어플라이드 사이언스사, 바젤, 스위스)를 사용하여 안지오텐신전환효소, 안지오텐시노겐, 아쿠아포린 1, 안지오텐신 II 타입 1 수용체, 히스톤 탈아세틸화 효소 1, 히스톤 탈아세틸화 효소 2, 히스톤 탈아세틸화 효소 3, 히스톤 탈아세틸화 효소 6, 히스톤 탈아세틸화 효소 8, 히스톤 탈아세틸화 효소 10, 인터류킨 6, 알파형 나트륨 칼륨 펌프, 베타형 나트륨 칼륨 펌프, 감마형 나트륨 칼륨 펌프, 염화나트륨 공동수송체, (프로)레닌 수용체, 레닌, 종양괴사인자 알파의 메신저 RNA(messenger RNA, mRNA) 발현을 정량적 실시간 중합효소연쇄반응을 이용하여 측정하였다. 실험에 사용한 프라이머는 www.IDTDNA.com에서 PrimerQuest 소프트웨어를 사용하여 디자인하였고 각 프라이머의 염기서열은 Table 1에 나타내었다.

2.7 히스톤 탈아세틸화 효소 활성 측정:

쥐의 신장에서 히스톤 탈아세틸화 효소 활성 형광 분석 키트(바이오비전사, 밀피타스, 캘리포니아주, 미국)를 사용하여 제조업체의 지침에 따라 히스톤 탈아세틸화 효소 활성을 측정하였다. 쥐의 신장 용해물을 각 웰에 50 µg/85 µL 넣고 10배 농축된 히스톤 탈아세틸화 효소 분석 용액 10 µL와 히스톤 탈아세틸화 효소 형광 기질 5 µL를 각 웰에 첨가한 다음 혼합물을 37 °C에서 30분간 반응시켰다. 히스톤 탈아세틸화 효소 활성의 표준곡선을 그리기 위해 4 mM 탈아세틸화 표준용액을 0 µM, 5 µM, 10 µM, 20 µM, 40 µM, 80 µM 농도로 희석하여 웰에 100 µL씩 첨가하였다. 모든 웰에 라이신 현상액을 각 10 µL 첨가하고, 37 °C에서 30분간 반응시켰다. 원광분광광도계(테칸사, 시스트레스, 마네돌프, 스위스)를 이용하여 380/440 nm 필터에서 측정된 값으로 표준곡선을 그렸다.

2.8 웨스턴 블롯 실험:

쥐의 신장과 장간막 동맥 용해물을 초음파기기(소닉스&머테리얼스사, 뉴타운, 코네티컷주, 미국)에 넣고 30% 출력으로 1초씩 5회 3번 반복하고 난 후 4 °C에서 20분 동안 13,000 rpm으로 원심분리를 진행하여 상층액을 얻었다. 분리한 단백질의 농도를 비씨에이 단백질 정량 키트(써모피셔사이언티픽사, 월섬, 메사추세츠주, 미국)를 사용하여 측정하고 5배 농축된 도데실황산나트륨-폴리아크릴아마이드 겔 전기영동 로딩 용액[60 mM 트리스(히드록시메틸)아미노메탄히드로클로라이드(pH 6.8), 50% 글리세롤, 2% 도데실황산나트륨, 0.1% 브로모페놀블루, 5% 2-머캅토에탄올]을 첨가하였다. 일정량의 단백질을 도데실황산나트륨-폴리아크릴아마이드 겔 전기영동법으로 전기영동을 한 다음 니트로셀룰로오스 멤브레인(싸이티마사, 헤르초게나우라흐, 독일)으로 전기이동을 시켰다. 멤브레인을 1% 소혈청알부민(써모피셔사이언티픽사, 월섬, 메사추세츠주, 미국)이 함유된 계면활성제-

트리스 완충식염수(20 mM 트리스, 137 mM 염화나트륨, 0.05% 트리톤엑스-100, 0.1% 트윈 20) 용액에 1시간 동안 상온에서 반응시켰다. 1차 항체를 4 °C에서 12시간 동안 반응시키고 2차 항체를 실온에서 1시간 동안 반응시켰다. 안지오텐시노겐(비오르비트사, 케임브리지, 영국), 미오신 경사슬 인산화 효소(산타크루즈바이오테크사, 댈러스, 텍사스주, 미국), 미오신 탈인산화 효소의 표적 아단위 1의 인산화(산타크루즈바이오테크사, 댈러스, 텍사스주, 미국), 미오신 경사슬 20의 인산화(써모피셔사이언티픽사, 월섬, 메사추세츠주, 미국) 항체들을 1:1,000의 비율로, 베타-액틴(산타크루즈바이오테크사, 댈러스, 텍사스주, 미국) 항체를 1:5,000의 비율로 희석하여 사용하였다. 2차 항체로는 토끼, 염소, 마우스 면역글로불린 G에 대한 호스라디시 페록시다제 결합 항체(베틀 래보러터리즈사, 몽고메리, 텍사스주, 미국)를 사용하였다. 이씨엘 키트(써모피셔사이언티픽사, 월섬, 메사추세츠주, 미국)를 사용하여 발광 신호를 확인하였고 이미지 분석 소프트웨어 이미지제이(미국국립보건원, 베세즈다, 메릴랜드주, 미국)를 사용하여 단백질의 발현량을 정량화하였다.

2.9 안지오텐신 II 효소 면역 분석법:

안지오텐신 II 효소 면역 분석 키트(피닉스 파마슈티칼사, 벌링게임, 캘리포니아주, 미국)를 사용하여 제조업체의 설명에 따라 혈청 안지오텐신 II 농도를 측정하였다. 1,000 ng/mL 안지오텐신 II 표준용액을 0.04 ng/mL, 0.2 ng/mL, 1 ng/mL, 5 ng/mL, 25 ng/mL 농도가 되도록 희석하여 표준곡선을 그렸다. 토끼에서 얻은 펩타이드 면역글로불린 G 항체가 미리 처리된 플레이트에 혈청 50 μ L, 안지오텐신 II 항체 25 μ L, 비오틴화된 펩타이드 25 μ L를 넣고 혼합하였다. 혼합물이 담긴 플레이트를 실온에서 2시간 동안 반응시켰고, 반응 후 호스라디시 페록시다제 100 μ L 용액을 추가로 첨가하여 실온에서 1시간 반응시켰다. 3,3',5,5'-테트라메틸벤지딘 기질 100 μ L를 혼합 후 실온에서 1시간 동안 반응시켰고, 반응을 종료하기

위해 2 N 염산 100 μL 를 첨가하였다. 반응 종료 후 30분 이내로 450 nm에서의 광학 밀도를 분광광도계를 사용하여 측정하였다. 시그마 플롯(시스템사, 산호세, 캘리포니아주, 미국)을 사용하여 표준곡선을 그리고, 혈청 안지오텐신 II 농도를 분석하였다.

2.10 통계 처리:

본 연구에서는 실험 결과를 평균 \pm 표준오차로 표시하고 그래프패드-프리즘 프로그램의 맨 휘트니 U 검정(그래프패드 소프트웨어사, 샌디에고, 캘리포니아주, 미국)을 사용하여 평가하였다. 통계적 유의성은 p 값이 < 0.05 일 때 군 간에 차이가 있다고 간주하였다.

Table 1. List of Primers for Quantitative Real-Time Polymerase Chain Reaction

Genes	Primer sequences	
18S rRNA	F: GTAACCCGTTGAACCCATT	R: CCATCCAATCGGTAGTAGCG
ACE	F: GACAGGTCGTGGAAGAGTATG	R: TTGCTGCCCTCTATGGTAATG
Angiotensinogen	F: CTCGAACTCAAAGCAGGAGAG	R: GTAGATGGCGAACAGGAAGG
AQP1	F: TGGCCAGTGAAATCAAGAAGA	R: ATTGAAGCCTAGGCAGAAC
AT1R	F: TGCCATAACCATCTGCATAG	R: TTTCAGGAGCTGGAGGAAATAC
HDAC1	F: ACAAACGCATTGCCTGTGAGGAAG	R: TTGGCTTCTGGCTTCTCCTCCTT
HDAC2	F: TAGGCCTCATAAAGCCACTGCTGA	R: ACCGGACAATCTTCTCCGACGTTA
HDAC3	F: TTCGAGTTCGTCTCCGTTACACA	R: TAGCAGAAGCCAGAGGCCTCAAAT
HDAC6	F: AACCTGAGACAAGAGTGCCAGTT	R: TCAGTTGCTCTCTGATGGCATGGA
HDAC8	F: AGTGCCTGATTGACGGGAAGTGTA	R: CGGTCAAATTTCCGTGCAATCGT
HDAC10	F: AAGGTGCCCTGTGTTGTGTCAGCTTG	R: ACAGTGCCTGAGCTCCTCTTTAT
IL-6	F: GTAACCCGTTGAACCCATT	R: CCATCCAATCGGTAGTAGCG
NaK ATPase α	F: CCTATTCTTAAGCGGGCAGTAG	R: TTGCTGTATTTCTCCCTCATCTC
NaK ATPase β	F: CTGGAGACTTACCCACTGATG	R: CTATGTTCCCGACTTTATCCTTATCT
NaK ATPase γ	F: GGACAGAGAATCCCTTCGAGTA	R: CCCACAGCGGAACCTTT
NCC	F: GGTGGAAGACCACATCAAGAA	R: AGGCTTAGGTTCTGGGTAATGC
PRR	F: GCGTTATGGGAAGACTCTG	R: CACAAGGGATGTGTGCAATG
Renin	F: GAACGAATCCCGCTCAAGAA	R: AGGAAGGCTCTTTGTGAATAC
TNF- α	F: GTAACCCGTTGAACCCATT	R: GTAACCCGTTGAACCCATT

ACE: angiotensin converting enzyme; AQP1: aquaporin 1; AT1R: angiotensin II type 1 receptor; F: forward; HDAC: histone deacetylase; IL-6: interleukin 6; NCC: Na-Cl cotransporter; PRR: (pro)renin receptor; R: reverse; TNF- α : tumor necrosis factor- α .

3. 성적

3.1 고지방식이 섭취 군의 체중 증가 및 혈압 상승:

9주령의 C57BL/6 쥐를 무작위로 두 군으로 나누고 17주 동안 일반식이 또는 고지방식을 공급하였다. 식이 공급 전 두 군 간의 체중과 혈압은 유의적인 차이가 없었다. 17주 동안 각각의 식이를 섭취한 후 두 군 모두 체중이 증가하였으나 고지방식이군에서 일반식이군보다 체중이 더 증가하였다. 일반식이군의 체중은 24.2 ± 0.4 g에서 34.3 ± 0.7 g, 고지방식이군의 체중은 24.9 ± 0.5 g에서 48.6 ± 0.8 g으로 증가하였다($p < 0.001$ 일반식이군 vs 고지방식이군)(Figure 1A). 일반식이군의 경우 수축기 혈압은 118.2 ± 1.1 mmHg에서 115.2 ± 1.0 mmHg로 유의적인 변화가 없었지만, 고지방식이군은 수축기 혈압이 118.4 ± 1.3 mmHg에서 148.0 ± 1.6 mmHg로 상승하였다($p < 0.001$, 일반식이군 vs 고지방식이군)(Figure 1B). 일반식이군의 경우 이완기 혈압은 86.7 ± 1.1 mmHg에서 89.2 ± 1.0 mmHg로 유의적인 변화가 없었지만, 고지방식이군은 이완기 혈압이 86.7 ± 1.4 mmHg에서 117.4 ± 2.0 mmHg로 상승하였다($p < 0.001$, 일반식이군 vs 고지방식이군)(Figure 1C).

3.2 CG200745의 처리 농도에 의한 변화:

3.2.1. CG200745 투여 농도에 의한 혈압 및 체중 변화:

고지방식으로 유도한 고혈압 모델에서 CG200745의 농도별 혈압 강하 효과를 조사하기 위해 각 식이 군에 생리식염수 또는 CG200745를 하루에 한 번 복강 내 주사로 체중 kg당 0.2 mg, 1.0 mg, 2.0 mg 투여하였다. 130 mmHg 이하로 떨어져 유지될 때 약물처리를 종료하였다. 일반식이군에 CG200745를 농도별로 투여하였을 때 수축기 및 이완기 혈압은 유의적인 차

이는 보이지 않았고, 고지방식이군의 대조군은 높은 수축기 및 이완기 혈압을 유지한 반면 고지방식이군에 CG200745를 농도별로 투여하였을 때 수축기 및 이완기 혈압이 모든 농도에서 정상 수준으로 낮아졌다. 일반식이군의 CG200745 1.0 mg/kg 투여군과 CG200745 2.0 mg/kg 투여군보다 CG200745 0.2 mg/kg 투여군에서 쥐의 체중 변화가 가장 낮았다(Figure 2).

3.2.2. CG200745 농도에 의한 신장에서의 안지오텐시노겐 발현 변화:

일반식이군에 영향을 주지 않는 농도를 찾기 위하여 먼저 일반식이군에서 CG200745 처리 농도별 신장 안지오텐시노겐의 mRNA 발현을 확인하였다. CG200745 2.0 mg/kg 투여군에서 일반식이군의 대조군보다 신장에서 안지오텐시노겐의 발현이 1.5 ± 0.4 배, 1.0 mg/kg 투여군에서 1.4 ± 0.1 배 높아진 것을 확인했다. 일반식이군의 CG200745 0.2 mg/kg 투여군은 0.9 ± 0.0 배로 일반식이군의 대조군과 유의적인 차이가 나지 않는 것을 확인했다(Figure 3).

CG200745를 투여한 모든 농도에서 혈압이 낮아졌으므로 일반식이군에서 안지오텐시노겐 발현에 영향을 주지 않는 0.2 mg/kg으로 약물투여 농도를 정했다.

3.3 고지방식이 섭취와 CG200745 투여에 의한 혈압 변화:

고지방식으로 유도한 고혈압 모델에서 CG200745의 혈압 강하 효과를 조사하기 위해 각 식이 군에 생리식염수 또는 CG200745를 하루에 한 번 복강내 주사로 체중 kg당 0.2 mg을 9일 동안 투여하였다. 일반식이를 섭취한 쥐의 혈압은 CG200745를 투여하였을 때 대조군과 유의적인 차이를 보이지 않았다. 고지방식이를 섭취한 대조군은 높은 수축기 및 이완기 혈압을 유지했지만, CG200745를 투여한 군의 경우 수축기 및 이완기 혈압이 일반식이군의 수준으로 낮아졌다(수축기 혈압: 147.6 ± 1.7 mmHg에서 $121.0 \pm$

1.2 mmHg로 강하, 이완기 혈압: 116.7 ± 2.4 mmHg에서 89.3 ± 1.2 mmHg로 강하)($p < 0.001$ 고지방식이-대조군 vs 고지방식이-CG200745 투여군)(Figure 4A&B). 일반식이 및 고지방식이를 섭취한 쥐의 체중, 식이섭취량, 수분섭취량은 CG200745의 투여에 의한 유의적인 차이를 보이지 않았다(Figure 4C-E).

3.4 고지방식이 섭취와 CG200745 투여에 의한 신장 내 히스톤 탈아세틸화 효소의 발현 및 활성 변화:

고지방식이 섭취와 CG200745 투여에 의한 신장에서의 히스톤 탈아세틸화 효소 mRNA 발현 및 활성 변화를 확인하였다. CG200745는 히스톤 탈아세틸화 효소 중 클래스 I(히스톤 탈아세틸화 효소 1, 히스톤 탈아세틸화 효소 2, 히스톤 탈아세틸화 효소 3, 히스톤 탈아세틸화 효소 8) 및 클래스 IIb(히스톤 탈아세틸화 효소 6, 히스톤 탈아세틸화 효소 10)를 억제한다(26). 고지방식이를 섭취한 대조군의 신장에서 히스톤 탈아세틸화 효소 1, 히스톤 탈아세틸화 효소 2, 히스톤 탈아세틸화 효소 3, 히스톤 탈아세틸화 효소 6, 히스톤 탈아세틸화 효소 8의 발현이 일반식이를 섭취한 대조군보다 증가하였다(히스톤 탈아세틸화 효소 1: 1.4 ± 0.2 배, 히스톤 탈아세틸화 효소 2: 1.7 ± 0.3 배, 히스톤 탈아세틸화 효소 3: 1.9 ± 0.2 배, 히스톤 탈아세틸화 효소 6: 2.0 ± 0.2 배, 히스톤 탈아세틸화 효소 8: 1.5 ± 0.1 배)($p < 0.05$ 일반식이-대조군 vs 고지방식이-대조군). 쥐의 신장에서 히스톤 탈아세틸화 효소 10의 발현은 일반식이 및 고지방식이의 섭취에 의한 유의적인 차이를 보이지 않았다. 고지방식이를 섭취한 군에 CG200745를 투여하였을 때 신장에서 히스톤 탈아세틸화 효소 1, 히스톤 탈아세틸화 효소 2, 히스톤 탈아세틸화 효소 3, 히스톤 탈아세틸화 효소 6, 히스톤 탈아세틸화 효소 8의 발현은 고지방식이를 섭취한 대조군과 유의적인 차이를 보이지 않았다. 고지방식이를 섭취한 군에 CG200745를 투여하였을 때 신장에서 히스톤 탈아세틸화 효소 10의 발현이 고지방식이를 섭취한 대조군(1.2

± 0.1 배)보다 1.4 ± 0.1 배 증가하였다($p < 0.05$ 고지방식이-대조군 vs 고지방식이-CG200745)(Figure 5). 쥐의 신장에서 히스톤 탈아세틸화 효소의 활성이 일반식을 섭취한 대조군보다 고지방식을 섭취한 대조군에서 1.2 ± 0.0 배 증가하였고($p < 0.05$ 일반식이-대조군 vs 고지방식이-대조군), CG200745를 투여하였을 때 일반식이군 수준으로 감소하였다(1.0 ± 0.0 배)($p < 0.01$ 고지방식이-대조군 vs 고지방식이-CG200745)(Figure 6).

3.5 고지방식이 섭취와 CG200745 투여에 의한 신장 내 염증성 사이토카인의 발현 변화:

고지방식이 섭취와 CG200745 투여에 의한 염증 정도를 확인하기 위해 신장에서 염증성 사이토카인의 mRNA 발현을 확인하였다. 신장에서 종양괴사인자 알파의 발현이 일반식을 섭취한 대조군보다 고지방식을 섭취한 대조군에서 1.6 ± 0.1 배 증가하였고($p < 0.01$ 일반식이-대조군 vs 고지방식이-대조군), CG200745 투여 시 1.3 ± 0.1 배 수준으로 감소하였다($p < 0.01$ 고지방식이-대조군 vs 고지방식이-CG200745)(Figure 7A). 신장에서 인터류킨 6의 발현이 일반식을 섭취한 대조군보다 고지방식을 섭취한 대조군에서 1.7 ± 0.2 배 증가하였고($p < 0.01$ 일반식이-대조군 vs 고지방식이-대조군), CG200745 투여 시 1.2 ± 0.1 배 수준으로 감소하였다($p < 0.05$ 고지방식이-대조군 vs 고지방식이-CG200745)(Figure 7B).

3.6 고지방식이 섭취와 CG200745 투여에 의한 레닌-안지오텐신계의 발현 변화:

고지방식이 섭취와 CG200745 투여에 의한 레닌-안지오텐신계의 활성을 확인하기 위해 신장에서의 안지오텐시노젠, 레닌, (프로)레닌 수용체, 안지오텐신 II 타입 1 수용체의 발현, 폐에서의 안지오텐신전환효소의 발현,

그리고 혈청에서의 안지오텐신 II 농도를 확인하였다. 신장에서 안지오텐시노겐의 mRNA 발현이 일반식을 섭취한 대조군보다 고지방식을 섭취한 대조군에서 1.5 ± 0.0 배 증가하고($p < 0.001$ 일반식이-대조군 vs 고지방식이-대조군), CG200745 투여 시 0.8 ± 0.1 배 수준으로 감소하였다($p < 0.001$ 고지방식이-대조군 vs 고지방식이-CG200745)(Figure 8A). 신장에서 안지오텐시노겐 단백질의 양은 일반식을 섭취한 대조군보다 고지방식을 섭취한 대조군에서 1.6 ± 0.2 배 증가하였고($p < 0.05$ 일반식이-대조군 vs 고지방식이-대조군), CG200745 투여 시 0.8 ± 0.1 배 수준으로 감소하였다($p < 0.01$ 고지방식이-대조군 vs 고지방식이-CG200745)(Figure 8B). 신장에서 레닌의 발현이 일반식을 섭취한 대조군보다 고지방식을 섭취한 대조군에서 1.4 ± 0.1 배 증가하였고($p < 0.001$ 일반식이-대조군 vs 고지방식이-대조군), CG200745 투여 시 1.1 ± 0.0 배 수준으로 감소하였다($p < 0.01$ 고지방식이-대조군 vs 고지방식이-CG200745)(Figure 8C). 신장에서 (프로)레닌 수용체의 발현은 일반식을 섭취한 대조군보다 고지방식을 섭취한 대조군에서 3.3 ± 0.2 배 증가하였다($p < 0.001$ 일반식이-대조군 vs 고지방식이-대조군). 고지방식을 섭취한 군에 CG200745를 투여하였을 때 신장에서 (프로)레닌 수용체의 발현은 고지방식을 섭취한 대조군과 유의적인 차이를 보이지 않았다(Figure 8D). 폐에서 안지오텐신전환효소의 발현은 일반식을 섭취한 대조군보다 고지방식을 섭취한 대조군에서 1.6 ± 0.1 배 증가하였고($p < 0.01$ 일반식이-대조군 vs 고지방식이-대조군), CG200745 투여 시 1.0 ± 0.1 배 수준으로 감소하였다($p < 0.01$ 고지방식이-대조군 vs 고지방식이-CG200745)(Figure 8E). 혈청에서 안지오텐신 II의 농도는 일반식을 섭취한 대조군보다 고지방식을 섭취한 군에서 9.1 ± 1.6 배 높았다($p < 0.001$ 일반식이-대조군 vs 고지방식이-대조군). 고지방식을 섭취한 군에 CG200745 투여하였을 때 혈청에서 안지오텐신 II의 농도가 3.9 ± 1.2 배 수준으로 감소하였다($p < 0.05$ 고지방식이-대조군 vs 고지방식이-CG200745)(Figure 8F). 신장에서 안지오텐신 II 타입 1 수용체의 발현은 일반식을 섭취한 대조군보다 고지방식을 섭취한 대조군에서 1.5 ± 0.1 배 증가하였다($p < 0.01$ 일반식이-대조군 vs 고지방식이

-대조군). 고지방식이를 섭취한 군에 CG200745를 투여하였을 때 신장에서 안지오텐신 II 타입 1 수용체의 발현 수준은 유의적인 차이가 없었다 (Figure 8G).

3.7 고지방식이 섭취와 CG200745 투여에 의한 신장 내 나트륨 수송체 및 수분 통로의 발현 변화:

고지방식이 섭취와 CG200745 투여에 의한 신장에서의 나트륨/물의 재흡수 상태를 확인하기 위해 신장에서의 나트륨 수송체 및 수분 통로의 mRNA 발현을 확인하였다.

3.7.1. 나트륨 수송체 mRNA 발현 변화:

고지방식이를 섭취한 대조군의 신장에서 알파형 나트륨 칼륨 펌프, 베타형 나트륨 칼륨 펌프, 감마형 나트륨 칼륨 펌프, 염화나트륨 공동수송체의 발현이 일반식을 섭취한 대조군보다 증가하였다(알파형 나트륨 칼륨 펌프: 2.2 ± 0.3 배, 베타형 나트륨 칼륨 펌프: 2.6 ± 0.5 배, 감마형 나트륨 칼륨 펌프: 2.9 ± 0.4 배, 염화나트륨 공동수송체: 2.3 ± 0.3 배)($p < 0.05$ 일반식이-대조군 vs 고지방식이-대조군). 고지방식을 섭취한 군에 CG200745를 투여하였을 때 신장에서 나트륨 수송체의 발현은 고지방식을 섭취한 군의 대조군과 유의적인 차이를 보이지 않았다(Figure 9).

3.7.2. 수분 통로 mRNA 발현 변화:

고지방식을 섭취한 대조군의 신장에서 아쿠아포린 1의 발현이 일반식을 섭취한 대조군보다 1.5 ± 0.1 배 증가하였다($p < 0.01$ 일반식이-대조군 vs 고지방식이-대조군). 고지방식을 섭취한 군에 CG200745를 투여하였을 때 신장에서 아쿠아포린 1 발현은 고지방식을 섭취한 군의 대조군과 유의적인 차이를 보이지 않았다(Figure 10).

3.8 고지방식이 섭취와 CG200745 투여에 의한 장간막 동맥의 수축 변화:

고지방식이 섭취와 CG200745 투여에 의한 혈관 수축을 확인하기 위해 장간막 동맥에서의 미오신 경사슬 인산화 효소, 인산화 된 미오신 탈인산화 효소의 표적 아단위 1, 인산화 된 미오신 경사슬 20의 단백질 양을 확인하였다. 장간막 동맥에서 미오신 경사슬 인산화 효소 단백질의 양은 일반식을 섭취한 대조군보다 고지방식을 섭취한 대조군에서 2.3 ± 0.3 배 증가하였고($p < 0.01$ 일반식이-대조군 vs 고지방식이-대조군), CG200745 투여 시 1.0 ± 0.3 배 수준으로 감소하였다($p < 0.05$ 고지방식이-대조군 vs 고지방식이-CG200745)(Figure 11A). 장간막 동맥에서 미오신 탈인산화 효소의 표적 아단위 1 단백질의 인산화는 일반식을 섭취한 대조군보다 고지방식을 섭취한 대조군에서 2.2 ± 0.0 배 증가하였고($p < 0.001$ 일반식이-대조군 vs 고지방식이-대조군), CG200745 투여 시 1.0 ± 0.2 배 수준으로 감소하였다($p < 0.01$ 고지방식이-대조군 vs 고지방식이-CG200745)(Figure 11B). 장간막 동맥에서 미오신 경사슬 20의 인산화는 일반식을 섭취한 대조군보다 고지방식을 섭취한 대조군에서 1.8 ± 0.2 배 증가하였고($p < 0.01$ 일반식이-대조군 vs 고지방식이-대조군), CG200745 투여 시 0.6 ± 0.1 배 수준으로 감소하였다($p < 0.01$ 고지방식이-대조군 vs 고지방식이-CG200745)(Figure 11C).

3.9 고지방식이 섭취와 RGFP966 투여에 의한 혈압 변화:

3.9.1. 고지방식이 섭취 군에 의한 체중 증가 및 혈압 상승:

9주령의 C57BL/6 쥐를 무작위로 두 군으로 나누고 20주 동안 일반식이 또는 고지방식을 공급하였다. 식이 공급 전 두 군 간의 체중과 혈압은 유의적인 차이가 없었다. 20주 동안 각각의 식이를 섭취한 후 두 군 모두 체중이 증가하였으나 고지방식에서 일반식이군보다 체중이 더 증가하였

다. 일반식이군의 체중은 22.1 ± 0.2 g에서 30.0 ± 0.6 g, 고지방식이군의 체중은 21.9 ± 0.3 g에서 39.9 ± 1.0 g으로 증가하였다($p < 0.001$ 일반식이군 vs 고지방식이군)(Figure 12A). 일반식이군의 경우 수축기 혈압은 115.6 ± 2.1 mmHg에서 115.3 ± 2.3 mmHg로 유의적인 변화가 없었지만, 고지방식이군은 수축기 혈압이 115.0 ± 3.0 mmHg에서 146.6 ± 1.1 mmHg로 상승하였다($p < 0.001$, 일반식이군 vs 고지방식이군)(Figure 12B). 일반식이군의 경우 이완기 혈압은 87.1 ± 2.3 mmHg에서 85.2 ± 1.4 mmHg로 유의적인 변화가 없었지만, 고지방식이군은 이완기 혈압이 87.1 ± 1.2 mmHg에서 114.7 ± 1.9 mmHg로 상승하였다($p < 0.001$, 일반식이군 vs 고지방식이군)(Figure 12C).

3.9.2. RGFP966 투여에 의한 혈압 변화:

고지방식으로 유도한 고혈압 모델에서 RGFP966의 혈압 강하 효과를 조사하기 위해 각 식이 군에 생리식염수 또는 체중 kg당 0.5 mg의 RGFP966을 하루에 한 번 복강 내 주사로 6일 동안 투여하였다. 일반식이를 섭취한 쥐의 혈압은 RGFP966을 투여하였을 때 대조군과 유의적인 차이를 보이지 않았다(Figure 12D&E). 고지방식이를 섭취한 대조군은 높은 수축기 및 이완기 혈압을 유지했지만, RGFP966을 투여한 군의 경우 수축기 및 이완기 혈압이 일반식이군 수준으로 낮아졌다(수축기 혈압: 146.7 ± 1.6 mmHg에서 121.1 ± 2.2 mmHg로 강하, 이완기 혈압: 114.3 ± 3.5 mmHg에서 89.3 ± 1.6 mmHg로 강하)($p < 0.001$ 고지방식이-대조군 vs 고지방식이-RGFP966 투여군)(Figure 12D&E). 일반식이 및 고지방식이를 섭취한 쥐의 체중, 식이 섭취량, 수분섭취량은 RGFP966 투여에 의한 유의적인 차이를 보이지 않았다(Figure 12F-H).

3.10 고지방식이 섭취와 RGFP966 투여에 의한 신장 내 히스톤 탈아세틸화 효소 3의 활성 변화:

고지방식이 섭취와 RGFP966 투여에 의한 신장에서의 히스톤 탈아세틸화 효소 3의 활성을 확인하였다. RGFP966는 히스톤 탈아세틸화 효소 3의 선택적 억제제이다(27). 쥐의 신장에서 히스톤 탈아세틸화 효소 3의 활성이 일반식을 섭취한 대조군보다 고지방식을 섭취한 대조군에서 1.2 ± 0.0 배 증가하였고($p < 0.05$ 일반식이-대조군 vs 고지방식이-대조군), RGFP966을 투여하였을 때 일반식이군 수준으로 감소하였다(1.0 ± 0.1 배)($p < 0.05$ 고지방식이-대조군 vs 고지방식이-RGFP966)(Figure 13).

3.11 고지방식이 섭취와 RGFP966 투여에 의한 신장 내 염증성 사이토카인의 변화:

고지방식이 섭취와 RGFP966 투여에 의한 염증 정도를 확인하기 위해 신장에서 염증성 사이토카인의 mRNA 발현을 확인하였다. 신장에서 종양괴사인자 알파의 발현이 일반식을 섭취한 대조군보다 고지방식을 섭취한 대조군에서 4.4 ± 1.5 배 증가하였고($p < 0.05$ 일반식이-대조군 vs 고지방식이-대조군), RGFP966 투여에 의한 유의적인 차이를 보이지 않았다(Figure 14A). 신장에서 인터류킨 6의 발현은 일반식을 섭취한 대조군보다 고지방식을 섭취한 대조군에서 3.0 ± 0.6 배 증가하였고($p < 0.05$ 일반식이-대조군 vs 고지방식이-대조군), RGFP966 투여에 의한 유의적인 차이를 보이지 않았다(Figure 14B).

3.12 고지방식이 섭취와 RGFP966 투여에 의한 혈청 안지오텐신 II의 농도 변화:

고지방식이 섭취와 RGFP966 투여에 의한 레닌-안지오텐신계의 활성 변화를 확인하기 위해 혈청에서의 안지오텐신 II 농도를 확인하였다. 혈청에서 안지오텐신 II의 농도는 일반식을 섭취한 대조군보다 고지방식을 섭취한 군에서 1.8 ± 0.3 배 높았고($p < 0.05$ 일반식이-대조군 vs 고지방식이-대조군), RGFP966을 투여하였을 때 유의적인 차이를 보이지 않았다(Figure 15).

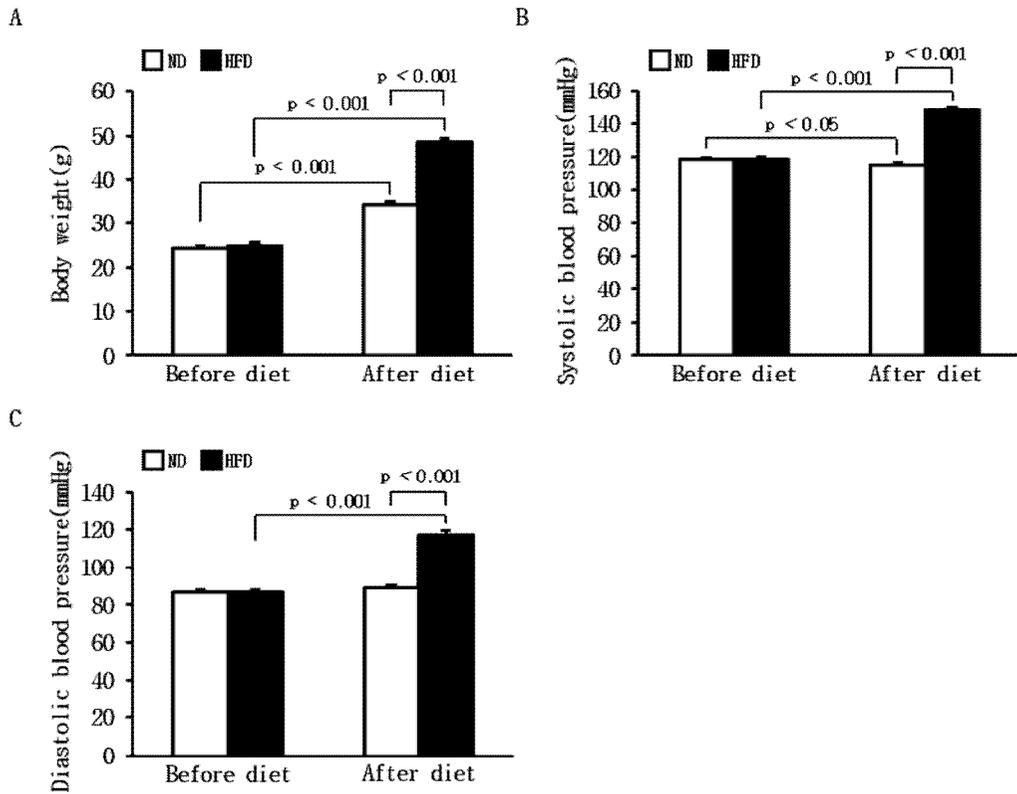


Figure 1. Effects of high-fat diet on body weight and blood pressure in mice. Graphs summarize body weight(A), systolic blood pressure(B), and diastolic blood pressure(C). Results were expressed as the mean \pm SE(n = 5-10). HFD: high-fat diet; ND: normal diet; SE: standard error.

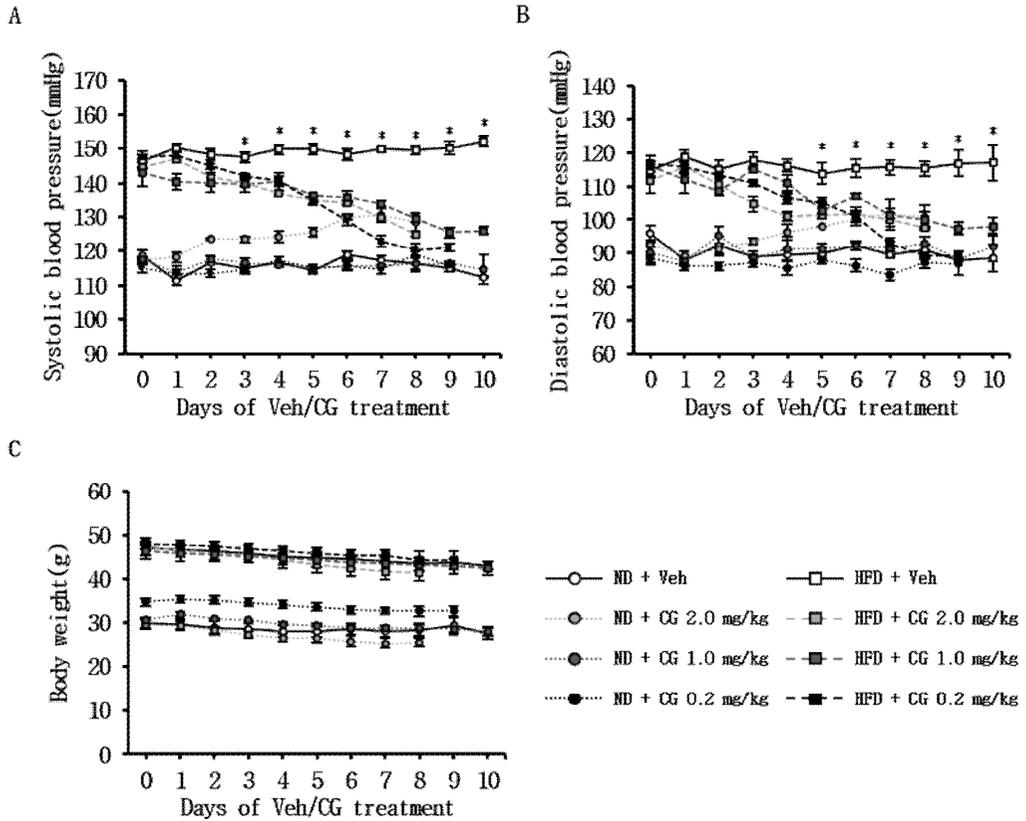


Figure 2. Effects of high-fat diet and various concentrations of CG200745 on blood pressure and body weight in mice. Graphs summarize systolic blood pressure(A), diastolic blood pressure(B), and body weight(C) of groups of ND with Veh, ND with CG(0.2 mg/kg, 1.0 mg/kg, 2.0 mg/kg), HFD with Veh, and HFD with CG(0.2 mg/kg, 1.0 mg/kg, 2.0 mg/kg). Results were expressed as the mean \pm SE(n = 2-10). CG: CG200745; HFD: high-fat diet; ND: normal diet; SE: standard error; Veh: vehicle; *: p < 0.05 HFD + Veh vs HFD + CG.

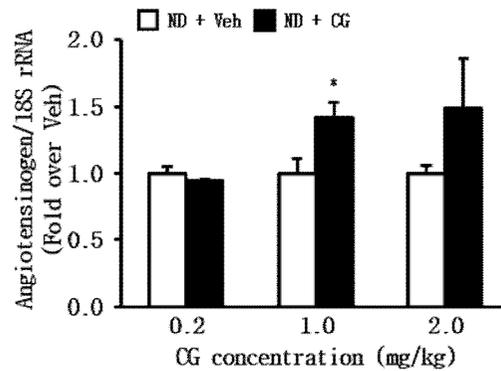


Figure 3. Effects of various concentrations of CG200745 on expression of angiotensinogen in the kidney of normal diet-fed mice. Graph summarizes mRNA levels of angiotensinogen. Results were expressed as the mean \pm SE(n = 2-4). CG: CG200745; ND: normal diet; SE: standard error; Veh: vehicle; *: $p < 0.05$.

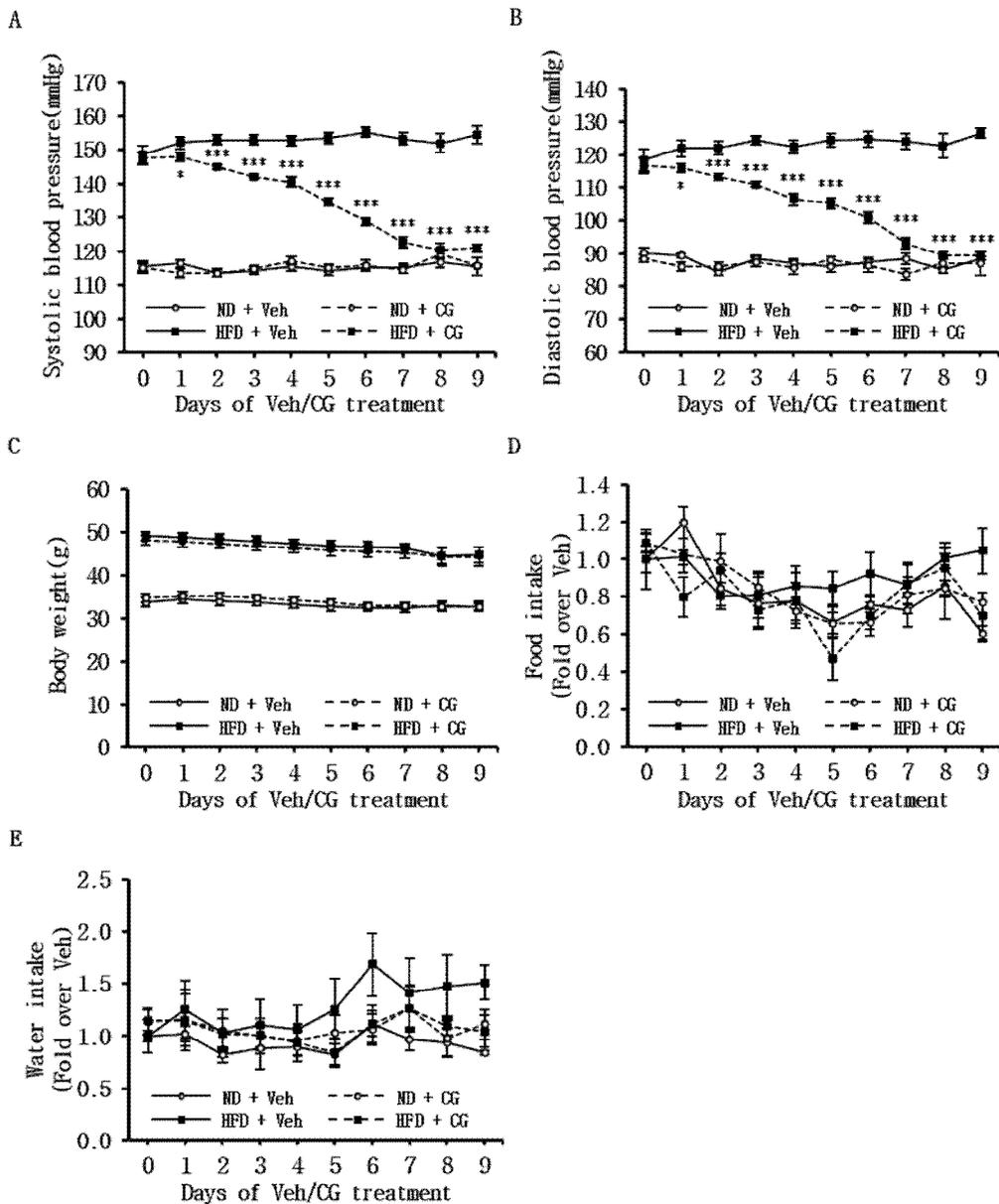


Figure 4. Effects of high-fat diet and CG200745 on blood pressure, body weight, food intake, and water intake in mice. Graphs summarize systolic blood pressure(A), diastolic blood pressure(B), body weight(C), food intake(D), and water intake(E) measured before and after vehicle or CG200745

administration. Results were expressed as the mean \pm SE(n = 10). CG: CG200745; HFD: high-fat diet; ND: normal diet; SE: standard error; Veh: vehicle; *: $p < 0.05$ HFD + Veh vs HFD + CG; ***: $p < 0.001$ HFD + Veh vs HFD + CG.

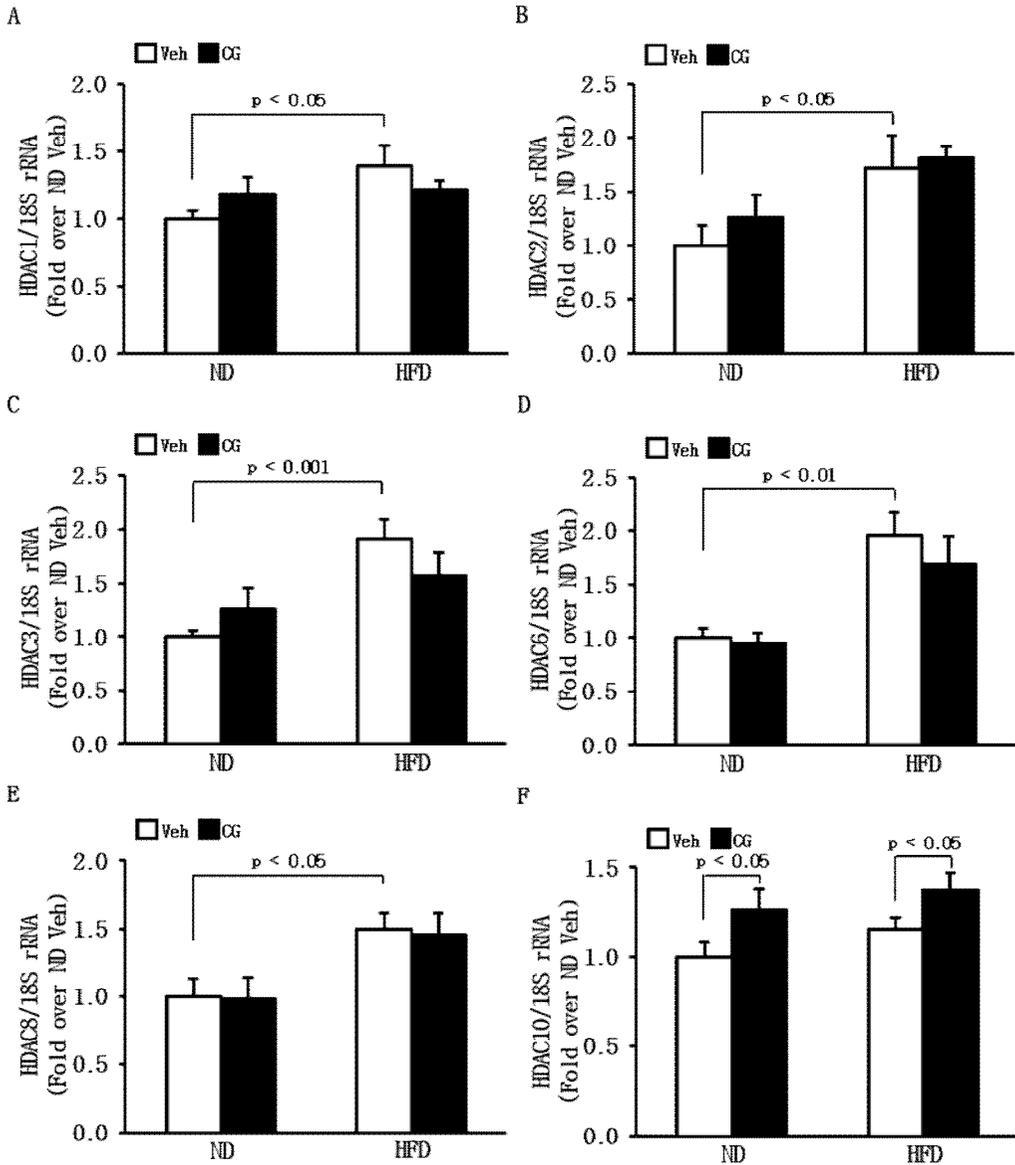


Figure 5. Effects of high-fat diet and CG200745 on the expressions of class I and class IIb histone deacetylases in mice kidney. Graphs summarize the mRNA levels of HDAC1(A), HDAC2(B), HDAC3(C), HDAC6(D), HDAC8(E), and HDAC10(F). Results were expressed as the mean \pm SE(n = 4-5). CG: CG200745; HDAC: histone deacetylase; HFD: high-fat diet; ND: normal diet;

SE: standard error; Veh: vehicle.

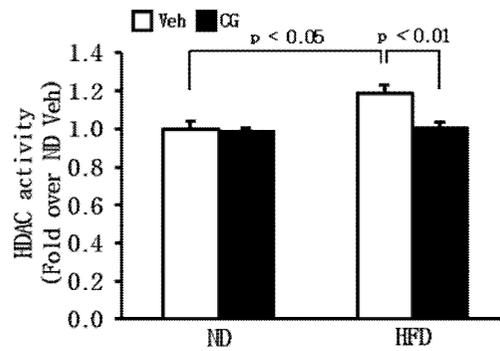


Figure 6. Effects of high-fat diet and CG200745 on the activities of histone deacetylases in mice kidney. Results were expressed as the mean \pm SE(n = 5-8). CG: CG200745; HDAC: histone deacetylase; HFD: high-fat diet; ND: normal diet; SE: standard error; Veh: vehicle.

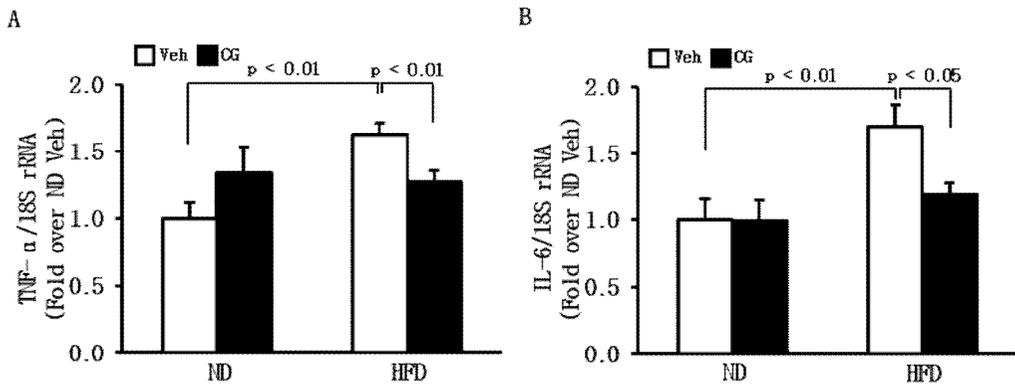
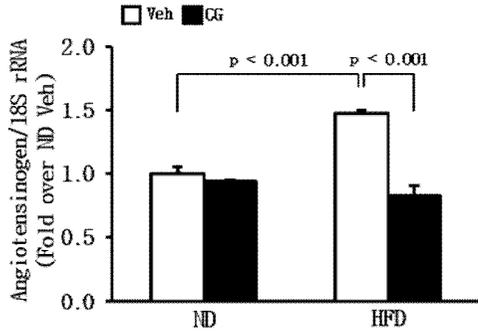
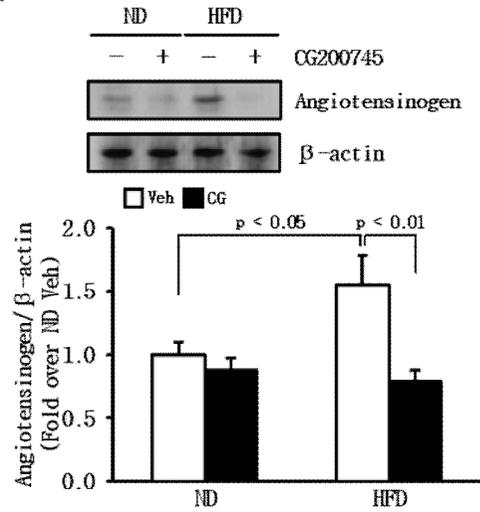


Figure 7. Effects of high-fat diet and CG200745 on the expressions of pro-inflammatory cytokines in mice kidney. Graphs summarize mRNA levels of TNF- α (A) and IL-6(B). Results were expressed as the mean \pm SE(n = 4-5). CG: CG200745; HFD: high-fat diet; IL-6: interleukin 6; ND: normal diet; SE: standard error; TNF- α : tumor necrosis factor- α ; Veh: vehicle.

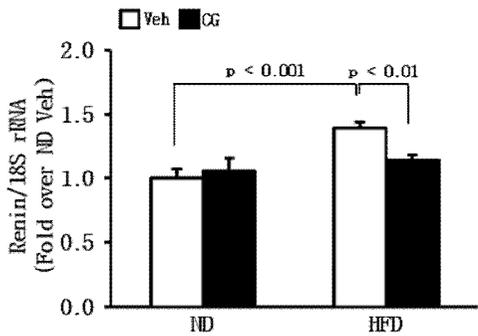
A



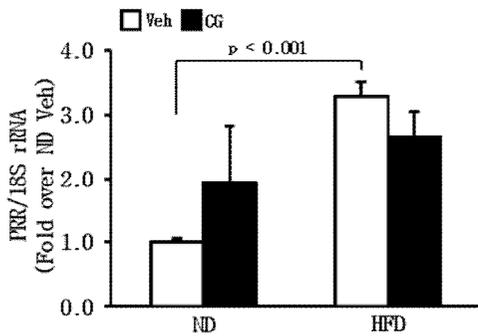
B



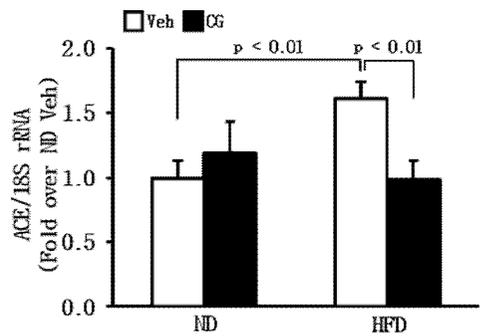
C



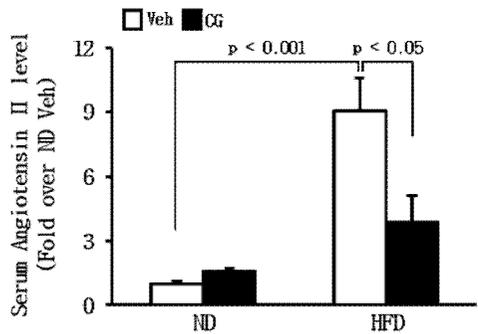
D



E



F



G

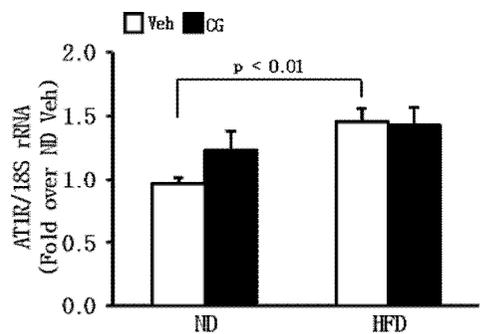


Figure 8. Effects of high-fat diet and CG200745 on the expressions of renin-angiotensin system components in mice kidney, lung, and serum. Graph summarizes mRNA levels of angiotensinogen(A) in the kidney. (B), A representative picture of western blot for angiotensinogen and internal control β -actin. Graph summarizes protein levels of angiotensinogen(B) in the kidney. Graphs summarize mRNA levels of renin(C) and (pro)renin receptor(D) in the kidney, ACE(E) in the lung, and levels of serum angiotensin II (F). Graph summarizes mRNA levels of AT1R(G) in the kidney. Results were expressed as the mean \pm SE(n = 3-5). ACE: angiotensin-converting enzyme; AT1R: angiotensin II type 1 receptor; CG: CG200745; HFD: high-fat diet; ND: normal diet; PRR: (pro)renin receptor; SE: standard error; Veh: vehicle.

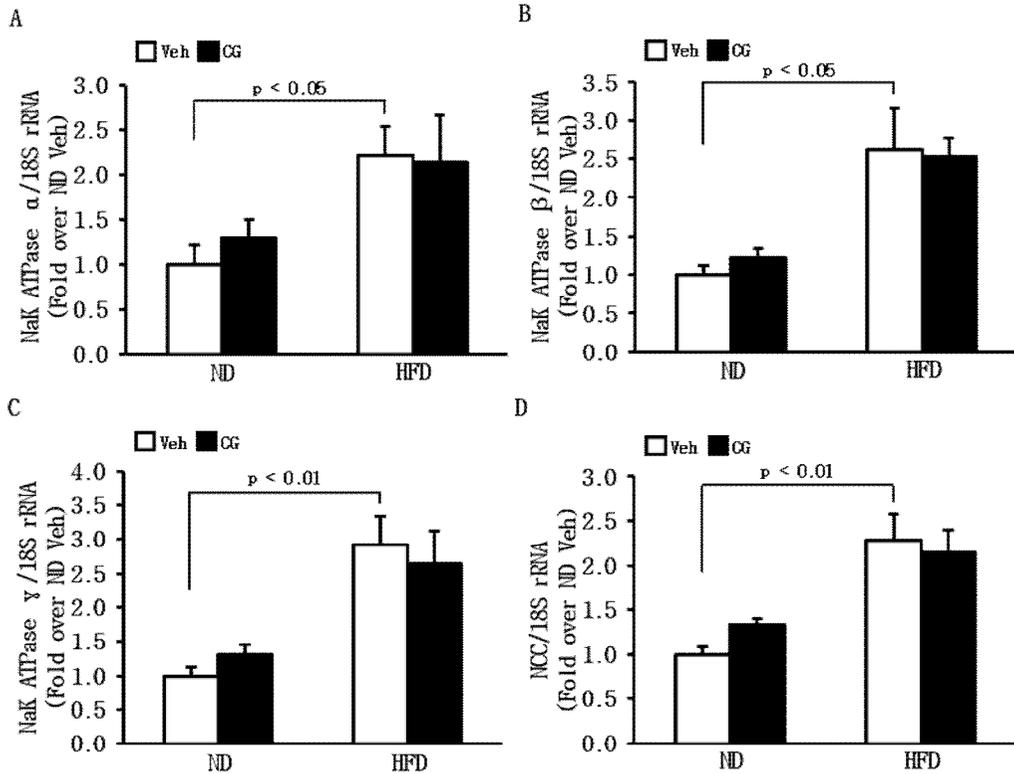


Figure 9. Effects of high-fat diet and CG200745 on the expressions of sodium transporters in mice kidney. Graphs summarize mRNA levels of NaK ATPase α (A), NaK ATPase β (B), NaK ATPase γ (C), and NCC(D). Results were expressed as the mean \pm SE(n = 3). CG: CG200745; HFD: high-fat diet; NCC: Na-Cl cotransporter; ND: normal diet; SE: standard error; Veh: vehicle.

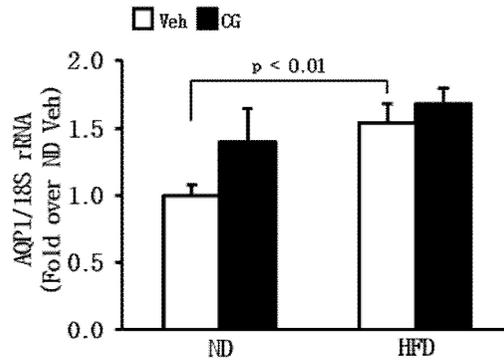


Figure 10. Effects of high-fat diet and CG200745 on the expression of aquaporin 1 in mice kidney. Results were expressed as the mean \pm SE (n = 4-5). AQP1: aquaporin 1; CG: CG200745; HFD: high-fat diet; ND: normal diet; SE: standard error; Veh: vehicle.

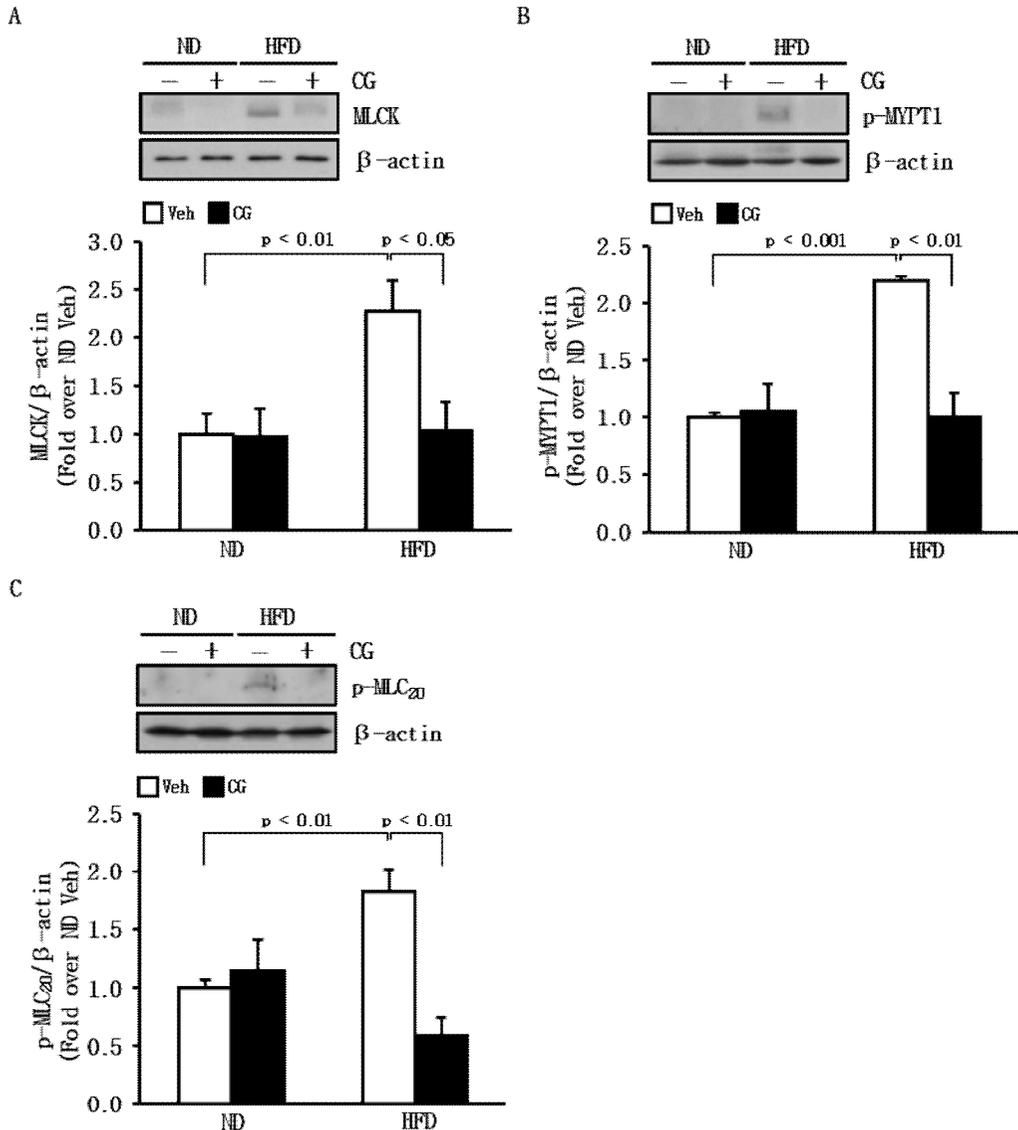
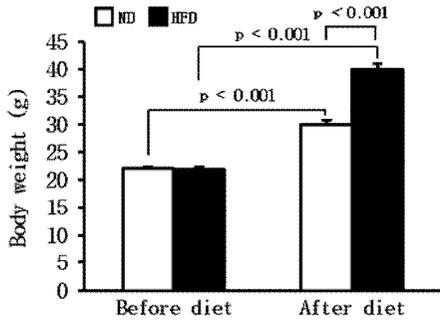


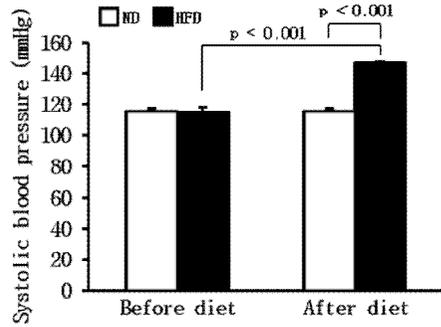
Figure 11. Effects of high-fat diet and CG200745 on the constriction of mice mesenteric arteries. (A-C), Representative picture of western blot for MLCK, phosphorylated MYPT1 at Thr853, phosphorylated MLC₂₀ at Thr18 and Ser19, and internal control β -actin. Graphs summarize MLCK(A), p-MYPT1(B), and p-MLC₂₀(C). Results were expressed as the mean \pm SE(n = 4-5). CG: CG200745; HFD: high-fat diet; MLC₂₀: myosin

light chain 20; MLCK: myosin light-chain kinase; MYPT1: myosin phosphatase-targeting subunit 1; ND: normal diet; p-: phosphorylated; SE: standard error; Veh: vehicle.

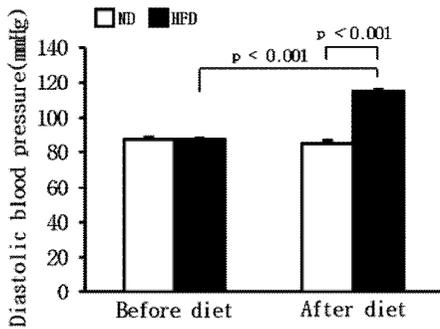
A



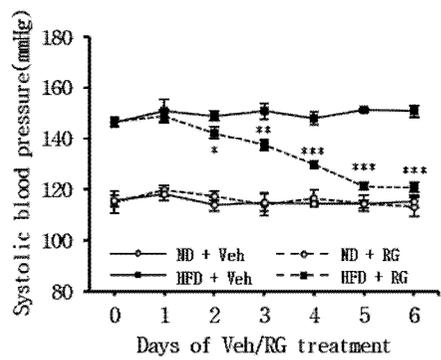
B



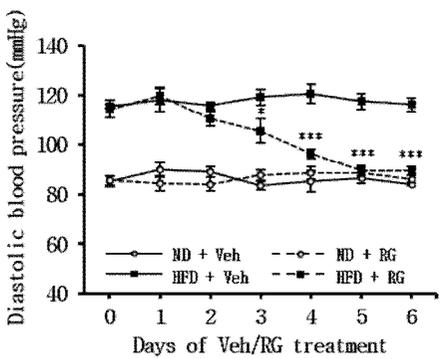
C



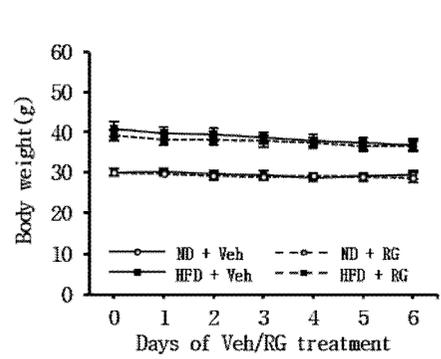
D



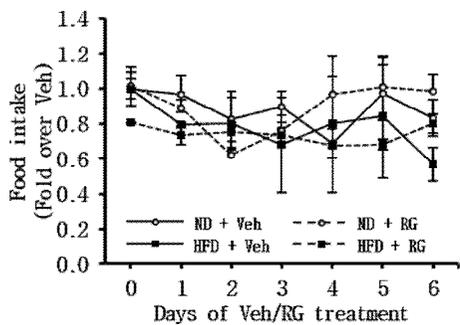
E



F



G



H

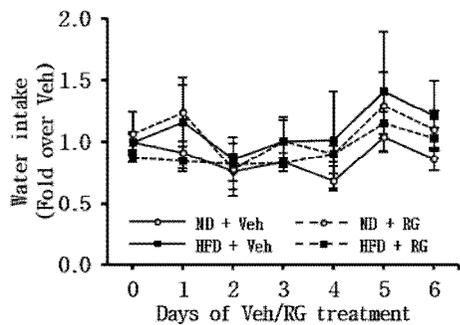


Figure 12. Effects of high-fat diet and RGFP966 on blood pressure, body weight, food intake, and water intake in mice. Graphs summarize body weight(A), systolic blood pressure(B), and diastolic blood pressure(C). Graphs summarize systolic blood pressure(D), diastolic blood pressure(E), body weight(F), food intake(G), and water intake(H) measured before and after vehicle or RGFP966 administration. Results were expressed as the mean \pm SE(n = 4-5). HFD: high-fat diet; ND: normal diet; RG: RGFP966; SE: standard error; Veh: vehicle; *: $p < 0.05$ HFD + Veh vs HFD + RG; **: $p < 0.01$ HFD + Veh vs HFD + RG; ***: $p < 0.001$ HFD + Veh vs HFD + RG.

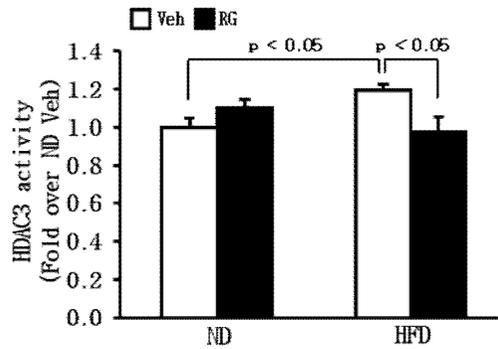


Figure 13. Effects of high-fat diet and RGFP966 on the activity of histone deacetylases 3 in mice kidney. Results were expressed as the mean \pm SE(n = 3-4). HDAC3: histone deacetylase 3; HFD: high-fat diet; ND: normal diet; RG: RGFP966; SE: standard error; Veh: vehicle.

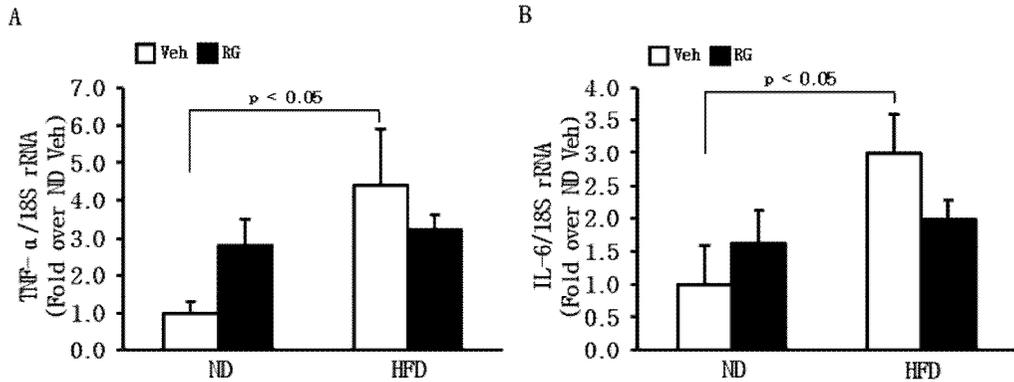


Figure 14. Effects of high-fat diet and RGFP966 on the expressions of pro-inflammatory cytokines in mice kidney. Graphs summarize mRNA levels of TNF- α (A) and IL-6(B). Results were expressed as the mean \pm SE(n = 3-4). HFD: high-fat diet; IL-6: interleukin 6; ND: normal diet; RG: RGFP966; SE: standard error; TNF- α : tumor necrosis factor- α ; Veh: vehicle.

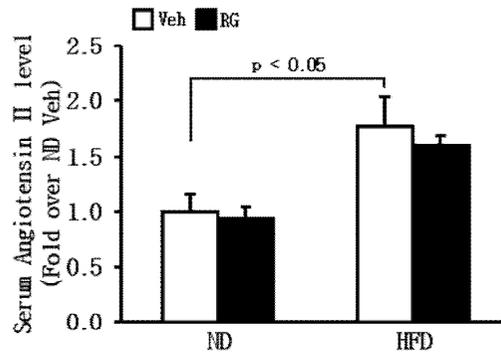


Figure 15. Effects of high-fat diet and RGFP966 on the angiotensin II level in mice serum. Results were expressed as the mean \pm SE(n = 4-5). HFD: high-fat diet; ND: normal diet; RG: RGFP966; SE: standard error; Veh: vehicle.

4. 고 찰

본 연구의 가장 중요한 발견은 항암 치료제로 개발된 히스톤 탈아세틸화 효소 억제제 CG200745가 고지방식으로 유도한 고혈압에 대해 개선 효과가 있으며, 작용하는 주요 기전이 감소된 안지오텐신 II에 의한 혈관 수축 억제라는 점이다. 이 연구 결과는 비만성 고혈압에 대한 새로운 치료 약물로 CG200745를 제시한다.

히스톤 탈아세틸화 효소는 핵내 히스톤 단백질뿐만 아니라 유전자 전사 활성을 조절하는 전사 인자를 포함한 많은 다른 단백질을 탈아세틸화하여 유전자 발현을 조절한다. 일반적으로 히스톤 단백질이 아세틸화되면 염색체가 느슨하게 되고 전사 인자가 프로모터에 결합하여 유전자 발현이 증가된다고 알려져 있으나, 최근 연구들에 의하면 항상 그런 것은 아니다. 예를 들면, 광범위 히스톤 탈아세틸화 효소 억제제인 발프로산은 아로마타제 유전자의 프로모터 영역에서 히스톤 단백질 H3와 히스톤 단백질 H4의 아세틸화를 억제하여 아로마타제의 발현을 억제하였다(28). 발프로산은 지방 축적/생성 관여 전사인자인 CCAAT/증폭자 결합 단백질 알파의 발현량을 감소시키고 CCAAT/증폭자 결합 단백질 알파가 아디포넥틴 프로모터에 적게 결합함으로써 궁극적으로 아디포넥틴 유전자 전사를 억제하였다(29). 또한, 발프로산은 미네랄코르티코이드 수용체의 아세틸화를 증가시켜 미네랄코르티코이드 수용체의 전사활성을 감소시켰다(24). 최재일 등(20)의 연구에서도 고지방식으로 유도한 고혈압 쥐에 발프로산을 투여하였을 때 안지오텐시노겐, 레닌 및 안지오텐신전환효소 발현이 억제되었다. 흥미롭게도 본 연구에서 CG200745가 고지방식으로 유도한 고혈압 쥐에서 안지오텐시노겐 발현을 감소시켰다.

히스톤 탈아세틸화 효소 억제제는 여러 기전을 통해 항고혈압 효과를 일으킨다. 클래스 I 히스톤 탈아세틸화 효소 억제제인 MS-275는 안지오텐신 II로 유도한 고혈압 동물 모델에서 혈관 두께 감소와 염증 억제를 통하여 고혈압을 개선하였다(25). 클래스 I 및 히스톤 탈아세틸화 효소 6 억제제

인 LMK235는 안지오텐신 II로 유도한 고혈압 및 본태성 고혈압 쥐 모델에서 혈관 수축 및 혈관 비대 억제를 통해 고혈압을 개선하였다(30). 본 연구에서도 CG200745가 고지방식이로 유도한 고혈압 쥐에서 안지오텐신 II의 생산과 혈관 수축 억제를 통해 높아진 혈압을 정상 수준으로 강하시키고 유지하였다.

안지오텐신 II는 비만성 고혈압 및 다른 고혈압을 유발하는 중요한 매개체 중 하나이다(31). 안지오텐신 II는 미오신 탈인산화 효소의 표적 아단위 1의 인산화 증가를 통해 미오신 경사슬 인산화 효소를 증가시킨다고 보고되었다(32,33). 미오신 탈인산화 효소의 표적 아단위 1의 인산화가 증가하면 미오신 경사슬 탈인산화 효소가 비활성화 되고 미오신 경사슬 20의 인산화가 증가하여 혈관 이완이 되지 않고 혈관이 수축되어 혈압이 상승하게 된다. 미오신 경사슬 20은 또한 칼슘의 조절으로 미오신 경사슬 인산화 효소에 의해 인산화된다(34). 본 연구결과 고지방식이로 유도한 고혈압 모델에서 안지오텐신 II의 증가로 인하여 탈인산화 효소의 표적 아단위 1의 인산화 증가와 미오신 경사슬 인산화 효소 단백질의 발현이 증가하였고, 결과적으로 미오신 경사슬 20의 인산화가 증가함으로 혈관 수축이 증가함을 보여주었다. CG200745는 고지방식이로 증가된 혈청 안지오텐신 II를 감소시켰고 미오신 탈인산화 효소의 표적 아단위 1의 인산화 감소와 미오신 경사슬 인산화 효소 단백질 발현 감소 및 미오신 경사슬 20의 인산화를 감소시킴으로써 비만성 고혈압을 억제하였다.

안지오텐시노젠을 생산하는 주요 기관은 간으로 알려져 있지만 신장, 뇌, 척수, 대동맥, 장간막, 심장, 폐, 부신, 대장, 위 등 다양한 조직에서도 생산되는 것으로 보고되었다(35). 안지오텐시노젠은 혈장에서 신장보다 많이 존재하지만(36), 신장의 사구체막을 통과하지 못하여 레닌과 반응하지 못하고 최종적으로 안지오텐신 II로 전환되는 양이 적다(37,38). 반면, 신장에서 생성되는 안지오텐시노젠 양은 적으나 신장 내의 레닌과 반응하기 때문에 안지오텐신 II의 생산성이 높다(36,39,40). 또한 신장에서의 레닌의 활성은 혈장 레닌의 활성보다 1,000배 높다(41). 결론적으로 안지오텐시노젠이 많은 혈장보다 적은 신장 간질액에서 안지오텐신 II의 농도가

30배 더 높다(42). 이는 신장이 안지오펜시노젠을 생산하는 주요 기관이 아님에도 불구하고, 신장에서 증가된 안지오펜시노젠 발현이 고혈압을 유발하는 중요한 요인 중 하나인 이유를 설명한다. 본 연구 결과는 쥐에서 고지방식이에 의해 증가된 신장내 안지오펜시노젠이 고지방식이에 의해 유도되는 고혈압 발생에 중요함을 보여주었다.

안지오펜신전환효소 억제제 및 안지오펜신 수용체 차단제와 같은 안지오펜신 II 억제제는 항고혈압제로 개발되어 현재 고혈압 환자에게 사용되고 있다. 그러나 기침, 현기증, 피로, 두통, 수면장애, 빈맥, 인후통, 부비동염, 속쓰림, 설사, 요통 등 많은 부작용과 내성이 보고되고 있다(43,44). 더욱이 비만 환자들의 경우 약에 대해 저항하는 경향이 있어서(45), 안지오펜신 II에 대한 새로운 억제제의 개발은 더 나은 치료법이 필요한 비만성 고혈압 환자들에게 중요하다. CG200745의 부작용도 앞으로 더 연구되어야 하겠지만 본 연구에서 사용한 CG200745의 용량은 0.2 mg/kg으로 항암치료에 사용된 임상시험 용량(1.275-6.25 mg/kg)보다 6-31배 낮은 용량으로, CG200745의 부작용 적은 고혈압 치료제로서의 가능성을 보여주는 결과라고 사료된다(46).

염증성 사이토카인은 신장 손상을 일으켜 고혈압을 유발하고 신장에서 레닌-안지오펜신계를 활성화시킨다(47). 고지방식이를 12주 동안 섭취시키면 쥐의 신장에서 염증성 사이토카인의 발현이 유의하게 증가한다(48). 본 연구에서 고지방식이에 의해 쥐의 신장내 종양괴사인자 알파와 인터류킨 6의 발현이 증가하였고, CG200745 투여 시 고지방식이 유도 쥐의 신장내 종양괴사인자 알파 및 인터류킨 6 발현 증가가 감소되었다. 이러한 연구 결과는 CG200745에 의한 비만성 고혈압 억제 효과가 고지방식으로 유도된 신장내 염증성 사이토카인 발현 증가 억제를 통한 항염증 작용기전과 관련 있음을 시사한다.

최재일 등(20)의 연구에서는 고지방식으로 유도한 고혈압 모델 쥐의 신장에서 히스톤의 아세틸화가 감소됨을 보여줌으로써 간접적으로 히스톤 탈아세틸화 활성이 증가함을 보여주었다. 본 연구에서는 신장 용해물의 히스톤 탈아세틸화 효소가 기질로 제공된 아세틸화된 라이신을 탈아세틸화시키

는 것을 측정하여 고지방식이에 의해 증가된 히스톤 탈아세틸화 효소의 활성이 증가함을 직접적으로 보여주었다.

최근 히스톤 탈아세틸화 효소를 선택적으로 억제하는 RGFP966가 안지오텐신 II로 유도한 고혈압 모델에서 신장비대와 혈관 두께를 줄임으로써 고혈압을 예방했다고 보고된 바 있어(25), 본 연구에서 추가적으로 RGFP966이 고지방식으로 유도한 고혈압 모델 쥐에서 고혈압을 개선하는지 알아보려 하였다. 흥미롭게도 고지방식으로 유도한 고혈압 본 연구에서 신장의 히스톤 탈아세틸화 효소 3의 활성, 혈청 안지오텐신 II 농도, 신장의 염증성 사이토카인의 발현이 증가하였으며, RGFP966 투여 시 고지방식이 유도혈압과 신장의 히스톤 탈아세틸화 효소 3 활성이 낮아진 것을 확인할 수 있었으나, 혈청 안지오텐신 II 농도와 신장에서의 염증성 사이토카인의 발현을 낮추지 못하였다. 이러한 실험결과는 CG200745와 RGFP966이 서로 다른 분자 및 신호기전에 의해 혈압을 조절한다고 추정할 수 있다.

결론적으로, 본 연구 결과는 쥐에서 고지방식이에 의한 히스톤 탈아세틸화 효소 활성 증가가 신장 염증 증가와 함께 혈청 안지오텐신 II를 증가시키고 혈관 수축을 일으켜 고혈압이 발생됨을 보여주었다. 비만성 고혈압 쥐에 CG200745 투여 시 히스톤 탈아세틸화효소 활성이 감소함으로써 신장 염증이 감소되고 안지오텐신 II 발현이 감소되어 혈관 수축이 억제되므로써 고혈압이 개선됨을 확인하였다. 이에 본 연구자는 비만성 고혈압 치료 약물로서 CG200745와 RGFP966의 사용 가능성과 추후 RGFP966 사용에 의한 비만성 고혈압의 치료 기전에 대한 추가 연구의 필요성을 제안한다.

5. 요약

본 연구에서는 고지방식이로 유도한 고혈압 쥐 모델에서 히스톤 탈아세틸화 효소 억제제(CG200745, RGFP966)가 높아진 혈압을 정상수준으로 회복시키는지 확인하고 그 작용기전을 규명하고자 하였다. 일반식을 섭취시킨 쥐와 비교하여, 고지방식을 섭취시킨 쥐의 몸무게와 혈압이 크게 증가하였다. 고지방식이 섭취로 수축기 혈압이 140 mmHg 이상이 된 고혈압 쥐에 히스톤 탈아세틸화 효소 억제제 투여 시 혈압이 정상 수준으로 회복-유지되었다. 고지방식이 섭취에 의해 신장에서 히스톤 탈아세틸화 효소 활성이 증가하였다. 신장과 폐, 혈청에서 레닌-안지오텐신계의 구성 성분(안지오텐시노젠, 레닌, 안지오텐신전환효소, 안지오텐신 II)과 함께 염증이 증가하였고 CG200745에 의해 감소한 것을 확인하였다. 장간막 동맥에서 수축 인자들(장간막 동맥에서의 미오신 경사슬 인산화 효소, 미오신 탈인산화 효소의 표적 아단위 1의 인산화, 미오신 경사슬 20의 인산화)이 증가하였고 CG200745를 투여하였을 때 정상수준으로 감소하였다. 본 실험 결과는 쥐에서 고지방식이에 의한 히스톤 탈아세틸화 효소의 활성 증가가 신장 염증과 안지오텐신 II를 증가시킴으로써 혈관 수축을 일으켜 고혈압을 발생시키고, CG200745 투여 시 히스톤 탈아세틸화 효소 활성이 감소하고 신장 염증이 줄며 안지오텐신 II 발현 증가가 감소되고 혈관 수축이 억제됨으로써 고혈압이 개선/치료될 수 있음을 제시한다.

참 고 문 헌

1. Popkin BM, Gordon-Larsen P: The nutrition transition: worldwide obesity dynamics and their determinants. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2004; 28(Suppl 3): S2-9.
2. Pi-Sunyer X: The medical risks of obesity. *Postgrad Med* 2009; 121(6): E21-33.
3. Mark AL, Correia M, Morgan DA, Shaffer RA, Haynes YG: State-of-the-art-lecture: obesity-induced hypertension: new concepts from the emerging biology of obesity. *Hypertension* 1999; 33(1 Pt 2): 537-41.
4. 권덕철: 2019 국민건강통계 국민건강영양조사 제8기 1차년도(2019). 초판. 세종, 보건복지부, 2020. p.1-267.
5. Seravalle G, Grassi G: Obesity and hypertension. *Pharmacol Res* 2017; 122: 1-7.
6. Woods TC et al: Canagliflozin prevents intrarenal angiotensinogen augmentation and mitigates kidney injury and hypertension in mouse model of type 2 diabetes mellitus. *Am J Nephrol* 2019; 49(4): 331-42.
7. Nishiyama A, Kobori H: Independent regulation of renin-angiotensin-aldosterone system in the kidney. *Clin Exp Nephrol* 2018; 22(6): 1231-9.
8. Hall JE, do Carmo JM, da Silva AA, Wang Z, Hall ME: Obesity-induced hypertension: interaction of neurohumoral and renal mechanisms. *Circ Res* 2015; 116(6): 991-1006.

9. Montani JP, Antic V, Yang Z, Dulloo A: Pathways from obesity to hypertension: from the perspective of a vicious triangle. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2002; 26(Suppl 2): S28-38.
10. Thaker V, Patel K: Recent advances in pharmacotherapy of acute coronary syndrome. *Int J Basic Clin Pharmacol* 2017; 5(5): 1695-703.
11. Viera AJ: Resistant hypertension. *J Am Board Fam Med* 2012; 25(4): 487-95.
12. Setaro JF, Black HR: Refractory hypertension. *N Engl J Med* 1992; 327(8): 543-7.
13. Wolffe AP, Matzke MA: Epigenetics: regulation through repression. *Science* 1999; 286(5439): 481-6.
14. Jiménez-Chillarón JC et al: The role of nutrition on epigenetic modifications and their implications on health. *Biochimie* 2012; 94(11): 2242-63.
15. Arguelles AO, Meruvu S, Bowman JD, Choudhury M: Are epigenetic drugs for diabetes and obesity at our door step? *Drug discovery today* 2016; 21(3): 499-509.
16. Cappellacci L, Perinelli DR, Maggi F, Grifantini M, Petrelli R: Recent progress in histone deacetylase inhibitors as anticancer agents. *Curr Med Chem* 2018; 27(15): 2449-93.
17. Eckschlager T, Plch J, Stiborova M, Hrabeta J: Histone deacetylase inhibitors as anticancer drugs. *Int J Mol Sci* 2017; 18(7): 1414.
18. Yoon S, Eom GH. HDAC and HDAC Inhibitor: from cancer to

- cardiovascular diseases. *Chonnam Med J* 2016; 52(1): 1-11.
19. Cardinale JP et al: HDAC inhibition attenuates inflammatory, hypertrophic, and hypertensive responses in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 2010; 56(3): 437-44.
 20. Choi J, Park S, Kwon TK, Sohn SI, Park KM, Kim JI: Role of the histone deacetylase inhibitor valproic acid in high-fat diet-induced hypertension via inhibition of HDAC1/angiotensin II axis. *Int J Obes (Lond)* 2017; 41(11): 1702-9.
 21. Kim YD et al: HDAC inhibitor, CG-745, enhances the anti-cancer effect of anti-PD-1 immune checkpoint inhibitor by modulation of the immune microenvironment. *J Cancer* 2020; 11(14): 4059-72.
 22. CrystalGenomics: Pipeline. CrystalGenomics [Internet] 2021 [cited 2021 Oct 6]. Available from: URL:<http://www.crystalgenomics.com/m21.php>.
 23. Lee E et al: Upregulation of C/EBPbeta and TSC2 by an HDAC inhibitor CG200745 protects heart from DOCA-induced hypertrophy. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2019; 46(3): 226-36.
 24. Lee HA, Lee DY, Cho HM, Kim SY, Iwasaki Y, Kim IK: Histone deacetylase inhibition attenuates transcriptional activity of mineralocorticoid receptor through its acetylation and prevents development of hypertension. *Circ Res* 2013; 112(7): 1004-12.
 25. Ryu et al: Class I histone deacetylase inhibitor MS-275 attenuates vasoconstriction and inflammation in angiotensin II -induced hypertension. *PLoS One* 2019; 14(3): e0213186.
 26. Hyun Y et al: Preclinical studies of CG200745, novel histone deacetylase inhibitor discovered using structure-based drug

discovery technologies. AACR 2009; Abstract# 4561.

27. Zhang W, Sun X, Ba G, Tang R, Lin H: RGFP966, a selective HDAC3 inhibitor, ameliorates allergic and inflammatory responses in an OVA-induced allergic rhinitis mouse model. *Int Immunopharmacol* 2021; 93: 107400.
28. Chen Y, Cai S, Wang J, Xu M: Valproic acid-induced histone acetylation suppresses CYP19 gene expression and inhibits the growth and survival of endometrial stromal cells. *Int J Mol Med* 2015; 36(3): 725-32.
29. Qiao L, Schaack J, Shao J: Suppression of adiponectin gene expression by histone deacetylase inhibitor valproic acid. *Endocrinology* 2006; 147(2): 865-74.
30. Choi SY et al: Histone deacetylase inhibitor LMK235 attenuates vascular constriction and aortic remodelling in hypertension. *J Cell Mol Med* 2019; 23(4): 2801-12.
31. Sparks MA, Crowley SD, Gurley SB, Mirotso M, Coffman TM: Classical renin-angiotensin system in kidney physiology. *Compr Physiol* 2014; 4(3): 1201-28.
32. Chiu WC et al: Angiotensin II regulates the LARG/RhoA/MYPT1 axis in rat vascular smooth muscle in vitro. *Acta Pharmacol Sin* 2012; 33(12): 1502-10.
33. Han YJ, Hu WY, Piano M, de Lanerolle P: Regulation of myosin light chain kinase expression by angiotensin II in hypertension. *Am J Hypertens* 2008; 21(8): 860-5.
34. Eto M: Regulation of cellular protein phosphatase-1 (PP1) by phosphorylation of the CPI-17 family, C-kinase-activated PP1

- inhibitors. *J Biol Chem* 2009; 284(51): 35273-7.
35. Campbell DJ, Habener JF: Angiotensinogen gene is expressed and differentially regulated in multiple tissues of the rat. *J Clin Invest* 1986; 78(1): 31-9.
36. Zou LX, Imig JD, von Thun AM, Hymel A, Ono H, Navar LG: Receptor-mediated intrarenal angiotensin II augmentation in angiotensin II-infused rats. *Hypertension* 1996; 28(4): 669-77.
37. Kobori H et al: Young scholars award lecture intratubular angiotensinogen in hypertension and kidney diseases. *Am J Hypertens* 2006; 19(5): 541-50.
38. Kobori H, Nishiyama A, Harrison-Bernard LM, Navar LG: Urinary angiotensinogen as an indicator of intrarenal Angiotensin status in hypertension. *Hypertension* 2003; 41(1): 42-9.
39. Komlosi P et al: Angiotensin I conversion to angiotensin II stimulates cortical collecting duct sodium transport. *Hypertension* 2003; 42(2): 195-9.
40. Rosivall L, Navar LG: Effects on renal hemodynamics of intra-arterial infusions of angiotensins I and II. *Am J Physiol* 1983; 245(2): F181-7.
41. Campbell DJ, Lawrence AC, Towrie A, Kladis A, Valentijn AJ: Differential regulation of angiotensin peptide levels in plasma and kidney of the rat. *Hypertension* 1991; 18(6): 763-73.
42. Nishiyama A, Seth DM, Navar LG: Renal interstitial fluid concentrations of angiotensins I and II in anesthetized rats. *Hypertension* 2002; 39(1): 129-34.

43. Food & Drug Administration: High blood pressure. FDA [Internet] 2021 [cited 2021 Oct 6]. Available from: URL: <https://www.fda.gov/consumers/free-publications-women/high-blood-pressure>.
44. Mallion JM, Dahan R, Boutelant S, Benkritly A, Baguet JP, Noir-Clerc M: [Long-term clinical tolerance of antihypertensive treatment during the HOT study. Groupe francais de l'etude HOT]. Arch Mal Coeur Vaiss 1997; 90(8): 1165-8.
45. Redon J: Hypertension in obesity. Nutr Metab Cardiovasc Dis 2001; 11(5): 344-53.
46. Kim KP et al: First-in-human study of the toxicity, pharmacokinetics, and pharmacodynamics of CG200745, a pan-HDAC inhibitor, in patients with refractory solid malignancies. Invest New Drugs 2015; 33(5): 1048-57.
47. Satou R et al: Costimulation with angiotensin II and interleukin 6 augments angiotensinogen expression in cultured human renal proximal tubular cells. Am J Physiol Renal Physiol 2008; 295(1): F283-9.
48. Satou R et al: Inhibition of inflammatory cytokine expression prevents high-fat diet-induced kidney injury: role of lingonberry supplementation. Front Med (Lausanne) 2020; 27(7): 80.

High Blood Pressure Suppressive Effect and Mechanism of Histone Deacetylase Inhibitor in High-Fat Diet-Induced Hypertension in Mice

Yoon, Ga-Eun

Department of Molecular Medicine

Graduate School

Keimyung University

(Supervised by Professor Kim, Jee In)

(Abstract)

There are several mechanisms by which obesity causes hypertension. Activation of the renin-angiotensin system (RAS) in the kidney is one of the important mechanisms developing obesity-induced hypertension. In this study, I investigated the effect and mechanism by which histone deacetylase (HDAC) inhibitor lowered blood pressure (BP) in hypertensive mice fed a high-fat diet (HFD). Nine-week-old male C57BL/6 mice were fed with a normal diet (ND) or HFD. The HFD group showed not only high body weight and BP but also an increase in the activities and expressions of HDACs, inflammatory cytokines, RAS components, sodium transporters, water channel, and vasocontractile proteins compared with those in the ND group. After the HFD group

reached the hypertension phase, CG200745 at 0.2 mg, 1.0 mg, 2.0 mg $\text{kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$), RGFP966 (0.5 mg $\text{kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$) or physiological saline were intraperitoneally injected. All concentrations of CG200745 and RGFP966 tested lowered BP in the HFD group. Of note, CG200745 at 0.2 mg/kg significantly lowered the activities of HDACs and the expression levels of pro-inflammatory cytokines, RAS components, and vasocontractile proteins in the HFD group. In conclusion, CG200745 appeared to ameliorate HFD-induced hypertension in mice by inhibiting HDACs/inflammation/Ang II/vascular contraction axis. The findings presented herein offer CG200745 and RGFP966 as novel therapeutic options for HFD-induced hypertension.

고지방식으로 유도한 고혈압 쥐에서 히스톤 탈아세틸화 효소 억제제를 이용한 혈압상승 억제 효과 및 기전에 관한 연구

윤 가 은

계명대학교 대학원

의학과 분자의학교실

(지도교수 김 지 인)

(초록)

비만이 고혈압을 일으키는 여러 기전이 존재하며 이중 신장에서 레닌-안지오텐신계의 활성화는 비만성 고혈압 발생의 중요한 기전이다. 본 연구에서는 고지방식으로 유도한 고혈압 쥐 모델에서 히스톤 탈아세틸화 효소 억제제(CG200745, RGFP966)의 혈압 강하 효과와 그 기전을 조사하였다. 9주령 수컷 C57BL/6 쥐에게 일반식이 또는 고지방식이를 섭취시키고 쥐의 체중과 혈압, 히스톤 탈아세틸화 효소 발현 및 활성화, 염증성 사이토카인 발현, 레닌-안지오텐신계의 발현, 나트륨 재흡수 및 수분 통로의 발현, 혈관 수축 인자 발현을 확인하였다. 고지방식이군이 고혈압 단계에 도달하였을 때 CG200745(체중 kg당 0.2 mg, 1.0 mg, 2.0 mg), RGFP966(체중 kg 당 0.5 mg) 또는 생리식염수를 복강 내 주사로 하루에 한 번을 투여하였다. CG200745를 투여한 모든 농도에서 혈압이 낮아진 것을 확인하였고 이중 체중 감소가 가장 적으면서 가장 낮은 농도인 0.2 mg/kg으로 약물투여 농도

를 정하였다. 고지방식이군에 RGFP966를 투여 하였을 때 역시 혈압이 강하되었다. CG200745에 의해 고지방식이군에서 히스톤 탈아세틸화 효소 활성화와 염증성 사이토카인, 레닌-안지오텐신계의 구성 성분, 혈관 수축 인자가 감소하였다. 본 실험 결과는 고지방식이 유도 고혈압 쥐에서 CG200745가 히스톤 탈아세틸화 효소 활성화 억제, 염증성 사이토카인 감소, 안지오텐신 II 발현 억제 및 혈관 수축 억제를 통해 비만성 고혈압을 개선함을 보여주었다. 이 연구 결과들을 통해 고지방식이 유도 고혈압에 대한 새로운 치료제로 CG200745와 RGFP966의 사용 가능성을 제안한다.