

일산화질소가 섬유주세포의 유착과 이동에 미치는 영향

배진성 · 김재우

대구가톨릭대학교 의과대학 안과학교실

목적: 일산화질소(nitric oxide, NO)가 섬유주세포의 유착과 이동성에 미치는 영향을 알아보고자 하였다.

대상과 방법: 사람의 섬유주세포를 일차배양한 다음, 세포의 유착성을 알아보기 위하여 한 시간 동안 배양용기에 부착한 다음 세척 후에 남아 있는 세포를 MTT assay로 조사하였다. 세포의 이동성의 정도는 microchemoattraction chamber를 이용하여 정상적인 조건과 기계적 스트레스를 가한 조건에서 각각 조사하였다. 이때 NO 제공자인 S-nitroso-N-acetylpenicillamine (SNAP)에 노출시켜 NO가 섬유주세포의 유착성과 이동성에 미치는 영향을 알아보았다.

결과: NO는 섬유주세포의 유착성과 이동성의 정도에는 영향을 미치지 않았다($p>0.05$). 1% 혈청을 첨가한 경우 유착이 증가하였으며 이동성이 감소하였다($p<0.05$). 기계적 스트레스를 가한 경우 이동성의 정도가 감소하였다($p<0.05$).

결론: NO는 배양된 사람의 섬유주세포에서 세포의 유착성과 이동성에는 영향을 미치지 않을 것으로 생각한다.

〈대한안과학회지 2013;54(4):639-644〉

일산화질소(nitric oxide, NO)는 자유유리기로 생체막을 투과하여 내피세포에서의 이완작용, 신경계에서의 조절작용, 면역계에서의 면역매개물질 등으로 작용하여 생리적인 매개역할 뿐만 아니라 다양한 병리적 역할도 나타낸다.^{1,2} NO는 방수유출로를 비롯한 안구 내의 다양한 조직에서 발현된다.^{3,4} 섬유주세포는 방수유출의 조절에 능동적으로 관여하는데⁵ 섬유주를 통한 방수유출을 조절함에 있어서 endothelin과 길항하여 NO가 중요한 역할을 하며,^{6,7} NO의 생성변화가 녹내장을 유발하는 기전의 하나로 알려졌다.^{8,9} 녹내장이 있는 경우에는 섬유주의 NO 합성효소의 활성이 감소되어 있고, NO 공여약물을 투여하면 안압을 낮추는 효과가 있는 것으로 알려졌다.⁸⁻¹¹

섬유주세포는 내피세포와 근육세포의 성질도 함께 가지고 있으므로¹² 운동성을 가지고 있다. NO는 세포의 유착성이나 이동성에도 관여하는 데 그 효과는 세포의 종류에 따라 다르게 나타난다.¹³⁻¹⁶ 혈관내피세포의 경우 세포의 국소적 유착을 줄여서 세포의 이동을 촉진하지만, 위점막 상피세포에서는 반대의 작용을 나타내며, 혈관평활근세포에서는 단백질과 콜라겐 합성을 억제하는 작용을 한다. 만약 NO가 섬유주세포의 유착이나 이동의 정도에

영향을 준다면 개방각녹내장의 중요한 조직 소견인 섬유주세포의 탈락에도 영향을 미쳐 방수유출로의 기능에 영향을 줄 수 있을 것이다.¹⁷ NO는 섬유주의 위축을 방지하여 방수유출을 호전시키는 것으로 알려졌으나 섬유주세포의 유착성이나 이동성에 미치는 영향은 아직 자세히 밝혀지지 않았다.

본 연구에서는 사람의 섬유주세포를 일차배양한 다음 NO가 섬유주의 유착성과 이동성에 미치는 영향을 알아보고자 하였다.

대상과 방법

세포배양

안구은행에서 얻은 사후 6시간 이내에 적출한 안구의 전방각 주위 조직을 제거한 후 전방각에서 섬유주를 벗겨내어 폴리아이신(Sigma, USA)로 처리한 배양접시에 옮긴 후 항생제(Gibco, USA)와 15% 우태아혈청(Hyclone, Logan, UT, USA)이 포함된 Dulbecco's modified Eagle's medium 배지(DMEM, Gibco, Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)를 사용하여 5% CO₂ 배양기에서 초대배양하였다. 섬유주세포가 이식된 조직편 주위로 자라나온 것을 확인한 후 섬유주조직의 이식편을 제거하고 배양을 계속하였으며 세포가 배양접시에 충만해지면 10% 우태아혈청을 포함한 배지로 1:3의 비율로 트립신 처리하여 계대배양하였다.

■ 접수 일: 2012년 7월 13일 ■ 심사통과일: 2012년 10월 19일
■ 게재허가일: 2013년 1월 21일

■ 책임저자: 김 재 우

대구광역시 남구 두류공원로 17길 33
대구가톨릭대학교병원 안과
Tel: 053-650-4728, Fax: 053-627-0133
E-mail: jwkim@cu.ac.kr

약물처리

일차 배양한 섬유주세포를 트립신 처리한 다음 혈청이 포함되지 않은 DMEM배지를 이용하여 배양접시에 부착한 후 아래의 실험을 진행하였다. 혈청 속에 포함된 fibonection 같은 인자가 세포의 유착과 이동에 영향을 미치므로¹⁸ 1% 혈청이 포함된 배지에서도 함께 실험을 시행하였으며 NO 저해제인 0.5 mM의 N^ω-Nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME; Sigma, St Louis, MO, USA)에도 노출시켰다. NO 제공자(NO donor)가 섬유주세포의 유착과 이동에 미치는 영향을 알아보기 위하여 수용성 배지에서 NO를 발생시키는 S-nitroso-N-acetylpenicillamine (SNAP, St. Louis, MO, USA)를 1, 10 μ M의 농도로 노출시켜 NO의 영향을 알아보았다.¹⁹⁻²¹

Griess assay

섬유주세포에서 1% 혈청과 NO제공자가 NO의 생성에 미치는 영향을 알아보기 위해 NO의 대사물인 아질산염(nitrite)의 양을 측정하는 Griess assay를 이용하였다.²² NO 제공자를 처리한 세포의 배지에 동량의 Griess 반응액(Sigma, St. Louis, MO, USA)을 섞은 후 96-well 배양접시에 옮겨 spectrophotometer (Fluostar Optima, BMG labtech, Offenber, Germany)로 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 표준곡선을 구하기 위해 상용의 sodium nitrite (Sigma, St. Louis, MO, USA)를 단계적으로 희석하여 사용하였다.

세포 유착성 검사(Adhesion assay)

세포유착성을 조사하기 위하여 Okouchi et al²³이 제안한 방법을 변형하여 시행하였다.²⁴ 콜라겐으로 코팅한 두 개의 96-well plate에 각 well에 일차배양한 섬유주세포를 분주한 다음 1시간 동안 배양기에 두어 부착시킨 후 한 개의 plate는 염류용액으로 3회 세척한 다음 MTT assay를 각각 시행하여 세척하지 않은 plate의 세포 수와 비교하였다. MTT assay는 배지에 methylthiazolyldiphenyl-tetrazolium bromide (MTT, Sigma, St. Louis, MO, USA)를 각 well당 100 μ l씩 투여한 후 4시간 동안 정치배양한 다음 염류용액으로 씻어낸 후 dimethylsulfoxide (Sigma, St. Louis, MO, USA)를 각 well당 0.5 ml씩 넣어 10분 이상 흔든 다음 96-well plate에 200 μ l씩 옮겨 spectrophotometer로 570 nm에서 흡광도를 측정하였다.²⁵ 세포의 유착정도는 세척한 실험군과 세척하지 않은 대조군의 값을 나누어 백분율로

나타내었다.

세포 이동성 검사(Migration assay)

세포의 이동성은 상용의 microchemoattraction chamber (Corning, Life sciences, NY, USA)인 Transwell를 이용하여 시행하였다.²⁶ Tranwell은 polycarbonate membrane이 부착된 insert를 배양접시 중간에 삽입하여 위쪽에 배양한 세포를 분주한 후 membrane을 통과한 세포, 즉 이동이 일어난 세포를 아래쪽에서 관찰하는 장치인데 본 실험에서는 직경 6.5 mm, pore size 3.0 μ m의 12-well plate (Tranwell[®] No. 3415)를 이용하였다. 트립신 처리한 세포를 Transwell insert 위쪽에 분주한 후 5시간 동안 정치배양한 다음 아래쪽에 이동이 일어난 세포의 수를 트리판 블루로 염색하여 세포의 수를 세었으며 이동이 일어난 정도는 이동이 된 세포 수를 전체 세포 수로 나누어 백분율로 계산하였다. 또 다른 12-well plate에서는 각 well에 분주하기 전에 혈청이 포함되지 않은 배지에 3시간 동안 부유시켜 기계적 스트레스를 가한 다음 동일한 실험을 시행하였다.

통계적 처리

모든 실험은 3계대에서 5계대 사이의 세포를 이용하였다. 모든 실험에서 대조군은 약물에 노출되지 않은 군으로 하였고 NO의 실험값은 평균 \pm 표준오차로 나타내었으며 실험군과 대조군의 비교는 unpaired *t*-test를 이용하였으며 유의수준은 0.05%로 정하였다.

결 과

세포배양

초대배양 2주째부터 섬유주 조직의 이식편 주위로 섬유주세포가 자라 나오기 시작하였으며 섬유주세포의 확인은 형태학적인 특징적 양상과 섬유주 조직의 이식편 주위에서 위성양상으로 자라나는 섬유주세포의 특징적인 성장양상으로 확인하였다.^{27,28}

NO 제공자가 섬유주세포에서의 NO의 생성에 미치는 영향

혈청이 포함되지 않은 배양액과 비교하여 NO 제공자를 처리한 경우 농도에 비례하여 유의하게배지에서의 NO가 증가하였다. 따라서 본 실험에 사용된 NO 제공자인 SNAP은 배양액에서 NO를 유의하게 생성함을 알 수 있었다

($p < 0.05$). 1%의 저농도 혈청을 사용한 경우에는 NO의 생성에 유의한 영향을 미치지 않아 저농도 혈청에 포함된 각

종 인자들은 NO의 생성에 유의한 영향을 미치지 않음을 알 수 있었다($p = 0.626$) (Fig. 1).

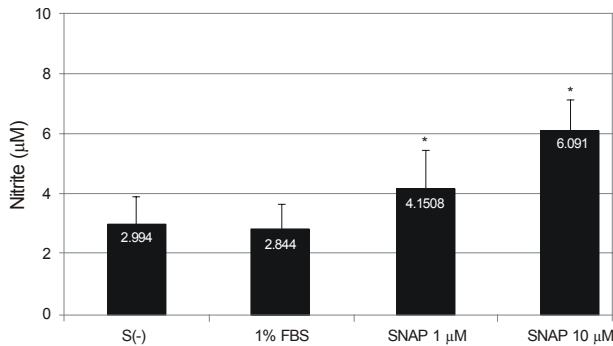


Figure 1. Effect of NO (Nitric oxide) donor on the production of NO. S-nitroso-N-acetylpenicillamine (SNAP) increased NO in a dose-dependent manner compared serum-free or 1% fetal bovine serum (FBS) ($p < 0.05$).

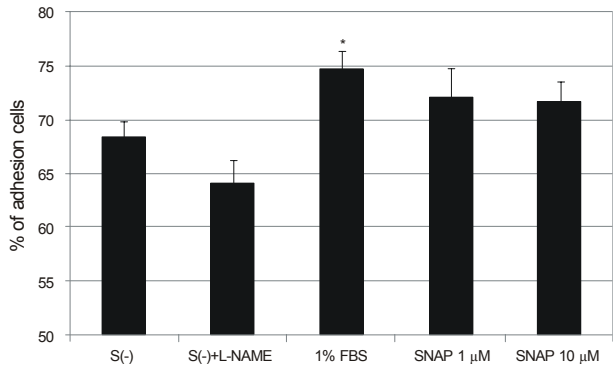


Figure 2. Effect of NO (Nitric oxide) donor on the adhesion of trabecular meshwork cells. S-nitroso-N-acetylpenicillamine (SNAP) did not affect on the cell adhesion, but 1% fetal bovine serum (FBS) increased cellular adhesion significantly ($p < 0.05$).

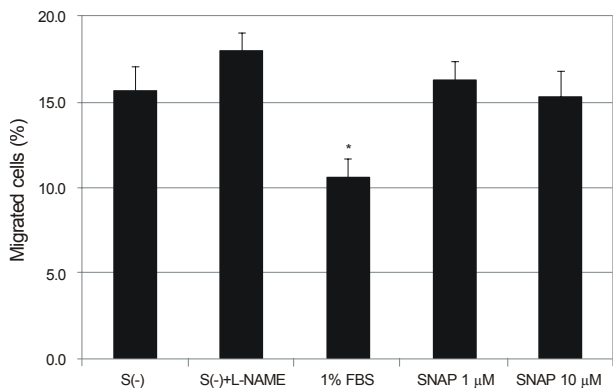


Figure 3. Effect of NO (Nitric oxide) donor on the migration of trabecular meshwork cells in normal condition. S-nitroso-N-acetylpenicillamine (SNAP) did not affect the cell migration, but 1% fetal bovine serum (FBS) decreased cellular migration significantly ($p < 0.05$).

NO가 섬유주세포의 유착성에 미치는 영향

혈청이 포함되지 않은 대조군에 비해 SNAP은 1 μM과 10 μM 농도에서 세포의 유착성을 각각 3.7%와 3.3% 증가시켰으나 통계적으로 유의하지 않아 NO 제공자는 섬유주세포의 유착성에 유의한 영향을 미치지 않음을 알 수 있었다($p > 0.05$) (Fig. 2). 또한 NO 저해제인 L-NAME는 세포의 유착성을 감소시키기는 했으나 통계학적으로 유의하지는 않았다. 그러나 1% 저혈청이 포함된 배지에 노출한 경우 대조군에 비해 유착성을 6.4% 정도로 유의하게 증가시켰다($p = 0.008$).

NO가 섬유주세포의 이동성에 미치는 영향

기계적 스트레스를 가하지 않은 경우 NO는 섬유주세포의 이동은 대조군에 비하여 별 다른 차이를 보이지 않아 NO가 섬유주세포의 이동의 정도에는 유의한 영향을 미치지 않음을 알 수 있었다. 또한 NO 저해제인 L-NAME는 섬유주세포의 이동성을 2.4% 증가시켰으나 통계적으로 유의하지는 않았다. 그러나 1% 저혈청이 포함된 배지에 노출한 경우 세포의 이동성이 4.0% 감소하여 통계적으로 유의한 감소를 나타내었다($p = 0.047$) (Fig. 3). 배양용기에 세포를 부착하기 전에 부유시켜 기계적 스트레스를 가한 경우에는 모든 경우에서 섬유주세포의 이동성이 감소하는 경향을 나타내었으나 약물처리를 하지 않은 대조군에 비하여 통계적으로 유의한 정도의 차이는 보이지 않았다($p > 0.05$) (Fig. 4).

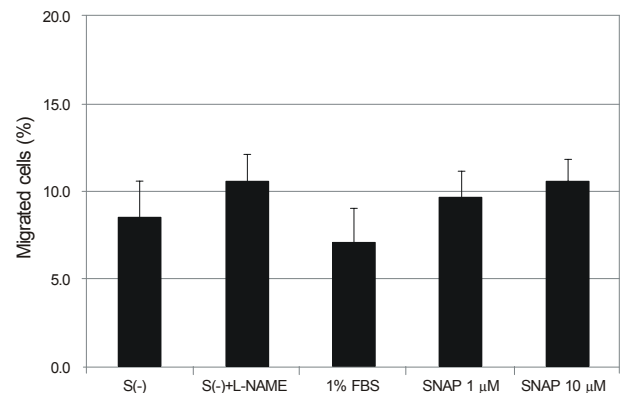


Figure 4. Effect of NO (Nitric oxide) donor on the migration of trabecular meshwork cells in mechanically stressed condition. After stress, the degree of cellular migration decreased in all groups and did not change significantly compared to non-exposed control ($p > 0.05$).

고 찰

본 연구는 NO가 섬유주세포의 유착성과 이동성에는 유의한 영향을 미치지 않을 가능성을 보여주고 있다.

인체의 섬유주는 내피로 둘러싸인 세 층으로 구성된 결합조직으로 다양한 성분으로 구성되어 있으며 섬유주 내에 존재하는 섬유주세포는 여러 종류의 수용체를 나타낼 뿐만 아니라 NO와 endothelin의 분비를 조절하여 섬유주를 통한 방수의 투과성을 조절함으로써 방수유출의 조절에 능동적으로 관여한다.⁵⁻⁷ 섬유주세포는 다양한 성질을 나타내는데 혈관내피세포, 탐식세포의 역할과 함께 섬유주세포는 actin filament를 함유하고 있어 근육세포와 유사한 수축성을 나타낸다.¹² NO는 근육세포의 이완을 유발하는 효과가 있으므로 근육세포의 성질도 함께 가지고 있는 섬유주세포에도 작용하여 섬유주의 이완을 유발할 수 있을 것이다.

NO가 창상치유의 과정을 조절하는 중요한 역할을 하는 것은 이미 잘 알려졌다.^{29,30} 창상치유의 과정은 섬유아세포가 주로 관여하므로 항상 방수에 노출되어 있으면서 내피세포와 근육세포, 그리고 탐식세포의 성질을 함께 가지고 있는 섬유주세포에 대한 NO의 역할은 일반적인 창상치유의 과정과는 다르게 나타날 것이다. 혈관내피세포의 경우 NO는 유착성을 저해하고 세포의 이동성을 증가시키는 것으로 알려졌다.^{14,31} NO의 합성이 심하게 억제된 경우에는 세포의 활동성이 떨어져 창상치유와 신생혈관형성이 저하되며,^{32,33} NO가 과다생산되면 세포가 위축되어 혈관벽에서 탈락된다.³⁴

섬유주세포의 활성화는 섬유주세포의 유착과 이동성 변화를 주어 섬유주세포의 탈락과 소실을 유발할 수 있는데,³⁵ 이러한 섬유주세포의 소실은 결과적으로 섬유주의 기능저하를 유발하여 녹내장의 병인이 될 수가 있다.^{17,35-40} 그러므로 NO가 섬유주의 이완을 유발하여 방수유출을 증가시켜 안압을 낮추는 효과가 있다고 하더라도 NO가 섬유주세포의 유착과 이동성을 증가시킴으로써 섬유주에서 세포의 탈락이 일어난다면 NO는 결과적으로 섬유주의 기능을 떨어뜨려 녹내장을 악화시킬 수도 있다. 따라서 NO가 섬유주세포의 유착과 이동성의 변화를 주어 섬유주세포의 소실에 어떤 영향에 미치는 지에 대한 연구가 있어야 할 것이다.

이에 따라 시행한 본 연구의 결과에 따르면 NO는 섬유주세포의 유착성을 감소시키지 않았고 이동성을 증가시키지도 않아 NO에 의해 섬유주세포가 탈락될 가능성은 적음을 보여주고 있다. 그러나 배양한 세포를 이용하여 단 시간에 시행한 실험 결과를 방수라는 특수한 환경에 처해있는 섬유주세포에 대해 바로 적용하기는 주의를 요한다. 섬유주세포는 고도의 탐식작용, 염증반응 또는 손상에 의해 활성화

되어 섬유주로부터 탈락되는데⁴⁰ NO 뿐만 아니라 여러 종류의 자극이 섬유주세포를 활성화시켜 섬유주로부터의 탈락이 일어날 수 있다.³⁵⁻³⁸ 또한 정상인에 비해 녹내장을 가진 경우 방수 내에 더 많은 이동 자극인자가 나타나 섬유주세포의 탈락이 다 많아지는 것으로 알려졌다.²⁶ 정상인과 녹내장을 가진 경우의 차이에 대해서도 보다 상세한 연구가 필요할 것이다. 본 실험에서 기계적 스트레스를 가한 경우에는 대조군에 비해 이동성의 차이는 보이지 않았지만 모든 경우에서 이동성이 저하된 것으로 나타났는데 이는 정상 상태에 비해 세포의 활동성이 저하되었음을 보여주는 것으로 생각한다.

방수에는 섬유주세포의 이동을 촉진하는 성분이 포함되어 있는데 그 중 fibronectin이 섬유주세포를 이동시키는 주된 자극인자이다.⁴¹ 본 연구에서 사용한 1% 혈청에는 20-30 μ m의 수용성 fibronectin이 포함되어 있으므로⁴¹ 1% 혈청을 이용한 실험 결과는 주로 fibronectin에 의한 작용으로 볼 수 있다. 본 실험의 결과에서 fibronectin만이 유의하게 섬유주세포의 유착을 증가시키고 이동성을 감소시키는 것으로 나타나 방수 내에 포함된 fibronectin이 섬유주세포의 탈락에 중요한 역할을 한다는 것을 알 수 있다.

결론적으로 배양한 섬유주세포를 NO 제공자에 노출시킬 경우 섬유주의 수축을 방지함으로써 방수유출을 촉진하는 효과를 나타낼 수 있을 것이며 이에 대하여 섬유주세포의 유착이나 이동에 유의할 정도로 미치는 영향은 없을 것으로 생각한다. 따라서 안압하강을 목적으로 NO 제공자를 이용할 경우 섬유주세포의 탈락이나 소실과 같은 부작용은 크게 고려할 필요가 없을 것으로 생각한다. 하지만 실제 생체 내에서 효과와 장기간 사용에 대한 효과에 관한 보다 상세한 연구가 필요할 것으로 생각한다.

참고문헌

- 1) Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev* 1991;43:109-42.
- 2) Bredt DS, Snyder SH. Nitric oxide: a physiologic messenger molecule. *Annu Rev Biochem* 1994;63:175-95.
- 3) Park GS, Kwon NS, Kim YM, Kim JC. The role of nitric oxide in ocular surface diseases. *Korean J Ophthalmol* 2001;15:59-66.
- 4) Nathanson JA, McKee M. Identification of an extensive system of nitric oxide-producing cells in the ciliary muscle and outflow pathway of the human eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1995;36:1765-73.
- 5) Alvarado JA, Alvarado RG, Yeh RF, et al. A new insight into the cellular regulation of aqueous outflow: how trabecular meshwork endothelial cells drive a mechanism that regulates the permeability of Schlemm's canal endothelial cells. *Br J Ophthalmol* 2005;89:1500-5.
- 6) Hattenbach LO, Allers A, Klais C, et al. L-Arginine-nitric oxide pathway-related metabolites in the aqueous humor of diabetic

- patients. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41:213-7.
- 7) Matsuo T. Basic nitric oxide production is enhanced by hydraulic pressure in cultured human trabecular cells. *Br J Ophthalmol* 2000;84:631-5.
- 8) Haefliger IO, Dettmann E, Liu R, et al. Potential role of nitric oxide and endothelin in the pathogenesis of glaucoma. *Surv Ophthalmol* 1999;43:S51-8.
- 9) Nathanson JA, McKee M. Alterations of ocular nitric oxide synthase in human glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1995;36:1774-84.
- 10) Schuman JS, Erickson K, Nathanson JA. Nitrovasodilator effects on intraocular pressure and outflow facility in monkeys. *Exp Eye Res* 1994;58:99-105.
- 11) Wana RF, Podos SM. Effect of the topical application of nitroglycerin on intraocular pressure in normal and glaucomatous monkeys. *Exp Eye Res* 1995;60:337-9.
- 12) Gipson IK, Anderson RA. Actin filaments in cells of human trabecular meshwork and Schlemm's canal. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1979;18:547-61.
- 13) Noiri E, Hu Y, Bahou WF, et al. Permissive role of nitric oxide in endothelin-induced migration of endothelial cells. *J Biol Chem* 1997;272:1747-52.
- 14) Goligorsky MS, Abedi H, Noiri E, et al. Nitric oxide modulation of focal adhesions in endothelial cells. *Am J Physiol* 1999;276:C1271-81.
- 15) Kiviluoto T, Watanabe S, Hirose M, et al. Nitric oxide donors retard wound healing in cultured rabbit gastric epithelial cell monolayers. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2001;281:G1151-7.
- 16) Kolpakov V, Gordon D, Kulik TJ. Nitric oxide-generating compounds inhibit total protein and collagen synthesis in cultured vascular smooth muscle cells. *Circ Res* 1995;76:305-9.
- 17) Alvarado J, Murphy C, Juster R. Trabecular meshwork cellularity in primary open-angle glaucoma and nonglaucomatous normals. *Ophthalmology* 1984;91:564-79.
- 18) Nakamura Y, Sagara T, Seki K, et al. Permissive effect of fibronectin on collagen gel contraction mediated by bovine trabecular meshwork cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003;44:4331-6.
- 19) Ignarro LJ, Lippton H, Edwards JC, et al. Mechanism of vascular smooth muscle relaxation by organic nitrates, nitrites, nitroprusside, and nitric oxide: evidence for the involvement of S-nitrosothiols as active intermediates. *J Pharmacol Exp Ther* 1981;218:739-49.
- 20) Schröder H, Noack E, Müller R. Evidence for a correlation between nitric oxide formation by cleavage of organic nitrates and activation of guanylate cyclase. *J Mol Cell Cardiol* 1985;17:931-4.
- 21) Garg UC, Hassid A. Nitric oxide-generating vasodilators and 8-bromo-cyclic guanosine monophosphate inhibit mitogenesis and proliferation of cultured rat vascular smooth muscle cells. *J Clin Invest* 1989;83:1774-7.
- 22) Green LC, Wagner DA, Glogoski J, et al. Analysis of nitrate, nitrite and [¹⁵N]nitrate in biologic fluids. *Anal Biochem* 1982;126:131-8.
- 23) Okouchi, M, Okayama, N, Shimizu, et al. High insulin exacerbates neutrophil-endothelial cell adhesion through endothelial surface expression of intercellular adhesion molecule-1 via activation of protein kinase C and mitogen-activated protein kinase. *Diabetologia* 2002;45:556-9.
- 24) Hirata F, Yoshida M, Ogura Y. High glucose exacerbates neutrophil adhesion to human retinal endothelial cells. *Exp Eye Res* 2006;82:179-82.
- 25) Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods* 1983;65:55-63.
- 26) Hogg P, Calthorpe M, Batterbury M, Grierson I. Aqueous humor stimulates the migration of human trabecular meshwork cells in vitro. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41:1091-8.
- 27) Polansky JR, Weinreb RN, Baxter JD, Alvarado J. Human trabecular cells. I. Establishment in tissue culture and growth characteristics. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1979;18:1043-9.
- 28) Alvarado JA, Wood I, Polansky JR. Human trabecular cells. II. Growth pattern and ultrastructural characteristics. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1982;23:464-78.
- 29) Schaffer M, Tantry U, Gross SS, et al. Nitric oxide regulates wound healing. *J Surg Res* 1996;63:237-40.
- 30) Schwentker A, Vodovotz Y, Weller R, Billar TR. Nitric oxide and wound repair: role of cytokines? *Nitric Oxide* 2002;7:1-10.
- 31) Noiri E, Hu Y, Bahou WF, et al. Permissive role of nitric oxide in endothelin-induced migration of endothelial cells. *J Biol Chem* 1997;272:1747-52.
- 32) Gilmore AP, Romer LH. Inhibition of focal adhesion kinase (FAK) signaling in focal adhesions decreases cell motility and proliferation. *Mol Biol Cell* 1996;7:1209-24.
- 33) Ilić D, Furuta Y, Kanazawa S, et al. Reduced cell motility and enhanced focal adhesion contact formation in cells from FAK-deficient mice. *Nature* 1995;377:539-44.
- 34) McCuskey RS, Urbaschek R, Urbaschek B. The microcirculation during endotoxemia. *Cardiovasc Res* 1996;32:752-63.
- 35) Rohen JW, van der, Zypen E. The phagocytic activity of the trabecular meshwork endothelium. An electron-microscopic study of the vervet (*Cercopithecus aethiops*). *Albrecht Von Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1968;175:143-60.
- 36) Shabo AL, Maxwell DS. Observations on the fate of blood in the anterior chamber. A light and electron microscopic study of the monkey trabecular meshwork. *Am J Ophthalmol* 1972;73:25-36.
- 37) Grierson I, Lee WR. Erythrocyte phagocytosis in the human trabecular meshwork. *Br J Ophthalmol* 1973;57:400-15.
- 38) Grierson I, Chisholm IA. Clearance of debris from the iris through the drainage angle of the rabbit's eye. *Br J Ophthalmol* 1978;62:694-704.
- 39) Grierson I, Howes RC. Age-related depletion of the cell population in the human trabecular meshwork. *Eye (Lond)* 1987;1:204-10.
- 40) Grierson I, Hogg P. The proliferative and migratory activities of trabecular meshwork cells. *Prog Retin Eye Res* 1995;15:33-67.
- 41) Hogg P, Calthorpe CM, Ward S, Grierson I. Migration of cultured bovine trabecular meshwork cells to aqueous humor and constituents. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1995;36:2449-60.

=ABSTRACT=

Effect of Nitric Oxide on Adhesion and Migration of Trabecular Meshwork Cells

Jin Seong Bae, MD, Jae Woo Kim, MD, PhD

Department of Ophthalmology, Catholic University of Daegu School of Medicine, Daegu, Korea

Purpose: To investigate the effect of nitric oxide (NO) on the adhesion and migration of cultured human trabecular meshwork cells (HTMC).

Methods: For adhesion assay, primarily cultured HTMC were attached to culture dishes for 1 hr, cells were rinsed, and the remaining adherent cells were assessed with MTT assay. Degree of cellular migration was assessed under normal and stressed conditions using microchemoattraction chambers. Effect of NO on the adhesion and migration was assessed with or without co-exposure of S-nitroso-N-acetylpenicillamine (SNAP).

Results: NO did not affect the degree of adhesion or migration of HTMC ($p > 0.05$). The degree of adhesion increased although the degree of migration decreased with 1% serum ($p < 0.05$). Degrees of migrations decreased after mechanical stress ($p < 0.05$).

Conclusions: NO may not affect the adhesion or migration of HTMC.

J Korean Ophthalmol Soc 2013;54(4):639-644

Key Words: Adhesion, Migration, Nitric oxide, Trabecular meshwork cells

Address reprint requests to **Jae Woo Kim, MD, PhD**

Department of Ophthalmology, Daegu Catholic University Medical Center

#33 Duryugongwon-ro 17-gil, Nam-gu, Daegu 705-718, Korea

Tel: 82-53-650-4728, Fax: 82-53-627-0133, E-mail: jwkim@cu.ac.kr