

발프로익산이 인체 테논낭 섬유아세포의 생존에 미치는 영향

Effects of Valproic Acid on the Survival of Human Tenon's Capsule Fibroblasts

이시은 · 김재우

See Eun Lee, MD, Jae Woo Kim, MD, PhD

대구가톨릭대학교 의과대학 안과학교실

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

Purpose: To investigate the effects of valproic acid on the survival of cultured human Tenon's capsule fibroblasts (HTFBs).

Methods: Primary cultured HTFBs were exposed to 0, 0.25, 0.5, and 1.0 mM valproic acid with or without 0, 1.0, 2.5 µg/mL mitomycin C, and incubated for 5 days. Cell survival was assessed using an MTT (3-[4, 5-dimethylthiazol-2-yl]-2, 5-diphenyltetrazolium bromide) assay and the degree of apoptosis was assessed by flow cytometry using annexin-V/propidium iodide double staining.

Results: Valproic acid decreased the survival of HTFBs in a dose-dependent manner, and survival was further decreased by adding mitomycin C to valproic acid. Both valproic acid and mitomycin C induced apoptosis of HTFBs. Valproic acid induced less apoptosis than mitomycin C.

Conclusions: Valproic acid decreased the cellular survival of HTFBs and induced apoptosis. The antiproliferative effects of valproic acid were further enhanced by the addition of mitomycin C.

J Korean Ophthalmol Soc 2018;59(11):1056-1061

Keywords: Apoptosis, Fibroblast, Flow cytometry, Mitomycin C, Valproic acid

섬유아세포는 창상치유에 중요한 역할을 하며, 녹내장의 수술적 치료법으로 흔히 시술하는 섬유주절제술의 실패는 테논낭 섬유아세포의 과다한 증식에 의한 여과포의 반흔형성이 주된 원인인데¹ 이를 억제하기 위하여 미토마이신 C (mitomycin C, MMC)를 임상적으로 많이 사용하고 있다.^{2,3} 그러나 항암제의 일종인 MMC는 저안압증을 비롯한 여러 합병증을 유발할 수 있으므로,^{4,6} 이를 개선하기 위한 다양

한 종류의 항증식제가 연구되고 있다.^{7,8}

발프로익산(valproic acid, 2-propylpentanoic acid, VPA)은 짧은 사슬의 지방산으로 간질의 치료제로 사용되어 왔으며,⁹ 신경세포의 분화 및 보호, 항암작용 등 다양한 약리작용을 나타내는 것으로 알려져 있다.¹⁰ VPA의 여러 효과 중에 하나로 항증식작용이 있는데,¹¹ 종양세포의 증식을 억제하며 세포고사를 유발하는 작용이 있는 것으로 알려져 있다.¹²⁻¹⁵ VPA는 종양세포 뿐만 아니라 혈관내피세포에서도 세포의 증식과 이동, 그리고 혈관생성을 억제하는 것으로 보고되었는데,¹⁶ 만일 인체의 테논낭 섬유아세포(human Tenon's capsule fibroblasts, HTFB)에 대해서도 이러한 작용을 나타낸다면 섬유주절제술에 있어서 HTFB의 증식을 억제할 뿐만 아니라 술 후 여과포를 건전하게 유지하기 위한 유용한 항증식제로 사용될 가능성이 있을 것이다.

이에 저자들은 HTFB에 대한 VPA의 항증식 효과를 알아보고 그 효과를 MMC와 비교해 보고자 하였고, MMC와

■ Received: 2018. 2. 28. ■ Revised: 2018. 3. 21.

■ Accepted: 2018. 10. 18.

■ 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
42472, Korea

Tel: 82-53-650-4728, Fax: 82-53-627-0133

E-mail: jwkim@cu.ac.kr

* Conflicts of Interest: The authors have no conflicts to disclose.

© 2018 The Korean Ophthalmological Society

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

병용할 경우의 효과도 알아보고자 하였다. 또한 두 약제가 세포고사를 유발하는 정도를 알아보고자 하였다.

대상과 방법

세포배양

본 연구는 본원 Institutional Review Board (IRB)의 승인을 받았고(승인번호: CR-16-114) 헬싱키선언을 따라 시행되었다. 환자의 허락하에 다른 안질환이나 안수술력이 없었던 45세 남자 환자의 백내장수술 도중 테논낭 일부를 절제하여 섬유아세포를 일차배양하였다. 먼저 테논낭 조직을 염류용액(phosphate buffered saline, Gibco, Carlsbad, CA, USA)으로 세척한 후 10%의 혈청이 포함된 Dulbecco's modified Eagle medium (DMEM, Gibco, Carlsbad, CA, USA)을 배지로 하여 5% CO₂ 배양기에서 일차배양하였다. 세포가 조직 주위로 자라나오는 것을 확인한 후 조직을 제거하고 배양을 계속하여 세포가 배양접시에 충만해지면 0.05% trypsin-EDTA (Gibco, Carlsbad, CA, USA)를 이용하여 계대배양하였다.

약물처리

일차배양한 사람의 테논낭 섬유아세포를 24 well 배양접시에 분주하여 24시간 동안 배양기에 넣어 세포를 부착시킨 후 배지를 제거하고 나서 0, 2.5, 0.5, 1.0 mM VPA (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)에 2일 간격으로 5일간 노출시켰다. 이때 MMC (Kyowa Hakko Kirin, Shizuoka, Japan)는 0, 1.0, 2.5 µg/mL의 농도로 단독으로 노출시키거나 VPA와 동시에 노출시켰다.

MTT assay

세포의 생존에 대한 효과는 세포생존과 세포독성의 선별검사로 흔히 이용되고 있는 발색검사의 일종인 MTT (3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2, 5-diphenyltetrazolium bromide, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) assay¹⁷를 이용하였다. 약물처리한 세포의 배지에 MTT를 각 well당 100 µL씩 투여한 후 4시간 동안 정치배양한 다음 염류용액으로 씻어낸 후 dimethylsulfoxide를 각 well당 0.5 mL씩 넣어 10분 이상 흔든 다음 96-well 배양접시에 200 µL씩 옮겨 분광광도계 (FLUOstar OPTIMA, BMG labtech, Offenburg, Germany)로 570 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 세포의 생존 정도는 실험군의 값을 약물처리를 하지 않은 대조군의 비로 나누어 백분율로 나타내었다.

Annexin-propidium iodide (PI) 이중염색을 이용한 유세포 분석(flow cytometry)

세포고사의 정도를 정량적으로 분석하기 위하여 상용의 kit (TACS Annexin V-FITC apoptosis detection kit, R & D systems, Minneapolis, MN, USA)를 사용하여 Annexin-V와 PI 이중염색을 이용한 유세포 분석을 시행하였다. 트립신 처리한 세포를 원심분리한 후 차가운 염류용액으로 세척한 다음 5 µL의 annexin V와 1 µL의 PI를 100 µL의 세포부유액에 넣은 후 상온에서 15분간 배양한 다음 400 µL의 완충액에서 부드럽게 섞은 후 유세포 분석기(Gallios, Beckam Coulter, Brea, CA, USA)를 이용하여 fluorescence emission 530 nm와 575 nm이상의 파장에서 세포고사의 정도를 알기 위해 유세포 분석을 시행하였다. 각 실험군에서 유세포 분석을 시행한 세포수는 10,000으로 하였다.

통계적 처리

모든 실험은 3계대에서 5계대 사이의 세포를 이용하였고 3회 이상 반복하여 시행하였다. 모든 실험에서 대조군은 약물처리를 하지 않은 군으로 하여 VPA와 MMC의 효과를 비교하였다. 실험군과 대조군의 비교는 unpaired *t*-test를 사용하였으며 유의수준은 0.05%로 정하였다.

결 과

VPA가 섬유아세포의 생존에 미치는 영향

VPA는 0.25 mM의 농도부터 약물에 노출되지 않은 대조군에 비하여 섬유아세포의 생존을 유의하게 감소시켰으며 ($p < 0.05$) MMC 역시 1.0 µg/mL의 농도부터 유의하게 섬유아세포의 생존을 감소시켰다($p < 0.05$) (Fig. 1). 1.0 µg/mL MMC에 노출시킨 다음 VPA에 추가로 노출시킨 경우 MMC에

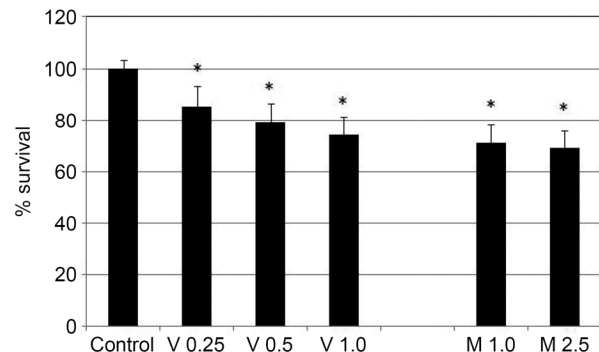


Figure 1. Effect of valproic acid and mitomycin C on the survival of human Tenon's capsule fibroblasts. Both valproic acid (V, mM) and mitomycin C (M, µg/mL) decreased cellular survival in a dose-dependent manner ($p < 0.05$).

단독으로 노출시킨 경우에 비하여 VPA의 농도에 비례하여 세포의 생존이 감소하였으며(Fig. 2) 2.5 $\mu\text{g/mL}$ MMC에 노출시킨 다음 VPA에 추가로 노출시킨 경우에도 VPA의 농도에 비례하여 섬유아세포의 생존이 감소하였다(Fig. 3).

VPA가 섬유아세포의 세포고사에 미치는 영향

세포고사가 일어나게 되면 세포막의 포스파티딜세린이 노출되게 되는데, annexin-V/PI 이중염색을 시행하면 annexin-V는 세포고사가 일어나는 세포 외막의 포스파티딜세

린이 결합하게 되며, 괴사되는 세포는 PI에 염색된다. 따라서 정상적인 살아있는 세포는 annexin-V 음성이면서 PI 음성, 세포고사의 경우 annexin-V에 양성이면서 PI에 음성으로, 그리고 세포괴사의 경우에는 annexin-V에 양성이면서 PI에도 양성으로 나타난다(Fig. 4).

VPA는 0.25, 0.5, 1.0 mM의 농도에서 각각 7.76 (\pm 1.10)%, 10.98 (\pm 1.29)%, 9.6 (\pm 0.67)%의 세포고사를 유발하였으며, MMC는 1.0, 2.5 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 각각 9.51 (\pm 0.13)%, 19.63 (\pm 5.34)%의 세포고사를 유발하였다(Table 1). VPA와 MMC의 병용이 세포고사에 미치는 영향을 알아보기 위하

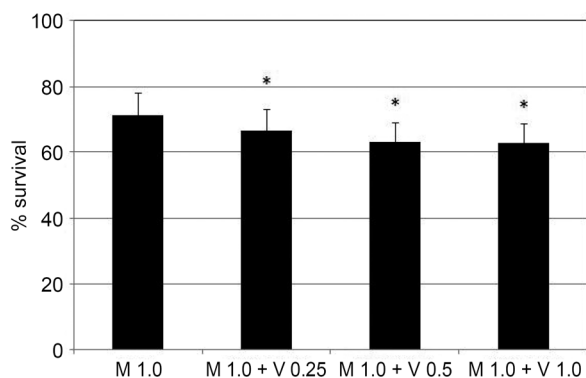


Figure 2. Additive effect of valproic acid (V, mM) on the survival of human Tenon's capsule fibroblasts when co-exposed to 1.0 $\mu\text{g/mL}$ of mitomycin C (M). Valproic acid further decreased mitomycin C-induced reduction of cellular survival significantly ($p < 0.05$).

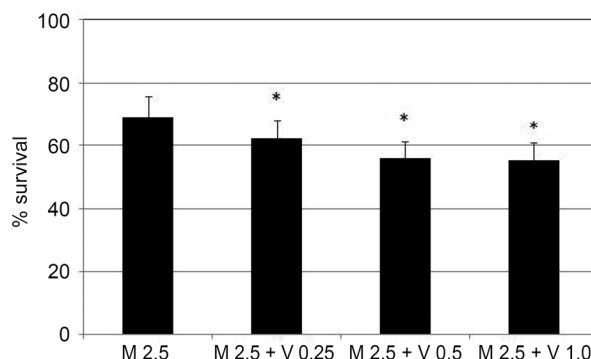


Figure 3. Additive effect of valproic acid (V, mM) on the survival of human Tenon's capsule fibroblasts when co-exposed to 2.5 $\mu\text{g/mL}$ of mitomycin C (M). Valproic acid further decreased mitomycin C-induced reduction of cellular survival significantly ($p < 0.05$).

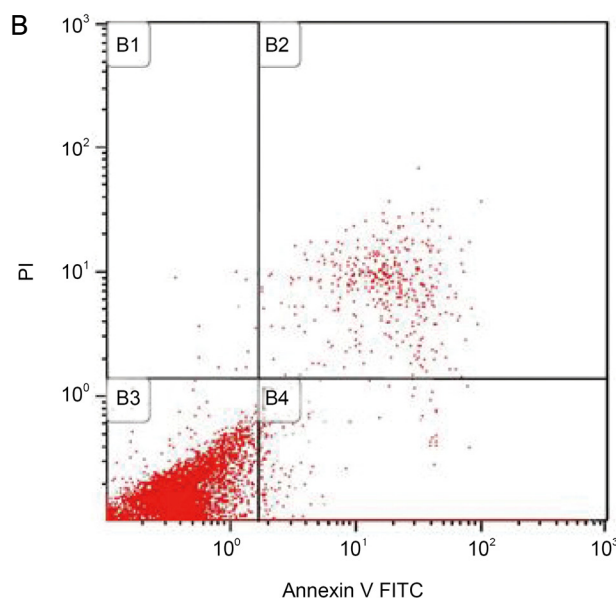
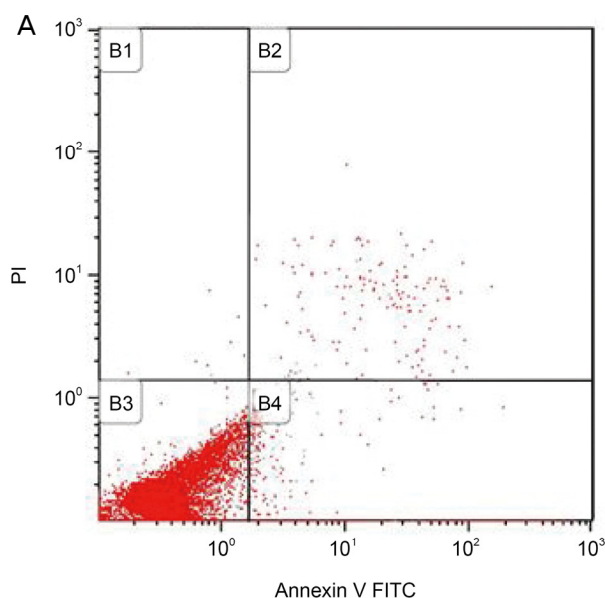


Figure 4. Flow cytometric analysis of apoptosis using annexin-propidium iodide (PI) double staining. Cells in quadrant B1, B2, B3, B4 represent necrotic cells, late apoptotic cells, living cells and early apoptotic cells, respectively. (A) Exposed to 0.5 mM valproic acid. (B) Exposed to 2.5 $\mu\text{g/mL}$ of mitomycin C. Cell count = 10,000. FITC = fluorescein isothiocyanate.

여 1.0 $\mu\text{g/mL}$ MMC에 0.25, 0.5, 1.0 mM VPA를 추가로 노출시킨 경우 각각 12.77 (± 1.44)%, 15.23 (± 0.06)%, 17.84 (± 8.57)%로 세포고사의 정도가 증가하였다. 2.5 $\mu\text{g/mL}$ MMC에 0.25, 0.5, 1.0 mM VPA를 추가로 노출시킨 경우에도 VPA의 농도에 비례하여 세포고사의 정도가 증가하였다(Table 2).

고 찰

본 연구의 결과는 VPA가 인체의 테논낭 섬유아세포에 대해 항증식효과를 나타냄을 보여준다. VPA는 신경계의 흥분을 억제하는 다양한 약리작용을 나타내는데 그 기전의 하나로 글루탐산에 의한 신경흥분을 조절하여 안구 내 망막신경절세포를 보호하는 작용을 나타내는 것으로 알려져 있다.¹⁸ 또한 VPA는 세포분화를 조절하는 히스톤 디아세틸레이즈(histone deacetylases, HDAC)에 대한 저해작용을 나타내어^{19,20} 종양세포의 증식을 억제할 뿐만 아니라,¹²⁻¹⁵ 만성 고안압증 모델을 이용한 실험에서 망막신경절세포의 구조와 기능을 유지하는 작용을 나타낸다.²¹

이러한 VPA의 다양한 작용 중의 하나로 세포고사를 유발하며, 생체 내 실험 등에서 혈관내피세포의 증식과 이동, 그리고 신생혈관생성을 억제하는 것이 보고되었다.^{13,14,16} 만일 VPA가 섬유아세포에 대해 현재 많이 사용하고 있는 MMC에 상응할 만한 항증식효과를 나타낸다면 신생혈관 억제 등에 의해 섬유주절제술에서 매우 유용한 약제로 고려될 수 있을 것이다. 이에 저자들은 인체의 테논낭 섬유아세포에 대해서도 항증식작용과 세포고사를 유발하는지 알아보기 위하여 본 실험을 시행하였다. 그 결과 VPA는 농도

에 비례하여 항증식작용을 나타내었으며 MMC 역시 유의한 항증식작용을 나타내었다. 또한 MMC에 농도별로 VPA에 추가 노출시킨 경우 세포의 생존이 더욱 감소되는 것으로 나타나 MMC에 VPA를 추가로 사용할 경우 각 약물의 농도에 비례하여 더 유의한 항증식작용을 나타낸다는 것을 알 수 있었다. 따라서 MMC와 VPA를 병용하면 추가적인 항증식효과를 얻을 수 있을 것으로 생각된다.

MMC는 HTFB의 생존을 저하시키는 동시에 세포고사를 유발하는데⁸ VPA 역시 세포고사를 유발하였다. VPA는 0.5 mM의 농도에서 세포고사를 더 많이 유발하였는데, 이는 인체에서 사용할 수 있는 VPA의 적정범위 내에 해당한다.²² 따라서 VPA를 항증식작용을 위한 목적으로 사용할 경우 0.5 mM의 농도가 적절할 것으로 생각되나 향후 동물실험 등을 통해서 더 자세한 연구를 요한다. VPA와 비교하여 2.0 $\mu\text{g/mL}$ MMC는 초기와 후기 세포고사를 더 유발하였으며, 세포괴사도 더 증가시켰다. 또한 MMC에 VPA를 추가로 노출시킨 경우 세포고사가 더욱 증가되었으므로 MMC는 VPA에 비해 세포의 생존을 더 저하시킬 뿐만 아니라 세포고사를 더 유발함을 알 수 있다. MMC를 고농도로 사용할 조직의 손상을 유발하여^{23,24} 여러 합병증이 발생할 위험이 증가할 수 있으므로⁴⁶ VPA와 병용함으로써 MMC의 사용 농도를 줄일 수 있을 것으로 생각된다.

VPA가 항증식작용을 나타내는 기전은 HDAC 저해제로 작용하여 세포의 분화에 영향을 미칠 수 있으며, 종양세포의 경우 세포주기를 조절하는 cyclin D2를 다시 발현시켜 세포의 증식을 억제한다.²⁵ 창상치유 과정에서 일산화질소의 생성이 증가하면 창상치유를 촉진하는 효과를 나타내며²⁶ 일산화질소를 억제하면 섬유아세포의 생존이 저하된다.²⁷

Table 1. Results of flow cytometric analysis of apoptosis induced by valproic acid (VPA) and mitomycin C (MMC)

| | B1 | B2 | B3 | B4 |
|--------------------------|-----------------|-----------------|------------------|------------------|
| VPA 0.25 mM | 0.04 \pm 0.01 | 1.04 \pm 0.20 | 91.25 \pm 1.24 | 7.62 \pm 1.01 |
| VPA 0.5 mM | 0.05 \pm 0.01 | 1.05 \pm 0.17 | 87.87 \pm 1.06 | 10.98 \pm 1.29 |
| VPA 1.0 mM | 0.08 \pm 0.01 | 1.45 \pm 0.01 | 88.91 \pm 0.66 | 9.51 \pm 0.13 |
| MMC 1.0 $\mu\text{g/mL}$ | 0.10 \pm 0.05 | 1.39 \pm 0.03 | 88.99 \pm 0.11 | 9.51 \pm 0.13 |
| MMC 2.5 $\mu\text{g/mL}$ | 0.15 \pm 0.06 | 4.41 \pm 0.37 | 75.75 \pm 4.92 | 19.63 \pm 5.34 |

Values are presented as mean \pm SD (%). 'B1' means 'only propidium iodide (PI) stained (necrotic cells)', 'B2' means 'Annexin and PI stained (late apoptotic cells)', 'B3' means 'unstained (live cells)', 'B4' means 'only Annexin stained (early apoptotic cells)'.

Table 2. Additive effect of valproic acid (VPA) on the apoptosis of human Tenon's capsule fibroblasts when co-exposed to mitomycin C (MMC)

| MMC ($\mu\text{g/mL}$) | VPA (mM) | % apoptosis* | MMC ($\mu\text{g/mL}$) | VPA (mM) | % apoptosis* |
|--------------------------|----------|------------------|--------------------------|----------|------------------|
| 1.0 | 0.25 | 12.77 \pm 1.44 | 2.5 | 0.25 | 10.14 \pm 0.94 |
| 1.0 | 0.5 | 15.23 \pm 0.06 | 2.5 | 0.5 | 14.41 \pm 1.49 |
| 1.0 | 1.0 | 17.84 \pm 8.57 | 2.5 | 1.0 | 18.28 \pm 3.18 |

*Represent % apoptosis as mean \pm standard deviation.

HDAC 저해제인 VPA의 또 다른 작용은 일산화질소의 생성을 감소시키는 것이므로¹⁶ 이에 따라 세포의 생존을 저하시킬 수 있을 것이지만 이에 반하는 보고도 있으므로²⁸ HTFB에서 VPA가 일산화질소의 생성에 대한 작용은 향후 좀 더 자세한 연구를 요한다.

녹내장 여과수술의 성공률을 높이기 위해 여러 약제가 연구되어 왔으며 베바시주마이 섬유아세포에 대해 항증식 효과를 나타내어 여과수술의 성공률을 높일 수 있다는 보고가 있었으나²⁹ 그 효과는 MMC에 비해 미미할 것으로 생각된다.⁸ 따라서 VPA를 단독 또는 MMC와 병용할 경우 창상치유를 억제하기 위해 고려해 볼 수 있는 또 다른 대안이 될 수 있을 것이다. 그러나 본 연구의 결과는 세포배양을 이용한 실험실 내의 조건에서 행한 것이므로 실제 동물실험이나 인체 실험에서의 결과와 차이가 날 수 있을 것이다.

결론적으로 VPA는 배양된 HTFB의 생존을 저하시켰으며 세포고사를 유발하였으며 MMC에 함께 노출시킨 경우 세포의 생존이 더 저하되었다. 따라서 VPA는 섬유아세포에 대해 항증식작용을 나타낼 수 있을 것으로 생각되며, 실제 녹내장 여과수술에 사용해서 수술의 성공률을 높이는 데 사용하기 위한 임상적 유용성에 대해서 향후 보다 자세한 연구가 필요할 것이다.

REFERENCES

- Addicks EM, Quigley HA, Green WR, Robin AL. Histologic characteristics of filtering blebs in glaucomatous eyes. *Arch Ophthalmol* 1983;101:795-8.
- Skuta GL, Parrish RK 2nd. Wound healing in glaucoma filtering surgery. *Surv Ophthalmol* 1987;32:149-70.
- Bindlish R, Condon GP, Schlosser JD, et al. Efficacy and safety of mitomycin-C in primary trabeculectomy: five-year follow-up. *Ophthalmology* 2002;109:1336-41; discussion 1341-2.
- Migdal C, Hitchings R. Morbidity following prolonged postoperative hypotony after trabeculectomy. *Ophthalmic Surg* 1988;19:865-7.
- Zacharia PT, Deppermann SR, Schuman JS. Ocular hypotony after trabeculectomy with mitomycin C. *Am J Ophthalmol* 1993;116:314-26.
- Fannin LA, Schiffman JC, Budenz DL. Risk factors for hypotony maculopathy. *Ophthalmology* 2003;110:1185-91.
- Lama PJ, Fechtner RD. Antifibrotics and wound healing in glaucoma surgery. *Surv Ophthalmol* 2003;48:314-46.
- Kim SH, Kim JW. Comparison of the effects between bevacizumab and mitomycin C on the survival of fibroblasts. *J Korean Ophthalmol Soc* 2011;52:345-9.
- Löescher W. Basic pharmacology of valproate: a review after 35 years of clinical use for the treatment of epilepsy. *CNS Drugs* 2002;16:669-94.
- Monti B, Polazzi E, Contestabile A. Biochemical, molecular and epigenetic mechanisms of valproic acid neuroprotection. *Cur Mol Pharmacol* 2009;2:95-109.
- Henry TR. The history of valproate in clinical neuroscience. *Psychopharmacol Bull* 2003;37:5-16.
- Kawagoe R, Kawagoe H, Sano K. Valproic acid induces apoptosis in human leukemia cells by stimulating both caspase-dependent and -independent apoptotic signaling pathway. *Leuk Res* 2002;26:495-502.
- Phillips A, Bullock T, Plant N. Sodium valproate induces apoptosis in the rat hepatoma cell line, FaO. *Toxicology* 2003;192:219-27.
- Tang R, Faussat AM, Majdak P, et al. Valproic acid inhibits proliferation and induces apoptosis in acute myeloid leukemia cells expressing P-gp and MRP1. *Leukemia* 2004;18:1246-51.
- Witt D, Burfeind P, von Hardenberg S, et al. Valproic acid inhibits the proliferation of cancer cells by re-expressing cyclin D2. *Carcinogenesis* 2013;34:1115-24.
- Michaelis M, Michaelis UR, Fleming I, et al. Valproic acid inhibits angiogenesis in vitro and in vivo. *Mol Pharmacol* 2004;65:520-7.
- Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods* 1983;65:55-63.
- Biermann J, Grieshaber P, Goebel U, et al. Valproic acid-mediated neuroprotection and regeneration in injured retinal ganglion cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010;51:526-34.
- Göttlicher M, Minucci S, Zhu P, et al. Valproic acid defines a novel class of HDAC inhibitors inducing differentiation of transformed cells. *EMBO J* 2001;20:6969-78.
- Phiel CJ, Zhang F, Huang EY, et al. Histone deacetylase is a direct target of valproic acid, a potent anticonvulsant, mood stabilizer, and teratogen. *J Biol Chem* 2001;276:36734-41.
- Alsarraf O, Fan J, Dahrouj M, et al. Acetylation preserves retinal ganglion cell structure and function in a chronic model of ocular hypertension. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014;55:7486-93.
- Phiel CJ, Zhang F, Huang EY, et al. Histone deacetylase is a direct target of valproic acid, a potent anticonvulsant, mood stabilizer, and teratogen. *J Biol Chem* 2001;276:36734-41.
- Chang KY, Moon JI, Baek NH, Lee CJ. The tissue changes of filtering site following filtration surgery with various mitomycin C concentrations. *J Korean Ophthalmol Soc* 1995;36:316-23.
- Mietz H, Addicks K, Bloch W, Krieglstein GK. Long-term intraocular toxic effects of topical mitomycin C in rabbits. *J Glaucoma* 1996;5:325-33.
- Witt D, Burfeind P, von Hardenberg S, et al. Valproic acid inhibits the proliferation of cancer cells by re-expressing cyclin D2. *Carcinogenesis* 2013;34:1115-24.
- Schwentker A, Vodovotz Y, Weller R, Billiar TR. Nitric oxide and wound repair: role of cytokines? *Nitric Oxide* 2002;7:1-10.
- Kim KH, Kim JW. Role of nitric oxide on the proliferation of human Tenon capsule fibroblasts. *Korean J Ophthalmol* 2003;44:1670-4.
- Hyndman KA, Ho DH, Segal MF, Pollock JS. Histone deacetylase 1 reduces NO production in endothelial cells via lysine deacetylation of NO synthase 3. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2014;307:H803-9.
- Li Z, Van Bergen T, Van de Veire S, et al. Inhibition of vascular endothelial growth factor reduces scar formation after glaucoma filtering surgery. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009;50:5217-25.

= 국문초록 =

발프로익산이 인체 테논낭 섬유아세포의 생존에 미치는 영향

목적: 발프로익산이 배양된 인체 테논낭 섬유아세포의 생존에 미치는 영향에 대해 알아보고자 하였다.

대상과 방법: 일차배양한 섬유아세포에 0, 0.25, 0.5, 1.0 mM 발프로익산과 0, 1.0, 2.5 µg/mL 미토마이신 C에 각각 또는 동시에 5일간 노출시킨 후 MTT (3-[4, 5-dimethylthiazol-2-yl]-2, 5-diphenyltetrazolium bromide) assay를 이용하여 세포의 생존을 측정하였고, annexin-V/propidium iodide 이중염색 후 유세포 분석을 이용하여 세포고사의 정도를 측정하였다.

결과: 발프로익산은 농도에 비례하여 섬유아세포의 생존을 유의하게 저하시켰으며, 미토마이신 C를 추가한 경우 섬유아세포의 생존을 더욱 저하시켰다. 두 약제 모두 섬유아세포의 세포고사를 유발하였으나 발프로익산은 미토마이신 C에 비해 세포고사를 적게 유발하였다.

결론: 발프로익산은 섬유아세포의 생존을 저하시키며 세포고사를 유발한다. 또한 미토마이신 C를 병용한 경우 섬유아세포에 대한 항증식효과가 더 나타날 것으로 생각된다.

〈대한안과학회지 2018;59(11):1056-1061〉

이시은 / See Eun Lee

대구가톨릭대학교 의과대학 안과학교실
Department of Ophthalmology, Daegu
Catholic University School of Medicine

