



Proteomic Analysis of Hepatic Ischemia and Reperfusion Injury in Mice

Eun-Hae Cho, Jin-Hee Sung and Phil-Ok Koh*

Department of Anatomy, College of Veterinary Medicine, Research Institute of Life Sciences,
Gyeongsang National University, Jinju, Korea

Hepatic ischemia/reperfusion (I/R) injury is an inevitable consequence during liver surgery. I/R injury induces serious hepatic dysfunction and failure. In this study, we identified proteins that were differentially expressed between sham and I/R injured livers. Animals were subjected to hepatic ischemia for 1 hr and were sacrificed at 3hr after reperfusion. Serum ALT and AST levels were significantly increased in I/R-operated animals compared to those of sham-operated animals. Ischemic hepatic lobes of I/R-operated animals showed the hepatic lesion with unclear condensation and sinusoidal congestion. Proteins from hepatic tissue were separated using two dimensional gel electrophoresis. Protein spots with a greater than 2.5-fold change in intensity were identified by mass spectrometry. Among these proteins, glutaredoxin-3, peroxiredoxin-3, glyoxalase I, spermidine synthase, dynamin-1-like protein, annexin A4, eukaryotic initiation factor 3, eukaryotic initiation factor 4A-I, 26S proteasome, proteasome alpha 1, and proteasome beta 4 levels were significantly decreased in I/R-operated animals compared to those of sham-operated animals. These proteins are related to protein synthesis, cellular growth and stabilization, anti-oxidant action. Moreover, Western blot analysis confirmed that dynamin-1-like protein levels were decreased in I/R-operated animals. Our results suggest that hepatic I/R induces the hepatic cells damage by regulation of several proteins.

Key words: Ischemia, liver, reperfusion

(Received 17 November 2009; Revised version received 8 March 2010; Accepted 17 March 2010)

간 이식과 절제수술과정에서 허혈과 재관류로 인한 간 세포의 손상은 간기능 장애를 유발한다고 알려져 있다. 따라서, 간 허혈과 재관류로 인한 손상의 억제는 간 기능장애의 완화 및 환자의 생존율에도 중요한 영향을 미친다. 간 허혈은 혈액 공급의 일시적인 차단으로 인하여 발생하며, 간 조직에 저산소증을 유발시켜, ATP 고갈, H^+ , Na^+ , Ca^{2+} 등의 항상성 변화를 초래하여 세포를 손상시킨다(Rhodes and DePalma, 1980). 또한, 허혈 후 재관류 과정에서 더 심한 손상을 초래하며, 이러한 재관류 손상은 급성기와 아급성기로 나눌 수 있다(Eum et al., 2007; Kuboki et al., 2007). 급성기는 재관류 후 3~6시간으로 저산소상태의 간세포에 혈액이 다시 공급되면서 reactive oxygen species (ROS)가 발생하여 간세포와 혈관 내피세

포에 손상을 준다고 알려져 있다(Jaeschke, 2003). 또한, 아급성기는 재관류 후 18~24시간으로 tumor necrosis factor- α , interleukin-1, platelet-activating factor와 같은 염증반응을 조절하는 인자에 의한 호중성백혈구(neutrophil)의 출현을 특징으로 하며, 간세포의 세포질 변성 및 글로세릴관의 울혈을 나타낸다(Jaeschke, 2006).

간 허혈 및 재관류로 유발된 손상을 완화시키기 위해 간세포의 보호작용에 관여하는 물질과 간 손상으로 변화되는 단백질을 찾는 연구가 필요하다. 이를 위해선 간 허혈 및 재관류로 인해 손상 받은 간세포에서의 단백질 발현 양상을 조사한 연구는 선행되어야 한다고 생각되나 그에 관한 자료는 부족한 실정이다. 본 연구에서는 재관류 후 급성기에 변화되는 단백질들을 조사하고자 하였다.

재료 및 방법

실험동물

실험동물은 수컷 ICR 마우스(35-40 g, 40마리)를 샘타코(경기도, 오산)로부터 구입하여 사용하였다. 실험동물

*Corresponding author: Phil-Ok Koh, Department of Anatomy, College of Veterinary Medicine, Gyeongsang National University, 900 Gajwa-dong, Jinju 660-701, Korea
Tel: +82-55-751-5809
Fax: +82-55-751-5803
E-mail: pokoh@gnu.ac.kr

은 온도 $23\pm2^{\circ}\text{C}$, 습도 $50\pm5\%$ 가 조절되는 환경에서 사육하였고, 실험동물용 고형사료와 음수를 자유롭게 공급하였다. 본 연구에서의 모든 동물실험은 경상대학교 실험동물 연구지원센터 동물실험윤리위원회(Istitutional Animal Care and Use Committee, IACUC)의 승인을 받았으며, 모든 실험은 경상대학교의 동물실험 규정에 따라 수행되었다.

간 허혈 및 재관류 손상

간 허혈 및 재관류 손상모델은 Abe et al., (2009)의 방법을 인용하여 시행하였다. 실험동물은 pentobarbital sodium (50 mg/kg)을 근육주사하여 마취하였다. 먼저, 복부 정중선 부위를 소독한 뒤 정중절개하여 복강을 노출시켰고, 혈관경자로 문정맥(portal vein)과 간동맥(hepatic artery)의 원가지를 함께 결찰하여 간의 왼엽(left liver lobe)에 혈액공급을 차단함으로써 허혈을 유도하였다. 허혈을 유도하는 동안 절개부위는 생리 식염수를 적신 거즈로 덮어 복강장기의 건조를 방지하였다. 허혈을 시작한 1시간 후 혈관경자를 풀어 재관류(reperfusion)를 시행하였고, 재관류 3시간 후 혈액과 간 조직을 채취하였다. 대조군은 허혈을 유도하지 않았고 1시간 동안 개복술(laparotomy)만을 실시하였다. 수술과정에서의 저체온현상을 막기 위하여, 수술이 진행되는 동안 heating pad를 이용하여 체온을 $36\sim37^{\circ}\text{C}$ 로 유지시켰다.

간 효소 측정

간 손상의 지표로서 ALT (aspartate aminotransferase), AST (alanine aminotransferase) 수치를 측정하였다. 재관류 후 3시간에 심장천자 방법으로 채혈하여 heparin 병에 옮긴 후 즉시 15,000 rpm에서 2분간 원심분리를 실시하여 혈장을 분리하였고, Vet test 8008 (IDEXX-GmbH, Woerrstadt, Germany)을 이용하여 혈장내 AST와 ALT 수치를 측정하였다.

간의 조직학적 분석

대조군의 왼엽 간조직과 허혈 및 재관류로 손상이 유도된 실험군의 왼엽 간조직을 4% neutral buffered paraformaldehyde에 고정하였다. 고정된 간 조직을 수세하여 고정액을 제거한 후 70, 80, 90, 95, 100% ethanol, xylene을 단계별로 사용하여 탈수와 투명화 과정을 거쳤고, paraffin embedding center (Leica, Wetzlar, Germany)에서 포매하였다. 파라핀 블록은 4 μm 로 박절되었고, 박절된 조직은 xylene, 100, 95, 90, 80, 70% ethanol의 단계로 탈파라핀과 수증과정을 거친 후 hematoxylin과 eosin으로 염색하였고, permount를 이용하여 봉입한 후, 광학현미경(Leica, Wetzlar, Germany)으로 관찰하였다.

단백질 준비 및 정량

채취된 간 조직은 lysis buffer (8 M urea, 4% CHAPS, 0.2% Bio-Lyte ampholytes, 40 mM Tris-HCl)를 넣어 조직분쇄기로 균질화(homogenization)한 후 초원심분리기로 분리하였다. 원심분리 후 침전물에 10% TCA를 더하여 초음파기로 분쇄하고 원심분리하여 얻은 침전물을 Tris HCl (pH 7.6)로 씻은 후 실온에서 1시간 견조시켰다. 침전물은 sample buffer (8 M urea, 4% CHAPS, 0.2% biolate, 40 mM Tris-HCl, 1% (v/v) pharmalytes, 100 mM DTT)를 넣어 분쇄하고, 원심분리하여 상층액만을 모았다. 단백질 농도는 Bradford (Bio-Rad, Hercules, CA, USA)법으로 측정하였다.

이차원 전기영동

Isoelectric focusing (IEF)를 위하여 동량의 단백질 시료를 sample buffer (8 M urea, 2% CHAPS, 20 mM DTT, 0.5% IPG buffer, bromophenol blue)에 녹여 준비하였고, 17 cm linear strip (pH 4-7 gradient, Bio-Rad)으로 Protean isoelectric focusing cell (Bio-Rad)을 이용하여 focusing을 실시하였다. 함수단계는 13시간 시행하였고, focusing 과정은 250 V에서 15분, 10,000 V에서 3시간, 10,000 V에서 50,000 V까지 시행하였다. Focusing이 끝난 strip은 1% DTT를 포함한 equilibration buffer (6 M urea, 30% glycerol, 2% SDS, 50 mM Tris-HCl, bromophenol blue)에 10분, 2.5% iodoacetamide를 포함한 equilibration buffer에 10분 반응시킨 후 7.5-17.5% gradient gel을 사용해 이차원 전기영동을 실시하였다.

Silver 염색과 단백질 동정

전기영동이 끝난 polyacrylamide gel은 고정액(12% acetic acid, 50% methanol)에서 90분간 고정한 후 50% ethanol로 20분간 수세하였고, 0.02% sodium thiosulfate에 1분간 반응시킨 후 중류수로 수세하고, silver nitrate 용액(0.2% silver nitrate, 0.75 mL/L formaldehyde)에 20분간 반응시킨 후 현상용액(0.2% sodium carbonate, 0.5 mL/L formaldehyde)으로 3분간 처리한 후 1% acetic acid에서 반응을 종료시켰다. 염색된 gel image는 PDQuest software (Bio rad)를 이용하여 대조군과 실험군 간의 단백질 발현 양상을 비교하였다. PDQuest를 통해 선택된 단백질 spot들은 reduction 용액(10 mM DTT, 0.1 M NH_4HCO_3)에 56°C에서 45분간, alkylation 용액(55 mM iodoacetamide, 0.1 M NH_4HCO_3)에 30분간 반응시켰다. 전조된 gel 조각은 digestion buffer에 하룻밤 동안 반응시켰고, digestion 시행 후 상층액을 모아 동결건조하여 펩티드만을 획득한 후 Voyager-DETM STR biospectrometry workstation (Applied Biosystem, Forster city, CA, USA)

으로 동정하였다. MALDI-TOF 결과는 MS-FIT (<http://prospector.ucsf.edu/ucsfhtml13.4/msfit.htm>)과 ProFound (http://129.85.19.192/profound_bin/WebProFound.exe)를 통해 분석하였고, Sequence database는 SWISS PROT과 NCBI를 사용하였다.

Western blot 분석

정량된 단백질(30 g)을 10% SDS-polyacrylamide gel에서 전기영동을 시행하였다. 전기영동 후 poly-vinylidene fluoride membrane에 단백질을 transfer하였고, membrane은 0.1% Tween-20이 포함된 Tris-buffered saline (TBST)에서 수세한 후 immunoblotting을 수행하였다. 일차항체로는 anti-dynamin-1-like protein과 anti-tubulin (diluted 1:1000, Cell Signaling Technology, Beverly, MA, USA)을 사용하여 반응시켰다. 이차항체로 HRP-conjugated rabbit IgG (1:5000; Cell Signaling Technology)를 반응시켰고 ECL Western blot analysis system (Amersham Pharmacia Biotech, Piscataway, NJ, USA)을 이용하여 단백질을 발현을 확인하였다.

통계분석

실험동물의 통계처리는 Student's *t*-test를 실시하였으며 $P < 0.05$ 수준에서 통계적 유의성을 확인하였다.

결과

허혈 및 재관류 후 AST와 ALT 분석

대조군과 허혈 및 재관류를 유도한 실험군에서 간 손상의 정도를 확인하기 위한 지표로서 혈장 내 AST와 ALT 수치를 측정하였다(Figure 1). 대조군에서 AST 수치는 168.5 ± 21.5 U/L로 나타났고, 실험군은 2850.5 ± 185.5 U/L로 실험군의 AST 수치는 대조군의 AST 수치보다 현저히 증가함을 확인하였다. 또한, ALT 수치도 AST와 유사한 변화를 보여, 대조군의 ALT 수치는 102 ± 4.5 U/L로 나타났고, 실험군의 ALT 수치는 3250.5 ± 270.5 U/L으로, 실험군의 ALT 수치는 대조군의 ALT 수치보다 현저하게 증가하여 간 손상이 유발되었음을 확인하였다.

허혈 및 재관류 후 간의 조직학적 분석

허혈 및 재관류 손상을 유도하지 않은 대조군은 간 소엽의 중심정맥을 중심으로 간세포가 방사형으로 뻗어 있고, 간세포의 핵이 크고 뚜렷하며, 간실질의 세포경계가 명확하게 나타난 정상적인 간세포의 구조를 나타내고 있었다(Figure 2A). 그러나 실험군에서는 정상적인 간세포의 부분도 관찰되었으나, 부분적으로 굴모세혈관이 팽창되어 넓어져 있고, 울혈된 형태로 나타났으며, 간세포의 핵은 짙게 응축되었고, 간세포 사이의 경계가 불명확하게 관찰

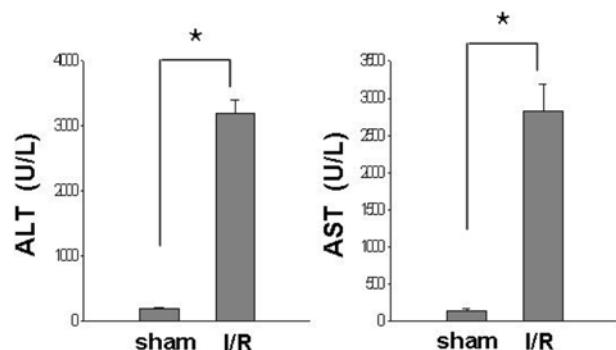


Figure 1. Serum ALT and AST levels in sham-operated (sham) and ischemia/reperfusion-operated (I/R) animals. ALT and AST levels were significantly increased in I/R-operated animals. Data ($n=5$) are represented as mean \pm SEM. * $P < 0.01$.

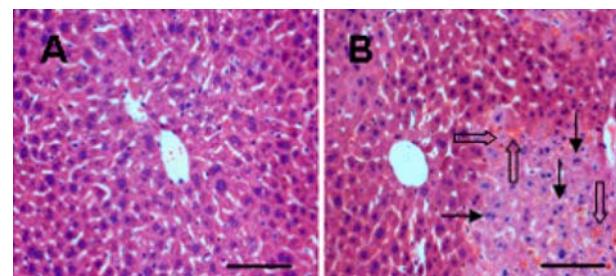


Figure 2. Histopathological photos of the liver in sham-operated (A) and ischemia/reperfusion-operated (B) animals. There is no lesion in the normal liver of sham-operated animals. Ischemic hepatic lobes of I/R-operated animals showed the hepatic lesion with nuclear condensation (arrows) and sinusoidal congestion (open arrows). Hematoxylin and Eosin stain. Scale bar=100 μ m.

되었다(Figure 2B).

허혈 및 재관류 후 변화된 단백질의 분석

2-DE 기법을 통하여 대조군과 실험군에서 단백질의 발현양상을 비교하였다. 2-DE 분석 결과 약 1,200여개의 spot들이 나타났으며, 대조군과 실험군에서 발현양상이 변화된 42개의 spot들이 관찰되었다. 이들 중 대조군과 실험군에서 2.5배 이상의 intensity의 차이를 보이는 11개의 spot이 MALDI-TOF 분석을 통해 동정되었다. 동정된 단백질은 glutaredoxin-3, peroxiredoxin-3, glyoxalase I, spermidine synthase, dynamin-1-like protein (DLP-1), annexin A4, eukaryotic initiation factor 3 subunit I, eukaryotic initiation factor 4A-I, 26S proteasome, proteasome alpha 1, proteasome beta 4로 검색되었다. 이를 단백질의 발현정도는 모두 대조군에 비하여 실험군에서 감소되었다(Figure 3, Table 1). Western blot 분석에서 허혈 및 재관류 실험군의 DLP-1 단백질의 발현이 대조군에 비하여 현저히 감소됨을 보여주었다(Figure 4).

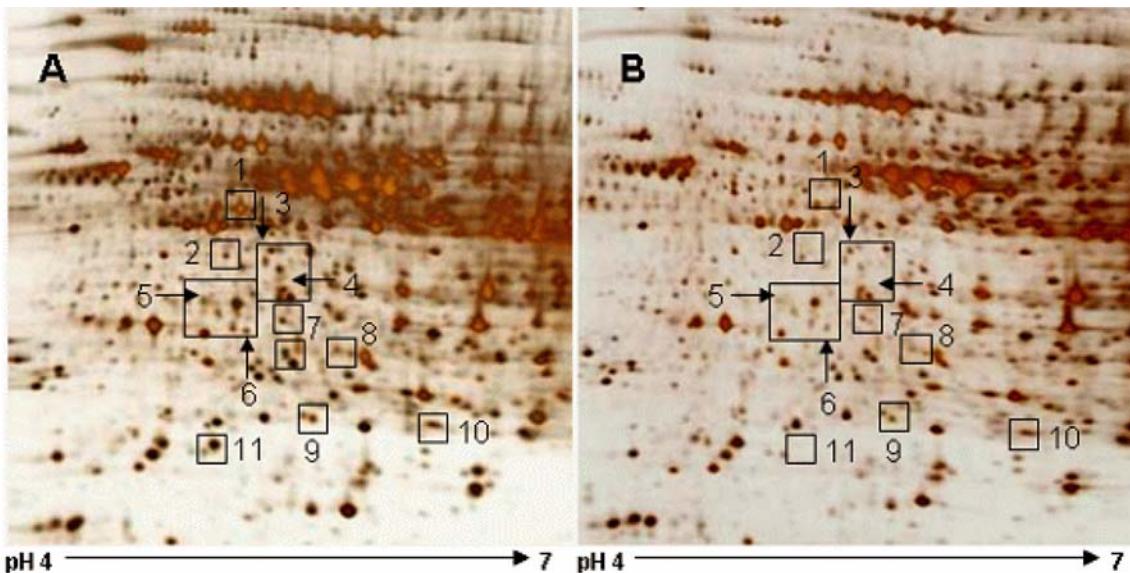


Figure 3. Two-dimensional SDS-PAGE analysis of proteins in liver tissue of sham-operated (A) and ischemia/reperfusion-operated (B) animals. Isoelectric focusing was performed at pH 4-7 using IPG strips, followed by second-dimensional separation on 7.5-17.5% gradient SDS gels stained with silver. Squares indicate the protein spots that were differentially expressed between sham- and I/R-operated animals.

Table 1. List of identified proteins that were significantly differentially expressed in sham- and I/R-operated groups

Spot No.	Protein name	Accession No.	Mw (kDa)	pl	Mass matched	Coverage (%)	Ratio of I-R / Sham
1	Eukaryotic initiation factor 4A	P60843	46125	5.32	8/74	25	0.32±0.02*
2	Dynamin-1-like protein	Q8K1M6	82606	6.61	13/141	24	0.33±0.01*
3	Glutaredoxin-3	Q9CQM9	37754	5.42	6/114	31	0.32±0.01*
4	Eukaryotic initiation factor 3	Q9QZD9	36438	5.38	9/89	28	0.33±0.02*
5	Spermidine synthase	Q64674	33973	5.31	7/85	25	0.32±0.03*
6	Annexin A4	P97429	35967	5.43	7/132	25	0.31±0.02*
7	Proteasome subunit alpha 1	Q9R1P4	29528	6.00	9/145	37	0.30±0.01*
8	26S proteasome	Q9CX56	30007	6.03	12/155	45	0.31±0.03*
9	Proteasome subunit beta 4	P99026	29097	5.47	9/116	39	0.32±0.02*
10	Peroxiredoxin-3	P20108	28109	7.15	9/123	26	0.29±0.02*
11	Glyoxalase I	Q9CPU0	20796	5.24	11/102	26	0.18±0.02*

Ratio is described as spots intensity of I/R-operated to spots intensity of sham-operated.

* $P<0.05$ (vs. sham)

고 찰

간 수술과정에서 혈액공급의 일시적인 차단과 재공급은 필연적으로 발생하게 되며, 이는 수술 후 간 기능장애를 발생시키고 환자의 생존율에도 큰 영향을 미친다. 본 연구에서는 생쥐를 대상으로 재관류 후 손상 3시간 째의 급성기에서 변화되는 단백질을 proteomic 기법으로 탐색하였다. ALT와 AST는 간세포의 미토콘드리아와 세포막의 손상을 나타내는 지표로 사용되는데, 본 연구의 결과에서 ALT와 AST 수치가 실험군에서 대조군에 비해 현저히 증가하여, 허혈 및 재관류로 인한 간 손상을 확인하였다. 또한, 조직학적 소견으로 간세포의 공포형성, 굴모세혈관의 울혈, 일부 염증소견을 보이는 부위가 나타났

으며, 이들의 변화는 재관류 후 급성기에서 나타나는 소견들과 일치함을 보여주었다(Jaeschke et al., 1992; Koo et al., 1992; Zwacha et al., 1997).

본 연구에서 재관류 후 급성기에 glutaredoxin-3, peroxiredoxin-3, glyoxalase I, spermidine synthase, DLP-1, annexin A4, eukaryotic initiation factor 3, eukaryotic initiation factor 4A-I, 26S proteasome, proteasome alpha 1, proteasome beta 4의 단백질 발현양이 현저히 감소함을 보여주었다. 이를 단백질 중 DLP-1은 GTPase인 dynamin family에 속하는 단백질 중 하나로서 미토콘드리아의 융합과 분열 시스템에 관여하는 단백질이다. 미토콘드리아의 형태는 융합과 분열의 균형에 의해 조절되는데 이는 미토콘드리아의 기능에 매우 중요한 역할을 한

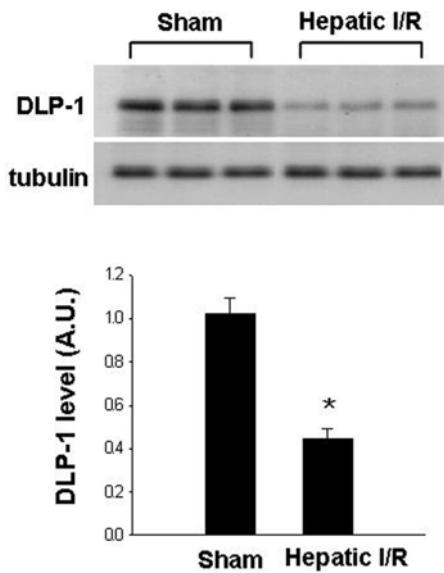


Figure 4. Western blot analysis of dynamin-1-like protein (DLP-1) in liver tissue of sham-operated and ischemia/reperfusion-operated animals. Each lane represents an individual experimental animal. Densitometric analysis is represented as an arbitrary unit (A.U.), normalized by tubulin. Data ($n=5$) are represented as mean \pm SEM. * $P<0.05$.

다. DLP-1은 주로 세포질그물과 사립체에 존재하여 세포 소기관의 형태유지와 기능에 중요한 역할을 한다(Pitts et al., 1999). DLP-1 유전자의 변이는 세포질그물과 사립체의 형태에 심각한 변화를 초래하여 세포사를 유도하였다(Pitts et al., 1999). 앞선 연구에서 Alzheimer's disease와 huntington disease와 같은 퇴행성 질환에서는 미토콘드리아의 융합과 분열 시스템의 불균형이 보고되었고(Wang et al., 2008; 2009a; 2009b), Alzheimer's disease 환자의 섬유아세포에서 oxidative stress로 인해 증가된 reactive oxygen species (ROS)는 DLP-1의 발현을 감소시켜 사립체의 형태 이상을 초래하였다(Hom et al., 2007; Wang et al., 2008). 또한 Alzheimer's disease는 β -amyloid의 축적에 의해 유발되는 것으로 미토콘드리아로부터 cytochrome c를 세포질내로 방출하여 apoptosis를 유도하며, 미토콘드리아의 density를 감소시켜 비정상적인 미토콘드리아의 형태를 나타낸다고 알려져 있다(Suen et al., 2008). DLP-1의 과발현(over-expression)은 β -amyloid에 의해 유도된 미토콘드리아의 비정상적인 분포를 감소시키고 시냅스의 기능장애를 완화시켰다(Wang et al., 2009a). 본 연구에서 간 조직의 손상시 DLP-1의 감소를 확인하였다. DLP-1의 감소는 미토콘드리아의 이상을 초래하며 이는 세포 손상을 유도한다고 볼 수 있다. 본 연구에서도 간 허혈 및 재관류로 인한 간 손상시 조직학적으로 현저한 간세포의 손상을 확인하였고, 간 허혈 및 재관류로 손상된 간 조직을 투과전자현미경으로 관찰시 미토콘

드리아가 부풀려져 있고 봉괴되었고, 능선 (cristae)의 수가 현저히 감소해 미토콘드리아 손상을 나타내었다(Pronobesh et al., 2008). 본 연구는 프로테옴 기법을 통해 간 손상시 DLP-1의 감소를 밝혔고 또한 Western blot 분석을 통해 DLP-1의 현저한 감소를 확인하였다. 본 연구의 결과로 간 손상시 DLP-1가 감소하였고, DLP-1의 감소는 사립체의 형태 이상을 일으켜 간세포의 손상을 유발하리라 사료된다.

Glyoxalase I은 glyoxalase system을 이루는 효소로서 methylglyoxal을 lactate로 전환하며, methylglyoxal이 매개하는 최종당화산물(AGEs, advanced glycation end-products)의 생성을 억제하는 역할을 한다. 따라서 glyoxalase I의 감소는 독성물질로 알려진 methylglyoxal을 축적시키고 단백질을 당화(glycation)시켜 최종당화산물의 생성을 증가시킨다(Thornalley et al., 2003). 또한, 노화(aging process)와 oxidative stress는 glyoxalase I의 활성을 감소시키고 최종당화산물의 생산을 증가시켜 세포와 조직의 손상을 일으킨다고 알려져 있다(Thornalley et al., 2008). 콩팥의 허혈 및 재관류 손상에서 glyoxalase I의 활성 감소와 methylglyoxal의 증가가 보고되었고, glyoxalase I의 overexpression은 methylglyoxal의 축적을 감소시켜 세포 손상으로부터 방어효과를 나타냄이 밝혀졌다(Kumagai et al., 2008; 2009). 본 연구에서는 간 허혈 및 재관류의 시행으로 간세포의 손상을 확인하였고, 손상된 간 조직에서 glyoxalase I의 발현이 대조군에 비해 현저히 감소됨을 확인하였다. 간 손상시 glyoxalase I의 감소는 methylglyoxal의 증가를 유도하여 간 조직의 세포 손상을 유발하리라 사료된다.

Spermidine과 spermine을 포함하는 polyamines은 세포 성장과 생존에 관여하며, spermidine synthase에 의해 생성이 조절된다고 알려져 있다(Wu et al., 2007). 또한, spermidine synthase의 기능을 억제하면 polyamine의 결핍상태가 유도되어 세포의 성장이 저하되고, oxidative stress에 쉽게 손상이 일어난다고 보고되었다(Minton et al., 1990; Chattopadhyay et al., 2003). 심장의 허혈 및 재관류 손상은 polyamine 대사를 저해하여 심근세포의 생존에 영향을 미치며, polyamine의 투여는 심장 기능을 개선하고 세포사(cell death)를 감소시켜 세포보호효과를 나타냈다(Zhao et al., 2007). 본 연구에서는 간 허혈 및 재관류 손상으로 간세포의 손상을 확인하였고, 손상된 간 조직에서 spermidine synthase의 발현이 대조군에 비해 현저히 감소됨을 확인하였다. 간 손상시 spermidine synthase의 감소는 polyamine의 감소를 유도하여 간 조직의 세포 손상을 유발하리라 사료된다.

본 연구에서는 간 허혈 및 재관류로 유도된 간세포의 손상시 glutaredoxin-3, peroxiredoxin-3, glyoxalase I, spermidine synthase, DLP-1, annexin A4, eukaryotic

initiation factor 3, eukaryotic initiation factor 4A-I, 26S proteasome, proteasome alpha 1, proteasome beta 4의 단백질이 현저하게 감소됨을 확인하였다. 이들 단백질들은 세포 분열, 분화, 성장, 단백질 합성, 항산화작용에 관여하는 단백질들로, 간 허혈 및 재관류로 인한 간세포 손상은 이들 단백질의 기능장애와 관련됨을 알 수 있었다. 따라서, 본 연구는 간 허혈 및 재관류로 인한 간 손상시 다양한 단백질의 변화가 유도됨을 알 수 있었고, 이들 결과는 간 손상의 기전을 밝히는 자료를 제시해 줄 수 있으리라 사료된다.

감사의 글

이 논문은 2007년 정부(교육인적자원부)의 재원으로 한국학술진흥재단의 지원을 받아 수행된 연구임(KRF-2007-313-E00538).

참고문헌

- Abe, Y., Hines, I.N., Zibari, G., Pavlick, K., Gray, L., Kitagawa, Y. and Grisham, M.B. (2009) Mouse model of liver ischemia and reperfusion injury: method for studying reactive oxygen and nitrogen metabolites in vivo. *Free Radic. Biol. Med.* 46, 1-7.
- Chattopadhyay, M.K., Tabor, C.W. and Tabor, H. (2003) Polyamines protect *Escherichia coli* cells from the toxic effect of oxygen. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100, 2261-2265.
- Eum, H.A., Cha, Y.N. and Lee, S.M. (2007) Necrosis and apoptosis: Sequence of liver damage following reperfusion after 60min ischemia in rats. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 358, 500-505.
- Hom, J.R., Gewandter, J.S., Michael, L., Sheu, S.S. and Yoon, Y. (2007) Thapsigargin induces biphasic fragmentation of mitochondria through calcium-mediated mitochondrial fission and apoptosis. *J. Cell Physiol.* 212, 498-508.
- Jaeschke, H., Bautista, A.P., Spolarics, Z. and Spitzer, J.J. (1992) Superoxide generation by neutrophils and Kupffer cells during *in vivo* reperfusion after hepatic ischemia in rats. *J. Leukoc. Biol.* 52, 377-382.
- Jaeschke, H. (2003) Molecular mechanisms of hepatic ischemia-reperfusion injury and preconditioning. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 284, 14-26.
- Jaeschke, H. (2006) Mechanisms of liver injury. II. Mechanisms of neutrophil-induced liver cell injury during hepatic ischemia-reperfusion and other acute inflammatory conditions. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 290, 1083-1088.
- Koo, A., Komatsu, H., Tao, G., Inoue, M., Guth, P.H. and Kaplowitz, N. (1992) Contribution of no-reflow phenomenon to hepatic injury after ischemia-reperfusion: evidence for a role for superoxide anion. *Hepatology* 15, 507-514.
- Kuboki, S., Schuster, R., Blanchard, J., Pritts, T.A., Wong, H.R. and Lentsch, A.B. (2007) Role of heat shock protein 70 in hepatic ischemia-reperfusion injury in mice. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 292, 1141-1149.
- Kumagai, T., Nangaku, M. and Inagi, R. (2008) Pathophysiological role of the glyoxalase system in renal hypoxic injury. *Ann. NY Acad. Sci.* 1126, 265-267.
- Kumagai, T., Nangaku, M., Kojima, I., Nagai, R., Ingelfinger, J.R., Miyata, T., Fujita, T. and Inagi, R. (2009) Glyoxalase I overexpression ameliorates renal ischemia-reperfusion injury in rats. *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* 296, 912-921.
- Minton, K.W., Tabor, H. and Tabor, C.W. (1990) Paraquat toxicity is increased in *Escherichia coli* defective in the synthesis of polyamines. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87, 2851-2855.
- Pitts, K.R., Yoon, Y., Krueger, E.W. and McNiven, M.A. (1999) The dynamin-like protein DLP-1 is essential for normal distribution and morphology of the endoplasmic reticulum and mitochondria in mammalian cells. *Mol. Biol. Cell.* 10, 4403-4417.
- Pronobesh, C., Dagagi, A.V., Pallab, C. and Kumar, W.A. (2008) Protective role of the calcium channel blocker amlodipine against mitochondrial injury in ischemia and reperfusion injury of rat liver. *Acta. Pharm.* 58, 421-428.
- Rhodes, R.S. and DePalma, R.G. (1980) Mitochondrial dysfunction of the liver and hypoglycemia in hemorrhagic shock. *Surg. Gynecol. Obstet.* 150, 347-352.
- Suen, D.F., Norris, K.L. and Youle, R.J. (2008) Mitochondrial dynamics and apoptosis. *Genes Dev.* 22, 1577-1590.
- Thornalley, P.J. (2003) Glyoxalase I-structure, function and a critical role in the enzymatic defence against glycation. *Biochem. Soc. Trans.* 31, 1343-1348.
- Thornalley, P.J. (2008) Protein and nucleotide damage by glyoxal and methylglyoxal in physiological systems-role in ageing and disease. *Drug Metabol. Drug Interact.* 23, 125-150.
- Wang, X., Su, B., Fujioka, H. and Zhu, X. (2008) Dynamin-like protein 1 reduction underlies mitochondrial morphology and distribution abnormalities in fibroblasts from sporadic Alzheimer's disease patients. *Am. J. Pathol.* 173, 470-482.
- Wang, X., Su, B., Lee, H.G., Li, X., Perry, G., Smith, M.A. and Zhu, X. (2009a) Impaired balance of mitochondrial fission and fusion in Alzheimer's disease. *J. Neurosci.* 29, 9090-9103.
- Wang, H., Lim, P.J., Karbowski, M. and Monteiro, M.J. (2009b) Effects of overexpression of huntingtin proteins on mitochondrial integrity. *Hum. Mol. Genet.* 18, 737-752.
- Wu, H., Min, J., Ikeguchi, Y., Zeng, H., Dong, A., Loppnau, P., Pegg, A.E. and Plotnikov, A.N. (2007) Structure and mechanism of spermidine synthases. *Biochemistry* 46, 8331-8339.
- Zhao, Y.J., Xu, C.Q., Zhang, W.H., Zhang, L., Bian, S.L., Huang, Q., Sun, H.L., Li, Q.F., Zhang, Y.Q., Tian, Y., Wang, R., Yang, B.F. and Li, W.M. (2007) Role of polyamines in myocardial ischemia/reperfusion injury and their interactions with nitric oxide. *Eur. J. Pharmacol.* 562, 236-246.
- Zwacka, R.M., Zhang, Y., Halldorson, J., Schlossberg, H., Dudus, L. and Engelhardt, J.F. (1997) CD4(+) T-lymphocytes mediate ischemia/reperfusion-induced inflammatory responses in mouse liver. *J. Clin. Invest.* 100, 279-289.