

## 골수기질세포에서 방사선 반응 유전자로서의 Plasminogen Activator Inhibitor-1

송지연<sup>1</sup> · 권형주<sup>2</sup> · 박찬규<sup>1</sup> · 조덕연<sup>3</sup> · 이영희<sup>†</sup>

충북대학교 자연과학대학 생화학과, <sup>1</sup>한국과학기술원 생명과학과

<sup>2</sup>한림대학교 의과대학 의학과 미생물학교실, <sup>3</sup>충남대학교 의과대학 내과학교실

### Plasminogen Activator Inhibitor-1 as a Radiation-Responsive Gene in Bone Marrow Stromal Cells

Jeeyeon Song<sup>1</sup>, Hyung-Joo Kwon<sup>2</sup>, Chankyu Park<sup>1</sup>, Deog-Yeon Jo<sup>3</sup> and Younghee Lee<sup>†</sup>

Department of Biochemistry, Biotechnology Research Institute, Chungbuk National University, Cheongju, Chungbuk, 361-763, Korea

<sup>1</sup>Department of Biological Sciences, Korea Advanced Institute of Science and Technology, Daejeon, 305-701, Korea

<sup>2</sup>Department of Microbiology, College of Medicine, Hallym University, Chuncheon, Gangwon, 200-702, Korea

<sup>3</sup>Department of Internal Medicine, College of Medicine, Chungnam National University, Daejeon, 305-764, Korea

**ABSTRACT** : Bone marrow stromal cells, a constituent of the niche for hematopoietic stem cells in bone marrow, provide various factors involved in the fate decision of the hematopoietic stem and progenitor cells. Radiation, a widely used anti-cancer therapy, provokes side effects including the damage of the blood cells. Therefore, it is necessary to recover the blood cells shortly after radiation via promoting the differentiation of hematopoietic cells. In this study, we screened genes modulated by radiation in human bone marrow stromal cells in order to understand the mechanism involved in hematopoiesis after radiation. We performed differential display method by using polymerase chain reaction(PCR) and agarose gel electrophoresis. We found plasminogen activator inhibitor-1(PAI-1) was consistently induced by radiation. The significance of the PAI-1 gene modulation is to be determined.

**Key words** : Hematopoiesis, Bone marrow stromal cells, Irradiation, Gene expression, PAI-1.

**요 약** : 조혈세포의 주요 서식지가 되는 골수기질세포는 줄기세포의 운명을 결정하는 다양한 인자들을 제공한다. 방사선 요법은 항암치료법으로 널리 활용되고 있으나, 조혈세포의 파괴로 인한 부작용이 심각한 문제로서 조혈세포에 의한 혈액 세포가 빠른 시간 내에 회복되는 것이 필수적이다. 본 연구에서는 방사선을 조사했을 때의 줄기세포 서식지를 구성하는 세포인 골수기질세포에서 발현되는 유전자를 탐색하여 그 기능과 조절 및 혈액 형성을 이해하는 기초를 마련하고자 하였다. 방법론적으로는 polymerase chain reaction(PCR) 및 agarose 전기영동 방법을 활용한 differential display를 활용하였으며, 결과로서 여러 후보 유전자가 선별되었으나, plasminogen activator inhibitor-1(PAI-1) 유전자만이 감마선에 의해 유도됨이 반복 확인되었다. PAI-1 유전자 유도의 의미는 향후에 더 연구해야 할 것이다.

## 서 론

조혈 줄기세포는 성체 줄기세포의 대표적인 예로서, 실제 임상에서 골수 이식용으로 많이 사용되고 있는 줄기세포이다. 조혈 작용의 중심 기관은 동물의 발생 과정에 따라 변화

하는데, 태어나는 시점이 되면 골수가 그 주된 기관이 된다. 조혈 줄기세포는 발생 과정에서 골수로 이동하고, 골수에 주로 머물다가 필요에 의해 부분혈(peripheral blood)로 이동한다(Orkin, 1996; Orkin, 2000). 조혈 줄기세포는 백혈병이나 선천적 혈액성 질병의 치료를 위한 이식에 사용되는데, 조혈 줄기세포는 오랜 동안 골수에서 주로 채취하여 사용되었으나 최근에는 G-CSF 등의 조절 인자를 주사하여 부분혈로의 이동을 유도한 후 얻은 부분혈 줄기세포의 사용이 증가하고 있다. 또 하나의 중요한 공급원으로는 신생아 탄생 시 얻어지는 제대혈이다. 1989년 프랑스에서 형제의 제대혈을 이용한 Fanconi anemia 환자의 치료가 성공적으로 시술됨에 따라 제대혈에 대한 관심이 높아지고, 현재는 소아 환자의 경우

\* 본 연구는 과학기술부 21세기 프란티어 연구개발사업인 세포응용연구사업단의 연구비 지원(SC2110), 충북대학교 학술연구지원사업(2004년도), 한국과학재단의 원자력기반확충사업의 지원(M20376080001-05B0809)을 받아 수행되었음.

<sup>†</sup> 교신저자: 충청북도 청주시 흥덕구 개신동 12번지, 충북대학교 자연과학대학 생화학과. (우) 361-763, (전) 043-261-3387, (팩) 043-267-2306, E-mail: yhl4177@chungbuk.ac.kr

특히 많이 사용되고 있다(Roche *et al.*, 2004; Rogers & Casper, 2004).

줄기세포의 주요한 특성 중 하나는 매우 소량이 존재한다고 하는 것이며, 이러한 특성은 줄기세포의 연구와 활용에 있어 큰 제한점이 되고 있다. 수적으로 희귀한 문제점을 극복하고자 하는 노력은 *ex vivo expansion system*과 *in vivo expansion*의 두 가지 측면에서 살펴볼 수 있으며, 조혈 줄기세포의 서식지(niche)인 골수세포의 특성을 조절하는 것은 상대적으로 연구가 덜 되어 있으나, 오히려 상당한 가능성을 제시하고 있는 접근법으로서 이에 대한 연구가 최근 이루어지고 있다(Sorrentino, 2004).

조혈과정은 골수에서 조혈 줄기세포와 미세 환경과의 상호작용을 통해 이루어진다. 따라서 골수의 미세 환경은 조혈 줄기세포를 위해 단순히 안식처로 작용하는 동시에 이들의 성장과 분화를 결정하는 중요한 역할을 한다(Broxmeyer, 2001). 골수의 미세 환경에는 크게 세 종류로 나눌 수 있다. 첫째로는 stromal cells(macrophage, fibroblast, endothelial cell, fat cell, dendritic cell), 둘째로는 extracellular matrix(fibronectin, hemo-nectin, laminin, collagen, proteoglycan), 셋째로 hemopoietic growth factor이다. Growth factor로서는 multipotent stem cells의 경우에는 IL-3, SCF, IL-1, LIF, myeloid progenitors의 경우에는 GM-CSF, G-CSF, M-CSF, Epo, LIF, SCF, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-11, TPO 등이며, T-lymphoid progenitors의 경우에는 IL-2, IL-4, IL-6, IL-7, B-lymphoid progenitors는 IL-2, IL-3, IL-5, IL-6, IL-7, IL-11 등이 중요하다고 알려져 있다(Broxmeyer, 1999). 다양한 골수의 미세 환경에 의해 조혈세포의 자가 재생 및 특정 혈구세포로의 분화의 운명이 결정되는 것이다. 골수에서는 정상시의 항상성 유지 외에도, 유사시 즉 방사선의 조사나 외부 감염원의 침투 등에 의한 염증 관련 cytokine의 대량 발생 등의 상황에서도 항상성을 빠른 시간 내에 회복하는 방향의 반응이 유도될 것으로 예측된다.

방사선 치료법은 암환자의 치료를 위해 수술요법, 항암제 재 요법 등과의 병행 치료법으로서 많이 활용되고 있다. 이때, 여러 가지 부작용이 수반되며 이 중 중요한 것이 바로 면역세포의 소실로 인한 감염의 위험성이라고 할 수 있다. 혈액세포는 방사선에 의해 사멸되며, 그 결과 면역 기능에 주요한 역할을 수행하고 있는 중성 백혈구 등의 백혈구가 소실되고 이들 세포의 재생은 조혈 줄기세포에 의해서 가능해진다. 활발히 성장, 분화하고 있는 세포는 항암제 및 방사선에 예민하지만 줄기세포는 상대적으로 매우 안정적인 상태에 머물러 있으므로, 그 방사선량이 낮은 상태에서는 줄기세포에 의한 혈액세포의 재생이 가능하다. 그러므로 혈액 시스템의 재구

성을 위해 소요되는 시간을 최소화하고, 줄기세포를 보호할 수 있는 전략의 확보는 인체의 각종 종양을 치료하는데 있어 매우 중요하다고 할 수 있다. 본 연구진은 우리 생체 내에는 다양한 위기 상황에 대한 최소한의 방어기작이 존재하며 그 기전을 이해한다면 이를 활용하여 보다 적극적인 전략을 확립할 수 있을 것으로 예상된다. 특히 조혈세포의 서식지로서 각종 혈액세포로 분화해 나가기 위한 기초가 되는 골수기질 세포에서 일어나는 반응을 이해하는 것은 방사선을 조사했을 때의 줄기세포 서식지의 기능과 조절 및 혈액 형성을 이해하는 기초가 될 것이다. 이러한 연구의 한 예로서, 최근 골수세포에 방사선을 조사하고 유도되는 인자로서 SDF-1의 중요성이 보고된 바 있으며, 이때 SDF-1은 DNA 손상 등의 스트레스에 대한 방어기작으로 제시되었다(Ponomaryov *et al.*, 2000). SDF-1이 조혈 줄기세포 및 전구세포의 생존을 증가시키며 특히 다른 cytokine과의 상승작용으로 인해 그 효과가 배가됨을 확인한 바 있으므로, 이 결과는 충분한 의미를 제시한다고 하겠다(Lee *et al.*, 2002; Broxmeyer *et al.*, 2003).

본 연구에서는 조혈과정의 미세 환경에서 중요한 세포인 골수 stromal cell을 배양하고, 이들 세포의 외부 스트레스에 대한 반응의 일환으로서 감마선 조사 후 유도되는 유전자를 탐색하여 차별적인 발현을 확인하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 세포 및 세포 배양, Cytokines

인간 골수기질세포는 이전의 보고와 같은 방법으로 분리, 배양하여 사용하였다(Jo *et al.*, 2003). 인간 골수기질세포는 15% fetal bovine serum(FBS; Hyclone Inc., Logan, UT, USA), 100 U/mL penicillin, 100 mg/mL streptomycin을 첨가시킨 IMDM medium 배양액으로 5% CO<sub>2</sub>가 유지되는 37°C 배양기에서 배양하였다. 실험 시작 하루 전에 2×10<sup>5</sup> 개의 세포를 10cm 배양접시에 깔고 6 Gray의 감마선을 조사한 후 시간별로 세포를 회수하여 분석하였다. TGF-β(R&D systems, Minneapolis, MN, USA)에 대한 반응성을 살펴볼 경우에는 먼저 0.5% bovine serum albumin을 포함하는 IMDM medium에서 16~18 시간을 두어 serum starvation 과정을 수행하였다.

### 2. 차별적으로 발현되는 유전자의 선별

감마선을 조사한 시료를 시간별로 회수하여, mTRAP Maxi & Midi mRNA Isolation Kit(Active Motif, Carlsbad, CA, USA)을 이용하여 제조업체의 권장 방법에 따라 mRNA를 분리하였다. 2 μg mRNA를 6 μg/mL oligo(dT) primer, 50U Strata-

Script™ reverse transcriptase(Stratagene, La Jolla, CA, USA), 2mM dNTP, 40U RNase block ribonuclease inhibitor 등을 포함한 first-strand synthesis buffer에 넣고 42℃에서 1시간 동안 역전사시킨 후 Gene Fishing DEG kit(Seegene, Seoul, Korea)에서 제공하는 dT-ACP1 primer로 first strand cDNA를 합성하고, dT-ACP2 primer와 서로 다른 다양한 조합의 primer set 30종 (DEG kit 101과 102)을 이용하여 PCR을 수행하고 이를 2% agarose gel에서 분석하여 차별적으로 발현되는 유전자 조각을 선별하였다. 각 유전자 조각을 gel extraction kit을 이용하여 분리한 후 TA cloning kit을 이용하여 cloning하였다. 얻어진 클론에서 plasmid를 분리하여 insert size를 확인한 후 DNA 염기 서열을 분석하고 NCBI의 BLAST search를 이용하여 상동성을 확인함으로써 유전자의 정체를 확인하였다.

### 3. Reverse-Transcription PCR Analysis

Total RNA는 TRI Reagent(MRC, Cincinnati, OH, USA)를 이용하여 분리하였다. total RNA 또는 mRNA와 6 µg/mL oligo (dT) primer, 50U StrataScript™ reverse transcriptase, 2mM dNTP, and 40U RNase block ribonuclease inhibitor를 이용하여 42℃에서 한 시간 동안 역전사 과정을 통해 cDNA를 합성한 후, cDNA 용액 1mL를 이용하여 PCR을 수행하였다. 본 연구에 사용된 PCR primer 서열은 Table 1에 정리한 바와 같으며, GenoTech(Daejeon, Korea)에서 합성하였다. 증폭 조건은 94℃에서 30초, 51℃에서 30초, 72℃에서 30초의 과정을 25 cycle 반복하였다. PCR product는 1.5% agarose gel 전기영동으로

분석하였다.

## 결 과

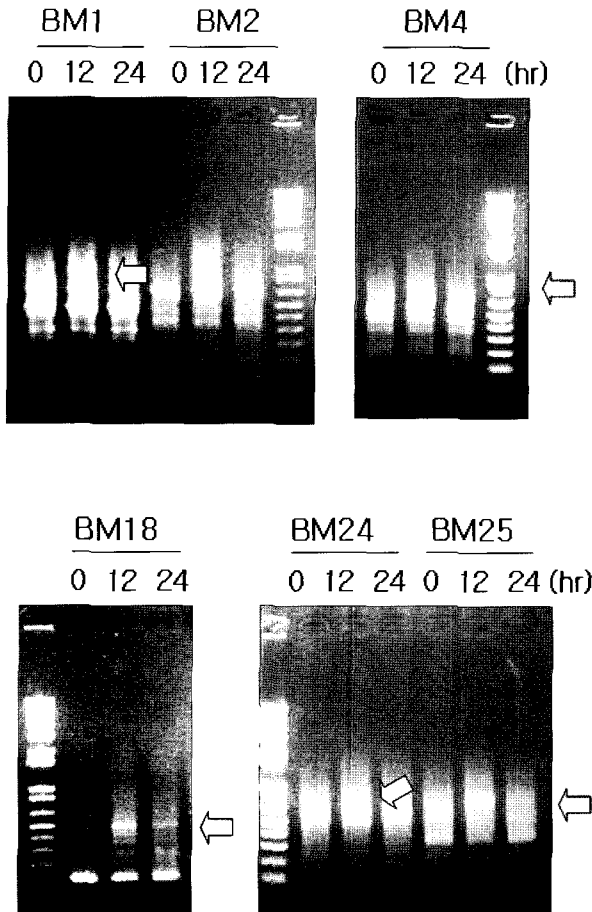
인간 골수기질세포에 감마선을 조사한 후 12시간과 24시간이 경과한 후 세포를 관찰한 결과 세포의 형태는 차이가 없었다. 각각의 세포를 회수하여 RNA를 분리하고 이를 이용하여 first strand cDNA를 확보한 후, 이를 template로 하여 서로 다른 30가지 임의의 primer sequence를 이용하여 PCR을 수행하고 그 결과물을 agarose gel electrophoresis로 분석하였다. 감마선을 조사한 후 발현의 양상을 살펴본 결과 중 일부를 그림 1에 제시하였다.

PCR product의 양에 차이가 있는 BM1, BM4, BM18, BM24, BM25를 오려내어 클로닝하고 그 서열을 분석한 결과 선택된 PCR product band는 다양한 유전자의 증폭 산물임을 확인할 수 있었다. 얻어진 유전자들 중 높은 빈도로 클로닝된 유전자들을 Table 2에 정리하였다. BM1과 BM18의 경우에는 여러 유전자가 함께 분리되었으나, BM4와 BM24, BM25는 얻어진 클론의 대부분이 동일 유전자였으므로, 이들 유전자가 보다 유력한 후보가 될 것으로 판단되었다. 특히 BM24와 BM25는 모두 PAI-1 유전자로 판명되었다.

얻어진 유전자군이 실제로 감마선 조사에 의해 유도되는 유전자인지를 확인하기 위하여, 다음 단계로 방사선 조사에 의한 개별 유전자의 발현양상을 RT-PCR 방법으로 확인하였다. 이 때 사용한 개별 유전자의 primer sequence는 Table 1에

Table 1. Primer sequences used for this study

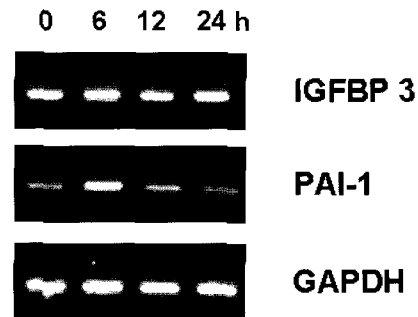
Gene	Primer sequences	
Insuline growth factor-binding protein 3(IGFBP3)	F: CTCTCCCAGGCTACACCA R: TGGGTGCTGTGCTCGAGT	347bp
Hypothetical protein FLJ22028	F: CTAAGTTTGAAATCAGTTCAAA R: TTCTGGGCTGCATTAGACC	503bp
Metallothionein 2A	F: ATGGATCCCAACTGCTCC R: TCAGGCGCAGCAGCTG	186bp
Metastasis associated in lung adenocarcinoma transcript 1, noncoding RNA (MALAT-1)	F: AGAGAAAGGACTACAGAGC R: CTATCTTCCAATTTCTTCTAA	500bp
Tyrosine 3-monooxygenase / tryptophan 5- monooxygenase activation protein(T3M/T5M)	F: TGCTTGCATCCCACAGAC R: AGTTTCTACCCTTATCAAG	404bp
Plasminogen activator inhibitor type 1(PAI-1)	F: AGGGCTTCATGCCCCACTTCTCA R: TGGTAGGGCAGTTCAGGATGTGC	367bp
Glyceraldehyde-3 phosphate denydrogenase(GAPDH)	F: ACCACAGTCCATGCCATCAC R: TCCACCACCTGTTGCTGTA	452bp



**Fig. 1. Screening of irradiation-inducible genes in human bone marrow stromal cells.** Human bone marrow stromal cells were  $\gamma$ -irradiated at the dose of 6 Gray. Cells were harvested after 12 hrs and 24 hrs, mRNAs were isolated, and RT-PCR was performed to screen genes of which the expression was modified. The candidate PCR products were denoted by arrows.

제시한 바와 같다.

DD-PCR을 수행하기 위하여 처음 사용했던 mRNA 시료 및 새로운 실험군에서 얻은 total RNA를 대상으로 RT-PCR을 수행한 결과 유전자의 발현 양상에 일관성 있는 차이를 보이는 유전자는 PAI-1임을 확인하였다(그림 2). 그림 2에 보인 insulin growth factor binding protein 3의 경우와 마찬가지로 다른 유전자의 경우에는 차별적인 발현이 일관성 있게 나오지 않거나 그 차이가 미미하였다. 특히 DD-PCR을 수행한 원래의 mRNA 시료에서만 결과가 반복되고, 반복 실험으로 얻은 total RNA를 이용한 실험에서는 그 차이가 미미한 유전자가 다수 발견되었다(결과 제시하지 않음). 그러므로 degenerative PCR을 통해 agarose gel에서 분리한 유전자의 다수는 false-positive clone이며, 얻어진 유전자의 분리 빈도가 높은 경우



**Fig. 2. Increase of PAI-1 mRNA expression.** Irradiated cells were harvested at the indicated time periods and total RNA was isolated. RT-PCR analysis was performed using specific primers for plasminogen activator inhibitor-I(PAI-1) and insulin growth factor binding protein 3(IGFBP3). Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase(GAPDH) was shown as a loading control.

**Table 2. Candidate genes cloned from the differentially expressed PCR products after treatment with 6 Gy  $\gamma$ -rays**

DD-PCR sample	Gene	GenBank
BM1	Insuline growth factor-binding protein 3(IGFBP3)	BC000013
BM1	Ribosomal S21	NM_001024
BM1	Hypothetical protein FLJ22028	NM_024854
BM1	Metallothionein 2A	BC007034
BM4	Metastasis associated in lung adenocarcinoma transcript 1, noncoding RNA(MALAT-1)	BK001418
BM18	Actin beta	BC002409
BM18	Tyrosine 3-monooxygenase / tryptophan 5- monooxygenase activation protein(T3M/T5M)	NG_001545
BM18	Chloride intracellular channel 4	NM_013943
BM18	Osteonectin	BC004974
BM24, BM25	Plasminogen activator inhibitor type 1(PAI-1)	NM_000602

의미 있는 유전자를 확보할 수 있음을 확인하였다.

## 고 찰

골수기질세포는 조혈세포의 생장에 있어 매우 중요한 환경으로서 조혈 줄기세포의 재생, 성장, 생존, 분화에 필수적이다. 조혈세포는 모든 혈액세포의 기원으로서, 생체의 요구에 순응하여 외부의 자극으로 인한 혈액세포의 손상이 유도되었을 때, 이를 빠른 시간 내에 재생해야 한다. 조혈세포의 환경인 골수세포 또한 조혈세포의 이러한 요구에 순응하여 자극에 의한 손상을 인지하고 이에 대처하는 과정이 준비되어 있을 것으로 예측된다. 이러한 가능성은 최근에 골수세포를 감마선으로 자극한 후 chemokine인 SDF-1의 생성이 유도되는 현상에서 확인할 수 있으며, 유도된 SDF-1은 DNA 손상을 포함한 스트레스에 대한 보호 기전으로 제시된 바 있었다(Ponomaryov *et al.*, 2000). SDF-1이 조혈세포의 생존 및 혈액세포의 분화, 이동에 중요한 인자임을 감안한다면 스트레스에 대한 반응으로서 나타나는 SDF-1의 유도는 큰 의미가 있음을 알 수 있다(Broxmeyer, 2001; Lee *et al.*, 2002). 본 연구에서는 SDF-1과 같이 감마선을 조사하였을 때 골수기질세포에서 발현이 유도되는 유전자를 발굴하고자 하였다. 이러한 연구를 통하여 골수기질세포의 자극에 대한 반응을 이해하고 발굴된 새로운 유전자의 기능 및 활용 가능성을 확인할 수 있을 것이다.

최근 유전체 연구는 다양한 조직세포에서 자극에 대한 반응성을 이해하고 나아가 질병과 연계하여 그 기전을 총체적으로 연구할 수 있는 좋은 도구로 각광을 받고 있으며, 줄기세포를 포함한 시료가 매우 제한적인 경우 특히 유용하다. 이러한 유전체 연구를 비교적 손쉽게 수행할 수 있는 하나의 방법으로서 DD-PCR은 일반 실험실에서 간편하게 수행할 수 있어 매우 유용하다고 하겠다(Diatchenko *et al.*, 1996). 기존의 DD-PCR 방법은 동위원소를 이용하며 polyacrylamide gel electrophoresis를 수행하고 DNA 조각을 우려내는 과정 등을 포함하여 많은 시간과 노력을 요구하였으며 그 결과로 얻어지는 유전자가 실제로는 차별적으로 발현되지 않는 문제점이 있었다. 그러므로 본 연구에서는 이러한 문제점을 개선하여 최근에 제시되고 있는 변형된 degenerative RT-PCR에 근거한 방법을 활용해 보았다. 즉, 방사선 동위원소를 사용하지 않은 일반적인 RT-PCR 방법을 수행하여 유전자를 증폭해 내고 이를 전기영동으로 살펴봄으로써 발현의 차이가 생긴 클론들을 분리하여 그 유전자의 특성을 확인하였다. 본 연구의 결과로 발현 양이 변화하는 유전자를 탐색할 수 있었으나,

그 정확성이 높지 않음을 확인하였다.

PAI-1은 serine protease inhibitor(Serpin) 족의 하나로서 다양한 자극에 의해 발현이 조절된다(Hannocks *et al.*, 1992; Hopkins *et al.*, 1992; Dawson *et al.*, 1993; Rougier *et al.*, 1998; Tietze *et al.*, 1998). Serine protease inhibitor는 serine protease 효소 활성을 선택적으로 억제하는 단백질로서 감염 질환이나 혈액 응고계에서는 매우 중요한 생물학적 작용을 가지는 단백질이다. 또한 plasminogen activator, plasmin, 이들의 저해제 PAI-1은 인간 골수기질세포에서 조혈과정에 중요한 역할을 하는 것으로 제시되었다(Hannocks *et al.*, 1992). 즉, 인간 골수기질세포에서 IL-1, bFGF, TGF- $\beta$  등의 다양한 cytokine을 처리하였을 때 PA의 분비가 증가하고 또한 PAI-1의 발현이 변화되었다. IL-1에 의해 PAI-1이 감소되었고, TGF- $\beta$ 를 처리한 경우에는 PAI-1의 발현이 증가되었다. PA는 fibroblast growth factor(FGF)를 matrix에서 떨어져 나오게 하고, TGF- $\beta$ , IL-1과 같은 cytokine이 plasmin에 의해 불활성형에서 활성형으로 전환되는 과정을 조절하며, 이를 PAI-1이 특이적으로 저해하므로, 이들 분자들의 상대적인 발현량은 조혈과정을 정교하게 조절하는데 중요할 것으로 보인다. 본 연구에서도 인간 골수기질세포를 TGF- $\beta$ , IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ 를 처리한 후 PAI-1의 발현을 살펴본 결과 TGF- $\beta$ 에 의해 PAI-1의 발현이 증가하는 것을 확인할 수 있었다(결과 제시하지 않음). 최근에 TGF- $\beta$ 에 의해 골수의 조혈모세포가 SDF-1에 대한 반응성을 잃지 않도록 함으로써 골수에 머무를 수 있음이 보고된 바 있는데(Basu & Broxmeyer, 2005), 이는 PA 및 그 저해제인 PAI-1이 TGF- $\beta$ 의 활성을 조절하는 중요한 역할을 수행하고 있을 가능성 또한 제시한다고 하겠다. 이러한 견지에서 방사선 조사 후에 유도되는 PAI-1 또한 조혈과정에 적극적으로 참여하는 조절자일 가능성이 있다.

TGF- $\beta$ 에 의한 PAI-1의 발현유도는 Smad pathway를 통해 이루어짐이 동맥경화 rat model에서 확인되었으며(Dong *et al.*, 2002), 감마선 조사 후 보이는 섬유화(fibrosis)와 관련하여 PAI-1이 유도되고 이 과정이 산화환원 정도에 의해 조절됨이 쥐의 신장세포에서 보고되었다(Zhao *et al.*, 2001). 방사선 조사 후 골수기질세포에서 보이는 PAI-1의 발현 증가가 스트레스에 대한 방어 및 혈액세포 재생 기전에 있어 어떠한 의미를 갖고 있는지 또한 어떠한 기전으로 유도되는지에 관하여서는 향후에 연구가 더 진행되어야 할 것이다.

## 인용문헌

Basu S, Broxmeyer HE (2005) Transforming growth factor- $\beta$ 1

- modulates responses of CD34<sup>+</sup> cord blood cells to stromal cell-derived factor-1/CXCL12. *Blood* 106:485-493.
- Broxmeyer HE (1999) The hematopoietic system: Principles of therapy with hematopoietically active cytokines. In: Ganser A & Hoelzer D (ed.), *Cytokines in the treatment of hematopoietic failure*, Marcel Dekker, Inc. New York, pp1-37.
- Broxmeyer HE (2001) Regulation of hematopoiesis by chemokine family members. *Int J Hematol* 74:9-17.
- Broxmeyer HE, Cooper S, Kohli L, Hangoc G, Lee Y, Mantel C, Clapp DW, Kim CH (2003) Transgenic expression of stromal cell-derived factor-1/CXC chemokine ligand 12 enhances myeloid progenitor cell survival/antiapoptosis *in vitro* in response to growth factor withdrawal and enhances myelopoiesis *in vivo*. *J Immunol* 170:421-429.
- Dawson SJ, Wiman B, Hamsten A, Green F, Humphries S, Henney AM (1993) The two allele sequences of a common polymorphism in the promoter of the plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) gene respond differently to interleukin-1 in HepG2 cells. *J Biol Chem* 268:10739-10745.
- Diatchenko L, Lau YF, Campbell AP, Chenchik A, Moqadam F, Huang B, Lukyanov S, Lukyanov K, Gurskaya N, Sverdlov ED, Siebert PD (1996) Suppression subtractive hybridization: a method for generating differentially regulated or tissue-specific cDNA probes and libraries. *Proc Natl Acad Sci USA* 93:6025-6030.
- Dong C, Zhu S, Wang T, Yoon W, Goldschmidt-Clermont PJ (2002) Upregulation of PAI-1 is mediated through TGF-beta/Smad pathway in transplant arteriopathy. *J Heart Lung Transplant* 21:999-1008.
- Hannocks MJ, Oliver L, Gabilove JL, Wilson EL (1992) Regulation of proteolytic activity in human bone marrow stromal cells by basic fibroblast growth factor, interleukin-1, and transforming growth factor beta. *Blood* 79:1178-1184.
- Hopkins WE, Fujii S, Sobel BE (1992) Synergistic induction of plasminogen activator inhibitor type-1 in HEP G2 cells by thrombin and transforming growth factor-beta. *Blood* 79:75-81.
- Jo DY, Hwang JH, Kim JM, Yun HJ, Kim S (2003) Human bone marrow endothelial cells elaborate non-stromal-cell-derived factor-1 (SDF-1)-dependent chemoattraction and SDF-1-dependent transmigration of haematopoietic progenitors. *Br J Haematol* 121:649-652.
- Lee Y, Gotoh A, Kwon H-J, You M, Kohli L, Mantel C, Cooper S, Hangoc G, Miyazawa K, Ohyashiki K, Broxmeyer HE (2002) Enhancement of intracellular signaling associated with hematopoietic progenitor cell survival in response to SDF-1/CXCL12 in synergy with other cytokines. *Blood* 99:4307-4317.
- Orkin SH (1996) Development of the hematopoietic system. *Curr Opin Genet Dev* 6:597-602.
- Orkin SH (2000) Diversification of haematopoietic stem cells to specific lineages. *Nature Reviews* 1:57-64.
- Ponomaryov T, Peled A, Petit I, Taichman RS, Habler L, Sandbank J, Arenzana-Seisdedos F, Magerus A, Caruz A, Fujii N, Nagler A, Lahav M, Szyper-Kravitz M, Zipori D, Lapidot T (2000) Induction of the chemokine stromal-derived factor-1 following DNA damage improves human stem cell function. *J Clin Invest* 106:1331-1339.
- Roche V, Sanz G, Gluckman E (2004) Umbilical cord blood transplantation. *Curr Opin Hematol* 11:375-385.
- Rogers I, Casper RF (2004) Umbilical cord blood stem cells. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 18:893-908.
- Rougier JP, Guia S, Hagege J, Nguyen G, Ronco PM (1998) PAI-1 secretion and matrix deposition in human peritoneal mesothelial cell cultures: transcriptional regulation by TGF-beta 1. *Kidney International* 54:87-98.
- Sorrentino BP (2004) Clinical strategies for expansion of hematopoietic stem cells. *Nature Reviews Immunology* 4:878-888.
- Tietze L, Elbrecht A, Schauerte C, Klosterhalfen B, Amo-Takyi B, Gehlen J, Winkeltau G, Mittermayer C, Handt S (1998) Modulation of pro- and antifibrinolytic properties of human peritoneal mesothelial cells by transforming growth factor beta1 (TGF-beta1), tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha) and interleukin 1 beta (IL-1 beta). *Thromb Haemost* 79:362-370.
- Zhao W, Spitz DR, Oberley LW, Robbins ME (2001) Redox modulation of the pro-fibrogenic mediator plasminogen activator inhibitor-1 following ionizing radiation. *Cancer Res* 61:5537-5543.