

혈관재형성(Vascular Remodeling)에 미치는 Chemokines의 역할

성 미 정

바이오제론 연구단

Role of Chemokines in Vascular Remodeling

Mi-Jeong Sung

Biogeron Food Technology Research Group

서 론

혈관은 혈액이 흐르는 통로로써 동맥, 정맥, 모세혈관이 있으며 혈관벽에 의해 둘러싸여 있다. 그림 1에서 보는 것과 같이 정상 동맥의 혈관벽은 내막(intima tunica: endothelial cell), 중막(media tunica: smooth muscle cell), 그리고 외막(adventitia tunica: fibroblast cell)으로 구성되어 있다. 그러나 이러한 혈관이 동맥경화(atherosclerosis), 폐고혈압(pulmonary arterial hypertension), 경피경 개입술(percutaneous intervention), 심장이식(cardiac allograft vasculopathy) 등과 같은 질병에서 shear stress, hypoxia, 면역학적 또는 물리적인 손상 등의 자극을 받게 되면 혈관의 크기나 내막넓이(luminal width)에 변

화를 가져오는 혈관재형성(vascular remodeling)이 일어나게 된다.

혈관재형성은 혈관을 가로로 잘랐을 때 보이는 혈관 직경이나 두께에 영향을 미치는 것으로 주된 원인은 관류저하(hypoperfusion)로 인해서 나타난다. 혈관재형성은 임상학적으로 혈류역학(hemodynamic) 스트레스, 물리적인 손상, 염증, 저산소증상 상태에서 나타나고, 형태학적으로는 동맥벽의 3개의 층인 신생혈관의 과다형성(neointimal hyperplasia), 중간층의 비대(medial thickening), 그리고 외피섬유화(adventitial fibrosis)로 백혈구 응집(leukocyte recruitment), 평활근세포 축적(smooth muscle cell (SMC) accumulation), 그리고 내피세포 회복(endothelial cell recovery)과 관련하여 나타나는

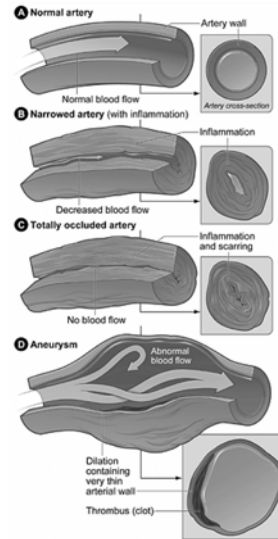
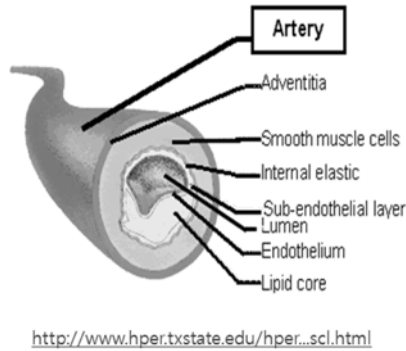


그림 1. 혈관벽의 구조와 혈관벽의 구조적인 변화

것을 일컬으며, 분자생물학적으로 chemokine은 손상부위로 순환하는 단핵구세포(mononuclear cell)의 안내나 휴지기 혈관세포(resident vascular cell)의 활성화를 통해서 이루어지는 것을 말하는 것으로 다양한 형태의 chemokine과 chemokine receptor의 발현은 동맥재형성(arterial remodeling)의 모든 과정에서 중심적인 역할을 하는 것으로 이것은 질병을 치료에 target으로 이용될 수 있을 것이다.

여기에서는 다양한 혈관질환에서 염증세포 응집(inflammatory cell recruitment), 평활근의 증식(proliferation of SMC), 혈관전구세포의 응집(recruitment of vascular progenitor cell), 그리고 혈관내피세포 회복(endothelial cell recovery)에 의한 혈관 재형성을 chemokine을 매개로 하

여 그림 2에 요약해서 나타내었으며 이것을 설명하고자 한다.

본 론

1. 혈관재형성에 MCP-1(CCL2)/CCR2의 역할

Neointima formation의 실험모델에서 *monocyte chemokine protein-1*(MCP-1)/CC motif ligand 2(CCL2)은 가장 넓게 연구되고 있는 chemokine으로써 급성 손상(acute mechanical injury)시 동맥벽(arterial wall)이나 혈액 순환 안에서 mRNA MCP-1가 발현되고 뒤따라 거의 4시간 안에 단백질의 발현까지 급격한 증가가 나타난다. 흥미

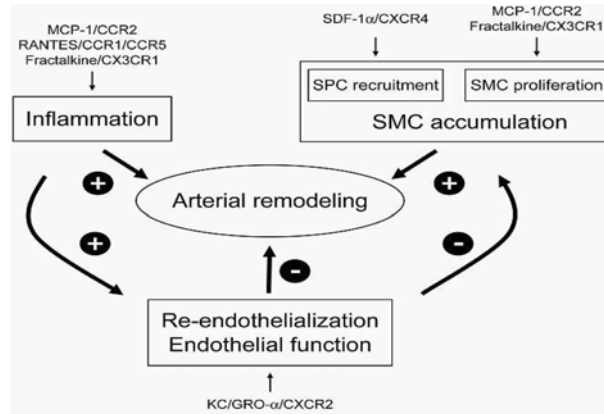


그림 2. Arterial remodeling을 위한 3가지 구성요소
(출처: Schober A *et al.*, Thromb Haemost, 2007)

롭게도 smooth muscle cell(SMC)에서 발현되는 MCP-1은 neointima formation을 촉진시키는 PDGF(platelet-derived growth factor)와 동맥손상초기에 관여하는 thrombin의 발현을 증가시킨다. 그러나 혈관 벽에서 손상으로 인한 MCP-1 발현의 증가는 일시적인 현상으로 손상 후 3~4일 후에 원래의 수치로 되돌아가 유지된다.

다양한 동물모델의 arterial injury에서 MCP-1의 역할은 neointimal hyperplasia를 일정하게 감소시킨다는 그림 3을 통해서 확인할 수 있다.

Periarterial cuff plasmement 또는 hyperlipidemic 동물모델에서 혈관내피세포의 박피와 같은 손상 후 현저하게 염증반응이 증가하는 것을 보아 MCP-1을 매개로 한 neointimal formation은 macrophage infiltration을 통해서 이루어진다는 것을 알 수 있다. 그러나 non-hyperlipidemic 동물에서 혈관손상시에는 단지 약간의 macrophage infiltration이 일어날 뿐이다.

ApoE 유전자 결핍 mice에 전기적인 자극을 주어 유도한 경동맥(carotid artery) 손상모델에서 초기의 monocyte adhesion에 MCP-1의 역할과 작용기작 연구를 시작하였다. 이 연구를 통해 손상된 혈관에서 증가된 MCP-1 발은 순환하는 MCP-1의 양에서 더 증가된 양과 관련성을 가지는 것으로 손상부위의 혈소판에 MCP-1의 부착을 유도한다. 또한 ex-vivo 상태인 perfusion 연구에서 monocyte는 내피세포의 손상 후 손상부위에 빠르고 확실하게 부착된다. 그러나 증가한 monocyte adhesion은 중화된 MCP-1의 투여시 유의하게 감소된다. 이러한 결과는 MCP-1이 내피세포 손상 후 초기 monocyte recruitment에 aarest에 의해 유도된 chemokine으로써 중요한 기능을 가진다는 것을 설명해 준다. 그러나 이것은 염증부위와 이차 임파선으로 leukocyte recruit하는 MCP-1의 고도의 특이적인 역할과는 확연하게 다르다는 것

Animal model	Effect	Mechanism
NHPL mouse, wire-injury, femoral artery, genetic deletion of CCR2	Neointima: 61.4% ↓	SMC proliferation ↓ Leukocytes →
HPL, apoE ^{-/-} mice, wire-injury, carotid artery, genetic deletion of CCR2	Neointima: 47% ↓	Macrophages ↓ SMC content → Early monocyte adhesion ↓
NHPL monkey, balloon injury or stent, iliac artery, Anti human CCR2 mAb	Balloon: → Stent: 46% ↓	inflammation ↓
NHPL mice and monkeys, cuff placement, femoral artery, gene transfer of 7ND	Neointima: 60% ↓	Macrophages ↓ SMC proliferation ↓
HPL, rabbit, balloon injury, carotid artery, gene transfer of 7ND	Neointima 40% ↓	Macrophages ↓ Constrictive remodeling ↓
NHPL, rat, balloon, carotid artery, MCP-1 Ab	Neointima: 55.6% ↓	SMC content ↓ Leukocytes →
HPL, mice, venous interposition in carotid arteries, gene transfer of 7ND	Neointima 51% ↓	SMC proliferation ↓
NHPL, mice, heterotopic cardiac transplantation, gene transfer of 7ND	Neointima: 39% ↓	Leukocyte infiltration ↓
NHPL, rat, monocrotaline-induced PH, gene transfer of 7ND	Media: 29% ↓	Monocyte recruitment ↓
NHPL, rat, monocrotaline-induced PH, MCP-1 Ab	Medial thickening ↓	Macrophages ↓
NHPL, mice, angiotensin II-induced hypertension, genetic deletion of CCR2	Wall thickness: 65% ↓	Macrophages ↓
NHPL, mice, angiotensin II-induced hypertension, leukocyte-specific CCR2 deletion	Wall thickness ↓	Macrophages ↓ Proliferation ↓

NHPL=non-hyperlipidemic; HPL=hyperlipidemic; PH=pulmonary hypertension.

그림 3. 다양한 동물모델에서 혈관재형성시 MCP-1/CCR2의 억제효과

을 알 수 있다. 즉, 혈관 손상시 MCP-1의 발현이 일시적으로 증가하는 것은 초기 monocyte recruitment 것과 neointimal hyperplasia에 결정적인 역할을 하는 것으로써 혈관손상 후 혈관재형성에 중요한 기작으로 작용된다.

혈관 손상 후 re-endothelialization은 촉진되는 혈관손상 후 내피세포의 회복(endothelial cell recovery)시에 나타나는 neointimal growth을 유

의하게 감소시키는 것을 일컫는 것으로 동맥재형성에 보호 인자로서 나타나는 특징이다. 혈관 손상 후 혈액순환으로 endothelial progenitor cell(EPC)의 mobilization과 재생하는 내피세포 라인으로 recruitment은 내피세포회복에 크게 영향을 미친다. 그러나 재생하는 내피세포에 EPC가 미치는 영향은 EPC의 치료적인 투여, G-CSF나 statin과 같은 전처리를 통한 투여의 동

반 없이는 10%로 매우 낮게 나타난다.

2. 혈관재형성에 SPC에서 분비되는 SDF-1 α (CXCL12)/ CXCR4 역할

BM에서 기원된 순환하는 SPC(SMC progenitor cell)는 손상된 혈관벽을 recruitment과 neointimal SMC accumulation에 영향을 주는 것으로 줄기 세포의 migration과 mobilization은 CXC chemokine stromal cell -derived factor(SDF)-1 α 에 의해서 조절이 된다. SPC에서 유도된 SDF-1 α 은 neointimal formation을 이끌게 된다. 물리적인 혈관 벽 손상 후 순환하는 SPC의 활동을 통해서 일시적으로 SDF-1 α 은 혈중과 SMC에서 발현이 증가한다. 전기적인 손상을 준 apoE 유전자 결핍 mice에서 SDF-1 α 의 차단은 BM에서 기원된 SPC의 accumulation을 억제함으로써 neointimal area의 유의한 감소를 일으키게 되고 이것은 neointimal SMC content까지 감소시키는 것을 확인하였다. 이때 SPC recruitment시 발현된 SDF-1 α 은 BM에서 발현되는 SDF-1 α 수용체인 CXCR4와 결합하여 반응을 나타낸다.

SDF-1 α 는 SPC에서 뿐만 아니라 혈소판의 표면에서도 결합을 한다. 손상된 혈관에서 증가하는 p-selectin의 농도에 따라 progenitor cell들도 유의하게 증가한다. 그러므로 혈소판은 SDF-1 α 를 제공하는 source로써 작용을 하게 된다. 따라서 SDF-1 α 의 분비는 arterial thrombosis가 형성될 때 progenitor cell recruitment을 유발하게 되는 것이다. 대부분의 lin-/*sca-1*+SPC에서

PDGFR β 가 발현된다. 이렇게 발현된 PDGFR β 는 BM progenitor cell에서 SMC의 분화를 유도한다. 따라서 lin-/*sca-1*+ peripheral cell에서 PDGFR β 발현은 SDF-1 α 에 의존적인 neointimal formation을 포함하는 SPC subpopulation 으로 특징지을 수 있다.

Arterial 조직에서 손상에 의해 유도된 SDF-1 α 의 발현과 neointimal SPC recruitment 정도는 손상의 유형에 따라서 달라질 수 있다. *in vivo*에서 carotid ligation, periarterial cuff placement 과 비교 했을 때 전기적인 손상이 가장 많이 SDF-1 α 발현을 생산한다. 또한 *in vitro* 실험시에는 SMC에서 scratch에 의해 유발된 apoptosis는 손상받지 않은 SMC에서 SDF-1 α 의 발현을 촉진한 결과로 나타난다. neointima formation을 위한 carotid ligation 동물모델에서 SDF-1 α 발현은 endothelial nitric oxide synthase 유전자가 결여된 mice 모델에서 더욱 증가하였다. 이것은 progenitor cell mobilization과 adventitial recruitment와 상관관계가 있다는 것을 가리킨다. 따라서 혈관재형성은 혈관내피세포의 손상 후 발현되는 SDF-1 α 을 조절함으로써 나타낼 수 있다.

Hypoxia에서 SDF-1 α 전사인자 조절을 할 수 있다. hypoxia-induced factor(HIP)-1 α 의 활성화는 혈관내피세포에서 SDF-1 α promoter에 있는 HIP-1 α 특이 반응 자리와 결합을 함으로써 SDF-1 α 발현을 유도한다. 혈관 손상시 SMC에서도 HIP-1 α 가 유도 되었다. 따라서 HIP-1 α transcription을 억제하면 neointimal SDF-1 α 발현과 neointima 성장을 줄일 수 있다. 결국 이

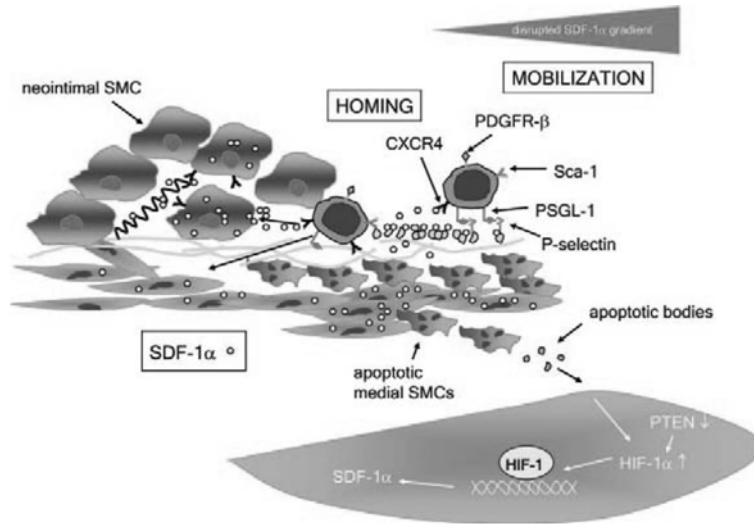


그림 4. 혈관재형성에 SPC에서 발현되는 SDF-1 α /CXCR4의 역할
(출처: Schober A, Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2008)

러한 결과는 혈관 손상 후 HIF-1 α 가 SDF-1 α 발현을 위한 upstream regulator로써 중요한 역할을 한다는 것을 제시해 준다. 그러므로 손상 후 발현되는 SDF-1 α 은 SPC recruitment를 통해서 혈관 repair와 remodeling을 하는데 관여한다 (그림 4).

3. 혈관재형성에 RANTES(CCL5)/ CCR1 CCR5의 역할

CC-chemokine RANTES(regulated upon activation, normally T-expressed, and presumably secreted) 는 혈소판에 저장되어 있고 혈소판이 활성화되면 분비된다. Flow 상태에서, 혈소판에서 유래된 RANTES는 혈소판에서 나온 p-selectin에 의해 혈관내피세포를 활성화시킨다. 활성화

된 혈관내피세포는 다시 monocyte를 adhesion 시킴으로써 arterogenesis를 유발한다. RANTES는 또한 혈관내피세포에서 분비되는 것으로 CC motif receptor(CCR)-1과 CCR5와 결합을 하여 neointima formation과 macrophage infiltration에 관여한다.

혈소판에 있는 P-selectin과 함께 junctional adhesion molecule(JAM)-A도 내피세포의 RANTES deposition에 관여를 한다. JAM-A는 IgG superfamily로써 내피세포와 외피세포가 결합하는데 관여하는 물질로써 leukocyte, monocyte, neutrophil의 내피세포로의 이동을 조절할 때 사용된다. Hyperlipidemic한 상태인 ApoE 유전자 결여된 mouse의 혈관내피세포에서는 JAM-A의 발현이 증가하며 이것은 arthelogenic leukocyte 침전을 야기시킨다. 또한 JAM-A는 cytokine에 의

해 자극된 혈관내피세포에 혈소판이 adhesion하는데 중요한 역할을 하기도 한다. 흥미롭게도 JAM-A 유전자 결핍, apoE 유전자 결핍 mouse에 전기에 의해 유도된 carotid 손상 모델에서 luminal RANTES의 발현은 감소되었고 monocyte의 neointimal 침전과 neointimal 성장도 감소하였다. 즉, luminal RANTES 발현 감소는 JAM-A 부재시 혈소판에서 유래된 RANTES의 혈관내피세포로의 deposition이 부족하기 때문이다.

Cardiac allograft vasculopathy(CAV)에서 coronary artery의 infiltration되는 mononuclear cell, microvessel의 내피세포, 그리고 intimal SMC에서 RANTES 발현이 증가하였다. CAV에서 RANTES receptor인 CCR1과 CCR4의 발현은 neointimal 성장과 mononuclearcell의 혈관벽으로의 침투를 감소시키는 역할을 하였다. 따라서, CAV 발병시 RANTES의 receptor인 CCR1과 CCR5를 차단함으로써 CAV를 감소시킬 수 있

으며 이는 또한 부분적으로 이식생존율을 증가시킬 수 있을 것이다(그림 5).

4. Fractalkine/CX3CR1의 역할

Fractalkine은 구조적으로 chemokine과 비슷한 것으로 membrane bound 형태와 soluble 형태로 나뉜다. Transmembrane protein은 integrin 의존적으로 leukocyte adhesion의 역할을 하고 soluble protein은 chemo-attractant 특성을 가진다. 이러한 특징은 CXCR3과 결합하여 반응을 나타낸다. *in vitro* 상에서 fractalkine은 NF- κ B 기전을 통해서 활성화된 혈관내피세포와 SMC에서 증가하고 이렇게 증가한 fractalkine의 발현은 monocyte adhesion을 유발한다. 물리적인 손상 후 불완전한 re-endothelialization 때문에 fractalkine을 발현되는 neointimal SMC에서는 만성적인 monocyte recruitment가 촉진될 것이다. Femoral artery denudation 모델에서 frac-

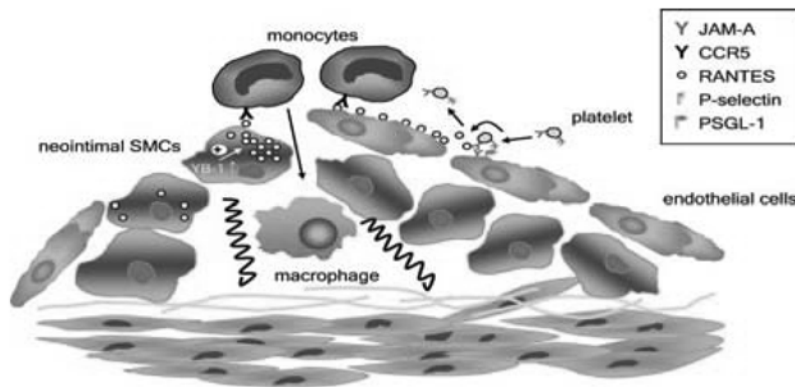


그림 5. RANTES/CCR1/CCR5의 역할
 (출처: Schober A, Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2008)

Inflammatory Cell Recruitment	
Monocytes	MCP-1, CCR2, CX3CR1, CCR5, RANTES
SMC accumulation	
SPC recruitmen	SDF-1a, CX3CR1
Endothelialization	KC/Gro-α, CXCR2, MCP-1

그림 6. 혈관재형성시 chemokine과 chemokine receptor의 특이반응

talkine은 intimal SMC와 endothelial cell에서 발현이 증가되었다. CX3CR1 유전자 결핍 mouse에서 neointimal hyperplasia는 대조군에 비해 유의하게 감소되었다. CX3CR1은 손상된 혈관으로의 monocyte infiltration과 SMC proliferation의 감소에 밀접한 관련이 있다는 것을 나타내는 것이다. 그러나 물리적인 혈관손상에 반해 pulmonary hypertension에서 fractalkine은 perivascular inflammatory cell에서 나타났고 CX3CR은 medial SMC에서 발현되었다.

5. CXCL1(KC/GRO-α)와 CXCR2에 의한 endothelial recovery

Atherosclerosis에서 CXC motif receptor 2 (CXCR2) 발현은 monocyte의 intimal accumulation을 위해 형성되는 것으로 대부분이 활성화된 혈관내피세포에서 keratinocyte-derived chemokine(KC)/growth-related oncogene(GRO)-α의 기능이 억제되기 때문에 나타난다. ApoE 유전자 결핍 mouse에서 carotid 전기에 의한 손상 모델에 neutralizing KC 항체 투여는 KC 발현을

억제시켜서 neointimal area의 증가와 혈관내피세포 recovery 장애를 유발시켰다. 그러나 그에 반해 neointimal macrophage와 SMC content는 KC 항체에 영향을 받지 않았다. CXCR2는 *in vivo*에서는 재생되는 혈관내피세포에서 발현되고 *in vitro*에서는 내피세포의 wound healing에 KC에 의해 유도되었다. 그러므로 분비된 KC에 의해 형성된 neointimal macrophage는 혈관내피세포 recovery을 유도해서 혈관을 보호하게 된다. 그러므로 chemokine은 vascular remodeling 시작에 기여할 뿐만 아니라, 혈관내피세포 recovery에 의한 vascular healing에도 관여한다.

결 론

Chemokine은 기능적으로 다양한 chemokine과의 협력을 통해서 arterial remodeling 과정을 조절한다(그림 5). 이러한 과정을 통해 chemokine은 arterogenesis와 non-arterogenic arterial remodeling 사이에 다양한 작용을 할 수 있다.

임상에서 chemokine receptor는 치료제로 이용될 가능성이 제시되고 있다. 첫 번째로, stent 이식후 협착, 심장이식 등의 혈관질환 치료제로서 이용될 가능성이 가장 크다. 이것은 질병부위에 직접적으로 타겟한 것으로 비교적 정확한 발병원인과 질병을 유발하는 부위에 직접 작용할 수 있다는 장점을 가지고 있기 때문이다. 다른 가능성으로는 signal transduction의 억제제인 transcription factor decoy나 siRNA을 통해서 chemokine의 활성 또는 발현을 간접적으로 억제하여 치료할 수 있을 것이다.

참고문헌

1. Brauersreuther V, Zerneck A, Steffens S, et al., Ccr5 but not Ccr1 deficiency reduces development of diet-induced atherosclerosis in mice, *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, **188**, 51-58, 2006
2. Charo IF, Ransohoff RM, The many roles of chemokines and chemokine receptors in inflammation, *N Engl J Med*, **354**, 610-621, 2006
3. Combadiere C, Potteaux S, Gao JL, et al., Decreased atherosclerotic lesion formation in CX3CR1/apolipoprotein E double knockout mice, *Circulation*, **107**, 1009-1016, 2003
4. Damas JK, Smith C, Oie E, et al., Enhanced expression of the homeostatic chemokines CCL19 and CCL21 in clinical and experimental atherosclerosis. Possible pathogenic role in plaque destabilization, *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, **27**, 614-620, 2007
5. Demicheva E, Hecker M, Korff T, Stretch-induced activation of the transcription factor activator protein-1 controls monocyte chemoattractant protein-1 expression during arteriogenesis, *Circ Res.*, **103**(5), 477-484, 2008
6. Flanagan K, Moroziewicz D, Kwak H, et al., The lymphoid chemokine CCL21 costimulates naive T cell expansion and Th1 polarization of non-regulatory CD4+ T cells, *Cell Immunol*, **231**, 75-84, 2004
7. Glass CK, Witztum JL, Atherosclerosis, The road ahead. *Cell*, **104**, 503-516, 2001
8. Greaves DR, Hakkinen T, Lucas AD, et al., Linked chromosome 16q13 chemokines, macrophage-derived chemokine, fractalkine, and thymus- and activation-regulated chemokine, are expressed in human atherosclerotic lesions, *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, **21**, 923-929, 2001
9. www.hper.txstate.edu
10. www.daviddarling.info
11. Hansson GK, Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease, *N Engl J Med*, **352**, 1685-1695, 2005
12. Hansson GK, Libby P, The immune response in atherosclerosis: a double-edged sword, *Nat Rev Immunol*, **6**, 508-519, 2006
13. Lesnik P, Haskell CA, Charo IF, Decreased atherosclerosis in CX3CR1-/- mice reveals a role

- for fractalkine in atherogenesis, *J Clin Invest*, **111**, 333-340, 2003
14. Libby P, Inflammation in atherosclerosis, *Nature*, **420**, 868-874, 2002
15. Marsland BJ, Battig P, Bauer M, et al., CCL19 and CCL21 induce a potent proinflammatory differentiation program in licensed dendritic cells, *Immunity*, **22**, 493-505, 2005
16. Newby AC, Dual role of matrix metalloproteinases (matrixins) in intimal thickening and atherosclerotic plaque rupture, *Physiol Rev*, **85**, 1-31, 2005
17. Schober A, Chemokines in vascular dysfunction and remodeling *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, **28**(11), 1950-1959, 2008
18. Teupser D, Pavlides S, Tan M, et al., Major reduction of atherosclerosis in fractalkine (CX3CL1)-deficient mice is at the brachiocephalic artery, not the aortic root, *Proc Natl Acad Sci USA*, **101**, 17795-17800, 2004
19. Trogan E, Fayad ZA, Itskovich VV, et al., Serial studies of mouse atherosclerosis by in vivo magnetic resonance imaging detect lesion regression after correction of dyslipidemia, *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, **24**, 1714-1719, 2004
20. Wong BW, Wong D, McManus BM, Characterization of fractalkine (CX3CL1) and CX3CR1 in human coronary arteries with native atherosclerosis, diabetes mellitus, and transplant vascular disease, *Cardiovasc Pathol*, **11**, 332-338, 2002

성미정 의학박사

- 소속 한국식품연구원 바이오제론연구단
- 전문분야 기능성식품 항염증 기전 연구
- E-mail dulle5@kfri.re.kr
- TEL 031-780-9316