

Tissue Distribution of HuR Protein in Crohn's Disease and IBD Experimental Model

Hye Jin Choi¹, Jae-Hong Park², Jiyeon Park¹, Juil Kim¹, Seong-Hwan Park¹, Chang Gyu Oh¹, Kee Hun Do¹, Bo Gyoung Song¹, Seung Joon Lee¹ and Yuseok Moon^{1,3,4*}

¹Laboratory of Mucosal Exposome and Biomodulation, Department of Biomedical Sciences, Pusan National University School of Medicine, Yangsan 626-870, Korea

²Department of Pediatrics, Pusan National University, Yangsan 626-870, Korea

³Medical Research Institute, Pusan National University, Yangsan 626-870, Korea

⁴Immunoregulatory Therapeutics Group in Brain Busan 21 Project, Yangsan 626-870, Korea

Received September 2, 2014 / Revised October 4, 2014 / Accepted October 7, 2014

Inflammatory bowel disease is an immune disorder associated with chronic mucosal inflammation and severe ulceration in the gastrointestinal tract. Antibodies against proinflammatory cytokines, including TNF α , are currently used as promising therapeutic agents against the disease. Stabilization of the transcript is a crucial post-transcriptional process in the expression of proinflammatory cytokines. In the present study, we assessed the expression and histological distribution of the HuR protein, an important transcript stabilizer, in tissues from experimental animals and patients with Crohn's disease. The total and cytosolic levels of the HuR protein were enhanced in the intestinal epithelia from dextran sodium sulfate (DSS)-treated mice compared to those in control tissues from normal mice. Moreover, the expression of HuR was very high only in the mucosal and glandular epithelium, and the relative localization of the protein was sequestered in the lower parts of the villus during the DSS insult. The expression of HuR was significantly higher in mucosal lesions than in normal-looking areas. Consistent with the data from the animal model, the expression of HuR was confined to the mucosal and glandular epithelium. These results suggest that HuR may contribute to the post-transcriptional regulation of proinflammatory genes during early mucosal insults. More mechanistic investigations are warranted to determine the potential use of HuR as a predictive biomarker or a promising target against IBD.

Key words : IBD (Inflammatory bowel disease), HuR protein, intestinal inflammation

서 론

크론병(CD, Crohn's disease)과 궤양성 대장염(UC, Ulcerative colitis)으로 크게 대별되는 염증성 장질환(IBD, inflammatory bowel disease)은 소화기 장벽의 궤양과 이에 따른 만성적인 염증작용 및 합병증을 특징으로 하는 질환이다[3, 6]. 염증성 장질환의 원인은 명확하지 않으나 환경적인 요인, 미생물학적인 요인, 환자 패틴인식 수용체 유전자 등의 변이를 포함하는 유전학적 요인 그리고 면역학적인 요인 등이 관련된다. 병인의 모호성에도 불구하고 치료 및 진단의 측면에서 염증성 사이토카인의 증가는 매우 중요한 특징이다. 생물학적 치료의 핵심적 타겟으로서 초기 염증성 사이토카인(pro-

inflammatory cytokine)인 TNF- α 는 다발적 조직손상인자로서 조직의 손상뿐 아니라, 점막장벽의 강건성을 붕괴하여 식이적 인자나 장내세균 등이 점막상피하부로 쉽게 이동하여 점막면역계에 노출이 증가되며 이로 인한 염증적 환경은 가속된다[7, 13]. 따라서, 생물학적 약물소재로서 항 TNF- α 제제는 염증성 장질환에 매우 효과적으로 병의 진행을 제어하는 수단으로 이용되고 있다[1, 9].

TNF- α 와 같은 초기 염증성 사이토카인들의 전사에 있어 NF- κ B를 중심으로 한 염증관련 전사인자들에 의해 발현이 급속히 증대되며, 또한 전사 후 발현된 mRNA의 안정화는 매우 중요한 사이토카인 발현 조절 요소들이다. 특히 비번역부위(untranslated region)에서의 AU rich element의 존재는 짧은 반감기의 원인으로 작용하며, 염증이 장기적으로 진행되는 것을 방지하는 하나의 생체 단백질 제어 수단이다[14, 20]. 특히 생성된 mRNA 양을 조절하는 것은 상대적으로 적은 양의 에너지를 소비하는 경제적인 세포 내 단백질 조절 기전이기도 하다. 염증성 사이토카인 mRNA의 안정성 조절을 위하여 세포는 다양한 형태의 RNA 결합 단백질을 분비한다. 대부분의 mRNA 결합단백질은 mRNA 불안정화를 유도하지만,

*Corresponding author

Tel : +82-51-510-8094, Fax : +82-55-382-8090

E-mail : moon@pusan.ac.kr

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.

ELAV-like protein 1 (human antigen R, HuR) 단백질은 매우 특이적으로 결합 전사체의 3' -비번역 부위(untranslated region (3' -UTR)의 AU-rich elements (AREs)에 결합함으로써 대부분의 경우 mRNA 안정화를 유도한다[17, 19]. 이 단백질은 ELAVL protein family 중의 하나로 정상시 대부분 핵 내에 존재하지만 성장인자와 여러 외부 스트레스인자에 대한 반응으로 세포질의 이동이 증가한다. 특히 스트레스 상황에서 세포질에서 mRNA에 결합하여 보호하며, 스트레스가 해소된 이후에는 결합력이 감소하여 다시 분리된 전사체의 번역이 증대된다. 예를 들어 소포체 스트레스의 경우 대부분의 단백질 발현은 억제되지만, 세포의 운명에 필수적인 성장인자, 사이토카인 등은 stress granule 이라는 구조물 속에서 스트레스가 주어지는 시간 동안 전사체와 HuR와 결합하여 보호를 받다가 스트레스가 소멸된 이후에는 다시 발현이 증대된다[16].

본 연구는 염증성 장질환 동물모델 및 크론씨 병 환자의 점막에서 염증성 스트레스 바이오마커로서 점막 HuR 단백질을 분석하고자 한다. 특히 점막상피 장벽은 점막스트레스의 일차적인 인식 부위로서 환자에서의 점막상피 생검을 통하여 염증성 질환의 징후의 예후 인자로서 평가하고자 하며, 본 연구를 통하여 점막상피장벽의 염증성 스트레스 진단을 위한 주요한 생체 표지자로서 향후 개발하고자 한다.

재료 및 방법

실험동물 모델 및 처리

실험에 사용된 동물은 6주령 암컷 C57BL/6 마우스로 ㈜효창 사이언스(대구, 한국)에서 구입하여 사용하였다. 사육실 환경은 온도 23±2°C, 습도 60±5%, 명암주기 12시간으로 일정하게 유지하였고, 1주일간 마우스용 고형사료와 물을 충분히 공급하였다. 실험동물은 3%의 DSS (Dextran Sodium Sulfate, MP Biomedicals, CA, USA)를 5일간 자유급식 하고 이후에 식수로부터 DSS를 제거하였다. DSS 처리시작 후 각각 3, 5, 8, 12일에 마우스를 안락사 시킨 후 회복하여 대장을 적출하였다. 모든 실험동물은 부산대학교 Institute of Laboratory Animal Resources의 Guide for the Care and Use of Laboratory Animal에 준하여 취급하였으며 동물실험은 부산대학교 동물실험윤리위원회(Institutional Animal Care and Use Committee)의 승인 하에 수행되었다(승인 번호 PNU-2010-000189).

환자 조직 검출

인간의 대장 조직 샘플은 CD 환자에서 대장 내시경 검사시 병변 부분과 정상 부분에서 각각 얻었다. IBD의 진단은 병력, 신체 검사, 내시경 외관, 조직학적 소견, 방사선학적 연구를 기반으로 했다. CD는 다음과 같은 기준으로 정의한다; (1)

상하부 내시경 검사 시 육아종의 발견 (2) 육아종의 부재 시, 대장 내시경 검사에서 구역성 병변을 보이거나 하부 내시경 검사에서 만성적 염증을 동반한 비정상 점막의 발견 또는 방사선 검사에서 분절성 소장의 일부에서 CD와 일치하는 변화가 보일 경우 (3) 농양, 누공, large skin tags와 같은 항문 질환의 발견된 경우, (4) 협착 또는 fistulizing과 같은 전 층 염증의 발견 등으로 정의함. 적어도 두 번의 조직 검사를 하였고 가장 염증이 심한 부분에서 조직을 취했으며, 대장 내시경 검사에서 염증이 보이지 않았다면 정상으로 보이는 부위에서 조직을 취하였다. 모든 장 생검의 염증 또는 비 염증 상태는 육안으로 내시경 검사를 하여 평가했다. 조직 검사 이전에 환자 보호자로부터 환자에 대한 간단한 정보를 얻는데 서면 동의를 받았으며, 생검 조직을 취득하는 서면 동의서 또한 환자 보호자로부터 얻었다. 승인은 양산 부산 대학교 병원의 임상시험 심사위원회(IRB 번호 05-2012-012)에서 수신된 후 연구는 헬싱키 선언에 따라 실시하였다.

면역조직염색

장관 조직은 차가운 phosphate buffered saline (PBS)으로 2회 세척 후 4% paraformaldehyde를 이용하여 4°C에서 24시간 고정하였다. 고정된 조직은 파라핀 블록으로 만들어 4 µm 두께로 잘랐다. deparaffinization과 rehydration 과정을 거친 후 10 mM sodium acetate (pH 9.0)에 조직을 넣고 121°C에서 5분간 antigen retrieval 반응시키고 3% H2O2-PBS에 15분간 넣어 endogenous peroxidase를 비활성화 시킨다. Tris-HCl - Tween 0.5%로 세척한 후 3% bovine serum albumin (BSA) (Bovogen Biologicals, East Keilor, VIC, Australia)가 들어있는 PBS 용액으로 blocking 하고 1차 항체를 1:200 배로 희석하여 4°C에서 overnight 반응시킨다. PBS로 세척하고 난 후 horseradish peroxidase가 붙어있는 2차 항체를 상온에서 2시간 반응시키고 다시 PBS로 세척한다. 조직에 결합된 항체는 기질 용액(0.05% diaminobenzidine (DAB), 0.015% H2O2 in PBS)을 2분간 처리하여 발색 여부로 확인한다. 핵은 hematoxylin (Santa Cruz Biotechnology, Texas, USA)을 이용하여 1분간 염색한다. 이미지는 Axio Imager (Carl Zeiss MicroImaging, GmbH, Oberkochen, Germany)를 사용하여 다양한 배율로 얻었다. 정상 조직과 병변의 캡처 및 수집된 이미지는 포토샵, 버전 7.0 (Adobe Systems, Inc., San Jose, CA, USA)를 사용하여 처리 하였다.

통계 처리

데이터는 Sigma Stat (Jandel Scientific, San Rafael, CA, USA)를 이용해서 분석하였다. 두 그룹의 데이터 비교는 Student's t test를 하였고, multiple groups 비교는 ANOVA를 실시한다.

결과 및 고찰

염증성 장질환의 동물모델로서 마우스에 DSS를 투여하여 대장 궤양을 유도하는 모델이 주로 잘 알려져 있다[8, 15, 22]. 정확한 기전은 알려져 있지 않지만 DSS처리에 의하여 대장뿐만 아니라 소장에서도 조직적이고 생화학적인 병변이 발생한다. 소장에 대한 손상이 대장 손상에 대한 보상작용이나 직접적인 소장 점막 상피 손상인지는 분명하지 않지만 염증성 사이토카인의 생성 등이 소장 및 대장에서 모두 증가되어 염증성 세포들이 침투된다고 잘 알려져 있다[12]. 본 연구에서 사용된 DSS 노출 모델에서는 마우스의 소장 및 대장에서 HuR 단백질의 발현량이 급속하게 증가하였는데(Fig. 1A, 1B), 특히 DSS처리시작 후 3일 및 5일경 통계적으로 유의한 증가가 관찰되었다. DSS처리 후 3일째 소장 상피 조직을 보면, 전반적으로 상피세포 및 일부 샘조직 상피세포에서 유의적으로

HuR단백질의 발현량이 높았고(Fig. 1C), 대장의 경우도 상피 조직의 HuR 단백질 발현량이 우점적으로 높았다(Fig. 1D).

HuR 단백질의 총 양의 증가도 중요하지만 실제 이들 단백질이 작용하는 세포질에서의 상대적인 비중이 중요하다. 이를 측정해 본 결과, 상피 세포질로 이동된 HuR단백질의 양도 상대적으로 증가되는 것으로 보아 발현증가와 함께, 생물물적 활성의 증가도 예상 할 수 있다(Fig. 2A). 세포 내 분포 뿐만 아니라, villus-crypt의 상하 단면에서 HuR단백질 발현 분포를 보면 소장의 경우, 초기에는 villus의 상부와 하부에서 대체로 균등하게 분포하였으나, HuR단백질의 총발현량이 가장 높은 3일째에는 crypt 하부에서 상대적으로 발현량이 높았다(Fig. 2B). 대장의 경우 상하분포의 차이는 나타나지 않았다(데이터 미제시).

염증성 장질환 중 궤양성 장질환은 주로 대장에서의 궤양과 만성 염증에 연관되지만, 크론씨 병의 경우 구강에서 항문

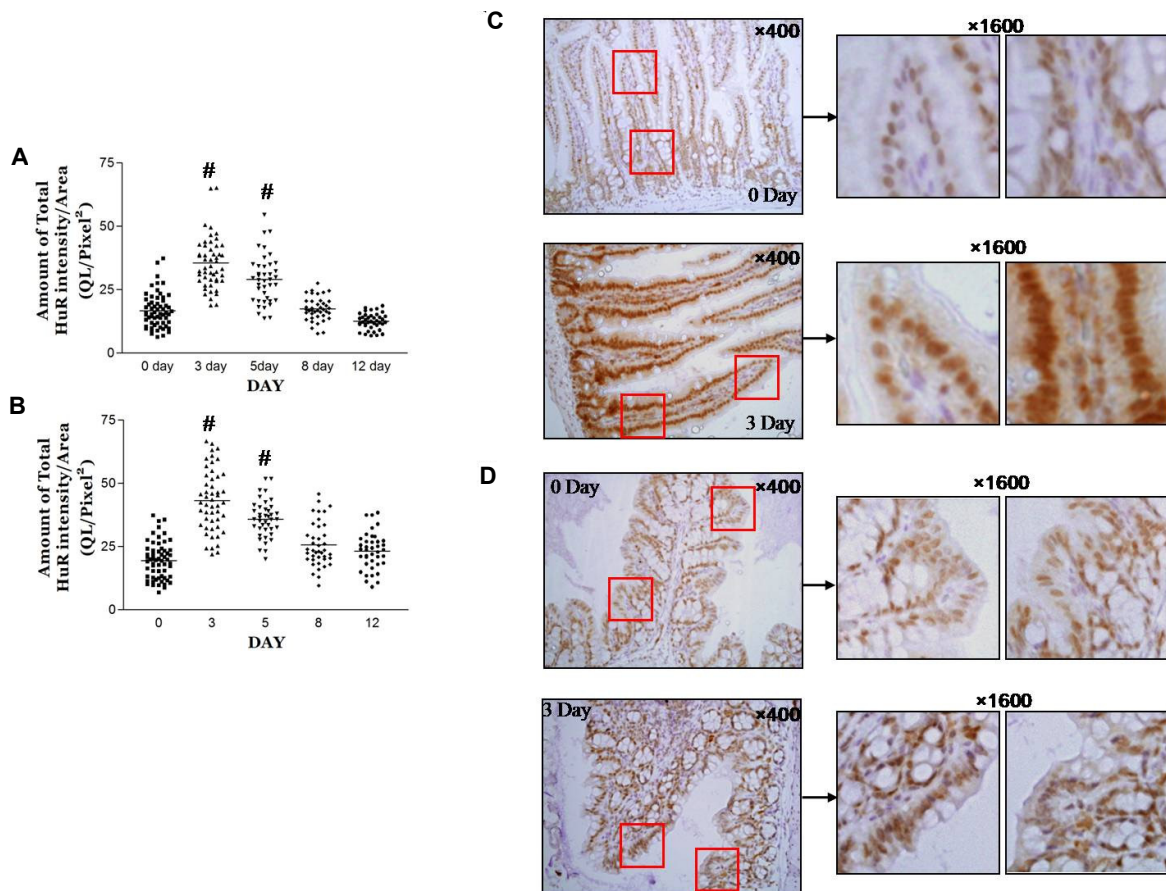


Fig. 1. HuR levels are elevated in mouse colitis. (A-B) The time-course of HuR expression in small intestine (A) and large intestine (B) on 12th day after DSS treatment. Bars represent the medians of the groups. Each data represents the mean ± S.E.M. of 8 to 10 mice per group and is representative of three independent experiments. # indicates the significant difference from the group of 0 day after DSS treatment ($p < 0.05$). (C-D) After DSS treatment for 3 days, intestine tissues were processed for immunohistochemistry analysis and stained with the anti-HuR antibody. Representative photos of sections from small intestine (C) and large intestine (D) were demonstrated; Top, tissues of the healthy control mice; Bottom, tissues of DSS-treated mice (×400 magnification (left) and ×1,600 magnification (right)).

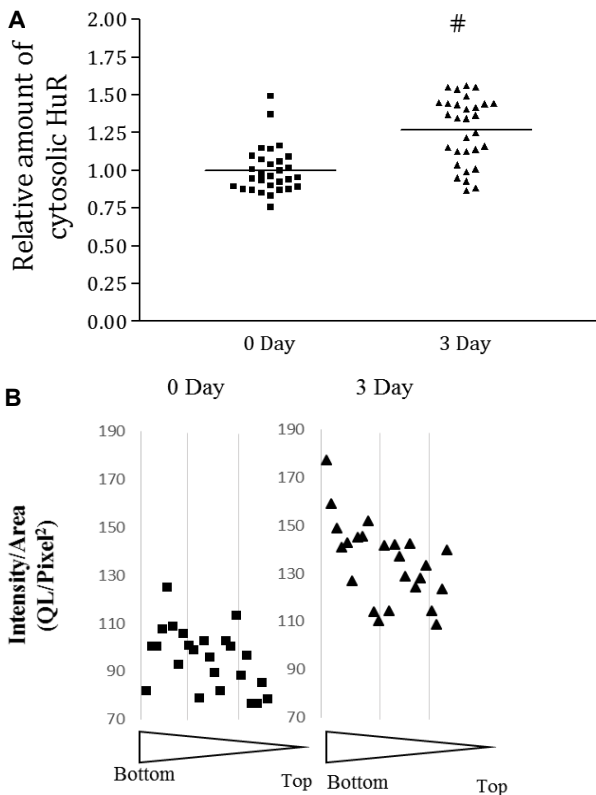


Fig. 2. Localization of expressed HuR in mouse colitis. (A) The cytosolic HuR expression in the small intestines on 0 and 3rd day after DSS treatment. Bars represent the medians of the groups. # indicates the significant difference from the group of 0 day after DSS treatment ($p < 0.05$). (B) The total HuR expression in the small intestines on 0 and 3rd day after DSS treatment.

까지 전체의 소화기 점막상피의 꺾양과 염증이 발생한다. 본 연구에서 관찰된 질환유도 모델에서의 HuR 단백질 양의 증대를 소아 크론씨 병 환자의 병변에서 또한 관찰하였다. 정상 부위와 비교하였을 때, 병리적인 병변 소견 부위에서의 HuR 단백질의 증대를 유사하게 볼 수 있었다(Fig. 3A). 또한 병변의 점막상피조직 및 샘조직의 상피부위에서 상대적으로 높은 발현을 보임을 알 수 있었다(Fig. 3B). 본 인체 시료 분석 결과는 DSS 처리 동물실험과는 villus 상하의 공간분포에서의 HuR 발현양은 차이를 나타내지 않았다. 이는 10일 이내에 진행되는 화학적 유발 DSS 모델과는 달리 환자들의 질환은 이미 만성적으로 진행된 결과이며, 상하분포의 차이를 보이는 시기를 지나 이미 전체 발현량은 대조구에 비해 상당수준 높은 수준을 유지하고 있다. 또한 인체 장관 샘조직에서 발현증가도 동물모델에서도 일부 발견되었으나, 인체 임상 조직에서 명확하게 증대되는 것을 알 수 있으며, 이는 질환의 진행 정도가 동물모델에 비해 더욱 진행된 결과임을 간접적으로 나타낸다.

본 연구에서 사용된 DSS처리 동물실험에서 DSS 처리시작

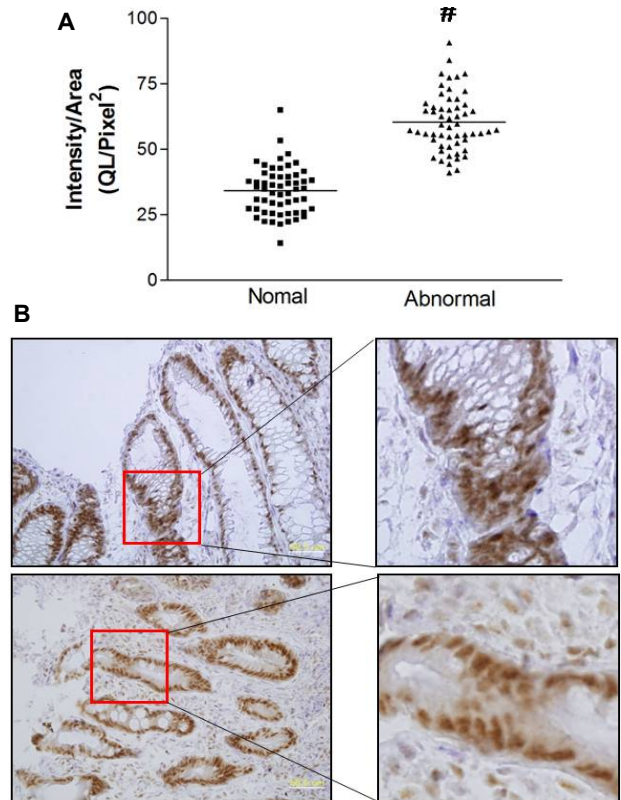


Fig. 3. HuR levels are expressed in Human IBD. (A) Expression of HuR protein in the tissue samples from normal and inflamed lesion in patients with CD. Each column represents the mean \pm S.E.M. of 6 patients per group and is representative of three independent measurements. Bars represent the medians of the groups and # indicates the significant difference from the normal area ($p < 0.05$). (B) Representative HuR-stained tissues from inflamed lesion in patients with CD ($\times 400$ magnifications).

후 5일까지는 명확한 HuR 단백질의 발현양과 세포질 내 상대적인 비중에 증가하나, 그 후 화학적 꺾양성 자극이 제거된 이후에는 다시 감소되거나 정상수치로 복귀하였다. 하지만 만성 질환을 가진 크론씨 병 환자들의 병변에서는 지속적으로 HuR 단백질의 발현양이 증대되어 있는 것으로 보아 장내 꺾양 및 염증성 환경의 만성적으로 조성되고 HuR 단백질의 위치적, 양적 증대를 유지하고 있는 것으로 사료된다. 향후 염증성 인자들의 발현을 촉진시킴을 예측 할 수 있다. 기전적으로 염증성 자극에 의한 HuR의 발현량 증대는 여러 가지 경로의 신호전달을 예상 할 수 있다. 주로 p38 또는 ERK1/2 MAP Kinases에 의한 HuR의 세포질 내 이동성 촉진이 알려져 있으며[4, 5, 12, 18], 반대로 AMP-activated protein kinase는 HuR의 세포질 내 이동성을 억제하기에[21] 염증성 자극에 의한 HuR 단백질 발현 및 세포 내 이동에 대한 특이적인 신호전달 패턴을 규명하는 것이 중요하다. 또한 본 연구에서 관찰되는 총 HuR의 발현량 증대에 대한 정밀한 전사기구의 분

석도 기대된다.

본 연구에서와 같이 상피성 염증 질환 외에도 상피성 종양화 과정에서도 HuR 단백질의 발현량과 세포질 내 상대적 비중이 증가함이 일부 알려져 있다[2, 10, 11]. 특히 종양화 과정에서 중요한 cyclooxygenase-2의 발현량과 HuR의 세포질 내 상대적인 농도가 carcinoma에서는 유의적인 상관성을 보이지만[2], 초기염증과 adenoma에서는 그 상관성이 나타나지 않는다. 향후 본 연구의 염증성 장질환에서의 HuR에 의한 TNF- α , cyclooxygenase-2를 포함한 표적 단백질의 탐색은 다양한 측면의 오믹스 기술을 이용하여 발굴하여 할 것이다.

감사의 글

본 논문은 부산대학교 자유 과제 학술연구비(2년)에 의하여 연구되었음.

References

1. Armuzzi, A., Lionetti, P., Blandizzi, C., Caporali, R., Chimenti, S., Cimino, L., Gionchetti, P., Girolomoni, G., Lapadula, G., Marchesoni, A., Marcellusi, A., Mennini, F. S., Salvarani, C. and Cimaz, R. 2014. Anti-TNF agents as therapeutic choice in immune-mediated inflammatory diseases: focus on adalimumab. *Int J Immunopathol Pharmacol* **27**, 11-32.
2. Brosens, L. A., Keller, J. J., Pohjola, L., Haglund, C., Morsink, F. H., Iacobuzio-Donahue, C., Goggins, M., Giardiello, F. M., Ristimaki, A. and Offerhaus, G. J. 2008. Increased expression of cytoplasmic HuR in familial adenomatous polyposis. *Cancer Biol Ther* **7**, 424-427.
3. D'Haens, G. R., Sartor, R. B., Silverberg, M. S., Petersson, J. and Rutgeerts, P. 2014. Future directions in inflammatory bowel disease management. *J Crohns Colitis* **8**, 726-734.
4. Dixon, D. A., Tolley, N. D., King, P. H., Nabors, L. B., McIntyre, T. M., Zimmerman, G. A. and Prescott, S. M. 2001. Altered expression of the mRNA stability factor HuR promotes cyclooxygenase-2 expression in colon cancer cells. *J Clin Invest* **108**, 1657-1665.
5. Fernau, N. S., Fugmann, D., Leyendecker, M., Reimann, K., Grether-Beck, S., Galban, S., Ale-Agha, N., Krutmann, J. and Klotz, L. O. 2010. Role of HuR and p38MAPK in ultraviolet B-induced post-transcriptional regulation of COX-2 expression in the human keratinocyte cell line HaCaT. *J Biol Chem* **285**, 3896-3904.
6. Fiocchi, C. 2002. Inflammatory bowel disease. Current concepts of pathogenesis and implications for therapy. *Minerva Gastroenterol Dietol* **48**, 215-226.
7. Fries, W., Belvedere, A. and Vetrano, S. 2013. Sealing the broken barrier in IBD: intestinal permeability, epithelial cells and junctions. *Curr Drug Targets* **14**, 1460-1470.
8. Geier, M. S., Smith, C. L., Butler, R. N. and Howarth, G. S. 2009. Small-intestinal manifestations of dextran sulfate sodium consumption in rats and assessment of the effects of *Lactobacillus fermentum* BR11. *Dig Dis Sci* **54**, 1222-1228.
9. Gilroy, L. and Allen, P. B. 2014. Is there a role for vedolizumab in the treatment of ulcerative colitis and Crohn's disease? *Clin Exp Gastroenterol* **7**, 163-172.
10. Habiba, U., Kitamura, T., Yanagawa-Matsuda, A., Hida, K., Higashino, F., Ohiro, Y., Totsuka, Y. and Shindoh, M. 2014. Cytoplasmic expression of HuR may be a valuable diagnostic tool for determining the potential for malignant transformation of oral verrucous borderline lesions. *Oncol Rep* **31**, 1547-1554.
11. Heinonen, M., Bono, P., Narko, K., Chang, S. H., Lundin, J., Joensuu, H., Furneaux, H., Hla, T., Haglund, C. and Ristimaki, A. 2005. Cytoplasmic HuR expression is a prognostic factor in invasive ductal breast carcinoma. *Cancer Res* **65**, 2157-2161.
12. Lafarga, V., Cuadrado, A., Lopez de Silanes, I., Bengoechea, R., Fernandez-Capetillo, O. and Nebreda, A. R. 2009. p38 Mitogen-activated protein kinase- and HuR-dependent stabilization of p21(Cip1) mRNA mediates the G(1)/S checkpoint. *Mol Cell Biol* **29**, 4341-4351.
13. Leppkes, M., Roulis, M., Neurath, M. F., Kollias, G. and Becker, C. 2014. The pleiotropic functions of TNF- α in the regulation of the intestinal epithelial response to inflammation. *Int Immunol* **26**, 509-515.
14. Mahmoud, L., Al-Enezi, F., Al-Saif, M., Warsy, A., Khabar, K. S. and Hitti, E. G. 2014. Sustained stabilization of Interleukin-8 mRNA in human macrophages. *RNA Biol* **11**, 124-133.
15. Ohtsuka, Y. and Sanderson, I. R. 2003. Dextran sulfate sodium-induced inflammation is enhanced by intestinal epithelial cell chemokine expression in mice. *Pediatr Res* **53**, 143-147.
16. Park, S. H., Choi, H. J., Yang, H., Do, K. H., Kim, J., Kim, H. H., Lee, H., Oh, C. G., Lee, D. W. and Moon, Y. 2012. Two in-and-out modulation strategies for endoplasmic reticulum stress-linked gene expression of pro-apoptotic macrophage-inhibitory cytokine 1. *J Biol Chem* **287**, 19841-19855.
17. Pullmann, R. Jr. and Rabb, H. 2014. HuR and other turnover- and translation-regulatory RNA-binding proteins: implications for the kidney. *Am J Physiol Renal Physiol* **306**, 569-576.
18. Subbaramaiah, K., Marmo, T. P., Dixon, D. A. and Dannenberg, A. J. 2003. Regulation of cyclooxygenase-2 mRNA stability by taxanes: evidence for involvement of p38, MAPKAPK-2, and HuR. *J Biol Chem* **278**, 37637-37647.
19. Talwar, S., House, R., Sundaramurthy, S., Balasubramanian, S., Yu, H. and Palanisamy, V. 2014. Inhibition of caspases protects mice from radiation-induced oral mucositis and abolishes the cleavage of RNA-binding protein HuR. *J Biol Chem* **289**, 3487-3500.
20. Tebo, J., Der, S., Frevel, M., Khabar, K. S., Williams, B. R. and Hamilton, T. A. 2003. Heterogeneity in control of mRNA stability by AU-rich elements. *J Biol Chem* **278**, 12085-12093.
21. Wang, W., Fan, J., Yang, X., Furer-Galban, S., Lopez de Silanes, I., von Kobbe, C., Guo, J., Georas, S. N., Foufelle,

F., Hardie, D. G., Carling, D. and Gorospe, M. 2002. AMP-activated kinase regulates cytoplasmic HuR. *Mol Cell Biol* **22**, 3425-3436.

22. Yazbeck, R., Howarth, G. S., Butler, R. N., Geier, M. S. and

Abbott, C. A. 2011. Biochemical and histological changes in the small intestine of mice with dextran sulfate sodium colitis. *J Cell Physiol* **226**, 3219-3224.

초록 : 염증성 장질환 모델 및 크론병 환자에서의 점막상피 HuR 단백질의 변화 분석

최혜진¹ · 박재홍² · 박지연¹ · 김주일¹ · 박성환¹ · 오창규¹ · 도기현¹ · 송보경¹ · 이승준¹ · 문유석^{1,3,4*}

(¹부산대학교 의과학과 점막노출체 및 바이오모듈레이션 연구실, ²부산대학교 소아과, ³부산대학교 의학연구소, ⁴브레인부산 21 프로젝트 면역조절치료제 연구그룹)

염증성 장질환은 점막의 만성적 궤양과 염증을 동반하는 면역질환으로 알려져 있으며, 특히 TNF α 와 같은 염증성 사이토카인은 주요한 생물학적 치료의 표적으로 이용되고 있다. 염증성 사이토카인의 유전자발현에서 전사물의 안정화는 매우 중요한 조절과정이며, 특히 본 연구에서는 이 안정화에 핵심적인 단백질인 HuR의 발현과 조직 분포에 대하여 동물모델과 환자의 조직에서 분석하였다. DSS를 처리함으로 유도되는 장염증 동물 모델에서 HuR 단백질의 발현양이 높았음을 확인했고, 점막의 상피조직 및 선조직 상피세포에서 상대적인 발현이 증대되었다. 또한 단백질의 활성측면에서 세포질로 이동된 HuR 단백질의 양도 상대적으로 증가하였다. 공간분포적으로 보면 DSS에 의한 화학적 점막자극에 의하여 초기에는 villi 하부에서의 발현정도가 상대적으로 villus 말단에 비하여 높게 유지되었다. 크론병 환자의 생검을 통하여 정상부위와 병변부위에서 HuR 단백질을 비교분석 하였다. 크론병 환자들의 병변에서는 지속적으로 HuR의 발현이 증대되어 있음을 확인했으며, 동물조직과 유사하게 병변부위의 장관상피세포 및 선 상피에서 주로 발현양이 높았다. 이러한 결과는 염증성 장질환에서의 HuR 단백질이 초기 염증성 인자의 발현에 중요한 역할이 예상되며, 구체적인 분자기전의 규명도 향후 기대된다. 이를 근간으로 하여 염증성 장질환의 진단과 치료의 표적개발에서 유용하게 응용하고자 한다.