

## Diverse Mechanisms of Relaxin's Action in the Regulation of Smooth Muscles and Extracellular Matrix of Vasculature and Fibrosis

Gyesik Min\*

Department of Nursing, College of Life Science, Gyeongsang National University, Jinju 52725, Korea

Received February 7, 2022 / Revised February 15, 2022 / Accepted February 15, 2022

Relaxin has been demonstrated to have regulatory functions on both the smooth muscle and extracellular matrix (ECM) of blood vessels and fibrotic organs. The diverse mechanisms by which relaxin acts on small resistance arteries and fibrotic organs, including the bladder, are reviewed here. Relaxin induces vasodilation by inhibiting the contractility of vascular smooth muscles and by increasing the passive compliance of vessel walls through the reduction of ECM components, such as collagen. The primary cellular mechanism whereby relaxin induces arterial vasodilation is mediated by the endothelium-dependent production of nitric oxide (NO) through the activation of RXFP1/PI3K, Akt phosphorylation, and eNOS. In addition, relaxin triggers different alternative pathways to enhance the vasodilation of renal and mesenteric arteries. In small renal arteries, relaxin stimulates the activation of the endothelial MMPs and EtB receptors and the production of VEGF and PlGF to inhibit myogenic contractility and collagen deposition, thereby bringing about vasodilation. Conversely, in small mesenteric arteries, relaxin augments bradykinin (BK)-evoked relaxation in a time-dependent manner. Whereas the rapid enhancement of the BK-mediated relaxation is dependent on  $IK_{Ca}$  channels and subsequent EDH induction, the sustained relaxation due to BK depends on COX activation and  $PGI_2$ . The anti-fibrotic effects of relaxin are mediated by inhibiting the invasion of inflammatory immune cells, the endothelial-to-mesenchymal transition (EndMT), and the differentiation and activation of myofibroblasts. Relaxin also activates the NOS/NO/cGMP/PKG-1 pathways in myofibroblasts to suppress the TGF- $\beta$  1-induced activation of ERK1/2 and Smad2/3 signaling and deposition of ECM collagen.

**Key words** : Extracellular matrix remodeling, fibrosis, relaxin, signal transduction mechanisms, vasodilation

### 서 론

릴랙신은 인슐린과 유사한 구조를 가진 약 6 kd의 폴리펩티드 호르몬으로서, 지금까지 연구된 종들의 난소에서 주로 생성되지만 전립샘과 혈관을 비롯한 일부 기관에서도 지역적으로 합성된다[71, 76]. 특히, 임신 중 난소의 황체가 인간을 포함한 다수의 종에서 릴랙신 합성의 주된 장소로서[71, 92], 임신과 분만 과정에서 중요한 생리적 기능을 한다[92]. 1926년, 임신한 guinea pig의 혈장을 임신하지 않은 guinea pig에 투여했을 때, 치골결합인대가 늘어나고 느슨해지는 현상을 발견함으로써 처음 밝혀진 후[39], 임신한 돼지 및 설치류를 비롯한 다수 종들의 황체로부터 추출, 분리 및 정제되어 그 화학적 특징이 규명됨으로써 릴랙신이 명명되었으며, 그 이후, 수정란의 자궁내막 착상, 임신초기 자궁근의 수축억제, 임신 중 자궁 고유결합조직의 재구성 및 임신 말기의 자궁경부 유연화

를 통한 분만준비 등과 같은 임신과 출산에 관련된 다양한 생리적 기능을 갖는 것으로 밝혀져 왔다[46, 71, 92]. 이러한 릴랙신의 공통적 작용의 특징은 각 표적 생식기관 조직의 세포외기질(ECM)의 재구성과 평활근육의 이완으로[54, 71], 특히, 교원질섬유로 불리는 콜라겐의 밀도 감소와 배열의 소성 및 불규칙성을 유발하여 조직의 강연성 감소와 신전성 증가를 유도하고, 평활근육의 수축을 억제한다[106]. 릴랙신의 기능 중 하나의 흥미로운 작용은 항섬유화 효과로서, 피부와 같은 비생식관련 조직 내 콜라겐섬유의 비정상적인 침착을 억제하여, 결합조직의 섬유증을 감소시켰다. 예로, 부분정제된 돼지 릴랙신 처리가 경피증 완화에 비교적 긍정적인 효과를 일으키는 것으로 보고되었다[12, 28]. 이후, 재조합인간릴랙신 (serelaxin)의 합성으로, 다양한 기관들의 섬유증 치료를 위한 릴랙신의 적용연구가 시도되었으며, 특히, 릴랙신에 의해 활성화되는 다양한 신호전달경로들을 표적으로 하는 *in vitro* 및 *in vivo*에서의 치료적 가능성에 대한 기능과 기전 및 매개인자들을 밝히려는 노력이 진행되어오고 있다[46, 54, 71]. 간단히 요약하면, 릴랙신은 여러가지 기관들로부터 유래한 활성화된 섬유아세포로서 섬유증 유발의 중추적 원인이 되는 근섬유아세포의 콜라겐 합성과 분비를 억제하여 조직 내 비정상적인 콜라겐 침착을 감소시키는 것으로 보고되었다[9, 85, 93, 94]. 뿐만 아니라, 릴랙신은 matrix metalloproteinases (MMPs)의

#### \*Corresponding author

Tel : +82-55-772-3651, Fax : +82-55-772-3659

E-mail : g-min@gnu.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.

발현과 활성을 촉진하고, 이들의 내인성 억제제인 tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMP)의 생성을 감소시켜, 비정상적으로 축적된 콜라겐의 분해를 촉진하는 것으로 알려졌다[9, 35, 64, 85, 94]. 릴렉신의 이러한 유사한 작용은 설치류 모델의 심장, 폐, 간 및 신장의 섬유증 등에서 관찰되었다[8, 29, 31, 85, 94]. 또한, 내인성 릴렉신 또는 릴렉신 수용체인 relaxin family peptide receptor-1 (RXFP-1)이 결핍된 생쥐에서는 다수의 기관들에서 나이에 따른 섬유증이 진행되었다[26, 38, 51, 83, 86-88]. 따라서, 이러한 연구결과들은 릴렉신이 다양한 기관들에서 섬유증의 진행억제와 방지에 중요한 역할을 하는 인자들 중의 하나임을 제시한다.

릴렉신 호르몬의 세포내 신호전달기전은 2002년 릴렉신 수용체가 발견되기 전까지, 매우 제한적 연구에 의해 일부의 조직들에서 cAMP 및 산화질소(NO)의 생성촉진을 통해 매개한다고 보고되었다[10, 62]. 마침내, 2002년 relaxin family peptides에 의해 활성화될 수 있는 4가지 릴렉신 수용체들 중 특히, 릴렉신에 결합하여 반응하는 RXFP1과 RXFP2가 밝혀지면서, 릴렉신에 의해 활성화되는 다양한 신호전달경로들이 규명되기 시작하였다[5, 40].

릴렉신의 혈관확장 효과에 대한 개념은 오랫동안 알려진 평활근의 수축억제 기능뿐만 아니라, 혈관벽에서의 릴렉신과 릴렉신 수용체의 발현에 근거를 두고 있다. 릴렉신은 미임신 암컷과 수컷 설치류의 동맥에서 생성되며[76], *Rln*<sup>-/-</sup> 수컷 생쥐는 정상적인 혈관기능에 부정적인 영향을 주는 혈관표현형을 가지는 것으로 보고되었다[53, 70]. 또한, 면역조직화학적 위치 확인연구를 통하여, 광범위한 동맥과 정맥의 내피세포와 평활근육세포 모두에서 RXFP1 수용체의 존재가 확인되었을 뿐만 아니라[43, 70, 76], 혈관의 위치에 따라 차별적으로 발현됨으로써, 릴렉신의 혈관작용에 대한 다양성을 제시하였다. 지난 수년간의 연구를 통하여, 릴렉신이 임신에 대한 모체의 중요한 심혈관계 적응성에 기여하며[18, 19], 이러한 릴렉신의 유용한 효과는 모체의 체순환과 신장혈관에서의 혈액동력학적 변화와 관련된 것으로 보고되었다[17-19]. 내인성 혈중 릴렉신의 결핍으로 인한 혈관에 대한 부정적 영향은 릴렉신-결핍 설치류의 임신동안 가장 잘 나타난다[33, 59, 75, 98]. 한편, 릴렉신의 저항성 혈관에 대한 작용은 설치류의 신장 소동맥에 대한 Novak과 Conrad의 연구에 의해 처음 보고되었으며[21, 75, 77], 재조합인간릴렉신이 주로 내피세포-의존성 NO-매개 혈관확장 경로를 통해 작용함을 확인하였다[17, 76]. 또한, 최근의 연구를 통하여, NO에 의존하지 않고 재조합인간릴렉신에 의해 활성화되는 다수의 대체 혈관확장 경로들이 확인되었다[55-57]. 비록, 릴렉신의 혈관작용에 대한 지금까지 대부분의 연구들이 혈관의 긴장성 조절에 집중되어 왔지만, 최근의 연구에서 릴렉신이 혈관벽 내부 세포외기질의 재구성에도 관여함으로써, 혈관의 확장성(신전성)과 강연성에 영향을 줄 수 있음이 제시되었다[22].

따라서, 본 총설에서는 과거 및 최근 수년간의 연구결과들에서 보고된 임신기간 중 혈관의 항상성 조절에 관여하는 릴렉신의 작용, 신소동맥과 장간막동맥에 대한 비교를 통한 릴렉신의 차별적 작용과 다양한 혈관확장 경로기전, 그리고 릴렉신의 혈관 ECM 재구성에 대한 역할을 정리하였다. 또한, 최근 보고된 방광 섬유증에 대한 릴렉신의 억제효과와 함께, 다양한 조직기관들에서 공통적으로 발생할 수 있는 염증반응과 섬유증에 대한 릴렉신의 ECM 재구성 조절 및 관련 세포내 신호전달기전들을 통한 섬유화 억제작용을 요약하였다.

## 본 론

### 릴렉신의 혈관조절 작용

릴렉신의 혈관에 대한 작용은 Massicotte 등의 연구진에 의해 처음 보고되었으며, 릴렉신을 주입한 관류 생쥐의 장간막동맥이 노르아드레날린과 같은 혈관수축인자에 대한 감소된 반응을 통해 확인되었다[63]. 이후, 돼지 릴렉신이 쥐와 미니돼지에서 산화질소-의존성 경로를 통하여 관상동맥의 혈류량을 증가시키는 혈관확장제로 작용함이 밝혀지면서[4], 동물과 사람의 *in vivo* 및 *ex vivo* 모델에서 혈관의 종류에 따라 평활근 반응성 및 혈관확장기능 등에서 차별적으로 작용하는 혈관기능 조절인자로서의 릴렉신의 다양한 역할과 구체적 작용기전에 대한 활발한 연구가 진행되었다[30, 58, 66, 77, 95, 96].

### 임신 중 혈관의 적응조절

동물과 여성에서, 특히 임신 중 높은 혈중농도를 나타내는 릴렉신은 모체의 임신에 대한 심혈관계의 적응에 중요한 역할을 한다[18, 19]. 예로, 임신 첫 3개월동안 혈액 비교분석 결과, 정상보다 낮은 릴렉신 농도를 가진 여성은 임신기간 대비 작은 신생아와 함께 후발성 전자간증이 발생할 위험성이 증가되는 것으로 나타나[54], 특히, 임신초기 혈중 릴렉신의 부족 또는 결핍은 임신에 대한 모체의 혈관적응성에 부정적으로 작용하여 신장과 태반의 기능에 영향을 미칠 수 있음을 제시하였다[20]. 이는 특히 모체의 체순환과 신장 혈관의 혈류동역학의 변화와 관련되며, 소동맥에 대한 릴렉신의 혈관확장 효과에 기인한 체순환 혈관의 저항 감소, 평균동맥압 감소, 동맥의 신전성 증가, 신장혈류 증가, 혈장 삼투농도 감소 및 사구체여과율(GFR) 증가 등을 포함한다(Table 1) [17-19]. 순환하는 내인성 릴렉신의 결핍에 의한 임신 중 부정적 영향은 릴렉신유전자 결핍 동물모델의 임신에서 가장 잘 나타난다[33, 59, 75, 98]. 중화 단클론 항체를 투여한 임신중기 쥐의 혈중 릴렉신 결핍은 정상적인 임신에 의해 유도되는 신장 혈류량과 사구체여과율의 증가, 그리고 정상적으로 감소되는 신장혈관 저항, 혈장 삼투농도 및 신소동맥의 근발생 반응성을 방해하였다[75]. 이러한 릴렉신-중화항체는 또한 임신 중 증가되는 심박출량과 동맥신전성, 그리고 체순환 혈관저항의 감소를 차단하

Table 1. Effects of relaxin on vascular adaptation to pregnancy

Effects of relaxin	Increase	Decrease
SVR / MAP		○
RSA Contraction / Resistance		○
RBF / GFR	○	
Plasma Osmolarity		○
Cardiac Output	○	
Placenta / Kidney / Mesenteric Artery Compliance	○	

Abbreviation: SVR, systemic vascular resistance; MAP, mean arterial pressure; RSA, renal small artery; RBF, renal blood flow; GFR, glomerular filtration rate.

였다(Table 1) [24]. 한편, 임신후기 쥐에서의 릴랙신-중화항제 처리는 자궁동맥의 내외경을 감소시키고 원주의 수동적 혈관벽 강연성을 증가시킨 반면[98], 콜라겐 발현과 구성 또는 MMP2와 MMP9의 발현을 변화시키지는 않았다[98]. 임신 *Rln*<sup>-/-</sup> 생쥐 또한 더욱 딱딱한 자궁동맥과 혈관벽 내의 엘라스틴, MMP2, MMP10 및 MMP14의 유전자발현 감소를 보였다[33]. 최근, 임신후기 *Rln*<sup>-/-</sup> 생쥐의 장간막동맥에서 하나의 새로운 혈관 평활근육의 표현형이 확인되었으며, 이는 안지오텐신 II(Ang II)에 대한 반응감소가 사라져 임신에 대한 혈관적응력에 손상을 나타내었지만, 이러한 Ang II에 대한 높은 반응성은 내피세포에 기인한 기전이 아닌 혈관 평활근세포로부터 유래된 혈관확장제인 PGI<sub>2</sub>의 감소와 관련된 것으로 제시되면서[59], 릴랙신의 혈관작용에 대한 다양성을 보여주는 사례라고 할 수 있다.

**저항혈관의 기능조절**

릴랙신은 또한 미임신 암컷과 수컷 설치류의 혈관에서도 생성됨이 밝혀졌으며[76], *Rln*<sup>-/-</sup> 수컷 생쥐는 정상적인 혈관기능에 영향을 미치는 표현형을 나타내었다[53, 70]. 또한, 면역조직화학적 위치확인법에 의한 연구를 통하여 RXFP1 수용체가 광범위한 동맥과 정맥 내의 내피세포 및 평활근세포에서도 확인되었으며, 이는 릴랙신의 혈관작용에 대한 근거를 제시할 뿐만 아니라, 릴랙신이 자가분비 및 주변분비 작용을 포함한 다양한 세포매개 기전을 통한 혈관기능을 조절함을 의미한다[43, 70, 76]. 흥미롭게도, RXFP1 수용체의 발현양상이 혈관의 유형에 따라 차별적으로 일어나며, 이는 아마도 릴랙신의 혈관작용에 대한 다양성을 시사하는 것으로 여겨진다.

**신장혈관의 확장과 신진성 조절**

설치류의 신장 소동맥에 대한 Novak과 Conrad의 초기 연구결과, 재조합인간릴랙신이 PI3K 활성화, Akt 인산화, 내피세포 산화질소합성효소(eNOS) 활성화 및 MMPs를 포함하는 혈관내피세포-의존성 NO-매개 혈관확장경로를 통하여 주로 작용하는 것으로 보고되었다(Fig. 1) [17, 77]. 쥐에 대한 5일간

의 연속적 재조합인간릴랙신 투여는 신소동맥 평활근육의 수축력을 감소시켰으며, 이러한 릴랙신의 효과는 산화질소합성효소 억제제인 L-NAME 처리 또는 혈관내피세포가 제거된 동맥에서 사라짐을 확인함으로써, 신소동맥에 대한 릴랙신의 혈관수축 억제효과는 최소한 혈관내피세포-유래 산화질소에 의해 매개된다는 사실을 제시하였다[77]. 최근 연구결과, 다양한 혈관확장 대체경로들이 또한 릴랙신에 의해 활성화되는 것으로 나타났다[55-57]. 이어진 연구들로부터, 재조합인간릴랙신은 젤라티나아제(MMP) 활성을 증가시키고 endothelin B (ET<sub>B</sub>) 수용체를 활성화하였다[44, 45]. 이러한 *in vivo* 연구결과와 일치하게, 체외에서의 혈관에 대한 3시간의 재조합인간릴랙신 처리 또한 생쥐와 쥐의 신소동맥 평활근의 수축반응성을 억제시켰으며, 이 효과 역시 유사하게 산화질소, 젤라티나아제 및 ET<sub>B</sub>에 의해 매개되었다(Fig. 1) [65]. 흥미롭게도, 재조합인간릴랙신이 평활근의 수축을 억제하는 기전은 시간-의존적이며, 젤라티나아제 선택적 활성의 차별적 상향조절을 포함한다. 재조합인간릴랙신의 쥐에 대한 장기(5일) 투여는 MMP2의 활성을 증가시켰으며, 평활근의 수축을 억제하였다[44]. 이와 달리, 보다 짧은 기간(4~6시간)의 재조합인간릴랙신 처리는 평활근 수축을 억제하였지만, MMP9의 활성을 선택적으로 증가시켰다[45]. 재조합인간릴랙신에 의해 MMP2 또는 MMP9 중 어느것이 활성화되는 상관없이, 두 MMP는 모두 endothelin (ET)을 ET<sub>1-32</sub>로 전환할 수 있으며, 이는 다시 ET<sub>B</sub> 수용체를 활성화하여 산화질소의 생성을 유도하게 된다(Fig. 1). ET<sub>B</sub> 수용체의 관여는 ET<sub>B</sub> 길항제의 사용이 신소동맥 내 평활근의 수축을 억제할 수 있는 재조합인간릴랙신의 능력을 무력화시킨 실험을 통하여 입증되었다[44, 45]. Dschietzig 등의 연구는 [25] 재조합인간릴랙신이 인간의 혈관평활근세포가 아닌 인간 재대정맥의 혈관내피세포에서 ET<sub>B</sub> 수용체의 발현을 직접 증가시킴을 시사하였다. 더구나, 재조합인간릴랙신에 대한 6시간 동안의 노출 이후, 혈관내피세포의 원형질막에 대한 ET<sub>1</sub>의 결합이 현저히 증가되었다. 그러나, *in vivo*에서의 재조합인간릴랙신 처리는 쥐의 신소동맥 내 ET<sub>B</sub> 수용체의 발현이나 활성에 영향을 주지 못했다[49]. 비록 재조합인간릴랙신에 의해 유도되는 혈관확장이 최소한 부분적으로 ET<sub>B</sub> 수용체에 의해 매개된다는 사실에 대한 큰 이견은 없지만, 재조합인간릴랙신이 소동맥의 ET<sub>B</sub> 수용체의 발현에 영향을 미치는지에 대한 여부는 추가적인 연구를 필요로 한다[54].

Vascular endothelial growth factor (VEGF) 및 placental growth factor (PlGF)와 같은 혈관생성 성장인자들 또한 릴랙신에 의한 신장혈관 작용을 매개하는 것으로 보고되었다(Fig. 1) [65]. VEGF 또는 PlGF에 대한 중화항제의 존재상태에서, 설치류 신소동맥의 *ex vivo* 평활근 수축을 감소시키고 내피세포-의존성 이완을 증가시키는 재조합인간릴랙신의 능력이 사라졌다. 또한, 재조합인간릴랙신의 *in vivo* 신장혈관 확장효과가 VEGF 수용체 tyrosine kinase 억제제와 함께 처리된 의식있는

암컷 쥐에서 제거되었다[65]. 하지만, 대부분의 이 연구들은 각각 수컷 또는 미임신 암컷 쥐에서만 재조합인간틸렉신이 처리된 점을 감안할 때, 릴렉신이 두 성별에서 서로 다른 경로를 통하여 혈관확장효과를 매개할 가능성을 여전히 배제할 수 없다[54]. 따라서, 이러한 연구들로부터 릴렉신은 신소동맥의 혈관확장에 중요한 기능을 하며, 산화질소는 이러한 릴렉신의 혈관확장효과를 매개하는데 관여하는 중심인자로 작용한다(Fig. 1). 그리고, MMP2/9, ET<sub>B</sub>, VEGF 및 PIGF 또한 신소동맥에 대한 릴렉신의 혈관확장효과를 매개하는데 관여하는 다양한 경로의 인자들로 여겨지며(Fig. 1), 이들이 내인성 릴렉신이 작용하는 임신에 대한 모체의 신장혈관 적응효과를 매개하는데 관여하는지에 대한 여부는 추가적인 연구에서 규명되어야 할 것으로 사료된다.

릴렉신의 신소동맥에 대한 작용은 평활근육의 수축억제와

이완기능 외에도, 혈관벽의 수동적인 기계적 성질의 재구성에 도 영향을 미치는 것으로 보고되었다. 설치류에 대한 재조합인간틸렉신의 피하주입은 신소동맥의 원주 신전성을 증가시켰다[21, 23]. 재조합인간틸렉신으로 5일간 처리된 생쥐에서, 신소동맥 신전성의 상대적 증가는 기하학적인 외향적 재구성과 콜라겐 감소에 의한 구성성분적 재구성에 의해 매개되었다. 기하학적인 외향적 재구성은 압력이 가해지지 않는 혈관벽 면적과 내강면적 대비 혈관벽 두께 비율의 증가로 특징된다. 재조합인간틸렉신은 또한 MMP2 및 MMP9의 활성화에 영향을 주지 않고, 혈관평활근세포의 밀도를 증가시키고 동맥혈관 벽 내의 콜라겐 함량을 감소시켰다[23].

**장간막혈관의 확장과 신전성 조절**

많은 연구들은 건강하거나 질병상태 쥐의 장간막 혈관에

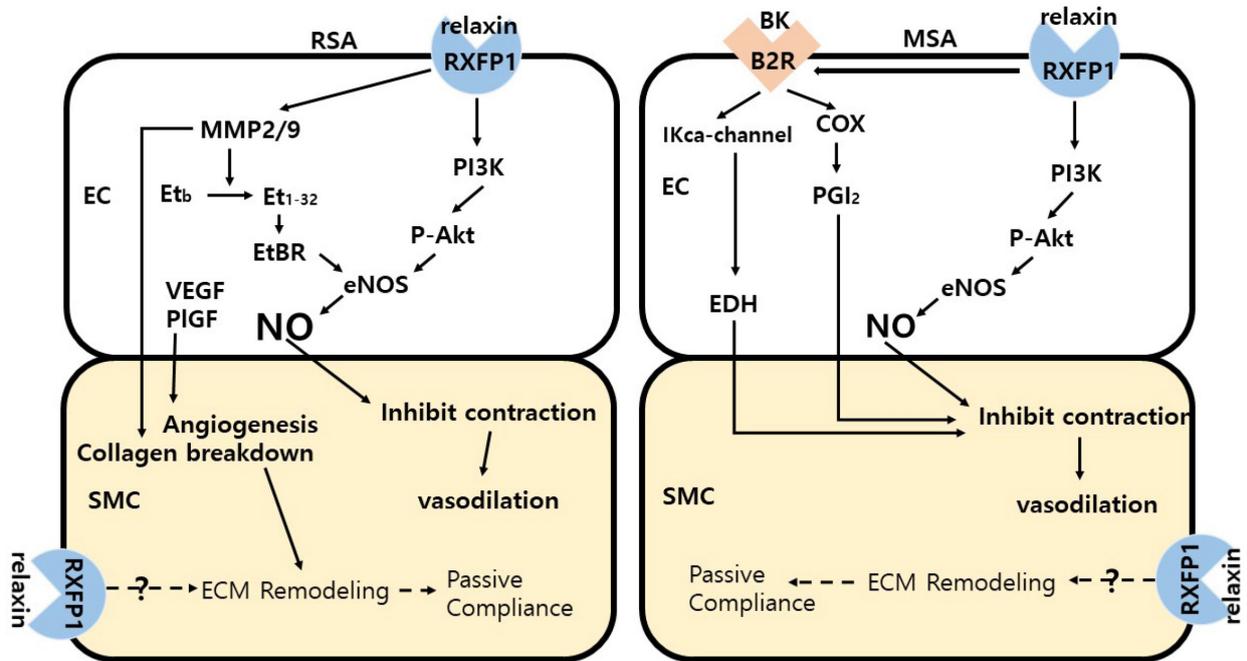


Fig. 1. Comparison of the signal transduction pathways of relaxin on vascular dilation between small renal and mesenteric arteries. The primary common pathway of relaxin for vasodilation in both arteries is mediated by the endothelium-dependent production of nitric oxide through the activation of RXFP1/PI3K, Akt phosphorylation and eNOS, to inhibit the smooth muscle contractility. In small renal arteries, relaxin also stimulates MMP activation in endothelial cells, which leads to both the breakdown of Et<sub>b</sub> into Et<sub>1-32</sub> activating endothelial EtB receptors and the degradation of ECM collagens to increase passive compliance of the vascular wall. The activated EtB receptors stimulate eNOS to increase NO production which then inhibits the myogenic contractility for vasodilation. Furthermore, relaxin can also increase the production of angiogenic growth factors such as VEGF and PIGF to stimulate vascular proliferation and inhibit collagen deposition causing the vascular remodeling. Conversely, in small mesenteric arteries, relaxin augments bradykinin (BK)-evoked relaxation in a time-dependent manner. Whereas the rapid enhancement of the BK-mediated relaxation is dependent on IK<sub>Ca</sub> channels and subsequent EDH induction, the sustained relaxation due to BK depends on COX activation and PGI<sub>2</sub>. Relaxin may also act directly on vascular smooth muscle cells to induce ECM remodeling and vascular compliance. Abbreviation: RSA, renal small artery; MSA, mesenteric small artery; RXFP1, relaxin family peptide receptor 1; EC, endothelial cell; SMC, smooth muscle cell; MMP, matrix metalloproteinase; Et, endothelin; EtBR, endothelin B receptor; VEGF, vascular endothelial growth factor; PIGF, placental growth factor; NO, nitric oxide; ECM, extracellular matrix; BK, bradykinin; B2R, bradykinin B2 receptor; IK<sub>Ca</sub>, channel, intermediate conductance Ca<sup>++</sup> activated K<sup>+</sup> channel; COX, cyclooxygenase; EDH, endothelial dependent hyperpolarization.

대한 릴랙신의 처리효과를 조사하였다. 초기 연구에서, 재조합인간릴랙신은 신소동맥에서 관찰된 것과 마찬가지로, 장간막 동맥에서의 평활근 수축을 감소시킴을 보여주었다[45, 77]. 그러나, 최근의 연구를 통하여, 외인성 재조합인간릴랙신이 또한 혈관내피세포-의존성 평활근 이완작용을 작용제-특이적 및 시간-의존적으로 증강시킨다는 사실을 제시하였다. 구체적으로, 쥐에 대한 2~5일간의 재조합인간릴랙신 투여는 acetylcholine (ACh)-의존성이 아닌 bradykinin (BK)에 의해 유도된 이완을 증가시켰다[43, 56]. 이와 유사하게, 단기간의 재조합인간릴랙신 정맥주사 또한 BK-매개 이완을 증가시켰다[57]. 이러한 릴랙신에 의한 BK-유도 이완의 증가는 BK B2 수용체의 발현증가에 따른 결과가 아니었다[57]. 이에 대한 관련 작용기전은 아직 밝혀지지 않았지만, 가능한 기전의 한 예로, RXFP1의 B2 수용체와의 상호작용을 추정할 수 있다. 이와 관련하여, RXFP1 수용체는 신장조직에서 안지오텐신 AT2 수용체와 결합하여 하나의 이질이량체(heterodimer)를 형성할 수 있으며, 재조합인간릴랙신은 이 RXFP1-AT2 수용체 heterodimer 복합체에 작용하여 신장의 간질조직 내 섬유증을 감소시킨다는 보고가 있다[16]. 따라서, 릴랙신이 RXFP1-B2 수용체 heterodimer 복합체를 통해 선택적으로 작용하여 내피세포-매개 장간막 동맥의 혈관이완 기능을 증가시키는데에 대한 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다. 내피세포 혈관확장인자의 기능을 증가시키는 릴랙신의 작용은 L-NAME에 의해 사라지며, 이는 릴랙신의 혈관확장 효과에 산화질소가 관여함을 제시한다[43, 77, 95-97]. 그러나, 5일간의 재조합인간릴랙신 처리가 노화되거나[95] 비만[96] 쥐로부터 유래한 장간막 동맥에서는 효과가 없는 반면, 자발적 고혈압을 지닌 젊은 쥐[97]로부터 유래한 동맥의 혈류-매개 산화질소-의존성 혈관확장을 향상시켰다. 이러한 연구결과는 릴랙신에 의한 장간막 동맥의 혈관확장 기능이 나이 또는 특정한 질병상태에 따라 다르게 나타날 수 있음을 보여주며, 릴랙신에 대한 반응 감소 또는 상실이 장기간의 릴랙신 노출, 나이 또는 특정 질병에 의한 RXFP1 수용체의 발현감소에 기인한 것인지에 대한 가능성을 포함한 구체적인 차별적 작용기전에 대한 추가적인 규명이 필요할 것으로 사료된다.

한편, 단기간의 일회성 재조합인간릴랙신 주입은 3시간 후 Akt의 인산화 및 iNOS 발현의 증가와 함께 기본적인 산화질소합성효소의 활성을 강화시켰다(Fig. 1) [57]. 또한, 재조합인간릴랙신 주입에 대한 이러한 단기간의 반응은 BK-매개 이완을 증가시켰으며, 이는  $IK_{Ca}$ -의존성 endothelial dependent hyperpolarization (EDH)에 의해 보강된 반면, 산화질소 또는  $PGI_2$ 에 의해서는 보강되지 못했다(Fig. 1). EDH에 의한 이완의 증가는 BK 수용체를 통한 신호경로를 포함하는 것으로 보이며, 이는  $IK_{Ca}$ 채널의 개방이 릴랙신 정맥주입에 의해 직접적으로 영향을 받지 않는 것에 기인한다[57]. 흥미롭게도, 릴랙신의 단일주입 24시간 후, 혈중 탐지가능한 수준의 재조합인간

릴랙신의 부재에도 불구하고, BK-매개에 의한 이완은 증가된 상태로 남아있었다. 이러한 연장된 혈관반응의 주요한 매개인자는  $PGI_2$ 일 가능성이 높은 것으로 여겨지는데, 이는 혈관의  $PGI_2$  수용체 발현과  $PGI_2$  유사체, iloprost에 대한 반응이 재조합인간릴랙신 정맥주입 이후에도 변하지 않았다는 사실에 근거한다(Fig. 1) [57]. 따라서, 정맥주입된 릴랙신의 연장된 효과는 혈관내피세포에 의존함을 제시한다[57]. 이러한 단기간의 정맥주입 실험은 재조합인간릴랙신 매개에 의한 내피세포-의존성 혈관이완이 새로운 혈관확장제인 EDH 및  $PGI_2$ 의 기여를 포함하고 있음에 대한 첫 증거를 제공하였다(Fig. 1). 한편, 재조합인간릴랙신의 연속적인 2~3일간의 정맥주입에 의한 후속연구를 통하여, 장기간의 릴랙신 투여 역시 내피세포의 혈관확장 기능을 증가시킴을 보였으나, 다른 작용기전을 활성화하였다[56]. 구체적으로, 2일간의 재조합인간릴랙신 주입은 eNOS의 발현증가에 따른 NOS 기초활성 증가와 산화질소-매개 이완을 강화시켰다[56]. 그러나, 이러한 강화된 NOS 기초활성은 eNOS 단백질 발현과 인산화의 보상적 하향조절로 인하여 재조합인간릴랙신 주입 3일 이후에는 지속되지 못하였다[56]. 그리고, 2일간이 아닌 3일 동안의 재조합인간릴랙신 주입에 의하여 COX2의 발현과 BK-유도  $PGI_2$  생성이 증가하였을 뿐만 아니라, BK-매개 이완이 지속되었으며, 이는 COX2에 의해 유도된  $PGI_2$ 에 의존되었다(Fig. 1). 따라서, 이러한 결과들은 외인성 재조합인간릴랙신이 장간막 동맥 내  $PGI_2$  생성을 촉진하며, 릴랙신에 의해 활성화된 내피세포-유래 혈관확장인자는 시간-의존적으로 작용함을 제시한다.

장간막 정맥을 포함한 혈관의 정맥계 또한 릴랙신의 생성뿐만 아니라 RXFP1 수용체의 발현이 보고되었다[58]. 그러나, 장간막 혈관에 대한 재조합인간릴랙신 처리의 효과는 아직까지 동맥에 한정되는 것으로 사료된다. 즉, 최근의 제한적인 연구결과, 장간막 정맥의 평활근 반응성 또는 내피세포-의존성 이완작용의 어느것도 2, 3 혹은 5일간의 재조합인간릴랙신 처리에 의해 영향을 받지 않았다[43, 56]. 여전히 릴랙신에 의한 장간막 정맥에 대한 기능을 배제할 수 없으며, 향후 추가적인 연구를 통하여 정맥혈관의 평활근 이완기능을 조절하는데 필요한 릴랙신의 적절한 농도, 처리기간 및 동물모델의 탐색이 필요할 것으로 사료된다.

릴랙신에 의한 장간막 동맥의 평활근 수축억제와 내피세포-의존성 혈관확장 촉진 기능에 있어서의 일반적으로 일치된 연구결과들과는 달리, 릴랙신에 의한 장간막 동맥의 수동적 신전성에 미치는 효과에 관해서는 상당히 다양한 연구결과를 나타내고 있다. 어린 수컷 Wistar 쥐에 대한 3~5일간의 재조합인간릴랙신의 피하주입은 장간막 동맥의 원주, 종주 및 수동적 부피 신전성을 증가시키고, 수동적 원주 강인성을 감소시켰지만[43, 58], 총 가용성 콜라겐 또는 엘라스틴 함량에는 영향을 주지 않았다[43]. 그러나, 다른 연구에서, 어리거나 노화된 미임신 암컷 Wistar Hannover 쥐에 대한 5일간의 재조합인

간틸렉신 처리는 장간막 동맥의 수동적 기계적 혈관벽 성질을 변화시키지 못했다[95]. 이와 유사하게, 재조합인간틸렉신의 5일간 주입은 노화되고 비만의 고혈압 수컷 쥐(SHR)로부터 유래한 장간막 동맥의 원주적 조직재구성에 영향을 주지 못했다[95-97]. 또한, 5일 이상의 재조합인간틸렉신 처리는 장간막 정맥의 수동적 기계적 혈관벽 성질에 영향을 주지 않았다[43, 58]. 이러한 연구결과의 차이는 사용된 동물모델의 품종, 성별, 나이, 혈관의 유형, 특정 질병의 유형 및 처리기간 등에 의해 영향을 받을 수 있을 뿐만 아니라, 이들 차이에 기인한 RXFP1 수용체의 발현양상의 변화에 기인할 가능성도 배제할 수 없으므로 이에 대한 구체적인 비교분석이 필요할 것으로 사료된다.

### 틸렉신의 항섬유화 작용

#### 틸렉신의 방광섬유증 억제효과

최근 연구에 의하면, 장기간의 방사선조사에 의해 방광염에 걸린 생쥐에 대하여 피하 삼투펌프를 통한 serelaxin을 2주간 지속적인 주입을 할 경우, 방광의 콜라겐 함량을 감소시켜 방광의 신전성을 향상시키고, 배뇨평활근의 L-type 칼슘이온통로  $\alpha$ 소단위의 발현을 증가시켜 수축력을 향상시킴을 보였다[42]. 또한, 실시간 중합효소연쇄반응, Western blot 및 *in situ* immunocytofluorescence를 이용한 실험결과, 배뇨근에서 RXFP1과 RXFP2 수용체가 모두 발현됨을 확인함으로써, serelaxin에 의한 방광염 치료효과가 RXFP1 및 RXFP2 수용체의 활성화를 통하여 매개됨을 제시하였다[42]. 한편, 방광 방사선 조사를 받은 생쥐는 배뇨반응의 상실과 범람요실금을 나타낸 반면, serelaxin을 투여받은 생쥐는 방사선 조사를 받지 않은 생쥐와 동일한 정상적인 방광용량과 배뇨기능, 배뇨근 수축 및 배뇨 중 요도의괄약근의 정상적인 긴장성 이완이 나타났다[42]. 체외 방광의 수축력 연구결과, 방사선 조사를 받은 생쥐 방광의 수동적 긴장성이 급격히 증가하였으며, 이는 ECM 섬유증으로 인한 조직의 탄력성과 신전성의 감소에 기인한 것으로 제시되었다[42]. 그러나, 이러한 방광벽의 감소된 신전성과 탄력성은 serelaxin 처리에 의해 방사선을 조사받지 않은 생쥐와 거의 같은 긴장도 측정 수준으로 회복되었다[42]. 또한, 방사선 조사에 의한 방광염은 상피세포 및 배뇨근의 손상/붕괴와 콜라겐 함량의 현저한 증가를 야기한 반면, 이러한 방사선 조사 생쥐에게 serelaxin을 처리할 경우, 방사선 조사를 하지 않은 대조군의 방광과 버금가는 정도로 정상적인 상피세포와 배뇨근의 구조 및 콜라겐 함량을 나타내었다[42]. 이러한 결과는 ECM의 섬유화를 역전시켜 조직의 신전성과 탄력성이 향상되고 칼슘이온통로의 발현을 증가시켜 배뇨근의 수축력을 증가시킴으로써, 방사선 조사 방광염으로 인한 하부 비뇨기계 섬유증 치료를 위한 틸렉신의 잠재적 치료제로서의 가능성을 제시하였다. 그러나, 내인성 틸렉신이 정상적인 생리적 상태에서 성별에 따라 방광의 정상적인 이완과 수축을 통한뇨의 저장과 배뇨작용에 어떠한 역할을 하는지는 아직 분명하지

않다[46]. 따라서, 이와 함께, 하부 비뇨계에 대한 틸렉신의 구체적인 작용기전과 신호전달경로 및 RXFP1과 RXFP2의 상대적 기여도 등에 대한 추가적인 규명이 필요할 것으로 사료된다.

### 틸렉신에 의한 세포외기질 재구성 조절

#### 조직손상 염증반응의 억제

다양한 장기의 조직손상은 원래의 조직구조와 기능을 회복하기 위하여 정상적인 상처치유 반응을 통해 섬유질 생성을 유발하는데, 이때 콜라겐과 같은 세포외기질 단백질들의 과도한 침착으로 인해 섬유증이 발생한다[52, 102]. 이러한 섬유증은 다양한 기관과 조직에 영향을 미칠 수 있으며, 특히, 심장, 폐, 간, 신장, 피부 및 혈관 등의 질환에서 뚜렷하게 나타나는 현상이다. 이 과정의 초기는 염증발생 단계로서, 과립구, 림프구 및 대식세포 등과 같은 면역세포와 섬유아세포들의 동원과 활성을 초래하여 손상부위에서 다양한 성장인자, 사이토카인 및 단백질분해효소들을 분비한다[32]. 이러한 염증유발인자들은 손상부위의 결합조직 형성에 중요한 역할을 하며, 특히, 섬유생성 매개인자로서 transforming growth factor- $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1)과 platelet-derived growth factor (PDGF) 등이 포함되며, TGF- $\beta$ 1은 콜라겐, 엘라스틴 및 피브로넥틴 등과 같은 ECM 단백질들의 합성과 분비 조절을 통한 섬유증의 핵심 매개인자로 간주된다[102]. TGF- $\beta$ 1 신호전달경로는 Smad-의존성 및 Smad-비의존성 경로를 통하여 심장, 폐, 간 및 신장의 섬유증에서 활성화되는 것으로 보고되었다[14, 27, 48, 105]. 이러한 신호전달경로의 활성화는 결국 근섬유아세포의 분화와 활성을 촉진하여 ECM 단백질의 생성증가와 분해억제를 일으킨다[68].

다수의 연구들에 의하면, 틸렉신은 기관의 조직손상 부위에서 다양한 염증유발인자와 섬유화촉진인자들을 생성하여 상처치유를 개시하지만 장기간의 활성으로 과도한 ECM 구성성분의 분비를 촉진하는 다양한 면역세포들의 조직내 침투를 억제하는 것으로 보고되었다(Fig. 2) [102]. 돼지 틸렉신과 serelaxin은 대식세포, 호중구, 호염구, 비만세포 및 혈관내피세포 등을 포함한 염증세포들의 손상조직내 침투를 감소시키는 것으로 확인되었다[1, 2, 6, 73, 74]. 틸렉신은 또한 히스타민, 세로토닌 및 류코트리엔스 등과 같은 염증유발 사이토카인의 분비를 감소시킬 뿐만 아니라(Fig. 2) [61], 호중구세포에 대한 내피세포의 부착성과 대식세포의 침투를 억제하여 손상부위에 대한 염증세포들의 동원을 방해하고[37, 60, 73], 조직회복 대식세포의 극성화를 촉진하며[13], interleukin-1 $\beta$  (IL1 $\beta$ )의 활성을 촉진하는 inflammasome의 활성억제와[79] 여러 염증유전자들을 조절하는 하나의 중요한 전사인자인 NF $\kappa$ B의 신호를 억제하는 것으로 보고되었다[60]. 마지막으로, 틸렉신은 TGF- $\beta$ 1 [8, 100], IL-1 $\beta$  [7, 78] 및 tumor necrosis factor- $\alpha$  [104] 등과 같은 사이토카인들의 섬유화촉진적 영향을 감소시키는

것으로 관찰되었다.

**근섬유아세포의 분화/활성과 ECM 재구성 조절**

최근의 여러 연구결과, serelaxin이 isoprenaline에 의해 유발된 심근질환 설치류 모델의 심장과 신장 내 endothelial-to-mesenchymal transition (EndMT)을 억제할 뿐만 아니라(Fig. 2) [11, 107], 간질조직 내 콜라겐 유형 I과 III을 감소시키고 심장의 미세혈관 밀도를 증가시킴으로써, 심근섬유증을 지닌 쥐의 심장기능을 향상시키는 것으로 나타났다[108]. 추가적인 연구결과, serelaxin은 혈관내피세포 카드헤린과 CD-31의 생성을 증가시키고 비멘틴과 α-smooth muscle actin (α-SMA)을 억제시킴으로써, 심장섬유증을 감소시키는 것으로 확인되었다[11]. Serelaxin은 또한 인간 제대정맥 내피세포의 Notch-1 의존성 신호전달경로를 통하여 TGF-β1에 의해 유도된 내피세포의 이동을 억제하는 것으로 보고되었다[108]. 한편, 다수의 최근 연구를 통하여, 릴랙신은 또한 TGF-β1 및 IL-1β와 같은 사이토카인 매개 섬유아세포의 증식과 근섬유아세포로의 분

화를 억제하고[9, 29, 35, 36, 41, 69, 82, 90], 근섬유아세포의 수축력을 감소시킴으로써, 근섬유아세포에 의해 유도되는 콜라겐 및 피브로넥틴과 같은 ECM 단백질의 합성과 축적을 감소시켜 결국 섬유증을 억제시키는 것으로 보고되었다(Fig. 2) [9, 35, 36, 81, 82, 90]. 이와 더불어, 릴랙신은 MMP의 발현과 활성을 촉진시킴과 동시에, TIMP 활성을 억제하여 비정상적인 ECM 단백질의 분해를 유도하는 것으로 확인되었다[36, 41, 47, 81, 82, 90]. 이러한 릴랙신의 근섬유아세포를 통한 ECM의 재구성 조절은 RXFP1 수용체 및 Notch-1 신호전달경로를 통한 TGF-β1 신호전달경로와 Smad2/Smad3의 인산화 수준에서의 활성을 억제함으로써 작용하며[16, 50, 69, 89, 90, 99], 이는 결국 TGF-β1에 의해 유도된 근섬유아세포의 분화와 근섬유아세포-매개 ECM 단백질의 합성을 억제하고, 동시에 MMP (MMP-2, MMP-9, MMP-1/MMP-13) 활성억제의 감소 및 TIMP 활성과 그에 따른 ECM 분해억제의 감소를 초래하는 것으로 보고되었다(Fig. 2) [15].

이러한 결과들은 릴랙신이 내피세포의 간질조직 이동을 통

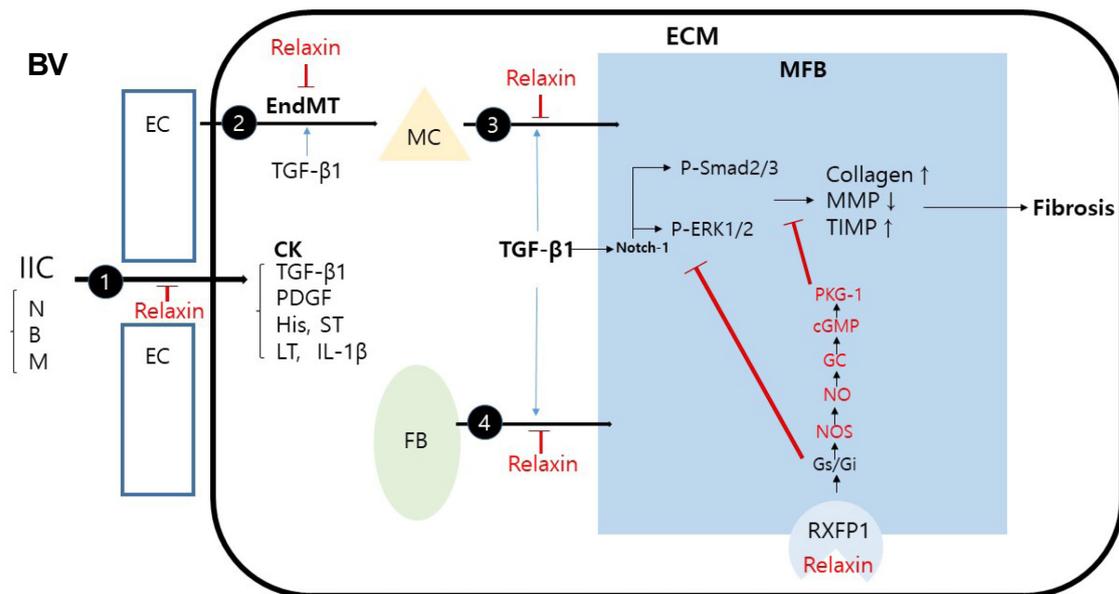


Fig. 2. The anti-fibrotic mechanisms of relaxin. Relaxin inhibits the invasion and migration of inflammatory immune cells into sites of tissue injury and prevents both the production and release of cytokines such as TGF-β1 and IL-1β from these cells(1). Relaxin also suppresses the endothelial-to-mesenchymal transition(2), the redifferentiation of mesenchymal cells to myofibroblasts(3), the proliferation and trans-differentiation of fibroblasts into myofibroblasts(4), and the activation of myofibroblasts. In myofibroblasts, relaxin binds RXFP1 receptors and activates the NOS/NO/GC/cGMP/PKG-1 signaling pathways to inhibit the TGF-β1-induced activation of Notch-1, ERK1/2 and Smad2/3 signalings, the subsequent decrease of MMPs, the increase of TIMP, and the eventual increase of ECM collagen deposition to cause fibrosis. Abbreviation: BV, blood vessel; IIC, inflammatory immune cells; N, neutrophils; B, basophils; M, macrophages; EC, endothelial cell; ECM, extracellular matrix; EndMT, endothelial-to-mesenchymal transition; TGF-β1, transforming growth factor-β1; CK, cytokines; PDGF, platelet derived growth factor; His, histamine; ST, serotonin; LT, leukotriens; IL-1β, interleukin 1β; MC, mesenchymal cell; FB, fibroblast; MFB, myofibroblast; Smad, small mothers against decapentaplegic; ERK, extracellular signal regulated kinase; MMP, matrix metalloproteinase; TIMP, tissue inhibitors of metalloproteinases; RXFP1, relaxin family peptide receptor 1; Gs, stimulatory G protein; Gi, inhibitory G protein; NOS, nitric oxide synthase; NO, nitric oxide; GC, guanylate cyclase; cGMP, cyclic guanosine monophosphate; PKG-1, protein kinase G-1.

한 중간엽세포로의 역분화와 이어진 근섬유아세포로의 재분화를 억제하고, 이러한 근섬유아세포의 증식과 활성억제를 통한 근섬유아세포-매개 ECM 구성성분의 합성과 축적을 억제함과 동시에 이미 ECM에 축적된 이들의 분해를 촉진함을 제시한다.

### 릴렉신의 ECM 조절 세포내 신호전달기전

릴렉신은 심장, 폐, 간 및 신장과 같은 다양한 기관들에서 섬유화억제 작용을 비롯한 다양한 기능을 나타내며[84], G-protein coupled receptor인 특히 RXFP1 수용체에 결합하여 다양한 세포내 신호전달경로를 유도한다[5]. RXFP 수용체들 중에서 유일하게 RXFP1이 항섬유화 기능을 갖는 것으로 확인되었지만, 항섬유화 작용에 관여하는 것으로 알려진 신호전달 경로들의 대부분은 서로 다양하고 다른 세포내 신호전달 경로들을 포함하고 있다. 그럼에도 불구하고, 다양한 기관들에서의 섬유증 억제를 위한 가장 중요한 수용체는 RXFP1인 것으로 사료된다[71]. 이 수용체에 결합하는 생리적 리간드는 사람에게 있어서 relaxin-2 (H2)와 이의 재조합형태인 serelaxin이다. 첫째, relaxin/RXFP1 결합에 의해 활성화되는 가장 대표적인 신호전달경로는 cAMP 생성의 조절로서, RXFP1의 활성화는 Gs 단백질의 자극을 유도하여 cAMP의 합성을 촉진한다. 그러나, 이러한 경로는 릴렉신이 작용하는 표적세포의 유형에 따라서 RXFP1의 활성화에 의해 Go 및 Gi 단백질과도 연계될 수 있으며, 이상성 양상의 cAMP 생성을 촉진할 수 있다[71]. 또한, cAMP에 대한 릴렉신의 효과는 시간-의존적이다. 즉, cAMP의 수준은 릴렉신의 단기간 노출에 의해 Gs 신호전달을 통하여 증가되는 반면, 릴렉신의 장기간 노출에 의해 G<sub>0B</sub>의 활성화를 통하여 감소된다[34]. 두번째 relaxin/RXFP1에 의한 신호전달 경로는 ERK/NO/cGMP 경로로서, 근섬유아세포의 RXFP1 수용체에 대한 릴렉신의 결합은 Gs 단백질을 자극하고[69], 활성화된 Gs는 ERK1/2의 인산화(P-ERK1/2)를 억제하거나 산화질소합성효소의 활성을 촉진한다(Fig. 2). 활성화된 NOS는 NO/guanylate cyclase (GC)/cyclic guanosine monophosphate (cGMP) 의존성 경로를 통한 protein kinase G-1 (PKG-1)을 활성화하여 TGF-β1 매개 Smad2/Smad3 인산화를 조절함으로써, TGF-β1에 의해 유도된 섬유화를 억제한다(Fig. 2) [16, 50, 69, 89, 99, 101]. 릴렉신에 의한 시간-의존적 차별 효과는 ERK1/2/NO/cGMP 신호전달경로에서도 나타나는데, 단기간의 릴렉신 노출은 ERK1/2 인산화를 촉진하여 활성화함으로써 NO와 그에 따른 cGMP의 합성을 증가시키는 반면 [15], ERK1/2의 인산화는 장기간의 serelaxin 노출에 의해 감소되어 특히, 신장 섬유증의 억제에 중요한 역할을 하는 것으로 보고되었다[91]. 조직의 세포외기질 재구성 조절과 관련한 세번째 릴렉신의 세포내 신호전달경로는 RXFP1과 안지오텐신-II type2 수용체(AT2R)와의 상호작용을 통한 섬유증 억제 기전이다. 근섬유아세포에서 serelaxin에 의해 활성화되는 신

호전달경로들 중의 다수는 AT2R을 필요로 하며, RXFP1과 AT2R과의 상호작용을 통해 일어나는 것으로 보고되었다[16]. 즉, AT2R 길항제를 함께 투여하거나 AT2R 결핍 생쥐에 serelaxin을 투여할 경우, serelaxin의 항섬유화 효과가 사라지는 것으로 나타났다[16]. 또한, AT2R은 AT1R의 발현과 활성을 억제하는 것으로 보고되어, serelaxin은 또한 RXFP1-AT2R 복합체에 의한 신호전달경로를 통하여 Ang II-AT1R-TGF-β1의 상호작용을 통한 Ang II의 섬유화 촉진효과를 간접적으로 억제할 가능성도 제시되었다[103].

따라서, 릴렉신은 다양한 세포내 신호전달경로에 작용하며, 특히, cAMP, NO/cGMP/PKG-1, ERK1/2, Smad2/Smad3 및 AT2R 등은 주요 매개인자들로 작용하여 릴렉신의 생리적 및 병리적 작용기전에 관여하는 것으로 여겨진다.

## 결론

1926년 릴렉신이 처음 발견된 이후[39], 광범위한 연구들을 통하여, 치골결합인대, 자궁경부, 질 및 자궁 등을 포함하는 임신과 출산 관련 생식기관에 대한 기능을 넘어, 인간을 비롯한 다양한 종들의 다수의 비생식기관과 조직에서도 생리적 및 약리적 기능들이 설득력있게 제시됨으로써, 최근 릴렉신에 대한 관심과 흥미가 증가하고 있다. 특히, 내인성 릴렉신의 내분비선 및 특정 조직내 지엽적 분비를 통한 생리적 작용의 공통적 및 차별적 특징에 대한 연구들뿐만 아니라, 다양한 종들로부터 릴렉신의 순수분리정제, 인간재조합릴렉신과 릴렉신 작용제의 화학적 합성, 릴렉신 수용체의 확인과 조직기관의 광범위한 발현양상 규명, 그리고 릴렉신 및 RXFP1 수용체 결핍 유전자변형 동물모델과 중화항체 등을 활용한 다원적 연구들은 새롭고 다양한 릴렉신 표적기관의 발견을 가능하게 하였으며, 생리적 및 질병치료를 위한 약리적 작용의 분자적 신호전달기전을 이해하는데 핵심적인 기여를 하였다.

지난 수년간의 연구를 통하여, 내인성 릴렉신의 혈관조절기능이 확인되었을 뿐만 아니라, 혈관 평활근의 수축억제와 수동적 신전성 증가를 통한 혈관확장에 관여하는 NO, EDH 및 PGL<sub>2</sub> 등의 매개인자를 포함한 릴렉신의 새로운 혈관작용 기전들이 발견되었다. 먼저, 임신 중 모체 혈관의 적응성에 중요한 기능을 담당하는 자궁, 장간막 및 신장 혈관에 대한 릴렉신의 작용이 확립되었다. 특히, 임신과 관련된 고혈압과 태반부전증 등은 모체의 불충분한 혈관적응으로 유발되며, 이의 원인 규명과 치료를 위한 새로운 전략으로서 릴렉신의 작용이 고려될 수 있음이 제시되었다. 또한, 릴렉신 결핍 설치류를 포함한 다양한 *in vivo* 동물모델을 이용한 다수의 연구결과들은 릴렉신이 혈관의 유형, 나이, 성별, 품종, 작용제 및 처리기간 등에 따라 공통경로를 포함한 다양한 혈관조절 기전들을 활용함을 제시하였다.

릴렉신은 신소동맥의 혈관확장에 중요한 기능을 하며, 산화

질소는 내피세포-의존성 PI3K/Akt/eNOS 신호경로를 통하여, 평활근 수축반응성 억제제를 포함한 릴렉신의 혈관확장 효과를 매개하는데 관여하는 중심인자로 작용한다. 그리고, MMP2/9, ET/ET<sub>B</sub>, VEGF 및 PIGF 또한 신소동맥에 대한 릴렉신의 혈관확장 효과를 매개하는 데 관여하는 다양한 경로의 인자들로 여겨지며, 이에 대한 보다 구체적인 분자적 작용기전과 릴렉신의 임신 중 혈관 적응효과에 대한 이들의 역할 및 매개경로, 그리고 성별, 나이 및 생리병리적 상태에 따른 각각의 특이적 역할들은 추가적인 연구를 통해 규명되어야 할 부분이다. 릴렉신은 또한 장간막 동맥의 평활근 수축을 억제하며, 이는 내피세포-의존성 NO에 의해 매개되지만, 나이와 생리병리적 상태에 따라 다양한 반응을 나타낼 뿐만 아니라, 시간-의존적 및 BK와 같은 작용제-특이적으로 반응하여 내피세포 혈관확장제에 의한 평활근 이완을 증가시킨다. 즉, 재조합인간릴렉신은 단기간의 반응으로 장간막 동맥의 내피세포-유래 NO의 증가와 BK 수용체 활성화를 통한 IK<sub>Ca</sub>-의존성 EDH를 유발하여 평활근 이완을 유도하고, 장기적 효과로 상대적 eNOS의 활성억제와 그에 따른 NO의 감소를 유발하는 대신 B2 수용체-매개 COX 활성화와 PGI<sub>2</sub> 생성을 유도함으로써 장간막 동맥의 평활근 이완을 일으키는 것으로 사료된다.

혈관 평활근육세포에 대한 릴렉신의 직접적인 작용에 관한 연구는 매우 제한적이다. 혈관 평활근은 내인성 릴렉신을 생성할 뿐만 아니라, RXFP1 수용체도 발현한다는 점을 고려할 때, 이 세포에 대한 릴렉신의 직접적인 작용 가능성은 여전히 남아있다. 최근의 임신후기 *Rln*<sup>-/-</sup> 생쥐에 대한 연구에서, 정상적인 임신관련 Ang II-매개 장간막 동맥의 혈관수축 감소효과가 나타나지 않았으며[59], 이러한 혈관적응성 실패는 내피세포-독립적으로서, 감소된 평활근육-유래 혈관확장제인 prostanoide에 기인할 가능성이 제시되었다. 또한, 돼지 릴렉신은 iNOS의 발현과 활성 증가를 통하여 소의 대동맥 평활근세포의 NO 생성과 cGMP 축적을 촉진하였다[3]. 세포내 Ca<sup>++</sup>농도의 감소, 미오신 경사슬의 phosphatase의 활성증가 및 IK<sub>Ca</sub> channel 활성화 등은 모두 평활근육세포의 이완에 기여하며, 돼지 릴렉신은 이들 경로들을 통하여 자궁 평활근육의 이완을 유도하였다[67, 72, 80]. 따라서, 이러한 근거를 기반으로 신장 및 장간막 동맥의 평활근세포에 대한 릴렉신의 직접적인 작용과 신호전달기전을 통한 이완기능에 대한 추가연구를 필요로 한다.

비록 릴렉신이 신소동맥의 ECM 재구성을 통하여 혈관벽의 수동적 신진성을 증가시킨다는 제한적 보고가 있지만, 릴렉신의 혈관 재구성 기능에 대한 증거는 임신이외의 조건에서는 아직 논란의 여지가 있으며, 연구들 사이의 불일치는 동물모델의 나이, 성별, 질병유형 및 처리기간 등과 같은 실험적 접근 방법의 차이에 기인한 것으로 파악된다. 따라서, 릴렉신의 혈관 재구성 작용에 대한 추가적인 연구를 통하여 작용기전과 혈관-특이적 반응여부 등에 대한 규명이 필요하다.

릴렉신은 또한 혈관, 심장, 폐, 간, 신장 및 방광 등을 포함한 다양한 장기의 조직손상으로 인한 염증반응과 과도한 상처치유 과정에서 발생하는 섬유증을 억제하는 작용을 하며, 표적기관과 작용기능에 따라 차이는 있으나 대체로, 호중구 및 대식세포를 포함한 염증유발 면역세포들의 침투와 이동을 억제하고, 내피세포의 간질조직 이동을 통한 중간엽세포로의 역분화와 이어진 근섬유아세포로의 재분화, 그리고 섬유아세포의 증식과 근섬유아세포로의 trans-분화를 억제한다. 이러한 근섬유아세포의 증식과 활성의 억제는 근섬유아세포-매개 콜라겐과 같은 ECM 구성성분의 합성과 축적을 억제함과 동시에, 이미 ECM에 침착된 이들의 분해를 촉진한다. 이러한 릴렉신의 작용은 근섬유아세포를 포함한 다양한 표적세포들의 RXFP1 수용체 결합과 활성화를 통해 이루어지며, 표적세포의 유형과 작용 기능 및 시간에 따라 세포내 다양한 신호전달경로를 촉진 또는 억제한다. 지금까지 밝혀진 주요한 경로는 cAMP, NO/cGMP/PKG-1, ERK1/2, Smad2/Smad3 및 AT2R 수용체와의 상호작용 등을 포함하며, ECM 재구성 조절을 통하여 섬유증 억제 등을 위한 릴렉신의 다양한 생리적 및 병리적 작용기전에 관여하는 것으로 여겨진다.

지난 수년간의 다원적 연구를 통해 새롭게 확인된 릴렉신의 다양한 표적기관과 섬유증으로부터의 보호 및 혈관을 포함한 조직기관의 항상성 조절기능, 그리고 세포작용 기전과 신호전달경로의 구체적인 규명은 H2 릴렉신을 포함한 재조합인간릴렉신, B7-33과 같은 릴렉신 유사체 및 RXFP1 수용체의 작용제로 새롭게 개발된 ML290 등을[46] 활용한 임신 고혈압, 혈관과 근육관련 질환, 방광염 및 장기의 섬유증 등과 같은 병리적 상태의 새로운 대체 치료제로서의 가능성을 높여줄 수 있을 것으로 기대된다.

## 감사의 글

이 논문은 2020~2021년도 경상국립대학교 대학회계 연구비 지원에 의하여 연구되었으며, 이에 감사드립니다.

## The Conflict of Interest Statement

The authors declare that they have no conflicts of interest with the contents of this article.

## References

1. Bani, D., Ballati, L., Masini, E., Bigazzi, M. and Sacchi, T. B. 1997. Relaxin counteracts asthma-like reaction induced by inhaled antigen in sensitized guinea pigs. *Endocrinology* **138**, 1909-1915.
2. Bani, D., Baronti, R., Vannacci, A., Bigazzi, M., Sacchi, T. B., Mannaioni, P. F. and Masini, E. 2002. Inhibitory effects

- of relaxin on human basophils activated by stimulation of the Fc epsilon receptor. The role of nitric oxide. *Int. immunopharmacol.* **2**, 1195-1204.
3. Bani, D., Failli, P., Bello, M. G., Thiemermann, C., Sacchi, T. B., Bigazzi, M. and Masini, E. 1998. Relaxin activates the L-arginine nitric oxide pathway in vascular smooth muscle cells in culture. *Hypertension* **31**, 1240-1247.
  4. Bani-Sacchi, T., Bigazzi, M., Bani, D., Mannaioni, P. F. and Masini, E. 1995. Relaxin-induced increased coronary flow through stimulation of nitric oxide production. *Br. J. Pharmacol.* **116**, 1589-1594.
  5. Bathgate, R. A., Halls, M. L., van der Westhuizen, E. T., Callander, G. E., Kocan, M. and Summers, R. J. 2013. Relaxin family peptides and their receptors. *Physiol. Rev.* **93**, 405-480.
  6. Beiert, T., Knappe, V., Tiyerili, V., Stockigt, F., Effelsberg, V., Linhart, M., Steinmetz, M., Klein, S., Schierwagen, R., Trebicka, J., Roell, W., Nickenig, G., Schrickel, J. W. and Andrie, R. P. 2018. Chronic lower-dose relaxin administration protects from arrhythmia in experimental myocardial infarction due to anti-inflammatory and anti-fibrotic properties. *Int. J. Cardiol.* **250**, 21-28.
  7. Beiert, T., Tiyerili, V., Knappe, V., Effelsberg, V., Linhart, M., Stockigt, F., Klein, S., Schierwagen, R., Trebicka, J., Nickenig, G., Schrickel, J. W. and Andrie, R. P. 2017. Relaxin reduces susceptibility to post-infarct atrial fibrillation in mice due to anti-fibrotic and anti-inflammatory properties. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **490**, 643-649.
  8. Bennett, R. G., Heimann, D. G., Singh, S., Simpson, R. L. and Tuma, D. J. 2014. Relaxin decreases the severity of established hepatic fibrosis in mice. *Liver Int.* **34**, 416-426.
  9. Bennet, R. G., Kharbanda, K. K. and Tuma, D. J. 2003. Inhibition of markers of hepatic stellate cell activation by the hormone relaxin. *Biochem. Pharmacol.* **66**, 867-874.
  10. Braddon, S. A. 1978. Relaxin-dependent adenosine 6',5'-monophosphate concentration changes in the mouse pubic symphysis. *Endocrinology* **102**, 1292-1299.
  11. Cai, J., Chen, X., Chen, X., Chen, L., Zheng, G., Zhon, H. and Zhou, X. 2017. Anti-fibrosis effect of relaxin and spironolactone combined on isoprenaline-induced myocardial fibrosis in rats via inhibition of endothelial-mesenchymal transition. *Cell. Physiol. Biochem.* **41**, 1167-1178.
  12. Casten, G. G. and Boucek, R. J. 1958. Use of relaxin in the treatment of scleroderma. *J. Am. Med. Assoc.* **166**, 319-324.
  13. Chen, L., Sha, M. L., Li, D., Zhu, Y. P., Wang, X. J., Jiang, C. Y., Xia, S. J. and Shao, Y. 2017. Relaxin abrogates renal interstitial fibrosis by regulating macrophage polarization via inhibition of Toll-like receptor 4 signaling. *Oncotarget* **8**, 21044-21053.
  14. Chen, L., Yang, T., Lu, D. W., Zhao, H., Feng, Y. L., Chen, H., Chen, D. O., Vaziri, N. D. and Zhao, Y. Y. 2018. Central role of dysregulation of TGF-beta/Smad in CKD progression and potential targets of its treatment. *Biomed. Pharmacother.* **101**, 670-681.
  15. Chow, B. S. M., Chew, E. G. Y., Zhao, C., Bathgate, R. A. D., Hewitson, T. D. and Samuel, C. S. 2012. Relaxin signals through a RXFP1-pERK-nNOS-NO-cGMP-dependent pathway to up-regulate matrix metalloproteinases: the additional involvement of iNOS. *PLoS One* **7**, e42714.
  16. Chow, B. S. M., Kocan, M., Bosnyak, S., Sarwar, M., Wigg, B., Jones, E. S., Widdop, R. E., Summers, R. J., Bathgate, R. A. D., Hewitson, T. D. and Samuel, C. S. 2014. Relaxin requires the angiotensin II type 2 receptor to abrogate renal interstitial fibrosis. *Kidney Int.* **86**, 75-85.
  17. Conrad, K. P. 2010. Unveiling the vasodilatory actions and mechanisms of relaxin. *Hypertension* **56**, 2-9.
  18. Conrad, K. P. 2011. Emerging role of relaxin in the maternal adaptations to normal pregnancy: implications for preeclampsia. *Semin. Nephrol.* **31**, 15-32.
  19. Conrad, K. P. 2011. Maternal vasodilation during pregnancy: emerging role of relaxin. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* **301**, R267-R275.
  20. Conrad, K. P. 2016. G-Protein-coupled receptors as potential drug candidates in preeclampsia: targeting the relaxin/insulin-like family peptide receptor 1 for treatment and prevention. *Hum. Reprod.* **22**, 647-664.
  21. Conrad, K. P., Debrah, D. O., Novak, J., Danielson, L. A. and Shroff, S. G. 2004. Relaxin modifies systemic arterial resistance and compliance in conscious, nonpregnant rats. *Endocrinology* **145**, 3289-3296.
  22. Conrad, K. P. and Shroff, S. G. 2011. Effects of relaxin on arterial dilation, remodeling, and mechanical properties. *Curr. Hypertens. Rep.* **13**, 409-420.
  23. Debrah, D. O., Debrah, J. E., Haney, J. L., McGuane, J. T., Sacks, M. S., Conrad, K. P. and Shroff, S. G. 2011. Relaxin regulates vascular wall remodeling and passive mechanical properties in mice. *J. Appl. Physiol.* **111**, 260-271.
  24. Debrah, D. O., Novak, J., Matthews, J. E., Ramirez, R. J., Shroff, S. G. and Conrad, K. P. 2006. Relaxin is essential for systemic vasodilation and increased global arterial compliance during early pregnancy in conscious rats. *Endocrinology* **147**, 5126-5131.
  25. Dschietzig, T., Bartsch, C., Richter, C., Laule, M., Baumann, G. and Stangl, K. 2003. Relaxin, a pregnancy hormone, is a functional endothelin-1 antagonist: attenuation of endothelin-1-mediated vasoconstriction by stimulation of endothelin type-B receptor expression via ERK-1/2 and nuclear factor-kappaB. *Circ. Res.* **92**, 32-40.
  26. Du, X.-J., Samuel, C. S., Gao, X.-M., Zhao, L., Parry, L. J. and Tregear, G. W. 2003. Increased myocardial collagen and ventricular diastolic dysfunction in relaxin deficient mice: a gender-specific phenotype. *Cardiovasc. Res.* **57**, 395-404.
  27. Eser, P. O. and Janne, P. A. 2018. TGFbeta pathway inhibition in the treatment of non-small cell lung cancer. *Pharmacol. Ther.* **184**, 112-130.
  28. Evans, J. A. 1959. Relaxin (releasin) therapy in diffuse progressive scleroderma; a preliminary report. *AMA. Arch. Derm.* **79**, 150-158.
  29. Fallowfield, J. A., Hayden, A. L., Snowdon, V. K., Aucott, R. L., Stutchfield, B. M., Mole, D. J., Pellicoro, A., Gordon-Walker, T. T., Henke, A., Schrader, J., Trivedi, P. J., Princivalle, M., Forbes, S. J., Collins, J. E. and Iredale, J. P. 2014. Relaxin modulates human and rat hepatic myofibroblast

- function and ameliorates portal hypertension *in vivo*. *Hepatology* **59**, 1492-1504.
30. Fisher, C., MacLean, M., Morecroft, I., Seed, A., Johnston, F., Hillier, C. and McMurray, J. 2002. Is the pregnancy hormone relaxin also a vasodilator peptide secreted by the heart? *Circulation* **106**, 292-295.
  31. Garber, S. L., Mirochnik, Y., Brecklin, C. S., Unemori, E. N., Singh, A. K., Slobodskoy, L., Grove, B. H., Arruda, J. A. and Dunea, G. 2001. Relaxin decreases renal interstitial fibrosis and slows progression of renal disease. *Kidney Int.* **59**, 876-882.
  32. Gieseek 3rd, R. L., Wilson, M. S. and Wynn, T. A. 2018. Type 2 immunity in tissue repair and fibrosis. *Nat. Rev. Immunol.* **18**, 62-76.
  33. Gooi, J. H., Richardson, M. L., Jelinic, M., Girling, J. E., Wlodek, M. E., Tare, M. and Parry, L. J. 2013. Enhanced uterine artery stiffness in aged pregnant relaxin mutant mice is reversed with exogenous relaxin treatment. *Biol. Reprod.* **89**, 18.
  34. Halls, M. L., Bathgate, R. A. D. and Summers, R. J. 2006. Relaxin family peptide receptors RXFP1 and RXFP2 modulate cAMP signaling by distinct mechanisms. *Mol. Pharmacol.* **70**, 214-226.
  35. Heeg, M. H., Koziolok, M. J., Vasko, R., Schaefer, L., Sharma, K., Muller, G. A. and Strutz, F. 2005. The antifibrotic effects of relaxin in human renal fibroblasts are mediated in part by inhibition of the Smad2 pathway. *Kidney Int.* **68**, 96-109.
  36. Hewitson, T. D., Ho, W. Y. and Samuel, C. S. 2010. Antifibrotic properties of relaxin: *in vivo* mechanism of action in experimental renal tubulointerstitial fibrosis. *Endocrinology* **151**, 4938-4948.
  37. Hewitson, T. D., Mookerjee, I., Masterson, R., Zho, C., Tregear, G. W., Becker, G. J. and Samuel, C. S. 2007. Endogenous relaxin is a naturally occurring modulator of experimental renal tubulointerstitial fibrosis. *Endocrinology* **148**, 660-669.
  38. Hewitson, T. D., Zhao, C., Wigg, B., Lee, S. W., Simpson, E. R., Boon, W. C. and Samuel, C. S. 2012. Relaxin and castration in male mice protect from, but testosterone exacerbates, age-related cardiac and renal fibrosis, whereas estrogens are an independent determinant of organ size. *Endocrinology* **153**, 188-199.
  39. Hisaw, F. L. 1926. Experimental relaxation of the pubic ligament of the guinea pig. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **23**, 661-663.
  40. Hsu, S. Y., Nakabayashi, K., Nishi, S., Kumagai, J., Kudo, M., Sherwood, O. D. and Hsueh, A. J. W. 2002. Activation of orphan receptors by the hormone relaxin. *Science* **295**, 671-674.
  41. Huuskos, B. M., Wise, A. F., Cox, A. J., Lin, E. X., Payne, N. L., Kelly, D. J., Samuel, C. S. and Ricardo, S. D. 2015. Combination therapy of mesenchymal stem cells and serelaxin effectively attenuates renal fibrosis in obstructive nephropathy. *FASEB J.* **29**, 540-553.
  42. Ikeda, Y., Zabbarova, I. V., Birder, L. A., Wipf, P., Getchell, S. E., Tyagi, P., Fry, C. H., Drake, M. J. and Kanai, A. J. 2018. Relaxin-2 therapy reverses radiation-induced fibrosis and restores bladder function in mice. *NeuroUrol. Urodyn.* **37**, 2441-2451.
  43. Jelinic, M., Leo, C. H., Post Uiterweer, E. D., Sandow, S. L., Gooi, J. H., Wlodek, M. E., Conrad, K. P., Parkington, H., Tare, M. and Parry, L. J. 2014. Localization of relaxin receptors in arteries and veins, and region-specific increases in compliance and bradykinin-mediated relaxation after *in vivo* serelaxin treatment. *FASEB J.* **28**, 275-287.
  44. Jeyabalan, A., Novak, J., Danielson, L. A., Kerchner, L. J., Opett, S. L. and Conrad, K. P. 2003. Essential role for vascular gelatinase activity in relaxin-induced renal vasodilation, hyperfiltration, and reduced myogenic reactivity of small arteries. *Circ. Res.* **93**, 1249-1257.
  45. Jeyabalan, A., Novak, J., Doty, K. D., Matthews, J., Fisher, M. C., Kerchner, L. J. and Conrad, K. P. 2007. Vascular metalloproteinase-9 mediates the inhibition of myogenic reactivity in small arteries isolated from rats after short-term administration of relaxin. *Endocrinology* **148**, 189-197.
  46. Kanai, A. J., Konieczko, E. M., Bennett, R. G., Samuel, C. S. and Royce, S. G. 2019. Relaxin and fibrosis: emerging targets, challenges, and future targets. *Mol. Cell. Endocrinol.* **487**, 66-74.
  47. Kang, Y. M., Lee, H. M., Moon, S. H., Kang, H. and Choi, Y. R. 2017. Relaxin modulates the expression of MMPs and TIMPs in fibroblasts with carpal tunnel syndrome. *Yonsei Med. J.* **58**, 415-422.
  48. Katz, L. H., Likhter, M., Jogunoori, W., Belkin, M., Ohshiro, K. and Mishra, L. 2016. TGF-beta signaling in liver and gastrointestinal cancers. *Cancer Lett.* **379**, 166-172.
  49. Kerchner, L. J., Novak, J., Hanley-Yanez, K., Doty, K. D., Danielson, L. A. and Conrad, K. P. 2005. Evidence against the hypothesis that endothelial endothelin B receptor expression is regulated by relaxin and pregnancy. *Endocrinology* **146**, 2791-2797.
  50. Kocan, M., Sarwar, M., Ang, S. Y., Xiao, J., Marugan, J. J., Hossain, M. A., Wang, C., Hutchinson, D. S., Samuel, C. S., Agoulnik, A. J., Bathgate, R. A. D. and Summers, R. J. 2017. ML290 is a biased allosteric agonist at the relaxin receptor RXFP1. *Sci. Rep.* **7**, 2968.
  51. Krajnc-Franken, M. A. M., van Disseldorp, A. J. M., Koenders, J. E., Mosselman, S., van Duin, M. and Gossen, J. A. 2004. Impaired nipple development and parturition in LGR7 knockout mice. *Mol. Cell. Biol.* **24**, 687-696.
  52. Lee, S. B. and Kalluri, R. 2010. Mechanistic connection between inflammation and fibrosis. *Kidney Int. Suppl.* **119**, S22-26.
  53. Leo, C. H., Jelinic, M., Gooi, J. H., Tare, M. and Parry, L. J. 2014. A vasoactive role for endogenous relaxin in mesenteric arteries of male mice. *PLoS One* **9**, e107382.
  54. Leo, C. H., Jelinic, M., Ng, H. H., Marshall, S. A., Novak, J., Tare, M., Conrad, K. P. and Parry, L. J. 2017. Vascular actions of relaxin: nitric oxide and beyond. *Br. J. Pharmacol.* **174**, 1002-1014.
  55. Leo, C. H., Jelinic, M., Ng, H. H., Tare, M. and Parry, L. J. 2016. Serelaxin: a novel therapeutic for vascular diseases. *Trends Pharmacol. Sci.* **37**, 498-507.

56. Leo, C. H., Jelinic, M., Ng, H. H., Tare, M. and Parry, L. J. 2016. Time-dependent activation of prostacyclin and nitric oxide pathways during continuous i.v. infusion of serelaxin (recombinant human H2 relaxin). *Br. J. Pharmacol.* **173**, 1005-1017.
57. Leo, C. H., Jelinic, M., Parkington, H. C., Tare, M. and Parry, L. J. 2014. Acute intravenous injection of serelaxin (recombinant human relaxin-2) causes rapid and sustained bradykinin-mediated vasorelaxation. *J. Am. Heart Assoc.* **3**, e000493.
58. Li, Y., Brookes, Z. L. S. and Kaufman, S. 2005. Acute and chronic effects of relaxin on vasoactivity, myogenic reactivity and compliance of the rat mesenteric arterial and venous vasculature. *Regul. Pept.* **132**, 41-46.
59. Marshall, S. A., Leo, C. H., Senadheera, S. N., Girling, J. E., Tare, M. and Parry, L. J. 2016. Relaxin deficiency attenuates pregnancy-induced adaptation of the mesenteric artery to angiotensin II in mice. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* **310**, R847-R857.
60. Martin, B., Gabris-Weber, B. A., Reddy, R., Romero, G., Chattopadhyay, A. and Salama, G. 2018. Relaxin reverses inflammatory and immune signals in aged hearts. *PLoS One* **13**, e0190935.
61. Masini, E., Bani, D., Bello, M. G., Bigazzi, M., Mannaioni, P. F. and Sacchi, T. B. 1997. Relaxin counteracts myocardial damage induced by ischemia-reperfusion in isolated guinea pig hearts: evidence for an involvement of nitric oxide. *Endocrinology* **138**, 4713-4720.
62. Masini, E., Bani, D., Bigazzi, M., Mannaioni, P. F. and Bani-Sacchi, T. 1994. Effects of relaxin on mast cells: *in vitro* and *in vivo* studies in rats and guinea pigs. *J. Clin. Invest.* **94**, 1974-1980.
63. Massicotte, G., Parent, A. and St-Louis, J. 1989. Blunted responses to vasoconstrictors in mesenteric vasculature but not in portal vein of spontaneously hypertensive rats treated with relaxin. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **190**, 254-259.
64. Masterson, R., Hewitson, T. D., Kelynack, K., Martic, M., Parry, L., Bathgate, R., Darby, I. and Becker, G. 2004. Relaxin down-regulates renal fibroblast function and promotes matrix remodelling *in vitro*. *Nephrol. Dial. Transplant.* **19**, 544-552.
65. McGuane, J. T., Danielson, L. A., Debrah, J. E., Rubin, J. P., Novak, J. and Conrad, K. P. 2011. Angiogenic growth factors are new and essential players in the sustained relaxin vasodilatory pathway in rodents and humans. *Hypertension* **57**, 1151-1160.
66. McGuane, J. T., Debrah, J. E., Sautina, L., Jarajapu, Y. P. R., Novak, J., Rubin, J. P., Grant, M. B., Segal, M. and Conrad, K. P. 2011. Relaxin induces rapid dilation of rodent small renal and human subcutaneous arteries via PI3 kinase and nitric oxide. *Endocrinology* **152**, 2786-2796.
67. Meera, P., Anwer, K., Monga, M., Oberti, C., Stefani, E., Toro, L. and Sanborn, B. M. 1995. Relaxin stimulates myometrial calcium-activated potassium channel activity via protein kinase A. *Am. J. Physiol.* **269**, C312-C317.
68. Meng, X. M., Nikolic-Paterson, D. J. and Lan, H. Y. 2016. TGF-beta: the master regulator of fibrosis. *Nat. Rev. Nephrol.* **12**, 325-338.
69. Mookerjee, J., Hewitson, T. D., Halls, M. L., Summers, R. J., Mathai, M. L., Bathgate, R. A. D., Tregear, G. W. and Samuel, C. S. 2009. Relaxin inhibits renal myofibroblast differentiation via RXFP1, the nitric oxide pathway, and Smad2. *FASEB J.* **23**, 1219-1229.
70. Ng, H. H., Jelinic, M., Parry, L. J. and Leo, C. H. 2015. Increased superoxide production and altered nitric oxide-mediated relaxation in the aorta of young but not old male relaxin-deficient mice. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* **309**, H285-H296.
71. Ng, H. H., Shen, M., Samuel, C. S., Schlossman, J. and Bennett, R. G. 2019. Relaxin and extracellular matrix remodeling: mechanisms and signaling pathways. *Mol. Cell. Endocrinol.* **487**, 59-65.
72. Nishikori, K., Weisbrodt, N. W., Sherwood, O. D. and Sanborn, B. M. 1983. Effects of relaxin on rat uterine myosin light chain kinase activity and myosin light chain phosphorylation. *J. Biol. Chem.* **258**, 2468-2474.
73. Nistri, S., Chiappini, L., Sassoli, C. and Bani, D. 2003. Relaxin inhibits lipopolysaccharide-induced adhesion of neutrophils to coronary endothelial cells by a nitric oxide-mediated mechanism. *FASEB J.* **17**, 2109-2111.
74. Nistri, S., Cinci, L., Perna, A. M., Masini, E. and Bani, D. 2008. Mast cell inhibition and reduced ventricular arrhythmias in a swine model of acute myocardial infarction upon therapeutic administration of relaxin. *Inflamm. Res.* **57 Suppl 1**, S7-8.
75. Novak, J., Danielson, L. A., Kerchner, L. J., Sherwood, O. D., Ramirez, R. J., Moalli, P. A. and Conrad, K. P. 2001. Relaxin is essential for renal vasodilation during pregnancy in conscious rats. *J. Clin. Invest.* **107**, 1469-1475.
76. Novak, J., Parry, L. J., Matthews, J. E., Kerchner, L. J., Indovina, K., Hanley-Yanez, K., Doty, K. D., Debrah, D. O., Shroff, S. G. and Conrad, K. P. 2006. Evidence for local relaxin ligand-receptor expression and function in arteries. *FASEB J.* **20**, 2352-2362.
77. Novak, J., Ramirez, R. J. J., Gandley, R. E., Sherwood, O. D. and Conrad, K. P. 2002. Myogenic reactivity is reduced in small renal arteries isolated from relaxin-treated rats. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* **283**, R349-R355.
78. Pini, A., Bocalini, G., Lucarini, L., Catarinichia, S., Guasti, D., Masini, E., Bani, D. and Nistri, S. 2016. Protection from cigarette smoke-induced lung dysfunction and damage by H2 relaxin (serelaxin). *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **357**, 451-458.
79. Raleigh, J. V., Mauro, A. G., Devarakonda, T., Marchetti, C., He, J., Kim, E., Filippone, S., Das, A., Toldo, S., Abbate, A. and Salloum, F. N. 2017. Reperfusion therapy with recombinant human relaxin-2 (serelaxin) attenuates myocardial infarct size and NLRP3 inflammasome following ischemia/reperfusion injury via eNOS-dependent mechanism. *Cardiovasc. Res.* **113**, 609-619.
80. Rao, M. R. and Sanborn, B. M. 1986. Relaxin increases calcium efflux from rat myometrial cells in culture. *Endocrinology* **119**, 435-437.
81. Royce, S. G., Shen, M., Patel, K. P., Huuskens, B. M., Ricardo,

- S. D. and Samuel, C. S. 2015. Mesenchymal stem cells and serelaxin synergistically abrogate established airway fibrosis in an experimental model of chronic allergic airways disease. *Stem Cell Res.* **15**, 495-505.
82. Samuel, C. S., Cendrawan, S., Gao, X.-M., Ming, Z., Zhao, C., Kiriazis, H., Xu, Q., Tregear, G. W., Bathgate, R. A. D. and Du, X.-J. 2011. Relaxin remodels fibrotic healing following myocardial infarction. *Lab. Invest.* **91**, 675-690.
  83. Samuel, C. S., Royce, S. G., Chen, B., Cao, H., Gossen, J. A., Tregear, G. W. and Tang, M. L. K. 2009. Relaxin family peptide receptor-1 protects against airway fibrosis during homeostasis but not against fibrosis associated with chronic allergic airways disease. *Endocrinology* **150**, 1495-1502.
  84. Samuel, C. S., Royce, S. G., Hewitson, T. D., Denton, K. M., Cooney, T. E. and Bennett, R. G. 2017. Anti-fibrotic actions of relaxin. *Br. J. Pharmacol.* **174**, 962-976.
  85. Samuel, C. S., Unemori, E. N., Mookerjee, I., Bathgate, R. A., Layfield, S. L., Mak, J., Tregear, G. W. and Du, X. J. 2004. Relaxin modulates cardiac fibroblast proliferation, differentiation, and collagen production and reverses cardiac fibrosis *in vivo*. *Endocrinology* **145**, 4125-4133.
  86. Samuel, C. S., Zhao, C., Bathgate, R. A., Bond, C. P., Burton, M. D., Parry, L. J., Summers, R. J., Tang, M. L., Amento, E. P. and Tregear, G. W. 2003. Relaxin deficiency in mice is associated with an age-related progression of pulmonary fibrosis. *FASEB J.* **17**, 121-123.
  87. Samuel, C. S., Zhao, C., Bathgate, R. A., Du, X. J., Summers, R. J., Amento, E. P., Walker, L. L., McBurnie, M., Zhao, L. and Tregear, G. W. 2005. The relaxin gene-knockout mouse: a model of progressive fibrosis. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1041**, 173-181.
  88. Samuel, C. S., Zhao, C., Bond, C. P., Hewitson, T. D., Amento, E. P. and Summers, R. J. 2004. Relaxin-1-deficient mice develop an age-related progression of renal fibrosis. *Kidney Int.* **65**, 2054-2064.
  89. Sarwar, M., Samuel, C. S., Bathgate, R. A., Stewart, D. R. and Summers, R. J. 2015. Serelaxin-mediated signal transduction in human vascular cells: bell-shaped concentration-response curves reflect differential coupling to G proteins. *Br. J. Pharmacol.* **172**, 1005-1019.
  90. Sassoli, C., Chellini, F., Pini, A., Tani, A., Nistri, S., Nosi, D., Zecchi-Orlandini, S., Bani, D. and Formigli, L. 2013. Relaxin prevents cardiac fibroblast-myofibroblast transition via Notch-1-mediated inhibition of TGF- $\beta$ /Smad3 signaling. *PLoS One* **8**, e63896.
  91. Schinner, E., Wetzl, V., Schramm, A., Kees, F., Sandner, P., Stasch, J. P., Hofmann, F. and Schlossmann, J. 2017. Inhibition of the TGF $\beta$  signaling pathway by cGMP and cGMP-dependent kinase I in renal fibrosis. *FEBS Open Bio* **7**, 550-561.
  92. Sherwood, O. D. 2004. Relaxin's physiological roles and other diverse actions. *Endocr. Rev.* **2**, 205-234.
  93. Unemori, E. N. and Amento, E. P. 1990. Relaxin modulates synthesis and secretion of procollagenase and collagen by human dermal fibroblasts. *J. Biol. Chem.* **265**, 10681-10685.
  94. Unemori, E. N., Pickford, L. B., Salles, A. L., Piercy, C. E., Grove, B. H., Erikson, M. E. and Amento, E. P. 1996. Relaxin induces an extracellular matrix degrading phenotype in human lung fibroblasts *in vitro* and inhibits lung fibrosis in a murine model *in vivo*. *J. Clin. Invest.* **98**, 2739-2745.
  95. van Drongelen, J., Ploemen, I. H. J., Pertijs, J., Gooi, J. H., Sweep, F. C. G. J., Lotgering, F. K., Spaanderman, M. E. A. and Smits, P. 2011. Aging attenuates the vasodilator response to relaxin. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* **300**, H1609-H1615.
  96. van Drongelen, J., van Koppen, A., Pertijs, J., Gooi, J. H., Parry, L. J., Sweep, F. C. G. J., Lotgering, F. K., Smits, P. and Spaanderman, M. E. A. 2012. Impaired vascular responses to relaxin in diet-induced overweight female rats. *J. Appl. Physiol.* **112**, 962-969.
  97. van Drongelen, J., van Koppen, A., Pertijs, J., Gooi, J. H., Sweep, F. C. G. J., Lotgering, F. K., Spaanderman, M. E. A. and Smits, P. 2013. Impaired effect of relaxin on vasoconstrictor reactivity on spontaneous hypertensive rats. *Peptides* **49**, 41-48.
  98. Vodstrcil, L. A., Tare, M., Novak, J., Dragomir, N., Ramirez, R. J., Wlodek, M. E., Conrad, K. P. and Parry, L. J. 2012. Relaxin mediates uterine artery compliance during pregnancy and increases uterine blood flow. *FASEB J.* **26**, 4035-4044.
  99. Wang, C., Kemp-Harper, B. K., Kocan, M., Ang, S. Y., Hewitson, T. D. and Samuel, C. S. 2016. The anti-fibrotic actions of relaxin are mediated through a NO-sGC-cGMP-dependent pathway in renal myofibroblasts *in vitro* and enhanced by the NO donor, diethylamine nonoate. *Front. Pharmacol.* **7**, 91.
  100. Wang, D., Luo, Y., Myakala, K., Orlicky, D. J., Dobrinskikh, E., Wang, X. and Levi, M. 2017. Serelaxin improves cardiac and renal function in DOCA-salt hypertensive rats. *Sci. Rep.* **7**, 9793.
  101. Wetzl, V., Schinner, E., Kees, F., Hofmann, F., Faerber, L. and Schlossmann, J. 2016. Involvement of cyclic guanosine monophosphate-dependent protein kinase I in renal anti-fibrotic effects of serelaxin. *Front. Pharmacol.* **7**, 195.
  102. Wynn, T. A. 2008. Cellular and molecular mechanisms of fibrosis. *J. Pathol.* **214**, 199-210.
  103. Yang, J., Chen, C., Ren, H., Han, Y., He, D., Zhou, L., Hopfer, U., Jose, P. A. and Zeng, C. 2012. Angiotensin II AT(2) receptor decreases AT(1) receptor expression and function via nitric oxide/cGMP/Sp1 in renal proximal tubule cells from Wistar-Kyoto rats. *Hypertens* **30**, 1176-1184.
  104. Yoshida, T., Kumagai, H., Kohsaka, T. and Ikegaya, N. 2014. Protective effects of relaxin against cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *Nephron Exp. Nephrol.* **128**, 9-20.
  105. Yue, Y., Meng, K., Pu, Y. and Zhang, X. 2017. Transforming growth factor beta (TGF-beta) mediates cardiac fibrosis and induces diabetic cardiomyopathy. *Diabetes Res. Clin. Pract.* **133**, 124-130.
  106. Zhao, L., Samuel, C. S., Tregear, G. W., Beck, F. and Wintour, E. M. 2000. Collagen studies in late pregnant relaxin null mice. *Biol. Reprod.* **63**, 697-703.
  107. Zheng, G., Cai, J., Chen, X., Chen, L., Ge, W., Zhou, X.

and Zhou, H. 2017. Relaxin ameliorates renal fibrosis and expression of endothelial cell transition markers in rats of isoproterenol-induced heart failure. *Biol. Pharm. Bull.* **40**, 960-966.

108. Zhou, X., Chen, X., Cai, J. J., Chen, L. Z., Gong, Y. S., Wang,

L. X., Gao, Z., Zhang, H. Q., Huang, W. J. and Zhou, H. 2015. Relaxin inhibits cardiac fibrosis and endothelial-mesenchymal transition via the Notch pathway. *Drug Des. Devel. Ther.* **9**, 4599-4611.

**초록 : 혈관과 섬유증의 평활근 및 세포외기질 조절에 대한 릴렉신의 다양한 작용기전**

민계식\*

(경상국립대학교 생명과학대학 간호학과)

혈관과 섬유증 기관들의 평활근과 세포외기질에 대한 릴렉신의 조절기능이 입증되어왔다. 본 총설에서는 저항성 소동맥과 방광을 포함한 섬유증 기관들의 세포외기질에 작용하는 릴렉신의 다양한 기전들을 고찰한다. 릴렉신은 혈관 평활근의 수축을 억제하고, 콜라겐과 같은 세포외기질의 구성성분들을 감소시켜 혈관벽의 수동적 신전성을 증가시킴으로써, 혈관확장을 유도한다. 릴렉신이 동맥의 혈관확장을 유도하는 주된 세포기전은 RXFP1/PI3K의 활성화, Akt 인산화 및 eNOS 활성화를 통한 내피세포-의존성 산화질소의 생성에 의해 매개된다. 추가적으로, 릴렉신은 또한 다른 대체경로들을 작동하여 신장과 장간막 동맥의 혈관확장을 증가시킨다. 신장 소동맥에서, 릴렉신은 내피세포의 MMPs 및 EtB 수용체의 활성화와 VEGF 및 PlGF의 생성을 촉진하여, 평활근의 수축성과 콜라겐의 침착을 억제함으로써 혈관확장을 초래한다. 이와 달리, 장간막 소동맥에서, 릴렉신은 bradykinin (BK)-유도 이완을 시간-의존적으로 증강시킨다. BK-매개 이완의 신속 증가는 IK<sub>Ca</sub> 이온통로와 뒤이은 EDH 유발에 의존하는 반면, BK에 의한 지속적 이완은 COX 활성화와 PGI<sub>2</sub>에 의존한다. 릴렉신의 항섬유화 효과는 염증유발 면역세포의 침투, endothelial-to-mesenchymal transition (EndMT) 및 근섬유아세포의 분화와 활성을 억제하여 매개된다. 릴렉신은 또한 근섬유아세포 내 NOS/NO/cGMP/PKG-1 경로를 활성화하여, TGF-β1-유도 ERK1/2 및 Smad2/3 신호의 활성화와 ECM 콜라겐의 침착을 억제한다.