

일반학술발표초록

I-1

All-trans retinoic acid가 대장 암세포의 증식과 insulin-like growth factor binding protein에 미치는 영향

김은지*, 홍순미, 윤정환. 한림대학교 자연과학대학 생명과학부

최근 10년간 경제 수준의 급격한 향상과 함께 식사 형태가 서구화됨에 따라 대장암의 발생 빈도가 증가하고 있다. 비타민 A의 활성을 가지고 있는 retinoids와 carotinoids는 여러 역학 조사와 동물 실험을 통해 여러 종류의 암 방지에 중요한 영양소라는 것이 밝혀졌다. 포유류의 조직 및 세포의 증식과 분화는 여러 종류의 성장인자 (growth factor)들에 의해 조절되며, 암은 이러한 성장인자들에 의한 생화학적 조절 과정이 비정상적으로 이루어질 때 발생한다고 한다. 생체내에 고농도로 존재하는 성장인자 중의 하나인 insulin-like growth factors (IGFs)은 대장 세포 및 대장 암세포의 증식을 촉진한다는 것이 알려졌다. 한 개의 사슬로 이루어진 polypeptide로 proinsulin과 유사한 아미노산 sequence를 가진 IGF는 endocrine, paracrine, autocrine mechanism으로 세포의 증식을 촉진한다. IGF의 세포 증식 효과는 세포막에 존재하는 type I IGF receptor에 IGF가 결합하여 그 작용이 세포내로 전달됨으로써 나타난다. 혈액이나 세포의 간질액에는 IGF에 강한 친화력이 있는 여러 종류의 IGF-binding proteins (IGFBPs)이 존재하는데, 이 IGFBP가 IGF의 작용을 증가 또는 감소시키는 것으로 보고되었다. 본 실험에서는 all-trans retinoic acid (RA)가 인간의 대장암에서 유래한 Caco-2 세포의 증식에 미치는 영향을 조사하고 또한 Caco-2 세포의 autocrine growth regulator로 알려진 IGF-II와 IGFBPs의 발현에 미치는 영향을 살펴보았다. RA가 Caco-2 세포의 증식에 미치는 영향을 살펴보기 위해, Dulbecco's Modified Eagle's Medium : Nutrient Mixture Ham's F12에 5 $\mu\text{g/ml}$ transferrin과 5 ng/ml selenium이 첨가된 serum-free medium (SFM)에 여러 농도 (1 nM - 1 μM)의 RA를 첨가하여 세포를 48 시간 또는 96 시간 배양하였다. RA의 농도가 증가 할수록 세포의 증식이 감소되었으며 1 μM 의 RA를 첨가하였을 때는 세포 증식이 40% 감소를 보였다. RA의 세포 증식 억제 효과가 일시적인 것인지 또는 장기간에 걸쳐 일정하게 나타나는 것인지를 알아보기 위해 16일 동안 세포의 성장 곡선을 측정하였다. SFM에 RA를 첨가하지 않은 경우 Caco-2 세포의 증식은 12일까지는 급격히 증가하고 그후에는 세포수가 일정하게 유지되는 정상적인 성장 곡선을 나타냈다. 1 μM 의 RA를 첨가한 경우에도 정상적인 성장 곡선을 나타냈으나 RA를 첨가하고 2일이 경과 후부터 세포 증식은 유의적으로 감소하여 ($P < 0.05$) 최종 세포수는 대조군에 비해 33% 감소하였다. IGF-II mRNA의 발현은 Northern blot analysis을 이용하여 측정하였고 IGF-II protein 분비양은 세포가 condition한 배지를 수집한 후 농축하여 monoclonal anti-IGF-II antibody를 사용한 immunoblot analysis 방법으로 측정하였다. RA는 IGF-II mRNA와 IGF-II protein 분비에는 영향을 미치지 않았다. IGFBP mRNA 발현

정도를 측정된 결과 RA에 의해 IGFBP-2는 $20\pm 3\%$, IGFBP-4는 $50\pm 8\%$ 감소하였고 IGFBP-6는 $660\pm 20\%$ 증가하였다. Caco-2 세포에서 분리된 IGFBP protein을 ^{125}I -IGF-II을 사용한 ligand blot analysis로 측정하였다. Caco-2 세포는 분자량이 34,000 (IGFBP-2), 24,000 (IGFBP-4), 32,000 (IGFBP-6)인 세 종류의 IGFBP를 분리하였다. $1\mu\text{M}$ 의 RA를 첨가하였을 경우에는 RA를 첨가하지 않은 대조군에 비해 IGFBP-2는 $48\pm 6\%$, IGFBP-4는 $70\pm 13\%$ 감소하였다. 그러나 IGFBP-6는 $698\pm 20\%$ 증가하였다. 이 연구 결과는 RA가 인간의 대장 암세포인 Caco-2의 세포 증식을 감소시킨다는 것을 보여준다. IGFBP-6의 IGF-II에 대한 친화력은 다른 IGFBP에 비해 더 강하므로 RA에 의해 현저히 증가된 IGFBP-6가 IGF-II에 결합하여 IGF-II와 receptor의 결합을 방해하여 세포 증식 억제 효과가 나타난 것으로 사료된다.