

P2-13

소장상피세포주 모델(HT-29)에서 protein kinase C activator가 타우린수송체 활성 및 유전자 발현에 미치는 영향

박성연, 박태선. 연세대학교 식품영양학과

Protein kinase C (PKC)를 통한 세포내 신호전달체계가 인체의 타우린수송체 활성에 미치는 영향은 세포주의 종류에 따라 다른 양상을 보이는 것으로 알려져 있다. 본 연구는 인체 소장상피세포주 모델인 HT-29세포에서 PKC activator인 phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA)가 타우린수송체 활성 및 발현에 미치는 영향을 평가하기 위해 실시되었다. 타우린수송체의 활성은 HT-29 세포를 35mm dish에 2×10^6 씩 분주하여 4일간 배양한 다음 배지를 제거하고, uptake medium (2.5mM HEPES/Tris, 140mM NaCl, 5.4mM KCl, 1.8mM CaCl_2 , 0.8mM MgSO_4 , 5mM D-mannitol, [^3H]-taurine 및 cold taurine (50nM), pH 7.5)에서 30분간 배양하여 측정된 타우린 uptake 양으로 나타내었다. PMA로 전처리하지 않은 대조세포의 타우린 uptake 수치는 5.3 ± 0.2 pmole \cdot mg protein $^{-1} \cdot$ 30min $^{-1}$ 로 나타났다. 10^{-4}M 의 PMA를 1, 3, 6, 또는 24시간 전처리한 세포의 타우린 uptake 수치는 대조세포에서 얻어진 값의 각각 23%, 12%, 14%, 74%로 감소하였고, 따라서 3시간 전처리 후 타우린 uptake의 감소 현상이 가장 두드러진 것으로 나타났다. PMA 농도에 따른 타우린 uptake 변화를 측정하기 위하여 HT-29세포를 10^{-7} ~ 10^{-4}M 의 PMA로 3시간동안 전처리한 후 타우린 uptake를 측정하였다. HT-29세포에 의한 타우린 uptake는 10^{-7}M 의 PMA로 3시간동안 전처리한 경우 유의적으로 감소하였으며 ($p < 0.0001$), PMA의 농도가 증가함에 따라 타우린 uptake의 감소현상이 더 현격히 나타났다. PMA에 의한 타우린 uptake의 kinetics 변화를 평가하기 위해 Lineweaver-Burk plot을 이용하여 타우린수송체의 V_{\max} 값과 K_m 값을 계산한 결과, 대조세포의 경우 타우린수송체의 V_{\max} 값은 3.33 nmole \cdot mg protein $^{-1} \cdot$ 30min $^{-1}$ 이고, K_m 값은 $16.0 \mu\text{M}$ 로 나타났다. 10^{-4}M PMA로 3시간 전처리한 HT-29 세포에서 얻어진 타우린수송체의 V_{\max} 값은 0.63 nmole \cdot mg protein $^{-1} \cdot$ 30min $^{-1}$ 로 대조세포에 비하여 80%정도 감소하였고, K_m 값은 $23.0 \mu\text{M}$ 로 대조세포에 비하여 44%정도 증가하였다. PMA에 의한 타우린수송체 V_{\max} 값의 감소현상이 수송체유전자의 mRNA 함량의 변화를 수반하는지를 평가하기 위해 RT-PCR을 실시한 결과, 대조세포에 비하여 10^{-4}M PMA로 3시간동안 전처리한 HT-29 세포에서 타우린수송체의 mRNA 발현이 50%정도 감소하는 것을 관찰할 수 있었다. 이상의 결과는 PKC activator인 PMA가 HT-29세포에서 단시간내에 타우린수송체의 활성을 감소시켰음을 제시하는 것이며, 이는 신호전달체계에서 PKC가 중간자로 작용하여 타우린수송체 유전자의 발현뿐 아니라 타우린에 대한 수송체의 친화력에 영향을 미쳤기 때문인 것으로 사려된다.

[본 연구는 한국과학재단 목적기초연구 (1999-2-209-013-5) 지원으로 수행되었음.]

P2-14

식이중 인진쑥의 섭취가 흰쥐 간세포 암화과정에서 전암성병변의 형성에 미치는 영향

조영자*, 김현아, 방미애, 김은희 · 목포대학교 식품영양학과

인진쑥은 국화과(asteraceae)에 속하는 다년생 식물로서 생당쑥, 애당쑥, 사철쑥, 인진초, 더위지기 및 사철쑥이라고 하며, 함유성분으로 정유, 방향족 옥시카르본산, 플라보노이드, 옥시쿠마린, 타닌질, coumarin과 식물성분으로 혼하지 않은 3중 결합화합물인 카필린과 카필렌등이 있다. 또 한방에서의 약용작용으로, 간의 독풀이기능, 항균작용과 간지질대사 개선작용이 있고, 인진쑥의 열수추출물의 경우 항산화 효과 및 간보호작용이 뛰어나다고 보고되고 있다. 그러나, 인진쑥의 항암 효과에 대한 *in vivo*연구는 미흡한 상태이다. 따라서, 본 연구에서는 Ito 등의 발암유도모델을 사용하여 간암을 유도한 후 식이중 인진쑥의 섭취가 쥐간세포 암화과정 및 glutathione의존성 효소계에 미치는 영향을 연구하였다.

항 동맥인자라고 알려진 HDL-cholesterol농도의 경우 암화 과정 중에 유의적으로 감소하여 인진쑥의 효과를 나타내지 않았다. 지질과산화물의 함량의 경우, 발암원 처리군(EC, EP, EX)에서 발암원 정상식이군(EC)보다 발암원 처리 인진쑥식이군(EP)와 발암원처리 인진쑥추출식이군(CX)이 지질과산화물이 적게 나타내었다. 발암처리 군에서는 감소되는 Glucose 6-phosphatase 활성도의 경우, 인진쑥을 섭취함으로써 정상 기본식이군(CC)의 수준으로 회복되는 것으로 나타내었다. 1단계 약물대사 효소계인 GST 활성도는 정상군에 비해 발암원처리 인진쑥식이군(EP)이 GST 활성이 유의적으로 높았으며, 발암원처리 인진쑥 추출식이군(EX)도 약간 높았다.

이상의 연구결과를 종합하여보면 간세포 암화과정에서 인진쑥의 섭취는 암화 억제기능을 나타내는 것으로 보이며, 인진쑥의 열수 추출물보다 분말형태가 암화억제 기능이 큰 것으로 보여진다. 이는 인진쑥의 섭취뿐만 아니라 섭취형태도 중요한 것으로 사료된다.