

갑상선과 타액선 조직에서의 Sodium Iodide Symporter의 발현 정도와 특성 비교

경북대학교 치과대학 생화학 교실¹, 의과대학 핵의학교실²

조제열^{1*}, 윤선미², 안병철², 이재태², 이규보²

목적: 분화 갑상선 암 환자에서 수술 후 잔여 암조직, 전이성 병변의 치료에 방사성 옥소(I-131)를 이용하고 있다. I-131 섭취는 갑상선 상피 세포의 basolateral membrane에 발현되는 sodium iodide symporter (NIS)에 의하여 매개되며, 타액선에도 I-131 축적되어 치료후 타액선염 및 구강건조증을 발생시킬수 있다. 연구자들은 갑상선과 타액선 조직에서의 NIS의 발현과 기능의 차이가 있는가를 조사하였다. **방법:**수술시 얻은 갑상선 조직과 이하선에서 anti-NIS antibody로 면역조직학적 염색으로 NIS 발현을 조사하였다. Western Blot으로 갑상선 및 이하선 조직의 NIS단백질의 차이가 있는지를 조사하고, deglycosylation enzyme인 PNGase-F를 처리한 후 단백질을 다시 분석하였다. 배양한 인체 갑상선세포인 FRTL-5 cell과 배양한 타액선세포인 HSY human salivary ductal cell에서 NIS 유전자와 단백질의 발현을 측정하고 retinoic acid를 처리하였을 때의 NIS유전자의 발현을 PCR로 측정하였다. **결과:**갑상선과 타액선 조직 모두에서 NIS가 발현되었으나, 타액선에서는 ductal cell의 세포막에 발현된다는 사실을 확인하였다. Western blot으로 타액선에서는 갑상선에 비해 NIS는 glycosylation 정도가 더 많은 것을 확인하였다. 갑상선조직의 NIS는 glycosylation 되어 약 90kDa의 분자량을, 타액선에서는 약 110kDa의 분자량을 보였다. 두 경우 PNGase-F를 처리하였더니 분자량 약 60kDa으로 NIS 단백질만 보여야 두 조직에서 NIS의 분자량 차이는 glycosylation 정도의 차이에 의한 것임을 확인하였다. FRTL-5 세포와 HSY 세포주 모두에서 NIS가 발현되었고, 여러 농도의 retinoic acid를 주었을 때, HSY 세포에서 보다 FRTL-5 세포에서 retinoic acid에 의한 NIS 유전자의 발현 증가가 더 많은 것을 정량적 실시간 PCR로 확인하였다. **결론:**두 조직의 NIS단백은 glycosylation 정도에 차이가 있었다. Retinoic acid 처리시 주로 갑상선조직의 NIS유전자가 증가되는 것을 알 수 있었다. NIS의 발현과 기능의 차이를 찾는 이러한 연구를 통하여 갑상선 암환자의 방사성옥소 치료시 치료효과를 높이며, 타액선에서의 NIS 활성을 특이적으로 차단하여 타액선 손상을 막을 수 있는 방법을 찾을 수 있을 것으로 추측된다.

Luciferase와 sodium iodide symporter의 융합단백질의 생산

서울대학교 의과대학 핵의학교실

강주현*, 정준기, 이용진, 김광일, 소민경, 정재민, 이동수, 이명철

목적: 광학영상과 핵의학영상을 동시에 얻기 위하여 광학영상리포터 유전자인 luciferase와 핵의학 영상 리포터 유전자인 sodium iodide symporter (NIS)유전자를 융합법을 이용하여 생산하였다. **방법:**NIS유전자와 luciferase유전자를 연결한 형태로 발현시키기 위하여 pcDNA3.1 (Invitrogen Co.)의 BamHI/HindIII부위에 NIS의 종결 코돈을 제외한 코딩부위를 클로닝하고 연이어 BamHI/XhoI부위에 luciferase의 시작 코돈을 제외한 코딩부위를 클로닝하였다 (pNIS-fLuc). 사람 간암 세포주(SK-Hep1)에 pNIS-fLuc 유전자를 이입 후, I-125 섭취율로 NIS활성을 측정하였으며, luminometer를 이용하여 luciferase활성을 측정하였다. NIS와 luciferase의 발현을 확인하기 위하여 RT-PCR과 Western blot을 각각 수행하였다. **결과:**사람 간암세포주에 pNIS-fhNIS 유전자 이입으로 luciferase 활성은 2,000배 이상 증가하였다. 반면에 방사선 요오드 섭취로 나타나는 NIS의 활성은 전혀 나타나지 않았다. 사람의 간암 세포주에 pNIS-fLuc 유전자를 이입한 후, G-418을 2주간 처리하여 안정적 발현 세포주를 선택하였다(SK-Hep1/NIS-fLuc). 안정적 발현 세포주를 이용하여 RT-PCR 과 Western blot결과 luciferase와 NIS의 발현이 전사 수준 뿐만 아니라 번역 수준에서도 진행되었음을 알 수 있었다. **결론:**NIS와 luciferase의 융합된 형태의 단백질이 성공적으로 세포내에 생산되었지만 luciferase는 활성에 필요한 단백질 구조를 유지하고 있으나 NIS의 경우에는 그의 C말단에 있는 luciferase에 의해 단백질 구조에 영향을 주어 활성을 갖지 못한 것으로 판단된다. 본 연구 결과는 NIS 단백질의 세포막에서의 구조 및 활성에 관한 상관 관계를 연구하는데 도움이 될 것으로 생각된다.