구연발표 I-3

위암세포주에서 c-met매개 침윤기전에 근거한 생물학적 활성억제제와 항세포골격제제의 항침윤효과

연세대학교 의과대학 외과학교실

정재호, 송창수, 형우진, 홍성이, 최승호, 노성훈

(배경 및 목적) 침윤과 전이는 악성암세포의 지표로 전체 암환자 사망의 90%는 결국 암의 전이에 의한다. 최근 종양내 저산소증에 의해 유도되는 proto-oncogene인 c-met이 암의 침윤과정에 중요한 역할을 하는 것으로 밝혀졌다. c-met은 세포막에 위치하는 receptor tyrosine kinase로 여러 악성 종양과 일부 위암에서 과발현되거나 변이가 있는 것으로 알려져 있다. 본 연구의 목적은 사람위암세포주에서 c-met의 발현양상을 알아보고 c-met과 관련된 신호전달의 최종 결과인 세포의 이동성을 목표로 하는 항세포골격 제제와 c-met 매개 신호전달체계를 비활성화하는 생물학적 활성억제제의 항침윤효과를 알아보고자 한다.

(대상 및 방법) 위암세포주(AGS, Kato III, SNU216, SNU638, SNU668, SNU719, MKN-28, MKN-45)를 정상산소농도(normoxia) 및 저산소농도(hypoxia) 상태에서 배양 후 c-met 단백의 발현 양상을 western blot으로 알아보고 c-met 과발현 위암세포주(MKN-45)에서 met 단백의 기능을 억제하는 것으로 알려진 Geldanamycin (GA)과 microtubule의 저해제인 Vincristine (VCR)을 각각 처리한 후 대조군과 비교하여 MTT assay, Western blot, Matrigel invasion assay, Gelatin zymography를 시행하여 침윤과 관련한 암세포의 생물학적 행동의 변화 양상을 알아보았다.

(결과) Normoxia 상태에서 위암세포주들은 다양한 정도의 c-met 단백을 발현하였다. Hypoxia 상태에서 배양한 경우 정도의 차이는 있으나 대부분의 세포주에서 met 단백의 발현이 증가하였다. c-met oncogene의 amplification이 알려진 MKN-45의 경우 met status가 정상인 MKN-28에 비해 met 단백의 발현이 현저히 증가되어있었다. GA는 1 uM 농도에서 MKN-45 세포에 대해 중등도의 세포독성을 나타내었다. VCR의 경우 100nM에서 세포독성을 나타내지 않았다. 저산소농도에서 실험한 경우 대조군이나 약물처리군모두에서 약제의 효과와는 무관하게 고도의 세포독성이 발생하였다. GA를 처리한 경우 MKN-45의 met 단백 발현이 유의하게 감소하였다. 반면, VCR의 경우 세포의 침윤능을 효과적으로 억제하는 농도(100 nm)에서 met 단백의 발현에는 아무런 영향을 주지 않았다. GA에 의한 met 단백의 발현감소는 HGF에 의해 가역적이지 않았다. Matrigel invasion assay에서 GA 처리군이 대조군에 비해 침윤한 종양세포의 수가 유의하게 적었다. VCR 처리군에서 세포독성을 나타내지 않는 농도(100 nM)에서 종양세포의 침윤능을 현저하게 감소시켰다. 저산소농도에서 동일실험을 시행한 결과 저산소증에 의해 세포들이 많이 사멸하여 절대적인 침윤세포의 숫자는 오히려 정상산소농도에 비해 적었으나 각 약제에 의한 침윤세포수의 감소는 비슷한 양상을 보였다. 정상산소상태에서 MKN-45 세포는 MMP-2를 발현하였으며 저산소상태에서 실험시 MMP-9이 새로이 발현되었다. 저산소상태에서 GA 처리시 1 uM 농도에서 active-MMP-2의 band가 소실되었다.

(결론) 위암세포주에서 c-met은 암세포의 침윤과 상관관계가 있으며 tumor hypoxia에 의해서 met 단백의 발현이 증가되는 것을 알 수 있었다. 위암세포의 침윤에 중요한 c-met 신호전달계를 표적으로하는 생물학적 제제와 암세포의 이동을 표적으로 하는 항세포골격제의 사용은 효과적으로 met 발현 위암세포의 침윤능을 억제함을 알 수 있다.