

에탄올이 뇌 신경세포의 Protein Kinase C 활성화에 미치는 영향

조효정*, 정영진, 박진규¹, 진승하¹. 충남대학교 생활과학대학 식품영양학과, ¹한국인삼연초 연구원.

알코올은 가장 널리 쓰이는 향정신성 약물로 장기간의 과량의 알코올 섭취는 뇌에서 알코올성 치매, 소뇌의 퇴화, Wernicke-Korsakoff 증후군의 원인이 되며, 많은 다른 신경-정신병 질환의 상태를 더욱더 악화시킨다. 그러나, 이런 알코올의 피해에도 불구하고 아직까지 뇌 신경계에 미치는 알코올의 작용기전에 대한 연구는 아직 미흡하다. 최근 에탄올의 작용과 만성적인 에탄올 노출시에 신경적용 메카니즘에 PKC가 중요한 역할을 함이 밝혀졌으며, 이에 본 연구에서는 에탄올에 의한 형태적 변화가 나타나지 않는 에탄올 농도(200mM이하)에서 에탄올이 신호전달체계에 관련된 PKC 활성화에 미치는 영향을 흰 쥐의 신경세포인 B103 세포주를 이용하여 조사하였다. PKC 부류에 따른 PKC의 변화를 보기 위해 PKC 3부류 중에서 cPKC에서는 PKC α , β , γ 를, nPKC에서는 PKC ϵ 를, aPKC에서는 PKC ζ 를 정하였고, 에탄올 농도는 50, 100, 200mM로 정하였다. 또한 fraction에 대한 PKC의 활성 차이를 보기 위해 cytosolic fraction과 membrane fraction으로, 시간에 의한 PKC의 활성 변화를 보기 위해 1, 2, 8, 18, 24 시간으로 나누어 각각의 활성을 살펴보았다. 1, 2, 8, 18, 24시간 에탄올 처리한 B103 cell을 수확한 후, SDS buffer를 사용하여 시료를 만들었다. 일정한 양의 단백질을 전기영동장치에 의해 전개한 후, nitrocellulose로 옮긴 다음 immunoblotting을 이용하여 분석하였다. PKC α 는 에탄올 처리 18, 24시간 후를 관찰한 결과 24시간 cytosolic fraction을 제외한 cytosolic fraction과 membrane fraction의 모든 농도에서 증가하는 경향을 보였다. 이 결과로 에탄올에 의해 PKC α signal이 시간이 흐름에 따라 많이 증가됨을 알 수 있었다. 또한 뇌와 척수에만 특이적으로 존재하고 신경전달체계에 관여하는 PKC γ 가 에탄올 처리 후 24시간 뒤에 감소하는 경향을 나타냄으로써 에탄올 섭취에 의해 신경전달체계를 변화함을 알 수 있었고, 신경말단에 특이적으로 존재하고 neurotransmitter release에 관여하는 PKC ϵ 이 에탄올 처리 24시간 후에 감소하는 경향을 보임으로써 에탄올에 섭취에 의해 neurotransmitter release가 변화함을 알 수 있었다. 여기서 PKC β 는 관찰되지 않았다. 덧붙여서 B103세포에서 에탄올 처리 후 일정한 시간이 흐른 후(18, 24시간)에 에탄올에 대한 특이적인 변화가 있음을, 또 50mM에서 200mM로 고농도로 갈수록 에탄올에 의해서 PKC의 특이적인 변화가 유도됨을 알 수 있었다. 마지막으로 PKC isoform에 따라 다른 변화를 나타냄으로써 이 isoform들의 세포내 역할이 서로 다름을 알 수 있었다.