

소장상피세포(HT-29)의 differentiation 단계에 따른 타우린수송체 활성의 비교연구
이해미*, 김정아, 박태선. 연세대학교 식품영양학과

함황아미노산인 타우린은 거의 모든 동물조직에서 가장 풍부히 존재하는 유리아미노산 중의 하나이며, 세포외액에 비해 세포내액에 수십~수천배 더 농축되어 존재한다. 이와같이 격심한 농도구배에 역행하여 고농도의 타우린을 세포내액에 유지시킬 수 있다는 사실은 에너지를 필요로하는 능동적 타우린수송체가 세포막에 존재함을 뜻하고, 실제로 고친화력을 지닌 타우린수송체가 신장, 간, 망막, 태반, 뇌 및 소장조직의 세포막에서 발견되어 졌다. 쥐의 소장상피조직에서 분리된 재조합용모막(brush border membrane vesicle)을 이용하여 소장점막을 통한 타우린 흡수(uptake)기전이 연구된 바 있고, 최근에는 소장상피세포주 모델을 대상으로 타우린수송체의 기능분석에 관한 연구가 진행되고 있다. 본 연구에서는 분화(differentiation)가 되면 소장상피세포의 특성을 나타내는 것으로 알려진 인체 대장암세포주(HT-29세포)를 대상으로 분화단계에 따른 능동적 타우린수송체의 활성 및 kinetics를 비교 검토하고자 하였다. 본 실험을 위하여 confluent한 상태의 HT-29세포를 35mm dish에 2×10^6 개씩 분주하고, 4일, 14일 및 21일까지 배양하면서 분화단계에 따른 타우린 uptake를 측정하였다. Uptake medium에는 2.5mM HEPES/Tris(pH 7.5), 140mM NaCl, 5.4mM KCl, 1.8mM CaCl₂, 0.8mM MgSO₄, 5mM D-mannitol과 [³H]-taurine 및 cold taurine(50nM, cold + hot)이 포함되었다. 소장상피 용모막의 marker enzyme인 alkaline phosphatase와 γ -glutamyl transferase 활성을 측정하여 HT-29세포의 분화정도를 평가한 결과, alkaline phosphatase 활성은 분주후 4일, 14일 및 21일간 배양한 결과 각기 11 ± 1.8 , 55.2 ± 4.2 및 78.9 ± 0.3 units \cdot mg protein⁻¹ \cdot 15min⁻¹로 시간이 경과함에 따라 증가하였고($p < 0.001$), γ -glutamyl transferase 활성 역시 42.7 ± 4.3 , 118 ± 1.1 과 168 ± 6.9 nmol p-nitroaniline \cdot mg protein⁻¹ \cdot 20min⁻¹로 계속 증가되어($p < 0.001$) 분주후 21일까지 분화가 계속 진행됨을 알 수 있었다. 타우린 uptake의 time course를 측정된 결과 180분까지 uptake 수치가 계속 증가하는 추세를 보였으며, 처음 60분 동안은 incubation 시간에 따른 uptake 수치가 일차함수 관계로 증가하였다. 10 μ M의 타우린농도에서 30분간 incubation시킨 후 측정된 HT-29세포의 taurine uptake수치는 분주후 4일, 14일 및 21일간 배양시킨 결과 각기 0.54 ± 0.07 , 0.23 ± 0.03 및 0.15 ± 0.04 nmol taurine/mg protein로 나타나 분화가 진행될수록 타우린 uptake 활성이 감소함을 알 수 있었다($p < 0.001$). Differentiation 단계에 따른 능동적 타우린수송체의 kinetics를 평가한 결과 HT-29세포를 분주하고 4일, 14일 및 21일이 경과한 후 능동적 타우린수송체의 Vmax값은 각기 2.79 ± 0.13 , 0.85 ± 0.08 과 0.32 ± 0.01 nmol \cdot mg protein⁻¹ \cdot 30min⁻¹로 시간이 경과함에 따라 감소하였고($p < 0.001$), Km값 역시 각기 42.3 ± 3.4 , 16.89 ± 1.74 및 11.2 ± 3.0 μ M로 감소하였다($p < 0.01$). 이와같은 결과는 HT-29세포의 분화가 진행될수록 용모막을 통한 능동적 타우린수송체의 최대 uptake 속도는 감소하는 한편, 타우린수송체의 친화력은 증가해 감을 제시하는 것이다.