

소장상피세포 모델 (HT-29)에서 protein kinase activator에 의한 타우린수송체의 활성 조절
박성연, 이해미, 박태선. 연세대학교 식품영양학과

β -아미노산인 타우린은 동물의 조직에 풍부한 유리아미노산으로 담즙산의 포합, 삼투압 조절, 항산화작용, 해독작용 등 여러 가지 생리적 기능을 가지며, 이와 같은 기능을 통해 여러 가지 환경적 변화로부터 생체를 보호해주는 방어효과를 나타내는 것으로 알려져 있다. 다양한 세포내·외적요인들이 타우린수송체의 활성에 미치는 영향에 관한 연구는 아직까지 초보적인 단계로서 protein kinase C (PKC) 활성, 세포내의 칼슘 농도 그리고 일부 스테로이드계 호르몬의 작용에 의한 조절기능 등이 보고된 바 있으나, 그 작용기전에 관하여는 알려진 바가 없다. Protein kinase C는 단백질의 인산화과정을 통하여 세포내에서의 signal transduction pathway에 중심된 역할을 하고 있으며, 여러 영양소의 운반/흡수 과정에 조절 기능을 담당하는 것으로 알려져 있다. 본 연구에서는 소장상피세포에서 protein kinase activator가 타우린수송체의 활성에 미치는 영향을 알아보기 위하여 사람의 결장암세포인 HT-29 세포주를 이용하여 타우린 uptake 활성을 측정하였다. HT-29 세포는 Caco-2 세포와 함께 완전히 분화되면, 미세용모를 포함하는 소장상피세포의 특성을 나타냄이 보고되어 소장상피세포 모델로 사용되어 오고 있다. HT-29 세포를 35 mm dish에 2×10^6 씩 분주하여 14일간 격일로 배지를 갈아주며 분화를 유도한 후 uptake 실험을 실시하였다. HT-29 세포를 phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA) 또는 8-bromoadenosine 3,5-cyclic monophosphate(cAMP)로 일정 시간 전처리한 후, 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, hot + cold), pH 7.5)에서 30분간 배양하고 타우린 uptake를 측정하였다. HT-29세포에서 타우린 uptake의 time course를 살펴본 결과 180분까지 uptake가 지속적으로 증가하였으며, 초기 60분간은 incubation 시간에 따른 uptake 수치가 일차함수 관계로 증가하였다. 타우린수송체의 V_{\max} 값은 $0.850 \pm 0.8 \text{ nmol} \cdot \text{mg protein}^{-1} \cdot 30\text{min}^{-1}$ 이고, K_m 값은 $16.89 \pm 1.74 \mu\text{M}$ 로 나타났다. HT-29 세포를 PKC의 활성제인 PMA($0.16 \mu\text{M}$)로 3시간 전처리한 후 얻어진 타우린 uptake 활성은 전처리하지 않은 세포에서 얻어진 타우린 uptake 활성의 21.4%로 급격히 감소하였으나, 6시간 후에는 70.2%, 그리고 24시간 후에는 89.9%로 다시 회복되었다. cAMP는 신호전달계의 second messenger로서, enterotoxin의 투여시 세포내에서 농도가 높아진다. HT-29 세포를 0.1 mM cAMP로 3 또는 6시간 전처리한 경우 타우린 uptake 활성이 전처리하지 않은 세포에서 얻어진 타우린 uptake 활성의 80%정도로 감소하였고, 24시간 후에는 15.6%까지 감소하였다. 이상의 결과로부터 HT-29 세포에서 타우린수송체의 활성조절에 있어서 PKC와 protein kinase A(PKA)가 관여하며, PMA의 taurine uptake 저해효과는 cAMP에 의한 저해효과보다 더 빠른 시간내에 나타남을 알 수 있다.