

【P3-19】

쥐의 전립선암 MAT-Ly-Lu (MLL) 세포주에서 conjugated linoleic acid (CLA)가
apoptosis를 유발하는 기전 연구

이현숙, 윤정환

한림대학교 생명과학부 식품영양전공

전립선암은 서구선진국에서 이미 가장 흔한 암 중의 하나이며 최근 통계청의 '2001년 한국인의 사망원인 통계결과'에서 한국인에게 발병률 증가속도가 가장 빠른 암중의 하나로 발표되었다. 전립선암의 병인에 대해서는 현재 완전히 알려지지 않았으며 성장인자 작용의 비정상적인 증가가 이 질병에 관여할 가능성이 제시되어 있다. CLA는 우유와 반추동물육에 자연적으로 존재하는 물질로서 두 개의 이중결합을 가진 탄소수 18개 짜리 불포화지방산이며 이중결합의 위치와 기하학적 구성에 따라 8개의 이성체가 존재한다. CLA는 여러 실험동물결과 항암효과가 있음이 밝혀졌으며 세포대상 연구들에서도 이러한 효과를 입증해주었다. 본 연구는 쥐의 전립선암 세포주인 MLL 세포를 대상으로 CLA가 전립선암세포의 세포사멸(apoptosis)을 증가시키는지 살펴보고 그 기전을 규명하기 위하여 행해졌다. 세포를 0-40 μ M CLA가 함유되어 있는 배지에서 배양하여 MTT 방법으로 세포수를 측정한 결과 CLA 농도가 증가함에 따라 세포수가 유의적으로 감소하였고 [3 H]thymidine incorporation을 측정한 결과도 CLA 농도 증가에 따라 DNA 합성이 억제됨을 보여주었다. 또한 FACS 분석으로 CLA가 세포사멸을 촉진시킴을 확인하였다. Protein kinase B 또는 Akt는 성장인자들에 의해 serine과 threonine 잔기가 인산화 되어 세포주기의 조절과 apoptosis의 저해에 관여하는 물질로 알려져 있다. 본 실험에서 배양액의 CLA 농도가 증가함에 따라 Akt의 인산화가 저해되는 것을 관찰하였다. Insulin-like growth factor (IGF)-I과 IGF-II는 IGF-I receptor (IGF1R)에 결합하여 악성 종양을 포함한 여러 종류의 세포에 강력한 유사분열촉진 (mitogenic)과 항세포사멸 (antiapoptotic) 인자로 작용한다. RT-PCR 결과 CLA는 IGF-I과 IGF-II mRNA 수준을 감소시켰으므로 exogenous IGF-I이 CLA의 세포증식 억제 효과를 방지하는지 조사하였다. CLA를 첨가하지 않은 배지에서는 IGF-I을 10 nM 또는 100 nM를 가해주었을 때 세포 수가 유의적으로 증가하였으나, 40 μ M의 CLA가 함유된 배지에 IGF-I을 10 nM 또는 100 nM를 가해주었을 때는 세포 증식은 유의적으로 증가하지 않았다 ($p < 0.05$). 따라서 CLA의 세포사멸 촉진 효과가 IGF-1R signal의 감소를 통해 이루어진다는 가설을 시험하였다. CLA에 의해 세포의 IGF에 대한 반응이 감소되는지 살펴보기 위하여 세포를 CLA 농도를 0 또는 40 μ M로 배양하고 lysis 직전에 IGF-1을 0, 1, 5, 또는 60분 동안 처리해 준 후에 Western blot을 한 결과에서는 CLA가 Akt의 인산화를 감소시키지만 IGF-I에 의한 Akt의 인산화 반응은 변화시키지 않는 것을 볼 수 있었다. 또 IGF-1R, IRS-1, MAPK, pMAPK, PTEN, pPTEN, PDK1, pPDK1, PI3K 등의 단백질을 Western blot으로 조사해 보았으나 CLA 농도나 IGF-I 처리 여부에 따른 차이가 없었다. 또한 IGF-1R 항체로 immunoprecipitation 하여 살펴본 결과도 CLA는 IGF-1R의 인산화에 영향을 미치지 않았다. 이상의 결과를 요약하면, CLA는 MLL 세포의 DNA 합성을 억제하고 세포사멸을 증가시켰으며 Akt의 인산화를 감소시켰다. 또한 IGF-I과 IGF-II mRNA의 발현을 억제하였으나 IGF-1R protein 수준이나 인산화는 변화시키지 않았다. 이 결과는 CLA의 세포증식 억제효과는 IGF-1R signaling의 감소를 통해 일어나지 않고 이외는 다른 미지의 경로를 통해 Akt의 인산화를 방해하여 apoptosis를 유도시키는 것을 의미한다.