

[O-5]

Conjugated linoleic acid (CLA)가 대장암 세포인 HT-29 세포의 cell cycle에 미치는 영향

임도영, 윤정한

한림대학교 식품영양학과

CLA는 linoleic acid의 위치적, 기하학적 이성체로 *in vivo*, *in vitro* 실험에서 항암효과가 있다고 알려져 있다. 세포주기 (cell cycle)의 G1 phase에서 S phase로의 이행에 있어 cyclin/cyclin dependent kinase (CDK) complex가 중요한 역할을 한다. Cyclin/CDK complex는 retinoblastoma tumor suppressor protein (Rb)의 인산화를 유도하고, 그 결과로 결합되어있던 E2F를 방출하게 되어 DNA 합성이 시작되게 된다. 이러한 cyclin/CDK complex에는 cyclin A/CDK 2, cyclin D1/CDK 4, cyclin E/CDK 2 등이 존재한다. CDK들을 억제하는 CDK inhibitor (CKI)들로는 21 kDa protein (p21)과 27 kDa protein (p27)이 대표적이다. 또한 proliferating cell nuclear antigen (PCNA)은 후기 S phase에서 DNA 합성 지표로 알려져 있다. 선행 연구에서 CLA가 인간의 대장암 세포인 HT-29 세포의 증식을 억제하였기 때문에, 본 실험에서는 CLA가 cell cycle에 미치는 영향을 조사하였다. HT-29 세포에 CLA를 0, 5, 10, 20 μ M로 처리하여 cell cycle을 flow cytometric cell cycle analysis로 측정된 결과, CLA는 HT-29 세포의 G1 phase arrest를 유도하였다. 같은 농도로 처리해 얻은 cell lysate로 western blot을 실행한 결과 cyclin A, E, D1과 CDK 2와 4의 발현정도가 CLA 농도가 증가함에 따라 점차 감소하였다. 또한 phospho-Rb와 PCNA의 단백질 발현이 CLA 농도에 따라 감소한 반면 CKI인 p21과 p27은 CLA 농도가 증가함에 따라 발현이 증가하였으며, p21의 mRNA 역시 현저한 증가를 보였다. Immunoprecipitation (IP)과 western blot analysis 결과에 의하면 CLA가 증가함에 따라 CDK에 결합된 p21이 증가되었다. CLA가 CDK의 activity에 미치는 영향을 IP, *in vitro* kinase assay로 수행한 결과, CDK 2와 CDK 4의 activity가 CLA의 농도에 따라 감소되었다. 본 실험의 결과로부터, CLA는 cyclin과 CDK의 발현을 억제하고 p21의 발현을 증가시키므로서 CDK의 activity를 감소시키고, 그 결과 Rb의 인산화를 억제하여 cell cycle을 G1 phase에서 arrest 하므로서 암세포의 증식을 억제한다는 결론을 내릴 수 있다.