

B-2

Polymannuronate가 HT-29 대장암 세포의 IGF-I과 NF-κB 신호전달에 미치는 영향

김인혜* · 남택정
부경대학교 식품생명공학부

서론

대장암은 서구사회에서 사망률 2위를 차지할 정도로 심각한 문제로 대두되고 있다. 우리나라에서도 경제발전으로 인한 생활수준 향상과 그로인해 식생활 문화가 서구화되어 열량 섭취가 증가하고 동물성 식품의 소비가 증가하여 대장암 발생이 높은 증가 추세를 보이고 있다. 초기진단과 치료방법들이 꾸준히 개선되고 있으나 아직 만족할 만한 단계에 이르지 못하고 있다. 이에 암을 예방하고 치료하는 의약품과 식품의 개발이 활발하게 이루어지고 있으나 항암제의 경우 대부분 화학물질로 부작용을 가져오게 한다. 그러므로 부작용이 적은 항암제 개발을 위해 천연물에 존재하는 생리활성 물질의 검색에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다.

IGFs는 정상조직의 세포증식을 촉진할 뿐만 아니라 종양생성과 암세포증식 과정에 중요한 역할을 하며 그 중에서도 IGF-1과 IGF-1R가 종양발생에 있어서 주요 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 대장암세포를 비롯한 여러 암세포에서 IGF-1이 세포사멸을 방해할 뿐만 아니라 성장을 촉진하며, 인간의 대장암에는 정상적인 주위의 점막조직과 비교하여 IGF-1R의 수가 증가된 것으로 알려져 있다.

Nuclear factor-kappa B(NF-κB)는 면역과 염증반응을 조절하는 전사조절인자로서 세포증식이나 변형과 관련되는 세포신호를 전달한다. 대장암 세포주에서 NF-κB가 활성화되면 세포죽음을 억제하여 항암제에 대한 저항성을 높이고, NF-κB의 활성화가 대장 종양의 생존 신호전달 경로를 활성화 시켜 대장암의 발생에 관여하는 것으로 알려져 있다.

해조류의 항암관련 생리활성에 관한 연구는 꾸준히 진행되어 왔으며, 그 중 갈조류에 존재하는 알긴산은 혈청 지질의 개선효과와 성인병 및 암 등의 예방 및 치료 등에 효과가 큰 것으로 알려져 있으며, HT-29 대장암 세포에 알긴산을 첨가 시 세포증식이 감소됨이 보고되었다. 이러한 효과들은 알긴산의 분자량이 작아질수록 현저히 증대하며, 알긴산의 구성 성분 중 mannuronic acid의 함유 비율이 높을수록 효과가 높아진다는 보고도 있어 polymannuronate의 생리기능성에 대한 관심이 높아지고 있다.

따라서, 본 연구에서는 HT-29 대장암 세포에 알긴산을 저분자화 하여 제조한 polymannuronate를 첨가하였을 때 세포증식에 관여하는 IGF-1R과 NF-κB의 신호전달에 어떠한 영향을 미치는 지 검토하였다.

재료 및 방법

재료 : polymannuronate는 미역으로부터 산알칼리법으로 추출하여 (alginate ; whole molecular) 초산으로 50 kDa으로 저분자화 시켜 분리 정제하였다.

세포 생존율 측정: 96-well plate에 50,000 cells/well의 밀도로 분주한 후, 농도별로 polymannuronate를 처리하여 MTS assay 방법을 이용하여 측정하였다.

Hechst 33342 staining: 24-well plate에 동일한 밀도로 분주하고 농도별로 polymannuronate를 처리한 후 hechst 33342로 염색하여 형광현미경 관찰하였다.

Western blot 분석: 100mm plate에 50,000 cells/well의 밀도로 세포를 분주하였다. Polymannuronate를 첨가하여 세포를 배양한 뒤 회수하고 단백질 정량하여 western blot 및 immunoprecipitation 방법으로 분석하였다.

결과 및 요약

본 연구에서는 HT-29 대장암세포에 polymannuronate를 첨가하였을 때 세포 생존에 관여하는 IGF-1R과 NF- κ B의 신호전달에 미치는 영향을 보고자 하였다. 배양액에 polymannuronate를 농도별로 첨가하여 살아있는 세포수를 측정한 결과, 세포의 증식이 감소되었고 hechst 33342 staining에서도 동일한 결과를 보였다. 또, 세포의 증식을 촉진하고 대장암에서 발현이 증가된다고 알려져 있는 IGF-1을 첨가하여 살펴본 결과, phosphotyrosin, IRS-1, PI3K의 신호전달이 억제되었다. 세포사를 억제하는 것으로 알려진 NF- κ B의 신호전달기전에서는 I κ B와 세포질에서 핵으로 이동되는 핵 NF- κ B 단백질 수준이 감소하는 것을 확인하였다. 그 결과, polymannuronate가 IGF-1R과 NF- κ B의 활성화를 억제하여 세포의 증식을 억제한다는 것을 확인할 수 있었다.

참고문헌

- Salmon, D. S, R. Brandt, F. Ciardiello and N. Normanno. 1995. Epidermal growth factor-related peptides and their receptors in human malignancies. *Cirt. Res. Oncol. Hematol.* 19: 183-232.
- Lee. H. S., J. I. Jung, Y. H. Kang., F. Khachik. and J. H. Yoon. 2003. Effect of Lycopene on the Insulin-like Growth Factor-1 Receptor Signaling Pathway in Human Colon Cancer HT-29 Cells. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 32: 437-443.