

: 배아 줄기세포의 전능성 및 기능 조절 (II)

- 지난 호에 이어 -

2. 호르몬 및 신경전달물질

A. 에스트로겐(Estrogen)

에스트로겐의 생물학적 반응은 에스트로겐 수용체 α 와 β 에 의해 일어나는 것으로 알려져 있다(68). 이들 핵 내 수용체를 포함한 많은 전사 인자들이 마우스 배아줄기세포의 기능을 조절하나, 에스트로겐에 의한 마우스 배아줄기세포의 기능조절에 대해서는 거의 알려진 바가 없다. 그러므로 저자들은 마우스 배아줄기세포의 DNA 합성에 있어서 에스트로겐의 영향과 그와 관련된 신호전달 경로를 밝히고자 하였다.

에스트로겐은 [3 H]thymidine incorporation, BrdU incorporation 및 세포 수를 증가시켰으며, 이 효과는 에스트로겐 수용체 차단제인 타목시펜에 의해 억제되었다. 실제로, 에스트로겐은 에스트로겐 수용체 α 와 β 의 단백질 수준과 프로토온코젠(c-fos, c-jun, 그리고 c-myc)의 mRNA 발현 수준을 증가시켰다. 또한 에스트로겐은 CDK 2와 CDK 4 뿐만 아니라 사이클린 D1과 E도 증가시켰으며, 이러한 세포주기 조절 단백질들의 증가는 PD98059 (MEK 억제제)에 의해 억제되었다. 이와는 대조적으로 에스트로겐은 p21^{cip1}과 p27^{kip1}(CDK 억제 단백질)의 수준을 감소시켰다. 이상의 결과를 요약하여 에스트로겐은 마우스 배아줄기세포의 증식을 촉진시키며, 이러한 작용은 MAPKs, CDKs 또는 프로토온코젠을 경유하여 이루어진다는 것을 보고하였다(69).

또한, 에스트로겐과 caveolin의 상관관계를 밝히고자 연구를 실시하였고, 배아줄기세포에서 에스트로겐은 caveolin-1, caveolin-2의 발현을 증가시켰고 에스트로겐 길항제인 ICI 182, 780에 의해 억제되었다. 에스트로겐은 caveolin-1, Src, Akt를 인산화시켰고, 이는 ICI 182,780, PP2(Src-kinase 억제제)에 의해 유의성 있게 차단되었다. LY 294002 (PI3K 억제제)와 PD 98059(MAPKs 억제제)에 의해서도 에스트로겐에 의한 caveolin-1 발현과 [3 H] thymidine 합성 증가가 억제되었다.

Caveolin-1 선택적 siRNA의 transfection은 에스트로겐에 의한 원형암유전자(c-fos, c-myc, c-jun), 세포주기 조절단백질, 세포주기 중 S phase의 증가를 감소시켰다. 결론적으로 에스트로겐은 Src, PI3K/Akt, ERK1/2 신호전달계를 통해 caveolin-1 발현을 증가시켜 배아줄기세포의 증식을 촉진시킴을 밝혔다(70).



이 유 진
전남대학교
BK21 바이오치료 산업 인력양성 사업팀
crony0213@hanmail.net



한 호 재
수의생리학 박사
전남대학교 교수
hjhan@chonnam.ac.kr

B. 프로스타글란딘 E₂ (Prostaglandin E₂)

프로스타글란딘 E₂는 배아 발달과 성체줄기세포의 항상성 유지 및 혈액줄기세포 성장에 중요하며, 마우스 배아줄기세포를 세포자멸사(apoptosis)로부터 보호하고 세포 증식을 조절하는 인자로 보고 되었다(71, 72). 그러므로 저자들은 프로스타글란딘에 의한 배아줄기세포 증식 조절 기전에 대해서 알아보았다.

프로스타글란딘 E₂는 [³H]thymidine incorporation, 세포주기 조절단백질의 발현, 세포 주기 중 S phase의 세포 분포, 세포 수를 모두 증가시켰고 E-type 프로스타글란딘 수용체 1 (EP1)의 유전자 발현을 증가시켰다. 프로스타글란딘 E₂는 PKC, Src, EGF 수용체, PI3K/Akt, p44/42 MAPKs의 인산화를 증가시켰고, 각각의 억제제는 프로스타글란딘 E₂에 의한 세포 증식을 억제하였다. 결론적으로 프로스타글란딘 E₂는 EP1 수용체를 통한 PKC, Src 신호전달 경로와 더불어 EGFR을 통한 PI3K/Akt의 신호전달 경로를 통해 p44/42 MAPKs를 활성화시켜 배아줄기세포를 증식시켰다(73).

C. 도파민(Dopamine)

도파민은 중추신경계통에서 운동, 인지와 감정을 조절하는 중요한 신경전달물질이지만, 말초에서 혈관의 긴장도, 콩팥의 기능과 위장의 운동을 조절하며, 세포의 증식 조절 등에 관여한다. 도파민은 장 상피세포와 T cell의 증식을 조절하며, 위암, 대장암과 뇌하수체 암세포의 증식을 도파민 D1 수용체를 통해 억제한다.

도파민의 세포 내 기능 조절은 D1과 D2 수용체를 통해 유도되며, 이 두 수용체는 각각 뚜렷한 기능을 가지고 있으면서 또한 서로 링크되어 세포 내 다양한 반응을 유도하는 것으로 보고되었다(74). 저자들은 마우스 배아줄기세포에 DNA 합성에 대한 도파민의 효과와 그에 관련된 신호전달 경로를 조사하였다.

도파민은 DNA 합성을 시간과 농도에 의존적으로 감소시켰으며, 도파민 D1과 D2 수용체가 마우스 배아줄기세포에서 발현이 되며 DNA 합성 억제에 관여한다는 것을 밝혔다. 도파민은 세포 내 cAMP를 증가시켰으며, PKC를 활성화시켰다. 또한 PLC 활성화와 L형 Ca²⁺ 통로를 통해 세포 내 Ca²⁺ 농도를 증가시켰다.

도파민은 p38, p44/42 MAPKs 및 SAPK/JNK를 각각 인산화 시켰으며, 세포 내 H₂O₂ 형성을 증

가시킴으로써 NF- κ B의 활성을 유도하였다. 도파민에 의한 이들 신호전달물질들의 활성은 세포주기 조절 단백질(cyclin D1, cyclin E, CDK 2, CDK 4)의 발현을 억제함으로써 마우스 배아줄기세포의 DNA 합성을 억제시킬 수 있음을 보고하였다(75).

D. 아데노신 (Adenosine)

아데노신은 아데노신 일인산의 탈인산화로 인해 생성되는 뉴클레오시드로 ATP 형성과 분해의 중간 물질이다.

아데노신은 세포 내 신호전달과 생리학적 조절에 중요한 인자로서(76) 세포 밖에서 주어진 아데노신이 세포 내 사이토카인 생성과 연관성을 알아보하고자 하였다.

Adenosine 유사체로서 5' -N-ethylcarboxamide (NECA)는 배아줄기세포에서 IL-6 단백질 발현을 증가시켰고 아데노신 수용체 중 A₁, A_{2A}, A_{2B}, A₃의 발현 증가를 확인하였다. NECA는 IL-6 mRNA와 단백질의 발현 증가, Akt, PKC 인산화와 세포 내 Ca²⁺ 및 cAMP를 증가시켰고, 이는 caffeine에 의해 억제되었다.

한편, NECA 에 의해 증가된 IL-6 분비는 Akt 억제제, PKC 억제제 (bisindolylmaleimide I), adenylate cyclase inhibitor (SQ 22536)에 의해 억제되었다. NECA는 MAPKs 인산화를 증가시키는데 이는 Akt 억제제, bisindolylmaleimide I, SQ 22536에 의해 억제되었다. NECA에 의한 IL-6 발현 및 분비의 증가와 NF- κ B 인산화, CREB 인산화 증가는 MAPKs 억제제에 의해 모두 억제되었다. 결론적으로 NECA는 배아줄기세포의 세포막의 adenosine receptor를 통해 Ca²⁺/PKC, PI3K/Akt 또는 cAMP 생성을 증가시켜 MAPKs와 NF- κ B를 활성화시킴으로써 IL-6 발현을 증가시켰다(77). 또한, 세포 외에 존재하는 아데노신 삼인산(ATP)은 배아단계의 다양한 세포들의 Ca²⁺ 농도를 증가시켜 세포 증식, 이동 및 분화에 관여하는 것으로 알려져 있다.

ATP는 구조적으로 크게 두 종류의 수용체 즉 P2X와 P2Y를 통해 세포 내 다양한 반응을 유도하며 이들 수용체는 배아발달에 있어서 중요한 역할을 한다고 보고되었다(78). 저자들은 마우스 배아줄기세포의 증식에 있어 ATP의 효과와 그와 관련된 신호전달경로에 대해 알아보았다.

ATP는 시간과 농도 의존적으로 [³H]thymidine 결합, BrdU 결합 및 세포 수의 증가를 시켰으며 RT-PCR 분석에서 마우스 배아줄기세포는 P2X₃, P2X, P2Y₁, P2Y₂ 수용체 발현을 보였다. 또한 ATP는 세포 내의 cAMP와 IPs의 수준을 증가 시켰으며, PKC α , δ , ζ 를 세포질에서 세포막으로

전위 시켰다. ATP에 의한 Ca^{2+} 활성화는 세포막을 통한 Ca^{2+} 유입에 의한 것이고, ATP에 의한 세포 내 Ca^{2+} 증가는 ATP-gate 비특이적 양이온 통로(P2X 이온 채널)와 P2Y 수용체 모두에 의해 유도되었다.

PI3K 경로는 배아줄기세포에서 증식, 생존, 다능성의 유지에 있어서 중요하다. 따라서 저자들은 PI3K/Akt 인산화에서 세포 외의 ATP의 효과를 실험하여 PI3K의 하위 경로가 마우스 배아줄기세포의 증식에 연관 되어 있음을 알 수 있었다.

또한 이전 연구의 결과들과 같이 세포 주기 조절 단백질(cyclin D1, cyclin E, CDK 2, CDK4)의 조절은 PI3K와 p44/42 MAPK 경로에 의존적임을 알았다. 이것은 세포 외에 존재하는 ATP가 세포 주기를 활성화시키는데 충분한 역할을 할 수 있음을 의미한다. 또한 ATP 수용체가 한 번 활성화 되면, PKC는 Raf-1, MEK, ERK를 포함하는 MAPK 증폭의 하나 또는 그 이상을 통해 핵으로 신호를 전달시키고, 프로토온코젠을 활성화시킨다.

이러한 결과 들은 세포 외 ATP가 포유류 배아 발달 동안 중요한 생리학적 역할을 하고, 마우스 배아줄기세포 기능을 조절하기 위한 새롭고 강력한 도구가 될 수 있다는 것을 보여 준다. 이상의 결과를 요약하여 ATP는 P2X와 P2Y 퓨리너지 수용체를 통한 PKC, PI3K/Akt, p44/42 MAPK에 의존적인 신호전달경로를 통해 마우스 배아줄기세포의 증식을 조절 할 수 있다는 것을 보고하였다(79).

E. 에피네프린 (Epinephrine)

에피네프린은 아드레날린성 수용체(adrenergic receptor, AR)를 통해 배아 발달과 기관 형성에 관여하며 세포 증식, 분화, 이동 조절에 중요한 카테콜라민이다(80). 그러므로 에피네프린에 의한 배아줄기세포의 세포 증식 조절 기전에 대해 알아보았다.

에피네프린은 DNA 합성 및 AR subtype ($\alpha 1A$, $\alpha 2A$, $\beta 1$, $\beta 2$ 및 $\beta 3$) mRNA 발현을 증가시켰다. 세포 내 cAMP, Ca^{2+} , PKC 활성화시키며 에피네프린에 의해 인산화된 EGFR에 의해 Akt 인산화가 유도되었다.

또한, PKC 또는 Akt를 억제시켰을 때는 에피네프린에 의한 p44/42 MAPKs의 인산화가 감소되었으며, p44/42 MAPKs를 억제했을 때는 에피네프린에 의해 증가된 protooncogenes (c-fos, c-jun의 c-myc)의 발현이 감소되었다.

이를 바탕으로 에피네프린은 cAMP, Ca^{2+} /PKC, PI3K/Akt, ERK의 신호전달계를 통해 배아줄기세포의 DNA 합성을 증가시킴을 보고하였다(81).

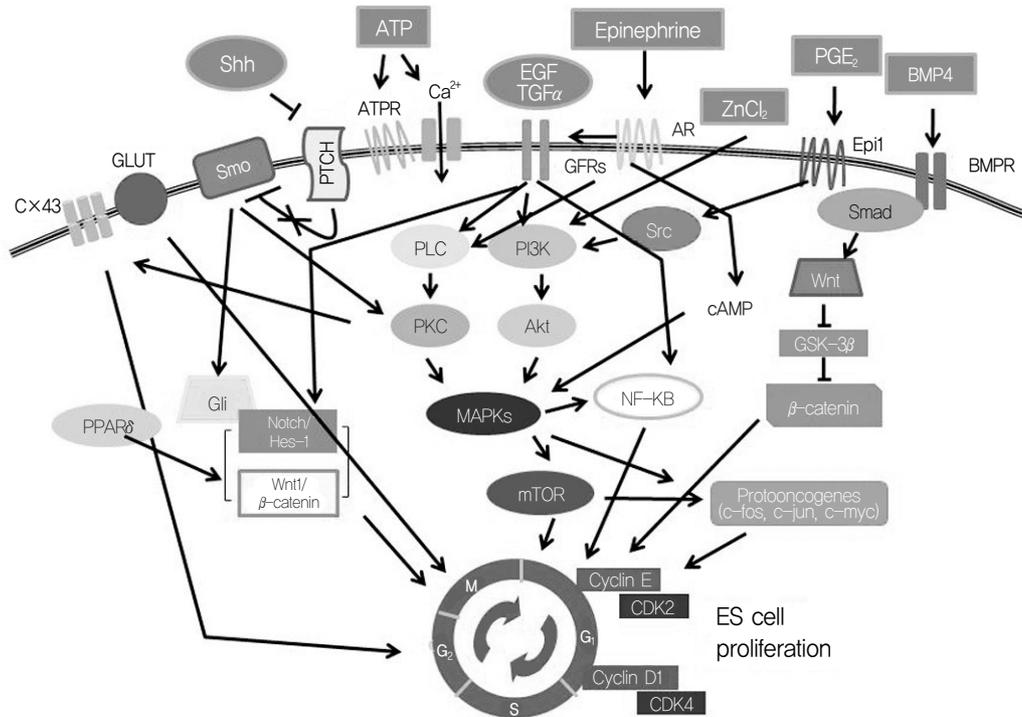


그림 2. 수용성 인자에 의한 줄기세포 기능 조절

3. 세포외 기질 및 간극 연결(Gap junction)

A. 라미닌(Laminin)

세포외 기질 성분 중 하나인 라미닌은 초기 배아 발달 중인 세포에 최초로 접촉하는 인자로서 배아 줄기세포 배양 시 가장 중요한 인자로 여겨지고 있다. 특히 라미닌은 세포막의 특정 수용체와 상호 작용하여 세포 부착, 이동, 성장, 분화, 세포사를 비롯한 다양한 세포 내 기능 조절 인자로서 알려져 있다(82, 83). 저자들은 라미닌을 배아줄기세포에 처리하여 세포 이동에 미치는 영향을 확인한 후 이에 관여하는 유전자와 단백질들을 알아보고 그 역할을 분석하고자 하였다. 라미닌 (10 μ g/ml)은

세포응집을 감소시켰고 세포이동은 증가시켰고 라미닌이 결합된 $\alpha6\beta1$ integrins과 라미닌 수용체 (LR1; laminin receptors 1)의 mRNA 수준은 감소하였다. 또한 라미닌은 FAK와 paxillin 인산화와, 세포내 cAMP 농도, Epac1과 Rap1의 발현 수준을 증가시켰는데 이러한 증가는 $\alpha6\beta1$ integrins과 LR1의 중화항체에 의해 완전히 억제되었다. 이로써 라미닌에 결합하는 LR1은 $\alpha6\beta1$ integrins의 활성화에 보조역할을 하며 신호전달경로를 활성화함을 의미한다.

라미닌은 하위 신호전달경로로서 Rac1/cdc42와 protein p21-activated kinase 1(PAK1)을 증가시켰으며 뒤이어 E-cadherin 복합체의 와해를 촉진하였다. 결론적으로, 라미닌은 $\alpha6\beta1$ integrins과 LR1에 결합 한 후 FAK/paxillin과 cAMP/Epac1/Rap1을 활성화 하며 이는 Rac1/cdc42를 독립적으로 촉진시켜 PAK1을 활성화시켰다. 이를 통해 활성화 된 E-cadherin 복합체는 배아줄기세포의 이동을 촉진하였다(84).

B. 파이브로넥틴(Fibronectin)

파이브로넥틴은 성장과 관련하여 가장 많이 알려진 외부기질 구성원으로, 세포의 부착, 이동, 생존을 촉진한다. 파이브로넥틴 단백질이 세포막 integrin에 결합하면 세포의 생존, 부착, 이동을 위한 신호전달이 개시된다(85, 86). 그러므로 저자들은 파이브로넥틴이 마우스 배아줄기세포 성장에 미치는 영향과 이와 관련된 신호전달 경로를 조사하였다.

파이브로넥틴은 시간 의존적으로 integrin $\beta1$, Src, FAK, caveolin-1을 인산화 시켰고 이들 인산화는 integrin $\beta1$ 중화항체에 의해 감소되었다. 파이브로넥틴은 caveolin-1과 함께 integrin $\beta1$, Src, FAK 복합체를 형성함을 면역침전법을 통해 확인하였고 파이브로넥틴에 의해 증가된 RhoA와 Rho kinase는 PP2, FAK siRNA, caveolin-1 siRNA, M β CD에 의해 유의성 있게 차단되었다.

파이브로넥틴은 Akt와 ERK 1/2 인산화를 증가시켰으며, 이는 FAK siRNA, caveolin-1 siRNA, M β CD, GGTI-286 (RhoA 억제제), Y-27632 (Rho kinase 억제제)에 의해 억제되었다. 파이브로넥틴은 원형암유전자 (c-fos, c-myc, c-jun)와 세포주기조절 단백질 (cyclin D1/CDK4, cyclin E/CDK2)의 발현을 증가시켰으며, 이는 FAK siRNA와 caveolin-1 siRNA 처리 시 감소하였다. 나아가, 각 신호전달 경로를 차단할 경우 파이브로넥틴에 의해 증가된 [³H]-thymidine incorporation이 억제되었다.

결론적으로, 파이브로넥틴은 caveolin-1의 인산화를 통해 RhoA-PI3K/Akt-ERK 1/2 경로를 활성화시켜 배아줄기세포의 증식을 촉진시키는 것을 밝혔다(87).

C. Galectin-1

가. GLUT 조절

Carbohydrate-binding protein 패밀리의 하나인 galectin-1은 주로 glycan의 lactosamine 구조에 결합하는 lectin으로 배아줄기세포를 비롯한 다양한 줄기세포에서 발현된다(88, 89). Galectin은 줄기세포의 자가 재생, 증식, 분화를 결정하는 중요한 역할을 하며 신호 전달과 세포-세포 상호작용과 부착을 조절하는데 중요한 인자이다(90, 91). 그러므로 galectin-1이 배아줄기세포의 기능을 조절하는 중요한 인자로서 그 기전을 알아보았다. Galectin-1은 2-DG uptake를 시간 및 농도 의존적으로 증가시켰으며, 이는 GLUT-1 포도당 transporter의 발현 증가에 의한 다는 것을 알 수 있었다. 또한, GLUT-1의 발현을 억제하였을 때, 배아 줄기세포의 증식이 억제되는 것을 확인함으로써, 포도당의 흡수 및 GLUT-1의 발현이 배아 줄기세포의 증식에 중요한 역할을 하는 것을 알 수 있었다. Galectin-1은 또한 Ca^{2+} /PKC, ERK1/2, Akt 및 mTOR 신호전달 기전을 활성화 하였으며, 이를 억제하였을 때, GLUT-1의 발현 및 포도당의 세포 내 흡수 또한 억제되는 것을 알 수 있었다. 결론적으로 galectin-1은 Ca^{2+} /PKC, ERK1/2, Akt 및 mTOR 신호전달계를 통해 포도당 흡수를 증가시키는 것을 확인하였다(92).

나. 세포 증식 조절

Galectin-1은 [3 H]thymidine incorporation과 세포주기 조절단백질의 발현, Src와 caveolin-1 인산화를 증가시켰고, Src 억제제인 PP2는 caveolin-1 인산화를 억제시켰다. 또한 caveolin-1 siRNA와 M β CD는 galectin-1에 의해 증가된 [3 H]thymidine incorporation과 세포주기 조절 단백질의 발현을 억제하였다. Galectin-1에 의해 증가된 Akt와 mTOR 인산화는 PP2, ERas siRNA, caveolin-1 siRNA, M β CD에 의해 억제되고 Akt 억제제와 mTOR 억제제 (rapamycin)는 galectin-1에 의해 증가된 세포주기조절 단백질 발현을 감소시켰다. 그러므로 galectin-1은 Src 및 caveolin-1을 활성화 시켜 Akt, mTOR 신호전달기전을 경유하여 배아줄기세포의 증식을 촉진시키는 것을 보고하였다(93).

D. 간극연접 (Gap junction)

Gap junction은 세포간의 연락 채널로서 세포 증식과의 연관성에 대한 연구가 이루어지고 있다. 한 세포에는 세포막 관통 단백질인 connexin (Cx) 6개가 모여 반원형의 connexon을 이루고, 이웃 세

포의 connexon이 결합하여 직경 1.5 nm의 원통형의 gap junction를 구성하여 1kDa 이하의 작은 대사산물과 무기염류의 이동 통로가 된다. 이러한 세포간 연락은 세포 이동과 증식과 같은 다양한 세포 기능 조절과 관련되어 있다. 또한, gap junction을 통한 연락의 변화는 정상 세포 주기에 필수적이며 Cx 단백질은 세포 사이의 대사산물과 전기 신호전달뿐 아니라 배아 발달과 세포 성장조절에 중요한 역할을 하는 것으로 밝혀졌다(94, 95). 특히 gap junction의 인산화는 채널의 기능과 분해와 합성 조절에 중요하며, Cx43은 배아줄기세포에서 가장 발현이 잘되는 subtype으로 알려져 있다(95).

저자들은 성장인자인 EGF와 배아줄기세포의 Cx43 조절과 세포 기능 조절의 연관성에 대해 연구하였다. EGF는 농도, 시간 의존적으로 Cx43 인산화를 증가시켰으며, 이는 EGFR 억제제인 AG 1478과 herbimycin A에 의해 유의성 있게 차단되었다. EGF는 Ca^{2+} 유입과 PKC, p38, 그리고 p44/42 MAPKs를 활성화시켰고, Ca^{2+} 킬레이트제와 PKC 억제제, p38 억제제, p44/42 MAPKs 억제제에 의해 Cx43의 인산화가 유의성 있게 차단됨을 확인하였다. 한편, EGF와 18α -GA (gap junction 억제제)는 protooncogene (c-fos, c-myc, c-jun) 발현과 세포주기 조절 단백질, 세포 수, GLUT-1 단백질 합성, 그리고 2-DG 흡수를 증가시켰다. 또한, Cx43 siRNA의 transfection 역시 세포 수와 2-DG 흡수를 증가시켰다. 이들 결과를 토대로 EGF에 의한 Cx43의 인산화가 배아줄기세포 증식을 촉진하는데 일조하는 것을 밝혔다(96).

한편, 다양한 세포에서 ATP는 gap junction을 통한 세포 내 연락을 감소시키며, ATP 고갈은 gap junction을 활성화시킨다는 보고가 있다(97). 또한, 아데노신과 NECA는 Cx43 mRNA와 단백질의 발현을 촉진시킨다는 보고(98)를 바탕으로 NECA가 gap junction과 Cx43의 발현에 영향에 대해 연구하였다. 아데노신 유사체인 NECA는 Cx43의 인산화를 증식시켰으며, 이러한 효과는 아데노신 수용체 억제제인 caffeine에 의하여 억제되었다. 또한 gap junction을 통한 세포간 물질이동 정도를 측정하는 SL/DT assay에서 NECA는 인접세포로의 Lucifer yellow의 이동을 억제 시켰다. 또한 PI3K/Akt, PKC, MAPKs, NF- κ B의 인산화를 유도시켰으며 이러한 신호 전달체계의 억제는 NECA에 의한 Cx43의 인산화를 감소시켰다. 더욱이 NECA 처리된 세포는 Src의 인산화를 유도 하였으며, caffeine 전 처리에 의하여 그 효과를 억제 시킬 수 있었다. Cx43의 siRNA를 통한 Cx43의 억제 또한 Src의 인산화를 유도되었다. 이 후 실험에서 NECA에 의한 Integrin β 1, FAK 과 paxillin의 인산화가 caffeine 전 처리나 Src 억제제인 PP2 전 처리에 의하여 억제되는 것을 확인하였다. 결론적으로 NECA는 PI3K/Akt, PKC, MAPKs, NF- κ B를 통하여 Cx43의 인산화를 유도 하였으며, 이는 Src, Integrin β 1, FAK, paxillin 신호전달 체계를 통하여 세포의 이동 및 증식을 촉진 하는 것을 밝혔다(99).

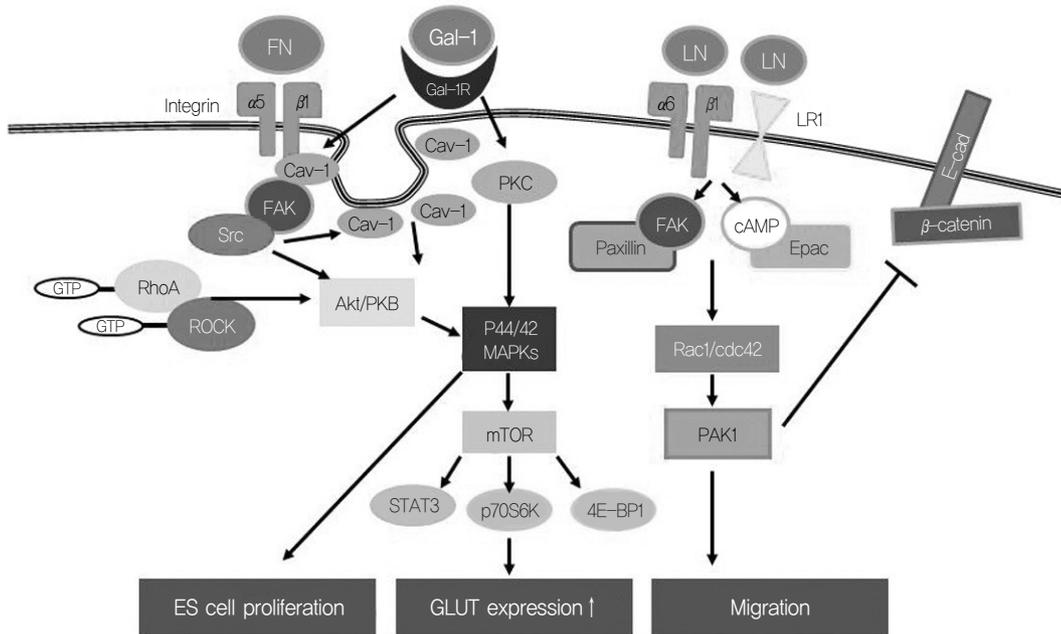


그림 3. 세포외기질에 의한 줄기세포 기능 조절

4. 세포외 미세 환경

A. 고평도당

가. GLUT 조절

GLUT1은 배아 발달의 모든 단계에서 중요한 포도당 운반체이며 모체가 당뇨병일 때 착상 전의 배아는 포도당의 흡수 그리고 GLUT1의 발현을 감소시키고 이는 배아의 형성 이상과 관련이 있다고 알려져 있다(100).

고혈당에 의한 GLUTs의 발현 저하와 배반포기 시기에 포도당의 저하는 세포 자멸사를 일으키고 이는 내세포덩어리와 영양막 세포의 손실을 가져온다. 최근 결과들은 이전의 결과들과 마찬가지로 배양된 태반 영양막 세포들에서 고평도당은 GLUT1의 mRNA수준을 감소시킴을 보여 주었다(101).

저자들은 마우스 배아줄기세포에서 고포도당의 2-DG 흡수에 대한 영향과 관련 신호 전달 경로에 대해 실험을 하였다. 고포도당 24시간 처리 시 2-DG 흡수는 가장 억제되었으나 만니톨과 텍스트란은 흡수에 영향을 주지 않았으며, GLUT1의 mRNA와 단백질 발현을 감소시켰다. 고포도당은 세포 내 cAMP 양을 증가시켰다.

또한 고포도당에 의한 산화적 스트레스가 PKC 및 MAPK와 같은 여러 종류의 단백질 카이네이즈의 활성을 증가시켰다(102, 103). 마우스 배아줄기세포에서도 고포도당은 p38과 p44/42 MAPKs를 활성화 시켰으며, 이 과정에 활성산소와 PKC가 관련되어 있음을 밝혀내었다. 이상의 결과를 요약하여 고포도당은 마우스 배아줄기세포에서 cAMP, PLC/PKC, 산화성스트레스 및 MAPK를 통하여 2-DG 흡수를 억제 한다는 것을 보고하였다(104).

B. 세포 증식 조절

포도당은 대부분의 동물세포에서 중요한 에너지원이며, 특히 태아의 발달 동안 중요하다. 최근 고포도당은 유전자 표현, 인슐린 분비, 신경전달물질과 세포사멸 등에 다양한 영향을 끼친다고 보고되었다(105, 106).

비정상적인 포도당 농도는 초기 배아의 발달과 기능에 매우 중요한 영향을 미치게 된다. 저자들은 고포도당 상태에서 마우스 배아줄기세포의 세포 증식과 그 기전을 밝혀내기 위해 신호전달 경로를 조사해 보았다. 고포도당이 [³H]Thymidine, Leucin, Prolin 및 BrdU 결합을 시간과 농도 의존적으로 증가시켰다. 더욱이 고포도당은 세포 내에서 ROS를 증가 시켰으며, Akt와 MAPKs를 인산화시켰다.

고포도당은 cyclin D1, cyclin E, CDK 2와 CDK 4 단백질을 증가시켰다. 세포의 G1/S단계에서 작용하고 있는 세포 주기 조절 단백질인 cyclin D1, cyclin E, CDK 2와 CDK 4는 PI3K 억제제, Akt 억제제 그리고 p44/42 MAPKs 억제제에 의해 감소되었다.

고포도당은 PI3-K와 Akt의 억제에 의해 감소했던 RB 단백질을 인산화시켰다. 이상의 결과를 요약하여 고포도당은 PI3K/Akt와 MAPKs 신호전달계를 통하여 마우스 배아줄기세포 증식에 관여하는 것을 보고하였다(107).

효과적으로 배아줄기세포를 증식시키고 그 기전을 밝히기 위해 고포도당 상태에서 증가하는 인자로 알려진 안지오텐신 II를 병합 처리하였다. 25mM의 고농도 포도당과 안지오텐신 II의 병합 처리는 5mM 농도의 포도당을 처리했을 때에 비해 더 높은 세포 내 STAT3의 인산화와 Ca²⁺ 유입 증가를 유도하였고, PKC α , β , ϵ , ζ 의 활성화를 증가시켰다.

또한, 이는 p38과 p44/42 MAPKs의 인산화를 증가시키고, protooncogene과 세포 주기 조절 단백질인 cyclin/CDK의 발현을 증가시켜 DNA 합성과 세포 수를 증가시켰다. 이러한 효과는 안지오텐신 type I 수용체 (AT1)의 차단에 의해 억제되었다. 결론적으로 고포도당과 안지오텐신 II의 병합처리는 Ca^{2+} /PKC, MAPKs, AT1 수용체를 통한 배아줄기세포의 증식을 촉진시키는데 상승작용을 보여주었다(108).

또한, 고포도당에 의해 세포 증식이 촉진되는 기전으로서 세포의 기질 성분의 합성에 미치는 영향과 이와 관련된 신호전달경로를 탐색하였다. 고포도당은 배아줄기세포의 세포외 기질 성분인 파이브로넥틴의 단백질과 mRNA 발현을 증가시켰고, 고포도당과 안지오텐신 II의 병합처리 할 경우 파이브로넥틴 발현이 더욱 증가되었다. 고포도당이 안지오텐신 II-수용체 1(AT1R)의 발현을 증가시킴을 확인하고 고포도당은 세포내 칼슘농도와 PKC 인산화를 증가시켰으며, 이를 억제하였을 때 발현이 감소되었다.

고포도당과 안지오텐신 II의 병합처리 시 TGF- β 1 발현은 증가되었으며 losartan (AT1R 길항제)전처리 시 고포도당에 의해 증가된 TGF- β 1의 발현이 억제되었다. TGF- β 1 siRNA는 고포도당에 의해 증가된 파이브로넥틴과 JNK의 활성을 억제하였고 JNK의 억제는 고포도당에 의해서 증가된 세포주기조절단백질 발현을 억제하였다. AT1R, Ca^{2+} /PKC, TGF- β 1, JNK, 파이브로넥틴 수용체의 억제는 고포도당에 의해 증가된 DNA 합성 및 세포 주기 중 S기에 있는 세포 수를 감소시켰다. 결론적으로 고포도당은 안지오텐신 II와 TGF- β 1 신호전달 경로를 통하여 배아줄기세포의 증식을 촉진함을 확인하였다(109).

고포도당에 의한 배아줄기세포의 성장 조절에 있어서 caveolin-1(Cav-1)과 integrin β 1(IN β 1)의 연관성은 명확히 밝혀지지 않으므로 저자들은 마우스 배아줄기세포 증식을 조절하는데 고포도당이 Cav-1과 IN β 1의 발현에 미치는 영향과 관련 신호전달계를 확인하고자 하였다. 고포도당에 의해 Cav-1과 IN β 1의 발현이 증가되었고, Cav-1 siRNA처리하였을 때는 IN β 1 발현 증가가 억제되었다.

고포도당에 의해 증가된 활성산소종은 p38 MAPK 인산화를 촉진시키고, 이를 억제하면 Cav-1과 파이브로넥틴의 발현이 감소되었다. 또한 고포도당은 Src와 focal adhesion kinase (FAK)의 인산화를 촉진시키며 이 반응은 IN β 1 중화항체 처리 시 억제되었다. 또한, 고포도당에 의해 PINCH-1/2, integrin-linked kinase (ILK), α -parvin의 PIP 복합체 단백질의 발현이 증가되었고, 이는 FAK siRNA와 Src 억제제인 PP2를 처리하였을 때 감소됨을 확인하였다. 고포도당에 의해 F-actin의 발현이 증가되었고 ILK, PINCH1/2, α -parvin siRNA 처리

시 그 증가가 억제되었으며, 마지막으로, 고포도당에 의해 촉진된 배아줄기세포 증식은 TRIO and F-actin binding protein (TRIOBP) siRNA처리로 F-actin을 억제하였을 때 감소되었다. 이와 같이 고포도당에 의한 Cav-1과 IN β1의 활성화는 focal adhesion 신호전달계를 통해 배아줄기세포 증식을 증가시킴을 보고하였다(110).

- 다음호에 계속 -

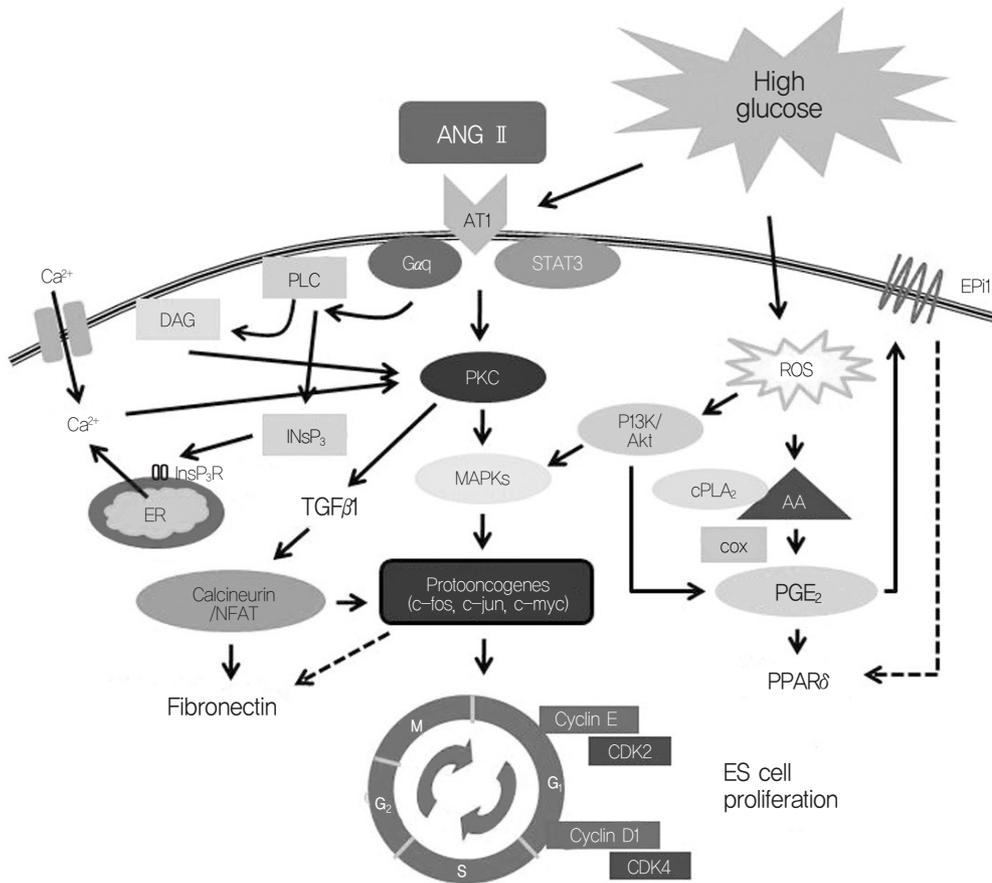


그림 4. 고포도당에 의한 줄기세포 기능 조절