

## [O-6]

### Conjugated linoleic acid (CLA) isomers가 인간의 대장암 세포인 HT-29의 erbB3 signaling에 미치는 영향

조한진, 이현숙, 윤정한

한림대학교 생명과학부

CLA는 공액된 이중 결합을 가지고 있는 linoleic acid의 위치적, 기하학적 이성체들의 혼합물로서 *in vivo*, *in vitro* 실험에서 강한 항암작용을 나타내고 있다. 여러 종류의 암의 발생에 기여한다고 알려진 erbB receptor family는 epidermal growth factor receptor (EGFR)로 불리기도 하는 erbB1과 erbB2, erbB3, erbB4로 구성되며, 여러 EGF family hormone들의 자극을 받아 다양한 기전으로 세포의 증식과 분화에 중요한 역할을 한다. 본 연구실의 선행 연구에서 CLA는 erbB3 receptor의 신호전달 체계를 억제함으로써 대장암세포의 증식을 억제하고 apoptosis를 증가시킴을 관찰하였다. 따라서 본 실험에서는 CLA를 구성하는 개별 이성체들 중 각각 48%씩 존재하는 *trans*-10,*cis*-12 CLA와 *cis*-9,*trans*-11 CLA의 효과를 비교함으로써 CLA의 대장암세포 증식억제 기전을 연구하였다. 세포 배양액에 0, 4  $\mu$ M의 *trans*-10,*cis*-12 CLA를 첨가한 배지에 0, 20 ng/mL heregulin- $\beta$  (HRG)를 첨가하여 배양하였다. *Trans*-10,*cis*-12 CLA의 첨가는 살아있는 세포수의 감소를 가져왔고 HRG의 첨가는 세포수를 증가시켰다. 그러나 HRG의 첨가는 *trans*-10,*cis*-12 CLA의 세포수 감소를 억제하지 못하였다. [<sup>3</sup>H]thymidine assay와 annexin-V staining을 통하여 *trans*-10,*cis*-12 CLA는 DNA 합성을 억제하고 apoptosis를 증가시키는 것을 관찰하였으며 HRG의 첨가는 *trans*-10,*cis*-12 CLA에 의한 apoptosis를 약간 감소시켰다. 그러나 *cis*-9,*trans*-11 CLA를 같은 농도로 첨가하였을 때에는 아무런 영향을 미치지 않았다. *Trans*-10,*cis*-12 CLA가 HRG/erbB2/erbB3 신호전달을 억제하는지 조사하기 위해서 Western blot과 RT-PCR analysis를 수행한 결과, *trans*-10,*cis*-12 CLA는 erbB2와 erbB3 단백질과 mRNA의 발현을 감소시켰으나 *cis*-9,*trans*-11 CLA는 이 receptor의 단백질과 mRNA 발현에 아무런 영향을 미치지 않았다. HRG으로 erbB3을 활성화시켰을 때 *trans*-10,*cis*-12 CLA는 Akt의 활성화를 억제하였으나 *cis*-9,*trans*-11 CLA는 영향을 미치지 않았다. Immunoprecipitation과 Western blot analysis, *in vitro* phosphomositide 3-kinase (PI3K) activity 측정에 의하면 *trans*-10,*cis*-12 CLA는 HRG에 의해 유도된 erbB2, erbB3의 인산화, erbB3와 PI3K의 p85 regulatory subunit의 결합, PI3K의 activity를 억제하였다. 본 실험의 결과, *trans*-10,*cis*-12 CLA가 erbB2/erbB3의 신호전달체계를 억제함으로써 세포증식을 억제하고 apoptosis를 야기하여 대장암세포의 증식을 억제한다는 결론을 내릴 수 있다. 특히 여러 암에서 활성이 증가된다고 알려진 Akt의 활성화의 억제는 *trans*-10,*cis*-12 CLA를 대장암의 예방, 치료제로 사용할 수 있는 가능성을 제시해준다.

\*This study was supported by a grant of the Korea Health 21 R & D Project, Ministry of Health & Welfare, Republic of Korea (02-PJ1-PG10-22003-0001).