

구연-14

Expression of Cancer Stem Cell Markers and Stem Cell Characteristics in Colon Cancer Cell lines

Ji-Hee Kwon, Tae Il Kim, Sun-Hee Oh, Chang Mo Moon, Jae Jun Park,
Sung Pil Hong, Jae Hee Cheon, Won Ho Kim

Division of Gastroenterology, Department of Internal Medicine, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

Background: Cancer stem cells that exist as a minor population in a tumor can produce a tumor and maintain it. Several markers were reported as markers of cancer stem cells or tumor initiating cells in human colon cancer.

Objective: To investigate the characteristics of cancer stem cells based on expression of cancer stem cell markers in various colon cancer cell lines.

Methods: A total of ten human colon cancer cell lines were examined for the expression of CD133, CD44, CD166 and Lgr-5 cell surface protein by using flow cytometry and/or RT-PCR. Colosphere formation was measured to evaluate its relationship with cancer stem cell markers.

Results: Both CD133 and CD44 expression were detected in Caco-2 (CD133; 13.74%, CD44; 18.10%, double positive; 57.92%), SW620 (CD133; 19.79%, CD44; 29.31%, double positive; 8.69%), and LoVo (CD133; 5.03%, CD44; 14.13%, double positive; 7.32%) cells by flow cytometry, and CD133 was not detected in other cell lines. Lgr-5, intestinal stem cell marker, was detected in SW620, Caco-2, HCT-15 and LoVo cells by RT-PCR. We found that colospheres can be formed from Caco-2 ($21.3 \pm 4.9/1000$ cells), SW620 ($29.7 \pm 8.4/1000$ cells) and LoVo ($2.1 \pm 1.0/1000$ cells) cells, but not in other cell lines. The expression of both CD133 and Lgr5 showed good accordance with colosphere formation in various colon cancer cell lines.

Conclusion: We suggest that colon cancer cell lines shows different expression pattern of cancer stem cell markers, and different characteristics of cancer stem cell. Especially, CD133/Lgr-5 expression shows good correlation with colosphere formation.

Key Words: Cancer stem cell, Colon cancer

구연-15

A Noble Image of Gastric and Colon Cancer Cell Lines by Multiphoton Microscopy

고려대학교 의과대학 내과학교실¹, 고려대학교 화학과², 고려대학교 보건과학대학³

김은선¹ · 전훈재¹ · 조봉래² · 임창수² · 전옥순² · 정운원³ · 김현숙³ · 금보라¹
서연석¹ · 진윤태¹ · 엄순호¹ · 김창덕¹ · 류호상¹

목적: 암 환자의 조직과 혈청에서 zinc는 감소하고 copper는 상대적으로 증가하는 변화가 동반된다. Zinc와 copper는 Superoxide dismutase (SOD)의 cofactor로 작용하여 항산화 과정에 관여한다고 알려져 있으나, 아직 carcinogenesis에서 zinc와 copper가 어떠한 역할을 하는지는 명확히 밝혀지지 않았다. 최근 개발된 Multiphoton microscopy는 광손상이 적어 살아있는 세포를 장시간 관찰할 수 있으므로 confocal microscopy의 차세대 기구로 각광을 받고 있다. 현재까지 Multiphoton microscopy를 이용하여 살아있는 세포내 Zinc 및 copper 이온을 관찰한 연구는 아직 전 세계적으로 문헌 보고된 바 없다. 따라서 본 연구는 Multiphoton microscopy probe를 이용하여 위암 세포주 및 대장암 세포주에서 zinc와 copper 이온의 변화를 관찰하고자 한다.

방법: 한국세포주은행 및 ATCC (American type cell collection)으로 부터 분양 받은 위암 세포주와 대장암 세포주에 대하여 Zinc 및 copper 이온의 변화를 multiphoton probe를 이용하여 관찰하였다. 위암세포주는 AGS와 KATO III, 대장암 세포주는 HT 29를 이용하였다. HeLa cell 및 정상 쥐 신장인 HEK293 세포주와 비교 관찰하였다. 37°C 의 5% CO₂ 배양기 내에서 10% 우혈청(fetal bovine serum, FBS)이 들어 있는 RPMI 1640 배지로 2일간 glass-bottomed dish (MatTek)에 부착시켰다. glucose가 함유된 BSS (balanced salt solution)를 버퍼로 이용하며, 본 연구팀에서 새롭게 합성하고 특허를 받은 multiphoton probe 인 AZn²⁺(C₃₈H₃₈N₆O₃)과 ACu⁺(C₃₄H₄₇N₃O₃S₄)로 살아있는 암세포주를 염색하였다. 이는 발색단인 acedan을 Zn²⁺와 Cu⁺에 대한 receptor와 결합시켜 합성하였다. Multiphoton microscopy으로 장시간 구리 및 아연의 위, 대장 암세포주에서 형광 분포 및 형광 방출 강도를 측정하며 관찰하였다.

결과: 위암 세포주 및 대장암 세포주에서 Zn²⁺와 Cu⁺의 분포를 multiphoton probe 를 이용하여 실시간으로 관찰하였다. zinc와 copper는 세포질에 주로 분포하였으며, 암 세포주에 따른 분포 형태의 차이를 실시간으로 관찰할 수 있었다.

결론: 본 저자들이 발표한 기초 연구는 carcinogenesis에서 Zinc와 copper 및 항산화 과정과의 연관성 및 병태생리 기전을 이해하는 데에 새로운 연구 방법을 제시할 것으로 기대된다.

Key Words: multiphoton microscopy, copper, zinc

구연-16

위선종 및 위암 조직에서 DNA 이중사슬 절단 관찰

가톨릭대학교 의과대학 내과학교실¹, 외과학교실², 병리학교실³김정호¹ · 김성수¹ · 변상원¹ · 장영준¹ · 김진수¹ · 김재광¹ · 조항주² · 임근우² · 정은선³

목적: DNA 이중사슬 절단은 DNA 손상의 한 형태로서 p53 돌연변이 등이 있는 세포에서 치유되지 않은 DSB가 핵 내에 축적될 경우 염색체 불안정을 유도하거나, 혹은 암 발생 관련 유전자의 돌연변이 과정을 통해 암세포로 변환될 수 있다. 이에 이번 연구는 암 주위 정상, 선종 및 위암 조직에서 DNA 이중사슬 절단의 표지자인 53BP1과 γ -H2AX 단백질의 발현 양상을 관찰하였다.

방법: 위절제술을 받았던 121예의 위암 환자와 내시경하 점막하 박리술을 받았던 51예의 위선종 환자를 대상으로 각각 tissue microarray를 만든 후 53BP1과 γ -H2AX 단백질 각각에 대한 항체로 면역조직화학염색을 하여 발현 지수를 측정하였다.

결과: 53BP1과 γ -H2AX는 암 주위 정상 조직에 비해 위암 조직에서 발현율이 높았으나($p < 0.01$), 암 주위 정상 조직과 위선종 조직간에 53BP1과 γ -H2AX 단백질의 발현은 차이가 없었다. 위선종 조직에서 53BP1은 이형성 등급 I에 비해 II 및 III의 발현지수가 유의하게 높았다. 위암 환자에서 임상-병리학적 인자는 53BP1 및 γ -H2AX 단백질의 발현과 상관관계가 없었다.

결론: 이상의 결과로 보아 DNA 이중사슬절단은 위암 발생과정에 관여하는 것으로 보이나 위선종 세포에서는 별다른 역할을 하지 않는 것으로 보인다.

Key Words: 위선종; 위암; DNA 이중사슬 절단

구연-17

췌장암에서 Gemcitabine & Guggulsterone 병합요법의 세포고사 유도

서울대학교 의과대학 내과학교실, 간연구소¹, 분당서울대학교병원 내과학교실²

서정균¹ · 이상협² · 류지근¹ · 김용태¹ · 윤용범¹

목적: Guggulsterone은 항암 작용이 있는 식물성 sterone 이다. 본 연구는 췌장암에서 gemcitabine과 guggulsterone 의 병합요법의 항암 효과를 규명하고자 하였다.

방법: 췌장암 세포주 (MiaPaca-2, Panc-1)에서 guggulsterone이 세포증식 및 세포고사에 미치는 영향을 조사하고, 세포고사 촉진 효과가 있다면 그 기전이 무엇인지 알아보았다. nude mice를 이용한 이종개체 모델에서 guggulsterone이 췌장암의 표준 치료제인 gemcitabine과 병용 투여시 부가적인 항암 효과를 알아보았다.

결과: 췌장암 세포주(MiaPaca-2, Panc-1)에서 guggulsterone 투약 후 AKT, Bcl-2, NF- κ B 활성화도 억제와 Bax, JNK 활성화도 증강을 통해 세포증식의 억제와 세포 고사의 촉진을 보였다. MiaPaca-2 췌장암 세포주를 이용한 Nude mice 이종개체 모델에서 gemcitabine과 guggulsterone의 병용 투여가 AKT, Bcl-2, NF- κ B 활성화도 억제와 Bax, JNK 활성화도 증강을 통해 세포증식 억제와 세포 고사 촉진을 보였다.

결론: Gemcitabine 과 guggulsterone의 병합요법은 췌장암에서 증진된 항암효과를 보였다.

구연-18

조기위암과 JC Virus T-Antigen과의 상관관계

경북대학교 의학전문대학원 내과학교실¹, 인체자원은행²손혁수¹ · 전성우¹ · 정민규¹ · 김정택² · 최유진² · 쉬즈광² · 배한익²

목적: Jamestown Canyon(JC) 바이러스는 혈청에서 약 90%에서 까지 무증상 감염으로 존재하는 것으로 알려져 있다. JC 바이러스 복제는 전사에 필요한 요소를 가지고 있는 아교세포 및 림프계세포에서만 일어나기 때문에 편도선의 기질 조직을 통해 들어간 뒤 소화기관 및 호흡기관을 통해서 신장이나 림프계 조직에 잠복상태로 지낸다. 주로 어린 나이에 감염되며 면역억제 상황이 발생할 경우 중추신경계에 용균성 감염을 일으켜 치명적인 탈수초질환을 일으킨다. 현재까지 연구에 의하면 이 바이러스는 인체내의 여러 장기에서 종양을 유발할 수 있는 것으로 알려져 있다. 최근에는 JC 바이러스가 뇌암, 결장암, 위장관암과 같이 다양한 종류의 종양과 관련성이 있을 것이라는 보고가 있으나 연구가 부족한 상태이다. 특히 JC 바이러스가 위장관에 정상적으로도 존재하는 것으로 알려짐으로써 위장관암과의 연관성에 많은 궁금증을 자아내게 되었다. 본 연구에서는 조기위암조직에서 JC 바이러스 T-antigen의 발현을 알아보기 위하여 이 연구를 진행하였다.

대상 및 방법: 조기위암으로 내시경 점막하 박리술을 시행한 20명의 환자들에게서 위암검체조직을 얻었다. 위암 신선동결조직에서 RNA를 추출한 다음 cDNA로 변환하고 JC 바이러스 T-Antigen의 PCR을 수행하였다. 그리고 T-Antigen 서열이 발견된 경우 보관중인 파라핀 포매 조직에서 DNA를 추출 후 T-Antigen의 PCR을 수행하였다.

결과: 위암 신선동결조직을 이용하여 정제된 DNA를 통하여 20개의 조직중 9개에서 JC 바이러스 T-Antigen 서열이 확인되었다. 파라핀 조직에서 DNA 추출 후 발견된 JC 바이러스 서열은 5개의 조직에서 확인되었으며, 신선동결 조직에서 발견된 9개의 샘플 중에서 발현되었다.

결론: 위암의 발생 과정에 JC 바이러스가 작용할 것으로 생각하며, 그 발현 기전에 대한 연구가 이루어져야 할 것으로 생각한다.

MEMO