

ORIGINAL ARTICLE

유방암 세포에서 Fatty Acid Synthase 발현에 미치는 Genistein의 효과

나유미 · 임자수² · 송기학¹ · 고대경 · 최인석 · 최원준 · 윤대성건양대학교 의과대학 외과학교실, ¹비뇨기과학교실, ²명곡임상의학연구소

The Effects of Genistein to Expression of Fatty Acid Synthase in Breast Cancer Cells

Yu-Mi Ra, Jee-Soo Yim², Ki-hak Song¹, Dae-gyung Ko, In-seok Choi, Won-jun Choi, Dae-sung YoonDepartments of Surgery, ¹Urology, ²Myung-gok Research Institute for Medical Science, Koyang University Hospital, Daejeon, Korea

Purpose: The relatively low incidence of breast cancer in Asian countries with cultures which traditionally eat a large amount of soy is worth noticing in research fields. Genistein is a isoflavone phytoestrogen found in soy and its consumption may have a role in cancer etiology. We have established a hypothesis that a diet high in soy consumption is related to a low incidence of breast cancer. Fatty acid synthase (FAS) is a multi-protein enzyme responsible for *de novo* biosynthesis of fatty acids. Recent studies have demonstrated that high levels of FAS occurs in a subset of human cancers, such as breast cancer, ovarian cancer, and prostate cancer. High level of FAS are associated with a poor prognosis. Sterol regulatory element binding proteins (SREBPs) are a family of transcription factors that regulate genes involved in lipid metabolism, including FAS. Recent studies show that expression of SREBP1c is correlates with FAS expression. The aim of this study is to investigate the effect of genistein on the expression of FAS in breast cancer cells.

Methods: We performed immunofluorescent staining to examine the expression of FAS under different concentration of genistein. RT-PCR was also performed to investigate the

mRNA expression of FAS and SREBP1c in different conditioned breast cancer cells treated with different concentration of FAS inhibitor and genistein.

Results: By immunofluorescent staining, the FAS expression after treatment with the FAS inhibitor, C75, decreased at a 10 μ M concentration. However the expression of FAS decreased at all concentrations of genistein (0.5, 1, 5, 10 μ M). The mRNA levels of FAS and SREBP1c after treatment with C75 decreased constantly according to time and concentration. However the effect was noted only after 12 hr. The mRNA level of FAS and SREBP1c following treatment with genistein decreased at only a 10 μ M concentration ($p < 0.005$).

Conclusion: Genistein may down regulate FAS expression in breast cancer cells through modulation of SREBP-1c. This finding may account for the relatively low incidence of breast cancer in Asians who consume a large amount of soy in their diet. (*J Breast Cancer* 2007;10:127-33)

Key Words : Breast cancer, FAS, Genistein, SREBPs

중심단어 : 유방암, FAS, Genistein, SREBPs

서론

유방암은 전 세계적으로 여성의 암 발생률 중 1위를 차지하고

있으며 우리나라에서도 발생 빈도가 꾸준히 증가하여 2001년 여성암 중 1위를 차지한 뒤 2002년 10만 명당 40.5명으로 급격히 증가하여 현재 전체 여성암 중 16.8%를 차지하고 있다.(1) 이에 따라 유방암에 대한 관심이 높아지면서 유방암의 조기 발견과 치료 및 예후 인자 등에 대한 관심이 증가하고 있는 실정이다.

Kuhajda의 연구에 의해 유방암 환자에서 fatty acid synthase (FAS)의 과발현이 유방암의 나쁜 예후인자로 밝혀지면서 이에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다.(2) FAS는 250 kDa의 다기

책임저자 : 윤대성

302-241 대전광역시 서구 가수원동 685, 건양대학교병원 외과

Tel: 042-600-9297, Fax: 042-543-8956

E-mail : dsyoonmd@kyuh.co.kr

접수일 : 2007년 2월 28일 게재승인일 : 2007년 5월 31일

*본 논문은 2005년 대한외과학회 추계학술대회에서 구연 발표되었음.

능 효소로서, Acetyl CoA 전구물질로부터 긴 사슬 지방산의 생합성 단계를 동화 작용하는데 관여하는 매우 중요한 지방 생성 효소이다. (2-6) FAS는 섭취되는 지방 및 호르몬 등에 의해 엄격하게 하향 조절되기 때문에 정상 조직에서는 낮은 수준으로 발현되는 데 반해, 과증식 병변이나 진행성 암에서는 정상 조직에 비하여 과발현된다고 알려져 있으며, 특히 유방암, (2-15) 대장암, (3, 9, 14) 위암, (12) 갑상선암, (12) 전립선암, (3, 8-10) 난소암, (6, 9, 10, 12) 그리고 자궁 내막암 (9, 12)에서 높은 수준으로 발현된다고 보고되었다. FAS의 발현은 종양 변환과 연관되기 때문에 유방암 환자에 있어서 폐경의 유무나 에스트로겐 및 프로게스테론의 수용체 발현과는 관계없을 것으로 여겨지고 있다. (3) 이러한 정상 조직과 암 조직에서의 FAS의 발현 정도 차이에 근거하여 FAS가 암의 진단과 예후 인자로서의 역할, 그리고 더 나아가 FAS 억제제의 유방암 치료에 있어 표적 인자로서의 가능성에 대한 연구가 진행되고 있다. 또한 최근에는 FAS를 비롯한 지방 대사를 조절하는 전사 인자인 sterol regulatory element binding protein-1 (SREBP-1)이 종양 지방 생성의 유도에 일차적 역할을 한다는 것이 알려지면서 이에 대한 연구에 관심을 기울이고 있다. SREBP는 촉진제에 스테롤 조절 요소를 결합시킴으로써 콜레스테롤과 지방산의 합성에 관여하는 유전자를 활성화시키는 기본 나선형 구조의 전사 요소이다. 특히 SREBP-1c 이소체가 지방화 조절에 가장 결정적인 역할을 하며 유방암 환자에 있어 FAS와의 상관관계가 가장 밀접하게 나타난다고 보고되어 있다. (3, 11, 16)

Genistein은 콩에 많이 함유되어있는 isoflavone phytoestrogen으로 역학 조사에서 전통적으로 콩을 많이 섭취하는 민족에서 유방암을 비롯하여 골다공증과 혈관질환의 발생이 낮다는 보고가 있다. (8, 17, 18)

본 연구는 FAS가 유방암에서 과발현을 보인다는 기존 연구 결과에 근거하였으며, (2-15) 한국인의 전통음식 재료인 콩에 많이 함유된 genistein이 FAS 발현에 어떠한 영향을 주는지와, FAS와 함께 지방산 합성에 관여하는 전사 인자인 SREBP-1c의 발현에 어떤 영향을 주는지 알아보고자 하였다.

방 법

1. 실험 재료

1) 세포주

FAS 과발현을 보인다고 알려진 유방암 세포주인 MDA-MB-231을 한국 세포주 은행에서 구입하여 건양대학교 명곡임상의학 연구실에서 계대 배양하여 이용하였다.

2) 배지

세포 배양을 위해 10% Fetal bovine serum (FBS) (Gibco,

Carlsbad, USA)가 포함된 RPMI 1640 배지(SIGMA, USA) (RPMI 배지)를 사용하였다.

3) 효소 및 시약

Phosphate buffer saline (PBS), Triton x-100, trypsin, Dimethyl sulfoxide (DMSO), Chloroform, Isopropyl alcohol, DEPC를 SIGMA사(SIGMA, St.Louis, USA)에서 구입하여 사용하였고, Formaldehyde (JUNSEI, Tokyo, Japan), Normal goat serum (NGS) (DakoCytomatin, Glostrup, Denmark), Trizol (Gibco, California, USA), Ethanol (HAMAN, Witham, UK)을 사용하였다.

FAS 형광염색에는 일차 항체로 Anti-Human FAS (14G5) mouse IgG MoAb (IBL, Japan)를 사용하였고, 이차항체로 Goat anti-mouse IgG FITC (Santa Cruz, USA)와 4' 6-Diamino-2-phenyl indole (DAPI) (SIGMA, St.Louis, USA)를 사용하였다.

약제는 genistein (SIGMA, St.Louis, USA)과 FAS 억제제 (C75) (ALEXIS, SanDiego, USA)를 구입하여 사용하였다.

2. 실험 방법

1) 세포배양

100×15 mm 접시에 MDA-MB-231 세포를 RPMI 배지 10 mL에 계대배양하였다. 본배양은 PBS 2 mL로 2회 세척하고 Trypsin EDTA (1×) 1 mL 분주하여 상온에서 3분간 반응시키고, RPMI 배지 1 mL를 첨가하여 반응 종료시킨 후 세포를 접시에서 분리하였다. 1,000 rpm에서 3분간 원심분리하여 농도별 RPMI 배지로 현탁하여 배양접시에 1 mL씩 분주하고 37°C (0.5 % CO₂)에서 3일간 배양하였다.

2) 면역 형광 염색을 통한 FAS 발현 측정

Genistein과 C75에 각각의 약제를 농도별(0.5 μM, 1.0 μM, 5 μM, 10 μM)로 처리한 후 3일간 배양하여 FAS 발현을 면역 형광염색으로 확인하였다. 세포를 배양하고 있는 배양 접시(Lab-Tek, Denmark)에서 배양 상등액을 제거한 다음 PBS를 1 mL씩 분주하여 3회 세척하였고, 3.6% Formaldehyde로 20분간 상온에서 고정시킨 후 다시 PBS 1 mL씩 3회 반복하여 세척하였다. 0.1% Triton x-100이 첨가된 PBS 1 mL을 넣고 상온에서 1시간 배양시킨 후 0.01 M PBS 1 mL씩 20회 세척하였다.

여기에 10% NGS 0.2 mL을 첨가한 후 37°C에서 1시간 배양시키고, 0.01 M PBS로 1 mL씩 20회 세척을 반복하였다.

FAS 일차 항체를 1:400으로 희석한 것을 0.2 mL 분주하여 37°C에서 1시간 배양 후 0.01 M PBS 1 mL씩 20회 세척하였으

며, 이차 항체인 FITC와 DAPI를 각각 1:400으로 희석하여 0.2 mL씩 첨가하고 37°C에서 1시간 반응시켰다. Chamber를 제거하고, 0.1% PBT로 20분씩 2회 세척하고, 0.01 M PBS로 20분씩 15회 세척하였다. 마운팅 배지(Dakocytomation, Carpinteria, CA, USA)를 첨가한 후 커버 글라스를 덮고 현미경으로 관찰하였다.

형광 염색 표본 당 중앙 상피의 세포 형태가 잘 유지된 곳에서 4회씩 FAS 발현 강도를 Zeiss Axioscope 현미경이 부착된 Confocal microscope으로 관찰하고 영상분석기(Zeiss LSM, Jena, Germany)를 이용하여 각각의 형광의 발현 정도를 측정하였다.

3) RT-PCR을 통한 FAS mRNA와 SREBP1c mRNA 측정

(1) 세포 배양 및 약물처리

Genistein과 C75를 처리한 유방암 세포주에서 RT-PCR을 이용하여 mRNA level에서의 추가 실험을 시행하였다.

100×15 mm 배양 접시(Falcon, France)에서 배양 상등액을 제거하고 멸균된 0.01 M PBS 4 mL로 2회 세척하였다.

Trypsin 1 mL 첨가 후 3분간 반응시키고, RPMI 배지 1 mL을 첨가 현탁하여 1,000 rpm 하에 3분간 원심분리 후 상등액을 제거하였다(cell 90 μ L). 이를 RPMI 배지 40 mL로 현탁시키고 60×15 mm 배양 접시에 RPMI 배지 4 mL를 넣고 현탁시킨 세포를 0.5 mL씩 분주하여 37°C에서 25시간 동안 배양한 후 약물이 첨가된 배지를 넣고 37°C에서 시간별로 배양하였다.

정상 대조군은 RPMI 배지, 대조군은 DMSO 10.9 μ L가 첨가된 RPMI 배지, genistein 1 μ M, 10 μ M은 각각 1.08 μ L, DMSO 9.81 μ L와 10.9 μ L를 첨가한 RPMI 배지, C75 1 μ M, 10 μ M은 각각 1.02 μ L, DMSO 9.98 μ L와 10.2 μ L DMSO 9.98 μ L를 첨가한 RPMI 배지(20 mL)를 이용하여 세포 배양하였다.

0시는 약물 첨가 전에 배지를 제거하여 반응을 정지시켰으며, 12시간은 약물 첨가 12시간 후 반응정지, 24시간은 약물 첨가 24시간 후 반응정지, 36시간은 약물 첨가 36시간 후 반응을 정지시켰다.

(2) 세포 분리

60×15 mm 배양 접시에서 상등액을 제거하고 0.01 M PBS 4 mL로 2회 세척하여 Trypsin 0.5 mL 첨가 3분 반응시킨 후, RPMI 배지 0.5 mL로 현탁시켜 1,000 rpm 하에 3분간 원심분리하여 상등액을 제거하였다. RPMI 배지 1 mL 첨가하여, 현탁한 후 Microcentrifuge tube (Axygen, USA)에 0.5 mL씩 분주하였다(-75°C 보관).

(3) 역전사-중합효소연쇄반응(RT-PCR)

① RNA 추출: Microcentrifuge tube에 0.5 mL씩 분주한 세포주와 Trizol 0.8 mL 첨가하여, 빠르게 현탁시켜 5분간 상온 보관하였다. Chloroform 0.2 mL 첨가 후 현탁시켜 3분간 상온 보관하고 13,200 rpm 하에 20분간 원심분리 하였다. 상층액 0.5 mL을 새 tube로 옮기고, Isopropyl alcohol 1 mL을 첨가한 후 얼음에서 10분간 반응시켰다. 13,200 rpm 하에서 30분간 0.5 mL씩 나눠 원심분리하고, 상등액을 버린 뒤 DEPC 증류수로 만든 75% Ethanol 1 mL을 첨가하고 13,200 rpm 하에서 15분 원심분리 하였다. 5분간 건조한 뒤 DEPC 증류수 60 μ L로 현탁시켰다.

분광흡광계(Amersham, England) 260 nm에서 정량 후 RNA를 1 μ g씩 분주하였다(-75°C 보관).

② RT반응(cDNA): RT-PCR kit (TaKaRa, Japan)를 사용하여 cDNA화 하였다.

③ PCR: FAS primer (F-5'-GAA ACT GCA GGA GCT GTC-3', R-5'-CAC GGA GTT GAG GCG CAT-3'), SREBP1c primer (F-5'-GCC ATG GAT TGC ACT TT-3', R-5'-CAA GAG AGG AGC TCA ATG-3'), GAPDH primer (F-5'-GAA GGT GAA GGT CGG AGT C-3', R-5'-GAA GAT GGT GAT GGG ATT TC-3')의 sequence (Bioneer, Korea)이며, SREBP1c 반응은 Solgent PCR kit (Solgent, Korea)를 이용해 cDNA 1 μ g, 10x buffer 2 μ L, 2 mM dNTP 1 μ L, 각 20 mM SREBP1c primer 0.4 μ L, 각 5 mM GAPDH primer 0.4 μ L, Taq polymerase 0.1 μ L, 멸균증류수 14.3 μ L을 첨가하였고, FAS 반응은 각 20 mM FAS primer 0.05 μ L, 각 5 mM GAPDH primer 0.4 μ L 첨가해 total volume 20 μ L로 반응하였다. 반응 온도는 95°C (5 min), 95°C (15 sec) - 60°C (1 min) - 72°C (1 min) 35회, 72°C (5 min)간 반응시켰다.

(4) 전기영동

2% Agarose gel을 사용해 PCR 산물을 분리하여 UV 조명기(Vilber Lourmat, France)로 DNA를 확인하였다. Agarose gel은 Agarose A, Tris, Boric acid, 0.5 M EDTA (바이오 세상, Korea)와 EtBr (SIGMA, USA)로 제조되었다.

(5) Densitometry

UV 조명기(Vilber Lourmat, France)로 확인된 DNA 사진으로 BIO-1D program을 이용해 DNA의 density를 측정하였다.

3. 통계학적 분석

비모수 검정인 Kruskal-Wallis Test와 Mann-Whitney

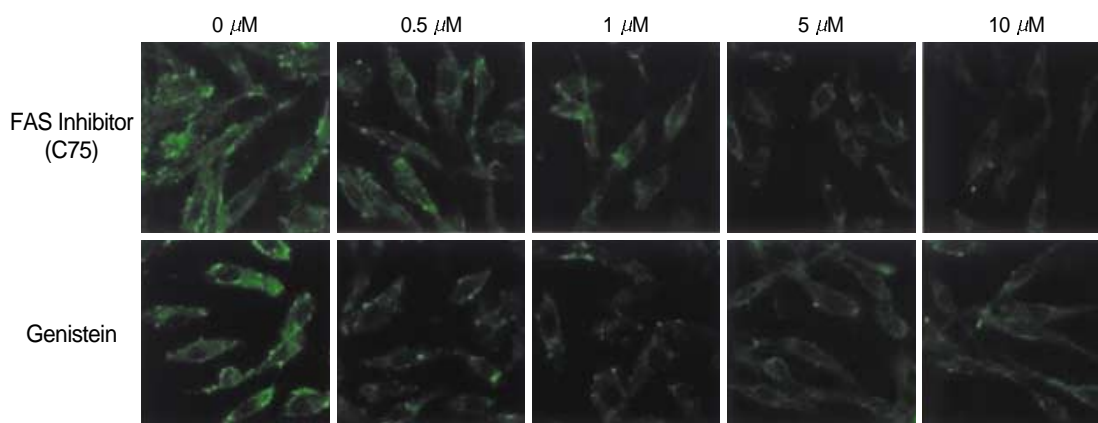


Fig 1. Expression of FAS with immunofluorescent staining.

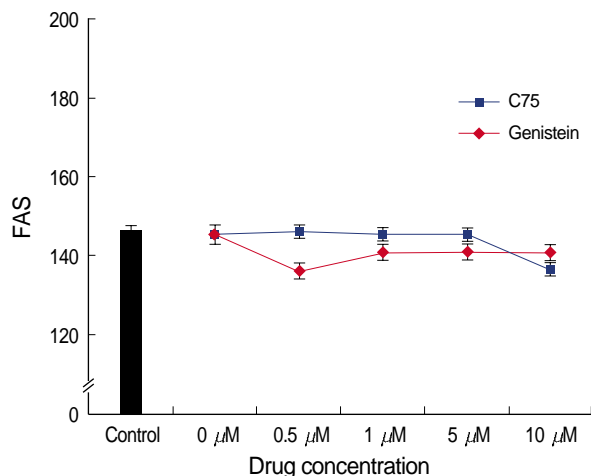


Fig 2. Expression of FAS in MDA-MB-231 cell line according to drugs.

test를 시행하여 평균치를 비교하였으며 $p < 0.05$ 를 유의성이 있는 것으로 하였다. 통계 처리는 SPSS for windows (Version 11.0, SPSS, USA)을 이용하였다.

결 과

1. 면역 형광 염색을 통한 FAS 발현 비교

유방암세포에서 FAS의 발현에 genistein과 FAS 억제제인 C75가 미치는 영향을 관찰하기 위하여 우선 FAS의 발현을 에스트로젠 수용체 음성인 MDA-MB-231 세포주에서 면역형광 염색으로 confocal microscopy를 이용하여 비교하였다. 그 결과 FAS는 MDA-MB-231 세포주에서 많이 발현하였다(Fig 1). 이 세포주에 C75와 genistein을 각각 여러 가지 농도(0.5 μM, 1.0 μM, 5 μM, 10 μM)로 처리하고 3일간 배양하였을 때 genistein의 농도가 증가함에 따라 FAS의 발현이 감소됨을 확인할 수 있었

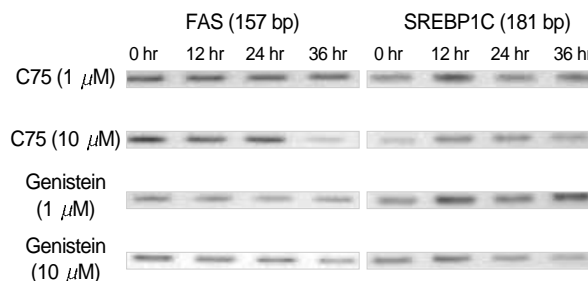


Fig 3. Expression of FAS and SREBP-1c mRNA according to concentrations of FAS inhibitor (C75) and genistein.

다. Image analyzer Densitometry를 이용하여 각각의 FAS 발현을 측정된 결과 0.5 μM, 1 μM, 5 μM의 저농도에서는 FAS 억제제인 C75보다 genistein에 더욱 강한 FAS 발현의 억제를 보였다. C75는 10 μM에서만 19.3%로 의미있는 FAS 억제 효과를 보였고, genistein은 통계학적 의미는 없었으나 비교군에 비해 농도에 따라 22.62~10.01%의 FAS 억제효과를 보였다(Fig 2).

2. FAS와 SREBP1c mRNA 발현

C75와 genistein에 의한 FAS 단백질의 발현억제가 이들 단백질의 전사단계에서 억제되는지를 관찰하기 위하여 이들 약물을 처리한 후 mRNA를 분리하여 FAS에 선택적인 oligonucleotide를 이용하여 RT-PCR을 수행하였다. 특히 본 실험에서는 FAS의 발현뿐만 아니라 FAS의 발현에 중요하게 작용한다고 알려진 SREBP-1c mRNA의 발현도 함께 관찰하였다(Fig 3). FAS 발현은 C75 약물처리 후 초기 12시간까지는 발현의 증가를 보이다 12시간 이후부터는 농도별로(1 μM, 10 μM) 각각 시간이 경과될수록 FAS mRNA 발현의 억제를 보였다. Genistein 처리군에서는 10 μM에서만 통계학적 의미있는 FAS mRNA의 억제를 보였다. C75에서와 마찬가지로 genistein을 처리한 세포주에서도 약물 처리 초기에는 FAS mRNA의 발현이 증가됨을 관찰할 수

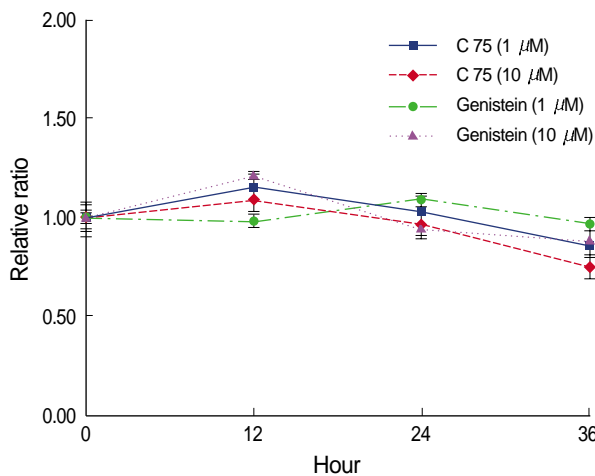


Fig 4. Expression of FAS mRNA according to concentrations of FAS inhibitor (C75) and genistein. The mRNA levels of FAS after treatment with C75 decreased constantly according to time and concentration. However the effect was noted only after 12 hr. The mRNA level of FAS following treatment with genistein decreased at only a 10 μ M concentration (Kruskal-Wallis Test $p < 0.05$; Mann-Whitney test $p < 0.05$ in C75, Kruskal-Wallis Test $p < 0.05$ in Genistein (10 μ M); Mann-Whitney test $p < 0.05$ in genistein).

있었다(Fig 4).

C75와 genistein의 SREBP-1c mRNA 발현 비교에서 C75의 효과는 FAS mRNA 발현양상과 유사하였으며, 초기에는 발현이 증가하다 24시간 이후부터 발현이 억제되는 경향을 보였으나 통계학적 의의는 발견할 수 없었다. Genistein에 대한 SREBP-1c mRNA 발현변화는 10 μ M에서 초기 12시간까지는 발현이 증가하다 24시간 이후부터는 통계학적으로 유의하게 감소되었다(Fig 5). 시간별로는 처음 12시간에는 오히려 증가하는 양상을 보였으나, 24시간 이후부터 FAS mRNA 발현 억제를 보였으며 농도별로는 1 μ M에서는 통계학적으로 의의가 없었고, C75와 genistein 모두 10 μ M에서만 의미있는 결과를 보여주었다.

고 찰

1950년대에 종양 조직에서 내인성 지방산 합성이 빠른 속도로 일어난다는 보고가 있었으나, 1990년대 초까지 임상적으로 주목받지 못하다가 1994년 Kuhajda에 의해 유방암 환자에서 FAS의 과발현이 나쁜 예후와 연관된다고 밝혀지면서 이와 관련된 연구가 진행되고 있다.(2) FAS는 종양의 크기나 임파선 전이, 그리고 에스트로겐 및 프로게스테론 수용체 상태와 함께 중요한 단일 예후 인자로 여겨지고 있으며, FAS가 과발현을 보이면 재발과 전이의 가능성이 약 4배가량 증가하는 것으로 보고되고 있다.(3)

FAS는 acetyl-CoA와 malonyl-CoA로부터 긴 사슬 지방산

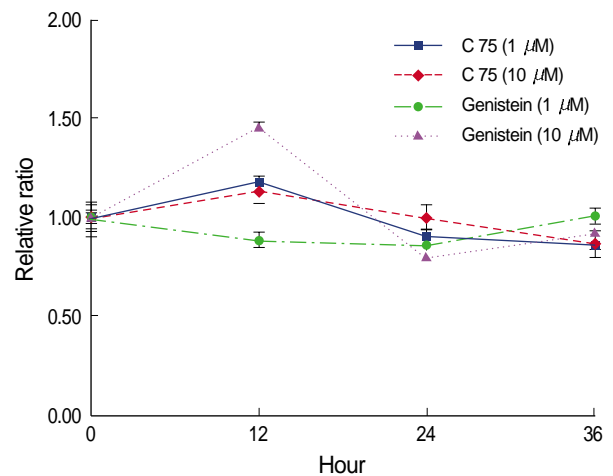


Fig 5. Expression of SREBP-1c mRNA according to concentrations of FAS inhibitor (C75) and genistein. The mRNA levels of SREBP1c after treatment with C75 decreased constantly according to time and concentration. The mRNA level of SREBP1c following treatment with genistein decreased at only a 10 μ M concentration ($p < 0.005$) (Kruskal-Wallis Test $p > 0.05$ in C75; Kruskal-Wallis Test $p < 0.05$ in C75, Mann-Whitney test $p < 0.05$ in genistein 10 μ M).

을 합성하는 데 매우 중요한 지방 생성 효소로서 동물 실험에서 굶긴 동물에게 고 탄수화물 식이를 시작했을 때 일차적으로 전사 유도를 통해 발현되며, 포도당, 인슐린, 글루카곤, 부신피질 호르몬, 갑상선 호르몬 등에 의해 발현이 조절된다.(4) FAS가 과증식 병변이나 진행성 암에서 과발현된다는 사실이 알려져 있으며, 유방암 환자에 있어서 폐경의 유무와는 관련성이 없고, 전암성 병변에서도 FAS의 과발현과 활동성이 보고되고 있기 때문에 FAS의 과발현이 종양 변환과 연관된 것으로 여겨지고 있다.(4) 최근 실험을 통한 산성화에 의해 FAS가 과발현을 보인 사실에 근거하여 FAS의 과발현이 악성화 초기의 필수적 단계라는 “metabolic oncogene” 개념을 보고하기도 하였다.(2)

이러한 정상 조직과 암 조직에서의 FAS의 발현 정도 차이에 근거하여 FAS가 암의 진단과 예후 인자로서의 역할, 그리고 더 나아가 FAS 억제제(C75)의 유방암 치료에 있어 표적 인자로서의 가능성에 대한 연구가 진행되고 있다.(2, 3)

최근에는 FAS를 비롯한 지방 대사를 조절하는 전사 인자인 SREBP-1에 대한 연구에 관심을 기울이고 있다.(3, 11, 16) SREBP는 촉진제에 스테롤 조절 요소를 결합함으로써 콜레스테롤과 지방산의 합성에 관여하는 유전자를 활성화시키는 기본 나선형 구조의 전사 요소로 SREBP-1a, SREBP-1c, 그리고 SREBP-2의 3가지 이소체를 가진다.(3) 이중 SREBP-1c 이소체가 유방암 환자에 있어 FAS와 상호연관성을 보이며 종양 지방생성의 유도에 있어 일차적인 역할을 한다는 것이 알려져 있으며, 이에 따라 지방

화 조절자로서의 역할에 대한 가능성이 제시되고 있다. (3, 11, 16)

본 연구는 FAS가 유방암에서 과발현을 보이는 기존 연구 결과에 근거하였으며, (6) 콩을 많이 섭취하는 아시아 민족에서 유방암 발생률이 서구인 보다 낮은 사실을 바탕으로 호르몬 수용체 여부와 관계없이 안정적으로 유방암을 치료할 수 있는 약물(또는 식품)로서 genistein의 유용성에 대한 측면을 알아보고자 genistein이 FAS의 발현을 억제하는 정도를 연구하였다.

호르몬 수용체 음성인 MDA-MB-231 세포주에서 FAS 억제제와 genistein이 대조군에 비해 FAS 발현의 억제 효과를 보였고, 특히 저 농도의 약물에서는 FAS 억제제보다 genistein이 더욱 강한 FAS 발현의 억제를 보였다. 이는 식품에 함유되어있는 저 농도의 genistein이 유방암 억제 효과를 보일 수 있으며 우리나라 전통 식사가 과거의 낮은 유방암 유병률과 연관되어 원인 중 하나로 작용했을 것이라는 가설에 대한 근거를 제시할 수 있을 것이라고 생각된다. 본 실험에서 에스트로젠 수용체 양성인 MCF-7 유방암 세포주에서는 음성인 MDA-MB-231 세포주보다 FAS 발현율이 낮아서 약제별 FAS 발현 정도를 비교할 수 없었으나 호르몬 수용체의 유무와는 관계없이 genistein이 유사한 형태로 유방암 세포의 성장을 억제 한다는 보고가 있었다. (13) RT-PCR 결과에서는 FAS 억제제와 genistein 모두 약물 처리 초기 12시간까지는 오히려 발현의 증가를 보이다 24시간 이후부터 FAS 발현 억제를 보였는데, 다른 연구에서 FAS 억제제가 slow binding inhibition을 한다는 결과가 발표되었고, (9) FAS는 세포 성장을 보여주는 지표이기 때문에 약물 투여 초기에 자극에 의해 세포 성장이 증가했다가 이후 약물의 FAS 억제 효과에 의해 FAS 발현이 억제되었을 것으로 생각된다.

Genistein 처리 후 FAS mRNA 발현을 비교하여 본 결과, 고 농도(10 μ M)에서 FAS의 발현을 억제하는 효과가 있으며 SREBP-1c의 발현 또한 억제한다는 것을 확인할 수 있었다.

결 론

본 연구 결과 genistein은 MDA-MB-231 유방암 세포주에서 FAS 억제 효과를 보였으며, 특히 genistein 10 μ M에서 통계학적으로 의미있게 FAS와 SREBP-1c 발현의 억제를 보였다. 본 연구를 통해 과거로부터 한국인에서 서구보다 비교적 낮은 유방암 발생률과 한국인의 전통적인 식재료인 콩에 포함된 genistein이 FAS를 억제하는 기전과 연관성이 있다고 유추해 볼 수 있다. 향후 유방암에서 FAS 억제제의 개발이 유방암치료와 예방에 기여하리라 생각된다.

참고문헌

1. Ministry of Health and Welfare. Annual Report of the Korea Central Cancer Registry 2003.
2. Menendez JA, Decker JP, Lupu R. In support Fatty acid synthase (FAS) as a metabolic oncogene: extracellular acidosis acts in an epigenetic fashion activating FAS gene expression in cancer cells. *J Cell Biochem* 2005;94:1-4.
3. Kuhajda FP, Jenner K, Wood FD, Hennigar RA, Jacobs LB, Dick JD, et al. Fatty acid synthesis: a potential selective target for antineoplastic therapy. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994;91:6379-83.
4. Yang Y, Morin PJ, Han WF, Chen T, Bormann DM, Gabrielson EW, et al. Regulation of fatty acid synthase expression in breast cancer by sterol regulatory element binding protein-1c. *Exp Cell Res* 2003; 282:132-7.
5. Menendez JA, Lupu R, Colomer R. Targeting fatty acid synthase: potential for therapeutic intervention in Her-2/neu-overexpressing breast cancer. *Drug News Perspect* 2005;18:375-85.
6. Koo TY, Go DK, Choi IS, Choi WJ, Yoon DS, Sul HJ, et al. FAS expression in breast cancer. *J Breast Cancer* 2005;8:40-4.
7. Menendez JA, Vellon L, Mehmi I, Oza BP, Ropero S, Colomer R, et al. Inhibition of fatty acid synthase (FAS) suppresses HER2/neu (erbB-2) oncogene overexpression in cancer cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004;101:10715-20.
8. Sonoda T, Nagata Y, Mori M, Miyanaga N, Takashima N, Okumura K, et al. A case-control study of diet and prostate cancer in Japan: potential protective effect of traditional Japanese diet. *Cancer Sci* 2004;95:238-42.
9. Kuhajda FP, Pizer ES, Li JN, Mani NS, Frehywot GL, Townsend CA. Synthesis and antitumor activity of an inhibitor of fatty acid synthase. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97:3450-4.
10. Menendez JA, Vellon L, Colomer R, Lupu R. Pharmacological & small interference RNA-mediated inhibition of breast cancer associated fattyacid synthase (oncogenic antigen-519) synergistically enhances Taxol (paclitaxel)-induced cytotoxicity. *Int J Cancer* 2005; 115:19-35.
11. Martel PM, Bingham CM, McGraw CJ, Baker CL, Morganelli PM, Meng ML, et al. S14 protein in breast cancer cells: superinduction with progestin, and effects on cell growth. *Exp Cell Res* 2006;312: 278-88.
12. Sebastiani V, Visca P, Botti C, Santeusano G, Galati GM, Piccini V, et al. Fatty acid synthase is a marker of increased risk of recurrence

- in endometrial carcinoma. *Gynecol Oncol* 2004;92:101-5.
13. Shon YH, Park SD, Nam KS. Effective chemopreventive activity of genistein against human breast cancer cells. *J Biochem Mol Biol* 2006;39:448-51.
14. Visca P, Alo PL, Nonno FD, Botti C, Trombetta G, Marandino F, et al. Immunohistochemical expression of fatty acid synthase, apoptotic regulating genes, proliferating factors, and ras protein product in colorectal adenomas, carcinomas and adjacent nonneoplastic mucosa. *Clin Cancer Res* 1999;5:4111-8.
15. Liu B, Wang Y, Fillgrove KL, Anderson VE. Triclosan inhibits enoyl-reductase of type I fatty acid synthase in vitro and is cytotoxic to MCF-7 and SKBr-3 breast cancer cells. *Cancer Chemother Pharmacol* 2002;49:187-93.
16. Boizard M, Le Liepvre X, Lemarchand P, Fougelle F, Ferre P, Dugail I. Obesity-related overexpression of fatty-acid synthase gene in adipose tissue involves sterol regulatory element-binding protein transcription factors. *J Biol Chem* 1998;273:29164-71.
17. Liu B, Edgerton S, Yang X, Kim A, Ordonez-Ercan D, Mason T, et al. Low dose dietary phytoestrogen abrogates tamoxifen-associated mammary tumor prevention. *Cancer Res* 2005;65:879-86.
18. Chen WF, Wong MS. Genistein enhances insulin-like growth factor signaling pathway in human breast cancer (MCF-7) cells. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:2351-9.