

□ 원 저 □

## 인체 폐암조직에서 Phospholipase C- $\gamma$ 1의 활성화 단백질, AHNAK의 발현양상

아주대학교 의과대학 호흡기내과학교실<sup>1</sup>, 해부병리학교실<sup>2</sup>, 흉부외과학교실<sup>3</sup>, 의학유전학교실<sup>4</sup>  
이화여대 생물학교실<sup>5</sup>, 미국국립보건원 심폐혈액질환연구소<sup>6</sup>

오윤정<sup>1</sup>, 박준성<sup>1</sup>, 최소연<sup>1</sup>, 정성철<sup>1</sup>, 이선민<sup>1</sup>, 황성철<sup>1</sup>, 이이형<sup>1</sup>,  
한명호<sup>1</sup>, 이기범<sup>2</sup>, 류한영<sup>3</sup>, 하만준<sup>4</sup>, 배윤수<sup>5</sup>, 이서구<sup>6</sup>

= Abstract =

Increased Expression of Phospholipase C- $\gamma$ 1 Activator Protein,  
AHNAK in Human Lung Cancer Tissues

Yoon Jung Oh, M.D.<sup>1</sup>, Chun Seong Park, M.D.<sup>1</sup>, So Yeon Choi, M.D.<sup>1</sup>,  
Seong Cheoll Cheong, M.D.<sup>1</sup>, Sun Min Lee, M.D.<sup>1</sup>, Sung Chul Hwang, M.D.<sup>1</sup>,  
Yi Hyeong Lee, M.D.<sup>1</sup>, Myung Ho Hahn, M.D.<sup>1</sup>, Kyi Beom Lee, M.D.<sup>2</sup>,  
Han Young Ryu, M.D.<sup>3</sup>, Mahn Joon Ha, Ph.D.<sup>4</sup>, Yoon Su Bae, Ph.D.<sup>5</sup>, Seo Goo Rhee, Ph.D.<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Department of Pulmonary and Critical Care Medicine, <sup>2</sup>Department of Anatomic Pathology,

<sup>3</sup>Department of Thoracic Surgery, <sup>4</sup>Laboratory of Medical Genetics,

Ajou University School of Medicine, Suwon, Korea

<sup>5</sup>Department of Biological Sciences, Ewha Womans University, Seoul, Korea

<sup>6</sup>Laboratory of Cell Signaling, National Institutes of Health, Bethesda, M.D., U.S.A.

**Background :** Phospholipase C(PLC) plays a central role in cellular signal transduction and is important in cellular growth, differentiation and transformation. There are currently ten known mammalian isozymes of PLC reported to this date. Hydrolysis of phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate(PIP<sub>2</sub>) by PLC produces two important second messengers, inositol 1,4,5-trisphosphate(IP<sub>3</sub>) and diacylglycerol. PLC- $\gamma$ 1, previously, was known to be activated mainly through growth factor receptor tyrosine kinase. Other mechanisms of activating

---

Address for correspondence :

Sung Chul Hwang, M.D.

Department of Pulmonary and Critical Care Medicine, Ajou University School of Medicine,  
Paldal-Gu, Woncheon-Dong, San-5, Suwon 442-749, Korea

Phone : 0331-219-5123 Fax : 0331-219-5124 E-mail : schwang@madang.ajou.ac.kr

PLC- $\gamma$ 1 have been reported such as activation through tau protein in the presence of arachidonic acid in bovine brain and activation by  $IP_3$ , phosphatidic acid, etc. Very recently, another PLC- $\gamma$ 1 activator protein such as tau has been found in bovine lung tissue, which now is considered to be AHNAK protein. But there has been no report concerning AHNAK and its associated disease to this date. In this study, we examined the expression of the PLC- $\gamma$ 1 activator, AHNAK, in lung cancer specimens and their paired normal.

**Methods :** From surgically resected human lung cancer tissues taken from twenty-eight patients and their paired normal counterparts, we evaluated expression level of AHNAK protein using immunoblot analysis of total tissue extract. Immunohistochemical stain was performed with primary antibody against AHNAK protein.

**Results :** Twenty-two among twenty-eight lung cancer tissues showed overexpression of AHNAK protein (eight of fourteen squamous cell lung cancers, all of fourteen adenocarcinomas). The resulting bands were multiple ranging from 70 to 200 kDa in molecular weight and each band was indistinct and formed a smear, reflecting mobility shift mainly due to proteolysis during extraction process. On immunohistochemistry, lung cancer tissues showed a very heavy, dense staining with anti-AHNAK protein antibody as compared to the surrounding normal lung tissue, corresponding well with the results of the western blot.

**Conclusion :** The overexpression of PLC- $\gamma$ 1 activator protein, AHNAK in lung cancer may provide evidence that the AHNAK protein and PLC $\gamma$ 1 act in concerted manner in carcinogenesis. (Tuberculosis and Respiratory Diseases 1999, 47 : 347-355)

---

**Key words :** PLC, PLC- $\gamma$ 1, AHNAK protein, Tau protein, Lung cancer, Oncogenesis.

## 서론

외부로부터 오는 수 많은 자극들은 그들의 특이적인 수용체와 결합하여 이차전령물질을 생성함으로써 세포내로 신호를 전달하는데 phospholipase C(PLC)는 세포내 신호 전달에 관여하는 효소로, 최근 발암 기전과 관련되어 주목을 받고 있다<sup>1-5</sup>. PLC는 세포막을 구성하는 인지질 중에서 phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate( $PIP_2$ )를 분해하여 이차전령물질인 diacylglycerol(DAG)과 inositol 1, 4, 5-trisphosphate( $IP_3$ )를 생산한다. DAG는 protein kinase C를 활성화하고  $IP_3$ 는 조면소포체(endoplasmic reticulum)의 수용체에 결합하여 저장되었던  $Ca^{2+}$ 을 세포내로 유리시켜 신호를 전달한다<sup>6-9</sup>.

PLC는 세 가지 아형이 있으며, 이 중 PLC- $\gamma$ 는 epidermal growth factor(EGF), platelet-derived growth factor(PDGF) 및 fibroblast growth factor(FGF)와 같은 성장 인자의 수용체인 tyrosine ki-

nase를 인산화시켜 세포내로 신호를 전달한다<sup>6-9</sup>. 최근에 알려진 바에 의하면 PLC- $\gamma$ 는 tyrosine kinase에 의해서만 활성화되는 것이 아니라 다른 신호전달체계의 산물인 phosphatidic acid, phosphatidylinositol 3, 4, 5-trisphosphate( $PIP_3$ ), tau 단백질 등에 의해서도 활성화되는 것으로 알려져 있다<sup>10-12</sup>. 이 중 tau 단백질은 뇌세포질에서 발견된 것으로 특히 arachidonic acid의 존재하에서 PLC- $\gamma$ 1의 활성을 증가시킨다<sup>12</sup>. 또한 bovine lung에서도 tau 단백질과 유사한 PLC- $\gamma$ 1의 활성화 단백질이 존재함이 확인되었으며 이는 아주 최근에 AHNAK 단백질로 밝혀졌다<sup>13</sup>.

PLC는 변형(transformation) 및 암발생에 중요한 신호전달물질과 관련된 효소로서 특히 PLC- $\gamma$ 1은 정상세포인 rat 3Y1 fibroblast 세포에 과발현시키면 변형을 유도한다<sup>4</sup>. PLC- $\gamma$ 1의 활성은 유방암, 대장암, 위암 등에서 매우 증가되어 있음이 알려져 있으나<sup>1-3</sup> 아직까지 AHNAK 단백질에 대해 질병과 관련하여 연구된 것은 없다. 따라서 저자 등은 PLC- $\gamma$ 1의 활성화

단백인 AHNAK 단백질의 발현 양상을 인체 폐암 조직에서 immunoblot 방식으로 살펴보았으며, 동일 조직에서 면역조직화학염색을 실시하였다.

## 대상 및 방법

### 1. 대상 선정 및 암 조직과 정상 조직의 확보 및 단백질 추출

1994년부터 1997년까지 아주대학교 병원 흉부외과에서 폐절제술(pneumectomy) 및 엽절제술(lobectomy)을 시행하였던 폐암 환자 28예의 폐조직을 대상으로 하였다. 조직학적 유형을 보면 편평세포암이 14예이었고 선암이 14예이었다. 육안적으로 괴사 소견이 없는 종괴의 중앙 부위 조직과 동일 환자의 정상 조직을 취하여 liquid nitrogen tank에 넣어 운반하여 즉시  $-70^{\circ}\text{C}$  냉동고에 보관하였고 일부 조직은 면역조직화학 염색을 시행하였다. 이들 조직은 추후 hematoxylin-eosin 염색 상에서 폐암 조직과 정상 폐조직임을 확인하였다. 신선냉동조직은 10 mM Tris (pH 7.4), 1% Triton X-100, 1 mM EGTA, 1 mM phenylmethylsulfonyl fluoride(PMSF), 1 mM dithiothreitol(DTT),  $2\mu\text{g}/\text{ml}$  leupeptin,  $2\mu\text{g}/\text{ml}$  aprotinin, calpain inhibitor I and II(각각  $4\mu\text{g}/\text{ml}$ )가 들어있는 조직파쇄용 완충액(homogenization buffer)으로 해동시켰다. 이어서 polytron homogenizer(Brinkmann)로 분쇄 후, glass homogenizer의 motor-driven teflon pestle 등을 이용하여 충분히 파쇄하였으며 세포막을 녹이기 위하여 균등질(homogenate)을  $4^{\circ}\text{C}$ 에서 2시간동안 흔들어 주어 세포질과 세포막의 단백질을 추출하였고  $10,000\times g$ 에서 30분간 원심분리하여 상층액을 취하였다. 추출된 표본은 BCA 단백질량시약을 이용하여 단백질 농도를 측정하였다.

### 2. AHNAK 단백질의 western blot 분석

상기 방법으로 준비된 crude extract를 2X Laem-

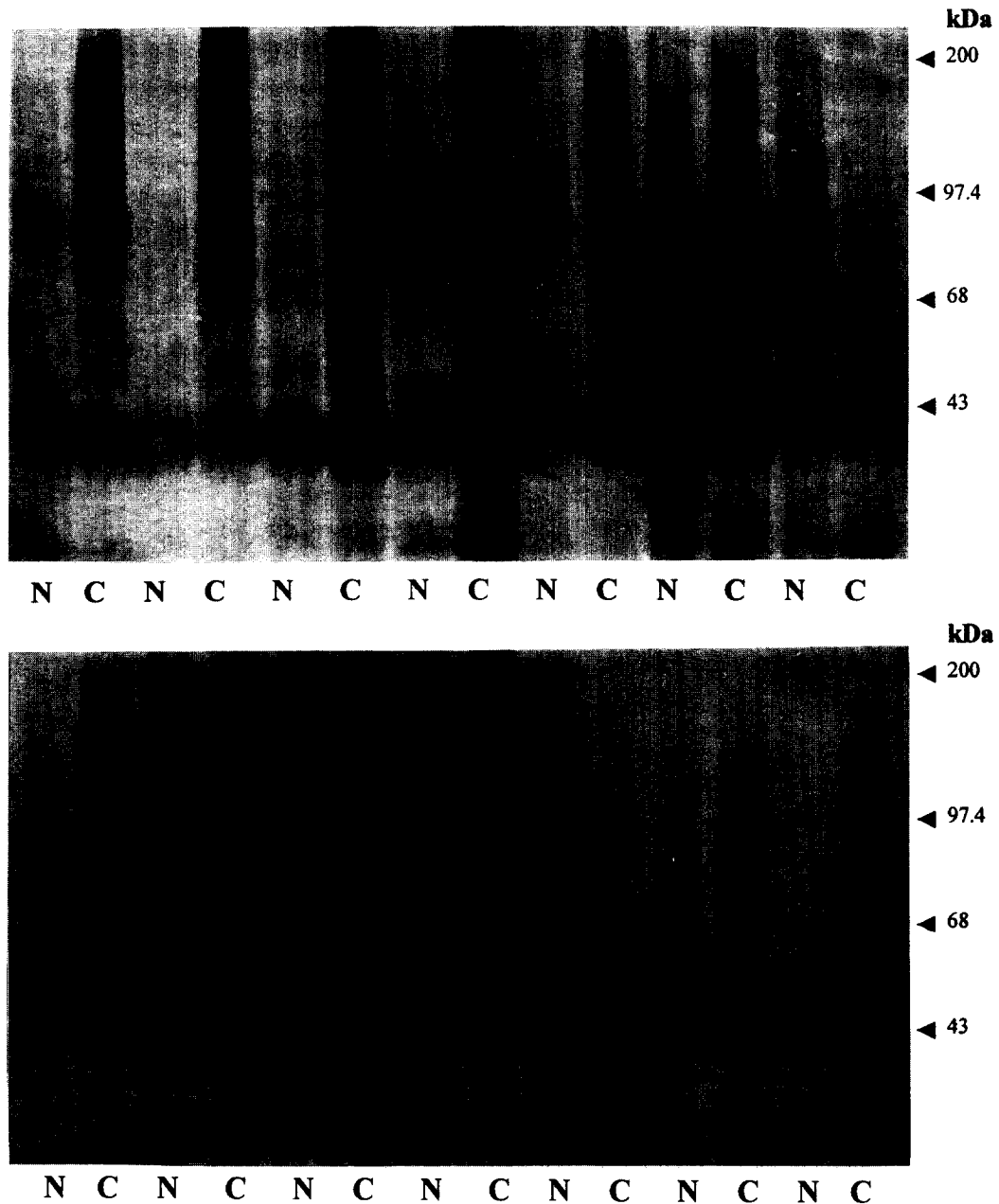
mli's sample buffer와 혼합하여  $90^{\circ}\text{C}$ 에서 3분간 열처리한 뒤에 각 lane당  $70\mu\text{g}$ 을 넣고 10% SDS-polyacrlamide gel에 전기 영동을 시행한 후 nitrocellulose membrane에 이동시켜 2% Bovine Serum Albumin(BSA)으로 30분간 차단(blocking)하였으며 AHNAK 단백질에 대한 1차항체(Laboratory of Cell Signaling, NIH, Bethesda, MD)로 8시간 처리하였다. 3차제 이상 Tween Tris Buffer Solution(TTBS)용액으로 세척한 후에 alkaline phosphatase-conjugated anti-rabbit IgG goat antibody(Kirkegaard and Perry Laboratories, Inc., Gaithersburg, MD)로 발색하여 면역반응대(immunoreactive band)를 관찰하였다.

### 3. 면역조직화학 염색

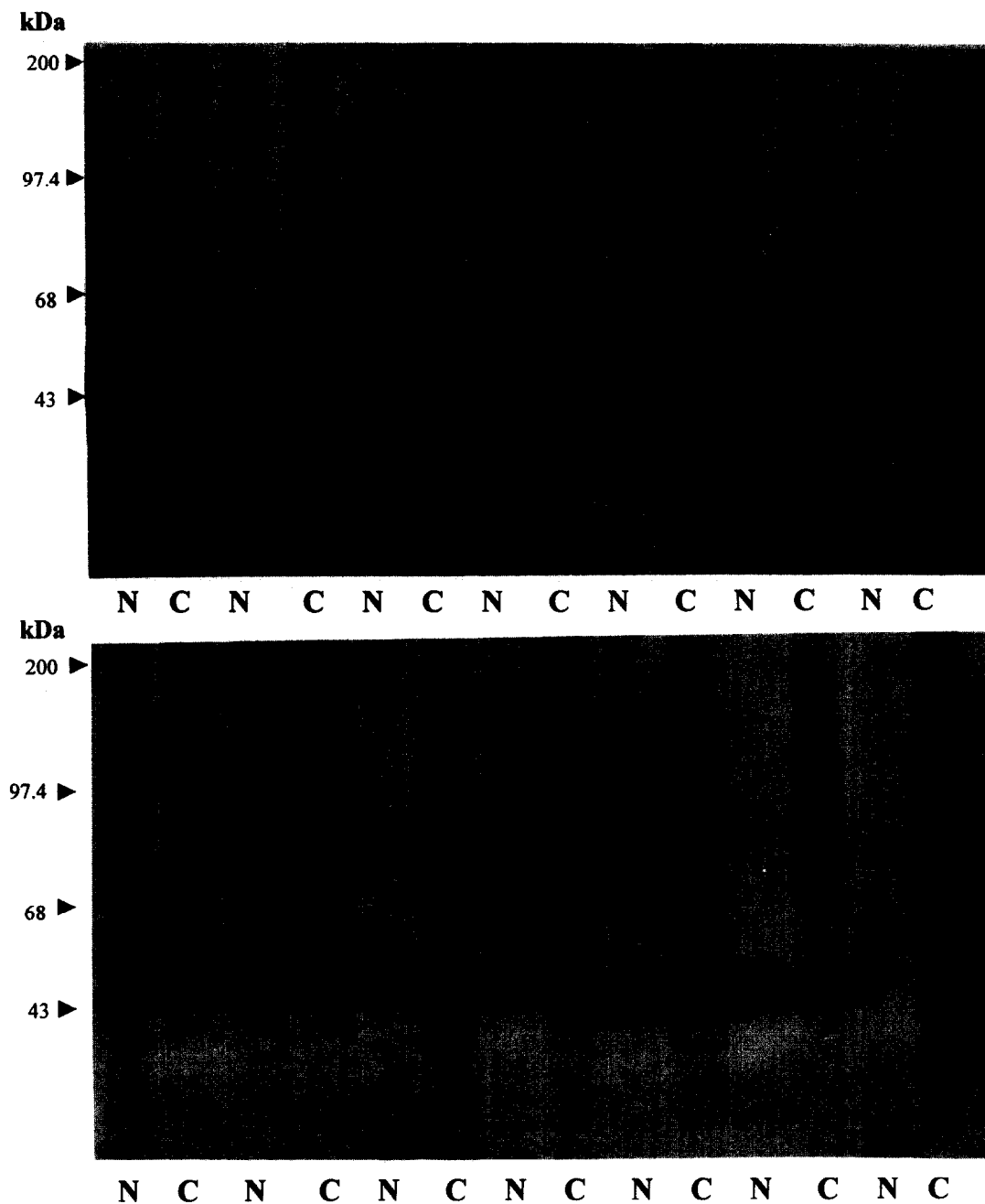
파라핀으로 고정된 폐암 조직과 동일 환자의 정상 조직을 AHNAK 단백질에 대한 1차 항체로 면역조직화학 염색을 시행하였다. 파라핀을 제거한 후에 10% 정상 goat 혈청으로 비특이적인 흡착을 방지하였다. 4시간 동안 anti-AHNAK antibody로 incubation 후, phosphate buffered saline으로 3회 세척하였고 SLAB kit(Dako, Denmark)의 avidin-biotin reagent로 incubation하였다. Chromogen으로서 DAB를 사용하였고 hematoxylin으로 counter stain하였다.

## 결 과

총 28예의 조직 중 22예(78.6%)의 폐암조직에서 정상 조직에 비해 PLC- $\gamma$ 1 활성화 단백질인 AHNAK 단백질의 과발현을 확인할 수 있었으며 편평상피암 조직 14예 중에서 8예(57.1%), 선암 조직 14예 모두에서 과발현되었다. Western blot 분석상에서 AHNAK 단백질은 분자량이 70 kDa~200 kDa의 띠(multiple bands) 모양을 나타내었다. 각각의 band는 흐릿하게 번진 smear 형태를 보였는데 이는 기존에 보고된 tau 단백질과 유사한 양상이었으며, 정상 조직에 비해



**Fig. 1.** Increased expression of PLC- $\gamma$ 1 activator protein(AHNAK) in squamous carcinoma of the lung : Total extracts of membrane and cytosol from squamous carcinoma tissues and paired normal lungs were subjected to 10% SDS-PAGE and immunoblotted with anti-AHNAK polyclonal antibody. Each lane received 70  $\mu$ g protein. Immunoreactive bands were visualized with alkaline phosphatase-conjugated goat antibodies against rabbit IgG. C : lung cancer tissue lanes, N : normal tissue lanes.



**Fig. 2.** Increased expression of PLC- $\gamma$ 1 activator protein(AHNAK) in adenocarcinoma of the lung : Total extracts of membrane and cytosol from adenocarcinoma tissues and paired normal lungs were subjected to 10% SDS-PAGE and immunoblotted with anti-AHNAK polyclonal antibody. Each lane received 70  $\mu$ g protein. Immunoreactive bands were visualized with alkaline phosphatase-conjugated goat antibodies against rabbit IgG. C : lung cancer tissue lanes, N : normal tissue lanes.



Fig. 3. Immunohistochemistry of lung cancer and normal tissues. Immunohistochemistry of the lung cancer and normal tissue with anti-AHNAK polyclonal antibody showing dense staining in cancer cells (marked CANCER) as compared to the normal lung tissues (marked NORMAL).

폐암 조직에서 증가된 밀도를 나타내었다. 또한 면역조직화학적 염색에서는 정상 폐조직에 비해 폐암세포에서 강한 발색반응을 보였다.

## 고 찰

세포에 신호를 전달하는 각종 성장인자, 신경전달물질 그리고 호르몬 등은 세포막에 있는 특이 수용체와 결합하게 되고, 이 결합은 세포내로 전달되어 세포내에서 effector가 활성화된다. 이들 effector 중에서 phospholipase는 세포막의 인지질을 분해하여 arachidonic acid, DAG, phosphatidic acid 등과 같은 세포내 신호전달의 이차전령물질(second messenger) 또는 중개자(mediator)를 만든다<sup>6</sup>. 이들 phospholipase는 phospholipid의 ester bond를 분해하는 위치에 따라 PLA<sub>2</sub>, PLC, PLD로 나누어진다.

이 중 PLC는 세포막에 존재하는 PIP<sub>2</sub>를 분해하여 DAG와 IP<sub>3</sub> 등의 이차전령물질을 생성시키는 효소이다. DAG는 protein kinase C를 활성화시키고 IP<sub>3</sub>는 세포질의 칼슘이온을 증가시켜 다음 단계의 신호전

달 물질들을 활성화시킨다<sup>6-9</sup>. 현재 다양한 PLC 동위효소가 알려져 있는데 아미노산 서열 분석 및 면역학적 특성에 따라  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ 의 세 가지 아형으로 분류된다. 현재까지 포유류에서 알려진 PLC 동위효소는 총 10종류이며  $\beta$ 형 4종류(PLC- $\beta$ 1, - $\beta$ 2, - $\beta$ 3, - $\beta$ 4),  $\gamma$ 형 2종류(PLC- $\gamma$ 1, - $\gamma$ 2),  $\delta$ 형 4종류(PLC- $\delta$ 1, - $\delta$ 2, - $\delta$ 3, - $\delta$ 4)가 알려져 있고<sup>9,14</sup> 공통적으로 X와 Y catalytic domain, 그리고 PH(pleckstrin homology) domain을 가진다.

특히 PLC- $\gamma$ 는 공통 domain 이외에 X와 Y domain 사이에 phosphotyrosine 잔기(residue)를 인지하는 2개의 SH2 domain과 proline rich sequence와 결합할 수 있는 SH3 domain 1개가 위치하고 있으며<sup>14,15</sup>, SH domain에 의해 분리되는 또다른 split PH domain을 가진다. PLC- $\gamma$ 는 특수한 장기나 종(species)에 따라 제한적인 분포 양상을 보이는 PLC- $\beta$ 나 PLC- $\delta$ 와는 달리 모든 조직과 세포에서 발현되며 성장촉진인자의 신호를 세포 내에서 매개하는 효소이다. 대부분의 성장촉진인자들은 세포질 내에 존재하는 PLC- $\gamma$ 의 tyrosine phosphorylation을 유발하여 PLC- $\gamma$ 의 활성화 및 세포막으로의 translocation을 유도한다. PLC- $\gamma$ 를 활성화시키는 기전으로는 tyrosine kinase를 통한 것 이외에도 PLD의 산물인 phosphatidic acid(PA), phosphatidylinositol 3-kinase(PI3-K)의 산물인 phosphatidylinositol 3, 4, 5-trisphosphate(PIP<sub>3</sub>), 신경계 조직에서 발견된 tau 단백질 등이 알려져 있다<sup>10-12</sup>. 이 중 tau 단백질은 bovine brain에서 처음 정제되었는데 뇌 조직에 국한하여 발현되며 arachidonic acid와 함께 작용하여 PLC- $\gamma$ 를 활성화시킨다<sup>12</sup>.

한편, 최근에 비 신경계 조직에서도 tau 단백질과 같은 기전으로 PLC- $\gamma$ 를 활성화시키는 AHNAK 단백질이 보고되었다<sup>13</sup>. AHNAK 단백질은 bovine muzzle 상피세포의 desmosome에서 처음 발견된 680 kDa의 단백질로<sup>16</sup> 희랍어로 "giant"란 뜻이다. Bishop의 연구팀은 신경아세포종과 여러 종류의 종양세포주에서 700 kDa의 큰 분자량을 가지는 단백을 독립적

으로 정제하고 cloning하여 desmosome에서 발견되었던 것과 동일한 단백임을 확인하였으며<sup>17</sup> 그 유전자가 11번 염색체(11q12)에 위치함을 보고하였다<sup>18</sup>. 그러나 AHNAK 단백질의 기능에 대해서는 거의 알려져 있지 않았으며, 아주 최근에 bovine lung에서 정제된 PLC- $\gamma$ 1 활성화 단백질의 아미노산 배열이 AHNAK 단백질과 일치하다는 것이 밝혀지면서 AHNAK 단백질의 세포내 기능이 알려지게 되었다<sup>13</sup>. AHNAK 단백질은 128개의 아미노산이 하나의 기능적 단위가 되고 이들이 반복되어 700 kDa의 큰 단백질 된다. AHNAK 단백질은 풍부한 proline 잔기(residue)를 가지고 있다는 공통점 이외에는 tau 단백질과 구조적으로 매우 닮아도 불구하고 동일한 기전으로 arachidonic acid의 존재시에 PLC- $\gamma$ 1을 활성화시키며 1단위만 존재하여도 PLC- $\gamma$ 1을 활성화시킨다<sup>13</sup>. 한편 arachidonic acid는 염증반응 신호의 기초 산물로 PLA<sub>2</sub>에 의해 phosphatidylcholine으로부터 생성되는데, tau 단백질이나 AHNAK 단백질이 있으면 PLC- $\gamma$ 1의 활성을 촉진하게 된다<sup>13</sup>.

따라서 AHNAK 단백질은 PLC- $\gamma$ 1과 PLA<sub>2</sub> 사이의 "cross-talk" 및 신호의 증폭에 관여하는 단백질로 제시되고 있다<sup>13</sup>.

최근 보고에 의하면 bovine lung에서 정제된 AHNAK 단백질은 SDS-PAGE 상에서 70, 85, 110, 130 kDa의 분자량을 가지는 4개의 단백질로 나타나는데, 이것은 AHNAK 단백질이 정제되는 과정에서 단백질분해효소에 의해 분해된 단편들로 설명하고 있다<sup>13</sup>.

AHNAK 단백질의 생화학적 성질은 bovine lung에서 in vitro로 확인된 것이며, AHNAK 단백질을 질병과 연관시킨 것은 본 연구가 처음이다. 본 연구에서는 AHNAK 단백질이 정상 조직에 비해 폐암조직에서 증가된 발현을 보였고, 면역조직화학 염색에서는 폐암 조직에서 정상 폐조직보다 강하게 염색되는 소견을 보여 증가된 AHNAK 단백질이 암세포에서 기인하였음을 알 수 있었다.

그러나 본 연구에서는 이전의 보고와는 약간 다르게 70~200 kDa의 더 다양한 분자량을 가진 여러개의 띠가 흐릿하게 번진 smear 형태로 나타났는데, 그 이

유로는 bovine lung에서의 AHNAK 단백질을 정제하는 과정 중 폐조직의 crude extract를 정제하기 전에 80°C에서 10분간 가열하였던 과정이 본 연구에서는 생략됨으로써, 파괴되지 않은 단백질분해효소들에 의해 AHNAK 단백질이 더 많은 단편들로 분해된 것으로 생각할 수 있다. 또한 본 연구에서 사용하였던 것은 bovine lung이 아닌 인체 폐조직이며, 그 중 정상 조직과 암 조직을 함께 대상으로 하였으므로 이전의 보고에서 나타난 bovine lung에서의 AHNAK 단백질의 발현 양상과는 다소 상이한 점이 있을 것으로 생각된다.

PLC- $\gamma$ 1은 이미 유방암, 대장암, 위암 등의 여러 악성종양을 대상으로한 연구에서 그 발현이 증가되어 있음이 알려져 있으며<sup>1-3</sup> 처음에는 단순한 과발현으로 생각되었으나 PLC- $\gamma$ 1의 promotor의 이상과 연관되어 있음이 규명된 바 있다<sup>19</sup>. 물론 단순히 AHNAK 발현의 증가만으로 폐암과의 관련을 설명할 수 있는지에 대해서는 논란의 여지가 있겠으나 실질적으로 현재 이루어지고 있는 대부분의 oncogene 및 oncogenic protein에 대한 연구가 이런 발현정도를 관찰하는 것이며 PLC- $\gamma$ 1이 폐암에서도 과발현되어 있다는 이전의 보고와<sup>20</sup>, 본 연구 결과에서 PLC- $\gamma$ 1의 활성화 단백질인 AHNAK 단백질이 폐암 조직에서 정상 조직보다 증가되어 있다는 것은 AHNAK 단백질과 폐암의 관련성을 뒷받침해주는 하나의 자료로 생각된다. 또한 최근 AHNAK 유전자가 Cancer Genomic Anatomy Project의 자료에서 종양표지 유전자로 발표되었는데 AHNAK 단백질의 구체적인 기능들이 앞으로의 연구에서 확인된다면 폐암과의 연관성을 명확히 할 수 있을 것으로 생각된다.

## 요 약

### 배 경:

Phospholipase C(PLC)는 세포의 성장, 분화, 변형(transformation)과 관련된 세포내 신호 전달과정에 중추적인 역할을 하는 효소이다. 이들 중 PLC- $\gamma$ 는 tyrosine kinase의 인산화에 의해 주로 활성화되는데, 최근에 phosphatidic acid(PA), phosphatidy-

linositol 3, 4, 5-trisphosphate(PIP<sub>3</sub>), tau 단백질에 의한 활성화 기전이 밝혀진 바 있다. 특히 tau 단백질은 bovine brain에서 arachidonic acid와 함께 PLC- $\gamma$ 를 활성화시키는 것으로 알려져 PLC- $\gamma$ 와 PLA<sub>2</sub> 사이의 cross-talk이 이루어질 가능성이 제시되고 있다. 최근 보고에 의하면 tau 단백질과 같은 기전으로 PLC- $\gamma$ 를 활성화시키는 단백질이 bovine lung에서 발견되었고, 이 활성화 단백질을 정제 및 클론하여 AHNAK 단백질임이 확인된 바 있다. 또한 PLC- $\gamma$ 이 유방암, 대장암, 위암 등에서 증가되어 있어 발암 과정과 연관되어 있음이 보고되어 왔으나 PLC- $\gamma$ 의 활성화 단백질인 AHNAK 단백질에 대해서는 질병과 관련되어 연구된 것이 아직 없는 실정이며 저자 등은 폐암 조직과 정상 폐조직에서 AHNAK 단백질의 발현 양상을 연구하여 폐암의 발암과정에 AHNAK 단백질이 관여함을 밝히고자 하였다.

#### 대상 및 방법 :

아주대학교 병원에 내원하여 폐암으로 수술을 받은 환자의 폐암 조직과 동일 환자의 정상 폐조직에서 AHNAK 단백질의 발현양상을 western blot 분석과 면역조직화학적 염색방법을 통하여 조사하였다.

#### 결 과 :

14예의 편평상피암 세포조직 중 8예(57.1%)와 14예의 선암 세포조직 모두에서 정상 대조군에 비해 AHNAK 단백질의 발현이 증가하였고, 70 kDa~200 kDa의 여러가지 분자량을 가지는 띠 모양으로 나타났다. 면역조직화학적 염색에서도 정상 폐조직보다 폐암 조직내에서 강한 발색반응을 보였다.

#### 결 론 :

PLC- $\gamma$ 의 활성화 단백질인 AHNAK 단백질이 폐암 조직에서 정상 조직보다 과발현된 것은, AHNAK 단백질이 PLC- $\gamma$ 를 활성화시켜 폐암의 발생 기전에 관여할 수 있음을 뒷받침한다고 하겠다.

## 참 고 문 헌

1. Arteaga CL, Johnson MD, Todderud G, Coffey RJ, Carpenter G, Page DL. Elevated content of the tyrosine kinase substrate phospholipase C-gamma 1 in primary human breast carcinomas. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991;88:10435-9.
2. Noh DT, Lee YH, Kim SS, Kim YI, Rhy SH, Suh PG, Park JG. Elevated content of PLC- $\gamma$ 1 in colorectal cancer tissues. *Cancer* 1994;73:36-41.
3. Hwang SC, Ha MJ, Park KW, Joo HJ, Cho YK. Increased expression of phospholipase C- $\gamma$ 1 in human gastric cancer tissues. *Ajou Medical Journal* 1996;1:68-75.
4. Chang JS, Noh DY, Park IA, Kim MJ, Song H, Ryu SH, Suh PG. Overexpression of phospholipase C-gamma1 in rat 3Y1 fibroblast cells leads to malignant transformation. *Cancer Res* 1997; 15:5465-8.
5. Smith MR, Court DW, Kim HK, Park JB, Rhee SG, Rhim JS, Kung HF. Overexpression of phosphoinositide-specific phospholipase C-gamma in NIH 3T3 cells promotes transformation and tumorigenicity. *Carcinogenesis* 1998;19:177-85.
6. Rhee SG, Choi KD. Regulation of inositol phospholipid-specific phospholipase C isozymes. *J Biol Chem* 1992;267:12393-96.
7. Cockcroft S, Thomas GMH. Inositol-lipid-specific phospholipase C isoenzymes and their differential regulation by receptors. *Biochem J* 1992;288:1-14.
8. Berridge MJ, Irvine RF. Inositol triphosphate a novel second messenger in cellular transduction. *Nature* 1984;312:315-21.
9. Noh DY, Shin SH, Rhee SG. Phosphoinositide specific phospholipase C and mitogenic signaling. *Biochem Biophys Acta* 1995;1242:99-114.
10. Jones GA, Carpenter G. The regulation of PLC- $\gamma$  1 by phosphatidic acid. Assessment of kinetic parameters. *J Biol Chem* 1993;268:20845-50.
11. Bae YS, Cantley LG, Chen CS, Kim SR, Kwon KS, Rhee SG. Activation of phospholipase C-



- gamma by phosphatidylinositol 3, 4, 5-trisphosphate. *J Biol Chem* 1998;273:4465-69.
12. Hwang SC, Shon DY, Bae YS, Kim JH, Rhee SG. Activation of phospholipase C- $\gamma$  by the concerted action of tau proteins and arachidonic acid. *J Biol Chem* 1996;271:18342-49.
  13. Sekiya F, Bae YS, Jhon DY, Hwang SC, Rhee SG. AHNAK, a protein that binds and activates phospholipase C- $\gamma$ 1 in the presence of arachidonic acid. *J Biol Chem* 1999;274:13900-7.
  14. Rhee SG, Choi KD. Multiple forms of phospholipase C isoenzymes and their activation mechanism. *Adv Second Messenger phosphoprotein Res* 1992;26:35-60.
  15. Suh PG, Ryu SH, Moo KH, Suh HW, Rhee SG. Inositol phospholipid-specific phospholipase C: Complete cDNA and protein sequences and sequence homology to tyrosine kinase-related oncogene products. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988;85:5419-23.
  16. Hashimoto T, Amagai M, Parry DA, Dixon TW, Tsukita S, Miki K, et al. Desmoyokin, a 680 kDa keratinocyte plasma membrane associated protein, is homologous to the protein encoded by human gene AHNAK. *J Cell Science* 1993;105:275-86.
  17. Shtivelman E, Cohen FE, Bishop JM. A human gene(AHNAK) encoding an unusually large protein with a 1.2 microns polyionic rod structure. *Proc Natl Acad USA* 1992;89:5472-76.
  18. Kudoh J, Wang Y, Minoshima S, Hashimoto T, Amagai M, Nishikawa T, et al. Localization of the human AHNAK/desmoyokin gene(AHNAK) to chromosome band 11q12 by somatic cell hybrid analysis and fluorescence in situ hybridization. *Cytogenetics & Cell Genetics* 1995;70:218-20.
  19. Lee SJ, Lee SD, Park JG, Kim CM, Rhu SH, Suh PG. Overexpression of phospholipase C- $\gamma$ 1 in colorectal carcinomas is associated with overexpression of factors that bind its promoter. *J Bio Chem* 1995;270:16378-84.
  20. Ma KA, Hwang SH, Song YG, Hah MJ, Park KH. Altered expression of PLC- $\gamma$ 1 in human lung cancer tissue. Abstract in American Thoracic Society Annual Conference, 1997