Ajou Medical Journal
Vol. 1, No. 1, 1996

악성림프종에서 Phospholipase C의 발현

의과학연구소 의학유전학연구실, 아주대학교 의과대학 호흡기내과*,
해부병리과** 및 혈액종양내과***

하만준 · 황성철* · 박광화** · 김현수***
강 영 모 · 김 현 주 · 김 효 철***

The Expression of Phospholipase C in Malignant Lymphomas

Mahn Joon Ha, Sung Chul Hwang*, Kwang Hwa Park**
Hyun Soo Kim***, Young Mo Kang, Hyon Ju Kim
and Hugh Chul Kim***

Laboratory of Medical Genetics, Institute for Medical Science,
Department of Pulmonary and Crinical Care Medicine*, Anatomic Pathology**,
and Hematology-Oncology***, Ajou University School of Medicine, Suwon, Korea

Phosphatidylinositol-specific phospholipase C(PLC) plays a central role in transmembrane signal transduction pathways in response to the interaction between various ligands and cell-surface receptors in most eukaryotic cells. Triggered PLC catalyzes the hydrolysis of phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate to yield the intracellular second messengers, diacylglycerol and inositol 1,4,5-trisphosphate. It has been found that PLC-γ1 is overexpressed in some cancer cells including breast, liver, and colorectal cancer, but data on the expression of PLC isozymes other than γ1 have not been reported. Furthermore, there have been no reports on the expression of PLC in lymphomas. In this study, we examined the patterns of PLC isozymes expression in normal lymph node and lymph node samples from 15 patients with malignant lymphoma by western blot analysis and immunohistochemistry.

The levels of PLC-β1 expression were found to be similar between tumor samples and normal lymph node. PLC-β2 was found to be overexpressed in 12 lymphoma samples showing, marked increase in 4 and slightly increased patterns in 8. PLC-β3 was abnormally expressed quantitatively and qualitatively in all the lymph nodes from lymphoma patients compared to the normal lymph node. PLC-β3 showed a strong overexpression pattern in the lymphoma tissues, and the mobility of this protein was slightly retarded in all samples on the SDS/polyacrylamide gel. There were no detectable changes in PLC-γ1 or -δ1 expression, but PLC-γ2 overexpression was observed in 10 of 15 lymphoma samples.

The fact that lymphoma tissues showed an overexpression of PLC-β2, -β3, and -γ2 indicates that the alteration of the signal transduction pathway is associated with the pathogenesis of lymphoma.

Key Words: Phospholipase C, Malignant lymphoma, Overexpression, Signal transduction

서 론

phosphatidylinositol-specific phospholipase C(PLC)는 세포외부로 부터의 신호에 반응하여 세포질 성분인 phosphatidylinositol 4,5-biphosphate로 부터 2차 신호전달물질인 diacylglycerol(DAG)과 inositol 1,4,5-trisphosphate (IP_3)를 생성하는 세포신호전달계의 중요한 효소이다[1~4]. 여러 조직에서의 정제와 분자생물학적인 클로닝에 의해 현재까지 10가지의 PLC 동위효소(isozyme)가 알려져 있는데, 각 동위효소들의 분자량과 면역학적 및 구조적인 유사성에 따라 β, γ 및 δ로 나누고 있다[5~7]. 각 PLC

저자연락처: 하만준, (442-749) 경기도 수원시 팔달구 원천동 산 5, 아주대학교 의과학연구소 의학유전학연구실, Tel (0331) 219-4520

동위효소들은 서로 다른 수용체(receptor)에 의해 활성화 될 뿐만 아니라 고유의 기전에 의하여 세포신호를 전달하게 된다[8]. PLC-β는 세포막의 수용체와 작용하는 guanine nucleotide-binding protein(G-protein)에 의하여 그 활성이 조절되나[9], PLC-γ1은 G-protein과는 상관 없이 이 효소의 tyrosine 잔기가 인산화 됨으로해서 활성화 된다. 인산화 효소로서의 활성을 가지는 platelet-derived growth factor(PDGF)[10], epidermal growth factor(EGF)[11,12], nerve growth factor(NGF)[13] 및 fibroblast growth factor(FGF)[14]등의 수용체는 PLC-γ1을 인산화하여 이 효소를 활성화하는 것이 알려져 있다. 또한 PLC-γ2는 NK 세포의 세포막에 존재하는 IgG 결합 당단백질인 FcγRIIIA가 중개하는 세포신호전달에 관계하는데 이 효소도 tyrosine 잔기가 인산화 됨으로써 활성을 가지게 된다[15,16]. 현재 까지 PLC-δ의 활성화 기전은 밝혀져 있지 않으나 세포내 Ca^{2+}의 농도에 의해 활성화되고 신호의 증폭에 관계하는 것으로 알려져 있다.

세포신호전달에 관계하는 물질들의 이상 발현이 정상세포에서 악성세포로 변하는 원인으로 작용할 가능성있기 때문에 이 분야의 연구가 최근에 와서 많이 이루어지고 있는데, 세포신호전달의 중요 매개 효소인 PLC가 수 종의 종양에서 과발현되어 있는 것이 보고되어 있다[17-19]. Arteaga등[17]은 사람의 원발성 유선종에서 PLC-γ1이 과발현되어 있을 뿐만아니라 PLC-γ1을 인산화시켜 이 효소를 활성화 시키는 세포막 수용체인 EGF와 erbB-2가 과발현 됨으로 해서 PLC-γ1의 인산화도 증가됨을 밝혔다. 또한 Noh등[18]은 직장암 조직에서, Kim등[19]은 간암조직에서 PLC-γ1이 정상조직 보다 과발현되어 있음을 보고하였다. 비록 Rillema등[20]이 PLC의 과발현이 종양의 형성과정과 밀접한 관계가 있음을 제시하였으나 현재 까지는 종양에 있어서 PLC-γ1 이외의 동위효소들에 대한 연구는 없으며, 또한 악성림프종에 대한 이 분야의 연구는 이루어져 있지 않으므로 본 연구에서는 악성림프종에 있어서의 PLC 동위효소들의 발현양상을 조사하였다.

재료 및 방법

1. 재 료

1994년 부터 1995년 까지 아주대학교 병원에서 림프종으로 진단받은 15명의 환자에서 생검된 림프절을 대상으로 하였는데 여포성 세포 림프종(follicular cell lymphoma)이 3예, 림프절 미만성 대세포 림프종(nodal diffuse large cell lymphma)이 4예, diffuse small cleaved cell lymphoma가 1예, 림프절 외 미만성 대세포 림프종(extranodal diffuse large cell lymphoma)이 4예, anaplastic large cell lymphoma가 2예 그리고 말초 T세포 림프종(peripheral T-cell lymphoma)이 1예 였다. 이 중 각 1예

Table 1. Characteristics of the study population

Case	Age	Sex	Pathologic diagnosis	Cell type	Stage
1	27	M	Normal		
2	25	M	Reactive hyperplasia		
3	50	M	Follicular cell lymphoma	B	IV
4	68	F	Follicular cell lymphoma	B	III
5	40	F	Follicular cell lymphoma	B	III
6	59	M	Diffuse large cell lymphoma (Nodal)	B	IV
7	76	F	Diffuse large cell lymphoma (Nodal)	B	IV
8	68	M	Diffuse large cell lymphoma (Nodal)	B	II
9	77	F	Diffuse large cell lymphoma (Nodal)	B	IV
10	69	M	Diffuse small cell lymphoma	B	IV
11	86	F	Diffuse large cell lymphoma (Extranodal)	B	IV
12	35	F	Diffuse large cell lymphoma (Extranodal)	B	IV
13	17	M	Diffuse large cell lymphoma (Extranodal)	B	IV
14	89	F	Diffuse large cell lymphoma (Extranodal)	B	IV
15	13	F	Anaplastic large cell lymphoma	T	II
16	35	F	Anaplastic large cell lymphoma	B	III
17	50	M	Peripheral large cell lymphoma	T	I

의 anaplastic large cell lymphoma와 말초 T세포 림프종을 제외 하고는 모두 B 세포형이였다(Table 1).

정상인의 림프절과 reactive hyperplasia 림프절을 대조군으로 사용하였다.

간암조직에서의 PLC-β3의 발현양상을 조사하기 위하여 수술로 절제된 간암조직에서 육안으로 조직의 괴사가 없는 부분을 취하였으며, 주변의 정상 간조직을 대조군으로 사용하였다.

2. 방 법

(1) Western blot 분석: 환자로 부터 생검된 림프절 주위의 정상조직을 가능한 제거한 다음 EBC 완충액(40 mM Tris/HCl, pH 8.0, 120 mM NaCl, 0.5% NP-40, 2 μg/ml aprotinine, 2 μg/ml pepstatin, 2 μg/ml leupeptin, 100 μg/ml phenylmethylsulfonyl fluoride)을 가한 후 유리 파쇄기를 이용하여 조직을 파쇄하였다. 파쇄된 조직을 4℃에서 20분간 유지시킨 후 15,000×g에서 20분간 원심분리하여 상등액을 취하였다. 소의 혈청 알부민을 표준액으로 하여 각각의 단백질 양을 측정한 후, 2 mg/ml의 단백질이 되게 2× sodiun dodecyl sulfate(SDS) sample 완충액(100 mM Tris/HCl, pH 6.8, 200 mM dithiothreitol, 4% SDS, 0.2% bromophenol blue, 20% glycerol)을 가한 후 5분간 끓여 시료로 사용하였다. 전기영동은 Mini-gel kit(Bio-Rad)를 이용하였으며, buffer system은 Laemmli의 방법[21]에 따랐다. 젤은 PLC-β 및 γ 의 western blot 분석을 위해서는 6%를, δ 의 분석을 위해서는 8%의 SDS/polyacrylamide를 사용하였다. 간암조직과 주변의 정상조직도 이와 같은 방법으로 처리하여 PLC-β3의 western blot 분석을 실시하였다.

전기영동으로 분리된 단백질은 nitrocellulose membrane으로 전기적인 방법으로 옮겼다.

nitrocellulose membrane은 5% non-fat dry milk(Carnation)가 함유된 TNE 완충액(10 mM Tris/HCl, pH 7.5, 2.5 mM EDTA, 50 mM NaCl, 0.1% Tween 20)으로 1시간 처리 한 후 각 PLC 동위효소에 특이적인 항체로 1~2시간 동안 처리하고, 0.05% Tween 20이 함유된 TNE 완충액으로 3회 수세한 후 Chemiluminescence reagent (NEN, Boston, MA)를 이용하여 X-ray film(Kodak)에 3초~1분 동안 노출하였다.

(2) 면역조직 화학적 방법: 파라핀에 포매된 조직을 5 μm로 절편한 후 파라핀을 제거하고 탈수한 다음 3% H_2O_2가 포함된 methanol에 30분 동안 처리하여 조직에 포함된 peroxidase의 활성을 제거하였다. 염색은 LSAB kit(Dako, Carpinteria, CA)를 사용하였는데 일차 항체는 10 μg/ml이 되게 blocking 용액에 희석한 후 실온에서 1시간 동안 반응시켰고, 이차 항체를 처리한 다음 3',3'-diaminobenzidine(DAB, Sigma, St Louis, MO)으로 발색하였다. 대조 염색은 Harris hematoxylin을 사용하여 행하였다.

결 과

림프종조직에서의 PLC 동위효소들의 발현양상을 정상조직과 비교하기 위하여 PLC-β1, β2, β3 및 β4, γ1 및 γ2, 그리고 δ1을 특이적으로 인지하는 항체를 이용하여 western blot 분석을 실시하였다. 조사된 PLC 동위효소 중 PLC-β4를 제외하고는 본 실험조건하에서 확인 할 수 있었다.

PLC-β1은 정상조직과 비교할 때 종양조직에서 뚜렷한 발현의 차이가 없었으며, 종양의 grade나 원발성 림프절 림프종인지 림프절와 림프종인지와는 상관 없이 일정한 발현양상을 보여주었다(Fig. 1. top panel). PLC-β2의 경우는 정상조직에서는 거의 관찰할 수 없었으나 종양조직에서는 확인이 가능하였는데, low grade에 속하는 여포성(follicular)과 비교할 때 intermediate 또는 high grade인 미만성(diffuse) 종양의 경우 동일한 정도 또는 상당한 과발현을 보였다. 그러나 미만성 종양만을

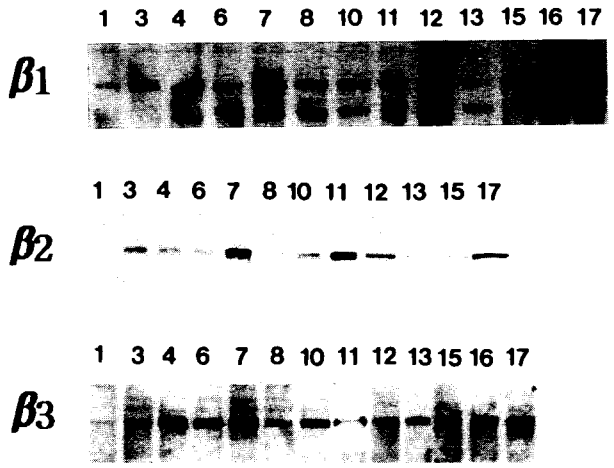

Fig. 1. Immunoblot analysis of PLC-β isozymes in total lysates from normal lymph node and lymphoma tissues. Lane 1, normal; lanes 2 and 4, follicular cell lymphoma; lanes 6-8, diffuse large cell lymphoma(nodal); lane 10, diffuse small cleaved cell lymphoma; lanes 11-13, diffuse large cell lymphoma(extranodal); lanes 15 and 16, anaplastic large cell lymphoma; lane 17, peripheral T-cell lymphoma.

비교할 때 조직형에 따른 유의한 차이는 관찰할 수 없었다(Fig. 1. middle panel).

PLC-β3는 종양조직에서 뿐만 아니라 정상조직에서도 발현되었는데 종양조직에서는 정상조직에 비해 발현정도가 높았으며, SDS/polyacryamide 젤 전기영동 상에서 PLC-β3의 이동도가 약간 느린 것으로 나타났다(Fig. 1. bottom panel).

이러한 사실의 보편성을 확인하기 위해 간암조직에서의 PLC-β3의 발현양상을 간암조직 주변의 정상조직과 비교하였다. 간암조직에서의 PLC-β3의 발현정도는 정상조직과 큰 차이는 없었으나 조사된 6예 중 5예에서 전기영동상의 이동도가 정상조직과 비교할 때 간암조직에서 느리게 나타났다(Fig. 2).

Fig. 3에 보여지는 바와 같이 PLC-γ1은 정상조직과 종양조직에서 모두 높은 발현을 보였으나, 종양조직을 정상조직 또는 reactive hyperplasia 림프절과 비교할 때 양적인 차이는 관찰할 수 없었다. 또한 종양조직의 조직형에 따른 차이도 나타나지 않았다. PLC-γ1과는 달리 γ2의 경우에는 발현양상의 뚜렷한 차이를 확인 할 수 있었다. 여포성 림프종의 경우에는 정상 또는 reactive hyperplasia림프절과 비교할 때 3 경우중 2 경우에 있어 PLC-γ2 발현의 큰 차이는 없었으나 한 경우에는 과발현을 보였고(Fig. 3. lanes 2-4), 미만형 림프종에 있어서는 정상 또는 여포성 종양 조직에 비해 대부분의 경우(86%) 현저한 과발현이 관찰되었으나 T 세포성의 두 경우 모두에서는 상대적으로 낮은 발현을 보였다(Fig. 3. lane 15와 17).

PLC-δ1은 본 연구에서 조사 된 PLC의 동위효소들 중 림프절 조직에서 가장 현저히 발현 되었는데 종양조직을 정상조직과 비교할 때 큰 차이가 없었으나 미만성 대세포성 림프종의 경우 림프절 또는 림프절 외 림프종 모두에서 약간 감소된 양상으로 나타났다(Fig. 4).

Western blot 분석에 의하여 종양조직에서 과발현이 관찰된 PLC의 동위효소들의 종양세포내에서의 분포양상을 확인하기 위하여 PLC-β2, β3 및 γ2를 면역조직화학적인 방법으로 염색을 실시하였다. PLC-β2및 β3와는 달리 PLC-γ2의 경우는 PLC-γ2에 특이적인 항체가 면역조직화학적인 방법으로는 반응을 나타내지 않았다.

Fig. 5A는 western blot 분석에 의해 PLC-β2가 과발현되어 있는 것으로 나타난 미만성의 대세포성 림프종에서의 이 효소의 면역조직화학적인 염색양상이다. 주변에 있는 정상세포와는 달리 종양세포에서는 뚜렷한

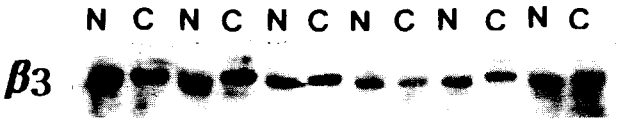

Fig. 2. Immunoblot analysis of pLC-β3 in total lysates from normal and hepatoma tissues. N, nornal tissue; C, hepatoma tissue.

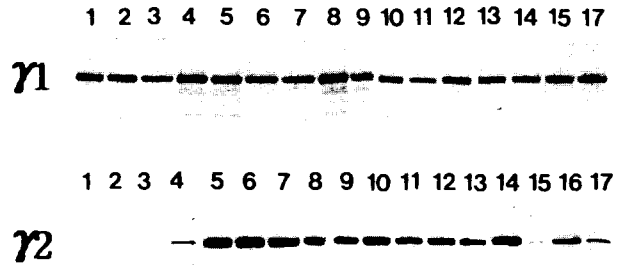

Fig. 3. Immunoblot analysis of PLC-γ isozymes in total lysates from normal lymph node and lymphoma tissues. Lane 1, normal; lane 2, reactive hyperplasa; anes 3-5, follicular cell lymphoma; lanes 6-9, diffuse large cell lymphoma(nodal); lane 10, diffuse small cleaved cell lymphoma; lanes 11-14, diffuse large cell lymphoma(extranodal); lanes 15 and 16, anaplastic large cell lymphoma; lane 17, peripheral T-cell lymphoma.

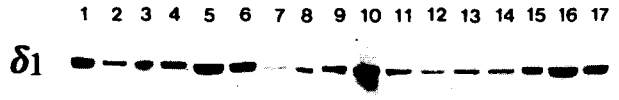

Fig. 4. Immunoblot analysis of PLC-δ isozymes in total lysates from normal lymph node and lymphoma tissues. Lane 1, normal; lane 2, reactive hyperplasa; lanes 3-5, follicular cell lymphoma; lanes 6-9, diffuse large cell lymphoma(nodal); lane 10, diffuse small cleaved cell lymphoma; lanes 11-14, diffuse large cell lymphoma(extranodal); lanes 15 and 16, anaplastic large cell lymphoma; lane 17, peripheral T-cell lymphoma.

양성반응을 관찰할 수 있었는데, 대부분의 종양세포에서는 세포막을 포함한 세포질에 미만성으로 염색되었을 뿐만아니라 일부세포(10%)에서는 핵내에도 염색되었다.

Fig. 5B는 연부조직(soft tissue)에 발생한 림프절 외 림프종에서의 PLC-β3의 발현양상으로 세포막이나 세포질보다는 대부분(90%)의 핵에서 강한 반응을 보였다.

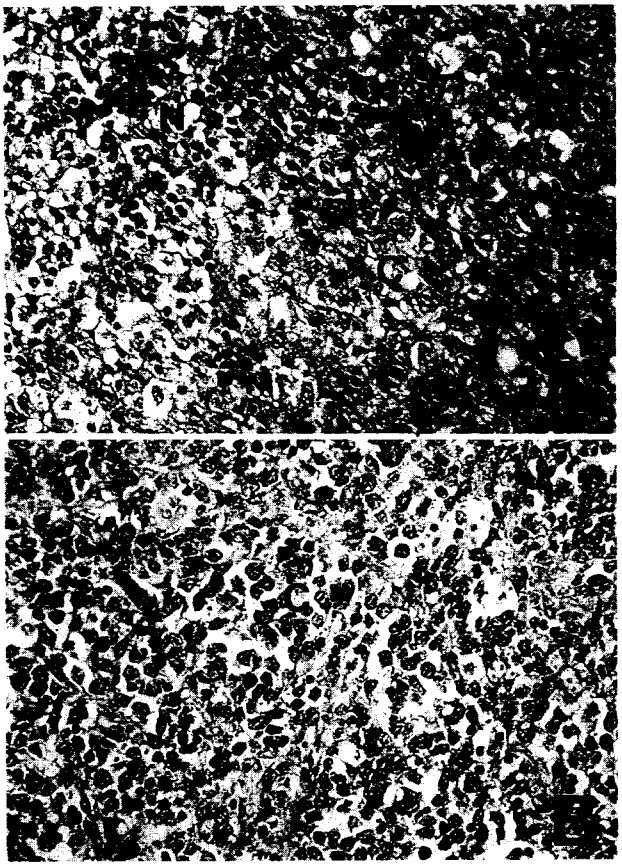

Fig. 5. Immunohistochemical detection of PLC-β2(A) and PLC-β3(B) by isozyme-specific antibodies on paraffin section.(original amplification ×200) N, normal lymphocytes; C, cancer region

고 찰

현재까지 적어도 10가지의 PLC 동위효소가 알려져 있는데 최근의 연구들에 의하여 이들 동위효소들은 PLC에 의해 매개되는 세포신호 전달과정에 있어 독특한 경로를 가지는 것이 밝혀졌다[22]. PLC-β1은 G-protein에 의해 활성화 되어지는 반면에[9,23] 비슷한 조건하에서 PLC-γ1과 δ1은 자극을 받지 않는다. Growth factor에 의해 유도된 PLC의 활성은 G-protein에 비의존적인 대신에 이들 성장효소에 반응하는 수용체의 tyrosine 인산화 활성을 필요로 한다[24]. EGF를 포함하여 여러 성장효소는 수용체에 결합함으로써 이 수용체에 tyrosine 인산화 활성을 부여하고 PLC-γ1의 tyrosine 잔기가 인산화 됨으로해서 PLC-γ1이 활성화 된다. 그러나 이 때 PLC-β1 또는 δ1은 자극되지 않는다[25~27].

이와 같이 PLC의 각 동위효소들은 서로 다른 경로를 통하여 활성화 될 뿐만 아니라 각 기관 및 동일 기관 내의 서로 다른 조직 부위에 따라 분포 양상에 차이가 있다[28,29]. 또한 여러가지 종양세포주에서 조사된 바에 의하면 대부분의 세포주에서는 PLC-γ1, δ1 및 β1이 주로 존재하나 조혈세포(hematopoitic cell)에서는 PLC-β2, β3, γ1 및 γ2가 많은 양으로 분포되어 있다. 따라서 본 연구에서는 현재 까지 연구가 이루어져 있지 않은 림프종형성과 관련된 각 PLC 동위효소들의 발현 양상을 조사하였다.

본 연구에서는 동일양의 단백질이 각 동위효소들의 western blot 분석에 사용되었으며, PLC-β1은 정상조직과 종양조직에서 차이가 나타나지 않았을 뿐만 아니라 전기영동에 사용된 단백질 양에 대한 표준 단백질로 사용된 actin의 양이 westen blot분석에 의해 전 시료에서 동일하게 나타난 것으로 보아(결과는 싣지 않음) PLC-β2와 β3는 종양조직에서 과발현 되어 있는 것을 알 수 있다. PLC-β2의 경우는 정상세포에서는 확인되지 않았으나 종양조직에서 과발현 되는 것으로 보아 림프종 형성에 관계가 있을 것으로 생각된다. 또한 저등급인 여포성 림프종에서 보다 미만성 림프종에서 더욱 높게 발현되므로 PLC-β2의 과발현 정도가 종양의 등급에도 관계가 있을 것으로 믿어진다.

PLC-β2는 Park등[30]에 의하여 HL-60 세포의 cDNA library에서 클론되었는데 현재까지 이 효소를 활성화 시키는 수용체나, couple되어 있는 G-protein의 α subunit는 알려져 있지 않다. 최근에 Faure등[31]은 PLC-β2를 COS-7 세포에 과발현 시키면 세포신호전달에 있어 중추적인 효소인 mitogen-activated protein kinase(MAPK)의 활성이 증가되는 것을 확인 한 바 있다. 따라서 림프종에 있어서 과발현된 PLC-β2는 이 효소를 통해 세포 외부의 신호를 전달시키는 어떤 수용체의 자극을 확대하여 지속적이며 증가된 phosphatidylinositol의 분해를 통하여 생성된 DAG가 protein kinase C(PKC)를 활성화 시키고 궁극적으로 MAPK를 과다하게 인산화하여 신호전달의 균형이 무너지는 것과 관계가 있을 것으로 생각된다.

본 연구에서 PLC-β3는 정상조직에 비해 종양조직에서 과발현되는 것으로 나타났으나, 종양조직의 조직형태에 따른 차이는 없었다. 따라서 PLC-β3의 과발현은 림프종의 형성에 보편적으로 작용하거나 종양의 특성인 활발한 세포분열의 부수적인 결과로 생각되어지는데 림프종에 대한 새로운 진단 표식자로 사용될 수 있을 것이다. 본 연구에서 종양조직에서의 PLC-β3의 분자크기가 정상조직과 차이가 있다는 것은 흥미롭다. 이러한 사실의 보편성을 확인하기 위하여 6예의 간암조직

에서의 PLC-β3의 발현양상을 주변의 정상조직과 비교해 본 결과 PLC-β3의 양적인 차이는 없었으나 대부분의 경우(5예)에 있어서 전기영동 상으로 PLC-β3 분자의 이동도가 뚜렷히 느리게 나타나는 것을 확인 할 수 있었다. 정제 된 PLC-β1은 PKC에 의하여 serine 및 threonine 잔기가 인산화가 되는데(본 연구의 공동연구자인 황등의 미발표 결과에 의함) 림프종에서 과발현 된 PLC-β2의 작용 결과 초래 된 PKC의 과활성에 의해 PLC-β1과 유사한 아미노산 배열을 가지는 PLC-β3가 인산화되어 분자량이 증가된 것으로 생각 된다. 또 다른 가능성으로는 PLC-β3는 alternative splicing이 일어나는 것으로 알려져 있는데[32] 종양조직과 정상조직이 서로 다른 transcript를 가질 수 있다는 것이나 이 분야에 대한 연구는 더 진행되어야 할 것이다.

현재까지 종양조직에 있어서 PLC 동위효소의 발현에 대한 연구들은 대부분 PLC-γ1에 대한 것들이다. Arteaga등[17]이 사람의 원발성 유선종에서 PLC-γ1이 과발현되어 있다는 것을 밝힌 후 직장종양[18]등에서 비슷한 결과가 보고되었다. PLC-γ는 다른 PLC 동위효소와는 달리 비수용체 tyrosine 인산화 효소인 *src* family의 non-catalytic domain과 유사한 부분인 SH2와 SH3를 가지고 있는데, SH2 domain은 growth factor에 의해 자극 된 EGF나 PDGF와 같은 수용체들의 자가인산화의 결과로 생긴 인산화 된 tyrosine 잔기에 결합함으로써 세포신호전달에 관계하게 된다[33]. 따라서 현재 까지의 연구들은 PLC-γ1의 과발현으로 인한 tyrosine 인산화 활성을 가진 수용체를 통한 신호전달의 이상이 종양형성에 보편적으로 작용함을 제시하였다. 그러나 림프종에서는 이 효소의 과발현이 관찰되지 않았다는 것은 이 종양의 발생기전이 다른 종양과는 다르다는 것을 시사한다.

Coggeshall등[34]은 T와 B 림프구에서 PLC-γ1과 γ2의 발현양상을 비교한 연구에서 T 림프구는 PLC-γ1의 양이 γ2에 비해 많은 반면, 분열하고 있지 않는 murine과 사람의 B 림프구에서는 PLC-γ2가 높았으며, B 세포 림프종 세포주의 경우 조사된 5 종류의 murine 세포주 모두에서, 그리고 6 종류의 사람의 세포주 중 3 종류에서 PLC-γ2가 γ1 보다 높게 또는 동등하게 발현된다는 것을 밝혔다. 또한 그들은 항체로 B-cell surface immunoglobulin을 자극하면 PLC-γ2가 신속히 인산화 됨을 관찰하고 PLC-γ2가 B 림프구의 신호전달에 중추적인 역활을 함을 제시하였다. 본 연구에서도 2예의 T 세포 종양을 제외한 조사 된 전 예의 B 세포 종양에서 PLC-γ2가 과발현 되어 있는 것으로 보아 B 세포 림프종 형성에 PLC-γ2의 과발현으로 인한 신호전달계의 이상이 관련되어 있을 것으로 생각된다.

면역조직화학적인 방법에 의한 PLC-β2와 β3의 염색은 western blot 분석에서와 마찬 가지로 정상조직에 비해 종양조직에서 이들 효소들이 과발현 되어 있음을 보여 주었다. 두 효소 모두 핵 내에서의 반응성을 보인 점은 흥미로운 것으로 PLC-β2와 β3는 현재 까지 알려진 바와 같이 세포막에 존재하는 G-protein에 의해 활성화되어 세포신호전달에 관계하는 것 이외에 핵내에서도 어떤 역할을 하는 것으로 사료되는데 여기에 대한 연구는 계속되어야 할 것이다.

참 고 문 헌

1. Nishzuka Y: Studies and perspectives of protein kinase C. Science 233: 305-313, 1986
2. Berridge MJ and Irvine RF: Inositol phosphate and cell signalling. Nature 341: 197-205, 1989
3. Davidson JS, Wakefield IK, Sohnius U, Van Der Merwe PA and Millar RP: A novel extracellular nucleotide receptor coupled to phosphoinositidase-C in pituitary cells. Endocrinology 126: 80-87, 1990
4. Dubyak GR: Signal transduction by P2-purinergic receptors for extracellualr ATP. Am J Respir Cell Mol Biol 4: 295-300, 1990
5. Rhee SG, Suh PG, Ryu SH and Lee SY: Studies of inositol phospholipid specific phospholipase C. Science 244: 546-550, 1989
6. Carozzi A, Camps M, Gierschik P and Parker PJ: Activation of phosphatidylinositol lipid-specific phospholipase C-β3 by G-protein βγ subunits. FEBS Lett 315: 340-342, 1993
7. Cheng HF, Jiang MJ, Chen CL, Liu SM, Wong LP, Lomasney JW and King K: Cloning and identification of amino acid residues of human phospholipase C δ1 essencial for catalysis. J Biol Chem 270: 5495-5505, 1995
8. Rhee SG and Choi KD· Regulation of inositol phospholipid-specific phospholipase C isozymes. J Biol Chem 267: 12393-12396, 1992
9. Lee CH, Park D, Wu D, Rhee SG and Simon MI: Members of the Gq α subunit gene family activate phospholipase C-β isozymes. J Biol Chem 267: 16044-16047, 1992
10. Wahl MI, Olashaw NE, Nishibe S, Rhee SG, Pledger WJ and Carpenter G: Platelet-derived growth factor induces rapid and sustained tyrosine phosphorylation of phospholipase C-γ in quiscent BALB/c 3T3 cells. Mol Cell Biol 9: 2934-2943, 1989
11. Margolis B, Rhee SG, Felder S, Mervic M, Lyall R and Guroff G: EGF induces tyrosine phosphorylation of phospholipase C-II: a potential mechanism for EGF-receptor signalling. Cell 57: 1101-1107, 1989
12. Meisenheider J, Suh PG, Rhee SG and Hunter T: Phspholipase

C-γ is a substrate for the PDGF and EGF receptor protein tyrosine kinases in vivo and in vitro. Cell 57: 1109-1122, 1989

13. Kim UH, Fink D, Kim HS, Park DJ, Contreras ML and Guroff G: Nerve growth factor stimulates phosphorylation of PLC-γ in PC12 cells. J Biol Chem 266: 1359-1362, 1991
14. Burgess WH, Dionne CA, Kaplow J, Mudd R, Friesel R and Ziberstein A: Characterization and cDNA cloning of phospholipase C-γ, a major substrate for heparin binding growth factor 1(acidic fibroblasr growth factor) activated tyrosine kinase. Mol Cell Biol 10: 4770-4777, 1990
15. Blake RA, Schieven GL and Watson SP: Collagen stimulates tyrosine phosphorylation of phospholipase C-γ2 but not phospholipase C-γ1 in human platelets. FEBS Lett 353: 212-216, 1994
16. Liao F, Shin HS and Rhee SG: Cross-linking of FcγRIIIA on natural killer cells results in tyrosine phosphorylation of PLC-γ 1 and PLC-γ2. J Immunol 150: 2668-2674, 1993
17. Arteaga CL, Johson MD, Todderud G, Coffey RJ, Carpenter G and Page DL: Elevated content of the tyrosin kinase substrate phospholipase C-γ1 in primary human breast carcinomas. Proc Natl Acad Sci USA 88: 10435-10439, 1991
18. Noh DY, Lee YH, Kim SS, Kim YI, Ryu SH, Suh PG and Park JG: Elevated content of phospholipase C-γ1 in coloretal cancer tissues. Cancer 73: 36-41, 1994
19. 김성숙, 조수연, 김경희, 김정란, 이영한, 서판길, 허만하 및 박영훈: 간세포암종에서 phospholipase C-γ1의 발현과 DNA ploidy와의 관계. 대한암학회지 26: 885-891, 1994
20. Rillema JA: Possible role of phospholipase C in the regulation of cell division in normal and neoplastic cells. Med Hypo 29: 1-4, 1989
21. Laemmli UK: Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature 227: 680-685, 1970
22. Lee SB and Rhee SG: Significance of PIP2 hydrolysis and regulation of phospholipase C isozymes. Curr Opin Cell Biol 7: 183-189, 1995
23. Taylor SJ, Chae HZ, Rhee SG and Exton JH: Activation of the β isozyme of PLC by α subunit of the G protein. Nature 350: 516-518, 1991
24. Rhee SG, Park DJ and Park D: Regulation of phospholipase C isozymes. In: Cochrane CG, Gimbrone MA Jr, editors. Cellular and molecular mechanisms of inflammation: signal transduction I, vol 3. New York: Academic Press 57-88, 1992
25. Kim JW, Sim SS, Kim UH, Nishibe, Wahl MI and Carpenter G: Tyrosine residues in bovine phospholipase C-γ phosphorylated by the EGF receptor in vitro. J Biol Chem 265: 3940-3943, 1990
26. Wahl MI, Nishibe S, Kim JW, Kim H, Rhee SG and Carpenter G: Identification of the major EGF-sensitive tyrosine phosphorylation sites for phospholipase C-γ in intact HSC-1 cells. J Biol Chem. 265: 3944-3948, 1990
27. Nishibe S, Wahl MI, Hernandez-Sotomayor SMT, Tonks NK, Rhee SG and Carpenter G: Tyrosine phosphorylation increases the catalytic activity of phospholipase C-γ1. Science 250: 1253-1256, 1990
28. Tanaka O and Kondo H: Localization of mRNAs for three members(β3, β4 and γ2) of phospholipase C family in mature rat brain. Neurosci Lett 182: 17-20, 1994
29. Watson AJ, Katz A and Simon MI: A fifth member of the mammalian G-protein β -subunit family. Expression in brain and activation of the β2 isotype of phospholipase C. J Biol Chem 269: 22150-22156, 1994
30. Park D, Jhon DY, Kriz R, Knopf and Rhee SG: Cloning, sequencing, expression, and Gq-independent activation of phospholipase C-β2. J Biol Chem 267: 16048-16055, 1992
31. Faure M, Voyno-Yasenetskaya TA and Bourne HR: cAMP and βγ subunits of heterotrimeric G proteins stimulate the mitogen-activated protein kinase pathway in COS-7 cells. J Biol Chem 269: 7851-7854, 1994
32. Jhon DY, Lee HH, Park D, Lee CW, Lee KH, Yoo OJ and Rhee SG: Cloning, sequencing, purification, and Gq-dependent activation of phospholipase C-β3. J Biol Chem 268: 6654-6661, 1993
33. MacLean D, Sefler AM, Zhu G, Decker SJ, Saltiel AR, Singh J, McNamara D, Dobrusin EM and Sawyer TK: Differentiation of peptide molecular recognition by phospholipase C γ1 *src* homology-2 domain and a mutant Try phosphatase PTP1bC215S. Protein Sci 4: 13-20, 1995
34. Coggeshall KM, McHugh JC and Altman A: Predominant expression and activation-induced tyrosine phosphorylation of phospholipase C-γ2 in B lymphocytes. Proc Natl Acad Sci USA 89: 5660-5664, 1992