

포스터 발표

P-1

인체 혈액암세포주(HL-60)에서 HMG-CoA reductase inhibitor(lovastatin)에 의한 apoptosis 유도 기전

이해미, 박태선. 연세대학교 식품영양학과

Lovastatin은 콜레스테롤 또는 isoprenoids 물질의 생합성과정에서 rate-limiting 효소로 작용하는 HMG-CoA reductase의 저해제로서 고콜레스테롤혈증 치료에 흔히 이용되고 있다. 최근에는 이와같은 lovastatin이 항암활성을 지닌다는 사실이 보고된 바 있는데, 이는 암세포의 증식을 유도하는 신호전달 단백질들의 isoprenylation과정이 콜레스테롤 생합성과정 중 생성되는 geranyl phosphate 또는 farnesyl phosphate 물질들을 필요로 하기 때문이다. 즉, lovastatin이 이들 물질의 생합성을 억제하기 때문에 결과적으로 암세포의 증식이 억제되고, apoptosis를 유도하는 것으로 생각된다. Apoptosis는 정상조직에서 부적절하게 세포수가 증가하거나 또는 유전적인 손상을 입은 세포를 제거하는데 이용되는 세포사망 현상이다. 본 연구에서는 human acute myeloid leukemia 세포주인 HL-60 세포를 대상으로 lovastatin의 apoptosis 유도 여부를 평가하고 그 작용기전을 살펴보고자 하였다. MTT test를 이용하여 lovastatin 처리에 의한 세포생존율을 평가하였고, HL-60세포에서 DNA를 추출한 후 전기영동을 실시하여 apoptosis의 특징인 DNA 분절 유무를 평가하였다. 또한 핵융축, 세포막의 변형 및 DNA 분절등으로 인해 초래되는 세포모양의 변화를 감지하기 위해 giemsa를 이용하여 세포를 염색한 후 현미경으로 관찰하였다. 암세포에서 세포증식 억제신호에 의해 apoptosis 현상이 나타날 때 수반되는 다양한 신호전달과정 단백질들의 구조적 변화를 Western blot을 통해 확인하였다. 특히 미토콘드리아에 존재하던 cytochrome c가 세포질로 방출되면 불활성 형태의 procaspase가 활성화되어 poly-(ADP-ribose) polymerase (PARP)를 활성화시키고, 후자는 DNA 분절을 초래하게 된다. 본 실험 결과에 의하면 HL-60 세포를 0~100 μ M 농도의 lovastatin으로 0~12시간 처리한 결과 농도와 시간 의존적으로 DNA 분절현상이 나타났다. HL-60세포를 100 μ M의 lovastatin으로 전처리한 결과 전형적인 apoptosis의 세포모양을 나타냈다. 또한 HL-60세포에서 apoptosis를 유도시키는 단백질들의 변화를 살펴보기 위해 100 μ M의 lovastatin으로 30분, 1시간, 2시간, 4시간 또는 6시간 전처리한 결과 1시간 이후부터 cytochrome c가 미토콘드리아에서 세포질로 방출되는 현상이 관찰되었다. 아울러 lovastatin(100 μ M)으로 처리한 HL-60세포에서 32KDa 크기의 불활성형 caspase-3가 17KDa과 11KDa의 활성형으로 분리됨이 확인되었고, 116KDa의 불활성형 PARP가 85KDa과 45KDa으로 분리되어 활성화되는 것이 확인되었다. 이상의 결과는 lovastatin이 cytochrome c를 세포질로 방출시켜 caspase-3와 PARP를 활성화시키고, DNA 분절을 유도하여 apoptosis를 초래하므로서 leukemia의 화학적 예방물질로 작용할 수 있음을 시사하는 것이다.