

인간의 전립선암 세포인 DU145에서 감초의 성분인 isoangustone A에 의한 apoptosis 및 cell cycle arrest 유도기전

한림대학교 : 선미라, 박소영, 임순성, 윤정한

경북대학교 : 김정상

Isoangustone A isolated from the hexane/ethanol extract of *Glycyrrhiza uralensis* induces apoptosis and cell cycle arrest in DU145 human prostate cancer cells

Food Science and Nutrition, Hallym University

Mi Ra Seon, So young Park, Soon Sung Lim and Jung Han Yoon Park

Animal Science and Biotechnology, Kyungpook National University

Kim Jong-Sang

실험목적 (Objectives)

식생활의 서구화, 노인인구의 증가에 따라 전립선암의 발생이 더욱 증가할 것이라 예상된다. 따라서 부작용을 최소화하고 치료효과는 높이기 위한 생약 및 천연물을 이용한 항암제의 개발과 그 기전연구가 필요하다. 감초의 다양한 효능은 널리 알려져 있으나 다량 섭취할 경우 감초에 포함된 glycyrrhizin 성분에 의해 고혈압이 유발된다. 따라서 본 연구팀은 glycyrrhizin을 제거한 hexane/ethanol extract of *Glycyrrhiza uralensis* (HEGU)를 제조하였다. 선행연구결과 HEGU는 apoptosis 유도 및 cell cycle arrest를 통해 인간의 전립선암 세포인 DU145의 세포증식을 억제하였으며 그 유효성분이 isoangustone A임을 확인하였다. 따라서 본 연구에서는 HEGU의 유효성분인 isoangustone A를 이용하여 인간의 전립선암 세포인 DU145의 세포증식 억제기전에 대하여 연구하였다.

재료 및 방법 (Materials and Methods)

○ 실험재료

DU145 prostate cancer cells, Biobenzimide H33258 (Hoechst 33258), 3-(4,5-dimethyl-thiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT), Cell Death Detection ELISA^{plus}, apoptosis 및 cell cycle 관련 antibody

(Corresponding author) : 윤정한 E-mail : jyoona@hallym.ac.kr Tel : 033-248-2134

○ 실험방법

HEGU를 silica gel이 포함된 column에 통과시켜 n-hexane-ethyl acetate gradient system을 이용하여 분리하여 isoangustone A를 얻었다. 살아있는 세포수를 측정하기 위하여 MTT assay를 수행하였으며, Hoechst staining과 Cell Death Detection ELISA를 이용하여 isoangustone A가 apoptosis에 미치는 영향을 조사하였다. 핵을 propidium iodide로 염색한 후 FACS analysis를 이용하여 cell cycle에 미치는 영향을 알아보았으며 Western blot을 이용하여 apoptosis와 cell cycle에 관련된 단백질의 발현을 조사하였다.

실험결과 (Results)

Isoangustone A가 낮은 농도에서 농도 의존적으로 인간의 전립선암 세포인 DU145의 세포증식을 억제하는 것을 관찰하였다. 세포는 apoptosis가 일어나고 cell cycle이 억제될 때 증식이 억제된다. 따라서 isoangustone A가 apoptosis에 미치는 영향을 조사하기 위하여 Hoechst로 세포의 핵을 염색하여 관찰한 결과, 처리 농도가 증가할수록 apoptosis의 특징적인 현상인 DNA condensation이 증가하였다. Isoangustone A의 처리는 apoptosis관련 단백질인 Fas, TRAIL, Mcl-1S를 증가시켰고, caspase-8, -9, -3, -7과 poly(ADP-ribose) polymerase (PARP)의 분절을 증가시켰다. 또한 isoangustone A가 cell cycle에 미치는 영향을 알아보기 위해 FACS analysis를 수행한 결과 isoangustone A는 G1 phase arrest를 유도하였으며, G1 phase를 진행시키는 단백질들인 cyclin-dependent kinase (CDK)2, CDK4, cyclin A와 cyclin D1의 수준을 감소시켰다. 따라서 isoangustone A는 apoptosis를 유도시키고 cell cycle 억제를 통해 DU145 세포증식을 억제한다는 결론을 내릴 수 있다.