

알로에 성분 NY932의 혈관생성 촉진작용과 그 작용기전

김규원

부산대 분자생물학과

< 초 록 >

Aloe의 추출 시료들중 혈관생성을 촉진하는 물질이 G1M1D1M1 분획에 있음을 chorioallantoic membrane(CAM) assay, *in vitro* angiogenesis assay, u-PA, PAI, u-PAR, 및 matrix metalloprotease(MMP)의 유전자 발현조사, gelatin zymogram assay, modified CAM assay를 하여 확인 하였다.

그런 다음 G1M1D1M1분획을 다시 분리하여 단일 성분인 NY932와 3종의 분획들을($U > 3,000$, $3,000 > U > 1,000$, $U < 1,000$) 얻었다.

이들 각각에 대한 혈관 생성 촉진 작용을 CAM assay 방법으로 조사한 결과 순수단일 성분인 NY932가 혈관 생성 촉진 활성을 가장 높게 나타냈다. 즉 NY932의 농도를 100ng, 2, 10, 35, 60 μg 으로 투여하였을 때, 각각 2/18(11%), 4/10(40%), 16/22(73%), 15/17(88%), 9/9(100%)의 혈관생성 촉진 효과를 보였다.

따라서 순수 단일 성분인 NY932의 혈관 생성 촉진 작용기전을 규명하기 위하여 혈관 생성에 관련된 효소들[matrix metalloprotease(MMP)s, urokinase-plasminogen activator(uPA) 등]과 그 저해제들(TIMPS, PAI)의 유전자 발현을 조사하였으며, wounding migration assay등을 수행하였다.

서 론

상처치유는 상처주위의 세포, 세포주변의 기질 그리고 세포 기질과의 상호작용을 관련시켜주는 다양한 중개물질들등이 관여되는 매우 복잡한 반응에 의해 이루어진다. 즉 상처가 치료되기 위해서는 상처회복이라는 과정을 거치게 되는데 이 과정에서 세포재생과 함께 수반되는 중요한 현상으로 혈관생성을 들 수 있다.

혈관생성은 상처치유과정 중 새로운 조직이 형성되면서 이러한 조직에 필요한 성분을 공급해 주어 그 조직이 정상적인 신체의 일부로서 기능을 수행하도록 도와 준다.

알로에는 고대로부터 탁월한 상처치유효과를 갖고 있는 것으로 보고 되어 있어 본 연구에서는 상처치유과정에서 필수적인 혈관생성에 관여하는 물질을 탐색하고 그 작용기전의 확인을 규명하였다.

결과 및 고찰

혈관생성 촉진작용을 검색하기 위하여 계배의 CAM assay를 이용하였으며, 알로에성분 추출 분획인 G1M1D1M1에 혈관생성을 촉진하는 성분이 포함되어 있음을 확인하였다(Fig. 1, Fig. 2, Table 1). 이 분획을 이용하여 *in vitro* angiogenesis assay를 수행하였고, u-PA, PAI, u-PAR 및 matrix metalloprotease (MMP)의 유전자 발현조사, gelatin zymogram assay, modified CAM assay를 실시하여 혈관생성 촉진활성의 작용기작을 조사하였다.

G1M1D1M1 분획으로부터 단일성분들의 분리를 시도하여 NY932를 순수분리하였으며, 이 NY932가 CAM assay 결과 여러 단일성분중 혈관생성 촉진활성이 가장 높음을 확인하였다. 또한 NY932의 농도를 변화시킬 경우 농도의존적으로 혈관생성 촉진효과가 나타났다(Table 2).

상처 또는 세포손상부위가 재생되기 위해서 상처회복 (wound repair)이라는 복잡한 과정을 거치게 되며 이 과정중 세포재생에 필요한 여러 활성인자 및 영양공급을 위해 상처부위의 혈관생성이 필수과정으로 알려져 있다. 본 연구에서는 알로에의 순수 단일성분인 NY932가 혈관생성 촉진 활성이 있음을 확인 하였으며 그 작용기작을 규명중에 있다. 앞으로 이 NY932 성질을 이용하여 뇌혈관 손상으로 인한 뇌졸중, 치주질환, 상처치유, 궤양치료에 효능을 가진 새로운 의약품의 개발가능성이 있을 것으로 예상이 된다.

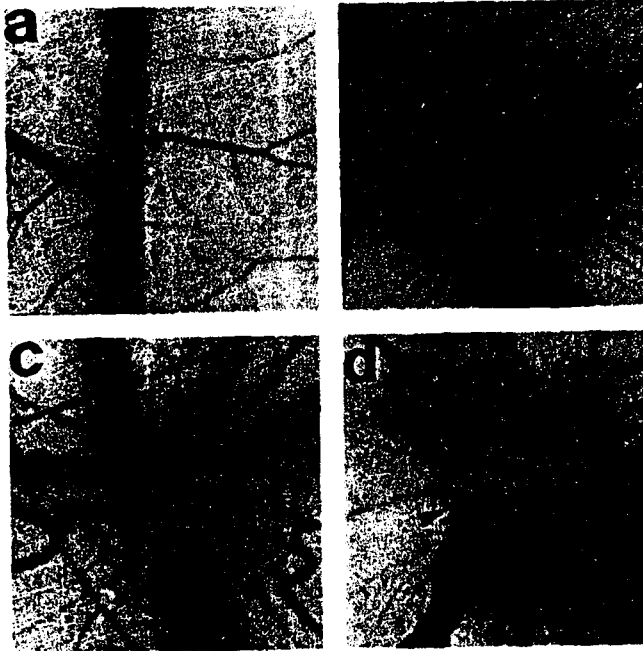


Fig. 1. Photographs of CAM after three day-treatment with PMA and *Aloe vera* gel extracts. Blood vessels were made visible by injection of 10% fat emulsion (white color). Arrows indicate spoke-wheel-like vascular pattern. Arrowheads indicate spoke-wheel-like vascular pattern. Control (empty coverslip) had no effect on the vascular pattern. (a) control (b) PMA, 60 ng/egg (c) G1M1D1M1, 250 µg/egg (d) G1M1D1M1, 100 µg/egg Magnification: x12.

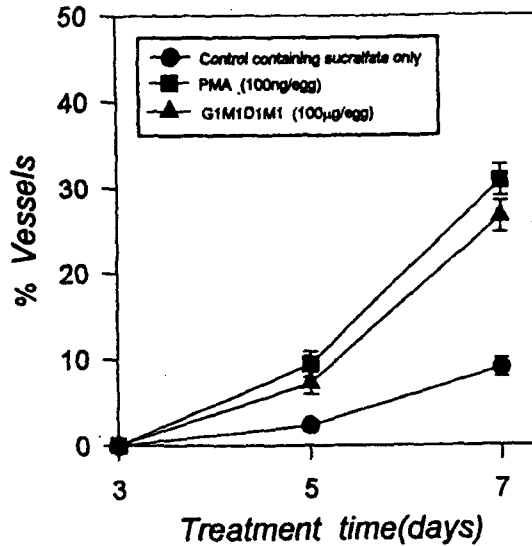


Fig. 2. Quantitation of the angiogenic activity by the modified CAM assay. The angiogenic responses were observed with a microscope (x30) and expressed as the percentage of the squares in the top mesh which contained blood vessels.

Table 1. Angiogenic activity of *Aloe vera* gel extracts by CAM assay

Tested compound	Dose (µg/egg)	Total test No. of CAM	No. of positive	% positive	*P value
control (empty coverslip)		50	2	4	
PMA	60 (ng/egg)	50	38	76	<0.001
G1M1D1	50	50	30	60	<0.001
	125	50	37	74	<0.001
	250	50	43	86	<0.001
	500	50	47	96	<0.001
G1M1D1M1	50	50	36	72	<0.001
	100	50	41	82	<0.001
	200	50	45	90	<0.001
	400	50	49	93	<0.001

*; data on the no. of positive CAM treated with samples were compared with the no. of positive CAM treated with empty cover slip by means of Student's *t* test.

Table 2. Angiogenic activity of NY932

Tested compound	Dose (µg/egg)	Total test No. of CAM	No. of positive	% positive
Control (empty coverslip)		54	9	16.7
PMA	120 (ng/egg)	42	38	90.5
NY932	0.1	18	2	11
	2	10	4	40
	10	22	16	72.7
	35	17	15	88.2
	60	9	9	100