

【O-4】

혈관내피세포에서 산화적인 손상에 의한 플라보노이드의 세포사멸 억제 작용기전

최연정, 강상욱, 강영희

한림대학교 생명과학부 식품영양학 전공

선행 연구에서 이미 혈관내피세포에서 플라바놀인 (-)epigallocatechin gallate (EGCG)와 플라보놀인 quercetin이 과산화수소에 의해 유도된 세포사멸을 Bcl-2와 Bax 단백 발현 조절에 의해 억제한다고 밝혀낸 바 있다. 따라서 본 연구에서는 혈관내피세포에서 활성산소종에 의한 신호기작에 초점을 두고 항세포사멸성 플라보노이드의 작용기전과 조절가능 위치를 증명하기 위하여 신호전달체계의 하위 경로를 플라본인 apigenin의 효과와 비교하여 실행하였다. 연구결과 0.25 mM 과산화수소로 인해 강화된 caspase-3 단백질분해효소 활성은 EGCG와 quercetin의 항세포사멸성 작용기전과 관련한 항산화활성에 비례하여 유의적으로 억제되었으나 apigenin은 유의한 차이를 나타내지 않았다. 웨스턴 블롯 분석결과 과산화수소 처리시 c-Jun N-terminal kinase (JNK)-1이 상향조절됨을 알 수 있었는데, quercetin은 이를 30분 이내의 단시간 내에 부분적으로 억제시키는 것으로 나타났다. 또한 quercetin은 세포사멸 촉진 전사인자인 c-Jun 단백질의 증가를 감소시켰다. 이와 대조적으로, 앞서 과산화수소에 의한 세포손상을 억제시켰던 EGCG, naringenin 그리고 hesperetin은 JNK-1과 c-Jun의 인산화를 60분까지 지속시키는 것으로 나타났다. 이러한 결과로 볼 때, quercetin은 자체 내 항산화성에 의하여 JNK 세포죽음 신호전달체계를 차단시키고 또한 세포사멸을 억제하거나 세포생존을 촉진하는 하위 경로에 존재하는 단백 발현을 조절하는 것으로 사료된다. 그러나 EGCG나 플라바논류는 JNK와 관련한 작용기전에 비의존하여 세포사멸체계 활성을 억제함으로써 세포보호성 항산화제 기능을 하는 것으로 보여진다. 이처럼 혈관내피세포에서 과산화수소에 의해 유도된 세포사멸은 quercetin나 EGCG를 처리한 경우에서 최소한 부분적으로 활성산소종에 의해 활성화된다고 알려진 caspase 활성의 결과로서 일어나는 JNK와 p38 MAPK와 관련하여 명백하게 억제시켰으나, apigenin에서는 그렇지 못했다. 이러한 작용기전은 알려진 대로, 세포질 내 DCFH-DA 염색으로 확인되는 활성산소종 생성물의 형성과 산화적인 손상에 의해 핵 안으로 전위되는 핵전사인자인 p53의 발현, 또한 이로 인하여 미토콘드리아 내 Bax 단백을 발현시켜 cytochrome C가 방출되어 세포사멸에 관여하는 가장 핵심적인 caspase-3가 활성화 형태로 전환되는 것이 차례로 조절되는 것으로 생각된다. 이처럼 EGCG와 quercetin은 caspase-3 활성을 억제시키고 또한 세포사멸 유발에 대하여 내재성 세포 내성 강화 물질로서 세포사멸성 세포죽음의 일련의 단계적인 반응을 절단하는 것으로 여겨지는데, 이상의 결과에서 볼 때 산화적 독성으로 인해 야기되는 세포사멸 과정에서 이러한 생존 신호전달 체계는 여러 가지 전달 경로를 통해 억제하며, 이는 절대적으로 상관관계가 있는 것은 아니지만 세포내 항산화체계와 명백히 관련하는 것으로 보여진다.