

대사증후군에 대한 수목 추출물의 효과

Effects of wood extracts on the metabolic syndrome

김우진^{1*} · 이현정¹ · 김연수¹ · 박수진¹ · 이학주¹
 (¹국립산림과학원 녹색산업연구과)

1. 서론

당뇨병, 비만, 이상지질혈증, 고혈압, 인슐린 저항성 등은 공통된 체내 대사 조절의 이상에 의해 발생하는 대사증후군이라는 병적 상태를 이루는 요소들이다. 이 대사증후군은 심혈관계 질환으로 인한 사망의 위험성을 높이는데 우리나라는 그 유병률이 29% 정도로 미국 23.7%보다 높다. 최근 핵수용체가 대사증후군의 병태 생리에서 중요한 역할을 담당하고 있음이 밝혀지면서 핵수용체의 활성 조절 물질과 그 기전에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있다.

본 연구에서는 여러개의 핵수용체 중 동맥경화와 고콜레스테롤 혈증에 에 관련된 liver x receptor (LXR) 대사증후군에 관한 수목 추출물의 활성물질을 탐색하고 물질을 분리하고 NMR, MS등의 기 분석에 의해 화합물들의 구조를 밝히고자 한다.

2. 재료 및 방법

2.1 공시 및 실험재료

공시재료로는 광릉, 지리산, 인제, 제주도 등에서 수집한 수목을 부위별로 나눠 음건 후 분쇄하여 메탄올(methanol) 및 에탄올(ethanol)로 상온 추출하여 여과한 후 감압 농축하여 사용하였다.

2.2 실험방법

대사증후군의 하나인 LXRE활성에 대한 실험은 luciferase assay방법을 이용하여 실험을 하였다. luciferase assay 실험방법은 6개의 단계로 나누어 실험하는데, 그 단계는 아래 표와 같다.

Table 1. Luciferase assay-experimental step

Step	Method
1. Production of reporter vector	<ul style="list-style-type: none"> • Clone the promoter.regulatory element of target genes to the upstream (5' region) of reporter gene • Transform the vector to <i>E.coli</i>, increase the amount, and purify the plasmid DNA
2. Cell seeding	<ul style="list-style-type: none"> • CHO-K1 cell line (DMEM-F12, 10% FBS, 1% PEST) • 1.0×10^5 cell/well in 24-well plate, 24hr
3. Transfection	<ul style="list-style-type: none"> • co-transfection <ul style="list-style-type: none"> - Vector 1-consist of LXRE with luciferase gene in the downstream - Vector 2-consist of LXR-alpha or LXR-beta • use hilymax for the transfection reagent (Dojindo) • DNA(μg):hilymax(μl)=1:3, 24hr
4. Treatment	<ul style="list-style-type: none"> • treat the positive control (22R-HC) • treat with the target single compound in 3 different concentrations, duplicate working concentration, 24hr <ul style="list-style-type: none"> - 0.4μg/ml, 2μg/ml, 10μg/ml (extracts) - 5uM, 10uM, 50uM (single compound)

5. Harvesting	<ul style="list-style-type: none"> • discard previous medium, wash with cold PBS • lysis buffer (80 μl/well) • scrape, then centrifuge (13000rpm, 15min, 4°C) • take the supernatant not disturbing the pellet
6. Measurement	<ul style="list-style-type: none"> • used luciferase assay kit according to its protocol • measure with multiable plate reader • protein normalization

3. 결과 및 고찰

3.1 LXR 활성 결과

1차 수목류 시료 377종에 대한 LXR 활성실험에 대해 1차 screening 결과(figure 1) 높은 활성을 보인 상위 40종의 추출물을 선정하였고, 2차 screening 결과(figure 2), 40여 종의 추출물 중 LXRE activator로 작용 가능한 최종 효능 추출물을 6종을 선정하였다.

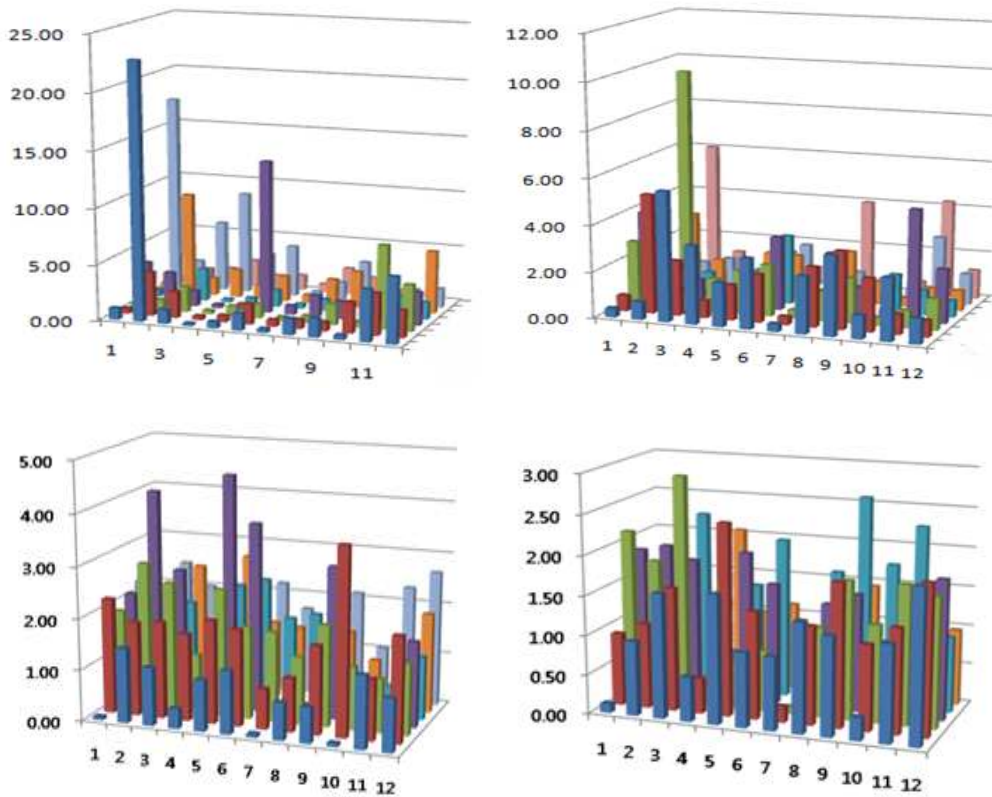


Figure 1. 1차 screening LXR 활성 결과.

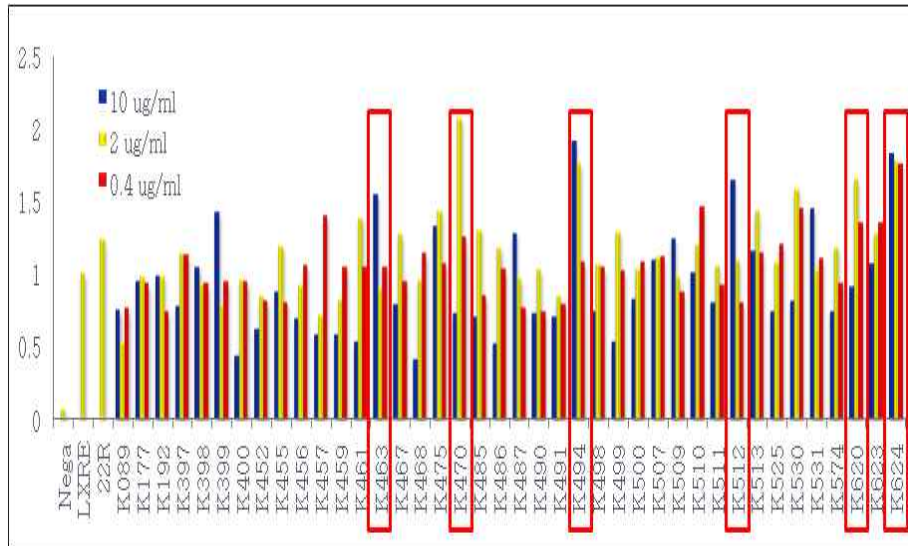


Figure 2. 2차 screening LXR 활성 결과.

4. 결론

수목 추출물 377종에 대해 대사증후군의 하나인 LXR활성 실험 결과 1차 및 2차 screening을 통해 6종의 수종 K-463, K-470, K-494, K-512, K-620, K-624 이 positive control인 22R보다 활성이 높게 나타나 최종적으로 선정하였다. 현재 6개의 수종에 대해 채취 및 추출하여 물질 분리 및 구조 동정 중에 있다.