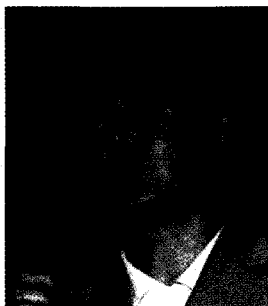




녹용의 약리학적 성분

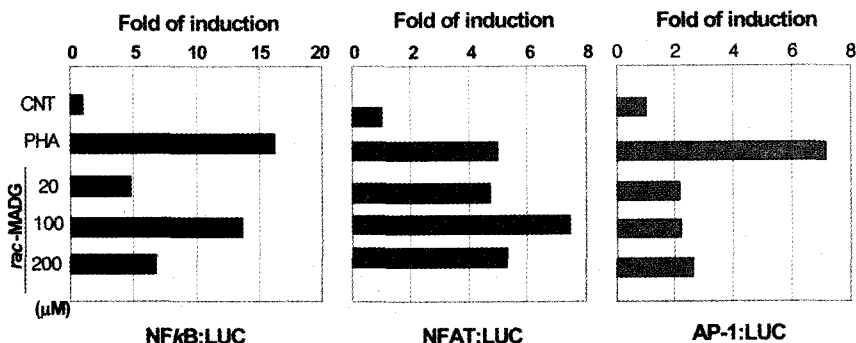
PHARMACEUTICAL COMPOSITION OF VELVET ANTLER



전길자/이화여자대학교 화학과 교수

지난호에 이어서

B. NFkB, NFAT, AP-1 promotor 활성 검색



이와 같은 IL-2 promotor 활성을 유도하기 위하여는 nuclear transcription factor인 NFkB, NFAT, AP-1와 같은 단백질이 IL-2 promotor site에 결합하여 유전자의 발현을 유도하여야 한다. MADG가 이들 NFkB, NFAT, AP-1 단백질 합성을 유도하는 유전자에 대한 promotor 활성능이 있는지를 알아보기

위하여 A.의 결과와 같이 Jurkat T cell을 이용하여 reporter assay를 수행한 결과 이와 같은 활성능이 있음을 관찰하였다.

1.2 스마트 나노 입자를 탑재한 MADG의 면역 활성 검색

MADG는 소수성 약물로 친수성 용매에 용해도가 낮아 in vitro system에서 세



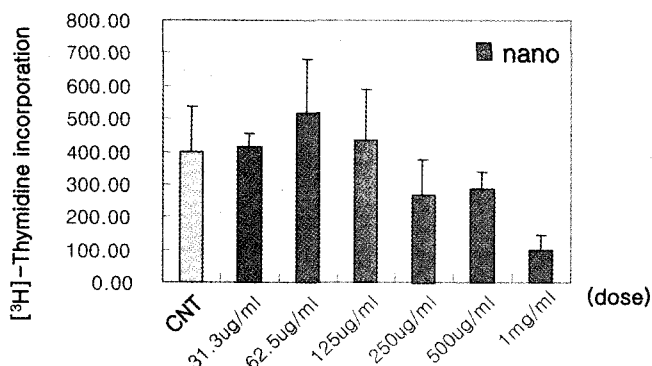
포에 약물이 효과적으로 전달되지 않을 수 있다. 또한 면역세포를 활성화시킴에도 불구하고 정량적인 dose dependency가 일정하지 않았다. 따라서 약물의 용

해도를 개선하여 약물 전달 문제를 해결하고 효율적인 면역 활성을 유도하기 위하여 스마트 나노 입자에 MADG를 탑재하여 면역 활성능을 측정하였다.

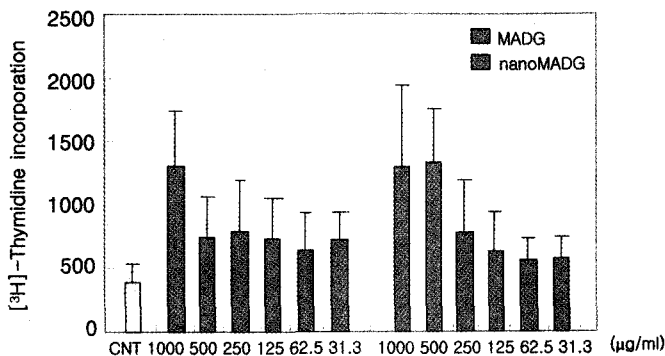
1.2.1 스마트 나노 입자의 비장 세포에 대한 증식능 검색

스마트 나노 입자의 면역 세포에 대한 영향을 알아보기 위하여 C3H/HeN 마우스의 비장 세포에 대한 증식능을 검색

한 결과 250 $\mu\text{g/ml}$ 이상의 농도에서 세포 독성이 있었으며 125 $\mu\text{g/ml}$ 이하에서는 대조군과 차이가 없었다.



1.2.2 스마트 나노 입자 탑재 MADG의 비장 세포에 대한 증식능 검색



스마트 나노 입자는 250 $\mu\text{g/ml}$ 이상의 농도에서 세포 독성을 나타내지만 MADG를 탑재한 경우 오히려 세포 독성을 나타내지 않는 것으로 관찰되었다. 또한 약물 탑재율은 약 1% 정도임을 감안할 때 nanoMADG 1000 $\mu\text{g/ml}$ 에는 산

술적으로 약 10 $\mu\text{g/ml}$ 의 MADG가 존재한다고 할 수 있는데 이때 nanoMADG에 의한 비장 세포의 증식능은 MADG 31.3 $\mu\text{g/ml}$ 에서의 비장 세포 증식능에 비하여 더 우수하였다. 따라서 스마트 나노 입자에 MADG를 탑재함으로써



녹용의 과학적 이해

DDS의 세포 독성을 줄이고 약물인 MADG는 기존에 비하여 1/100 적은 농도에서도 활성을 나타낸다는 것을 알 수 있었다. 스마트 나노 입자에 MADG를 탑재했을 때 250 $\mu\text{g/ml}$ 이상의 농도에

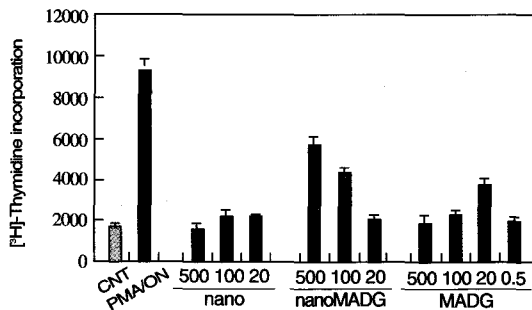
서 세포 독성을 줄이는 이유에 대해서는 알 수 없다. 물리, 화학적으로 약물 탑재에 의한 화합물의 구조와 관련한 연구가 필요할 것으로 사료된다.

1.2.3 스마트 나노 입자 탑재 MADG의 promotor 활성 검색

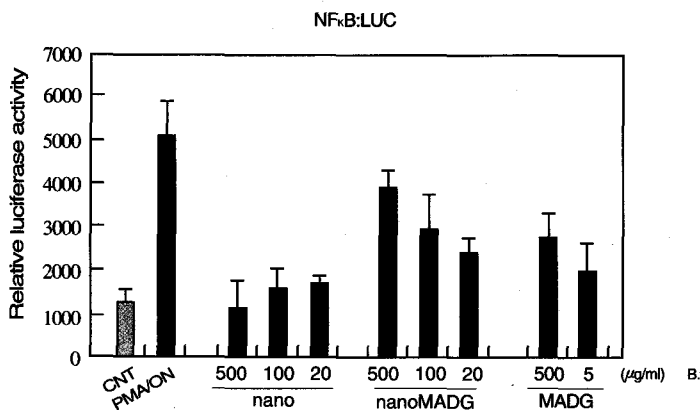
유전자 활성 준위에서도 세포 준위에서 관찰한 비장 세포 증식능 측정과 같이 스마트 나노 입자의 탑재 효과가 있는지 관찰하기 위하여 IL-2, NFkB에 대한 promotor 활성을 측정한 결과 마찬가지로

로 스마트 나노 입자에 MADG를 탑재한 경우 (nanoMADG) 500 $\mu\text{g/ml}$ 에서 산술적인 탑재량인 MADG 5 $\mu\text{g/ml}$ 보다 활성이 더 좋게 나왔으므로 DDS적용에 의한 활성의 증가를 관찰할 수 있었다.

A. IL-2 promotor 활성 검색



NFkB promotor 활성 검색



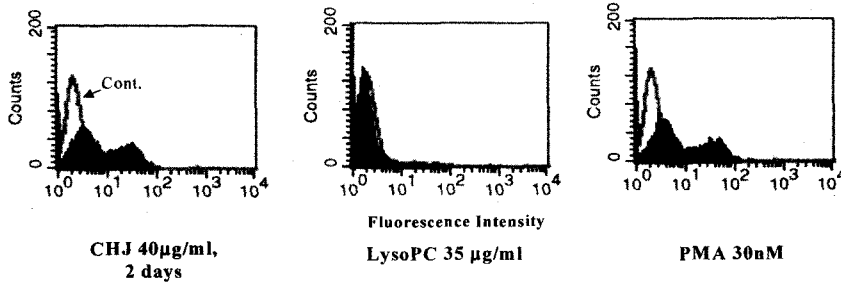


2. 녹용성분 유도체(CHJ-ester)의 세포분화 조절 작용

2.1 조혈세포로의 분화 분석시스템의 확립 및 조혈촉진제로서의 역할 규명

K562 세포에서 조혈세포로의 분화 유도를 분석하기 위해서 유세포측정기, 전자현미경, 형광현미경을 이용하여 거

학구, 호중구 분화능을 측정하여 아래와 같은 결과를 얻었다.



Effect on the CHJ, LysoPC, PMA-induced Differentiation of K562 Cells.

척추동물의 혈액세포형성과 발육은 발달과정 동안 특수한 기관에서 발생하는 복합적인 다단계과정이다. 성장과 분화 신호의 상호작용은 대등한 결과를 가져와 세포특이적인 유전자 발현을 통해 궁극적으로 성숙한 혈액세포 형성에 수반되는 phenotype의 변화를 초래하여 다능성 세포(pluripotent cell)로의 분화를 가져온다. K562 세포와 같은 백혈병빈혈(혈액암의 일종) 세포주의 분화를 유도하는 대표적 물질은 PMA (phorbol 12-myristate 13-acetate)로서 거핵아세포(megakaryoblast) 분화의 초기단계에서 관여하는 것으로 알려져 있다. PMA에 의해 유도된 분화에서는 세포모형(morphology)과 부차적인 조성변화, 세포성장억제, 세포질분열억제, 거핵세포(megakaryocyte)에서 수반되는 표지발현 등의 양상이 현저하게 나타나는 것

이 많은 논문을 통해 보고되고 있다. 그러나 PMA는 세포에 처리 시 독성이 매우 커서 학문적으로만 연구되고 있을 뿐 약물로서는 사용될 수 없다. 그래서 아직까지 출혈을 막는데 필요한 거핵구(megakaryocyte) 계열 세포로의 분화 또는 회복에 효과가 있는 약제는 인체에서의 효과가 증명된 바가 없다. 현재 사용하고 있는 대표적 조혈촉진제인 G-CSF 및 erythropoietin의 작용은 감염에 대한 방어작용을 하는 과립구 계열 세포나 적혈구 계열 세포의 회복에만 효과가 있다.

이러한 시점에서 본 연구팀은 조혈촉진제로서 제시될 수 있는 새로운 물질인 CHJ-e(D)를 녹용활성물질 유도체로서 합성하였다. 위의 그림은 40 µg/ml CHJ, 30 nM PMA(as a positive control) 각각을 K562 세포에 처리시 약

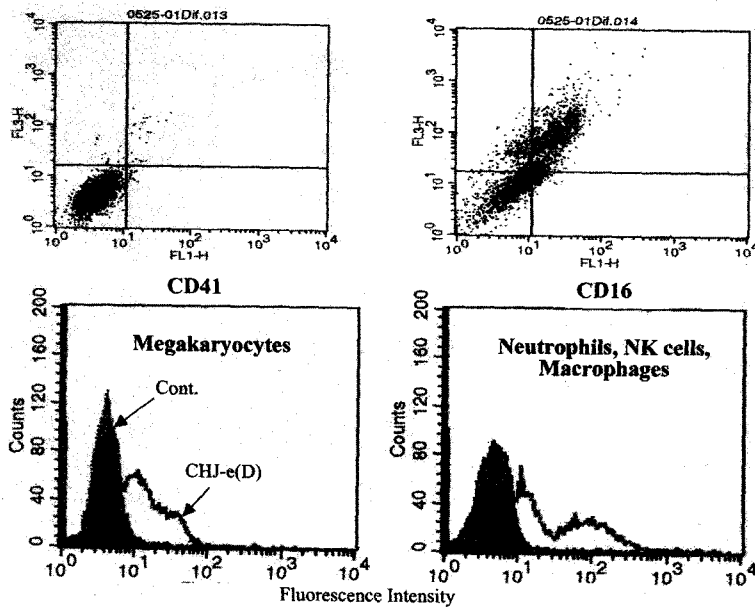


녹용의 과학적 이해

물을 처리하지 않은 대조군과 분화능을 비교한 것이다.

표지발현 실험 결과 CHJ-e(D)가 megakaryocytes (CD41인지) 촉진인자로 널리 알려진 PMA 정도로 분화되었음을 확인하였고, 대조군과 비교하여 눈에 띄게 분화되는 것이 확인되었다.

K562 세포는 조혈모세포에서 암세포로 변화된 세포로서, 조혈세포로 분화될 수 있는 progenitor cell이다. 따라서 위의 실험결과로부터 CHJ-e(D)는 조혈촉진제로 개발될 수 있는 가능성이 매우 높은 획기적인 신물질이라고 판단된다.



Surface Antigen Expression on K562 Cells Treated with or without CHJ

위의 그림은 K562 세포가 거핵구(megakaryocytes)로서 뿐만 아니라 호중구(neutrophils, CD16인지)로의 분화를 보여주는 실험결과이다. 호중구는 식작용이 있어 면역기능을 증진시키는 효과를 가져온다.

K562 세포분화를 유도하는 대표적 물질인 PMA 처리 시 세포모양과 부착적인 조성변화, 세포성장억제, 세포질분열억제, 거핵세포(megakaryocyte)에서 수반되는 표지발현 등의 양상이 현저하게

나타나는 것이 많은 논문을 통해 보고되고 있다. 아래 그림은 CHJ-e(D)와 PMA를 K562 세포에 처리 시 분화될 때 수반되는 세포모양변화를 시간에 따라 보여주는 결과이다. CHJ-e(D)는 PMA보다 느린 속도로 세포모양이 변화되는 것을 알 수 있다. 이러한 결과를 통해, 본 연구자는 PMA 처리 시 빠른 세포분화로 인해 관찰될 수 없는 신호전달체계를 CHJ-e(D)를 처리하여 밝힐 수 있을 것으로 사료된다.