

## Sesamin에 의한 PC12 세포중의 Dopamine 생합성 촉진작용

장 민 · 최현숙 · 이명구\*  
충북대학교 약학대학

## Enhancement of Dopamine Biosynthesis by Sesamin in PC12 Cells

Min Zhang, Hyun Sook Choi and Myung Koo Lee\*

College of Pharmacy and Research Center for Bioresource and Health, Chungbuk National University,  
Cheongju 361-763, Republic of Korea

**Abstracts** – The effects of sesamin on dopamine biosynthesis in PC12 cells were investigated. Sesamin at concentration ranges of 20-75  $\mu\text{M}$  significantly increased intracellular dopamine levels and tyrosine hydroxylase (TH) activities at 24 h: 50  $\mu\text{M}$  sesamin increased dopamine levels to 132% and TH activities to 128% of control levels. Sesamin (50  $\mu\text{M}$ ) induced the phosphorylation of TH, cyclic AMP-dependent protein kinase (PKA) and cyclic AMP-response element binding protein (CREB) for 0.5-24 h. Sesamin (50  $\mu\text{M}$ ) also increased the mRNA levels of TH and CREB for 3-24 h. In addition, sesamin (50  $\mu\text{M}$ ) associated with L-DOPA (50 and 100  $\mu\text{M}$ ) further increased the intracellular levels of dopamine for 24 h compared to L-DOPA alone. These results suggest that sesamin enhances dopamine biosynthesis and L-DOPA-induced increase in dopamine levels by inducing TH activity and TH gene expression, which is mediated by PKA-CREB systems in PC12 cells. Therefore, sesamin could serve as an adjuvant phytonutrient for neurodegenerative diseases.

**Key words** – Sesamin, dopamine levels, tyrosine hydroxylase, PKA, CREB, PC12 cells.

Sesamin은 lignan 계열 화합물로서, *Sesamum indicum* DC(Sesame seeds)의 주성분으로 함유되어 있으며, 주요 생리활성은 콜레스테롤 및 지질 저하작용, 항암 작용, 간독성 보호작용 등이 보고되고 있다.<sup>1-3)</sup> 최근 sesamin은 신경세포 내의 reactive oxygen species(ROS)의 저하작용,<sup>4)</sup> 신경분화의 유도작용,<sup>5)</sup> rotenone-유도 dopamine 신경세포사의 방어작용,<sup>6)</sup> 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine(MPTP)-유도 산화스트레스(oxidative stress)에 대한 dopamine 신경세포 보호작용,<sup>7)</sup> 등이 보고되고 있다. 이 결과들은 sesamin이 ROS에 대응하여 dopamine 신경세포의 방어작용이 있음을 나타내고 있다. 그러나 dopamine 생합성 및 3,4-dihydroxyphenylalanine(L-DOPA)-유도 dopamine 생합성 증가작용에 대한 신경생리학적 기전은 보고되고 있지 않고 있다.

파킨슨병은 뇌선조체-흑질(striatum-substantia nigra)의 dopamine 신경계가 퇴행되어 dopamine의 결핍으로 발생하며, 신경계에서의 dopamine 생합성은 수산화효소 tyrosine hydroxylase(EC 1.14.16.2; TH, L-tyrosine에서 L-DOPA 생

합성 촉매) 및 탈탄산효소 aromatic L-amino acid decarboxylase(EC 4.1.1.28; AADC, L-DOPA에서 dopamine 생합성 촉매)가 관여하고 있다.<sup>8,9)</sup> 파킨슨병의 약물요법은 L-DOPA 제제가 가장 많이 선택되고 있으나, 장기적인 L-DOPA 요법 파킨슨 환자는 치료효능의 저하가 보고되었고,<sup>10)</sup> 증가된 L-DOPA 및 dopamine에 의하여 신경세포에 대한 독성이 증가하며,<sup>11)</sup> 신경세포 독성을 유도하는 타약제와 병용투여시의 약물상호작용에 의한 L-DOPA-유도 세포독성이 증가하고 있음을 보고하고 있다.<sup>12)</sup> 이는 L-DOPA 약물요법중인 파킨슨 환자는 세포독성을 완화시켜 치료효능을 증진시켜 주는 새로운 약물요법의 제시 또는 치료보조제의 개발이 필요함을 제시하고 있다.

Dopamine 생합성은 TH 및 AADC 활성에 의하여 조절되며, TH 활성이 율속단계(rate-limiting)로 작용한다. TH의 활성과 그의 유전자 전사작용에 의한 TH mRNA 함량은 cyclic AMP에 의한 cyclic AMP-의존성 protein kinase(PKA), cyclic AMP-response element(CRE) 경로가 매개하며,<sup>8,13)</sup> 이 과정에서 CRE binding protein(CREB) 통한 활성화가 중요한 역할을 한다. CREB는 PKA 및  $\text{Ca}^{2+}$ /calmodulin-의존성 protein kinase II 신호전이 경로의 활성화에 의하여 인산화

\*교신저자(E-mail): myklee@chungbuk.ac.kr  
(Tel): +82-43-261-2822

가 된다.<sup>14)</sup>

백서 부신(rat adrenal pheochromocytoma)에서 유래한 PC12 세포는 dopamine를 생합성, 저장, 유리하며 TH, AADC 등의 생합성 효소를 함유하고 있다.<sup>15)</sup> PC12 세포에 L-DOPA를 처리하는 경우 세포내 dopamine 함량은 증가하지만, 고농도의 L-DOPA의 처리는 산화스트레스에 의한 세포사(apoptosis)를 유도한다.<sup>16,17)</sup> 그러므로 PC12 세포는 dopamine의 기능 및 그의 생합성 조절작용, 신경세포의 분화 및 세포독성 작용 등의 연구의 모델로 이용되고 있다.<sup>17,18)</sup>

따라서 본 연구에서는 sesamin을 이용하여 신경퇴행성 질환의 치료보조제(adjutant phytonutrient)로서의 효능을 검색하기 위하여, PC12 세포를 사용하여 dopamine 생합성 및 L-DOPA-유도 dopamine 함량 증가작용에 대한 실험을 수행하였다.

## 재료 및 방법

**실험재료** – Sesamin은 국립산림과학원(서울, 이학주 박사)으로부터 기증받아 사용하였다. 세포배양용 donor horse serum(HS), fetal bovine serum(FBS), penicillin/streptomycin 및 배지(RPMI 1640)는 Gibco(Grand Island, NY, 미국)에서, L-DOPA, dopamine, isoproterenol, albumin 및 3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide (MTT)는 Sigma-Aldrich(St Louis, MO, 미국)에서 구입하였으며, TH, phospho-TH(Ser 40), phospho-PKA, CREB, phospho-CREB(Ser 133) 및  $\beta$ -actin 등에 대한 항체는 Cell Signaling Technology(Beverly, MA, 미국)로부터 구입하였다. 그 밖의 시약은 특급 및 HPLC용 등급을 사용하였다.

**세포배양** – PC12 세포의 배양은 상법에 준하였다.<sup>17,18)</sup> 세포배양은 10% HS 및 5% FBS, 100 unit/ml penicillin과 100  $\mu$ g/ml streptomycin을 포함한 RPMI 1640 배양액을 사용하여, 37에서 수증기 포화된 5% CO<sub>2</sub> 배양기에서 시행하였다. PC12 세포(cell density, 약  $1 \times 10^5$  cells/cm<sup>2</sup>; confluency 40-50%)는 48 시간 배양한 다음, sesamin 또는 L-DOPA 화합물을 가한 다음 24-48 시간 배양하였으며, 배양 후 세포를 포획하고 원심 분리하여 세포 침전물을 측정시료로 사용하였다.

**Dopamine 함량 측정** – PC12 세포 중의 dopamine 함량은 HPLC-형광검출기법으로 측정하였다.<sup>17,18)</sup> 시료(200-300  $\mu$ l)에 trichloroacetic acid(3.0 M, 100  $\mu$ l) 및 isoproterenol(100 pmol, 내부표준)을 가한 다음 원심 분리하였다. 상정액을 Toyopak SP 카트리지(Toso, Tokyo, Japan)를 사용하여 전처리한 후, 흡착된 monoamine은 0.6 M KCl-CH<sub>3</sub>CN(1:1, v/v) 혼합액 2 ml를 사용하여 용출시킨다. 용출액에 DPE 시약을 가하여 형광 유도체화한 다음 최종 반응액은 HPLC를 사용하여 dopamine 함량을 측정하였다. HPLC의 조건은 이

전의 방법과 동일하게 처리하였다.<sup>17)</sup>

**TH, PKA 및 CREB 인산화 측정** – Phospho-TH(Ser 40), phospho-PKA, phospho-CREB(Ser 133)의 측정은 Western blot 분석법에 의하여 수행하였다.<sup>18)</sup> 단백질 시료(30 mg)는 12-15% sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide 겔을 이용하여 전기영동을 시행하고 polyvinylidene difluoride 막으로 이동시킨다. 제1차 및 제2차 항체(1:1,000)를 가하여 배양한 다음 이동된 단백질은 ECL 기질용액(Amersham Pharmacia Biotech Inc., Piscataway, NJ, 미국)을 가하여 포준과정에 따라 1-2 분간 배양하여 블롯반응(blots)을 진행시키고, 방사선필름(radiographic film)을 이용하여 인화하여 측정하였다.

**TH mRNA 및 CREB mRNA 함량 분석** – 총 RNA는 mirVana™ mRNA Isolation Kit(Ambion, Austin, TX, 미국)을 사용하여 PC12 세포로부터 추출하였다.<sup>18)</sup> 제1차 가닥-cDNA(first-strand cDNA)는 Oligo (dT)<sub>12-18</sub> 프라이머(primer) 및 SuperScript™II reverse transcriptase(RT, Invitrogen Co., Grand Island, NY)을 사용한 mRNA 역전사법에 의하여 생합성하였다. 다음으로 RT 생성물(3  $\mu$ l) 및 다음 유전자의 프라이머를 사용하여 PCR 법을 수행하였다: TH, 5'-CTTCAATGACGCCAAGGACA-3' 및 5'-CAAGAGGAGCCCATCAAAGG-3'; CREB, 5'-CAGATTCGCACAGCACCA-3' 및 5'-CCAAATTAATCTGACTTGTGGC-3';  $\beta$ -actin, 5'-ATGGAATCCTGTGGCATCCA-3' 및 (R) 5'-CTTGCTGATCCACATCTGCTG-3'. 프라이머는 TH(310 bp), CREB(275 bp) 및  $\beta$ -actin(273 bp)의 PCR 생성물을 나타내었다(PCR 조건; 94°C에서 8분에 이어서 94°C에서 35 초, 59°C에서 32 초, 72°C에서 25 초간의 28 cycles). PCR 생성물은 2.5% agarose 겔을 이용하여 분리하고, 최적 밀도결과(optical density data)는 mRNA 발현의 정량분석법을 이용하여 분석하였다.<sup>18)</sup>

**단백질 함량 측정 및 결과정리** – 각 항의 생리활성은 각각의 시료중의 단백질 함량을 측정하여 보정하였으며, 단백질 함량은 소혈청 albumin을 사용하여 측정하였다.<sup>19)</sup> 실험 결과는 means $\pm$ SEM으로 표시하였으며 유의성 검정은 Tukey's test에 의한 ANOVA법에 의하여 계산하였다.

## 결과 및 고찰

Sesamin이 PC12 세포 내의 dopamine 함량 및 TH 활성화에 미치는 영향을 검토한 결과를 Table I에 나타내었다. Sesamin(5-50  $\mu$ M)은 24 시간 처리하였을 경우 세포내의 dopamine 함량은 농도 의존적으로 증가하였으며(sesamin 50  $\mu$ M에서 132%의 dopamine 함량증가를 나타냄), sesamin(75-100 M)에서는 대조군 보다는 증가하였으나, 최대 dopamine 증가 함량보다는 감소하였다. 또한, sesamin(5-100 M)의 처리는 세포내 TH 활성이 증가하였으며(sesamin

**Table I.** Effects of sesamin on intracellular dopamine levels and tyrosine hydroxylase (TH) activities in PC12 cells

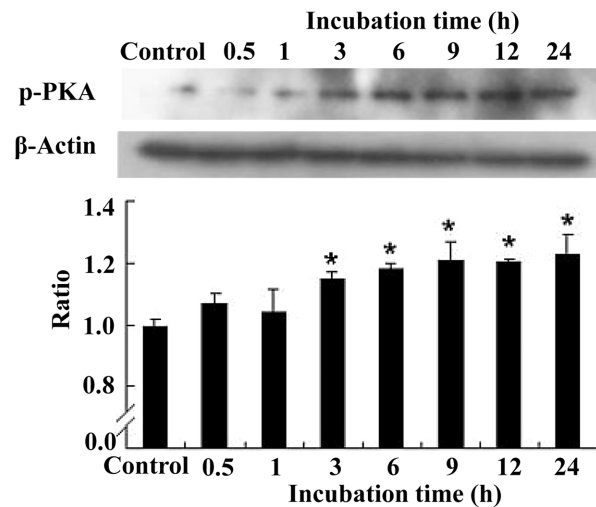
| Concentrations | Dopamine levels<br>(nmol/mg protein)<br>(% of control) | TH activities<br>(nmol/min/mg protein)<br>(% of control) |
|----------------|--|--|
| Control        | 3.26±0.21 (100)  | 3.58±0.21 (100)  |
| Sesamin, 10 μM | 3.39±0.18 (104)  | 3.62±0.18 (101)  |
| 20 μM          | 3.88±0.36 (119)*                                       | 4.01±0.24 (112)  |
| 50 μM          | 4.30±0.41 (132)**                                      | 4.58±0.38 (128)**  |
| 75 μM          | 3.68±0.34 (113)  | 4.22±0.31 (118)*   |
| 100 μM         | 3.55±0.28 (109)  | 3.76±0.26 (105)  |

PC12 cells were treated with sesamin (10-100 μM) and then incubated for 24 h. Dopamine levels and TH activities were measured by an HPLC method. Dopamine levels and TH activities of the control were 3.26±0.21 nmol/mg protein and 3.58±0.21 nmol/min/mg protein, respectively. Results represent means±S.E.M. of four experiments. Significantly different from control levels: \*P<0.05; \*\*P<0.01 (ANOVA followed by Tukey's test).

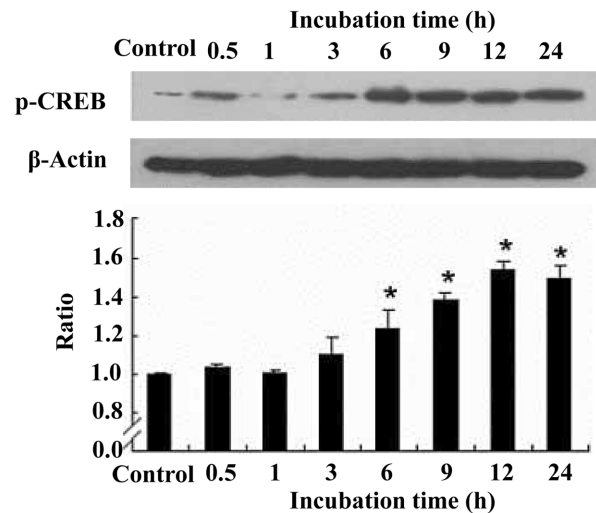
50 μM에서 128%의 활성증가를 나타냄), 증가 양상은 dopamine 함량변화와 유사한 경향을 나타내었다(Table I). Sesamin(100 μM)은 세포외액의 dopamine 함량에는 영향을 주지 않았으며, 150 μM 범위까지는 MTT 방법으로 측정하였을 경우 세포에 대한 독성은 인정되지 않았다(자료 미제시). 따라서 sesamin은 TH 활성화(인산화)에 의하여 dopamine 함량의 증가작용을 나타내고 있으며, 75 μM 이후의 dopamine 함량 감소작용은 sesamin의 세포독성 작용과 관련이 있을 것으로 사료된다. 본 실험에서는 sesamin 50 μM을 사용하여, dopamine 증가작용에 대한 작용기전을 검토하였다.

TH는 dopamine 생합성 과정에서 율속단계 효소이며, TH의 활성화(인산화) 및 TH mRNA 함량은 세포내 cyclic AMP-PKA-CREB 경로에 의하여 조절되고, 이로 인하여 세포내 dopamine 생합성이 조절을 받고 있다.<sup>12,13,20</sup> 그러므로 sesamin의 경시적인 처리(30 분-24 시간)가 PKA, CREB 및 TH의 인산화에 미치는 영향을 검토하였다. Sesamin(50 μM)에 의하여 세포내 PKA 인산화는 3-24 시간에서 유의적으로 증가하였으며(Fig. 1), CREB 인산화는 6-24 시간에서 증가하였고(Fig. 2), 세포내 TH의 인산화는 3-24 시간에서 유의적으로 증가하였다(Fig. 3). 또한 sesamin(5-50 μM)은 30-60 분에서 세포내 cyclic AMP의 함량을 대조군(sesamin 미처리군)에 비하여 125-250%의 함량 증가작용이 있음을 보고하고 있다.<sup>21</sup>) 이 결과들은 sesamin은 cyclic AMP 증가에 의한 PKA-CREB의 활성화(인산화)에 의하여 TH 활성이 유도되어, 세포내 dopamine 생합성 촉진작용(함량증가)을 나타낸 것임은 제시하고 있다(단기간 조절작용: short-term regulation).

또한, sesamin에 의한 dopamine 함량 증가는 24 시간까

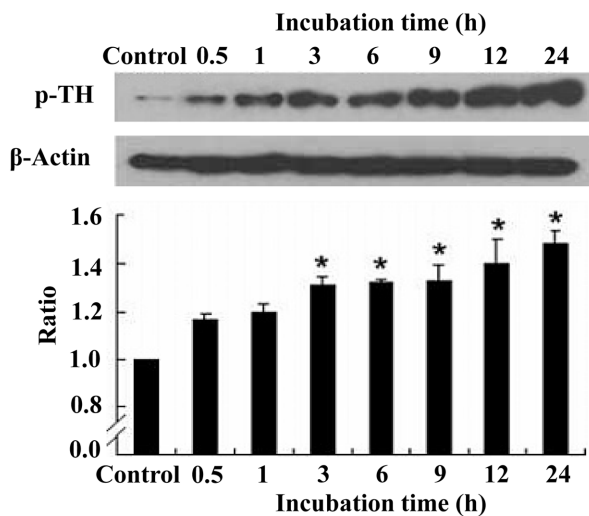


**Fig. 1.** Effects of sesamin on phosphorylation of PKA in PC12 cells. PC12 cells were exposed to sesamin (50 μM) for 0.5-24 h and harvested for Western blot analysis using the antibodies against phospho-PKA (p-PKA) and β-actin. Relative density ratio was obtained by p-PKA/β-actin and the density ratio of p-PKA/β-actin in control levels was expressed as 1 arbitrary unit. Results represent means±S.E.M. of four experiments. Significantly different from control levels: \*P<0.05, \*\*P<0.01 (ANOVA followed by Tukey's test).

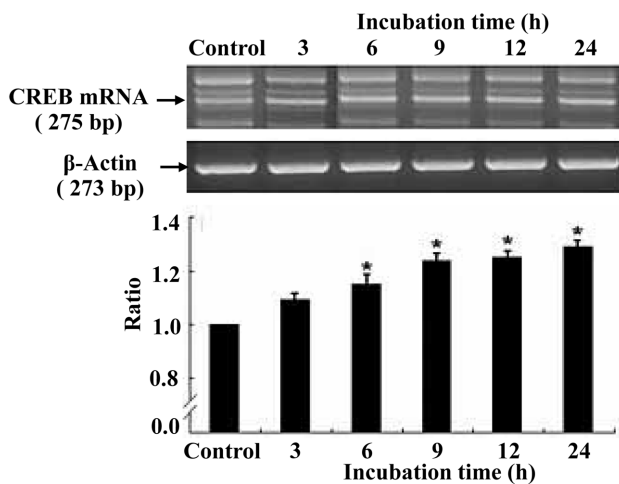


**Fig. 2.** Effects of sesamin on phosphorylation of CREB (Ser 133) using the antibodies against phospho-CREB (p-CREB) and β-actin in PC12 cells. Relative density ratio was obtained by p-CREB/β-actin. For further comments, see Fig. 1.

지 증가하고 있으므로, sesamin은 TH 활성을 장기간 제어 작용에도 관여할 수 있다. Sesamin(50 μM)의 처리에 의하여, CREB mRNA 함량은 6-24 시간에서(Fig. 4), TH mRNA 함량은 3-24 시간에서 증가하였으며, 24 시간에서 유의적으로 증가하였다(Fig. 5). CRE 및 CREB의 활성화에 의한 TH mRNA 및 CREB mRNA 전사반응의 유도/증가는 TH 활성

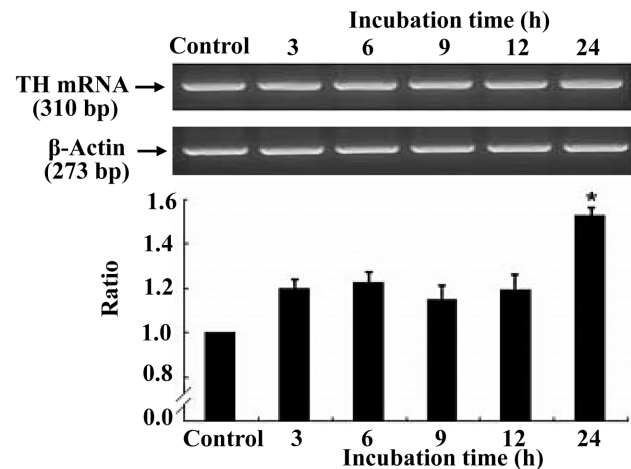


**Fig. 3.** Effects of sesamin on phosphorylation of TH (Ser 40) using the antibodies against phospho-TH (p-TH) and  $\beta$ -actin in PC12 cells. Relative density ratio was obtained by p-TH/ $\beta$ -actin. For further comments, see Fig. 1.



**Fig. 4.** Effects of sesamin on expression of CREB mRNA in PC12 cells. PC12 cells were treated with sesamin (50  $\mu$ M) for 3-24 h and then harvested for RT-PCR to the mRNA of CREB. The  $\beta$ -actin gene was used for the normalization purposes. Representative agarose gels of RT-PCR were shown by the mRNA levels of CREB and  $\beta$ -actin. Relative density ratio was obtained by CREB mRNA/ $\beta$ -actin and the ratio of CREB mRNA/ $\beta$ -actin was expressed as 1 arbitrary unit. Results represent means $\pm$ S.E.M. of four experiments. Significantly different from control levels: \* $P$ <0.05 (ANOVA followed by Tukey's test).

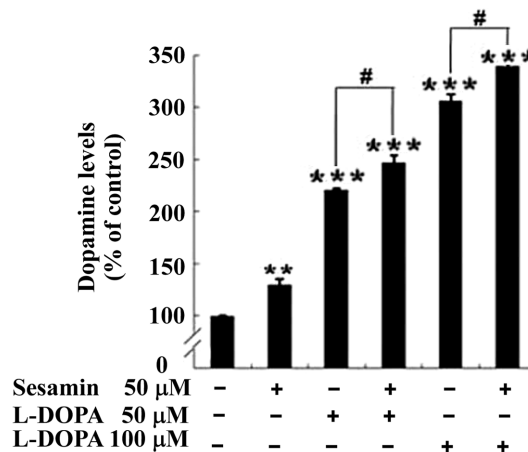
및 그의 유전자 발현에 중요한 역할을 하고 있다.<sup>13,20</sup> 따라서 이 결과들에 의하면 sesamin은 PKA-CREB 경로를 매개하여 TH 유전자 발현을 촉진시켜 세포내 TH 활성을 유도하고 있음을 제시하고 있다(장기간 조절작용: long-term regulation).



**Fig. 5.** Effects of sesamin on expression of TH genes. PC12 cells were treated with sesamin (50  $\mu$ M) for 3-24 h and then harvested for RT-PCR to TH mRNA. TH mRNA levels were assayed by RT-PCR and the  $\beta$ -actin gene was used for the normalization purposes. Relative density ratio was obtained by TH mRNA/ $\beta$ -actin and the ratio of TH mRNA/ $\beta$ -actin in control groups was expressed as 1 arbitrary unit. Upper: Representative agarose gel of RT-PCR to show the mRNA levels of TH and  $\beta$ -actin. Lower: The histogram represents the intensity of the bands analyzed by densitometry. Results represent means $\pm$ S.E.M. of four experiments. Significantly different from control levels; \* $P$ <0.05 (ANOVA followed by Tukey's test).

파킨슨병은 퇴행성 중추신경계 질환이며, 치료법으로서 L-DOPA 요법을 시행하고 있다. 그러나 L-DOPA 요법중인 환자는 종종 신경독성 작용에 의하여 질환이 악화되고 있음이 보고되고 있다.<sup>11</sup> 또한, PC12 세포 중에 L-DOPA(20-50  $\mu$ M)를 처리(24 시간) 하였을 경우 세포내의 dopamine 함량은 증가하고 있으나, L-DOPA(100-200  $\mu$ M)의 농도에서는 L-DOPA-유도 산화스트레스에 의한 세포독성 작용으로 인하여 세포사(apoptosis)를 유도하고 있으며, 세포내 dopamine 함량 증가도 감소하고 있다.<sup>16,17</sup> 24-48 시간 L-DOPA를 처리하는 경우 세포내 dopamine 함량증가는 L-DOPA 농도 50  $\mu$ M>20  $\mu$ M>100-200  $\mu$ M 순서이다.<sup>17</sup>

Sesamin은 ROS에 의한 rotenone- 및 MPTP-유도 dopamine 신경세포 독성에 대응하여 신경세포의 보호작용이 있음이 보고되고 있다.<sup>4,7</sup> 그러므로 sesamin이 세포내 L-DOPA-유도 dopamine 증가작용에 미치는 영향을 검토하였다. 세포내의 dopamine 함량은 sesamin(50  $\mu$ M)과 L-DOPA(50-100  $\mu$ M)을 병용 처리하는 경우 L-DOPA를 단독으로 처리하는 경우와 비교하여 유의적으로 증가하였다(Fig. 6). 이 결과들은 sesamin은 ROS에 대응하는 항산화 작용과 dopamine 생합성 증가작용과 관련한 활성화 경로가 관여하여, L-DOPA-유도 dopamine 함량 증가작용에 대한 촉진작용을 나타내고 있음을 제시하고 있다.



**Fig. 6.** Effects of sesamin on L-DOPA-induced dopamine levels in PC12 cells. PC12 cells were exposed to L-DOPA (50 and 100 μM) in the absence or presence of sesamin (50 μM) for 24 h. The control levels of intracellular dopamine were 3.65±0.24 nmol/mg protein. Results are expressed as percentages of the control levels and represent means ± S.E.M. of four experiments. \*\*P<0.01, \*\*\*P<0.001 compared to control levels; #P<0.05 compared to corresponding L-DOPA concentrations (ANOVA followed by Tukey's test).

Sesamin은 lignan 계열 화합물이며, 기본구조가 대칭적 phenylpropanoid 유도체의 두 분자로 구성되어 있다. Phenylpropanoids는 식물에서 페놀성 2차 대사산물(phenolic secondary metabolites)의 다양성을 가진 화합물의 기본구조로서, phenolic acids, flavonoids, coumarins, lignans, lignins, stilbenes 등의 생합성 과정에서의 중간체의 기본구조이며,<sup>22)</sup> 이 계열 화합물은 항산화, 항염증 등의 효능을 나타내고 있다.<sup>23,24)</sup> Phenylpropanoids-함유 화합물 중에서 scoparone(coumarin 화합물) 및 catalponol은 PC12 세포내의 dopamine 생합성 증가작용 및 L-DOPA-유도 세포독성 방어 작용을 나타내며,<sup>18,25)</sup> bulbocapnine, anonaine, catalpalactone 등은 dopamine 생합성 저해작용을 나타내고 있다.<sup>26-28)</sup> 따라서 phenylpropanoids 유도체의 화학구조와 생리활성과의 상관관계에 대하여는 더 검토되어야 할 것으로 사료된다.

L-DOPA 처치는 뇌 흑질(substantia nigra) 부위에서 수산화 유리기(hydroxy radicals)의 생성이 증가하고 있다.<sup>29)</sup> 또한 L-DOPA 요법을 시행하는 경우 항산화제와 병용 투여하여 흑질에서의 ROS 소거를 증가시켜 L-DOPA의 효능을 증가시키는 약물요법이 제시되고 있으며, 이러한 목적으로 주요 항산화제 selegiline, rasagiline, coenzyme Q10 등이 임상시험에서 응용 가능성이 연구되고 있다.<sup>30)</sup> 이러한 보조요법(adjunct therapy)은 L-DOPA-유도 세포사(apoptosis)로부터 dopamine 신경세포의 보호와 dopamine 생합성 촉진작용을 나타내며, sesamin의 dopamine 생합성 증가작용과 관련한 생리활성은 이러한 보조요법 제제로의 응용가능성을

제시하고 있다.

본 연구의 결과로부터, sesamin은 세포내 TH 활성 및 TH mRNA 함량 증가를 유도하여 dopamine 생합성 촉진작용을 나타내며, 이는 PKA-CREB 경로를 매개하고 있음을 제시하고 있다. Sesamin을 이용하여 신경퇴행성 질환의 보조요법제(adjunct phytonutrient)로서의 개발을 위한 동물실험 및 임상연구가 진행되어야 할 것으로 사료된다.

## 사 사

본 논문은 2009년도 충북대학교 학술연구지원사업의 연구비 지원에 의하여 연구되었음.

## 인용문헌

- Hirose, N., Inoue, T., Nishihara, K., Sugano, M., Akimoto, K., Shimizu, S. and Yamada, H. (1991) Inhibition of cholesterol absorption and synthesis in rats by sesamin. *J. Lipid Res.* **32**: 629-638.
- Hirose, N., Doi, F. and Ueki, T. (1992) Suppressive effect of sesamin against 7,12-dimethylbenzanthracene induced rat mammary carcinogenesis. *Anticancer Res.* **12**: 1259-1266.
- Akimoto, K., Kitagawa, Y., Akamatsu, T., Hirose, N., Sugano, M., Shimizu, S. and Yamada, H. (1993) Protective effects of sesamin against liver damage caused by alcohol or carbon tetrachloride in rodents. *Ann. Nutr. Metab.* **37**: 218-224.
- Hou, R. C., Huang, H. M., Tzen, J. T. and Jeng, K. C. (2003). Protective effects of sesamin and sesamol on hypoxic neuronal and PC12 cells. *J. Neurosci. Res.* **74**: 123-133.
- Hamada, N., Fujita, Y., Tanaka, A., Naoi, M., Nozawa, Y., Ono, Y., Kitagawa, Y., Tomimori, N., Kiso, Y. and Ito, M. (2009) Metabolites of sesamin, a major lignan in sesame seeds, induce neuronal differentiation in PC12 cells through activation of ERK1/2 signaling pathway. *J. Neural Transm.* **116**: 841-852.
- Fujikawa, T., Kanada, N., Shimada, A., Ogata, M., Suzuki, I., Hayashi, I. and Nakashima, K. (2005) Effect of sesamin in *Acanthopanax senticosus* HARMS on behavioral dysfunction in rotenone-induced parkinsonian rats. *Biol. Pharm. Bull.* **28**: 169-172.
- Lahaie-Collins, V., Bourmival, J., Plouffe, M., Carange, J. and Martinoli, M.G. (2008) Sesamin modulates tyrosine hydroxylase, superoxide dismutase, catalase, inducible NO synthase and interleukin-6 expression in dopaminergic cells under MPP-induced oxidative stress. *Oxid. Med. Cell Longev.* **1**: 54-62.
- Joh, T. H., Park, D. H. and Reis, D. J. (1978) Direct phosphorylation of brain tyrosine hydroxylase by cyclic AMP-dependent protein kinase: mechanism of enzyme activation.

- Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **75**: 4744-4748.
9. Young, E. A., Duchemin, A.-M., Neff, N. H. and Hadji-constantinou, M. (1998) Parallel modulation of striatal dopamine synthetic enzymes by second messenger pathways. *Eur. J. Pharmacol.* **357**: 15-23.
  10. Ziv, I., Zilkha-Falb, R., Offen, D., Shirvan, A., Barzilai, A. and Melamed, E. (1997) Levodopa induces apoptosis in cultured neuronal cells: a possible accelerator of nigrostriatal degeneration in Parkinson's disease? *Mov. Disord.* **12**: 17-23.
  11. Cheng, N., Maeda, T., Kume, T., Kaneko, S., Kochiyama, H., Akaike, A., Goshima, Y. and Misu, Y. (1996) Differential neurotoxicity induced by L-DOPA and dopamine in cultured striatal neurons. *Brain Res.* **743**: 278-283.
  12. Lee, J. J., Kim, Y. M., Yin, S. Y., Park, H. D., Kang, M. H., Hong, J. T. and Lee, M. K. (2003) Aggravation of L-DOPA-induced neurotoxicity by tetrahydropapaveroline in PC12 cells. *Biochem. Pharmacol.* **66**: 1787-1795.
  13. Kim, K. S., Lee, M. K., Carroll, J. and Joh, T. H. (1993) Basal and inducible transcription of the tyrosine hydroxylase gene are dependent upon a cyclic AMP response element. *J. Biol. Chem.* **268**: 15689-15695.
  14. Gonzalez, G. A. and Montminy, M. R. (1989) Cyclic AMP stimulates somatostatin gene transcription by phosphorylation of CREB at serine 133. *Cell.* **59**: 675-680.
  15. Tischler, A. S., Perlman, R. L., Morse, G. M. and Sheard, B. E. (1983) Glucocorticoids increase catecholamine synthesis and storage in PC12 pheochromocytoma cell culture. *J. Neurochem.* **40**: 364-370.
  16. Migheli, R., Godani, C., Sciola, L., Delogu, M. R., Serra, P.A., Zangani, D., De Natale, G., Miele, E. and Desole, M. S. (1999) Enhancing effect of manganese on L-DOPA-induced apoptosis in PC12 cells: Role of oxidative stress. *J. Neurochem.* **73**: 1155-1163.
  17. Jin, C. M., Yang, Y. J., Huang, H. S., Lim, S. C., Kai, M. and Lee, M. K. (2008) Induction of dopamine biosynthesis by L-DOPA in PC12 cells: Implications of L-DOPA influx and cyclic AMP. *Eur. J. Pharmacol.* **591**: 88-95.
  18. Yang, Y. J., Lee, H. J., Huang, H. S., Lee, B. K., Choi, H. S., Lim, S. C., Lee, C. K. and Lee, M. K. (2009) Effects of scoparone on dopamine biosynthesis and L-DOPA-induced cytotoxicity in PC12 cells. *J. Neurosci. Res.* **87**: 1929-1937
  19. Lowry, O. H., Rosenbrough, N. L., Farr, A. L. and Randall, R. L. (1951) Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**: 265-275.
  20. Kilbourne, E. J., Nankova, B. B., Lewis, E. J., McMahon, A., Osaka, H., Sabban, D. B. and Sabban, E. L. (1992) Regulated expression of the tyrosine hydroxylase gene by membrane depolarization. Identification of the responsive element and possible second messengers. *J. Biol. Chem.* **67**: 7563-7569.
  21. Zhang, M., Huang, H. S., Park, K. H., Lee, B. R., Lim, S. C. and Lee, M. K. (2009) Effects of sesamin on dopamine biosynthesis and L-DOPA-induced cytotoxicity in PC12 cells. P-436, 50th Annual Meeting of Pharmacognosy, Hawaii (6.27-7.1)
  22. Weisshaar B. and Jenkins G. I. (1988) Phenylpropanoid biosynthesis and its regulation. *Curr. Opin. Plant Biol.* **1**: 251-2578.
  23. Daels-Rakotoarison, D. A., Seidel, V., Gressier, B., Brunet, C., Tillequin, F., Bailleul, F., Luyckx, M., Dine, T., Cazin, M. and Cazin, J. C. (2000) Neurosedative and antioxidant activities of phenylpropanoids from *ballota nigra*. *Arzneimittelforsch.* **50**: 16-23.
  24. Borges, F., Roleira, F., Mihazes, N., Santana, L. and Uriarte, E. (2005) Simple coumarins and analogues in medicinal chemistry: occurrence, synthesis and biological activity. *Curr. Med. Chem.* **12**: 887-916.
  25. Huang, H. S., Han, X. H., Hwang, B. Y., Park, J. I., Yoo, S. K., Choi, H. S., Lim S. C. and Lee, M. K. (2009) Catalponol enhances dopamine biosynthesis and protects against L-DOPA-induced cytotoxicity in PC12 cells. *J. Asian Nat. Prod. Res.* **11**: 866-874.
  26. Shin, J. S., Kim, K. T. and Lee, M. K. (1998) Inhibitory effects of bulbocapnine on dopamine biosynthesis in PC12 cells. *Neurosci. Lett.* **244**: 161-164.
  27. Lee, J. J., Jin, C. M., Kim, Y. K., Ryu, S. Y., Lim, S. C. and Lee, M. K. (2008) Effects of anonaine on dopamine biosynthesis and L-DOPA-induced cytotoxicity in PC12 cells. *Molecules* **13**: 475-487.
  28. Hwang, H. S., Han, X. H., Hwang, B. Y., Park, J. I., Yoo, S. K., Lee, H. J., Lim, S. C. and Lee, M. K. (2008) Effects of catalpalactone on dopamine biosynthesis and L-DOPA-induced cytotoxicity in PC12 cells. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* **26**: 86-91.
  29. Smith, T. S., Parker, W. D. and Bennett, J. P. Jr. (1994) L-DOPA increases nigral production of hydroxy radicals in vivo: potential L-DOPA toxicity. *Neuroreport* **5**: 1009-1011.
  30. Yacoubian, T. A. and Standaert, D. G. (2009) Targets for neuroprotection in Parkinson's disease. *Biochim. Biophys. Acta* **1792**: 676-687.

(2010. 8. 23 접수; 2010. 9. 5 심사; 2010. 9. 8 게재확정)