

렌즈콩(*Lens culinaris*) 추출물이 HepG2 인간 간암 세포에서 Proteasome 활성화와 Nuclear Factor κ B 활성화에 미치는 영향

민수영 · *윤현근*

성신여자대학교 식품영양학과 대학원생, *성신여자대학교 바이오식품공학과 부교수

Effects of Lentils(*Lens culinaris*) Extract on Proteasome Activity and Nuclear Factor κ B Activation in HepG2 Human Liver Cancer Cells

Sooyeong Min and *Hyungeun Yoon*

Graduate Student, Dept. of Food and Nutrition, Sungshin Women's University, Seoul 01133, Korea

*Associate Professor, Dept. of Food Science and Biotechnology, Sungshin Women's University, Seoul 01133, Korea

Abstract

Proteasome inhibitors can improve the efficiency of cancer treatments by inhibiting nuclear factor κ B(NF- κ B) activation in cancer cells. Lentils are a type of beans of which consumption of such beans is increasing. The purpose of this study was to investigate the effects of lentils extract (LE) on the proteasomal activities, NF- κ B activation, and cell cycle in HepG2 human liver cancer cells. LE treatments inhibited proteasomal activities at concentrations of 10, 50, and 100 μ g/mL respectively, and repressed NF- κ B activation at concentrations of 1, 10, and 100 μ g/mL respectively, in HepG2 cells. LE treatments at concentrations of 1, 10, and 100 μ g/mL respectively, increased sub-G1 cell population in HepG2 cells, which may be the result of apoptosis. The results suggest that LE inhibited NF- κ B activation partially with its proteasome inhibitory activities, and the increase of sub-G1 cell population was induced partially, by inhibition of NF- κ B activation in HepG2 cells.

Key words: proteasome inhibitor, nuclear factor κ B, lentils extract, HepG2 cells

서론

NF- κ B는 동물세포에 존재하는 전사인자로서 세포증식, 면역 반응, 염증 반응 등을 조절하는 역할을 한다(Cusack 등 2001; Hideshima 등 2002). NF- κ B는 세포에서 저해 단백질인 I κ B- α 와 결합하여 불활성화 상태로 세포질에 존재하다가 염증성 cytokine, 세포 성장 인자, 산화스트레스 등의 자극이 주어지면 I κ B- α 가 인산화된 후 ubiquitin-proteasome system (UPS)에 의하여 분해되어서 I κ B- α 로부터 NF- κ B가 분리된다. 분리된 NF- κ B는 세포핵 내부로 이동하여 목표 유전자의 발현을 촉진한다(Ludwig 등 2005; Flankland-Searby & Bhaumik 2012). NF- κ B가 활성화되어 목표 유전자가 발현하면 그 결과로 세포에서는 apoptosis가 억제되고, 세포 증식이 촉진된다.

암세포에 생장을 억제하는 자극이 주어지면 암세포에서는 이에 대한 저항으로서 NF- κ B가 활성화되어 암세포가 계속 성장하기에 유리한 환경이 조성된다(Manasanch & Orłowski 2017). 따라서, 암세포에서 proteasome의 활성이 억제되어 NF- κ B의 활성화가 제한되면 항암 치료에 대한 암세포 저항성이 감소하여 항암 치료 효율이 개선될 수 있다. 암세포의 항암 치료에 대한 저항성을 억제할 수 있는 proteasome 활성 억제제에 대한 연구가 진행되어 왔고 proteasome 활성 억제제인 bortezomib과 ixazomib은 미국 FDA에 의하여 암치료제로 승인되었다(Manasanch & Orłowski 2017). Bortezomib은 proteasome의 β 5 subunit과 β 1 subunit의 기능을 직접적으로 억제하여 I κ B- α 를 안정화하고(De Bettignies & Coux, 2010) ixazomib은 경구 proteasome 활성 억제제로서 proteasome과

* Corresponding author: Hyungeun Yoon, Associate Professor, Department of Food Science and Biotechnology, Sungshin Women's University, Seoul 01133, Korea. Tel: +82-2-920-7682, Fax: +82-2-920-2076, E-mail: ywise@sungshin.ac.kr

결합하여 proteasome의 활성을 억제한다(Richardson 등 2017). 식물생리활성물질인 epigallocatechin gallate(EGCG), apigenin, quercetin, genistein 등의 flavonoid류는 proteasome 활성 억제 기능을 나타내는 것으로 알려져 있다(De Bettignies & Coux 2010).

두류는 다양한 영양소와 식물생리활성물질을 포함하고 있고, 여러 가지 식품 형태로 소비되고 있다(Song 등 2010; Lee 등 2013; Lee 2015; Im 등 2016). 렌즈콩(*Lens culinaris*)은 두류의 한 종류로서 소비량이 증가하고 있는 추세에 있으며, 단백질, 탄수화물, 식이섬유, 비타민, 미네랄 등의 함량이 높고, 다른 두류와 비교하여 지방 함량이 낮은 특징이 있다(Jameel 등 2015). 렌즈콩에는 phytosterols, squalene, tocopherols, saponins, flavonoids, tannins, phytic acid, oligosaccharides 등의 식물생리활성물질이 포함되어 있으며, 렌즈콩은 항당뇨, 항산화, 항비만, 항균, 항암 효과 등을 나타낸다고 알려져 있다(Jameel 등 2015; Ganesan & Xu 2017). 렌즈콩이 항산화, 항암성 등의 기능성 등을 보유하고 있다는 연구결과는 보고된 바 있으나, proteasome 활성에 미치는 영향은 보고되지 않았다. 본 연구의 목적은 렌즈콩 추출물이 HepG2 세포의 proteasome 활성, NF- κ B 활성화, cell cycle에 미치는 영향을 연구하여 proteasome 활성 억제 물질 보유 가능성을 확인하는 것이다.

재료 및 방법

1. 재료

Minimum essential media(MEM) 배지는 Hyclone(Logan, UT, USA)에서 구입하였고, fetal bovine serum(FBS)은 Welgene (Gyeongsan, Korea)에서 구매하였다. No-phenol red MEM 배지는 Gibco(Rockville, MD, USA)에서 구입하였고 triazolyl blue tetrazolium bromide(MTT), trypsin-EDTA solution, penicillin-streptomycin, phosphate-buffered saline(PBS), dimethyl sulfoxide (DMSO), triton X-100, ribonuclear A from bovine pancreas (RNase), tumor necrosis factor- α (TNF- α), aprotinin bovine, leupeptin hydrochloride, pepstatin A, DL-dithiothreitol(DTT), phenylmethane sulfonyl fluoride(PMSF), Igepal GA-630(Igepal)은 Sigma-Aldrich(St. Louis, MO, USA)에서 구입하였다. MG-132 (proteasome-specific inhibitor)와 proteasome substrate III (Suc-Leu-Leu-Val-Tyr-AMC)는 Calbiochem(San Diego, CA, USA)에서 구입하였고 DC Protein assay kit I은 Bio-Rad(Hercules, CA, USA)에서 구매하였다. Propidium iodine(PI) solution과 Annexin V, Annexin V binding buffer는 Sony biotechnology (San Jose, CA, USA)에서 구입하였다. Immobilon-P transfer membrane은 Millipore(Billerica, MA, USA)에서 구매하였다. Anti-NF- κ B p65는 Santa cruz biotechnology(Dallas, TX, USA)에

서 구입하였고, anti-nucleolin은 Millipore에서 구매하였으며, anti-mouse IgG(HRP-linked antibody)와 anti-biotin(HRP-linked antibody)은 Cell Signaling Technology(Danvers, MA, USA)에서 구입하였다. ECL solution은 ELPIS-Biotech(Daejeon, Korea)에서 구매하였다.

2. 렌즈콩 추출물 제조

렌즈콩은 2016년 수유시장(Seoul, Korea)에서 구매하여 추출물을 제조하기 전까지 -80°C 에서 보관하였다. 렌즈콩 추출물(lentils extract(LE)) 제조는 선행 연구 방법을 참고하여 실행하였다(Yoon & Liu 2007). 렌즈콩 25 g을 증류수 200 mL에 넣고 4°C 에서 24 h 동안 보관한 뒤 회수하여 80%(v/v) acetone 200 mL에 넣고 5 min 동안 마쇄한 후 homogenizer (Tops, Daeil lab service, Seoul, Korea)로 3 min 동안 균질화 시켰다. 균질화된 렌즈콩액을 여과지(Whatman no. 2, GE healthcare, Pittsburgh, PA, USA)로 여과하여 여과액을 얻은 후 회전 증발 농축기(N-N Series, Eylea, Tokyo, Japan)를 사용하여 초기 여과액 부피의 약 10%가 되도록 농축하였다. 농축액을 동결한 후 동결 건조기(TFD Series, Ilshinbiobase, Dongducheon, Korea)로 건조하여 LE 1.17 g(추출수율 4.68%)을 획득했다. LE는 사용하기 전까지 -20°C 에서 보관하였다.

3. 세포 배양

HepG2 세포(human hepatocarcinoma cell line)는 한국세포주 은행(Seoul, Korea)에서 분양 받았다. HepG2 세포는 MEM 배지에 10% FBS와 1% antibiotics(penicillin-streptomycin)를 첨가한 배지를 사용하여 37°C , 5% CO_2 조건의 배양기(371, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA)에서 배양하였다.

4. 세포 독성 측정

시료의 세포 독성은 선행 연구 방법을 참고하여 실행하였다(Yoon & Lee 2010). HepG2 세포를 96-well plate에 5.5×10^4 cell/well 농도로 분주하여 37°C , 5% CO_2 조건에서 24 h 동안 배양하였다. MEM 배지를 이용하여 0, 10, 30, 60, 100 $\mu\text{g/mL}$ 농도로 희석한 시료 용액으로 세포를 처리하고, 37°C , 5% CO_2 조건에서 24 h 동안 배양하였다. MEM 배지로 0.5 mg/mL 농도로 희석한 MTT 용액 100 μL 로 세포를 처리하고, 37°C , 5% CO_2 조건에서 4 h 동안 배양하였다. Acid-isopropanol(0.04 N HCl)을 각 well에 100 μL 씩 첨가하고, 상온에서 20 h 동안 교반하였다. Microplate reader(Spectramax plus 384, Molecular devices, San Jose, CA, USA)로 590 nm에서 흡광도를 측정하고, 다음의 식에 대입하여 시료의 세포 독성을 계산하였다.

$$\text{세포 독성}(\%) = 100 \times (\text{대조군 흡광도} - \text{시료시험군 흡광도})$$

/ (대조군 흡광도)

대조군은 LE 0 µg/mL 농도 실험군이다.

5. Proteasome 억제 활성 측정

LE의 proteasome 억제 활성(proteasome inhibitory activity (PIA))은 선행한 연구 방법을 참고하여 수행하였다(Yoon & Liu 2007). HepG2 세포를 8×10^4 cell/well 농도로 6-well plate에 분주하여 37°C, 5% CO₂ 조건에서 24 h 동안 배양하였다. 회수한 세포를 4°C에서 130 rcf로 5 min 동안 원심분리하여 cell pellet을 획득하였다. Cell pellet에 RIPA buffer(50 mM tris(pH 7.4), 1% IGEPAL, 150 mM NaCl, 1 mM EDTA, 1 mM PMSF, 1 mM Na₃VO₄, 1 mM NaF)를 첨가하여 현탁액을 만들고, 20 min 동안 얼음에 둔 다음 4°C에서 12,000 rcf로 15 min 동안 원심분리하여 상층액인 세포 추출물을 획득하였다. 세포 추출물을 단백질 50 µg/well 용량으로 96-well black plate에 분주하고, LE를 reaction buffer(20 mM tris-HCl(pH 7.8), 0.5 mM EDTA, 0.035% SDS)로 최종 0, 0.1, 1, 5, 10, 50, 100 µg/mL의 농도로 희석하여 well 당 50 µL씩 첨가하였다. Positive control은 proteasome-specific inhibitor인 MG-132를 최종 10 µM 농도로 첨가하였고, negative control은 DMSO를 최종 1%의 농도로 첨가하였다. 최종 100 µM이 되도록 희석한 proteasome substrate III를 첨가하고, 37°C로 온도를 설정한 fluorescence microplate reader(SpectraMax M5, Molecular Devices)를 사용하여 60 min 동안 2 min 간격으로 fluorescence(380 nm excitation, 460 nm emission)를 측정하여 시료의 측정시간에 따른 fluorescence 곡선 이하 면적을 구했다. 시료의 PIA는 다음의 식을 이용하여 계산했다.

$$PIA(\%) = 100 \times (\text{Negative control 곡선 이하 면적} - \text{시료 곡선 이하 면적}) / (\text{Negative control 곡선 이하 면적} - \text{Positive control 곡선 이하 면적})$$

6. NF-κB 활성화 측정

LE가 NF-κB 활성화에 미치는 영향 측정은 선행 연구 방법을 참고하여 실행하였다(Yoon & Liu 2007). HepG2 세포를 1×10^6 cell/well 농도로 6-well plate에 분주하여 37°C, 5% CO₂ 조건에서 24 h 동안 배양하였다. 배지를 제거하고 LE를 MEM 배지로 0, 1, 10, 100 µg/mL의 농도로 희석하여 well 당 1 mL씩 처리하고(2 well/treatment), 37°C, 5% CO₂ 조건에서 24 h 동안 배양하였다. 배지를 제거하고 최종 10 ng/mL 농도가 되도록 희석한 TNF-α를 첨가하여 1 h 동안 37°C, 5% CO₂ 조건에서 배양하였다. Cell scraper를 사용하여 세포를 떼어내서 4°C, 130 rcf 조건으로 5 min 동안 원심분리하여 cell pellet을

획득했다. Cell pellet에 hypotonic buffer(10 mM Hepes-KOH (pH 7.8), 10 mM KCl, 2 mM MgCl₂, 0.1 mM EDTA, 0.2 mM NaF, 0.2 mM Na₃VO₄, 0.4 mM PMSF, 1 mM DTT, 1 µg/mL aprotinin, 1 µg/mL leupeptin, 1 µg/mL pepstatin)를 첨가하여 현탁액을 만들고, 얼음에 15 min 동안 둔 후 10% Igepal을 첨가하고 원심분리하여 pellet을 획득했다. Pellet에 냉각된 high-salt extraction buffer(50 mM Hepes-KOH(pH 7.8), 50 mM KCl, 300 mM NaCl, 0.1 mM EDTA, 10%(v/v) glycerol, 0.2 mM NaF, 0.2 mM Na₃VO₄, 0.4 mM PMSF, 1 mM DTT, 1 µg/mL aprotinin, 1 µg/mL leupeptin, 1 µg/mL pepstatin)를 첨가하고, 교반하여 핵막을 분해한 후 4°C, 12,000 rcf 조건으로 30 min 동안 원심분리하여 상층액을 nuclear extract로 획득했다. Nuclear extract를 10%(w/v) SDS-PAGE(sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis)로 전기영동한 후 transfer membrane으로 단백질을 transfer시켰다. Transfer membrane에 anti-NF-κB p65 (1:250)와 anti-nucleolin(1:10,000)을 첨가하고 4°C에서 12 h 동안 교반하였고, anti-mouse IgG(1:2,000)와 anti-biotin(1:2,000)을 첨가하여 상온에서 2 h 동안 교반하였다. Transfer membrane을 0.1% TBST로 10 min 동안 세척한 후 ECL solution을 처리하였다. NF-κB band는 loading control인 nucleolin band를 기준으로 Image Lab 프로그램(Bio-Rad)을 이용하여 정량하였다.

7. Cell cycle 분석

LE가 HepG2 세포의 cell cycle에 미치는 영향 분석은 cell cycle analysis protocol을 참고하여 실행하였다(Darzynkiewicz & Juan 2001). HepG2 세포를 1×10^6 cell/well 농도로 6-well plate에 분주하여 37°C, 5% CO₂ 조건에서 24 h 동안 배양하였다. LE를 MEM 배지로 0, 1, 10, 100 µg/mL가 되도록 희석하여 well 당 1 mL씩 처리하고(2 well/treatment), 37°C, 5% CO₂ 조건에서 48 h 동안 배양하였다. Trypsin-EDTA solution을 이용해 세포를 떼어내어 원심분리하여 cell pellet을 획득하였다. Cell pellet을 70%(v/v) ethanol로 현탁시킨 후 -20°C에서 12 h 동안 fixation한 뒤 ethanol을 제거하고 PBS 100 µL로 다시 현탁시켰다. 현탁액에 0.1% Triton X-100, 200 µg/mL RNase를 첨가하고, 상온의 어두운 곳에서 30 min 동안 반응시켰다. 현탁액에 PI(0.5 mg/mL) 10 µL를 첨가하고 어두운 곳에서 얼음 위에 두고 15 min 동안 반응시킨 후, cell strainer (SPL, Pocheon, Korea)로 filtering 한 후 flow cytometry(LE-SH800ZE, Sony corporation, Tokyo, Japan)를 이용하여 488 nm excitation, 610 nm emission에서 분석하였다.

8. 통계처리

본 실험은 3번 반복하여 결과를 평균±표준편차로 나타내

었다. 실험 결과는 SPSS(ver. 22, IBM, Armonk, NY, USA) 프로그램으로 일원배치 분산분석(one-way ANOVA)을 실시하여 통계적 유의성을 확인하였고, $p < 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test를 이용하여 사후 분석을 수행하였다. 두 평균의 paired test는 $p < 0.05$ 수준에서 Student's *t*-test를 이용하여 실시하였다.

결과 및 고찰

1. 렌즈콩 추출물의 세포 독성

HepG2 세포를 LE로 24 h 동안 처리하고, LE에 의한 세포 독성을 측정하였다. LE는 10, 30, 60, 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 농도에서 각각 1.5 ± 7.9 , -5.2 ± 3.4 , -9.5 ± 5.2 , $2.5 \pm 6.9\%$ 의 세포 독성을 나타냈다(Fig. 1(A)). LE는 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이하의 농도에서 10% 미만의 세포 독성을 나타내었고, 본 연구에서 LE를 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이하 농도에서 사용하였다.

2. 렌즈콩 추출물의 proteasome 억제 활성

HepG2 세포 추출물에 LE를 첨가하고 proteasome 활성을 측정하여 LE가 proteasome 활성에 미치는 영향을 정량하였다. LE는 10, 50, 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 농도에서 HepG2 세포의 proteasome 활성을 유의하게 억제하였다($p < 0.05$)(Fig. 1(B)). LE 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 PIA는 proteasome-specific inhibitor인 MG-132의 PIA(100%)와 비교하여 $45.6 \pm 7.6\%$ 이다. Proteasome 활성을 억제하는 물질로는 MG-132, bortezomib 등의 peptide류, epigallocatechin gallate(EGCG), genistein 등의 flavonoid류, celastrol, pristimerin 등의 triterpenoid류 등이 알려져 있다(De Bettignies & Coux 2010). 렌즈콩은 단백질과 flavonoid류 물질의 함량이 높고, 이러한 물질 가운데 proteasome 활성을 억제하는 물질이 존재할 가능성이 있다.

3. 렌즈콩 추출물이 NF- κ B 활성화에 미치는 영향

HepG2 세포를 LE로 24 h 동안 처리하고, TNF- α 를 이용하여 NF- κ B 활성화를 유도하여 LE가 NF- κ B 활성화에 미치는 영향을 측정하였다. LE는 1, 10, 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 농도에서 TNF- α 에 의하여 유도되는 NF- κ B 활성화를 유의하게 억제하였다($p < 0.05$)(Fig. 2). HepG2 세포에서 TNF- α 처리에 의하여 NF- κ B가 활성화되어 세포핵 안으로 이동하는 과정에서 proteasome의 활성이 억제되면 I κ B- α 는 분해되지 않고 NF- κ B는 I κ B- α 에 결합된 불활성화 상태로 세포질에 존재하게 된다. 본 연구에서 LE는 NF- κ B 활성화를 억제하였고, 이러한 기능은 부분적으로 LE의 proteasome 억제 활성에 의한 것으로 설명할 수 있다.

4. 렌즈콩 추출물이 HepG2 세포의 cell cycle에 미치는 영향

HepG2 세포를 LE로 48 h 동안 처리하고 세포 phase의 cell population 변화를 측정하였다. LE는 negative control과 비교하여 1, 10, 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 농도에서 HepG2 세포 sub-G1기의 cell population을 유의하게 증가시켰으나, 다른 세포 phase에서는 유의적인 차이를 유발하지 않았다($p < 0.05$)(Fig. 3). 세포에서 apoptosis가 진행되면 DNA가 손실되어 apoptotic body, chromatin 파편, 죽은 세포의 염색체 조각 등이 증가하여 DNA 함량이 2n이 되지 않는 sub-G1기의 cell population이 증가한다(Liu 등 2002). 세포에서는 NF- κ B의 작용에 의하여 apoptosis 과정이 억제되고, 세포 생장이 촉진된다. LE 처리에 의하여 HepG2 세포에서 sub-G1기의 cell population이 유의하게 증가한 것은 apoptosis가 발생했을 가능성을 나타내는 것이고, 이러한 작용은 부분적으로 LE의 NF- κ B 활성화 억제 기능에 의한 것으로 설명할 수 있다.

식물생리활성물질 중 flavonoid류인 EGCG, apigenin, quercetin, genistein 등과 triterpenoid류인 celastrol, withaferin A, pristimerin

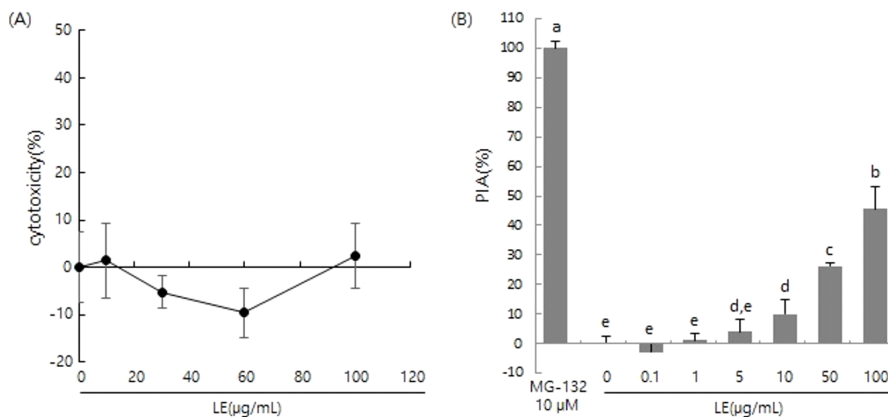


Fig. 1. Cytotoxicity(A) and proteasome inhibitory activity(PIA)(B) of lentils extract(LE). Cytotoxicity of LE and proteasome activities of HepG2 cell extracts with LE were measured. Bars with different letters indicate significant differences ($p < 0.05$).

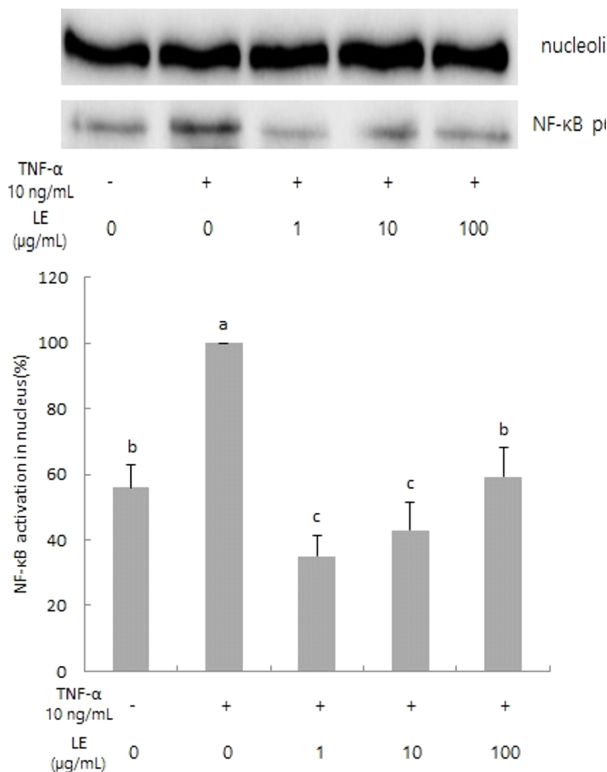


Fig. 2. Effects of lentils extract(LE) on TNF- α -induced NF- κ B activation in HepG2 cells. HepG2 cells were treated with LE for 24 h and NF- κ B activation was induced by the treatment of TNF- α at a concentration of 10 ng/mL for 1 h. Nucleolins were used as loading controls. Bars with different letters indicate significant differences ($p < 0.05$).

등은 proteasome 억제 활성을 가지고 있고(De Bettignies & Coux 2010), 이러한 식물생리활성물질을 포함하고 있는 식물 추출물이 proteasome 억제 활성을 보유하고 있을 가능성이 있다. 사과 추출물은 proteasome 억제 활성을 통하여 NF- κ B 활성화를 저해한다고 보고된 바 있다(Yoon & Liu 2007). 렌즈콩을 비롯한 두류 추출물이 proteasome 활성에 미치는 영향은 보고되지 않았다.

항암 치료 과정에서 암세포는 NF- κ B 활성화에 의하여 항암 치료에 대한 저항성을 나타내므로 NF- κ B의 활성화를 억제하는 proteasome 저해제는 항암 치료의 효율을 높이는 역할을 한다. 본 연구의 결과는 LE가 proteasome 활성을 억제하여 HepG2 세포에서 NF- κ B 활성화를 저해하고, 이에 따라 sub-G1기의 cell population을 증가시켰을 가능성을 제시한다. LE의 성분 중에서 proteasome 억제 활성을 보유한 생리활성물질을 분리하여 동정하고, proteasome 억제 생리활성물질의 활성 증대 방법을 제시하는 추가 연구가 필요하다.

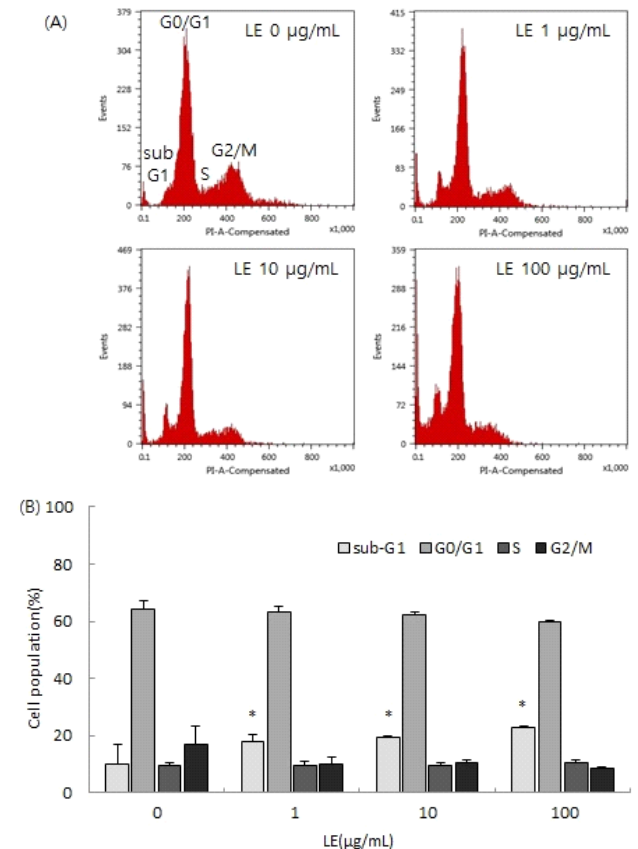


Fig. 3. Flow cytometric analysis of HepG2 cells treated with lentils extract(LE). HepG2 cells were treated with LE for 48 h. (A) Flow cytometry. (B) Cell populations analysis. An asterisk(*) indicates a significant difference compared with the same cell phase population of the negative control ($p < 0.05$).

요약 및 결론

Proteasome 억제제는 암세포에서 NF- κ B 활성화를 저해하여 항암 치료의 효율을 향상시킨다. 본 연구의 목적은 HepG2 인간 간암 세포에서 LE가 proteasome 활성, NF- κ B 활성화, cell cycle에 미치는 영향을 밝히는 것이다. LE는 10, 50, 100 μ g/mL 농도에서 proteasome 활성을 억제하였고, 1, 10, 100 μ g/mL 농도에서 NF- κ B 활성화를 저해하였다. LE는 1, 10, 100 μ g/mL 농도에서 HepG2 세포의 sub-G1 cell population 증가를 유도하였다. 본 연구의 결과는 LE가 proteasome 억제 활성을 통하여 부분적으로 NF- κ B 활성화를 저해하였고, sub-G1 cell population 증가는 부분적으로 NF- κ B 활성화 저해에 의하여 유도되었음을 제시하고 있다.

LE의 생리활성 성분을 동정하고 proteasome 활성 억제제로 개발하는 추가 연구가 필요하다.

감사의 글

본 연구는 과학기술정보통신부 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행되었습니다(2017R1A2B4012333). 성신여자대학교의 가따오까유끼에는 세포 배양에 도움을 주었습니다.

References

- Cusack JC, Liu R, Houston M, Abendroth K, Elliott PJ, Adams J, Baldwin AS. 2001. Enhanced chemosensitivity to CPT-11 with proteasome inhibitor PS-341: Implications for systemic nuclear factor- κ B inhibition. *Cancer Res* 61:3535-3540
- Darzynkiewicz Z, Juan G. 2001. DNA content measurement for DNA ploidy and cell cycle analysis. *Curr Protoc Cytom Chapter 1:7.5.1-7.5.24*
- De Bettignies G, Coux O. 2010. Proteasome inhibitors: Dozens of molecules and still counting. *Biochimie* 92:1530-1545
- Flankland-Searby S, Bhaumik SR. 2012. The 26S proteasome complex: An attractive target for cancer therapy. *Biochim Biophys Acta* 1825:64-76
- Ganesan K, Xu B. 2017. Polyphenol-rich lentils and their health promoting effects. *Int J Mol Sci* 18:1-23
- Hideshima T, Chauhan D, Richardson P, Mitsiades C, Mitsiades N, Hayashi T, Munshi N, Dang L, Castro A, Palombella V, Adams J, Anderson KC. 2002. NF- κ B as a therapeutic target in multiple myeloma. *J Biol Chem* 277:16639-16647
- Im JY, Kim SC, Kim S, Choi Y, Yang MR, Cho IH, Kim HR. 2016. Protein and amino-acid contents in Backtae, Seoritae, Huktae, and Seomoktae soybeans with different cooking methods. *Korea J Food Cookery Sci* 32:567-574
- Jameel M, Ali A, Ali M. 2015. Isolation of antioxidant phyto-constituents from the seeds of *Lens culinaris* Medik. *Food Chem* 175:358-365
- Lee KH. 2015. Antioxidant component and sensory evaluation of mixed cereals. *Korean J Food Nutr* 28:196-201
- Lee S, Lee YB, Kim HS. 2013. Analysis of the general and functional components of various soybeans. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 42:1255-1262
- Liu M, Li XQ, Weber C, Lee CY, Brown J, Liu RH. 2002. Antioxidant and antiproliferative activities of raspberries. *J Agric Food Chem* 50:2926-2930
- Ludwig H, Khayat D, Gaccone G, Facon T. 2005. Proteasome inhibition and its clinical prospects in the treatment of hematologic and solid malignancies. *Cancer* 104:1794-1807
- Manasanch EE, Orlowski RZ. 2017. Proteasome inhibitors in cancer therapy. *Nat Rev Clin Oncol* 14:417-433
- Richardson PG, Kumar S, Laubach JP, Paba-Prada C, Gupta N, Berg D, van de Velde H, Moreau P. 2017. New developments in the management of relapsed/refractory multiple myeloma - the role of ixazomib. *J Blood Med* 8:107-121
- Song JE, Song JH, Cho SM, Min GH, Lee JS. 2010. Nutritional characteristics and physiological functionality of antimentia acetylcholinesterase inhibitor-containing methanol extract from *Sorghum bicolor*. *Korean J Food Nutr* 23:226-232
- Yoon H, Lee CY. 2010. Effect of selected phytochemicals on cell proliferation in A549 lung cancer cells. *Food Sci Biotechnol* 19:1063-1068
- Yoon H, Liu RH. 2007. Effect of selected phytochemicals and apple extracts on NF-kappaB activation in human breast cancer MCF-7 cells. *J Agric Food Chem* 55:3167-3173

Received 21 August, 2019

Revised 09 September, 2019

Accepted 18 September, 2019