

HL-60 세포주에 대한 Vitamin D₃ 유도제, EB1089의 세포주기 변화를 통한
항백혈병 기전 규명

서울대학교 의과대학 암연구소¹, 내과학교실², 한양대학교 의과대학 내과학교실³

설재구^{1*}, 김은실¹, 박우현¹, 김병국², 안명주³, 김인준³, 정태준³, 최일영³, 이영열³

급성골수성백혈병은 성인에서 발견되는 가장 흔한 혈액암으로 치료에 있어서 새로운 치료적 접근방법이 필요한 상황이다. Vitamin D₃는 강력한 항백혈병효과가 있지만 고칼슘증으로 임상적 응용에는 많은 제약이 있으나, 이러한 고칼슘증을 극복한 EB1089는 1,25-(OH)₂ vitamin D₃에 비해 더욱 강한 항백혈병효과를 가지고 있다고 알려져 있다. 본 연구에서는 EB1089가 급성골수성백혈병세포의 성장을 억제하는 기전에 대해 세포주기학적인 면에서 규명하고자 급성골수성백혈병 세포주인 HL-60 세포주에 EB1089를 1×10^{-8} M의 농도로 처리한 후 FACS 분석 및 Western blotting, 면역침전을 실시하여 세포주기와 관련된 일련의 인지(p21, p27, CDK2, CDK4, CDK6, cyclin D1, cyclin E)들의 발현양상 및 상호작용을 확인하였다. FACS 분석 결과 EB1089는 HL-60 세포주를 G1 phase에서 세포주기의 진행을 억제시키는 것으로 관찰되었다. 또한 세포주기 관련인자들의 발현양상은 p21, p27이 시간이 경과함에 따라 그 발현이 증가하였으며, CDK2와 CDK6는 EB1089의 투여시간이 진행됨에 따라 발현이 감소한 반면, CDK4는 발현이 증가하였다. Cyclin D1은 시간이 경과함에 따라 발현이 증가하였고, cyclin E는 발현정도에 변화가 없었다. p21, p27과 CDK2, 4, 6의 면역침전실험결과 EB1089를 처리한 HL-60 세포주에서 p21과 CDK2, CDK6의 혼합체가 시간이 경과함에 따라 증가하였다. 본 실험의 결과로 EB1089의 처리는 HL-60세포주는 G1 phase에서 세포주기의 진행이 억제되며, 이때 p21가 가장 주요한 CDKI(cyclin dependent kinase inhibitor)로 그 역할을 수행하며, 이때 CDK2, CDK6가 주 목표물이 됨을 확인하였다.

Lovastatin-induced inhibition of HL-60 cell line proliferation is mediated
through the cyclin-dependent kinase inhibitor, p27

Woo Hyun Park^{*}, Eun Shil Kim, Jae Goo Seol, Young Yiul Lee^{*}, Byoung Kook Kim

Dept. of Internal Medicine, Cancer Research Center, College of Medicine, Seoul National University; Dept. of Internal Medicine, School of Medicine, Han Yang University

The 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A (HMG-CoA) reductase inhibitor, lovastatin, induces growth arrest and cell death in certain cancer cell lines. This report describes the effect of lovastatin in HL-60 cells, human acute myeloid leukemia (AML) cell line. Lovastatin inhibited the proliferation of HL-60 cells in a dose-dependent manner with 50% inhibition (ED₅₀) at concentration of 10 μ M. After 72 h of drug exposure (1.5 μ M, 5 μ M and 10 μ M), cell cycle arrest in G1 phase occurred in a large proportion of cells, however, apoptosis of HL-60 cells was not significantly observed. In contrast, high dose of lovastatin (50 μ M, 100 μ M, 200 μ M) significantly induced a high percentage of apoptosis in HL-60 cells as evidenced by FACS analysis. To explore how lovastatin mediated antiproliferative action, its effect on the cell cycle was assessed. Lovastatin decreased the expression of cyclin-dependent kinase 2 (CDK2) (required for cell cycle progression into the late G1/S phase), CDK4, CDK6 (active at early G1 phase) and cyclin E (required for CDKs activation at G1/S phase transition), but not cyclin D1 (required for CDKs activation at late G1 phase). In addition, lovastatin increased the protein level of the cyclin-dependent kinase inhibitor, p27, and markedly enhanced the binding of p27 with CDK2 and CDK4 more than CDK6 after 24 h at a dose of 10 μ M. We, therefore, concluded that an inhibitor of the HMG-CoA reductase, lovastatin, inhibits the proliferation of HL-60 cells through the induction of p27 to bind the CDK2 and CDK4 in G1 phase. In addition, lovastatin(72 hours, >10 μ M) reduces viability of HL-60 cells by inducing apoptosis.