

## Effects of Genistein on Cell Proliferation and Adipogenesis in Mouse 3T3-L1 Preadipocytes

Seung-Hyun Lim, Hyo-Rim Kim, Min-Jeong Kim and Jong-Sik Kim\*

Department of Biological Sciences, Andong National University, Andong, 760-749 Korea

Received October 17, 2011 / Revised January 17, 2012 / Accepted January 18, 2012

The effects of genistein on cell proliferation and adipogenesis were examined in mouse 3T3-L1 preadipocyte cells. Genistein decreased viability of 3T3-L1 pre-adipocytes in a dose-dependent manner. Oil Red O staining of these cells also indicated that adipogenesis was inhibited by 50  $\mu$ M genistein treatment. We investigated the molecular mechanisms involved in the decrease in cell viability in genistein-treated 3T3-L1 cells by conducting an oligo DNA microarray analysis. We selected the sirtuin-1 gene, one of the upregulated genes, for further experimentation because sirtuin-1 belongs to the sirtuin family, which is associated with anti-obesity and anti-inflammation activities. We found that four phytochemicals (resveratrol, capsaicin, daidzein, and genistein) could increase sirtuin-1 expression. Genistein was the strongest inducer of sirtuin-1 among the tested phytochemicals. The inhibition of adipogenesis by genistein was recovered by sirtuin-1 siRNA transfection. Overall, these results may further our understanding of the molecular mechanisms underlying the inhibition of proliferation and adipogenesis by genistein in mouse 3T3-L1 cells.

**Key words** : Genistein, mouse 3T3-L1, cell proliferation, adipogenesis, sirtuin-1

### 서 론

비만은 많은 심혈관 질환, 제2형 당뇨병, 대사성 질환과 특정 암의 발생과 밀접한 관련이 있는 것으로 알려져 있다[15]. 이러한 비만의 예방과 비만과 관련된 질환의 예방 및 치료를 위하여 여러 가지 생리활성 물질이 후보군으로 제시되고 있다. 이중 식물유래의 파이토케미칼을 이용한 항 비만 활성 검증과 활성의 작용 기전을 이해하고자 하는 연구들이 계속되고 있다[9-10,13]. 또한, 여러 종류의 파이토케미칼에 의한 지방세포 세포주기 조절에 관한 논문이 보고된 바 있다[16]. 이러한 파이토케미칼은 보통 과일이나 야채에 포함되어있는 비 영양 성분들로 항 비만 활성뿐만 아니라, 항 염증, 항 산화, 항암 등의 생리활성이 있는 것으로 알려져 있다[4,11,18].

Genistein은 대두에 함유된 이소플라본 중 하나로서 식물계에 광범위하게 존재하는 diphenol 화합물로서, 콩 속에 약 0.1~0.3% 정도의 양이 함유되어 있다[2]. 또한, genistein은 estrogen과 유사한 구조를 가짐으로써 estrogen receptor- $\beta$ 에 높은 친화도를 가지고 있으며, 여성호르몬 유사 작용이 있어 식물성 에스트로젠(phytoestrogen) 이라고도 불린다[3]. 또한, genistein은 마우스3T3-L1 전지방 세포에서 지방세포의 증식과 지질축적을 억제하며 지방세포의 지방분해를 증가시킨다는 연구결과들이 보고된 바 있다[5-7]. 게다가, genistein은 여러 가지 신호 전달과정을 통해 adipogenesis 과정을 저해할

수 있다고 보고 되었다[19]. 그러나, 전지방세포주에서 genistein에 의한 유전자 수준에서의 유전자의 발현을 연구한 논문은 전무한 실정이다.

본 연구에서는 genistein에 의한 마우스 전지방 3T3-L1세포의 성장과 지방세포형성에 미치는 영향을 연구하였다. 또한, genistein에 의한 세포생존 및 지방세포형성의 억제기전을 유전자 발현변화를 통해 이해하고자 oligo DNA microarray 실험을 수행하였다. 최종적으로 sirtuin-1 유전자의 발현과 genistein에 의한 adipogenesis과정 저해와의 직접적인 관련성을 규명하였다. 이러한 연구결과는 genistein의 항 비만 활성의 새로운 기전을 이해하는데 도움을 줄 것으로 기대된다.

### 재료 및 방법

#### 세포배양 및 파이토케미칼

마우스 전지방 세포주인 3T3-L1은 한국식품연구원으로부터 분양 받았다. 세포주 배양은 10% BS (Bovine Serum, Gibco, USA), 1% penicillin 및 streptomycin (WelGene, Korea)이 포함된 Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM, Gibco, USA)을 사용하였으며, 배양은 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 조건 하에서 배양하였다. 파이토케미칼인 genistein, resveratrol, capsaicin, daidzein과 대조구로 사용된 DMSO (Dimethyl Sulfoxide)는 Sigma사(USA)로부터 구입하였다.

#### \*Corresponding author

Tel : +82-54-820-5798, Fax : +82-54-820-7705

E-mail : jsk@andong.ac.kr

Cell viability assay (MTS assay)

마우스 전지방 3T3-L1세포주에 파이토케미칼을 조건에 따라 24시간 처리한 후 cell viability assay를 수행하였다. Cell viability assay의 방법과 절차는 기 발표된 논문에 따라 진행하였다[8]. 즉, 96 well plate에 well당 3×10<sup>3</sup>개의 세포를 접종하고 24시간 동안 배양한 후, 파이토케미칼을 24시간 처리 후, MTS용액(Promega, USA)을 각 well당 20 µl씩 첨가하고 배양기에서 4시간 동안 반응하였다. 반응이 끝난 후 NanoQuant Plate™ (Tecan Trading AG, Switzerland)를 이용하여 490 nm에서 흡광도를 측정하였다. 결과 수치는 4개의 독립적인 well에서 수행한 값을 Microsoft EXCEL program을 이용하여 분석한 후 mean±SD 값으로 나타내었다.

마우스 전지방 세포의 분화 유도

마우스 전지방 3T3-L1세포주가 90% confluent 상태가 될 때까지 배양한 후, 분화를 유도하였다. 세포가 confluence 상태가 되었을 때 10% FBS (Fetal Bovine Serum, Gibco-BRL, USA), 1% penicillin 및 streptomycin (WelGene, Korea)이 함유된 Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM, Gibco-BRL, USA) 배지에 분화유도 물질인 Methylisobutylmethylxanthine (IBMX, Cayman, USA), Dexamethasone (Dex, Cayman, USA) 그리고 Insulin(Ins, Cayman, USA)을 1 µl/ml로 처리한 후, 2일간 분화를 유도하였다. 분화도중 genistein이 미치는 영향을 확인하기 위하여 배지에 50 µM genistein을 분화유도 시약과 함께 처리하였다. 그 후 2일 후에 Insulin 1 µl/ml를 첨가한 배지와 genistein 50 µM과 DMSO를 각각 처리하여 배지를 교환하였고, 분화유도 4일 후에 genistein 50 µM과 DMSO만을 각각 처리한 배지로 배양액을 교환해주어 4일간 더 배양하였다. 또한, 배지는 2일 간격으로 새로운 배지로 교환해주었다.

Oil red O 염색

지방세포 형성여부를 확인하기 위하여 Oil red O 염색을 수행하였다. 즉, 분화가 유도된 세포를 PBS로 세척한 후, 4% formaldehyde로 20분 상온에 고정 시킨 뒤 isopropanol 을 5분간 처리하였다. 그 후, Oil red O staining 용액(Sigma, USA)을 첨가하여 지방세포를 염색시킨 후, 역상 현미경 (DFC-295, Leica, Germany)을 이용하여 100배의 배율 하에서 세포의 형태적 변화를 비교 관찰하였고, 현미경에 설치된 카메라를 이용하여 well 단위로 세포 형태를 관찰 하였다.

Total RNA 추출

수확한 마우스 전지방 세포주로부터 Trizol reagent (Invitrogen, USA)를 이용하여 Total RNA를 추출하였다. 그 후 과정은 제조사의 프로토콜에 따라 수행하였다. Total RNA 추출 후 RNeasy mini kit (Qiagen, USA)을 이용하여 RNA cleanup를 수행하였다. 최종적으로 정제된 total RNA는 NanoQuant Plate™ 를 이용하여 정량한 후, oligo DNA 마이 크로어레이 실험과 RT-PCR, real-time PCR에 사용하였다.

Oligo DNA 마이크로어레이 실험

Oligo DNA 마이크로어레이 실험과 데이터 분석은 지노믹 트리사(Daejeon, Korea)에 위탁하여 수행하였고, 마이크로어레이 chip은 미국 Microarrays사의 Agilent Mouse whole genome 4 X 44K arrays (Agilent Technologies, Palo Alto, USA) 를 사용하였다.

Polymerase chain reaction (PCR)과 정량적인 real-time PCR

합성된 cDNA를 주형으로 하여 유전자 특이적인 oligo primer를 이용하여 PCR (polymerase chain reaction) 과정을 수행하였다. PCR에 사용된 primer의 종류와 서열은 Table 1과 같다. GAPDH 유전자는 internal control로서 사용하였다. RT-PCR은 PrimeScript™ RT-PCR Kit (TaKaRa, Japan)을 이용하였으며, 제조사의 프로토콜에 따라 수행하였다. 정량적인 real-time PCR은 ABI Prism 7500 cyclor (Applied Biosystem, USA)를 이용하여 수행하였다. Primer는 Table 1과 같고, 각각의 Tm 값은 Primer express 1.5 software program (Applied Biosystems, USA)을 이용하여 확인하였다. 주형으로 사용하는 cDNA는 RT-PCR시 수행한 과정과 같은 방법으로 합성하고, 합성된 cDNA에 RNase-free water 60 µl를 첨가하여 희석한 후 사용하였다. 반응 조건은 첫 번째 단계로 50°C에서 2분, 95°C에서 10분간 반응시키고, 두 번째 단계로 95°C에서 15초, 54°C에서 30초, 72°C에서 33초의 cycle을 40번 반복하여 수행하였다. 결과는 ABI Prism 7500 SDS software program (Applied Biosystems, USA)을 이용하여 분석, 정량 하였으며 분석법으로는 comparative Ct (threshold cycle) method를 이용하였다[12]. Relative quantification (RQ) 값은 control에 대한 sample의 상대적 유전자 발현 값으로 나타내었다.

Table 1. Sequences of oligonucleotide primers used for RT-PCR and real-time PCR

Gene name	GenBank Acc. No.	Sequence
<i>GAPDH</i>	NM_008084	F: 5'-CTGGAGAAACCTGCCAAGTA-3' R: 5'-IGTTGCTGTAGCCGTATTCA-3'
<i>Sirtuin-1</i>	NM_019812	F: 5'-TTTAAGGCTGTTGGTTCAG-3' R: 5'-CTGCCACAGGAAGTAGAGGA-3'

### Sirtuin-1 siRNA transfection

Sirtuin-1 small interfering RNA (siRNA) construct은 Bioneer사(Daejeon, Korea)에서 제공해주는 프로그램으로 디자인 한 것을 구입하였다. 전지방 세포를 분화하기 전에 Lipofectamine™ 2000 (Invitrogen, USA)을 이용하여 sirtuin-1 siRNA 혹은 negative control siRNA construct을 transfection 하였다. Transfection과정은 제조사의 프로토콜에 따라 수행 하였으며, 24시간 동안 transfection시킨 후 DMSO 혹은 50  $\mu$ M의 genistein을 처리하여 다시 24시간 동안 배양시킨 후 분화를 유도하거나, total RNA를 추출하였다.

## 결과 및 고찰

### 파이토케미칼이 전지방세포 3T3-L1 성장에 미치는 영향

Genistein을 포함한 4종류의 파이토케미칼에 의한 마우스 전지방세포주 3T3-L1 세포 성장에 미치는 영향을 연구하기 위하여, 마우스 3T3-L1세포주에 genistein (Gen), resveratrol (RES), capsaicin (CPS), 그리고 daidzein (DAID)을 각각 50  $\mu$ M씩 24시간 동안 처리한 후, cell viability assay를 수행하였다. 그 결과, capsaicin을 처리한 경우와 genistein을 처리한 경우, 각각 가장 낮은 세포생존율을 보여 주었다(Fig. 1A). 이 중, genistein을 다양한 농도별(10, 25, 50, 100  $\mu$ M)로 처리한 후, cell viability assay를 수행하였다. 그 결과, 처리한 genistein에 농도의존적으로 세포생존율이 감소됨을 확인하였다(Fig. 1B). 즉, 10, 25  $\mu$ M genistein을 처리한 경우 대조군에 비해 90.4%, 81%의 생존율을 보여 주었으며, 50, 100  $\mu$ M genistein을 처리한 경우는 각각 약 70%의 세포생존율을 보여주었다. 추후 모든 실험조건은 50  $\mu$ M genistein으로 선정하여 실험을 진행하였다.

### Genistein이 마우스 전지방 세포의 지방세포형성과정에 미치는 영향 연구

마우스 전지방 세포 3T3-L1의 지방세포 형성과정중에 genistein이 미치는 영향을 확인하기 위하여 지방세포형성을 유도 하면서 50  $\mu$ M genistein과 대조군으로는 DMSO를 각각 처리 하였다. 그 결과, DMSO를 처리한 세포는 지방세포 형성이 정상적으로 일어난 반면 50  $\mu$ M genistein을 처리한 세포에서는 지방세포형성이 저해되는 것을 확인하였다(Fig. 2). 특히, Oil red O 염색을 수행한 후 세포를 관찰한 결과, 대조군의 경우 빨간색으로 염색됨을 확인하였지만, genistein을 처리한 경우 지방세포가 거의 관찰되지 않았다. 이러한 연구결과는 genistein이 전지방 세포의 지방세포형성과정을 저해하는 효능이 있다는 것을 시사한다.

Genistein에 의한 지방세포형성과정 억제 유전자 발현 분석  
Genistein에 의한 3T3-L1 세포주의 세포생존율 저해 및 지

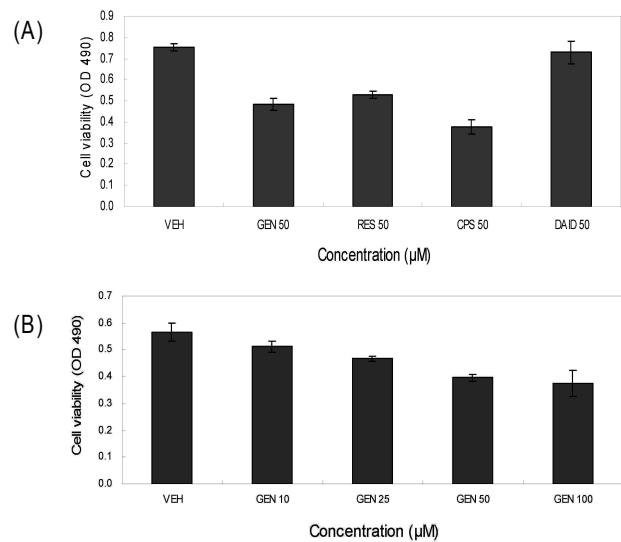


Fig. 1. Effects of phytochemicals on mouse 3T3-L1 cell viabilities. (A) Mouse 3T3-L1 cells were treated with four different phytochemicals for 24 hr. After treatment, cell viability was measured using MTS proliferation assay kit. (B) Mouse 3T3-L1 cells were treated with four different doses of genistein for 24 hr. After treatment, cell viability was measured using MTS proliferation assay kit.

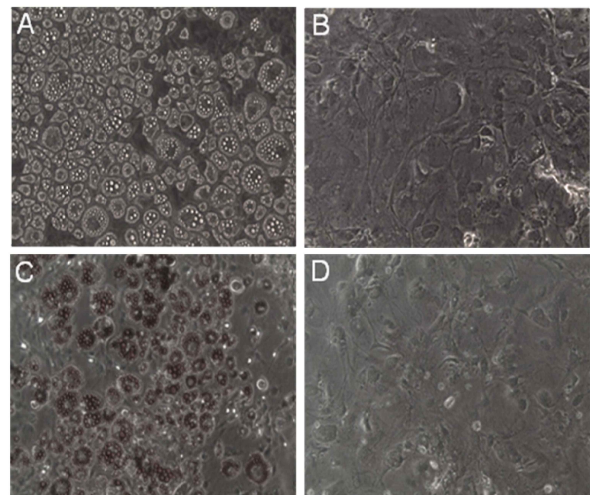


Fig. 2. Effect of genistein on adipogenesis of mouse 3T3-L1 preadipocyte. Mouse 3T3-L1 preadipocytes were treated with DMSO (A, C) or with 50  $\mu$ M genistein (B, D) before treatment of differentiation media. At day 7 after differentiation, cells were stained with Oil-red O (C, D).

방세포형성 억제 효과를 유전자 발현 수준에서 이해하고자, 3T3-L1 세포주에 50  $\mu$ M genistein을 처리한 후, oligo DNA microarray 실험을 수행하였다. 발현을 분석한 결과, 1.5 배 이상 발현 차이를 보여주는 유전자 중 obesity와 관련된 유전자만을 선별한 결과, 1.5배 이상 발현이 증가되는 유전자는 105개, 1.5배 이상 발현이 감소되는 유전자는 133개로 선별되

Table 2. Selected up-regulated genes more than 1.5-folds by 50  $\mu$ M genistein

No.	Gene name	GenBank Acc. No.	Sequence description	Fold change
1	Ggt1	NM_008116	gamma-glutamyltransferase 1	8.10
2	Drd2	NM_010077	dopamine receptor 2	5.64
3	Igfbp1	NM_008341	insulin-like growth factor binding protein 1	5.10
4	Ccl25	NM_009138	chemokine (C-C motif) ligand 25	3.83
5	Nr0b1	NM_007430	nuclear receptor subfamily 0, group B, member 1	3.46
6	Igf1r	NM_010513	insulin-like growth factor I receptor	3.35
7	Fasn	AK080374	fatty acid synthase	3.17
8	Tnfrsf1b	NM_011610	tumor necrosis factor receptor superfamily, member 1b	3.15
9	Pard3	NM_001013581	par-3 (partitioning defective 3) homolog (C. elegans)	2.87
10	Hbegf	NM_010415	heparin-binding EGF-like growth factor	2.62
11	Pnpla2	NM_025802	patatin-like phospholipase domain containing 2	2.61
12	Sirt1	NM_001159589	sirtuin 1 (silent mating type information regulation 2, homolog) 1 (S. cerevisiae)	1.62

었다. 발현이 증가되는 유전자 중 일부를 Table 2에 나타내었다. 이 중, sirtuin-1 유전자는 히스톤과 비히스톤 단백질을 탈아세틸화하여 염증매개물질을 조절하는 NAD<sup>+</sup> 의존성 단백질/히스톤 탈아세틸화효소로서, 항노화, 항염 단백질로 알려져 있으며[1], sirtuin-1은 전사조절인자인 PPAR $\gamma$ 를 억제함으로써 fat mobilization을 억제한다고 보고되었다[14]. 또한, 최근에는 sirtuin-1 유전자와 비만과 관련된 대사질환의 조절과의 관련성에 대한 총설이 발표된 바 있다[17].

파이토케미칼에 의한 sirtuin-1 유전자의 발현

DNA microarray 실험 결과에서 genistein 처리에 의해 발현이 증가된 유전자 중 sirtuin-1 유전자의 발현을 확인하였다. 즉, 마우스 전지방세포주 3T3-L1 세포주에 4종류의 파이토케미칼을 처리 한 후, sirtuin-1 유전자의 발현을 RT-PCR과 real-time PCR 방법으로 확인하였다. 그 결과, Fig. 3에서 보는 바와 같이 sirtuin-1 유전자의 발현이 50  $\mu$ M genistein의 처리

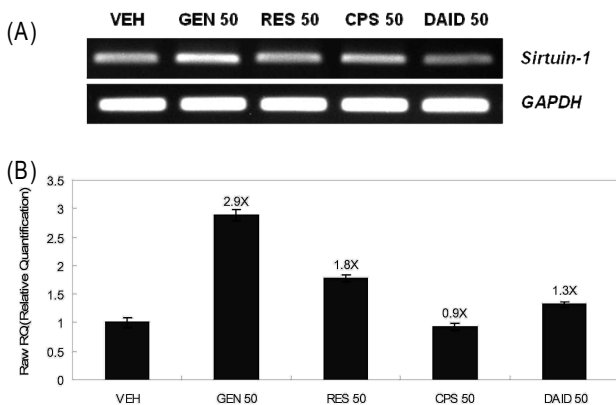


Fig. 3. Sirtuin-1 expression by several phytochemicals. Mouse 3T3-L1 cells were treated with four different phytochemicals. Total RNA was prepared from treated cells and used for RT-PCR (A) or real-time PCR (B) with sirtuin-1 gene specific primers.

에 의해 가장 높게 증가됨을 확인하였다.

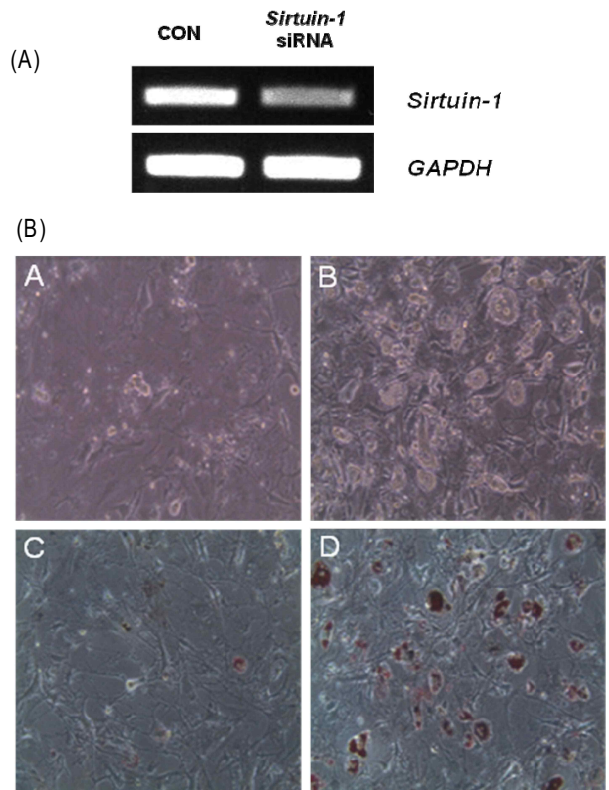


Fig. 4. Effects of knockdown of sirtuin-1 on genistein-treated mouse 3T3-L1 cells. (A) Mouse 3T3-L1 cells were transfected with negative control-siRNA or sirtuin-1-siRNA for 24 hr. And then, genistein was added to culture dishes. After 24 hours, total RNA was prepared from cells and used for RT-PCR with sirtuin-1 gene specific primers. (B) Mouse 3T3-L1 cells were transfected with negative control-siRNA [A, C] or sirtuin-1-siRNA [B, D]. And then, differentiation media was added to each plate. After 7 days, cells were photographed [A, B] and stained with Oil-red O [C, D].

### Sirtuin-1 유전자의 발현 억제가 세포분화에 미치는 영향 연구

Genistein에 의한 지방세포형성 억제과정 중에 sirtuin-1 유전자의 관련성을 증명하기 위하여, sirtuin-1 siRNA 를 이용한 실험을 수행하였다. 먼저, sirtuin-1 siRNA가 효과적으로 sirtuin-1 유전자의 발현을 감소시킬 수 있는지에 대해 확인하였다. 그 결과, sirtuin-1 siRNA의 transfection에 의해 sirtuin-1의 유전자의 발현이 급격하게 감소됨을 확인하였다(Fig. 4A). 활성이 확인된 sirtuin-1 siRNA와 대조구로서 negative control-siRNA를 transfection시킨 세포에 genistein과 DMSO를 처리한 후, 7일 동안 지방세포형성과정을 유도하였다. 그 후, 지방형성정도를 확인하기 위하여 Oil red O 염색을 수행하였다. 그 결과, Fig. 4B에서 보는 바와 같이 negative control siRNA가 transfection된 세포와 보통세포에서는 genistein에 의해 지방세포가 거의 형성되지 않은 반면 sirtuin-1이 knock-down된 세포에서는 다른 세포에 비해 지방세포형성 과정이 복구됨을 확인하였다. 이러한 연구 결과는 genistein이 지방세포형성 과정을 억제하며, sirtuin-1 유전자의 발현이 지방세포형성의 저해과정과 밀접한 관련이 있음을 시사한다. 따라서, 본 연구결과는 파이토케미칼 genistein에 의한 유전체 수준에서의 유전자 발현변화를 분석하고 기능을 연구함으로써, genistein에 의한 항비만 활성의 새로운 분자생물학적 기전을 이해하는데 도움을 줄 것으로 기대된다.

### 감사의 글

본 연구는 농림수산식품부의 Technology Development program (Grant No. 307003-03-2-HD130)의 지원에 의해 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

### References

- Blander, G. and L. Guarente. 2004. The Sir2 family of protein deacetylases. *Annu. Rev. Biochem.* **73**, 417-435.
- Choi, J. S., T. W. Kwon, and J. S. Kim. 1996. Isoflavone contents in some varieties of soybean. *Food Biotechnol.* **5**, 167-169.
- Duncan, A. M., W. R. Phipps, and M. S. Kurzer. 2003. Phyto-oestrogens. *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* **17**, 253-271.
- Eberhardt, M. V., K. Kobira, A. S. Keck, J. A. Juvik, and E. H. Jeffery. 2005. Correlation analyses of phytochemical composition, chemical, and cellular measures of antioxidant activity of broccoli (*Brassica oleracea* L. Var. *italica*). *J. Agric. Food Chem.* **53**, 7421-7431.
- Harmon, A. W. and J. B. Harp. 2001. Differential effects of flavonoids on 3T3-L1 adipogenesis and lipolysis. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* **280**, C807-813.
- Harmon, A. W., Y. M. Patel, and J. B. Harp. 2002. Genistein inhibits CCAAT/enhancer-binding protein beta (C/EBPbeta) activity and 3T3-L1 adipogenesis by increasing C/EBP homologous protein expression. *Biochem. J.* **367**, 203-208.
- Hwang, J. T., I. J. Park, J. I. Shin, Y. K. Lee, S. K. Lee, H. W. Baik, J. Ha, and O. J. Park. 2005. Genistein, EGCG, and capsaicin inhibit adipocyte differentiation process via activating AMP-activated protein kinase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **338**, 694-699.
- Jang, M. J., H. E. Kim, S. M. Son, M. J. Kim, E. W. Seo, Y. H. Kim, and J. S. Kim. 2009. Overexpression of NSAID Activated Gene-1 by caffeic acid phenethyl ester. *J. Life Sci.* **19**, 1787-1793.
- Kang, J. H., C. S. Kim, I. S. Han, T. Kawada, and R. Yu. 2007. Capsaicin, a spicy component of hot peppers, modulates adipokine gene expression and protein release from obese-mouse adipose tissues and isolated adipocytes, and suppresses the inflammatory responses of adipose tissue macrophages. *FEBS Lett.* **581**, 4389-4396.
- Kang, M. S., S. Hirai, T. Goto, K. Kuroyanagi, J. Y. Lee, T. Uemura, Y. Ezaki, N. Takahashi, and T. Kawada. 2008. Dehydroabietic acid, a phytochemical, acts as ligand for PPARs in macrophages and adipocytes to regulate inflammation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **369**, 333-338.
- Khor, T. O., S. Yu, and A. N. Kong. 2008. Dietary cancer chemopreventive agents - targeting inflammation and Nrf2 signaling pathway. *Planta Med.* **74**, 1540-1547.
- Livak, K. J. and T. D. Schmittgen. 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2<sup>-</sup>(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods* **25**, 402-408.
- Mercader, J., A. Palou, and M. L. Bonet. 2011. Resveratrol enhances fatty acid oxidation capacity and reduces resistin and Retinol-Binding Protein 4 expression in white adipocytes. *J. Nutr. Biochem.* **22**, 828-834.
- Picard, F., M. Kurtev, N. Chung, A. Topark-Ngarm, T. Senawong, R. Machado De Oliveira, M. Leid, M. W. McBurney, and L. Guarente. 2004. Sirt1 promotes fat mobilization in white adipocytes by repressing PPAR-gamma. *Nature* **429**, 771-776.
- Pi-Sunyer, X. 2009. The medical risks of obesity. *Postgrad. Med.* **121**, 21-33.
- Rayalam, S., M. A. Della-Fera, and C. A. Baile. 2008. Phytochemicals and regulation of the adipocyte life cycle. *J. Nutr. Biochem.* **19**, 717-726.
- Schug, T. T. and X. Li. 2011. Sirtuin 1 in lipid metabolism and obesity. *Ann. Med.* **43**, 198-211.
- Surh, Y. J. 2003. Cancer chemoprevention with dietary phytochemicals. *Nat. Rev. Cancer* **3**, 768-780.
- Zhang, M., K. Ikeda, J. W. Xu, Y. Yamori, X. M. Gao, and B. L. Zhang. 2009. Genistein suppresses adipogenesis of 3T3-L1 cells via multiple signal pathways. *Phytother. Res.* **23**, 713-718.

---

초록 : 이소플라본 genistein이 전지방세포 성장 및 지방세포형성과정에 미치는 영향

임승현 · 김효림 · 김민정 · 김종식\*

(안동대학교 자연과학대학 생명과학과)

이소플라본 genistein이 마우스 전지방 3T3-L1세포주의 성장과 지방세포형성과정에 미치는 영향을 연구하였다. 그 결과, 마우스 전지방 3T3-L1 세포주의 성장이 처리한 genistein 농도 의존적으로 저해되었다. 또한, Oil Red O 염색에 의하여 50  $\mu$ M genistein 처리에 의해 지방세포형성과정이 억제됨을 확인하였다. 이러한 genistein에 의한 지방세포성장 억제효과의 분자생물학적 기전을 연구하기 위하여, oligo DNA 마이크로어레이 실험을 수행하였다. 발현이 증가된 유전자 중 항비만, 항염증 활성화와 관련이 있는 것으로 알려져 있는 sirtuin-1 유전자를 선택하여 발현변화를 확인하였다. 처리한 네종류의 파이토케미칼(resveratrol, capsaicin, daidzein, genistein)에 의해 sirtuin-1의 발현이 증가됨을 확인하였고, 이 중 genistein에 의한 sirtuin-1 유전자의 발현이 가장 높았다. 또한, sirtuin-1-siRNA에 의한 sirtuin-1 유전자의 발현 감소에 의해 지방세포형성 억제과정이 복구됨을 확인하였다. 이러한 연구결과는, genistein에 의한 전지방세포의 성장 저해와 지방세포형성의 저해과정을 이해하는데 도움을 줄 것으로 기대된다.