

The Regulatory Effects of *Trans*-chalcone on Adipogenesis

Younho Han^{1,*}

¹Department of Oral Pharmacology, College of Dentistry, Wonkwang University, Iksan, Republic of Korea

(received February 2, 2018; revised February 28, 2018; accepted March 4, 2018)

It is noted that chalcone derivatives have characteristic diverse pharmacological properties, and that precise evidence has been growing that they could regulate a tumor necrosis factor- α (TNF- α) induced insulin resistance. The purpose of the present investigation is to elucidate the effects of the identified chalcone derivatives on adipogenesis, and to find the underlying mechanism of action in that case. Consequently, we first investigated whether the chalcone derivatives could affect the identified PPAR γ -induced transcriptional activity on the proliferator-activated receptor response elements (PPRE) at target promoters, and find that *trans*-chalcone most significantly increased the PPAR γ -induced transcriptional activity. Additionally, we confirmed that there were up-regulatory effects of *trans*-chalcone during the adipogenesis and lipid accumulation, and on the mRNA of adipogenic factors in 3T3-L1 cells. Next, we examined the effect of *trans*-chalcone on the inhibition induced by TNF- α on adipogenesis. To that end, we noted that the treatment with *trans*-chalcone attenuated the effect of TNF- α mediated secretion of various adipokines that are involved in insulin sensitivity. For this reason, we noted that

this study clearly demonstrates that *trans*-chalcone enhanced adipogenesis, in part, by its potent effect on PPAR γ activation and by its reverse effect on TNF- α .

Key words: *Trans*-chalcone, Adipogenesis, PPAR γ , TNF- α

서론

Chalcone은 과일이나 야채를 비롯한 수많은 식물과 종에 풍부한 천연성분의 구성요소로서 두 개의 방향족 고리를 갖고 세 개의 탄소로 연결된 열린-사슬 플라보노이드를 총칭한다[1,2]. Chalcone유도체들은 항암, 항염증을 비롯한 다양한 약리학적 기능을 가지고 있다[3-5]. 하지만 유도체들 사이에 존재하는 높은 구조적 유사성에도 불구하고 각각의 chalcone 유도체는 상이하고 다양한 생리활성을 가지고 있다[6]. 한 가지 예로, 암이 생성되는 과정은 chalcone유도체들은 억제하는데, 서로 다른 종류의 chalcone 유도체들은 암 생성 초기, 진행, 혈관신생, 침투, 전이를 비롯한 각기 다른 단계를 조절하는 것으로 알려져 있다[2,7]. 하지만 이러한, chalcone유도체들의 다양한 약리학적 활성에 대한 보고에도 불구하고 아직까지 지방생성과 활성 조절에 관한 연구에 대한 규명은 잘 이루어지지 않고 있다.

비만은 흔하게 발생할 수 있는 대사성 질환으로, 체내에 정상 이상의 과잉의 지방을 함유하고 있는 것으로, 건강 상태를 악화시킬 수 있으며 제2형 당뇨병을 유발할 수 있는 강력한 위험 인자이다. 제2형 당뇨병의 가장 중요한 원인 중의 하나는 지방조직, 골격근, 그리고 간에서 인슐린의 기능이상과 인슐린 저항성을 극복할 수 없을 정도의

*Correspondence to: Younho Han, Department of Oral Pharmacology, College of Dentistry, Wonkwang University, Iksan, Republic of Korea
Tel: +82-63-850-6930, Fax: +82-63-850-6930
E-mail: daks262@wku.ac.kr
ORCID : 0000-0002-7564-1350

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

분비의 장애로 발생한다[8-10]. 비만 상태에서는 tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-6 (IL-6), plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1), monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1)를 비롯한 다양한 adipokine들이 지방조직에서 높게 발현되어 인슐린 저항성을 증가시킨다[11]. 반면 Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) γ 는 지방세포 분화에 있어 가장 중요한 전사인자로서 지방과 관련된 유전자의 발현과 지질대사를 조절하는 역할을 한다. thiazolidinedione계열 유도체인 rosiglitazone, pioglitazone, troglitazone와 같은 PPAR γ 작용제는 adiponectin을 생산하는 지방세포의 분화를 증가시키고 인슐린 감수성을 저해하는 TNF- α , IL-6와 다른 adipokine들을 억제하여 당뇨병 치료제로 사용되어 왔다[12-14]. Rosiglitazone은 1999년 Food and Drug Administration (FDA)에 승인을 받아 제2형 당뇨병 치료제로 사용되어 왔으나 심각한 심부전을 일으키거나 하는 다양한 부작용으로 인해 현재는 사용이 제한

되고 있다[15]. 비록 pioglitazone이 현재 임상에서 사용이 되고 있지만 구조적인 유사성 때문에 안전성에 대한 우려가 여전히 남아있는 실정이다[16]. 따라서 PPAR γ 를 타겟으로 하여 제2형 당뇨병을 예방하고 치료할 수 있는 안전성을 갖춘 약물의 개발이 필요하다.

기존에 발표된 의약화학 보고에서 구조-활성 분석을 통해 분석한 결과, chalcone유도체들은 rosiglitazone에 비해 높은 포도당 조절활성을 보였으며 이는 chalcone유도체의 당뇨병 치료제로써 개발 가능성을 암시한다[17]. 본 연구는 작은 분자구조를 가지고 있는 다양한chalcone유도체들 (*trans*-chalcone, 4-methoxychalcone, hesperidin-methyl chalcone, 2-hydroxychalcone, Fig. 1A)의 지방세포 분화 조절 효과와 대사성 증후군에 대해 미치는 효과에 대해 조사하였다. 추가적으로, 가장 우수한 효능을 보인 *trans*-chalcone을 이용하여 지방세포 분화과정에서 지방세포의 활성 조절 능력에 대한 작용 기전을 밝히는데 중점을 두었다.

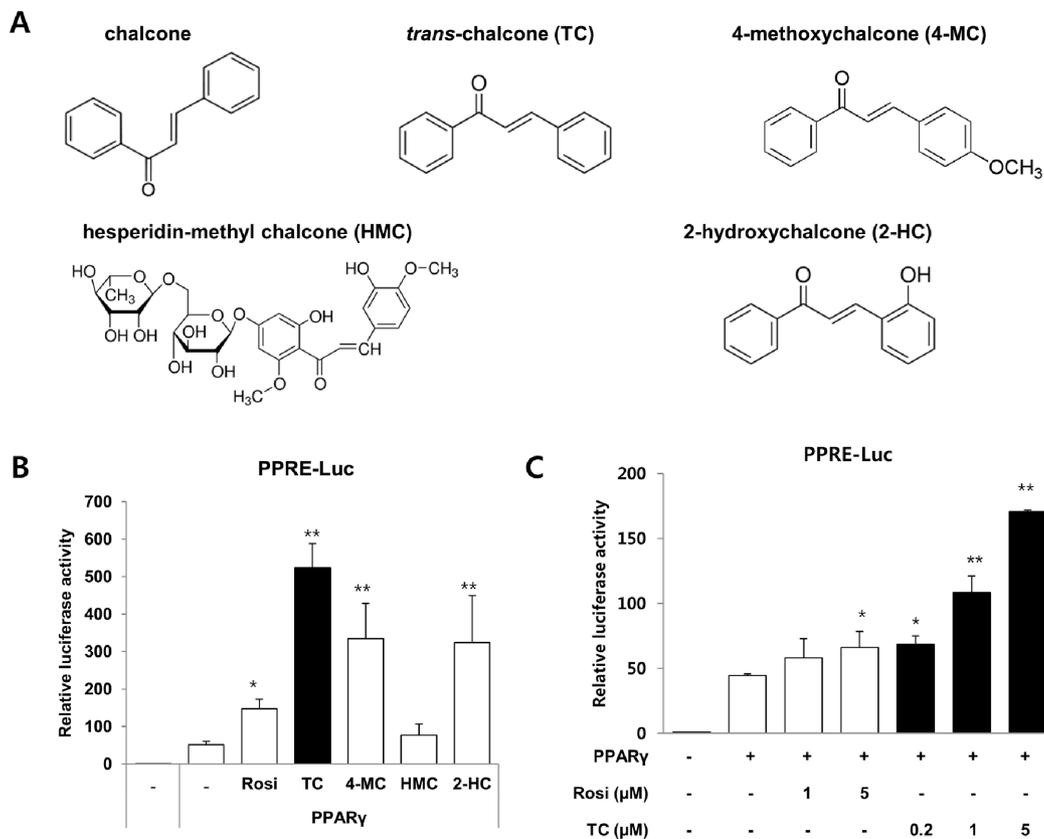


Fig. 1. Structure of chalcone derivatives and effect of *trans*-chalcone on PPAR γ induced transcriptional activity. (A) chalcone, *trans*-chalcone (TC), 4-methoxychalcone (4-MC), hesperidin-methyl chalcone (HMC), and 2-hydroxychalcone (2-HC). (B) 3T3-L1 cells were transfected with the PPRE-Luc reporter alone, or with PPAR γ . After 24 h of transfection, the cells were cultured with vehicle (DMSO), 5 μ M of rosiglitazone (Rosi), *trans*-chalcone (TC), 4-methoxychalcone (4-MC), hesperidin-methyl chalcone (HMC), or hydroxychalcone (2-HC) for 12 h. (C) 3T3-L1 cells were transfected with the PPRE-Luc reporter alone or with PPAR γ . After 24 h of transfection, the cells were cultured with vehicle (DMSO), 1 and 5 μ M of rosiglitazone (Rosi), 0.2, 1, and 5 μ M of *trans*-chalcone (TC) for 12 h, respectively. Luciferase activity was measured after 36 h. The bars represent the mean \pm SEM. * P < 0.05, ** P < 0.01 compared to PPAR γ transfected group, n = 3.

재료 및 방법

세포 배양과 지방세포 분화 유도

쥐에서 유래한 예비지방세포인 3T3-L1은 37°C, 5% CO₂ 환경에서 10% bovine calf serum (BCS)와 1% antibiotic-antimycotic항생제가 첨가된 Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM)에서 배양하였다. 지방세포 분화 유도를 위해 0.5 mM 3-isobutyl-1-methylxanthine, 1 µM dexamethasone, and 10 µg/mL insulin (MDI)의 혼합물이 사용되었다. 3T3-L1 세포를 24-well 플레이트에서 이틀간 세포가 가득 찰 때까지 배양하였고 세포 배양 배지는 10% fetal bovine serum (FBS)와 MDI가 들어있는 DMEM으로 교체한 뒤 이틀간 *trans*-chalcone을 처리한 것과 처리하지 않은 것으로 나눠 배양하였다 (0일). 그리고 다음 10% FBS와 10 µg/mL insulin이 포함된 DMEM로 교체하고 역시 *trans*-chalcone을 처리한 것과 처리하지 않은 것으로 나눠 배양하였다 (2일). 그리고 2일 마다 배지를 교체하고 지방 방울이 형성될 때까지 세포를 배양한 뒤 추가적인 실험을 진행하였다.

항체와 시약

C/EBPβ 항체 (04-1153, Upstate Biotechnologies, Lake Placid, NY, USA), PPARγ 항체 (MAB3872, Chemicon International Inc., Temecula, CA, USA), HA 항체(12CA5, Roche Applied Science, Basel, Switzerland), α-tubulin 항체 (sc-53646, Santa Cruz Biotechnology, Dallas, TX, USA)가 사용되었다. Insulin (I2643), dexamethasone (D4902), 3-isobutyl-1-methylxanthine (I5879), rosiglitazone (R2408), *trans*-chalcone (TC, 136123), 4-methoxychalcone (4-MC, S456748), hesperidin-methyl chalcone (HMC, H5006)는 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)에서 구매하였으며, TNF-α (GF027, recombinant mouse protein)은 Merck Millipore (Darmstadt, Germany)에서 구매하였다. Rosiglitazone, *trans*-chalcone, 4-methoxychalcone, hesperidin-methyl chalcone, 2-hydroxychalcone 은 DMSO를 용매로 하여 사용하였고, TNF-α는 멸균된 증류수에 녹여 사용하였다. 모든 실험에서 음성대조군은 0.1%의 DMSO를 사용하였다.

일시적 형질주입과 발광효소 분석법

일시적 형질주입을 위해서 polyethyleneimine (PEI; Polysciences, Warrington, PA, USA)를 이용하여 각 well당 0.5 µg의 DNA가 사용되었다. 전체 DNA양은 공 vector에 의해 동일하게 맞춰주었다. 3T3-L1 세포는 24-well plates에 형질주입 하루전 2 × 10⁴ cells/well의 수로 배양하였다.

세포는 CMV promoter-driven β-galactosidase reporter (pCMV-β-gal), luciferase reporter와 표시된 플라스미드의 조합으로 형질주입하였고, 24시간 뒤에 표시된 시약을 처리하였다. 활성을 측정하기 위해 Luciferase Reporter Assay kit (Promega)를 사용하였으면 모든 실험은 세 개의 실험 샘플과 세 차례의 반복으로 이루어 졌다.

Oil red O 염색법

약 8일이 지나고 지방세포의 분화가 끝나면, 분화된 3T3-L1세포를 phosphate-buffered saline (PBS)로 두 번 세척한다. 10% formalin을 이용하여 30분동안 세포를 고정시킨 뒤 oil red O (0.5% oil red O, 6:4 isopropanol:water) 시약을 이용하여 30분 동안 상온에서 염색한다. 다시 3번 PBS로 세척한 뒤 공기 중에 세포를 자연 건조 시키고 현미경으로 염색된 세포를 관찰 및 촬영한다. 염색된 세포는 isopropanol에 용출시키고, 최종적으로 지질의 함량을 분광광도계를 이용하여 530 nm의 파장에서 흡광도를 통해 측정한다.

mRNA 발현 분석

전체 RNA는 RNAiso Plus Total RNA extraction reagent (Takara)를 이용해 추출되었다. Oligo (dT) primers와 reverse

Table 1. Sequences of primers used for PCR

Gene	Primer sequence (5'→3')
<i>adiponectin</i>	(F) 5'-CCC AGG ACA TCC TGG CCA CAA-3'
	(R) 5'-CCT TCA GCT CCT GTC ATT CCA-3'
<i>aP2</i>	(F) 5'-CAC CGC AGA CGA CAG GAA G-3'
	(R) 5'-GCA CCT GCA CCA GGG C-3'
<i>Fas</i>	(F) 5'-GCT ATG CAG ATG GCT GTC TCT CCC AG-3'
	(R) 5'-GCA GCG CTG TTT ACA TTC CTC CCA GG-3'
<i>Glut1</i>	(F) 5'-TCA ACA CGG CCT TCA CTG-3'
	(R) 5'-CAC GAT GCT CAG ATA GGA CAT C-3'
<i>Glut4</i>	(F) 5'-GTA ACT TCA TTG TCG GCA TGG-3'
	(R) 5'-AGC TGA GAT CTG GTC AAA CG-3'
<i>Pparγ</i>	(F) 5'-GCC CTT TGG TGA CTT TAT GGA-3'
	(R) 5'-GCA GCA GGT TGT CTT GGA TG-3'
	(F) 5'-GCT ACC AAA CTG GAT ATA ATC AGG A-3'
<i>Il-6</i>	(R) 5'-CCA GGT AGC TAT GGT ACT CCA GAA-3'
	(F) 5'-AGG ATC GAG GTA AAC GAG AGC-3'
<i>Pai-1</i>	(R) 5'-GCG GGC TGA GAT GAC AAA-3'
	(F) 5'-AGG TCG GTG TGA ACG GAT TTG-3'
<i>Gapdh</i>	(R) 5'-GGG GTC GTT GAT GGC AAC A-3'

transcriptase (Promega)는 cDNA를 합성하기 위해 사용되었다. adiponectin, aP2, FAS, GluT1, GluT4, PPAR γ , IL-6, PAI-1, MCP-1의 mRNA발현은 SYBR Premix Ex Taq kit (TaKaRa Bio, Japan)와 CFX96 real-time PCR System을 이용하여 실시간 중합효소연쇄반응(real-time PCR)로 측정하였다. PCR mix는 다음의 온도 조건에 따라 증폭되었다: 95 °C, 30초; 40 cycles (95 °C, 5초; 60 °C, 30 초). GAPDH (Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase)는 일정하게 발현 되는 항존유전자(housekeeping gene)로 다른 유전자의 발현을 정규화 하기 위해 사용되었다. PCR에 사용한 프라이머 서열은 Table 1에 표시되어 있다.

통계분석

결과는 평균 \pm 평균의 표준 오차로 나타냈다. 우리는 Sigma plot 프로그램을 이용하여 서로 다른 그룹간의 통계적 유의성을 단일비교에서는, two-tailed unpaired Student's t-test of the means를 이용하였고 다수 비교에서는, one-way analysis of variance (ANOVA) with the Bonferroni post hoc test를 이용하였다. 통계적 유의성은 $p < 0.05$ 로 규정 되었으며, 모든 실험은 3차례의 반복 실험을 통해 진행되었다. 그 중에 대표적인 결과를 보여주고 있다.

결 과

trans-chalcone은 PPAR γ 에 의한 전사활성을 더욱 증가시킨다

chalcone유도체들의 PPAR γ 에 유도된 전사활성에 미치는 효과를 알아보기 위해 PPAR γ 가 결합하는 PPRE 프로모터를 이용하여 실험을 진행하였다. 3T3-L1 세포에 PPRE-Luc와 PPAR γ 를 일시적으로 형질주입 시킨 뒤, rosiglitazone를 비롯한 다양한 chalcone유도체를 약 12시간 동안 처리하였다. *trans*-chalcone, 4-methoxychalcone, 2-hydroxychalcone와 같은 chalcone유도체는 PPAR γ 에 의해 유도된 전사활성을 증가시키는 강한 효능을 보였다. 그 중에서도 *trans*-chalcone이 가장 우수한 효능을 보였다. (Fig. 1B). 추가로 다양한 농도 범위에서 *trans*-chalcone의 효능을 확인해본 결과, rosiglitazone과 비교하여 낮은 농도에서도 우수한 효능을 보였다 (Fig. 1C). 효능을 나타내는 농도범위에서 *trans*-chalcone 의한 심각한 세포 독성은 나타나지 않았다 (data not shown). 따라서 가장 높은 효능을 보인 *trans*-chalcone을 이용하여 추가 실험을 진행하였다.

trans-chalcone는 3T3-L1세포의 지방세포 분화 과정 동안 PPAR γ 의 활성을 통해 지질 축적을 촉진한다
trans-chalcone가 3T3-L1세포의 분화를 조절하는 지를

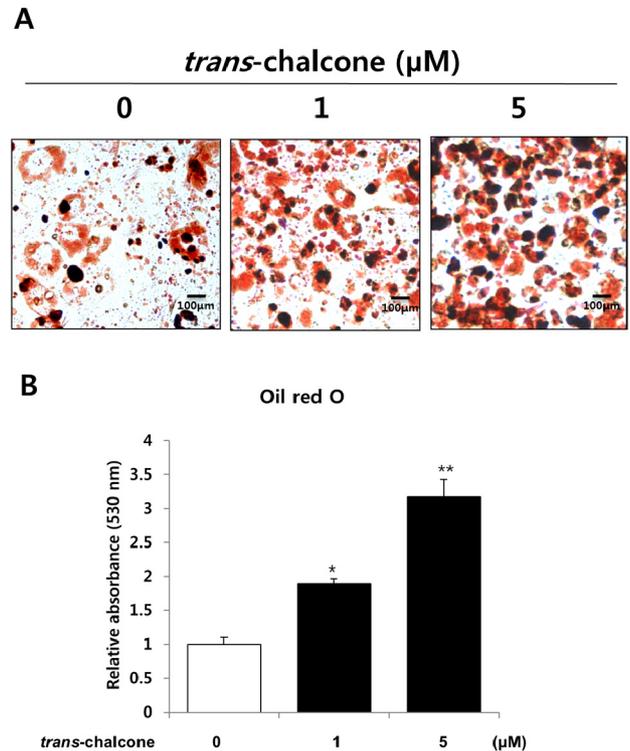


Fig. 2. Effect of *trans*-chalcone on differentiation of 3T3-L1 preadipocytes. (A) Preadipocyte 3T3-L1 cells were differentiated using standard differentiation hormones with vehicle (DMSO) or increasing amounts of *trans*-chalcone (1 and 5 μM). After 8 days of differentiation, lipid accumulation was detected by oil red O staining. (B) Quantification of lipid content in transfected 3T3-L1 cells after adipogenic differentiation. The bars represent the mean \pm SEM. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ compared to the vehicle group; Mann-Whitney U -test, $n = 3$.

추가로 확인해 보았다. 3T3-L1 예비지방세포는 *trans*-chalcone를 처리하지 않은 것과 처리한 것으로 나눠 MDI를 통해 지방세포 분화를 유도한 뒤 현미경 분석을 진행하였다. 지질의 축적 정도는 oil red O 염색법을 통해 최종적으로 흡광도를 통해 확인하였다. 실험을 통해 확인해본 결과, 지방세포의 분화 정도가 *trans*-chalcone에 의해 농도 의존적으로 증가하는 결과를 보였다 (Fig. 2). 이것은 *trans*-chalcone가 3T3-L1 세포의 지방세포 분화능을 양성적으로 조절한다는 것을 의미한다.

trans-chalcone은 지방세포 분화과정 동안 adipogenic 유전자의 발현을 증가시킨다

지방세포 분화는 다양한 전사인자와 지방세포에서 발현되는 특이적인 유전자의 발현에 의해 유기적으로 조절되는 과정이다 [18]. 따라서 지방세포 분화 과정에서 중요하게 작용하는 인자들인 PPAR γ , fatty acid binding protein (aP2), fatty acid synthase (FAS), adiponectin, glucose transporter type 1 (GluT1), glucose transporter type 4 (GluT

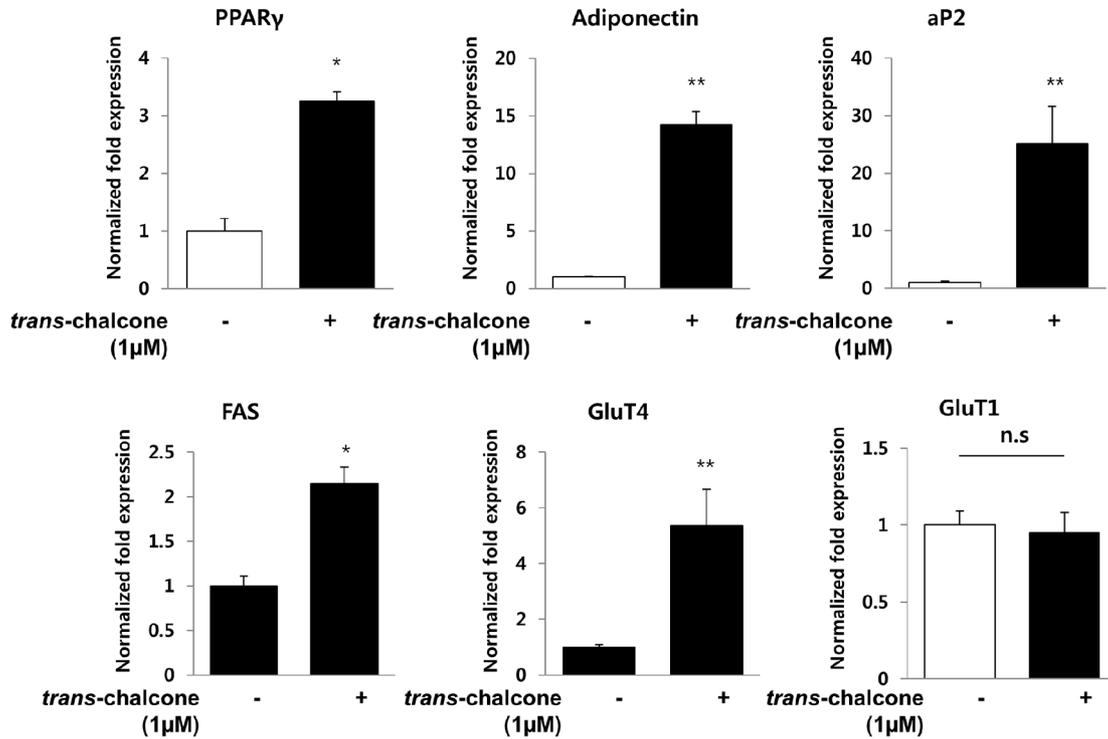


Fig. 3. Effect of *trans*-chalcone on gene expression involved in adipogenesis. Post-confluent 3T3-L1 preadipocytes were cultured with vehicle (DMSO) or *trans*-chalcone (1 μ M) for 8 days, and then quantitative real-time PCR was performed for the indicated genes. Expression of each gene was normalized to that of GAPDH. Data are expressed as a ratio relative to the DMSO treatment group (vehicle). * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ compared to the vehicle group, $n = 3$.

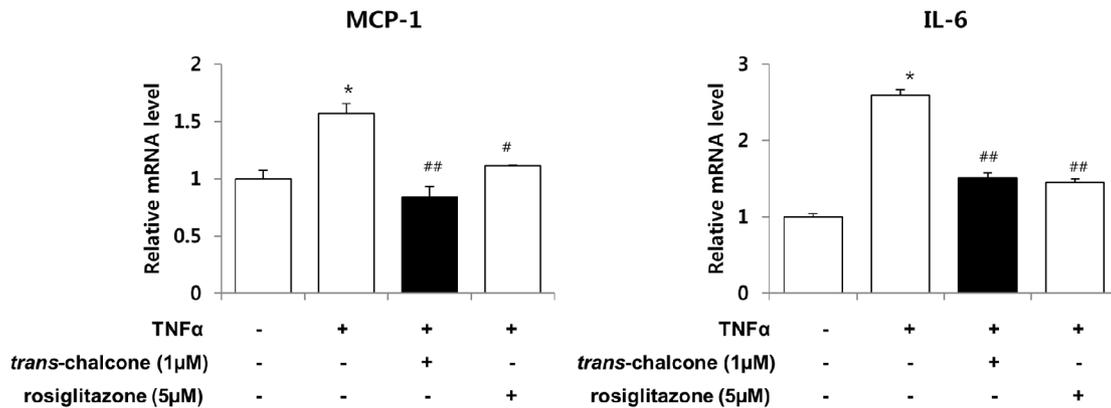


Fig. 4. Effect of *trans*-chalcone on TNF- α induced MCP-1 and IL-6 mRNA expression. Preadipocyte 3T3-L1 cells were differentiated using standard differentiation hormones with TNF- α (5 ng/mL) along with vehicle (DMSO), *trans*-chalcone (1 μ M), or rosiglitazone (5 μ M). After 8 days of differentiation, the expression level of indicated genes was measured by real-time PCR. The bars represent the mean \pm SEM. * $P < 0.05$ compared to the vehicle group, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ compared to TNF- α treated group; ANOVA-Bonferroni *post hoc* test, $n = 3$.

4)의 mRNA 발현을 확인해 보았다. *trans*-chalcone은 PPAR γ 를 비롯한 다양한 유전자의 발현을 대조군에 비해 증가시키는 효능을 보였고 특히 adiponectin과 aP2의 발현이 높게 증가되었다. 반면 지방세포 분화 과정과 관계없이 지속적으로 발현되는 GluT1의 발현에는 영향을 미치지 않는 결과를 보였다 (Fig. 3). 이 결과는 *trans*-chalcone이 지방세포

분화와 관련된 유전자들의 발현을 주로 조절한다는 것을 의미한다.

trans-chalcone은 TNF- α 의 지방세포 분화 억제를 반전시키는 효능을 갖는다

TNF- α 는 인슐린 저항성의 증가와 관련이 깊은 adipocytokine

중에 하나로, 지방세포 분화를 억제성으로 조절하는 인자로 제2형 당뇨병 환자에게서 높게 발현되는 것으로 잘 알려져 있다[19]. 특히 TNF- α 는 다양한 염증 관련 adipokine인 IL-6, PAI-1, MCP-1의 발현을 증가시키고, 비만 상태에서는 인슐린을 통한 포도당의 uptake를 억제하는 것으로 알려져 있다[20]. 이에 대한 *trans*-chalcone의 효과를 확인해 본 결과, *trans*-chalcone는 TNF- α 에 의해 증가된 MCP-1과 IL-6의 mRNA 발현을 감소시켰다 (Fig. 4). 다음의 결과들은 *trans*-chalcone가 TNF- α 에 의한 효과를 억제함으로써 지방세포의 분화 과정과 관련된 유전자의 발현에 영향을 미친다는 것을 의미한다.

고찰

본 연구는 chalcone유도체가 3T3-L1 세포에서 adiponectin의 생성을 증가시킨다는 기존의 연구를 기본으로 하였다[21]. 추가로, chalcone유도체는 TNF- α 에 의해 유도되는 활성을 억제하는 저해제로써 작용하며[22,23], 또한 TNF- α 의 형성과 증가는 제2형 당뇨병의 발생과 깊은 연관성을 갖는다는 연구를 기반으로 하였다[24]. 따라서 본 저자들은 chalcone유도체는 지방세포 분화와 관련된 유전자의 발현 및 활성을 조절하고 TNF- α 에 의해 매개된 인슐린 저항성 증가에 영향을 줄 수 있을 것이라고 가정하였다.

실험을 통해 진행해 본 결과, *trans*-chalcone는 3T3-L1 예비지방세포를 이용한 지방세포의 분화 과정을 전반적 증가시키는 효능을 보였다. 특히 지방세포 분화의 가장 중요한 전사인자로 알려진 PPAR γ 에 의해 유도된 전사활성을 더욱더 증가시켰으며, adiponectin의 발현을 높은 수준으로 향상시키는 결과를 보였다. PPAR γ 의 리간드인 thiazolidinediones 계열의 약물들은 PPAR γ 의 전사활성을 증가시키고 지질 대사와 관련된 유전자들의 발현을 조절함으로써 지방 조직의 기능을 향상시킨다[25]. 발광효소 분석법(luciferase reporter gene assays)에서 *trans*-chalcone는 PPAR γ response elements (PPRE)를 포함한 프로모터에 대해, PPAR γ 에 의해 유도된 전사활성을 증가시켰다 (Fig. 1B). 다양한 지방세포 분화관련 유전자 중에서 adiponectin의 발현은 PPAR γ 에 의해 조절되는데, adiponectin유전자의 프로모터상에 존재하는 PPRE에 PPAR γ 가 직접 결합하여 adiponectin의 발현을 조절한다[26]. *trans*-chalcone에 의한 mRNA의 발현을 확인해 본 결과 다양한 유전자 중에서 adiponectin의 발현이 가장 높은 수준으로 증가하였으며 (Fig. 3), 이것은 *trans*-chalcone에 의한 PPAR γ 의 전사활성 증가와 PPAR γ 에 의한 adiponectin의 발현 조절 과정이 유기적으로 연결되어 나타난 결과라고 생각된다.

다양한 chalcone유도체 중에서 *trans*-chalcone는 다른 유도체들과 비교해서 가장 강력한 지방세포 분화 효능과 PPAR γ 전사 활성 증가능을 보였다. 4-methoxychalcone, 2-hydroxychalcone의 화학 구조는 *trans*-chalcone에 각각 methoxy, hydroxy가 결합된 것이다. 이것은 *trans*-chalcone에 결합된 주변의 잔기가 PPAR γ 에 대한 전사 활성을 오히려 억제하는 것으로 판단된다. 또한 hesperidin methyl chalcone에 의한 효과가 매우 낮게 나타나는 것으로 보아 크기가 큰 잔기는 타깃으로의 접근성을 더욱 떨어뜨리는 것으로 보인다.

TNF- α 는 지방세포의 대사과정 동안 지방산, 포도당대사, 호르몬 신호 전달, 전사활성 등 다양한 부분의 조절에 관여한다[27]. 지방 조직내의 TNF- α 의 발현 증가는 비만과 관련된 제2형 당뇨병의 발생과 깊은 연관성이 있다고 알려져 있다[28]. 인슐린 저항성 증가와 관련해 TNF- α 의 발현이 증가된 경우 이것은 다시 다양한 adipokine들의 발현에 영향을 미치게 된다[29]. 본 연구에서는 *trans*-chalcone가 TNF- α 에 의해 증가한 MCP-1과 IL-6의 mRNA 발현을 감소시켰다 (Fig. 4). 또한 당뇨병 치료제로 사용되어 왔던 rosiglitazone과 비교하여 *trans*-chalcone는 비슷하거나 우수한 효능을 보였다. 이러한 결과들은 *trans*-chalcone가 인슐린 저항성과 관련되어 있는 다양한 adipokine의 분비와 발현을 조절할 수 있으며, 당뇨병 치료제로써 개발의 가능성이 있다는 것을 의미한다.

본 연구를 통해, *trans*-chalcone는 지방세포 분화 관련 유전자인 PPAR γ , FAS, aP2, adiponectin의 발현을 증가시킴으로써 3T3-L1 예비지방세포의 지방세포로의 분화를 촉진한다는 것을 확인하였다. 또한 *trans*-chalcone는 PPAR γ 에 의해 유도되는 전사 활성을 더욱더 증가시키는 효능을 보였으며, TNF- α 에 의해 유도되는 인슐린 저항성과 관련된 MCP-1, IL-6의 발현을 감소시켰다. 이상의 결과를 종합하면, *trans*-chalcone는 당노를 비롯한 대사성 질환의 예방과 치료를 목표로 개발될 가능성이 있음을 의미한다. 물론 이에 더욱더 자세한 *trans*-chalcone와 관련 질환에 대한 분자, 약리, 병리학적인 추가적인 실험과 고찰이 필요할 것으로 보인다.

Acknowledgements

This paper was supported by Wonkwang university in 2017

Conflict of Interest

The authors report no conflict of interest.

References

1. Ju, Z.G., C.L. Liu, and Y.B. Yuan, Activities of Chalcone Synthase and UdpGal - Flavonoid-3-O-Glycosyltransferase in Relation to Anthocyanin Synthesis in Apple. *Scientia Horticulturae*, 1995;63(3-4):175-185.
2. Orlikova, B., et al., Dietary chalcones with chemopreventive and chemotherapeutic potential. *Genes Nutr*, 2011;6(2): 125-47.
3. Lin, Y.M., et al., Chalcones and flavonoids as anti-tuberculosis agents. *Bioorg Med Chem*, 2002;10(8):2795-802.
4. Fogaca, T.B., et al., Apoptotic effect of chalcone derivatives of 2-acetylthiophene in human breast cancer cells. *Pharmacological Reports*, 2017;69(1):156-161.
5. Nowakowska, Z., A review of anti-infective and anti-inflammatory chalcones. *Eur J Med Chem*, 2007;42(2): 125-37.
6. Yadav, V.R., et al., The role of chalcones in suppression of NF-kappaB-mediated inflammation and cancer. *Int Immunopharmacol*, 2011;11(3):295-309.
7. Kamei, H., et al., Tumor cell growth suppression by chalcone (1,3-diphenyl-2-propen-1-one). *Cancer Biotherapy and Radiopharmaceuticals*, 1997;12(1):51-54.
8. Kotronen, A., et al., Increased liver fat, impaired insulin clearance, and hepatic and adipose tissue insulin resistance in type 2 diabetes. *Gastroenterology*, 2008;135(1):122-30.
9. Wallia, A. and M.E. Molitch, Insulin Therapy for Type 2 Diabetes Mellitus. *Jama-Journal of the American Medical Association*, 2014;311(22):2315-2325.
10. Aberer, F., et al., Review of the Efficiency and Safety of a simple Insulin Dispensing Device (PaQ (R)) in Patients with Diabetes mellitus Type 2. *Wiener Klinische Wochenschrift*, 2015;127:S136-S136.
11. Andrade-Oliveira, V., N.O. Camara, and P.M. Moraes-Vieira, Adipokines as drug targets in diabetes and underlying disturbances. *J Diabetes Res*, 2015;2015:681612.
12. Kim, S.G., et al., Effect of rosiglitazone on plasma adiponectin levels and arterial stiffness in subjects with prediabetes or non-diabetic metabolic syndrome. *Eur J Endocrinol*, 2006;154(3):433-40.
13. Buras, J., et al., Troglitazone-induced changes in adiponectin do not affect endothelial function in diabetes. *Obes Res*, 2005;13(7):1167-74.
14. Rasouli, N., et al., Increased plasma adiponectin in response to pioglitazone does not result from increased gene expression. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 2006;290(1): E42-E46.
15. Roughead, E.E., et al., Variation in Association Between Thiazolidinediones and Heart Failure Across Ethnic Groups: Retrospective analysis of Large Healthcare Claims Databases in Six Countries. *Drug Saf*, 2015;38(9):823-31.
16. Govindan, J. and M. Evans, Pioglitazone in clinical practice: where are we now? *Diabetes Ther*, 2012;3(1):1-8.
17. Hsieh, C.T., et al., Synthesis of chalcone derivatives as potential anti-diabetic agents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2012;22(12):3912-3915.
18. Spiegelman, B.M., PPAR-gamma: adipogenic regulator and thiazolidinedione receptor. *Diabetes*, 1998;47(4):507-14.
19. Swaroop, J.J., D. Rajarajeswari, and J.N. Naidu, Association of TNF-alpha with insulin resistance in type 2 diabetes mellitus. *Indian J Med Res*, 2012;135:127-30.
20. Jain, R.G., K.D. Phelps, and P.H. Pekala, Tumor necrosis factor-alpha initiated signal transduction in 3T3-L1 adipocytes. *J Cell Physiol*, 1999; 179(1):58-66.
21. Ohnogi, H., et al., Six New Chalcones from *Angelica keiskei* Inducing Adiponectin Production in 3T3-L1 Adipocytes. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 2012;76(5): 961-966.
22. Lee da, Y., et al., A synthetic chalcone derivative, 2-hydroxy-3',5,5'-trimethoxychalcone (DK-139), suppresses the TNF alpha-induced invasive capability of MDA-MB-231 human breast cancer cells by inhibiting NF-kappaB-mediated GRO alpha expression. *Bioorg Med Chem Lett*, 2016;26(1):203-8.
23. Meng, C.Q., et al., Discovery of novel heteroaryl-substituted chalcones as inhibitors of TNF-alpha-induced VCAM-1 expression. *Bioorg Med Chem Lett*, 2004;14(6):1513-7.
24. Zou, C. and J. Shao, Role of adipocytokines in obesity-associated insulin resistance. *J Nutr Biochem*, 2008;19(5): 277-86.
25. Ferre, P., The biology of peroxisome proliferator - Activated receptors - Relationship with lipid metabolism and insulin sensitivity. *Diabetes*, 2004;53:S43-S50.
26. Iwaki, M., et al., Induction of adiponectin, a fat-derived antidiabetic and antiatherogenic factor, by nuclear receptors. *Diabetes*, 2003;52(7):1655-63.
27. Sethi, J.K. and G.S. Hotamisligil, The role of TNF alpha in adipocyte metabolism. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 1999;10(1):19-29.
28. Hotamisligil, G.S., N.S. Shargill, and B.M. Spiegelman, Adipose expression of tumor necrosis factor-alpha: direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science*, 1993; 259(5091):87-91.
29. Pandey, M., D.J. Loskutoff, and F. Samad, Molecular mechanisms of tumor necrosis factor-alpha-mediated plasminogen activator inhibitor-1 expression in adipocytes. *Faseb Journal*, 2005;19(7):1317-+.