

拳參의 항암효과에 대한 연구

김준범 · 한효상 · 이영종*

경원대학교 한의과대학 본초학교실

Studies of the Anti-cancer Effects of Bistortae Rhizoma

June Beom Kim, Hyo Sang Han, Young Jong Lee*

Department of Herbology, College of Oriental Medicine, Kyungwon University

This study was purposed to research the anti-cancer effects of Bistortae Rhizoma. A total extract of Bistortae Rhizoma decoction was prepared. By measuring the cell proliferation, apoptosis, morphology and cytokine level from the extracts, the influence on HepG2 cell, SNU-1 cell and A549 cell was compared. The Bistortae Rhizoma decoction extract did not control HepG2 cell proliferation but controlled SNU-1 cell and A549 cell proliferation. In particular, the inhibitory effect on SNU-1 cell proliferation was highest. The Bistortae Rhizoma decoction extract showed to increase the apoptosis of the HepG2 cell, SNU-1 cell and A549 cell in a dose-dependent manner. In particular, the promotion effect of the apoptosis was highest in SNU-1 cell. Among the various fraction extracts of the Bistortae Rhizoma decoction, n-BuOH extraction showed the greatest increase of the apoptosis of the HepG2 cell. The Bistortae Rhizoma decoction extract decreased dose-dependently the secretion of the TGF-β in the HepG2 cell, SNU-1 cell and A549 cell and increased the secretion of the TNF-α and the IFN-γ. These results suggest that the total extract of Bistortae Rhizoma decoction has anti-cancer effect against SNU-1 cell and A549 cell.

Key words : Bistortae Rhizoma, *Bistorta manshuriensis* Komarov, HepG2 cell, SNU-1 cell, A549 cell, anti-cancer effects

서 론

拳參은 神農本草經¹⁾에 “紫參, 味苦辛寒, 主心腹積聚, 寒熱邪氣, 通九竅, 利大小便, 一名牡蒙, 生山谷.”이라 하여 紫參으로 收載되었고, 圖經本草²⁾에서 “拳參, 生淄州田野. 葉如羊蹄, 根以海蝦, 黑色, 五月采. 彼土人搗末, 淋漉腫氣.”라고 수재된 이래 임상에서는 味苦 性微寒하고 清熱利濕, 涼血止血, 解毒散結의 효능이 있어 肺熱咳嗽, 熱病驚癇, 赤痢, 熱瀉, 吐血, 衄血, 痔瘡出血, 癰腫瘡毒 등의 증상을 치료하는데 常用되고 있다³⁾.

拳參은 대한약전의한약(생약)규격집⁴⁾과 중국약전⁵⁾, 북한약전⁶⁾에서 모두 범꼬리 및 동속 근연식물의 뿌리줄기를 기원식물로 하고 있다.

拳參의 성분으로는 tannin, starch, gallic acid, ellagic acid, catechol, epicatechol, 6-galloylglucose, 3,6-digalloyl glucose, glucose 등이 함유되어 있다고 보고되어 있고^{3,7)}, 약리작용으로는

항균, 지혈 작용 등이 있다고 하였으며⁸⁾, 현대 약학적으로는 간염, 세균성이질, 장염, 만성기관지염, 치질출혈, 자궁출혈에 내용하고, 구강염, 치은염, 응혈종독에 외용한다고 한다⁹⁾. 또한, 폐결핵, 폐암, 만성위장 및 십이지장궤양, 대장암, 顔面疔瘡, 紅絲疔, 銀屑病 등에도 응용한다고 한다¹⁰⁾.

최근 拳參에 대한 연구로는 Duwiejua M. 등^{11,12)}이 에탄올 추출물에서 소염활성을 보고하였고, 그 주된 활성 성분으로서 5-glutinen-3-one과 friedelanol을 분리한 바 있다. 또한 Smolarz 등¹³⁾은 9종의 본 속 식물에서 얻은 11개의 ethanol 추출물에서 interferon inducing ability가 있음을 보고한 바 있다. 그리고 안¹⁴⁾은 이 식물의 근경을 대상으로 3α-hydroxysteroid dehydrogenase에 대한 억제율을 측정된 결과 높은 소염활성이 있음을 보고하고, 그 butanol 층에서 caffeine acid, quercimeritrin, avicularin, gallic acid, protocatechuic acid를 보고하였고, 이¹⁵⁾는 拳參이 止血, 消炎作用 및 中樞神經系에 미치는 影響에 대하여 보고한 바 있다.

천연물로부터 면역기능을 높여주고 암세포에만 특수하게 작용하는 항암제를 개발하려는 노력이 최근 많이 시도되고 있는데,

* 교신저자 : 이영종, 성남시 수정구 복정동 산 65, 경원대학교 한의과대학

· E-mail : garak@kyungwon.ac.kr, · Tel : 031-750-5415

· 접수 : 2009/09/07 · 수정 : 2009/09/25 · 채택 : 2009/10/07

拳參은 淸熱利濕하여 涼血止血, 解毒散結 등⁷⁾의 효능이 있기 때문에 항암 효과와 관련이 있을 것으로 사료되는데 아직 拳參의 항암 효과에 관한 연구결과는 아직 보고된 바가 없었다.

이에 著者は 본 연구에서 拳參을 전탕 추출과 분획별 추출을 한 후, 그 추출물로 cell proliferation과 apoptosis, morphology, cytokine level을 측정하여 간암, 위암 및 폐암세포에 대한 영향을 비교하여 拳參의 항암효과에 대한 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 재료

1) 약재

실험에 사용된 拳參(Bistortae Rhizoma, 이하 BR로 표기)은 중국 안국시장에서 2005년 8월에 구입하여, 초음파 세척기를 이용하여 불순물을 제거하고 실험에 사용하였다.

2) 시약 및 기기

실험에 사용한 시약과 기기는 다음 표와 같다(Table 1, 2).

Table 1. Reagents and assay kits

| Reagent | Company | Nation |
|--|---------------|--------|
| TRI reagent | | U.S.A |
| Absolute alcohol | Sigma | |
| DME | | |
| Fetal bovine serum(FBS) | Hyclone | U.S.A |
| Antibiotics | | |
| D-phosphate buffer saline | Gibco | U.S.A |
| methyl ³ H (Thymidine) | Amersham | U.S.A |
| Annexin V-FITC Apoptosis Detection Kit | BD Pharmingen | U.S.A |
| IFN- γ ELISA KIT | Endogen | U.S.A |
| TNF- α ELISA KIT | | |
| TGF- β ELISA KIT | R&D | |

Table 2. Experimental apparatus and system

| Apparatus and System | Company | Nation |
|-------------------------------|----------------|---------|
| Rotary evaporator | Eyela | |
| Spectrophotometer | Shimadzu | Japan |
| Bio-freezer | Sanyo | |
| Primus 96 thermocycler system | MWG Biotech | Germany |
| Electric chemical balance | MC1 | |
| Ultrasonic cleaner | Branson | |
| Homogenizer | OMNi | U.S.A |
| Plate shaker | Lab-Line | |
| β -counter | Beckman | |
| ELISA reader | Tecan | Canada |
| Ice maker | Vision science | Korea |
| Cytological centrifuge | Hanil | |
| Pulverizer | Rong tsong | Taiwan |

2. 방법

1) 약물

(1) 전탕 추출

拳參 100 g에 1 L의 증류수를 가하고 약탕기(웅진약탕기, 한국)를 이용하여 3시간 동안 끓인 다음, 여과지로 여과한 후, 감압 농축장치를 이용하여 수분을 제거하여 분말로 만들었다.

(2) 암세포에 대한 영향 측정

(1) Cell proliferation

한국 세포주 은행으로부터 분양받은 간암세포(HepG2), 위암세포(SNU-1) 및 폐암세포(A549)를 DME media에 20% FBS와 항생제를 첨가하여 배양을 실시하였다. 암세포를 12 well plate에 5×10^5 cell/well로 분주한 다음, 拳參 전탕을 농도 10 mg/ml, 5 mg/ml, 1 mg/ml, 0.1 mg/ml, 0.01 mg/ml으로 희석하여 72시간 동안 36°C에서 배양하였다. 배양된 세포를 harvest하기 12-18시간 전에 [³H]-thymidine 1 μ Ci를 처리하고 β -counter(Beckman)에 사용하는 safe cuvette에 500 μ l씩 분주한 다음, cocktail solution을 2 ml 첨가한 후, [³H]-thymidine의 uptake를 β -counter로 확인하였다.

(2) Apoptosis

拳參의 전탕을 처리한 HepG2, SNU-1 및 A549를 72시간동안 배양을 실시한다. 세포를 취합한 후, 1 \times binding buffer을 이용하여 1회 washing을 실시한다. Annexin V-FITC와 PI(propidium iodide)를 5 μ l씩 분주한 뒤, 실온에서 빛을 차단한 채로 15분간 반응시켜 flow cytometry를 이용하여 cell population을 확인하였으며, FACs carliver의 software를 이용하여 분석하였다.

(3) Cytokine level

① ELISA

암세포의 증식 중에 나타나는 TGF- β 와 TNF- α 의 사이토카인의 변화는 암세포의 배양액에서 ELISA kit를 사용하여, 각 cytokine level을 측정하였다. anti-cytokine 항체가 코팅된 96 well plate에 serum을 가하여 반응시킨 후 4번 세척하고, 다시 biotin이 표식된 anti-cytokine 항체를 가하여 반응시킨 후 4번 세척하였다. 여기에 streptavidin-HRP를 가하고 ELISA-reader를 이용하여 측정하였다.

② Flow cytometry

암세포의 증식 중에 나타나는 IFN- γ 의 사이토카인의 변화는 flow cytometry를 이용하여 확인하였다. IFN- γ kit를 사용하여, 약물을 처리한HepG2, SNU-1 및 A549 세포에 FITC-mouse anti-human IFN- γ 표적 항체를 intracellular staining으로 실시하여 flow cytometry를 이용하여 확인하였다.

3. 통계처리

본 실험에서 얻은 결과에 대해서는 ANOVA multi t-test(JAVA, Bonferroni Ver II)로 분석하여 p값을 구했다. 각 실험군을 비교하여 p값이 0.05 미만일 경우에 유의성을 인정하였다.

결 과

1. 간암, 위암 및 폐암 세포에 대한 영향 비교

1) Cell proliferation

拳參 전탕 추출물이 간암과 위암 그리고 폐암 세포의 세포 증식에 미치는 영향을 비교하였다. 대조군에 비하여 간암에서는 간암세포의 증식이 오히려 증가하였으며, 위암과 폐암 세포에서는 拳參 추출물의 농도가 증가함에 따라 암세포의 증식이 현저하게 감소하였으며, 특히 위암세포에 대한 증식 억제 효과가 가

장 뛰어난 것으로 나타났다(Fig. 1).

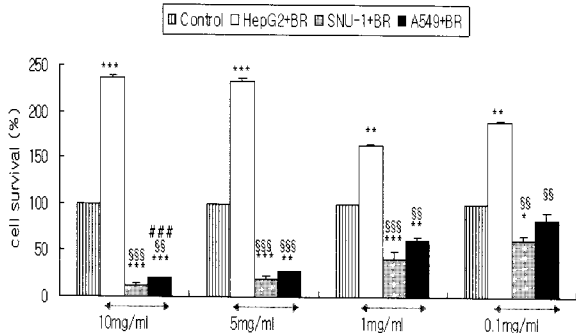


Fig. 1. HepG2, SNU-1 and A549 cell proliferation with various concentrations of a Bistortae Rhizoma decoction extract. The human cancer cells were seeded at a suspended density of 5×10^5 cell/well on a 12 well cell culture plate. The medium was DMEM with 20% FBS, antibiotics, and 10 mg/ml, 5 mg/ml, 1 mg/ml, 0.1 mg/ml, 0.01 mg/ml Bistortae Rhizoma decoction extract, with 1 μ Ci/ml [3 H]-thymidine, in triplicate. After 72hrs, the cells were harvested and counted with a β -counter. Values represent the means \pm SEM of 3 experiments. Control: HepG2, SNU-1 and A549 cancer cell line HepG2+BR: HepG2 cells cultured with Bistortae Rhizoma decoction extract. SNU-1+BR: SNU-1 cell cultured with Bistortae Rhizoma decoction extract. A549+BR: A549 cell cultured with Bistortae Rhizoma decoction extract. ***: $p < 0.001$, **: $p < 0.01$, *: $p < 0.05$ compared to control \$\$\$: $p < 0.001$, \$\$: $p < 0.01$ compared to HepG2 ###: $p < 0.001$ compared to SNU-1

2) Apoptosis

拳參 전탕 추출물이 간암과 위암 그리고 폐암 세포의 apoptosis에 미치는 영향을 비교하였다. 拳參 추출물을 처리한 경우 간암과 위암 및 폐암 세포의 apoptosis가 대조군에 비하여 현저히 증가하였으며, 특히 위암의 apoptosis가 가장 큰 증가를 나타내었다(Fig. 2).

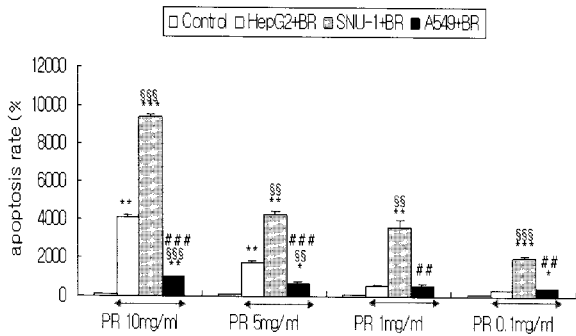


Fig. 2. Apoptosis of HepG2, SNU-1 and A549 cells treated with total extract or various fraction extracts of a Bistortae Rhizoma decoction. The HepG2, SNU-1 and A549 cells were seeded at a suspended density of 5×10^4 cell/well on a 12 well cell culture plate. The medium was DMEM with 20% FBS, antibiotics, and 10, 5, 1, 0.1 mg/ml Bistortae Rhizoma decoction extract and 1 μ Ci/ml [3 H]-thymidine. After 72hrs, the cells were harvested, and counted with a β -counter. Values represent the means \pm SEM of 3 experiments. Control: HepG2, SNU-1, A549 cancer cell line HepG2+BR: HepG2 cells cultured with Bistortae Rhizoma decoction extract. SNU-1+BR: SNU-1 cell cultured with Bistortae Rhizoma decoction extract. A549+BR: A549 cell cultured with Bistortae Rhizoma decoction extract. ***: $p < 0.001$, **: $p < 0.01$, *: $p < 0.05$ compared to control \$\$\$: $p < 0.001$, \$\$: $p < 0.01$ compared to HepG2 ###: $p < 0.001$, ##: $p < 0.01$ compared to SNU-1

3) Cytokine level

(1) TGF- β

拳參 추출물이 간암과 위암 그리고 폐암 세포의 TGF- β 생성에 미치는 영향을 비교하였다. 대조군에 비하여 拳參 추출물을 처리한 경우, 간암과 위암 및 폐암 세포의 TGF- β 생성이 감소하는 것을 확인할 수 있었다. 폐암의 경우 拳參 추출물의 모든 농도에서 TGF- β 생성 억제가 거의 일정하게 나타났으며, 10 mg/ml와 5 mg/ml에서는 간암세포에서 위암이나 폐암세포에 비하여 TGF- β 생성이 가장 뚜렷이 억제되었다(Fig. 3).

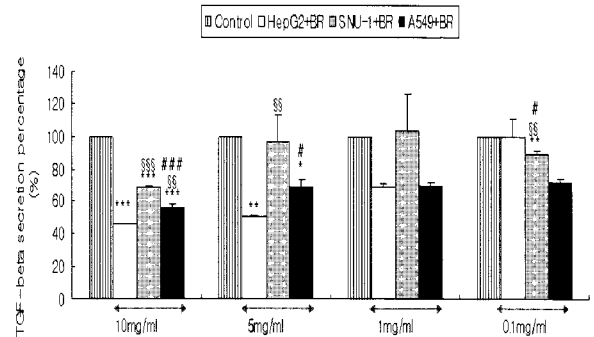


Fig. 3. Levels of TGF- β in HepG2, SNU-1 and A549 cell culture treated with various concentrations of a Bistortae Rhizoma decoction extract. HepG2, SNU-1 and A549 cells (5×10^5 cell/well) were cultured with 20% FBS, DME medium and various concentrations of Bistortae Rhizoma decoction extract. After 72hrs, the cells were harvested, and the cell culture supernatant was used to measure the concentrations of TGF- β by ELISA. Values represent the means \pm SEM of 3 experiments. Control: HepG2, SNU-1, A549 cancer cell line HepG2+BR: HepG2 cells cultured with Bistortae Rhizoma decoction extract. SNU-1+BR: SNU-1 cells cultured with Bistortae Rhizoma decoction extract. A549+BR: A549 cells cultured with Bistortae Rhizoma decoction extract. ***: $p < 0.001$, **: $p < 0.01$, *: $p < 0.05$ compared to control \$\$\$: $p < 0.001$, \$\$: $p < 0.01$ compared to HepG2 ###: $p < 0.001$, #: $p < 0.05$ compared to SNU-1

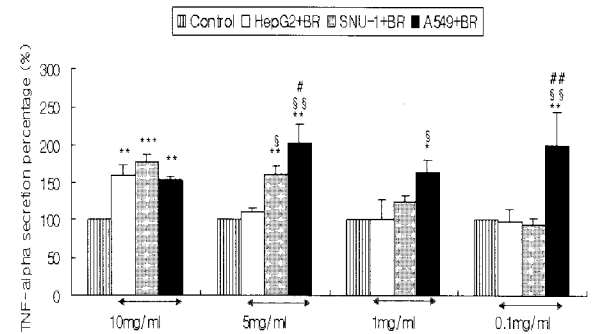


Fig. 4. Levels of TNF- α in HepG2, SNU-1 and A549 cell culture treated with various concentrations of a Bistortae Rhizoma decoction extract. HepG2, SNU-1 and A549 cells (5×10^5 cell/well) were cultured with 20% FBS, DME medium and various concentrations of Bistortae Rhizoma decoction extract. After 72hrs, the cells were harvested, and the cell culture supernatant was used to measure the concentrations of TNF- α by ELISA. Values represent the means \pm SEM of 3 experiments. Control: HepG2, SNU-1, A549 cancer cell line HepG2+BR: HepG2 cells cultured with Bistortae Rhizoma decoction extract. SNU-1+BR: SNU-1 cells cultured with Bistortae Rhizoma decoction extract. A549+BR: A549 cell cultured with Bistortae Rhizoma decoction extract. ***: $p < 0.001$, **: $p < 0.01$, *: $p < 0.05$ compared to control \$\$\$: $p < 0.001$, \$\$: $p < 0.01$ compared to HepG2 ###: $p < 0.001$, #: $p < 0.05$ compared to SNU-1

(2) TNF- α

拳參 전탕 추출물이 간암과 위암 그리고 폐암 세포의 TNF- α 생성에 미치는 영향을 비교하였다. 대조군에 비하여 拳參 추출물

을 처리한 경우 TNF- α 의 생성이 증가하였으며, 5 mg/ml 이하의 농도에서는 폐암이, 10 mg/ml에서는 위암이 가장 많은 TNF- α 를 나타내었다(Fig. 4).

4) IFN- γ presenting cell population

拳參 전탕 추출물이 간암과 위암 그리고 폐암 세포의 IFN- γ 분비에 미치는 영향을 비교하였다. 대조군에 비하여 拳參 추출물을 처리한 경우 IFN- γ 를 분비하는 간암, 위암 및 폐암 세포가 증가하였으며, 특히 10 mg/ml의 拳參 추출물을 처리한 경우 폐암에서, 5 mg/ml와 0.1 mg/ml의 拳參 추출물을 처리한 경우 위암에서 IFN- γ 를 분비하는 세포가 가장 많았다(Fig. 5).

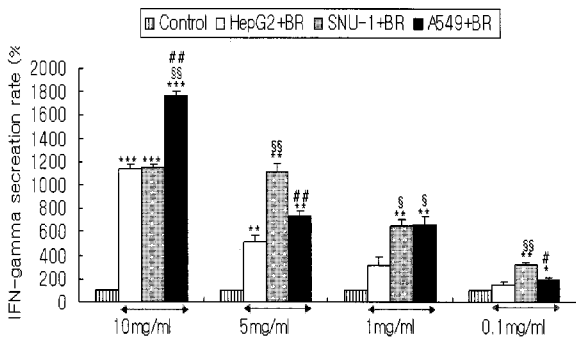


Fig. 5. Flow cytometry analysis of IFN- γ presenting HepG2, SNU-1 and A549 cells cultured with various concentrations of a Bistortae Rhizoma decoction extract. The HepG2, SNU-1 and A549 cells were seeded at a suspended density of 5×10^4 cell/well on 12 well cell culture plates. The medium was DMEM with 20% FBS, antibiotics, and 10, 5, 1, 0.1 mg/ml Bistortae Rhizoma decoction extract. After 24hrs, the IFN- γ presenting HepG2 cells were measured by flow cytometry. Values represent the means \pm SEM of 3 experiments. Control: HepG2, SNU-1, A549 cancer cell line HepG2+BR: HepG2 cells cultured with Bistortae Rhizoma decoction extract. SNU-1+BR: SNU-1 cell cultured with Bistortae Rhizoma decoction extract. A549+BR: A549 cell cultured with Bistortae Rhizoma decoction extract. ***: $p < 0.001$, **: $p < 0.01$, *: $p < 0.05$ compared to control \$\$\$: $p < 0.001$, \$\$: $p < 0.01$ compared to HepG2 ### : $p < 0.001$, # : $p < 0.05$ compared to SNU-1

고찰

拳參은 神農本草經¹⁾과 名醫別錄¹⁶⁾에 처음에는 紫參으로 수재 되었으며, 이후 圖經本草²⁾에서부터 拳參으로 수록되기 시작하였다.

拳參의 성분으로는 tannin, starch, gallic acid, ellagic acid, catechol, epicatechol, 6-galloylglucose, 3,6-digalloyl glucose, glucose 등이 함유되어 있다고 보고되어 있다^{3,7)}. 성분에 관한 연구로는 X.-Q. Liu 등¹⁷⁾이 Polygonum bistorta L.의 뿌리줄기에서 tannin 관련 혼합물을 분리하였고, Manoharan KP 등¹⁸⁾은 P. bistorta의 뿌리줄기에서 2개의 새로운 혼합물인 Cycloartane type triterpenoids을 분리하였다고 보고하였다. Smolarz HD^{19,20)}는 9종의 Polygonum spp. 에서 18개의 flavonoid 배당체를 구분하였고, 또한 다른 종류의 Polygonum 속 식물에서 free flavonoid 비당체를 연구하였으며, 9종의 Polygonum L.에 있는 phenolic acid의 크로마토그래피 분석도 하였다.

약리 작용으로는 항균, 지혈 작용 등이 있으며⁸⁾, 현대 약학적으로는 간염, 세균성이질, 장염, 만성기관지염, 치질출혈, 자궁

출혈에 내용하고, 구강염, 치은염, 癰癤腫毒에 외용한다고 한다⁹⁾. 또한, 폐결핵, 폐암, 만성위장 및 십이지장궤양, 대장암, 顏面疔瘡, 紅絲疔, 銀屑病 등에도 응용한다고 한다¹⁰⁾. 拳參에 대해서 Duwiejua M. 등^{11,12)}이 에탄올 추출물에서 소염 활성을 보고한 데 이어 그 주된 활성성분으로서 5-glutinen-3-one과 friedelanol을 분리 한 바 있다.

이처럼 拳參에 대한 소염 및 지혈작용 등에 대한 효능은 보고 되었지만 항암효과에 대한 연구는 보고된 바가 없다.

拳參은 清熱利濕하여 涼血止血, 解毒散結 등의 효능이 있기 때문에 항암 효과와 관련이 있을 것으로 사료된다. 이에 저자는 拳參을 전탕 추출을 한 후, 그 추출물로 cell proliferation²¹⁾과 apoptosis²²⁾, morphology, cytokine level²³⁾ 측정을 하여 간암, 위암 및 폐암세포에 대한 영향을 측정하였다.

본 연구에서는 拳參 전탕 추출물이 간암과 위암 그리고 폐암 세포의 세포증식에 미치는 영향을 비교하였다. 대조군에 비하여 간암세포에서는 간암세포의 증식이 오히려 증가하였으며, 위암과 폐암 세포에서는 拳參 추출물의 농도가 증가함에 따라 암세포의 증식이 현저하게 감소하였으며, 특히 위암세포에 대한 증식 억제 효과가 가장 뛰어난 것으로 나타났다.

세포의 apoptosis는 특이 발생단계나 DNA 손상, 바이러스 감염 등에 의한 유전적 조절 하에서 일어나는 정교한 인체방어 기전이란 점에서 necrosis와 구별 된다²⁴⁾. 또한 apoptosis는 개체 보존 수준에서 손상된 세포들의 제거를 위한 중요한 수단이며, 정상적인 세포주기의 이탈 등이 apoptotic cell death의 주원인이 될 수 있다²⁵⁾. 본 연구에서는 拳參 전탕 추출물이 간암과 위암 그리고 폐암 세포의 apoptosis에 미치는 영향을 비교하였다. 拳參 추출물을 처리한 경우 간암과 위암 및 폐암 세포의 apoptosis가 대조군에 비하여 농도에 의존적으로 현저히 증가하였으며, 특히 위암의 apoptosis가 가장 큰 증가를 나타내었다.

암에 대한 생체의 면역학적 방어기구를 특이성 면역반응과 비특이성 면역반응으로 구분할 수 있는데, 특이성 면역반응 가운데 체액성 면역반응은 보체 항체가, 세포성 면역반응은 주로 CTL(cytotoxic T lymphocyte), Th(helper T cell)가 관여하며, 비특이성 면역반응은 대식세포, 자연살해세포, LAK(lymphokine activated killer cell) 및 각종 세포에서 lymphokine, cytokine 형태로 분비되는 interferon, interleukin, TNF, lymphotoxin, monoclonal antibody, immunomodulator 등의 생물학적 반응 조절에 의하여 면역감시기능을 발휘 한다²⁶⁾. 본 연구에서는 拳參을 처리한 간암세포, 위암세포 및 폐암세포에서 cytokine level을 측정하여 항암효과를 연구하였다.

TGF- β 는 배양된 섬유아세포를 종양과 유사한 표현형질로의 변환을 촉진시키는 인자로서, TGF- α 와 TGF- β 두 종류의 단백질로 구성되며 종양 형성을 촉진시키는 역할을 하는데, 최근에는 종양 억제 인자로서의 역할도 큰 것으로 알려져 있다²⁷⁾. 본 연구에서 拳參 추출물이 간암과 위암 그리고 폐암 세포의 TGF- β 생성에 미치는 영향을 비교하였다. 대조군에 비하여 拳參 추출물을 처리한 경우 간암과 위암 및 폐암 세포의 TGF- β 생성이 농도에 의존적으로 감소하는 것을 확인할 수 있었다. 폐암의 경우 拳參

추출물의 모든 농도에서 TGF-β생성 억제에 거의 일정하게 나타났으며, 10 mg/ml와 5 mg/ml에서는 간암세포에서 위암이나 폐암 세포에 비하여 TGF-β생성이 가장 뚜렷이 억제되었다. 이러한 실험결과는 拳參 전탕 추출물이 암세포의 TGF-β생성을 억제함으로써 암세포의 증식을 저해하는 것으로 해석될 수 있다.

TNF-α는 생체내에서 단독 또는 cytokines와 협력 작용하여 몇몇 종양의 혈관조직을 손상시킴으로서 종양 괴사(tumor necrosis)를 유발시키거나 malaria 또는 legionella에 의한 감염, 몇몇 바이러스 혹은 기생충에 의한 감염에 대하여 숙주의 저항성을 유도시키기도 하지만 TNF-α는 중요한 염증매개 인자중 하나로서, 어떤 환경에서는 생체에 매우 해로운 영향을 미치기도 한다²⁸⁾. 본 연구에서 拳參 전탕 추출물이 간암과 위암 그리고 폐암 세포의 TNF-α 생성에 미치는 영향을 비교하였다. 대조군에 비하여 拳參 추출물을 처리한 경우 TNF-α의 생성이 농도에 의존적으로 증가하였으며, 5 mg/ml 이하의 농도에서는 폐암이, 10 mg/ml에서는 위암이 가장 많은 TNF-α를 나타내었다.

Interferon(IFN)-γ는 T 세포나 NK세포로부터 분비되어지며, 바이러스의 복제 억제나 맥관 관련 세포들의 증식을 억제하는 등 다양한 기능을 가지고 있는 것으로 널리 알려져 있다²⁹⁾. 본 연구에서 拳參 전탕 추출물이 간암과 위암 그리고 폐암 세포의 IFN-γ 분비에 미치는 영향을 비교하였다. 대조군에 비하여 拳參 추출물을 처리한 경우 IFN-γ를 분비하는 간암, 위암 및 폐암 세포가 증가하였으며, 특히 10 mg/ml의 拳參 추출물을 처리한 경우 폐암에서, 5 mg/ml와 0.1 mg/ml의 拳參 추출물을 처리한 경우 위암에서 IFN-γ를 분비하는 세포가 가장 많았다.

위와 같은 실험결과는 拳參 전탕 추출물이 암세포들의 TNF-α와 IFN-γ의 생성을 촉진시킴으로써 암세포들의 증식을 억제하는 것으로 해석될 수 있다.

본 연구 결과를 종합할 때, 拳參의 전탕액이 암세포에 대한 증식 억제에 유의한 효과가 있다고 사료된다.

결 론

拳參을 전탕 추출을 한 후, 그 추출물로 cell proliferation과 apoptosis, morphology, cytokine level을 측정하여 간암, 위암 및 폐암세포에 미치는 영향을 비교하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

拳參 전탕액은 간암세포의 증식을 억제하지 못하였으나, 위암세포, 폐암세포의 증식을 농도 의존적으로 억제하였으며, 특히 위암세포에서 암세포 증식억제효과가 가장 높았다. 拳參 전탕액은 간암세포, 위암세포, 폐암세포의 apoptosis를 농도 의존적으로 증가시켰으며, 특히 위암세포에서 apoptosis 촉진효과가 가장 높았다. 拳參 전탕액의 분획추출물 중 n-BuOH 분획이 간암세포의 apoptosis를 가장 많이 증가시켰다. 拳參 전탕액은 간암세포, 위암세포 및 폐암세포에서 농도 의존적으로 TGF-β 분비를 감소시키고, TNF-α 분비를 증가시켰으며, IFN-γ 분비 세포의 비율을 증가시켰다.

이상의 결과, 拳參의 전탕액은 위암세포 및 폐암세포의 증식 억제 효과가 있다고 사료된다.

감사의 글

이 논문은 2009년도 경원대학교 연구비 지원을 받았기에 감사드립니다.

참고문헌

1. 孫星衍, 孫馮翼 輯. 神農本草經. 北京, 科學技術出版社, p 66, 1999.
2. 胡乃長, 王致譜 輯注. 圖經本草. 福建, 科學技術出版社, p 570, 1980.
3. 國家中醫藥管理局 中華本草 編委會. 中華本草. 上海, 科學技術出版社, 2: 643-645, 1999.
4. 식품의약품안전청. 대한약전의한약(생약)규격집. p 68, 2006.
5. 國家藥典委員會編. 中華人民共和國藥典 2005年版1部. 北京, 化學工業出版社, p 202, 2005.
6. 조선민주주의 인민공화국 보건부 약전위원회. 조선민주주의 인민공화국약전 제5판. 평양:의학과학출판사, p 189, 1996.
7. 江蘇新醫學院編. 中藥大辭典 下冊. 上海, 科學技術出版社, pp 1959-1960, 1977.
8. 中華人民共和國衛生部藥政管理局 中國藥品生物制品檢定所編. 現代實用本草 上冊. 北京, 人民衛生出版社, p 652, 1996.
9. 編寫組. 全國中草藥會編 上冊. 北京, 人民衛生出版社, p 345, 653, 1990.
10. 徐樹楠 主編. 中藥臨床應用大全. 石家庄, 河北科學技術出版社, pp 102-103, 1998.
11. Duwiejua, M., Zeitlin, I.J., Gray, A.I., Waterman, P.G. Anti-inflammatory activity of Polygonum bistorta, Guaiacum officinale and Hamamelis virginiana in rats. Journal of Pharmacy and Pharmacology. 46(4):286-290, 1994.
12. Duwiejua, M., Zeitlin, I.J., Gray, A.I., Waterman, P.G. The anti-inflammatory compounds of Polygonum bistorta : Isolation and characterisation. Planta Medica. 65(4):371-374, 1999.
13. Smolarz, H.D., Skwarek, T. The investigations into the interferon-like activity of polygonum L. genus. Acta Poloniae Pharmaceutica Drug Research. 56(6):459-462, 1999.
14. 안중수. 拳參(Polygonum bistorta L.)의 소염활성 성분에 관한 연구. 강원대학교 석사학위논문, 1999.
15. 이동준. 靑參(拳參)이 지혈(止血), 소염(消炎)작용 및 중추신경계(中樞神經系)에 미치는 영향. 우석대학교 석사학위논문, 1996.
16. 尙志鈞 輯校. 名醫別錄. 北京, 人民衛生出版社, pp 248-249, 1986.
17. X.Q. Liu, H.M. Hua, J. Liu, F.K. Chen, L.J. Wu. A new tannin-related compound from the rhizome of Polygonum bistorta L. Journal of Asian Natural Products Research. 8(4):299-302, 2006.

18. Manoharan, K.P., Benny, T.K.H., Yang, D. Cycloartane type triterpenoids from the rhizomes of *Polygonum bistorta*. *Phytochemistry*. 66(19):2304-2308, 2005.
19. Smolarz, H.D. Comparative study on the free flavonoid aglycones in herbs of different species of *Polygonum*. *Acta Poloniae Pharmaceutica Drug Research*. 59(2):145-148, 2002.
20. Smolarz, H.D. Flavonoid glycosides in nine *Polygonum* L. taxons. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*. 71(1):29-33, 2002.
21. Pellegrion, M., Ferrone, S. and Theofilopoulos, A. Isolation of human T and B cells by rosette formation with 2-aminoethylisothiuronium bromide(AET)-treated sheep red blood cells and with monkey red blood cells. *J. Immunol. Meth.* 11: 273-277, 1976.
22. Kishimoto, T., A.E.G., von dem Brorne, et al. *Leucocyte typing VI: White cell differentiation antigens*. Garland publishing, Inc. London. 1998.
23. Maiolini, R. and Masseyeff, R. Asandwich method of enzymoimmunoassay. I. Application to rat and human alpha-foetoprotein. *J. Immunol. Meth.* 8: 223-234, 1975.
24. Evans, V.C. Multiple pathways to apoptosis. *Cell Bio1 Int.* 17(5):461-476, 1993.
25. Shi, L., Nishioka, W.K., Th'ng, J., Bradbury, E.M. Litchfield DW Greenberg AH. Premature p34cdc2 activation required for apoptosis. *Science*. 263(5150):1143-1145, 1994.
26. 윤정구. 종양에 대한 생체방어기전, *대한의학협회지*, 32(10): 1073-1077, 1989.
27. Rodriguez, G.C., Berchuck, A., Whitaker, R.S. Epidermal growth factor receptor expression in normal ovarian epithelium and ovarian cancer. II. Relationship between receptor expression and response to epidermal growth factor. *Am J Obstet Gynecol* 164: 745-750, 1991.
28. Roit, I.M., Brostoff, J., Male, D.K. Livingstone, C. *Immunology*. London, Gower Medical Publishing. 1989. 9.6-9.13.
29. Kakimi, K., Guidotti, L., Koezuka, Y., Chisari, F.V. Natural killer T cell activation inhibits hepatitis B virus replication in vivo. *J Exp Med.* 192: 921-930, 2000.