

약효가 강화된 가공인삼의 생체내·외 항암활성

양 현 옥

울산의대 아산생명과학연구소

암은 우리나라 뿐 아니라 미국, 일본 등에서도 사망원인 1-2위를 다투고 있으며, 현재 한국에서 사망원인 1위를 차지하는 질병으로서 향후 환경문제, 수명의 연장 및 식생활의 서구화 등으로 인해 암 환자의 발생은 더욱 증가할 것으로 예상된다. 암을 정복하기 위한 많은 연구자들의 부단한 노력의 결과로 여러 가지 암의 조기발견을 위한 진단법에 많은 발전이 있었으며, 그 중 항암제의 경우 다양한 종류의 암세포를 이용한 시도가 많았다. 그러나, 지금까지 암에 대한 많은 연구가 계속되고 있음에도 불구하고 암 자체의 다양성 및 발병기전의 다양화로 인해 부작용이 적고 내성을 극복할 수 있는 항암제의 개발은 여전히 어려운 문제들을 안고 있으며 이러한 문제점을 해결할 새로운 암 치료제의 개발이 절실히 요구되고 있다.

전 세계 의약품시장은 년 평균 10%의 성장을 하고 있으며 2002년에는 약 \$4,100억 규모의 시장을 형성했고, 이중 항암제시장은 약 4.4%인 \$180억으로 추정되고 있다. 세계 항암제 시장은 심장순환계 약물(20.0%)이나 중추신경계 약물(17.7%)등에 비해 시장 규모는 작으나, 시장 성장률은 15%로서 의약품 시장 평균 성장률을 능가할 뿐만 아니라 모든 약효군 중에서 가장 높은 시장 성장률을 보이고 있다. 이 사실을 앞에서 언급한 질환별 사망자 수와 비교해볼 때, 암은 아직도 필요약물의 개발이 미진한 시장성이 큰 분야라는 것을 시사해 주고 있다. 즉, 고혈압이나 고지혈증 취소같이 이미 우수한 효능의 약물이 많이 개발되어 있어서 환자가 약물을 복용하고 잘 관리를 하게 되면 삶의 질(Quality of Life)을 유지하면서 수명을 연장할 수 있는 질환과는 달리 아직도 효과적인 치료제의 개발이 요구되는 분야라고 볼 수 있다. 국내 항암제 시장은 2000년에 900억원 규모로 연평균 20%의 시장 성장률을 보이고 있다. 2000년대 항암제 세계시장은 10조원에 이를 것으로 전망되며, 현재 임상에서 사용되고 있는 대부분의 항암제들은 90%이상 수입에 의존하고 있는 실정으므로, 새로운 항암제 개발을 위한 선도물질이 창출되면 막대한 수입 대체효과 및 수출효과를 기대할 수 있다.

이에 새로운 사포닌 성분들의 함량이 강화된 가공인삼을 대상으로 생체내외에서의 항암활성을 연구한 결과 다음과 같은 우수한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다. 따라서 가공인삼을 암 예방 혹은 암 환자에 대한 수술 요법 혹은 화학 요법제 치료시 혹은 치료 후 치료효과를 높이고, 수술 후 재발을 감소와 화학요법제 투여 시와 치료 후 발생하는 부작용과 재발을 감소시켜 그 치료효과를 극대화 하는데 응용할 수 있으리라 기대된다.

1. 가공인삼 (SG)의 생체내·외 항암활성

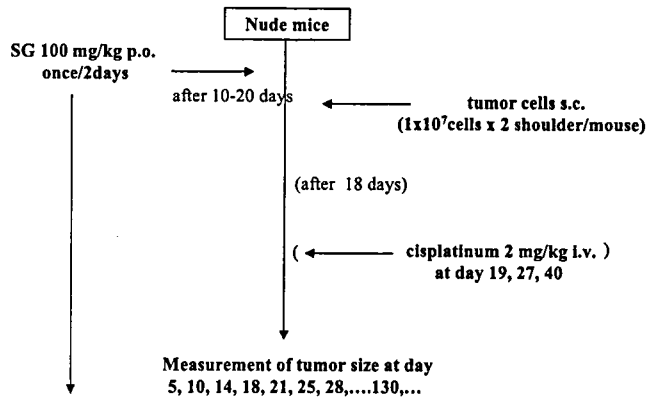
1-1. SG 물 추출물의 세포 독성 측정 (*in vitro*)

SG 물 추출물을 대상으로 사람의 난소암 세포종인, SKOV-3, 전립선 암세포종인 DU-145 및 PC-3, leukemia 세포종인 HL-60 에 대한 세포 독성 실험을 수

행하여 SG가 다양한 암세포에서 세포 독성을 갖는지에 대한 여부를 젓산탈수소효소 (Lactate dehydrogenase) assay 방법으로 측정하였다. 그 결과 SKOV-3는 192, HL-60는 133, DU-145와 PC-3는 각각 213, 235 ug/ml 의 IC₅₀ 값을 나타내었다.

1-2. SG 물 추출물의 생체 내 항암활성 (*in vivo*)

사람의 암 세포를 nude mice의 피하에 국소 접종하고 생약 SG의 물 추출물을 경구 투여하면서 Scheme 1과 같은 실험과정으로 생체 내 항암활성을 측정하였다. 즉, 6주령의 nude mice (Balb/c) 양어깨에 암세포를 $5 \times 10^6/0.2$ ml로 피하주사하고 약물은 이들에 한 번씩 경구 투여하였다. 매주 종양의 크기를 측정하였고, 죽을 때까지의 군 간의 생존을 및 생존기간을 측정 비교하였다. 동시에 약물들에게서 나타날 수 있는 부작용들에 대한 관측으로 매주 mice의 몸무게 측정과 육안관찰로 기본적인 독성이 나타나는지의 여부를 확인하였다.



Scheme 1. Procedure of *in vivo* anti-tumor activity assay

1-2-1. SG 물추출물 의 SK-OV-3로 유도한 종양성장억제 활성

6주령의 nude mice (Balb/c) 25마리를 대상으로 (control군, SG 30, 100, 300 mg/kg 투여군당 각 5~6마리) 사람의 난소암세포주인 SK-OV-3 (human ovarian cancer cell line)를 Scheme 1 과 같은 방법으로 실험하였다. 그 결과, SG 물 추출물을 투여한 모든 그룹은 control 그룹에 비해 우수한 종양 성장 억제 효과를 보였고, SG 물 추출물에 대한 어떤 부작용도 관찰되지 않았다.

1-2-2. SG 물추출물과 cisplatin의 병용 투여시 종양 성장억제에 미치는 효과

총 4군으로 나누어 (control군, CDDP 2 mg/kg 단독 투여군, SG 100 mg/kg 단독 투여군, CDDP와 SG 병용 투여 군) 실험하였다. 그 결과, CDDP 와 SG 단독 투여 그룹은 control 그룹에 비해 우수한 종양 성장 억제 효과를 보였다. 그리고 CDDP와 SG를 병용 투여했을 시에는 CDDP 단독 투여 때 보다 훨씬 좋은 종양 성장 억제 활성을 보였으며, SG 100 mg/kg 단독 투여 군에서 종양성장억제효과가 가장 높게 관찰 되었다.

1-2-3. SG 물추출물의 HL-60 와 DU-145 로 유도한 종양 성장 억제 활성

Nude mice (Balb/c) 에 HL-60 (human leukemia cell line, control군, SG 30, 100, 300 mg/kg 군, 각 군당 7~8마리) 혹은 DU-145 (prostate cancer cell line, control군, SG 30, 100, 300 mg/kg 군, 각 군당 7~8마리) 를 쥐의 양쪽 어깨에 피하주사한 후 약물은 일주일에 3회씩 경구투여 하였다. 그 결과, HL-60 이식한 실험의 경우, SG 30 mg/kg 투여 그룹은 control 그룹과 별 차이가 없었으나 100 mg/kg와 300 mg/kg 투여 그룹은 control 과 비교해 보았을 때 유의성 있는 종양성장억제효과를 나타내었다 ($p < 0.05$). (Figure 1)

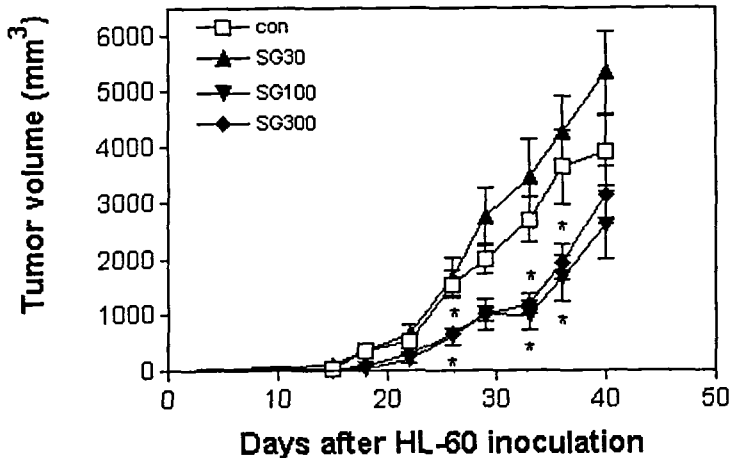


Figure 1. Anti-tumor activity of SG in the HL-60 beared mice

또한, DU-145 이식하여 실험한 결과는 SG 물 추출물을 300 mg/kg로 경구투여한 군이 대조군에 비해 종양성장억제효과가 관찰되었다.

1-3. SKOV-3와 HL-60 암세포 이식 쥐에서의 SG 물 추출물의 경구투여에 의한 생존기간 연장 효과

Nude mice (Balb/c)를 대상으로 SK-OV-3 암세포 (control군, SG 30, 100, 300 mg/kg 투여군 각 5~6마리) 혹은 HL-60 (control군, SG 30, 100, 300 mg/kg 용량의 총 4군, 각 군당 7~8마리)를 양쪽어깨에 피하주사 하였다. 약물은 이들에 한번 씩 경구 투여 하였다. 종양 크기를 측정하면서 쥐가 모두 죽을 때 까지 약물에 대한 수명연장효과를 측정하였다. SK-OV-3를 이식한 경우, CDDP 투여 군은 초반에는 수명연장효과를 보이는 것 같았으나 암세포 이식 후 120일부터 control 군과 큰 차이를 보이지 않았다. 하지만 CDDP + SG를 병용 투여 군 (6.7%)에서는 약간의 생존기간 연장 효과를 나타내었으며, 오히려 SG 단독투여 군은 높은 수명 (31.0%) 연장 효과를 보였다. 또한 평균 생존기간 연장효과 (31.0% 연장)도 관찰되었다. HL-60를 이식한 실험의 경우, 초반에는 오히려 약물 투여 군의 쥐가 먼저 죽는 것 같았지만 암세포 이식 후 100일째를 넘기면서 control 군의 생존율은 0%가 된 반면 SG 투여 군의 쥐는 150일을 넘긴 현재 SG 투여한 모든 군의 쥐들이 2-3마리 생존하고 있으며 이는 명확히 SG의 경구투여가 생존기간 연장 효과를 보이고 있는 것으로 사료된다. (Figure 2)

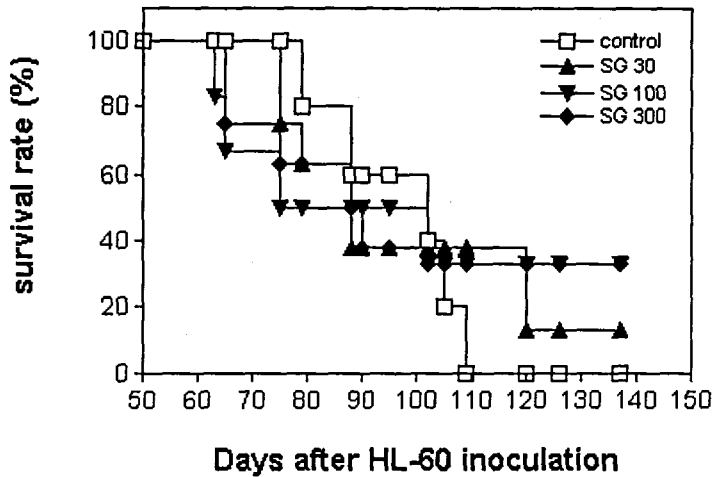


Figure 2. Survival rate of SG in the HL-60 beared mice

2. GS-135의 세포독성 및 암세포 자살유도효과

SG 물 추출물을 한 단계 더 정제한 사포닌 분획 GS-135를 대상으로 배양된 난소암 세포 SK-OV-3에 대하여 세포 독성 ($IC_{50}=3 \text{ ug/ml}$)을 강하게 나타내었고, 초기 세포 사멸이 control에 비해 약 1.96배 증가함이 관찰됨으로써, GS-135가 SK-OV-3에서 세포 사멸을 유도함을 확인하였다.

3. RK1의 세포독성 및 암세포사멸 유도효과

GS-135에서 순수 분리된 화합물 RK1을 대상으로 난소암 세포인 SK-OV-3와 NIH:OVCAR3, 전립선 암세포인 DU-145와 PC-3, 유방암 세포 MCF-7, 백혈병 세포인 HL-60으로 세포독성 실험을 수행하여 RK1의 암세포에 대한 세포독성 및 암세포 자살유도 활성을 확인하였다. 그 결과, RK1의 세포독성은 Table 3에 나타남 바와 같이 positive control로 사용한 taxol 의 약 2배 정도의 IC_{50} 를 나타내었다. (Table 1). 암세포사멸유도 활성의 경우, 난소암 세포에서는 약 7-8배, 전립선 암세포에서는 9배 (PC-3), 백혈병 세포에서는 4배정도 초기세포사멸이 증가하였다. 하지만 전립선 암세포 DU-145와 유방암 세포에서는 세포괴사 (necrosis)를 일으키는 것이 관찰되었다.

Table 1. Cytotoxicity of RK1 and taxol in the various cancer cell line

Cell line	Cytotoxicity (ug/ml)	
	RK1	Taxol
SK-OV-3	3.9±0.8	2.4±0.2
NIH:OVCAR3	18.9±0.2	10.5±3.6
DU-145	21.0±4.2	12.5±2.1
PC-3	19.2±2.5	3.9±2.7
MCF-7	24.2±0.0	25.5±0.7
HL-60	5.23±0.1	2.7±0.5