

## 유방암 세포주를 이용한 개비자 나무의 에탄올 추출물의 항암 활성 분석

조철희\* · 김진현\*\* · 채희정\*

\*호서대학교 식품생물공학전공 및 벤처전문대학원 첨단산업기술전공, \*\*공주대학교 화학공학과

### Cytotoxicity of Ethanol Extract of *Cephaexis koreana* on Human Breast Cancer Cell Lines

Chul Hee Cho\* , Jin Hyun Kim\*\* and Hee Jeong Chae\*

Department of Food and Biotechnology and Department of Innovative Industrial Technology, Hoseo University, Asan 336-795, Korea

Department of Chemical Engineering, Kong ju National University,  
Kong ju 313-701, Korea

#### 요 약

개비자 나무 추출물을 2종의 유방암 세포주(SCC-1395와 SK-BR-3)를 이용하여 MTT 활성 분석을 수행하였다. RPMI-1640 배지에 10% FBS과 1%의 penicillin-streptomycin 혼합용액을 사용하였으며, MTT을 농도로 PBS에 녹여 사용하였다. SK-BR-3 세포주가 개비자 나무 추출물과 HHT(homoharringtonine)에 대하여 SCC-1395에 비하여 민감성이 높은 것으로 나타났다. 개비자 나무의 추출시 응집제로 처리하고 건조 후 에탄올 추출물은 건조 후 에탄올 추출물에 비하여 SCC-1395 세포주가 높은 활성을 보였으며 SK-BR-3를 이용한 항암분석에서도 동일한 결과를 얻을 수 있었다.

#### Abstract

This study was designed to investigate the cytotoxic effect of *Cephaexis koreana* on human breast cancer cell lines (SCC-1395 and SK-BR-3) using MTT(3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide) assay. RPMI-1640 medium with 10% FBS and 1% of penicillin-streptomycin was used. The ethanol extract of *Cephaexis koreana* after adsorption resin treatment showed higher anticancer activity against SCC-1395 than the ethanol extract of *Cephaexis koreana* without adsorption resin treatment. SK-BR-3 showed higher sensitivity activity than SCC-1395 at the same concentration of 20000 ppm.

Key Words : MTT, Homoharringtonine(HHT)

## 1. 개 요

암 발생률과 관련하여 식이 요인의 중요성이 대두되면서 발암원인 물질의 검색과 함께 일상에서 섭취하는 식품 중에서 항암제로 이용할 수 있는 물질이 활발히 연구되고 있다[1]. 개비자나무, 황벽나무와 같이 목본 식물에 속한 개비자나무는 현재 항암물질인 homoharringtonine을 함유하며 계절에 따른 생리활성물질인 알칼로이드가 확인되었다[2].

개비자나무 추출물인 homoharringtonine은 항암물질은 기존 항암제에 비해 물에 대한 용해도가 높고, 효능이 높아 차세대 항암제로 주목되고 있다. 개비자 나무는 국내 북위 38도 이상의 설악산, 오대산, 주왕산, 태안반도와 치악산을 제외한 국내 모든 주요산에 분포한다[2]. 개비자 나무의 기능성 식품소재 및 각종 응용제품에 대한 연구개발은 아직 미흡한 단계에 있다. 또한 개비자 나무에 대해서는 항암 효과에 대한 연구가 거의 없는 실정이므로 본 연구에서는 MIT법을 이용하여 개비자 나무의 추출물이 유방암 세포주에 대한 세포 독성을 검토하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 재료 및 시약

실험에 사용한 개비자나무 추출물은 공주대에서 제공 받아 사용하였고 RPMI1640, penicillin, streptomycin과 trypsin은 Gibco Laboratories Life Technologies Inc.(Canada)에서 구입하였다. 인체 유방암 세포주(SCC-1395와 SK-BR-3)는 한국 세포주 은행(서울 의과 대학 소속)에서 분양 받았다. fetal bovine serum(FBS), (3-[4,5-dimethylthiazol 2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide(MIT) 와 dimethyl sulfoxide(DMSO)는 Sigma Chemical Co. (USA)로부터 구입하였다.

### 시료 조제

공주대학교로부터 제공받은 개비자 나무 추출물 2종 중 Extract I 은 건조 후 에탄올에 1:8로 추출한 물질이며, Extract II는 용집제는 P-1, mizuka life Chemical Co.( Japan)를 사용한 뒤 에탄올에 1:8로 추출한 물질이었다.

세포 배양 및 처리  
세포주는 RPMI1640 조직배지에서 FBS (Gibco) 10%를 첨가하고 penicillin과 streptomycin이 각각 10,000 unit/mL와 10 mg/mL 섞인 배양액을 사용하여 37°C에서 CO<sub>2</sub> 농도가 5%로 조절되는 CO<sub>2</sub> incubator(Forma, Germany)에서 배양하였다. 세포를 배양용기에서 분리하기 위한 trypsin용액으로 trypsin(10,000 unit/mg)을 0.05%(w/v)되도록 용해하고 EDTA(0.53 mM)가 첨가된 것을 사용하였고 배양 세포의 세척 등에는 PBS를 사용하였다. 세포주 독성 실험은 활성을 가지는 시료를 MIT[3]으로 측정하였다. MIT 용액은 phosphate buffer saline(PBS) 0.1%에 2 mg/mL의 농도로 MIT를 용해한 것을 사용하였다. 상기의 방법에 의해 조절된 탐색 시료 20  $\mu$ l를 96-microwell plate에 미리 24 시간 배양된 세포 배양액 180  $\mu$ l에 가한다. 첨가하여 4시간 더 배양하고 배지를 흡인, 제거한 다음 살아있는 세포에 의해 MIT로부터 생성되는 formazan crystal을 용해시키는데 사용하는 DMSO를 200  $\mu$ l/well씩 가하고 plate-mixer에서 잘 교반하여 침전물을 완전히 용해하였다. 각 well의 흡광도는 570 nm에서 micro plate reader(ELISA, Japan)를 사용하여 측정하였다.

## 3. 결과 및 고찰

MIT분석법은 살아 있는 세포가 미토콘드리아의 탈수소 효소를 이용하여 MIT를 환원시켜 분광광도계법으로 측정이 가능한 청색의 formazan 결정을 형성하는 특성을 이용한 방법으로서 포유 동물세포의 세포주에서 Mitogen에 의한 증식도를 분석하기 위하여 고안되었으나 최근에는 종양세포주의 항암제에 대한 감수성의 평가방

법으로 수정되어 사용되고 있다[4]. 각 well에 존재하는 살아 있는 cell 수와 비례한다. HHT(Homoharringtonine)를 양성대조군으로 하여 비교 하였다. 증류수(DW)와 DMSO에 각각 시료를 20000 ppm이 되도록 녹였으며, HHT는 100 ppm이 되도록 녹였다. Fig. 1에서 보는 바와 같이 Extract I에 비해 Extract II가 SCC-1395에 대하여 감수성이 높은 것으로 나타났으며 증류수(DW)에 시료를 녹여 대조군으로 사용하 것에 비하여 DMSO에 시료를 녹여 대조군으로 사용한 경우에는 용매에 의한 세포독성(cytotoxicity)가 다소 있는 것으로 판단되었다. 양성대조군으로 사용한 HHT는 높은 세포 독성을 나타내지 않는 것으로 나타났다. 유방암 세포주를 SK-BR-3으로 달리한 실험 Fig. 2에서도 SCC-1395 세포주에서와 유사하게 DMSO가 세포독성을 나타냈으며, 또한 Extract II가 Extract I보다 감수성이 높은 것으로 나타났다. 양성대조군 또한 세포독성을 나타냈지만, 개비자나무 추출물에 비하여 높지 않은 활성을 보였다.

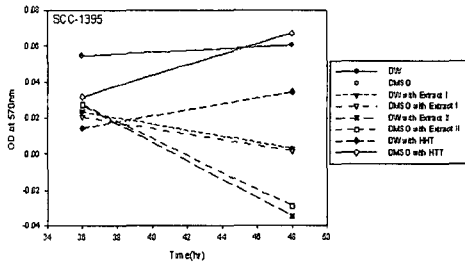


Fig. 1 MTT assay of various extract using SCC-1395 cell line.

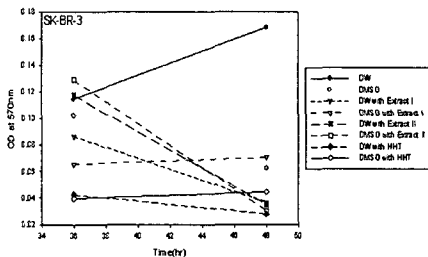


Fig. 2 MTT assay of various extract using SK-BR-3 cell line.

Fig. 1와 Fig. 2의 결과를 상대증식률(Relative proliferation, %) Fig. 3와 Fig. 4에서 보는 바와 같다. 증류수(DW)와 DMSO에 각각 녹인 추출물 중 Extract II는 SCC-1395 세포주에서 Extract I에 비하여 높은 활성을 보였으며 SK-BR-3를 이용한 항암 분석에서도 동일한 결과를 얻을 수 있었다.

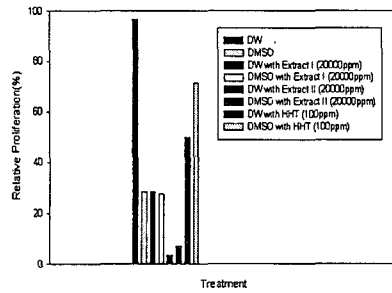


Fig. 3 Relative proliferation rate by various treatments using SCC-1395.

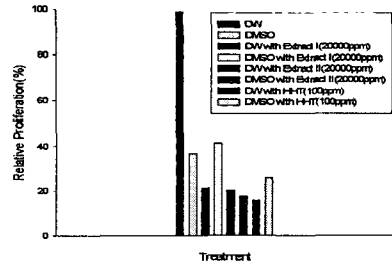


Fig. 4 Relative proliferation rate by various treatments using SK-BR-3.

Fig. 3과 Fig. 4를 비교한 결과 SK-BR-3 세포주가 개비자 나무 추출물과 HHT에 대하여 SCC-1395에 비하여 민감성이 높은 것으로 나왔다.

#### 4. 참고문헌

- [1]. Weisburger JH. 1965. On the etiology of gastro-intestinal tract cancers, with emphasis on dietary factory factors in emmelot, krick. In *Environmental Carcinogenesis*, Elsevier/Noth-Holland/Biochemical Press, Amsterdam. p215-240.
- [2]. Rho SN, Han JH. 2000. Cytotoxicity of garlic and onion methanol extract on human lung cancer cell lines, *J Korean Soc Food Sci Nutr* 29: 870-874.
- [3]. Park IW. 1993. Detection of mutations and human papillomavirus in human primary lung carcinoma by immunohistochemistry and ISH using biotinylated probes in paraffin embedded specimens, M.S. Thesis, Chung-Ang University.
- [4]. Chung DH. 1998. Biological activity of food, Seonjnmunhwasa, Seoul. p 72-74