

키토산이 암세포 성장에 미치는 효과

정양숙 · 김광혁* · 정영기¹ · 장명웅

고신대학교 의과대학 미생물학교실, ¹동의대학교 자연과학대학 생명응용과학과

Received August 12, 2003 / Accepted January 17, 2004

Effects of Chitosan on Anti-tumor Activity in Mice. Yang Sook Chung, Kwang Hyuk Kim*, Yong Kee Jeong¹ and Myung Woong Chang. *Dept. of Microbiology, Kosin Medical College, Busan 602-702, Korea, ¹Dept. of Microbiology, Dong-Eui University, Busan 614-714, Korea* – Cytotoxic anticancer chemotherapeutic agents generally produce severe side effects, while reducing host resistance to cancer and infections, especially through the destruction of lymphoid and bone marrow cells. In this study, we have investigated the effect of chitosan on cytotoxic activity against cancer cells and life span in mice. The direct cytotoxicity of chitosan or chitosan-combined chemotherapeutic agents for tumor cells was observed. In addition, the effect of life span extension was counted on sarcoma 180 mice injected with chitosan-combined mitomycin C. The effect of growth inhibition for cancer cells, K562 and Yac-1 was shown in the cytotoxicity test of chitosan or chitosan-combined chemotherapeutic agents. Also, the effect of life span extension was observed on sarcoma 180 mice injected with chitosan-combined mitomycin C. Our results suggest that life span extension in sarcoma 180 mice exposed with chitosan-combined chemotherapeutic agents showed the probability of its usefulness for cancer therapy if more research results were accumulated.

Key words – Chitosan, Cytotoxicity, Life span

키토산은 갑각류의 껍질 등에 존재하는 자연물질인 키틴이 탈 아세틸화되어 나타나는 양이온성의 다당류이다. 키틴은 게, 새우등의 갑각류 껍질, 연체류의 껍질과 근육, 곤충류, 버섯류, 사상균의 세포벽 등에 존재하는 N-acetyl-D-glucosamine의 중합체이다. 키토산은 자연의 다른 다당류와 비교하였을 때 독성이 낮고 사람에게 자극적이거나 알러젠으로서 작용하지 않는다. 키토산은 항캔디다 혹은 항바이러스 활성을 통하여 상처치유에 관계하는 것으로 보고 되고 있으며 키토산 부유 액이나 입자들은 면역학적 자극 능력을 발휘하여 대식세포나 다핵구의 활성화와 축적, 암세포의 성장억제, 미생물에 의한 감염에 대하여 저항성항진, 사이토카인의 유도, 항체반응의 증강, 지연형 과민반응의 증가, 세포독성 T 림프구의 반응을 항진시키는 등의 효과를 나타내고 있다[4,6,12,16-19,23-27]. 근래에 키토산이 암 화학요법제의 항암 활성을 증강시키거나 암 화학요법제로 인한 부작용을 막을 가능성이 제기되고 있다[1,3,7,8,10,14,17,20].

암 연구의 주된 목표는 외과적 처리를 통해서 재발을 완전히 막는 것과 생존기간을 연장시키는 데 있다. 세포독성을 나타내는 항암 화학요법제는 일반적으로 극심한 부작용을 나타내어 환자의 림프 혹은 골수세포가 파괴당함으로서 암과 감염에 대한 저항력의 저하를 보여주게 된다. 결과적으로 많은 암 환자들이 암 그 자체보다는 이차질환인 폐렴, 패혈증, 요독증 등의 질환으로 사망한다. 대부분의 항암 화학요

법제는 암 환자의 생명을 연장시키는 데에 기여하지 못하고 많은 부작용들을 유발시키고 있다. 따라서 비 독성의 새로운 항암제의 발견이 필요하다.

Suzuki 등[22]은 키틴 유도체인 hexa-N-acetylchitohexose와 chitohexase를 ddY마우스 정맥 내 투여하였을 시 마우스 sarcoma 180고형암세포의 성장이 각각 85%와 93%까지 억제됨을 발견하였다. Kimura 등[9]은 마우스를 이용한 실험을 통하여 키토산을 작용시킴으로서 항암제인 5-fluorouracil (5-FU)의 항암력에 손상을 주지 않으면서 5-FU에 의해서 나타나는 부작용인 면역기능손상, 골수세포손상, 위장장애 등이 약화됨을 관찰하였는데 이는 키토산이 소장이나 비장에서 5-FU의 흡수를 부분적이거나 선택적으로 차단하기 때문이라고 보고하고 있다. Miwa 등[15]은 세포에 항암제인 paclitaxel (taxol)을 작용시킬 때 N-lauryl-carboxymethyl-chitosan (LCC)을 캐리어로 함께 작용시키면 taxol 단독일 때보다 세포억제활성면에서 더 효과적임을 관찰하여 LCC가 taxol의 캐리어로서 이용될 수 있음을 제시하였다. Shikata 등[20]은 암치료에 사용되는 gadolinium (Gd)을 L929마우스 섬유아 세포에 작용시킬 때 키토산 소립자에 장전시켜 작용시키면 세포에 대한 약제친화력이 상승됨을 관찰하였다. 이러한 결과는 암조직에 Gd를 장시간 정체케 하여 암세포 성장을 유의하게 억제시킬 것이라 하였다. Hasegawa 등[3]은 키토산으로 처리된 암세포에서는 caspase-3와 유사한 활성이 올라가고 아포토시스의 특징인 핵산절편을 관찰하여 키토산이 암 치료에 유용하게 쓰일 수 있음을 제시한 바 있다.

본 연구에서는 키토산이 암세포에 미치는 효과를 보기 위

***Corresponding author**

Tel : +82-51-990-6422, Fax : +82-51-990-3081

E-mail : ghkim@ns.kosinmed.or.kr

하여 암세포에 대한 세포독성효과, 키토산을 기존 항암제와 함께 사용하였을 때의 암세포에 대한 세포독성효과 및 암마우스에 대한 생명연장 효과의 변화를 관찰하여 암 치료 가능성의 조사를 목적으로 한다.

재료 및 방법

연구재료

1) 실험동물

암컷 BALB/c 마우스로서 생후 8주 내외, 체중 25 g 내외의 것을 한국 효창 사이언스(대구, 경북)로부터 구입하여 실험에 사용하였다.

2) 복수암세포

Sarcoma 180 세포는 한국생명공학센터에서 구입하여 BALB/c 마우스의 복강 내에 일주일 간격으로 암세포 부유액(1×10^6 cells/ml) 1 ml씩을 접종하여 계대 배양하면서 수거한 암세포를 사용하였다.

3) 시약

수용성 고분자 키토산(탈아세틸화한 N-acetyl-D-glucosamine polymer, 평균분자량 200,000-1,000,000)은 우리바이오텍사(포천, 경기)의 제품을 사용하였고, mitomycin C는 Kyowa Hakko Kogyo Co. (Japan), cis-platinum (II) diamine dichloride (cisplatin)은 보령제약(안산, 경기), 5-fluorouracil은 Sigma Co. (USA)의 제품을 사용하였다.

연구방법

1) 암세포에 대한 세포독성효과

사람 erythroleukemia 유래의 세포주인 K562세포와 마우스 T lymphoma 세포인 Yac-1세포를 각각 25 cm² 플라스틱 플라스크(Falcon, Oxnard, U.S.A.)에서 10% 우태아혈청(fetal calf serum, FCS, Boehringer Mannheim, Mannheim, Germany), 2 mM L-glutamine (Gibco, Grand Island, U.S.A.), 100 IU/ml penicillin, 100 mg/ml streptomycin, 0.25 µg/ml amphotericin B (Gibco, Grand Island, USA)를 포함시킨 RPMI 1640 배지(complete RPMI 1640)로 부유 배양시켜 유지시켰다. 상기의 세포들을 96 wells plate에 well당 10,000개 (0.2 ml) 씩 분주하고 키토산 단독처리의 경우 3, 10, 30 µg만을 투여하였으며 여기에 기존항암제인 mitomycin C 0.1, cisplatin 0.2, 5-fluorouracil 1.0 µg을 추가하여 복합작용의 효과를 보았다. 약제를 작용시킨 후 plate는 5% CO₂, 37°C 그리고 충분한 습도가 유지되고 있는 배양기에 3일 동안 배양하였다. 배양 후에 plate의 각 well에 MTT(PBS 1 ml 당 5 mg의 3-(4,5-dimethyl-thiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide)액 10 µL씩을 적하하고 4.5시간 추가 배양하였다.

시간이 경과된 후 10% SDS-0.02 M HCl액 25 µL씩을 well에 적하하여 실온과 암실조건에서 하룻밤 방치하였다. Optical density (OD)는 microplate reader (Model 550 microplate reader, Bio-Rad, Richmond, USA)를 이용하여 540 nm에서 측정하였다.

2) 생명연장효과

Sarcoma 180 세포를 PBS에 부유시킨 세포 부유액(1×10^6 /ml) 1 ml씩을 마우스 복강 내에 주사하고 24시간 경과시킨 후 키토산 250 µg과 mitomycin C 250, 125, 25 µg을 복강 내로 복합투여하고 일주일일 경과 후 상기의 약제를 2차 투여하였다. 마우스의 생사는 매일 관찰하였으며 100일 동안 관찰하였다.

3) 통계학적 분석

실험성적은 평균 또는 평균±표준편차로 나타냈으며 각 군간의 통계학적 검정에는 Student's t-test를 사용하고 P값이 0.05 미만일 때 유의 있는 차로 간주하였다

결 과

암세포 K562에 대한 세포독성효과

K562세포에 키토산을 노출시킨 후 나타나는 세포독성효과는 비 노출군인 대조군에 비하여 OD상의 감소를 보임으로서 *in vitro*에서의 시료노출에 의한 세포독성효과를 나타냈다. 즉, 세포독성은 K562세포(1×10^4)에 ml당 시료를 3, 10, 30 µg 작용시켰을 때 각각 5.16, 5.35, 5.23을 나타낸 반면 대조군에서는 6.19를 나타냄으로서 통계학적 유의성을 보였다 ($P < 0.01$)(Fig. 1). K562세포에 항암제 mitomycin C를 작용시켰을 때는 4.99를 나타냈으며 mitomycin C와 함께 키토산을

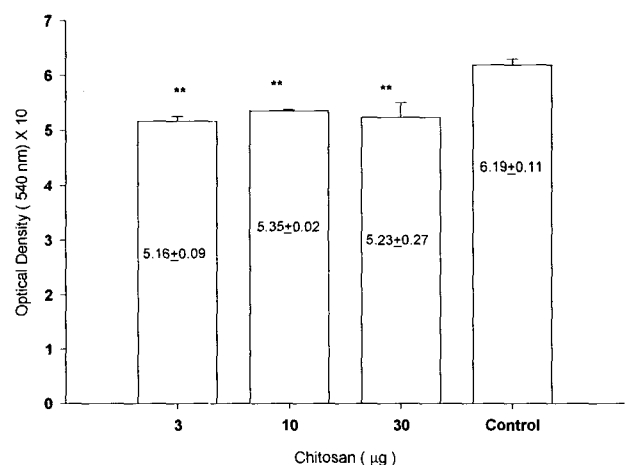


Fig. 1. Cytotoxic effect of chitosan on K562 cells. Cytotoxicity was determined as described in Materials and Methods. Values are given as the mean±SD of triplicate cultures of one representative experiment. ** $P < 0.01$ compared to corresponding control (PBS alone).

상기와 동량 작용시켰을 때 4.38, 4.74, 4.69를 나타내어 키토산에 의한 세포독성의 상승효과를 보였다. K562세포에 항암제 cisplatin을 작용시켰을 때는 4.99를 나타냈으며 cisplatin과 함께 키토산을 상기와 동량 작용시켰을 때 4.91, 4.72, 4.95를 나타내어 키토산에 의한 세포독성의 상승효과가 모든 농도에서 나타났지만 유의성은 키토산 10 µg군에서만 나타났다. K562세포에 항암제 5-FU를 작용시켰을 때는 5.95를 나타냈으며 5-FU와 함께 키토산을 상기와 동량 작용시켰을 때 4.97, 4.99, 5.12를 나타내어 모든 군들에서 유의하게 세포독성의 상승효과를 보였다(Table 1).

암세포 Yac-1에 대한 세포독성효과

Yac-1세포에 키토산을 노출시킨 후 나타나는 세포독성효과는 비 노출군인 대조군에 비하여 OD상의 감소를 보임으로서 *in vitro*에서의 시료노출에 의한 세포독성효과를 나타냈다. 즉, 세포독성은 Yac-1세포(1×10^4)에 ml당 시료를 3, 10, 30 µg 작용시켰을 때 각각 5.96, 5.06, 5.36을 나타낸 반면 대조군에서는 6.13을 나타냄으로서 10, 30 µg군들에서 통계학적 유의성을 보였다($P < 0.01$)(Fig. 2). Yac-1세포에 항암제 mitomycin C를 작용시켰을 때는 2.65를 나타냈으며 mitomycin C와 함께 키토산을 상기와 동량 작용시켰을 때 2.53, 2.57, 2.49를 나타내어 키토산에 의한 세포독성의 상승효과를 보였다($P < 0.01, 0.05$). Yac-1세포에 항암제 cisplatin을 작용시켰을 때는 5.31을 나타냈으며 cisplatin과 함께 키토산을 상기와 동량 작용시켰을 때 5.38, 4.92, 4.80을 나타내어 키토산에

Table 1. Cytotoxic effect of chemotherapeutic agents and chitosan on K562 cells

Agents	Optical density (540 nm) × 10
Mitomycin C, 0.1 µg	4.99 ± 0.14
Mitomycin C, 0.1 µg + Chitosan, 3 µg	4.38 ± 0.05**
Mitomycin C, 0.1 µg + Chitosan, 10 µg	4.74 ± 0.06*
Mitomycin C, 0.1 µg + Chitosan, 30 µg	4.69 ± 0.15*
Cisplatin, 0.2 µg	4.99 ± 0.14
Cisplatin, 0.2 µg + Chitosan, 3 µg	4.91 ± 0.17
Cisplatin, 0.2 µg + Chitosan, 10 µg	4.72 ± 0.07*
Cisplatin, 0.2 µg + Chitosan, 30 µg	4.95 ± 0.15
5-fluorouracil, 1 µg	5.95 ± 0.09
5-fluorouracil, 1 µg + Chitosan, 3 µg	4.97 ± 0.13**
5-fluorouracil, 1 µg + Chitosan, 10 µg	4.99 ± 0.11**
5-fluorouracil, 1 µg + Chitosan, 30 µg	5.12 ± 0.15**
Control	6.19 ± 0.11

K562 cells were exposed with chemotherapeutic agents and chitosan for 72 hrs. Cytotoxicity was determined as described in Materials and Methods. Data are mean ± SD. * $P < 0.05$ and ** $P < 0.01$ compared to chemotherapeutic agent only group, respectively.

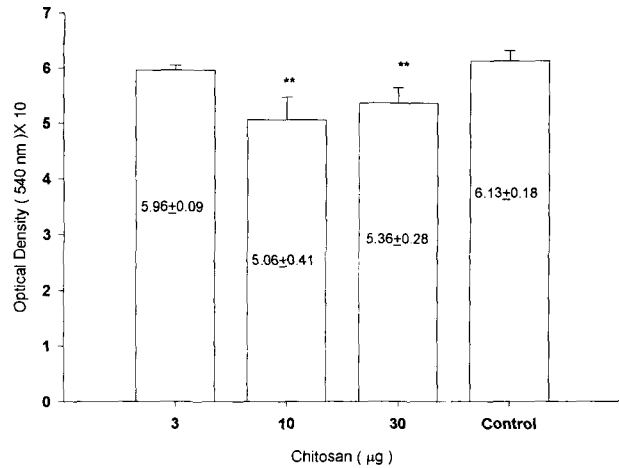


Fig. 2. Cytotoxic effect of chitosan on Yac-1 cells. Cytotoxicity was determined as described in Materials and Methods. Values are given as the mean ± SD of triplicate cultures of one representative experiment. ** $P < 0.01$ compared to corresponding control (PBS alone).

의한 세포독성의 상승효과가 10 µg이상의 농도에서 나타났($P < 0.01$). Yac-1세포에 항암제 5-FU를 작용시켰을 때는 4.10을 나타냈으며 5-FU와 함께 키토산을 상기와 동량 작용시켰을 때 3.97, 3.93, 3.73을 나타내어 30 µg 군에서만 세포독성의 유의한 상승효과를 보였다($P < 0.01$)(Table 2).

***In vivo* 시료노출에 따른 S180마우스의 생명연장효과**

S180암세포가 이입된 마우스(S180 마우스)의 복강 내로

Table 2. Cytotoxic effect of chemotherapeutic agents and chitosan on Yac-1 cells

Agents	Optical density (540 nm) × 10
Mitomycin C, 0.1 µg	2.65 ± 0.66
Mitomycin C, 0.1 µg + Chitosan, 3 µg	2.53 ± 0.02**
Mitomycin C, 0.1 µg + Chitosan, 10 µg	2.57 ± 0.02*
Mitomycin C, 0.1 µg + Chitosan, 30 µg	2.49 ± 0.01**
Cisplatin, 0.2 µg	5.31 ± 0.6
Cisplatin, 0.2 µg + Chitosan, 3 µg	5.38 ± 0.12
Cisplatin, 0.2 µg + Chitosan, 10 µg	4.92 ± 0.16**
Cisplatin, 0.2 µg + Chitosan, 30 µg	4.80 ± 0.17**
5-fluorouracil, 1 µg	4.10 ± 0.11
5-fluorouracil, 1 µg + Chitosan, 3 µg	3.97 ± 0.10
5-fluorouracil, 1 µg + Chitosan, 10 µg	3.93 ± 0.12
5-fluorouracil, 1 µg + Chitosan, 30 µg	3.73 ± 0.11**
Control	6.13 ± 0.18

Yac-1 cells were exposed with chemotherapeutic agents and chitosan for 72 hrs. Cytotoxicity was determined as described in Materials and Methods. Data are mean ± SD. * $P < 0.05$ and ** $P < 0.01$ compared to chemotherapeutic agent only group, respectively.

키토산 250 µg만을 투여한 후의 마우스 평균생존일수는 키토산 비 노출군인 S180마우스 대조군에 비하여 단축되었으며 mitomycin C 25 µg만을 투여한 군과 여기에 키토산 250 µg을 혼합하여 투여한 군에서는 연장효과를 보였다. 즉, 대조군이 25.20일 인데 비하여 키토산만의 투여 군은 15.63일을 나타냈으며 mitomycin C만의 투여 군은 31.70일을 나타냈고 혼합 투여 군은 31.20일 나타냈다. 따라서 mitomycin C에 대한 키토산의 생명연장효과는 나타나지 않았다. mitomycin C 125 µg만을 투여한 군에서는 평균생존일수가 44.20일인 반면 mitomycin C 125 µg + 키토산 250 µg군에서는 58.50일로 나타남으로서 키토산에 의한 유의한 생명연장효과를 보였다 (P<0.01). mitomycin C 250 µg만을 투여한 군에서는 평균생존일수가 40.56일인 반면 mitomycin C 250 µg + 키토산 250 µg군에서는 39.89일로 나타남으로서 키토산에 의한 생명연장효과를 보이지 않았다. 각 군별 생존일수가 100일 이상인 마우스의 수는 키토산 250 µg군이 2, mitomycin C 125 µg군이 5, mitomycin C 125 µg + 키토산 250 µg군이 4, mitomycin C 250 µg군이 1, mitomycin C 250 µg + 키토산 250 µg군이 1마리로 나타났다(Table 3).

고 찰

보조식품으로서의 키토산은 지질과 결합할 수 있는 능력 때문에 장내에서 지질의 흡수를 낮추고 혈장 콜레스테롤과 트리글리세라이드를 줄이는 장점이 있는 반면 혈장 내 비타민 E의 수준을 낮춘다[11]. 또한 식이 키토산이 항 세균 혹은 항 이스트의 작용을 나타냄으로서 상처에서 감염을 막지만 오랜 기간의 섭취는 장내 정상 세균 층에 변화를 줌으로서 저항성병원체의 성장에 영향을 끼칠 가능성이 있다.

Hagiwara 등[2]은 마우스에 암세포를 복강 내로 투여한지 24시간 후에 mitomycin C를 복강 내로 투여할 때 mitomycin C와 활성탄소를 함께 투여함으로써 암 마우스의 생존일수를 2배 이상 연장할 수 있었고 이는 활성탄소에 의해서

mitomycin C의 치료효율을 상승시킨 결과였다. Kyotani 등 [13]은 가토의 간암실험모델을 이용한 실험에서 암세포의 성장률이 키토산으로 처리된 항암제의 투여 때가 항암제 단독의 투여 때보다 유의하게 낮음을 관찰하였다. Song 등[21]은 쥐 실험에서 mitomycin C와 N-succinyl-chitosan의 복합체가 B16 melanoma에 대한 탁월한 성장억제효과를 보였음을 보고하였다. Mitra 등[14]은 암요법에 이용되는 doxorubicin의 부작용을 줄이기 위하여 키토산 나노 입자와 함께 투여하면 약제의 부작용도 감소시킬 뿐만 아니라 치료효율도 상승시킬 수 있음을 보그하였다.

본 실험에서는 시험관내에서 사람 암세포 K562에 대한 키토산의 직접적인 세포성장 저해 능력을 보기 위한 실험에서 유의성 있는 저해능을 보였으며 키토산의 농도에 따른 차이는 보이지 않았다. 즉, 낮은 농도에서도 효과를 나타냈으며 농도를 올려도 저해 능의 상승을 볼 수 없었다(Fig. 1). 기존으로 항암요법에서 사용되고 있는 약제와 복합으로 키토산을 작용시켰을 때의 암세포 성장 억제능을 보기 위하여 K562세포에 mitomycin C와 키토산을 함께 작용시켰다. mitomycin C 단독작용에 비하여 키토산을 포함시킨 mitomycin C군들에서 유의하게 성장 억제능을 나타냈다. 그러나 억제 능의 정도는 낮은 농도의 키토산 복합군에서 그 효과가 더 크게 나타났다. cisplatin과 키토산의 복합투여의 경우 너무 낮은 농도나 높은 농도에서는 cisplatin 단독 투여 군에 비하여 별다른 차이를 보이지 않았지만 일정 적정농도(10 µg/ml)에서는 억제능이 유의하게 상승하였다. 5-FU와 키토산의 복합투여의 경우 모든 농도의 키토산 투여군에서 5-FU 단독 투여군에 비하여 억제 능의 유의한 상승을 보였지만 비교적 키토산의 농도가 낮은 군들에서 그 효과 더 크게 나타났다(Table 1).

시험관내에서 마우스 암세포 Yac-1에 대한 키토산의 직접적인 세포 성장 저해 능력을 보기 위한 실험에서 일정농도(10 µg/ml) 이상에서 유의성 있는 저해능을 보였다. 즉, 낮은 농도에서는 효과를 나타내지 않았으며 농도를 올렸을 경우 저해능의 상승을 볼 수 있었다(Fig. 2). 상기와 마찬가지로 기존

Table 3. Life span in S180-mice exposed with mitomycin C and chitosan

Agents	Mean survival days	>100 days (No. of mice)
Mitomycin C, 25 µg	31.70±5.07	0
Mitomycin C, 25 µg + Chitosan, 250 µg	31.20±7.25	0
Mitomycin C, 125 µg	44.20±5.87	5
Mitomycin C, 125 µg + Chitosan, 250 µg	58.50±4.07**	4
Mitomycin C, 250 µg	40.56±4.75	1
Mitomycin C, 250 µg + Chitosan, 250 µg	39.89±7.47	1
Chitosan, 250 µg	15.63±3.70	2
Control	25.20±5.79	0

Sarcoma 180-mice were injected with mitomycin C +chitosan, mitomycin C, and chitosan each. Data are mean±SD. **P<0.01 compared with mitomycin C each group.

으로 항암요법에서 사용되고 있는 약제와 복합으로 키토산을 작용시켰을 때의 암세포 성장 억제 능을 보기 위하여 Yac-1세포에 mitomycin C와 키토산을 함께 작용시켰다. mitomycin C 단독작용에 비하여 키토산을 포함시킨 mitomycin C 군들에서는 키토산의 농도가 높을 때 성장 억제 능이 높게 나타났다. cisplatin과 키토산의 복합투여의 경우 키토산의 농도에 의존하여 억제능의 상승을 보였다. 5-FU와 키토산의 복합투여의 경우 높은 농도의 키토산 투여 군에서만 cisplatin 단독 투여 군에 비하여 억제능의 유의한 상승을 보였다(Table 2).

기존의 항 암 요법제와 복합으로 키토산을 작용시켰을 때 sarcoma 180마우스의 생명연장효과를 본 실험에서 키토산 단독의 투여 군은 대조군보다 생존일수가 더 줄어드는 것을 볼 수 있었지만 100일 이상 살아남는 마우스가 대조군에서는 없는데 비하여 2마리가 살아 남았다. Mitomycin C, 25 µg과 키토산을 복합투여한 군은 mitomycin C 단독투여군과 생존일수에 별 차이를 나타내지 않았다. Mitomycin C, 125 µg과 키토산을 복합 투여한 군은 mitomycin C 단독 투여 군에 비하여 유의한 생명연장효과를 나타냈고 100일 이상 살아남는 마우스가 Mitomycin C 단독 투여 군에서 5마리인데 비하여 복합 투여 군에서 4마리였다. Mitomycin C, 250 µg과 키토산을 복합 투여한 군은 Mitomycin C 단독 투여 군과 생존일수 및 100일 이상 살아남는 마우스에 별 차이를 나타내지 않았다. Mitomycin C, 125 µg과 키토산을 복합 투여한 군에서 생명연장효과를 보임으로서 복합 투여시 적정농도가 존재함을 알 수 있다(Table 3).

요 약

본 연구에서는 키토산이 암세포에 미치는 효과를 보기 위하여 암세포에 대한 세포독성효과, 키토산을 기존 항암제와 함께 사용하였을 때의 암세포에 대한 세포독성효과 및 암마우스에 대한 생명연장 효과의 변화를 관찰하여 암 치료 가능성을 조사하고자 하였다. 암세포인 K562세포나 Yac-1세포에 키토산을 단독으로 작용시켰을 때 암세포성장억제효과를, 기존항암제(mitomycin C, cisplatin, 5-fluorouracil)와 복합으로 작용시켰을 때 암세포성장억제효과의 상승효과를 보이고 암 마우스에서 키토산을 기존항암제와 복합으로 투여한 결과 생명연장효과를 보였다. 따라서 이러한 결과들은 앞으로의 추가적인 연구결과들이 있게 되면 임상에서의 암 치료에 키토산의 이용가능성을 시사한다 하겠다.

감사의 글

본 연구의 수행에는 2001년도 고신대학교 의학부 연구비에 의한 일부 지원이 있었으며 이에 감사를 드립니다.

참 고 문 헌

- Eroglu, M., S. Irmak, A. Acar and E.B. Denkbaz. 2002. Design and evaluation of a mucoadhesive therapeutic agent delivery system for postoperative chemotherapy in superficial bladder cancer. *Int. J. Pharm.* **235**, 51-59.
- Hagiwara, A., T. Takahashi, T. Ueda and Y. Nakagawa. 1987. Enhanced anticancer efficacy by use of mitomycin C adsorbed on small activated carbon particles in mice. *Jpn. J. Cancer Res.* **78**, 405-408.
- Hasegawa, M., K. Yagi, S. and Iwakawa, M. Hirai. 2001. Chitosan induces apoptosis via caspase-3 activation in bladder tumor cells. *Jpn. J. Cancer Res.* **92**, 459-466.
- Howling, G. I., P. W. Dettmar, P.A. Goddard, F. C. Hampson, M. Dornish and E. J. Wood. 2001. The effect of chitin and chitosan on the proliferation of human skin fibroblasts and keratinocytes *in vitro*. *Biomaterials* **22**, 2959-2966.
- Iqbal, M., W. Lin, I. Jabbal-Gill, S. S. Davis, M. W. Steward and L. Illum. 2002. Nasal delivery of chitosan-DNA plasmid expressing epitopes of respiratory syncytial virus (RSV) induces protective CTL responses in BALB/c mice. Article in press. *Vaccine* **3585**, 1-8.
- Kas, H.S. 1997. Chitosan: properties, preparations and application to microparticulate systems. *J. Microencapsul.* **14**, 689-711.
- Kato, Y., H. Onishi and Y. Machida. 2002. Efficacy of lactosaminated and intact N-succinyl-chitosan-mitomycin C conjugates against M5076 liver metastatic cancer. *J. Pharm. Pharmacol.* **54**, 529-537.
- Kato, Y., H. Onishi and Y. Machida. 2001. Lactosaminated and intact N-succinyl-chitosans as drug carriers in liver metastasis. *Int. J. Pharm.* **226**, 93-106.
- Kimura, Y. and H. Okuda. 1999. Prevention by chitosan of myelotoxicity, gastrointestinal toxicity and immunocompetent organic toxicity induced by 5-fluorouracil without loss of antitumor activity in mice. *Jpn. J. Cancer Res.* **90**, 765-774.
- Kimura, Y., N. Sawai and H. Okuda. 2001. Antitumor activity and adverse reactions of combined treatment with chitosan and doxorubicin in tumor-bearing mice. *J. Pharmacol.* **53**, 1373-1378.
- Koide, S. S. 1998. Chitin-chitosan: properties, benefits, and risks. *Nutrition Res.* **18**, 1091-1101.
- Kosaka, T., Y. Kaneko, Y. Nakada, M. Matsuura and S. Tanaka. 1996. Effect of chitosan implantation on activation of canine macrophages and polymorphonuclear cells after surgical stress. *J. Vet. Med. Sci.* **58**, 963-967.
- Kyotani, S., Y. Nishioka, M. Okamura, T. Tanaka, M. Miyazaki, S. Ohnishi, Y. Yamamoto, K. Ito, T. Ogiso and S. Tanaka. 1992. A study of embolizing materials for chemo-embolization therapy of hepatocellular carcinoma: antitumor effect of cis-diamminedichloroplatinum (II) albumin microspheres, containing chitin and treated with chitosan on rabbits with VX2 hepatic tumors. *Chem. Pharm. Bull.* **40**, 2814-2816.

14. Mitra, S., U. Gaur, P. C. Ghosh and A. N. Maitra. 2001. Tumor targeted delivery of encapsulated dextran-doxorubicin conjugate using chitosan nanoparticles as carrier. *J. Cont. Rel.* **74**, 317-323.
15. Miwa, A., A. Ishibe, M. Nakano, T. Yamahira, S. Itai, S. Jinno and H. Kawahara. 1998. Development of novel chitosan derivatives as micellar carriers of taxol. *Pharm. Res.* **15**, 1844-1850.
16. Nishimura, K., S. Nishimura, N. Nishi, S. Tokura and I. Azuma. 1990. Effect of chitin heparinoids on the activation of peritoneal macrophages and on the production of monokines in mice. *Mol. Biother.* **2**, 115-120.
17. Pae, H. O., W. G. Seo, N. Y. Kim, G. S. Oh, G. E. Kim, Y. H. Kim, H. J. Kwak, Y. G. Yun, C. D. Jun and H. T. Chung. 2001. Induction of granulocytic differentiation in acute promyelocytic leukemia cells (HL-60) by water-soluble chitosan oligomer. *Leuk. Res.* **25**, 339-346.
18. Peluso, G., O. Petillo, M. Ranieri, M. Santin, L. Ambrosio, D. Calabro, B. Avallone and G. Balsamo. 1994. Chitosan-mediated stimulation of macrophage function. *Biomaterials* **15**, 1215-1220.
19. Seferian, P. G. and M. L. Martinez. 2001. Immune stimulating activity of two new chitosan containing adjuvant formulations. *Vaccine* **19**, 661-668.
20. Shikata, F., H. Tokumitsu, H. Ichikawa and Y. Fukumori. 2002. *In vitro* cellular accumulation of gadolinium incorporated into chitosan nanoparticles designed for neutron-capture therapy of cancer. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **53**, 57-63.
21. Song, Y., H. Onishi and T. Nagai. 1993. Pharmacokinetic characteristics and antitumor activity of the N-succinyl-chitosan-mitomycin C conjugate and the carboxymethyl-chitin-mitomycin C conjugate. *Biol. Pharm. Bull.* **16**, 48-54.
22. Suzuki, K., T. Mikami, Y. Okawa, A. Tokoro, S. Suzuki and M. Suzuki. 1986. Antitumor effect of hexa-N-acetyl-chitohexaose. *Carbohydr. Res.* **151**, 403-408.
23. Takashi, M., O. Masahiro, M. Mitsunobu, U. Keisuke, T. Seiichi, O. Yoshiharu, M. Sabro and F. Toru. 1997. Effect of chitin and its derivatives on the proliferation and cytokine production of fibroblasts in vitro. *Biomaterials* **18**, 947-951.
24. Ueno, H., T. Mori and T. Fujinaga. 2001. Topical formulation and wound healing applications of chitosan. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **52**, 105-115.
25. Usami, Y., Y. Okamoto, S. Minami, A. Matsushashi, N. H. Kumazawa, S. Tanioka and Y. Shigemasa. 1994. Chitin and chitosan induce migration of bovine polymorphonuclear cells. *J. Vet. Med. Sci.* **56**, 761-762.
26. van der Lubben, I. M., G. Kersten, M. M. Fretz, C. Beuvery, J. C. Verhoef and H. E. Junginger. 2002. Chitosan microparticles for mucosal vaccination against diphtheria: oral and nasal efficacy studies in mice. Article in press. *Vaccine* **3600**, 1-9.
27. Westerink, M. A. J., S. L. Smithson, N. Srivastava, J. Blonder, C. Coeshott and G. J. Rosenthal. 2002. Projuvant (Pluronic F127 /chitosan) enhances the immune response to intranasally administered tetanus toxoid. *Vaccine* **20**, 711-723.