

# 갯기름나물의 根과 莖葉의 면역 및 항암 활성 비교 연구

曹 榕 皓

A Comparative Study on the Immunizing and Anti-cancer Effect of the Root  
and the Aerial Part of *Peucedanum Japonicum* Thunb.

Yong Ho Cho

## ABSTRACT

This study compared the activity of the aerial part of *P. japonicum* with its root in order to examine the possibility of the medicinal use of the aerial part, which has not been used as medicine, in substitute for the root that has traditionally been used as medicine. For this purpose, the author measured the proliferation of Human CD4<sup>+</sup> T cells, which are related to immunity, the differentiation of HL-60 cells, and the contents of IL-6, IgE and TNF- $\alpha$  and compared their anti-cancer effect on Hep3B and A549 cells. The results of this study are as follows:

1. As for Human CD4<sup>+</sup> T cells, 1.0 g/ℓ methanol extract from the aerial part promoted the proliferation of the cells 1.8 times higher while 1.0 g/ℓ methanol extract from the root did by 1.76 times higher compared to the control group.
2. As for HL-60 cells, methanol extract and water extract from the aerial part showed differentiation 1.14 times higher and 1.12 times higher respectively while methanol extract and water extract from the root did 1.14 times higher and 1.07 times higher compared to the control group.
3. Cell density was highest on Day 4 of culture in all samples. Methanol extracts from the aerial part and the root showed activities of  $7.9 \times 10^3$  cells/ml and  $7.5 \times 10^3$  cells/ml respectively, and water extracts from the aerial part and the root did activities of  $5.3 \times 10^3$  cells/ml and  $6.1 \times 10^3$  cells/ml.

4. The secretion of IL-6 was highest on Day 4 of culture. Methanol extracts from the aerial part and the root showed secretions of  $6.7 \times 10^{-3}$  pg/cell/ml and  $7.2 \times 10^{-3}$  pg/cell/ml respectively, and water extracts from the aerial part and the root did secretions of as high as  $7.0 \times 10^{-3}$  pg/cell/ml and  $6.0 \times 10^{-3}$  pg/cell/ml.
5. As for the production of IgE, water extract from the root effectively inhibited the product at 1,000  $\mu\text{g/ml}$ , methanol extract from the root at 10  $\mu\text{g/ml}$  and 100  $\mu\text{g/ml}$ , water extract from the aerial at 1000  $\mu\text{g/ml}$ , and methanol extract from the aerial part at 1000  $\mu\text{g/ml}$ .
6. According to the result of measuring the content of TNF- $\alpha$ , methanol extracts from the root and the aerial part showed inhibition effect at 10  $\mu\text{g/ml}$ , 100  $\mu\text{g/ml}$  and 1000  $\mu\text{g/ml}$ .
7. As for liver cancer cell Hep3B, 1.0 g/l methanol extracts from the root and the aerial part showed inhibition effects of 78% and 70% respectively, and 1.0 g/l water extracts from the root and the aerial part did inhibition effects of 56% and 59%.
8. As for lung cancer cell A549, 1.0 g/l methanol extracts from the root and the aerial part showed inhibition effects of 75% and 70% respectively, and 1.0 g/l water extracts from the root and the aerial part did inhibition effects of 48% and 45%.

The results of this study presented above show that the aerial part of *P. japonicum* has immunizing and anti-cancer effects as high as its root, which has commonly been used as medicine. There should be more in-depth research on the aerial part of *P. japonicum* in the future.

---

## 1. 서론

防風은 <神農本草經><sup>1)</sup>上品에 수재되어 있으며,辛甘하고 溫한 性味와 祛風解表 勝濕止痛 止癢의 효능으로 外感風寒으로 인한 頭痛目眩과 周身盡痛 骨節疼痛 四肢攣急 및 風疹癢痒,破傷風 등의 증상을 치료하기 위하여 사용되고 있는 한약재이다.<sup>2-4)</sup> 중국에서 사용되는 한약재 防風은 산형과에 속하는 방풍 *Saposhnikovia divaricata* (Trucz) Schischk.의 뿌리이다.<sup>5)</sup>

우리나라에서 사용하는 갯방풍 *Glehnia littoralis* (A. Gray) Fr. Schmidt ex Miquel과 갯기름나물 *Peucedanum japonicum* Thunb.의 뿌리가 각각 元防風과 植防風으로 유통되고 있으며 이들 약재를 임상에서 防風의 대응으로 사용하고 있다.<sup>9)</sup> 그 중 주로 많이 사용되는 것은 植防風이다.

갯기름나물 *P. japonicum*의 뿌리를 중국에서는 濱海前胡라고 한다.<sup>6)</sup> 주로 동부의 山東, 浙江, 福建省과 臺灣 등지에 분포한다. 性味는 辛寒하며 小毒하고, 肺 膀胱經으로 歸經하며, 淸熱止咳 利尿解毒의 효능으로 肺熱咳嗽 濕熱淋痛 瘡癰紅腫 등의 치료에 사용된다.<sup>6)</sup>

植防風에 관해서는, 현재 우리나라에 유통되고 있는 植防風을 대상으로 지표물질에 대한 품질표준화연구<sup>7)</sup>, 분자유전학적 방법을 이용하여 한국에서 사용되고 있는 元防風과 植防風의 기원식물에 대한 유전자감식에 의한 감별 연구<sup>8)</sup>, 소염에 관한 연구<sup>8)</sup>, 植防風의 파종기, 피복, 재식밀도에 따른 생육과 수량변화에 관한 연구<sup>9)</sup>가 보고 되어있다.

植防風의 경우 우리나라에서의 재배면적과 재배량이 많아지고 있어 농가의 소득 증대와 국산 재배 한약재로서의 가치가 높아져가고 있다. 植防風의 원식물인 갯기름나물의 경우 뿌리인 植防風을 제외하고는 대부분 버려지고 있는 현실인데, 중국에서 사용하고 있는 방풍 *S. divaricata*의 경우 잎과 꽃도 약재로 사용하고 있다.<sup>10)</sup> 최근 미약용부위도 약용부위가 가지고 있는 유효성분과 동일하거나 유사한 성분을 함유하고 있다는 것이 보고되고 있다.<sup>11)</sup>

그러므로 약용부위를 대체하거나 새로운 효용가치를 연구하여 새로운 한약자원으로 충분히 이용할 수 있을 것으로 생각되어, 갯기름나물의 전통적인 약용부위인 뿌리와 미약용부위인 지상부의 활성을 비교하였다.

植防風이 淸熱止咳 利尿解毒의 효능으로 肺熱咳嗽 濕熱淋痛 瘡癰紅腫 등의 치료에 응용된다는 문헌으로 보아 면역 및 항암활성이 있을 것으로 생각되어, 면역조절과 관련된 Human CD4<sup>+</sup> T 세포의 생육 증진, HL-60 세포의 분화도 및 IL-6, IgE 및 TNF- $\alpha$  함량을 측정하였고, Hep3B와 A549세포에 대한 항암 효과에 대한 효능을 갯기름나물의 뿌리와 지상부에 대해서 비교하여 유의한 결과를 얻었으므로 보고하고자 한다.

## II. 材料 및 方法

### 1. 실험재료

#### 1) 동물

대한 실험동물센터에서 분양받은 4주된 Balb/c계 암컷 생쥐를 무균 사육 장치에서 고형사료 (항생제 무첨가, 삼양사료 Co.)와 물을 충분히 공급하고 실온을 22±2℃를 계속 유지하면서 2주일간 적응시킨 후 체중이 20g된 생쥐를 선별하여

실험에 사용하였다.

## 2) 약재

갯기름나물 *P. japonicum*은 경기도 수원시의 농촌진흥청 작물시험장에서 재배된 것을 2003년 9월에 채취하였으며, 뿌리와 지상부로 구분하여 실험에 사용하였다. (Table 1)

Table 1. Plant used for this experiment. Vouchers are in National Crop Experiment Station of Rural Development Administration

Species	used part	Vouchers	Locality	Date
<i>P. japonicum</i>	root	yh001	RDA:suwon:koreaRD	Sep. 2003
	aerial	yh002	A:suwon:korea	Sep. 2003

## 3) 시료 준비

정선된 갯기름나물 *P. japonicum*의 뿌리와 지상부는 그늘에서 건조한 후 분쇄하였으며, 각각에 대하여 물과 메탄올로 추출하였다. 물과 메탄올추출물은 건조된 각각의 100 g을 취한 후 약 2 l의 물 혹은 메탄올과 함께 전탕기에 넣고 환류추출기를 사용하여 2시간동안 가열한 후 추출한 다음, filter paper로 여과한 후 rotary evaporatory (EYELA, JAPAN)로 감압 농축하여 농축액을 얻었다. 이 농축액을 동결건조기(REVCO, USA)를 이용하여 건조한 뒤 뿌리와 지상부 각각의 물추출물과 메탄올추출물을 얻었다.

## 2. 실험방법

### 1) 면역활성 효과

#### (1) Human CD4<sup>+</sup> T 세포의 생육 증진 효과

적정수의 Human CD4<sup>+</sup> T cell(Jurkat, ATCC, USA)( $4\sim 5 \times 10^4$  cells/ml)이 포함된 배지를 24 well plate에 900  $\mu$ l씩 첨가하여 24시간 동안 배양(37°C, 5% CO<sub>2</sub>)시켰다. 시료를 농도별(0.25, 0.50, 1.00 g/l)로 첨가하고 48시간 다시 배양한 후, MTT (50 mg/100 ml) 용액을 100  $\mu$ l씩 첨가하여 4시간 동안 배양하였다. Formazan을 형성시킨 후 0.1% DMSO 900  $\mu$ l를 첨가하여 formazan을 녹이고,

각 well로부터 100  $\mu$ l를 취하여 96 well plate로 옮겨, microplate reader를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

#### (2) HL-60 세포의 분화도 측정

HL-60 세포를 적정수의 cell ( $4\sim5\times 10^4$  cells/ml)이 포함된 배지를 24 well plate에 900  $\mu$ l씩 첨가하여 24시간동안 배양하고( $37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ ), 다시 시료(1.00 g/l)를 첨가하여 24시간동안 배양하였다. 이것을 24시간 간격으로 배양하면서 배지를 pipetting하여 15 ml C-Tube에 옮겨 320  $\times$ g에서 10분간 원심분리 하였다. 배지를 제거한 후 0.1% Triton x-100을 200  $\mu$ l씩 첨가한 후 incubator에서 30분간 용해시켰다. 용해된 solution 20  $\mu$ l를 96 well plate에 옮겼다. 3 mg/ml의 4-nitrophenyl phosphate가 든 50 mM acetate buffer (pH 5.0)를 100  $\mu$ l씩 넣은 후  $37^{\circ}\text{C}$ 에서 1시간 동안 반응시켰다. 반응 정지를 위해 0.1N NaOH 100  $\mu$ l를 첨가한 후 ELISA Leader로 405 nm에서 흡광도를 측정하였다.

#### (3) IL-6 분비량 측정

Monoclonal anti-mTNF- $\alpha$ , IL-6가 pre-coating 되어 있는 96-well plate에 50  $\mu$ l의 dilution buffer를 넣고  $4\times 10^5$  cells/ml 로 배양된 각 세포에 시료를 첨가하고 2일간 배양하고, 상층액 50  $\mu$ l를 분취하여 넣은 후에 시료 내에 존재하는 IL-6와 결합시켰다. 시료 첨가 후  $37^{\circ}\text{C}$ 에서 3시간동안 반응시킨 후, washing buffer로 4회 수세하여 결합되지 않은 물질을 제거시켰다. IL-6 antibody를 첨가하여 IL-6와 결합시키고, 결합하지 않은 물질을 제거하기 위하여 microplate를 4회 수세하고, 기질액을 가하여 peroxidase와 촉매반응을 유도시켜 발색시켰다. 효소의 반응을 정지시키기 위하여 100  $\mu$ l의 반응정지액을 넣었다. 반응 정지 후 30분 이내에 ELISA Leader (Molecular Devices)를 이용하여, 490 nm에서 측정하였다.

#### (4) IgE 측정

##### ① 임파구의 분리 및 정제

Balb/c 생쥐의 장간막임프절(mesenteric lymph node, MLN)을 적출한 후 임파구는 RPMI 1640 medium (Invitrogen Corporation, Grand island N.Y.)내에서 분리하여, 10% FBS (Invitrogen Corporation, Grand island N.Y.)가 함유된 RPMI 1640 medium으로 배양하였다. 배양한 상층액의 IgE 함량은 ELISA로<sup>19, 24)</sup> 측정하였다. Cell viability는 trypan blue staining으로 확인하였다.

## ② IgE 측정

IgE측정은 sandwich ELISA 방법<sup>22,23)</sup>를 이용하였다. 생쥐의 IgE를 enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)를 위해 PBS에 0.05% Tween 20을 첨가한 용액으로 세척을 하고, Block ace (Dainihon Pharmaceutical Co., Osaka)를 이용하여 비특이적 결합 저해 및 항체를 희석하였다. 총 항체 양의 측정은 항체의 F(ab)<sup>2</sup>단편을, 항원 특이적 정량법에서는 항원을 ELISA plate에 고정된 다음, 혈청 또는 배양상청(supernatant) 등의 시료를 반응시켰다.

## (5) TNF- $\alpha$ 함량의 측정

Balb/c 생쥐의 복강내에 Abelson leukemia virus (A-Mulck)를 주입하여 발생시킨 종양의 복수에서 기원한 RAW 264.7 cell을 이용하여 실험을 하였다.

Anti-mouse TNF- $\alpha$  (ID Labs Inc., Canada)의 항체를 coat한 96 well plate에 정제된 배양상청액 50  $\mu$ l을 첨가하고, 2차 항체에 biotin화시킨 anti-cytokine 등의 각 항체를 반응시켰다. 1시간동안 37°C에서 배양한 후 substrate를 100  $\mu$ l 첨가하고 다시 1시간동안 실온에서 배양하였다. 각 과정에서 0.05% Tween 20 in PBS로 세척하였고, 마지막에 1.5% oxalic 산을 첨가하여 반응을 정지시켰다. 동일한 과정을 통하여 purified TNF- $\alpha$ 을 standard로 정한 후 비교 정량 하였다<sup>21-23)</sup> TNF- $\alpha$ 함량은 ELISA로<sup>19-24)</sup> 측정하였다. 생쥐의 대식세포인 RAW 264.7 cell은 RPMI 1640 medium으로 3번 세척했다.

## 2) Hep3B와 A549세포에 대한 항암 효과

사람의 간암 세포인 human hepatocellular carcinoma (Hep3B, ATCC, USA)와 폐암 세포인 human lung carcinoma (A549, ATCC, USA)에 대하여 SRB 방법을 이용하여 분석하였다. 즉 96 well plate의 각 well에 일정수의 암세포주(4~5  $\times 10^4$  cell/ml)가 포함된 100  $\mu$ l의 배지를 가하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 24시간 배양하였다. 그 후 시료(0.25, 0.5, 1.0 g/l)가 들어 있는 100  $\mu$ l의 배지를 가한 후 48시간 배양하였다. 배지를 aspirator로 제거하고 차가운 TCA(최종농도는 10%) 100  $\mu$ l를 가하여 4°C에서 1시간 방치하고 증류수로 5회 세척하여 실온에서 완전히 건조시켰다. 그 후 각 well에 1% acetic-acid에 녹인 0.4% SRB 용액 100  $\mu$ l를 가하고, 상온에서 30분 염색 후 1% acetic-acid로 5회 세척한 후 완전히 건조시켰다. 그 후 10 mM Tris (100  $\mu$ l)로 염색액을 녹이고 microplate reader를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### III. 實驗 結果

#### 1. Human CD4- T 세포의 생육 증진 효과

인간 면역체계에서 중요한 역할을 하는 면역세포 중 하나인 Human CD4<sup>+</sup> T 세포에 대하여 면역 증진 효과를 확인하기 위하여 MTT 분석 방법을 이용하여 면역 세포의 생육 증강도를 측정하였다.

T 세포의 생육 증진 활성에 대하여 시료의 최고 농도인 1.0 g/l의 농도에서 지상부의 메탄올추출물은 대조군에 비하여 약 1.8배의 생육을 증진시키는 것으로 나타나 가장 좋은 활성을 나타내었다. 그리고 뿌리 메탄올추출물 또한 1.76배의 생육을 증진시키는 것으로 나타나 높은 면역 증진 활성을 나타내었다. 지상부의 메탄올추출물은 0.5 g/l의 농도에서도 약 1.3배 이상의 높은 면역 증진 활성을 나타내었다. 그러나, 지상부와 뿌리의 물추출물들은 각각 1.19배와 1.11배의 낮은 면역 증진 활성을 나타내었다. (Table II)

Table II. The cell growth activity of methanol and water extracts from *P. japonicum* aerial part and root on Human CD4 T cell

Sample	Solvent	Concentration (g/l)	The rate of cell growth (%)
Aerial part	MeOH	0.25	112
		0.50	132
		1.00	180
	H2O	0.25	101
		0.50	106
		1.00	119
Root	MeOH	0.25	109
		0.50	129
		1.00	176
	H2O	0.25	102
		0.50	105
		1.00	111

## 2. HL-60 세포의 분화도 측정

HL-60 세포에 각 시료를 1.0 g/l의 농도로 투여한 후, 배양 1일째부터 배양 4일째까지 세포의 분화도를 측정하였다. 지상부와 뿌리 각각의 추출물들은 HL-60 세포의 분화에 대하여 모두 비교적 낮은 활성을 나타내었다. 지상부의 메탄올추출물과 물추출물은 대조군에 비하여 약 1.14배와 1.12배의 분화도를 나타내었고, 뿌리의 메탄올추출물과 물추출물은 각각 1.14배와 1.07배의 분화도를 나타내었다. (Table III)

Table III. Differentiation of HL-60 cells after treatment with methanol and water extracts from *P. japonicum* aerial part and root

Sample	Solvent	Cultivation time (Days)	Differentiation rate (%)
Aerial part	MeOH	1	100.9
		2	101.7
		3	109.6
		4	114.7
	H2O	1	101.5
		2	103.2
		3	108.7
		4	112.2
Root	MeOH	1	100.3
		2	105.4
		3	109.2
		4	114.3
	H2O	1	100.1
		2	102.2
		3	103.6
		4	107.0

## 3. IL-6 분비량 측정

각 시료에 대한 cell density는 모든 시료에서 배양 4일째 가장 높은 활성을 나타내었다. 그 중에서 지상부의 메탄올추출물이  $7.9 \times 10^3$  cells/ml로 가장 좋은 활



성을 나타내었고, 뿌리의 메탄올추출물도  $7.5 \times 10^3$  cells/ml로 높은 활성을 나타내었다. 또한 각각의 메탄올추출물들은 배양 3일째부터  $7.0 \times 10^3$  cells/ml 이상의 높은 활성을 나타내었다. 그러나 지상부와 뿌리의 물추출물은 각각  $5.3 \times 10^3$  cells/ml와  $6.1 \times 10^3$  cells/ml으로 메탄올추출물에 비하여 비교적 낮은 활성을 나타내었다. (Table III)

각 시료에 대한 세포 당 IL-6의 분비량은 cell density와 같이 배양 4일째 가장 높았다. 또한 cell density가 높은 메탄올추출물들이 높은 분비 활성을 나타내었는데, 뿌리의 메탄올추출물은  $7.2 \times 10^{-3}$  pg/cell/ml로 가장 높은 분비량을 나타내었고, 지상부 메탄올추출물이  $6.7 \times 10^{-3}$  pg/cell/ml의 높은 분비량을 나타내었다. 또한 뿌리의 물추출물도 약  $7.0 \times 10^{-3}$  pg/cell/ml의 높은 분비량을 나타내었으며, 지상부의 물추출물은  $6.0 \times 10^{-3}$  pg/cell/ml의 분비량을 나타내었다. (Table IV)

Table IV. The quantity of secretion of IL-6 and cell density from human T cell in methanol and water extracts from *P. japonicum* aerial part and root

Sample	Solvent	Cultivation time (Days)	Quantity of IL-6 ( $\times 10^{-3}$ pg/cell/ml)	Cell density ( $\times 10^3$ cells/ml)
Aerial part	MeOH	1	3.3	4.9
		2	4.4	5.4
		3	5.0	7.1
		4	6.7	7.9
	H2O	1	4.1	3.9
		2	4.6	4.3
		3	5.2	4.7
		4	6.0	5.3
Root	MeOH	1	3.1	5.1
		2	4.2	5.9
		3	6.0	7.0
		4	7.2	7.5
	H2O	1	3.0	4.5
		2	4.9	5.1
		3	6.1	5.6
		4	6.8	6.1

#### 4. IgE 측정

생쥐의 장관 면역계의 일부분인 mesenteric lymph node를 분리하여 알러지를 일으키는 주요항체인 IgE생성에 대해 검토하였다.

뿌리 물추출물은 1,000  $\mu\text{g/ml}$ 에서, 뿌리 메탄올추출물은 10  $\mu\text{g/ml}$ 와 100  $\mu\text{g/ml}$ , 1000  $\mu\text{g/ml}$ 에서, 지상부 메탄올추출물은 1,000  $\mu\text{g/ml}$ 에서 유의하게 IgE 생산을 억제하는 것이 인정되었다. (Fig. 1)

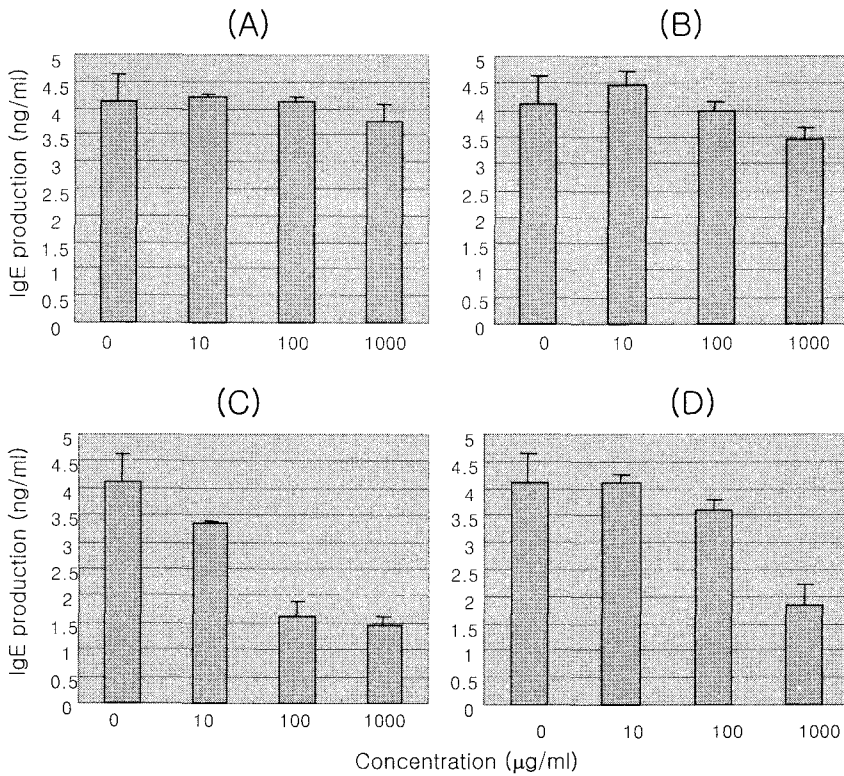


Fig. 1. Effects of samples on IgE production by mesenteric lymph node lymphocyte.

A: water extract from *P. japonicum* aerial part

B: water extract from *P. japonicum* root

C: methanol extract from *P. japonicum* root

D: methanol extract from *P. japonicum* aerial part

### 5. TNF- $\alpha$ 함량의 측정

TNF- $\alpha$  함량의 측정 결과 뿌리와 지상부의 메탄올추출물의 억제율이 가장 높았다. 지상부 물추출물은 1000  $\mu\text{g/ml}$ 에서, 뿌리 물추출물은 100  $\mu\text{g/ml}$ 과 1000  $\mu\text{g/ml}$ 에서, 뿌리와 지상부의 메탄올추출물은 10  $\mu\text{g/ml}$ , 100  $\mu\text{g/ml}$ 과 1000  $\mu\text{g/ml}$ 에서 억제효과가 나타났다. (Fig. 2)

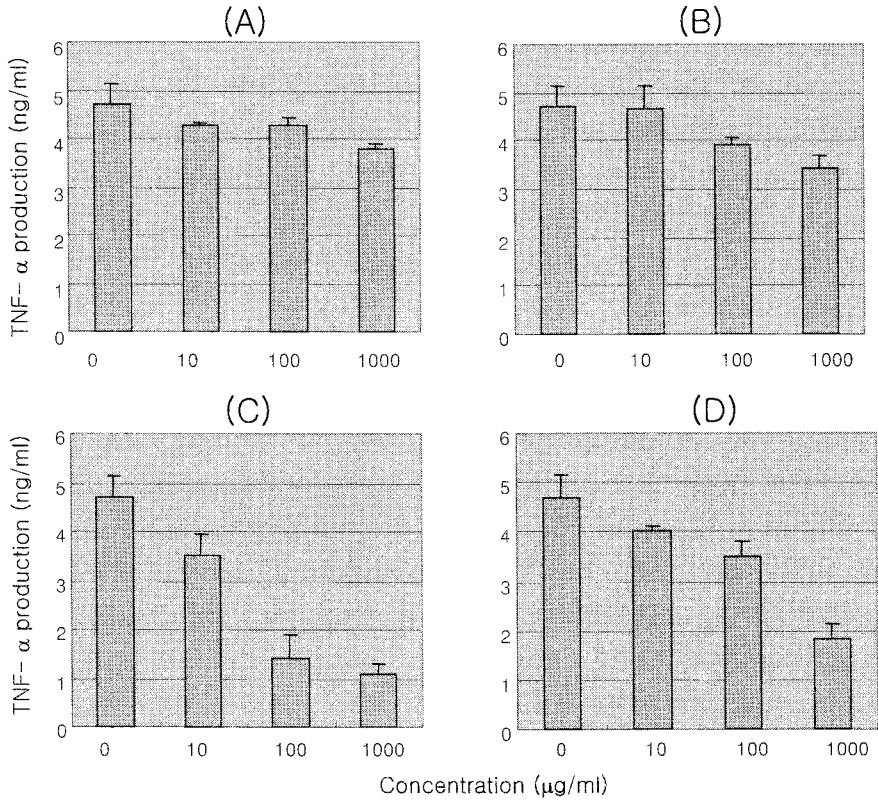


Fig. 2. Effects of samples on LPS-induced TNF- $\alpha$  production on RAW 264.7 cell.

A: water extract from *P. japonicum* aerial part

B: water extract from *P. japonicum* root

C: methanol extract from *P. japonicum* root

D: methanol extract from *P. japonicum* aerial part

## 6. 항암 활성 효과

간암 세포인 Hep3B에 대한 생육 억제 활성은 최고 농도인 1.0 g/l의 농도에서 지상부 메탄올추출물은 78%의 가장 높은 억제 활성을, 뿌리 메탄올추출물은 약 70%의 높은 억제 활성을, 지상부 물추출물과 뿌리 물추출물은 각각 56%, 59%의 억제 활성을 나타내었다. (Table V)

폐암 세포인 A549에 대한 억제 활성은 최고 농도인 1.0 g/l의 농도에서 지상부 메탄올 추출물이 75%로 가장 좋은 억제 활성을, 뿌리 메탄올추출물도 70%가 넘는 높은 억제 활성, 지상부 물추출물과 뿌리 물추출물은 각각 48%와 45%의 비교적 낮은 억제 활성을 나타내었다. (Table V)

Table V. Antitumor activity of methanol and water extracts from *P. japonicum* aerial part and root on Hep3B and A549 cell

Sample	Solvent	Concentration (g/l)	Inhibition ratio(%)	
			Hep3B	A549
Aerial part	MeOH	0.25	29	34
		0.50	57	58
		1.00	78	75
	H2O	0.25	15	15
		0.50	51	20
		1.00	56	48
Root	MeOH	0.25	29	32
		0.5	41	54
		1.00	69	72
	H2O	0.25	22	9
		0.50	41	24
		1.00	59	45

## IV. 考 察

갯기름나무 *P. japonicum*은 다년생 초본으로 크기는 1 m정도이다. 형태가 圓錐形 또는 方錐形으로 결뿌리가 2-4개 달려 있고 길이는 5-15cm이다. 바깥면은 회

황색 또는 회갈색으로 드문드문 적갈색의 皮木이 세로로 있고 根頭部는 오목한 줄기자국이 있다.<sup>12)</sup>

갯기름나물의 뿌리는 국내에서 植防風으로 사용되고 있으며, 국내 재배량은 1990년 32ha에 45.6톤, 1991년 37ha에 93톤, 1993년 149ha에 735톤으로 증가하고 있다. 최근 2002년에는 59ha에 209톤을 생산되었는데, 재배 면적은 줄어들었으나 단위면적당 생산량은 뚜렷하게 증가하였음을 알 수 있다.

갯기름나물은 뿌리인 植防風을 제외하고는 대부분 버려지고 있는 현실인데, 버려지는 갯기름나물의 지상부(莖葉)의 활용범위를 찾아보는 것은 미약용부위에 대한 새로운 활용뿐만 아니라 국내 한약재 재배농가의 소득증대에도 도움이 될 것이라 생각한다. 방풍 *S. divaricata*의 경우도 잎과 꽃을 약재로 사용하고 있으며,<sup>10)</sup> 최근 미약용부위의 대체가능성에 대한 연구 보고로 보아<sup>11)</sup> 갯기름나물의 지상부의 植防風 대체 가능성 및 약효에 대한 연구의 필요성이 있었다.

또한 갯기름나물의 뿌리인 植防風이 清熱止咳 利尿解毒의 효능으로 肺熱咳嗽 濕熱淋痛 瘡癰紅腫 등의 치료에 응용된다는 문헌으로 보아 지상부도 역시 유사한 효능이 있을 것으로 생각되어, 면역 및 항암활성에 관한 실험으로 Human CD4<sup>+</sup> T 세포의 생육 증진, HL-60 세포의 분화도 및 IL-6, IgE 및 TNF- $\alpha$  함량을 측정하였고, Hep3B와 A549세포에 대한 항암 효과를 측정하였다.

Human CD4<sup>+</sup> T 세포의 생육 증진 효과에서, T 세포는 골수에서 생겨 흉선으로 이동한 후에 성숙되는 세포로 보조 림프구와 세포 용해성 림프구로 분류된다. 항원 수용체는 항체가 아니지만 구조적으로 항체와 유사한 막상의 단백질 분자이다. 주조직적합성복합체(major histocompatibility complex)에 제환되어 부속세포의 표면에 발현된 단백질 항원만을 인식한다. 그 결과 수용성 항원이 아닌 세포 표면 부착항원만을 인식해서 반응한다. 항원의 자극을 받은 보조 T 세포는 사이토카인이란 단백질 호르몬을 분비하는데, 이 호르몬은 B 림프구와 대식세포 뿐만 아니라 T 림프구의 증식과 분화를 증식시켜 주는 기능을 가진다. 또한 염증성 백혈구를 활성화시켜 T 림프구 특이 면역과 자연 면역의 한 종류인 염증반응 사이의 중요한 연결을 시켜 준다. 실험결과, 시료의 최고 농도인 1.0 g/l의 농도에서 지상부 메탄올추출물이 대조군에 비하여 약 1.8배의 생육을 증진시키는 것으로, 뿌리 메탄올추출물 또한 1.76배의 생육을 증진시키는 것으로 나타나 높은 면역 증진 활성을 나타내었다.

세포 분화도 실험에 사용된 세포는 human promyelocytes (HL-60)인 전골수 세포로서 macrophage나 granulocyte로 분화가 되어 사멸하는 기전을 가지고 있다. 세포 분화는 수정란으로부터 유래된 미분화 세포가 특정 형질을 갖는 세포들로 변화되어 가는 과정이며, 이러한 과정은 여러 신호 전달 체계와 유전자의 형질

발현의 조절에 기인한다. 이러한 세포 분화로 인하여 세포와 세포간의 신호전달 체계에 영향을 미쳐 세포의 구조와 기능을 결정짓게 되는 것이다. 이러한 분화 촉진으로 인하여 여러 가지 세포로의 분화를 촉진하고, 그 중 면역 세포에도 그 효과가 있을 것으로 생각되어졌으나 본 실험결과에서는 결과는 모두 낮은 활성을 나타내었다. 이러한 결과로 인하여 인간의 면역 체계에 대하여 직접적으로 작용하기 보다는 간접적으로 면역 체계에 작용하여 면역 활성을 높이는 것으로 생각된다. 이 실험에서 HL-60 세포에 대하여 지상부와 뿌리 각각의 추출물들은 HL-60 세포의 분화에 대하여 모두 비교적 낮은 활성을 나타내었다. 지상부의 메탄올추출물과 물추출물은 대조군에 비하여 약 1.14배와 1.12배의 분화도를 나타내었고, 뿌리의 메탄올추출물과 물추출물은 각각 1.14배와 1.07배의 분화도를 나타내었다. 이러한 결과는 각각의 시료가 분화유도 물질의 증가에 영향을 미치지 못하여 이로 인한 세포의 신호전달 체계가 신속하게 이루어지지 않았기 때문으로 생각된다.

IL-6는 multifunctional cytokine으로 광범위한 조직과 세포에 작용하며, 표적 세포에 따라 세포증식 촉진 작용, 세포 분화 작용 그리고 IL-2 생산과 IL-2 수용체 유도 등 여러 가지 면역반응에 지대한 영향을 미치는 기능을 가지고 있는 것으로 알려져 있다. 이 실험에서는, 모든 시료에 대하여 배양 4일째 가장 높은 활성을 나타내었으며 그 중에서 지상부 메탄올추출물과 뿌리 메탄올추출물이 가장 높은 활성을 나타내었다.

알러지반응 중에서 식품알러지와 아토피성 피부염에 의한 피부반응은 주로 1형 알러지로서 피부에 존재하는 비만세포(mast cell)의 탈과립에 의해 과다한 히스타민이 유리되면서 발생한다. 장관은 모든 성분이 통과하는 생체 내 외부로서 virus, 병원 미생물 등 생체에 유해한 이물질을 배제하는 아주 중요한 장기이다. 대부분의 알러지는 장관에서 반응이 일어나 각종 알러지를 일으키는 경우가 90% 이상이다. 장관에는 lamina propria, epithelial, peyer's patch, mesenteric lymph node로부터 구성되는 장관관련 임파구 조직이 존재하여 효과적인 생체방어기구를 형성하고 있다. 장관 면역계 임파구에서 생성되는 IgE 항체는 mast 세포의 Fc receptor에 부착하여 histamine과 각종 eicosanoid 등을 생산하여 알러지 반응을 하는데 중요한 연결고리이다. 본 실험에서는 생쥐의 장관 면역계의 일부분인 mesenteric lymph node를 분리하여 각종 시료의 IgE 생성에 대해 검토하였는데 그 결과, 뿌리 물추출물은 1,000  $\mu\text{g/ml}$ 에서, 뿌리 메탄올추출물은 10  $\mu\text{g/ml}$ 와 100  $\mu\text{g/ml}$ , 1000  $\mu\text{g/ml}$ 에서, 지상부 메탄올추출물은 1,000  $\mu\text{g/ml}$ 에서 유의하게 알러지를 일으키는 주요항체인 IgE 생산을 억제하는 것이 인정되었다.

종양괴사인자(tumor necrosis factor, TNF)는 체내에서 대식세포나 림프구 등

백혈구에 의한 생산되는 cytokine으로 간을 포함해 동물 체내에서 만들어지는 항암효과를 가진, 이른바 생물학적 응답조절물질(BRM)의 일종으로 1975년 미국 슬론캐터링 암연구소에서 처음 발견하였다. 정상상태에서는 만들어지지 않다가 세균 지다당 (lipopolysaccharide) 등에 의해 세포가 자극을 받으면 새로 합성되어 분비된다. TNF는 여러 급성 혹은 만성염증질환의 발생 및 진행에 중요한 역할을 하는 것으로 밝혀져서 TNF의 합성조절이 이들 질환의 치료에 이용될 수 있다. 다시 말하면, TNF- $\alpha$ 는 염증을 일으키는데 직접 관여하는 염증성 cytokine이다. 본 실험 결과로는 뿌리의 메탄올추출물>지상부 메탄올추출물>뿌리 물추출물>지상부 물추출물 순으로 억제 효과를 인정할 수 있었다. 즉 뿌리와 지상부의 메탄올추출물의 억제율이 가장 높게 나타났으며 따라서, 뿌리와 지상부의 메탄올추출물이 가장 강한 항염증을 나타냈다고 할 수 있다.

간암 세포인 Hep3B에 대한 생육 억제 활성은 최고 농도인 1.0 g/l의 농도에서 지상부와 뿌리의 메탄올추출물은 각각 약 78%, 70%의 높은 억제 활성을 나타내고 있는 반면, 지상부와 뿌리의 물추출물은 각각 56%, 59%의 억제 활성을 나타내었으며, 폐암 세포인 A549에 대하여 지상부와 뿌리의 메탄올추출물은 각각 75%, 70%의 높은 억제 활성을 나타내고 있는 반면, 지상부와 뿌리의 물추출물은 각각 48%와 45%의 비교적 낮은 억제 활성을 나타내었다. 이러한 결과로 보아 각 암세포에 대한 억제 활성은 메탄올추출물의 활성이 물추출물에 비하여 비교적 높은 암세포 억제 활성을 나타내었다.

이러한 실험 결과 갯기름나물의 뿌리는 항암과 면역활성, 항염증의 효과가 있으며, 지상부도 뿌리와 유사한 활성을 갖고 있는 것을 인정할 수 있었다. 따라서 향후 미약용부위인 갯기름나물의 지상부에 대한 한약재로서의 새로운 개발 및 임상에서의 적극적인 응용에 관한 연구가 필요하다고 생각된다.

## V. 結 論

갯기름나물 *P. japonicum*의 전통적인 약용부위인 뿌리과의 활성 비교를 통하여, 미약용부위인 지상부의 약용 가능성을 제시하고자 면역과 관련된 Human CD4<sup>+</sup> T 세포의 생육 증진, HL-60 세포의 분화도 및 IL-6, IgE 및 TNF- $\alpha$  함량을 측정하였고, Hep3B와 A549세포에 대한 항암 효과에 대한 효능을 비교하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. Human CD4<sup>+</sup> T cell에 대하여 대조군에 비하여 지상부 메탄올추출물은 1.0 g/

- 에서 약 1.8배, 뿌리 메탄올추출물은 1.0 g/l에서 1.76배의 생육을 증진시키는 것으로 나타났다.
2. HL-60 세포에 대하여 대조군에 비하여 지상부의 메탄올추출물과 물추출물은 약 1.14배와 1.12배의 분화도를 나타내었고, 뿌리의 메탄올추출물과 물추출물은 각각 1.14배와 1.07배의 분화도를 나타내었다.
  3. Cell density는 모든 시료에서 배양 4일째 가장 높은 활성을 나타내었다. 지상부와 뿌리의 메탄올 추출물은 각각  $7.9 \times 10^3$  cells/ml,  $7.5 \times 10^3$  cells/ml의 활성을, 지상부와 뿌리의 물추출물은 각각  $5.3 \times 10^3$  cells/ml와  $6.1 \times 10^3$  cells/ml의 활성을 나타내었다.
  4. IL-6의 분비량은 배양 4일째 가장 높았다. 지상부와 뿌리의 메탄올추출물은 각각  $6.7 \times 10^{-3}$  pg/cell/ml,  $7.2 \times 10^{-3}$  pg/cell/ml의 분비량을, 또한 뿌리와 지상부의 물추출물도 약  $7.0 \times 10^{-3}$  pg/cell/ml,  $6.0 \times 10^{-3}$  pg/cell/ml의 높은 분비량을 나타내었다.
  5. IgE 생산에 대하여 뿌리 물추출물은 1,000  $\mu$ g/ml에서, 뿌리 메탄올추출물은 10  $\mu$ g/ml와 100  $\mu$ g/ml, 1000  $\mu$ g/ml에서, 지상부 메탄올추출물은 1,000  $\mu$ g/ml에서 유의하게 억제하는 것이 인정되었다.
  6. TNF- $\alpha$  함량의 측정 결과 뿌리와 지상부의 메탄올추출물은 10  $\mu$ g/ml, 100  $\mu$ g/ml과 1000  $\mu$ g/ml에서 억제효과가 나타났다
  7. 간암 세포인 Hep3B에 대하여 1.0 g/l의 농도에서 지상부와 뿌리의 메탄올추출물은 각각 78%와 70%, 지상부와 뿌리의 물추출물은 각각 56%, 59%의 억제 활성을 나타내었다.
  8. 폐암 세포인 A549에 대하여 1.0 g/l의 농도에서 지상부와 뿌리의 메탄올 추출물은 각각 75%와 70%, 지상부와 뿌리의 물추출물은 각각 48%, 45%의 억제 활성을 나타내었다.

이상의 실험결과로 볼 때, 갯기름나물의 뿌리는 물론 갯기름나물의 지상부도 진통약용부위인 뿌리 못지 않게 면역효과와 항암활성의 효과가 있는 것으로 인정할 수 있었다. 그러므로, 갯기름나물의 지상부에 대해 좀 더 깊은 연구가 필요할 것으로 생각한다.

## VI. 參 考 文 獻

1. 黃奭(淸). 神農本草經. 北京:中醫古籍出版社. 1987:74-75.



2. 江蘇新醫學院. 中醫大辭典. 上海:上海科學技術出版社. 1979: 644-645,985-987.
3. 朱有昌. 東北藥用植物. 黑龍江省:黑龍江科學技術出版社. 1989: 827-829,842-845.
4. 中華人民共和國衛生部藥典委員會. 中華人民共和國藥典(1部)(95年版). 上海:廣東技術出版社. 1995:126.
5. 難波恒雄. 和漢藥百科圖鑑(1). 大阪:保育社. 1994:81-83.
6. 國家中醫藥管理局 中華本草編委會 編. 中華本草(5卷). 中國:上海科學技術出版社. 1999:1006-1007.
7. 황완균 외. 식방풍의 품질 표준화에 관한 연구. 생약학회지. 2001;32(4):292-296.
8. 최호영 외. 유전자 감식에 의한 防風의 감별. 생약학회지. 1997;28(1):1-8.
9. 정상환 외. 식방풍의 과중기 피복 재식밀도에 따른 생육과 수량변화. 한국약용작물학회. 1994;2(2):121-125.
10. 國家中醫藥管理局 中華本草編委會 編. 中華本草 5권. 中國:上海科學技術出版社. 1999:1030-1031.
11. 趙炫相. 五加皮葉類 水抽出物이 흰쥐 胸部大動脈, 腹大動脈, 長骨動脈의 血管弛緩反應에 미치는 영향. 韓醫學碩士論文. 2002.
12. 王建華. 中藥防風的研究概. 中藥藥學雜誌. 1992;27:323-327.
13. 王建華 樓之峇. 防風類中藥原植物的照查鑑定. 中藥通報. 1988: 13:9-10.
14. 日本公定書協會. 日本藥局方解說書. 東京:廣川書店. 1986: 868-869.
15. 柳庚秀. 防風의 生藥學的 研究. 生藥學會誌. 1975;6:151-159.
16. 한국한의학연구원. 한약재관능검사기준연구(한약재도감편) 서울:보건복지부. 1999:88-89.
17. 食療中藥藥物學 編委會. 食療中藥藥物學. 中國:科學出版社. 2001: 199-201.
18. 沈映君. 中藥藥理學. 中國:人民衛生出版社. 2000:130-132.
19. Aida Y, Kasama T, Takeuchi N, Chiba M, Tobinaga S. Pharmacological activities of khellactones, compounds isolated from *Peucedanum japonicum* Thunb. and *Peucedanum raeruptorium* Dunn. *Methods Find Exp Clin Pharmacol*. 1998;20(4):343-51.
20. Takeuchi N, Kasama T, Aida Y, Oki J, Maruyama I, Watanabe K, Tobinaga S. Pharmacological activities of the prenylcoumarins, developed from folk usage as a medicine of *Peucedanum japonicum* Thunb. *Chem Pharm Bull*. 1991 ;39(6):1415-21.
21. Lim BO, Yamada, K, Yoshimura, K, Watanabe, T, Pham, H, Taniguchi,

- S. and Sugano, M. Free bile acids inhibit IgE production by mouse spleen lymphocytes stimulated by lipopolysaccharide and interleukins. *Biosci. Biotech. Biochem.* 1995;59:624-627.
22. Lim BO, Jolly CA, Zaman K, Fernandes G. Dietary (n-6) and (n-3) fatty acids and energy restriction modulate mesenteric lymph node lymphocyte function in autoimmune-prone (NZB×NZW) F1 mice. *J. Nutr.* 2000;130: 1657-1664.
23. Fernandes G. Methods for the study of immune cells in aging. In: methods in aging research. 549-567, 1999 CRC Press LLC, Salem, MA.
24. Wang FR, Xu QP, Li P. [Comparative studies on the febrifugal analgesic and anticonvulsive activities of water extracts from cultivated and wild *Saposhnikovia divaricata*] *Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi.* 1991;11(12):730-2, 710.
25. Okuyama E, Hasegawa T, Matsushita T, Fujimoto H, Ishibashi M, Yamazaki M. Analgesic components of *saposhnikovia* root (*Saposhnikovia divaricata*). *Chem Pharm Bull.* 2001;49(2):154-60.
26. Shimizu N, Tomoda M, Gonda R, Kanari M, Takanashi N, Takahashi N. The major pectic arabinogalactan having activity on the reticuloendothelial system from the roots and rhizomes of *Saposhnikovia divaricata*. *Chem Pharm Bull* (Tokyo). 1989;37(5):1329-32.
27. Tang RJ, Min ZH, Xu CY. [Pharmacologic studies on the root of *Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) Schischk] *Zhong Yao Tong Bao.* 1988;13(6):44-6, 64.
28. Wang CC, Chen LG, Yang LL. Inducible nitric oxide synthase inhibitor of the Chinese herb I. *Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) Schischk. *Cancer Lett.* 1999;18;145(1-2):151-7.
29. Lee JW, Roh TC, Rho MC, Kim YK, Lee HS. Mechanisms of relaxant action of a pyranocoumarin from *Peucedanum japonicum* in isolated rat thoracic aorta. *Planta Med.* 2002;68(10):891-5.
30. Hsiao G, Ko FN, Jong TT, Teng CM. Antiplatelet action of 3',4'-diisovalerylhellactone diester purified from *Peucedanum japonicum* Thunb. *Biol Pharm Bull.* 1998;21(7):688-92.