

# 상백피가 A549 폐암세포주의 세포사에 미치는 영향

배오성 · 유영민<sup>1</sup> · 이선구<sup>1\*</sup>

동방대학원대학, 1: 상지대학교 한의과대학 병리학교실

## Pro-Apoptotic Effect of *Mori Cortex Radicis* in A549 Lung Cancer Cells

Oh Sung Bae, Yeong Min Yoo<sup>1</sup>, Seon Goo Lee<sup>1\*</sup>

*Dong Bang University of Graduate School, 1: Department of Oriental Pathology, College of Oriental Medicine, Sangji University*

*Mori Cortex Radicis* is distributed in Northwestern China, northern Asia, northern Europe, North America, and Korea. This extracts drops sugar in bloods and inhibits cyclic AMP phosphodiesterase. In this study, we investigated whether *Mori Cortex Radicis* would cause apoptotic death of A549 lung cancer cells. To examine the apoptotic effect of *Mori Cortex Radicis*, cytotoxicity assay, DNA fragmentation analysis, caspase-3 activity assay, and Western blotting for caspase-3, caspase-9 and poly(ADP-ribose) polymerase (PARP) and cytochrome c were performed. Treatment of cells with *Mori Cortex Radicis* was shown to induce cell death in a dose-dependent manner. DNA fragmentation was made in response to *Mori Cortex Radicis*. The active fragments of caspase-3, caspase-9 and PARP were almost completely induced and cytochrome c was released following exposure to *Mori Cortex Radicis*. To elucidate the apoptotic mechanisms, RT-PCR and Western blot analyses for the expression of Bcl-2, Bax and Cox-2 were carried out. Treatment with *Mori Cortex Radicis* was expressed the reduction of Bcl-2 and Cox-2 and the induction of Bax. Especially p21 and p53 were increased prior to untreated control, while cyclin E and cyclin D1 decreased in the cytosol. These results suggest that the effect *Mori Cortex Radicis* is associated with the cell cycle arrest and pro-apoptotic cell death in A549 lung cancer cells.

**Key words :** *Mori Cortex Radicis*, A549 lung cancer cells, Caspase-3, Bax, Cox-2

### 서 론

상백피는 뽕나무과(*Moraceae*)에 속하는 다년생 목본류인 뽕나무의 껍질 조각으로 kuwanon, mulberrofuran, albufuran, morucinon, sangennon, cholin, cahlcomoracaein, stilbene, benzofuran, oxydihydromorusin 등과 같은 flavonoid를 함유하고 있으며, 이외에도 amyrin, betulinic acid, sitosterol, umbelliferon 등의 다양한 성분들을 함유하고 있으므로 주로 혈관계에 작용하여 혈당강하 작용을 나타내거나 부교감신경 말초 흥분작용과 cyclic AMP phosphodiesterase에 대한 저해작용이 있는 것으로 알려져 있다<sup>1,4)</sup>.

최근 암발생 기작에 의하면 생체 내 유해한 활성 산소종(reactive oxygen species)에 의하여 발생하는데 주로 세포내 미토콘드리아의 전자전달과정에서 생성된 O<sub>2</sub>나 바이러스침입, 방

사선, 암발생 화학물질 및 스트레스 등에 의하여 과량의 활성산소종이 생성됨으로써 정상세포의 세포막 지질을 파괴시키거나 단백질구조를 파괴하며 핵산의 염기를 변형시킴으로써 돌연변이를 야기하여 결국 세포의 구조를 변형하거나 기능적으로 비정상화하여 암세포화 하게 된다. 그러나 세포내에는 이렇게 생성된 유해한 활성 산소종을 무력화 시킬 수 있는 분자시스템이 존재하여 끊임없이 생성된 활성 산소종을 처리하여 정상적인 생명활동을 가능케한다. 그러한 기작으로는 superoxide dismutase(SOD), catalase, glutathione peroxidase와 같은 효소와 glutathione, tocopherol, ascorbic acid 등과 같은 환원성 물질이 알려져 있으며, 이들은 특히 암 예방에 직접적인 역할을 하는 것으로 이들과 함께 항암물질을 위한 개발 대상으로 집중적으로 연구하고 있으며, 최근에는 식물, 동물 및 해양동물·식물 등의 천연물에서 이들을 개발하기 위하여 집중적으로 투자 연구되고 있다<sup>5-9)</sup>.

암발생과 더불어 생체내에서 이루어지고 있는 항암작용기작 역시 활성산소와 관련되어 있는데 최근 연구 결과에 의하면 암 유발에 확장적 요인으로 바이러스, 박테리아, 화학물질 및 과도

\* 교신저자 : 이선구, 원주시 우산동 660번지 상지대학교 한의과대학

· E-mail : returnto@sangji.ac.kr, · Tel : 033-730-0664

· 접수 : 2005/09/05 · 수정 : 2005/12/05 · 채택 : 2005/12/14

한 방사선 등에 의하여 생성된 비정상적 세포 등이 면역계에 인지되면 일차적으로 tumor necrosis factor(TNF), gamma-interferon, interleukin(IL)과 같은 cytokines의 신속한 연쇄작용에 의하여 neutrophils나 macrophages 등의 거대세포의 본격적인 작용으로 이들 세포로부터 다량의 superoxide anion(O<sub>2</sub><sup>-</sup>)을 방출함으로써 비정상적 세포를 사멸시켜 식세포작용으로 세포를 사라지게 한다. 그러나 이러한 사이토카인에 의한 부작용으로 다량의 활성산소가 정상세포를 공격하여 인체의 각종 심한 염증을 수반하여 세포괴사를 일으키거나 기능장애를 일으키게 된다. 이러한 세포독성 효과의 부작용으로 소위 난치병들인 아토피성 피부병, 류마티스성 관절염, 위궤양, 폐경화증, 홍반성 낭창과 같은 고원병, 간염, 신장염, 뇌졸중 같은 중증의 질환을 야기시킨다<sup>5-8)</sup>. 그러한 발병의 치료 일환으로 상백피를 이용한 임파종 세포의 증식억제 및 피부암 및 골수암세포에서 효과가 있음이 입증되었다<sup>9-10)</sup>. 특히 LPS나 IFN- $\gamma$ 로 자극한 쥐에서 복강대식세포로 분리한 nitric oxide, TNF- $\alpha$  및 IL-1이 현저히 감소됨을 보여 상백피의 효과를 입증한 바 있다<sup>11)</sup>.

현재 사용되고 있는 항암제들은 생체에 대한 독성이 있어 정상적인 세포대사활동을 억제하거나 세포의 돌연변이 및 암화를 촉진할 수 있기 때문에 항암제의 사용에 커다란 장애로 지적되고 있어 이러한 문제점을 해결하기 위하여 부작용이 적은 새로운 항암제의 개발에 중점을 두고 연구가 진행되고 있지만 아직까지 기존의 항암제를 능가하고 부작용이 극소화된 암치료제는 개발되지 않았다. 그동안 진행되어 왔던 항암제의 개발 방법은 주로 세포독성이 강한 물질을 찾는 것이었지만 최근에는 세포독성이 약하지만 기존 항암제와 병용 투약하여 항암성을 증가시키고 부작용을 줄일 수 있는 물질을 찾기 위한 노력들을 진행하고 있으며, 특히 수 천년동안 사용되어온 한방 제제들 중 암의 치료에 사용되거나 면역기능을 상승시키는 약물들을 골라서 기존의 항암제와 병용 투약하여 항암효과를 증진시키고 부작용을 감소시킬 수 있는 연구 결과들이 많이 보고되고 있다<sup>12-14)</sup>.

한의학에서 상백피는 溼瀉利水藥類에 속한 桑科식물로서 落葉喬木인 뽕나무 및 同屬近緣식물의 뿌리를 건조한 것이다. 상백피의 性味는 甘, 寒, 無毒하며, 脾와 肺經에 歸經하고 瀉肺平喘과 行水消腫의 효능으로 喘息과 浮腫病狀을 치료하는 호흡기계의 상용약물이다. 따라서 본 논문에서는 암세포의 억제작용을 알아보기 위하여 A549 폐암세포주에 상백피를 처리하여 세포사에 의한 억제효과를 규명하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험재료

#### 1) 상백피 추출물 준비

상백피 100 g을 500 ml의 증류수와 섞어 4시간 동안 가열한 뒤 200 ml까지 줄인 후 동결건조하여 3g의 분말(수득율 3%)을 얻었다. 그 추출물을 PBS에 녹여 필요한 농도에 따라 맞추어 사용하였다.

#### 2) A549 폐암세포주

A549 폐암세포주를 한국세포주은행에서 구입하여 RPMI(GibcoBRL,

USA)에 5% FBS와 Fungizone를 첨가하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub>, 95% O<sub>2</sub>에서 배양하였다.

### 2. 방법

#### 1) 세포생존율 측정

세포생존율을 측정하기 위하여 24-well culture plate에 각 well 당 2×10<sup>5</sup> cells를 넣어 배양한 후 상백피 추출물을 농도에 따라 처리하여 24시간 더 배양하였다. 24시간이 지난 후 세포배양액을 제거하고 PBS로 두 번 washing 한 후 0.5% crystal violet(in 20% methanol)을 300  $\mu$ l/well로 첨가하여 상온에서 5분간 방치한 다음 tap water로 재빨리 세척한 후 건조시켰다. 다음 1% SDS를 100  $\mu$ l 첨가하여 상온에서 30분간 방치한 후 570 nm(reference 450 nm)에서 흡광도를 측정하였다.

#### 2) RT-PCR (Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction)

각 군의 1×10<sup>7</sup> cells/ml의 세포로부터 Trizol Reagent(Life Technologies, USA)를 이용하여 total RNA를 추출하였다. Trizol reagent 1 ml를 첨가하여 세포를 용해시키고 실온에서 5분 동안 방치 후 chloroform 200  $\mu$ l를 첨가하여 13500 rpm에서 15분 동안 원심분리 하였다. 투명한 상층액을 취하여 새로운 tube로 옮기고 동량의 isopropyl alcohol을 첨가한 후 13500 rpm에서 10분 동안 원심분리하여 RNA를 침강시켰다. RNA 침전을 75 % EtOH in DEPC 1 ml로 세척한 후 공기 중에서 건조시켰다. 추출한 각각의 1 $\mu$ g의 total RNA를 주형으로하여 primer를 10 pmol씩 첨가한 후 여기에 PCR완충용액, reverse transcriptase 20U, RNasin 10U 그리고 2 mM dNTP를 첨가하였다. 그리고 RNA-free water로 최종부피를 20 $\mu$ l 조정한 후 57°C에서 10분, 42°C에서 시간 처리 후 cDNA를 만들었으며 차후 실험에 사용하기 위하여 -20°C 냉동고에 보관하였다.

준비된 cDNA를 주형으로 최종부피가 20 $\mu$ l가 되도록 하여 PCR에 사용하였다. PCR 반응은 thermocycler에서 94°C/2min(1회), 94°C/1min(1회), annealing(1회) 그리고 72°C/1min(1회)를 40회 반복하였고 마지막 신장반응을 72°C도에 1회 수행하였다. PCR products를 확인하기 위하여 ethidium bromide(0.5 mg/ml)가 포함된 agarose(2%)를 TAE(Tris-Acetate-EDTA) buffer(pH 8.3)에 녹여 사용하였으며, 100 V로 30분간 전기영동하였다. 전기영동 끝난 gel을 UV transilluminator(Spectroline TR-302, USA) 위에서 관찰하였으며 micro 렌즈와 UV 및 red filter를 부착한 사진기(Polaroid H-3, USA)을 사용하여 자외선 조명하에서 촬영하였다.

#### 3) DNA fragmentation

처리한 배양세포를 얼음으로 차게한 PBS로 한번 세척한 후 세포 침전물을 700  $\mu$ l의 lysis buffer(20 mM Tris-HCl, pH8.0, 10 mM EDTA, 0.5 % Triton X-100)로 현탁시키고, 얼음에서 45분간 항온 시키면서 가끔씩 침전된 세포를 현탁시켜 세포의 lysis를 용이하게 하였다. 파쇄된 세포를 4°C에서 13,000 x g로 20분간 원심분리하여 세포질 부분을 회수하였다. 이 세포질 용액을 phenol/chloroform으로 두 번 extraction하여 단백질을 제거하고 세포질내로 유출된 DNA와 RNA를 sodium acetate/isopropanol

로 침전시켰다. 침전된 핵산을 40  $\mu$ l의 TE buffer(10 mM Tris-HCl, pH 8.0, 10 mM EDTA)로 용해시키고, 200  $\mu$ g/ml의 농도가 되게 DNase-free RNase를 넣고 37°C에서 1시간 항온시켰다. RNA가 제거된 DNA 용액을 1.5% agarose gel에서 전기영동하고, DNA를 ethidium bromide로 염색한 후 UV light하에서 사진을 찍어 가시화하였다.

4) Western Blot 분석

각 군 별로 세포질과 핵에서 각각 단백질 sample을 분리해 낸 후 25  $\mu$ g을 SDS loading buffer와 함께 90°C에서 5분 동안 가열하고 12% SDS-polyacrylamide gel에 전기영동하였다. Gel에서 분리된 단백질을 PVDF membrane에 transfer하였다. Membrane은 5% skim milk/TBS-T로 1시간 동안 blocking 한 후 TBS-T에 희석된 caspase-3, 9, Bcl-2, cytochrome c, Bax, p21, p53, cyclin D1, cyclin E(Santa Cruz Biotechnology, U.S.A.)를 하루밤 동안 incubation후 anti-rabbit Ig-horse radish peroxidase(Zymed, U.S.A.) 2차 항체를 붙여 ECL(enhanced chemiluminescence luminogram) reagent(Amersham, U.S.A.)로 반응시킨 후 x-ray film에 exposure 하였다.

결 과

1. 상백피에 의한 A549 폐암세포의 생존력억제효과 및 DNA

A549 폐암세포주를 24-48시간까지 Mori Cortex Radicis 추출물을 여러 농도 하에서 처리하고 각 농도에 따라 세포생존율을 측정하였다. 그 결과 농도에 따라 세포생존율이 낮아 졌는데, 0, 0.02, 0.2, 1, 2, 4, 6, 8 mg/ml에서 각각 100, 90, 96, 97, 85, 50, 40, 35%로 나타났다. 이러한 결과는 강<sup>13)</sup>에 의한 결과에서 보다 처리농도가 높았으나, 대부분의 한약 추출물인 경우 억제효과가 in vitro에서는 대략 mg/ml단위에서 확실한 효과를 보인다. 그러므로 본 실험에서도 상백피의 효과가 확실함을 나타내기 위하여 약 8 mg/ml까지 처리함으로써 폐암세포주의 생존력이 억제됨을 보여 주었다. 이때 4 mg/ml에서 세포사가 어떻게 일어나는지 알아보기 위하여 DNA 분절화(fragmentation) 실험을 실시한 결과 세포내에서 4 mg/ml이상이 되었을 때는 DNA 분절화에 의하여 세포가 사멸됨을 알 수 있었다(Fig. 1).

2. mRNA와 단백질 수준에서 apoptosis 효과 및 anti-inflammation 효과

이러한 생존력 억제효과를 입증하기 위하여 mRNA 수준에서 RT-PCR과 Western blot 분석을 수행하였다. 농도가 0, 2, 4 mg/ml에서 RT-PCR를 수행한 결과 농도에 따라 Bcl-2는 감소하였고, Bax는 증가 하였다(Fig. 2A). 이 때 Western blot 분석 결과 역시 일치 하였다(Fig. 2B). 이 결과로 보건데 상백피를 처리할 경우 세포가 apoptosis에 의하여 세포사가 일어나 미토콘드리아에서 Bcl-2가 감소하면서 Bax가 증가하게 되어 세포사가 촉진되는 것으로 사료된다.

세포의 손상시 생성되는 O<sub>2</sub><sup>-</sup>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, OH와 같은 활성 산소종의 주요한 세포내 생성원들은 널리 분포하는 것으로 알려져 있

다. 미토콘드리아, 퍼옥시좀과 xanthine oxidase(XOD)를 포함하는 oxidase, NADPH dehydrogenase, cyclooxygenase(COX)등의 다양한 효소들로부터 생성된다. 또한 널리 존재하는 nitric oxide(NO)의 생리적인 역할을 조사하기 위한 최근의 연구결과, 활성산소종으로서 잠재적으로 유해한 능력이 있음이 밝혀졌다. 따라서 macrophage, neutrophil과 다른 면역 세포들에서 NO, NO<sub>2</sub>, HNO<sub>2</sub>, ONOO-와 같은 활성질소종(reactive nitrogen species, RNS)들이 염증반응시 이물질을 공격하기 위해 다량의 RNS와 ROS를 생성하는 것으로 보여진다. 예를 들면 neutrophil, monocyte, eosinophil, macrophage와 같은 세포들에 있어 NADPH oxidase에 의한 O<sub>2</sub><sup>-</sup>의 생성은 염증반응에 의해 일어나는 손상과 관계가 있다. 이러한 염증반응과 이와 관련된 proinflammation과정을 검토 하고자 COX-1, 2역할을 알아보았다. 결과에 의하면 Cox-1에는 아무 변화가 없었으나 COX-2의 경우 2와 4 mg/ml 처리시 완전히 억제 됨(Fig. 2A, B)을 보였는데 이는 상백피는 COX-2를 통하여 세포사를 일으킬 수 있음을 제시하는 것이다.

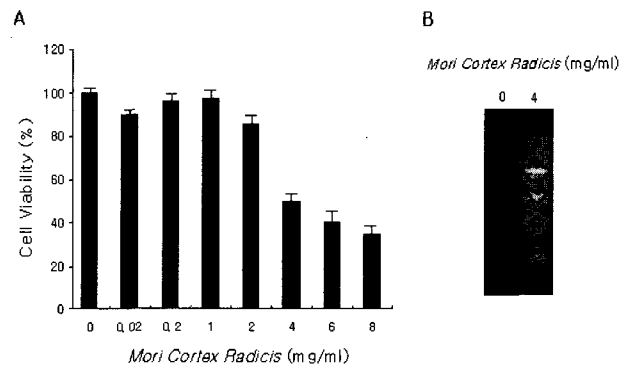


Fig. 1. Cell death of Mori Cortex Radicis in A549 lung cancer cells. A549 lung cancer cells were incubated in Dulbecco's modified Eagle's medium containing 10% fetal bovine serum before treatment with Mori Cortex Radicis for 24-48 hr. For determination of cell viability, crystal violet assay was performed (A). DNA fragmentation was determined by gel electrophoresis (B). Values are represented as mean  $\pm$  S.E.M. (bar) of three independent experiments.

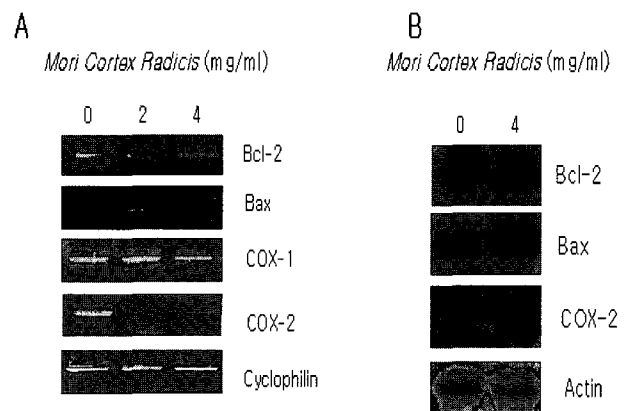


Fig. 2. Identification of transcriptional and translational level of pro-apoptosis and inflammation by Mori Cortex Radicis. A549 lung cancer cells were incubated in Dulbecco's modified Eagle's medium containing 10% fetal bovine serum. RT-PCR (A), Western blot analysis (B) were determined as described in Materials and methods.

3. 상백피의 pro-apoptosis 역할

세포가 분열하기 위하여 각 주기마다 작용하는 Cyclin이 존재하는데, G1기에는 Cyclin D1이 작용하고 S기에는 Cyclin A가 작용하며, 그사이엔 Cyclin E가 존재하며 특히 이 주기를 G1-G0로 하여 p53이 활성화하고 p21의 단백질합성을 조절하게 된다. DNA에 손상이 일어나면 p53이 활성화되어 단백질의 농도가 증가함으로써 p21의 단백질이 증가하여 G1기에서 세포주기를 멈추게 한다. 특히 이 p53이 결손되거나 손상될 경우 손상된 DNA가 무한정으로 복제됨으로써 돌연변이율이 높아지고, 따라서 세포의 암세포화 확률이 높아진다. 사실 모든 사람의 암 절반 이상이 이 p53 유전자의 돌연변이와 관계있음이 계속적으로 밝혀지고 있다. 본 실험에서 그 관계를 알아보려고 Western blot 분석을 실시하였다. 결과에 의하면 4 mg/ml 처리시 처리하지 않은 대조군에 비하여 p53과 p21이 활성화 되었으며 이때 사이클린 D와 E도 활성화되는 것으로 나타났다(Fig. 3). 이것은 위에서 설명한 바와 같이 상백피를 처리할 경우 p53이 활성화됨으로써 p21이 활성화되어 결국 사이클린 D와 E에 작용하여 G1기 멈추게 됨을 보여주는 것이다.

상백피의 pro-apoptosis 작용을 보여주기 위하여 caspase-9, 3, cytochrome C 및 PARP의 단백질분석을 하였다. 그 결과 미토콘드리아에 cytochrome c가 세포질 내로 방출되어 caspase9와 3이 활성화되었으며 그 결과 PARP가 분절됨으로써(Fig. 3) 최종적으로 세포사가 유도됨을 알 수 있었다.

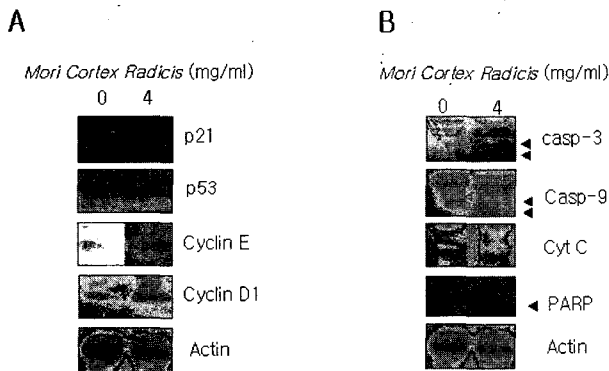


Fig. 3. Western blot analyses of proapoptotic cell death. A549 lung cancer cells were incubated in Dulbecco's modified Eagle's medium containing 10% fetal bovine serum. Western blot analyses was performed as described in Materials and methods.

결론 및 고찰

본 논문에서는 상피백의 역할을 규명하기 위하여 A549 폐암 세포주에 상피를 농도별로 처리하여 세포사를 유도하였다. 그 결과 상백피를 처리하면 pro-apoptotic cell death에 의하여 세포의 미토콘드리아의 Bcl-2와 Bax가 변화하였고 그 결과 cytochrome c가 방출되어 caspase-9와 3가 활성화되었으며, 핵 내의 DNA가 분절화가 일어나 결국 세포사 유도가 일어났다. 다른 한편으로는 p53과 p21의 활성화가 일어나 세포주기에 관련된 Cyclin D와 E가 증가되어 세포가 G1기가 멈춤을 알 수 있었다.

암은 지금까지 알려진 사망원인 중 가장 높은 비율을 차지하고 있으며, 이를 치료·정복하기 위하여 의료 및 국가적인 수준 투입되고 있는 경제적 시간적 노력 등을 따진다면 막대한 비용이 투입될 것이며 여전히 그러한 실정에 있다. 서양의학에서는 수술요법, 방사선요법, 화학요법 및 면역요법과 유전자요법 등을 사용하나 수술요법과 방사선요법은 국소적인 치료법이기 때문에 한정성이 있고 전신요법인 면역요법도 현재로서는 치료방법이 정립되어 있지 않은 상태이기 때문에 화학요법의 발전만이 암치료를 향상시킬 수 있는 것이나 화학요법 자체도 약제 독성문제를 해결하지 못하고 있는 실정이므로 많은 문제를 가지고 있다고 할 수 있다. 즉 외과적 처치법, 방사선치료법, 화학요법, 면역요법 등이 암에 따른 감수성과 치료 후의 경과 그리고 부작용이 각기 다르고, 또 이에 따른 많은 문제점을 안고 있는 것이다<sup>16)</sup>.

지금까지 사용되고 있는 항암제나 면역요법을 볼 때 한의학에서 암세포의 발생을 직접적으로 증식을 억제하거나 암세포에 세포독성을 나타내 암세포를 억제할 수 있는 한약제가 있을 것이라 사료되며 면역세포의 증식의 활성화를 촉진시키면서 암세포의 증식을 억제할 수 있는 한약제의 작용규명 및 항암치료의 기전을 규명할 수 있을 것이다.

암세포의 증식을 억제 할 수 있는 방법은 necrosis와 apoptosis를 생각할 수 있다. Apoptosis는 세포자살을 뜻하는 것으로 necrosis와 대조를 이루는 말로 cell death의 양식으로 알려져 있다. 이러한 apoptosis의 특징으로는 형태상으로는 초기 핵의 응축, 세포질의 응축, 수포상의 세포돌기 형성 등이 관찰되며, 분절된 핵 DNA는 식세포에 의하여 제거된다. 이에 반하여 necrosis는 독성물질이나 산소부족에 의하여 세포막투과성이 항진되어 세포내로 물이 들어와 팽윤되며 미토콘드리아 내로 Ca<sup>2+</sup> 유입이 일어나 ATP 생성이 저하되어 에너지 부족의 결과로 apoptosis가 일어나는 것으로 알려져 있다. 특히 apoptosis 세포의 핵 chromatin 응축은 DNA 분절에 의하여 각종 세포로부터 핵을 단리하여 nuclease를 작용시키면 대략 180-200 base pair의 간격으로 DNA가 절단된다. 이러한 DNA의 분절을 전기영동 상에서 수행하면 ladder 모습으로 보이며, 이 현상이 apoptosis의 생화학적 특징이다.

항암제인 camptothecin, etoposide, cisplatin, methotrexate 및 doxorubicin 등과 방사선 조사에 의하여 apoptosis가 유도되며<sup>17)</sup>, DNA의 단편화는 핵내 전사 활성인자로 알려진 c-myc이 활성화되어 있지 않은 세포에서는 단편화가 유도되지 않는 것으로 알려져 있으나 아직 항암제의 apoptosis 기전은 정확히 밝혀지지 않았으므로 좀더 연구가 진행되어야 확인 될 것이다. 그러나 cancer chemotherapeutic agents에 의하여 암세포의 apoptosis가 촉진되며 proto-oncogene 및 p53에 의하여 apoptosis가 조절되고 있다는 사실은 이미 계속적으로 밝혀지고 있으므로 apoptosis와 암과의 관계에 대한 관심은 대단히 중요하리라 생각된다.

최근 국내에서 상백피에 대한 연구로 김 등<sup>18)</sup>은 직접 마우스에 상백피를 먹인 결과 체중증가의 억제, 소장 내 glycosidase 활성을 낮춤으로써 혈중의 포도당 농도가 낮아졌으며, 혈중 강화해 모글로빈 농도와 중성지방 농도를 낮춤으로써 직접적인 항당뇨

효과가 있음을 증명하였다. 면역학적 연구<sup>19)</sup>로는 항염증작용의 기전 중 염증과정에서 중요한 역할을 하는 것으로 알려진 대식세포 유래의 TNF- $\alpha$  및 IL-1과 nitric oxide의 생성에 미치는 영향을 연구하여 상백피추출물 자체가 직접적으로 생성자체를 억제함으로써 항염증작용을 할 수 있음을 증명하였으며, 강 등에 의하면 직접적으로 피부암과 골수암세포에서 apoptosis의 기능을 검증하였다. 본 논문에서도 그러한 기능을 연구 한 결과 상백피가 직접적으로 아세포에 작용하여 apoptosis를 일으킬 수 있음이 증명되었으므로 지속적인 연구가 이루어져 더 정확한 결과를 얻을으로써 약재로 사용할 수 있는 날이 올 수 있을 것이라 사료된다.

### 참고문헌

1. 한대석. 생약학 동명사. p 118-119, 1988.
2. Hikino, H., Mizuno, T., Oshima, Y., Konno, C. Isolation and hypoglycemic activity of moran A, a glycoprotein of *Morus alba* root barks. *Planta Med.* 2:159-160, 1985.
3. Fukai, T., Hano, Y., Hirakura, K., Nomura, T., Uzawa, J., Fukushima, K. Structures of two natural hypotensive Diels-Alder type adducts, mulberrofurans F and G, from the cultivated mulberry tree (*Morus lhou* KOIDZ.). *Chem Pharm Bull.* 33:3195-3204, 1985.
4. Nikaido, T., Ohmoto, T., Nomura, T., Fukai, T., Sankawa, U. Inhibition of adenosine 3',5'-cyclic monophosphate phosphodiesterase by phenolic constituents of mulberry tree. *Chem Pharm Bull.* 32:4929-4934, 1984.
5. Goldstein, B.D., Czerniecki, B., Witz, G. The role of free radicals in tumor promotion. *Environ Health Perspect.* 81:55-57, 1989.
6. Durak, I., Ormeci, N., Akyol, O., Canbolat, O., Kavutcu, M., Bulbul, M. Adenosine deaminase, 5'-nucleotidase, xanthine oxidase, superoxide dismutase, and catalase activities in gastric juices from patients with gastric cancer, ulcer, and atrophic gastritis. *Dig Dis Sci.* 39:721-728, 1994.
7. Kizaki, M., Sakashita, A., Karmakar, A., Lin, C.W., Koeffler, H.P. Regulation of manganese superoxide dismutase and other antioxidant genes in normal and leukemic hematopoietic cells and their relationship to cytotoxicity by tumor necrosis factor. *Blood.* 82:1142-1150, 1993.
8. Cristiano, F., de Haan, J.B., Iannello, R.C., Kola, I. Changes in the levels of enzymes which modulate the antioxidant balance occur during aging and correlate with cellular damage. *Mech Ageing Dev.* 80:93-105, 1995.
9. 강성용. 상백피가 (桑白皮) 피부암 및 골수암세포의 세포독성, NO 및 Apoptosis 에 미치는 영향. *대한본초학회지.* 13:73-89, 1997.
10. 박시원, 김경하. HTB 176 임파종 세포에 대한 상백피 (Mori Cortex) 의 세포증식 억제효과. *상명대학교 기초과학연구.* 9:105-115, 1996.
11. 윤창용, 신동환, 홍충만, 이원규, 장동덕, 조재천, 안재규, 안덕균, 이무삼. 대식세포의 NO, TNF- $\alpha$  및 IL-1 생산에 미치는 상백피의 억제 효과. *한국수의공중보건학회지.* 22:281-292, 1998.
12. 은재순, 송원영. 암세포주에 대한 유근피 n-BuOH 분획과 항암제의 병용효과. *생약학회지.* 25:144-152, 1994.
13. 안문생, 김세길, 은재순, 임종필, 강정열, 서은실, 오찬호, 소준로. 항암제 Mitomycin C 와 수종 복합생약의 병용투여 효과. *생약학회지.* 25:158-170, 1992.
14. Iijima, O.T., Fujii, Y., Kobayashi, Y., Kuboniwa, H., Murakami, C., Sudo, K., Aburada, M., Hosoya, E., Yamashita, M. Protective effects of juzen-taiho-to on the adverse effects of mitomycin C. *Nippon Gan Chiryō Gakkai Shi.* 23:1277-1282, 1988.
15. 강성용. 상백피가 피부암 및 골수암세포의 세포독성, NO 및 Apoptosis 에 미치는 영향. *대한본초학회지.* 13:73-89, 1997.
16. Willson, J.K., Bittner, G.N., Oberley, T.D., Meisner, L.F., Weese, J.L. Cell culture of human colon adenomas and carcinomas. *Cancer Res.* 47:2704-2713, 1987.
17. Hougardy, B.M., Maduro, J.H., van der Zee, A.G., Willemse, P.H., de Jong, S., de Vries, E.G. Clinical potential of inhibitors of survival pathways and activators of apoptotic pathways in treatment of cervical cancer: changing the apoptotic balance. *Lancet Oncol.* 6:589-598, 2005.
18. 김윤영, 조여원, 정성현, 구성자. db/db 마우스에서 상백피의 혈당강하효과. *한국식품과학회지.* 31:1057-1064, 1999.
19. 윤창용, 신동환, 홍충만, 이원규, 장동덕, 조재천, 안재규, 안덕균, 이무삼. 대식세포의 NO, TNF- $\alpha$  및 IL-1 생산에 미치는 상백피의 억제 효과. *한국수의공중보건학회지.* 22:281-292, 1998.