

桑白皮의 선천면역 활성화에 의한 항암 효과

경희대학교 한의과대학 부인과학교실

정재혁, 이진무, 이창훈, 조정훈, 장준복, 이경섭

ABSTRACT

Anti-tumor Metastatic Effect and Activation of Innate Immunity by Extract of *Mori Radicis Cortex*

Jae-Hyuk Jeong, Jin-Moo Lee, Chang-Hoon Lee,
Jung-Hoon Cho, Jun-Bock Jang, Kyung-Sub Lee

Dept. of Oriental Gynecology, college of Oriental Medicine, Kyung Hee Univ.

Purpose: This study was carried out to investigate the anti-tumor metastasis effect and activation of innate immunity by extracts of *Mori radidis cortex*.

Methods: Anti-tumor metastatic experiment was conducted in vitro and in vivo by using colon 26-M3.1 carcinoma cell, L5178Y-R lymphoma cell and HeLa cell. To observe the activation of innate immunity by extracts of *Mori radidis cortex*, we estimated IL-6, IL-10, IL-12, TNF- α from peritoneal macrophages. And we evaluated the activation of NK cell by using anti-asialo-GM1 serum.

Results: We found that the administration of *Mori radidis cortex* extracts significantly inhibited tumor metastasis. In an in vitro cytotoxicity analysis, *Mori radidis cortex* affected tumor cell growth above specific concentration. *Mori radidis cortex* also stimulated peritoneal macrophage, which was followed by the production of various cytokines such as IL-6, IL-10, IL-12, TNF- α . The depletion of NK cells by anti-asialo GM1 serum partly abolished the inhibitory effect of *Mori radidis cortex* on tumor metastasis.

Conclusion: *Mori radidis cortex* appears to have considerable activity on the anti-metastasis by activation of innate immunity.

Key Words: *Mori radidis cortex*, anti-tumor metastasis, innate immunity

I. 緒 論

암이란 통제되지 않는 비정상적 세포가 분열하고 다른 조직으로 침투하는 질환을 말한다¹⁾. 암은 전세계적으로 유병률 및 사망률이 증가하는 추세이며, 우리나라에서도 2006년 통계청 자료에 의하면 국내 사망률의 27%를 암이 차지하는 것으로 나타났다²⁾.

암의 치료 방법으로 항암제 치료가 많이 사용되고 있는데 대부분 합성화학약품 치료제를 사용하여 조절기능 및 면역기능의 이상을 불러일으키고, 암세포뿐만 아니라 정상적인 세포에도 독성을 일으키는 부작용이 있어 암세포에만 작용할 수 있는 선택적인 치료제의 개발이 필요한 실정이다. 이에 따라 한의학에서 전통적으로 사용되어 오던 한약재를 응용하여 항암효과를 가진 치료제를 개발하기 위한 연구가 진행되고 있다³⁻⁷⁾.

桑白皮는 瀉肺平喘하고 利水消腫하는 효능이 있으며⁸⁾, <神農本草經>⁹⁾에서는 ‘主傷中五勞六極, 羸瘦, 崩中, 脉絶, 補虛益氣’라 하여 肺의 火를 제거하여 益氣를 시켜주고 利水작용을 통해 腫塊를 억제하는 효과가 있다¹⁰⁾. 桑白皮의 암세포에 대한 연구^{11,12)}로 세포독성에 의한 암세포의 증식 억제 효과에 대한 연구는 있지만 면역기능의 활성화를 통한 암세포의 증식 억제에 대해서는 아직까지 연구가 없었다

이에 저자는 桑白皮의 선천 면역 활성화에 의한 항암 효과를 알아보기 위해 암세포의 전이 억제와 복강 내 macrophage로부터 분비되는 cytokine의 활성화 및 NK cell 활성화를 관찰하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 實 驗

1. 材 料

1) 藥 材

한국식물추출물은행에서 桑科 (뽕나무과 : Moraceae)에 속한 落葉喬木인 뽕나무 *Morus alba* L. 및 同屬 近緣植物의 건조된 根皮를 HPLC (Methanol, 50°C)로 추출하여 tube에 분주 후 45°C에서 감압 농축법으로 제조한 추출물 (CW02-057)을 구매하여 사용하였다.

2) 動 物

생후 6-8주령의 雌性 BALB/c 마우스를 (주)중앙실험동물 (Seoul, Korea)에서 분양 받아 사육조에 각 군별로 5마리씩 배정하였다. 정수된 물과 사료 (Samyang Co. Ltd., Incheon, Korea)를 자유 공급하였고, 온도 22°C, 습도 50% 및 12시간 간격으로 자동 조명되는 상태에서 스트레스를 받지 않도록 주의하여 무균상태로 사육하였다.

2. 方 法

1) 試 藥

종양세포의 배양을 위한 RPMI-1640과 Eagle's minimal essential medium (이하 EMEM) 배지, fetal bovine serum (이하 FBS), vitamin, non-essential amino acid, L-glutamic acid 및 thioglycollate 등은 Gibco사 (Carlsbad, CA, USA)에서 구입하여 사용하였다.

2) 細胞培養

Colon26-M3.1 carcinoma cell의 배양은 7.5% FBS, vitamin, sodium pyruvate, non-essential amino acid 및 L-glutamine이 함유된 EMEM 배지를, L5178Y-R

lymphoma cells, HeLa cells 및 macrophage의 배양은 7.5% FBS가 함유된 RPMI-1640 배지를 각각 이용하였으며 5% CO₂, 95% 습도 및 37°C의 배양기 (Thermo, MA, USA)에서 배양하였다.

3) 腫瘍 轉移 모델

桑白皮의 암전이 예방효과를 in vivo에서 확인하기 위하여 5마리의 BALB/c 마우스에 桑白皮 추출물 10, 50 및 250 μ g을 1회 정맥주사 하였으며, 대조군은 동일한 용량과 방법으로 생리식염수를 정맥주사 하였다. 정맥주사 2일 후, 각 마우스 당 2.7×10^4 cells의 colon26-M3.1 carcinoma 세포주를 꼬리정맥에 정맥주사로 접종하였다. 접종 14일 후 경추분리법으로 마우스를 희생 시킨 후 폐를 적출하여 Bouin's 용액에서 전이된 종양을 고정하고 종양의 군집 수를 측정하였다.

4) 腫瘍細胞에 대한 細胞毒性

1×10^5 /ml 농도의 종양세포를 96-well plate의 각 well에 100 μ l씩 분주한 후, L5178Y-R lymphoma cell은 10,000 μ g/ml부터 4배 희석법으로 0.6 μ g/ml까지 희석한 桑白皮 검액 100 μ l를, colon26-M3.1 carcinoma cell과 HeLa cell은 2,000 μ g/ml부터 3배 희석법으로 8.2 μ g/ml까지 희석한 桑白皮 검액 100 μ l를 각각 첨가하고 2일간 배양하였다. 배양 완료 2-4시간 전에 cell counting kit (Wako, Japan) 용액을 well당 10 μ g/ml 첨가 후, 생존세포가 생산한 수용성 formazan의 양을 450nm에서 흡광도를 측정하였으며, 세포독성 효과는 시료를 첨가하지 않는 대조군에 대한 백분율(%)로 표시하였다.

5) Macrophage에 대한 影響

(1) Macrophage의 收集

BALB/c 마우스에 1% thioglycollate를 1ml 복강주사하고 3일 후에 경추 분리법으로 희생 시킨 후, 복강에 RPMI-1640 배지 10ml을 주입하여 복강 내 세포(peritoneal exudative cells: 이하 PEC)를 수집하였다. 수집된 PEC를 24 well culture plate에 1.5×10^6 /ml 농도로 조정하여 분주 후, 2시간 동안 배양하여 macrophage를 plate에 부착하고 배양액으로 세척하여 부착되지 않은 세포를 제거하였다.

(2) Macrophage에 대한 細胞毒性

1×10^5 /ml 농도의 macrophage를 96-well plate의 각 well에 100 μ l씩 분주한 후, 4,000 μ g/ml부터 4배 희석법으로 1.0 μ g/ml까지 희석한 桑白皮 검액 100 μ l를 첨가하고 2일간 배양하였다. 배양 완료 2-4시간 전에 cell counting kit (Wako, Japan) 용액을 well당 10 μ g/ml 첨가 후, 생존세포가 생산한 수용성 formazan의 양을 450nm에서 흡광도를 측정하였으며, 세포독성 효과는 시료를 첨가하지 않는 대조군에 대한 백분율(%)로 표시하였다.

(3) Macrophage의 cytokines 測定

1×10^5 /ml 농도의 macrophage를 96-well plate의 각 well에 100 μ l씩 분주한 후, 250 μ g/ml부터 4배 희석법으로 0.98 μ g/ml까지 희석한 桑白皮 검액 100 μ l를 첨가하고 24시간 배양 후, 배양 상등액을 회수하였다. 배양 상등액에 유도 분비된 interleukin (이하 IL)-6, IL-10, IL-12 및 TNF- α 의 측정은 각 cytokine에 대한 ELISA kit (Pharmingen, San Jose, CA, USA)를 사용하여 측정하였으며, 각 cytokines의 양은 각각에 대한 표준곡선

에 대입하여 계산하였다.

6) NK cell 關聯 腫瘍 轉移 모델

20마리의 BALB/c 마우스를 NK cell 제거군과 비제거군에 각각 10마리씩 무작위 배정 후, NK cell 제거군은 중앙 접종 3일전 및 1일전에 50배 희석된 anti-asialo GM1 항체를 마우스당 500 μ l 씩 총 2회 복강 주사하였다. NK cell 제거군과 비제거군 마우스 중 각각 5마리를 무작위로 선택하여 桑白皮 추출물 250 μ g을 1일 1회 정맥주사 하고, 나머지는 동일한 용량과 방법으로 생리식염수를 정맥주사 하였다. 정맥주사 2일 후, 각 마우스 당 2.7 \times 10⁴ cells의 colon26-M3.1 carcinoma 세포주를 꼬리정맥에 정맥주사로 접종하였다. 접종 14일 후 경추분리법으로 마우스를 희생 시킨 후 폐를 적출하여 Bouin's 용액에서 전이된 종양을 고정하고 종양의 군집 수를 측정하였다.

7) 統計處理

실험결과에 대한 통계처리는 SPSS for windows (version 12)를 이용하였다. 실험군과 대조군의 비교는 Student's *t*-test로 분석하였고, *p*<0.05 이하인 경우를 유의한 것으로 하였다.

III. 結 果

1. 桑白皮 추출물 정맥투여 후 종양세포 전이 억제

마우스 모델에서 colon26-M3.1 carcinoma cell 전이 억제에 대한 효과를 알아보기 위해 10, 50 및 250 μ g의 桑白皮 추출물을 정맥 투여한 결과, 전이된 종양의 개수는 10 μ g, 50 μ g 및 250 μ g에서 각각 28.0 \pm 8.9

개, 12.6 \pm 4.6개 및 13.8 \pm 7.1개로 대조군 85.0 \pm 11.5개에 비해 모두 통계적으로 유의한(*p*<0.01) 중앙 억제 효과를 보였다 (Fig. 1).

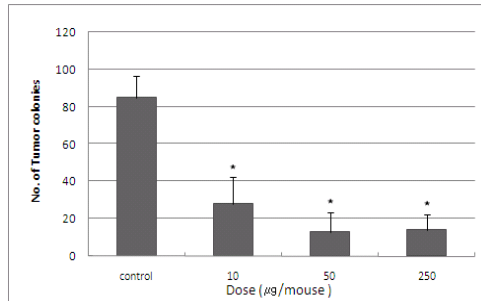


Fig. 1. Effect of intravenous administration of *Mori Radicis Cortex* on lung metastasis produced by i.v. inoculation of colon26-M3.1 carcinoma cells.

2. 腫瘍 細胞에 대한 細胞毒性 影響

1) Colon26-M3.1 carcinoma cell에 대한 細胞毒性 效果

桑白皮 추출물을 2,000 μ g/ml부터 3배 희석법으로 8.2 μ g/ml까지 처리한 후, colon26-M3.1 carcinoma cell의 증식을 관찰한 결과 2,000 μ g/ml부터 증가되어 222.2 μ g/ml이하에서 100%에 가까운 세포 증식을 나타내었으며, IC₅₀은 1,100 μ g/ml이었다(Fig. 2).

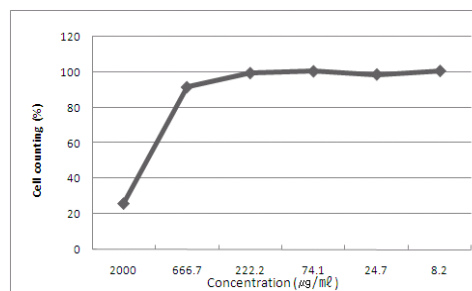


Fig. 2. Cytotoxic effect of *Mori Radicis Cortex* on colon26-M3.1 carcinoma cell *in vitro*.

2) L5178Y-R lymphoma cell에 대한 細胞毒性 效果

桑白皮 추출물을 10,000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 부터 4배 희석법으로 0.6 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 까지 처리한 후, L5178Y-R lymphoma cell의 증식을 관찰한 결과 2,500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 부터 증가되어 156.3 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이하에서 100%에 가까운 세포증식을 나타내었으며, IC₅₀은 2,100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이었다(Fig. 3).

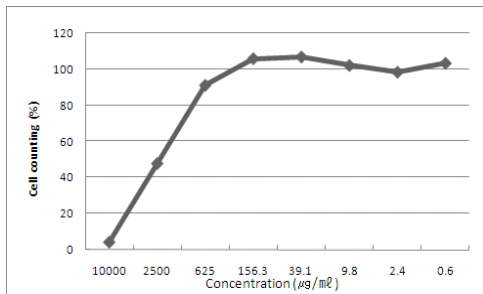


Fig. 3. Cytotoxic effect of *Mori Radicis Cortex* on L5178Y-R lymphoma cell *in vitro*.

3) HeLa cell에 대한 細胞毒性 效果

桑白皮 추출물을 2,000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 부터 3배 희석법으로 8.2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 까지 처리한 후, HeLa cell의 증식을 관찰한 결과 2,000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 부터 증가되어 222.2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이하에서 100%에 가까운 세포증식을 나타내었으며, IC₅₀은 900 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이었다(Fig. 4).

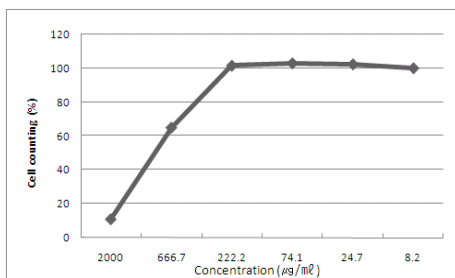


Fig. 4. Cytotoxic effect of *Mori Radicis Cortex* on HeLa cell *in vitro*.

3. Macrophage의 cytokine 분비에 미치는 影響

1) Macrophage에 대한 細胞毒性 效果

桑白皮 추출물을 4,000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 부터 4배 희석법으로 1.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 까지 처리한 후, macrophage의 증식을 관찰한 결과 4,000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 부터 증가되어 250 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이하에서 100%에 가까운 세포증식을 나타내었으며, IC₅₀은 3,100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이었다(Fig. 5).

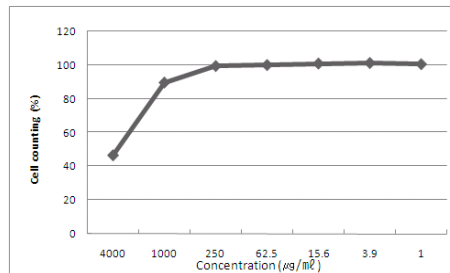


Fig. 5. Cytotoxic effect of *Mori Radicis Cortex* on macrophage *in vitro*.

2) IL-6의 분비

桑白皮 추출물을 250 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 부터 4배 희석법으로 0.98 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 까지 처리한 후 macrophage의 IL-6의 분비를 관찰한 결과, 250 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 부터 0.98 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 까지 농도 의존적인 분비 감소가 관찰되었다. 이 때, 양성대조군으로 사용한 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 LPS의 경우 8,637.2 \pm 1,845.2pg/ml이었다(Fig. 6).

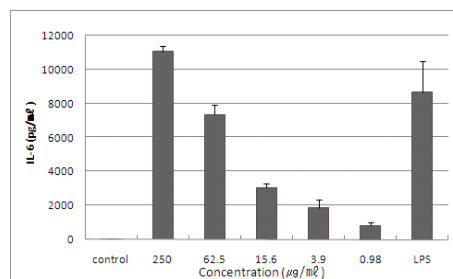


Fig. 6. Production of IL-6 from peritoneal macrophages stimulated by extracts from *Mori Radicis Cortex*.

3) IL-10의 분비

桑白皮 추출물을 250 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 부터 4배 희석 방법으로 0.98 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 까지 처리한 후 macrophage의 IL-10의 분비를 관찰한 결과, 250 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 부터 0.98 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 까지 농도 의존적인 분비 감소가 관찰되었다. 이 때, 양성대조군으로 사용한 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 LPS의 경우 520.0 \pm 46.0pg/ml이었다(Fig. 7).

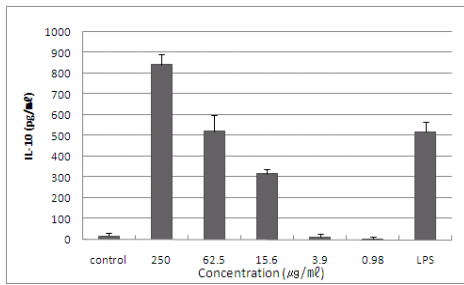


Fig. 7. Production of IL-10 from peritoneal macrophages stimulated by extracts from *Mori Radicis Cortex*.

4) IL-12의 분비

桑白皮 추출물을 250 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 부터 4배 희석 방법으로 0.98 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 까지 처리한 후 macrophage의 IL-12의 분비를 관찰한 결과, 250 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 부터 0.98 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 까지 농도 의존적인 분비 감소가 관찰되었다. 이 때, 양성대조군으로 사용한 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 LPS의 경우 177.5 \pm 10.9pg/ml이었다(Fig. 8).

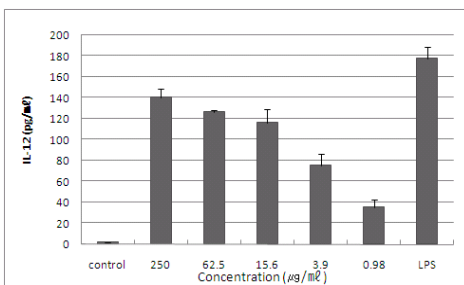


Fig. 8. Production of IL-12 from peritoneal macrophages stimulated by extracts from *Mori Radicis Cortex*.

5) TNF- α 의 분비

桑白皮 추출물을 250 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 부터 4배 희석 방법으로 0.98 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 까지 처리한 후 macrophage의 TNF- α 의 분비를 관찰한 결과, 62.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 부터 0.98 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 까지 농도 의존적인 분비 감소가 관찰되었다. 이 때, 양성대조군으로 사용한 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 LPS의 경우 455.9 \pm 6.1pg/ml이었다(Fig. 9).

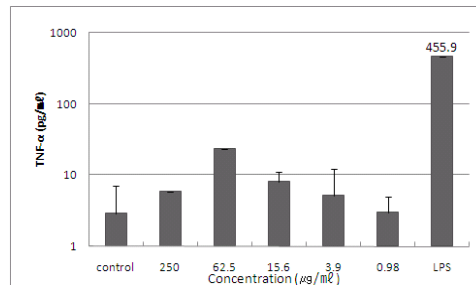


Fig. 9. Production of TNF- α from peritoneal macrophages stimulated by extracts from *Mori Radicis Cortex*.

4. NK cell 유무에 따른 종양 전이 억제

Colon26-M3.1 carcinoma cell 전이억제에 대한 桑白皮 추출물의 효과를 NK cell 유무에 따라 알아본 결과, NK cell을 제거하지 않은 경우, 桑白皮 추출물 250 μg 투여 시 전이된 종양의 개수는 5.2 \pm 2.7개로 대조군의 41.8 \pm 12.3개에 비해 유의하게($p < 0.01$) 적었다. NK cell을 anti-asialo GM1항체로 제거한 경우, 桑白皮 추출물 250 μg 투여 시 전이된 종양의 개수는 289.8 \pm 23.8개로 대조군의 310.8 \pm 23.8개에 비해 유의한 차이가 없었다(Fig. 10).

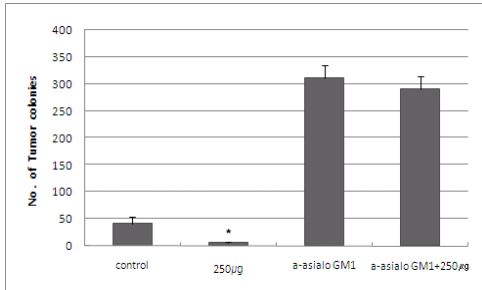


Fig. 10. After depletion of NK cell with anti-asialo GM1 serum, effects of extracts from *Mori Radicis Cortex* on tumor metasis were measured.

IV. 考 察

암이란 어떤 장기나 조직에 비정상적인 세포의 성장을 제어할 수 없게 되어 그 결과 세포수가 증가하는 질병을 의미한다¹³⁾. 암은 세계적으로 매년 약 1000만 명 정도의 사람들이 새롭게 암에 걸리며, 650만 명이 사망할 정도로 치명적인 질환이다. 우리나라에서도 암은 국민 사망 원인 중 1위로 매년 약 12만 명이 새로 암에 걸리고, 약 6만 5천명이 암으로 사망 한다¹⁴⁾.

암의 대표적인 치료법으로는 화학요법, 방사선요법 및 수술요법 등이 있으며, 가장 흔하게 사용되는 화학요법의 경우, 암세포만을 선택적으로 죽이기 어렵지 않으며, 처음에는 좋은 치료효과를 보이다가도 암세포가 내성을 가지게 되는 어려운 점이 있다. 이와 같은 기존 치료법의 어려움을 극복하기 위해 면역요법, 혈관신생 억제제, 항원 및 세포성분백신, Apoptosis 유도체 및 항암제 감작제 등 여러 가지 새로운 치료법이 시도되고 있다¹³⁾.

한의학에서의 암의 개념은 고전 문헌

곳곳에서 찾아볼 수가 있는데. 《靈樞水脹》의 ‘石瘕生于胞中’¹⁵⁾은 자궁의 종괴, 《難經 五十五難》의 ‘氣之所積者曰積, 氣之所聚者曰聚’¹⁶⁾는 복강 내의 종양, 《諸病源候論》의 ‘石癰之狀微強不甚大’¹⁷⁾은 유방암을 표현하는 등 4세기 이전부터 이미 암에 대해 인식하고 있었음을 알 수 있다. 또한 《千金要方》의 ‘婦人女子乳頭生小淺熱瘡...名爲妒乳’¹⁸⁾, 《丹溪心法》의 ‘其槁在上...食物難入, 名之曰噎, 其槁在下與胃爲近...食久多出, 名之曰膈’¹⁹⁾ 등 꾸준하게 암의 개념에 대해 서술하고 있음을 알 수 있다.

치료는 活血化癥, 去腐生新, 止痛散結 및 氣血雙補^{20, 21)} 등의 방법을 사용하며, 최근에는 馬齒莧²²⁾, 木香²³⁾, 沒藥⁷⁾, 仙鶴草²⁴⁾ 및 榆根皮⁶⁾ 등 한약재를 이용하여 면역기능을 활성화시키는 새로운 항암제 개발 연구가 활발하게 이루어지고 있다.

桑白皮는 瀉肺平喘하고 利水消腫하여 肺熱咳喘과 水腫脹滿尿少, 面目肌膚浮腫을 치료하는 효과가 있다⁸⁾. 桑白皮에 대한 기존 연구를 살펴보면 혈당강하 효과²⁵⁾ 및 항 당뇨 효과²⁶⁾, 고지혈증 치료 효과²⁷⁾ 및 간 보호 효과²⁸⁾ 등에 대한 보고가 있었다. 특히 윤 등²⁹⁾의 연구에서 대식세포의 TNF-α와 IL-1 등의 생산에 桑白皮 투여가 영향을 준 것으로 나타났다. 이로 미루어 볼 때 면역학적으로 암세포 억제에 중요한 역할을 하는 interleukin과 TNF-α 등의 cytokine 생성에 桑白皮가 영향을 줄 수 있을 것이라는 가정 하에 연구를 실시하게 되었다.

桑白皮의 종양 전이 억제 효과를 알아보기 위하여 colon26-M3.1 carcinoma cell을 이용한 마우스 실험 모델을 통해 종양세포의 군락 수 변화를 측정하였다.

종양 접종 2일 전에 10, 50 및 250 μ g의 桑白皮 추출물을 각각 1회 정맥 투여한 결과, 10, 50 및 250 μ g의 모든 투여군에서 유의성 있는 종양 전이 억제 효과를 보였다. 따라서 세포독성에 의한 종양 억제 효과인지 macrophage나 NK cell의 활성화를 통한 선천 면역계의 강화에 의한 종양 억제 효과인지를 알아보았다.

桑白皮 추출물과 종양세포를 동시에 배양시켜 48시간 후 cell counting을 한 결과 colon26-M3.1 carcinoma cell, L5178T-R lymphoma cell 및 HeLa cell 이 각각 222.2 μ g/ml, 156.3 μ g/ml 및 222.2 μ g/ml 이하의 농도에서 100%에 가까운 세포증식 효과를 보였다. 이는 종양 전이 억제 실험에서 유의한 효과를 나타낸 농도보다 고농도에서 세포독성을 나타내므로 桑白皮 추출물 자체의 세포독성에 의한 효과가 아님을 알 수 있다.

桑白皮가 면역계에 미치는 영향을 알아보기 위해 macrophage에 대한 세포독성 효과를 알아본 결과, 250 μ g/ml 이하에서 100%에 가까운 세포증식을 나타내었다. 따라서 선천 면역기능 활성화에 의한 항암효과를 알아보기 위해 세포독성의 영향을 받지 않는 250 μ g/ml 이하의 농도에서 cytokine 분비 변화를 알아보았다.

IL-6은 B세포가 항체 생산세포로 분화하도록 유도하는 cytokine, IL-10은 T 세포, monocyte 및 macrophage 등에서 합성되는 강력한 항염증작용을 하는 cytokine, IL-12는 주로 macrophage에서 생산되며, NK cell을 활성화시켜 항암작용에 있어서 중요한 역할을 하는 cytokine 이다¹⁴⁾. 桑白皮 투여에 의한 macrophage의 IL-6, IL-10 및 IL-12 분비를 관찰한

결과, 0.98 μ g/ml부터 250 μ g/ml까지 농도 의존적인 분비 증가가 관찰되었다.

TNF- α 는 19세기 Coley가 죽은 박테리아로 백신을 만들어 항암효과를 본 뒤 20세기에 들어 백신 주입 후 개체에서 생산되는 cytokine으로 알려졌다. 이후 in vitro 실험이나 동물실험에서 항암효과가 증명되었다¹³⁾. 桑白皮 검액을 투여한 결과 0.98 μ g/ml부터 62.5 μ g/ml까지 농도 의존적인 TNF- α 분비 증가가 관찰되었다.

Macrophage에서의 IL-6, 10, 12 및 TNF- α 분비는 桑白皮 투여 농도가 증가함에 따라 분비량이 증가하는 것을 볼 수 있었다. 항체 생산세포의 분화, NK cell의 활성화, 항염증작용의 증가, 종양 괴사 효과 등의 역할을 하는 이러한 cytokine 방출 증가는 곧 인체 스스로 암을 이겨낼 수 있는 선천 면역계를 활성화시킨다는 것을 의미한다. 이에 따라 桑白皮가 macrophage에서의 cytokine 분비 증가를 통해 선천 면역계를 활성화시키는 능력이 우수함을 알 수 있었다.

NK cell은 기본적으로 세포 내 감염에 대한 초기 방어를 제공하는 역할을 하지만, 종양 환자에게 NK cell의 기능이 정상인보다 떨어지고, 동물 실험에서 NK cell을 제거할 경우 암의 발생빈도가 늘어나고 전이가 증가하는 것을 볼 때, 면역요법과 관련한 NK cell의 중요성을 알 수 있다³⁰⁾.

桑白皮의 NK cell 활성화를 통한 종양 전이 억제 효과를 알아보기 위하여 NK cell을 제거하지 않은 군과 제거군으로 나누고, 각 군마다 대조군, 桑白皮 투여군을 두어 실험한 결과, NK cell을 제거하지 않은 군에서 유의성 ($p < 0.01$) 있는

종양 전이 억제 효과가 나타났다. 이는 桑白皮가 NK cell을 통한 선천 면역 활성화 작용이 뛰어나다는 것을 알 수 있다.

연구를 통해 桑白皮가 종양 세포에 대한 전이 억제 효과가 유의하게 나타나는 기전이 세포독성에 의한 것보다는 macrophage에서의 cytokine 분비 증가와 NK cell을 통한 선천 면역계의 기능 활성화를 통한 것임을 볼 때, 桑白皮가 선택적으로 종양 세포를 억제시킬 수 있는 물질임을 유추해 볼 수 있었다. 선천 면역을 활성화시킬 수 있는 다른 한약재와의 조합을 통한 한약처방 연구가 지속적으로 이루어진다면 한의학 연구를 통한 새로운 항암제의 개발이 가능하리라 본다.

V. 結 論

桑白皮의 선천 면역 활성화에 의한 항암 효과를 알아보기 위해 암세포의 전이 억제와 복강 내 macrophage로부터 분비되는 cytokine의 활성화 및 NK cell 활성화에 대하여 연구하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

1. Colon 26-M3.1 carcinoma cell에 대한 桑白皮 투여 시 모든 투여군에서 유의성 있는 종양 전이 억제 효과를 보였다.
2. Colon 26-M3.1 carcinoma cell, L5178Y-R lymphoma cell 및 HeLa cell에 대하여 桑白皮 투여 시 각각 222.2 μ g/ml, 156.3 μ g/ml 및 222.2 μ g/ml 이하의 농도에서 100%에 가까운 세포증식 효과를 보였다.

3. Macrophage는 桑白皮 추출물 250 μ g/ml 농도 이하에서 100%에 가까운 세포증식을 나타내었다.
4. Macrophage로부터의 IL-6, IL-10 및 IL-12의 분비는 桑白皮 추출물 250 μ g/ml, TNF- α 의 분비는 62.5 μ g/ml까지 농도의존적인 증가를 보였다.
5. NK cell을 제거하지 않은 군에서 桑白皮 추출물 투여군은 대조군에 비해 종양의 억제가 유의하게 나타났다.

參 考 文 獻

1. National cancer institute. What is cancer? <http://www.cancer.gov/cancertopics/what-is-cancer>. 2008.
2. 한국통계청. 2006년 사망 및 사망원인 통계결과. <http://www.kosis.kr/seasar/totalSearch2.jsp?detailSearch=block&query=2006년%20>. 2007.
3. Lee KG, Mitchell AE, Shibamoto T. Determination of Antioxidant Properties of Aroma Extracts from Various Beans. J Agric Food Chem. 2000; 48(10):4817-4820.
4. Park HS et al. Antimicrobial Activities against Oral Microbes and Growth-inhibitory Effect on Oral Tumor Cell by Extract of Paeonia lactiflora. Kor J Env Hlth. 2007;33(1):21-29.
5. Jo MJ, Min KJ. Anti-microbial Activities against Oral Microbes and Growth-inhibitory Effect on Oral Tumor Cell of Extracts of Perilla and Mugwort.

- Kor J Env Hlth. 2007;33(2):115-122.
6. 양승정 등. 榆根皮 추출물의 유방암 세포주 MCF-7 성장 억제 효과. 대한한방부인과학회지. 2007;20(3):35-44.
 7. 박종규 등. 沒藥이 子宮頸部癌細胞 (HeLa Cell)의 Apoptosis에 미치는 영향. 대한한방부인과학회지. 2006; 19(1):97-110.
 8. 전국한의과대학 본초학교수. 본초학. 서울:영림사. 2004;484-485.
 9. 吳普. 神農本草經. 서울:의성당. 2003 ;193-194.
 10. 유경수, 안덕균. 상백피에 관한 연구 (I)-상백피의 본초서지학적 분석. 생약학회지. 1980;11(2):85-94.
 11. 강성용. 桑白皮가 피부암 및 골수암 세포의 세포독성, NO 및 Apoptosis 에 미치는 영향. 대한본초학회지. 1997;12(2):73-89.
 12. 박시원, 김경하. HTB 176 임파종 세포에 대한 桑白皮(*Mori Cortex*)의 세포증식 억제효과. 상명대학교 기초과학연구소. 1996;9:105-115.
 13. 민영돈 등. 암이란 무엇인가. 광주:조선대학교출판부. 2003;3, 195, 223-224, 230-232.
 14. 신영태 등. 면역치료, 암과의 전쟁. 서울:한솔의학서적. 2008;29,33.
 15. 김달호 편역. 註解補註 黃帝內經 靈樞. 서울:의성당. 2002;1042.
 16. 윤창렬, 김용진. 難經研究集成. 대전:주민출판사. 2002;763.
 17. 丁光迪. 諸病源候論校註(下). 北京:人民衛生出版社. 1992;1173.
 18. 孫思邈. 千金方. 北京:中國中醫藥出版社. 1998;386.
 19. 朱震亨. 丹溪醫集. 北京:人民衛生出版社. 1993;26.
 20. 申天浩. 癌瘤防治研究. 서울:成輔社. 1984;25-29.
 21. 福島清吾. 抗癌中藥의 臨床應用. 東京:醫齒藥出版株式會社. 1988;135-136.
 22. 엄주오 등. 마치현이 자궁경부암세포 (HeLa Cell)에 미치는 영향. 대한한방부인과학회지. 2005;18(1):29-44.
 23. 송진욱, 민경진, 차춘근. 목향 추출물의 항산화 및 항암활성. 한국환경보건학회지. 2008;34(1):55-61.
 24. 민경진, 송진욱, 차춘근. 선착초 추출물의 항산화 및 항암활성. 한국식품위생안전성학회지. 2008;23(2):149-156.
 25. 윤수홍, 정소영, 하현. 桑白皮 추출물이 당뇨쥐의 혈당 및 효소에 미치는 영향. 한국위생과학회지. 2001;7(2): 119-123.
 26. 김윤영 등. db/db 마우스에서 桑白皮의 혈당강하효과. 한국식품과학회지. 1999;31(4):1057-1064.
 27. 광영 등. 상지, 상엽, 桑白皮 및 상심자의 항지혈 효과에 관한 연구. 경희의학. 1992;8(1):44-56.
 28. 김애경, 하현, 윤수홍. 분리 간세포에서 桑白皮의 간보호효과. 한국위생학회지. 1995;1(1):16-20.
 29. 윤창용 등. 대식세포의 NO, TNF- α 및 IL-1 생산에 미치는 桑白皮의 억제 효과. 한국수의공중보건학회지. 1998;22(3):281-292.
 30. 서울대학교 의과대학 편. 중양학. 서울:서울대학교출판부. 1998;229.