大韓本草學會誌 제25권 제1호(2010년 3월)
Kor. J. Herbology 2010 ; 25(1) : 23-31

土茯苓의 기원식물별 위암 세포 SNU-1에 대한 항암효과 비교연구

안한규, 한효상, 이영종*

경원대학교 한의과대학 본초학교실

A Comparative Study of the Anti-cancer Effects of Smilacis Chinae Rhizoma and Smilacis Glabrae Rhizoma on Stomach Cancer SNU-1 Cells

Han-Kyu Ahn, Hyo-Sang Han, Young-Jong Lee*

Dept. of Herbology, College of Oriental Medicine, Kyungwon University

ABSTRACTS

Objectives : The purpose of this study was to compare the anticancer effects of Smilacis Chinae Rhizoma (SCR) and Smilacis Glabrae Rhizoma (SGR) on stomach cancer SNU-1 cells.

Methods : The cell proliferation, apoptosis and cytokine level from the extracts were examined in order to compare the anticancer effects of SCR and SGR on SNU-1 cells.

Results : SCR had greater anticancer effects than SGR in terms of the inhibition of cell proliferation and apoptosis in the SNU-1 cells. SCR decreased TGF-β and SGR increased IL-2 in SNU-1 cells. SCR decreased more TGF-β and increased more TNF-α compared to SGR.

Conclusions : There were few significant differences according to the concentration and fraction, but a greater anticancer effect of SCR was shown as compared with SGR.

Key words : *Smilax china* Linne, *Smilax glabra* Roxb., Smilacis Chinae Rhizoma, Smilacis Glabrae Rhizoma, anticancer effects, SNU-1

서 론

土茯苓은 淸熱除濕, 泄濁解毒, 通利關節하는 효능이 있어 癰腫, 瘡癬, 瘰癧, 癭瘤 등의 항암효과와 관련된 질환을 치료하는 데 상용하고 있다[1,2].

土茯苓의 기원식물은 ≪대한약전≫[3]과 ≪조선민주주의인민공화국약전≫[4]에서는 청미래덩굴*Smilax china* Linne이며, ≪중화인민공화국약전≫[5], ≪중화민국중약전범≫[6], ≪일본약국방≫[7]에서는 光葉菝葜*Smilax glabra* Roxb.로 수재되어 있다. 중국약전[5]에서는 우리가 土茯苓으로 사용하는 청미래덩굴*S. china* Linne를 菝葜로 수재하여 土茯苓과 구별하고 있다.

土茯苓은 ≪證類本草≫[8]에 의하면 ≪本草經集注≫에 草禹餘粮으로 처음 수록 되었다고 하였으며, 菝葜는 ≪名醫別錄≫[9]에 처음 수재되었다. ≪本草綱目≫[10]에는 土茯苓과 菝葜가 함께 수재되어 있다. ≪東醫寶鑑≫[11], ≪方藥合編≫[12]에는 菝葜는 수록되어 있지 않고 土茯苓이 수록되어 있다.

청미래덩굴*S. china* Linne 근경의 성분으로는 smilaxin, isoengeletin, oleanolic acid, kaempferide, dihydrokaempferide, β-sitosterol, β-sytosteroylglucoside, prosapogenin A of dioscin, dioscin, gracillin, methylprotogracillin, methylprotodioscin, neotigogenin-3-O-α-L-rhamnopyranosyl-(1→6)-β-D-glucopyranoside 등이 보고되어 있고[1], 光葉菝葜*S. glabra* Roxb. 근경의 성분으로는 astilbin, engeldtin, 3-O-caffeoyshikimic acid, shikimic acid, ferulic acid, β-sitosterol, glucose 등이 보고되어 있다[1].

청미래덩굴*S. china* Linne 근경의 약리작용으로는 항염[13], 항산화[14], 항암[15], 항균[16]작용이 보고되었으며 光葉菝葜*S. glabra* Roxb. 근경의 약리작용으로는 항암[17],항염[18],

* 교신저자 : 이영종, 경기도 성남시 수정구 복정동 산 65 경원대학교 한의과대학 본초학교실
· Tel : 031-750-5415 · E-mail : garak@kyungwon.ac.kr
· 접수 : 2010년 2월 11일 · 수정 : 2010년 3월 22일 · 채택 : 2010년 3월 22일

항당뇨[19]작용 등이 보고되었다.

癌은 조직의 정상적인 성장과는 독립적으로 자라는 조직으로서 인체 내에서 급속도로 자라서 주위 조직에 침윤되어 파괴적이고 다른 조직으로도 전이되는 질병으로[20], 화학요법에 의한 암치료제로는 알킬화제, 대사 길항물질, 항생물질 등이 이용되고 있다[21]. 따라서 천연물로부터 면역기능을 높여주고 암세포에만 특수하게 작용하는 항암제를 개발하려는 노력이 많이 시도되고 있는데, 한국과 중국 土茯苓의 위암에 대한 항암 효능을 직접 비교한 연구는 아직 보고되지 않았다.

이에 저자는 土茯苓의 기원식물로 ≪대한약전≫에는 청미래덩굴*S. china* Linne이, ≪중화인민공화국약전≫에는 光葉菝葜*S. glabra* Roxb.가 수재되어 있는 점에 착안하여, 土茯苓의 기원식물별로 위암에 대한 항암 효과를 비교 검토하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

실 험

1. 재료

1) 약재

실험에 사용된 청미래덩굴 근경(Smilacis Chinae Rhizoma, 이하 SCR로 표현)은 전남 나주시에서 채취한 것을 사용하였으며, 光葉菝葜 근경(Smilacis Glabrae Rhizoma, 이하 SGR로 표현)은 2005년 8월 중국 안국시장에서 구입하여, 경원대학교 한의과대학 본초학교실에서 감정하였으며, 모든 약재는 이용하기 전에 초음파 세척기를 이용하여 불순물을 제거하고 실험에 사용하였다.

2) 시약 및 기기

(1) 시약

본 실험을 위해서 Chloroform, TRI reagent (Sigma, USA), FBS (Hyclone, USA), Phosphate buffer saline (Gibco, USA), Thymidine (Amersham, USA), Annexin V-FITC Apoptosis Detection Kit (BD Pharmingen, USA), IL-2 ELISA KIT, IL-12 ELISA KIT (Endogen, USA), TNF-α ELISA KIT (Endogen, USA), TGF-β ELISA KIT (R&D, USA), 10 × PCR buffer (Takara, Japan) 등이 사용 되었다.

(2) 기기

본 실험에 사용된 기기는 Rotary evaporator (Eyela, Japan), Bio-freezer (Sanyo, Japan), Micrometer (Mitutoyo, Japan), Microscope (Leica, Japan), Ultrasonic cleaner (Branson, USA), Homogenizer (OMNi, USA), Plate shaker (Lab-Line, USA), ELISA reader (Tecan, Canada), Ice maker (Vision science, Korea), Cytological centrifuge (Hanil, Korea), Pulverizer (Rong tsong, Taiwan) 등이다.

2. 방 법

1) 약물

(1) 전탕 추출

한국 토복령과 중국 토복령 100 g씩에 각각 1 L의 증류수를 가하고 약탕기(Woongjin. Korea)를 이용하여 3시간 동안 끓인 다음 여과지로 여과한 후 감압증류장치를 이용하여 수분을 제거하여 분말로 만들었다.

(2) 분획 추출

전탕액 분말을 Fig. 1과 같은 방법으로 분획하였다. 각 약재의 전탕액 분말 20 g에 증류수 400 ㎖를 넣고 극성이 다른 용매(*n*-hexane, ethyl acetate, ethyl ether, *n*-butanol)를 이용하여 단계적으로 분획하였다. 극성에 의해 얻어진 분획 생성물들은 감압증류장치를 이용하여 용매를 완전히 제거한 후 실험에 사용하였다(Fig. 1).

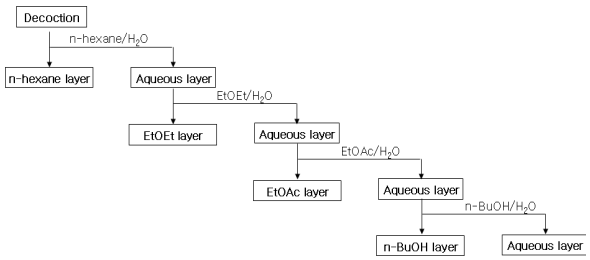

Fig. 1. Procedure of various solvent fractions from decoction extract of Smilacis Chinae Rhizoma or Smilacis Glabrae Rhizoma

2) 위암세포에 대한 영향 측정

(1) Cell proliferation[22]

한국 세포주은행으로부터 분양받은 위암세포 SNU-1을 RPMI1640 media에 10% FBS와 항생제를 첨가하여 배양을 실시하였다. 위암세포를 12 well plate에 5×10^5 cell/well로 분주한 다음, SCR과 SGR의 전탕액을 농도 10 ㎎/㎖, 5 ㎎/㎖, 1 ㎎/㎖, 0.1 ㎎/㎖, 0.01 ㎎/㎖으로 달리하여 72시간 동안 36℃에서 배양하였다. 72시간동안 배양된 세포를 harvest하기 12~18시간 전에 [^{3}H]-thymidine을 1 μCi 처리하고, 세포를 β-counter (Beckman, USA)에 사용하는 safe cuvette에 500 ㎕씩 분주한 다음 cocktail solution을 2 ㎖ 첨가 한 후 [^{3}H]-thymidine의 uptake를 β-counter로 확인하였다.

(2) Apoptosis

SCR과 SGR의 전탕 및 분획을 처리한 SNU-1을 72시간동안 배양을 실시하였다. 세포를 취합한 후, 1 × binding buffer을 이용하여 1회 washing을 실시하고, annexin V-FITC와 PI (propidium iodide)를 5 ㎕씩 분주한 뒤, 실온에서 빛을 차단한 채로 15분간 반응시켜 flow

cytometry를 이용하여 cell population을 확인 했으며, FACs carliber의 software를 이용하여 분석하였다.

(3) Cytokine level[23]

위암세포의 증식 중에 나타나는 cytokine의 변화를 ELISA 방법으로 확인하였다. ELISA kit를 사용하여, SNU-1의 culture supernatant에서 각 cytokine 양을 측정하였다. Anti-cytokine 항체가 코팅된 96 well plate에 serum을 가하여 반응시킨 후 4번 세척하고, 다시 biotin이 표지된 anti-cytokine 항체를 가하여 반응시킨 후 4번 세척하였다. 여기에 streptavidin-HRP를 가하고 ELISA-reader로 측정하였다.

3. 통계처리

본 실험에서 얻은 결과에 대해서는 ANOVA multi *t*-test (JAVA, Bonferroni Ver II)로 분석하여 *p*값을 구했다. 각 실험군을 비교하여 *p*값이 0.05미만일 경우에 유의성을 인정하였다.

성 적

1. 분획별 수율

SCR과 SGR을 전탕한 후 습득한 분말의 동일 양 20 g을 이용하여 분획하였을 때, 각각의 유기 용매에서 얻을 수 있는 수율을 계산하였다. SCR과 SGR 모두 aqueous 분획의 수율이 가장 높았다. SCR에서는 EtOEt분획에서 가장 낮은 수율을 나타내었고, SGR에서는 EtOAc분획에서의 수율이 가장 낮았다 (Table 1).

Table 1. Yield of Various Fraction Extract Powder of Smilacis Chinae Rhizoma or Smilacis Glabrae Rhizoma Decoction

		n-hexane	EtOEt	EtOAc	*n*-BuOH	Aqueous
Yield (%)/20g	SCR	9.5%	1.5%	5.0%	14.0%	20.5%
	SGR	3.5%	2.9%	0.6%	4.4%	12.7%

The values are the percentage of the yield of the extracts from SCR or SGR under various conditions.
SCR : Smilacis Chinae Rhizoma SGR: Smilacis Gabrae Rhizoma

2. 위암세포에 대한 영향

1) Cell proliferation

(1) SCR

위암 세포주인 SNU-1에 SCR을 농도별로 처리한 후, 세포의 증식을 [^{3}H]-thymidine을 이용하여 uptake 정도로 확인 하였다. 농도가 높을수록 암세포의 증식이 억제되어 10 ㎎/㎖의 농도에서 가장 낮은 세포증식을 나타내었다(Fig. 2).

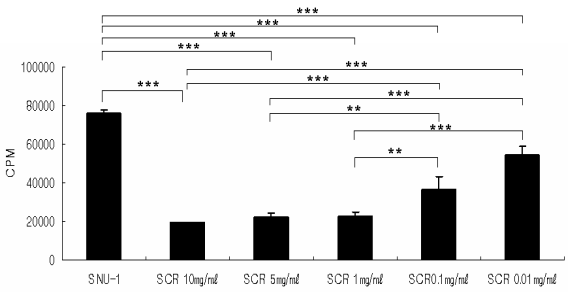

Fig. 2. SNU-1 cell proliferation with various concentrations of a Smilacis Chinae Rhizoma decoction

A human stomach cancer cell line SNU-1 was seeded at a suspended density of 5 × 105 cell/well on a 12 well cell culture plate. The medium was RPMI1640 with 10% FBS, antibiotics, and various concentrations (10 ㎎/㎖, 5 ㎎/㎖, 1 ㎎/㎖, 0.1 ㎎/㎖, 0.01 ㎎/㎖) of Smilacis Chinae Rhizoma decoction with 1 μCi/ml [^{3}H]-thymidine, in triplicate. After 72 hrs, the cells were harvested and counted with a β-counter. Values represent the means ± SEM of 3 experiments. *** : $p < 0.001$, ** : $p < 0.01$ by ANOVA test.

(2) SGR

위암 세포주인 SNU-1에 SGR을 농도별로 처리한 후, 세포의 증식을 [^{3}H]-thymidine을 이용하여 uptake 정도로 확인 하였다. SCR과는 달리 SGR에서는 농도의존적인 억제효과가 나타나지 않았으나 0.01 ㎎/㎖의 농도에서 암세포의 증식이 가장 낮게 나타났다(Fig. 3).

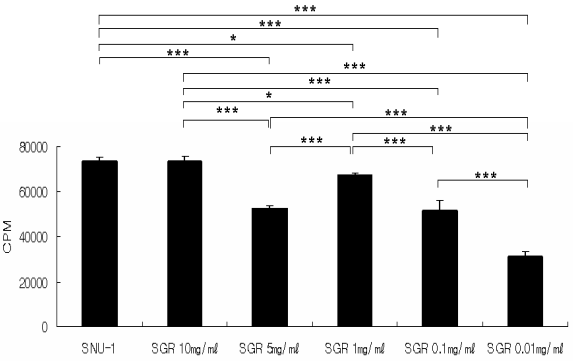

Fig. 3. SNU-1 cell proliferation with various concentrations of a Smilacis Glabrae Rhizoma decoction

A human stomach cancer cell line SNU-1 was seeded at a suspended density of 5 × 10^5 cell/well on a 12 well cell culture plate. The medium was RPMI1640 with 10% FBS, antibiotics, and various concentrations (10 ㎎/㎖, 5 ㎎/㎖, 1 ㎎/㎖, 0.1 ㎎/㎖, 0.01 ㎎/㎖) of a Smilacis Glabrae Rhizoma decoction with 1 μCi/ml [3H]-thymidine, in triplicate. After 72 hrs, the cells were harvested and counted with a β-counter. Values represent the means ± SEM of 3 experiments. *** : $p < 0.001$, * : $p < 0.05$ by ANOVA test.

2) Apoptosis

(1) SCR

SCR의 전탕 추출물 및 전탕액의 분획 추출물을 위암세포에 처리하여 나타나는 위암세포의 apoptosis 정도를

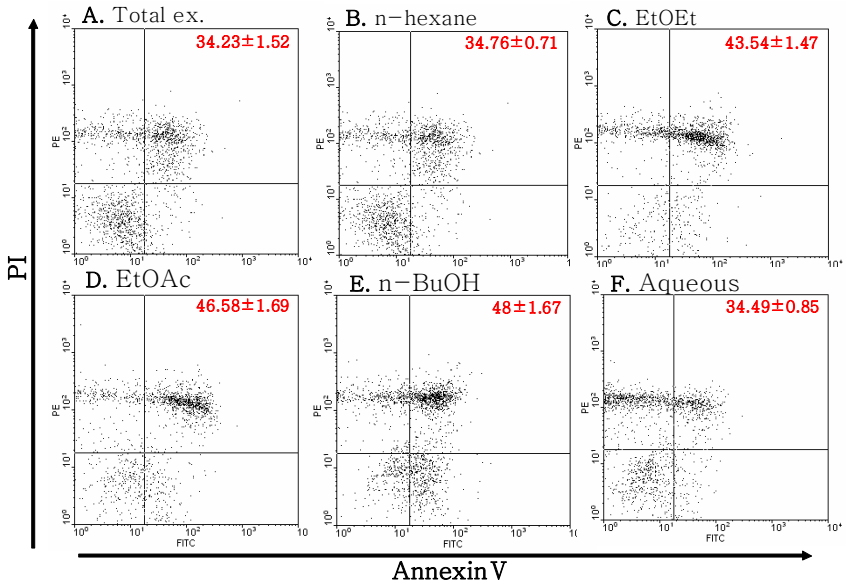

Fig. 4. Apoptosis of SNU-1 cells treated with total ex. or various fraction extracts of a Smilacis Chinae Rhizoma decoction

The SNU-1 cells were seeded at a suspended density of 5 × 104 cell/well on a 12 well cell culture plate. The medium was RPMI1640 with 10% FBS, antibiotics, and various fraction extracts (1 ㎎/㎖) of a Smilacis Chinae Rhizoma decoction; A : total ex. B : n-hexane C : EtOEt D : EtOAc E : n-BuOH F : aqueous.

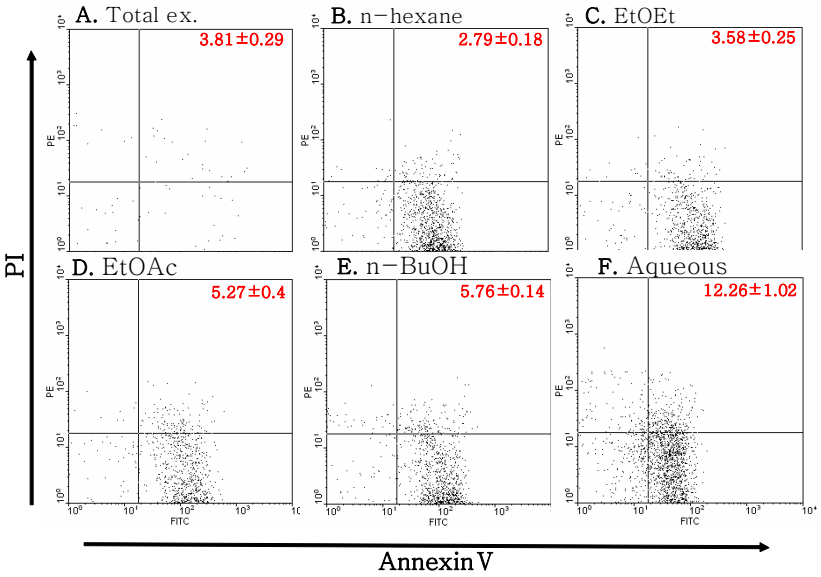

Fig. 5. Apoptosis of SNU-1 cells treated with total ex. or various fraction extracts of a Smilacis Glabrae Rhizoma decoction

The SNU-1 cells were seeded at a suspended density of 5 × 104 cell/well on a 12 well cell culture plate. The medium was RPMI1640 with 10% FBS, antibiotics, and various fraction extracts (1 ㎎/㎖) of a Smilacis Glabrae Rhizoma decoction; A : total ex. B : n-hexane C : EtOEt D : EtOAc E : n-BuOH F : aqueous.

FACs를 이용하여 확인하였다. SCR의 전탕액에 비하여 전탕액의 분획 추출물들이 위암세포의 apoptosis 유도에 더 효과적임을 알 수 있었으며, *n*-BuOH의 분획물에서 가장 높은 apoptosis를 나타내었다(Fig. 4).

(2) SGR

SGR의 전탕 추출물 및 전탕액의 분획 추출물을 위암세포에 처리하여 나타나는 위암세포의 apoptosis 정도를 FACs를 이용하여 확인하였다. SGR 전탕액의 aqueous 분획에서 가장 높은 apoptosis를 나타내었으며, 전탕액의 total ex. 및 다른 분획물들은 암세포의 사멸에 그다지 영향을 미치지 못하였다(Fig. 5).

3) Cytokine level

위암세포인 SNU-1에 SCR 및 SGR의 전탕액 및 전탕액의 분획물을 1 ㎎/㎖의 농도로 희석하여 분주하고 72시간동안 배양한 후 cytokine의 변화를 ELISA를 이용하여 측정하였다(Table 2, 3).

Table 2. Level of Cytokines in a SNU-1 Cell Culture Treated with Smilacis Chinae Rhizoma Decoction Extracts

	TGF-β	TNF-α	IL-2	IL-12
SNU-1	0.76±0.21	0.56±0.02	0.88±0.04	1.82±0.10
Total ex.	0.59±0.01	0.63±0.02	1.30±0.50	1.60±0.16
n-hexane	0.66±0.14	0.66±0.06	1.25±0.42	1.73±0.02
EtOEt	0.55±0.01	0.70±0.00	1.23±0.37	1.81±0.01
EtOAc	0.56±0.04	0.72±0.05	1.08±0.22	1.60±0.09
n-BuOH	0.54±0.04	0.70±0.00	1.06±0.00	1.76±0.04
Aqueous	0.61±0.02	0.61±0.02	0.96±0.02	1.71±0.17

Values represent the means ± SEM of 3 experiments.

Table 3. Level of Cytokines in a SNU-1 Cell Culture Treated with Smilacis Glabrae Rhizoma Decoction Extracts

	TGF-β	TNF-α	IL-2	IL-12
SNU-1	0.76±0.21	0.56±0.02	1.20±0.15	2.25±0.29
Total ex.	1.00±0.09	0.56±0.03	1.42±0.26	1.57±0.04
n-hexane	1.09±0.10	0.59±0.01	2.10±0.03	1.59±0.02
EtOEt	0.96±0.08	0.62±0.01	2.22±0.16	1.68±0.05
EtOAc	0.76±0.08	0.66±0.06	1.22±0.00	1.77±0.06
n-BuOH	0.90±0.20	0.70±0.06	2.18±0.19	1.83±0.02
Aqueous	0.94±0.25	0.69±0.01	4.54±0.26	2.00±0.20

Values represent the means ± SEM of 3 experiments.

(1) TGF-β

① SCR

Transforming growth factor-β (TGF-β)의 생성량은 SNU-1세포에 SCR의 전탕 추출물 및 전탕액의 분획 추출물을 처리한 경우 대조군에 비해서 유의하게 감소하였다(Fig. 6).

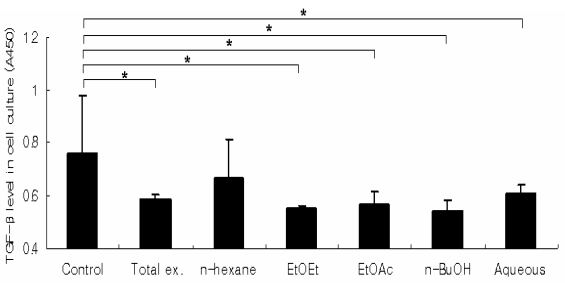

Fig. 6. Level of TGF-β in a SNU-1 cell culture treated with total ex. or various fraction extracts of a Smilacis Chinae Rhizoma decoction

SNU-1 cells (5 × 105 cell/well) were cultured with a 10% FBS RPMI1640 medium and treated with total ex. or various fraction extracts (1 ㎎/㎖) of a Smilacis Chinae Rhizoma decoction. After 72 hrs, the cells were harvested, and the concentration of TGF-β in the cell culture supernatant was measured by ELISA. Values represent the means ± SEM of 3 experiments. * : $P < 0.05$ by ANOVA test.

② SGR

SGR의 전탕 추출물 및 전탕액의 분획 추출물을 처리한 경우 TGF-β의 생성량이 대조군에 비해서 오히려 증가하는 경향을 나타내었으나 통계적 유의성은 없었다(Fig. 7).

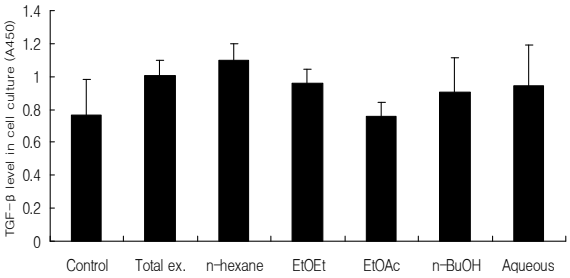

Fig. 7. Level of TGF-β in a SNU-1 cell culture treated with total ex. or various fraction extracts of a Smilacis Glabrae Rhizoma decoction

SNU-1 cells (5 × 10^5 cell/well) were cultured with a 10% FBS RPMI1640 medium and treated with total ex. or various fraction extracts (1 ㎎/㎖) of a Smilacis Glabrae Rhizoma decoction. After 72 hrs, the cells were harvested, and the concentration of TGF-β in the cell culture supernatant was measured by ELISA. Values represent the means ± SEM of 3 experiments.

(2) TNF-α

① SCR

SNU-1에 SCR의 전탕액 및 전탕액의 분획물들을 처리한 경우 대조군에 비해서 tumor necrosis factor-α (TNF-α)의 생성량이 약간 증가되는 경향이 있었으나 통계적 유의성은 없었다(Fig. 8).

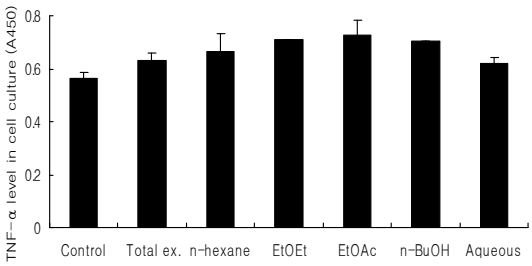

Fig. 8. Level of TNF-α in a SNU-1 cell culture treated with total ex. or various fraction extracts of a Smilacis Chinae Rhizoma decoction

SNU-1 cells (5 × 10^5 cell/well) were cultured with a 10% FBS RPMI1640 medium and treated with total ex. or various fraction extracts (1 ㎎/㎖) of a Smilacis Chinae Rhizoma decoction. After 72 hrs, the cells were harvested, and the concentration of TNF-α in the cell culture supernatant was measured by ELISA. Values represent the means ± SEM of 3 experiments.

② SGR

SNU-1에 SGR의 전탕액 및 전탕액의 분획물들을 처리한 경우 대조군에 비해서 TNF-α의 생성량에 별다른 변화가 없었으며, EtOAc 분획, n-BuOH 분획, aqueous 분획의 경우 약간 증가되는 경향이 있었으나 통계적 유의성은 없었다(Fig. 9).

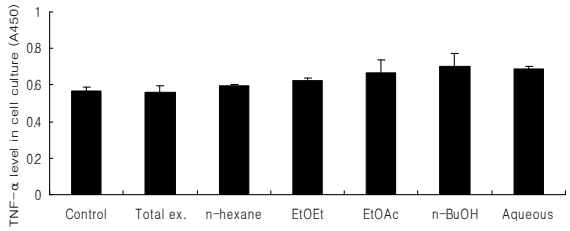

Fig. 9. Level of TNF-α in a SNU-1 cell culture treated with total ex. or various fraction extracts of a Smilacis Glabrae Rhizoma decoction

SNU-1 cells (5 × 10^5 cell/well) were cultured with a 10% FBS RPMI1640 medium and treated with total ex. or various fraction extracts (1 ㎎/㎖) of a Smilacis Glabrae Rhizoma decoction. After 72 hrs, the cells were harvested, and the concentration of TNF-α in the cell culture supernatant was measured by ELISA. Values represent the means ± SEM of 3 experiments.

(3) IL-2

① SCR

약물 처리에 따른 IL-2의 변화를 SNU-1 세포배양액에서 확인하였다. 대조군에 비해서 SCR 추출물을 처리한 경우 IL-2의 생성량이 증가하였으나 통계적 유의성은 나타나지 않았다(Fig. 10).

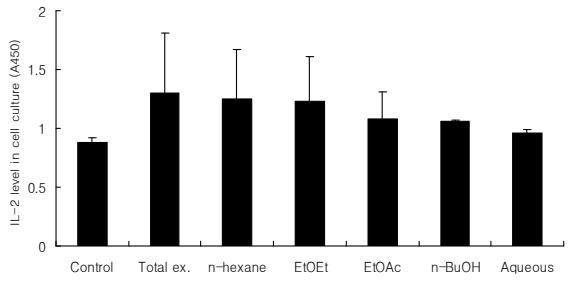

Fig. 10. Level of IL-2 in a SNU-1 cell culture treated with total ex. or various fraction extracts of a Smilacis Chinae Rhizoma decoction

SNU-1 cells (5 × 10^5 cell/well) were cultured with a 10% FBS RPMI1640 medium and treated with total ex. or various fraction extracts (1 ㎎/㎖) of a Smilacis Chinae Rhizoma decoction. After 72 hrs, the cells were harvested, and the concentration of IL-2 in the cell culture supernatant was measured by ELISA. Values represent the means ± SEM of 3 experiments.

② SGR

SNU-1 세포에서 IL-2의 생성량을 ELISA를 이용하여 확인하였다. 대조군에 비하여 SGR 전탕액의 total ex., n-hexane 분획, EtOEt 분획, *n*-BuOH 분획물을 처리한 경우 IL-2의 생산량이 유의하게 증가하였다(Fig. 11).

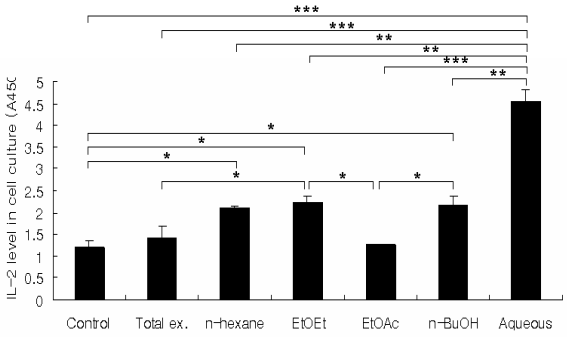

Fig. 11. Level of IL-2 in a SNU-1 cell culture treated with total ex. or various fraction extracts of a Smilacis Glabrae Rhizoma decoction

SNU-1 cells (5 × 10^5 cell/well) were cultured with a 10% FBS RPMI1640 medium and treated with total ex. or various fraction extracts (1 ㎎/㎖) of a Smilacis Glabrae Rhizoma decoction. After 72 hrs, the cells were harvested, and the concentration of IL-2 in the cell culture supernatant was measured by ELISA. Values represent the means ± SEM of 3 experiments. *** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$ by ANOVA test.

(4) IL-12

① SCR

SNU-1 세포에서 IL-12의 생성량을 ELISA를 이용하여 확인하였다. SCR의 전탕 및 분획을 처리한 경우 대조군에 비해 IL-12의 생성량에 별다른 변화는 나타나지 않았다(Fig. 12).

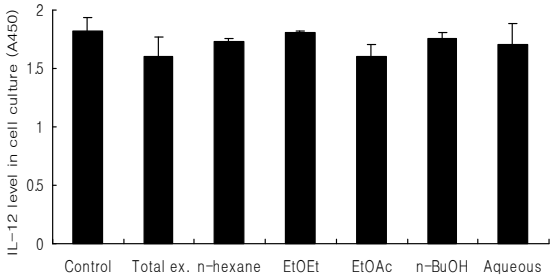

Fig. 12. Level of IL-12 in a SNU-1 cell culture treated with total ex. or various fraction extracts of a Smilacis Chinae Rhizoma decoction

SNU-1 cells (5 × 10^5 cell/well) were cultured with a 10% FBS RPMI1640 medium and treated with total ex. or various fraction extracts (1 ㎎/㎖) of a Smilacis Chinae Rhizoma decoction. After 72 hrs, the cells were harvested, and the concentration of IL-12 in the cell culture supernatant was measured by ELISA. Values represent the means ± SEM of 3 experiments.

② SGR

SNU-1 세포에서 IL-12의 생성량을 ELISA를 이용하여 확인하였다. SGR의 전탕 및 전탕액의 분획물을 처리한 경우 IL-12의 생성량이 대조군에 비해 감소하였다(Fig. 13).

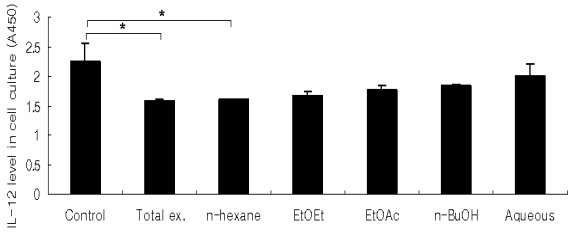

Fig. 13. Level of IL-12 in a SNU-1 cell culture treated with total ex. or various fraction extracts of a Smilacis Glabrae Rhizoma decoction

SNU-1 cells (5×10^5 cell/well) were cultured with a 10% FBS RPMI1640 medium and treated with total ex. or various fraction extracts (1 ㎎/㎖) of a Smilacis Glabrae Rhizoma decoction. After 72 hrs, the cells were harvested, and the concentration of IL-12 in the cell culture supernatant was measured by ELISA. Values represent the means ± SEM of 3 experiments. $* p < 0.05$ by ANOVA test.

고 찰

임상에서 土茯苓은 淸熱除濕, 泄濁解毒, 通利關節하는 효능이 있어 梅毒, 淋濁, 泄瀉, 筋骨攣痛, 脚氣, 癰腫, 瘡癬, 瘰癧, 癭瘤 및 水銀中毒 등의 증상을 치료하는 데 상용하고 있고[2], 菝葜는 去風利濕, 解毒消癰하는 효능이 있어 風濕痺痛, 淋濁, 帶下, 泄瀉, 痢疾, 癰腫瘡毒, 頑癬, 燒燙傷 등의 증상을 치료하는 데 상용하고 있다. 그러므로 土茯苓과 菝葜는 그 性味와 效能이 다르다.

≪常用中藥鑒定大全≫[24]에 청미래덩굴*S. china* Linne은 光葉菝葜*S. glabra* Roxb.에 비하여 비교적 단단하고 단면은 밤색이며 粉末성질이 적고 木質纖維가 많고, 분말은 적갈색을 띠고 얼마 안 되는 작은 전분립을 가지고 있으며 石細胞는 매우 많고 세포벽은 대부분 두껍다고 하였다.

청미래덩굴*S. china* Linne는 우리나라의 황해, 평남 이남의 산에서 흔히 자라며 일본, 만주, 대만, 필리핀에 분포하고[25] 중국에서는 華東, 中南, 西南 等地에 분포한다[1]. 光葉菝葜*S. glabra* Roxb.는 甘肅, 陝西, 江蘇, 安徽, 浙江, 江西, 福建, 臺灣, 湖北, 湖南, 廣東, 廣西, 四川, 貴州, 雲南 등지에 분포한다[26].

新生物 또는 惡性腫瘍을 총칭하는 용어인 癌은 조직의 정상적인 성장과는 독립적으로 자라는 조직으로서 언제나 정상조직을 파괴하며 인체 내에서 급속도로 자라서 주위 조직에 침윤되어 파괴적이고 다른 조직으로 전이되어 수개월 내지는 수년 내에 생명을 빼앗는 무서운 질병이다[27].

화학요법에 의한 암치료제로는 알킬화제, 대사 길항물질, 항생물질 등이 이용되고 있는데[21], 이들은 생체 내의 암세포뿐만 아니라 정상세포 및 다른 감염증에 대한 저항까지 약하게 하는 부작용을 일으킨다[28]. 따라서 천연물로부터 면역기능을 높여주고 암세포에만 특수하게 작용하는 항암제를 개발하려는 노력이 최근 많이 시도되고 있다. 이에 저자는 土茯苓의 기원식물인 청미래덩굴과 光葉菝葜를 가지고 위암에 대한 항암 효과를 비교 관찰하였다.

위암세포에 대한 SCR과 SGR의 농도별 세포 성장을 측정한 결과, SCR은 농도가 높을수록 암세포의 증식이 억제되어 10 ㎎/㎖의 농도에서 가장 낮은 세포증식을 나타내었다. SGR에서는 농도의존적인 억제효과가 나타나지 않았으며 0.01 ㎎/㎖의 농도에서 암세포의 증식이 가장 낮게 나타났다. 또한 0.01 ㎎/㎖의 농도를 제외하고 모든 농도에서 SCR이 SGR에 비하여 우수한 것으로 나타났다.

세포의 apoptosis (programmed cell death)는 특이 발생단계나 DNA 손상, 바이러스 감염 등에 의한 유전적 조절 하에서 일어나는 정교한 인체방어기전이란 점에서 necrosis와 구별된다[29]. 또한 apoptosis는 개체보존 수준에서 손상된 세포들의 제거를 위한 중요한 수단이며, 정상적인 세포주기의 이탈 등이 apoptotic cell death의 주원인이 될 수 있다[30].

본 실험에서 SCR을 처리한 위암세포의 apoptosis는 전탕액에 비하여 분획 추출물들이 더 효과적이었으며, *n*-BuOH의 분획물에서 가장 높았다. SGR의 경우는 aqueous 분획에서 가장 높은 apoptosis를 나타내었으며, 그 외에서는 암세포의 사멸에 그다지 영향을 미치지 못하였다.

본 실험에서는 SCR과 SGR을 처리한 위암세포에서 cytokine level을 측정하여 항암효과를 연구하였다.

TGF-β (Transforming Growth Factor-β)는 배양된 섬유아세포를 종양과 유사한 표현형질로의 변환을 촉진시키는 인자로서, TGF-α와 TGF-β 두 종류의 단백질로 구성되며 종양 형성을 촉진시키는 역할을 하는데 최근에는 종양 억제 인자로서의 역할도 큰 것으로 알려져 있다[31]. 본 실험에서 위암세포에 대한 TGF-β의 생성량은 SCR의 경우 대조군에 비해서 유의하게 감소하였다. SGR의 경우는 대조군에 비해서 증가하는 경향을 나타내었으나 통계적 유의성은 없었다.

TNF-α는 생체 내에서 단독 또는 cytokines와 협력 작용하여 몇몇 종양의 혈관조직을 손상시킴으로써 종양 괴사(tumor necrosis)를 유발시키거나 malaria 또는 legionella에 의한 감염, 몇몇 바이러스 혹은 기생충에 의한 감염에 대하여 숙주의 저항성을 유도시키기도 하지만 TNF-α는 중요한 염증매개 인자중 하나로서, 어떤 환경에서는 생체에 매우 해로운 영향을 미치기도 한다[32]. 본 실험에서 위암세포에 대한 TNF-α의 생성량은 SCR의 경우 대조군에 비해서 약간 증가되는 경향이 있었으나 통계적 유의성은 없었다. SGR의 경우는 대조군에 비해서 별다른 변화가 없었으며, EtOAc 분획, n-BuOH 분획, aqueous 분획의 경우 약간 증가하였으나 통계적 유의성은 없었다. SGR에 비해 SCR의 경우 높게 나타났으나 aqueous 분획에서는 SGR이 더 높게 나타났다.

IL-2는 Morgan 등[33]에 의해서 최초로 발견되었으며 T lymphocyte 증식인자로서 그 기능은 T lymphocyte의 성장, B cell의 분화인자 유도와 cytotoxic T lymphocyte, NK cell, LAK cell 및 거식세포 등의 증식 및 활성에 관

여하여, 개체 내에서 면역반응의 중심적인 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 본 실험에서 위암세포에 대한 IL-2의 생성량은 SCR의 경우 증가하였으나 통계적 유의성은 없었다. SGR의 경우는 유의하게 증가하였다.

IL-12는 주로 대식 세포(phagocyte), B 세포, T 세포, NK 세포 등을 자극하여 분열을 촉진시키는 것으로 알려져 있고 암세포에 대한 강한 cytotoxic T lymphocyte 반응을 유도할 뿐만 아니라 IFN-γ와 같은 다른 사이토카인, IP-10과 같은 키모카인의 발현을 유도하고 이는 다시 암세포가 자라는데 필요한 산소와 영양분을 공급해주는 혈관의 형성을 억제함으로써 강한 항암 효과를 나타낸다[34]. 본 실험에서 위암세포에 대한 IL-12의 생성량은 SCR의 경우 대조군에 비해 별다른 변화는 없었다. SGR의 경우는 대조군에 비해 감소하였다.

이상과 같이 농도와 분획에 따라 약간의 차이는 있으나 전반적으로 SCR이 SGR에 비하여 위암에 대한 항암 효과가 우수한 것으로 나타났다.

결 론

土茯苓의 기원식물에 따른 항암효과를 비교하기 위해서 위암세포 SNU-1에 대한 cell proliferation 분석, apoptosis 분석, cytokine 측정을 하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. SCR이 SGR에 비하여 암세포에 대한 세포증식 억제효과와 apoptosis 촉진효과가 우수하였다.
2. SCR을 처리한 경우 암세포에서 대조군에 비하여 TGF-β가 감소하였다.
3. SGR을 처리한 경우 대조군에 비하여 IL-2가 증가하였다.
4. SCR은 SGR에 비하여 TGF-β의 양이 낮고, TNF-α 생성량이 높게 나타났다.

이상과 같이 농도와 분획에 따라 약간의 차이는 있으나 전반적으로 SCR이 SGR에 비하여 위암에 대한 항암 효과가 우수한 것으로 나타났다.

감사의 글

이 논문은 2010년도 경원대학교 연구비 지원을 받았으며 이에 감사드린다.

참고문헌

1. 國家中醫藥管理局 中華本草編委會. 中華本草. 上海 : 上海科學技術出版社. 1999 ; (8) : 157-65.
2. 江蘇新醫學院 編. 中藥大辭典 上冊. 上海 : 上海科學技術出版社. 1979 : 91-3.
3. 식품의약품안전청 고시 제2005-54. 대한약전 8개정 대한약전외한약(생약)규격집. 2005 : 380.
4. 조선민주주의인민공화국 보건부 약전위원회. 조선민주주의인민공화국약전 제5판. 평양 : 의학과학출판사. 1996 : 261.
5. 國家藥典委員會 編. 中華人民共和國藥典 2005年版 1部. 北京 : 化學工業出版社. 2005 : 14, 15, 216, 217.
6. 行政院 衛生署 中醫藥委員會 中藥典編輯委員會 編. 中華民國中藥典範 1985年版. 臺北 : 達昌印刷有限公司. 1985 : 264-6.
7. 日本藥局方解說書編纂委. 第十四改正 日本藥局方解說書. 東京 : 廣川書店. 2001 : 456-8.
8. 唐愼微 撰. 重修政和經史證類備用本草. 北京 : 人民衛生出版社. 1982 : 214, 287.
9. 陶弘景 集. 尙志鈞 輯校. 名醫別錄. 北京 : 人民衛生出版社. 1986 : 135.
10. 李時珍. 本草綱目. 北京 : 人民衛生出版社. 1982: 1294-6.
11. 許浚. 東醫寶鑑. 서울 : 남산당. 1994 : 729.
12. 黃度淵. 方藥合編 서울 : 남산당. 1992 : 207.
13. Shu XS, Gao ZH, Yang XL. The anti-inflammation effects of Smilax china ethylacetate extract in rats and mice. Zhongguo Zhong Yao Za Zhi. 2006 Feb ; 31(3) : 239-43.
14. Lee SE, Ju EM, Kim JH. Free radical scavenging and antioxidant enzyme fortifying activities of extracts from Smilax china root. Exp Mol Med. 2001 Dec 31 ; 33(4) : 263-8.
15. Lee H, Lin JY. Antimutagenic activity of extracts from anticancer drugs in Chinese medicine. Mutat Res. 1988 Feb ; 204(2) : 229-34.
16. 박인호. Antimicrobial Activity and Composition of Extract from Smilax china Root. 한국식품영양과학회지. 1998 ; 27(4) : 574-84.
17. Iddamaldeniya SS, Thabrew MI, Wickramasinghe SM, Ratnatunge N, Thammitiyagodage MG. A long-term investigation of the anti-hepatocarcinogenic potential of an indigenous medicine comprised of Nigella sativa, Hemidesmus indicus and Smilax glabra. J Carcinog. 2006 May 9 ; 5 : 11.
18. Jiang J, Xu Q. Immunomodulatory activity of the aqueous extract from rhizome of Smilax glabra in the later phase of adjuvant-induced arthritis in rats. J Ethnopharmacol. 2003 Mar ; 85(1) : 53-9.
19. Fukunaga T, Miura T, Furuta K, Kato A. Hypoglycemic effect of the rhizomes of Smilax glabra in normal and diabetic mice. Biol Pharm Bull. 1997 Jan ; 20(1) : 44-6.

20. 서울대학교 의과대학. 종양학. 서울 : 서울대학교 출판부. 1989 : 1-7.
21. Gilman AG, Good LS, Gilman A. The pharmacological basis of therapeutics. 6th ed. New York : Macmillan Co Inc. 1975 : 110-5.
22. Pellegrino MA, Ferrone S, Theofilopoulos AN. Isolation of human T and B lymphocytes by rosette formation with 2-aminoethylisothiquronium bromide (AET)-treated sheep red blood cells with monkey red blood cells. J Immunol Methods. 1976 ; 11(3-4) : 273-9.
23. Maiolini R, Masseyeff R. A sandwich method of enzymoimmunoassay. I. Application to rat and human alpha-fetoprotein. J Immunol Methods. 1975 Sep ; 8(3) : 223-34.
24. 張貴君 主編. 常用中藥鑒定大全. 上海 : 黑龍江科學技術出版社. 1993 : 39, 40.
25. 한국의약품수출입협회 한국의약품시험연구소 편. 한약재감별주해. 서울 : 도서출판 대영. 2003 : 456-8.
26. 肖培根 主編. 新編中藥志. 北京 : 化學工業出版社. 2002 : 60-5.
27. 金昌種. 病態生理學. 서울 : 癸丑文化社. 1988 : 72-4.
28. Mervyn J, Mary D, Gerald MC. Antitumor activity of 1-naphthol against L1210 leukemia *in vivo* and enrlich ascites tumor cells in vivo and *in vitro*. Cancer letters. 1986 ; 33 : 347-54.
29. Evans VC. Multple pathways to apoptosis. Cell Biol Int. 1993 ; 17(5) : 461-76.
30. Shi L, Nishioka WK, Th'ng J, Bradbury EM, Litchfield DW, Greenberg AH. Premature p34cdc2 activation required for apoptosis. Science. 1994 ; 263(5150) : 1143-5.
31. Gajdusek CM, Luo Z, Mayberg MR. Basic fibroblast growth factor and transforming growth factor beta-1: Synergistic mediators of angiogenesis in vitro. J Cell Physiol. 1993 ; 157 : 133-44.
32. Paul WE. Fundamental immunolgy. New York : Raven Press. 1989 : 640-7.
33. Morgan DA et al. Selective *in vitro* growth of T lymphocytes from normal human bone marrow. Science. 1976 ; 193 : 1007-8.
34. Pressley JS, Elgert KD. Post-chemotherapeutic administration of interleukin-12 retards tumor growth and enhances immune cell function: combination therapy using paclitaxel and IL-12. Cancer Invest. 2006 Jun-Jul ; 24(4) : 351-9.