

브로콜리 추출물의 암세포 증식 억제에 미치는 효과

박정숙
남부대학교 간호학과 교수

Effect of Broccoli Extract on Inhibition of Cancer Cell Proliferation

Jeong-Sook Park

Professor, Department of Nursing, Nambu University

요약 본 연구는 암세포 증식에 미치는 효과를 살펴보기 위하여 Broccoli Extract를 사용하였다. 실험에 사용한 세포주는 3종으로 호흡기계에 대표적인 폐암세포 A549와 소화기계의 간암세포 SNU-182, 담도암세포 SNU-1196 로 인체 유래 암세포 주를 사용하였으며, 암세포의 증식 억제는 세포의 증식정도를 측정하는 CCK-8 방법을 이용하여 측정하였다. Broccoli Extract 1000ug/mL, 100ug/mL, 10ug/mL 에 대한 암세포 증식 억제를 살펴본 결과 Broccoli Extract은 대부분의 암세포에서 농도 의존적으로 증식을 억제하였으며, 특히 폐암세포 A549, 간암세포 SNU-182는 Broccoli Extract 1000ug/mL에서 유의한 증식 억제를 보였다. 이러한 결과 브로콜리 추출물은 세포실험을 통해서 증명된 종양억제기전들이 암 예방 및 치료제로서 잠재력을 제공한다고 볼 수 있다.

주제어 : 브로콜리, 추출물, 암세포주, 증식, 간암세포

Abstract This study was conducted to examine the effect of Broccoli Extract on the proliferation inhibition of human-derived cancer cells and the degree of inhibition. The three cell lines used in the experiment were respiratory system lung cancer cells A549, digestive system liver cancer cells SNU-182 and biliary tract cancer SNU-1196. All cancer cells were derived from the human body, and the CCK-8 method was used to measure the degree of inhibition of cancer cell proliferation. As a result of examining the effect on Broccoli Extract 10ug/mL, 100ug/mL, 1000ug/mL, Broccoli Extract inhibited proliferation in a concentration-dependent manner in most cancer cells, In particular, lung cancer cell A549 and liver cancer cell SNU-182 showed significant proliferation inhibition at 1000ug/mL.As a result, it can be seen that broccoli extract provides potential as a cancer preventive and therapeutic agent for tumor suppression mechanisms proven through cell experiments.

Key Words : Broccoli, Extract, Cancer cell line, Proliferation, Liver cancer cell

*Corresponding Author : Jeong-Sook Park(pk0207@nambu.ac.kr)

Received December 13, 2023

Revised January 9, 2023

Accepted March 20, 2023

Published March 28, 2023

1. 서론

최근 서구화된 식생활과 고령인구증가로 인하여 암 발생률이 점점 증가하고 있다[1]. 인구 연령 분포의 변화와 노인 인구의 증가, 유병률과 관련하여 위험 요인의 증가로 국내외적으로 암 발생 부담도 크게 증가할 것으로 예상되고 있다[2]. 각종 과일과 채소를 이용한 암 치료 및 예방을 위한 식이의 중요성이 대두되고 있으며[3], 녹황색 채소 추출물의 섭취 횟수와 암 발생의 위험 감소에 관한 상관관계가 보고되고 있다[4]. 또한, 건강한 식생활을 통한 건강관리와 수명 연장을 위해 천연물을 이용한 기능성 및 생리활성에 대한 연구가 널리 진행되고 있다[5]. 특히, 폴리페놀 성분 중 미나리과인 셀러리나 셀러리아에 풍부한 apigenin은 암 위험 감소와 연관성이 있음이 보고되었다[6]. 십자화과 채소 중 브로콜리(Broccoli, *Brassica oleracea* var. *italica*)는 설포라판(Sulforaphane)과 인돌(Indole)이 함유되어 있어 항암효과에 뛰어나며 암과 대항하는 면역효소들을 활성화시키며[7], 염증 반응을 억제해 암세포 생성을 억제해 암을 예방한다. 특히 항암에 뛰어난 효과가 있는 브로콜리에 glucoraphanin성분의 가수분해를 통해 생성되는 isothiocyanate의 한 종류인 설포라판의 함량이 풍부하다고 알려지면서, 건강과 관련하여 설포라판이라는 물질에 많은 연구자들이 관심을 갖게 되었다[8]. 설포라판(1-isothiocyanate-4-methyl sulfonyl butane)은 브로콜리와 같은 십자화과 채소에서 유래한 항산화 기능이 있는 파이토케미컬(phytochemical)로 항산화뿐만 아니라 항염증, 면역력 등 기능이 입증된 원료이다[9,10]. 그러나 설포라판은 열에 약하고 조리 시 손실되는 부분이 발생하기 때문에 주의가 필요하다. 그 외의 성분으로 비타민 A의 전구물질인 베타카로틴이 다량 들어 있어 야맹증에 효과가 있으며 제아잔틴 성분, 카로티노이드계열인 루테인은 안과 질환인 황반변성과 백내장 등 예방에 효과적이다[11]. 브로콜리의 경우, 주로 식용하며 잎과 줄기는 대부분 버려지고 있으며[12], 최근에는 가공식품 개발에 관심이 많아지면서 버려지는 부분에 대한 이용이 집중되고 있다. 특히나 식용하지 않은 부분들에 대한 식품개발도 진행되고 있다[13]. 이처럼 브로콜리는 영양성분 뿐만 아니라, 기능성도 우수한 것으로 알려져 있다. 이러한 근거를 바탕으로 본 실험에서는 Broccoli Extract의 다양한 농도를 인체 유래 암세포인 폐암세포 A549, 간암세포 SNU-182, 담도암세포

SNU-1196에 처리하여 증식 억제에 미치는 영향을 살펴보고 이에 유의한 변화를 보고하는 바이다.

2. 연구방법

2.1 실험 재료

본 연구에 사용된 브로콜리는 시중에서 유기농원료를 구입하여 사용하였으며 약 10kg를 음건세절 후 1kg을 methanol로 진탕하면서 5시간씩 40°C에서 3회 온침 추출하였다. 그 추출액을 수욕상에서 감압 농축하여 methanol Ex를 얻었으며, 이 methanol Ex를 냉동고(-200) 보관 후 시료로 사용하였다.

2.2 시약

암세포 배양 배지는 DMEM (Dulbeco's modified eagle medium)을 사용하였으며 FBS(fetal bovine serum), antibiotics, 추출용 유기용매인 methanol (MeOH), ethanol(EtOH)은 덕산약품(KOREA)을 사용하였다. trypsin-EDTA 등은 GIBCO (Grand Island Biological Co., NY, USA) 제품을 사용하였고, 일반 시약은 Sigma-Aldrich Co. Ltd(Irvine, UK) 시약을 사용하였다. 세포 관찰용 현미경은 자이스 inverted microscope(Axioverts 100, Germany)를 사용하였고, CO₂ incubator는 My CO₂(Science Technology, Korea)를 사용하였다. 이외에 분석용 시약 특급을 사용하여 실시하였다.

2.3 암세포주 배양

연구에 사용한 암 세포주는 3종으로 폐암세포 A549, 간암세포 SNU-182, 담도암세포 SNU-1196이며, 한국 세포주 은행 (KCLB)에서 분양받았으며 인체 유래 암세포주를 사용하였다. 세포배양을 위해 DMEM (5% FBS 함유) 배지를 100mm petri dish에 약 2×10^4 cells/5ml을 CO₂ incubator에서 40시간 배양하였다.

2.4 암 세포주 증식 억제 효과

Broccoli Extract의 인체에서 유래한 암 세포주에 대한 증식 억제는 CCK-8 방법을 이용하여 측정하였다. 100 μ l의 암세포 현탁액 (4×10^3 cells / well)을 96웰에 분주한 후 20 시간 동안 37 ° C, 5 % CO₂ 조건에서 미리 96웰을 배양한다. 다양한 농도의 Broccoli

Extract 10 μ l을 96well에 첨가한다. 그리고 동일한 조건에서 20시간 배양하고 각 well에 10 μ l의 CCK-8 액을 첨가한 후 2시간 동안 플레이트를 배양하고 마이크로 리더를 사용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 sample의 암세포 성장 억제 정도는 살아있는 세포의 수와 비례하는 흡광도 값을 이용하여 알 수 있었다.

2.5 통계적 분석

모든 data의 유의성 검사는 students' *t*-test를 사용하였고 평균±표준오차(Mean±S.E.)로 나타냈다. 군 간의 유의성은 실험결과에 따라 $p < 0.05$ 에 해당하는 경우 유의수준에 해당하는 것으로 인정하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1 폐암세포 A549 증식억제 효과

다양한 농도의 Broccoli Extract의 인체유래 폐암세포주 증식 억제에 미치는 효과를 살펴본 결과 Broccoli Extract은 농도 의존적으로 암세포 증식 억제 효과가 나타났다. 특히 Fig. 1에서 보여주는 것처럼, Broccoli Extract 100ug/mL, 1000ug/mL에서 유의한 증식 억제를 보여주었다. Mi등에 의하면 A549 폐암세포에 설포라판 처리시 산화 스트레스를 유도하여 세포 사멸을 유발하며 그로인해 암세포성장의 억제를 유도할 수 있다는 보고를 하였다[14,15].

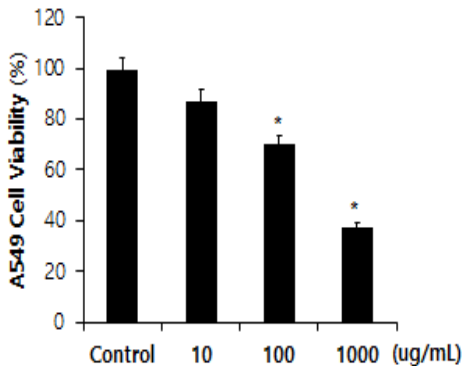


Fig. 1. Human Lung Cancer Cell A549 Proliferation Inhibitory Effect by Broccoli Extract. * : $p < 0.05$

3.2 간암세포 SNU-182 증식억제 효과

다양한 농도의 Broccoli Extract의 인체 유래 간암 세포주에 대한 증식 억제 효과에 미치는 영향을 살펴본 결과 Broccoli Extract은 농도 의존적으로 증식 억제를 보여주었다. 특히 Fig. 2에서 보여주는 것처럼, Broccoli Extract 1000ug/mL에서 유의성 있는 증식 억제효과를 보여주었다. Choi등은 HepG2 인체간암세포의 증식에 미치는 브로콜리의 유효성분인 sulforaphane의 영향을 조사하였다. Choi등의 논문에 의하면 Sulforaphane의 처리시 HepG2 세포의 증식억제 및 암세포의 형태적 변형은 apoptosis 유발과 관련이 있음을 알 수 있었다. 또한 RT-PCR 분석 및 Western blot 결과, sulforaphane 처리시 Cdk inhibitor p21의 발현과 종양억제 유전자 p53 발현은 sulforaphane 처리 농도 의존적으로 증가되고 Cdc2, cyclin A 및 cyclin B1의 발현이 단백질 수준에서 저하됨을 보고하였다[16].

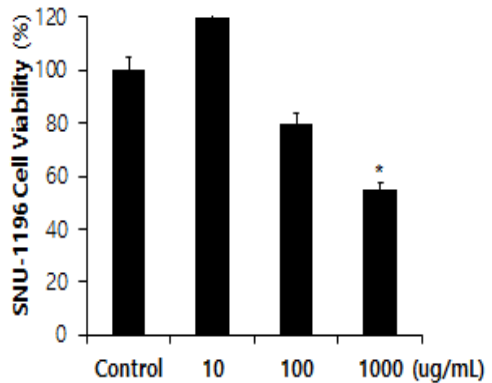


Fig. 2. Human liver Cancer Cell SNU-182 Proliferation Inhibitory Effect by Broccoli Extract. * : $p < 0.05$

3.3 담도암세포 SNU-1196 증식억제 효과

다양한 농도의 Broccoli Extract의 인체 유래 담도암 세포주에 대한 증식 억제에 미치는 영향을 살펴본 결과 Broccoli Extract은 Fig. 3에서 보여주는 것처럼, Broccoli Extract 1000ug/mL에서 유의한 증식 억제 효과를 보여주었다. 특히 브로콜리 추출물을 이용한 유방암, 전립선암, 대장암과 같은 최근의 선행 연구와도 유사한 결과를 보여주었다[17,18].

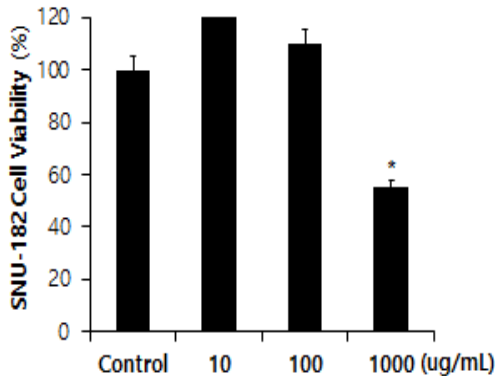


Fig. 3. Human human biliary tract cancer SNU-1196 Proliferation Inhibitory Effect by Broccoli Extract. * : $p < 0.05$

4. 결론

본 연구는 인체 유래 암세포주 증식 억제에 미치는 효과를 살펴보기 위하여 다양한 농도의 Broccoli Extract을 사용하였다. 실험에 사용한 세포주는 3종으로 폐암세포 A549, 간암세포 SNU-182 와 담도암세포 SNU-1196이며, 모두 인체 유래 암세포주를 사용하였다. Broccoli Extract 1000ug/mL, 100ug/mL, 10ug/mL 에 대한 영향을 살펴본 결과 다양한 농도의 Broccoli Extract은 암세포에서 농도 의존적으로 증식을 억제하였다. 특히, Broccoli Extract 1000ug/mL에서 폐암세포 A549, 간암세포 SNU-182 는 유의한 증식 억제효과를 보였다. 기존의 다양한 암세포를 이용한 Broccoli Extract의 연구는 많았으나 간암이나 담도암 세포주를 이용한 실험은 많지 않았으며 실험결과는 다른 종류의 암세포와 유사한 경향을 보여주었다. 특히 십자화과에 속하는 브로콜리는 glucoraphanin성분의 가수분해를 통하여 생성되는 isothiocyanate의 종류인 Sulforaphane성분이 풍부하며 암 예방 및 치료에서 Sulforaphane의 잠재적 가치는 광범위한 연구에 의해 더욱 뒷받침 될 것으로 생각되며 다양한 암세포에 의한 좀 더 심도 있는 연구가 필요하다고 사료된다.

REFERENCES

- [1] B. Rocca & G. A. FitzGerald. (2002). Cyclooxygenases and prostaglandins shaping up the immune response. *Int. Immunopharmacol.* 2, 603-607.
DOI : 10.1016/s1567-5769(01)00204-1
- [2] R. L.Siegel, K. D. Miller & A. Jemal. (2016). Cancer statistics, *CA Cancer J Clin.* 66, 7-30.
- [3] I. Goleberg. (1994). *Functional Foods*. New York. : Chapman & Hall Press, 350-550.
- [4] O. Sadaki. (1996). The development of functional foods and material. *Bio-industry*, 13, 44-50.
- [5] X. Wang, Y. Ouyang, J. Liu, M. Zhu, G. Zhao & W. Bao. (2014). Fruit and vegetable consumption and mortality from all causes, cardiovascular disease, and cancer: systematic review and dose-response meta-analysis of prospective cohort studies. *BMJ.* 349, g4490.
DOI : 10.1136/bmj.g4490
- [6] J. H. Lee & J. S. Park. (2021)]Inhibitory Effect of Celeriac Extract on Cancer Cell Proliferation. *Journal of the Korea Convergence Society*, 12(2), 295-300.
DOI : 10.15207/jkcs.2021.12.9.179
- [7] P. Sestili & C. Fimognari. (2015). Cytotoxic and Antitumor Activity of Sulforaphane: The Role of Reactive Oxygen Species. *BioMed Research International*, 1-9.
DOI : 10.1155/2015/402386
- [8] B. Yang, W. Xiaolu, Z. Song, M. Chunye, C. Jiuwei, & Z. Yang. (2015). Sulforaphane Protects against Cardiovascular Disease via Nrf2 Activation. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 1-13.
DOI : 10.1155/2015/407580
- [9] J. W. Chiao, F. L. Chung, R. Kancherla, T. Ahmed, A. Mittelman & C. C. Conaway. (2002). Sulforaphane and its metabolite mediate growth arrest and apoptosis in human prostate cancer cells. *International Journal of Oncology*, 20(3), 631-636.
DOI : 10.3892/ijo.20.3.631
- [10] M. B. Datto, Y. Yu & X. F. Wang. (1995). Functional analysis of the transforming growth factor β responsive elements in the WAF1/Cip1/p21 promoter. *Journal of Biological Chemistry*, 270(48), 28623-28628.
DOI : 10.1074/jbc.270.48.28623
- [11] D. E. Sok, J. H. Kim, & M.R. Kim. (2003). Isolation and identification of bioactive organosulfur phytochemicals from solvent extract of broccoli. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 32, 315-319.
DOI : 10.3746/jkfn.2003.32.3.315
- [12] H. S. Lee. & Y. W. Park. (2005). Antioxidant activity and antibacterial activities from different

parts of broccoli extracts under high temperature. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, 34(6), 759-764.

- [13] Y. S Oh, J. W. Baek, K. Y. Park, J. H. Hwang & S. B. Lim, (2013). Physicochemical and functional properties of kochujang with broccoli leaf powder. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, 42(5), 675-681.
- [14] W. K. Lee & S. J. Kim. (2011). Sulforaphane-induced apoptosis was regulated by p53 and caspase-3 dependent pathway in human chondrosarcoma, HTB-94. *Journal of Life Science*, 21(6), 851-857. DOI : 10.5352/jls.2011.21.6.851
- [15] L. Mi et al. (2007). The role of protein binding in induction of apoptosis by phenethyl isothiocyanate and sulforaphane in human non-small lung cancer cells. *Cancer research*, 67(13), 6409-6416.
- [16] Y. H. Choi, B. S. Ja, G. Y. Kim, Y. H. Yoo & B. T. Choi. (2006). Modulation of Cell Cycle Regulators by Sulforaphane in Human Mepatocarcinoma HepG2 Cells. *Journal of Life Science*, 16(7), 1235-1242. DOI : 10.5354/jls.2006.16.7.1235
- [17] S. Y. Park, S. J. Bae & Y. H. Choi. (2005). Anti-proliferative effects of the isothiocyanate sulforaphane on the growth of human cervical carcinoma HeLa cells. *Journal of Life Science*, 15(3), 397-405. DOI : 10.5352/jls.2005.15.3.397
- [18] S. M. Yu & S. J. Kim. (2011). Sulforaphane (SFN) and sodium nitroprusside (SNP) regulate proliferation and apoptosis through C-Jun N-terminal kinase (JNKinase) pathway in human breast cancer cell line, MDA-MB-231. *Cancer Prev. Res.* 16: 318-325.

박 정 숙 (Jeong-Sook Park)

[정회원]



- 1996년 2월 : 원광대학교 약학과 (약학석사)
- 2002년 2월 : 원광대학교 약학과 (약학박사)
- 2006년 3월 : 남부대학교 대체의학교수
- 2014년 9월 ~ 현재 : 남부대학교 간호학과교수
- 관심분야 : 생약학, 면역학, 대체의학
- E-Mail : pk0207@nambu.ac.kr