

방울양배추 추출물의 다양한 종류 암세포 증식 저해 효과

이재혁¹, 박정숙^{2*}

¹남부대학교 응급구조학과 교수, ²남부대학교 간호학과 교수

Inhibitory Effect of Brussels Sprouts Extract on Proliferation of Various Types of Cancer Cells

Jae-Hyeok Lee¹, Jeong-Sook Park^{2*}

¹Professor, Department of Emergency Medical Rescue, Nambu University

²Professor, Department of Nursing, Nambu University

요약 본 연구는 방울양배추 추출물의 다양한 암세포 증식에 미치는 영향을 살펴보고 증식 저해 정도를 살펴보기 위하여 실시되었다. 실험에 사용한 세포주는 6종이며 전립샘암 세포주인 DU-145, 폐암 세포주인 A549, 유방암 세포주인 MCF-7, 자궁암 세포주인 HeLa, 담도암 세포주인 SNU-1196, 간암 세포주인 SNU-182 로 모두 인체에서 유래된 암 세포주를 사용하였다. 암세포의 증식 저해는 CCK-8 assay를 이용하여 측정하였다. 방울양배추 추출물 1ug/mL, 10ug/mL, 100ug/mL에 대한 암세포 증식 저해를 살펴본 결과 폐암세포 A549, 자궁암세포 HeLa는 방울양배추 추출물 10ug/mL, 100ug/mL에서 유의한 증식 저해를 보여주었으며, 담도암세포 SNU-1196는 방울양배추 추출물 1ug/mL, 10ug/mL, 100ug/mL에서 유의한 증식 저해를 보였다. 이러한 결과는 방울양배추 추출물이 다양한 종류의 암세포에 대해 잠재적인 항암 효과를 가질 수 있음을 시사한다.

키워드 : 방울양배추, 추출물, 암 세포주, 증식, 담도암세포

Abstract This study was conducted to examine the effect of Brussels sprout extract on the proliferation of various cancer cells and to examine the degree of inhibition of proliferation. The six cell lines used in the experiment were human-derived cancer cell lines: prostate cancer cells DU-145, lung cancer cells A549, breast cancer cells MCF-7, uterine cancer cells HeLa, biliary tract cancer cells SNU-1196, and liver cancer cells SNU-182. Inhibition of cancer cell proliferation was measured using the CCK-8 assay. As a result of examining the inhibition of cancer cell proliferation by 1ug/mL, 10ug/mL, and 100ug/mL of Brussels sprout extract, lung cancer cell A549 and uterine cancer cell HeLa showed significant proliferation inhibition at 10ug/mL and 100ug/mL of Brussels sprout extract, and biliary tract Cancer cells SNU-1196 showed significant inhibition of proliferation at 1ug/mL, 10ug/mL, and 100ug/mL of Brussels sprout extract. These results suggest that Brussels sprout extract may have potential anticancer effects against various types of cancer cells.

Key Words : Brussels Sprouts, Extract, cancer cell line, proliferation, bile duct cancer cell

1. 서론

암은 세포의 세포주기가 조절되지 않는 비정상적인 증식으로 어느 조직에서나 발생할 수 있으며, 현대 사회에서 중요한 건강 문제로 자리잡고 있다. 이에 따라 암세포의 증식을 억제하거나 세포 자살(apoptosis)을 유도하는 천연물질의 발굴과 그 활용 가능성은 매우 중요한 연구 주제로 간주된다. 최근에는 채식 위주의 식생활을 통해 다양한 종류의 암이 예방되고 있다는 보고가 나오면서 항암효과를 위해 다양한 종류의 채소 섭취가 필요한 것으로 알려지고 있다[1]. 다양한 색깔의 채소 추출물의 섭취가 많으면 많수록 암 발생의 위험요인이 감소하는 것으로 보고되고 있다[2]. 다양한 영양소를 함유하고 있는 십자화과 채소들은 항염, 항산화, 항암에 기여하는 대표적인 채소이며 콜리플라워, 브로콜리, 양배추 등이 있다[3]. 십자화과 채소들은 맵고 독특한 향을 가지며 휘발성이 강하며, 대표적인 황 화합물인 glucosinolates 성분이 생리활성을 나타내는 것으로 알려져 있으며[4], Glucosinolates의 분해 산물 중 하나인 isothiocyanates에 의한 항산화, 항염과 같은 다양한 인체 내 생리효과가 보고되고 있다 [5,6]. 많은 연구자들은 자연에서 유래된 식품 및 식이 보충제에서 잠재적 항암 효과에 대해 큰 관심을 가지고 있다. 그 중에서도 방울양배추 추출물은 다양한 생리활성 물질을 함유하고 있어, 암세포의 증식 저해 효과에 대한 가능성이 높게 평가되고 있다.

방울양배추(Brassica oleracea var. gemmifera)는 Brussels sprouts라 불리며 벨기에 브뤼셀지역에서 재배되었다. 방울양배추의 외형은 양배추와 비슷하나 양배추보다 부드럽고 맛과 품질이 뛰어나며, 줄기에 방울처럼 미니양배추가 달려서 미니양배추, 방울다다기양배추로도 불린다[7,8]. 십자화과 채소인 방울양배추는 비타민 C와 페놀성 화합물인 rutin, β -carotene과 같은 성분이 일반 양배추보다 더 많이 들어있다. 또한 Sinigrin이라는 glucosinolate 황화합물이 풍부하고[9] 항산화 능력이 뛰어나며 칼륨과 식이섬유가 많으며 항암에 효과가 있는 것으로 알려진 채소이다[10,11]

본 연구는 방울양배추 추출물이 다양한 인체 암 세포주에 미치는 증식 저해 효과를 평가하기 위해 실시되었다. 이에 방울양배추 추출물의 1ug/mL, 10ug/mL, 100ug/mL 농도를 인체 유래 암세포인 전립샘암 세포주인 DU-145, 폐암 세포주인 A549, 유방암 세포주인 MCF-7, 자궁암 세포주인 HeLa, 간암 세포주인 SNU-1196, 담도암 세포주인 SNU-182에 처리하여 증식 저해에 미치는 영향을 살펴보았다.

2. 연구방법

2.1 실험 재료 추출

연구에서는 유기농 방울양배추를 구입하여 실시하였으며 Fig. 1.처럼 약 15kg을 음건세절 후 1.5kg을 메탄올 용액에서 진탕하면서 6시간씩 55°C에서 3회 온침 추출하였다. 수욕 상에서 추출액을 감압 농축하여 메탄올 Ex를 얻은 후 냉동고에 보관 후 시료로 사용하였다.

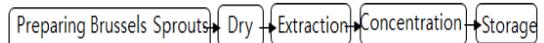


Fig. 1. extraction process

2.2 시약

세포 실험을 위해 GIBCO (Grand Island Biological Co., NY, USA)에서 fetal bovine serum(FBS)와 trypsin-EDTA 등을 구입하였고 penicillin과 streptomycin은 GenDepot사(Katy, TX, USA)의 제품을 사용하였으며, 인체 유래 암세포는 한국 세포주 은행(KCLB)에서 분양 받았다. 암세포 주 배양 배지는 Dulbecco's modified eagle medium(DMEM)을 사용하였다. 세포 독성 및 증식활성에 사용된 CCK-8는 Dojindo Co., Ltd.(Seoul, Korea)에서 구입하였고 추출용 유기용매는 덕산약품(KOREA)에서 Methanol과 Ethanol을 구입하였다. 나머지 특급 시약은 Sigma-Aldrich(St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다. 이외에 분석용 시약 특급을 사용하여 실험을 실시하였다.

2.3 다양한 암 세포주 배양

본 실험에 사용한 암세포 주 6종은 KCLB에서 분양받은 전립샘암 세포주인 DU-145, 폐암 세포주인 A549, 유방암 세포주인 MCF-7, 자궁암 세포주인 HeLa, 담도암 세포주인 SNU-1196, 간암 세포주인 SNU-182이며, 모두 인체에서 유래된 암 세포주를 사용하였다. 세포배양을 위해 96웰에 5% FBS가 함유된 DMEM배지와 약 5×10^3 cells을 CO₂ incubator에서 36시간 이상 배양하였다.

2.4 암 세포주 증식 저해 효과

CCK-8 방법을 이용하여 방울양배추 추출물의 인체 유래 암 세포주에 대한 세포생존력을 측정하였다. 100 μ l의 암세포 현탁액을 well당 5 \times 10³ cells로 플레이트에 깔아준 후 20시간 동안 5% CO₂, 37 $^{\circ}$ C 조건에서 배양한다. 1 μ g/mL, 10 μ g/mL, 100 μ g/mL 농도의 방울양배추 추출물 10 μ l를 96well 플레이트에 첨가한다. 동일한 조건에서 20시간 배양한 후 각각의 well 당 CCK-8 assay 실험액 10 μ l를 첨가한다.

2시간 동안 플레이트를 배양하고 450nm에서 플레이트 리더기를 사용하여 흡광도를 측정한다. 살아있는 세포의 수는 흡광도 값과 비례하므로 각 sample의 암세포 성장 저해를 흡광도 값으로 확인한다.

2.5 통계 분석

모든 data는 students' t-test를 사용하여 유의성 검사를 하였으며 평균 \pm 표준오차(Mean \pm S.E.)로 나타냈다. 각 군 간의 유의한 값은 $p < 0.05$ 에 준하는 경우에 유의한 수준으로 판단하였다.

3. 결과

3.1 전립샘암 세포주 DU-145 증식 저해 효과

방울양배추 추출물에 대한 인체 유래 전립샘암 세포주인 DU-145에 대한 세포생존력을 살펴보니 암세포 증식 저해 효과가 나타났다. 특히 Fig. 1에서 보여주는 것처럼, 방울양배추 추출물 100 μ g/mL에서 유의한 증식 저해를 보여주었다.

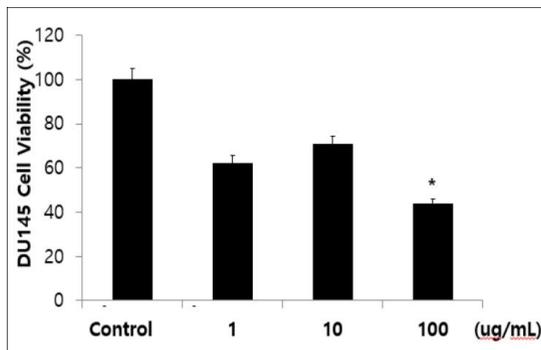


Fig. 1. Human prostate Cancer Cell DU-145 Proliferation Inhibitory Effect by Brussels Sprouts Extract.

Significant probability within group: * $p < 0.05$

3.2 폐암 세포주 A549 증식 저해 효과

방울양배추 추출물의 인체 유래 폐암 세포주인 A549에 대한 증식 저해에 미치는 영향을 살펴보니 농도 의존적으로 암세포 증식 저해 효과가 나타났다. 또한 Fig. 2에서 나타난 것처럼, 방울양배추 추출물 10 μ g/mL, 100 μ g/mL에서 유의한 증식 저해가 나타났다.

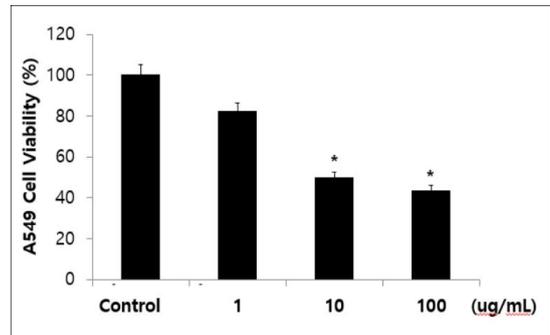


Fig. 2. Human lung cancer cell A549 Proliferation Inhibitory Effect by Brussels Sprouts Extract.

Significant probability within group: * $p < 0.05$

3.3 유방암 세포주 MCF-7 증식 저해 효과

방울양배추 추출물에 대한 인체 유래 자궁암 세포주인 MCF-7에 대한 세포생존력을 살펴보니 농도 의존적으로 증식 저해를 보여주었으며, Fig. 3에서 보여주는 것처럼, 방울양배추 추출물 100 μ g/mL에서 유의한 저해를 보여주었다.

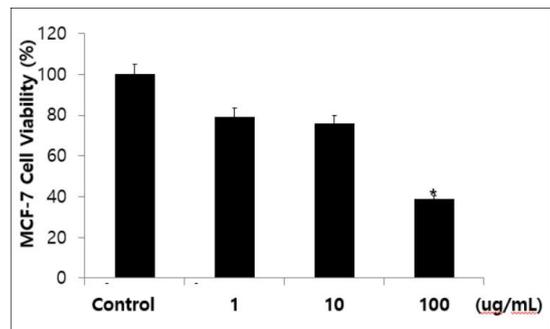


Fig. 3. Human breast Cancer Cell MCF-7 Proliferation Inhibitory Effect by Brussels Sprouts Extract.

Significant probability within group: * $p < 0.05$

3.4 자궁암 세포주 HeLa 증식 저해 효과

방울양배추 추출물의 인체 유래 자궁암 세포주인

HeLa에 대한 세포생존력을 살펴보니 농도 의존적으로 증식 저해가 나타났다. 특히 Fig. 4에서 보여주는 것처럼, 방울양배추 추출물 10ug/mL, 100ug/mL에서 유의한 증식 저해가 나타났다.

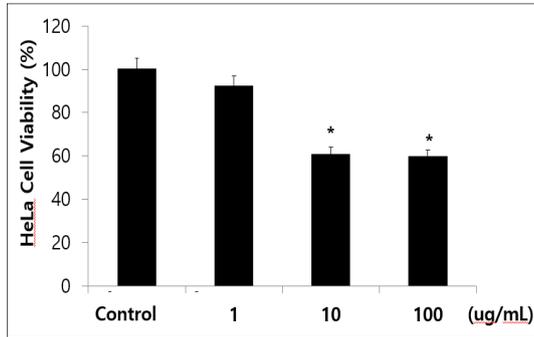


Fig. 4. Human cervical Cancer Cell HeLa Proliferation Inhibitory Effect by Brussels Sprouts Extract.

Significant probability within group: * $p < 0.05$

3.5 담도암 세포주 SNU-1196 증식 저해 효과

방울양배추 추출물의 인체 유래 담도암 세포주인 SNU-1196에 대한 세포생존력을 살펴보니 증식 저해를 보여주었으며, Fig. 5에서 보여주는 것처럼 방울양배추 추출물 1ug/mL, 10ug/mL, 100ug/mL에서 유의한 증식 저해를 보여주었다.

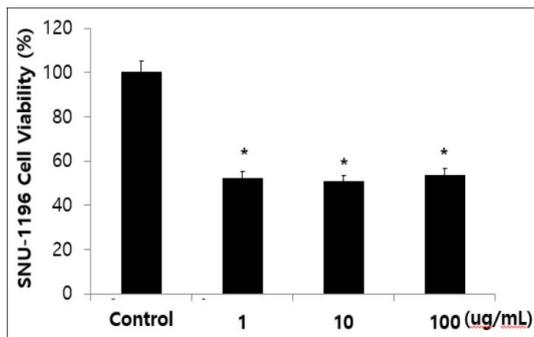


Fig. 5. Human biliary tract cancer Cell SNU-1196 Proliferation Inhibitory Effect by Brussels Sprouts Extract.

Significant probability within group: * $p < 0.05$

3.6 간암 세포주 SNU-182 증식 저해 효과

방울양배추 추출물의 인체 유래 간암 세포주인 SNU-182에 대한 세포생존력을 살펴보니 증식 저해를 보

여주었으며, Fig. 6에서 보여주는 것처럼, 방울양배추 추출물 100ug/mL에서 유의한 증식 저해를 보여주었다.

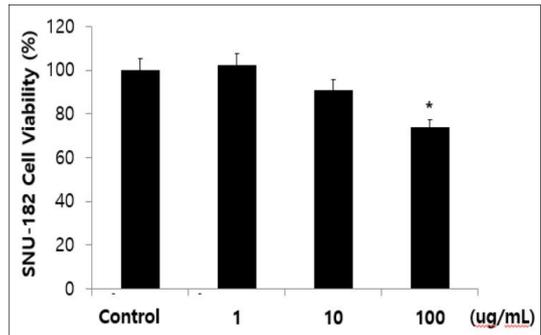


Fig. 6. Human liver Cancer Cell SNU-1196 Proliferation Inhibitory Effect by Brussels Sprouts Extract.

Significant probability within group: * $p < 0.05$

4. 고찰 및 결론

본 실험은 방울양배추 추출물의 인체 유래 암 세포주 증식 저해에 미치는 영향을 살펴보고 저해 정도를 살펴보기 위하여 실시되었다. 실험에 사용한 세포주는 6종류이며 전립샘암 세포인 DU-145, 폐암 세포인 A549, 유방암 세포인 MCF-7, 자궁암세포인 HeLa, 담도암 세포인 SNU-1196, 간암 세포인 SNU-182로 모두 인체에서 유래된 암세포를 사용하였다. 다양한 암세포의 증식 저해는 CCK-8 assay를 이용하여 측정하였다. 방울양배추 추출물 1ug/mL, 10ug/mL, 100ug/mL에 대한 영향을 살펴본 결과 방울양배추 추출물은 대부분의 암세포에서 농도 의존적으로 증식을 저해하였다. 특히, 폐암세포 A549, 자궁암세포 HeLa는 방울양배추 추출물 10ug/mL, 100ug/mL에서 유의한 증식 저해를 보여주었으며, 담도암 세포 SNU-1196는 방울양배추 추출물 1ug/mL, 10ug/mL, 100ug/mL에서 유의한 증식 저해를 보였다. Kim 등의 연구에 의하면 방울양배추 추출물의 캠페롤과 같은 성분은 암세포에 대한 유의한 억제 효과를 보여주었다. 방울양배추 추출물에서 발견되는 플라보노이드 화합물인 캠페롤은 강력한 라디칼 소거 활성을 나타냈으며 신경 세포의 산화 스트레스로 인한 손상으로부터 보호한다[12,13]. 또한 방울양배추 추출물을 비롯한 십자화과 채소에 존재하는 glucosinolates와 isothiocyanates는 오븐 건조와 같은 가공 후에도 체외 및 생체 내에서 해독 효소를 유도하여 암 위험을 감소시키는 효과가 있었으며 [14]. 방울양

배추 추출물에서 추출한 생주스는 인간 대장암세포 (HT29)의 세포 주기 진행과 세포증식 억제에 주는 영향을 조사한 결과 대장암 세포증식을 억제하는 생물학적 활성 glucosinolates 분해 산물을 방출하는 것으로 밝혀졌으며[15], 특히 Sinigrin 분해 산물이 직접적인 영향을 주는 것으로 나타났다[16]. 십자화과에 속하는 대부분의 채소는 산화적 DNA 손상을 감소시켜 암을 예방하는 효과가 있다[17,18]. 다양한 암세포 주에 대한 실험결과를 통하여 방울양배추 추출물이 다양한 종류의 암세포에 대해 세포증식 저해를 통해 항암 효과를 있음을 보여주었다. 또한 방울양배추 추출물에 함유된 화합물은 다양한 메커니즘을 통해 암세포에 대항할 수 있는 잠재력을 입증했으며, 이는 암 예방 식단에 기능성 식재료로 자리매김할 수 있다고 사료된다.

REFERENCES

- [1] K. A. Steinmetz & J. D. Potter. (1996). Vegetables, fruit, and cancer prevention: a review. *J Am Diet Assoc.*, 96, 1027-1039.
- [2] O. Sadaki. (1996). The development of functional foods and material. *Bio-industry* 13, 44-50.
- [3] G. R. Fenwick & P. K. Heaney. (1983). Glucosinolates and their breakdown products in cruciferous crops, foods and feeding stuffs. *Food Chem.*, 11, 249-271
- [4] G. van Poppel, D. T. Verhoeven, H. Verhagen & R. A. Goldbohm. (1999). Brassica vegetables and cancer prevention. Epidemiology and mechanisms. *Adv Exp Med Biol.*, 472, 159-168.
- [5] T. M. Becker & J. A. Juvik. (2016). The role of glucosinolate hydrolysis products from Brassica vegetable consumption in inducing antioxidant activity and reducing cancer incidence. *Diseases*. 4, 22. doi: 10.3390/diseases4020022
- [6] C. Gründemann & R. Huber. (2018). Chemoprevention with isothiocyanates-From bench to bedside. *Cancer Lett.*, 414, 26.
- [7] W. Mun, J. G. Kim & J. W. Lee. (2014). Cabbage and vegetable. In Horticulture Crop Science I. Korea National Open University Publishing, Seoul, Korea. p 355.
- [8] M. H. Combs & M. Ernst. (2019). Brussels sprouts. University of Kentucky College of Agriculture, Food and Environment.
- [9] A. C. Kurilich, G. J. Tsau, A. Brown, L. Howard, B. P. Klein, E. H. Jeffery, M. Kushad, M. A. Wallig & J. A. Juvik. (1999). Carotene, tocopherol, and ascorbate contents in subspecies of Brassica oleracea. *J Agric Food Chem.*, 47, 1576-1581.
- [10] E. Sikora, E. Cieřlik, T. Leszczyńska, A. Filipiak-Florkiewicz & P. M. Pisulewski. (2008). The antioxidant activity of selected cruciferous vegetables subjected to aquathermal processing. *Food Chem.*, 107, 55-59.
- [11] A. Podędek, D. Sosnowska, M. Redzyna, & B. Anders. (2006). Antioxidant capacity and content of Brassica oleracea dietary antioxidants. *Int J Food Sci Technol.*, 441, 49-58.
- [12] J. K. Kim, E. C. Shin, C. R. Kim, G. G. Park, S. J. Choi, C. S. Park, & D. H. Shin. (2013). Effects of Brussels Sprouts and Their Phytochemical Components on Oxidative Stress-Induced Neuronal Damages in PC12 Cells and ICR Mice. *Journal of Medicinal Food*, 16(11). <https://doi.org/10.1089/jmf.2012.0280>
- [13] C. Zhu, H. E. Poulsen & S. Loft. (2000). Inhibition of oxidative DNA damage in vitro by extracts of Brussels sprouts. *Free Radical Research*, 33, 187-196. <https://doi.org/10.1080/1071576000300741>
- [14] M. G. Robbins, G. Andersen, V. Somoza, B. D. Eshelman, D. M. Barnes & P. R. Hanlon. (2011). Heat Treatment of Brussels Sprouts Retains Their Ability to Induce Detoxification Enzyme Expression In Vitro and In Vivo. *Journal of food science*, 76(3), C454-C461. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02105.x>
- [15] K. Tracy, E. K. Lund, R. G. Clarke, R. N. Bennettlan & T. Johnson. (2005). Effects of Brussels Sprout Juice on the Cell Cycle and Adhesion of Human Colorectal Carcinoma Cells (HT29) in Vitro. *Agric. Food Chem*, 53(10), 3895-3901. <https://doi.org/10.1021/jf048025v>
- [16] Y. H. Ju, K. E. Carlson, J. S. D. Pathak, B. S. Katzenellenbogen, J. A. Katzenellenbogen & W.

G. Helferich. (2000). Estrogenic Effects of Extracts from Cabbage, Fermented Cabbage, and Acidified Brussels Sprouts on Growth and Gene Expression of Estrogen-Dependent Human Breast Cancer (MCF-7) Cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(10), 4628-4634.

<https://doi.org/10.1021/jf000164z>

- [17] C. Hoelzl, H. Glatt, W. Meinl, G. Sontag, G. Haidinger, M. Kundi, T. Simic, A. Chakraborty, J. Bichler, F. Ferik, K. Angelis, A. Nersesyan & S. Knasmüller. (2008). Consumption of Brussels sprouts protects peripheral human lymphocytes against 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) and oxidative DNA-damage: results of a controlled human intervention trial. *Molecular Nutrition & Food Research*, 52(3), 330-341.

<https://doi.org/10.1002/mnfr.200700406>

- [18] W.A. Nijhoff, F.M. Nagengast, M.J.A.L. Grubben, J.B.M.J. Jansen, H. Verhagen, G. von Poppel & W.H.M. Peters. (2000). Effects of consumption of Brussels sprouts on intestinal and lymphocytic glutathione S-transferases in humans. *The Netherlands Journal of Medicine*, 47, A14-A15.

이재혁(Jae-Hyeok Lee)

[정회원]



- 1987년 2월 : 우석대학교 약학과(약학사)
- 1989년 2월 : 우석대학교 약학과(약학석사)
- 2005년 2월 : 우석대학교 약학과(약학박사)

- 2005년 2월 ~ 2018년 2월 : 남부대학교 한방제약개발학과 교수
- 2018년 3월 ~ 현재: 남부대학교 응급구조학과 교수
- 관심분야 : 천연물
- E-Mail : jhlee@nambu.ac.kr

박정숙(Jeong-Sook Park)

[정회원]



- 1996년 2월 : 원광대학교 약학과(약학석사)
- 2002년 2월 : 원광대학교 약학과(약학박사)
- 2006년 3월 : 남부대학교 대체의학과 교수

- 2014년 9월 ~ 현재 : 남부대학교 간호학과 교수
- 관심분야 : 생약학, 면역학, 대체의학
- E-Mail : pk0207@nambu.ac.kr