

한약처방이 인체소장암세포주(Caco-2) 모델에서 칼슘 net transport에 미치는 영향  
임현정, 황귀서\*, 박태선. 연세대학교 식품영양학과, \*경원대학교 한의과대학

만성질환의 치료를 위해 널리 이용되고 있는 한약처방이 소장에서의 칼슘 흡수에 미치는 영향을 살펴보기 위해 Caco-2 세포를 이용하여 칼슘 net transport를 측정하였다. 본 실험에 사용된 한약처방제는 SD(인삼, 백출, 백복령, 감초, 숙지황, 백작약, 천궁, 당귀, 황기, 육계, 생강, 대추), SM(숙지황, 백작약, 천궁, 당귀), KB(당귀, 용안육, 산조인, 원지, 인삼, 황기, 백출, 목향, 감초, 생강, 대추), YH(독활, 당귀, 백작약, 상기생, 숙지황, 천궁, 인삼, 두충, 진교, 세신, 방풍, 육계, 감초, 생강) 및 JY(숙지황, 백작약, 당귀, 맥문동, 황백, 두충, 창출, 의이인, 인삼, 천궁, 방풍, 지모, 강활, 감초, 오미자, 생강, 대추)의 다섯가지로 각 처방을 추출·여과하여 동결건조한 후 사용하였다. Confluent한 상태의 Caco-2 세포를 transwell membrane filter에  $3.5 \times 10^5$ 개씩 분주하고 16일간 배양한 후 upper chamber에 첨가된 칼슘이 세포를 통과해 lower chamber로 빠져 나온 속도를 측정하여 칼슘의 net transport를 측정하였다. Upper chamber에 사용된 용액의 조성은 다음과 같다: 20mM HEPES(pH 7.4), 140mM NaCl, 5mM KCl, 0.5mM MgSO<sub>4</sub>, 3.5mM glucose, 4mM glutamine, 0.499mM CaCl<sub>2</sub> 및 0.001mM의 <sup>45</sup>CaCl<sub>2</sub>. Lower chamber 용액의 조성은 다음과 같다: 20mM HEPES(pH 7.4), 140mM NaCl, 5mM KCl, 0.5mM MgSO<sub>4</sub>, 5mM glucose, 4mM glutamine. 세포내 tight-junction의 permeability를 측정하기 위해 epithelial voltammeter(World Precision Instruments)를 사용하여 transepithelial electrical resistance(TEER)를 측정한 결과 분주 후 18일까지 계속적으로 증가하였다. 한약처방의 효과가 최대화되는 전처리시간을 측정하기 위해 YH(50 $\mu$ g/ml)를 Caco-2 세포에 0, 1, 3, 6, 24시간 동안 전처리하여 칼슘 net transport를 측정한 결과 각각  $7.76 \pm 0.28$ ,  $6.58 \pm 0.04$ ,  $7.17 \pm 0.16$ ,  $8.92 \pm 0.18$ ,  $8.90 \pm 0.4$  nmole  $\cdot$  mg protein<sup>-1</sup>  $\cdot$  h<sup>-1</sup>으로 나타나 6시간 전처리 시 칼슘 net transport가 가장 높았다. Caco-2 세포에 다섯가지 한약처방을 50 $\mu$ g/ml 농도로 6시간동안 전처리한 결과 칼슘 net transport가 각기 YH;  $8.48 \pm 0.14$ , JY;  $7.31 \pm 0.12$ , KB;  $7.65 \pm 0.03$ , SM;  $7.96 \pm 0.34$  및 SD;  $8.01 \pm 0.42$  nmole  $\cdot$  mg protein<sup>-1</sup>  $\cdot$  h<sup>-1</sup>으로 나타나 대조세포( $7.33 \pm 0.12$  nmole  $\cdot$  mg protein<sup>-1</sup>  $\cdot$  h<sup>-1</sup>)에 비해 유의적인 차이가 없었다. 한약처방의 농도별 효과를 평가하기 위해 Caco-2 세포에 5~100 $\mu$ g/ml까지 농도를 달리하면서 다섯가지 한약처방을 6시간동안 전처리한 결과 대조세포와 비교시 YH 및 SD로 전처리한 경우 100 $\mu$ g/ml 농도에서 칼슘 net transport 활성이 각각 14.5% 및 13% 증가하였고, KB 및 SM로 전처리한 경우에는 50 $\mu$ g/ml 농도에서 4.3% 및 9.5% 증가하였으나 모두 통계적으로 유의한 차이는 아니었다. 한편, JY는 농도의존적으로 칼슘 net transport 활성을 감소시키는 경향을 보였으나, 대조세포와 비교시 유의적인 차이는 아니었다. 이상의 결과로부터 흔히 이용되는 다섯가지 한약처방이 칼슘 net transport 활성에 유의적인 영향을 미치지 않았음을 알 수 있고, 따라서 칼슘의 장내 흡수에 부정적인 영향을 끼치지 않는 것으로 사려된다.

[본 연구는 2000년 한방치료기술연구개발사업 (HMP-00-0-22000-013) 지원으로 수행되었음]