

## 암세포 증식에 미치는 인삼과 Vitamin C의 영향 I. 인삼과 Vitamin C 병용에 의한 *In Vitro*에서 암세포 증식 억제 효과

황우익·손홍수·지유환·백나경

고려대학교 의과대학 생화학교실

(1989년 10월 12일 접수)

### Effects of *Panax ginseng* and Sodium Ascorbate (Vitamin C) Treatment on Cancer Cell Growth I. Synergism of Combined *Panax ginseng* and Vitamin C Action *in vitro*

Woo Ik Hwang, Heung Soo Son, Ryu Hwan Ji and Na Gyung Baik  
Department of Biochemistry, College of Medicine, Korea University, Seoul 110-522, Korea  
(Received October 1989)

**Abstract** □ The effect of ginseng extract and sodium ascorbate (vitamin C) administered separately or in combination on the some cancer cells cultured *in vitro* have been examined. Mouse leukemic cells (L1210 and P388), human rectal cancer cells (HRT-18) and human colon cancer cells (HCT-48) were used for the experiment. When given separately, the growth rate for each kind of cancer cell was inhibited in proportion to the concentration of ginseng extract or vitamin C. The inhibitory effect on the growth rate of the cancer cells was stronger in ginseng extract than in vitamin C except for the HCT-48 cells. Based on the cytotoxic activity, combined administration of ginseng extract and vitamin C demonstrated a synergistic inhibition of cancer cell growth. The cytotoxic activities of ginseng extract and vitamin C on the mouse leukemic cells were more sensitive than on human colon cancer cells. And the sensitivity of cytotoxic activity was somewhat different in different cancer cell lines.

**Keywords** □ *Panax ginseng* C.A. Meyer, vitamin C, leukemic cells, L1210, P388, HCT-48, HRT-18, human rectal cancer cell, human colon cancer cell, ginseng extract

#### 서 론

인삼은 동양에서 고래로부터 신비의 영약으로 알려져 왔는데<sup>1)</sup> 근래에 이르러 그 약리작용은 주로 인삼중 사포닌계 성분에 의한 것으로 보고된 바 있다.<sup>2-6)</sup> 또한, 황<sup>6-8)</sup>은 인삼 중 지용성 성분이 암세포 증식을 현저히 억제하거나 사멸시키는 작용이 있음을 확인하여 보고한 바 있다. 이와 같은 사실은 실험조건이 다르기는 하였으나 여러 연구 보문들에서도 보고된 바 있다.<sup>9-16)</sup> 한편, 비타민 C는 1932년 미국의 생화학자 Waugh와 King<sup>17)</sup>에 의하여 처음으로 레몬즙으로부터 결정체로 분리된 이래 지

금까지 비타민 C의 생리작용이 많이 밝혀져 있다.<sup>18-21)</sup> 또한, Cameron 등<sup>22)</sup>은 비타민 C가 항암 작용이 있다는 것을 밝힌 바 있다. 즉 비타민 C는 암에 대한 host resistance의 한 인자로서 암환자의 생존기간을 연장시키며, 암세포에 대응하는 protective encapsulation의 형성을 도와주며, 암세포 증식 억제에 유효함을 시사했고, 또한 oncogenic virus의 확대 증식을 방지하는 작용과 암을 유발시키는 carcinogenic hydrocarbon에 대해 방어하는 작용이 있으며, 아질산염(nitrite)에 의한 발암현상 등에 효과를 발휘한다고 보고한 바 있다. Prasad 등<sup>23)</sup>은 비타민 C는 5-fluorouracil,

bleomycin sulfate, sodium butyrate, cyclic AMP-stimulating agents 등과 병행해서 사용하면 neuroblastoma cell에 대한 증식 억제효과를 증진시킬 수 있다고 보고하였다. 또한 비타민 C는 *in vitro* 상에서 mouse neuroblastoma cell과 human neuroblastoma cell에 대한 misonidasol<sup>24)</sup>과 6-hydroxydopamine<sup>25,26)</sup>의 세포증식 억제력을 증진시키고, Ehrlich ascites carcinoma cell에 대한 3-amino-1, 2, 4-triazole(ATA)<sup>27)</sup>에 대한 세포증식 억제력도 증진시킨다고 보고되었다.

이와 같은 여러 보고들을 참고로 할 때 본 실험실에서 연구 발표한 바 있는 항암력을 가지고 있는 인삼의 지용성 성분과 비타민 C를 병용, 암세포의 *in vitro* 배양에 응용하여 암세포 증식에 미치는 영향을 검토하고, 동시에 항암제로서 이용 가능성 여부에 대한 과학적 기초자료를 제공하고자 본 실험을 계획하였다.

## 실험 재료 및 방법

### 1. 실험재료

**암세포** : 실험에 사용한 암세포는 흰 생쥐의 leukemic cell의 일종인 L<sub>1210</sub> 및 P<sub>388</sub> 세포와 미국 California 대학 Kim, Y. S. 교수로부터 분양받아 본 연구실에서 배양한 인체 직장암세포인 HRT-18과 인체 결장암세포인 HCT-48을 사용하였다.

**인삼** : 본 실험에 사용한 인삼은 백삼 6년근 일등급을 구입하여 가루로 만든 후 추출용 시료로 하였다.

**비타민 C** : 일본 Hayashi 회사 제품의 Sodium ascorbate를 3차 증류수에 일정량을 녹여 실험에 사용하였다.

**시약 및 기구** : 암세포 배양액인 Fisher's Medium과 Dulbecco's Modified Eagle Medium(DMEM)은 GIBCO 제품인 분말을 사용하였고, Fetal bovine serum과 Trypsin도 GIBCO 제품을 사용하였다. 그리고, 암세포 배양용 항온기, 세포수 측정기 및 현미경은 각각 Napco제의 CO<sub>2</sub> incubator, Coulter Counter Model ZB1 및 tissue culture inverted microscope 등을 사용하였고, millipore filter disc 및 그 부속품은 Millipore Corp. 제품을, 그 외 모든 초자기구는

Pyrex 제품을 사용하였다.

### 2. 실험방법

**암세포 배양** : L<sub>1210</sub>과 P<sub>388</sub>세포는 Fisher's medium으로, HRT-18 및 HCT-48세포는 DMEM medium으로 Fischer와 Sartorelli 방법<sup>28)</sup>에 의하여 배양하였다.

**암세포의 증식률 및 doubling time** : 각 암세포의 증식률과 doubling time의 측정은 황<sup>29)</sup>의 방법에 따랐다.

**인삼성분의 추출 및 정제** : 인삼성분의 추출과 정제는 이<sup>30)</sup>의 방법에 따랐다.

**비타민 C 용액의 조제** : 비타민 C 용액의 조제는 김<sup>31)</sup>의 방법에 준하였다.

**암세포 증식 억제효과 측정방법** : 인삼의 추출물과 비타민 C 용액의 암세포 증식 억제 측정은 황<sup>32)</sup>의 방법에 따라 시행하였다.

**인삼 추출물과 비타민 C 용액의 활성단위 측정** : 본 실험에 사용한 인삼 추출물과 비타민 C 용액의 암세포 증식 억제효과를 같은 수준에서 비교하기 위하여 활성단위(unit)를 다음과 같은 방법으로 정하였다. 1 unit는 각 암세포를 인삼 추출물과 비타민 C 용액이 농도별로 들어 있는 배양액에서 24시간 배양 후 각 군의 암세포수를 Coulter Counter로 측정하여 semilogarithmic paper에 도시하고 대조군에 비하여 암세포의 doubling time을 2배로 연장시키는데 소요되는 배양액 ml당 함유된 인삼 추출물 및 비타민 C 용액의 건조 중량으로 정하였다.

## 실험결과 및 고찰

### 1. 각 암세포의 doubling time

본 실험에 사용한 흰 생쥐의 leukemic cell인 L<sub>1210</sub>과 P<sub>388</sub>세포 및 인체 암세포인 HRT-18 및 HCT-48의 doubling time 측정 결과는 Table 1에서 보는 바와 같다.

Table 1에 나타난 바와 같이 L<sub>1210</sub>과 P<sub>388</sub>의 doubling time은 11-12시간, HRT-18은 20시간, HCT-48은 24시간 이었다. 이들 암세포는 모두 미국 California 대학교 의대 Kim, Y. S. 교수로부터 분양받아 본 연구실에서 계대 배양한 것인데 각 doubling time이 Morita<sup>33)</sup> 및 Taso<sup>34)</sup> 등의 보고

**Table 1.** Doubling time of each cancer cell lines.

Cell lines	Doubling time (hours)
L <sub>1210</sub>	11-12
P <sub>388</sub>	11-12
HRT-18	20
HCT-48	24

와 일치되는 점으로 보아 이상없이 정상적으로 증식되었음을 알 수 있었다. 만일 이상이 생겼다면 Fischer와 Chu<sup>35)</sup> 등이 보고한 바와 같이 doubling time이 변동될 수 있기 때문이다.

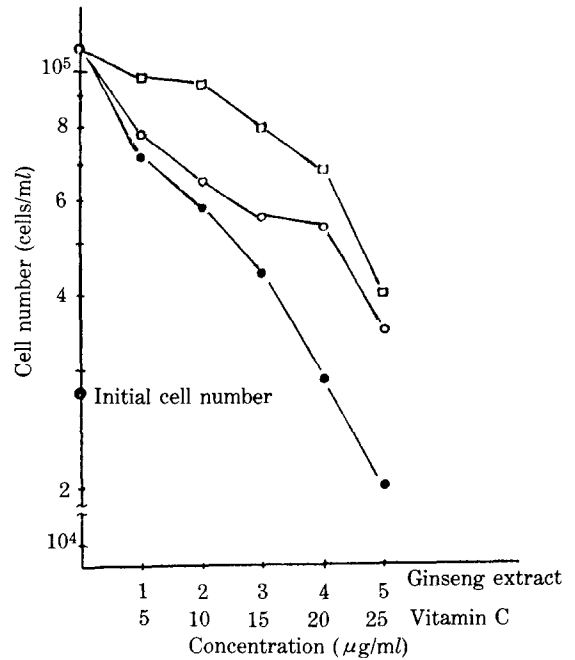
**2. Mouse Leukemia cell인 L<sub>1210</sub> 및 P<sub>388</sub>세포의 증식에 미치는 인삼 추출물과 비타민 C의 농도별 영향**

L<sub>1210</sub> 및 P<sub>388</sub>세포를 인삼 추출물 첨가군, 비타민 C 첨가군 및 인삼 추출물과 비타민 C 병용 첨가군으로 구분하여 배양액 ml당 각 해당성분을 농도별로 첨가한 배양액에서 24시간 배양 후 각 세포수를 측정 한 바 Fig. 1, 2와 같은 결과를 얻었다.

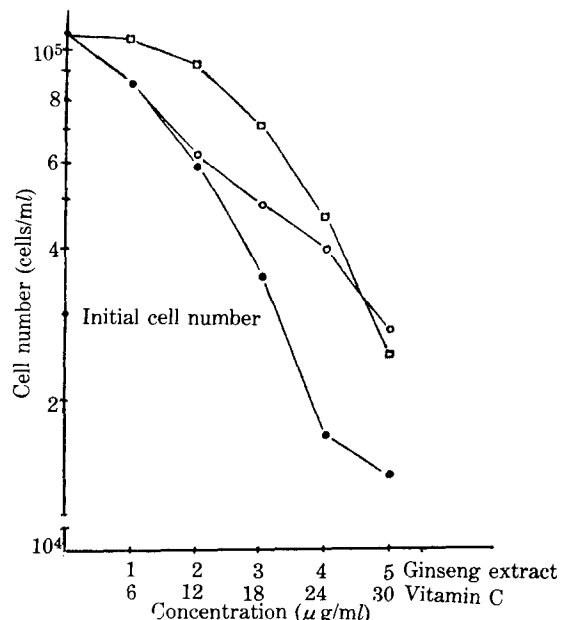
L<sub>1210</sub>의 경우, 인삼 추출물 첨가군은 배양액 ml당 3.2µg 농도시 대조군보다 세포수가 50% 감소하였고, 비타민 C 첨가군은 약 22µg 농도시 세포 증식이 50% 억제되었다. P<sub>388</sub>의 경우, 인삼 추출물 첨가군은 2.6µg 농도시, 비타민 C 용액 첨가군은 21µg 농도시에 세포수가 각각 50% 감소하였다. 그러나 인삼 추출물과 비타민 C의 병용 첨가군은 L<sub>1210</sub>의 경우 인삼 추출물 2.2µg과 비타민 C 12µg 농도시 세포수가 50% 감소하였고, P<sub>388</sub>의 경우는 인삼 추출물 2.1µg과 비타민 C 13µg 농도시 세포수가 50% 감소하였다. 이와 같은 실험결과로 보아 각 cell line별로 sensitivity는 약간의 차이를 나타냈지만 인삼 추출물 또는 비타민 C 단독으로 처리하였을 때보다 병용 첨가하여 처리하였을 때 인삼 추출물은 L<sub>1210</sub> 경우 70%, P<sub>388</sub>의 경우 80%, 또한 비타민 C는 L<sub>1210</sub> 경우 55%, P<sub>388</sub> 경우 62%의 더 적은 농도에서도 같은 암세포 증식 억제효과를 나타내었다.

**3. 인체 직장암 세포인 HRT-18의 증식에 미치는 인삼 추출물과 비타민 C 농도별 영향**

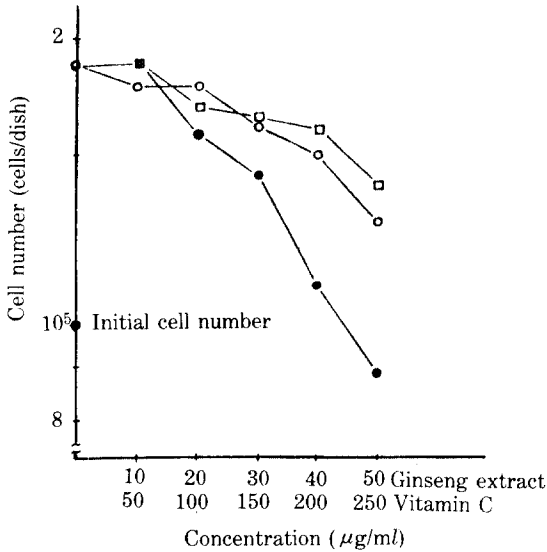
HRT-18세포를 인삼 추출물 첨가군, 비타민 C 첨가군 및 인삼 추출물과 비타민 C 병용 첨가군으로



**Fig. 1.** Inhibition of L<sub>1210</sub> cell growth *in vitro* after 24 hours of incubation to different concentration of : ginseng extract (○), Vitamin C (□) or combined ginseng extract and Vitamin C (●).



**Fig. 2.** Inhibition of P<sub>388</sub> cell growth *in vitro* after 24 hours of incubation to different concentration of: ginseng extract (○), Vitamin C (□) or combined ginseng extract and vitamin C (●).



**Fig. 3.** Inhibition of HRT-18 cell growth *in vitro* after 24 hours of incubation to different concentration of: ginseng extract (○), Vitamin C (□) or combined ginseng extract and vitamin C (●).

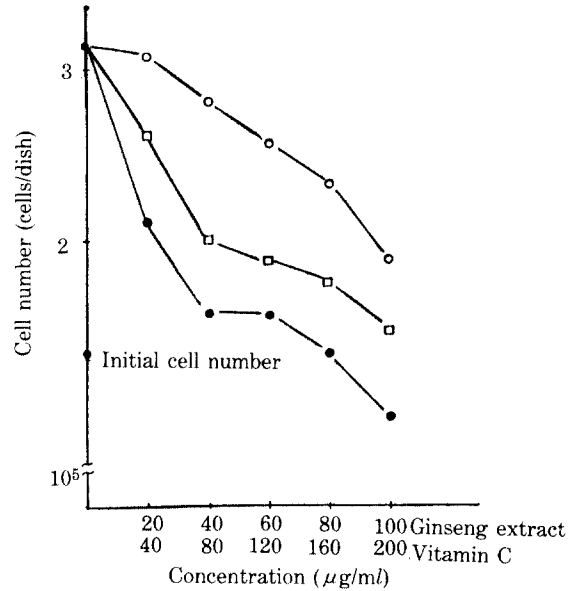
구분하여 배양액 m/당 각 해당성분을 농도별로 첨가한 배양액에서 24시간 배양 후 세포수를 측정할 결과를 Fig. 3에 나타내었다.

즉, 인삼 추출물 첨가군은 배양액 m/당 47 µg 농도시 대조군 보다 세포수가 50%로 감소되는 효과를 보였고, 비타민 C 첨가군은 200 µg 이상 첨가시에 세포수가 50% 이상 감소되는 효과를 나타내었다. 그러나 인삼 추출물 33 µg과 비타민 C 130 µg 농도인 병용 첨가군에서는 단독 첨가군 보다 인삼 추출물은 70%, 비타민 C는 57% 보다 더 적은 농도에서도 세포수가 50% 이상 감소됨을 나타내었다.

한편, HRT-18 암세포의 경우 각 첨가군의 농도가 어느 수준까지는 큰 차이점이 없었지만 인삼 추출물과 비타민 C 150 µg 농도 이상부터는 단독 처리군 보다 급격히 암세포 증식 억제효과를 나타냈고, 세포수가 배양 시작시의 수준보다 더 저하되어 암세포가 증식이 안되었을 뿐만 아니라 사멸되는 현상을 보였다.

**4. 인체 결장암 세포인 HCT-48의 증식에 미치는 인삼 추출물과 비타민 C의 농도별 영향**

HCT-48세포를 인삼 추출물 첨가군, 비타민 C



**Fig. 4.** Inhibition of HCT-48 cell growth *in vitro* after 24 hours of incubation to different concentration of: ginseng extract (○), Vitamin C (□) or combined ginseng extract and Vitamin C (●).

첨가군 및 인삼 추출물과 비타민 C 병용 첨가군으로 구분하여 배양액 m/당 각 해당성분을 농도별로 첨가한 배양액에서 24시간 배양 후 세포수를 측정할 때 Fig. 4와 같은 결과를 얻었다. HCT-48세포의 경우 인삼 추출물 첨가군은 배양액 m/당 65 µg 농도시 대조군 보다 세포수가 50% 감소되는 효과를 보였고, 비타민 C 첨가군은 약 38 µg 첨가시 세포수가 50% 이상 감소되는 효과를 보였다. 한편 HRT-18세포의 경우와 마찬가지로 병용 첨가군에서는 단독 첨가군 보다 더 적은 농도에서 암세포 증식을 억제하는 효과를 나타냈다. 다만 HCT-48세포의 경우에는 비타민 C의 증식 억제효과가 HRT-18 보다 양호하였다. 이는 암세포의 종류에 따라 그 증식억제에 미치는 비타민 C 영향이 상이하다고 할 수 있을 것이다.

상기와 같은 실험결과로 보아 황<sup>7,8)</sup>이 보고한 바 있는 인삼의 지용성 성분과 Cameron 등<sup>22)</sup>이 보고한 비타민 C의 항암 효과를 확인할 수 있었다. 그리고, 본 실험결과에서 실험조건이 다르고 각 암세포 배양액에 첨가한 인삼 추출물과 비타민 C의 첨가 비율이 다르기는 하지만 mouse leukemic cell 인체 결장암 세포 및 직장암 세포 모두 각각 단독

첨가군 보다 병용 첨가군에서 세포증식 억제력이 좋았다. 이와 같은 사실은 Prasad 등<sup>23)</sup>의 neuroblastoma cell에 대해 비타민 C와 5-fluorouracil, bleomycin sulfate, sodium butyrate 등을 첨가시 비타민 C의 세포증식 억제를 증진시켰다는 보고와 Josephy 등<sup>24)</sup>의 mouse neuroblastoma cell에 대해 비타민 C와 misonidasol을 병용 첨가시 비타민 C의 세포증식 억제를 증진시켰다는 보고와도 일치되는 현상이라 하겠다.

앞으로 이에 대한 작용기전에 관하여는 더 추구할 과제라 할 것이다.

### 요 약

*In vitro* 상에서 배양한 암세포에 인삼 추출물과 비타민 C를 단독 또는 병용 첨가하였을 때 각 암세포에 미치는 효과를 측정하였다. 이 실험에 사용한 암세포는 흰 생쥐의 백혈병성 임파모 세포인 L<sub>1210</sub>과 P<sub>388</sub>, 인체 결장암 세포인 HRT-18 및 인체 직장암 세포인 HCT-48을 사용하였다. 각 암세포의 증식률에 미치는 인삼 추출물 또는 비타민 C의 효과는 첨가된 농도가 증가할수록 암세포의 증식률은 감소하였다. HCT-48세포를 제외하고는 인삼 추출물이 비타민 C 보다 암세포 증식 억제력이 높았다. 한편, 세포증식 억제력으로 볼 때 인삼 추출물과 비타민 C를 병용 첨가한 것이 단독 첨가한 것보다 좋은 효과를 나타냈으며 인삼 추출물과 비타민 C의 세포증식 억제력은 흰 생쥐의 백혈병성 임파모 세포에서 인체 장암 세포보다 높았으며, 암세포 종류에 따라 활성(효과)의 차이가 있음을 보여주었다.

### 인용문헌

1. 조항명 : 생약학회지 3, 81(1972).
2. 주충노, 김재원 : 고려인삼학회지 8, 75(1984).
3. 안미라, 김태우, 조영동, 강두희 : 고려인삼학회지 9 (1), 86(1985).
4. 원광애, 정노팔 : 고려인삼학회지 9(1), 119(1985).
5. 강방희, 주충노 : 한국생화학학회지 18(3), 285 (1985).
6. 황우익, 오수경 : 고려인삼학회지 8(2), 153(1984).
7. Hwang, W.I. and Cha, S.: *Proceeding of the 2nd*

- International Ginseng symposium*, Korea Ginseng Research Institute, Seoul, Korea p.43(1978).
8. Hwang, W.I.: *Korean J. Biochem.*, 8(1), 1(1979).
9. Woo, L.K., Nakamura, Y. and Donat, L.: *Arch. Ital. Patol. Clin. Tumori*, 8, 53(1965).
10. Lee, K.D. and Huemer, R.R.: *Japan J. Pharmacol.*, 21, 299(1971).
11. 김익제, 김학현 : 카톨릭의대 논문집 16, 161 (1969).
12. 이상성 : 종합의학 8(12), 87(1963).
13. 윤택구, 윤연숙 : *Proceeding of the 2nd International Ginseng symposium*, Korea Ginseng Research Institute, Seoul, Korea(1978).
14. Odashima, S. and Shigeru, A.: *Proceeding of the 2nd International Ginseng Symposium*, Korea Ginseng Research Institute, Seoul, Korea(1978).
15. Murata, Y. and Hirono, J.: *Metabolism*, 10, 601(1973).
16. Yamamoto, C.: *Metabolism*, 10, 587(1973).
17. Lehninger, A.L.: *Biochemistry*, 2nd ed. p.350 Worth Publisher, Inc. N.Y.
18. Dykes, M.H.M. and Meier, P.: *J. Am. Med. Assn.* 231, 1073(1975).
19. Hodges, R.E., Hood, J., Canham, J.E., Sauberlich, H.E. and Baker, E.M.: *Am. J. Clin. Nutrition* 24, 432(1971).
20. Hodge, R.E.: *Nutrition Review* 119(1976).
21. Kritchevsky, D.: *J. Nutrition Reviews* 32, 39(1974).
22. Cameron, E., Pauling, L. and Leibovitz, B.: *Cancer Research* 36, 633(1979).
23. Prasad, K.N., Sinha, P.K., Ramamjam, M. and Sakamoto, A.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 76, 829(1979).
24. Josephy, P.D., Palcic, B. and Skarsgard, L.D.: *Nature* 271, 370(1978).
25. Zaizan, Y., Nakagawara, A. and Ikeda, K.: *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 111, 93(1986).
26. Reynolds, C.P., Reynolds, D.A., Frenkel, E.P. and Smith, R.G.: *Cancer Res.* 42, 1331(1982).
27. Benade, L., Howard, T. and Burk, D.: *Oncology* 23, 33(1969).
28. Fischer, G.A. and Sartorelli, A.G.: *Meth. in Med. Res.* 10, 247(1974).
29. 황우익, 오수경 : 고려인삼학회지 10(1), 1(1986).

30. 이선희, 황우익 : 고려인삼학회지 **10**(2), 141 (1986).
31. 김순경, 황우익 : 한국생화학회지 **14**, 315(1981).
32. Hwang, W.I., Park, G.H. and Paik, J.M.: *Korean J. Ginseng Sci.*, **11**(2), 173(1987).
33. Morita, A., Jsao, D. and Kim, Y.S.: *Cancer Res.*, **42**, 4540(1982).
34. Tsao, D. and Morita, A.: *Cancer Res.*, **42**, 1052(1981).
35. Fischer, G.A. and Chu, M.Y.: *Biochem. Pharmacol.*, **17**, 753(1968).