

구강암에 대한 약용식물 추출물의 항암효과에 관한 연구

이영훈 · 김여갑 · 김정희*

경희대학교 치과대학 구강악안면외과학교실 · 구강생화학학교실*

Abstract

STUDIES ON ANTI-ORAL CANCER ACTIVITIES OF MEDICINAL PLANT EXTRACTS

Young-Hoon Lee, Yeo-Gab Kim, Jung-Hee Kim*

Dept. of OMFS, College of Dentistry, Kyung-Hee University

*Dept. of Oral Biochemistry, College of Dentistry, Kyung-Hee University

Treatment of oral cancers with chemotherapeutic agents are evaluated as an effective method for remission to reduce cancer proliferation nowadays. But, minimization of side-effects such as bone marrow suppression, gastrointestinal toxicity and renal damage is another problem to be solved. Thus, a possible approach to develop a clinically applicable chemotherapeutic agents is to screen anti-cancer activity among traditional medicinal plants which have been used for thousands of years with very low side-effects in orient. In this study we focused on screening anti-oral cancer activities among 14 traditional medicinal plant extracts that revealed anticancer activities on other solid tumors.

The results were as follow :

1. Methanol extract of *Lepidium apetalum* showed the highest anti-oral cancer activity against A253 cells. At concentration of $4\mu\text{g}/\text{ml}$, the cell viability was 48% under our experimental condition. IC_{50} value obtained was $4\mu\text{g}/\text{ml}$.
2. Methanol extract of *Coptis japonica* and *Solanum nigrum* were effective on KB cells. Cell viability observed were 62% and 67% at concentration of $4\mu\text{g}/\text{ml}$, and IC_{50} values were $12\mu\text{g}/\text{ml}$ and $10\mu\text{g}/\text{ml}$ respectively.
3. When the methanol extract of *Lonicera caerulea* was combined with $2\mu\text{g}/\text{ml}$ of cisplatin, the anticancer activity was synergistically increased. One hundred $\mu\text{g}/\text{ml}$ of *Lonicera caerulea* showed 92%(alone) or 59%(combined with cisplatin) cell viabilities. IC_{50} value of *Lonicera caerulea* extract against KB cells was reduced from $301\mu\text{g}/\text{ml}$ to $126\mu\text{g}/\text{ml}$ when combined with $2\mu\text{g}/\text{ml}$ of cisplatin.
4. Medicinal plant extracts effective on both A253 and KB cells were *Coptis japonica*, *Lepidium apetalum*, *Solanum nigrum*, *Caesalpinia lignum*, *Curcuma aromatica*.

Key words : Anti-oral cancer activity, Medicinal plant extracts, IC_{50}

I. 서 론

구강암의 발생율은 전체 악성 종양의 약 3~5%에 해당되며, 다른 부위의 암종에 비하여 그 발현빈도는 낮으나 악성도가 높고 5년 생존율이 비교적 낮으며 현저한 기능적, 심미적 손상과 이에 따른 사회심리학적 장애로 보다 적극적이고 효과적인 치료법의 요구가 절실하다¹⁻³⁾. 구강암의 치료방법중 전신적 요법으로서의 화학요법은 원발 병소부의 크기를 감소시키거나 진단시부터 원격전이가 있었던 경우, 또한 원발병소부의 치료후 재발된 환자에서 선택적으로 사용되어왔다. 1960년대에 이르러 bleomycin

과 5-FU(flourouracil)를 이용한 항암화학요법이 시행되었고, 1980년대부터 cisplatin등의 약제가 구강암을 포함한 두경부 암종에 효과적으로 작용한다는 보고가 알려지면서 구강암에 대한 항암화학요법은 그 역할이 증가되는 추세이다. 그러나 이러한 항암제의 효능과 함께 나타날 수 있는 골수기능저하나 소화기계 합병증, 신독성 및 면역력저하등의 부작용이 아직 해결해야 할 과제로 남아있다^{4,5)}. 이러한 이유로 최근에 들어 상대적으로 부작용이 적은 것으로 알려졌고, 여러 문헌과 보고에서 항암효과가 입증되고 있으며, 진통, 이뇨, 강장, 거담, 해열 또는 항염효과가 있다고 알려진 전래의 약용식물의 성분을 추출, 정제하여 암세포에 작용하는 항암활성정도를 검색하고 확인하는 연구들이 활발히 진행중에 있으며, 기존의 화학요법에 사용되어왔던 항암제와 함께 이러한 약용식물을 병용하여 항암활성 증강효과 및 부작용 억제효과들이 연구 보고되고 있다⁶⁻¹³⁾. 이러한 연구중 치과영역에서의 구강 및 두경부암에 대한 문헌은 매우 미미한 상태이므로, 이에 저자는 기존의 항암제의 한계를 극복할 수 있는 새로운 형태의 항암물질로서의 약용식물추출물을 이용하여 구강

김 여 갑

130-702 서울특별시 동대문구 회기동 1

경희대학교 치과대학 구강악안면외과학교실

Yeo-Gab Kim

Dept. of OMFS, College of Dentistry, Kyung-Hee University

#1, Hoegi-Dong, Dongdaemun-Gu, Seoul, 130-702, Korea

Tel: (02)958-9441 Fax: (02)966-4572

및 두경부암에 유효한 항암물질을 탐색하여 이를 임상에 적용하기 위한 기초로 삼기 위하여 본 연구를 시행하였다.

II. 연구재료 및 방법

1. 실험재료

본 실험에서 사용된 재료는 항암효과가 입증되고 있는 수십여종의 약용식물중 경동시장등 한약재시장에서 구입이 가능했던 14종의 약용식물을 대상으로 하였으며 이들은 다음과 같다: *Curcuma aromatica* (울금), *Sanguisorba officinalis* (오이풀), *Croton tiglium* (파두), *Poncirus trifoliata* (지실), *Lepidium apetalum* (정력자), *Aralia cordata* (독활), *Rubia akane* (꼭두서니), *Caesalpiniae lignum* (소목), *Coptis japonica* (황련), *Solanum nigrum* (까마중), *Ephedra sinica* (마황), *Paconia japonica* (백작약), *Agrimonia pilosa* (짚신나물), *Lonicera caerulea* (땡쟁이나무).

2. 시료의 조제

검색을 위한 약용식물추출물은 다음과 같이 제조하였다. 건조된 식물 각 100g을 잘게 자른 후 등근 플라스크에 넣고 70% 메탄올로 환류하면서 약 80°C로 가온하여 2회 추출하고, 추출물을 감압하에 농축, 정제한 후, 동결건조시켜서 분말로 제조하였다. 건조된 분말은 건조소에 밀폐시켜 냉동보관하였고 실험을 위해 용해시킬 경우에는 이를 100% Dimethyl Sulfoxide(DMSO, SIGMA Chemical Company, U.S.A.)용액에 Phosphate Buffer Solution(PBS)로 녹인 후 여러 가지 농도로 희석하여 사용하였다(Fig. 1).

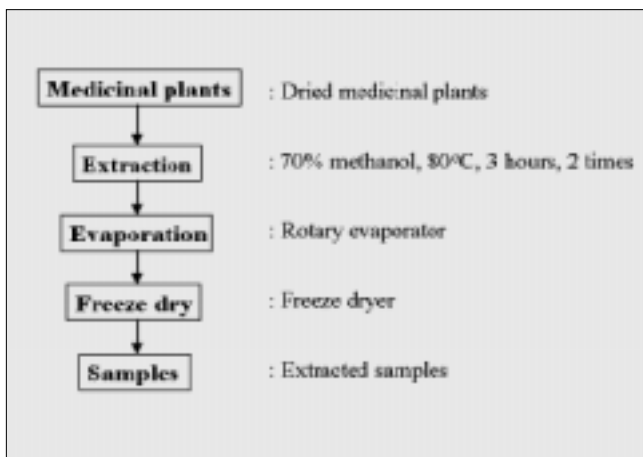


Fig. 1. Experimental flow chart of sample preparation

3. 세포주 및 배양액

본 실험에서 사용된 세포주는 구강내 협점막으로부터 분리된 epidermoid carcinoma cell인 A253 cell과 KB cell을 사용하였으며, 배지로 사용된 배양액으로는 A253 cell에 대해 10% Fetal Bovine

Serum(FBS, GIBCO, BRL, U.S.A.)가 포함된 RPMI 1640배지 (Rosewell Park Memorial Institute 1640, GIBCO, BRL, U.S.A.)를 사용하였고, KB cell에 대해서는 10% FBS가 포함된 MEM배지 (Minimum Essential Media, GIBCO, BRL, U.S.A.)를 사용하였으며, 이들 배지에는 streptomycin과 penicillin(GIBCO, BRL, U.S.A.)을 각각 0.1mg/ml, 100units/ml씩 적용하였다. 형성된 배지는 37°C, 100% humidity, 5% CO₂의 조건하에 통법에 따른 정치배양을 시행하였다.

4. 항암활성 실험방법

실험에 사용된 각 well(96wells/plate)의 세포수는 A253 cell이 3 × 10⁵ cells/well, KB cell이 5 × 10⁵ cells/well씩 접종하였으며, 시료는 100% DMSO에 녹인후 PBS에 희석하여 사용하였으며, 시료를 가했을 때 DMSO의 배지내 최종농도가 0.5% 이내가 되도록 하였다. 시료의 최종농도는 well당 각각 500, 100, 20 및 4µg/ml이 되도록 하였다. 한가지 농도군에서는 한 컬럼을 동일한 조건으로 사용하였으며, 나머지 한 컬럼에는 추출물 대신 용매만을 첨가하여 100% 생존군(대조군)으로 삼았다. 이 암세포와 추출물이 접종된 plate를 앞서 말한 조건하에 배양하였고, 5mg/ml의 MTT(3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyl tetrazolium bromide : SIGMA Chemical Company, U.S.A.)를 모든 well에 총용적의 1/10을 가한 후 다시 이를 37°C에서 4시간 동안 배양하였다. Plate를 꺼내어 각 well에 형성된 formazan 결정을 0.04N의 염산이 함유된 이소프로필 알코올 0.1ml씩을 첨가하여 용해시킨 후, 이를 ELISA multi-plate reader(Biorad Co., U.S.A.)로 570nm에서의 흡광도를 측정하였다. 아울러 각각의 IC₅₀값을 계산하였으며, 특히 A253 cell에 비하여 감수성이 낮은 KB cell에 대하여서는 두경부종양의 선택적 항암제인 cisplatin(유나이티드제약, 한국) 2µg/ml을 함께 적용하여 항암활성 증강효과정도를 분석하였다. 이들의 분석은 모두 최소 3회 이상을 측정하여 그 평균값을 얻었다.

III. 연구성적

A253세포에 대한 세포독성 혹은 항암활성정도를 각 농도군에서 측정된 결과, 추출물 4µg/ml의 농도에서 50%이상의 세포독성을 나타낸 추출물은 정력자(*Lepidium apetalum*)로 48%의 세포생존율을 나타냈으며, 20µg/ml의 농도에서는 정력자(*Lepidium apetalum*), 울금(*Curcuma aromatica*), 황련(*Coptis japonica*), 소목(*Caesalpiniae lignum*), 까마중(*Solanum nigrum*)이 각각 27, 36, 41, 45 및 47%의 세포생존율을 보였다. 또한 100µg/ml의 농도에서도 역시 소목, 정력자, 황련, 울금, 까마중이 각각 11, 17, 21, 21 및 27%의 세포생존율을 나타냈으며, 500µg/ml농도에서 가장 높은 세포독성을 나타낸 추출물은 까마중으로 4%만의 세포생존율을 나타내었고 지실(*Poncirus trifoliata*)추출물도 9%의 세포생존율을 보여 높은 세포독성을 나타내었다(Table 1, Fig. 2).

한편, KB세포에 대한 세포독성 혹은 항암활성 정도를 각 농도군에서 측정된 결과는 다음과 같다. 추출물 4µg/ml의 농도에서

Table 1. Anticancer Activities of Medicinal Plant Extracts Against A253 Cells

extracts	concentration			
	4 μ g/ml	20 μ g/ml	100 μ g/ml	500 μ g/ml
Curcuma aromatica(울금)	85	36	21	15
Sanguisorba officinalis(오이풀)	79	91	67	16
Croton tiglium(파두)	77	88	96	73
Poncirus trifoliata(지실)	74	71	61	9
Lepidium apetalum(정력자)	48	27	17	17
Aralia cordata(독활)	72	80	79	69
Rubia akane(꼭두서니)	85	91	83	11
Caesalpiniae lignum(소목)	91	45	11	14
Coptis japonica(황련)	52	41	21	11
Solanum nigrum(까마중)	53	47	27	4
Ephedra sinica(마황)	95	100	100	32
Paconia japonica(백작약)	95	97	96	26
Agrimonia pilosa(짚신나물)	93	100	100	37
Lonicera caerule(댕댕이나무)	88	97	100	56

(All values are relative percentage(%) of cell viabilities compared to that of control group)

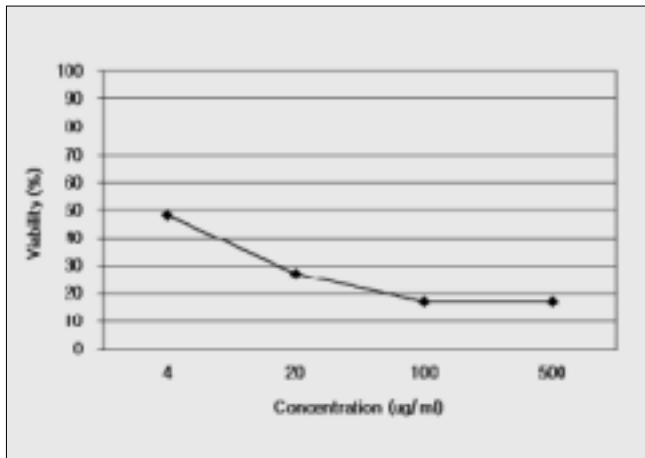


Fig. 2. Anticancer activity of *Lepidium apetalum* against A253 Cell (IC₅₀ = 4 μ g/ml)

50%이상의 세포독성을 나타낸 추출물은 검색결과 존재하지 않았으나 황련과 까마중 추출물에서 각각 62%와 67%의 세포생존율을 보여주었다. 20 μ g/ml의 농도에서는 소목(*Caesalpiniae lignum*), 정력자(*Lepidium apetalum*), 까마중(*Solanum nigrum*), 황련(*Coptis japonica*)이 각각 23, 30, 39 및 45%의 세포생존율을 나타내었으며, 100 μ g/ml 농도에서 까마중, 황련, 소목, 정력자, 울금 추출물은 각각 5, 9, 12, 12 및 14%의 세포생존율을 보였다. 또한 500 μ g/ml의 추출물농도에서는 까마중, 황련, 울금, 지실, 꼭두서니(*Rubia akane*) 등이 모두 10%이하의 세포생존율을 보여 높은 세포독성을 나타내었다(Table 2) (Fig. 3).

또한, 50% 억제농도(IC₅₀)는 대조군과 비교한 각 시험군의 세포생존율이 50%가 되도록 하는 약물의 농도로 정의되며, 이를 항암효과의 지표로 사용하였다. A253세포에 대한 추출물의 IC₅₀값

Table 2. Anticancer Activities of Medicinal Plant Extracts Against KB Cells

extracts	concentration			
	4 μ g/ml	20 μ g/ml	100 μ g/ml	500 μ g/ml
Curcuma aromatica(울금)	100	84	14	7
Sanguisorba officinalis(오이풀)	100	100	100	19
Croton tiglium(파두)	100	100	100	70
Poncirus trifoliata(지실)	100	89	59	7
Lepidium apetalum(정력자)	84	30	12	20
Aralia cordata(독활)	94	93	92	85
Rubia akane(꼭두서니)	92	92	91	9
Caesalpiniae lignum(소목)	100	23	12	19
Coptis japonica(황련)	62	45	9	7
Solanum nigrum(까마중)	67	39	5	5
Ephedra sinica(마황)	100	100	100	18
Paconia japonica(백작약)	100	100	93	20
Agrimonia pilosa(짚신나물)	100	100	94	13
Lonicera caerule(댕댕이나무)	94	99	92	38

(All values are relative percentage(%) of cell viabilities compared to that of control group)

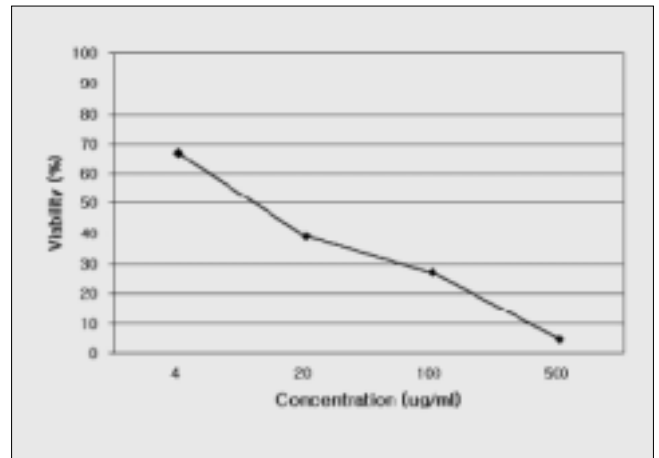


Fig. 3. Anticancer activity of *Solanum nigrum* against KB Cell (IC₅₀ = 10 μ g/ml)

은 정력자의 경우 4 μ g/ml로 나타났고, 까마중, 황련, 울금, 소목이 각각 10, 11, 16, 18 μ g/ml의 농도에서 IC₅₀을 나타내었다. 또한 KB 세포에 대한 추출물의 IC₅₀값은 까마중에서 10 μ g/ml로 나타났으며, 황련, 정력자, 소목, 울금의 경우 각각 12, 14, 18, 65 μ g/ml의 농도에서 IC₅₀을 나타내었다(Table 3).

A253 cell에 비하여 감수성이 낮은 KB cell에 대하여서는 두경부 종양의 선택적 항암제인 cisplatin 2 μ g/ml를 함께 적용하여 항암활성 증강효과정도를 분석하였는데 cisplatin 2 μ g/ml를 단독으로 적용하였을 때의 세포생존율은 70%를 나타내었다. 지실(*Poncirus trifoliata*) 혹은 댕댕이나무(*Lonicera caerule*)추출물은 cisplatin과 병용시 유의성있는 항암활성효과를 나타내었는데, 이들은 4 μ g/ml의 농도에서는 특이할만한 증강효과를 보이지 않았으나 20 μ g/ml 농도에서 각각 89%에서 50%로, 99%에서 84%로 세포생존율이 감

Table 3. IC₅₀ Values of Medicinal Plant Extracts Against A253 and KB Cells

cancer cell extracts	A253 cell($\mu\text{g/ml}$)	KB cell($\mu\text{g/ml}$)
Curcuma aromatica (울금)	16	65
Sanguisorba officinalis (오이풀)	261	339
Croton tiglium (파두)	>500	>500
Poncirus trifoliata (지실)	242	150
Lepidium apetalum (정력자)	4	14
Aralia cordata (독활)	>500	>500
Rubia akane (꼭두서니)	290	234
Caesalpiniae lignum (소목)	18	18
Coptis japonica (황련)	11	12
Solanum nigrum (까마중)	10	10
Ephedra sinica (마황)	390	333
Paconia japonica (백작약)	356	330
Agrimonia pilosa (짚신나물)	433	324
Lonicera caerulea (댕댕이나무)	>500	301

소되었으며 100 $\mu\text{g/ml}$ 농도에서 각각 59%에서 14%로, 92%에서 59%로 감소되는 증강효과를 나타내었다. 한편 500 $\mu\text{g/ml}$ 농도에서는 지실의 경우 유의할만한 변화를 보이지 않았으나 댕댕이나무의 경우 38%에서 8%로의 세포생존율 감소효과를 나타내었다. 아울러 댕댕이나무만을 적용한 경우의 IC₅₀값은 301 $\mu\text{g/ml}$, cisplatin과의 병용시 IC₅₀값은 126 $\mu\text{g/ml}$ 로 감소되었다(Table 4, Fig. 4).

IV. 총괄 및 고찰

우리나라에서의 구강암 발현빈도는 일본이나 동남아를 포함한 동양권과 서양권에서의 통계자료를 비교해 볼 때 그 발현율은 낮으나 점점 그 빈도가 증가하는 추세에 있으며, 조기진단에 의한 외과적 수술, 방사선치료, 항암화학요법을 포함한 다양한 치료법에도 불구하고 높은 악성도와 발생부위가 주요 구조물과 인접하여 있기 때문에 만족스러운 치료가 어렵고 완치 후에도 안면부의 결손에 의한 심미적장애로 사회적응에 어려움이 있기 때문에 보다 적극적이고 효과적인 치료법이 강하게 요구되고 있다.

이들 치료법중 항암화학요법은 암세포의 여러 대사경로에 개입하여 작용하는데 주로 DNA와 직접 작용하여 DNA의 복제, 전사, 번역과정을 차단하거나, 핵산전구체의 합성을 방해하여 활성을 저해시키거나, 또는 세포분열을 저해함으로써 암세포에 대한 세포독성을 나타내는 약제들을 포함하며 이들은 종양에서의 약물에 민감한 세포집단에 작용하여 관해를 유도하게 된다³⁵⁾.

하지만 이러한 항암화학요법은 많은 개선과 발전에도 불구하고 그 독성에 대한 문제는 해결되지 못하고 있고, 또한 두경부영역에서의 항암요법은 환자의 생존율 향상에 대한 결과는 아직까지 명확하지 않은 실정이며 외과적인 처치전후의 수술범위의 감소 및 그 결과로서 술후 기능장애를 최소화하여 환자의 삶의 질을 향상시키는데 그 목적을 두고 있다⁴⁾.

항암제의 개발을 위해서는 화학적 합성물질 또는 천연물로부터

Table 4. Anticancer Activities of Medicinal Plant Extracts against KB Cells Combined with Cisplatin 2 $\mu\text{g/ml}$

extracts	concentration	4 $\mu\text{g/ml}$	20 $\mu\text{g/ml}$	100 $\mu\text{g/ml}$	500 $\mu\text{g/ml}$
Curcuma aromatica(울금)		100	82	16	10
Sanguisorba officinalis(오이풀)		100	100	28	39
Croton tiglium(파두)		100	100	100	84
Poncirus trifoliata(지실)		96	50	14	8
Lepidium apetalum(정력자)		83	50	33	15
Aralia cordata(독활)		100	100	100	72
Rubia akane(꼭두서니)		100	100	77	9
Caesalpiniae lignum(소목)		80	21	13	23
Coptis japonica(황련)		51	28	13	19
Solanum nigrum(까마중)		66	48	11	8
Ephedra sinica(마황)		98	95	44	74
Paconia japonica(백작약)		90	89	71	23
Agrimonia pilosa(짚신나물)		96	97	19	19
Lonicera caerulea(댕댕이나무)		87	84	59	8

(All values are relative percentage(%) of cell viabilities compared to that of control group)

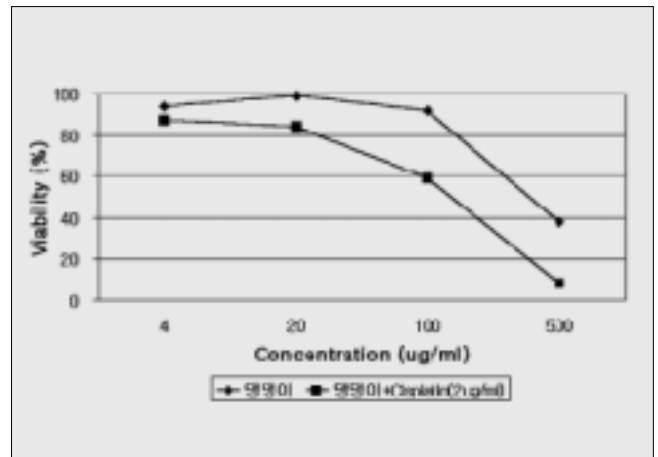


Fig. 4. Synergistic anticancer activity of the combination of Lonicera caerulea and cisplatin(2 $\mu\text{g/ml}$) against KB cells

터 유래하는 많은 후보물질의 약효여부를 조직적으로 검색하는 대량검색이 가장 널리 이용되고 있다. 대량검색을 위해서는 민감하면서도 실험조작이 간편한 생물활성 대량검색 시스템의 방법으로 사람의 암으로부터 수집된 암 세포주에 대한 생체의 세포독성 검사에 의해서 1차 검색을 시행하는 것이 일반적인 경향이며 1차 검색에서 어느 특정한 암세포에 대해 선택적인 세포독성을 나타내면, 그 암세포를 실험동물에 이식하여 종양을 유발시키고 이에 대한 치료효과를 검색하는 이형이식 체내검사로 이행하는 것이 일반적으로 쓰이는 방법으로서 이를 “질환-지향성” 항암제 검색시스템이라고 불리운다³⁶⁾. 이러한 항암제의 개발 및 임상적 적용은 1980년대부터 본격적으로 이루어져왔으며, 상당 부분에서 눈부신 발전을 거듭해왔다.

그러나, 항암제의 치료영역은 오심, 탈모증, 중추신경계 기능

저하, 골수기능저하, 소화기계합병증, 신독성 및 면역능력저하 등 부작용의 발현으로 그 사용에 큰 제한을 받고 있으며 이러한 부작용의 경감과 효과적인 약물병용요법의 연구가 절실히 요구되고 있고 신약개발에의 연구가 활발히 진행중에 있다.

한편, 한방에서 사용되는 약물의 작용기전중 일부가 여러 성분의 복합적인 작용을 통해 체내의 생체항상성(homeostasis) 조절기구에 작용하여 약효를 발현한다고 알려져 왔으며 이러한 약용식물들은 수천년에 걸쳐서 사용되어 오면서 이미 수많은 임상적 사용을 거쳐 일부식물에서 그 약효의 우수성과 낮은 인체독성을 나타내고 있다고 할 수 있다. 근래에 이르러 서양의학과 동양의학(혹은 민간요법)이 각기 가지는 장단점을 상호보완하고 협진을 통한 새로운 의학 또는 새로운 치료요법의 연구¹⁵⁻¹⁷⁾가 다각적으로 시도되고 있으며, 현 등^{6,8,10)}은 전통의약서와 여러 문헌정보등을 근거로 선정한 수백여종의 전통약용식물로부터의 추출물을 그들이 수립한 수종의 암세포주에 대하여 검색한 결과를 여러차례에 걸쳐 보고하였는데, 위암세포주인 SNU-1과 대장암세포주인 SNU-4에 대한 세포독성실험에서 백택(Ampelopsis japonica), 계피(Cinnamomum cassia), 적복령(Polia rubra), 호장근(Polygonum cuspidatum) 추출물에서 항암효과가 있는 것으로 보고하였다. 또한 김등⁹⁾은 황련과 파두의 탈지종자를 혼합분쇄하여 추출한 수용성 생약제제를 CP₂라고 명명하였으며 이들로부터 분리된 항암성분 P₂의 구조를 확인하고 P₂의 세포독성에 대한 연구결과 대개의 암세포주에 대해 수십 µg/ml의 농도에서 50% 세포독성을 나타내었다고 발표하였고, Suh 등¹⁹⁾은 약 400여종의 식물로부터의 추출물을 인체의 전골수성 백혈병성 세포주인 HL-60세포에 적용하여 4 µg/ml 이하의 농도에서 IC₅₀값을 나타내는 17종의 식물을 발견해 내었으며 이들중 일부에서는 각각의 항암성분을 밝혀내었다고 보고하였다.

한편, Ren 등²⁰⁾은 비타민 D, 칼슘, DHA(dehydroepidandrosterone), tamoxifen, 생강과, 이소플라보노이드 등의 자연식품 추출물의 작용 및 구조들을 분석하여 이들의 항암작용기전을 연구보고하였으며, Kelloff 등²¹⁾은 앞서 말한 식품추출물을 포함하여 칼슘, 수종의 retinoid, 베타카로틴, 비타민 E 및 DHEA(dehydroepiandrosterone)등을 임상약물 실험에 적용하여 암세포의 증식을 억제하거나 발암억제 효과를 얻었다는 연구결과를 보고하였다.

아울러 항암제와 면역증강제와의 병용투여에 의해 발암동물의 면역기능저하를 향상시킨다는 연구 보고들도 주목을 받고 있으며 한편, 한방에서 사용되는 약물중 면역증강작용이 기대되는 약물과 항암제와의 병용요법 또는 기존 항암제의 독성을 경감시켜주는 약물과의 병용투여는 새로운 암의 치료방법중의 하나로 근래에 이르러 체계와 이론이 상이한 서양의학과 동양(전통)의학이 각기 갖고 있는 장점과 단점의 상호보완과 협력을 통하여 임상적으로도 유용성이 증가되는 것으로 여러 연구자에 의해 보고되고 있으며 홍 등¹⁶⁾의 연구결과에 의하여 마비, 음양허약, 빈혈, 시력감퇴 및 현훈등에 효과를 가지는 가미대보탕을 cisplatin이나 mitomycin C와 병용투여하여 이들 항암제의 부작용에 대한 경감효과가 보고되었다. 이 등¹⁸⁾은 기존의 수종 항암제와 함께 자

근 및 황금추출물, 울금의 항암성분을 합성한 (±)-ar-Turmerone 과 vincristine 등 8종의 항암제를 인체의 백혈병성 세포주인 HL-60 및 KG-1에 병용투여하여 vincristine, vinblastine 및 adriamycin 등의 일부약제에서 항암활성 증강효과가 있음을 보고하였다.

그러나, 많은 수의 천연약물 및 식물을 거의 제한없이 한방치료의 목적에 사용하며 또한 식용으로 섭취하는 우리나라의 실정에 비추어 이들 천연약용식물의 약리적 효능, 독성 및 부작용등을 계통적으로 연구하고 평가해야 할 필요성이 있으며, 이에 장 등^{11,12)}은 독성학적 측면에서 한국산 생약내지 식물 추출물의 약효 및 독성에 대한 연구에서 일부 추출물은 고농도에서 정상세포에 대한 세포독성이 있음을 보고하였다.

본 연구에서 사용된 14종의 약용식물들은 여러 문헌과 보고에서 항암효과가 입증되고 있으며, 진통, 이뇨, 강장, 거담, 해열 또는 항염효과가 있다고 알려진 약제이다. 본 연구에서도 세포주에 대한 실험으로 그 한계는 있으나, 황련, 정력자, 까마중, 소목, 울금등의 약제에서 구강암 세포주에 대한 유의성있는 항암활성효과를 나타내었다.

한편, 본 실험에서 사용한 항암활성 검사방법으로서의 MTT 검사법은 앞서 제시한 여러 문헌들을 포함하여 일반적으로 적용하는 방법으로 정량적 결과를 비교적 객관적으로 단기간내에 얻을 수 있으므로 특정 세포주에 대한 새로운 약제의 선별검사, 병용화약요법에 대한 증강효과의 검사, 생화학적 조절에 대한 방법을 모색할 때 매우 유용한 검사방법이다¹⁴⁾.

아울러 구강암에 가장 효과적인 것으로 알려진 항암제인 cisplatin과의 병용효과를 관찰하였는데, cisplatin은 항암활성을 가지는 platinum complex로서 세포주기에 관계없이 DNA의 intrastand cross-link를 형성하여 세포 DNA합성을 저해하며 인체에서는 50~120mg/m²의 농도로 혈관을 통해 주입된다²²⁾. 비록 저농도이기는 하나 본 연구에서는 추출물과 함께 cisplatin 2 µg/ml을 병용투여하여 그 활성증가정도를 관찰하였으며, 일부 약제에서 상당한 증강효과를 보였다. 그러나 이러한 약제추출물과 cisplatin의 상호작용은 추가적으로 항암활성증강의 자세한 메카니즘에 대한 면밀한 실험연구가 진행되어야 할 것으로 보이며, 나아가 약용식물추출물의 정상세포에 대한 독성정도를 검색하고 각각의 항암성분의 확인과 함께 임상적인 이형이식 체내검사가 진행되어야 하며 이를 실제 임상에 사용하기 위한 임상연구가 필요할 것으로 사료된다.

V. 결 론

약용식물 추출물을 구강암세포에 적용하여 항암활성정도를 검사하고 항암제를 병용하였을 때의 증강효과정도를 알아보고자 시행한 본 연구는 MTT assay를 사용하여 A253세포와 KB세포주에 대하여 14종의 약용식물추출물의 항암효과와 cisplatin을 병용투여하여 나타나는 항암작용의 증강효과를 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. A253세포에 대한 세포독성 혹은 항암활성정도는 추출물 4 µg

/ml의 농도에서 정력자가 48%의 세포생존율을 나타내었으며, IC₅₀값은 4 μ g/ml로 관찰되었다.

2. KB세포에 대한 세포독성 혹은 항암활성 정도는 추출물 4 μ g/ml의 농도에서 50% 이상의 세포독성을 나타낸 추출물은 검색결과 존재하지 않았으나 황련과 까마중 추출물에서 각각 62, 67%의 세포생존율을 보여주었다. 또한 이들의 IC₅₀값은 각각 12 μ g/ml와 10 μ g/ml로 나타났다.
3. KB cell에 대하여서는 cisplatin 2 μ g/ml을 함께 적용하여 항암활성 증강효과 정도를 분석하였는데 cisplatin 2 μ g/ml를 단독으로 적용하였을 때의 세포생존율은 70%를 나타내었으며, 지실과 땃땃이나무와의 병용효과에서 유의성있는 항암활성효과를 나타내었다. 아울러 땃땃이나무만을 적용한 경우의 IC₅₀값은 301 μ g/ml, cisplatin 과의 병용시 126 μ g/ml의 IC₅₀값을 나타내었다.
4. 추출물중 A253세포와 KB세포 모두에 대하여 항암활성이 높게 나타난 약용식물은 황련, 정력자, 까마중, 소목 및 울금 등이었으며, 이들은 비교적 낮은 농도에서도 활성도가 높게 나타났다.

본 연구는 부작용을 가지는 통법의 화학요법을 보완 대체하고 전래의 천연생약을 이용한 항암제 개발을 위한 기초연구이며, 앞에서와 같은 결과에 비추어 볼 때, 실제적인 임상적 적용을 위한 연구가 계속되고, 그 한계를 극복한다면 항암활성이 높은 약용식물을 사용하여 우수한 항암효과를 기대할 수 있으리라 사료된다.

참고문헌

1. 이상철, 김여갑 : 구강악안면종양학. 지성출판사, 서울, 1993.
2. 清水正嗣, 小浜源都 : 口腔癌[진단과 치료]. 군자출판사, 서울, 1993.
3. Meyers EN, Suen JY : Cancer of the Head and Neck. 2nd ed., New York, Churchill Livingstone, 1989.
4. 이종환, 김명진 : 구강편평세포암 세포주에서의 cisplatin과 5-fluorouracil의 항암감수성의 측정. 대한구강악안면외과학회지. 24:165-171, 1998.
5. Peterson LJ, Indresano AT, Marciani RD, Roser SM : Principles of Oral and Maxillofacial Surgery. Philadelphia, J. B. Lippincott, 1992.
6. 현진원, 임경화, 신진이, 성민숙, 원용진, 김영식, 강삼식, 장일무, 우원식, 백우현, 김형자, 우은란, 박호근, 박재갑 : 전통 약용식물 및 각종식물의 항암효과에 대한 연구. 생약학회지. 25:171-177, 1994.
7. 현진원, 임경화, 신진이, 성민숙, 오재환, 양용만, 원용진, 김영식, 강삼식, 장일무, 백우현, 김형자, 우은란, 박호근, 박재갑 : 전통 약용식물 및 각종식물의 항암효과에 대한 연구(II). 생약학회지. 25:382-387, 1994.
8. 양용만, 현진원, 임경화, 성민숙, 강삼식, 백우현, 배건우, 조 현, 김형자, 우은란, 박호근, 박재갑 : 전통 약용식물 및 각종식물의 항암효과에 대한 연구(III). 생약학회지. 27:105-110, 1996.
9. 김정환, 이상준, 한영복, 김중배 : 과두와 황련의 수용성 혼합물(CP2)부터 분리된 항암성분의 구조확인 및 세포독성에 대한 연구. 약학회지. 38:31-37, 1994.
10. 박재갑, 현진원, 임경화, 신진이, 원용진, 이영득, 신국현, 장일무, 우원식 : 전통 약용식물의 항암효과에 대한 연구. 생약학회지. 24:223-230, 1993.
11. 장일무, 김영수, 한병훈 : 한국산 생약의 약리작용 및 독성연구(제2보). 생약학회지. 13(1):14-19, 1982.
12. 장일무, 김제훈, 한대석 : 한국산 생약의 약리작용 및 독성연구(제4보). 생약학회지. 13(2):62-69, 1983.
13. 이상인 외 : 본초학. 영림사, 서울, 1998.
14. Sobottka SB, Berger MR : Assessment of antineoplastic agents by MTT assay ; partial underestimation of antiproliferative properties. Cancer Chemother Pharmacol. 30(5):385-393, 1992.
15. 오환용, 고승오, 신희근, 김오환 : 人繼代 암세포주 성장저해에 미치는 영지의 항암효과. 대한구강악안면외과학회지. 22:437-450, 1996.
16. 홍남두, 김중우, 김남제, 김진식 : 생약복합체제와 항암제의 병용투여에 관한 연구(제2보). 생약학회지. 23(2):89-95, 1992.
17. John MP : Plant-derived anticancer agents. Biochem pharmacol. 53:121-133, 1996.
18. 이윤영, 유관희, 김삼용, 안병준 : 백혈병 세포주에 대한 (±)-ar-Turmerone, 자근 및 황금추출물에 의한 항암제의 세포독성 증강효과. 약학회지. 35(3):203-215, 1991.
19. Suh N, Luyengi L, Fong HH, Kinghorn AD, Pezzuto JM : Discovery of natural product chemopreventive agents utilizing HL-60 cell differentiation as a model. Anticancer Res. 15(2):233-239, 1995.
20. Ren S, Lien EJ : Natural products and their derivatives as cancer chemopreventive agents. Prog Drug Res. 48:147-171, 1997.
21. Kelloff GJ, Boone CW, Crowell JA, Steele VE, Lubet RA, Doody LA, Malone WF, Hawk ET, Sigman CC : New agents for cancer chemoprevention. J Cell Biochem Suppl. 26:1-28, 1996.
22. Shklar G : Oral Cancer ; The diagnosis, therapy, management and rehabilitation of the oral cancer patient. Philadelphia, W.B. Saunders Company, 1984.