

실험적 간암모델에서 한국산 겨우살이(Mistletoe) 추출물 및 렉틴의 발암 억제효과 탐색

김미정 · 김정희†

서울여자대학교 자연과학대학 영양학전공

Anti-carcinogenic Effects of Korean Mistletoe Extract and Lectin in Experimental Hepatocarcinogenesis

Mi Joung Kim and Jung Hee Kim†

Nutrition, College of Natural Sciences, Seoul Women's University, Seoul 139-774, Korea

Abstract

This study was done to investigate effects of Korean mistletoe extract and lectin on serum GOT, GPT and α -L-fucosidase activities and the preneoplastic lesion in chemically induced rat hepatocarcinogenesis. To attain the above objectives, weanling Sprague-Dawley male rats were fed modified AIN-76 diets containing 10% corn oil for 9 weeks. One week after feeding, rats were intraperitoneally injected twice with a dose of diethylnitrosamine (DEN, 50 mg/kg body weight (BW)) and were provided 0.05% phenobarbital (PB) with drinking water from one week after DEN treatment until the end of experiment. For the same period as PB treatment, rats were injected mistletoe extract (10 μ g/kg BW European mistletoe, 10 μ g/kg BW and 100 μ g/kg BW Korean mistletoe) and lectin (1 ng/kg BW, 10 ng/kg BW) twice a week. At the end of 9th week, rats were sacrificed and the formation of hepatic glutathione S-transferase placental form positive (GST-P⁺) foci, serum GOT, GPT and α -L-fucosidase activities were determined. By treatment of mistletoe extract or lectin, there were no significant effects on serum GOT, GPT and α -L-fucosidase activities whereas those activities showed a tendency to increase by DEN treatment. The formation of GST-P⁺ foci was significantly decreased by mistletoe extract or lectin treatment, especially in group of 100 μ g/kg BW Korean mistletoe. These results suggest that Korean mistletoe extract and lectin have a possibility to inhibit hepatocarcinogenesis of animals.

Key words: mistletoe, lectin, carcinogenesis, α -fucosidase, GST-P⁺ foci

서 론

세계적으로 사망원인의 우위를 차지하고 있는 암은 그 발생원인이나 치료방법이 아직까지 명확히 밝혀지지 않고 있어 세계 각국의 많은 연구자들이 암의 정확한 발암원인 및 기전, 그리고 효과적으로 암을 치료할 수 있는 항암제 개발에 대한 연구에 심혈을 기울이고 있다. 그러나, 지금까지 개발된 항암제는 임상적으로 사용할 때 치명적인 부작용, 내성발현, 임파구 및 골수세포의 파괴 등의 문제점으로 나타나고 있어 정상세포에는 독성을 나타내지 않고 면역체계를 활성화시킴으로서 암을 치료하려는 노력이 다각도에서 이루어지고 있다. 이에 따라 최근에는 각종 천연자원에서부터 새로운 항암성분을 탐색하고 이를 이용하여 항암제를 개발하려는 노력들이 진행되고 있다(1,2).

그 중에서 겨우살이(*Viscum coloratum*, mistletoe)는 참나무, 뽕나무, 밤나무, 사과나무, 단풍나무, 버드나무 등에 붙

어서 기생하는 작은 상록수로 예로부터 동서양을 막론하고 질병치료에 사용하여 고혈압, 동맥경화증 등에 효능이 있는 것으로 알려져 있으며(3), 최근에는 겨우살이의 항종양 효과에 관한 많은 연구들이 보고되고 있다(4,5). 특히, 발효시킨 겨우살이는 오래 전부터 암치료에 이용되어 왔는데, 폐암, 결장암, 유방암 등에 효과가 있는 것으로 알려져 있으며, 유럽에서는 1920년대부터 실제로 많은 임상시험이 시도되어왔다(4). 최근에 들어 우리나라에서도 몇몇 병원에서 겨우살이 추출물을 이용한 면역요법이 암치료의 한가지 방법으로 그 이용이 증가되고 있는 실정이다.

암치료를 위한 겨우살이의 사용은 Steiner(6)에 의해 처음 제안되었으며, 그 후 유럽산 겨우살이 물 추출물이 악성종양에 좋은 효과가 있는 것으로 보고되었고, 현재까지 겨우살이 실험결과를 종합해 보면 NK cell 및 macrophage에 대한 살균능력, 세포독성효과 및 면역력 증강 효과 등이 보고되었다(7-9). 겨우살이의 이런 효과는 렉틴, viscotoxins, 다당류 등

†Corresponding author. E-mail: jheekim@swu.ac.kr
Phone: 82-2-970-5646. Fax: 82-2-976-4049

의 고분자 물질에 의함이며, 특히 중요한 활성을 갖는 물질로는 렉틴이 알려져 있는데(10), 이 렉틴은 단백질 혹은 당단백질로 구성되어 있는 물질로서 NK cell과 antibody-dependent cell mediated cytotoxicity의 활성을 증가시켜 α -interferone의 반응과 유사하게 작용하여 면역계를 증강시킨다고 보고되고 있다. 또한 렉틴은 암세포의 세포표면에 있는 수용체나 당과 결합한 후 세포내부로 침투하여 진핵세포의 리보솜을 불활성화 시켜서 단백질 합성을 저해시키는 작용을 하거나 암세포의 세포막을 파괴하여 apoptosis로 유도하고, DNA 복구율을 증가시켜 정상세포로 돌아가도록 한다고 한다(5,11).

이제까지 알려진 겨우살이 추출물을 이용한 암치료의 면역요법에서는 주로 유럽산 겨우살이 물 추출물을 이용한 것으로 대부분이 *in vitro* 실험 위주로 진행되어져 왔다. 국내에서는 최근 한국산 겨우살이의 생물학적 활성 및 성분변화에 관한 연구 등과 겨우살이 물 추출물에서 렉틴 성분의 분리에 관한 연구 등(12,13)이 보고되고 있으나 한국산 겨우살이의 항암 혹은 암예방 치료제로서의 가능성을 연구한 동물실험이나 임상실험 등의 내용은 미흡한 실정이다. 또한 유럽 등 일부 겨우살이를 항암제로 이용하고 있는 외국의 연구들도 유방암, 폐암 등으로 우리나라에서 발병률이 높은 간암에 대한 연구는 부족한 실태이다.

그러므로 본 연구에서는 한국산 겨우살이 물 추출물과 이로부터 분리한 렉틴 성분을 실험적으로 간암을 유도한 흰쥐에게 양을 다르게 투여하여 간세포 암의 초기지표로서 대만형 glutathione-S transferase 양성 병소의 면적과 수를 면역조직화학적으로 측정하고, 간 기능의 지표로 쓰이는 GOT와 GPT 활성도 및 간 세포성 암종의 조기 진단에 쓰이는 α -L-fucosidase의 활성도를 측정함으로써 겨우살이 물 추출물과 렉틴의 수준이 쥐 간의 암화과정에 영향을 주는지를 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

겨우살이 물 추출물 및 렉틴의 추출 및 정제

한국산 겨우살이(*Viscum album L. var. coloratum*)는 강원도 대관령의 참나무를 숙주로 하여 기생하는 것으로, 겨우살이의 새순 세 마디의 잎, 열매 및 줄기를 분류하여 세절한 후 증류수로 세척한 후에 -70°C 에서 보관하였다. 증류수를 시료증량에 대하여 10 배로 첨가하면서 저속분쇄기로 갈고, 4°C 에서 24시간 동안 교반하였다. 거즈로 걸러낸 후 12,000 rpm에서 30분간 원심분리하여 얻은 상등액을 공극 크기를 달리하는 막여과기(membrane filter)에 의해 순차적으로 여과($20\ \mu\text{m}$, $0.45\ \mu\text{m}$ 및 $0.22\ \mu\text{m}$)하여 균을 제거한 후에 최종농도가 $100\ \text{mg/mL}$ 가 되도록 멸균된 인산염 완충액(PBS)으로 조절하여 원액으로 사용하였다. 이 때 농도의 표시 $100\ \text{mg/mL}$ 는 신선한 겨우살이 $100\ \text{mg}$ 으로 추출한 용액 $1\ \text{mL}$ 를 뜻한

다. 그리고, 효소결합 렉틴 검출법(ELLA)을 이용하여 겨우살이 추출물 중의 렉틴을 정량한 결과, $1\ \text{mg/mL}$ 농도의 VCE $1\ \text{mL}$ 에는 $30\ \text{ng}$ 의 VCA가 함유되어 있는 것으로 확인되었다.

렉틴의 분리는 아시알로페투인-세파로스(asialofetuin-Sepharose) 4B 컬럼을 이용하였는데, 겨우살이의 새순 세 마디의 잎, 열매 및 줄기를 분류하여 세절한 후 증류수로 세척한 다음 동결 건조시켰다. 상기 동결 건조된 겨우살이 $1\ \text{kg}$ 을 $0.1\ \text{M}$ 아세테이트(acetate) 완충용액(pH 4.0) 4 L와 함께 저속 분쇄기로 마쇄하고, 8,000 rpm에서 30분간 냉장 원심분리한 $1\ \text{L}$ 의 상등액에 양이온 교환수지인 SP-세파덱스(Sephadex) C-50 $3.5\ \text{g}$ 을 첨가한 후 4°C 에서 교반하여 12시간 방치시켰다. 이 겔을 크로마토그래피 컬럼(chromatography column)에 충전시킨 후 $0.1\ \text{M}$ 아세테이트 완충용액(pH 4.0)으로 세척하고, 수용액 속의 단백질을 $0.1\ \text{M}$ Tris-HCl 완충용액(pH 8.0, $0.5\ \text{M}$ NaCl)으로 용출시켰다. 용출시킨 단백질 분획을 모아서 초여과막(ultrafiltration membrane, MW=10,000 Da, Amicon Corp, USA)으로 농축하였다. 아시알로페투인-세파로스(asialofetuin-Sepharose) 4B로 채워진 컬럼에 상기 단백질 용액을 주입시키고 컬럼을 PBS 완충용액(pH 8.7)으로 세척하였다. 컬럼에 흡착된 단백질을 $0.2\ \text{M}$ 의 아세트산으로 용출시킨 물질을 UV($\lambda_{\text{max}}=280\ \text{nm}$)로 확인하여 피크(peak)를 나타내는 분획을 모아 초여과막으로 농축하여 정제된 렉틴을 획득하였다.

실험동물 및 식이

$80\sim 90\ \text{g}$ 정도로 이유된 3주령 Sprague-Dawley종을 이용하여 각 군간의 차이가 없도록 randomized block design에 따라 유럽산 겨우살이 물 추출물 투여, 한국산 겨우살이 물 추출물과 렉틴의 투여량, diethylnitrosamine(DEN) 투여 여부에 따라 12군으로 나누어 실험식이를 공급하였고, 식이는 AIN-76 조성을 기본으로 전암성 병변의 생성을 촉진하기 위하여 corn oil이 10% 함유되도록 변형하여 제조한 분말 사료를 공급하였다(Table 1). 발암물질의 투여에 따라 식이 섭취량의 감소가 생기게 되므로 각 군별로 섭취 열량의 차이가 생기는 것을 방지하기 위해서 발암물질 투여군의 섭취량에 맞추어 제한 식이를 실시하였고, 물의 섭취는 제한하지 않았다.

실험설계

Jang 등(14)의 방법을 이용하여, 3주령 Sprague-Dawley종을 사용하였다. 각 군은 10마리로 나누어 발암물질 투여는 실험개시 1주에 발암개시물질로서 DEN을 체중 kg 당 $50\ \text{mg}$ 을 생리식염수에 녹여 2회 복강 투여하였고, 1주일 후부터 발암물질 투여군에만 음용수에 0.05% phenobarbital(PB)을 섞어서 발암촉진물질로 공급하였다. 겨우살이 물 추출물과 렉틴의 투여는 발암물질 투여 1주일 후부터 유럽산 겨우살이 물 추출물 $10\ \mu\text{g/kg}$ BW(Body Weight)으로 투여한 군, 한국산 겨우살이 물 추출물 $10\ \mu\text{g/kg}$ BW 투여군과 $100\ \mu\text{g/kg}$

Table 1. Diet composition

Ingredient	Amount (%)
Corn starch	60.2
Cellulose	5.0
Casein	20.0
DL-methionine	0.3
Corn oil	10.0
Salt mixture ¹⁾	3.5
Vitamin mixture ²⁾	1.0

¹⁾Composition of salt mixture (AIN 76), g/kg mixture : Calcium phosphate dibasic (CaHPO₄) 500, Sodium chloride (NaCl) 74, Potassium citrate, monohydrate (K₃C₆H₅O₇·H₂O) 220, Potassium sulfate (K₂SO₄) 52, Magnesium oxide (MgO) 24, Manganese carbonate (43~48% Mn) 3.5, Ferric citrate (16~17% Fe) 6.0, Zinc carbonate (70% ZnO) 1.6, Cupric carbonate (53~55% Cu) 0.3, Potassium iodate (KIO₃) 0.01, Sodium selenite (Na₂SeO₃·5H₂O) 0.01, Chromium potassium sulfate [CrK(SO₄)₂·12H₂O] 0.55, Sucrose finely powdered to make 1,000.0 g.

²⁾Composition of vitamin mixture (Oriental yeast), g/kg mixture : Vitamin A acetate 500,000 IU, Vitamin D₃ 100,000 IU, Vitamin E acetate 5 g, K₃ 5.2 g, Thiamin chloride 1.2 g, Riboflavin 4.0 g, Pyridoxine hydrochloride 0.8 g, Vitamin B₁₂ 0.5 mg, Ascorbic acid 30.0 g, D-Biotin 20 mg, Folic acid 0.2 g, Calcium pantothenate 5.0 g, p-Aminobenzoic acid 5.0 g, Nicotinic acid 6.0 g, Inositol 6.0 g, Choline chloride 200 g, cellulose powder to make 1,000.0 g.

BW 투여군, 렉틴 1 ng/kg BW 투여군과 10 ng/kg BW 투여군으로 나누어 각각 농도에 맞게 겨우살이 물 추출물과 렉틴을 phosphate buffered saline(PBS)에 희석하여 매주 2회 동일한 요일에 복강투여를 하였으며, 대조군은 주사에 의한 효과를 배제하기 위하여 동일한 양의 PBS를 투여하였다. 총 사육기간은 9주로 하였다(Fig. 1).

실험동물 희생 및 시료 수집

실험 동물은 9주 사육하여 단투법으로 희생하여 경동맥에서 혈액을 취해 3,000 rpm에서 20분간 원심 분리하여 혈청을

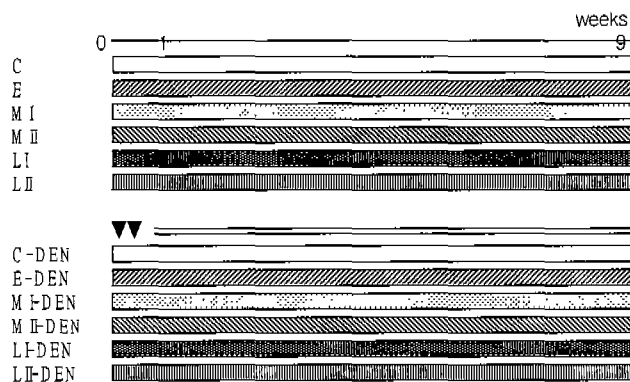


Fig. 1. Experimental design.

- ▼ DEN injection 50 mg/kg BW.
- ▬ 0.05% PB in drinking water.
- C not treated group.
- ▨ E European mistletoe 10 ug/kg BW injected group.
- ▩ MI Korean mistletoe 10 ug/kg BW injected group.
- MII Korean mistletoe 100 ug/kg BW injected group.
- LI Lectin 1 ng/kg BW injected group.
- ▣ LII Lectin 10 ng/kg BW injected group.

얻었고, 희생 후 즉시 간을 절제하여 중량 측정 후 좌, 우 간엽에서 조직을 5 mm 두께로 절제하여 10% neutral buffered formalin에 24시간 이상 고정하여 조직염색에 사용하였으며, 혈청은 액체 질소에 급속 동결시켜 -80°C에 보관하였다가 분석시 꺼내 사용하였다.

조직병리학적 검사

조직의 준비 : 고정시킨 조직은 조직병리학의 일반적인 방법(15)에 따른 면역조직학적 측정을 위해 자동조직 포매기에서 탈수 및 침수과정을 거쳐 파라핀에 포매시켰다. 이 파라핀 블록은 마이크로톰을 사용하여 5 μm 두께로 박절편을 만들어 유리슬라이드에 부착시키고, 60°C dry oven에서 1시간 동안 방치하였다가 염색을 측정하였다.

GST-P⁺ foci 염색 및 측정 : GST-P⁺ foci는 면역조직화학적 염색을 실시하였고, 영상분석장치로 측정하여 간 조직의 단위면적당 foci의 수와 면적으로 나타내었다. 즉, 파라핀으로 고정시켜 미세 절편으로 만든 조직슬라이드를 건조시킨 후 ABC법(15) (Vectastain ABC kit, Vector Labs., Burlingame, CA)에 따라 GST-P⁺ foci를 검색하는 면역염색법을 시행하였다. GST-P⁺ foci 수와 면적은 영상분석장치(VI-DEOPLAN, Carl Zeiss, Germany)를 이용하여 측정하였다.

생화학적 검사

혈청 GOT, GPT 및 α-L-fucosidase 활성도 측정 : 간기능의 지표로 사용되는 GOT, GPT의 활성도는 kit(영동제약)를 사용하여 혈청에서 측정하였다.

혈청의 α-L-fucosidase의 활성도는 p-nitrophenyl-α-L-fucopyranoside를 기질로 사용하여 fucosidase가 생성한 p-nitrophenol의 흡광도를 측정하는 Zeilke 등의 방법(16)으로 측정하였다.

통계처리

겨우살이 물 추출물이나 렉틴의 투여, 발암물질 투여에 따른 효과를 보기 위하여 실험결과를 2-way analysis of variance(ANOVA)로 분석하여 α=0.05 수준에서 Duncan's multiple range test에 의해 유의성을 검증하였다. 모든 실험 결과의 통계 처리는 Statistical Analysis System(SAS) program을 이용하였다.

결과 및 고찰

실험동물의 체중 및 간 무게

Table 2에 제시된 것처럼 9주간의 동물사육 후 체중은 발암물질에 의해 식이 섭취가 감소하는 것을 고려하여 제한 섭취를 실시하였으나 발암물질 투여나 겨우살이 또는 렉틴의 투여에 따라 약간 감소하는 경향을 보였고, 간 무게는 겨우살이, 렉틴의 효과는 보이지 않으나 발암물질 투여에 따라 유의적으로 증가하였다. 간은 신체중에서 독성을 해독하는 중요한 기관으로 독성물질이 체내에 투여되면 그 크기가 증가한

Table 2. Effect of mistletoe and lectin on body weight and liver weight of rats treated with DEN

Group ¹⁾	N	Body weight (g)	Liver weight (g)	Liver weight/Body weight (%)
C	(9)	193.7±11.3 ^{2)ab3)}	4.8±0.1 ^b	2.4±0.1 ^e
C-DEN	(8)	196.9± 8.5 ^a	6.8±0.3 ^d	3.5±0.2 ^{abc}
E	(10)	187.4±17.9 ^{ab}	5.0±0.7 ^b	2.7±0.4 ^{de}
E-DEN	(8)	185.7±20.6 ^{ab}	6.9±1.3 ^a	3.7±0.6 ^{ab}
MI	(8)	186.3±21.3 ^{ab}	4.9±0.5 ^b	2.6±0.3 ^{dc}
MI-DEN	(7)	184.6±18.0 ^{ab}	6.6±0.9 ^a	3.1±1.3 ^{cd}
MII	(10)	184.3±29.5 ^{ab}	4.6±0.8 ^b	2.5±0.2 ^e
MII-DEN	(2)	179.5±11.7 ^{ab}	6.9±0.5 ^a	3.9±0.3 ^d
LI	(9)	192.0±16.5 ^{ab}	4.8±0.4 ^b	2.5±0.1 ^e
LI-DEN	(8)	170.7±25.1 ^b	6.7±1.5 ^a	3.9±0.5 ^a
LII	(10)	189.2±16.3 ^{ab}	4.9±0.4 ^b	2.6±0.1 ^c
LII-DEN	(9)	180.8±27.3 ^{ab}	6.2±1.4 ^a	3.4±0.4 ^{bc}
Significant factor ⁴⁾		NS	D	D, M×D

¹⁾C = not treated, E=European mistletoe 10 µg/kg BW injection, MI = Korean mistletoe 10 µg/kg BW injection, MII = Korean mistletoe 100 µg/kg BW injection, LI=Lectin 1 ng/kg BW injection, LII = Lectin 10 ng/kg BW injection, N = number of animal.
²⁾Values are mean±SD.
³⁾Means with different superscripts within a column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.
⁴⁾Statistical significance was calculated by 2-way ANOVA at α=0.05. NS = not significant, D = DEN injection, M = mistletoe or lectin injection, M×D = mistletoe×DEN.

다. 간암을 유도시킨 흰쥐에 대한 선행연구들에서도 발암물질 투여한 군의 간의 크기와 무게가 증가하고, 육안으로 보아도 단단하게 굳어 경화가 되어있는 것을 볼 수 있었다. 그러므로 발암물질 투여에 대한 간 무게의 증가에 대한 이번 연구의 결과는 선행연구(17)들과 일치하는 것이며, 겨우살이에 대한 효과는 나타나지 않은 것으로 보아 본 실험에 사용한 양의 겨우살이나 렉틴은 간의 크기와 무게에 영향을 미치지 않는 것으로 사료된다. 체중에 대한 상대적인 간 무게에 대한 결과도 간 무게의 결과와 유사하였고, 유럽산보다는 한국산 겨우살이 물 추출물의 간 무게와 체중에 대한 간 무게의 비율이 작게 나타나 한국산 겨우살이 물 추출물의 독성이 간에 영향을 작게 미치는 것으로 보여진다.

조직병리학적 검사

GST-P⁺ foci 측정 : 실험적 간암의 경우 GST 중 태반형인 GST-P⁺ foci는 정상적인 간조직에서는 나타나지 않으나, 간세포의 전암성 병변에서 현저하게 높게 발현되며 anti-GST rabbit 항체를 사용하여 조직면역화학적 방법으로 검색할 수 있다. 따라서 GST-P⁺ foci 측정은 간암유발과 높은 상관관계를 가지므로 쥐의 간세포 암화과정에서 전암성 병변의 유용한 지표로 사용되고 있다(18).

본 연구에서 GST-P⁺ foci 생성정도를 측정된 결과 겨우살이 물 추출물 투여했을 때 GST-P⁺ foci의 수나 면적이 감소하였고 투여량이 증가시 그 효과가 더욱 컸다(Fig. 2). 또한 유럽산과 한국산의 겨우살이 추출물을 동량(10 µg/kg BW)

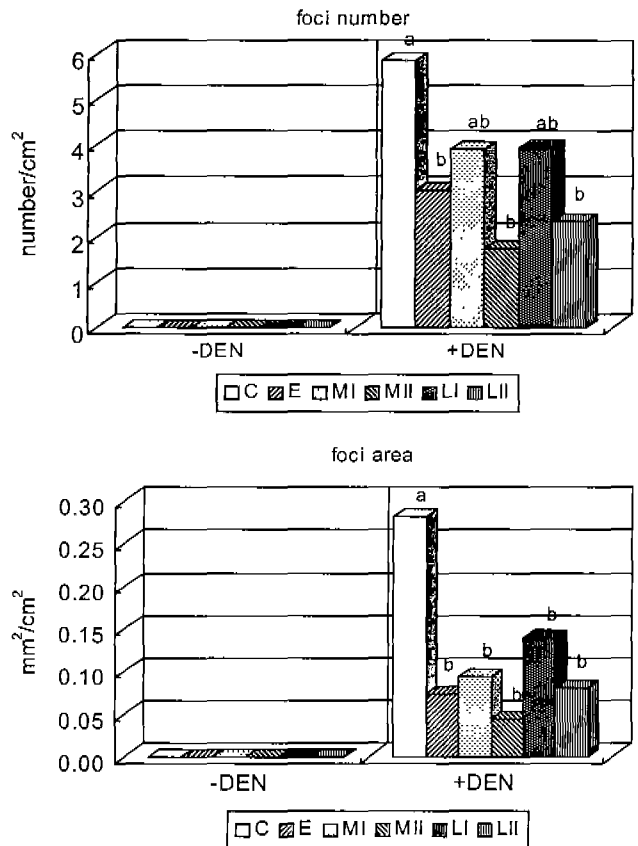


Fig. 2. Effect of mistletoe and lectin on hepatic GST-P⁺ foci number and area of rats treated with DEN. Values are mean. Different alphabets above the bar indicate significant difference by Duncan's multiple range test at p<0.05.

투여하여 발암억제 효과를 비교하였을 때 유럽산 겨우살이 추출물을 투여한 군에서 한국산 겨우살이 추출물을 투여한 군보다 GST-P⁺ foci의 수나 면적이 약간 감소하는 경향을 보였으나 유의적인 차이는 없었다. 겨우살이 중에서 항암효과를 나타내는 물질로 밝혀진 렉틴에 대한 효과를 알아보기 위해 투여 수준을 달리한 렉틴 투여군에서도 10 ng/kg BW 수준으로 투여한 군이 1 ng/kg BW 수준으로 투여한 군보다 GST-P⁺ foci의 수나 면적이 유의적으로 감소하는 결과를 나타냈다(Fig. 2). 렉틴의 투여 수준은 본 연구에 사용한 한국산 겨우살이 물 추출물에 함유된 렉틴의 함량과 동일한 양이 되도록 한 것으로 겨우살이 물 추출물에 대한 foci 생성 억제효과보다는 낮게 나타났다. 이러한 결과는 비록 겨우살이 추출물 중에서 주요 항암작용을 하는 물질이 렉틴이라 하더라도 겨우살이 중 렉틴 이외의 다른 물질들이 렉틴과 서로 상호적으로 작용하여야 항암효과를 더 증가시킬 수 있다는 것을 의미한다.

생화학적 검사

혈청 GOT, GPT 및 α-L-fucosidase 활성도 변화 : 혈청 GOT와 GPT의 활성도는 간 기능의 지표로 널리 사용되는 것으로 본 연구에서도 발암물질 투여와 겨우살이, 렉틴이

간 기능에 미치는 영향을 알아보기 위해 혈청 GOT와 GPT의 활성도를 조사하였다. 혈청 GOT 활성도에 대해 조사한 결과 유의적이지는 않지만 발암물질 투여에 따라 증가하는 경향을 보였고, 겨우살이나 렉틴의 투여에 따라서는 겨우살이 종류나 량에 따른 효과가 나타나지 않았다. GPT의 활성도에 대해서는 발암물질의 투여에 따라 증가하였으며, 겨우살이와 렉틴에 따라서는 GOT와 비슷한 경향을 나타냈다(Fig. 3). 이 결과는 본 실험에 사용한 양의 겨우살이 물 추출물이나 렉틴이 간 기능에 영향을 미치지 않음을 보여주는 것으로서 겨우살이 추출물과 렉틴의 생체 내 독성이 나타나지 않음을 시사한다.

혈청의 α -L-fucosidase의 활성도는 간 세포성 암종 상태에서 증가되어 간의 생검 없이도 혈청에서 간단하게 측정하여 조기에 간암을 진단할 수 있는 지표로 알려져 있다(19). Fig. 4의 결과에 따르면 발암물질 투여에 따라 α -L-fucosidase의 활성도가 유의적으로 증가하였고, 겨우살이 종류나 겨우살이와 렉틴의 투여량에 따른 효과는 나타나지 않았으나 발암물질 투여군 중 렉틴을 투여한 군에서 α -L-fucosidase의 활성도가 발암물질만 투여한 군보다 낮은 것으로 나타났으나 유의적인 차이는 없었다.

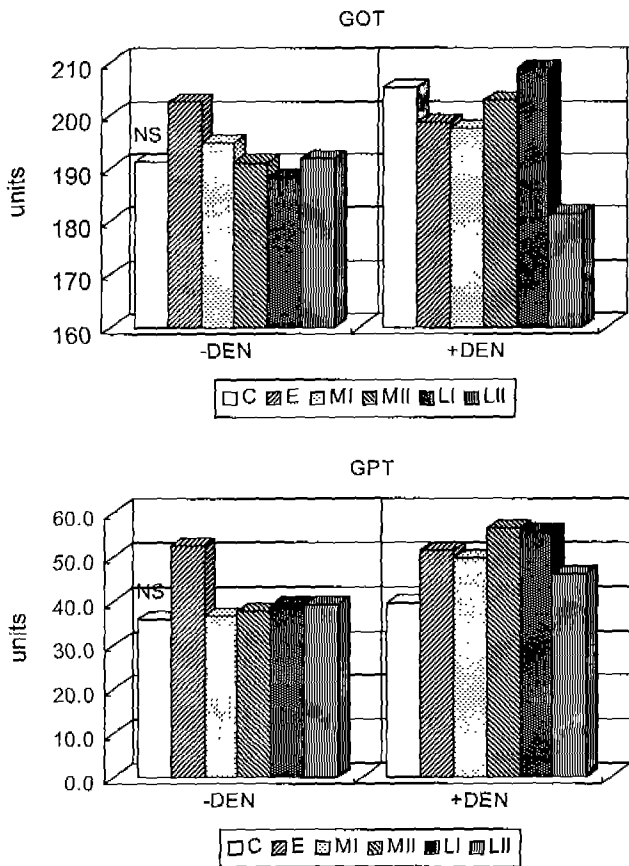


Fig. 3. Effect of mistletoe and lectin on serum GOT and GPT activity in rats treated with DEN. Values are mean. Different alphabets above the bar indicate significant difference by Duncan's multiple range test at $p < 0.05$.

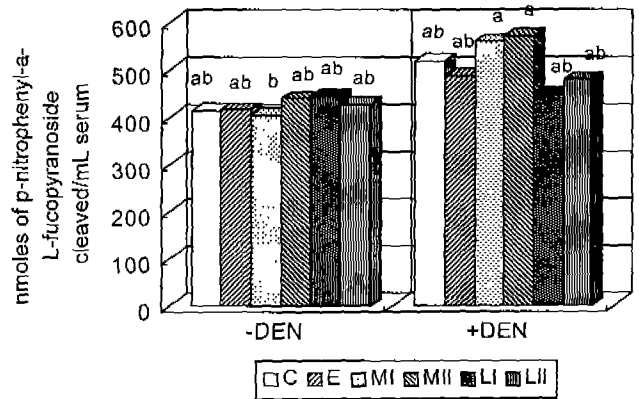


Fig. 4. Effect of mistletoe and lectin on serum α -L-fucosidase activity in rats treated with DEN. Values are mean. Different alphabets above the bar indicate significant difference by Duncan's multiple range test at $p < 0.05$.

이상의 결과로부터 겨우살이 물 추출물과 렉틴은 종류와 투여량에 따라 혈청 GOT, GPT 활성도나 α -L-fucosidase 활성도가 영향을 받지 않는 것을 볼 수가 있었다. 이는 본 연구에서 사용한 투여량이 체내에 독성을 미치지 않을 정도의 낮은 수준이었기 때문으로 사료된다. 또한 한국산 겨우살이 물 추출물이나 렉틴은 간 발암억제 효과가 있는 것으로 보이며 투여량을 증가시켰을 때 효과가 큰 것으로 나타났다. 그러나 유럽산과 한국산 겨우살이의 발암억제 효과는 큰 차이가 없는 것으로 보인다. 또한 한국산 겨우살이에서 추출한 렉틴에 대한 발암억제 효과가 겨우살이 물 추출물보다 약간 낮게 나타나 렉틴 이외의 겨우살이의 여러 성분들이 렉틴과 상호적으로 작용할 때 항암효과가 더 커지는 것으로 사료된다. 따라서 앞으로 겨우살이와 렉틴의 *in vivo* 항암효과를 규명하기 위하여 더 높은 수준의 투여량에 따른 독성연구와 관련기전에 대한 연구가 더 수행되어야 할 것이다.

요 약

본 연구는 한국산 겨우살이 물 추출물과 이에서 분리한 렉틴 성분을 실험적으로 간암을 유도한 흰쥐에게 투여하여 이들의 간 발암억제 효과를 조사하고자 하였다. 이를 위해 80~90 g 정도로 이유된 3주령 Sprague-Dawley종을 유럽산 겨우살이 추출물 투여(10 μ g/kg BW), 한국산 겨우살이(10 μ g/kg BW, 100 μ g/kg BW)와 렉틴(1 ng/kg BW, 10 ng/kg BW)의 투여량, DEN 투여 여부에 따라 12군으로 나누어 발암물질 투여 1주일 후부터 주 2회 복강 투여하고, 실험식을 공급하였다. 총 사육기간은 9주간이었고, 희생시킨 후 혈청과 간 조직을 분리하여 조직병리학적 변화 측정을 위한 전암성 병변의 지표인 GST-P⁺ foci의 수와 면적을 측정하였고, 생화학적 변화 측정을 위해 간 기능의 지표인 혈청 GOT와 GPT 활성도, 혈청 α -L-fucosidase 활성도를 측정하였다. 그 결과 다음과 같은 결론을 얻었다. (1) 체중은 발암물질에 의해 식이 섭취가 감소하는 것을 고려하여 제한 섭취를 실시하

였으나 발암물질 투여나 겨우살이 또는 렉틴의 투여에 따라 약간 감소하는 경향을 보였고, 간 무게는 겨우살이, 렉틴의 효과는 보이지 않으나 발암물질 투여에 따라 유의적으로 증가하였다. 체중에 대한 상대적인 간 무게에 대한 결과도 간 무게의 결과와 유사하였고, 유럽산보다는 한국산 겨우살이 물 추출물의 간 무게와 체중에 대한 간 무게의 비율이 작게 나타나 한국산 겨우살이 물 추출물의 독성이 간에 영향을 작게 미치는 것으로 보여진다. (2) GST-P⁺ foci의 수나 면적은 겨우살이나 렉틴의 투여에 따라 유의적으로 감소하였고, 유럽산과 한국산의 겨우살이 추출물 종류에 따라서는 한국산 겨우살이 추출물을 투여한 군에서 약간 증가하는 경향을 보였으나 한국산 겨우살이 물 추출물의 양을 증가시켜 100 µg/kg BW 수준으로 투여한 결과 foci의 수나 면적이 유의적으로 감소하여 가장 낮은 값을 보였다. 렉틴의 투여량에 따른 결과도 양이 증가함에 따라 GST-P⁺ foci의 수와 면적이 감소하였다. (3) 혈청 GOT 활성도는 유의적이지는 않지만 발암물질 투여에 따라 증가하는 경향을 보였고, 겨우살이나 렉틴의 투여에 따라서는 겨우살이 종류나 양에 따른 효과가 나타나지 않았다. GPT의 활성도와 α-L-fucosidase의 활성도는 발암물질의 투여에 따라 유의적으로 증가하였으며, 겨우살이와 렉틴에 따라서는 GOT와 비슷한 경향을 나타냈다.

감사의 글

본 연구는 1999년도 한국과학기술평가원의 서울여자대학교 연구기반확충사업(과제번호 1990161)의 지원에 의하여 수행되었으며, 이에 감사를 드립니다.

문 헌

- O'Shaughnessy, J.A.: Chemoprevention of breast cancer. *JAMA*, **275**, 1349-1353 (1996)
- Hursting, S.D., Perkins, S.N., Haines, P.D., Ward, J.M. and Phang, J.M.: Chemoprevention of spontaneous tumorigenesis in p53-knockout mice. *Cancer Res.*, **55**, 3949-3953 (1995)
- Franz, H.: Mistletoe lectins and their A and B chains. *Oncology*, **43** (suppl. 1), 23-34 (1986)
- Ribereau-Gayon, G., Jung, M.L., Baudino, S., Salle, G. and Beck, J.P.: Effect of mistletoe (*Viscum album L.*) extracts on cultured tumor cells. *Experientia*, **42**, 594-599 (1986)
- Schumacher, U., Stamouli, A., Adam, E., Peddie, M. and Pfuller, U.: Biochemical, histochemical and cell biological investigations on the actions of mistletoe lectins I, II and III with human breast cancer cell lines. *Glycoconjugate J.*, **12**, 250-257 (1995)
- Steiner, R.: *Spiritual sciences and medicine*. Rudolf Steiner Publishing Co., London (1920)
- Klett, C.Y. and Anderer, F.A.: Activation of natural killer cell cytotoxicity of human blood monocytes by a low molecular component from *Viscum album* extract. *Arzneimittel-Forschung/Drug Res.*, **39**, 1580-1585 (1989)
- Yoon, T.J., Yoo, Y.C., Kang, T.B., Baeck, Y.J., Huh, C.S., Song, S.K., Lee, K.H., Azuma, I. and Kim, J.B.: Prophylactic effect of Korean mistletoe (*Viscum album coloratum*) extract on tumor metastasis is mediated by enhancement of NK cell activity. *International J. Immunopharmacology*, **20**, 163-172 (1998)
- Bloksma, N., Dijk, H.V., Korst, P. and Willers, J.M.: Cellular and humoral adjuvant activity of a mistletoe extract. *Immunobiol.*, **156**, 309-319 (1979)
- Bocci, V.: Mistletoe (*Viscum album*) lectins as cytokine inducers and immunoadjuvant in tumor therapy. *J. Biol. Regul. Homeost. Agent*, **7**, 1-6 (1993)
- Timoshenko, A.V. and Gabius, H.J.: Efficient induction of superoxide release from human neutrophils by the galactoside-specific lectin from *Viscum album*. *Biol. Chem. Hoppe-Seyler*, **374**, 237-243 (1993)
- Park, W.B. and Kim, H.S.: Changes of lectin from *Viscum coloratum* by fermentation with *Lactobacillus plantarum*-isolation and purification. *Yakhak Hoeji*, **38**, 687-695 (1994)
- Park, W.B. and Kim, H.S.: Isolation and characterization of lectin from *Viscum coloratum*. *Yakhak Hoeji*, **38**, 418-424 (1994)
- Jang, J.J., Lee, M.S. and Kim, T.H.: Development of GST-P⁺ foci in 3 week old rats induced by diethylnitrosamine: preliminary data for liver foci model. *J. Korean Cancer*, **26**, 23-25 (1994)
- Hsu, S.M., Raine, L. and Fanger, H.: Use of avidine-biotin peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: a comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedure. *J. Histochem. Cytochem.*, **29**, 577-580 (1981)
- Zeilke, K., Okada, S. and O'Brien, J.: Fucosidase: diagnosis by serum assay of α-L-fucosidase. *J. Lab. Clin. Med.*, **79**, 154-169 (1972)
- Yoon, H.J., Kim, J.H. and Jang, J.J.: Effect of sardine oil feeding and vitamin E supplementation on the preneoplastic hepatic lesion and cholesterol metabolism in hepatocarcinogenesis of rats. *J. Food Sci. Nutr.*, **1**, 214-219 (1996)
- Satoh, K., Kitahara, A., Soma, Y., Inaba, Y. and Sato, K.: Purification, induction, and distribution of placental glutathione transferase: A new marker enzyme for preneoplastic cells in the rat chemical hepatocarcinogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, **82**, 3964-3968 (1985)
- Giardina, M.G., Matarazzo, M., Varriale, A., Morante, R., Napoli, A. and Martino, R.: Serum alpha-L-fucosidase: A useful marker in the diagnosis of hepatocellular carcinoma. *Cancer*, **70**, 1044-1048 (1992)

(2001년 5월 25일 접수)