

인체 폐암세포주 NCI-H1299에 대한 당근 추출물의 항암효과

노 숙 령 · 김 도 희
중앙대학교 식품영양학과

Anti-tumor Effect of Carrot(*Docus carota* L.) Extracts in the Human Lung Cancer Cell Line NCI-H1299

Sook Nyung Rho and Doheu Kim

Department of Food and Nutrition, Chung Ang University

Abstract

This study was designed to investigate the anti-tumor effects of fresh carrot juice, methanol-extracts, and β -carotene on the human lung cancer cell line NCI-H1299. The anti-tumor effect was evaluated by the MTT assay *in vitro*. The anti-tumor effect of fresh carrot juice against NCI-H1299 lasted up to 96 hours after exposure; the viability rate of lung cancer cells decreased below 50% after 48 hours, and further after 72 hours. The strongest propagation inhibition effect of fresh carrot juice was shown at the concentration of 2000 μ g/ml after 72 hours and the viability rates was 45.98% even at the concentration of 25 μ g/ml. The value of IC_{50} was 23.1 μ g/ml when the elapsed time was 72 hours.

The viability rate of methanol-extract was 52.4% under the concentration of 2000 μ g/ml and the elapsed time of 72 hours. Under the concentration of 1000 μ g/ml and the elapsed time of 48 hours, β -carotene decreased the viability rate to 29.99%. The IC_{50} value of β -carotene was 691.2 μ g/ml after 72 hours. According to the above results, the anti-tumor effect arose in NCI-H1299 when the concentration of the fresh carrot juice or the β -carotene was more than 25 μ g/ml or 1000 μ g/ml, respectively. On the other hand, the methanol-extracts showed a weak anti-tumor effect even at a concentration as high as 2000 μ g/ml.

Key words : anti-tumor, carrot, human lung cancer.

I. 서 론

우리나라 전체 사망자 중 암질환에 의한 사망순위는 순환기계질환에 이어 두 번째로 높은 사망률을 접하고 있으며 최근 암의 증가속도는 점차 증가하고 있는 실정이다^{1,2)}. 암 입원환자는 장기별로 볼 때 위

암(19%), 기관지 및 폐암(14%), 간 및 간내담관암(13.6%)의 순으로 나타났다²⁾. 폐암은 현재 가장 급속히 증가하고 있는 악성종양으로 미국에서 남녀 모두 암사망 1위의 암이며 우리나라에서는 암 사망율 2위를 차지하고 있다.

우리나라 남성의 경우, 폐암 발생율이 1986년 13.7%에서 1996년 16.0%로, 여성의 경우도 1986년

4.5%에서 1996년 6.0%로 증가 추세를 보이고 있다¹²⁾. 폐암은 55세~75세 사이에 가장 많이 발생하며 발생률과 흡연량 사이에는 상관관계가 있다고 한다³⁾. 폐암은 대부분 진단이 늦어 수술 절제가 불가능한 경우가 많고 폐암세포는 방사선 요법이나 화학요법에 잘 반응하지 않아 완치가 거의 불가능한 실정이라고 한다.

폐암에 대한 항암효과 연구로는 키토산이 폐암세포주 NCI-H522와 NCI-H529에 대해 항암효과를 나타내었고 항암제 감수성도 상승시키는 효과를 지닌 것으로 나타났다는 홍⁴⁾의 보고가 있었으며, 함 등⁵⁾은 더위지기의 에탄올 추출물과 생즙이 폐암세포 A549에 대해 항암효과를 나타내었다고 보고했다. 최 등⁶⁾은 폐암세포주 A549에 대해 녹차의 catechin이 항암효과를 나타냈다고 보고했으며, 마늘과 양파의 메탄올 추출물과 이들의 혼합물이 폐암세포주 NCI-H522와 NCI-H529에 대해 세포독성을 나타냈음⁷⁾이 보고되었다.

암에 관한 여러 연구에서 가장 일관성 있게 알려진 사실은 매일 신선한 과일과 채소를 섭취함으로써 대부분의 암으로부터 위험을 줄일 수 있다는 것이다^{8~15)}. 과일과 채소에 있는 식이성 섬유질이 대장암에 대해 보호적인 효과가 있었고, ascorbic acid, tocopherol, carotenoids, flavonoids 등은 DNA의 내부적 손상으로 인하여 발암으로 되는 과정을 방해함으로써 보호효과를 가지게 된다고 하였다⁸⁾.

당근(*Docus carota* L.)은 미나리과에 속하는 일년생 초본이며 황적색의 다육질로서 전국 대비 생산량의 50% 이상이 제주도에서 생산되고 있다. 수분이 89% 정도이고 fructose, sucrose, glucose 등의 당질이 함유되어 있어 단맛을 낸다. 독특한 맛과 색을 지닌 당근은 체내에 흡수되어 Vit. A로 전환되는 β -carotene, Vit. B, Vit. C, 식이섬유 등은 물론 철분, 칼슘, 인 등의 무기질을 함유한 알칼리성 식품으로 알려져 있다^{16,17)}.

당근의 영양상 특징은 β -carotene이 많다는 것인데 생당근 100g당 β -carotene이 7620 μ g 들어 있어¹⁸⁾ 채소류 중 가장 많이 함유하고 있다. β -carotene은 여러 연구를 통해 암과 같은 만성질환의 위험 감소와

상관관계를 보인다고 보고되고 있다^{19~30)}. 몇몇 연구들은 혈중 β -carotene의 농도가 낮을수록 또는 식이 β -carotene 섭취량이 적을수록 암 특히 폐암 위험 증가와 상관관계를 나타낸다고 보고했다^{14~17,22,28)}. 그러나 흡연자를 대상으로 한 경우 β -carotene 보충은 폐암 예방효과가 기대처럼 크지 않았다는 보고도 있었다^{31~33)}.

이 등³⁴⁾의 연구에서는 당근 메탄올 추출물이 4-NQO의 살모넬라 돌연변이 유발성을 유의적으로 저해하는 효과를 보였다고 했다. 박 등³⁵⁾은 당근 메탄올 추출물이 MNNG의 살모넬라 돌연변이 유발성을 80% 이상 감소시켰으며, 사람의 위암세포 AZ-521에 대해서는 성장저해효과를 보이지 않았다고 보고했다. 한 등³⁶⁾은 간암세포, 유방암세포, 자궁경부암세포, 신경교종세포 등에 대해 당근의 ethylacetate 추출물이 세포독성을 유의하게 나타냈다고 보고했다.

지금까지의 연구들을 살펴볼 때, 당근의 효능에 관한 연구가 몇몇 있었지만 아직 폐암세포주에 대한 국내외에서의 항암효과 연구는 찾아보기 어려웠다. 이러한 시점에서 본 연구는 *in vitro*에서 MIT assay를 이용하여 인체 폐암세포주 NCI-H1299에 대한 당근 추출물의 항암효과를 검토하여 이 방법의 기초자료를 제공하고 일상에서 섭취하는 식품에 대한 정보를 제시하고자 한다.

II. 실험 내용 및 방법

1. 시 료

1) 당근 생즙

당근(제주산)을 녹즙기로 착즙한 후 10000rpm에서 20분간 원심분리하여 얻은 상등액을 동결건조하였다⁵⁾.

2) 당근 메탄올 추출물

당근을 수세, 정선, 탈수하여 잘게 썰은 후 동결건조시켜서 분말화했다. 당근 분말에 메탄올을 20배 가하여 4시간 동안, 40°C에서 3회 반복 진탕 추출하여 메탄올 추출물을 얻었다. 이 메탄올 추출물을 회전식

진공농축기를 이용 농축하여 매탄올을 완전히 제거한 후 다시 동결건조하였다³⁶⁾.

3) β -Carotene

당근으로부터 추출한 β -carotene을 시그마사(USA)에서 구입하여 사용하였다.

2. 암세포 배양

인체 폐암세포주 NCI-H1299는 한국세포주은행에서 분양받았다.

RPMI 1640(Gibco Laboratories, Life Technologies, Inc.) 조직 배지에 fetal bovine serum (FBS, Gibco Laboratories, Life Technologies, Inc.) 10%를 첨가하고 penicillin과 streptomycin이 각각 10000u/ml와 10mg/ml 섞인 배양액으로 tissue culture flask 75cm² style(T-75 cm² flask)을 사용하여 37°C, 5% CO₂ 세포배양기(CO₂ culture incubator ; Forma Scientific사)에서 배양하였다. 일주일에 2~3회 새로운 배지로 교환하고 trypsin-DTA를 사용하여 6~7일마다 계대배양하면서 실험에 사용하였다³⁷⁾.

3. 암세포 증식 억제 효과 측정

폐암세포주 NCI-H1299를 2×10⁴cells/ml 되게 세포수를 조정하여 96well plate에 분주하고, 24시간동안 배양(37°C, 5% CO₂)한 후 각각 2000, 1000, 500, 250, 100, 50, 25 μ g/ml의 농도로 시료를 처리하였으며 시료를 처리하지 않은 군을 대조군으로 하여 세포생존을 계산에 사용하였다. 시료투여를 한 다음 24시간, 48시간, 72시간, 96시간 동안 배양 후, 세포생존율을 MTT assay로 측정하였다.

MTT assay는 살아있는 세포내 미토콘드리아의 탈수소 효소작용에 의하여 노란색 수용성 MTT tetrazolium을 자주색을 띄는 비수용성의 MTT formazan으로 환원시킨다. Spectrophotometer를 이용하여 590nm에서 흡광도를 측정하는데, 이 흡광도는 MTT가 세포에 의해 formazan으로 분해된 양을 나타내며, 따라서 각 well당 살아있는 세포수와 비례한다³⁸⁾.

MTT assay는 MTT kit를 사용하였는데 MTT (3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyl tetrazolium bro-

mide) 용액을 세포가 있는 각 well당 10 μ l씩 넣고 4시간동안 37°C, 5% CO₂ 세포배양기에서 배양시킨 후 solubilization solution을 100 μ l씩 첨가하여 CO₂ 세포배양기에서 18~20시간동안 배양하였다. 그런 후 multiwell microplate reader(ELISA reader)를 이용하여 590nm에서 흡광도를 측정하였다. 측정된 흡광도로부터 세포 생존율을 구하였다.

Percent of viable cells(%)

$$= \frac{\text{optical density with cytotoxic drug}}{\text{optical density without cytotoxic drug}} \times 100$$

4. IC₅₀(Inhibitory Concentration 50)값 산출³⁸⁾

IC₅₀값은 대조군에 대해 암세포주의 생존율이 50%가 되도록 하는 약물의 농도로 정의된다.

폐암세포주 NCI-H1299에 대한 IC₅₀의 값은 세포생존율로부터 pharmacological calculation program의 quantal prohibit analysis를 이용하여 구하였다.

5. 자료의 처리

각 측정치는 3회 이상 측정된 암세포 생존율의 평균값과 표준오차로 표시하였다. 시료의 농도와 노출 시간에 따른 암세포 생존율은 SAS package를 이용하여 통계 처리하였으며 분산분석(ANOVA)으로 유의차를 검증하고 유의차가 있는 항목에 대해서는 Duncan's multiple range test로 각 군간의 유의차를 검증하였다³⁹⁾.

III. 결과 및 고찰

1. 폐암세포주 NCI-H1299에 대한 당근 생즙의 항암효과

폐암세포주 NCI-H1299에 당근 생즙을 각각 2000, 1000, 500, 250, 100, 50, 25 μ g/ml의 농도로 처리하면서 24, 48, 72, 96시간 동안 배양 후 세포생존율을 비교한 결과는 Table 1과 Fig. 1과 같다.

Table 1에서 나타낸 바와 같이 폐암세포주 NCI-H1299에 대한 당근 생즙의 노출시간에 따른 암세포 생존율을 살펴보면 농도가 2000 μ g/ml의 경우 24시간

Table 1. Viability of the lung cancer cell NCI-H1299 according to the carrot juice exposure time (%)

Hr	Concentration of the carrot juice($\mu\text{g/ml}$)							F-value
	2000	1000	500	250	100	50	25	
24	^A 81.59 ± 1.66	^A 84.91 ± 1.73	^A 91.52 ± 2.20	^A 90.12 ± 3.28	^A 88.17 ± 2.19	^A 84.92 ± 3.86	^A 95.48 ± 2.14	3.38 ^{N.S}
48	^B 41.97 ^c ± 0.91	^B 43.60 ^{bc} ± 2.47	^B 47.33 ^b ± 1.16	^B 43.65 ^{bc} ± 1.25	^B 42.24 ^c ± 1.83	^B 43.65 ^{bc} ± 1.64	^B 56.21 ^a ± 0.86	10.62 ^{***}
72	^C 25.31 ^e ± 0.79	^C 29.54 ^d ± 0.97	^C 30.74 ^{cd} ± 0.78	^C 32.22 ^{bc} ± 1.09	^C 33.82 ^b ± 0.81	^C 34.53 ^b ± 0.57	^C 45.98 ^a ± 0.30	65.08 ^{***}
96	^C 26.40 ^f ± 0.70	^C 28.65 ^e ± 0.71	^C 30.16 ^{de} ± 0.58	^C 31.46 ^d ± 0.53	^C 33.94 ^c ± 0.49	^C 36.30 ^b ± 0.47	^C 48.49 ^a ± 0.40	167.9 ^{***}
F-value	589.05 ^{***}	264.44 ^{***}	466.18 ^{***}	222.56 ^{**}	300.07 ^{***}	123.91 ^{***}	376.99 ^{***}	

N.S : Not Significant, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

1) a,b : Mean with not sharing common superscripts are significantly different (row).

2) A,B : Mean with not sharing common superscripts are significantly different (column).

에 암세포 생존율 81.59%, 48시간에 41.97%, 72시간에 25.31%, 96시간에 26.40%를 나타냈고, 1000 $\mu\text{g/ml}$ 의 경우는 24시간에 84.91%, 48시간에 43.60%, 72시간에 29.54%, 96시간에 28.65%를, 500 $\mu\text{g/ml}$ 의 경우는 24시간에 91.52%, 48시간에 47.33%, 72시간에 30.74%, 96시간에 30.16%를 나타내었다. 250 $\mu\text{g/ml}$ 의 경우는 24시간에 암세포 생존율 90.12%, 48시간에 43.65%, 72시간에 32.22%, 96시간에 31.46%를, 100 $\mu\text{g/ml}$ 의 경우는 24시간에 88.17%, 48시간에 42.24%, 72시간에 33.82%, 96시간에 33.94%를, 50 $\mu\text{g/ml}$ 의 경우는 24시간에 84.92%, 48시간에 43.65%, 72시간에 34.53%, 96시간에 36.30%를, 25 $\mu\text{g/ml}$ 의 경우는 24시간에 95.48%, 48시간에 56.21%, 72시간에 45.98%, 96시간에 48.49%를 나타내었다. 이처럼 당근 생즙은 폐암세포주 NCI-H1299에 대해 24시간에는 모든 농도에서 80% 이상의 암세포 생존율을 나타내었고, 48시간부터 25 $\mu\text{g/ml}$ 을 제외하고는 50% 이하의 암세포 생존율을 보이기 시작하여 72시간 이후 낮은 암세포 생존율을 나타내었으며, 96시간의 경우는 72시간과 유의적으로 비슷한 생존율을 나타내었다($p < 0.001$) (Table 1과 Fig. 1).

당근 생즙의 농도에 따른 암세포 생존율을 비교한 결과, 48시간 이후 25 $\mu\text{g/ml}$ 이상의 모든 농도에서

항암효과를 나타내었다. 72시간의 농도에 따른 암세포 생존율을 비교해 보면, 2000 $\mu\text{g/ml}$ 일 때 암세포 생존율 25.31%, 1000 $\mu\text{g/ml}$ 일 때 29.54%, 500 $\mu\text{g/ml}$ 일 때 30.74%, 250 $\mu\text{g/ml}$ 일 때 32.22%, 100 $\mu\text{g/ml}$ 일 때 33.82%, 50 $\mu\text{g/ml}$ 일 때 34.53%, 25 $\mu\text{g/ml}$ 일 때 45.98%를 나타내었고, 96시간의 경우 2000 $\mu\text{g/ml}$ 일 때 암세포 생존율 26.40%, 1000 $\mu\text{g/ml}$ 일 때 28.65%, 500 $\mu\text{g/ml}$ 일 때 30.16%, 250 $\mu\text{g/ml}$ 일 때 31.46%, 100 $\mu\text{g/ml}$ 일 때 33.94%, 50 $\mu\text{g/ml}$ 일 때 36.30%, 25 $\mu\text{g/ml}$ 일 때 48.49%를 나타내었다. 이처럼 72시간과 96시간

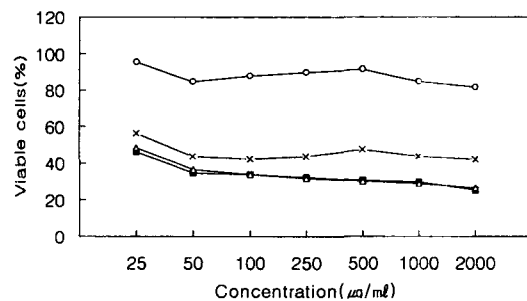


Fig. 1. Survival curves of NCI-H1299 cell according to the elapsed time after exposure at the different carrot juice concentrations.

-○-: 24Hr, -x-: 48Hr, -■-: 72Hr, -△-: 96Hr.

Table 2. IC₅₀ values of NCI-H1299 cell according to the carrot juice exposure time (μg/ml)

Time of exposure(Hr)	IC50
24	6220.6
48	37.4
72	23.1
96	24.3

의 경우 당근 생즙의 농도가 낮아질수록 암세포 생존율이 유의적으로 증가하여 증식억제효과가 감소하는 경향을 보였으나(p<0.001) 농도 변화에 비해 생존율의 변화는 적었다(Table 1과 Fig. 1).

이상의 결과를 종합하면 폐암세포주 NCI-H1299에 대해 당근 생즙은 2000 μg/ml, 72시간일 때 25.31%의 암세포 생존율을 나타내어 가장 강한 증식억제효과를 나타내었으며, 25 μg/ml의 농도에서도 생존율 45.98%로 항암효과를 나타내었다.

IC₅₀값은 Table 2에서 보는 바와 같이 24시간의 경우 6220.6 μg/ml, 48시간의 경우 37.4 μg/ml, 72시간의 경우 23.1 μg/ml, 96시간의 경우 24.3 μg/ml을 나타내었으며 72시간에 23.1 μg/ml으로 가장 작은 값을 나타내었다.

2. 폐암세포주 NCI-H1299에 대한 당근 메탄올 추

출물의 항암효과

당근 메탄올 추출물을 2000, 1000, 500, 250, 100, 50 μg/ml 농도로 폐암세포주 NCI-H1299에 처리하여 24, 48, 72, 96시간 동안 배양한 후의 세포 생존율을 Table 3과 Fig. 2에 제시하였다.

Table 3에서 보는 바와 같이 당근 메탄올 추출물의 노출시간에 따른 암세포 생존율은 농도가 2000 μg/ml 일 경우 24시간일 때 83.05%, 48시간일 때 62.54%, 72시간일 때 52.40%로 시간이 지남에 따라 암세포 생존율이 감소했고 96시간 노출시에는 암세포 생존율이 63.06%로 다시 증가하는 양상을 보였다(p<0.001). 1000 μg/ml일 때는 암세포 생존율이 24시간에 93.48%, 48시간에 75.18%, 72시간에 66.78%, 96시간에 71.85%를, 500 μg/ml일 때는 24시간에 96.12%, 48시간에 82.93%, 72시간에 74.53%, 96시간에 79.99%를, 250 μg/ml일 때는 24시간에 96.22%, 48시간에 88.70%, 72시간에 86.25%, 96시간에 89.51%를 나타내어 72시간까지는 시간이 지남에 따라 암세포 생존율이 감소했으며 96시간에는 72시간과 비슷한 생존율을 보였다. 100 μg/ml일 때는 24시간에 암세포 생존율 97.21%, 48시간에 98.59%, 72시간에 93.26%, 96시간에 91.22%를, 50 μg/ml일 때는 24시간에 90.28%, 48시간에 102.10%, 72시간에 97.99%, 96시간에 93.48%를 나타내었다.(Table 3과 Fig. 2)

Table 3. Viability of lung cancer cell NCI-H1299 according to the carrot methanol-extract exposure time (%)

Hr	Concentration of the carrot methanol-extract(μg/ml)						F-value
	2000	1000	500	250	100	50	
24	^A 83.05 ^b ±1.98	^A 93.48 ^a ±3.08	^A 96.12 ^a ±2.55	^A 96.22 ^a ±1.96	97.21 ^a ±2.80	^C 90.28 ^{ab} ±2.84	4.36**
48	^B 62.54 ^c ±1.70	^B 75.18 ^d ±1.64	^B 82.93 ^c ±1.99	^B 88.70 ^b ±1.41	98.59 ^a ±2.50	^A 102.10 ^a ±1.39	66.64***
72	^C 52.40 ^e ±1.97	^C 66.78 ^d ±1.73	^C 74.53 ^c ±2.22	^B 86.25 ^b ±1.64	93.26 ^a ±1.22	^{AB} 97.99 ^a ±1.59	96.75***
96	^B 63.06 ^d ±1.67	^{BC} 71.85 ^c ±2.06	^{BC} 79.99 ^b ±2.02	^B 89.51 ^a ±1.56	91.22 ^a ±1.64	^{BC} 93.48 ^a ±2.24	41.57***
F-value	47.52***	21.98***	17.29***	6.65**	2.56 ^{NS}	6.08**	

N.S : Not Significant, **p<0.01, ***p<0.001.

1) a,b : Mean with not sharing common superscripts are significantly different (row).

2) A,B : Mean with not sharing common superscripts are significantly different (column).

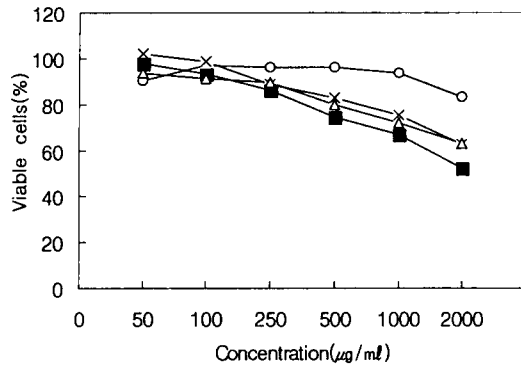


Fig. 2. Survival curves of NCI-H1299 cell according to the elapsed time after exposure at the different carrot methanol-extract concentrations.

-○- : 24Hr, -×- : 48Hr, -■- : 72Hr, -△- : 96Hr.

당근 메탄올 추출물의 농도에 따른 암세포 생존율을 살펴보면 모든 노출시간에 있어 당근 메탄올 추출물의 농도 2000 μg/ml에서 가장 낮은 암세포 생존율을 보여 가장 강한 억제효과를 보였다. 72시간일 때 농도에 따른 암세포 생존율을 보면 2000 μg/ml에서 52.40%, 1000 μg/ml에서 66.78%, 500 μg/ml에서 74.53%, 250 μg/ml에서 86.25%, 100 μg/ml에서 93.26%, 50 μg/ml에서 97.99%를 나타내어 농도가 낮아짐에 따라 생존율은 유의적으로 높아져(p<0.001) 항암효과가 감소하는 경향을 보였다.(Table 3과 Fig. 2)

박 등³⁵⁾은 당근 메탄올 추출물이 위암세포 AZ-521에 대해 저해효과를 보이지 않았다고 보고했고, 한 등³⁶⁾의 연구에서는 당근 메탄올 추출물이 간암, 자궁경부암, 유방암, 난소암, 신경교종, 신경아 세포주에 대해 미약한 세포독성효과를 나타내었다고 보고해서 본 실험결과와 유사한 경향을 보였다.

이상의 결과를 종합하면 당근 메탄올 추출물은 2000 μg/ml, 72시간일 때 가장 낮은 암세포 생존율 52.40%를 나타내었으나 그 항암효과가 미약하였다.

Table 4를 보면 당근 메탄올 추출물의 IC₅₀값은 24시간에 5638.1 μg/ml, 48시간에 2912.0 μg/ml, 72시간에 2157.5 μg/ml, 96시간에 3089.9 μg/ml을 나타내었다.

3. 폐암세포주 NCI-H1299에 대한 β-carotene의 항

Table 4. IC₅₀ values of NCI-H1299 cell according to the carrot methanol-extract exposure time (μg/ml)

Time of exposure(Hr)	IC ₅₀
24	5638.1
48	2912.0
72	2157.5
96	3089.9

암효과

항산화제로 널리 알려져 있는 β-carotene을 시그마사에서 구입하여 2000, 1000, 500, 250, 100, 50 μg/ml 농도로 폐암세포주 NCI-H1299에 처리하여 24, 48, 72, 96시간동안 배양한 후 세포 생존율을 관찰하였다.(Table 5와 Fig. 3)

Table 5와 같이 NCI-H1299 폐암세포주에 대한 β-carotene의 노출시간에 따른 암세포 생존율을 살펴볼 때 농도가 2000 μg/ml일 때 암세포 생존율이 24시간에 45.71%, 48시간에 13.37%, 72시간에 11.64%, 96시간에 10.38%로 나타나 시간이 지남에 따라 암세포 생존율이 유의적으로 감소하여 항암효과가 증가하였다(p<0.001). 1000 μg/ml일 때는 24시간에 67.27%, 48시간에 29.99%, 72시간에 26.12%, 96시간에 24.38%의 암세포 생존율을 나타내었다.(Table 5와 Fig. 3)

β-carotene의 농도에 따른 암세포 생존율을 비교해 보면(Table 5와 Fig. 3) 농도가 낮아질수록 암세포 생존율이 증가하여 항암효과가 감소하는 경향을 보였다. 24시간일 때 농도에 따른 암세포 생존율을 비교해 보면 2000 μg/ml에서 45.71%, 1000 μg/ml에서 67.27%, 500 μg/ml에서 78.65%, 250 μg/ml에서 85.61%, 100 μg/ml에서 93.02%, 50 μg/ml에서 110.67%를 나타내었고, 48시간일 때는 2000 μg/ml에서 13.37%, 1000 μg/ml에서 29.99%, 500 μg/ml에서 66.74%, 250 μg/ml에서 92.56%, 100 μg/ml에서 98.75%, 50 μg/ml에서 104.03%를 나타내었다. 72시간일 때 농도에 따른 암세포 생존율은 2000 μg/ml에서 11.64%, 1000 μg/ml에서 26.12%, 500 μg/ml에서 64.78%, 250 μg/ml에서 91.60%, 100 μg/ml에서 97.88%, 50 μg/ml에서 101.16%로 나타났고, 96시간일 때는 2000 μg/ml에서 10.38%, 1000 μg/ml에서 24.38%, 500 μg/ml에서 75.70%, 250 μg/ml에서 100.28%, 100 μg/ml에서 103.05%,

Table 5. Viability of lung cancer cell NCI-H1299 according to the β -carotene exposure time (%)

Hr	Concentration of the β -carotene ($\mu\text{g/ml}$)						F-value
	2000	1000	500	250	100	50	
24	^A 45.71 ^f ± 0.30	^A 67.27 ^e ± 2.59	78.65 ^d ± 2.77	^B 85.61 ^c ± 1.31	93.02 ^b ± 3.05	110.67 ^a ± 1.23	110.22***
48	^B 13.37 ^d ± 0.23	^B 29.99 ^c ± 0.19	66.74 ^b ± 1.44	^B 92.56 ^a ± 2.27	98.75 ^a ± 5.78	104.03 ^a ± 8.60	76.12***
72	^C 11.64 ^d ± 0.63	^B 26.12 ^c ± 2.30	64.78 ^b ± 3.24	^B 91.60 ^a ± 2.91	97.88 ^a ± 4.96	101.16 ^a ± 2.97	153.79***
96	^D 10.38 ^d ± 0.16	^B 24.38 ^c ± 2.01	75.70 ^b ± 5.39	^A 100.28 ^a ± 1.29	103.05 ^a ± 3.10	104.21 ^a ± 2.98	199.22***
F-value	2031.45***	103.08***	3.69 ^{N.S.}	8.51**	0.88 ^{N.S.}	0.69 ^{N.S.}	

N.S : Not Significant, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

1) a,b : Mean with not sharing common superscripts are significantly different (row).

2) A,B : Mean with not sharing common superscripts are significantly different (column).

50 $\mu\text{g/ml}$ 에서 104.21%로 나타나 농도가 낮아짐에 따라 암세포 생존율이 유의적으로 증가했다($p < 0.001$).

폐암세포주 NCI-H1299에 대하여 β -carotene은 2000 $\mu\text{g/ml}$ 과 1000 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 유의적으로 낮은 암세포 생존율을 나타내었고 2000 $\mu\text{g/ml}$ 에서는 노출 24시간부터, 1000 $\mu\text{g/ml}$ 에서는 노출 48시간부터 낮은 생존율을 보이며 암세포 증식억제효과를 나타내었다.

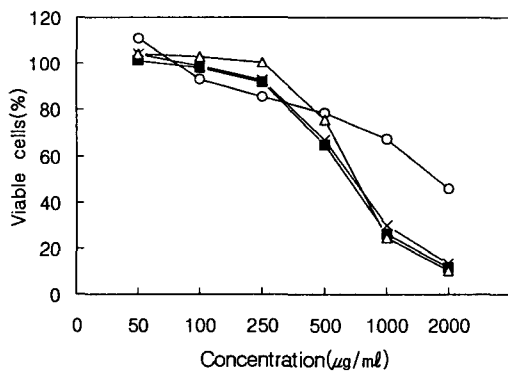


Fig. 3. Survival curves of NCI-H1299 cell according to the elapsed time after exposure at the different β -carotene concentrations.

-○-: 24Hr, -×-: 48Hr, -■-: 72Hr, -△-: 96Hr.

Table 6을 보면 IC_{50} 값이 24시간일 때 1801.0 $\mu\text{g/ml}$, 48시간일 때 727.8 $\mu\text{g/ml}$, 72시간일 때 691.2 $\mu\text{g/ml}$, 96시간일 때 750.4 $\mu\text{g/ml}$ 을 나타내었으며 72시간에 691.2 $\mu\text{g/ml}$ 으로 가장 낮은 값을 나타내었다.

이상의 결과를 종합해 볼 때 인체 폐암세포주 NCI-H1299에 대해서 당근 생즙은 25 $\mu\text{g/ml}$ 의 저농도에서, β -carotene은 1000 $\mu\text{g/ml}$ 이상의 고농도에서 항암효과가 나타났으며 메탄올 추출물은 2000 $\mu\text{g/ml}$ 의 고농도에서도 항암효과가 미약하였다. 당근 생즙과 β -carotene이 동일 농도일 때 당근 생즙은 그 성분 중 β -carotene의 양이 아주 적은데도 높은 항암효과를 나타내었고, 50 $\mu\text{g/ml}$ 의 저농도에서는 당근 생즙이 β -carotene보다 높은 항암효과를 나타내었다. 이러한 결과로 대표적 항산화 활성물질로서 널리 알려진 β -carotene 이외에 당근 내의 다른 물질도 암세포 성장억제에 대해 활성효과가 있으리라 유추할 수 있었다. 한 등³⁶⁾의 연구에서 인체 간암세포, 자궁경부암세포, 신경교종 세포, 신경 아세포 등에 대해 당근의 ethylacetate추출물이 높은 세포독성효과를 보인 데 비해 β -carotene은 세포독성효과가 미약하였다고 보고하여 본 연구와 세포주는 다르나 유사한 결과를 보였다.

Lampe¹⁴⁾와 Pryor 등¹⁵⁾은 채소와 과일이 비타민, 무

Table 6. IC₅₀ values of NCI-H1299 cell according to the β -carotene exposure time (μ g/ml)

Time of exposure(Hr)	IC ₅₀
24	1801.0
48	727.8
72	691.2
96	750.4

기질,식이섬유 및 다른 종류의 많은 생리활성물질의 풍부한 급원이며 이 물질들은 면역계 자극, 콜레스테롤 합성과 호르몬 대사 조절, 혈압 강하, 항산화 효과 등의 작용을 상호 보완할 수 있다고 했다. 이와 같이 당근 생즙 중의 여러 성분들도 항암작용을 상호 보완해서 높은 항암활성을 나타내었을 것으로 예상된다.

본 연구는 *in vitro*상의 결과이므로 생체 내 실험을 통하여 그 효과를 증명하여야 할 것이며 당근의 항암기전, 구체적 성분 검색 등의 후속연구가 필요하다고 사료된다.

IV. 요약 및 결론

인체 폐암세포주 NCI-H1299에 대한 당근 생즙과 메탄올 추출물 및 β -carotene의 항암효과를 알아보기 위해 *in vitro*에서 MTT assay를 통해 조사한 결과는 다음과 같다.

폐암세포주 NCI-H1299에 대한 당근 생즙의 항암 효과는 투여 후 48시간부터 50% 이하의 생존율을 보이기 시작하여 72시간 이후 낮은 생존율을 보였고 96시간까지 효과가 지속되었다. 72시간일 때 2000 μ g/ml에서 25.31%의 생존율로 가장 강한 증식억제효과를 나타내었으며 25 μ g/ml의 농도에서도 생존율 45.98%로 항암효과를 나타내었다. IC₅₀값은 72시간일 때 23.1 μ g/ml을 나타내었다.

당근 메탄올 추출물은 2000 μ g/ml, 72시간일 때 52.40%의 암세포 생존율을 나타내었다.

β -carotene은 1000 μ g/ml의 농도일 때 48시간 경과 후에 29.99%의 암세포 생존율을 나타내었다. IC₅₀값은 72시간일 때 691.2 μ g/ml을 나타내었다.

이상의 결과를 종합해 볼 때 인체 폐암세포주 NCI-H1299에 대해서 당근 생즙은 25 μ g/ml의 저농도에서, β -carotene은 1000 μ g/ml이상의 고농도에서 항암효과가 나타났으며 메탄올 추출물은 2000 μ g/ml의 고농도에서도 항암효과가 미약하였다.

본 연구는 인체 폐암세포주 NCI-H1299에 대한 *in vitro*상의 결과이므로 당근의 항암효과를 검증하기 위해서는 다른 세포주에 대한 증식억제작용, 생체 내 실험(*in vivo*)을 통한 항암효과 증명, 항암작용 기전, 구체적인 성분 검색 등의 후속연구가 필요하다고 사료된다.

V. 문헌

1. Health Anual : Health newspaper, 1999.
2. Health Anual : Health newspaper, 2000.
3. Health and welfare statistics: ministry of health and social welfare, 1999.
4. Hong, J. Y. : Antitumor effect and the change of chemosensitivity of chitosan in human lung cancer cell line, Chung-Ang University M. S thesis, 1997.
5. Ham, S. H., Chung, C. K., Lee, J. H., Choi, K. P., Jung, S. W. and Kim, E. J.: Antimutagenicity and Cytotoxicity of *Artemisia iwayomogi* Kitamura Extracts., Korean J. of Food Science and Nutrition, 27(1):157-162, 1998.
6. Choe, W. K., Park, J. H., Kim, S. H., Lee, D. Y. and Lee, Y. C.: Antitumor Effects of Green Tea Catechin on Different Cancer Cells, The Korean J. of Nutrition, 37(7):838-843, 1999.
7. Han, J. H.: Study on anti-tumor effect of garlic and onion extract in the lung cancer cell lines. Chung-Ang University M. S thesis, 1999.
8. Ekhar E. Ziegler, L. J. Filer, JR. : Present knowledge in nutrition · 7th edi., The Korean Nutrition Society, 1998.
9. Maurice E. Shils, James A. Olson and Moshe Shike : Modern nutrition in health and disease · 8th edi., Lea & Febiger, 1994.

10. Colditz, G. A., Branch, L. G., Lipnick, R. J., Willet, W. C., Rosner, B., Posner, B. M. and Hennekens, C. H. : Increased green and yellow vegetable intake and lowered cancer deaths in an elderly population, *Am. J. Clin. Nutr.* 41:32-36, 1985.
11. Willett, W. C. : Micronutrients and cancer risk, *Am. J. Clin. Nutr.* 59:1162-1165, 1994.
12. Tavani, A. and La Vecchia, C. : Fruit and vegetable consumption and cancer risk in a Mediterranean population, *Am. J. Clin. Nutr.* 61:1374-1377, 1995.
13. Dale A. Cooper, Alison L. Eldridge, and John C. Peters : Dietary carotenoids and certain cancers, heart disease, and age-related macular degeneration: a review of recent research, *Nutrition Reviews*, 57:7:201-214, 1999.
14. Johanna W Lampe : Health effects of vegetables and fruit : assessing mechanisms of action in human experimental studies, *Am. J. Clin. Nutr.* 70: 475-490, 1999.
15. William A. Pryor, Wilhelm Stahl and Cheryl L. Rock : Beta Carotene : From Biochemistry to Clinical Trials, *Nutrition Reviews*, 58:2:39-53, 2000.
16. Yu, D. J.: Food Dongaebogam of Dr. Y, academy-book, 2000.
17. Jang, H. G.: Food Information For Health Of Human, Sinkwang, 1999.
18. Rural Development Administration, Food Analysis Table, 1996.
19. Hannes B Stahelin, K Fred Gey, Monika Eichholzer and Eric Ludin : β -Carotene and cancer prevention : the Basel Study, *Am. J. Clin. Nutr.* 53:265- 269, 1991.
20. Regina G Ziegler : Vegetables, fruits, and carotenoids and the risk of cancer, *Am. J. Clin. Nutr.* 53:251-259, 1991.
21. George W Comstock, Kathy J Helzlsouer and Trudy L Bush : Prediagnostic serum levels of carotenoids and vitamin E as related to subsequent cancer in Washington County, Maryland, *Am. J. Clin. Nutr.* 53:260-264, 1991.
22. Lawrence J. Machlin : Handbook of vitamins · 2nd edi., rev. and expanded, Marcel Dekker, Inc., 1991.
23. Geert van Poppel and R. Alexandra Goldbohm : Epidemiologic evidence for β -carotene and cancer prevention, *Am. J. Clin. Nutr.* 62(suppl):1393-1402, 1995.
24. Eva Negri, Carlo La Vecchia., Silvia Franceschi., Fabio Levi and Fabio Parazzini : Intake of selected micronutrients and the risk of endometrial carcinoma, *Cancer.* 77:5:917-923, 1996.
25. BarBara D'Avanzo., Elaine Ron., Carlo La Vecchia., Silvia Franceschi., Eva Negri and Regina Ziegler : Selected micronutrient intake and thyroid carcinoma risk, *Cancer.* 79:11: 2186-2192, 1997.
26. Biological Functions and Production Technology of Carotenoids. *Korean J. of Food Science and Nutrition*, 26(6):1297-1306, 1998.
27. Nancy R. Cook, Meir J. Stampfer, Jing Ma, JoAnn E. Manson, Frank M. Sacks, Julie E. Buring and Charles H. Hennekens : β -Carotene supplementation for patients with low baseline levels and decreased risks of total and prostate carcinoma, *Cancer.* 86:9:1783-1792, 1999.
28. Demetrius Albanes : β -Carotene and lung cancer : a case study, *Am. J. Clin. Nutr.* 69:1345-1350, 1999.
29. Steven K. Clinton : The dietary antioxidant network and prostate carcinoma, *Cancer.* 86:9:1629-1631, 1999.
30. Dominique S Michaud, Diane Feskanich, Eric B Rimm, Graham A Colditz, Frank E Speizer, Walter C Willett and Edward Giovannucci : Intake of specific carotenoids and risk of lung cancer in 2 prospective US cohorts, *Am. J. Clin. Nutr.* 72:990-997, 2000.
31. Heinonen, O. P., Huttunen, J. K., Albanes, D., et al. : The effect of vitamin E and beta-carotene on

- the incidence of lung cancer and other cancers in male smokers, *N. Engl. J. Med.*, 330:1029-1035, 1994.
32. Omenn, G. S., Goodman, G. E., Thornquist, M. D., et al. : Effects of a combination of beta carotene and vitamin A on lung cancer and cardiovascular disease, *N. Engl. J. Med.*, 334:1150-1155, 1996.
33. Hennekens, C. H., Buring, J. E., Manson, J. E., et al. : Lack of effect of long term supplementation with beta carotene on the incidence of malignant neoplasms and cardiovascular disease, *N. Engl. J. Med.*, 334:1145-1149, 1996.
34. Kyeoung-Im Lee, Kun-Young Park and Sook-Hee Rhee : Antimutagenic Effect of Green-Yellow Vegetables toward Aflatoxin B₁ and 4-Nitroquinoline-1-oxide, *J. Korean Soc. Food Nutr.* 21(2), 143-148, 1992.
35. Kun-Young Park, Kyeoung-Im Lee and Sook-Hee Rhee : Inhibitory Effect of Green-Yellow Vegetables on the Mutagenicity in Salmonella Assay System and on the Growth of AZ-521 Human Gastric Cancer Cells, *J. Korean Soc. Food Nutr.* 21(2), 149-153, 1992.
36. Han, Eun-Joo, Roh, Sung-Bae and Bae, Song-Ja : Cytotoxicity of *Daucus carota* L. on Various Cancer Cells, *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 29(1), 153- 160, 2000.
37. Kim, E. H. : Cell Technology Theory, Kyoungmunsa, 1999.
38. Korean Cell Line Bank, The 1th Korean Cell Line Research Workshop, Cancer Research Institute Seoul National University College of Medicine, 1998.
39. Lee, S. W.: Comprehension of Statistics, Free Academybook, 1996.