

족제비싸리 부위별 추출물의 항암 및 면역활성

김정화* · 김대호* · 유진현* · 권민철* · 이현정** · 이학주** · 이현용*†

*강원대학교 바이오산업공학부, **국립산림과학원

Anticancer and Immune Activities of the Extracts from *Amorpha fruticosa* L.

Jung Hwa Kim*, Dae Ho Kim*, Jin Hyun You*, Min Chul Kwon*,
Hyun Jung Lee**, Hak Ju Lee**, and Hyeon Yong Lee*†

*School of Biotechnology & Bioengineering, Kangwon Natl. Univ., Chunchon 200-701, Korea.

**Lab. of Natural Products Chemistry, Korea Forestry Research Institute, Seoul 130-012, Korea.

ABSTRACT : This study was performed to experiment about useful biological activities of the parts of the extracts from *Amorpha fruticosa* LINNE. Experimental studies were progressed through the anticancer activities and immune activities such as cell cytotoxicity, inhibition activities of cell growth, cell growth of human B and T cell, productivity of cytokines and natural killer cell activities. The cell cytotoxicity using human Lung normal cell (HEL299) was showed cytotoxicity of below 22% by extracts of *Amorpha fruticosa* L. in 1.0 g/l concentration. The anticancer activities were increased in over 70% by roots extracts of *Amorpha fruticosa* L. in A549 and AGS cells. The immune cell growth using human immune B and T cells was increased against control by barks extracts of *Amorpha fruticosa* L. The secretion of cytokines (IL-6, TNF- α) from human immune B and T cells was showed secretion of the amount of cytokines by roots extracts of *Amorpha fruticosa* L. Also NK cell growth was increased against control all of the extracts of *Amorpha fruticosa* L. From the results, the roots and barks extracts of *Amorpha fruticosa* L. were showed useful biological activities.

Key words : *Amorpha fruticosa* LINNE., biological activity, anticancer activity, immune activity, cytokine, NK cell

서 언

족제비싸리 (*Amorpha fruticosa* L.)는 장미목 콩과의 낙엽 관목으로 북미원산으로 우리나라에 1930년경 도입되어 전국의 사방지 (砂防地), 황폐지 (荒廢地)복구 등의 목적으로 심고 있다. 높이는 3 m 내외로 나뭇가지에 털이 있으나 점점 없어 지고, 내공해성, 내염성이 강하고 생장이 빠르다. 내한성이 강 하여 전국 어디서나 식재 (植栽) 가능하고 건조 (乾燥)에도 강 한 습성을 가지고 있다 (Ko, 1991; Choi, 1984). 족제비싸리의 추출물에 대한 관심은 이미 1960년대부터 시작되어 그동안 다수의 물질들이 새롭게 발견되었다. 족제비싸리의 성분으 로는 종자의 지방산조성은 linoleic, oleic, palmitic, stearic acid로 구성되어 있다고 보고되어 있고 (Wang *et al.*, 1974; Lee *et al.*, 1977), 족제비싸리 뿌리로부터는 prenylated flavanone류의 isoamoritin이 함유되어 있다는 것이 보고되고 있다 (Ohyama *et al.*, 1997). 족제비싸리 열매로부터는 flavonoid glycoside계 화합물 1가지, ester계 화합물 1가지, rotenoids계 화합물 2가지가 발견되었다고 보고되어 있다 (Lee

et al., 2003). 또한 족제비싸리로부터 분리한 세포독성 성분인 3개의 isoflavones와 5개의 rotenoids가 함유되어 있다는 것이 보고되어 있다 (Li *et al.*, 1993). 이렇게 유용한 성분을 함유 하고 있는데 반해 족제비싸리는 주로 사방공사용이나 황폐지 복구에 주로 사용되고 있고, 이에 대한 생리활성에 관한 연구 는 거의 없는 실정이기 때문에 이러한 족제비 싸리를 이용하여 유용 생리활성 물질에 대한 연구가 필요하다.

따라서 본 연구는 족제비 싸리의 열매, 수피, 목부, 뿌리, 잎 의 각 부위별 추출성분을 이용하여 유용한 생리활성을 탐색하 고, 이러한 생리활성 검증을 통하여 이들의 면역 증진제로서 의 가능성을 부여하고, 더 나아가 본 연구 자료들이 기능성 식품에 관련된 분야에 바탕 자료로서 가치를 지니게 하기 위 해 본 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

1. 재 료

본 실험에 사용된 족제비싸리는 경상남도 하동군 진교면 남

†Corresponding author: (Phone) +82-33-250-6455 (E-mail) hyeonl@kangwon.ac.kr
Received December 21, 2004 / Accepted February 19, 2005

해고속도로 변에서 10~15년생 죽제비싸리를 부위별로 채취하여 사용하였다. 열매는 2001년 11월에 채취하였으며, 수피, 목부, 잎, 뿌리는 2003년 6월에 각각 2회에 걸쳐 채취하였다. 이것을 이용하여 MeOH (methanol)와 EtOH (ethanol)을 이용하여 추출하여 사용하였다. 뿌리는 EtOH를 이용하였고 나머지는 MeOH를 이용하여 재료를 실온에서 음건 시킨 후 분쇄기로 분말화하여 각 용매를 이용하여 실온에서 72시간 동안 침적시켜 추출하였으며, 이 조작을 3회 반복하여 얻어진 추출물을 실험에 이용하였다. 죽제비싸리의 열매, 수피, 목부, 잎, 뿌리의 조추출을 약자로 표시하였다. 죽제비싸리의 학명인 *Amorpha fruticosa* L.의 A를 가장 앞에 표시하고, 그 뒤에 열매 (fruit)는 F, 수피 (bark)는 B, 목부 (wood)는 W, 잎 (leaf)은 L 그리고 뿌리 (root)는 R을 붙여 그 부위별 표시를 확실하게 하였다. 즉, 죽제비싸리 열매는 AF, 수피는 AB, 목부는 AW, 잎은 AL, 뿌리는 AR의 약자로 나타내었다.

2. 시 약

세포배양에 필요한 배지로 RPMI 1640과 Alpha minimum essential medium (α -MEM)은 GIBCO (USA)로부터 구입하였고, HEPES buffer는 SIGMA (USA)에서 구입하였다. 혈청은 GIBCO (USA)사의 fetal bovine serum과 horse serum을 이용하였고 gentamycin sulfate, trypsin-EDTA는 Sigma사의 것을 사용하였다. 세포염색을 위해서는 sulforhodamine B (SRB)는 Sigma사로부터 구입하여 실험에 사용하였다.

3. 세포주 및 세포 생육 배지

실험에 이용된 세포주는 암세포로 인간 폐암세포인 A549 (Lung carcinoma, human, ATCC, USA), 인간 위암세포인 AGS (stomach adenocarcinoma, human, ATCC, USA)를 사용하였고 시료 자체의 세포 독성을 알아보기 위한 정상세포로는 인간 폐세포인 HEL299 (Lung normal, human, ATCC, USA)를 사용하였다. 면역세포 생육 증진 효과에 이용된 면역세포로는 T cell (Jurkat, ATCC, USA)와 B cell (Raji, ATCC, USA)을 실험에 사용하였고, NK cell 활성 측정에 이용된 세포는 NK-cell (NK-92MI cell, ATCC, USA)을 사용하였다. 실험에 사용된 암세포와 정상세포, 면역세포는 RPMI 1640 배지에 10% heating-inactivated FBS를 첨가시켜 배양하였고, NK-cell은 α -MEM배지에 2 mM L-glutamine, 0.2 mM myoinositol, 20 mM folic acid, 10-4M2-mercaptoethanol, 12.5% fetal bovine serum (FBS)와 12.5% horse serum (Myelocult)을 첨가시켜 배양하였다.

4. Cytotoxicity 측정 및 항암 활성 측정

SRB (sulforhodamine B) assay (Doll & Peto, 1981)는 세포 단백질을 염색하여 세포의 증식이나 독성을 측정하는 방법으로 실험에 사용된 세포주로는 인간 정상 폐세포인 HEL299

(Lung normal)를 이용하여 세포독성을 측정하였고, 인간 폐암 세포인 A549 (Lung carcinoma)와 인간 위암세포인 AGS (stomach adenocarcinoma)를 이용하여 항암 활성을 측정하였다. 실험 대상 세포의 농도를 $4\sim5 \times 10^4$ cells/ml로 96 well plate의 각 well에 100 μ l씩 첨가하여 24시간 동안 배양 (37°C, 5% CO₂)한 후, 각각의 시료를 최종농도 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 g/l로 100 μ l씩 첨가하여 48시간 배양하였다. 배양이 완료된 후에 상등액을 제거하고 차가운 10% (w/v) TCA (trichloroacetic acid) 100 μ l를 가하여 4°C에서 1시간동안 방치한 후 증류수로 4~5회 세척하여 TCA를 제거하고 실온에서 plate를 건조한 뒤 각 well에 1% (v/v) acetic acid에 녹인 0.4% (w/v) SRB용액을 100 μ l씩 첨가하고 상온에서 30분 동안 염색시켰다. 결합되지 않은 SRB 염색액은 1% acetic acid로 4~5회 정도 세척, 건조시킨 후에 10 mM Tris buffer 100 μ l를 첨가하여 염색액을 녹여낸 후 540 nm에서 microplate reader (Molecular Devices, THERMO max, USA)를 이용하여 흡광도를 측정하였다.

Selectivity 측정은 SRB assay를 이용하여 정상세포 (HEL299)에 대한 각 sample 농도에서 세포독성을 측정하고, SRB assay를 이용하여 각 암세포주의 생육 억제 활성을 측정한 후 각 농도에서의 세포 독성에 대한 암세포 생육 억제 활성의 비로 selectivity를 계산한다.

$$Selectivity = \frac{\text{암세포생육억제활성}}{\text{정상세포독성}}$$

5. 면역세포 생육 증진 효과 및 cytokine 분비량 측정

면역 기능 증강 효과는 인간 면역 세포인 T cell (Jurkat)과 B cell (Raji)을 이용하여 검증하였다. 세포의 생육은 10% FBS를 함유하는 RPMI 1640 배지에서 5% CO₂, 37°C에서 배양하였으며, 면역 기능 증강 효과는 24 well plate에 세포를 1.0×10^4 cells/ml의 농도로 조절한 후 시료를 투여하여 8일 동안 배양하면서 매일매일 각 well의 cell을 hemacytometer로 세포 수를 측정하여 생육 증강도를 측정하는 방법을 사용하였다 (Lee *et al.*, 2002).

Cytokine은 IL-6와 TNF- α 의 정량을 Chemicon (USA)사의 IL-6와 TNF- α 정량 kit를 사용하여 측정하였다. 세포의 농도를 $1\sim2 \times 10^4$ cells/ml의 농도로 조절한 후 24 well plate에 900 μ l씩 첨가하여 24시간 동안 배양 (37°C, 5% CO₂)시킨 후 시료의 최종농도를 0.5 g/l로 100 μ l씩 첨가하여 다시 배양 (37°C, 5% CO₂)하였다. 배양매지를 원심분리기를 이용하여 상등액을 취한 다음 450 nm에서 microplate reader를 이용하여 흡광도를 측정하여 얻어진 O.D값을 표준물질을 이용해 작성한 표준곡선과 비교하여 cytokine의 양을 측정하였다 (Oh, 1991; Han *et al.*, 1998).

6. NK-cell의 면역증진 효과

ATCC로부터 분양 받은 NK-92MI cell을 α -MEM배지에 2

mM L-glutamine, 0.2 mM myoinositol, 20 mM folic acid, 10-4M2-mercaptoethanol, 12.5% fetal bovine serum (FBS)와 12.5% horse serum (Myelocult)에 2×10^7 cells/ml의 농도로 희석시켜 이용하였다.

인간 T세포와 B세포를 T-25 Flask에 배양하면서 sample을 투여한 후 증식정도를 관찰하면서 3~4번의 계대 배양 후 세포를 원심분리하여 상층액을 취하였다. NK-92MI cell을 24well plate에 $4 \sim 5 \times 10^4$ cells/ml로 900 μ l씩 분주하고 24시간 후 T세포와 B세포의 상층액을 각 plate에 100 μ l씩 투여하여 배양 48시간 후 6일 동안 NK-92MI cell의 활성도를 cell counter를 이용하여 생세포수를 이용하여 NK-92MI cell의 활성도를 측정한다 (Yueran *et al.*, 2003; Cedilia 2002).

결과 및 고찰

1. Cytotoxicity 측정 및 항암 활성 측정 결과

인간 정상세포에 대한 세포독성 실험은 인간 정상 폐세포 (HEL299)를 사용하여 세포독성효과 실험을 수행하였고, 항암 효과 실험에는 인간 폐암세포인 A549와 위암세포인 AGS에 대한 생육 저해능을 알아보았다. 분석방법으로는 sulforhodamine B assay인 SRB방법을 사용하여 세포독성과 항암효과를 분석하였다. 그리고 각 농도에서 정상세포에 대한 암세포의 생육 억제활성의 비를 나타내는 선택적 사멸도 (selectivity)를 구하였다. 이 실험에 사용된 시료의 농도는 각각 0.2 g/l에서 1.0 g/l 까지 각 농도별로 투여하여 실험하였다.

Fig. 1은 인간 정상 폐세포인 HEL299에 대한 세포독성효과를 나타낸 것으로, 모든 시료에서 농도 의존적으로 증가하는 것을 확인하였다. 특히 AR의 경우 1.0 g/l의 농도에서 22.2%로 가장 높은 세포독성을 나타내었고, AW와 AB가 1.0 g/l의 농도에서 각각 16.6%, 16%의 비교적 낮은 세포독성을 나타내었다.

Fig. 2는 인간 폐암 세포인 A549에 대한 생육억제 활성 및

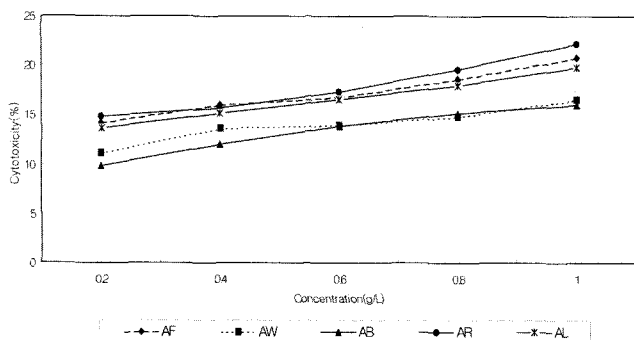


Fig. 1. Cytotoxicity of the crude extracts from *Amorpha fruticosa* L. on normal cell line, HEL299 (AF : Fruits of *Amorpha fruticosa* L., AW : Woods of *Amorpha fruticosa* L., AB : Barks of *Amorpha fruticosa* L., AR : Roots of *Amorpha fruticosa* L., AL : Leaves of *Amorpha fruticosa* L.).

선택적 사멸도를 나타낸 것이다. 억제활성의 경우 대부분의 시료에서 농도 의존적으로 증가하는 것으로 나타났으며, 낮은 농도에서는 열매, 뿌리, 잎이 높은 활성을 나타내는 반면 농도가 높아질수록 수피도 높은 활성을 나타내었다. 선택적 사멸도는 모든 추출물에서 1~5 사이로 나타났고, AL이 0.4 g/l에서 4.5로 가장 좋은 암세포에 대한 생육 억제활성을 나타내었다. 선택적 사멸도는 보통 1.5이상일 때 암세포에 대한 선택성이 있어 암세포의 생육을 억제한다고 할 수 있다.

Fig. 3은 인간 위암세포인 AGS의 각 시료에 대한 생육 억제활성 및 선택적 사멸도를 나타낸 것이다. 암세포에 대한 생육 억제활성은 시료의 농도 의존적으로 증가하는 것으로 나타났으며, 뿌리가 70% 정도의 높은 억제 활성을 나타내었다. AGS에서의 선택적 사멸도도 1~5 사이에 있으며 대체적으로 선택성이 좋은 것으로 나타났다. 이상의 결과를 살펴보면 족제비싸리는 인간 정상세포에 세포 독성은 낮은 경향을 나타내

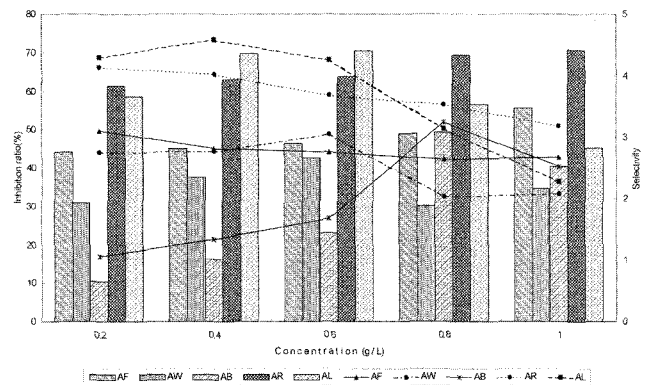


Fig. 2. Inhibition ratio of growth of A549 (bar chart, %) and selectivity (scatter line) in adding the crude extracts from *Amorpha fruticosa* L. (AF : Fruits of *Amorpha fruticosa* L., AW : Woods of *Amorpha fruticosa* L., AB : Barks of *Amorpha fruticosa* L., AR : Roots of *Amorpha fruticosa* L., AL : Leaves of *Amorpha fruticosa* L.).

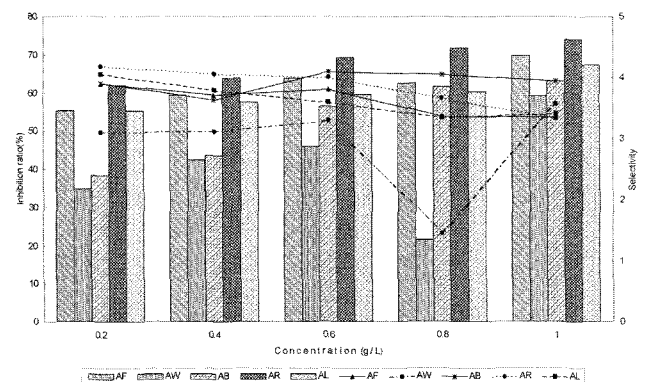


Fig. 3. Inhibition ratio of growth of AGS (bar chart, %) and selectivity (scatter line) in adding the crude extracts from *Amorpha fruticosa* L. (AF : Fruits of *Amorpha fruticosa* L., AW : Woods of *Amorpha fruticosa* L., AB : Barks of *Amorpha fruticosa* L., AR : Roots of *Amorpha fruticosa* L., AL : Leaves of *Amorpha fruticosa* L.).

었고, 암세포에 대한 생육억제활성은 죽제비싸리의 열매와 뿌리 그리고 잎에서 억제활성이 가장 좋았으며 암세포에 대한 선택성도 좋은 것으로 나타나 위의 세 가지 성분에서 항암 활성에 대한 성분을 함유하고 있는 것으로 사료된다.

2. 면역세포 생육 증진 효과

인간의 면역체계에서 중요한 역할을 하는 면역세포인 B 세포와 T세포에 대하여 면역 증진 효과를 확인하기 위하여 면역세포의 생육 촉진 효과를 생육도를 통하여 측정하였다. T-cell 생육도의 경우 시료 투여 후 전체적으로 6일을 최고점으로 증가하다가 그 이후 감소하는 것을 알 수가 있었다. 그 중 가장 높은 활성을 나타낸 조추출물의 경우 6일에 7.5×10^4 cells/ml 으로 시료 첨가하지 않은 대조구가 5.5×10^4 cells/ml 보다 대략 30% 정도 T-cell의 생육을 더 증가시키는 것으로 나타났다(Fig. 4).

B-cell 생육도의 경우 T-cell 생육도와 유사한 모습을 보여주었으나, B-cell의 경우 시료 첨가후 5일째까지 증가하다가 이후 감소하는 것을 볼 수가 있었다. 최대 생육도를 나타내는 5일째 수피의 생육도는 4.5×10^4 cells/ml로 대조구의 3×10^4 cells/ml로 약 1.5배 정도 생육도를 증가시키는 것으로 나타났다. 그리고 대부분의 다른 부위의 추출물에서 대조구에 비해 약간의 생육도가 증가하는 것을 확인할 수 있었다 (Fig. 5). 이상의 결과로 미루어 보아 죽제비싸리 수피에서 면역세포의 생육에 영향을 미치는 성분을 함유하고 있는 것으로 사료된다.

3. Cytokine 분비 증진 효과

Table 1은 인간 면역세포의 생육 증강도를 뒷받침할 수 있는 자료로서 면역 세포들이 분비하는 cytokine과 면역세포의 수를 측정된 결과를 나타낸 것이다. 먼저 각 시료에 대한 cell density는 앞에서 나타난 결과로서 모든 시료에서 배양시간의

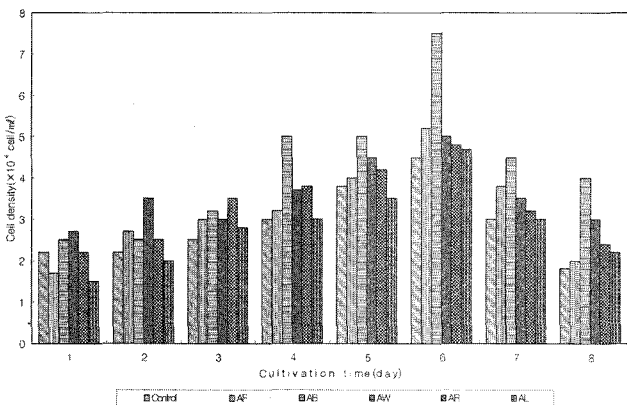


Fig. 4. The cell growth of T cells by adding *Amorpha fruticosa* L. extracts (0.5 g/l) and no adding sample (AF : Fruits of *Amorpha fruticosa* L., AB : Barks of *Amorpha fruticosa* L., AW : Woods of *Amorpha fruticosa* L., AR : Roots of *Amorpha fruticosa* L., AL : Leaves of *Amorpha fruticosa* L.).

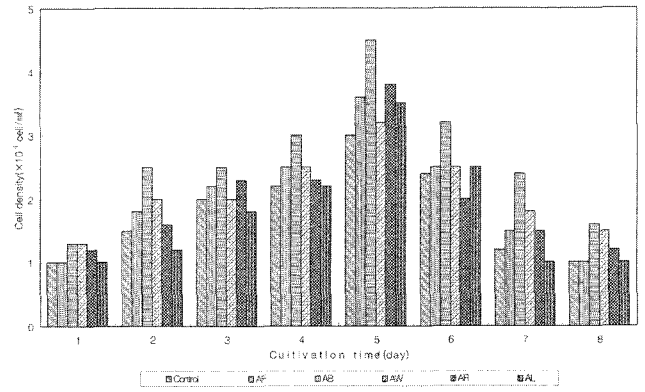


Fig. 5. The cell growth of B cells by adding *Amorpha fruticosa* L. extracts (0.5 g/l) and no adding sample (AF : Fruits of *Amorpha fruticosa* L., AB : Barks of *Amorpha fruticosa* L., AW : Woods of *Amorpha fruticosa* L., AR : Roots of *Amorpha fruticosa* L., AL : Leaves of *Amorpha fruticosa* L.).

존적으로 세포농도가 증가하는 것을 보여주었으며 B cell은 배양 5일째 T cell은 배양 6일째 가장 높은 세포 증진 효과를 나타내었다. 그 중 죽제비싸리의 수피 부분이 B cell에서는 4.5×10^4 cells/ml, T cell에서는 7.5×10^4 cells/ml 으로 가장 높은 생육 증진도를 나타내었다.

각 시료에 대한 세포 당 IL-6의 분비량을 살펴보면, 죽제비싸리의 열매와 잎에서 B cell에서는 각각 2.16×10^4 pg/cell, 2.12×10^4 pg/cell로, T cell에서는 각각 0.92×10^4 pg/cell, 1.28×10^4 pg/cell로 가장 많은 분비량을 나타내었다. 그리고 각 시료에 대한 TNF- α 의 분비량을 살펴보면, IL-6의 결과와 마찬가지로 죽제비싸리의 열매와 잎에서 B cell에서는 각각 2.32×10^4 pg/cell, 2.78×10^4 pg/cell로 나타났고, T cell에서는 각각 0.91×10^4 pg/cell, 1.38×10^4 pg/cell로 나타났는데, B cell의 경우 가장 많은 분비량을 나타낸 반면 T cell에서는 많은 분비량을 나타냈지만, 죽제비싸리의 목부와 뿌리에서 더 많은 분비량인 각각 1.44×10^4 pg/cell와 1.87×10^4 pg/cell을 나타내었다. 이상의 결과를 종합해 보면 세포의 증진 활성은 수피에서 가장 좋은 활성을 나타내었지만 분비량에서는 열매와 잎에서 더 많은 cytokine을 분비하는 것으로 나타난 것으로 열매와 잎에서 cytokine의 분비를 촉진시키는 성분을 함유하고 있는 것으로 사료된다.

4. NK-cell의 면역증진 효과

NK cell의 활성 측정은 B cell과 T cell에 추출물을 첨가한 후 그의 배양액을 NK cell에 첨가함에 따른 생육도의 변화를 첨가하지 않은 control과 비교하여 활성을 측정하였다. Fig. 6은 B cell에 각 시료를 첨가하여 배양 후 그 배양액을 NK cell에 첨가하였을 때 NK cell의 활성도를 나타낸 그림이다. 6일 동안 생육도를 관찰하였는데 모든 시료에 대해 생육도가 증가하는 것을 나타내었고, 가장 좋은 활성을 나타낸 것은 수피로 6일째 14.2×10^4 cells/ml 를 나타내어 11.2×10^4 cells/ml

Table 1. The quantity of secretion of IL-6, TNF- α and cell density from human B cell and T cell in adding the crude extracts form different tissues of *Amorpha fruticosa* L.

Sample	Cultivation time (Day)	Quantity of secretion from B cell (10^{-4} pg/cell)		Cell density ($\times 10^4$ cells/ml)	Quantity of secretion from T cell ($\times 10^{-4}$ pg/cell)		Cell density ($\times 10^4$ cells/ml)
		IL-6	TNF- α		IL-6	TNF- α	
AF	1	0.50	0.60	1.0	0.46	0.34	1.7
	2	0.73	0.69	1.8	0.52	0.41	2.7
	3	0.86	1.12	2.2	0.54	0.50	3.0
	4	1.14	1.44	2.5	0.56	0.68	3.2
	5	2.16	2.32	3.6	0.90	0.89	4.0
	6	1.68	1.74	2.5	0.92	0.91	5.2
	7	1.20	1.72	1.5	0.60	0.76	3.8
	8	0.89	1.42	1.0	0.59	0.66	2.0
AB	1	0.45	0.47	1.3	0.34	0.14	2.5
	2	0.61	0.58	2.5	0.37	0.27	2.5
	3	0.73	0.85	2.5	0.51	0.40	3.2
	4	1.09	1.15	3.0	0.58	0.46	5.0
	5	1.41	1.57	4.5	0.64	0.79	5.0
	6	0.79	1.01	3.2	0.65	0.84	7.5
	7	0.75	0.90	2.4	0.51	0.50	4.5
	8	0.71	0.88	1.6	0.46	0.47	4.0
AW	1	0.57	0.71	1.3	0.47	0.13	2.7
	2	0.89	0.72	2.0	0.48	0.15	3.5
	3	0.90	0.74	2.0	0.57	0.55	3.0
	4	1.10	1.25	2.5	0.60	0.56	3.7
	5	1.56	2.10	3.2	0.65	1.08	4.5
	6	1.33	1.23	2.5	0.65	1.44	5.0
	7	1.01	1.40	1.8	0.60	0.96	3.5
	8	0.92	1.20	1.5	0.54	0.69	3.0
AR	1	0.48	0.56	1.2	0.45	0.14	2.2
	2	0.81	0.69	1.6	0.50	0.20	2.5
	3	1.08	0.74	2.3	0.71	0.45	3.5
	4	1.33	1.23	2.3	0.79	0.45	3.8
	5	1.66	1.89	3.8	0.83	0.85	4.2
	6	1.50	1.42	2.0	1.04	1.87	4.8
	7	1.13	0.96	1.5	0.65	1.14	3.2
	8	0.99	0.88	1.2	0.51	0.78	2.4
AL	1	0.53	0.78	1.0	0.60	0.66	1.5
	2	1.01	1.10	1.2	0.65	0.80	2.0
	3	1.77	1.94	1.8	0.71	1.03	2.8
	4	2.02	2.18	2.2	0.93	1.27	3.0
	5	2.12	2.78	3.5	0.99	1.33	3.5
	6	1.86	1.72	2.5	1.28	1.38	4.7
	7	1.03	1.52	1.0	0.84	1.20	3.0
	8	1.02	1.02	1.0	0.73	0.74	2.2

를 나타낸 control과 비교하여 약 1.3배 정도의 활성을 나타낸 것을 확인하였다. 그 외에도 목부가 14×10^4 cells/ml로 나타나 control과 비교하여 좋은 활성을 나타낸 것을 볼 수가 있었다.

Fig. 7은 T cell에 각 시료를 첨가하여 배양 후 그 배양액을 NK cell에 첨가하였을 때 NK cell의 활성도를 나타낸 그림이다. 이것도 B cell과 같이 6일까지 모든 시료에 대해 계속적으로 NK cell의 생육도가 증가하는 것을 볼 수가 있었다.

그 중 가장 좋은 활성을 나타낸 것은 수피로서 14×10^4 cells/ml을 나타내어 10.7×10^4 cells/ml를 나타낸 control과 비교하여 약 1.3배 정도의 활성을 나타낸 것을 확인하였다. 이것은 앞에서 살펴본 면역세포의 증식에서와 마찬가지로 수피가 NK-cell의 생육활성에서 가장 높은 활성을 나타내었기에 면역세포 생육활성에 영향을 미칠 수 있는 성분을 함유하고 있는 것으로 사료된다. 본 실험을 통하여 얻어진 결과로 인하여 면역기능의 향상과 항암 활성의 향상을 가져오는 부위를 탐색하

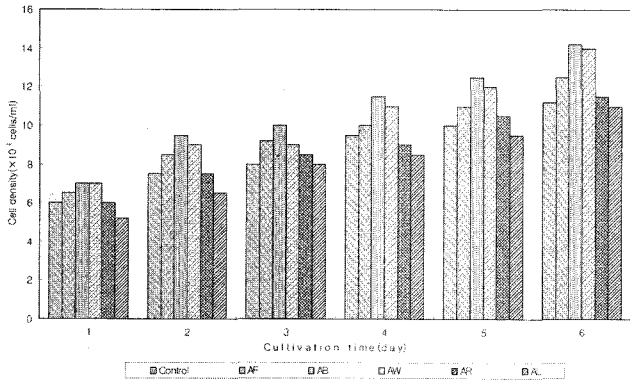


Fig. 6. The NK cell growth of cell density of human B cells in no adding and adding the crude extracts from *Amorpha fruticosa* L. (0.5 g/l) (AF : Fruits of *Amorpha fruticosa* L., AB : Barks of *Amorpha fruticosa* L., AW : Woods of *Amorpha fruticosa* L., AR : Roots of *Amorpha fruticosa* L., AL : Leaves of *Amorpha fruticosa* L.).

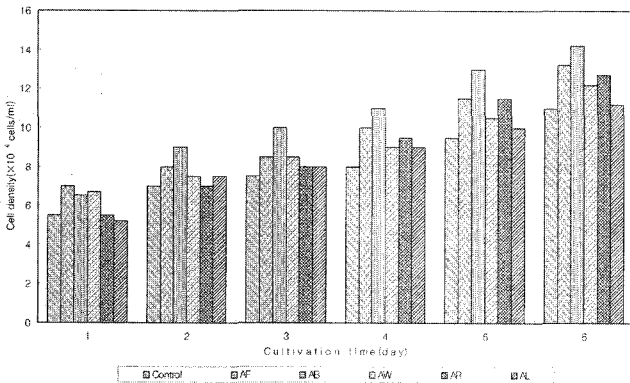


Fig. 7. The NK cell growth of cell density of human T cells in no adding and adding the crude extracts from *Amorpha fruticosa* L. (0.5 g/l) (AF : Fruits of *Amorpha fruticosa* L., AB : Barks of *Amorpha fruticosa* L., AW : Woods of *Amorpha fruticosa* L., AR : Roots of *Amorpha fruticosa* L., AL : Leaves of *Amorpha fruticosa* L.).

여 그 부위에서 단리된 유용 성분에 대한 연구가 이루어져야 할 것이고, 생리활성에 대한 연구가 보다 다각적으로 이루어져야 할 필요가 있다고 생각되어지는 바이다.

적 요

족제비싸리의 각 부위별 추출물의 정상세포에 대한 독성을 살펴보기 위하여 인간 정상 폐세포인 HEL299를 이용하였으며 각 추출물은 1.0 g/l의 농도에서 최고 22.2%의 세포독성을 나타내었다. 또한 항암활성효과를 살펴보기 위하여 2가지의 암세포를 이용하였는데, A549와 AGS에서 뿌리 추출물의 경우 1.0 g/l의 농도에서 70% 정도의 높은 억제활성을 나타내었고, 또한 암세포의 생육활성에 대한 정상 세포의 세포독성의 비로 나타낸 선택적 사멸도는 고농도에서는 모두 1.5이상으로 나타나 모두 암세포에 대한 선택성이 있는 것으로 나

타났다. 면역세포의 생육 촉진 실험을 위하여 인간의 B cell과 T cell을 이용하였으며 각 추출물의 농도를 0.5 g/l로 하여 실험을 실시하였다. 생육도는 T cell의 경우 배양 6일째 수피 추출물이 7.5×10⁴ cells/ml의 세포농도를 나타냈으며 B cell의 경우 배양 5일째 4.5×10⁴ cells/ml의 농도를 나타내었다.

면역세포를 이용한 cytokine의 분비량 측정실험에서는 뿌리의 추출물이 배양시간에 따른 cytokine의 분비가 가장 높게 나타나는 것을 확인 할 수 있었다. 각 세포의 TNF-α의 분비량은 6일째 최고의 분비량을 나타내었고 뿌리추출물의 경우 대조구에 비해 7-8배 가량 정도 더 높은 분비량을 나타낸 것으로 확인되었다. IL-6의 경우 5일째까지 감소하다가 6일째부터 증가하는 경향을 나타내었는데 잎과 열매에서 가장 높은 분비량을 나타내었다. 또한 족제비싸리 추출물을 첨가한 배지에 의한 B cell과 T cell의 면역활성 및 cytokine의 분비량에 따른 NK cell의 면역 활성을 측정하였으며 모든 추출물에서 배양 시간에 따라 유의적으로 증가하는 것을 확인하였다. 그 중 족제비싸리의 수피 추출물에서 B cell의 경우 14.2×10⁴ cells/ml, T cell의 경우 14×10⁴ cells/ml으로 가장 높은 생육 활성을 나타내었다.

감사의 말

본 연구는 국립산림과학원의 지원으로 수행된 것으로 이에 심심한 사의를 표합니다.

LITERATURE CITED

Wang BH, Lee SY (1974) Studies on the fatty acid composition of *Amorpha fruticosa* seeds. Korean J. Food SCI. Technol. 6(2):86-90.

Lee Y, Shin HS (1977) A Study on the lipid components of *Amorpha fruticosa* seed. Korean J. Food SCI. Technol. 9(4):284-290.

Ohyaama M, Tanaka T, Iinuma M (1998) A prenylated flavanone from roots of *Amorpha fruticosa*. Phytochemistry 48(5):907-909.

Lee HJ, Lee HJ, Kwon YH, Choi DH, Paik KH (2003) Extractives from fruits of *Amorpha Fruticosa*. Mokchae Konghak 31(6):8-14.

Li L, Wang HK, Chang JJ, McPhail AT, McPhail DR, Terada H, Konoshima T, Kokumai M, Kozuka M, Estes JR, Lee KH (1993) Antitumor agents. 138. Rotenoids and isoflavones as cytotoxic constituents from *Amorpha fruticosa*. J. Natural Products 56(5):690-698.

Doll R, Peto R (1981) The causes of cancer, quantitative estimates of avoidable risks of cancer in the United States today. J. Natl. Cancer Inst. 66(6):1192.

Lee SH, Lee HS, Park YS, Hwang B, Kim JH, Lee HY (2002) Screening of immune activation activities in the leaves of *Dendropanax moribifera* Lev. Korean J. Medicinal Crop Sci. 10:109-115.

- Han BH, Park MH, Cho JY, Park JS, Yoo, ES, Baik KU** (1998) Effect of ginsenosides from *Panax ginseng* on TNF- α production and T cell proliferation. *Yakhak Hoeji*. 42(3):296-301.
- Yueran Z, Rui S, You L, Chunyi G, Zhigang T** (2003) Expression of leptin receptors and response to leptin stimulation of human natural killer cell lines. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 300:247-252.
- Limdbolum CK** (2002) IL-2 receptor signaling through the Shb adapter protein in T and NK cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 296:929-936.
- 고경식** (1991) 한국 식물검색 도감. 아카데미서적 p. 193.
- 최옥자** (1984) 약초의 성분과 이용. 과학·백과사전 출판사 p. 317-318.
- 오오진** (1991) 쇠비름이 세포성 및 체액성 면역반응계에 끼치는 영향. 숙명여자대학교 대학원 석사학위논문.