

자연산 및 조직배양 사철쑥의 세포독성 및 면역활성 비교

김정화* · 김대호* · 유진현* · 김철희* · 권민철* · 황 백** · 이현용*†

*강원대학교 바이오산업공학부, **전남대학교 생명과학부

Comparison of Cytotoxin and Immune Activities between Natural and Tissue Cultured Plant in *Artemisia capillaris* Thunb.

Jung Hwa Kim*, Dae Ho Kim*, Jin Hyun You*, Cheol Hee Kim* Min Chul Kwon*, Baik Hwang**, and Hyeon Yong Lee*†

*School of Biotechnology and Bioengineering, Kangwon National University, Chunchon 200-701, Korea.

**Dept. of Biology, Chonnam National University, Gwangju 520-830, Korea.

ABSTRACT : This study was performed to compare anticancer and immune activities between natural *Artemisia capillaris* Thunb. extract and tissue cultured plant extract (hairy root, *in vitro* culture, callus). The inhibitory effect of cancer cell growth, human B cell growth and productivity of cytokines were examined. Furthermore, HPLC analysis was performed to confirm the components. The anticancer activities increased by more than 55% with the cultured callus of *Artemisia capillaris* T. for four cancer cell lines(Lung carcinoma, Stomach adenocarcinoma, Hepatocellular carcinoma, Breast adenocarcinoma), showing higher effect than natural *Artemisia capillaris* T. The extracts from hairy root and *in vitro* culture of *Artemisia capillaris* T. significantly increased the immune B cell growth. The immune B cell growth effect of natural *Artemisia capillaris* T. was higher than that of the tissue culture plants such as hairy root, *in vitro* culture and callus. Both natural and tissue cultured plants showed similar effects on cytokine secretion. The similar peak size was observed between natural *Artemisia capillaris* T. and cultured callus in HPLC analysis. As a results, the biological activities were not observed the difference between natural *Artemisia capillaris* T. and cultured callus. Thus, the cultured callus will be altered natural *Artemisia capillaris* T. in the environmental side and the resources preservative side

Key words : *Artemisia capillaris* Thunb., hairy root, *in vitro* culture, callus, anticancer activity, immune activity, cytokine

서 언

쑥은 우리나라 전역에서 봄철부터 자생하는 번식력이 강한 국화과 다년생 초본으로 우리나라에 30여 종 알려져 있고 (Yook, 1977), 민간요법으로 많이 쓰여온 약초이며, 백병을 누르고 모든 약기를 다스리며, 수십가지의 질병에 효험이 있는 것으로 알려지고 있다(Jung, 1955). 그 중 인진호(*Artemisia capillaris* Thunb.)는 냇가의 모래땅에서 자라는 국화과에 속하는 다년초로서 높이 약 30~100 cm이며 겨울에 죽지 않고 이듬해 줄기에서 다시 싹이 나온다고 해서 사철쑥 또는 정경쑥이라 불린다(Lim, 1992).

쑥은 채집하여 건조한 애엽과 사철쑥의 꽃이 달린 전초를 건조한 인진이 있는데 이들은 capilin, 6,7-dimethylaesletin의 정유 및 향기 성분을 함유한다. 또한 그 독특한 향에는 benzaldehyde, pinene, myrcene, cineole, 2-pyrrolidinone,

camphor, thujone, 1-acethylpiperidine, caryophyllene, coumarine, farnesol 등(Cho *et al.*, 2001)이 알려져 있으며, 사철쑥의 다당체는 71%의 glucose, 25.4%의 xylose, 2.8%의 manose, 0.6%의 ramnose를 함유하며, 1.4%의 질소를 가지는 단백 구성 아미노산 등이 포함(Song, 1996)되어 있다. 그리고 인진호의 주요 flavonoid 성분으로는 주요 성분인 artemisidin을 비롯하여, atemicapins, coumarins 등이 있다(Wu, 2001). 그리고 민간에서는 간 질환의 예방 및 치료에 탁월한 효과를 나타낸다고 하여 간암, 간경변, 황달 등 주로 간장질환의 치료에 널리 응용(Lee, 1996) 되고 있다. 그 외에 사철쑥에 대한 연구는 정유성분에 대한 분석 및 항균활성 (Cho *et al.*, 2001)과 추출물들의 항산화 활성, 항돌연변이 활성, 혈중 지질감소 및 간기능 개선 효과 등 (Ahm, 2000)이 각각 연구되어 졌다. 또한 사철쑥에 높은 항암 활성 및 면역 활성을 가지고 있다고 보고되어 졌다(Lee *et al.*, 2004). 최근 약초로서 인진호에 대

†Corresponding author: (Phone) +82-33-250-6455 (E-mail) hyeonl@kangwon.ac.kr
Received March 25, 2005 / Accepted July 31, 2005

한 관심이 높아지면서 이들의 대량 번식과 생리활성에 대한 연구, 세포배양을 통한 유용물질의 생산에 대한 연구도 많이 이루어지고 있다. 그에 따라 이러한 인진호의 수요가 증가함에 따라 환경적인 문제와 자원 고갈적인 문제가 나타날 우려가 있다. 이러한 문제점을 해결하기 위한 하나의 방법으로 조직 배양체를 배양하여 공급하는 방법이다. 특히 기내배양을 통한 대량 번식은 자연환경의 제약을 받지 않고 기내의 최적 환경에서 시간과 계절의 제약 없이 생산이 가능하므로 상업적인 이용이 가능하다. 이러한 기내배양을 통한 조직 배양체와 자연산 인진호간의 비교 실험은 이루어지지 않고 있는 실정이다.

따라서 본 연구는 시간과 공간의 제약에서 벗어나 증식을 용이하게 하고 상업적인 이용의 가능성을 알아보고자 자연산 인진호와 인진호의 모상근, 기내배양과 캘러스의 추출물들의 항암 및 면역 활성을 비교 실험하였다.

재료 및 방법

1. 재료

본 실험에 사용된 인진호는 경동시장으로부터(2004년 산) 구입하였고, 인진호의 기내배양은 종자발아를 시켜 MS (Murashige & Skoog) 기본배지만으로, 모상근은 기내배양에서 발아된 줄기를 이용하여 WPM(Woody Plant Medium) 기본배지만으로 배양하였고, 캘러스는 기내배양에서 발아된 줄기를 이용하여 5 mg/l 2,4-D(2,4-Dichlorophenoxyacetic acid), 0.5 mg/l BA(Benzyl adenin)를 SH(Schemk & Hildebrandt) 기본배지에 sucrose 30%의 배지조건에서 배양하여 각각 건조한 시료들을 전남대학교 생물학과의 황백 교수님으로부터 지원받아, 각 시료를 수직 환류 냉각기에 부착된 추출 flask에 시료중량에 대하여 각각 10배의 증류수를 추출용매로 사용하여 80°C에서 24시간 추출하여 실험에 사용하였다.

2. 시약

세포배양에 필요한 배지로 RPMI 1640과 Dulbecco's modified eagle medium-F12(DMEM-F12)는 GIBCO(USA)로부터 구입하였고, Hepes buffer는 SIGMA(USA)에서 구입하였다. 혈청은 HYCLONE(USA)사의 fetal bovine serum을 이용하였고 gentamycin sulfate, trypsin-EDTA는 Sigma사의 것을 사용하였다. 세포염색을 위한 염색제는 3-(4,5-dimethyl-thiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetra-zilium bromide(MTT)와 Sulforhodamine B (SRB)는 Sigma사로부터 구입하여 실험에 사용하였다.

3. 세포주 및 세포 생육 배지

실험에 이용된 세포주는 암세포로 인간 폐암세포인 A549 (Lung carcinoma, human, ATTC, USA), 인간 위암세포인 AGS(stomach adenocarcinoma, human, ATTC, USA), 인간

간암세포인 Hep3B(hepatocellular carcinoma, human), 인간 유방암세포인 MCF7(brest adenocarcinoma, pleural effusion, human)를 사용하였다. 그리고 면역세포 생육 증진 효과에 이용된 면역세포로는 B cell(Raji, ATTC, USA)을 실험에 사용하였다.

실험에 사용된 세포들 중 Hep3B, MCF7은 DMEM-F12 배지를, A549, AGS, B cell은 RPMI 1640배지에 10% heating-inactivated FBS(fetal bovin serum)를 첨가시켜 배양하였다.

4. 항암 활성 측정

MTT assay(Philip *et al.*, 1990)는 생세포내 미토콘드리아의 dehydrogenase에 의해 생성되는 과산화 formazan측정을 통해 세포의 증식이나 독성을 조사하는 방법으로 실험대상 세포인 A549, AGS, Hep3B, MCF7의 농도를 $4\sim5 \times 10^4$ cells/ml의 농도로 조절한 후 24 well plate에 900 μ l씩 첨가하여 24시간 동안 배양(37°C, 5% CO₂)시킨 후 시료를 최종농도 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 g/l 로 100씩 첨가하여 48시간 동안 다시 배양하였다. 배양한 후, 100 μ l의 MTT(0.5 mg/ml) 용액을 첨가하여 4시간 동안 배양하여 formazan을 형성시킨 후, DMSO 900 μ l를 첨가하여 formazan을 녹인 후, 각 well에서 100 μ l씩 취하여 96 well plate에 옮긴 다음 540 nm에서 microplate reader를 이용하여 흡광도를 측정하였다. SRB assay(Doyle *et al.*, 1993; Doll *et al.*, 1981)는 세포 단백질을 염색하여 세포의 증식이나 독성을 측정하는 방법으로 실험대상 세포인 A549, AGS, Hep3B, MCF7의 농도를 $4\sim5 \times 10^4$ cells/ml 으로 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/l 로 100씩 첨가하여 48시간 배양하였다. 배양이 완료된 후에 상등액을 제거하고 차가운 10% (w/v) TCA (trichloroacetic acid) 100 μ l를 가하여 4°C에서 1시간 동안 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 4~5회정도 세척, 건조시킨 후에 10 mM Tris buffer 100 μ l를 첨가하여 염색액을 녹여낸 후 540 nm에서 microplate reader를 이용하여 흡광도를 측정하였다.

5. 면역세포 생육 증진 효과 및 cytokine 분비량 측정

면역 기능 증강 효과는 인간 면역 세포인 B cell을 이용하여 검증하였다. 세포의 생육은 10% FBS를 함유하는 RPMI 1640 배지에서 5% CO₂, 37°C에서 배양하였으며, 면역 증강 효과는 24 well plate에 세포를 1.0×10^4 cells/의 농도로 조절한 후 시료를 투여하여 6일 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 $1\sim 2 \times 10^4$ cells/ml의 농도로 조절한 후 24 well plate에 900 μ l씩 첨가하여 24시간 동안 배양(37 $^{\circ}$ C, 5% CO $_2$)시킨 후 시료의 최종농도를 0.5 g/l로 하여 100 μ l씩 첨가하고 다시 배양(37 $^{\circ}$ C, 5% CO $_2$)하였다. 배양매지를 원심분리기를 이용하여 상층액을 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. HPLC 분석을 통한 추출물의 물질 비교

시료의 분석을 위해 시료를 HPLC 분석용 water에 녹여 물 추출물을 100 ppm의 농도로 조제하고 0.45 μ l 여과막으로 여과하여 Injection volume 20 μ l로 측정하였다. HPLC 기기는 BIO-TEK instrument (Italy)사의 HPLC 500 series를 사용하여 Pump: BIO-TEK 522 controller, Column: Alltech Prevail C18 5 μ , Mobile phase (water : acetonitril = 80 : 20), 유속

은 0.5 ml/min, Detector: BIO-TEK HPLC 535 Detector (254 nm), 0.05 AUFS 감도의 조건으로 하였다.

결과 및 고찰

1. 항암 활성

먼저 MTT assay를 이용한 함암효과를 Table 1에서 나타내었는데, 모든 cell line에서 농도 의존적으로 암세포의 생육 저해 활성이 증가하는 경향을 나타내었고, 자연산 인진호가 인진호의 기내배양, 모상근, 캘러스에 비해 높은 항암 활성을 나타내었다. 인진호의 기내배양, 모상근, 캘러스의 세가지를 비교했을 경우 캘러스가 A549와 AGS의 암세포에서 각각 약 45%, 42%로 세 가지 시료 중 가장 높은 항암 활성을 나타내었다. 또한 모상근에서는 A549와 AGS에서 약 40%, 30%의 세포 생육 저해능을 나타내었다. 전체적인 항암 활성의 결과 비교적 낮은 수치를 나타내었다.

Fig. 1과 Fig. 2에 위에서 실험한 네가지 cell line에 대해 SRB 방법을 이용한 항암 효과를 나타내었다. 먼저 Fig. 1은

Table 1. Inhibitory effect of the extracts of natural leaves and hairy root, *in vitro* culture, callus of *Artemisia capillaris* Thunb. on A549, AGS, MCF-7 and Hep3B cell growth. Cell viability was measured by the MTT assay.

Artemisia capillaris T.	Concentration (g/l)	Cell death (%)			
		A549	AGS	MCF7	Hep3B
Natural	0.2	9 \pm 0.03	8.6 \pm 0.03	9.95 \pm 0.02	15.46 \pm 0.02
	0.4	11.75 \pm 0.04	11.8 \pm 0.05	13.23 \pm 0.03	16.78 \pm 0.03
	0.6	12.7 \pm 0.02	16.45 \pm 0.02	18.86 \pm 0.01	19.64 \pm 0.06
	0.8	26.87 \pm 0.05	25.88 \pm 0.05	23.63 \pm 0.05	21.88 \pm 0.05
	1.0	45.78 \pm 0.03	38.46 \pm 0.06	38.01 \pm 0.06	30.08 \pm 0.06
Hairy root	0.2	5.6 \pm 0.01	3.96 \pm 0.01	3.59 \pm 0.02	3.66 \pm 0.01
	0.4	8.1 \pm 0.06	8.2 \pm 0.03	7.2 \pm 0.01	7.2 \pm 0.03
	0.6	14.6 \pm 0.04	15.68 \pm 0.04	12.21 \pm 0.05	12.45 \pm 0.03
	0.8	22.3 \pm 0.05	22.4 \pm 0.02	18.4 \pm 0.02	18.2 \pm 0.05
	1.0	40.54 \pm 0.04	30.39 \pm 0.05	21.75 \pm 0.03	20.81 \pm 0.06
<i>In vitro</i> culture	0.2	1.12 \pm 0.01	1.02 \pm 0.03	0.37 \pm 0.001	0.7 \pm 0.003
	0.4	4.32 \pm 0.03	4.3 \pm 0.02	2.3 \pm 0.01	1.9 \pm 0.01
	0.6	7.86 \pm 0.02	7.14 \pm 0.04	8.55 \pm 0.03	4.96 \pm 0.01
	0.8	9.2 \pm 0.03	9.2 \pm 0.05	9.8 \pm 0.05	5.1 \pm 0.02
	1.0	10.11 \pm 0.03	14.28 \pm 0.03	10.4 \pm 0.04	6.78 \pm 0.02
Callus	0.2	3.29 \pm 0.04	7.2 \pm 0.01	1.41 \pm 0.01	2.55 \pm 0.01
	0.4	11.2 \pm 0.02	15.4 \pm 0.04	6.4 \pm 0.03	13.1 \pm 0.03
	0.6	22.58 \pm 0.03	22.44 \pm 0.02	10.56 \pm 0.05	16.6 \pm 0.03
	0.8	31.2 \pm 0.05	31.3 \pm 0.03	13.4 \pm 0.04	22.4 \pm 0.05
	1.0	45.05 \pm 0.04	42.85 \pm 0.05	19.14 \pm 0.06	25.48 \pm 0.04

자연산 및 조직배양 시철쭉의 세포독성 및 면역활성 비교

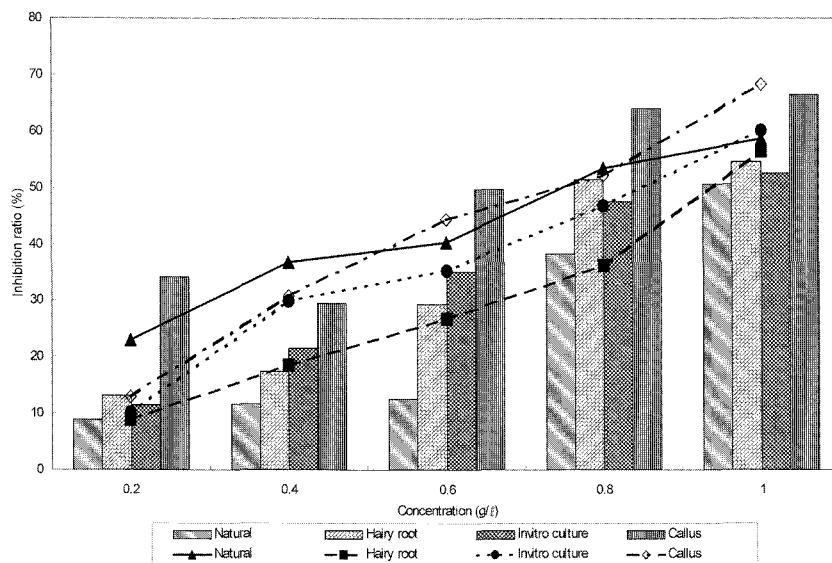


Fig. 1. Inhibitory effect on the growth of A549(bar chart) and AGS(scatter line) by the extracts of natural leaves and hairy root, *in vitro* culture, callus of *Artemisia capillaris* Thunb. in SRB assay.

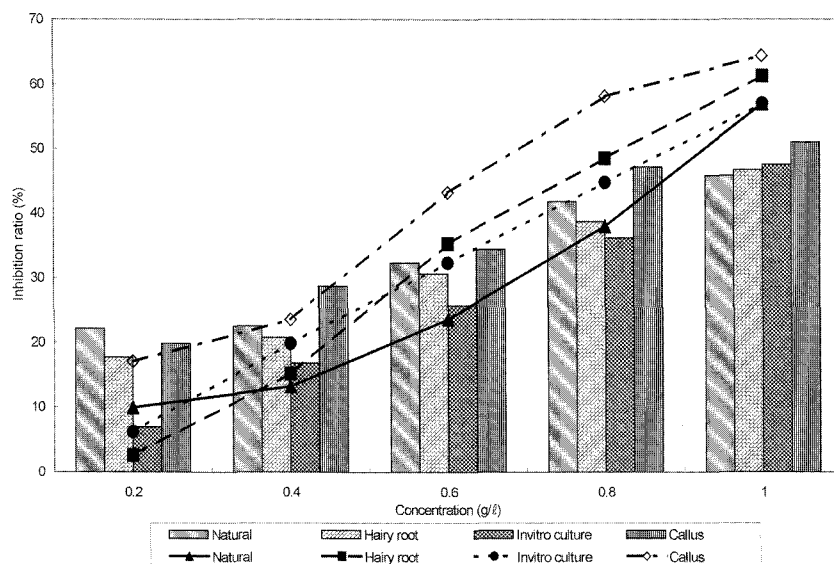


Fig. 2. Inhibitory effect on the growth of Hep3B(bar chart) and MCF7(scatter line) by the extracts of natural leaves and hairy root, *in vitro* culture, callus of *Artemisia capillaris* Thunb. in SRB assay.

A549와 AGS의 암세포를 이용하여 생육 저해 활성을 나타낸 것으로 농도 의존적으로 저해 활성이 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 이 그림에서도 알 수 있듯이 네가지의 sample 중 캘러스가 가장 높은 농도에서 각 cell line에 대해 약 65% 정도로 가장 높은 저해 활성을 나타내었다. 자연산 인진호와 비교했을 때 각 cell line에 대해 약 50% 정도의 항암 활성을 나타냄으로서 캘러스보다 낮은 항암 활성을 나타내었다. 기내배양과 모상근의 경우도 약 50%이상의 세포 생육 저해 활성을 보여 MTT assay를 통하여 나타낸 저해 활성을 보다 높은 활성을 나타내었고, 자연산 인진호와 비슷한 결과를 나

타내었다.

Fig. 2는 Hep3B와 MCF7의 암세포를 이용하여 식물의 항암 효과를 나타낸 그림으로 이것 또한 농도 의존적으로 세포 생육 저해능이 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 여기서도 캘러스가 Hep3B에서 약 50% MCF7에서 약 60%의 항암 효과를 나타내었고, 자연산 인진호와 비교했을 때 각 cell line에서 약 45%와 50%로 나타나 인진호의 캘러스가 높은 암세포 저해능을 가진 것으로 나타났다. 기내배양과 모상근 또한 1.0 g/l의 농도에서 약 48%와 55% 정도의 암세포 저해 효과를 나타내어 앞서 확인한 MTT assay의 결과보다 높은 항암 효

과를 나타내었고, 자연산 인진호와 비슷한 결과를 나타내었다. 이 같이, 자연산 인진호와 인진호의 조직 배양체를 비교한 결과 캘러스가 가장 높은 세포 생육 저해능을 나타내었고, 캘러스의 경우 약 65% 정도의 암세포 생육 저해 능력을 나타내어 자연산 인진호의 약 50%의 암세포 저해능력보다 높은 것으로 나타났다. 이것은 인진호 자원의 보존 측면과 환경적인 측면을 고려해 볼 때 자연환경에 제약을 받지 않고 대량으로 배양할 수 있는 방법을 모색을 꾀하는 실험으로서, 그 중 캘러스로 배양한 것이 가장 높은 저해 활성을 나타냄으로서, 이러한 배양 방법을 이용함으로써 환경파괴와 인진호의 자원 보

존이라는 문제를 해결할 수 있는 방법이라고 사료된다.

2. 면역세포 생육 및 cytokine 분비 증가 효과

인간의 면역체계에서 중요한 역할을 하는 면역세포인 B세포를 이용하여 면역 증진 효과를 확인하기 위하여 면역세포의 생육 촉진 효과를 생육도와 생육도에 따른 cytokine의 분비량을 측정하여 나타내었다. 생육도의 경우 6일째까지 계속적으로 증가하는 경향을 나타내었다. B 세포의 생육도의 경우 6일째 자연산 인진호가 6.9×10^4 cells/ml로 가장 높은 생육도를 나타내었고, 모상근이 6.8×10^4 cells/ml로 비교적 높은

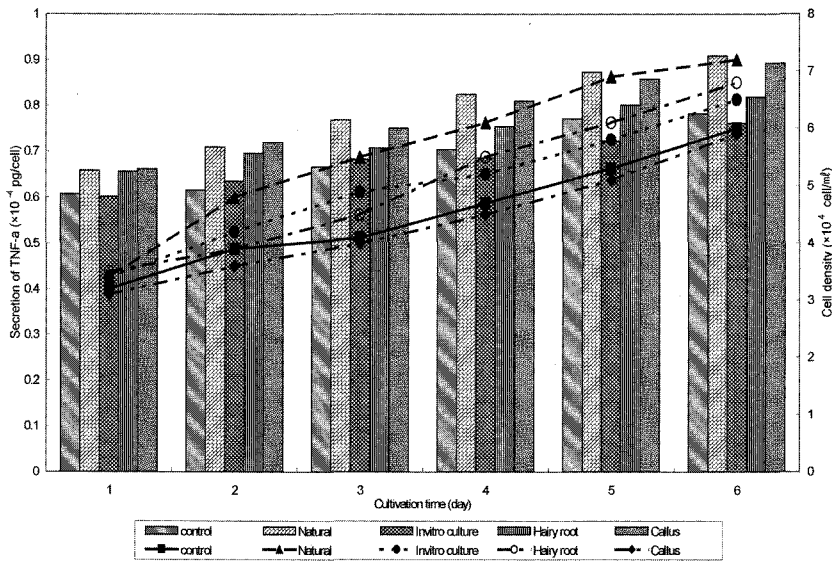


Fig. 3. Effect on TNF- α secretion (bar chart) from and cell density(scatter line) increase of human B cell of the extracts of natural leaves and hairy root, *in vitro* culture, callus of *Artemisia capillaris* Thunb.

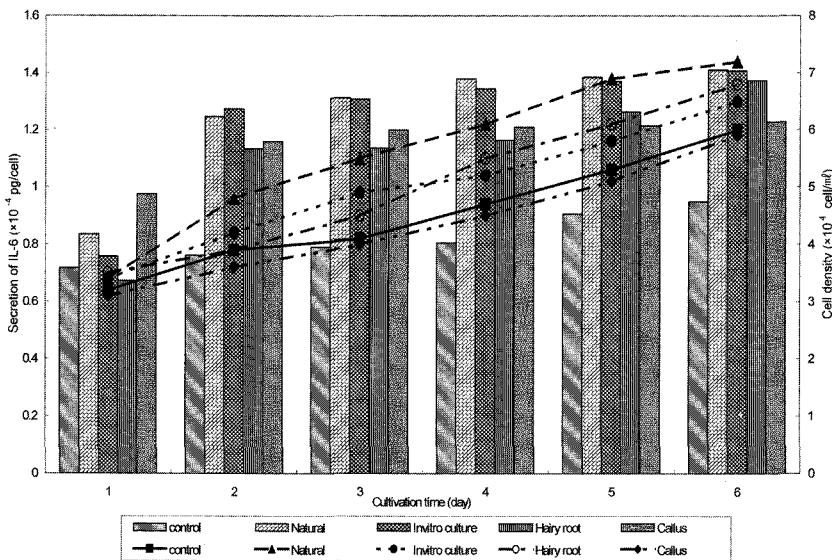


Fig. 4. Effect on IL-6 secretion (bar chart) from and cell density(scatter line) increase of human B cell of the extracts of natural leaves and hairy root, *in vitro* culture, callus of *Artemisia capillaris* Thunb.

생육도를 나타내었다. Cytokine의 분비량의 경우 TNF- α 는 시간 의존적으로 증가하는 경향을 나타내었고, 자연산 인진호가 6일째 0.9×10^4 pg/cell로 가장 많은 분비량을 나타내었고, 켈러스의 경우 B 세포의 생육도가 낮은 반면 TNF- α 의 분비량은 6일째 최고 0.89×10^4 pg/cell로 나타났다(Fig. 3). 이것은 켈러스에 cytokine의 분비량을 촉진시키는 성분을 함유하고 있는 것으로 사료된다.

Fig. 4의 경우 B세포의 생육도와 IL-6의 분비량의 관계를 나타낸 그림으로 B세포의 생육도는 Fig. 3과 같고, cytokine인 IL-6의 분비량 또한 시간 의존적으로 증가하는 경향을 나타내었다. 모든 시료에서 control에 비해 높은 분비량을 나타내었고, 그 중 자연산 인진호가 6일째 1.41×10^4 pg/cell로 가장 높은 분비량을 나타내었다. IL-6의 분비량의 경우 켈러스가 가장 낮은 분비량을 나타내었고, 모상근에서 자연산 인진호와 비슷한 1.4×10^4 pg/cell로 나타났다. 이것으로 자연산 인진호와 인진호의 조직 배양체의 면역활성에 대해 비교한 결과 큰 활성 차이는 없는 것으로 나타났다.

3. HPLC 분석을 통한 추출물의 물질 비교 분석 결과

이상의 결과에 의하여, 자연산 인진호와 조직 배양체간의 항암 효과와 면역활성의 차이가 무엇에 기인하는지 확인하고자 HPLC를 이용하여 성분 분석을 실시하였다.

Fig. 5는 인진호의 기내배양, 모상근, 켈러스와 자연산 인진호를 HPLC로 측정된 결과를 나타낸 그림으로서, 각 성분들의 peak나 면적 면에서 많은 차이를 나타내었다. 대체적으로 peak들이 나타난 시간대나 모양은 자연산 인진호와 유사한 결과를 나타내었고, 이러한 peak를 나타낸 성분으로 주요 성분인 artemisinin으로 peak의 면적을 보면 기내배양과 모상근에서 일반 인진호에 비해 peak의 면적이 적은 것으로 artemisinin의 함량이 적은 것을 확인 할 수 있었다. 반면 켈러스의 경우는 기내배양과 모상근의 경우보다 넓은 peak의 면적을 나타내어 주요 성분인 artemisinin의 함량이 많은을 나타내었고, 자연산 인진호에 비해서는 peak의 면적이 비슷한 결과를 나타내어 주요 성분이 정량적으로 비슷한 함량을 나타낸 것을 확인하였다. 기내배양과 모상근, 켈러스의 가장 높게 나타난 peak는 주

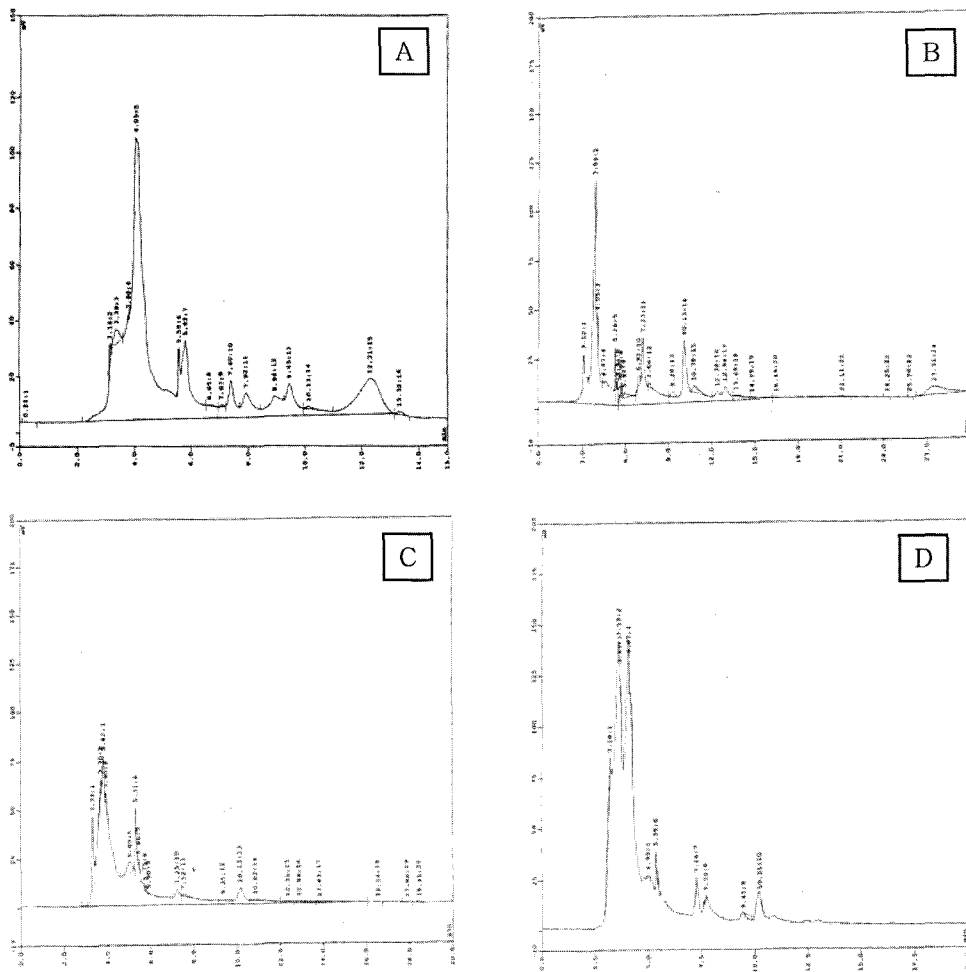


Fig. 5. HPLC analysis of the extracts from natural leaves (A), *in vitro* culture (B), hairy root (C), Callus (D) of *Artemisia capillaris* Thunb

요 성분인 artemisidin으로 면적이나 정량적인 차이를 나타냄으로서 암세포 저해 효과가 켈러스의 배양 방법일 때가 높은 항암 활성을 나타냈다는 것들을 증명할 수 있는 결과들로 사료되어진다.

적 요

자연산 인진호와 조직 배양체의 유용 생리활성을 살펴 보았다. 우선, 항암 효과를 살펴보기 위하여 인간 폐암세포(A549)와 위암세포(AGS), 인간 간암세포(Hep3B)와 유방암 세포(MCF7)의 4가지 암세포주를 이용하여 세포 생육 저해능을 측정하였다. MTT assay의 경우 1.0 g/l 의 농도에서 켈러스가 A549와 AGS에 대해 각각 약 45%와 42%로 모상근과 기내 배양에 비해 높은 세포 생육 저해능을 나타내었고, 자연산 인진호는 약 45%와 38%로 켈러스와 비슷한 항암 활성을 나타내었다. SRB assay의 경우도 켈러스가 가장 높은 항암 효과를 나타내었는데 대체적으로 약 55% 이상의 암세포 저해율을 나타내었으며, 자연산 인진호의 항암 활성에 비해서도 높은 수치를 나타내었다. 면역세포를 이용한 생육도와 cytokine의 분비량을 측정한 결과 B 세포의 생육도는 6일째까지 지속적인 증가를 가져왔고, 이에 따라 cytokine의 분비량 또한 TNF- α 와 IL-6 모두 6일째까지 증가하는 경향을 나타내었다. 면역세포의 생육도의 경우는 자연산 인진호가 가장 높은 생육도를 나타내었고, 인진호의 기내배양, 모상근, 켈러스 중에서는 모상근에서 가장 높은 생육도를 나타내었다. Cytokine의 경우도 TNF- α 에서 자연산 인진호의 분비량이 가장 많았고, 배양 방법에 따른 인진호의 경우 켈러스가 가장 많은 분비량을 나타내었다. IL-6의 경우는 모든 sample에서 control에 비해 높은 분비량을 나타내었고, 자연산 인진호와 기내배양, 모상근, 켈러스와 비교했을 때 큰 차이를 나타내지 않았다. HPLC 분석을 통한 추출물의 물질 비교 분석 결과 기내배양과 모상근에서는 자연산 인진호에 비해 주요 성분 peak인 artemisidin 면적이 모두 낮은 경향을 나타내었고, 켈러스의 경우는 일반 인진호에 비해 peak의 면적이 비슷한 경향을 나타냄으로서, 켈러스가 다른 조직 배양체보다 인진호의 주요 성분인 artemisidin 성분의 함량이 더 높은 것으로 나타나 켈러스가 기내배양이나 모상근 보다 높은 항암 효과를 나타낸 것으로 사료되어진다.

이와 같이 자연산 인진호와 조직 배양체의 항암 효과나 면역활성에서 큰 차이를 나타내지 않았기 때문에, 이러한 조직 배양체가 자연산 인진호를 대체 할 수 있는 하나의 방법으로서 환경적인 측면과 자원 보존적인 측면에서 볼 때 가치있는 결과라고 사료된다.

사 사

본 연구는 2001년도 한국과학재단 지역협력 연구센터 산업(한림대 실버생물 산업 기술연구 센터 R12-2001-047-03005-0)의 지원으로 수행된 것으로 이에 심심한 사의를 포함한다.

LITERATURE CITED

- Yook CS** (1977) Medicinal Plants, Jinmyung Publishing Co. 293-298.
- Lim SN** (1992) Studies on the biological activities of Mugwort (*Artemisia asiatica nakai*) Leaves. Yonsei Univ. Master thesis.
- Cho YH, Chiang MH** (2001) Research Papers : Essential Oil Composition and Antibacterial Activity of *Artemisia capillaris*, *Artemisia argyi*, and *Artemisia princeps*. Kor. J. Intl. Agri. 13(4):313-320.
- Ahn BM** (2000) What is In-Jin-Sook? *Artemisia capillaris*, *Artemisia iwayomogi*, and *Artemisia annua*. The Korean Journal of Hepatology. 16(4):548-551.
- Song KW** (1996) Phytochemical study of polysaccharide fraction from *Artemisia* species. Sungkyunkwan Univ. Master thesis.
- Wu TS, Tsang ZJ, Wu PL, Lin FW, Li CY, Teng CM, Lee KH** (2001) New constituents and antiplatelet aggregation and anti-HIV principles of *Artemisia capillaris*. Bioorganic & Medicinal Chemistry. 9:77-83.
- Lee SB** (1996) Hepatoproteinative effect of polysaccharide fraction from *Artemisia iwayomogi* in rat. Sungkyunkwan Univ. Ph. D. Dissertation.
- Lee MK, Choi GP, Ryu LH, Lee GY, Yu CY, Lee HY** (2004) Enhanced immune activity and cytotoxicity of *Artemisia capillaris* Thunb. extracts against human cell lines. Korean J. Medicinal Crop Sci. 12(1):36-42.
- Philip S, Ritsa S** (1990) New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer drug screening. J. Natl. Cancer Inst. 82:1107-1112.
- Doyle A, Griffiths JB, Newell DG** (1993) Cell & tissue culture : Laboratory procedures, Wiley 287-307.
- 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):1192-1308.
- 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. Kor. 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.
- 정대현** (1955) 한국식물도감, 교육사. 서울.
- 오오진** (1991) 쇠비름이 세포성 및 체액성 면역반응계에 끼치는 영향. 숙명여자대학교 대학원 석사학위논문.