

*Spirulina platensis*의 배양 및 추출조건에 따른 항암활성 비교

김호성 · 김철희 · 김정화 · 권민철 · 조정환¹ · 곽형근² · 황보영² · 김진철 · 이현용*
강원대학교 바이오산업공학부, ¹금영식품(주), ²SKY007(주)

Comparison of Anticancer Activities from the Culture and Extraction Conditions of the *Spirulina platensis*. Kim, Hyou-Sung, Cheol-Hee Kim, Jung-Hwa Kim, Min-Chul Kwon, Jung-Hwan Cho¹, Hyeong-Geun Gwak², Bo-Young Hwang², Jin-Chul Kim, and Hyeon Yong Lee*. School of Biotechnology and Bioengineering, Kangwon National University, Chunchon 200-701, Korea, ¹Kum-young food, Jumunjin-eup 210-801, Korea, ²Daejeon-dong, Kangneung 210-340, Korea – An extract from *Spirulina platensis* of seawater and freshwater was obtained by using the water and ethanol. Extraction yields of seawater *S. platensis* were observed about 3% higher than freshwater *S. platensis*. Cytotoxicity (HEK293) and inhibition ratio of cancer cell line (A549, AGS, MCF7, Hep3B) in adding of the extracts from the *S. platensis* of seawater and freshwater were measured by SRB assay. Cytotoxicity of all of the extracts in adding 1.0 mg/ml was below 26%. Cytotoxicity of the extracts from the seawater *S. platensis* were about 6% less than freshwater *S. platensis*. Inhibition ratio of cancer cell growth was inhibited by adding 1.0 mg/ml of the extracts that was obtained about 80%. Inhibition effect of cancer cell growth in adding seawater *S. platensis* was observed higher than freshwater *S. platensis*. Differentiation ratio of HL-60 cells in adding the extracts of seawater *S. platensis* was observed highly that was 160.9%.

Key words: Seawater culture, freshwater culture, cytotoxicity, anticancer activity, selectivity, *Spirulina platensis*

*Spirulina*는 주로 열대 지방의 염호에서 서식하며 길이 300~500 μm , 직경 8 μm 인 미세조류이다. 35억 년 전에 지구상에 나타났으며 그 모양이 나선형(spiral)이어서 *Spirulina*라는 이름이 붙여졌다. 섬유소가 없어 세포막으로 인해 체내에서 소화와 흡수가 빠르고, 100 g당 498 Kcal의 열량을 가지고 있다. 현재 35종정도가 밝혀져 있으며 온대지방과 한대지방에도 분포되어 있으나 식량으로 이용되는 것은 대형이며 증식력이 강한 아프리카와 중남미의 열대 및 아열대 지방의 호수에서 성장한다. 그 중 산업용으로 배양 생산되고 있는 *Spirulina*는 *Arthrospira maxima*와 *Arthrospira platensis*이다 [9, 18].

여러 연구에서 *S. platensis*의 성분 중 carotinoid 색소와 Phycocyanin, Ca-SP(Calcium spirulan), α -Tocopherol, Novel sulfated polysaccharide 등이 잠재적인 항암 효과 및 항노화, 색소 및 종양 전이 억제, 항산화와 염증 방지에 대한 효과를 제시하였으며 기능성식품으로의 그 가능성이 밝혀지고 있다[2, 5, 8, 11, 15]. 또한 *S. platensis* 추출물의 섭취로 인해 항바이러스 활성능 향상과 항산화와의 관계, 면역능과의 관계, 신장결석과의 관계, 국소 빈혈과 대뇌경색과의 관계, 폐

경기 이후 질병예방능력 등 면역체계를 강화시키고 생체 방어능력을 증가시키는 것을 확인하였다[6, 7, 9, 4]. 그밖에 잉어의 생장촉진, 색상의 선명도 증가[12], 새의 수정율 증가 등 사료로서의 가치도 인정받고 있다.

이와 같은 연구는 담수에서 성장하는 담수 미세조류를 이용한 실험의 결과들이고, 해수에서 성장한 해수 미세조류에 대한 연구에는 Cadmium(II)의 체외배출[16], sporochloas의 합성[13], 그리고 해수 *Chlorella*에 대한 배양 시 최적화 연구[17] 등으로 해수 미세조류를 이용한 생리활성과 관련된 연구는 거의 이루어지고 있지 않은 실정이다.

이에 본 연구에서는 *S. platensis*의 추출물을 이용하여 항암효과를 밝히고 macrophage나 granulocyte로 분화되어 사멸[3]하는 인간 전골수세포인 HL60을 이용한 세포 분화도를 측정하여 항암활성이 우수한 *S. platensis*의 배양조건을 확립하고 추출할 때의 알맞은 용매를 선정하여 이를 이용한 기능성 식품 분야에 바탕 자료로서 가치를 지니게 하기 위해 본 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

재료 및 추출

본 실험에 사용한 시료는 *S. platensis* 분말로서 담수배양 *S. platensis*는 담수를 이용하여 염도는 35‰, pH는 9~11을

*Corresponding author
Tel: 82-33-250-6455, Fax: 82-33-256-4819
E-mail: hyeonl@kangwon.ac.kr

맞추어 옥외 광합성 배양법으로 배양한 제품으로 미국의 Earthrise사의 Spirulina Natirual 제품을 사용하였으며, 해수 배양 *S. platensis*는 하와이 해수를 이용하여 옥외 광합성 배양법에 의해 배양한 제품으로 미국 Nutrex사의 하와이산 *S. platensis*를 제조한 Pacifica Spirulina를 사용하였다.

추출 방법으로는 물을 이용한 경우 추출온도는 60°C와 100°C, 에탄올을 이용한 경우 추출온도는 60°C에서 수직 환류 냉각기가 부착된 추출 flask에 시료 중량에 대하여 각각 10배의 용매를 이용하여 12시간 동안 2회 반복 추출하였다. 얻어진 각각의 추출물들은 감압 여과장치로 여과하여 농축 후 동결건조한 뒤에 각각의 수율을 계산하였다.

시약

세포배양에 필요한 배지로 RPMI 1640과 DMEM F12는 Gibco(USA)로부터 구입하였고, 혈청은 Hyclone(USA)사의 fetal bovine serum을 이용하였다. HEPES buffer, gentamycin sulfate, trypsin-EDTA는 Sigma사의 것을 사용하였고, 세포염색을 위해서 필요한 sulforhodamine B(SRB)는 Sigma사로부터 구입하여 실험에 사용하였다. 세포 분화도를 측정하기 위한 시약인 Triton x-100, 4-nitrophenyl phosphate는 Sigma사로부터 구입하여 실험에 사용하였다.

세포주 및 세포배양

실험에 이용된 세포주는 암세포로 인간 폐암세포인 A549 (Lung carcinoma, human, ATCC, U.S.A.), 인간 위암세포인 AGS(Stomach adenocarcinoma, human, ATCC, U.S.A.), 인간 간암세포인 Hep3B(Hepatocellular carcinoma, human, ATCC, U.S.A.), 인간 유방암세포인 MCF7(Breast adenocarcinoma, human, ATCC, USA)를 사용하였고, 시료 자체의 세포 독성을 알아보기 위한 정상세포로는 인간 신장세포인 HEK293(Kidney normal, human, ATCC, U.S.A.)를 사용하였다. 그리고 세포 분화도를 측정하기 위해서 인간 전과립 세포(human promyelocytes; HL60)를 사용하였다. 실험에 사용된 암세포 RPMI 1640배지(A549, AGS)와 DMEM F12배지(Hep3B, MCF7)를 정상세포는 DMEM배지에 10% heating-inactivated FBS를 첨가시켜 배양하였다.

세포 독성실험 및 암세포의 생육 저해 효과 측정

SRB(sulforhodamine B) assay[14]는 세포 단백질을 염색하여 세포의 증식이나 독성을 측정하는 방법으로 실험에 사용된 세포주로는 HEK293(Kidney normal)를 이용하여 세포 독성을 측정하였고, A549(Lung carcinoma)와 AGS(stomach adenocarcinoma), Hep3B(Hepatocellular carcinoma)와 MCF7(Breast adenocarcinoma)를 이용하여 항암 활성을 측정하였다. 실험 대상 세포의 농도를 4~5×10⁴ cells/ml으로 96 well plate의 각 well에 100 μl씩 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 μl씩 첨가하여 48시간 배양하였다. 배양이 완료된 후에 상등액을 제거하고 4°C의 10%(w/v) TCA(trichloroacetic acid) 100 μl를 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 μl씩 첨가하고 상온에서 30분 동안 염색시켰다. 결합되지 않은 SRB 염색액은 1% acetic acid로 4~5회 정도 세척, 건조시킨 후에 10 mM Tris buffer 100 μl를 첨가하여 염색액을 녹여낸 후 540 nm에서 microplate reader(Molecular Devices, THERMO max, U.S.A.)를 이용하여 흡광도를 측정하였다.

Selectivity 측정은 SRB assay를 이용하여 정상세포(HEK293)에 대한 각 sample 농도에서 세포독성을 측정하고, SRB assay를 이용하여 각 암세포주의 생육 억제 활성을 측정 한 후 각 농도에서의 세포 독성에 대한 암세포 생육 억제 활성의 비로 selectivity를 계산한다.

$$\text{Selectivity} = \frac{\text{암세포생육억제활성}}{\text{정상세포의 세포독성}}$$

세포의 분화도 측정

세포 분화 측정에 사용된 세포주는 HL60(ATCC)이며 이를 RPMI 1640배지에 10% heat-inactivated FBS(fetal bovine serum)으로 37°C, 5% CO₂ incubator에서 배양하였다. 세포 분화의 정량적인 수치를 측정하기 위해 세포의 농도가 4~5×10⁴ cells/ml로 포함된 배지를 24 well plate에 900 μl씩 첨가하여 24시간 동안 배양하였다. Sample을 농도별로 100 μl씩 첨가하여 24시간 다시 배양하였다. 이것을 24시간 간격으로 배양하면서 배지를 pipetting 하여 15 ml C-Tube에 옮겨 320 × g에서 10분간 원심분리 하였다. 배지를 제거한 후 0.1% Triton x-100을 200 μl씩 첨가한 후 incubator에서 30분간 용해하였다. 용해된 solution 20 μl를 96 well plate에 옮긴 후 3 mg/μl의 4-nitrophenyl phosphate가 든 50 mM acetate buffer(pH 5.0)를 100 μl씩 넣은 후 37°C에서 1시간 동안 반응시켰으며 반응 정지를 위해 0.1N NaOH 100 μl를 첨가한 후 ELISA Leader로 405 nm에서 흡광도를 측정하였다[1, 19].

결과 및 고찰

추출 수율

미세조류인 *S. platensis*를 담수 및 해수에서 배양한 후 추출조건에 따른 수율을 비교하여 Table 1에 나타내었다. 해수 배양 *S. platensis*가 담수 배양 *S. platensis*보다 높은 추출수율을 나타내었다. 즉, 해수 배양 *S. platensis*에서는 물 100 °C에서 19.8%, 60°C에서는 18.16%로 담수 배양 *S. platensis*의 각각 14.17%, 17.69%보다 높은 추출 수율을 나타내었다.

Table 1. Comparison of the extraction yields from seawater and freshwater *Spirulina platensis*.

<i>Spirulina platensis</i>	Water Ex. 60°C	Water Ex. 100°C	EtOH Ex. 60°C
Seawater (%)	18.16	19.8	18.3
Freshwater (%)	17.69	14.17	16.66

에탄올 추출물의 경우도 해수 배양 *S. platensis*가 담수 배양 *S. platensis*보다 더 높은 추출 수율을 나타내었다. 이것은 해수 배양 *S. platensis*가 담수 배양 *S. platensis*보다 더 많은 성분을 함유하고 있는 것으로 판단된다.

세포 독성 실험 측정 결과

담수 및 해수에서 배양된 *S. platensis* 추출물의 세포독성 비교를 sulforhodamine B assay인 SRB 방법을 사용하여 측정한 결과 모든 추출물에서 세포독성은 농도 의존적으로 증가하는 경향을 나타내었고, 최고 투여농도인 1.0 mg/ml에서 담수의 60°C 에탄올 추출물이 25.8%로 가장 높은 독성을 보였다. 가장 낮은 세포 독성 효과를 나타낸 것은 해수 배양 *S. platensis*로 1.0 mg/ml의 농도에서 20.9%의 효과를 나타내었다. 대체적으로 담수 배양 *S. platensis*보다 해수 배양 *S. platensis*가 모든 추출물에서 비교적 낮은 세포 독성을 나타내었고, 담수와 해수 배양 *S. platensis* 모두 최고 농도인 1.0 mg/ml의 농도에서 26% 이하의 세포 독성을 나타내어 비교적 정상세포에 대한 세포 독성이 적은 것으로 나타났다 (Fig. 1). 이 결과를 바탕으로 담수 및 해수배양 *S. platensis* 는 인체에 큰 독성을 나타내지 않는 것으로 사료되어 진다.

암세포 생육 저해 효과

암세포 생육 저해 효과는 인간 폐암세포(A549)와 위암세포

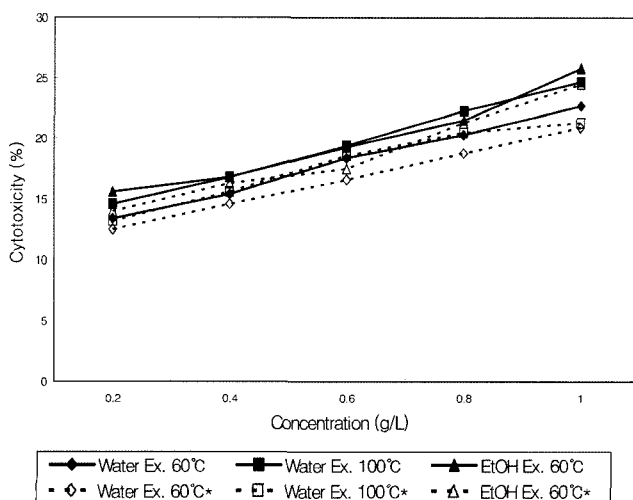


Fig. 1. Cytotoxicity of the extracts from the seawater (*) or freshwater cultured of *Spirulina platensis* on normal cell lines, HEK293.

포(AGS), 유방암 세포(MCF7)와 간암세포(Hep3B)를 이용하여 SRB 방법을 이용하여 암세포 억제 활성을 측정하였다. 그리고 각 농도에서 정상세포에 대한 암세포의 생육 억제 활성의 비를 나타내는 선택적 사멸도(selectivity)를 구하였다.

먼저 인간 폐암세포(A549)에 대한 생육 억제 활성 및 선택적 사멸도를 측정한 결과 억제활성의 경우 대부분의 시료에서 농도 의존적으로 증가하는 경향을 나타내었으며, 대체적으로 해수 *S. platensis*에서 담수 *S. platensis*보다 더 높은 암세포 억제 활성을 나타내었다. 그 중 가장 좋은 암세포 억제 효과를 나타낸 것은 해수 배양 *S. platensis*의 60°C 물 추출물로서 1.0 mg/ml의 농도에서 86.7%의 높은 암세포 억제 활성을 나타내었다. 그리고 담수와 해수 배양 *S. platensis* 추출물 모두 농도 1.0 mg/ml일 때 70% 이상의 높은 암세포 억제 활성을 나타내었다. 선택적 사멸도 또한 모든 농도에서 1.5~4의 높은 선택적 사멸도를 나타내었다(Fig. 2). 선택적 사멸도는 정상세포의 세포독성에 대한 암세포 생육억제 활성의 비로 나타낸 것으로 보통 1.5이상일 때 암세포에 대한 선택성이 있어 선택적으로 정상세포보다 암세포의 생육을 억제한다고 할 수 있다.

인간 위암세포(AGS)에 대한 암세포 생육억제 활성 및 선택적 사멸도를 측정한 결과 대부분의 추출물에서 농도 의존적으로 증가하는 경향을 나타내었고, 농도가 1.0 mg/ml일 때 가장 높은 암세포 억제 활성을 나타내었다. 이 세포주에 대해서도 해수 *S. platensis*가 담수 *S. platensis*보다 높은 암세포 생육 억제 활성을 나타내었으며, 60°C 물 추출물의 해수 *S. platensis*에서 1.0 mg/ml의 농도에서 80.4%로 가장 높은 암세포 억제 활성을 나타내었다. 선택적 사멸도 또한 1.5에서 4사이로 비교적 높은 선택적 사멸도를 나타내었다(Fig. 3)

인간 유방암 세포인 MCF-7을 이용하여 생육억제 활성 및 선택적 사멸도를 측정한 결과 모든 시료에 대해 농도 의존적으로 증가하는 경향을 나타내었고, 담수와 해수 *S. platensis* 모두 1.0 mg/ml의 농도에서 70% 이상의 높은 암세포 억제 활성을 나타내었다. 여기서도 알 수 있듯이 해수 *S. platensis*와 담수 *S. platensis*를 비교했을 때 해수에서 얻은 *S. platensis*가 더 높은 암세포 억제 활성을 나타낸 것을 확인할 수 있었다. 그 중 가장 높은 억제 활성을 나타낸 것은 해수 *S. platensis*의 60°C 물 추출물로서 농도 1.0 mg/ml에서 80.4%의 높은 암세포 억제 활성을 나타내었다. 선택적 사멸도 또한 모든 농도에서 1.5 이상으로 높은 선택적 사멸도를 나타내었다(Table 2).

인간 간암 세포(Hep3B)에 대한 암세포 억제 활성 및 선택적 사멸도를 측정한 결과는 앞의 세 가지 암세포 주와 마찬가지로 모든 시료에 대해 농도 의존적으로 증가하는 경향을 나타내었다. 그리고 이 암세포 주에 대해서도 해수 *S. platensis*가 높은 암세포 억제 활성을 나타내었다. 해수 *S. platensis*의 60°C 물 추출물과 100°C 물 추출물의 암세포 억제 활성은 1.0 mg/ml의 농도에서 각각 83.4%, 82.6%로 높

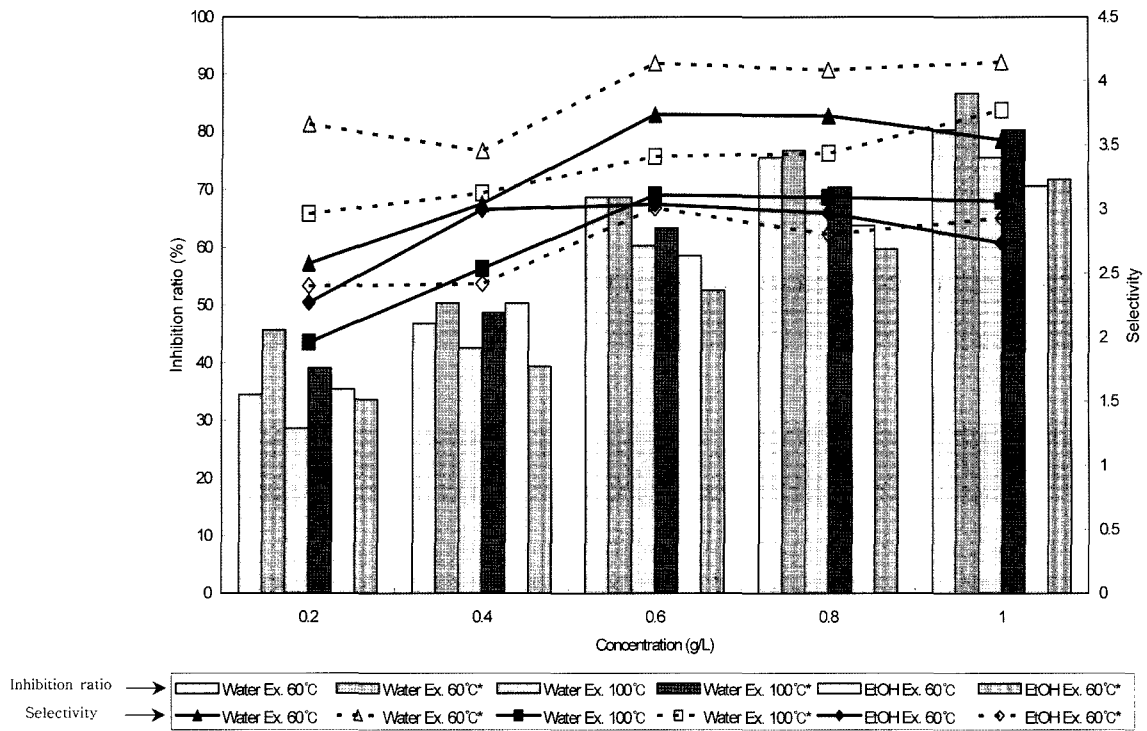


Fig. 2. Inhibition ratio of growth of A549 (bar chart, %) and selectivity (scatter line) in adding the extracts from the seawater (*) and freshwater of *Spirulina platensis*.

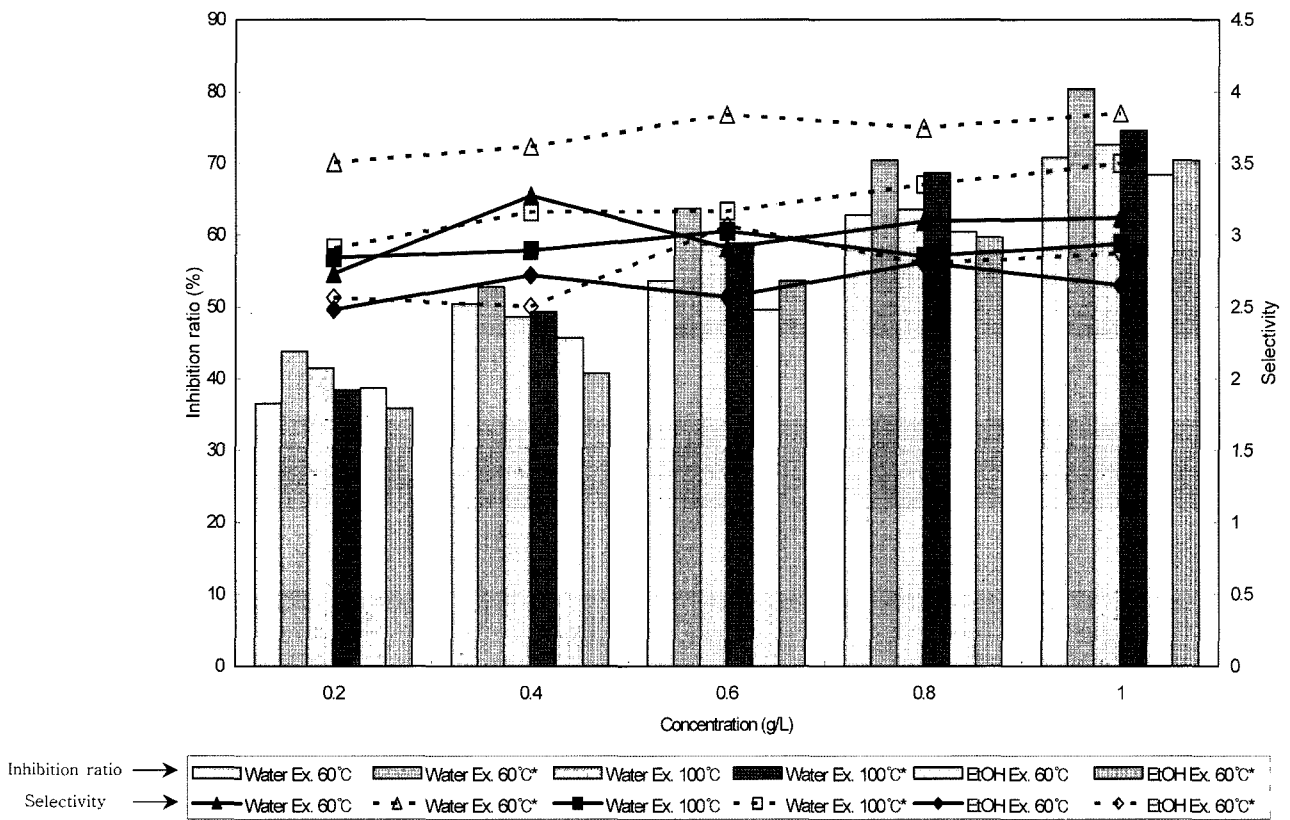


Fig. 3. Inhibition ratio of growth of AGS (bar chart, %) and selectivity (scatter line) in adding the extracts from the seawater (*) and freshwater of *Spirulina platensis*.

Table 2. Inhibition ratio of growing of MCF7, Hep3B and selectivity in adding the extracts from seawater (*) and freshwater *Spirulina platensis*.

Spirulina platensis	Concentration (g/L)	Inhibition ratio (%)		Selectivity	
		MCF7	Hep3B	MCF7	Hep3B
Water Ex. 60°C	0.2	46.7	40.2	3.49	3
	0.4	51.7	53.7	3.36	3.49
	0.6	66.8	62.7	3.63	3.41
	0.8	72.8	77.9	3.59	3.84
	1.0	78.7	80.4	3.47	3.54
Water Ex. 60°C*	0.2	45.7	43.7	3.66	3.5
	0.4	54.8	52.4	3.75	3.59
	0.6	63.2	66.8	3.81	4.02
	0.8	70.4	76.9	3.74	4.09
	1.0	80.4	83.4	3.85	3.99
Water Ex. 100°C	0.2	40.8	37.5	2.79	2.57
	0.4	52.7	50.7	3.14	3.02
	0.6	60.7	64.8	3.13	3.34
	0.8	64.8	70.8	2.91	3.17
	1.0	75.4	73.8	3.05	2.99
Water Ex. 100°C*	0.2	46.3	42.9	3.51	3.25
	0.4	50.4	54.8	3.23	3.51
	0.6	59.6	60.8	3.2	3.27
	0.8	70.3	72.6	3.43	3.54
	1.0	78.9	82.6	3.7	3.88
EtOH Ex. 60°C	0.2	39.4	37.4	2.53	2.4
	0.4	43.7	48.7	2.6	2.9
	0.6	59.4	57.4	3.08	2.97
	0.8	63.5	63.8	2.95	2.97
	1.0	73.4	72.8	2.84	2.82
EtOH Ex. 60°C*	0.2	42.5	43.7	3.04	3.12
	0.4	55.7	52.7	3.42	3.23
	0.6	64.5	60.5	3.69	3.46
	0.8	73.4	72.5	3.45	3.4
	1.0	76.4	77.7	3.12	3.17

은 억제 활성을 나타내었고, 이와 비교하여 담수 *S. platensis* 도 80.4%, 73.8%로 비교적 높은 암세포 억제 활성을 나타내었다. 모든 추출물에 대해 1.0 mg/ml의 농도에서 70% 이상의 높은 억제 활성을 나타내었다. 그리고 선택적 사멸도 또한 모든 농도에서 1.5~4의 선택적 사멸도를 나타내어 대체적으로 암세포에 대한 선택적 사멸도가 좋은 것으로 나타났다(Table 2).

이 결과 담수와 해수에서 배양한 *S. platensis*가 이 4가지 암세포 주에 대해 생육 억제 활성이 높은 것을 확인할 수 있었고, 그 중 해수에서 배양한 *S. platensis*가 담수에서 배양한 *S. platensis*보다 높은 항암 효과를 나타내었다. 이는 *S. platensis*의 배양조건이 고염도의 알칼리성이기[9] 때문에 담수 보다는 해수가 *S. platensis*의 배양 조건에 더 적합하고, 해수에는 인체에 필요한 미네랄이나 무기염류 등이 담수보

다 많이 함유되어있어 해수에서 배양한 *S. platensis*가 담수에서 배양한 *S. platensis*보다 항암 효과에 더 좋은 성분을 함유하고 있는 것으로 사료된다. 그리고 물과 에탄올을 이용하여 추출한 결과 물을 이용하여 추출한 *S. platensis*가 에탄올을 용매로 하여 추출한 추출물보다 더 높은 항암 활성을 나타낸 것으로 *S. platensis*에는 항암 활성에 효과가 있는 수용성 성분이 더 많이 함유되어 있는 것으로 사료된다. 앞으로 해수에서 배양한 *S. platensis*의 유용 성분의 분석 및 구조분석이 요구된다.

세포의 분화도 측정 결과

세포 분화는 수정란으로부터 유래된 미분화 세포가 특정 형질을 갖는 세포들로 변화되어 가는 과정이며, 이러한 과정은 여러 신호 전달 체계와 유전자의 형질 발현의 조절에 기인한다. 이러한 세포 분화로 인하여 세포와 세포간의 신호 전달 체계에 영향을 미쳐 세포의 구조와 기능을 결정하게 되는 것이다. 인간 전골수세포인 HL-60은 macrophage나 granulocyte로 분화가 되어 사멸하는 기작을 가지고 있어[3] 암세포인 HL-60의 세포의 분화도가 증가하는 경향을 보임으로서 항암 효과를 가지고 있다고 할 수 있다.

담수와 해수 *S. platensis*의 HL-60세포의 분화도를 살펴본 결과는 Fig. 4에서 나타내었다. HL-60세포에 각 시료를 1.0 mg/ml의 농도로 투여한 후, 5일 동안 세포의 분화도를 관찰한 결과이다. 모든 시료에서 시간 의존적으로 분화도가 증가하는 경향을 나타내었고, 담수와 해수 *S. platensis*의 추출물을 비교한 결과 해수 *S. platensis*에서 더 높은 세포 분화 활성을 나타내었다. 그 중 해수 *S. platensis*의 60°C, 물 추출물에서 5일째 160.9%로 가장 높게 나타났고, 이와 비교해 담수 *S. platensis*는 148.6%를 나타내 해수 *S. platensis*의 추출물에서 더 높은 세포 분화도를 나타내었다. Fig. 5는 세포의 분화되는 모습을 찍은 사진으로 60°C에서 물을 이용하여 추출한 추출물을 첨가하여 3일째 되는 날 찍은 사진으로 해수를 이용하여 배양한 *S. platensis*에서 분화되는 모습이 가장 많은 것을 확인 할 수 있었다. 이는 앞선 실험에서 해수 *S. platensis*에서 암세포 생육 억제 활성이 가장 높게 나타낸 것과 같은 이유라고 사료되어진다.

요 약

담수 혹은 해수에서 배양한 *S. platensis*의 추출조건에 따른 수율을 비교하기 위해 60°C와 100°C에서 물과 에탄올을 이용하여 추출하여 추출 수율을 비교한 결과 해수 *S. platensis*가 약 3% 정도 높은 추출 수율을 나타내었다. 그리고 각 추출물의 정상세포에 대한 세포 독성을 살펴보기 위하여 인간 정상 신장 세포(HEK293)를 이용하였으며, 모든 시료에서 1.0 mg/ml의 농도에서 26%이하의 비교적 낮은 세포독성을 나타내었고, 그 중 해수 *S. platensis*가 담수 *S.*

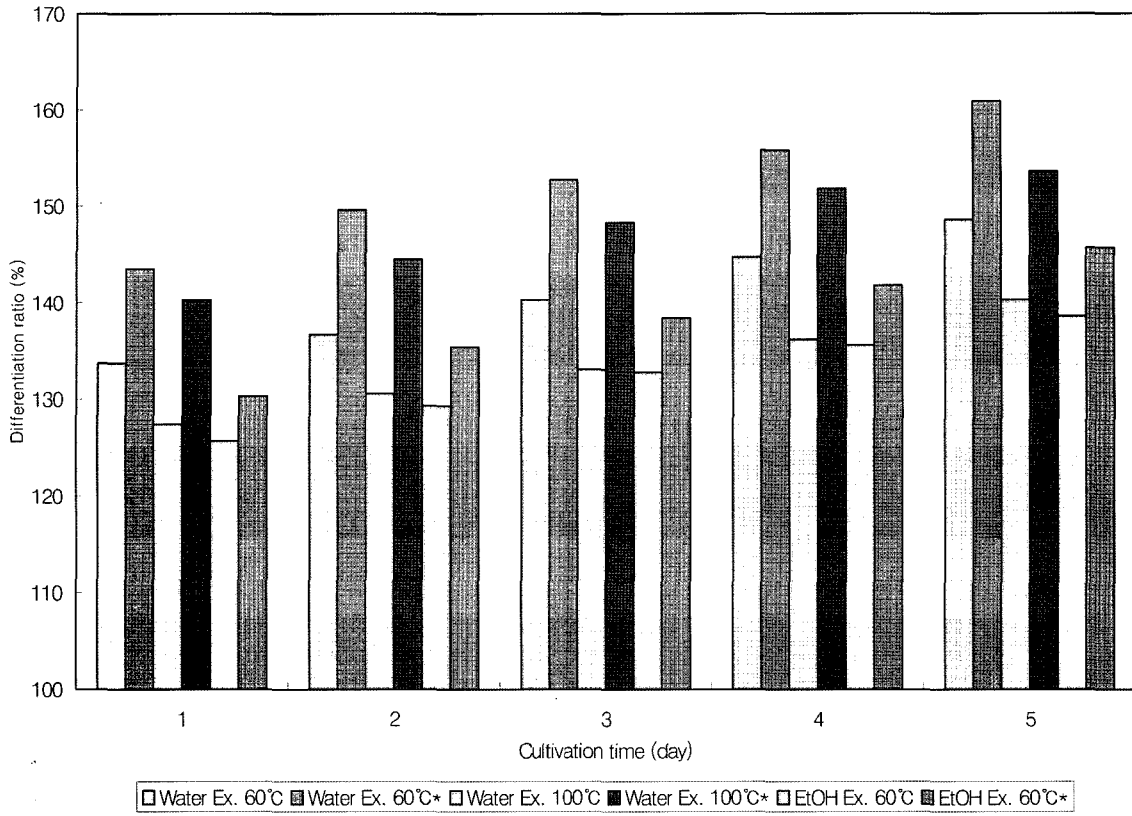


Fig. 4. Differentiation of HL-60 cells in adding the extracts from the seawater (*) and freshwater of *Spirulina platensis*.

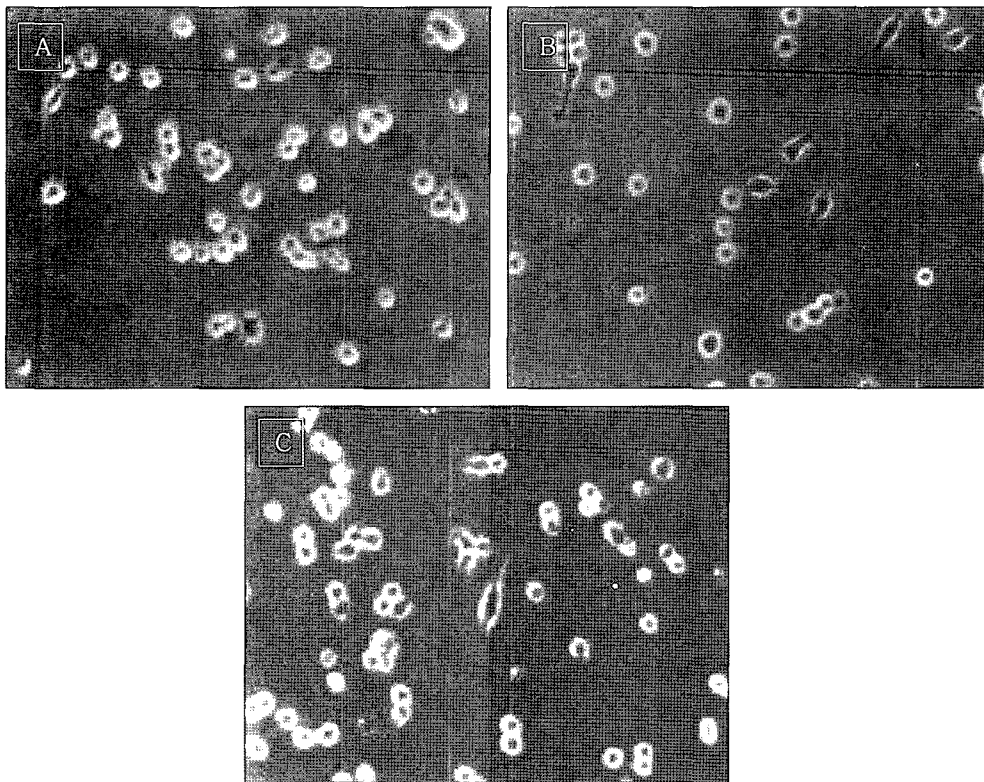


Fig. 5. Differentiation of HL-60 cells in adding the extracts from the *Spirulina platensis*. (A) no addition (3 days), (B) freshwater *Spirulina platensis* (3 days), (C) seawater *Spirulina platensis* (3 days)

*platensis*보다 약 5% 정도 낮은 세포독성을 나타내었다. 그리고 암세포에 대한 암세포 생육 억제 활성을 측정된 결과 4가지 암세포 주인 폐암세포(A459)와 위암세포(AGS), 유방암세포(MCF-7)와 간암세포(Hep3B)에 대해 모든 추출물에 대해 1.0 mg/ml의 농도에서 70% 이상의 높은 암세포 생육 억제 효과를 나타내었고, 그 중 해수 *S. platensis*의 60°C 물 추출물에서 80% 이상으로 가장 높은 암세포 생육 억제 효과를 나타내었다. 선택적 사멸도는 모든 암세포에서 1.5 이상으로 나타나 암세포에 대해 선택적으로 사멸시키는 것으로 나타났다. 담수 혹은 해수를 사용하여 배양한 경우 해수 *S. platensis*가 추출 수율뿐만 아니라 정상세포에 대한 세포독성 및 암세포 생육 억제 활성에서 높은 효과를 나타내었다. 인간 전골수세포인 HL-60세포를 이용한 세포분화도를 측정된 결과 60°C에서 물을 이용하여 추출한 해수 *S. platensis*에서 담수 *S. platensis*보다 5일째 약 20% 정도의 높은 세포 분화 활성을 나타내었다.

감사의 글

본 연구는 산업자원부 지방기술혁신산업(RTI05-01-02) 지원으로 수행되었음.

REFERENCES

- Bang, O. S., Y. S. Lee, and S. S. Kang. 1993. A possible role of fibronectin on the differentiation of monocyte to macrophage. *Kor. J. Zool.* **36**: 514-521.
- Diego, J. M., C. Gomez, E. Ibanez, F. J. Ruperez, and C. Barbas. 2004. Tocopherol measurement in edible products of vegetable origin. *J. Chromatography A* **1054**: 227-233.
- Edmund, K. W. and P. S. Wolf. 1985. Induction of fibrinolytic activity in Hela cells by phorbol myristate acetate. *J. Biol. Chem.* **260**: 6354-6360.
- Frooq, S. M., A. S. Ebrahim, D. Asokan, R. Sakthivel, S. Savitha, N. G. Rajesh, and P. Varalakshmi. 2005. Credentials of *Spirulina* diet on stability and flux related properties on the biomineralization process during oxalate mediated renal calcification in rats. *Clin. Nutr.* **24**: 932-942.
- Grinstead, G. S., S. S. Tokach, R. D. Goodband, and J. L. Nelssen. 2000. Effects of *Spifulina Platensis* on growth performance of weanling pigs. *Anim. Feed Sci. Technol.* **83**: 237-247.
- Hernandez, A. C., I. Nieves, M. Meckes, G. Chamorro, and B. L. Barron. 2002. Antiviral activity of *Spirulina Maxima* against Herpes simplex virus type 2. *Antiviral Res.* **56**: 297-285.
- Herrero, M., E. Ibanez, J. Senorans, and A. Cifuentes. 2004. Pressurized liquid extracts from *Spirulina platensis* microalga Determination of their antioxidant activity and preliminary analysis by micellar electrokinetic chromatography. *J. Chromatography A* **1047**: 195-203.
- Kaji, T., Y. Fujiwara, Y. Inomata, C. Hamada, C. Yamamoto, S. Shimada, J. B. Lee, and T. Hayashi. 2002. Repair of wounded monolayers of cultured bovine aortic endothelial cells is inhibited by calcium spirulan, a novel sulfated polysaccharide isolated from *Spirulina platensis*. *Life Sci.* **70**: 1841-1848.
- Kay, R. A. 1991. Microalgae as food and supplement. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **30**: 555-573.
- Kim, W. Y. and J. Y. Park. 2004. The effect of *Spirulina* on lipid metabolism, antioxidant capacity and immune function in Korean elderlies. *Kor. Soc. Med. Crop Sci.* **36**: 287-297.
- Lee, H. S., S. H. Lee, H. C. Mun, and H. Y. Lee. 2003. Screening of the immuno-stimulatory activity of the marine alga *Chlorella capsulate*, *Kor. J. Biotechnol. Bioeng.* **18**: 19-24.
- Nandeesh, M. C., B. Gangadhara, K. K. Manissery, and L. V. Venkataraman. 2001. Growth performance of two Indian major carps, catla (catla catla) fed diets containing different levels of *Spirulina platensis*. *Bioresource Technol.* **80**: 117-120.
- Pairat, K. and Y. Qiming. 2001. Cadmium(II) removal from aqueous solutions by pre-treated biomass of marine alga *Padina sp.* *Environ. Pollution* **112**: 209-213.
- Rubinstein, L. V., R. H. Shoemaker, and M. R. Boyd. 1990. Comparison of in vitro anticancer drug-screening data generated with a tetrazolium assay versus a protein assay against a diverse panel of human tumor cell lines. *J. Natl. Cancer Inst.* **82**: 1113-1118.
- Saiki, I. 1999. *Spirulina* 1st ed. *Hangarm Press.* 62.
- Singh, A., S. P. Singh, and R. Bamezai. 1998. Perinatal influence of *Chlorella vulgris* (E-25) on hepatic drug metabolizing enzymes and lipid peroxidation. *Anticancer Res.* **18**: 1509-1514.
- Susumu, O., K. Atsuhito, H. Taisuke, K. Takato, K. Tatsuhiko, and N. Maki. 2002. Total synthesis of spirochols, fish deterrents from a marine alga. *Tetrahedron Lett.* **43**: 4641-4644.
- Yang, H. N., E. H. Lee, and H. M. Kim. 1997. *Spirulina platensis* inhibits anaphylactic reaction. *Life Sci.* **61**: 1237-1244.
- Yen, Y. and D. L. Guernsey. 1986. Increased c-myc RNA levels associated with the precommitment state during HL-60 myeloid differentiation. *Cancer Res.* **46**: 4156-4161.

(Received Dec. 8, 2005/Accepted Mar. 30, 2006)