

자두 추출물이 인체 상피세포와 자궁경부암세포의 증식에 미치는 효과

한만덕¹ · 권두한² · 강병태³ · 이재우⁴ · 윤옥현^{4*}

¹순천향대학교 생명과학과, ²한국생명공학연구원 세포신호전달연구실, ³김천대학 호텔조리제빵과, ⁴김천대학 식품영양조리과

The Effects of Plum Extracts on the Proliferation of Human Epithelial Cell and Human Cervical Cancer Cells

Man-Deuk Han¹, Dur-Han Kweon², Byung-Tae Kang³, Jae-Woo-Lee⁴ and Ok Hyun Yoon^{4*}

¹Department of Biology, Soonchunhyang University, Asan, Chungnam, 336-745, Korea

²Natural Medicines Research Center, Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, P.O. Box 115, Yuseong, Daejeon, 305-600, Korea

³Department of Hotel Culinary Arts & Baking Technology, Gimcheon College, Gimcheon, Gyeongbuk, 740-704, Korea

⁴Department of Food Nutrition & Culinary Arts, Gimcheon College, Gimcheon, Gyeongbuk, 740-704, Korea

Abstract

This study was designed to investigate the effects of plum (*Prunus salicina* Lindl. cultivars 'Oishiwase', 'Formosa', and 'Soldam') extracts on the proliferation as well as inhibition of human epithelial cells (HaCaT), human cervical carcinoma (HeLa, SiHa, and C33A) cells, and human stomach adenocarcinoma (SNU 638) cells. Dried plum was sequentially extracted and fractionated by hexane (KC-01), chloroform (KC-02), ethyl acetate (KC-03), n-butanol (KC-04), water (KC-05), methanol (KC-06), and hot water extract (KC-07). The epithelial and cancer cells were exposed for 48 h to 50 µg/mL of plum extract *in vitro*, and were then analysed by a sulforhodamin B (SRB) staining assay. The methanol extract (KCP-6) of 'Formosa' proliferated not only the HaCaT cells (147.3%), but also the cervical carcinoma C33A cells (167.8%). The ethyl acetate extract of 'Soldam' (KCJ-3) significantly reduced the proliferation rate of the HPV positive cervical carcinoma cells, at 61.5% for the SiHa cells and 70.5% for the HeLa cells. In the C33A cells, which are HPV negative cervical carcinoma cells, the hexane fractions of 'Formosa' (KCP-1) and 'Oishiwase' (KCD-1) markedly suppressed proliferation activity at 20.4% and 61.7%, respectively. However, the proliferation rate of the normal epithelial cells (HaCaT cell) was not reduced the proliferation rate by KCJ-3, KCP-1, or KCD-1. There were no significant effects on proliferation of the stomach cancer cells (SNU 638) by any of the extracts or fractions of the plum cultivars. These results suggest that the anti-proliferative effects of the plum cultivars were selective to the cancer cell origin. In conclusion, we found that several plum cultivar extracts, especially, the ethyl acetate fraction of 'Soldam' and the hexane fraction of 'Formosa', have anti-proliferative activity toward human cervical carcinoma cells. However, further investigation is needed to assess the molecular mechanisms that mediate the antiproliferation activities of the plum cultivars.

Key words : Plum extract, anti-proliferative effect, cervical carcinoma cell, epithelial cell.

서 론

자두는 장미과, 빛나무속, 자두이속에 속하며, 전 세계적으로 40여 품종이 존재한다 (Okie WR & Weinberger 1996). 품종으로는 유럽계 자두 (*Prunus domestica* L.)로 자색에서 흑색을 띠는 것과 일본계 자두 (*Prunus salicina* Lindl.)로 황색에서 진홍색을 띠는 것이 있다. 우리나라에서는 순수 *P. salicina* 계 품종인 'Soldam'과 'Kelsey'를 비롯하여 *P. americana*, *P. simonii*와 *P. salicina*의 교잡종인 'Formosa', 'Santa Rosa' 그리고 'Formosa'의 자연 교잡종으로 일본에서 육성된 'Oi-

shiwase' (대석조생), 'Oishinakate' (대석신생), 'Wasegekko' (조생월광) 등이 주로 재배되고 있다. *P. domestica* L.은 건자두 형태로, *P. salicina* L.은 생과일 형태로 유통되며, 한국에서 생산되는 주요 품종은 대석조생 (Oishiwase), 포모사 (Formosa), 솔담 (Soldam)이다 (Chung *et al* 1998, Chung KH, 1999). 자두의 식품학적 연구 보고에 의하면 건조 자두, 생자두에 폴리페놀류와 식이섬유가 많이 함유되어 있으며 (Wang *et al* 1996), 이 중 식이섬유는 혈중 콜레스테롤과 LDL 콜레스테롤을 감소시키는 효과가 있는 것으로 밝혀졌다 (Tinker *et al* 1991). 주요 폴리페놀류로는 neochlorogenic acid와 chlorogenic acid 같은 페놀릭산과 quercetin 같은 플라보노이드 (Fang *et al* 2002), 그 외 안토시아닌 (Tomas-Barberan 2001) 등이 있다. 자두는 우수한 완하 효과 (laxative effect)를 나타내어, 서양에서는 전

* Corresponding author : Ok-Hyun Yoon, Tel: +82-54-420-4155, Fax : +82-54-420-4155, E-mail: ohyoon11@hanmail.net

통적으로 변비 및 설사를 개선하는데 애용되어 온 과일이다. 이는 자두에 풍부한 sorbitol, neochlorogenic acid 및 chlorogenic acids에 의한 것으로 보고되었다(Stacewicz-Sapuntzakis *et al* 2001). 한국산 자두의 연구로는 정 등(Jung *et al* 2005)은 대석조생과 포모사의 화학적 특성 및 생리적 연구를 하였으며, Kim *et al*(2000)은 김천산 자두의 물리 화학적 특성과 화학적 조성에 관한 연구를 수행하였다. 오늘날 과일은 우리의 식생활에 중요한 비중을 차지하며, 그 가운데 많은 과일들은 암 발생률을 현저히 저하시키는 것으로 보고되고 있다(Hertog *et al* 1996, Block *et al* 1992, Doll R 1990, van't Veer *et al* 2000). 자두는 미국 농무부(USDA)에서 제시한 food pyramid에서 중앙 발생 위험을 줄일 수 있는 과일로 권장되고 있으며(The USDA Food and Nutrition Information Center 2005), 자두의 폴리페놀 성분이 종양 형성을 억제하는 효과가 큰 것으로 보고된 바 있으나(Lambert *et al* 2005), 특정 한국산 자두에 대한 항암 연구는 이루어지지 않았다. 따라서 본 연구에서는 국내에서 생산되는 *P. salicina* L.계열의 자두 품종인 대석조생, 포모사 및 솔담을 유기 용매로 추출하여, 이를 인체 상피 세포주 HaCat 세포와, 자궁경부암 세포주인 HeLa, SiHa, C33A 세포주, 그리고 위암 세포주인 SNU 638 암 세포주에 처리하여 이들 세포주의 성장에 미치는 효과를 알아보았다.

재료 및 방법

1. 재료

연구에 사용된 자두는 김천 농업직판장에서 판매되는 대석조생(Oishiwase, KCD), 포모사(Formosa, KCP), 솔담(Soldam, KCJ)을 품종별로 완숙과를 구입하였다. 인체 상피세포주 HaCaT와 인체 자궁경부암세포주 HeLa, SiHa, C33A는 한국생명공학연구원이 보유하고 있는 세포주이고, 위암 세포주 SNU 638은 서울대학교 세포주 은행에서 분양받았다. 세포 배양을 위한 Dulbecco's modified Eagle's 배지(DMEM), RPMI 등의 배지는 Gibco BRL사에서 구입하였다.

2. 자두의 유기 용매 추출

자두를 품종별로 수집하여 잘 세척한 다음, 표면의 수분을 제거한 후 자두의 품종별 특성을 조사하였다. 중량은 선발된 생자두의 10 kg을 개별 중량으로 측정하였으며, 제핵한 후 70°C에서 온풍 건조하여 건중량과 수율을 측정하였다. 당도는 품종별로 제핵하여 과육 부분을 분쇄, 착즙 후 굴절 당도계(RA-510, Kyoto Electronics, MFG. Co. Ltd, Japan)로 측정하였다. 유기 용매를 통한 자두의 기능성 성분 추출 방법은 천연물 화학 연구법(Woo WS 2001)이 제시한 방법을 다음과

같이 변형하여 실행하였으며, Fig. 1에 표시하였다. 자두 품종 가운데 건조된 대석조생(KCD)을 분쇄기에서 파쇄한 다음, 추출 용기에 넣고 3배량의 메탄올을 가하여 16시간 동안 냉침시켰다. 메탄올 추출액을 분액깔때기에 넣고, 헥산과 물을 가하였다(자두 메탄올 추출물 : 물 : 헥산 = 1 : 9 : 10). 각각의 용매가 잘 섞이도록 반복적으로 흔들어서 준 다음, 헥산 층과 물 층이 분리되도록 정제하였다. 하층에 형성된 물 층은 잘 분리하여 다른 분액깔때기에 보관하고, 유기 용매 헥산을 동일한 방법으로 첨가하여 3회 반복하여 추출하였다. 분리된 헥산 층은 회전식 진공 추출기(EYELA, Japan)에서 80°C로 감압 농축하여 자두의 헥산 분획 추출물(KCD-1)을 얻었다. 헥산 층과 분리된 하층에는 클로르포름을 동량 가하여 추출한 다음, 3회 반복 추출하여 80°C에서 감압 농축으로 클로르포름 분획물(KCD-2)을 얻었다. 클로르포름 층과 분리된 상층에는 에틸아세테이트를 동량 첨가한 후, 잘 혼합하여 3회 반복 추출한 다음, 80°C에서 감압 농축하여 에틸아세테이트 분획물(KCD-3)을 얻었다. 에틸아세테이트 층과 분리된 하층에는 부탄올을 동량으로 가하고 혼합한 다음 3회 반복 추출하였다. 분리된 상층은 부탄올 층으로 80°C에서 감압 농축하여 부탄올 분획물(KCD-04)을 얻었다. 최종적으로 부탄올 층과 분리된 물 층은 80°C에서 감압 농축하여 물 분획물(KCD-05)을 얻었다. 또한, 최초 메탄올로 침출된 추출물은 80°C에서 농축하여 메탄올 추출물(KCD-06)을 얻었으며, 자두의 열수 추출물(KCD-7)은 건조 자두에 10배량의 물을 넣고 100°C에서 1시간 동안 3회 반복 추출한 후, 여과 및 농축 과정을 거쳐 얻었다. 상기와 같은 방법으로 자두 품종 포모사(KCP) 분획 KCP-1, KCP-2, KCP-3, KCP-4, KCP-5, KCP-6, KCP-7을 얻었으며, 솔담(KCJ, 솔담)의 유기 용매 분획물 KCJ-1, KCJ-2, KCJ-3, KCJ-4, KCJ-5, KCJ-6, KCJ-7을 얻어 실험에 사용하였다.

3. 생리활성 시험

1) 시료의 용해

상기와 같이 분획하여 얻은 자두의 유기 용매 추출물을 DMSO에 용해하여 최종 농도가 50 µg/mL가 되도록 조절하여 각 세포주 배양액에 투여하였다.

2) 상피세포 증식 효과 측정

상피세포 증식 유도에 미치는 영향을 분석하여 세포 성장에 미치는 효과를 알아보기 위하여 상피세포주인 HaCaT 세포를 이용하였다. 사람 상피세포주인 HaCaT 세포는 10% FBS와 항생제(페니실린 100 U/mL + 스트렙토마이신 100 mg/mL)가 첨가된 DMEM 배지에서 배양하였다. 배양된 세포

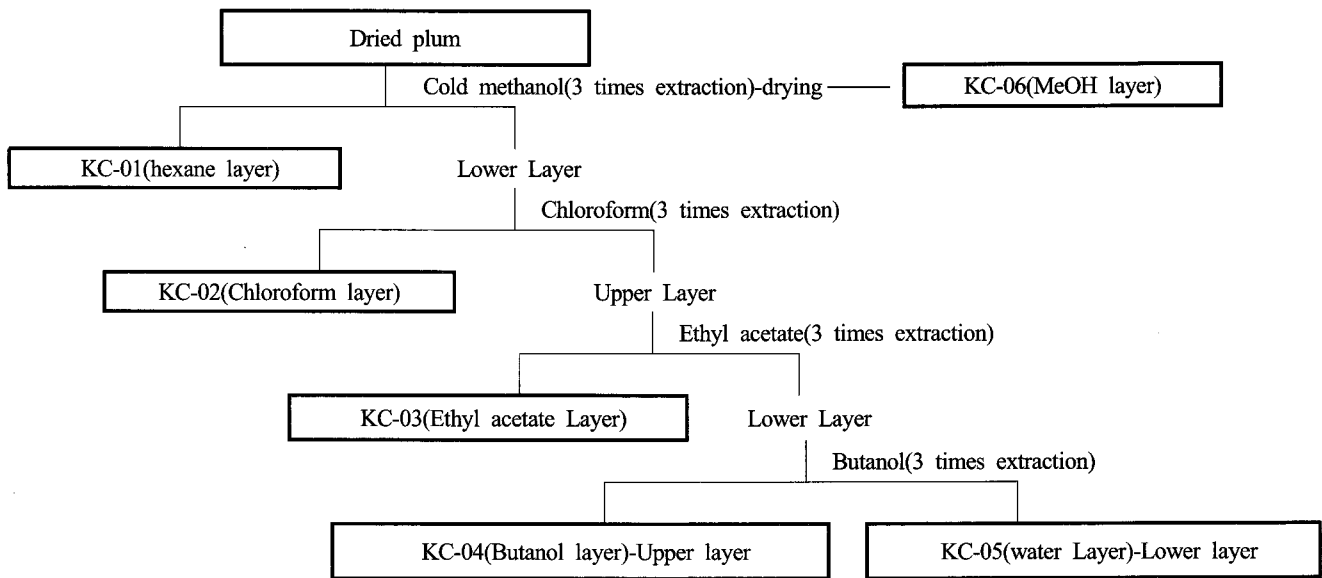


Fig. 1. Schematic diagram of the preparation of organic extracts from dried-plums.

주를 96 well plate에 각각 3×10^4 cell이 되도록 분주한 다음 자두의 유기 용매 추출물 분획들을 각 세포주 배양액에 투여하였다. 시험되는 세포주는 37°C 에서 5% CO_2 를 공급하여 48 시간 동안 배양하였다. 배양 2일 후에 상피세포의 증식능은 약품의 세포 독성능 측정에 이용되는 sulforhodamine(SRB) 염색법(Skehan *et al* 1990)으로 측정하였다. 즉, 48 시간 후에 각 96 well plate 내의 배양액을 제거하고 -20°C 에 보관한 70% acetone 용액을 각 96 plate의 각 well에 $100 \mu\text{L}$ 씩 가한 다음 -20°C 에서 30분간 세포를 고정하였다. 고정이 된 세포는 건조시키고 SRB 용액(0.4% sulforhodamine B in 1% acetic acid)을 $100 \mu\text{L}$ 씩 각 well에 가하고 다시 30분간 세포 단백질 염색시켰다. 세포 단백질과 반응하지 않은 SRB 용액은 1% 초산 용액으로 5회 세척하고 다시 건조한 다음 10 mM Tris base buffer(pH 10.5)를 각 well에 $100 \mu\text{L}$ 씩 넣고 30분간 방치하였다. 각 plate well의 흡광도는 560 nm에서 microplate reader를 이용하여 측정하였다. 추출물을 투여하지 않은 세포군과 투여한 세포군의 세포 증식 분석은 3번의 반복 시험을 통해 평균값과 표준 편차를 구하였다.

3) 자궁경부암세포 및 위암세포주 증식 억제 효과

실험에 사용된 자궁경부암 세포주로는 인체 유두종 바이러스 함유 세포주인 HeLa, SiHa cell과 일반 자궁경부암 세포주인 C33A cell을 사용하였다. SiHa 세포주는 10% fetal bovine serum(FBS)이 첨가된 DMEM 배지를 사용하였으며, HeLa 세포는 L-glutamine(300 mg/L), 25 mM HEPES, 25 mM NaHCO_3 가 첨가된 RPMI1640에 fetal bovine serum(FBS)을 10%를 가하여 만든 배지를 사용하였다. C33A세포주는 DMEM과 F12 배지를 1:1로 혼합하여 FBS를 5% 농도로 첨가한 배지를 사

용하였다.

배양된 각 세포 주들은 96 well plate에 각각 5×10^4 cell이 되도록 분주한 다음 자두의 유기 용매 추출물 분획들을 각 세포주 배양액에 투여하였다. 시험 세포주는 37°C 에서 5% CO_2 를 공급하여 48시간 동안 배양하였다. 배양 2일 후에 암세포의 증식능은 상기와 같이 SRB 염색법으로 측정하였다.

결과 및 고찰

1. 자두의 기능성 성분 추출 및 분리

1) 자두의 품종별 특성

품종별 자두의 개당 평균 중량은 대석조생 68.3g, 포모사 71.5 g, 솔담 81.2 g으로 나타내었으며, 수분 함량은 포모사 92.3%, 대석조생 88.2%, 그리고 솔담 82.3% 순이었다. 당도는 솔담이 14.0°Bx 로 가장 높았고, 포모사 13.5°Bx , 그리고 대석조생 12.9°Bx 로 나타내었다. 자두 추출물을 얻기 위하여 생자두로부터 제핵하여 건조 자두를 제조한 결과 수율은 생자두 중량 대비 4.0~4.41%로 나타났다(Table 1).

2) 추출 유기 용매별 자두 추출물의 수율

건조된 자두로부터 유효 성분을 얻기 위한 일련의 유기 용매로 추출한 결과는 Table 2와 같다. 건조 자두 300 g을 메탄올로 16시간 동안 침지시킨 후, 여과 및 농축하여, 헥산(자두 메탄올 추출물 : 물 : 헥산 = 1 : 9 : 10)으로 가하여 분리된 헥산 추출물(KC-1)은 0.15%의 평균 수율을 나타내었다. 헥산 층으로 분리된 하층에 클로르포름을 넣어 분리된 클로르포름 추출물(KC-2)의 평균 수율은 0.04%이었다. 에틸아세테이트

추출물(KC-3)의 평균 수율은 0.51%이었으며, 부탄올 추출물(KC-04)에서는 1.31%이었다. 최종 분획물중 물 추출물(KC-05)은 0.79%의 평균 수율을 보였으며, 연속적인 유기 용매 추출에 들어가기 전, 초기 메탄올 냉침물을 여과하여 농축된 메탄올 추출물(KC-6)은 1.28%, 그리고 별도의 건조 자두 열수 추출물의 수율(KC-7)은 1.78%였다. 이상과 같은 결과는 자두 품종에 상관없이 열수, 메탄올, 부탄올, 에틸아세테이트, 클로르포름 및 헥산순으로 추출 수율이 높게 나타났다.

2. 자두 추출물의 생리활성 연구

1) 상피세포 증식 효과

자두의 유기용매 추출물 분획에서 상피세포 성장에 미치는 효과를 보고자 상피세포주 HaCaT에 자두의 유기용매 분획별 추출물을 가하고 48시간 후에 분획별 추출물을 가한 각 well의 세포의 형태를 관찰하고(Fig. 2), 각 well의 흡광도를 추출물을 가하지 않은 well의 흡광도와 비교 분석한 결과는 Fig. 3과 같다. 자두 추출물의 품종별 HaCaT 세포 증식은 서로 다른 특성을 나타내었다. 품종명 술담 분획 추출물인

KCJ-1, KCJ-3, KCJ-4, KCJ-5, KCJ-6이 HaCaT 세포에 미치는 증식율은 각각 71.6%, 120.3%, 127.9%, 120.0%, 118.8%로 나타났으며, 이 중 최고 증가율을 보인 것은 KCJ-4로서, 추출물을 가하지 않은 대조군에 비해 127.9%의 증가율을 보였다. 품종 포모사의 분획 추출물인 KCP-1, KCP-2, KCP-3, KCP-4, KCP-5, KCP-6, KCP-7이 HaCaT 세포에 대한 증식율은 각각 97.9%, 90.2%, 94.9%, 107.4%, 113.9%, 147.3%, 109.4%로 나타났으며, 이 가운데 KCP-6이 추출물을 가하지 않은 대조군에 비해 147.3%의 증가율을 보였다. 그리고 품종 대석조생의 분획 추출물인 KCD-1, KCD-2, KCD-3, KCD-4은 HaCaT 세포에 대한 증식율은 각각 100.7%, 93.1%, 83.5%, 123.2%로 나타났으며, KCD-4가 추출물을 가하지 않은 대조군에 비해 123.2%의 증가율을 보였다. 이 결과에서 품종 포모사의 메탄올 추출물인 KCP-6이 여러 분획물 중에서 가장 높은 세포 증식 유도율을 보였다. HaCaT 세포는 일반적으로 자외선 피폭에 대응하는 물질의 효능 시험 세포주로 이용된다(Ahsan *et al* 2007). 따라서 HaCaT의 성장 유도를 촉진하는 물질은 자외선 피폭에 의한 손상으로부터 빨리 회복할 수 있는 효능을 가진다고 볼 수 있다(Luo *et al* 2007).

2) 자두 추출물의 자궁경부암세포 증식 억제 효과

인체 자궁경부암 세포주인 SiHa, HeLa 및 C33A 세포에 대한 자두의 추출물 분획을 첨가한 세포와 첨가하지 않은 세포의 SRB 염색에 따른 흡광도를 측정하여 세포 증식에 대한 효과를 비교 분석하였다.

자두 유기 용매 추출물들이 인체 자궁경부 암세포주 SiHa 세포 증식에 미치는 효과는 Fig. 4의 결과와 같이 세포 증식을 억제하는 특성을 가진 분획, 그리고 추출물을 가하지 않은 군과 비교하여 세포의 증식에 크게 영향을 미치지 않은 분획으로 구분되었다. 즉, 자두 추출물 가운데 암세포의 증식

Table 1. Characteristics of plum cultivar used in experiment

Plums	Fruit forms	Moisture (%)	Sugar contents (Brix, °Bx)	Yield of dried plum (%)
Oishiwase	Heart type	88.2±1.6	12.9±0.2	4.00±0.5
Formosa	Oval	92.3±1.2	13.5±0.3	3.02±0.2
Soldam	Circle	82.3±1.5	14.0±0.4	4.41±0.7

Values present the mean±SD obtained from 10 kg of fresh plums.

Table 2. Extract yields on organic solvents from dried plum fruits

Fraction No.	Solvent fraction	Yields (%)			
		Oishiwase(KCD)	Formosa(KCP)	Soldam(KCJ)	Average
KC-1	Hexane	0.13±0.02	0.21±0.03	0.10±0.01	0.15±0.06
KC-2	Chloroform	0.04±0.01	0.05±0.02	0.02±0.01	0.04±0.02
KC-3	Ethyl acetate	0.28±0.05	0.83±0.03	0.42±0.02	0.51±0.28
KC-4	Butanol	1.28±0.14	1.13±0.08	1.52±0.12	1.31±0.19
KC-5	Water	0.84±0.09	0.62±0.07	0.90±0.08	0.79±0.15
KC-6	Methanol	1.20±0.12	1.12±0.10	1.52±0.02	1.28±0.21
KC-7	Hot water extract	1.85±0.20	1.45±0.15	2.04±0.19	1.78±0.30

Values present the mean±SD of three independent experiments.

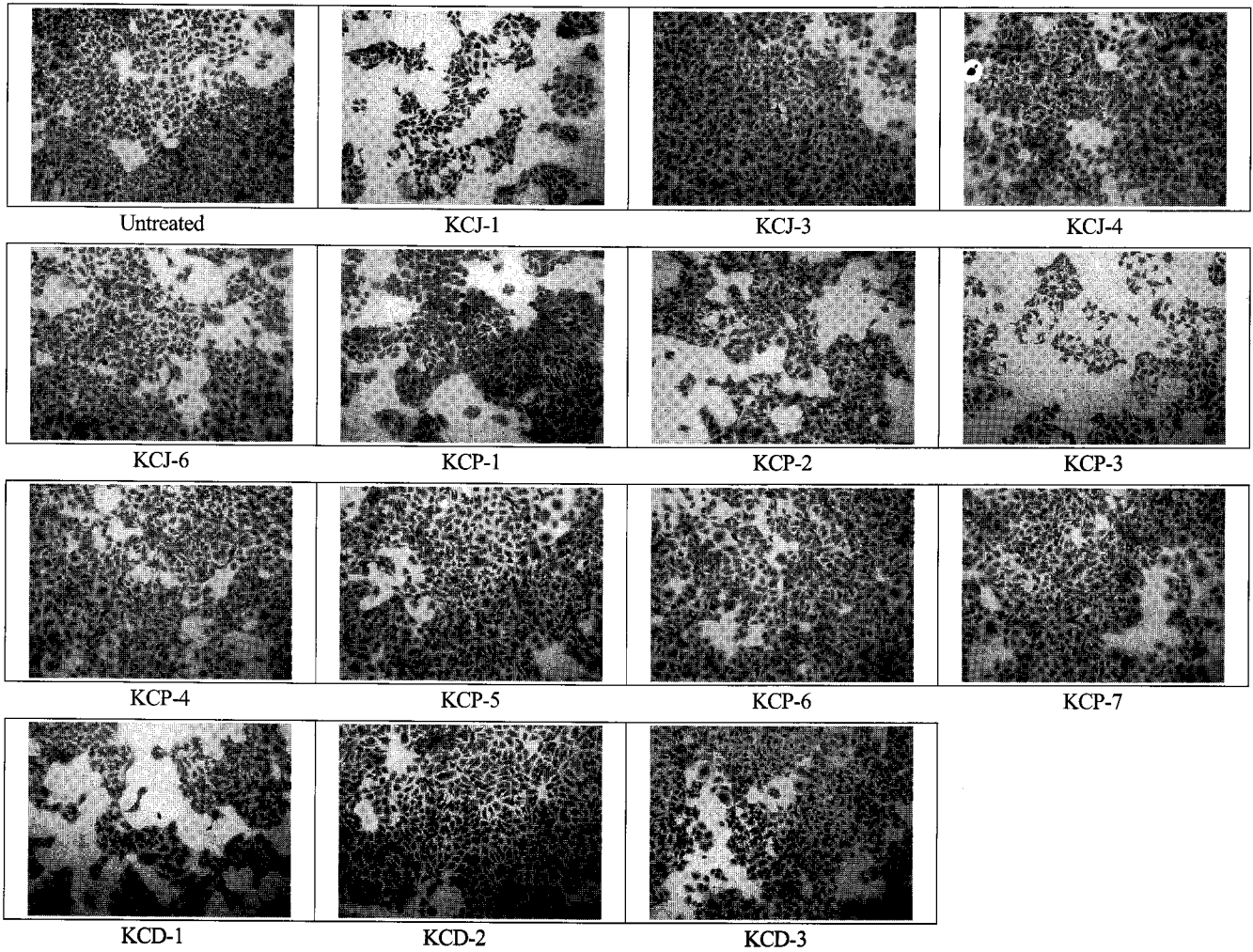


Fig. 2. Microscopic morphology of the proliferative state of the epithelial cell, HaCaT without or with treatment of plum extracts. Cells were stained by SRB and observed under inverted microscope.

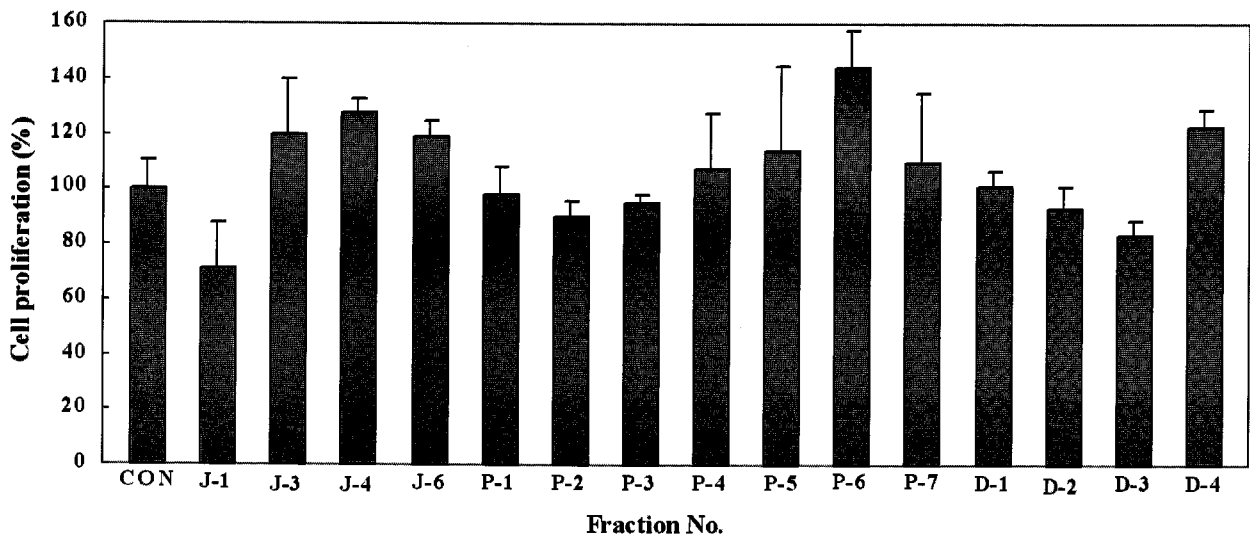


Fig. 3. Effect of plum extracts against the proliferation of the epithelial cell, HaCaT. The data were expressed as mean±SD of three independent experiments performed in triplicate.

을 80% 이하로 억제시킨 것은 품종 솔담의 핵산 분획(KCJ-1)과 에틸아세테이트 분획(KCJ-3)으로 대조군 대비 70.5% 및 61.5%의 세포 증식을 나타내었고, 그 외의 다른 분획들은 세포의 증식 억제에 크게 영향을 미치지 않았다.

자두 유기 용매 추출물의 각 분획의 인체 자궁경부 암세포주 HeLa 세포의 증식에 미치는 효과는 Fig. 5와 같다. 추출

물을 투여하지 않은 군과 비교하여 세포 증식을 촉진시키는 특성을 가지는 분획은 KCP-1(115.5%), KCP-2(145.8%), KCP-3(151.3%), KCP-4(122.7%), KCP-5(145.0%), KCP-6(201.7%), KCP-7(118.3%), KCD-1(194.4%), KCD-2(172.4%), KCD-3(152.9%), KCJ-4(118.8%)이었으며, 세포 증식을 억제하는 분획으로는 KCJ-3(80.0%)과 KCD-4(94.9%)이었다.

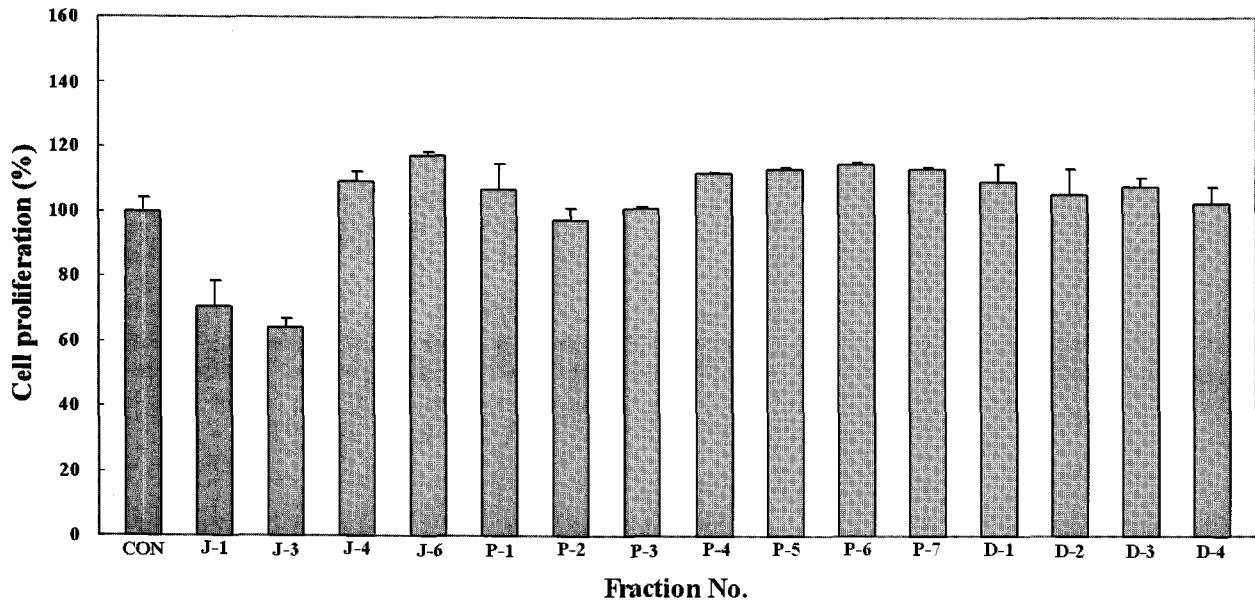


Fig. 4. Effect of plum extracts against the proliferation of the cervical carcinoma cell, SiHa.

SiHa cell was HPV 16 positive, and wild type p53, The data were expressed as mean±SD of three independent experiments performed in triplicate.

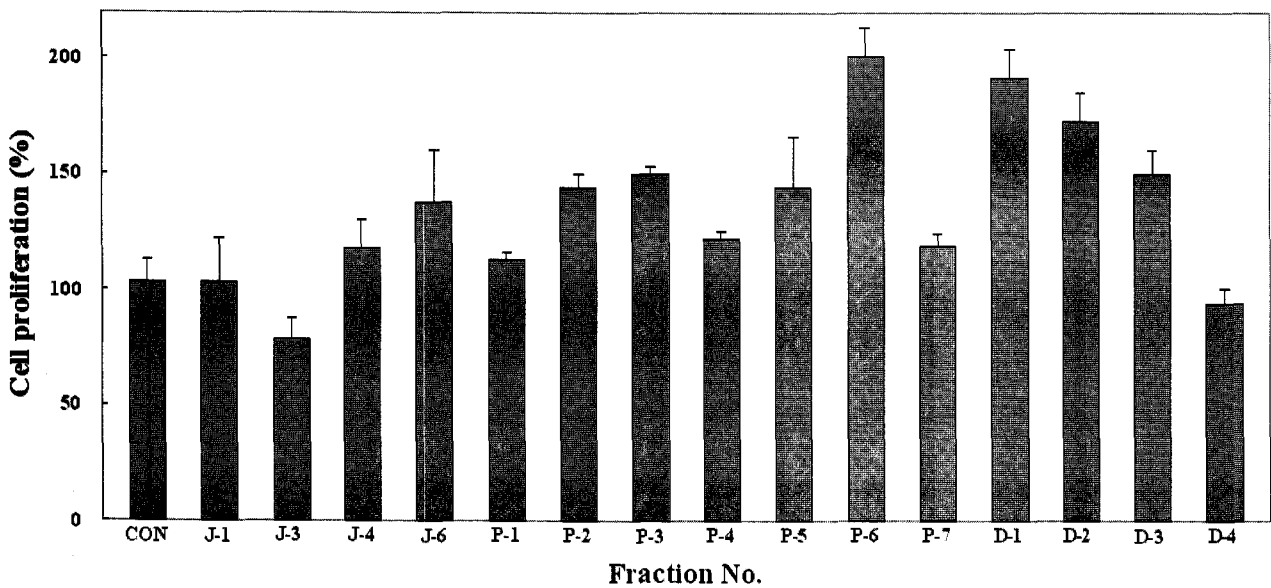


Fig. 5. Effect of plum extracts against the proliferation of the cervical carcinoma cell, HeLa.

HeLa cell was HPV 18 positive and wild type p53. The data were expressed as mean±SD of three independent experiments performed in triplicate.

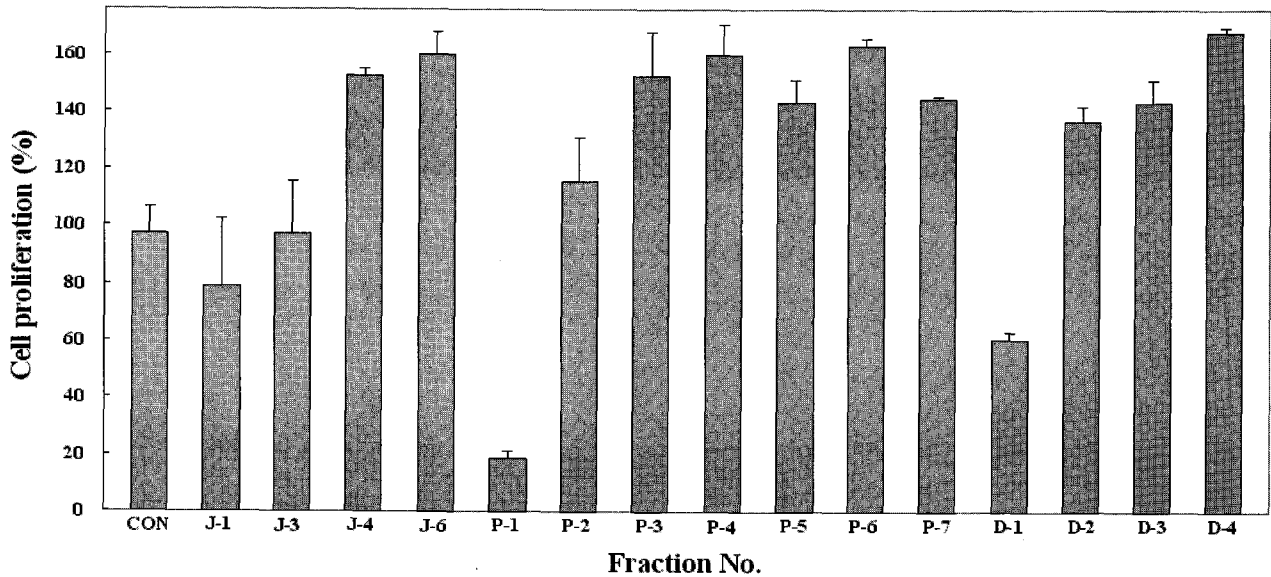


Fig. 6. Effect of plum extracts against the proliferation of the cervical carcinoma cell, C33A.

C33A cell was HPV 1 negative and mutant p53. The data were expressed as mean±SD of three independent experiments performed in triplicate.

자두 유기 용매 추출물의 각 분획이 C33A 세포 증식에 미치는 효과는 Fig. 6과 같으며, 세포 증식을 촉진시키는 특성을 가지는 분획은 KJ-4(155.5%), KJ-6(162.9%), KCP-3(156.8%), KCP-4(163.8%), KCP-5(147.5%), KCP-6(167.8%), KCP-7(148.3%), KCD-2(139.4%), KCD-3(147.2%), KCD-4(172.7%), KJ-3(100.1%), KCP-2(117.8%)이며, 세포 증식을 억제하는 특성을 가진 분획은 KCP-1(20.4%), KCD-1(61.7%)이었다.

이상의 결과로 볼 때 자두 유기 용매 추출물들은 세포주의 종류에 따라 세포의 증식과 억제에 미치는 효과가 다른 것으로 나타났다. 즉, 품종 술담의 에틸아세테이트 분획물인 KJ-3은 HPV 유래 자궁경부암 세포주인 SiHa, HeLa 세포에 대하여 61.5%, 80.0%로 세포 증식을 억제하였으나, p53 변이 단백질질을 가진 자궁경부암 세포주 C33A에서는 100.1%로 세포 증식에 영향을 주지 않았다. 또한, 정상 상피세포주인 HaCaT 세포에서는 127.9%의 세포 증식 효과를 나타내었다(Fig. 7). 이는 KJ-3 분획 성분이 HPV 유래 자궁경부암세포에만 특이적으로 증식 억제 효과를 나타내는 것을 의미한다. 이에 비해 KCP-1과 KCD-1 분획 성분은 Fig. 8과 같이 p 53 돌연변이 유래 자궁경부암세포인 C33A에 특이적으로 작용하였으나, 정상세포(HaCaT)와 다른 암세포주 성장 억제에 영향을 미치지 않아 p53 변이 암세포에 대하여 효과가 있을 것으로 추정된다. 상기 추출물들의 정확한 작용 기전을 밝히기 위해서는 자두 추출 분획의 정제를 통한 실험이 요구된다.

3) 자두 추출물의 위암세포 성장 억제능

위암 세포주인 SNU 638 세포를 상기 자두의 유기 용매 추

출물 분획(KCD-4, KJ-3, KJ-4, KJ-6, KCP-4, KCP-5, KCP-6, KCP-7)을 50 µg/mL의 농도로 가한 well과 가하지 않은 well의 유기용매 추출물 분획에 따른 세포 증식능을 비교 분석한 결과는 Fig. 9와 같다. 추출물을 가하지 않은 well에 대한 분획 추출물을 가한 well들의 암세포주 성장을 비교 실험에서 KCD-4(90.1%), KJ-3(74.9%), KJ-6(80.1%), KCP-4(78.4%), KCP-5(85.8%), KCP-6(81.4%), KCP-7(70.5%) 분획물 모두 위암세포(SNU 638)의 성장을 억제하는 것으로 나타났다.

요약 및 결론

1. 자두의 품종별 추출물이 인체 상피세포주와 암세포주에 대한 세포 증식 및 억제 효과를 조사하였다. 실험에 사용한 자두 품종으로는 대석조생, 포모사 및 술담이었으며, 생자두에서 제조된 건조 자두의 평균 수율은 4.0~4.41%로 나타내었으며, 술담이 4.41%로 가장 우수하였다.
2. 자두 추출물 중 인체 상피세포주 HaCaT 세포의 증식에 미치는 효능 측정에서 포모사 추출물인 KCP-6(147.3%), 술담 추출물인 KJ-4(127.9%), KJ-3(120.3%), KJ-6(118.8%)과 그리고 대석조생에서 추출한 KCD-4(123.2%)는 대조군 대비 20% 이상의 상피세포 증식 유도능을 보여, 포모사의 메탄올 추출물이 가장 우수한 상피세포 증식 효능이 있었다.
3. 인체 유두종 바이러스(HPV 16과 HPV 18) 유래 자궁경

부암세포주인 SiHa 세포와 HeLa 세포 증식에 미치는 자두의 유기 용매 추출물로는 품종 솔담의 에틸아세테이트 분획(KCJ-3)이 대조군 대비 각각 61.5%와 80%의 증식 억제 효과를 나타내었다. p53 변이 단백질 유래 자궁경부암 세포주 C33A 세포 증식에 미치는 효과는 포모사의 헥산 분획(KCP-1)과 대석조생의 헥산 분획(KCD-1)

이 각각 20.4%와 61.7%로 매우 높은 세포 증식 억제 효과를 나타내었다. 위암세포주인 SNU 638 세포에서는 시험에 사용된 모든 분획 추출물(KCD-4, KCJ-3, KCJ-4, KCJ-6, KCP-4, KCP-5, KCP-6, KCP-7)들이 증식 억제 효과를 보였다.

결론적으로 자두의 추출물은 상피세포 증식을 유도하거나 바이러스 감염으로 인한 암 발생을 억제하거나 또는 p53 변이로 유발된 암세포도 억제할 수 있는 효능을 가지고 있음을 확인하였으며, 위암 발생도 억제할 수 있는 가능성도 확인하였다. 이러한 효능은 자두 품종에 따라 약간 달리 나타났으며, 특히 자두 품종 솔담의 에틸아세테이트 추출 분획물과 포모사의 헥산 추출 분획물은 인체 자궁경부암세포주에 우수한 세포 증식 억제 효과를 나타내었다. 따라서 우수한 식품학적인 가치가 확인된 이러한 자두 성분들에 대해 물질 분석에 관한 연구 가능성을 제시한다.

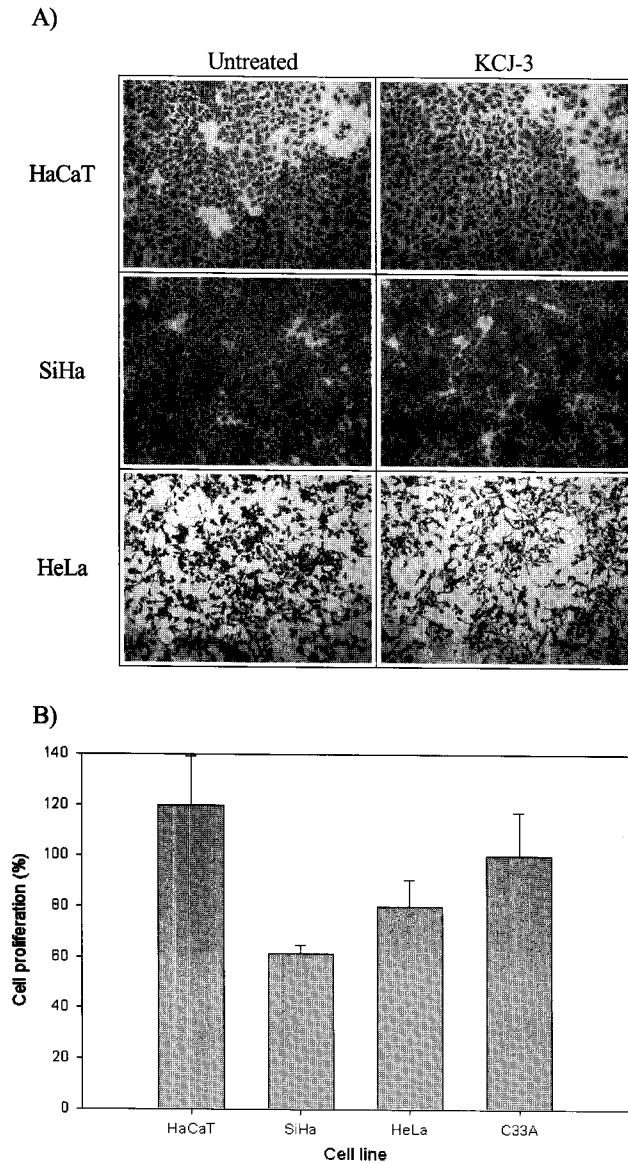


Fig. 7. Proliferative inhibitory effects of epithelial cell (HaCaT) and cancer cell (SiHa, HeLa, C33A) by the ethyl acetate fraction of 'Formosa' (KCJ-3).

A) Effect of the KCJ-3 against proliferation of HaCaT cell and anti-proliferation of cervical carcinoma cell (SiHa, HeLa and C33A). The data were expressed as mean±SD of three independent experiments performed in triplicate. B) Morphology of cell proliferation of cervical carcinoma cell without or with treated KCJ-3. Cells were stained by SRB and observed under inverted microscope.

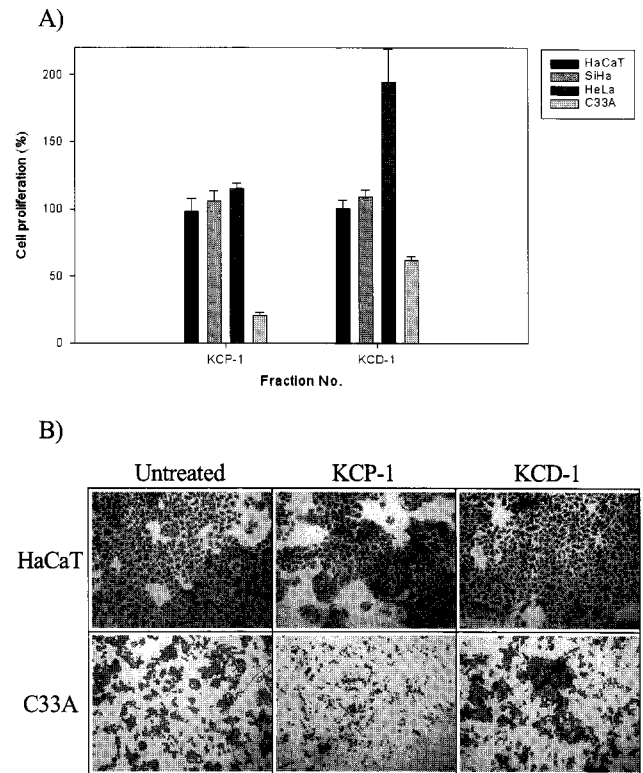


Fig. 8. Proliferative inhibitory effects of epithelial cell (HaCaT) and cervical carcinoma cell (C33A) by hexane fractions of 'Formosa' (KCP-1) and 'Oishiwase' (KCD-1).

A) Effect of the KCP-1 and KCD-1 against the anti-proliferation of cervical carcinoma cell (SiHa, HeLa and C33A). The data were expressed as mean±SD of three independent experiments performed in triplicate. B) Morphology of cell proliferation of cervical carcinoma cell without or with treated KCP-1 and KCD-1. Cells were stained by SRB and observed under inverted microscope.

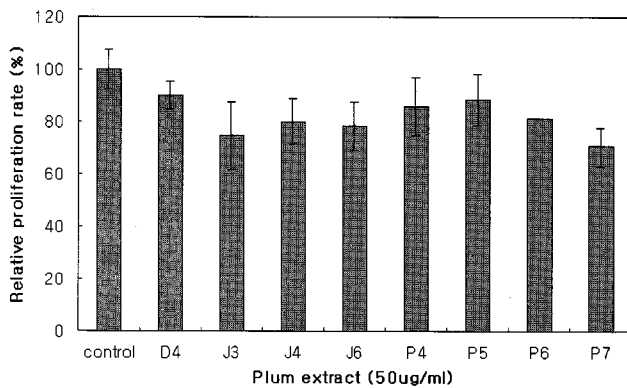


Fig. 9. Effect of plum extracts against the proliferation of the stomach carcinoma cell, SNU 638.

The data were expressed as mean±SD of three independent experiments performed in triplicate.

문헌

- Ahsan H, Reagan-Shaw S, Eggert DM, Tan TC, Afaq F, Mukhtar H, Ahmad N (2007) Protective effect of Sanguinarine on Ultraviolet B-mediated damage in SKH-1 hairless mouse skin: Implication for prevention of skin cancer. *Photochem Photobiol* 83: 986-993.
- Block G, Patterson B, Subar A (1992) Fruit, vegetables, and cancer prevention: A review of the epidemiological evidence. *Nutr Cancer* 18: 1-29.
- Chung KH (1999) Morphological characteristics and principal component analysis of plums. *Kor J Hort Sci & Tech* 17 (1): 22-28.
- Chung KH, Jun JH, Kang SJ (1998) Selection of suitable pollinizers for major Japanese plums. *J Kor Soc Hort Sci* 39(5): 560-563.
- Doll R (1990) An overview of the epidemiological evidence linking diet and cancer. *Proc Nutr Soc* 49: 119-131.
- Fang N, Yu S, Prior RL (2002) LC/MS characterization of phenolic constituents in dried plums. *J Agric Food Chem* 50: 3579-3585.
- Hertog MGL, Bueno de Mesquita HB, Fehily AM, Sweetnam PM, Elwood PC, Kromhout D (1996) Fruit and vegetable consumption and cancer mortality in the Caerphilly study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 5: 673-677.
- Jung, GT, Ju IO, Choi DG, Jung JS, Ryu J, Ko BR, Choi JS, Choi YG (2005) Chemical characteristics and physiological activity of plum (Oishiwase and Formosa). *Kor J Food Sci Technol* 37(5): 816-821.
- Kim SH, Kang BT, Park DC, Yoon OH, Lee JW, Han MD, Choi JD (2000) Physicochemical properties and chemical composition of plums produced in Kimcheon. *J East Asian Soc Dietary Life* 10(1): 37-41.
- Lambert JD, Hong J, Yang G, Liao J, Yang CS (2005) Inhibition of carcinogenesis by polyphenols: Evidence from laboratory investigations. *Am J Clin Nutr* 81: 284-291.
- Luo D, Lin XF, Min W, Ma OH, Gu N, Jin SL, Wang DG (2007) Photoprotection by tocopherol submicron emulsion against UV-mediated damage in HaCaT cells. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 29: 185-189.
- Okie WR, Weinberger JH (1996) *Plums*. In Janick J and Moore N (eds). Fruit breeding, Vol (I), Tree and tropical fruits. John Wiley & Sons, Inc., New York. p 559-607.
- Skehan P, Storeng R, Scudiero D, Monks A, McMahon J, Vistica D, Warren JT, Bokesch H, Kenney S, Boyd MR (1990) New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening. *J Natl Cancer Inst* 82: 1107-1112.
- Stacewicz-Sapuntzakis M, Bowen PE, Hussain EA, Damayanti-Wood BI, Farnsworth NR (2001) Chemical composition and potential health effects of prunes: A functional food? *Crit Rev Food Sci Nutr* 41: 251-286.
- Tinker LF, Schneeman BO, Davis PA, Gallaher DD, Waggoner CR (1991) Consumption of prunes as a source of dietary fiber in men with mild hypercholesterolemia. *Am J Clin Nutr* 53: 1259-1265.
- USDA, Food and Nutrition Information Center (2005) *Food Guide Pyramid*. Steps to a healthier you. Available from <http://www.mypyramid.gov>.
- van't Veer P, Jansen MC, Klerk M, Kok FJ (2000) Fruits and vegetables in the prevention of cancer and cardiovascular disease. *Public Health Nutr* 3: 103-107.
- Wang H, Cao G, Prior RL (1996) Total antioxidant capacity of fruits. *J Agric Food Chem* 44: 701-705.
- Woo WS (2001) *Methods for Natural Products Chemistry*. Seoul National University Press, Seoul. p 1-29.

(2007년 8월 14일, 2007년 9월 20일 채택)