

## 인진쑥 methanol 추출물의 투여가 암이 유발된 마우스에서 보인 혈액생화학적 및 종양 무게에 미치는 영향

김흥태\* · 김주완 · 진태원 · 김지은\*\* · 임미경\*\*\* · 여상건 · 장광호 · 오태호 · 이근우<sup>1</sup>

\*부산광역시 보건환경연구원, 경북대학교 수의과대학

\*\*대구대학교 생명공학과, \*\*\*경북대학교 생활과학대학

(게제승인: 2007년 9월 10일)

## Effects of Blood Biochemistry and Tumors' Weights of *Artemisia capillaris* Methanol Extract in Mice Bearing Cancer Cells

Hong-Tae Kim\*, Ju-Wan Kim, Tae-Won Jin, Ji-Eun Kim\*\*, Mee-Kyoung Lim\*\*\*, Sang-Geon Yeo,  
Kwang-Ho Jang, Tae-Ho Oh and Keun-Woo Lee<sup>1</sup>

\*Busan Metropolitan City Institute of Health and Environment, Busan 616-810, Korea,  
College of Veterinary Medicine, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea,

\*\*Department of Biotechnology, Daegu University, Kyungsan 712-714, Korea,

\*\*\*College of Human Ecology, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

**Abstract :** The *Artemisia capillaris* THUNB is a perennial herb that belongs to the family *Compositae spp* and probably the most common plant among the various herbal folk remedies being used in the treatment of abdominal pain, hepatitis, chronic liver disease, jaundice and coughing in Korea. Recently the biological and pharmacological actions of herb have been studied well such as antibacterial, antidiabetic and antitumor activities. This experiment was conducted to investigate antitumor and immunomodulatory effects of *Artemisia capillaris* extracts against Hepa-1c1c7 and Sarcoma 180 cancer cells on *in vivo* experimental tests. On *in vivo* experimental tests using 280 ICR mice, the gain of body weight in the control-group mice bearing Sarcoma 180 ascites tumor was 1.5 times more than that of the normal-group mice after 33 days. However, the gain of body weight in all experimental groups administered with *Artemisia capillaris* extracts was significantly lower than that of the control-group mice ( $P < 0.05$ ). The mean survival times of mice administered with *Artemisia capillaris* extracts of 25 and 100 mg/kg for 28 days were shown to be 25.39% and 15.39% longer than that of the control-group mice injected with saline ( $P < 0.05$ ). *Artemisia capillaris* extracts showed the highest tumor inhibition effects, which were 42.4% and 27.2% when intraperitoneally injected with doses of 25 and 100 mg/kg once a day for 28 days in inoculated ICR mice with Sarcoma 180 solid tumor cells ( $P < 0.05$ ). The results suggest that *Artemisia capillaris* methanol extracts have prominent antitumor effects on the cancer cell lines Hepa-1c1c7 and Sarcoma 180.

**Key words :** *Artemisia capillaris*, extract, Hepa-1c1c7, Sarcoma 180, antitumor effect.

### 서 론

종양이란 생체조직의 일부가 끊임없이 비정상적이고 단속적으로 과잉 발육하는 것(4)으로 임상 및 병리형태학적으로 양성종양과 악성종양으로 구분하며 악성종양을 암이라고도 한다(5,10).

조직학적으로 종양세포는 그 형태가 이형성, 저분화성이고 다양한 핵분열상이 급속히 일어나며 또한 암종과 육종은 생

성기원 및 그 발생률이 다를 뿐만 아니라 발병률 또한 매년 증가하여 인류 공동의 당면과제로서 관심이 집중되고 있다. 현재 인체에서 발생하는 암은 약 270여종으로 이를 연구하기 위한 인위적인 실험종양으로는 Sarcoma 180, melanoma, adenoma, adenocarcinoma, Ehrlich ascites tumor 및 Walker carcinosarcoma 등이 보고되어 있다(3).

Sarcoma 180은 Croker 180이라고도 하며 원래 백색 음성 마우스의 액와암에서 유래한 육종화된 종양으로서 복수암으로 계대시켜 보존하며 고형(solid)과 복수형(ascite)을 서로 용이하게 이행시킬 수 있고 이식 시에는 종간 특이성이 없는

<sup>1</sup>Corresponding author.  
E-mail : kwolee@knu.ac.kr

것으로 알려져 있다(1).

간암은 원발성 간암과 전이성 간암으로 구분되며 원발성 간암의 정확한 원인은 아직 불명확하나 식습관과 간디스토마 감염 및 B형 virus 감염, 만성 간질환, 진균독소, 호르몬 및 가족적 소질 등을 들 수 있다.

간암의 증상으로는 식욕부진, 전신쇠약, 체중감소, 상복통, 오심, 구토, 하리, 발열, 발한, 소화불량, 권태감, 복통, 오한, 딸꾹질 등이 나타나며 더 진행되어 간경화 시에는 하지부종, 식도출혈, 치은출혈, 비장종대 등이 유발되는 것으로 알려져 있으며(4,13) 암이 진행하면 간은 종대되어 종류를 측정할 수 있으며 황달, 복수, 출혈 등이 나타나는 것으로 알려져 있다(13). 이러한 간암에 대한 치료법으로는 동서의학에서 외과적치료, 방사선치료, 화학요법(adriamycin, mitomycin, cisplatin, 5-fluorouracil), 간동맥색전술 등을 활용하나 일반적으로 예후는 불량하여 대개 진단 후 6개월 이내에 사망하게 되는 경우가 많다(7).

간에 대한 연구들 중 실험동물에 간 손상을 유발시킨 후 간 질환에 상용되는 한약제의 영향을 관찰한 많은 보고들이 있으며(15), 인진썩에 관한 연구로서는 류 등(6)이 흰쥐에 사염화탄소 투여 후 인진썩 추출물을 투여하여 간의 활성도 및 조직학적 변화를 관찰하였고, 손 등(9)은 흰쥐의 간을 DMNA (dimethylnitrosamine)로 손상시킨 후 인진썩 물 추출물을 투여하여 간의 활성도 및 비장의 무게 등을 관찰한 결과 유의성 있게 증가한다고 보고하였다. 이 외에도 인진썩의 간 손상에 대한 효과를 보고한 연구(8,12)들은 많지만 직접적으로 간암주를 이용하여 인진썩 추출물의 항암효과를 *in vitro*와 *in vivo*에서 관찰한 예는 아직 없는 실정이다.

따라서 본 연구에서는 인진썩의 항암작용을 확인하고자 앞서 실시한 시험관내 검사 결과를 참고하여 실제 실험동물에 적용해 마우스에 Hepa-1c1c7과 Sarcoma 180 세포주를 접종하여 종양의 발생에 따른 인진썩 추출물의 항암효과(암세포 증식 억제 효과)와 면역 활성 효과를 알아보려고 ICR계 마우스의 간염에 Hepa-1c1c7 세포주와 경부 배측 피하 및 복강에 Sarcoma 180 세포주를 접종하여 이식한 후, 종양 발생에 따른 혈액학적 변화 및 종양의 무게 변화를 관찰하였다.

## 재료 및 방법

### 암세포주

실험에 사용되어진 암세포주는 Hepa-1c1c7(KCLB 22026, 마우스 간암 세포)과 Sarcoma 180(KCLB 40066, 마우스 육종 세포)으로 한국세포주은행(KCLB, Korean Cell Line Bank)에서 분양받아 사용하였다.

Hepa-1c1c7과 Sarcoma 180 세포주에 대한 세포배양 배지로서 10% fetal bovine serum (FBS)이 첨가된 RPMI 1640 배지를 사용하였으며 여기에 streptomycin (100 µg/mL)과 penicillin (100 U/mL)을 첨가하였다.

Hepa-1c1c7과 Sarcoma 180 세포주 배양은 37°C, 5%

CO<sub>2</sub> 배양기에서 실시하여 계대배양하면서 실험에 사용하였다.

마우스에 접종하기 위해서 Hepa-1c1c7과 Sarcoma 180 세포주를 마우스 복강 내에 2×10<sup>7</sup> cells/mL 농도로 이식하여 일주일간 계대배양하였으며 이식한 마우스에서 복수액을 취하여 4°C에서 생리식염수에 현탁하고 2000 rpm으로 원심분리한 침전액을 2회 반복하여 세척한 후 0.4% trypan blue로 염색하여 2×10<sup>7</sup> cells/mL이 되도록 제조하였다.

### 실험동물

생후 5주령의 평균 체중 25±5 g인 ICR계 실험용 마우스 280두를 구입하여 사육하며 일주일 이상 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 사육조건은 동물 사육실에서 항생제 무첨가 생쥐용 사료(슈퍼피드)와 음수섭취는 자유 급식을 실시하였으며, 동물 사육실내는 항온항습 장치를 이용하여 실내온도를 22±2°C, 습도를 50%로 유지하였으며 하루에 12시간씩 조명을 시행하였다.

### 인진썩 추출물의 조제 및 농도 설정

대구광역시 약령시장의 한약 건재상에서 2004년 5월부터 2006년 5월까지 건조된 인진썩을 구입하여 이물질을 제거하고 깨끗이 한 다음 제분기로 분쇄하여 분말을 얻었다. 이러한 인진썩 분말 100 g에 methanol 1000 mL을 가하여 항온수조(37°C)에서 140 rpm으로 24시간 진탕한 후 저온 원심분리기(4°C)에서 3,000 rpm으로 20분간 원침하였다. 이 후 각 상층액을 여과한 추출물을 회전 진공 농축기(Heidolph®, Laborota 4000, Germany)에서 농축하여 완전 건조시킨 후 동결건조시켜 인진썩 methanol 추출물을 얻었으며 농도(용량)는 3.125 mg/mL(25 mg/kg), 12.5 mg/mL(100 mg/kg)로 설정하였다.

### 혈액 채취

총 백혈구 수(WBC) 및 혈액생화학적 검사를 실시하기 위하여 심장천자로 각 군의 마우스 평균 3두 이상을 추출물 투여 시작일과 인진썩 추출물 투여 후 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49일에 림폰(바이엘코리아)과 케타민(유한양행) 병용 마취 하에서 희생시키기 전에 혈액을 500 µL씩 채취하였다.

### 간암(Hepatoma)에 대한 항암효과 및 면역활성 효과 측정

실험군 설정은 ICR계 마우스(평균 체중 25±5 g) 총 120두를 정상군 30두와 종양세포 처치군(3개 군)으로 분군하여 처치 군에는 대조군 및 추출물 투여 2개 군을 각각 30두씩 한 군으로 하여 총 4개 군으로 나누었다.

2×10<sup>7</sup> cells/mL 농도로 제조한 Hepa-1c1c7 세포 부유액을 마우스 90두에 0.2 mL(4×10<sup>6</sup> cells/mouse)의 용량을 간염에 30 gauge 세침을 이용하여 간의 캡슐 안쪽으로 약 30초간 서서히 주사하여 간암을 유발시켰다.

정상군(normal group)은 30두의 마우스에 생리식염수 0.2 mL을 복강 내에 1일 1회 일정 시간에 투여하였다. 대조군(control group)은 30두의 마우스에 Hepa-1c1c7 세포를 이식

후 24시간이 경과한 후부터 28일간 1일 1회 일정 시간에 생리식염수를 0.2 mL씩 복강 내에 투여하였다. 인진쑥 methanol 추출물 투여 1군에는 30두의 마우스에 인진쑥 methanol 추출물을 체중 kg당 25 mg(25 mg/kg/day I.p.; 625 µg/mouse)씩, 추출물 투여 2군에는 30두의 마우스에 인진쑥 methanol 추출물을 체중 kg당 100 mg(100 mg/kg/day I.p.; 2.5 mg/mouse) 용량으로 0.2 mL씩 복강 내에 1일 1회 일정 시간에 28일간 투여하였다.

각 군의 마우스 중 평균 3두 이상을 추출물 투여 시작일, 인진쑥 추출물 투여 후 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49일에 마취시킨 후 경추탈골법에 의해 희생시키기 전에 심장천자를 통하여 혈액을 채취하여 총 백혈구 수 및 혈액생화학적검사(ALT, AST, ALP)를 자동혈액화학분석기(Spotchem™ SP-4410®, Kyoto Daiichi Kagaku Co., Ltd. Japan)를 이용하여 측정하였다.

**고형암(Solid Sarcoma)에 대한 항암효과 및 면역활성 효과 측정**

실험군 설정은 ICR계 마우스(평균 체중 25±5 g) 총 120두를 정상군 30두와 종양세포 처치군(3개 군)으로 분군하였으며 처치 군에는 대조군 및 추출물 투여 2개 군을 각각 30두씩 한 군으로 하여 총 4개 군으로 나누었다.

2×10<sup>7</sup> cells/mL 농도로 제조한 sarcoma 180 세포 부유액을 마우스 90두에 0.2 mL(4×10<sup>6</sup> cells/mouse)씩 경부에 피하 주사로 이식하여 고형암을 유발시켰으며 추출물과 생리식염수 투여 처치는 간암 유발 모델과 동일한 방법을 이용하였다.

각 군의 마우스 중 평균 3두 이상을 추출물 투여 시작일, 인진쑥 추출물 투여 후 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49일에 마취시킨 후 경추탈골법에 의해 희생시키기 전에 심장천자를 통하여 혈액을 채취하여 총 백혈구 수를 측정하였으며 또한 각 군의 생성된 고형암(종양) 무게 변화를 측정하였다.

항암작용의 지표로 사용되는 이식종양의 성장 저지율(Tumor growth Inhibition ratio : I.R.)은 고형암을 적출하여 종양의 평균 무게를 측정하여 다음과 같은 식으로 구하였다.

$$\text{종양 성장 저지율(증식 억제율) (\%)} = \{(\text{대조군의 고형암 평균 무게(g)} - \text{인진쑥 추출물 투여군의 고형암 평균 무게(g)}) / \text{대조군의 고형암 평균 무게(g)}\} \times 100$$

**복수암(Ascite Sarcoma)에 대한 항암(수명연장) 효과 측정**

Sarcoma 180 세포주 이식에 의해 복수암이 유발된 마우스에서 인진쑥 methanol 추출물의 항암효과 및 수명연장에 미치는 영향을 알아보기로 하여 체중과 수명연장율을 측정하여 실험하였다.

실험군 설정은 ICR계 마우스(평균 체중 25±5 g) 총 40두를 정상군 10두와 종양세포 처치군(3개 군)으로 분군하였으며 처치군에는 대조군 및 추출물 투여 2개 군 각 10두씩 한 군으로 하여 총 4개 군으로 나누었다.

2×10<sup>7</sup> cells/mL 농도로 제조한 sarcoma 180 세포 부유액

을 마우스 30두에 0.2 mL(4×10<sup>6</sup> cells/mouse)씩 복강 내에 접종(이식)하여 복수암을 유발시켰으며 추출물과 생리식염수 투여 처치는 간암, 고형암 유발 모델과 동일한 방법을 이용하였다. 그리고 복강 내에 암세포를 이식한 후부터 42일간 사육, 관찰하면서 생존여부를 측정하여 수명연장율(생존율)을 측정하였다.

수명연장율은 추출물 투여군의 평균 생존일수를 대조군의 평균 생존일수로 나누어 측정하였다.

$$\text{수명연장율(\%)} = [(\text{인진쑥 추출물 투여군의 평균 수명(일)} - \text{대조군의 평균 수명(일)}) / \text{대조군의 평균 수명(일)}] \times 100$$

**통계학적 처리**

모든 실험결과는 평균과 표준편차(mean±S.D.)로 나타냈으며 각 실험군에서 경시적인 변동과 실험군 간의 통계학적 유의성 검정은 Student's *t*-test에 의해 비교 검정하였다.

**결 과**

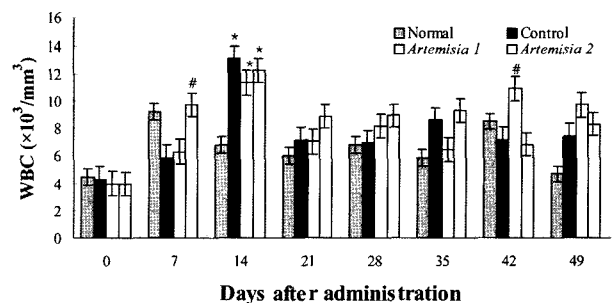
**간암(Hepatoma)에 대한 항암효과 및 면역활성 효과 총 백혈구 수(WBC)**

대조군과 추출물 투여 군들에서는 정상군에 비하여 추출물 투여 시작일과 비교하여 실험기간동안 백혈구 수가 약간 증가하였고 특히, 투여 14일에 백혈구 수가 유의한 증가 경향을 나타내었다(P<0.05). 대조군에 비하여 *Artemisia* 2군에서는 추출물 투여 7일, *Artemisia* 1군에서는 추출물 투여 42일에 백혈구 수가 유의한 증가 경향을 나타내었으나(P<0.05) 이러한 변화는 정상범위 내에서의 변화였다(Fig 1-1).

**혈액생화학치**

**Aspartate aminotransferase (AST)의 변화**

대조군과 추출물 투여 군들에서는 정상군에 비하여 전 실험기간동안 AST 활성치가 증가된 후 감소하는 경향을 나타낸바 특히, 대조군의 경우 AST 활성치가 투여 7일부터 28



**Fig 1-1.** Effect of *Artemisia capillaris* extracts on WBC of ICR mice inoculated with Hepa-1c1c7. \*: means significant (P<0.05) difference compared to experimental 0 day. #: means significant (P<0.05) difference compared to control group. *Artemisia* 1: *Artemisia capillaris* extract (25 mg/kg/day) *Artemisia* 2: *Artemisia capillaris* extract (100 mg/kg/day).

일 최고치를 나타낼 때까지 유의한 증가 경향을 나타내었으며( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ) 이후 감소하여 49일에 정상치로 환원되었다. *Artemisia* 1군에서는 AST 활성치가 추출물 투여 시작 일에 비하여 투여 7일, 28일, 35일에 유의한 증가 경향을 나타내었으며( $P < 0.05$ ) 투여 35일 후부터 감소하여 42일에 정상치로 환원되었다.

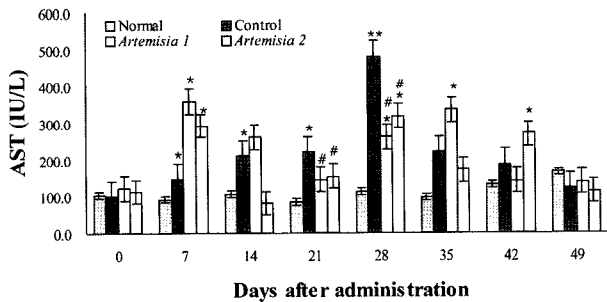
*Artemisia* 2군에서는 AST 활성치가 추출물 투여 시작 일에 비하여 투여 7일, 28일, 42일에 유의한 증가 경향을 나타내었으며( $P < 0.05$ ) 투여 42일 후부터 감소하여 49일에 정상치로 환원되었다(Fig 1-2).

**Alanine aminotransferase (ALT)의 변화**

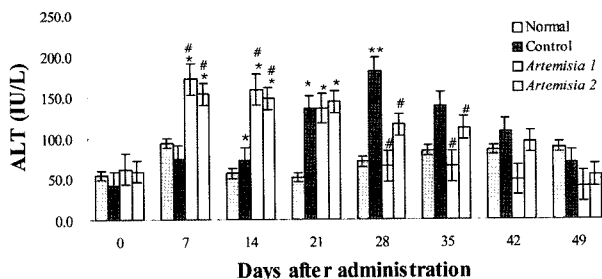
대조군에 비하여 인진쑥 추출물을 25 mg/kg/day 및 100 mg/kg/day 용량으로 투여한 실험군에서 ALT 활성치의 정상치로의 환원이 더 빠른 결과를 나타내었다(Fig 1-3).

**Alkaline phosphatase (ALP)의 변화**

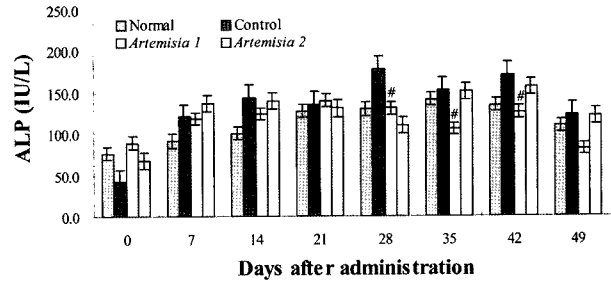
대조군은 정상군과 인진쑥 추출물 투여 군에 비하여 투여 28, 35, 42일에 ALP 활성치가 증가 경향을 나타내었지만 *Artemisia* 1군은 대조군보다 유의한 감소 경향을 나타내었다( $P < 0.05$ )(Fig 1-4).



**Fig 1-2.** Effect of *Artemisia capillaris* extracts on AST of ICR mice inoculated with Hepa-1c1c7. \*, \*\*: means significant ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ) difference compared to experimental 0 day. #: means significant ( $P < 0.05$ ) difference compared to control group. *Artemisia* 1: *Artemisia capillaris* extract (25 mg/kg/day) *Artemisia* 2: *Artemisia capillaris* extract (100 mg/kg/day).



**Fig 1-3.** Effect of *Artemisia capillaris* extracts on ALT of ICR mice inoculated with Hepa-1c1c7. \*, \*\*: means significant ( $P < 0.05$ ,  $p < 0.01$ ) difference compared to experimental 0 day. #: means significant ( $P < 0.05$ ) difference compared to control group. *Artemisia* 1: *Artemisia capillaris* extract (25 mg/kg/day) *Artemisia* 2: *Artemisia capillaris* extract (100 mg/kg/day).



**Fig 1-4.** Effect of *Artemisia capillaris* extracts on ALP of ICR mice inoculated with Hepa-1c1c7. #: means significant ( $P < 0.05$ ) difference compared to control group. *Artemisia* 1: *Artemisia capillaris* extract (25 mg/kg/day) *Artemisia* 2: *Artemisia capillaris* extract (100 mg/kg/day).

**고형암(Solid Sarcoma)에 대한 항암효과 및 면역활성 효과 고형암 성장 저지 효과**

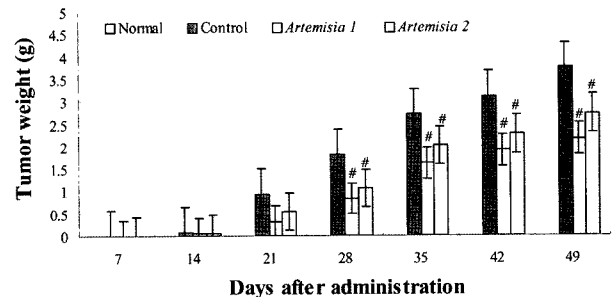
고형암이 유발된 마우스에서 인진쑥 추출물의 투여가 고형암 성장에 미치는 효과를 알아보기와 고형암의 무게를 7일 간격으로 49일까지 측정하여 Fig 2-1과 같은 결과를 얻었다. 종양 이식 후 인진쑥 추출물 투여 28, 35, 42일에 유의하게 억제되는 경향을 나타내며 인진쑥 추출물 투여 군들은 대조군에 비하여 고형암 성장이 특히 인진쑥 추출물 투여 49일에 각각 42.4% 및 27.2% 정도 유의하게 억제되는 결과(효과)를 나타내었다( $P < 0.05$ ).

**총 백혈구 수(WBC)**

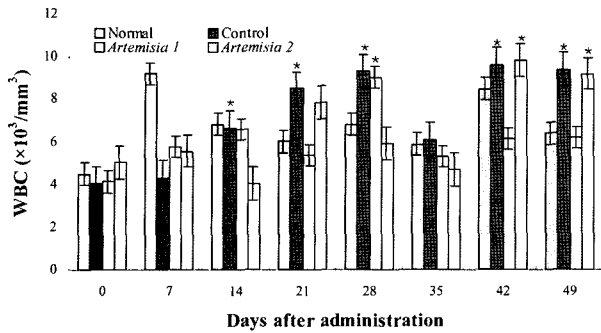
추출물 투여 시작일로부터 투여 후 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49일까지의 전 실험기간동안 백혈구 수는 정상범위 내에서 변화를 나타내었지만 대조군은 추출물 투여 시작 일에 비하여 추출물 투여 14일 이후 백혈구수가 유의한 증가 경향을 나타내었다( $P < 0.05$ ) (Fig 2-2).

**복수암(Ascite Sarcoma)에 대한 항암(수명연장) 효과 복수암 유발 마우스의 체중변화**

본 실험에서 체중변화 측정은 복수암 유발에 따른 복수 형



**Fig 2-1.** Effect of *Artemisia capillaris* extracts on the growth of Sarcoma 180 solid tumor in ICR mice. #: means significant ( $P < 0.05$ ) difference compared to control group. *Artemisia* 1: *Artemisia capillaris* extract (25 mg/kg/day) *Artemisia* 2: *Artemisia capillaris* extract (100 mg/kg/day).

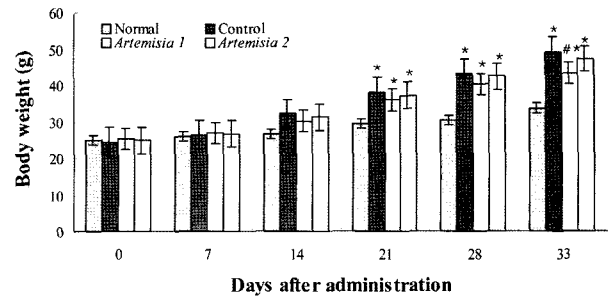


**Fig 2-2.** Effect of *Artemisia capillaris* extracts on WBC of ICR mice inoculated with Sarcoma 180. \*: means significant (P < 0.05) difference compared to experimental 0 day. *Artemisia* 1: *Artemisia capillaris* extract (25 mg/kg/day) *Artemisia* 2: *Artemisia capillaris* extract (100 mg/kg/day).

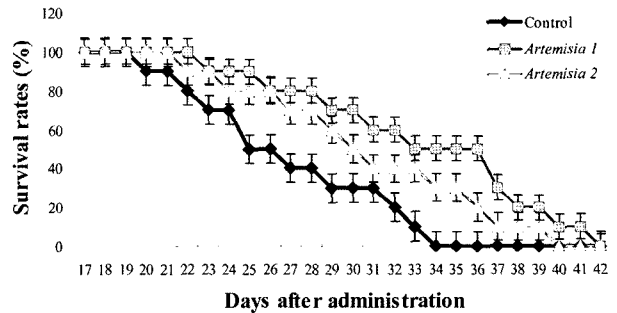
성을 확인하기 위한 지표로 활용되었으며 실험 결과 대조군이 평균 34일에 모두 사망하였기 때문에 모든 실험군의 체중변화를 33일까지 측정하였다. 대조군과 마우스 복강 내에 종양세포를 이식한 후 28일간 인진쑥 추출물을 투여한 *Artemisia* 1군 및 *Artemisia* 2군은 모두 Sarcoma 180 세포주를 이식한 후 14일부터 체중이 유의적으로 (P < 0.05) 증가하기 시작하였으며, 33일에 체중 증가량이 정상군은 33.8 ± 2.5 g인데 비하여 생리식염수를 투여한 대조군은 49.3 ± 6.8 g으로 나타나 정상군보다 약 1.5배에 달하였고 한편, *Artemisia* 1군과 *Artemisia* 2군은 43.3 ± 7.1 g, 47.3 ± 2.6 g으로 정상군보다 약 1.28배, 1.4배에 달하였다. 또한, 33일에 대조군에 비하여 *Artemisia* 1군과 *Artemisia* 2군은 약 0.9, 0.96배 정도 적게 나타났다. 아울러, 전 실험기간(33일)동안의 체중 증가량은 정상군이 1.35배를 나타내었는데 대조군은 2배인 반면 *Artemisia* 1군은 1.7배, *Artemisia* 2군은 1.89배로 특히, *Artemisia* 1군이 대조군에 비하여 유의적으로 적은 변화를 나타내었다 (P < 0.05). 따라서 *Artemisia* 1군에서 대조군에 비하여 체중증가폭이 유의적으로 더 적게 나타났다 (P < 0.05) (Fig 3-1).

**수명연장 효과**

실험 종료일인 42일까지 복수암이 유발된 마우스의 수명을 살펴보면 Fig 3-2와 같이 각 군당 총 10두의 마우스 중 대조군에서는 20일부터 폐사가 시작된 후 34일까지 폐사로 인한 유의적인 생존 수 감소와 생존 일수 감소가 관찰되었고 인진쑥 methanol 추출물을 25 mg/kg/day 용량으로 투



**Fig 3-1.** Effect of *Artemisia capillaris* extracts on the gain of body weight in ICR mice bearing Sarcoma 180 ascites tumor. \*: means significant (P < 0.05) difference compared to experimental 0 day. #: means significant (P < 0.05) difference compared to control group. *Artemisia* 1: *Artemisia capillaris* extract (25 mg/kg/day, n = 10) *Artemisia* 2: *Artemisia capillaris* extract (100 mg/kg/day, n = 10).



**Fig 3-2.** Effect of *Artemisia capillaris* extracts on the survival rate of ICR mice bearing Sarcoma 180 ascites tumor. *Artemisia* 1: *Artemisia capillaris* extract (25 mg/kg/day, n = 10) *Artemisia* 2: *Artemisia capillaris* extract (100 mg/kg/day, n = 10).

여한 군(*Artemisia* 1군)에서는 23일부터 폐사가 시작된 후 42일까지 폐사로 인한 생존 수 감소와 생존 일수가 대조군보다 지연되는 결과를 나타내었다. 또한, 인진쑥 methanol 추출물을 100 mg/kg/day 용량으로 투여한 군(*Artemisia* 2군)에서는 22일부터 폐사가 시작된 후 40일까지 폐사로 인한 생존 수 감소와 생존 일수가 대조군보다 지연되는 결과를 나타내었다.

인진쑥 methanol 추출물을 25 mg/kg/day, 100 mg/kg/day 용량으로 28일간 투여한 군(*Artemisia* 1군, *Artemisia* 2군)의 평균 수명일수는 대조군에 비하여 각각 25.39%와 15.39%로

**Table 1.** Effect of *Artemisia capillaris* extracts on the life span of ICR mice bearing Sarcoma 180 ascites tumor

Group	Dose (mg/kg/day, i.p.)	Survival time(days)	T/C <sup>1)</sup> (%)	Prolongation ratio <sup>2)</sup> (%)
Control	Saline 0.2 mL	26.0 ± 4.9		
<i>Artemisia</i> 1	25	32.6 ± 6.3	125 <sup>#</sup>	25.39 <sup>#</sup>
<i>Artemisia</i> 2	100	30.0 ± 5.8	115	15.39

Values are mean ± standard deviation of 10 mice per each group. #: means significant (P < 0.05) difference compared to control group. *Artemisia* 1: *Artemisia capillaris* extract (25 mg/kg/day, n = 10) *Artemisia* 2: *Artemisia capillaris* extract (100 mg/kg/day, n = 10)

유의하게 수명이 연장되었다( $P < 0.05$ ). 따라서 본 실험의 결과로 인진쑈 methanol 추출물이 복수암이 유발된 마우스의 수명을 연장시키는 효과를 나타내는 것으로 관찰되었다(Table 1).

$$1) T/C[\text{Treated/Control}](\%) =$$

$$\frac{\text{average life Survival time of treated group}}{\text{average life Survival time of control group}} \times 100$$

$$2) \text{Prolongation ratio}(\%) = \frac{T - C}{C} \times 100$$

T : Survival time of treated group mice

C : Survival time of control group mice

## 고 찰

Hepa-1c1c7 세포주를 이식하여 간암이 유발된 마우스에서 인진쑈 methanol 추출물의 간암에 대한 항암효과 및 면역활성 효과를 측정된 결과, 총 백혈구 수(WBC)는 간암 유발 시 인진쑈 methanol 추출물의 면역 반응으로 인하여 백혈구 수가 증가한 것으로 사료된다.

혈액생화학적 검사 결과에서 AST는 간암세포를 접종한 군들에서 증가 경향을 나타내었는데 이는 암유발로 인한 간 손상의 결과로 나타난 지표로 생각되며 추출물 투여 군에서 항암면역활성의 영향으로 대조군에 비하여 추출물 투여 42, 49일에 AST가 정상치로 환원되는 경향을 나타낸 것으로 사료된다.

ALT는 간암세포를 접종한 군들에서 증가 경향을 나타내었는데 이는 암유발로 인한 간 손상의 결과로 나타난 지표로 생각되며 추출물 투여 군에서는 항암면역활성의 영향으로 대조군에 비하여 추출물 투여 28일 이후에 ALT의 정상치로의 환원이 더 빠르게 나타난 것으로 사료된다( $P < 0.05$ ).

ALP는 간암세포를 접종한 군들에서 증가 경향을 나타내었는데 이는 암유발로 인한 간 손상의 결과로 나타난 지표로 생각되며 *Artemisia* 1군에서 항암면역활성의 영향으로 대조군에 비하여 추출물 투여 28일 이후에 ALP가 유의한 감소 경향을 나타낸 것으로 사료된다( $P < 0.05$ ).

지금까지 천연물 중 여러 가지 약용식물, 식용식물 등의 추출물들이 Sarcoma 180 암세포주에 의해 고형암이 유발된 마우스에서 고형암의 무게와 체중변화 등에 미치는 영향을 측정하여 고형암에 대한 성장 저지효과를 확인하고 항암효과가 있다고 보고한 연구들이 많다. Sarcoma 180 세포주를 이식하여 고형암이 유발된 마우스에서 고형암의 무게 변화에 미치는 영향에 관한 보고로, 이(14)는 Sarcoma 180 세포주를 이식하여 고형암이 유발된 마우스를 21일에 희생시켜 종양 무게를 측정된 결과, 50 mg/kg/day 및 100 mg/kg/day 용량의 누에 번데기 밀리타리스 동충하초 추출물을 10일간 복강에 투여 받은 군의 종양무게가 10일 동안 생리 식염수를 복강 투여 받은 대조군에 비하여 47.3%와 57.6% 유의하게 억제되었고( $P < 0.05$ ), 누에 애벌레 밀리타리스 동충하초

추출물을 10일간 복강에 투여 받은 군의 종양무게가 대조군에 비하여 고형암의 성장이 35.5%와 37.1% 유의하게 억제되었다고 보고하였다( $P < 0.05$ ). 따라서 누에 번데기 동충하초 추출물은 누에 애벌레 동충하초 추출물에 비하여 고형암 성장 저지효과가 더 우수한 경향을 나타내었다고 보고하였다.

이러한 보고와 비교하여 본 실험에서도 Sarcoma 180 세포주를 이식하여 고형암이 유발된 마우스에서 인진쑈 methanol 추출물을 25 mg/kg/day 및 100 mg/kg/day 용량으로 투여한 군들은 대조군에 비하여 종양 이식 후 인진쑈 추출물 투여 49일에 고형암의 무게가 각각 42.4% 및 27.2% 정도 유의하게( $P < 0.05$ ) 감소되는 결과를 나타내었는데, 이처럼 인진쑈 추출물을 투여한 군에서 대조군에 비하여 고형암의 무게 변화가 더 적은 것은 인진쑈 추출물에 의한 고형암 성장 저지 효과에 따른 유의한 변화로 사료된다.

고형암이 유발된 마우스에서 백혈구 수(WBC)는 고형암 유발 시에 인진쑈 methanol 추출물의 면역활성 반응으로 인하여 백혈구 수가 증가한 것으로 사료된다.

하지만, 송 등(11)이 Sarcoma 180 세포로 복수암을 유발시킨 ICR 마우스에 대하여 인진쑈 물, hexane, ethyl ether 및 ethyl acetate 분획 추출물을 8일간 투여한 결과에서 정상군 및 대조군과 비교해서 유의한 변화는 없었다고 보고하였는데 이는 추출 용매의 차이에 따른 결과로 사료된다.

Sarcoma 180 세포주 이식에 의해 복수암이 유발된 마우스의 체중변화에 미치는 영향에 관한 보고로, 송 등(11)은 Sarcoma 180 종양세포를 마우스 복부에 이식하여 복수암을 유발시킨 후 7일간 인진쑈 추출 분획을 투여한 후 8일에 체중변화를 보았는데 증류수만을 투여한 대조군에 비하여 물 추출분획이 유의한 종양 증식 억제 효과( $p < 0.01$ )를 나타내었다고 보고하였다.

이러한 보고와 비교하여 본 실험에서도 Sarcoma 180 세포주에 의해 복수암이 유발된 마우스의 체중변화를 측정된 결과, Sarcoma 180 세포주를 이식한 후 14일부터 체중이 증가하기 시작하여 33일에 체중증가량이 대조군은 정상군보다 약 1.5배에 달하였고 전 실험기간(33일)동안의 체중증가량은 정상군이 1.35배였는데 대조군은 2배인 반면 *Artemisia* 1군은 1.7배, *Artemisia* 2군은 1.89배로 특히, 인진쑈 추출물을 25 mg/kg/day 용량으로 투여한 군(*Artemisia* 1군)이 대조군에 비하여 체중 증가폭이 유의적으로 더 적은 변화를 나타내었다( $P < 0.05$ ).

이러한 결과에서 Sarcoma 180 세포는 증식할 때 마우스의 복수를 증가시켜 체중을 증가시키는데 인진쑈 추출물을 투여한 군에서 대조군에 비하여 체중 증가폭이 더 적은 것은 인진쑈 추출물에 의한 마우스 복강 내의 암세포 증식 억제 결과에 따라 복수암의 성장이 저해되었기 때문인 것으로 사료된다.

하지만 이와 같은 체중 감소 현상이 인진쑈 추출물의 독성에 의한 것인지는 본 연구의 결과만으로는 판단하기 어렵고 앞으로 유효섭취량 및 최대안전섭취량에 대한 연구가 더 진행되어야 할 것으로 사료된다.

수명연장에 미치는 효과에 관한 보고로, 송 등(11)은 Sarcoma 180 종양세포를 마우스 복부에 이식하여 복수암을 유발시킨 후 40일간 인진쑥 추출 분획을 투여하면서 생명연장을 실험한 결과 생존일수 중앙치(MST: median survival time)가 대조군에 비하여 물 추출물, hexane 추출물, ethyl ether 추출물이 유의한( $p < 0.01$ ) 증가치를 나타냈다고 보고하였다.

아울러, 생명연장율(ILS: Increase in length of survival time)은 대조군에 비하여 물 추출물이 18.2%, hexane 추출물이 16%, ethyl ether 추출물이 17%로 나타나 생명연장효과가 있었다고 보고하였다.

이와 유사하게 본 실험에서도 인진쑥 추출물이 Sarcoma 180 세포주 이식에 의해 복수암이 유발된 마우스의 수명연장에 미치는 효과를 측정된 결과, 인진쑥 methanol 추출물을 25 mg/kg/day 및 100 mg/kg/day 용량으로 투여한 군(*Artemisia* 1군, *Artemisia* 2군)들에서 대조군보다 유의적인 생존 수 감소와 생존 일수가 각각 25.39%( $P < 0.05$ ) 및 15.39%로 유의하게 지연되어 수명연장효과를 나타낸 결과는 암세포 증식 억제 효과로 여겨진다.

또한, 마우스의 체중 증가는 복수가 차면서 급격히 증가되므로 급격한 체중 변화는 마우스의 수명연장에도 영향을 미치는 것으로 생각된다.

지금까지의 여러 연구 보고에 의하면 천연물에서 20~30% 이상 생명연장효과를 보일 경우, 통계적으로 유의성 있는 항암효과가 있는 것으로 판정한다고 알려져 있다(2).

아울러, 대다수의 천연물에서 추출한 다당체는 암세포주의 성장 억제율이 낮은 경향을 보이더라도 복수암이 유발된 마우스의 생체 내에서 수명연장 효과를 크게 나타내는 경우가 있으므로 암세포에 직접 작용하는 물질이라기보다는 억제된 숙주의 전반적인 면역기능을 정상으로 회복시키거나 강화시키는 면역조절 기전으로 항암작용을 하는 것으로 생각된다.

이상의 동물 생체내 실험 결과를 통하여 앞서 실시한 시험관내 실험 결과와 마찬가지로 인진쑥 추출물의 항암효과를 확인할 수 있었다.

따라서 인진쑥 추출물의 항암활성 및 면역 증진을 가져오는 유효 성분들에 대한 동정, 생리활성 평가, 작용기전 규명 및 동물실험 모델에서의 조직병리학적, 면역조직화학적 소견을 통한 항암효과 확인, cytokine 함량 측정을 통한 면역활성효과 확인 등이 계속 연구되어야 할 것으로 생각된다.

아울러, 인진쑥 메탄올 추출물의 주요한 화학적 성분(정확한 약효 성분)을 분석하고 이를 토대로 더 나아가 다른 종류의 암들에 대한 연구와 세포 죽음 기작을 연구할 필요가 있다고 생각된다.

## 결 론

인진쑥 추출물의 마우스 간암 세포주인 Hepa-1c1c7과 마우스 육종 세포주인 Sarcoma 180으로 유발된 마우스에서 간암, 고형암, 복수암에 대한 항암효과 및 면역활성 효과를 알아보고자 *in vivo*로 동물실험을 실시한 결과, 인진쑥 methanol 추출물의 간암, 고형암, 복수암에 대한 우수한 암세포 성장억제효과 및 수명연장효과가 관찰되어 인진쑥 추출물이 항암활성 및 면역 증진에 좋은 물질로 확인되었다.

따라서 수의와 인의 임상에서 생약으로 개발하여 임상적으로 적용해볼 가치가 있는 것으로 사료된다.

## 참 고 문 헌

- Hong JH, Kim YC. The proliferation of thymocytes and splenic lymphocytes of host against implanted Sarcoma 180 growth. *J Catho Med Coll* 1972; 23: 25.
- Kim HM, Oh GT, Hong DH, Hwang BY, Kim YH, Lee JJ. Comparative studies of adramycin and human cell lines. *Arch Pharm Res* 1994; 17: 100.
- Kwon CS. Effect of combination chemotherapy to the growth of Sarcoma 180 in the knee joint. *J Catho Med Coll* 1974; 27: 187.
- 김정룡. 소화기계 질환. 서울: 일조사. 2000: 497, 540.
- 김춘원. 병리학. 서울: 신광문화사. 1989: 84, 92.
- 류도곤. 백서 간손상에 대한 인진 추출물의 효과에 관한 연구. 원광한대의 논문집. 1984.
- 박찬일, 이광희. 암백과. 서울: 서음출판사. 1992: 368.
- 박형규, 김동우, 이장훈, 우홍정, 김병운. 인진사령산이 급성 Alcohol, 고지방식 및 Galactosamine 중독 백서의 간손상에 미치는 영향. *대한한의학회지* 1993; 14: 123-142.
- 손관영. 인진 물 추출물이 DMNA로 유발된 급성간손상 백서에 미치는 효과. *대한침구학회지* 1990; 7: 1-18.
- 손태중. 병리학개론. 서울: 고문사. 1979: 227-229.
- 송효정, 김진웅, 김성훈. 간암주와 S-180에 대한 인진 분획의 항종양 효과. *동의병리학회지* 1995; 10: 129-162.
- 우홍정. 인진오령산과 인진증량한 구성방이 흰쥐 손상 간에 미치는 영향. *대한한의학회지* 1992; 13: 212-240.
- 이문호, 전종휘, 허인목. 내과학. 서울: 박애출판사. 1976: 1020-2475.
- 이혜미. 밀리타리스동충하초(*Cordyceps militaris*) 열수추출물의 항암활성 및 면역조절 작용에 미치는 영향. 박사학위논문. 연세대학교 대학원 논문집. 2003.
- 임정환. 삼물인진탕 투여가 CCl<sub>4</sub> 중독으로 인한 백서 간손상의 치료 효과에 대한 실험적 연구. *대한한방내과학회지* 1976; 1: 70-77.