



## 유산균의 배양물로부터 분리된 물질에 대한 암 유발 ICR Mice의 항암 효과

여문환 · 김동명 · 김용환 · 김정화 · 백 홍 · 정명준\*

(주)셀바이오텍 세포공학연구소

### Antitumor Activity of CBT-AK5 Purified from *Lactobacillus casei* against Sarcoma-180 Infected ICR Mice

Moon-Hwan Yeo, Dong-Myung Kim, Yong-Hwan Kim,  
Jung-Hwa Kim, Hong Baek and Myung-June Chung\*

R&D Center of Cellbiotech Co. Ltd., Gimpo 415-871, Korea

#### ABSTRACT

This study implicated that the CBT-AK5 purified from *Lactobacillus casei* (LAFTI L26) which showed antitumor activity in ICR mice. Hence, ICR mice were inoculated intraperitoneally Sarcoma-180 as well as CBT-AK5. Then we observed the life span and tumor increment of those ICR mice. Here our studies showed effect on two different way of treatment as intraperitoneally and orally treated in Sarcoma-180 infected ICR mice. We found that intraperitoneally treatment of Sarcoma-180 and CBT-AK5 is more effective than orally fed. The life span of the ICR mice were highly reduced after the inoculation of Sarcoma-180. Those effects like increment of body weight, the growth of ascites and solid were inhibited significantly after the treatment of CBT-AK5 in Sarcoma-180 infected ICR mice.

Finally these studies suggested that CBT-AK5 isolated form *Lactobacillus casei* showed excellent antitumor activity against Sarcoma-180 infected ICR mice.

Keywords : *Lactobacillus casei*, culture supernatant, antitumor activity, Sarcoma 180

#### 서 론

우리나라 질병 및 사망 원인이 생활습관, 식습관의 변화로 인하여 만성퇴행성 질환으로 변화되어가고 있는데, 특히 암으로 인한 사망률 증가가 큰 문제가 되고 있다. 암 발생은 생체 내 정상세포가 발암물질, 바이러스 감염, 유전적 요인, 돌연변이 등에 의하여 유발되며, 약 75~80%가 환경적 요인에 의한 것으로 그 중 약 30~40%가 식이와 관련이 있다

고 보고되고 있다(Lee KY *et al.*, 1985; Watson RR *et al.*, 1986).

최근 개발된 많은 기능성 식품들이 신체의 면역 활성이나 항암 효과를 주장하고 있다. 그 중 대표적인 것으로 발효 유제품을 들 수 있는데, 즉 유산균의 정장작용(Raiboud, 1980), 항암 효과(Ayebo *et al.*, 1981; Reddy *et al.*, 1973), 혈청 콜레스테롤의 저하(Mann and Spoerry, 1974), 비타민의 합성(Alm, 1982) 등의 효과가 보고되었다. Kato 등(Kato, I., *et al.*, 1981)은 *Lactobacillus casei*의 세포벽 성분을 복강주사하였을 때 Sarcoma 180으로 유도된 복수암에 대한 저지 효과와 Balb/c mice에서 methylcholanthrene으로 유도된 MCA-K라는 고형암에 대하여 상당한 억제 효과가 있다고 보고하였다. 이들은

\* Corresponding author: Myung-June Chung, R&D Center of Cellbiotech Co. Ltd., 134, Gaegok-ri, Wolgot-myun, Gimpo-si, Gyeonggi-do 415-871, Korea. Tel: +82-31-987-6205, Fax: +82-31-987-8102, E-mail: ceo@cellbiotech.com

*Lactobacillus casei*의 항암 효과가 세포벽 성분의 adjuvant 효과로 인해 복강의 macrophage와 혈액내의 T lymphocyte들의 활성화에 의해 일어난다고 하였다(Kato, I., et al., 1983; Yasutake, N., et al., 1984). 이들은 복강이 아닌 근육, 늑막, 정맥 투여에 의해서도 유사한 효과를 얻을 수 있음을 보였고(Matsuzaki, T., et al., 1988; Yasutake, N., et al., 1984), Miake 등(Nomoto, K., et al., 1985)은 열처리로 불활성화시킨 유산균 파쇄액을 복강에 주사하였을 때 간과 비장에서 *Listeria*균의 증식을 효과적으로 억제할 수 있음을 확인하였다. 또한, 1962년 Bogdanov 등이 *Lactobacillus bulgaricus*에서 Sarcoma 180 암세포주와 Ehrlichoma 57 암세포주에 의한 복수암에 효과가 있는 3가지의 glycopeptide를 분리한 후 발효 유제품의 유산균에 대한 항암 효과는 많이 연구되었다. 본 연구자들은 *Lactobacillus casei*의 배양액에서 분리한 물질이 여러 암세포주에서 뛰어난 항암 활성 효과를 보여줌을 확인하였다(Kim, JH, et al., 2008). 그러나 유산균체나 유산균체 파쇄액, 유산균으로부터 분리한 세포벽의 항암 효과는 많이 연구되어 왔지만, 유산균 배양액의 항암 기능에 대한 연구는 아직 부족한 실정이다.

따라서, 본 실험에서는 *Lactobacillus casei* (LAFTI L26) 배양액으로부터 분리한 물질(CBT-AK5)을 Sarcoma 180 세포로 유도한 복수암, 고형암 ICR mice에 투여하여 암 억제 활성에 대해 측정함으로써 항암제로 개발하기 위한 가능성을 밝히기 위한 기초 자료를 확립하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. *Lactobacillus casei*의 배양 및 배양물의 분리, 정제

#### 1) 균주배양

공시균주로는 현재 (주)셀바이오텍의 주요 생산균주 중 가장 항암활성이 뛰어난 *Lactobacillus casei* (LAFTI L26)를 선별하여 사용하였으며, 배지조건은 기존의 생산용 현장배지(glucose 4.0%, soy-peptone A3 1.5%, yeast extract 1.0%, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.1%, sodium acetate 0.1%, diammonium citrate 0.1%, MgSO<sub>4</sub> 0.01%, MnSO<sub>4</sub> 0.005%)를 사용하였다. 여기에 *Lactobacillus casei* 균주를 접종(초기 접종농도 0.5%)하여 37°C에서 약 13~14시간 동안 배양하였고 배양시의 pH는 5.5~6.5로 조절하여 배양 후, 원심분리를 이용하여 8,000 × g로 20분간 원심 분리한 배양물을 0.45 μm 크기의 공극막(pore membrane, Millipore, Bedford, Mass.)에 통과시켜 실험에 사용하였다(Kim et al., 2007).

#### 2) 단백질(CBT-AK5) 분리 및 정제

제조된 *Lactobacillus casei* 균주의 배양물을 양이온 교환

수지(SK-104, 강산, Na<sup>+</sup>형), 음이온교환수지(PA-412, 강염기, Cl<sup>-</sup>형) 및 합성이온교환수지(HP-20)를 이용하여 전처리하고, 상기 전처리된 배양물에 황산암모늄(ammonium sulfate)을 최종농도 70%가 되도록 4°C에서 4시간 동안 투여하여 교반하였다. 교반 후, 4°C에서 8,000 × g로 20분간 원심 분리하여 단백질을 침전시키고, 침전된 단백질을 50 mM Tris-HCl 버퍼(pH 7.0)로 용해시켜 단백질(CBT-AK5)을 분리하였다.

### 3) 단백질(CBT-AK5)의 농축

분리된 단백질을 농축하기 위하여 분획분자량이 3, 30 KDa 인 한외 여과막(ultrafiltration membrane)을 사용하였으며, 250 ml Stirred Ultrafiltration Cell(Milipore, model 8200, USA)을 이용하여 농축하였다. 농축 순서는 30 KDa 한외 여과막을 사용하여 통과하는(flow-through) 용액을 받고, 3 KDa 한외 여과막을 사용하여 상등액을 얻어 최종 3~30 KDa의 농축 물질을 이용하여 실험에 사용하였다.

## 2. 실험동물

*Lactobacillus casei*의 배양물에서 항암 활성을 알아보기 위해 두 가지 실험방법으로 경구투여 방법과 복강내 투여 방법으로 병행 실험하였다.

경구투여 실험에 사용된 동물은 6주령된 ICR 마우스(male)와 복강내 투여 실험에 사용된 4주령된 ICR 마우스(male)를 중앙실험동물(주)로부터 구입한 것을 본 연구소의 동물 사육실에서 2주간 예비 사육한 후 실험에 사용하였다. ICR 마우스(8주령, 36.0±1.5 : 6주령, 30.3±0.7)는 Sarcoma 180 복수암과 고형암을 유발시키기 위한 숙주로 사용하였다. 마우스의 예비 사육은 온도 22~24°C, 습도 60~70%로 유지하였으며, 명암주기를 12시간(am 07:00~pm 07:00)으로 조절하였다. 이상의 조건에서 사료는 펠렛형 실험동물사료(삼양배양사료®, (주)삼양사)와 물은 자유 급식시키고, 깔짚은 주 2회 교체하였다.

## 3. 암세포

Sarcoma 180 세포는 한국세포주은행으로부터 분양 받아 8~10주령된 ICR 마우스의 복강에 *in vivo* 계대하였다. 복수암이 유발되어 복부가 팽만한 마우스의 복강을 통해 일회용 주사기를 사용하여 노란색의 복수를 채취하여 실험 및 계대에 사용하였으며, 계대는 13일마다 실시하였다.

### 4. Ascites Form Sarcoma 180의 유발 및 *Lactobacillus casei* 배양액에서 분리한 CBT-AK5의 농도별 항암 효과 측정

ICR 마우스에 *in vivo* 계대중인 Sarcoma 180을 일회용 주사기를 이용하여 복강으로부터 채취한 후 RPMI 1640(Hyclone, cat. No SH 30027.01) 배지에 희석하여 Sarcoma 180 세포의

농도가  $3.5 \times 10^7$  cells/ml 되게 한 다음 10배 희석하고, 이 희석액을 1 ml 주사기로 100  $\mu$ l( $3.5 \times 10^6$  cells)씩 ICR 마우스 (male, 6주령, 30.3 $\pm$ 0.7)의 복강에 접종하였다.

**5. Sarcoma 180 복수암에 대한 *Lactobacillus casei* 배양여액에서 분리한 CBT-AK5의 농도별 항암 효과 측정**

실험동물군은 <Table 1>과 같이 경구투여와 복강투여로 나누어 정상군(Control(-)), 복수암 유발군(Control(+)), *Lactobacillus casei* 배양여액에서 분리한 CBT-AK5의 농도별 항암 치료 효과를 보기 위한 치료군(treated)과 예방효과를 보기 위하여 복수암 유발 1주일 전에 투여한 예방군(prevented)으로 5마리를 1군으로 하여 각각 마우스에 농도별로 100  $\mu$ l씩 매일 투여하고 접종 후 21일간 매일 체중을 측정하였으며, 그 생존일도 측정하였다.

Ascites tumor growth에 대한 저지 효과

$$\text{Survival rate(T/C\%)} = \frac{\text{Mean survival days of treated mice}}{\text{Mean survival days of control mice}} \times 100$$

**6. 고형암 유발 및 Sarcoma 180 고형암에 대한 *Lactobacillus casei* 배양여액에서 분리한 CBT-AK5의 농도별 항암 효과 측정**

ICR 마우스에 *in vivo* 계대중인 Sarcoma 180을 일회용 주사기를 이용하여 복강으로부터 채취한 후 RPMI 1640(Hyclone, cat. No SH 30027.01) 배지에 희석하여 Sarcoma 180 세포의 농도가  $3.5 \times 10^7$  cells/ml 되게 한 다음 10배 희석하고, 이 희석액을 1 ml 주사기로 100  $\mu$ l( $3.5 \times 10^6$  cells)씩 ICR 마우스 (male, 6주령, 30.3 $\pm$ 0.7)의 복강에 접종하였다. 실험군은 고형암 유발군 Control(+), *Lactobacillus casei* 배양여액에서 분리한 CBT-AK5의 항암치료 효과를 보기 위한 군(Treat 250  $\mu$ g/ml)으로 각각 5마리로 하여 매일 고형암에 100  $\mu$ l씩 고형암에 투여하여 22일이 경과한 후 쥐를 치사시켜 암괴를 적출하여 무게를 측정하였다.

Solid tumor growth에 대한 저지 효과

$$\text{Inhibition rate(\%)} = \left( 1 - \frac{\text{Mean tumor weight of treated mice}}{\text{Mean tumor weight of control mice}} \right) \times 100$$

Table 1. Classification of experimental groups

Ascites form	Control(-)	Control(+)	Treated	Pretreated
Oral administration	Yes	Yes	25 $\mu$ g/ml	25 $\mu$ g/ml
			250 $\mu$ g/ml	No
			2.5 mg/ml	2.5 mg/ml
Intraperitoneal administration	Yes	Yes	25 $\mu$ g/ml	25 $\mu$ g/ml
			250 $\mu$ g/ml	250 $\mu$ g/ml
			2.5 mg/ml	2.5 mg/ml

**결과 및 고찰**

**1. Sarcoma 180 복수암에 대한 *Lactobacillus casei* 배양여액에서 분리한 CBT-AK5의 경구투여시 항암 효과**

*Lactobacillus casei* 배양여액에서 분리한 CBT-AK5의 복수암에 대한 항암 활성을 마우스의 체중 증가량과 생존율로 대별해 관찰해 본 결과, <Fig. 1>에서와 같이 경구투여시 치료군은 실험 개시 10일 후부터 Sarcoma 180만을 투여한 양성대조군(Control(+))보다 체중의 증가가 적었고, 농도별(25  $\mu$ g/ml, 250  $\mu$ g/ml, 2.5 mg/ml)에서는 저농도(25  $\mu$ g/ml)와 고농도(2.5 mg/ml)에서는 양성대조군보다 체중이 증가하지 않았지만, 비슷한 양상을 나타냈다. 그리고 치료군 중 중간농도(250  $\mu$ g/ml)에서 정상군(Control(-))과 가깝게 나타났다.

<Fig. 2>와 같이 양성대조군(Control(+))은 평균생존율이

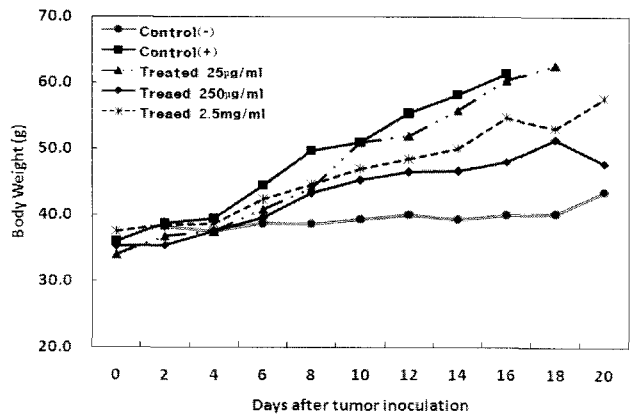


Fig. 1. Antitumor effect of oral administration of CBT-AK5 isolated from culture supernatant of *Lactobacillus casei* on the increase of body weight against treated in tumor induced ICR mice.

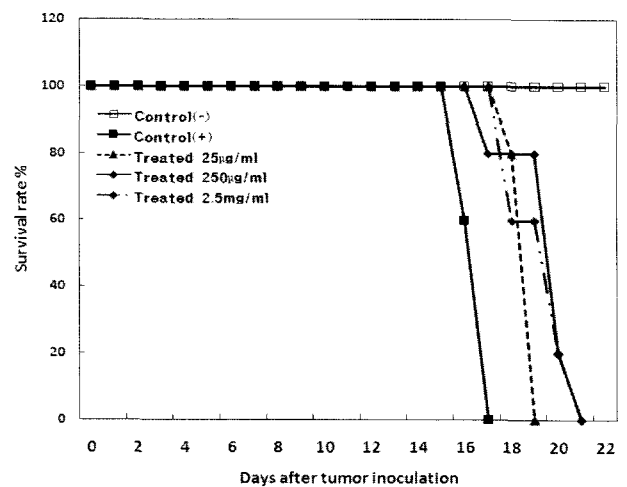


Fig. 2. Antitumor effect of oral administration of CBT-AK5 isolated from culture supernatant of *Lactobacillus casei* on the prolongation of expected life span against treated in tumor induced ICR mice.

16.6일이었으며, 치료군은 25  $\mu\text{g/ml}$ , 250  $\mu\text{g/ml}$ , 250  $\text{mg/ml}$  농도별로 평균 19.6일, 19.6일 19.4일로 평균생존율이 측정되었다. <Fig. 2>의 결과에서 양성대조군보다 CBT-AK5를 경구 투여하였을 때 평균 3일의 생존율이 높게 나타났다. 그러나 치료군의 평균 생존일수 비율(mean survival day rate, T/C(%))에서는 양성대조군 100%에 비하여 CBT-AK5 투여군 118%에서 각각 농도별에 따른 유의적 차이는 나타나지 않았다.

<Fig. 3>에서 경구투여시 Prevented 군은 농도별(25  $\mu\text{g/ml}$ , 2.5  $\text{mg/ml}$ )에서 체중이 모두 양성대조군(Control(+)) 보다 높게 관찰되었지만, <Fig. 4>에서와 같이 평균생존율은 양성대조군은 평균 생존일이 16.6일보다 많은 25  $\mu\text{g/ml}$ , 250  $\text{mg/ml}$

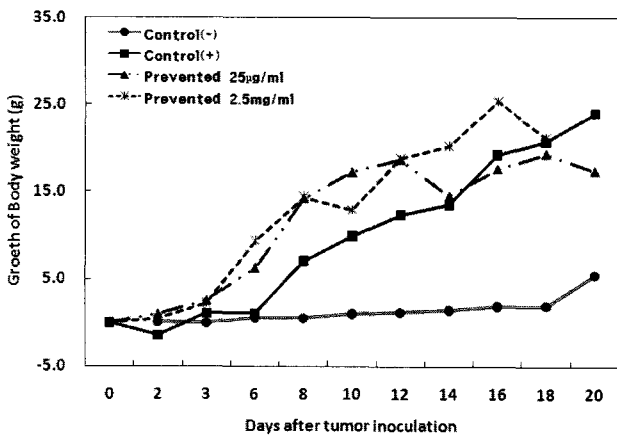


Fig. 3. Antitumor effect of oral administration of CBT-AK5 isolated from culture supernatant of *Lactobacillus casei* on the increase of body weight against prevented in tumor induced ICR mice.

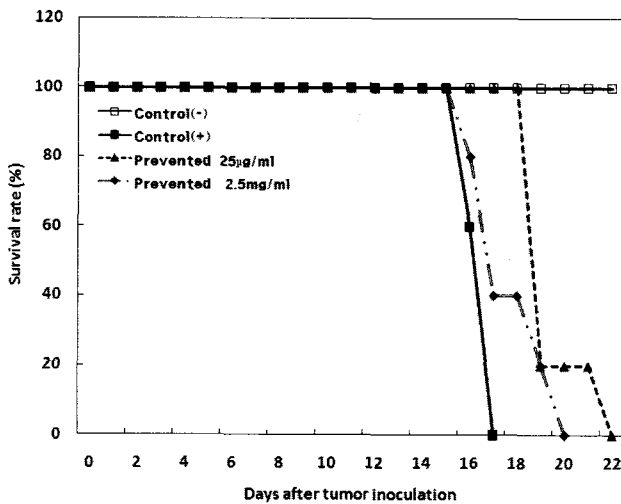


Fig. 4. Antitumor effect of oral administration of CBT-AK5 isolated from culture supernatant of *Lactobacillus casei* on the prolongation of expected life span against prevented in tumor induced ICR mice.

Table 2. Antitumor effect comparison of oral administration of CBT-AK5 isolated from culture supernatant of *Lactobacillus casei* against Sarcoma 180

Tumor	Sample	Survival days (mean $\pm$ SD)	T/C(%)	P-value
Sarcoma 180	Control (+)	16.6 $\pm$ 0.5	100	-
	Treated 25 $\mu\text{g/ml}$	19.6 $\pm$ 0.9	118	<0.01***
	Treated 250 $\mu\text{g/ml}$	19.6 $\pm$ 1.5	118	<0.01**
	Treated 2.5 $\text{mg/ml}$	19.4 $\pm$ 1.3	116	<0.01**
	Prevented 25 $\mu\text{g/ml}$	19.6 $\pm$ 1.3	118	<0.01**
	Prevented 2.5 $\text{mg/ml}$	17.8 $\pm$ 1.6	107	0.16

Samples were administered orally into ICR mice(8 weeks of age, 36.0 $\pm$ 1.5 g) with Sarcoma 180( $3.5 \times 10^6$  cells/ml). The survival monitored for 21 days after tumor inoculation. Each experimental group consisted of 5 mice(\* $p < 0.01$  compare with Control(+) Group).

ml 각각 19.6일, 17.8일이 관찰되었다. 생존율에 있어서 양성대조군을 100%으로 했을 때, 치료군 25  $\mu\text{g/ml}$ , 250  $\mu\text{g/ml}$ , 2.5  $\text{mg/ml}$ 은 118%, 118%, 116%와 예방군 25  $\mu\text{g/ml}$ , 2.5  $\text{mg/ml}$ 은 118%, 107%로 나타났다( $p < 0.01$ )(Table 2).

### 2. Sarcoma 180 복수암에 대한 *Lactobacillus casei* 배양여액에서 분리한 CBT-AK5의 복강투여 항암 효과

*Lactobacillus casei* 배양여액에서 분리한 CBT-AK5의 복수암에 대한 항암 활성을 마우스의 체중 증가량과 생존율로 대별해 관찰해 본 결과, <Fig. 5>에서와 같이 복강투여시 치료군은 실험 개시 6일 후부터 정상군보다 체중이 증가가 적었고 25  $\mu\text{g/ml}$ , 250  $\mu\text{g/ml}$ , 2.5  $\text{mg/ml}$  농도 순서로 체중 증가가 낮게 나타났다. <Fig. 6>과 같이 양성대조군은 평균 수명이 13.6일이었으며, 치료군은 25  $\mu\text{g/ml}$ , 250  $\mu\text{g/ml}$ , 2.5  $\text{mg/ml}$

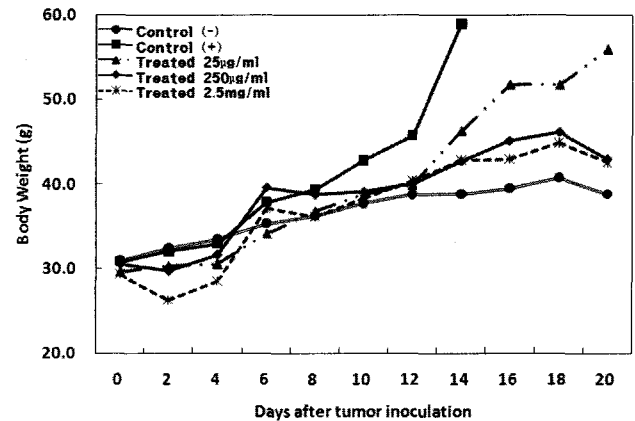


Fig. 5. Antitumor effect of intraperitoneal administration of CBT-AK5 isolated from culture supernatant of *Lactobacillus casei* on the increase of body weight against treated in tumor induced ICR mice.

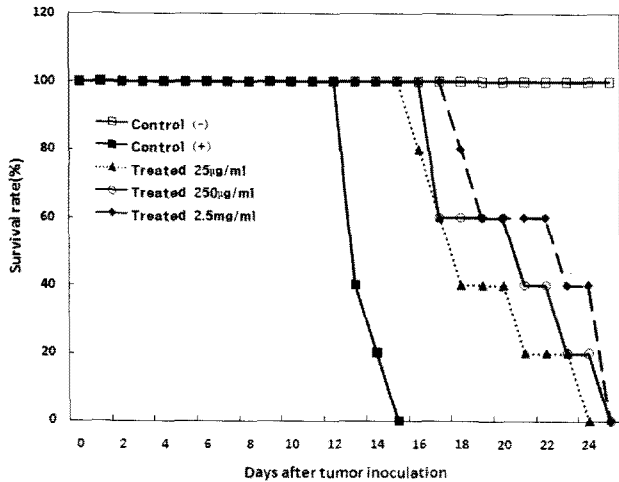


Fig. 6. Antitumor effect of intraperitoneal administration of CBT-AK5 isolated from culture supernatant of *Lactobacillus casei* on the prolongation of expected life span against treated in tumor induced ICR mice.

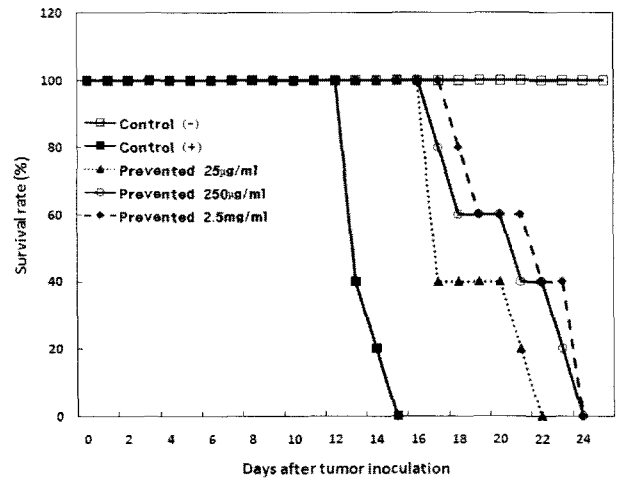


Fig. 8. Antitumor effect of intraperitoneal administration of CBT-AK5 isolated from culture supernatant of *Lactobacillus casei* on the prolongation of expected life span against prevented in tumor induced ICR mice.

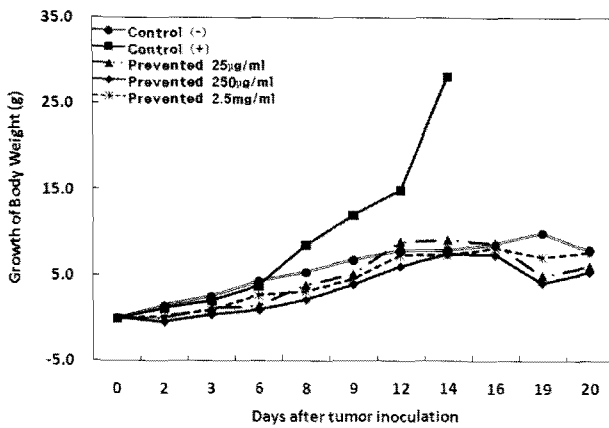


Fig. 7. Antitumor effect of intraperitoneal administration of CBT-AK5 isolated from culture supernatant of *Lactobacillus casei* on the increase of body weight against prevented in tumor induced ICR mice.

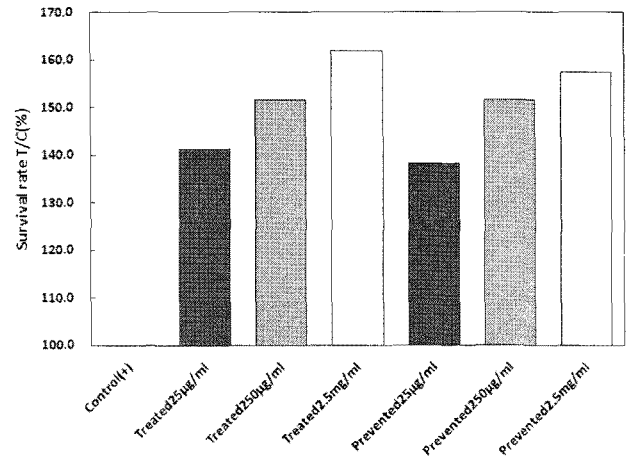


Fig. 9. Comparison of antitumor activity of CBT-AK5 isolated from culture supernatant of *Lactobacillus casei* against Sarcoma 180(Survival rate T/C% of control(+) was 100%).

농도별로 평균 19.2일, 20.6일 22.0일로 생존율이 늘어났다. <Fig. 7>에서 경구투여시 예방군은 체중이 모든 농도와 상관없이 양성대조군보다 낮고, 정상군과 비슷하게 관찰되었다. <Fig. 8>에서와 같이 평균 수명은 양성대조군은 평균 수명이 13.6일보다 많은 25 µg/ml, 250 µg/ml, 2.5 mg/ml 농도별로 각각 18.8일, 20.6일, 21.4일이 관찰되었다.

<Fig. 9>에서 생존율은 양성대조군을 100%로 하였을 때 치료군 25 µg/ml, 250 µg/ml, 2.5 mg/ml는 141%, 152%, 162%와 예방군 25 µg/ml, 250 µg/ml, 2.5 mg/ml는 138%, 152%, 157%로 각각 나타났다( $p < 0.01$ )(Table 3).

이상의 복강내 투여 실험에서 치료군과 예방군 양쪽 그룹에서 농도별 차이와 상관없이 양성대조군과 비교하였을 때

CBT-AK5가 Sarcoma 180 복수암에 대한 억제효과가 확인되었다.

### 3. Sarcoma 180 고형암에 대한 *Lactobacillus casei* 배양여액에서 분리한 CBT-AK5의 항암 효과

고형암에 대한 *Lactobacillus casei* 배양여액에서 분리한 CBT-AK5의 항암 활성을 측정하기 위해 고형암을 유발시킨 ICR mice에 분리 CBT-AK5를 투여하고 22일 후에 암괴를 적출해 무게를 측정해 본 결과, <Fig. 10>과 같이 양성대조군은 3.01 g과 치료군 250 µg/ml는 0.81 g으로 억제를 73.0%로 크기와 무게에서 항암 효과가 높은 것으로 나타났다. 유의적 차이는 양성대조군과 비교하여  $p < 0.01$  수준에서 유의

Table 3. Antitumor effect comparison of intraperitoneal administration of CBT-AK5 isolated from culture supernatant of *Lactobacillus casei* against Sarcoma 180

Tumor	Sample	Survival days(mean±SD)	T/C (%)	P-value
Sarcoma 180	Control (+)	13.6±0.9	100	-
	Treated 25 µg/ml	19.2±3.3	141	<0.01*
	Treated 250 µg/ml	20.6±3.6	152	<0.01**
	Treated 2.5 mg/ml	22.0±3.3	162	<0.01***
	Prevented 25 µg/ml	18.8±2.5	138	<0.01**
	Prevented 250 µg/ml	20.6±3.0	152	<0.01**
	Prevented 2.5 mg/ml	21.4±2.8	157	<0.01***

Samples were administered orally into ICR mice(6 weeks of age, 30.3±0.7 g) with Sarcoma 180(3.5×10<sup>6</sup> cells/ml). The survival monitored for 25 days after tumor inoculation. Each experimental group consisted of 5 mice(\*p<0.01 compare with Control(+) Group).

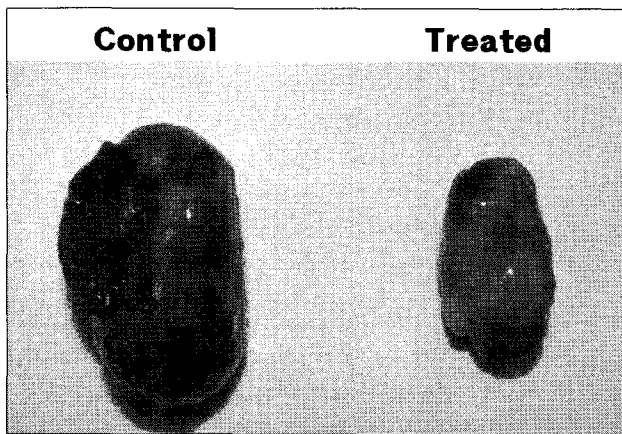


Fig. 10. Comparison of antitumor activity of CBT-AK5 isolated from culture supernatant of *Lactobacillus casei* against solid tumor.

차가 인정되었다.

세포 독성을 나타내는 기존의 항암제와는 달리 유산균의 배양여액에서 분리된 CBT-AK5의 암 예방 및 치료에 긍정적인 효과가 나타났다. 유산균의 배양여액에서 분리된 CBT-AK5가 각 장기별 특이적 암세포(AGS, A549, MCF-7, SK-OV-3, LoVo)에 미치는 영향에 대한 선행 연구가 이루어졌다(Kim et al., 2008).

현재까지 복수암에 대한 유산균의 항암 효과가 다수 보고 되었으며(Reddy GV et al., 1973; Bae HS et al., 1993; Sakamoto et al., 1988), *Lactobacillus casei*를 투여하였을 때 전이와 임파절 전이가 현저하게 억제되었다고 보고하였다. 가열 살균한 *Lactobacillus casei* 균주가 마우스에서 암세포의 성장을 억제한다고 보고하였다.

본 연구에서는 유산균이나 유산균 파쇄물 보다는 유산균 배양 후 2차 산물인 유산균 배양물에서 항암 활성이나 면역 활성에 뛰어난 물질을 발굴하고 그 효능을 검증한 결과, 유산균 배양물인 CBT-AK5는 복수암과 고형암 모두에서 예방

Table 4. Antitumor effect comparison of intraperitoneal administration of CBT-AK5 isolated from culture supernatant of *Lactobacillus casei* against Sarcoma 180(solid tumor)

Tumor	Sample	Tumor weight (g, mean±SD)	Inhibition rate (%)	P-value
Sarcoma 180	Control	3.01±0.42	-	-
	Treated 250 µg/ml	0.81±0.08	73.0	<0.01**

Samples were administered subcutaneously at the right lumbar region of ICR mice(6 weeks of age, 30.3±0.7 g) with Sarcoma 180(3.5×10<sup>6</sup> cells/ml). Tumors were taken out of the ICR mice and weighted on the 22st day after tumor inoculation. Each experimental group consisted of 5 mice(\*p<0.01 compare with Control Group).

및 치료 효과에 우수한 항암 활성을 가지고 있음을 검증하였다.

아울러, 유산균의 한 종류인 *Lactobacillus casei*는 기존에 많은 효능을 가지고 있다고 보고되어지고 있다. 향후 다양한 유산균주와 유산균 배양물에서 항암 활성 및 면역 활성에 관여하는 다양한 신 물질의 발굴로 다양한 연구가 이루어질 것이라 생각되며, 향후 바이오 의약품 개발에 있어서 훌륭한 기초자료로 활용될 수 있을 것이다.

### 요 약

최근 많은 관심을 가지는 유산균은 사람이나 동물의 장내 방어 장벽인 위산, 담즙산염, 채장에 효과가 있고, 이들 생균은 장 점막에 쉽게 집락화하는 특성을 가지면서도 인체에는 무해한 균이기 때문에 식품첨가물 부분에서 GRAS(Generally Recognized As Safe)로 분류되어 있고, 이런 안전성을 기반으로 수많은 제품이 제조되어 유통되고 있다. 유산균의 다양한 연구는 유산균 생균제, 사균제, 유산균 파쇄액을 이용하여 항암 효과, 유당 단백질의 흡수 증진, 콜레스테롤의 저하 류머티스 관절염 치료 및 정장작용 개선에 효과적인 기

능을 가진다고 보고하고 있다.

이런 다양한 효과를 가지는 유산균의 기능을 이용하기 위하여 금번 연구에서는 항암 활성이 우수한 *Lactobacillus casei*의 2차 산물인 배양여액에서 순수 분리한 것으로 Ultrafiltration membrane(3, 30 KDa)으로 분리 농축한 단백질 물질인 CBT-AK5을 실험에 사용하였다. 이전 연구로 CBT-AK5가 정상세포와 암세포주를 이용한 세포 독성 실험 및 암세포 생육 억제 활성을 측정된 결과, 정상세포에 대한 세포 독성은 20% 이내로 낮은 세포 독성 효과를 나타낸 반면, 각 장기별 암세포주에 대한 암세포 생육 억제 활성을 측정된 결과 70% 이상의 높은 암세포 생육 억제 활성을 나타내어 항암 활성 물질임을 확인하였다.

*Lactobacillus casei*의 2차 산물인 배양여액에서 순수 분리한 CBT-AK5의 항암 효과에 대한 *in vivo* 실험을 실시하였다. *In vivo* 실험으로 6~8주령된 ICR mice를 사용하였고, 복수암 유발 및 고형암 유발을 위해 Sarcoma-180 cell line이 이용하였다. 투여 방법으로는 경구투여와 복강내 투여로 나누어 진행하였고, 각 투여방법에 따른 치료군과 예방군으로 나누어 실험하였다. 또한 치료군과 예방군마다 다른 농도별(25 µg/ml, 250 µg/ml, 2.5 mg/ml) 차이도 관찰하였다.

위 실험에서 경구투여에 따른 항암 활성 효과는 양성대조군보다 체중 증가와 생존율 비교에 있어서 정상군보다 다소 높게 관찰되었으나, *In vitro* 실험시 높은 항암 활성 효과에 비해 유의적이지 않았다.

하지만, 복강내 투여에 따른 항암 활성 효과는 양성대조군보다 체중 증가와 생존율 비교에 있어서 높은 활성 효과가 관찰되었고, 치료군과 예방군 모두에서 항암 활성이 우수한 물질임을 확인하였다.

이상의 실험에서 *Lactobacillus casei*의 2차 산물인 배양여액에서 순수 분리한 CBT-AK5가 항암 활성에 우수한 물질임을 확인하였다.

## 감사의 말

본 연구는 지식경제부·한국산업기술평가원 지원 (주)셀바이오텍의 우수제조 기술연구센터(ATC-10026108)의 지원에 의한 것이며 이에 감사드립니다.

## 참고문헌

1. Alm, L. 1982. Effect of fermentation on B-vitamin content of milk in Sweden. *J. Dairy Sci.* 65:353-359.
2. Asano, M., Karasawa, E. and Takayama, T. 1986. Antitumor activity of *Lactobacillus casei*(LC 9018) against experimental mouse bladder tumor(MBT-2). *The J. of Urology.* 136:719-

- 721.
3. Ayebo, A. D., Shahani, K. M. and Dam, R. 1981. Antitumor component(s) of yogurt: Fractionation. *J. Dairy Sci.* 64:2318-2323.
4. Bae, H. S., Baek, Y. J. and Yoon, Y. H. 1993. Antitumor activity of *Lactobacillus casei* against Sarcoma 180 and lewis lung carcinoma in mice. *Kor. J. Appl Microbiol Biotechnol.* 21: 247-255.
5. Kato, I., Kobayashi, S., Yokokura, T. and Mutai, M. 1981. Antitumor activity of *Lactobacillus casei* in mice. *Gann.* 72:512-523.
6. Kato, I., Yokokura, T. and Mutai, M. 1983. Macrophage activation by *Lactobacillus casei* in mice. *Microbiol. Immunol.* 27:611-618.
7. Lee, K. Y., Lee, Y. C., Park, Y. S., Yoon, K. H. and Kim, B. S. 1985. A study of relation between dietary vitamin A intake and serum vitamin A levels and cancer risk in Korea. *Korean J. Nutr.* 18:301-312.
8. Mann, G. V. and Sperry, A. 1974. Studies of a surfactant and cholesteremia in the Maasai. *Amer. J. Clin. Nutr.* 27: 464-469.
9. Matsuzaki, T., Yokokura, T. and Mutai, M. 1988. Antitumor effect of intraperitoneal administration of *Lactobacillus casei* in mice. *Cancer Immunol. Immunother.* 26:209-214.
10. Nomoto, K., Miake, S., Hashimoto, S., Yokokura, T., Mutai, M., Yoshikai, M. and Nomoto, K. 1985. Augmentation of host resistance to *Listeria monocytogens* infection by *Lactobacillus casei*. *J. Clin. Lab Immunol.* 17:91-97.
11. Raiboud, P. 1980. The 3rd International Academic Seminar on *Lactobacillus* and Health, Seoul. p.23.
12. Reddy, G. V., Shahani, K. M. and Banerjee, M. R. 1973. Inhibitory effect of yoghurt on *Ehrlich ascites* tumor cell proliferation. *J. Natl. Cancer Inst.* 50:815-817.
13. Sakamoto, K. and Konishi, K. 1988. Antitumor effect of normal intestinal microflora on *Ehrlich ascites* tumor. *Jpn. J. Cancer Res.* 79:109-116.
14. Watson, R. R. and Leonard, T. K. 1986. Selenium and vitamin A, E and C: Nutrients with cancer preventive properties. *J. Am. Diet. Assoc.* 86:505-510.
15. Yasutake, N., Ohwaki, M., Yokokura, T. and Mutai, M. 1984. Comparison of antitumor activity of *Lactobacillus casei* with other bacterial immunopotentiators. *Med. Microbiol. Immunol.* 173:113-125.
16. Yasutake, N., Kato, I., Ohwaki, M., Yokokura, T. and Mutai, M. 1984. Host-mediated antitumor activity of *Lactobacillus*

*casei* in mice. *Gann.* 75:72-80.

17. Kim, J. H., Kim, D. M., Back, H., Lee, S. H. and Chung, M. J. 2000. Anti-cancer effects of peptides purified from culture supernatant of *Lactobacillus casei*. *J. Korean of Dairy Sci.*

& *Technol.* 26(1):5-10.

---

(2008년 9월 26일 접수; 2008년 11월 3일 채택)