

지역 특산 천연산물 전호, 파고지, 희침 및 산수유의 동물세포간의 부착 억제효과

신진혁¹ · 차구용² · 김희진² · 황재호² · 한경호² · 서효진¹ · 김민용^{3,5} · 오석중⁴ · 김종덕^{1,5*}

¹전남대학교 생명화학공학과 생명산업공학과, ²해양기술학부 양식생물학전공, ³냉동공학과, ⁴(주)이코바이오, ⁵전남대학교 항비만·건강연구소

Anti-Cell Adhesion Effect of Animal Cell with Regional Special Natural Products of *Anthrisci radix*, *Psoraleae semen*, *Siegesbeckiae herba* and *Corni fructus*

Jin Hyuk Shin¹, Gu Yong Cha², Hui Jin Kim², Jae Ho Hwang², Kyeong Ho Han²,
Hyo Jin Seo¹, Min Yong Kim^{3,5}, Suk Jung Oh⁴, and Jong Deog Kim^{1,5*}

¹Department of Biotechnology, ²Department of Culture Biotechnology,

³Department of Refrigeration Eng., Chonnam National University, San 96-1, Dun-Duk Dong, Yosu, Chonnam 550-749, Korea

⁴ECOBIO INC, TBI Center, Chonnam National University, Yongbong-dong, Puk-gu, Gwangju 500-757, Korea

⁵Research center on Anti-Obesity and Health Care, Chonnam National University, San 96-1, Dun-Duk Dong, Yosu, Chonnam 550-749, Korea

Abstract For investigation of anti-angiogenesis mechanism of *Anthrisci radix*, *Psoraleae semen*, *Siegesbeckiae herba* and *Corni fructus*, anti-cell adhesion experiment was performed. The adhesion of U937 cells to IL-1 β -stimulated HUVECs was completely suppressed by 276% at 0.2 mg/L of *Anthrisci radix*, 220% at 5 mg/L of *Psoraleae semen*, 158% at 10 mg/L of *Siegesbeckiae herba* and 132% at 20 mg/L of *Corni fructus*, respectively. And the adhesion of PMA-chemical stimulated U937 cells to HUVECs, it was inhibited 139% at 0.2 mg/L of *Anthrisci radix*, 442% at 5 mg/L of *Psoraleae semen*, 720% at 10 mg/L of *Siegesbeckiae herba* and 664% at 20 mg/L of *Corni fructus*. Also, the adhesion of chemical stimulated U937 cells to IL-1 β /chemical stimulated HUVECs, it was inhibited by 286% at 0.2 mg/L of *Anthrisci radix*, 146% at 5 mg/L of *Psoraleae semen*, 436% at 10 mg/L of *Siegesbeckiae herba* and 297% at 20 mg/L of *Corni fructus*, respectively. It would be a useful substance for anti-cell adhesion based on anti-angiogenesis for anti-obesity and anti-cancer.

Keywords: Anti-cell adhesion, *Anthrisci radix*, *Psoraleae semen*, *Siegesbeckiae herba*, *Corni fructus*

서 론

신생혈관형성 (angiogenesis)은 기존의 혈관에서 새로운 혈관이 생성되는 일련의 과정을 일컫는 용어로서, 태아의 발생, 여성의 월경, 상처 치유과정 등의 정상적인 상황 뿐만 아니라 암세포의 성장과 전이, 류머티즘 관절염, 당뇨병성 실

명증 등의 여러 질병에서도 필수적으로 요구되는 것으로 알려져 있다 [1,2].

신생혈관형성을 매개하는 요소들로서 암세포와 혈관내피세포와의 결합에 중요한 역할을 하는 부착 분자는 크게 selectin, cadherin 및 immunoglobulin superfamily (IGSF)로 분류된다. 특히 혈관내피세포와 종양전이에 중요하며 이 과정에 작용하는 부착분자가 IGSF군으로 intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1; CD54)과 vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1; CD106)이 여기에 포함된다. Selectin은 E-selectin, P-selectin, L-selectin을 포함

*Corresponding author

Tel: +82-61-659-3305, Fax: +82-61-659-3305

e-mail: pasteur@chonnam.ac.kr

하는 막전위 세포부착 글리코단백질의 또 다른 그룹이며, E-selectin과 P-selectin은 ICAM-1과 VCAM-1 처럼 두가지 형태로 존재한다. 하나는 세포간 상호작용을 매개하는 막전위 형태이며, 하나는 가용성의 분비물 형태이다. 가용성 형태의 E-selectin은 쥐의 각막을 이용한 *in vivo*에서 신생혈관을 형성할 뿐 만 아니라, 인간 내피세포를 이용한 *in vitro*에서도 세포 이동의 강력한 자극자로서 역할을 한다.

또한 VE-cadherin에 의한 세포-ECM 상호작용, 세포간 부착 조절은 신생혈관 형성동안에 중요하다. VE-cadherin은 내피세포의 방벽의 기능인 신생혈관형성을 매개한다. ICAM-1은 cytokine에 의해 유도되는 부착 분자로 분자량이 70-110 kD인 당단백질이다. 이는 종양세포 뿐 아니라 혈관내피세포, 조직거대세포, 단핵구, B세포, 활성화된 T세포 및 임파절 배증식의 수지상 세포와 흉선의 상피세포, 섬유모세포 등에서 광범위하게 표현된다 [3-5]. 세포외막의 기질로의 세포 부착은 integrins에 의해 매개되며, 세포부착동안에 ECM-integrin의 범위에서 생물학적 중요성은 잘 알려져 있지 않다. 비록 integrin이 내피세포부착과 이동에 특이한 세포-ECM 상호작용을 지원하지만, integrin의 특이한 부분적 집합에 의한 근원적인 작용기작은 상처치유 및 신생혈관형성의 발달을 매개한다. $\beta 2$ integrin군인 leukocyte function associated antigen-1 (LFA-1, CD11a/CD18)과 complement receptor type-3 (CR-3, MAC-1, CD11b/CD18)가 주요 ligand로 작용하며 [6], interleukin-1 β , tumor necrosis factor- α , interferon- γ (INF- γ)와 세균의 lipopolysaccharide, phorbol myristate acetate (PMA), retinoic acid등이 ICAM-1의 표현을 유도 또는 증가시킨다 [7]. 종양에서는 악성림프종과 대장암, 신장암, 췌장암, 간암과 같은 선암조직뿐 아니라 암세포 주위의 간질과 종양침윤림프구에서도 ICAM-1의 발현이 관찰된다. 현재까지 ICAM-1과 종양병리와의 뚜렷한 관계는 아직 확립되어 있지 않으며, 악성 흑색종에서 ICAM-1의 발현 증가와 종양의 전이 위험도 증가가 무병생존율 감소와 연관이 있음이 보고되었다 [8,9]. VCAM-1은 분자량이 90 kD의 당단백질로 7개의 immunoglobulin domain을 가지고 있고 integrin $\beta 1$ 군인 very late antigen (VLA)-4에 의해 인식된다. 주로 혈관내피세포에서 발현되어 림프구와 단핵구의 결합을 매개하며 림프선의 수지상세포, 신장의 벽측 상피, 조직대식세포에서도 관찰된다 [10]. 림프구와 Jy 세포에서 배양시에 ICAM-1이 용해된 형태로 세포외로 유리됨이 관찰되었으며 [11], enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)를 이용해 염증성 질환과 암환자의 혈청에서 circulating ICAM-1 (cICAM-1)을 정량할 수 있으며 [12,13], 임상적으로 cICAM-1의 발현도가 악성흑색종 [14]과 간암 [15]에서 암의 진행과 상관관계가 있고 생존율의 감소와 연관되어 예후판정의 표지자로 사용할 수 있음이 보고되었다. 또한 위암, 췌장암, 대장암, 담낭암 등의 선암에서 cICAM의 발현과 간전이 사이에 상관관계가 있음도 보고되었다 [16]. Circulating VCAM-1 (cVCAM-1)은 배양 시 사이트카인에 의해 활성화된 혈관내피세포에서 주로 분비된다. 혈청내의 cVCAM 수치는 난소

암, 대장암, 신장암, 방광암 등에서 정상에 비해 측정치가 증가하며, 악성 흑색종과 신세포암에서 VLA-4와 혈관내피세포에서 발현된 VCAM-1과의 상호작용이 혈행성 전이와 관계 있음으로 보고되었다 [17]. 이렇듯 신생혈관을 형성하는 인자들은 암의 형성과 전이에 깊이 관여하고 있다. 세포간 부착은 내피세포의 생활사에서 중요하며, 세포부착 분자는 암의 형성에 중요한 역할을 하는 것을 볼 수 있으며, 신생혈관의 생성에 직접, 간접적으로 관련되는 분자들임을 알 수 있다.

따라서 세포부착 분자들을 억제함으로써 신생혈관형성을 제어할 수 있을 것으로 판단되고, 신생혈관의 형성을 저해함으로써 항암제로서의 사용이 가능 하며, 또한 최근에는 신생혈관의 형성이 비만세포의 분화 및 성장에 중요한 역할을 한다는 보고가 많이 있어 [18-21] 항비만세포제로서의 사용가능성을 가지고 있다.

본 연구에서는 지역천연산물인 전호 (Anthriscus radix), 파고지 (Psoralea semen), 희침 (Siegesbeckia herba) 및 산수유 (Corni fructus) 의 추출물을 이용하여 관련 실험을 진행하였다. 전호는 우리나라, 일본 및 유럽등지에 분포하며, 여수의 돌산 지역에 많이 분포하며, 열매에 누른 빛이 도는 돌기가 있고, 예부터 뿌리는 약용으로 사용하였으며 [22], 파고지는 콩과에 속하는 한해살이 개암풀로 예부터 중국과 한국에서 요통, 이뇨, 염증 등에 약용으로 널리 이용되어 왔으며, 특히 골절, 골다공증의 치료제로써 효과적이라고 알려지고 있다 [23]. 희침은 지리산 일대에 많이 분포하며, ‘털 진득찰’이라 불리는 식물로 산이나 들에 널리 자생하는 일년초로써 풍습 (風濕)을 제거해 관절염, 사지동통마비, 골신불리, 하지 무력 및 증풍으로 인한 반신불수 등에 쓰고, 종기, 발진, 피부 가려움증 및 습진 등에 쓴다. 고혈압, 두통, 어지럼증, 급성 간염 등에도 사용된다고 알려지고 있으며, 약리작용으로 관절 부종억제 및 혈압강하작용이 보고되었다 [24]. 산수유는 전남의 산동지방의 특산물로 이른 봄에 노란 꽃이 피어 춘황금화라고도 하며, 가을에 빨간 열매를 맺기 때문에 가을 산호라는 이름을 갖는 산수유나무 (*Cornus officinalis*)로부터 수확되는 붉은 색의 열매로 씨를 제거한 약용식물 [25]이며, 맛이 시고 성질은 약간 따듯하며 간경, 신경에 좋고, 이뇨 작용, 혈압강하작용, 단백질의 소화를 돕는 작용, 항암 및 항균작용 등이 있다고 동의학에서는 보고되어 있다 [26].

따라서 본 연구에서는 이런 다양한 생리적 활성을 가지는 지역 천연산물인 전호, 파고지, 희침 및 산수유의 추출물을 이용한 신생혈관 제어에 바탕을 둔 세포부착 억제효과를 입증함으로써, 세포 간 부착으로 유발되는 질환에 대한 부작용이 없는 치료제제로 개발하고자 한다.

재료 및 방법

시료의 추출

4가지 지역 천연산물인 전호 (*Anthriscus radix*), 파고지

(*Psoraleae semen*), 희침 (*Siegesbechia herba*) 및 산수유 (*Corni fructus*)를 구매 후, 70% ethyl alcohol로 추출 후, 농축 및 동결건조 처리 한 다음, DMSO에 녹여 세포독성을 갖지 않는 범위 내에서 사용하였다.

세포의 배양 [28]

HUVECs 및 U937 cell의 배양

HUVECs (Human umbilical vein endothelial cells)은 Young Science (Seoul)로부터 3~5세대의 세포를 분양받아 신생혈관제어, 세포부착억제 효과 규명을 위하여 사용하였고, 세포의 성장을 위해 EBM-2 (Lonza) medium에 Hydrocortisone, hFGF-B, VEGF, R3-IGF-1, Ascorbic acid, hEGF, GA-1000, Heparin의 8가지 첨가물을 함유하였으며, 배지에 FBS (Lonza)가 2% 되게 첨가하여 T-75 flask (Nunc)에 세포의 부착을 쉽게 하고 matrix 형성을 위해 2% gelatin (Sigma)을 코팅한 후, 세포를 분주 후 37°C, 5% CO₂ Incubator (Forma Scientific)에서 배양하였다. 배지는 이틀 간격으로 교환하였으며, 세포가 80% 이상 confluence에 도달하였을 때 본 실험에 사용하였다.

U937 cells (Human leukemic monocyte lymphoma cell line, American Type Culture Collection, Rockville, MD)은 cell의 부착시험을 위하여 사용하고, 2 mM IL-glutamine/L (Life Technology), 1 × 10⁵ U penicillin/L 및 100 mg

streptomycin/L을 함유하는 RPMI-1640 medium (Life Technologies, Grand Island)에 FBS가 10% 되게 첨가하여 배양하였다.

시료의 독성 검사

시료의 독성검사는 MTT법으로 행하였으며, HUVEC 세포를 96 well plate에 1 × 10⁴ cells/well 씩 분주하고 confluency에 도달하면 시료를 농도별로 첨가한 후 48시간 배양한 후, 분석 당일 조제한 MTT (Sigma) 50 ug/mL [27-29]가 포함된 배양액을 well당 1 mL씩 넣어 3시간 배양하였다. 5 ug/mL의 MTT (tetrazolium salt, 혹은 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide)를 50 uL 첨가한 후 37°C incubator에서 4시간 반응시킨다. Formazan으로 전환이 안된 MTT를 포함한 배지를 제거하고 각 well에 200 uL의 dimethyl sulfoxide (DMSO)를 넣어 보라색의 formazan을 10분간 녹인 후 570 nm에서 흡광도 정량였다.

세포부착억제 실험

IL-1β 및 천연산물의 추출물로 자극된 HUVECs에 U937 세포부착 실험

HUVECs를 24well plate에 confluence되게 배양한 후, 10 ng/mL의 IL-1β (Gibco)를 처리한 후, 6시간 배양하였다. 배양 후, HUVECs에 각 시료를 농도별로 처리 후 overnight

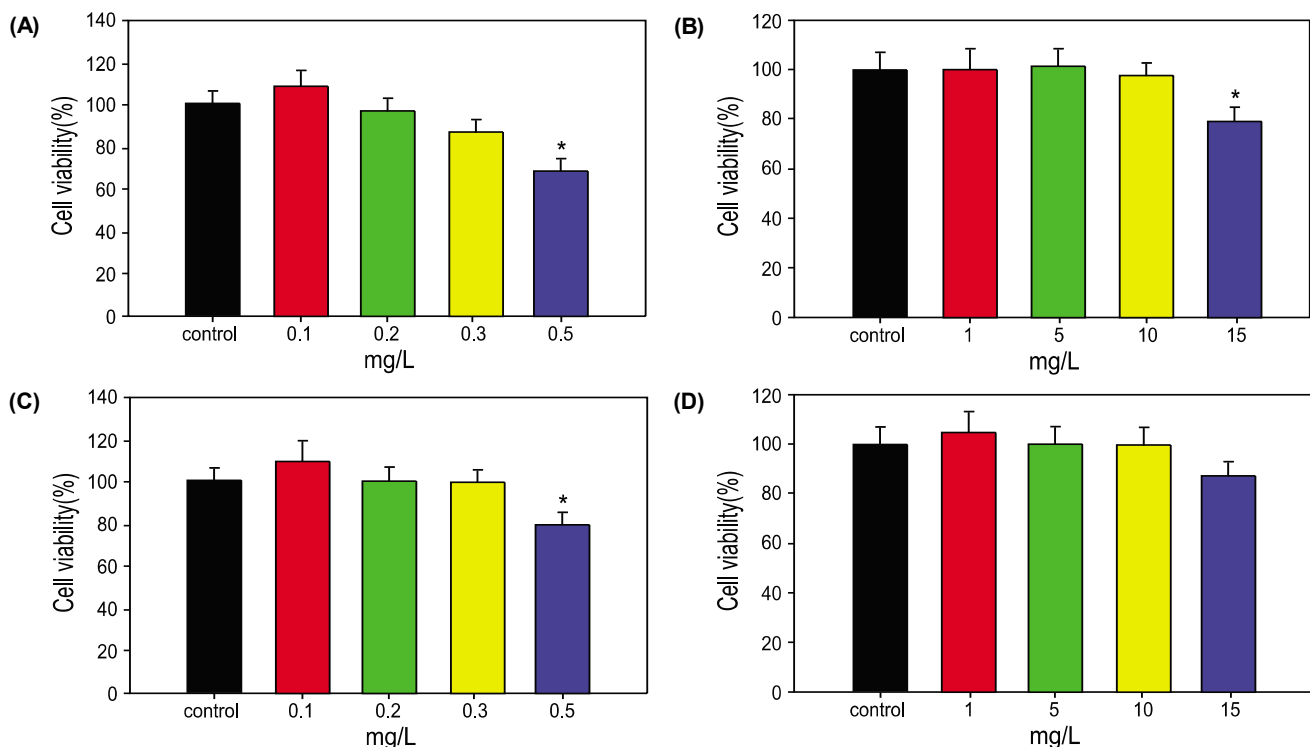


Fig. 1. Cytotoxic effect against HUVECs of *Anthrisci radix* (A), *Psoraleae semen* (B), *Siegesbechia hebra* (C) and *Corni fructus* (D). Data are the mean ± S.D. of three experiments, each performed in triplicate. *P < 0.01 compared with control group.

한 다음, 배양된 U937 cells (2.5×10^5 cell/well)을 HUVECs에 첨가 후, 37°C에서 30분간 배양하고, 과잉의 U937 세포를 1% FBS-PBS로 3회 세척 후, 각 well 당 5분야로 나누어 디지털 카메라 (Nikon, Coolpix)로 촬영하여 Scion Image program를 이용하여 실제의 cell을 헤아린 후 5 영역의 cell의 평균값을 부착된 cell의 수로 계산하였다.

PMA 및 천연산물의 추출물로 자극된 U937 세포의 HUVECs에 부착 실험

U937 cells를 24well plate에 confluence되게 배양한 후, PMA (phorbol myristyl atetate, Sigma)를 100 ug/L 처리 후, 2시간 배양하였다. 활성화된 U937 cells에 각 시료를 농도별로 처리 후, overnight 하였다. 그리고, 최적으로 배양된 HUVECs에 U937 cells를 첨가 후, 37°C에서 30분간 배양하고, 1% FBS-PBS로 3회 세척 후, 상기와 같은 방법으로 계산하였다.

IL-1β 및 천연산물 추출물로 자극된 HUVECs에 천연산물을 추출물로 자극한 U937 세포의 부착 실험

HUVECs과 U937 cells를 24well plate에 최적의 량으로 배양 후, HUVECs의 경우, 10 ng/mL의 IL-1β를 처리한 후,

6시간 배양하고, HUVECs과 U937 세포에 각 시료를 농도별로 처리 후, overnight 하였다. 이후, 천연산물 추출물로 처리된 U937 세포를 IL-1β 및 천연산물 추출물로 처리한 HUVECs에 첨가한 후, 37°C에서 30분간 배양하고, 1% FBS-PBS로 3회 세척 후, 상기와 같은 방법으로 계산하였다.

통계처리

모든 자료는 평균 ± 표준편차로 나타내었고, 대조군과의 처리군과의 차이는 Student's *t*-test로 처리하였다. 통계 수치 유의수준은 $p < 0.05$ 로 설정하였다

결과 및 고찰

독성시험

독성시험은 HUVEC를 사용하여 MTT방법으로 측정하였으며, 전호는 0.3 mg/L에서 약간의 독성을 나타내었고, 파고지는 10 mg/L까지는 독성을 나타내지 않았고, 희침 및 산수유는 25 mg/L까지 독성을 나타내지 않았고, 독성

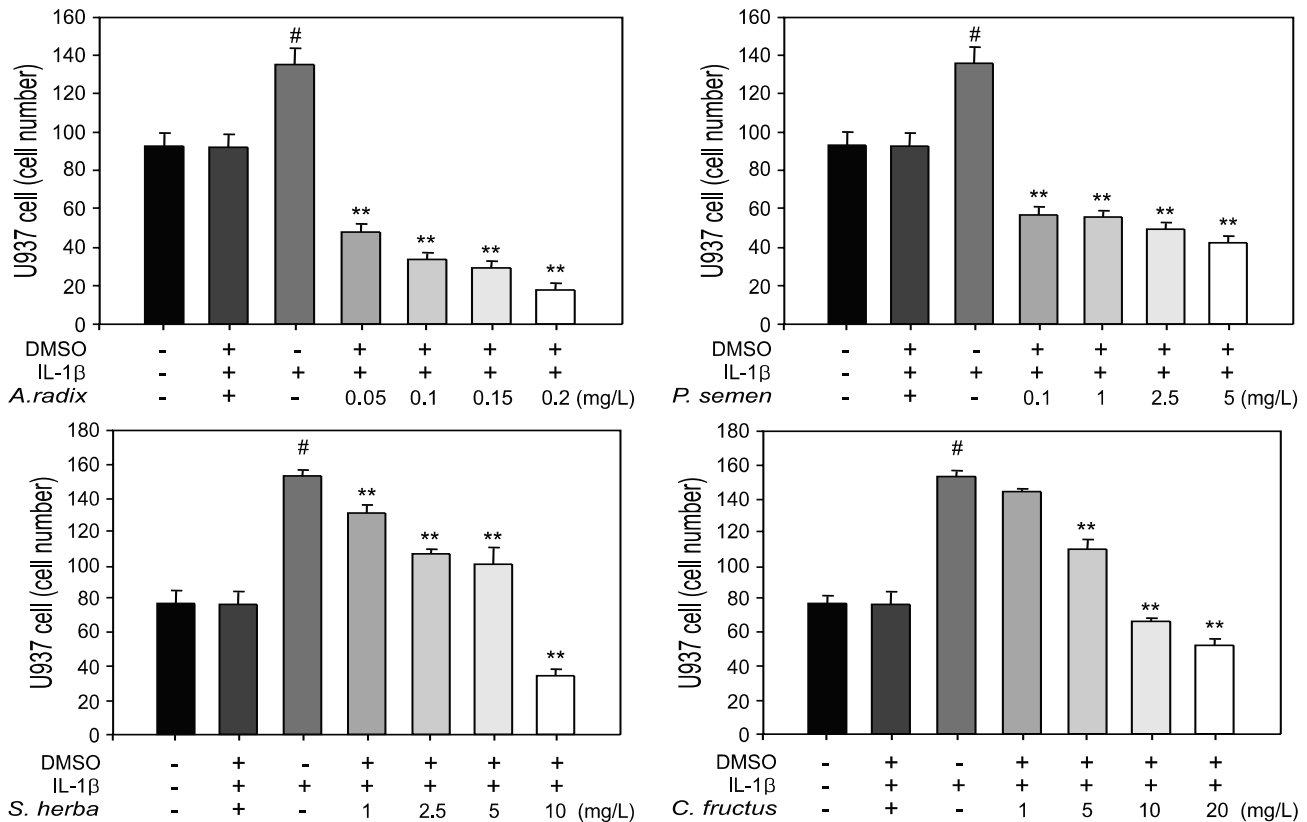


Fig. 2. Anti-cell adhesion effect of natural products on U937 cells against natural product extract and IL-1β stimulated HUVECs. Data are the mean ± S.D. of three experiments, each performed in triplicate. **P < 0.01, *P < 0.05 compared with activated control group; #P < 0.01 compared with unstimulated control group.

을 나타내지 않는 범위에서 실험을 수행하였으며, 그 결과를 Fig. 1에 나타내었다.

세포부착억제효과

IL-1 β 및 천연산물의 추출물로 자극된 HUVECs에 U937 세포부착

4가지 천연산물에 대하여 세포부착억제 정도를 확인하기 위해 먼저 24well plate에 가득 배양된 HUVECs에 IL-1 β 를 자극한 후, 각각의 천연산물 추출물을 농도별로 투여한 후, 나중에 배양된 U937 세포를 부착하였다. 그 결과, 전호 (*Anthrisci radix*)를 0.05, 0.1, 0.15, 0.2 mg/L 처리시 204%, 239%, 252%, 276%의 저해율을 나타내었으며, 파고지 (*Psoraleae semen*)를 0.1, 1, 2.5, 5 mg/L 처리한 결과 각각 186%, 190%, 204%, 220%의 저해율을 보였으며, 희침 (*Siegesbeckiae herba*)을 1, 2.5, 5, 10 mg/L 처리한 결과 28%, 61%, 70%, 158%의 저해율을 보였으며, 산수유 (*Corni fructus*)를 1, 5, 10, 20 mg/L 처리했을 때는 12%, 57%, 115%, 132%의 저해효과가 있음을 보였다 (Fig. 2).

PMA 및 천연산물의 추출물로 자극된 U937 세포의 HUVECs에 부착

천연산물의 세포부착억제 정도를 확인하기 위해 가득 배양된 U937세포에 세포부착 촉진인자인 PMA (phorbol myristate acetate)를 자극한 후, 각각의 천연산물 추출물을 농도별로 투여하고, 일정시간 배양된 U937 cells를 가득 배양된 HUVECs에 부착시킨 결과, 전호에서는 0.05, 0.1, 0.15, 0.2 mg/L 처리시, 12%, 79%, 79%, 139%의 저해효과를 보였으며, 파고지의 농도를 1, 2.5, 5 mg/L 처리시 163%, 216%, 442%의 저해효과를 보였다. 희침의 농도를 1, 2.5, 5, 10 mg/L 처리시에는 372%, 613%, 633%, 720%의 저해율을 나타내었고, 산수유의 경우 희침과 같은 농도 처리시 379%, 504%, 567%, 664%의 저해율로 희침과 비슷한 정도의 세포부착 억제력을 보였다 (Fig. 3).

IL-1 β 및 천연산물 추출물로 자극된 HUVECs에 천연산물 추출물로 자극한 U937 세포의 부착 실험

4가지 천연산물의 세포부착억제 정도를 확인하기 위해

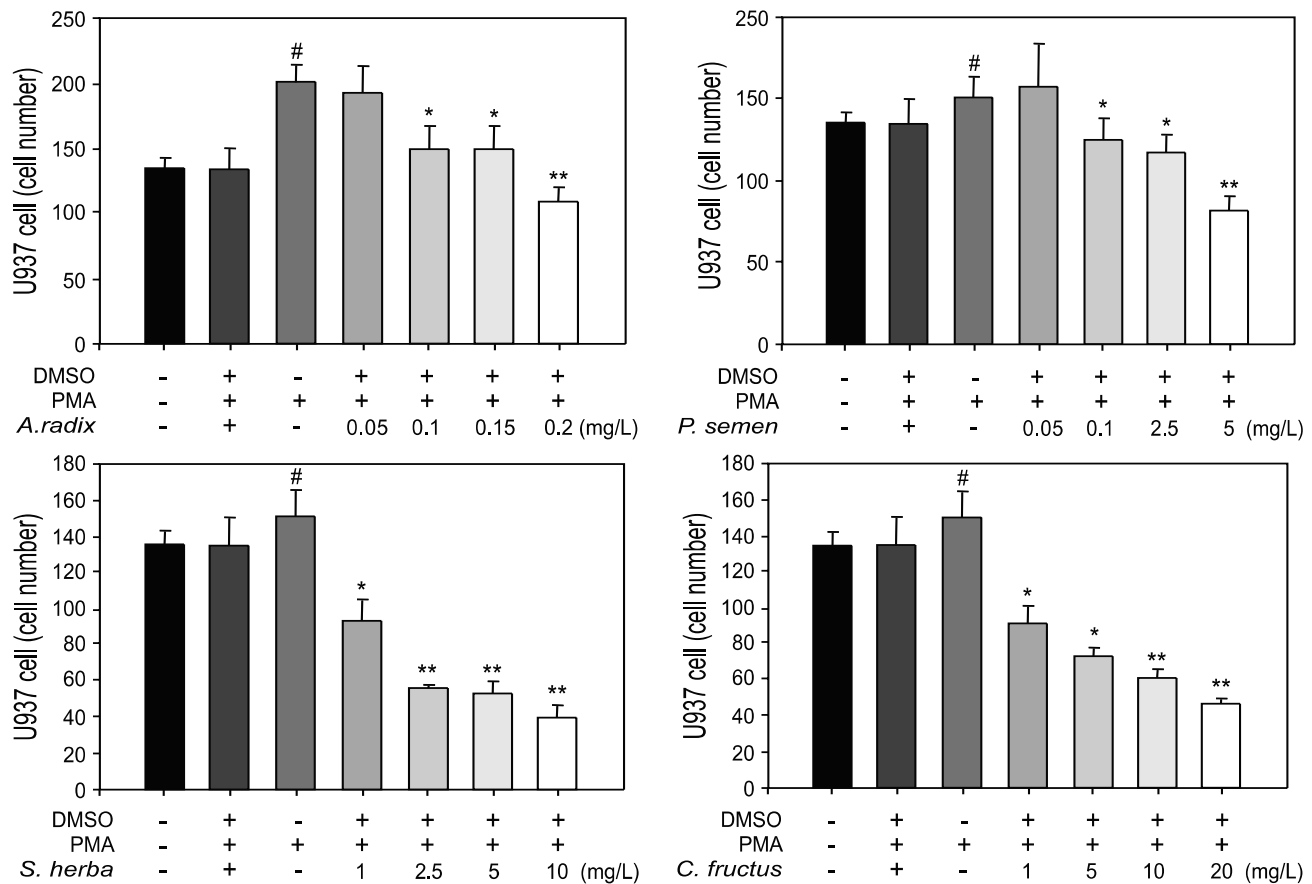


Fig. 3. Anti-cell adhesion effect of natural products on PMA and natural product extract stimulated U937 cells against HUVECs. Data are the mean \pm S.D. of three experiments, each performed in triplicate. **P < 0.01, *P < 0.05 compared with activated control group; #P < 0.01 compared with unstimulated control group.

HUVECs 의 경우 IL-1 β 및 천연산물을 투여하고, U937 cell 의 경우 천연산물을 투여한 후, 일정시간 배양 후 세포부착 한 결과, 전호에서는 0.05, 0.1, 0.15, 2 mg/L 처리시 115%, 131%, 239%, 286%의 저해효과를 보였으며, 파고지의 경우 0.1, 1, 2.5, 5 mg/L 처리한 결과 10%, 52%, 59%, 146%의 저해율을 보였다. 회침 처리군에서는 1, 2.5, 5, 10 mg/L 처리시 93%, 95%, 375%, 436%의 저해율을 보였으며, 같은 농도의 산수유 처리군에서는 50%, 112%, 231%, 297%의 저해효과가 있음을 보였다.

이를 전보 [30]의 ELISA법에 의한 세포부착 억제작용과 비교해보면, 각각의 천연산물에 대하여 cell adhesion 분자인 VCAM-1에 대하여 살펴보면, 전호 (0.2 mg/L, 125%) > 파고지 (0.5 mg/L, 100%) > 회침 (5.0 mg/L, 114%) > 산수유 (5.0 mg/L, 111.8%)의 순으로 저해의 강도가 높은 것으로 나타났고, ICAM-1의 저해 정도를 보면, 전호 (0.25 mg/L, 130%) > 파고지 (0.5 mg/L, 100%) > 회침 (5.0 mg/L, 138%) > 산수유 (5.0 mg/L, 66.7%)의 순으로 저해의 강도가 높은 것으로 나타났으며, E-Selectin의 저해 정도는, 전호 (0.25 mg/L, 100%) > 파고지 (1.0 mg/L, 128%) > 회침 (5.0 mg/L, 120%) > 산수유 (5.0 mg/L, 100.7%)의 순으로

저해의 강도가 높은 것으로 나타나, 전반적으로 전호가 세포 부착 억제 효과가 좋은 것으로 보였다.

그러나 U937세포를 HUVECs에 부착시킨 결과는 그 처리 방법에 따라 각각 천연산물의 효능이 다른 것으로 나타났다. 즉, IL-1 β 및 천연산물의 추출물로 자극된 HUVECs에 U937 세포부착에서는 전호 (*Anthrisci radix*)는 0.2 mg/L 처리하였을 때 276%의 저해율을 나타내었으며, PMA 및 천연산물의 추출물로 자극된 U937 세포의 HUVECs에 부착에서는 회침의 농도를 5 mg/L 처리하였을 때 633%의 저해율을 나타내었고, IL-1 β 및 천연산물 추출물로 자극된 HUVECs에 천연산물 추출물로 자극한 U937 세포의 부착 실험에서는 회침을 5 mg/L 처리하였을 때 375%의 저해율을, 그리고, 같은 농도의 산수유를 처리하였을 경우에는 231%의 저해율을 보였다 (Fig. 4).

따라서, 3가지의 방법에 의하여 세포 부착인자를 활성화시키고, 천연산물을 처리하였을 때 ELISA법에 의한 시험과 마찬가지로 세포부착 억제 효과가 뛰어난 것으로 사료된다. 또한, 전반적으로 낮은 농도에서 세포부착인자의 발현을 억제함으로써 신생혈관 형성 억제작용을 갖는 제제로써 항암 및 항비만제제로서의 가능성을 보였다.

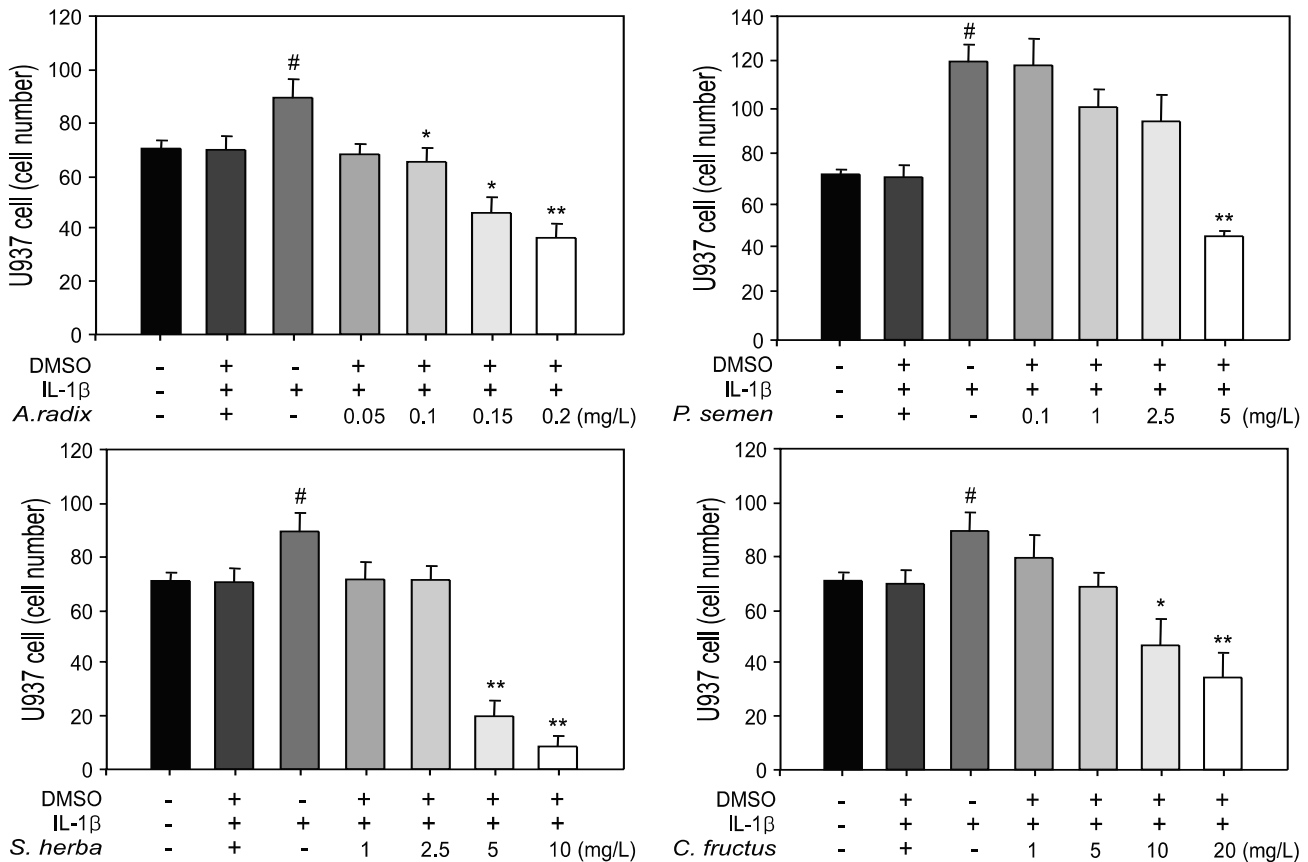


Fig. 4. Anti-cell adhesion effect of natural products on natural product extract stimulated U937 cells against natural product extract and IL-1 β stimulated HUVECs. Data are the mean \pm S.D. of three experiments, each performed in triplicate. **P < 0.01, *P < 0.05 compared with activated control group; #P < 0.01 compared with unstimulated control group.

요 약

많은 연구를 통해 세포간 부착은 신생혈관형성에 큰 영향을 미치며, 이러한 세포부착억제를 통해 직접적으로 신생혈관형성을 제어할 수 있다. 따라서 본 연구에서는 이러한 신생혈관형성 억제력을 가지는 지역 천연산물을 이용하여 HUVECs 및 U937 cells를 이용한 세포부착 억제정도를 확인하였다. 4가지 천연산물의 세포부착 억제력을 확인하기 위해 세포부착 억제실험을 3가지 방법으로 달리 하여 세포부착 억제정도를 확인한 결과 먼저, IL-1 β 및 천연산물이 자극된 HUVECs 에 대한 U937 세포부착 억제실험에서는 전호, 파고지, 회침 및 산수유의 농도 증가에 따라 전호의 경우 최고 0.2 mg/L에서 276%의 저해율을, 파고지의 경우 5 mg/L에서 220%, 회침의 경우 10 mg/L에서 158%, 산수유의 경우 20 mg/L에서 132%의 저해효과가 있음을 보였다. 두 번째로 실시한 HUVECs에 대한 PMA 및 천연산물이 자극된 U937 세포부착 억제실험에서는 전호 0.2 mg/L에서 139%, 파고지 5 mg/L에서 442%, 회침 10 mg/L에서 720%, 산수유 20 mg/L에서 664%의 저해율을 보임을 확인하였다. 마지막으로 실시한 IL-1 β 및 천연산물 추출물이 자극된 HUVECs에 대한 천연산물 추출물이 자극된 U937 cells의 세포부착 억제실험의 경우, 전호 0.2 mg/L에서 286%, 파고지 5 mg/L에서 146%, 회침 10 mg/L에서 436%, 산수유 20 mg/L에서 297%의 저해율을 보였다. 이상의 3가지 방법으로 실시한 세포부착 억제실험에서 모두 각각의 천연산물 추출물의 농도증가에 따라 현저하게 그 부착력이 억제됨을 확인하였다. 따라서, 본 연구에서 사용된 전호, 파고지, 회침 및 산수유는 세포부착을 억제함으로써, 신생혈관형성과 관련된 암 및 비만의 근본적인 치료제제로써 사용 가능함을 시사한다.

사 사

이 연구는 지역혁신인력양성사업 (20080702132119)의 결과의 일부로써 이에 감사합니다.

접수 : 2009년 12월 1일, 게재승인 : 2009년 12월 23일

REFERENCES

- Folkman, J. (2007) Angiogenesis: an organizing principle for drug discovery. *Nat. Rev. Drug Discov.* 6: 273-286.
- Goldman, E. (1908) The growth of malignant disease in man and the lower animals with special reference to the vascular system. *Proc. R Soc. Med.* 1: 1-13.
- Smith, M. E. and J. A. Thomas (1990) Cellular expression of lymphocytic function associated antigens and the intercellular adhesion molecule-1 in normal tissue. *J. Clin. Pathol.* 43: 893-900.
- Springer, T. A. (1990) Adhesion receptors of the immune system. *Nature* 346: 425-434.
- Rice, G. E., J. M. Munro, C. Corless, and M. P. Bevilacqua (1991) Vascular and non-vascular expression of ICAM-110. *Am. J. Pathol.* 138: 385-393.
- Marlin, S. D. and T. A. Springer (1987) Purified intercellular adhesion molecule-1(ICAM-1) is a ligand for lymphocytic function associated antigen 1(LFA-1). *Cell.* 51: 813-820.
- Ohh, M., A. Smith, C. Carpenito, and F. Takei (1994) Regulation of intercellular adhesion molecule-1 gene expression involves multiple mRNA stabilization mechanisms: Effects of interferon- γ and phorbol myristate acetate. *Blood* 84: 2632-2639.
- Johnson, J. P., B. G. Stade, B. Holzmann, W. Schwable, and G. Riethmuller (1994) De novo expression of intercellular adhesion molecule 1 in melanoma correlates with increased risk of metastasis. *Immunology* 86: 614-644.
- Harming, R. E., J. C. Mainolfi, M. Bystryk Henn, V. J. Merluzzi, and R. Rothlein (1991) Serum levels of circulating intercellular adhesion molecule 1 in human malignant melanoma. *Cancer Res.* 51: 5003-5005.
- Norris, P., R. N. Poston, D. S. Thomas, M. Thornhill, J. Hawk, and D. O. Harkard (1991) The expression of E-selectin, ICAM-1 and VCAM-1 in experimental cutaneous inflammation: A comparison of UVB erythema and delayed hypersensitivity. *J. Invest. Dermatol.* 96: 763-770.
- Pigott, R., L. P. Dillon, I. H. Jemingway, and A. J. Gearing (1992) Soluble forms of E-selectin, ICAM-1 and VCAM-1 are present in the supernatants of cytokine activated cultured endothelial cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 187: 584-589.
- Rothlein, R., E. A. Mainolfi, M. Czajkowski, and S. D. Marlin (1991) A form of circulating ICAM-1 in human serum. *J. Immunol.* 147: 3788-3793.
- Seth, R., F. D. Raymond, and M. W. Makgoba (1991) Circulating ICAM-1 isoforms: Diagnostic prospects for inflammatory and immune disorders. *Lancet* 338: 83-84.
- Banks, R. E., A. J. H. Gearing, I. K. Hemingway, D. R. Norfolk, T. J. Perren, and P. J. Selby (1993), Circulating intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1), E-selectin and vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) in human malignancies. *Br. J. Cancer* 68: 122-124.
- Hyodo, I., K. Jinno, M. Tanimizu, Y. Hosokawa, Y. Nishikawa, M. Akiyama, K. Mandai, and S. Moriwaki (1993) Detection of circulating intercellular adhesion molecule-1 in hepatocellular carcinoma. *Int. J. Cancer* 55: 775-779.

16. Tsujisaki, M., K. Imai, H. Hirata, Y. Hanzawa, J. Masuya, N. Nakano, and Y. Sugiyama (1991) Detection of circulating intercellular adhesion molecule-1 antigen in malignant disease. *Clin. Exp. Immunol.* 85: 3-8.
17. Tomita, Y., T. Nishiyama, H. Watanabe, M. Fujiwara, and S. Sato (1990) Expression of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) on renal cell cancer: possible significance in host immune response. *Int. J. Cancer.* 46: 1001-1006.
18. Poissonnet, C. M., A. R. Burdi, and F. L. Bookstein (1983) Growth and development of human adipose tissue during early gestation. *Early Hum. Dev.* 8: 1-11.
19. Friedman, J. M., R. L. Leibel, D. S. Siegel, J. Walsh, and N. Bahary (1991) Molecular mapping of the mouse ob mutation. *Genomics.* 11: 1054-1062.
20. Halaas, J. L., C. Boozer, J. Blair-west, N. Fidahusein, D. A. Denton, and J. M. Fridman (1997) Physiological response to long-term peripheral and central leptin infusion in lean and obese mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 94: 8878-8883.
21. Nishimura, S., I. Manabe, M. Nagasaki, Y. Hosoya, H. Yamashita, H. Fujita, M. Ohsugi, K. Tobe, T. Kadowaki, R. Nagai, and S. Sugiura (2007) Adipogenesis in obesity requires close interplay between differentiating adipocytes, stromal cells, and blood vessels. *DIABETES.* 56: 1517-1526.
22. Kozawa, M., N. Morita, and K. Hata (1978) Structures of anthriscusun, a new phenylpropanoid ester from the roots of *Anthriscus sylvestris* hoffm. *Chem. Pharm. Bull.* 26: 1337-1338.
23. Pae, H. O., H. Cho, G. S. Oh, N. Y. Kim, E. K. Song, Y. C. Kim, Y. G. Yun, C. L. Kang, J. D. Kim, J. M. Kim, and H. T. Chung (2001) Backuhiol from *Psoralea corylifolia* inhibits the expression of inducible nitric oxide synthase gene via the inactivation of nuclear transcription factor- κ B in RAW 264.7 macrophages. *Int. Immunopharmacol* 1: 1849-1855.
24. Nkamura, K. (1974) *New Chinese medicine.* p. 37. ITSHIYAKU, Tokyo.
25. Chung, S. R., K. H. Jeune, S. Y. Park, and S. J. Jang (1993) Toxicity and lectins constituents from the seed of *Cornus officinalis*. *Korean J. Pharmacogen.* 24: 177.
26. Seo, K. I., S. W. Lee, and K. H. Yang (1999) Antimicrobial and antioxidative activities of Corni fructus extracts. *Korean J. Postharv. Sci. Technol.* 6: 99-103.
27. Lim, J. K., H. J. Seo, E. O. Kim, M. Meydani, and J. D. Kim (2006) Identification of anti-angiogenic and anti-cell adhesion materials from enterobacteria of the *Trachurus japonicus*. *J. Microbiol. Biotech.* 16: 1544-1553.
28. Hyodo, I., K. Jinno, M. Tanimizu, Y. Hosokawa, Y. Nishikawa, M. Akiyama, K. Mandai, and S. Moriwaki (1993) Detection of circulating intercellular adhesion molecule-1 in hepatocellular carcinoma. *Int. J. Cancer* 55: 775-779.
29. Shin, J. H., J. H. Lee, K. W. Kang, J. H. Hwang, K. H. Han, T. S. Shin, M. Y. Kim, and J. D. Kim (2009) Selection and mechanism of anti-obesity agents from natural products based on anti-angiogenesis. *The Korean Society for Biotechnology and Bioengineering Journal,* 24: 122-130.
30. Lim, J. K., H. J. Seo, E. O. Kim, M. Meydani, and J. D. Kim (2006), Identification of anti-angiogenic and anti-cell adhesion materials from enterobacteria of the *trachurus japonicus*. *J. Microbiol. Biotech.* 16: 1544-1553.