J Korean Soc Food Sci Nutr
40(5), 619~624(2011)

한국식품영양과학회지
DOI: 10.3746/jkfn.2011.40.5.619

사람 폐암 세포주에서 시스플라틴이나 독소루비신의 세포독성에 미치는 녹차 추출물의 영향

이병래[1] · 박재윤[1] · 박평심[2†]

[1]조선대학교 의과대학 생화학교실
[2]조선대학교 의학연구원

Effect of Green Tea Extract on Cisplatin- or Doxorubicin-Induced Cytotoxicity in Human Lung Cancer Cell Lines

Byoung-Rai Lee[1], Jae-Yoon Park[1], and Pyoung-Sim Park[2†]

[1]Dept. of Biochemistry, College of Medicine and [2]Institute of Medical Science, Chosun University, Gwangju 501-759, Korea

Abstract

Tea extract (TE) has been shown to have anti-tumor properties in a wide variety of experimental systems. We evaluated green tea extract (GTE) as a biochemical modulator for the antitumor activity of cisplatin and doxorubicin in the treatment of human lung cancer A549 cells. Cells were grown in RPMI-1640 medium supplemented with 10% (v/v) heat-inactivated fetal bovine serum and two antibiotics (100 units/mL penicillin and 100 μg/mL streptomycin). Two types of TE, epigallocatechin galate (EGCG) and GTE, were used in this experiment. The cells were seeded at 1×10^4 cells/well in the RPMI-1640 media with or without TE (100 μg/mL) and then treated with different concentrations of doxorubicin (0~14 μg/mL) or cisplatin (0~35 μg/mL). After incubation in 5% CO_2 at 37°C for 24 hr, cell viability was determined with a MTT assay. We used a Western blot to detect the influence of EGCG and GTE on the expression of p53 and caspase-3 genes in the A549 cells. A549 cell viability decreased to 15% with a 10 μg/mL concentration of cisplatin, and to 21% with a 8 μg/mL concentration of doxorubicin, as measured with the MTT assay. However, pre-treatment of the cells with EGCG (100 μg/mL) or GTE (100 μg/mL) resulted in decreased cell viability with 6 μg/mL of cisplatin and 4 μg/mL of doxorubicin. There was no apparent change in cell viability between EGCG or GTE administration in cisplatin- or doxorubicin-induced cytotoxicity in A549 cells. The levels of p53 and caspase-3 in the A549 cells increased with both EGCG and GTE treatment. We found that GTE could potentially affect cisplatin- or doxorubicin-induced cytotoxicity of A549 cells, which may be useful in the chemotreatment of cancer.

Key words: doxorubicin, cisplatin, GTE, EGCG, A549 cell

서 론

녹차(*Camellia sinensis* L.)는 차나무 잎의 엽록소를 그대로 보존시킨 비 발효차로 세계적으로 이용하고 있는 음료이다. 녹차 잎은 75~80%의 수분과 20~25% 고형물질로 되어 있고, 테아닌, 유리아미노산, 카테킨, 카페인, 클로로필, 비타민 및 미네랄 등의 기능성 및 기호성 관련 성분이 함유되어 있다(1). 카테킨은 건조 녹차 잎의 약 10% 내외를 차지할 정도로 매우 함량이 높은데, 녹차 잎에 함유된 카테킨은 epicatechin(EG), epicatechin-3-gallate(ECG), epigallocatechin (EGC) 및 epigallocatechin-3-gallate(EGCG) 등 4가지 종류가 많고, 이중에서 EGCG의 함량이 가장 높다(2). 카테킨은 항산화 작용, 항암작용, 항균작용, 항비루스 작용 등 여러 가지 생리활성이 있는 것으로 보고되고 있다(1-4). 항암작용은 카테킨 중에서 EGCG가 가장 강한 것으로 알려져 있고, 암의 발생을 예방하거나 치료제로서의 EGCG를 이용하기 위한 연구가 많이 진행되고 있어 녹차의 암 발병 억제 및 예방효과가 주목되고 있다(3,4). 암을 치료하는 방법은 여러 가지가 있는데, 화학약품을 이용하여 암을 치료하는 방법인 항암화학요법은 암의 종류나 시기에 관계없이 시행할 수 있기 때문에 매우 유용한 암 치료방법이다(5,6).

시스플라틴(cisplatin: cis-diammine dichloroplatinum)과 독소루비신(doxorubicin)은 광범위 항암 화학요법제로서 자궁경부암, 대장암, 폐암 등 여러 가지 암에 대한 항암치료제에 이용되고 있다(7-9). 광범위 화학요법제는 암 치료에서 1차적으로 이용되는 화학요법제이나, 항암제에 대한 내성과

†Corresponding author. E-mail: pspark3687@hanmail.net
Phone: 82-62-230-6295, Fax: 82-62-226-4165

신장, 간장 및 골수세포 등에 대한 독성 부작용은 항암 화학요법의 커다란 장애로 대두되고 있다(10-12). 따라서 항암 화학요법제의 치료효과를 증진시키고, 부작용을 줄이기 위한 여러 가지 방법이 시도되고 있는데, 투여량을 증가시키는 고용량 요법, 리포좀에 약물을 포장하여 투여하는 방법 등 약물투여량이나 방법을 개선하는 연구가 진행되고 있다(13,14).

그러나 항암 화학요법제의 항암작용을 증가시키면서 독성은 최소화하여 암 치료가 효과적으로 이루어질 수 있는 치료법의 개발이 아직까지 충분하지 않다. 따라서 정상세포에 대한 독성작용을 최소화하면서 암세포에 대한 항암작용을 증가시킬 수 있는 화학요법제의 개발이 필요하다. 또한 항암 화학요법제의 암세포 독성을 증가시키거나 암세포의 내성을 극복할 수 있는 항암 화학요법 보조제의 개발에 대한 연구가 매우 절실히 요구되고 있다.

본 연구는 광범위 항암 화학요법제인 시스플라틴과 독소루비신의 항암작용을 증강시키는 제제를 개발하기 위한 연구의 일환으로 녹차 추출물의 이용가능성을 추정하기 위하여 사람 폐암 세포주인 A549 세포를 배양하여 시스플라틴과 독소루비신 및 녹차 추출물을 처치한 후 세포생존율을 알아보았다. 또한 세포사멸에 관여하는 것으로 알려진 p53 및 caspase-3(15)을 측정하여 정제되지 않은 녹차 추출물과 녹차로부터 추출 정제한 EGCG의 영향을 비교 관찰하였다.

재료 및 방법

녹차 추출물 시료의 추출

녹차 추출물은 건조 녹차 잎을 열수 추출하고 부분 정제하여 사용하였다. 즉 건조 녹차 잎을 재배농가(보성다원)에서 구입하여 분마시켜서, 미리 가열한 증류수 50 L에 녹차 잎 분말 5 kg을 첨가하여 100℃로 2시간 동안 가열한 후 추출액을 원심분리 하여 상층액을 수집하였다. 수집한 추출액을 4℃에서 12시간 동안 방치하고 난 후 원심분리기(JA-21, Beckman, Fullerton, CA, USA)에서 1500 rpm으로 15분간 원심분리 하여 수집한 상층액을 건조기(60℃)에서 완전히 건조시킨 후 마쇄하여 제조한 분말을 녹차 추출물 시료로 사용하였다.

세포의 배양

본 실험에서 사용한 세포는 사람 폐암세포주인 A549 세포로 한국 세포주 은행에서 분양받아 실험에 사용하였다. 10% 태우혈청, 스트렙토마이신(100 U/mL) 및 페니실린(100 U/mL)을 함유한 RPMI-1640 배지(Gibco BRL, Brooklyn, NY, USA)를 사용하였으며, 37℃로 유지되는 CO_2 배양기에서 상기 세포를 배양하였다.

세포활성(cell viability) 측정

실험에 사용한 독소루비신, 시스플라틴 및 EGCG는 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO, USA)에서 구매하여 사용하였고, 녹차 추출물은 추출하여 사용하였다. 녹차 추출물, EGCG와 독소루비신은 PBS(phosphate buffered saline)에 용해시켜 주사기용 필터(syringe filter 0.22 μm, Millipore, Billerica, MA, USA)를 통과시킨 후 배양액에 첨가하였고, 시스플라틴은 DMSO(dimethylsulfoxide)에 용해시킨 후 PBS에 희석시켜 배양액에 첨가하였다.

세포배양 용기(96 well plate)의 각 웰에 A459 세포 2×10^4 개씩을 넣어 24시간 동안 배양한 후 녹차 추출물, EGCG, 독소루비신 및 시스플라틴을 배양액에 첨가하고, 24시간 동안 더 배양한 후 세포활성을 MTT(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide)법으로 측정하였다(16). 각 실험세포에 MTT를 최종농도가 1 mM이 되게 첨가하여 4시간 동안 배양시킨 후 배양액을 제거하고, HBSS (Hank's balanced salt solution)로 3회 세척하여 MTT 용해액[50% N,N-dimethylformamide(v/v); 20% sodium dodecyl sulfate(w/v), pH 4.7] 200 μL를 첨가한 후 ELISA plate reader(TECAN, Männedorf, Switzerland)로 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 실험은 각 실험군마다 3 wells의 흡광도를 각각 측정하여 평균값을 계산하였고, 3회 반복 실험을 실시하였으며, 세포활성도(cell viability)는 비교세포활성도로서 표시하였다.

$$\text{비교세포활성도 (relative viability)} = \frac{\text{실험군 흡광도}}{\text{대조군흡광도}} \times 100$$

p53 및 caspase-3 양 측정

A549 세포에서 p53 및 caspase-3 양은 Western blot 법으로 측정하였다. A549 세포를 1일간 배양한 후 대조군, 녹차 추출물과 EGCG 첨가군으로 나누어 실험을 실시하였다. 녹차 추출물이나 EGCG 100 μL/mL를 배양액에 첨가하여 4시간 동안 배양한 후 배지를 제거하고 100 μL SDS-loading buffer(50 mM Tris-HCl, pH 6.8, 2% SDS, 0.1% bromophenol blue, 10% glycerol)를 첨가하여 95°C에서 5분 동안 방치한 후 냉각시켜 시료로 이용하였다. 동량의 시료(30 μg protein/lane)를 10% polyacrylamide gel에서 Tris 완충액(pH 8.8, 0.025 M Tris, 0.192 M glycine, 0.1% SDS)으로 80 V로 2시간 동안 전기영동 시켜 Hybond ECL nitrocellulose membrane에 흡착시켰다. 단백질이 흡착된 nitrocellulose membrane은 5% nonfat milk를 함유한 TBS(0.1% Tween 20 in pH 7.4 Tris-based saline buffer)로 blocking하고 anti-rabbit polyclonal anti-p53 Ab, anti-caspase-3 Ab 및 anti-β-actin Ab(Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, USA)와 이차항체(horseradish peroxidase-labeled goat anti-rabbit IgG)를 이용하여 반응시킨 후 enhanced chemiluminescence 용액(Amersham, London, UK)에 넣고 ECL 필름에 감광시킨 후 image analyzer(1D ver.2.1, Pharmacia Biotech, Kalamazoo, MI, USA)를 이용하여 측정하여 비교하였다.

통계처리

모든 실험결과는 평균과 표준편차(mean±SD)로 나타내었고, 각 군 간의 통계적 유의성 검증은 SPSS 통계 프로그램(statistical package for social science version 12.0)을 이용하여 ANOVA 분석을 하였다. 각 군 간에 유의한 차이가 있는 경우 Duncan's multiple range test를 실시하여 $p<0.05$ 수준에서 검증하였다.

결과 및 고찰

녹차 추출물이 A549 세포활성에 미치는 영향

녹차 추출물과 EGCG의 항암작용을 사람 폐암세포주인 A549 세포를 배양하여 세포활성도를 MTT법으로 측정하였다. A549 세포를 배양한 후 EGCG와 녹차 추출물을 각각 0, 20, 50, 100, 200, 300, 400, 500 및 600 μg/mL 되게 배양액에 첨가하여 24시간 배양한 후 MTT법을 시행한 결과 EGCG는 300 μg/mL, 녹차 추출물은 400 μg/mL 이상의 농도에서 세포활성이 감소되어 세포독성이 나타남을 알 수 있었다(Fig. 1). 녹차 카테킨 중 EGCG의 항암작용이 가장 강한 것으로 알려져 있는데(17,18), EGCG와 녹차 추출물의 A549 세포에 대한 독성을 본 실험결과를 비교하여 보면 EGCG는 300 μg/mL, 녹차 추출물은 400 μg/mL 이상의 농도에서 세포독성이 나타나서 녹차 추출물은 EGCG보다 33% 정도 더 높은 농도에서 세포독성이 나타나서 녹차 추출물은 EGCG보다 항암력이 더 낮을 것으로 추측된다.

녹차 추출물의 항암력을 항암 화학요법제로 이용되는 시스플라틴과 독소루비신과 비교하기 위하여 A549 세포에 대한 시스플라틴과 독소루비신의 세포활성 억제력을 측정하였다. A549 세포를 배양하여 시스플라틴과 독소루비신을 세포배양액에 2, 4, 6, 8, 10, 12 및 14 μg/mL 되게 첨가하고 24시간 배양한 후 세포활성을 측정한 결과 시스플라틴 10 μg/mL, 독소루비신 8 μg/mL의 농도에서 시스플라틴이나 독소루비신을 첨가하지 않은 대조군에 비하여 세포활성도가 급격히 감소되어 세포독성이 나타남을 알 수 있었다(Fig. 2). 이러한 실험결과로서 A549 세포에 독성을 나타나는 농도는 녹차추출물 400 μg/mL, EGCG 300 μg/mL, 시스플라틴 10 μg/mL 및 독소루비신 8 μg/mL로, 녹차 추출물이 A549 세포에 독성을 나타내는 농도는 시스플라틴보다 약 40배, 독소루비신보다 약 50배 높은 농도에서 세포독성이 나타나기 때문에 녹차추출물의 A549 세포에 대한 독성작용은 시스플라틴이나 독소루비신에 비하면 매우 낮아서 항암효과도 이들보다 더 낮을 것으로 생각된다. 따라서 녹차 추출물은 단독으로 사용하였을 경우 암세포에 대한 항암력은 높지 않을 것으로 생각된다.

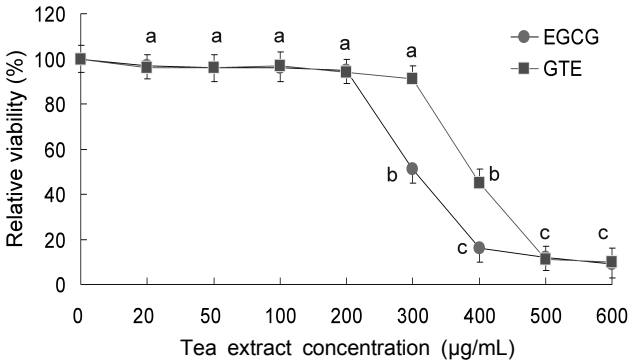

Fig. 1. Effects of green tea extract (GTE) on viability of A549 cells. A549 cells were plated at 2×10^4 cells/well in 96 well plate and treated with GTE or EGCG for 24 hours. Mitochondrial dehydrogenase activity was assayed as an index of cell viability. Relative vitality=(ODExp/ODCon)×100%, which is an indication of A549 cell viability. Representative results are shown as the mean±SD of triplicates. Values with the different superscripts are significantly different by Duncan's multiple range test ($p<0.05$).

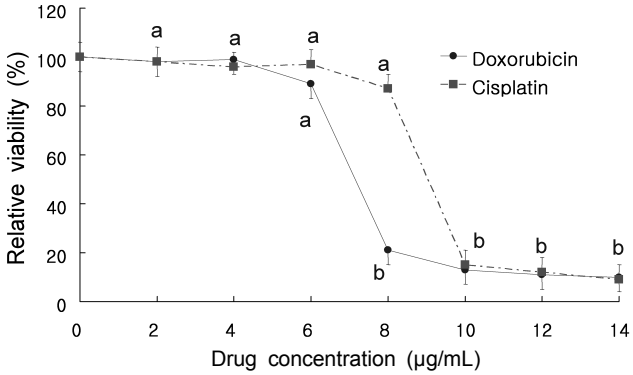

Fig. 2. Effects of doxorubicin and cisplatin on viability of A549 cells. A549 cells were plated at 2×10^4 cells/well in 96 well plate and treated with doxorubicin or cisplatin for 24 hours. Mitochondrial dehydrogenase activity was assayed as an index of cell viability. Relative vitality=(ODExp/ODCon)×100%, which is an indication of A549 cell viability. Representative results are shown as the mean±SD of triplicates. Values with the different superscripts are significantly different by Duncan's multiple range test ($p<0.05$).

A549 세포에서 녹차 추출물이 시스플라틴의 세포독성에 미치는 영향

녹차 추출물과 EGCG가 시스플라틴에 의한 세포독성에 미치는 영향을 사람 폐암세포주인 A549 세포에서 측정하였다. A549 세포를 배양한 후 EGCG나 녹차 추출물을 각각 100 μg/mL 되게 배양액에 첨가하여 2시간 배양한 후 시스플라틴을 세포배양액에 2, 4, 6, 8, 10, 12 및 14 μg/mL 되게 첨가하여 24시간 배양하여 세포활성을 MTT 법으로 측정한 결과 녹차 추출물이나 EGCG를 첨가하지 않은 대조군에서는 시스플라틴 10 μg/mL 이상의 농도에서 세포활성이 현저히 감소되었고, EGCG나 녹차 추출물 100 μg/mL를 첨가하면 시스플라틴 6 μg/mL 이상의 농도에서 세포활성이 감소되어 EGCG나 녹차 추출물 첨가로 시스플라틴에 의한 세포독성이 증가됨을 알 수 있다(Fig. 3, 4). EGCG 300 μg/mL, 녹차 추출물 400 μg/mL 이상의 농도에서 A549 세포에 대한 독성이 나타나기 때문에 EGCG와 녹차 추출물 농도 100 μg/

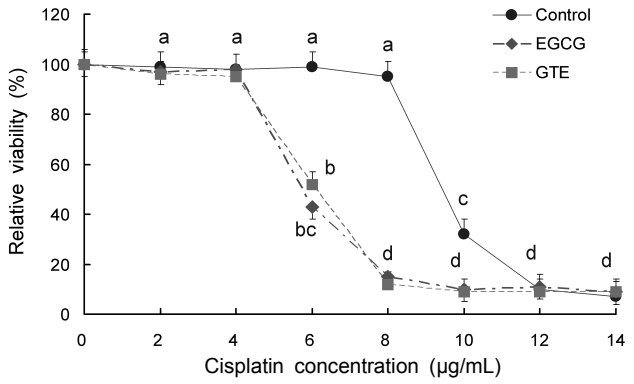

Fig. 3. Effects of GTE pretreatment on cisplatin-induced cytotoxicity of A549 cells. A549 cells were plated at 2×10^4 cells/well in 96 well plate and treated with cisplatin for 24 hours. EGCG (100 μg/mL) and GTE (100 μg/mL) were added to culture media at 2 hr before cisplatin treatment. Mitochondrial dehydrogenase activity was assayed as an index of cell viability. Relative vitality =(ODExp/ODCon)×100%, which is an indication of A549 cell viability. Representative results are shown as the mean±SD of triplicates. Values with the different superscripts are significantly different by Duncan's multiple range test ($p<0.05$).

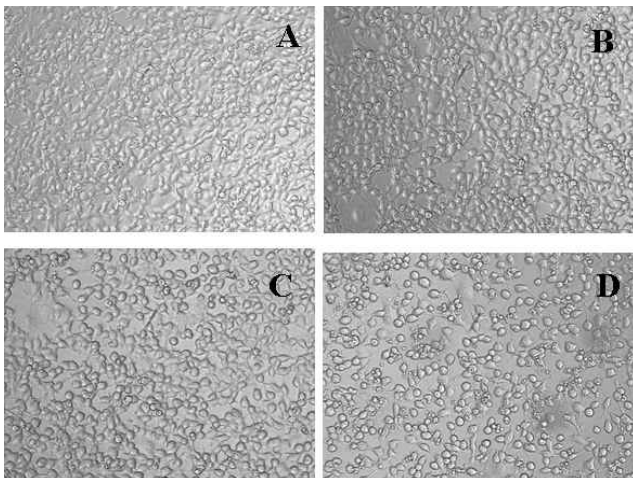

Fig. 4. Morphology of cispaltin and /or GTE treated A549 cells. A549 cells were plated at 1×10^5 cells/well in 24 well plate and maintained in culture for 24 hours. The media were replaced, and the cells were untreated (A), treated with GTE (100 μg/mL) alone (B), treated with cisplatin (6 μg/mL) alone (C) or treated with GTE+cisplatin (D). GTE was added 2 hr before the treatment of cisplatin. The cells were photographed 24 hours later.

mL는 단독 투여 시 세포활성을 저하시키지 않는 농도이다. 따라서 녹차 추출물 100 μg/mL를 시스플라틴과 병합투여로 세포독성이 증가되는 현상은 녹차 추출물에 의해서 시스플라틴의 암세포에 대한 독성 작용이 상승되어 나타난 결과로 생각된다. EGCG와 녹차 추출물 100 μg/mL를 투여한 경우 모두 시스플라틴 6 μg/mL 이상의 농도에서 A549 세포독성이 나타나므로, 시스플라틴의 세포독성 상승작용에 미치는 EGCG와 녹차 추출물의 효과 차이는 없는 것으로 추측된다. Chan 등(19)은 EGCG가 난소암세포에서 시스플라틴의 세포독성을 증가시킨다고 하였는데, 본 실험에서도 EGCG를 첨가하고 2시간 후 시스플라틴을 첨가하면 A549 세포에 대한 독성이 증가되어 Chan 등(19)의 실험결과와 유사하였다.

녹차 추출물에 의한 시스플라틴의 세포독성 증가는 시스플라틴의 양을 증가시키지 않고도 항암작용을 증가시킬 수 있는 방법으로 녹차추출물이 이용될 가능성이 있다. 녹차 추출물은 사람이 오랫동안 음용해온 천연물의 추출물로서 독성 부작용이 거의 없을 것으로 생각되어 이에 대한 전 임상 및 임상연구가 시행된다면 녹차 추출물은 항암치료에서 매우 유용하게 이용될 수 있을 것으로 생각된다.

A549 세포에서 녹차 추출물이 독소루비신의 세포독성에 미치는 영향

녹차 추출물과 EGCG가 독소루비신에 의한 세포독성에 미치는 영향을 A549 세포에서 알아보았다. A549 세포를 배양한 후 EGCG와 녹차 추출물을 각각 100 μg/mL 되게 배양액에 첨가하여 2시간 배양한 후 독소루비신을 세포배양액에 2, 4, 6, 8, 10, 12 및 14 μg/mL 되게 첨가하여 24시간 배양한 후 세포활성을 측정하였다. 녹차 추출물이나 EGCG를 첨가하지 않은 대조군에서는 독소루비신 8 μg/mL 이상의 농도에서 세포활성이 감소되었고, EGCG나 녹차 추출물 100 μg/mL 첨가군은 모두 시스플라틴 4 μg/mL 이상의 농도에서 세포활성이 감소되어 EGCG나 녹차 추출물에 의해서 독소루비신에 의한 세포독성이 증가됨을 알 수 있었다(Fig. 5).

독소루비신은 anthracycline 계의 광범위 항암제로서 폐암 등 여러 가지 암 치료에 이용되고 있는데, 난소육종암세포에서 독소루비신과 EGCG를 병용하면 항암효과가 증대된다고 하였다(20). 본 실험에서도 EGCG나 녹차 추출물 투여로 독소루비신의 A549 세포에 대한 독성이 증가되어 EGCG나 녹차 추출물은 독소루비신의 항암작용을 상승시키는 작

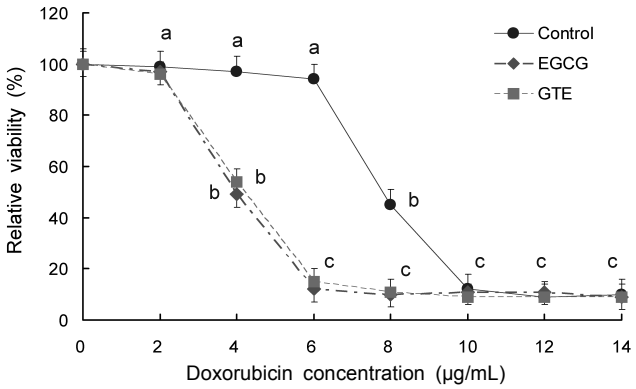

Fig. 5. Effects of TE on doxorubicin-induced cytotoxicity of A549 cells. A549 cells were plated at 2×10^4 cells/well in 96 well plate and treated with doxorubicin for 24 hours. EGCG (100 μg/mL) and GTE (100 μg/mL) were added to culture media at 2 hr before doxorubicin treatment. Mitochondrial dehydrogenase activity was assayed as an index of cell viability. Relative vitality =(ODExp/ODCon)×100%, which is an indication of A549 cell viability. Representative results are shown as the mean±SD of triplicates. Values with the different superscripts are significantly different by Duncan's multiple range test ($p<0.05$).

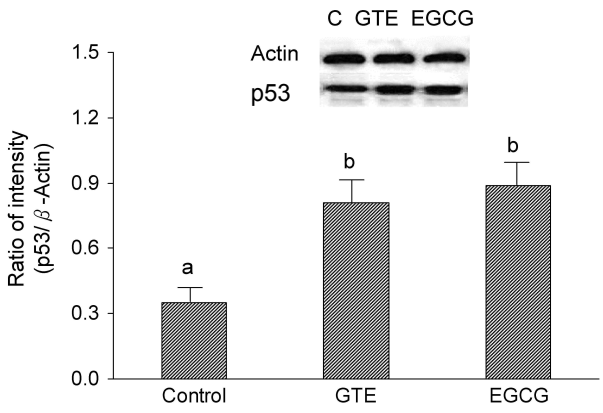

Fig. 6. Effects of GTE on p53 in A549 cells. A549 cells were untreated (control), treated with GTE (100 μg/mL) or treated with EGCG (100 μg/mL) for 4 hours. p53 expressions in A549 cells were examined by Western blot (n=3 per group). Values with the different superscripts are significantly different by Duncan's multiple range test ($p<0.05$).

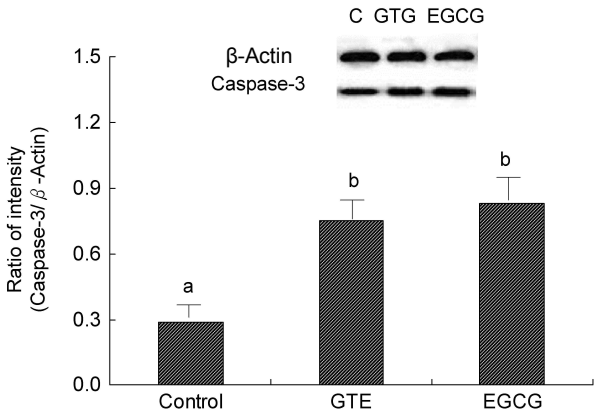

Fig. 7. Effects of GTE on caspase-3 in A549 cells. Cells were untreated (control), treated with GTE (100 μg/mL) or treated with EGCG (100 μg/mL) for 4 hours. Caspase-3 expressions in A549 cells were examined by Western blot (n=3 per group). Values with the different superscripts are significantly different by Duncan's multiple range test ($p<0.05$).

용이 있는 것으로 추측된다. 또한 EGCG나 녹차 추출물을 투여한 경우 모두 독소루비신 4 μg/mL 이상의 농도에서 A549 세포독성이 나타나므로, EGCG와 녹차 추출물 100 μg/mL 농도에서 시스플라틴에 의한 세포독성에 미치는 EGCG와 녹차 추출물의 상승효과의 차이는 없는 것으로 추측된다.

A549 세포에서 녹차 추출물이 p53과 casapase-3에 미치는 영향

녹차 추출물 투여 A549 세포의 p53에 대한 Western blot을 시행하여 나타난 결과는 Fig. 6과 같다. 밴드의 밀도를 측정하여 p53/actin의 비율을 환산한 결과 대조군, 녹차 추출물군 및 EGCG군에서 각각 0.35, 0.81 및 0.89를 나타내서 녹차 추출물군과 EGCG군에서 대조군에 비하여 증가되어 녹차 추출물이나 EGCG 투여로 p53 양이 증가됨을 알 수 있었다. 또한 녹차 추출물군과 EGCG군의 밀도차이는 없기 때문에 p53 양에 미치는 녹차 추출물과 EGCG의 차이는 없는 것으로 추측된다. p53은 시스플라틴의 항암작용과 밀접한 연관이 있는 것으로 알려져 있으므로(21), 본 실험에서 EGCG나 녹차 추출물에 의해서 A549 세포 p53 증가는 EGCG와 녹차 추출물에 의한 시스플라틴의 세포독성 증가에 작용할 것으로 추측된다.

녹차 추출물을 첨가하여 배양한 A549 세포의 caspase-3에 대한 Western blot을 시행하여 나타난 결과는 Fig. 7과 같다. 밴드의 밀도를 측정하여 caspase-3/actin의 비율을 환산하면 대조군, 녹차 추출물군 및 EGCG군에서 각각 0.29, 0.75 및 0.83을 나타내서 대조군에 비하여 녹차 추출물군과 EGCG군에서 증가되어 녹차 추출물이나 EGCG투여로 caspase-3 양이 증가됨을 알 수 있었다. 또한 녹차 추출물군과 EGCG군에서 caspase-3 양의 차이가 없기 때문에 녹차 추출물과 EGCG가 caspase-3 양에 미치는 영향의 차이는 없는 것으로 추측된다.

세포자살(apoptosis)은 세포의 사멸을 유도하는 기전으로서 여러 가지 항암물질이나 세포사멸의 중요한 기전으로서 세포자살은 p53, Noxa, bid 및 Bcl_2 등이 관여하는 연쇄반응 결과 최종적으로 caspase가 활성화되어 일어난다(15). Gupta 등(22)은 전립샘암세포에서 EGCG가 세포자살을 유발한다고 하였는데, 본 실험 결과 녹차 추출물이 p53이나 caspase-3 양을 증가시키는 것은 세포의 사멸을 유도할 수 있기 때문에 항암화학요법제의 항암작용을 증강시킬 수 있는 한 요소로 작용될 수 있을 것으로 생각된다.

요 약

항암 화학요법제의 항암작용을 증가시키거나, 부작용을 감소시켜 항암 치료를 효과적으로 할 수 있는 항암치료 보조제(modulator)에 대한 개발의 일환으로 녹차 추출물의 이용가능성을 추정하기 위하여 사람 폐암 세포주인 A549 세포를 배양하여 시스플라틴과 독소루비신의 항암성에 미치는 녹차 추출물과 EGCG의 영향을 비교 관찰하였다. A549 세포에 독성을 나타나는 농도는 녹차 추출물 400 μg/mL, EGCG 300 μg/mL, 시스플라틴 10 μg/mL 및 독소루비신 8 μg/mL로, 녹차 추출물이 세포독성을 나타내는 농도는 시스플라틴이나 독소루비신에 비하면 낮았다. A549 세포에서 시스플라틴 10 μg/mL 이상의 농도에서 세포활성이 감소되었고, EGCG나 녹차 추출물 100 μg/mL를 첨가하면 시스플라틴 6 μg/mL 이상의 농도에서 세포활성이 감소되어 EGCG나 녹차 추출물 첨가로 시스플라틴의 세포독성이 증가되었다. A549 세포에서 독소루비신 8 μg/mL 이상의 농도에서 세포활성이 감소되었고, EGCG나 녹차 추출물 100 μg/mL를 첨가하면 독소루비신 4 μg/mL 이상의 농도에서 세포활성이 감소되어 EGCG나 녹차 추출물 첨가로 독소루비신의 세포독성이 증가되었다. A549 세포에서 녹차추출물 투여 후 p53 및 caspase-

3에 대한 Western blot을 시행한 결과 p53및 caspase-3의 유전자 발현이 증가되었다. 이상의 실험결과 녹차추출물은 광범위 항암제 시스플라틴이나 독소루비신의 세포독성을 증강시키는 효과가 있고, 녹차추출물에 의한 p53이나 caspase-3 등과 같은 세포자살유도 단백질의 발현 증가는 녹차추출물에 의한 세포독성 증강효과와 연관이 있을 것으로 추측된다. 녹차추출물의 시스플라틴이나 독소루비신 세포독성 증강효과는 항암화학요법제의 용량을 늘리지 않고 항암력을 증대시킬 수 있기 때문에 항암화학요법 보조제로서 이용될 수 있는 가능성이 높은 것으로 생각되며, 이러한 효과를 규명하기 위한 연구가 필요할 것으로 사료된다.

문 헌

1. Graham HN. 1992. Green tea composition, consumption, and polyphenol chemistry. *Prev Med* 21: 334-350.
2. Kanadaswami C, Lee LT, Lee PP, Hwang JJ, Ke FC, Huang YT, Lee MT. 2005. The antitumor activities of flavonoids. *In Vivo* 19: 895-909.
3. Lin JK. 2002. Cancer chemoprevention by tea polyphenols through modulating signal transduction pathways. *Arch Pharm Res* 25: 561-571.
4. Scalbert A, Manach C, Morand C, Remesy C, Jimenez L. 2005. Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Crit Rev Food Sci Nutr* 45: 287-306.
5. Sörenson S, Glimelius B, Nygren P. 2001. A systematic overview of chemotherapy effects in non-small cell lung cancer. *Acta Oncol* 40: 327-339.
6. Matsuyama R, Reddy S, Smith TJ. 2006. Why do patients choose chemotherapy near the end of life? A review of the perspective of those facing death from cancer. *J Clin Oncol* 24: 3490-3496.
7. Högberg T, Glimelius B, Nygren P. 2001. A systematic overview of chemotherapy effects in ovarian cancer. *Acta Oncol* 40: 340-360.
8. Crown JP. 2001. The platinum agents: a role in breast cancer treatment? *Senmin Oncol* 28: 28-37.
9. Comella P, Abate G, Di Finizio G, Daponte A, Zarrilli D. 1990. Treatment of resistant non-Hodgkin's lymphomas with cisplatin, etoposide, and bleomycin. *Cancer Chemother Pharmacol* 26: 306-309.
10. Marzano C, Bettio F, Baccichetti F, Trevisan A, Giovagnini L, Fregona D. 2004. Antitumor activity of a new platinum (II) complex with low nephrotoxicity and genotoxicity. *Chem Biol Interact* 148: 37-48.
11. Cersosimo RJ. 1993. Hepatotoxicity associated with cisplatin chemotherapy. *Ann Pharmacother* 27: 438-441.
12. Kartalou M, Essigmann JM. 2001. Mechanisms of resistance to cisplatin. *Mutat Res* 478: 23-43.
13. Samad A, Sultana Y, Aqil M. 2007. Liposomal drug delivery systems: an update review. *Curr Drug Deliv* 4: 297-305.
14. Di Stefano G, Fiume L, Baglioni M, Bolondi L, Busi C, Chieco P, Kratz F, Manaresi F, Pariali M. 2006. A conjugate of doxorubicin with lactosaminated albumin enhances the drug concentrations in all the forms of rat hepatocellular carcinomas independently of their differentiation grade. *Liver Int* 26: 726-733.
15. Yakovlev AG, Di Giovanni S, Wang G, Liu W, Stoica B, Faden AI. 2004. BOK and NOXA are essential mediators of p53-dependent apoptosis. *J Biol Chem* 279: 28367-28374.
16. Sladowski D, Steer SJ, Clothier RH, Balls M. 1993. An improved MTT assay. *J Immunol Methods* 157: 203-207.
17. Lambert JD, Elias RJ. 2010. The antioxidant and pro-oxidant activities of green tea polyphenols: a role in cancer prevention. *Arch Biochem Biophys* 501: 65-72.
18. Elbling L, Weiss RM, Teufelhofer O, Uhl M, Knasmueller S, Schulte-Hermann R, Berger W, Micksche M. 2005. Green tea extract and (-)-epigallocatechin-3-gallate, the major tea catechin, exert oxidant but lack antioxidant activities. *FASEB J* 19: 807-816.
19. Chan MM, Soprano KJ, Weinstein K, Fong D. 2006. Epigallocatechin-3-gallate delivers hydrogen peroxide to induce death of ovarian cancer cells and enhances their cisplatin susceptibility. *J Cell Physiol* 207: 389-396.
20. Sadzuka Y, Sugiyama T, Suzuki T, Sonobe T. 2001. Enhancement of the activity of doxorubicin by inhibition of glutamate transporter. *Toxicol Lett* 23: 159-167.
21. Wetzel CC, Berberich SJ. 2001. p53 binds to cisplatin-damaged DNA. *Biochim Biophys Acta* 1517: 392-397.
22. Gupta S, Hussain T, Mukhtar H. 2003. Molecular pathway for (-)-epigallocatechin-3-gallate-induced cells cycle arrest and apoptosis of human prostate carcinoma cells. *Arch Biochem Biophys* 410: 177-185.

(2011년 2월 15일 접수; 2011년 5월 9일 채택)