

## 인체 전립선 암세포에서 재배 와송의 항암효과

원영선<sup>1</sup> · 이주혜<sup>2</sup> · 권순재<sup>3</sup> · 안동욱<sup>4</sup> · 신동영<sup>5</sup> · 서권일<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>순천대학교 식품영양학과, <sup>2</sup>순천대학교 기초과학연구소  
<sup>3</sup>경북대학교 식품공학과, <sup>4</sup>아이오와주립대학교 동물학과  
<sup>5</sup>순천대학교 자원식물개발학과

### Anticancer Effects of Cultivated *Orostachys japonicus* on Human Prostate Cancer Cells

Yeong Seon Won<sup>1</sup>, Ju Hye Lee<sup>2</sup>, Soon Jae Kwon<sup>3</sup>, Dong Uk Ahn<sup>4</sup>,  
Dong Young Shin<sup>5</sup>, and Kwon Il Seo<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Dept. Food and Nutrition and <sup>2</sup>Research Institute of Basic Science,  
Suncheon National University, Jeonnam 540-742, Korea

<sup>3</sup>Dept. of Food Science and Technology, Kyungpook National University, Daegu 750-701, Korea

<sup>4</sup>Dept. of Animal Science, Iowa State University, Ames, IA 50011, USA

<sup>5</sup>Dept. of Development in Resource Plants, Suncheon National University, Jeonnam 540-742, Korea

**ABSTRACT** This study was performed to determine the anticancer effects of cultivated *Orostachys japonicus* (COJ) and wild *Orostachys japonicus* (WOJ) on primary human prostate cancer cells (RC-58T/h/SA#4 cells). The morphology of cells treated with COJ and WOJ was distorted to shrunken cell masses. In addition, cell death induced by COJ and WOJ was associated with increased population of cells in sub-G1 phase as well as the formation of apoptotic bodies and nuclear condensation. COJ and WOJ markedly reduced the number of viable prostate cancer cells in a dose-dependent manner, and cell numbers were lower than control cells. COJ and WOJ also inhibited increases in cell proliferation induced by environmental hormones such as dioxin and bisphenol A in charcoal-treated FBS (cFBS) medium. COJ and WOJ methanol extracts at the tested concentrations (150, 300, and 600 µg/mL) also dose-dependently inhibited cell proliferation induced by environmental hormones. These results indicate that COJ and WOJ exert anti-cancer effects on primary human prostate cancer cells.

**Key words:** cultivated *Orostachys japonicus*, anticancer activity, apoptosis, environmental hormone

## 서 론

전립선암은 서구사회에서 남성에게 흔하게 발생하는 암으로 알려져 있으며, 최근 우리나라에서도 서구화된 생활방식과 노년층 인구의 증가에 따라 전립선암의 발생이 급격하게 증가하고 있다(1). 전립선암의 발병요인으로는 인종, 고령, 비만, 남성 호르몬, 동물성 지방의 섭취 증가 등이 있다(2-4). 통계에 따르면 전립선암의 발생 빈도가 50세 이후부터 높아져 전립선암의 발생률이 30%이고 80세 이상에서는 80% 정도인 것으로 보고되어 있다(5). 현재까지 전립선암에 대한 다양한 연구들이 진행되고 있으나 특정세포에만 국한되어 있으며, 특히 LNCap 및 PC-3와 같이 기존에 전립선암 연구에 흔하게 사용되어온 암세포는 각각 상피 및 척추로 전이된 형태의 세포로 순수한 전립선암세포로 보기 어렵다

(6,7).

와송(*Orostachys japonicus*)은 들나물과의 다년생 초본 식물로 오래된 기와지붕이나 산 위의 바위에서 자란다(8). 한국, 중국, 일본 등지에 분포하며 면역(9), 항산화(10,11), 항균(12,13), 항고지혈증(14) 및 항당뇨 효과(15) 등 다양한 약리적 효과를 가지고 있는 것으로 보고되고 있다. 와송은 이러한 다양한 약리적 효과를 가지고 있음에도 불구하고 특이한 생육조건을 가지고 있어 채취하기가 어렵다. 또한 환경 오염 등에 취약하여 야생에 자생하는 천연 와송을 찾아보기도 어렵다. 따라서 농가에서 와송을 손쉽게 구할 수 있도록 재배 육종하고 이를 대량으로 생산할 수 있는 기술 개발에 대한 연구가 시급한 실정이다. 기존에 보고되어진 와송과 관련된 항암 효과에 대한 연구로는 인간 급성 전골수성백혈병세포주인 HL-60 세포(17), HT-29 및 SW480 인간 대장암 세포(16,18,19), 위암, 간암, 자궁경부암 및 폐암 세포 등 다양한 암세포의 세포 성장 억제 효과 및 apoptosis 유도 효과에 대한 연구들이 보고되어 있다(20,21). 그러나 전립

Received 13 September 2013; Accepted 19 December 2013

\*Corresponding author.

E-mail: seoki@sunchon.ac.kr, Phone: +82-61-750-3655

선암세포에 대한 연구는 아직까지 보고된 바가 없다. 또한 최근에는 환경호르몬과 같은 내분비교란물질들이 전립선암이나 유방암과 같은 호르몬 관련 질병들을 일으키는 원인이 될 수 있다고 보고됨에 따라 그 심각성이 대두되어 환경호르몬에 관한 여러 연구가 진행되고 있으나 아직 미흡한 실정이다(22).

따라서 본 연구에서는 전이되기 전의 형태인 primary cancer 조직으로부터 분리된 전립선암세포인 RC-58T/h/SA#4 세포를 이용하여 천연 와송과 재배 와송의 처리에 따른 항암효과 및 apoptosis 유도효과를 확인하였으며, dioxin 및 bisphenol A와 같은 환경호르몬에 의해 성장이 유도된 전립선암세포에서 천연 와송과 재배 와송 처리가 세포 성장을 효과적으로 억제하는지를 알아보았다.

## 재료 및 방법

### 와송 추출물의 제조

재배 와송(*Orostachys japonicus* A. Berher)의 종자는 기와 위에서 자생하는 종자를 채취하여 일주일 동안 5°C의 저온처리 발아법으로 파종하였다. 파종 상태는 흙과 모래, 기와가루를 2:2:1의 비율로 혼합하여 40×30 cm의 플라스틱 화분에 파종하여 3년 동안 생육시킨 후 채취하여 음건한 것을 본 실험에서 재배 와송으로 사용하였다(23). 천연 와송은 경상북도 포항시에서 채취된 것을 구입하여 사용하였다. 각각의 건조된 와송을 분쇄한 후 시료 양의 10배(w/v) 량 100% 메탄올과 혼합하여 64°C에서 3시간씩 3회 환류추출한 후 여과하였다. 여과액을 회전감압농축기(EYELA, Tokyo Rikakikai Co., Tokyo, Japan)로 농축하여 각각의 와송 메탄올 추출물을 얻었다.

### 세포 배양

본 실험에 사용한 RC-58T/h/SA#4 인체 전립선 암세포는 primary prostate cancer cell로서 telomerase-immortalized primary malignant tumor-derived human prostate epithelial cell line이다. 본 세포는 Center for Prostate Disease Research(Department of Surgery, Uniformed Services University of Health Sciences, Bethesda, MD, USA)로부터 분양받아 100 units/mL의 Antibiotic Antimycotic(GIBCO®/Invitrogen™, Grand Island, NY, USA)과 10% FBS(Fetal Bovine Serum, GIBCO®/Invitrogen™)가 첨가된 DMEM(GIBCO®/Invitrogen™)을 이용하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator(Thermo Scientific, Waltham, MA, USA)에서 계대 배양하여 사용하였다.

### 암세포 증식 억제능 측정

암세포 증식 억제능은 sulforhodamine B(SRB, Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)법을 이용하여 측정하였다. SRB법은 생존 세포 내의 단백질 총량을 흡광도로 나타

내어 세포 사멸 정도를 확인하는 방법이다. Trichloroacetic acid(TCA, Sigma-Aldrich Co.)에 의해 생존 세포만 well plate에 부착되며 이 세포의 단백질 내 염기성 아미노산 잔기가 SRB와 결합하여 마지막에 처리하는 Tris buffer에 녹아 나와 흡광도를 나타낸다(24). 암세포 증식 억제능은 세포를  $1 \times 10^5$  cells/mL가 되도록 희석하여 24 well plate에 분주한 다음 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 24시간 배양하여 재배 와송과 천연 와송을 0, 150, 300 및 600 µg/mL의 농도로 첨가하고 48시간 동안 반응시켰다. 반응 종료 후 12% TCA를 넣어 4°C에서 세포를 고정시키고 well을 세척한 후 0.4% SRB 용액을 첨가하여 염색하였다. 염색 종료 후 1% acetic acid(Kanto Chemical Co., Inc., Tokyo, Japan)로 세척하고 10 mM Tris buffer(Sigma-Aldrich Co.)를 첨가하여 SRB를 녹였다. 상등액을 96 well plate에 옮겨 microplate reader(Titertek Multiscan Plus, Labsystems, Espoo, Finland)를 사용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### 암세포 사멸능 측정

암세포 사멸능은 세포를  $1 \times 10^5$  cells/mL가 되도록 희석하여 24 well plate에 분주한 다음 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 24시간 배양하여 재배 와송과 천연 와송을 0, 150, 300 및 600 µg/mL의 농도로 첨가하고 48시간 동안 반응시켰다. 반응 종료 후 원심분리 하여 trypan blue(GIBCO®/Invitrogen™)로 염색하고 hemacytometer(Marienfeld Superior, Lauda-Konigshofen, Germany)를 이용하여 세포수를 세었다.

### 암세포 형태의 관찰

암세포를  $1 \times 10^6$  cells/mL가 되도록 희석하여 6 well plate에 분주한 다음 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 24시간 배양하여 재배 와송과 천연 와송을 0, 150, 300 및 600 µg/mL의 농도로 well plate에 처리하고 48시간 동안 반응시켰다. 이후 세포의 형태학적 변화는 200배율의 광학현미경(Leica Microsystems, Wetzlar, Germany)으로 관찰하고 사진을 촬영하였다.

### Sub-G1의 함량 분석

암세포를  $1 \times 10^6$  cells/mL가 되도록 희석하여 6 well plate에 분주한 다음 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 24시간 배양하여 재배 와송과 천연 와송을 0, 150, 300 및 600 µg/mL의 농도로 well plate에 처리하고 48시간 동안 반응시켰다. 회수한 세포를 세척하고, 상층액을 제거한 다음 70% ethanol(Dae Jung Chemical Industry Co., Ltd., Shiheung, Korea)을 가하고 4°C에서 24시간 방치하였다. 고정된 세포를 세척하고 0.5 mg/mL RNase, 1 mg/mL PI(propidium iodide, Sigma-Aldrich Co.) 및 PBS를 섞은 용액을 넣어 37°C에서 염색하였다. 염색된 세포 현탁액은 flow cy-

tometer(EPICS XL, Beckman Coulter, Brea, CA, USA)를 이용하여 세포주기를 분석하였다.

**Hoechst staining**

암세포를  $5 \times 10^5$  cells/mL가 되도록 희석하여 6 well plate에 분주한 다음 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 배양한 후 재배 와송과 천연 와송을 0, 150, 300 및 600 µg/mL의 농도로 처리하여 48시간 동안 반응시켰다. 반응이 종료된 세포를 수거하여 200 µL hoechst 33258(bis-benzimide, 1 µg/mL, Sigma-Aldrich Co.)을 첨가하여 실온에서 10분간 염색시킨 후 PBS로 2회 세척하였다. 염색된 핵을 형광현미경으로 관찰하였다.

**Charcoal-treated FBS 제조**

환경호르몬으로부터 유도된 암세포의 증식 억제 효과를 측정하였다. Serum의 호르몬 활성을 최소화하기 위하여 FBS에 5% charcoal을 처리하여 55°C에서 30분 동안 교반한 후 3,000 rpm, 4°C, 20분간 원심분리 하여 상등액을 취하고, 이를 2회 반복하여 얻은 상등액을 여과하여 charcoal-treated FBS(cFBS)를 얻은 후 -20°C에서 보관하여 실험에 사용한다.

**환경호르몬으로부터 증식이 유도된 암세포의 억제 효과**

암세포를  $1 \times 10^5$  cells/mL가 되도록 희석하여 24 well plate에 분주한 다음 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 24시간 배양하여 5% cFBS, 5% cFBS+ bisphenol A or dioxin, 5% cFBS+ bisphenol A 또는 dioxin+ 와송을 농도별로 첨가하고 48시간 동안 반응시켰다. 반응 종료 후 12% TCA를 넣어 4°C에서 세포를 고정시키고 well을 세척한 후 0.4% SRB 용액을 첨가하여 염색하였다. 염색 종료 후 1% acetic acid로 세척하고 10 mM Tris buffer를 첨가하여 SRB를 녹였다. 상등액을 96 well에 옮겨 microplate reader(Titertek Multiscan Plus)를 사용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

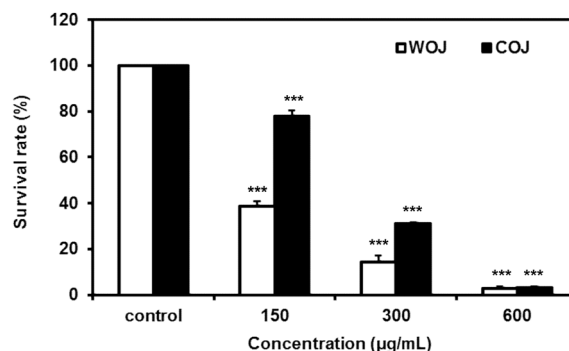
**통계처리**

실험결과는 3 반복에 대한 평균 및 표준편차로 표시하였으며, 각 실험군을 대조군에 대한 백분율로 나타내었다. 각 군 간의 통계적 유의성에 대한 검증은 Student's *t*-test를 실시하여 유의성 여부를 판정하였다(\**P*<0.05, \*\**P*<0.01, \*\*\**P*<0.001).

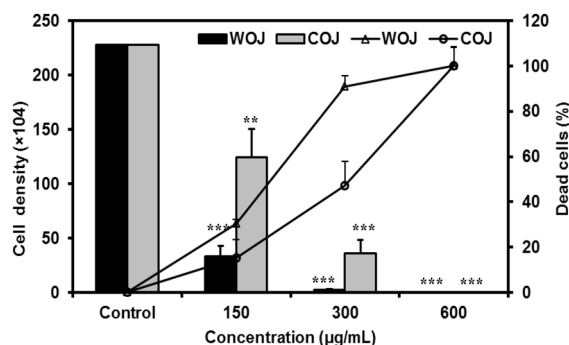
**결과 및 고찰**

**RC-58T/h/SA#4 세포에서 재배 와송과 천연 와송의 암세포 성장 억제 효과**

암세포에서 증식 억제효과는 RC-58T/h/SA#4 암세포에 메탄올 추출물을 각각 150, 300 및 600 µg/mL 농도로 처리



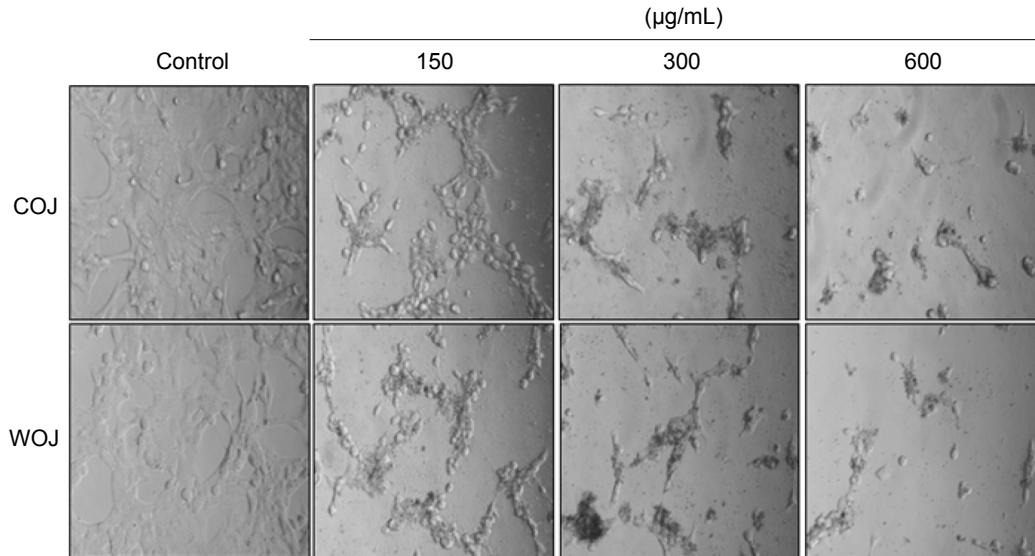
**Fig. 1.** Effect of cell growth inhibition in RC-58T/h/SA#4 cells treated with methanol extract of cultivated *Orostachys japonicus* (COJ) and wild *Orostachys japonicus* (WOJ). Cells were measured after treatment with various concentration of WOJ and COJ in DMEM supplemented with 10% FBS for 48 hr. Cell viability was determined by SRB assay. Data values are expressed as mean±SD of triplicate determinations. Significant differences were compared with control at \*\*\**P*<0.001 by Student *t*-test.



**Fig. 2.** Effect of cell death in the RC-58T/h/SA#4 cells treated with methanol extract of cultivated *Orostachys japonicus* (COJ) and wild *Orostachys japonicus* (WOJ). Cells were measured after treatment with various concentration of WOJ and COJ in DMEM supplemented with 10% FBS for 48 hr. Cell viability was determined by trypan blue assay. Data values are expressed as mean±SD of triplicate determinations. Significant differences were compared with control at \*\**P*<0.01, \*\*\**P*<0.001 by Student *t*-test.

하여 48시간 반응시킨 후 SRB assay와 trypan blue assay를 이용하여 알아보았다(Fig. 1, 2). 천연 와송과 재배 와송의 메탄올 추출물은 처리 농도에 비례하여 암세포의 증식을 억제하였다. 특히 600 µg/mL 농도에서 가장 높은 세포 증식 억제능을 나타내었다. 또한 재배 와송과 천연 와송 메탄올 추출물의 처리에 따른 RC-58T/h/SA#4 전립선 암세포를 형태학적 변화 관찰을 통하여 확인한 결과, control에서는 culture plate에 안정적으로 부착되어 정상적인 증식이 이루어진 모습을 보였으나 재배 와송과 천연 와송을 처리한 세포는 추출물의 농도가 높아질수록 세포가 부착되어 있지 않고 부유하였으며 세포의 수가 감소한 것을 관찰할 수 있었다(Fig. 3). 특히 600 µg/mL 농도에서는 거의 모든 세포가 부착되지 못하고 부유하고 있는 것을 확인하였다.

위의 결과를 통해 재배 와송은 RC-58T/h/SA#4 세포에



**Fig. 3.** Photomicrograph ( $\times 200$ ) of RC-58T/h/SA#4 cells treated with methanol extract of cultivated *Orostachys japonicus* (COJ) and wild *Orostachys japonicus* (WOJ). Cells were measured after treatment with various concentration of WOJ and COJ in DMEM supplemented with 10% FBS for 48 hr.

서 천연 와송과 유사하게 높은 세포 성장 억제 효과를 가지고 있다는 것을 알 수 있다. 이밖에도 Kim 등(9)은 SW480 인체 대장암세포에서 재배 와송과 천연 와송 메탄올 추출물 모두 암세포의 성장을 농도 의존적으로 억제하였으며, 특히 500  $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 높은 암세포 성장 억제효과를 나타내었다고 보고하였다.

#### RC-58T/h/SA#4 세포에서 재배 와송과 천연 와송에 의한 apoptosis 유도효과

Apoptosis는 programmed cell death라고도 불리며, 세포가 정상적인 상태에서나 또는 병리학적인 요인에 영향을 받을 때 세포 스스로 죽음에 이르게 되는 현상을 말한다. Apoptosis는 sub-G1기의 증가, 세포막의 팽창, 세포수축, 핵의 응축 및 DNA 분절과 같은 형태학적 특징을 나타낸다(25). 즉 암세포에서 apoptosis 유도는 암 치료 및 암 예방의 중요한 기전으로 간주할 수 있다(26).

재배 와송과 천연 와송 메탄올 추출물의 처리에 의한 RC-58T/h/SA#4 전립선암세포에서의 apoptosis 유도효과를 알아보기 위해 세포 주기 중 Sub-G1기의 함량 변화를 flow cytometer를 이용하여 알아보았다(Fig. 4). 그 결과 재배 와송과 천연 와송 모두 농도 의존적으로 sub-G1기의 함량을 증가시켰다. 또한 hoechst 33258 염색을 통해 핵 형태 변화를 관찰한 결과(Fig. 5), control에서는 핵의 형태가 손상 없이 일정하게 유지되어 있는 반면, 와송 메탄올 추출물을 처리한 군에서는 모두 핵의 응축, 절편 및 apoptotic body가 관찰되었다. 특히 300 및 600  $\mu\text{g/mL}$  농도에서는 세포 수축 및 apoptotic body가 눈에 띄게 많이 관찰되었다. 이러한 결과를 통해서 재배 와송 및 천연 와송 메탄올 추출물에 의한 세포 사멸이 apoptosis에 의한 것임을 알 수

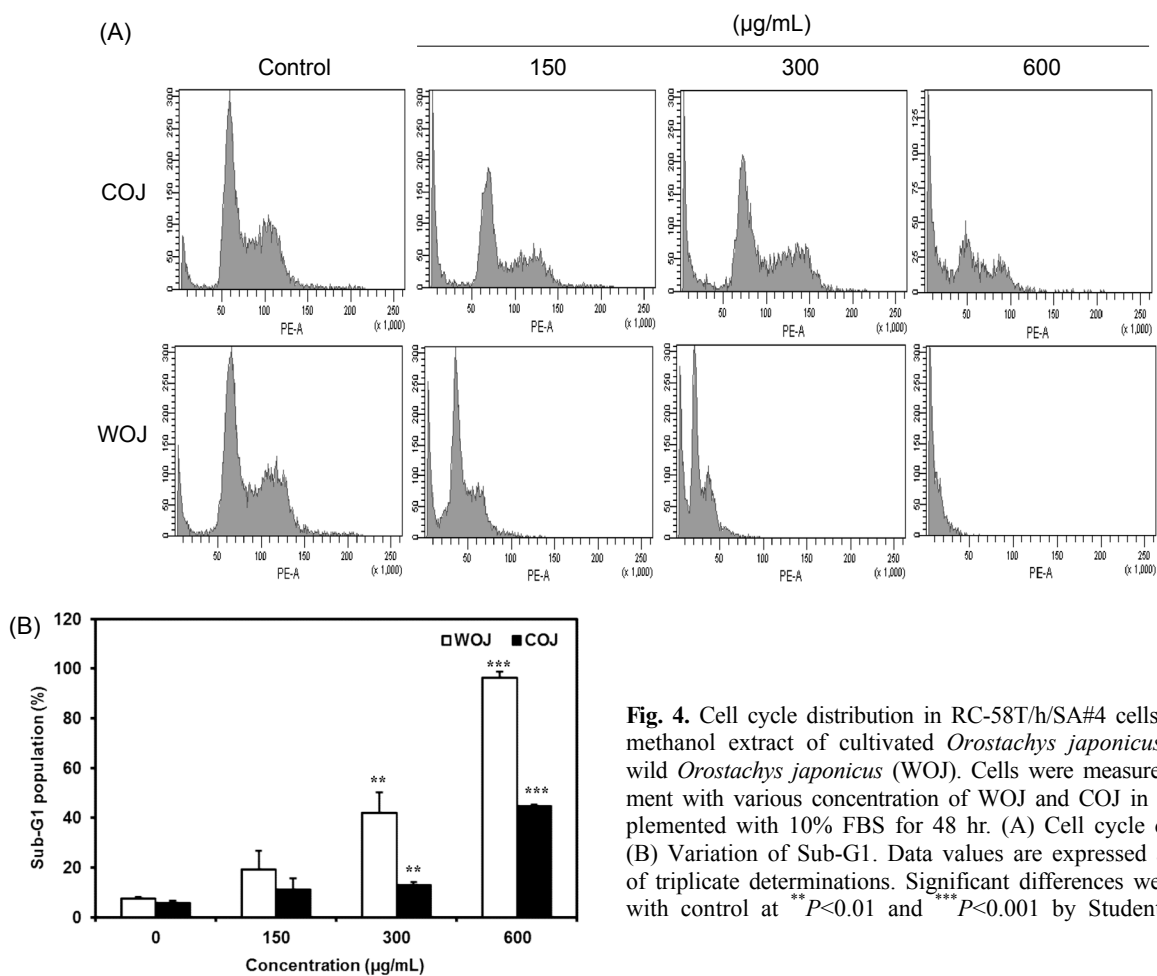
있었다.

Ryu 등(13)은 와송이 AGS 인간 위암세포, A549 인간 폐암세포, HepG2 인간 간암세포 및 HT-29 인간 대장암세포에서 세포 성장 억제 효과를 가지고 있으며, AGS 위암세포에서 p53 경로를 통해 apoptosis를 유도한다고 보고하였다. Oh 등(10)은 와송이 HL60 인간 급성 전골수성백혈병 세포에서 apoptosis를 유도한다고 보고하였다. 따라서 와송은 RC-58T/h/SA#4 primary 인체 전립선암세포를 포함한 다양한 암세포에서 apoptosis 유도를 통해 세포 성장 억제 효과를 나타낸다는 것을 알 수 있었다.

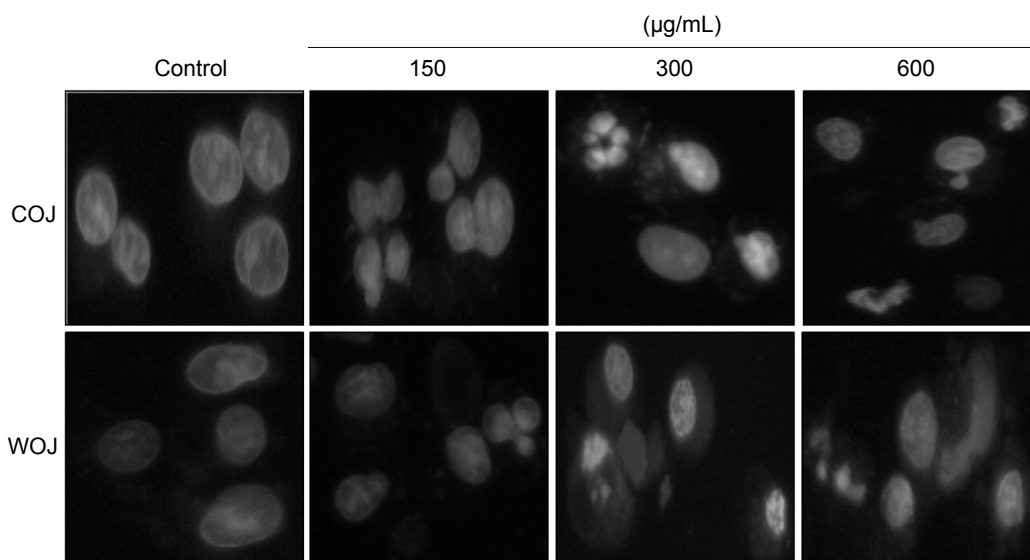
#### 환경호르몬을 처리한 RC-58T/h/SA#4 세포에서 재배 와송과 천연 와송의 암세포 증식 억제효과

환경호르몬은 유해 화학물질들 중 하나로서 생체 내에 내분비계에 교란을 일으켜 호르몬의 생산, 분비, 대사, 결합 및 배설 등에 영향을 미치며, 여성 호르몬과 같은 호르몬 작용을 흉내 내어 인체의 생식 및 발달, 면역기능 저하, 정자 감소, 유방암 및 전립선암 과 같은 호르몬 관련 암 유발 등의 피해를 일으킨다(22,27,28).

대표적인 환경호르몬인 dioxin과 bisphenol A를 각각 처리한 인체 전립선 암세포에서 재배 와송 및 천연 와송의 암세포 증식 억제효과를 알아보았다. Bisphenol A와 dioxin을 처리한 군에서는 세포의 성장을 비정상적으로 촉진시켰으며, 무처리군과 비교하였을 때 암세포가 두 배 이상 증식한 것으로 나타났다(Fig. 6). 반면 bisphenol A를 처리한 세포에 재배 와송과 천연 와송을 처리하였을 때 농도 의존적으로 암세포의 성장을 억제하였다. 특히 600  $\mu\text{g/mL}$  농도에서는 각각 29.55, 39.04%로 가장 높은 암세포의 성장 억제효과를 보였다. 또한 dioxin을 처리한 세포에 재배 와송과 천연



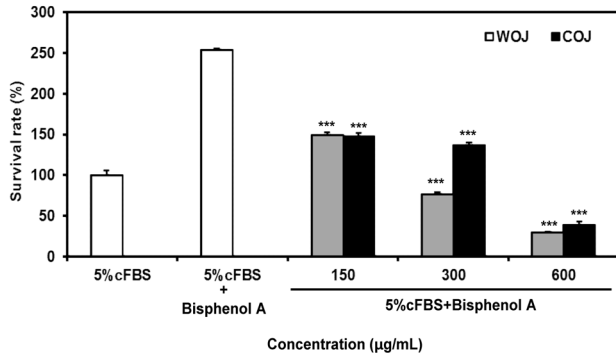
**Fig. 4.** Cell cycle distribution in RC-58T/h/SA#4 cells treated with methanol extract of cultivated *Orostachys japonicus* (COJ) and wild *Orostachys japonicus* (WOJ). Cells were measured after treatment with various concentration of WOJ and COJ in DMEM supplemented with 10% FBS for 48 hr. (A) Cell cycle distributions. (B) Variation of Sub-G1. Data values are expressed as mean±SD of triplicate determinations. Significant differences were compared with control at \*\* $P < 0.01$  and \*\*\* $P < 0.001$  by Student *t*-test.



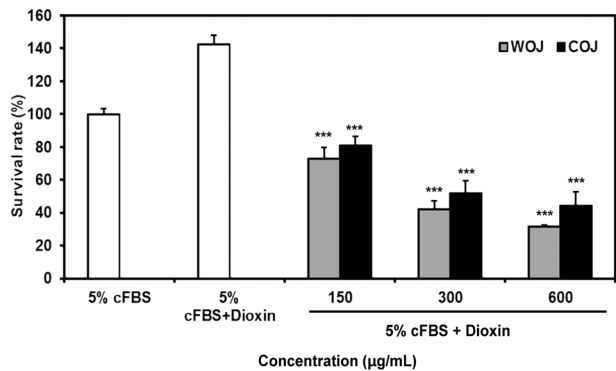
**Fig. 5.** Nuclear fragmentation was assessed by fluorescent microscopy using bis-benzimide (Hoechst 33258) in RC-58T/h/SA#4 cells treated with methanol extract of cultivated *Orostachys japonicus* (COJ) and wild *Orostachys japonicus* (WOJ). Cells were measured after treatment with various concentration of WOJ and COJ in DMEM supplemented with 10% FBS for 48 hr.

와송을 농도별로 처리했을 때 농도 의존적으로 암세포의 성장이 억제되는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 7). 특히 600

µg/mL 농도에서는 각각 31.45, 44.33%로 가장 높은 암세포의 성장 억제효과를 보였다. 이러한 결과를 통해서 재배



**Fig. 6.** Effect of bisphenol A in RC-58T/h/SA#4 cells treated with methanol extract of cultivated *Orostachys japonicus* (COJ) and wild *Orostachys japonicus* (WJO). RC-58T/h/SA#4 cells were treated with 5% cFBS, 5% cFBS+bisphenol A and 5% cFBS+bisphenol A+each concentration of WJO and COJ for 48 hr. Cell viability was determined by SRB assay. Data values are expressed as mean±SD of triplicate determinations. Significant differences were compared with 5% cFBS+bisphenol A group at \*\*\* $P$ <0.001 by Student  $t$ -test.



**Fig. 7.** Effect of dioxin in RC-58T/h/SA#4 cells treated with methanol extract of cultivated *Orostachys japonicus* (COJ) and wild *Orostachys japonicus* (WJO). RC-58T/h/SA#4 cells were treated with 5% cFBS, 5% cFBS+dioxin and 5% cFBS+dioxin+each concentration of WJO and COJ for 48 hr. Cell viability was determined by SRB assay. Data values are expressed as mean±SD of triplicate determinations. Significant differences were compared with 5% cFBS+dioxin group at \*\*\* $P$ <0.001 by Student  $t$ -test.

와송과 천연 와송은 환경호르몬에 의해 성장이 촉진된 암세포에 대해서 우수한 세포 성장 억제효과를 나타낸다는 것을 알 수 있었다.

Kwon 등(22)은 환경호르몬의 처리에 의해 증식이 유도된 RC-58T/h/SA#4 인체 전립선암세포에서 산수유 에탄올 추출물이 전립선암세포의 증식을 억제하였다고 보고하였으며, Park 등(29)은 당귀 메탄올 추출물 및 decursin의 처리가 환경호르몬에 의해 증식이 유도된 MCF-7 인체 유방암세포의 증식을 억제하였다고 보고하였다. 위의 실험 결과들과 같이 재배 와송과 천연 와송이 모두 dioxin 및 bisphenol A와 같은 환경호르몬에 의한 전립선암세포의 비정상적인 세포 증식을 억제한다는 것을 알 수 있었다.

## 요 약

재배 와송과 천연 와송의 항암효과 및 apoptosis 유도효과를 입증하기 위하여 RC-58T/h/SA#4 primary 인체 전립선암세포를 이용하여 다양한 실험을 실시하였다. 그 결과 재배 와송과 천연 와송은 전립선암세포에서 농도 의존적으로 높은 암세포 증식 억제효과를 나타내었으며, 대조군과 비교하여 와송 메탄올 추출물 처리 시 세포의 형태가 수축되고 세포의 수가 감소한 것을 형태학적 관찰을 통해 확인할 수 있었다. 또한 와송 메탄올 추출물의 처리에 따른 RC-58T/h/SA#4 세포에서의 apoptosis 유도효과는 sub-G1기의 함량 증가와 hoechst 염색을 통한 apoptotic bodies 형성 및 핵형태 변화를 관찰을 통해 확인할 수 있었다. 한편 재배 와송과 천연 와송은 dioxin과 bisphenol A와 같은 환경호르몬 처리에 의해 비정상적으로 증가된 전립선암세포의 성장을 억제하는 것으로 나타났다. 본 연구 결과, 재배 와송과 천연 와송은 RC-58T/h/SA#4 전립선암 세포에서 유사한 암세포 성장 억제효과와 apoptosis 유도효과를 가지고 있음을 확인하였으며, 환경호르몬에 의해 유발될 수 있는 암에 대해서도 유사한 보호 효과를 가지고 있음을 증명하였다.

## 감사의 글

이 논문은 2011년 순천대학교 학술연구비 공모과제로 연구되었음.

## REFERENCES

- Hwang ES, Bowen PE. 2004. Effects of tomatoes and lycopene on prostate cancer prevention and treatment. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33: 455-462.
- Gomez SL, Noone AM, Lichtensztajn DY, Scoppa S, Gibson JT, Liu L, Morris C, Kwong S, Fish K, Wilkens LR, Goodman MT, Deapen D, Miller BA. 2013. Cancer incidence trends among Asian American populations in the United States, 1990 to 2008. *J Natl Cancer Inst* 105: 1096-1110.
- Kalish LA, McDougal WS, McKinlay JB. 1995. Family history and the risk of prostate cancer. *Urology* 56: 803-806.
- American Institute for Cancer Research. 1997. *Food, Nutrition and the Prevention of Cancer: A Global Perspective*. Banta Book Group, Manasha, WI, USA.
- Burks D, Littleton R. 1992. The epidemiology of prostate cancer in black men. *Henry Ford Hosp Med J* 40: 89-92.
- Kang HI, Kim JY, Cho HD, Park KW, Kang JS, Seo KI. 2010. Resveratrol induces apoptosis in primary human prostate cancer cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39: 1119-1125.
- Yasunaga Y, Nakamura K, Ko D, Srivastava S, Moul JW, Sesterhenn IA, McLeod DG, Rhim JS. 2001. A novel human cancer culture model for the study of prostate cancer. *Oncogene* 20: 8036-8041.
- Lee SJ, Song EJ, Lee SY, Kim KBWR, Kim SJ, Yoon SY, Lee CJ, Ahn DH. 2009. Antioxidant activity of leaf, stem and root extracts from *Orostachys japonicus* and their heat

- and pH stabilities. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 1571-1579.
9. Kwon J, Han KS. 2004. Effects of *Orostachys japonicus* A. Berger on the immune system. *Korean J Medicinal Crop Sci* 12: 315-320.
  10. Choi SY, Chung MJ, Sung NJ. 2008. Studies on the anti-oxidative ability of methanol and water extracts from *Orostachys japonicus* A. Berger according to harvest times. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 21: 157-164.
  11. Lee SJ, Seo JK, Shin JH, Lee HJ, Sung NJ. 2008. Antioxidant activity of Wa-song (*Orostachys japonicus* A. Berger) according to drying methods. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 605-611.
  12. Yoon SY, Lee SY, Kim KBWR, Song EJ, Kim SJ, Lee SJ, Lee CJ, Ahn DH. 2009. Antimicrobial activity of the solvent extract from different parts of *Orostachys japonicus*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 14-18.
  13. Ryu DS, Baek GO, Kim EY, Kim KH, Lee DS. 2010. Effects of polysaccharides derived from *Orostachys japonicus* on induction of cell cycle arrest and apoptotic cell death in human colon cancer cells. *BMB Reports* 43: 750-755.
  14. Kim SG, Choi JW, Park HJ, Lee SM, Jung HJ. 2009. Anti-hyperlipidemic effects of the flavonoid-rich fraction from the methanol extract of *Orostachys japonicus* in rats. *Korean J Pharmacogn* 40: 51-58.
  15. Zhang GF. 2008. Anti-diabetic potential of *Orostachys japonicus* in streptozotocin induced diabetes mellitus rats. *MS Thesis*. Gyeongsang National University, Jinju, Korea.
  16. Kim JY, Jung EJ, Won YS, Lee JH, Shin DY, Seo KI. 2012. Cultivated *Orostachys japonicus* induces apoptosis in human colon cancer cells. *Korean J Food Sci Technol* 44: 317-323.
  17. Oh CH, Bae JB, Kim NS, Jeon H, Han KS. 2009. Effect of *Orostachys japonicus* A. Berger on apoptosis induction of human leukemia HL60 Cells. *Korean J Pharmacogn* 40: 118-122.
  18. Choi SD, Nam SH. 2005. Cytotoxicities of *Orostachys japonicus* A. Berger against cancer cell lines. *J Industrial Technology Res Inst* 12: 25-30.
  19. Ryu DS, Baek GO, Kim EY, Kim KH, Lee DS. 2010. Effects of polysaccharides derived from *Orostachys japonicus* on induction of cell cycle arrest and apoptotic cell death in human colon cancer cells. *BMB Reports* 43: 750-755.
  20. Ryu DS, Lee HS, Lee GS, Lee DS. 2012. Effects of the ethylacetate extract of *Orostachys japonicus* on induction of apoptosis through the p53-mediated signaling pathway in human gastric cancer cells. *Biol Pharm Bull* 35: 660-665.
  21. Kim KH, Kim EY, Kim YO, Baek GO, Kim HB, Lee DS. 2004. Studies on biological activities of the polysaccharides and oligosaccharides of *Orostachys japonicus*. *Korean J Microbiology* 40: 334-341.
  22. Kwon SH, Kwon SJ, Kim JY, Park KW, Shim KH, Seo KI. 2009. Protective effect of *Corni fructus* ethanol extracts against environmental hormones in human prostate cancer cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 663-666.
  23. Shin DY, Lee YM, Kim HJ. 1994. Anatomy and artificial seed propagation in anti-cancer plant *Orostachys japonicus* A. Berher. *Korean J Crop Sci* 39: 146-157.
  24. Papazisis KT, Geromichalos GD, Dimitriadis KA, Kortsaris AH. 1997. Optimization of the sulforhodamine B colorimetric assay. *J Immunol Methods* 208: 151-158.
  25. Song Z, Steller H. 1999. Death by design: mechanism and control of apoptosis. *Trends Cell Biol* 9: M49-M52.
  26. Lee JH, Won YS, Park KH, Lee MK, Tachibana H, Yamada K, Seo KI. 2012. Celastrol inhibits growth and induces apoptotic cell death in melanoma cells via the activation ROS-dependent mitochondrial pathway and the suppression of PI3K/AKT signaling. *Apoptosis* 17: 1275-1286.
  27. Poland A, Knutson JC. 1982. 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin and related halogenated aromatic hydrocarbons; examination of the mechanism of toxicity. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 22: 517-554.
  28. Banerjee SK, Banerjee S, Li SA, Li JJ. 1994. Induction of chromosome aberrations in Syrian hamster renal cortical cells by various estrogens. *Mutat Res* 311: 191-197.
  29. Park KW, Choi SR, Yang HS, Cho HW, Kang KS, Seo KI. 2007. Anti-proliferation effects of decursin from *Angelica gigas* Nakai in the MCF-7 cells treated with environmental hormones. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36: 825-831.