

Aloe vera가 항암제의 세포독성에 미치는 영향

표명윤* · 윤지현

숙명여자대학교 약학대학

(Received December 28, 1998)

Effects of Aloe vera on the Cytotoxicity of Anticancer Drugs *in Vitro*

Myoung-Yun Pyo and Jee-Hyeun Youn

College of Pharmacy, Sookmyung Women's University, Seoul, 140-742, Korea

Abstract—We investigated the effects of methanol extract of Aloe vera on anticancer drugs(cisplatin, mitomycin C, 5-fluorouracil)-induced growth inhibition in P388, L1210, HCT-15, SK-HepG-1 as cancer cell lines and mouse splenocytes as a normal cell by MTT assay, respectively. We also examined the effects of aloe extract and mitomycin C on the mitogen(Con A, LPS)-induced splenocyte proliferation. Aloe extract(0.25 mg/ml, 1.25 mg/ml, 2.5 mg/ml, 5.0 mg/ml) showed dose-dependently selective cytotoxicity against the cancer cell lines. In contrast, Aloe extract increased the growth and proliferation of the normal mouse splenocytes. The combination of aloe extract with anticancer drugs showed an additive effect for the cytotoxicity against cancer cell lines. However, that combination reduced clearly the anticancer drugs-induced toxicity against the normal mouse splenocytes.

Keywords □ Aloe vera, anticancer drugs, cancer cell lines, mouse splenocytes, MTT assay.

Aloe는 옛부터 창상치료, 불면증, 위장병, 통증, 변비, 가려움증, 두통 등에 효과가 있음이 알려져¹⁾ 동서양을 막론하고 세계 여러 지역에서 민간약초로 사용되어왔다. 그동안 많은 연구가 이루어져 많은 유효성분들이 밝혀졌으며, aloe의 질병에 대한 효능으로써 aloe는 항궤양효과,²⁾ 방사선조사로 인한 병변에 대한 치료효과,³⁻⁵⁾ 항균 작용,⁶⁾ 항바이러스 작용,⁷⁾ 소염 작용,⁸⁾ 항종양 작용,⁹⁾ 상처치유 효과,¹⁰⁾ 면역조절 작용,¹¹⁾ 탐식작용의 촉진,¹²⁾ 콜레스테롤 저하작용 등이 보고된 바 있다. 최근에 이르러서는 약리작용뿐이 아니라 건강식품으로써 그리고 피부미용 등에 관한 연구도 많이 이루어지고 있다.

한편, 최근 국민들의 식생활 및 생활양상의 변화에 따라 암환자의 수는 계속하여 급격히 증가하고 있는 추세

이며, 이러한 질환의 치료제로써 다양한 항암제가 연구 개발되어 사용되어지고 있다. 그러나, 현재 사용되고 있는 대부분의 항암제는 그 비선택적인 독성으로 인하여 암세포뿐만이 아니라 정상세포에도 똑같은 독성을 발현하여 많은 부작용이 나타나고 있으며,¹³⁾ 암세포에 대하여 내성을 형성케 함으로써 내성극복을 위한 다양한 연구가 이루어지고 있다.¹⁴⁾ 따라서, 암세포에 대해서는 항암제의 독성을 증가시키거나 또는 그 독성을 유지시켜주는 범위 내에서 정상세포에 대해서는 항암제의 독성을 감소시켜줄 뿐 아니라 내성을 저지시키는 물질을 개발하여 임상에 이용한다면 암의 치료에 있어 많은 이점을 가져다 줄 것이며, 이와 같은 물질의 개발은 항암제 개발이상의 의미가 될 것이다.

그러므로, 본 연구에서는 *in vitro*에서 암세포주인 L1210, P388, HCT-15, SK-HepG-1세포주와 정상세포인 마우스 비장세포에 대하여 Aloe vera gel의 메탄올 추출물을 단독처리하거나, 기존에 사용되어지고 있

* 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
(전화) 02-710-9573 (팩스) 02-715-9498

는 항암제(cisplatin, mitomycin C, 5-fluorouracil)와 병용처리하여 aloe 메탄을 추출물이 선택적으로 암세포 증식억제효과를 나타내고 항암제의 정상세포에 대한 독성을 경감시킬 수 있는지를 검토하였다.

실험재료 및 방법

시약 및 기기

본 실험에 사용한 Cisplatin, 5-Fluorouracil, Concanavalin A(Con A), Lipopolysacchrides(LPS), MTT(Thiazolyl blue)는 Sigma사에서, Mitomycin C는 유나이티드(주)에서 구입하였다. RPMI medium 1640 powder, Hepes, Fetal Bovine Serum(FBS), Antibiotic & Antimycotic agent, Trypsin-EDTA는 Gibco제품을, Dimethyl sulfoxide(DMSO)는 Junsei제품을, 그 외의 시약은 특급을 사용하였다. 기기는 CO₂ incubator(New Brunswick Scientific Co.), Microtiter plate reader(Spectrophotometer, Dynatech MR5000)를 사용하였다.

시료의 조제

Aloe vera gel은 김정분 알로에(주)로부터 제공받아 메탄올로 70°C에서 4시간동안 추출하여 감압농축한 다음 동결건조(이하 aloe라 표기함)하여 -20°C에서 보관하였으며, 이 추출물을 사용직전에 0.5% DMSO용액에 일정농도로 조제하였다. 항암제인 cisplatin, mitomycin C 및 5-fluorouracil도 사용직전에 0.5% DMSO용액에 일정농도로 조제하였다

암세포주 및 배양

연세대 의대로부터 분양받은 L1210세포주와 한국세포주은행으로부터 분양받은 P388세포주는 배양기(37°C, 5% CO₂)에서 tissue culture flask를 사용하여 RPMI 1640 배양액(RPMI 1640 powder, Hepes, L-glutamin, antibiotic-antimycotic agent, 10% FBS)으로 2~3일 간격으로 계대배양하여 logarithmic phase에 도달한 세포를 실험에 사용하였다.

한국세포주은행으로부터 분양받은 HCT-15세포주와 SK-HepG-1세포주는 3~4일 간격으로 계대배양하였으며, tissue culture flask 기벽에 부착한 세포를 분리할 때는 0.25% trypsin-EDTA용액으로 처리하였다.

마우스의 비장세포 부유액 조제

4~6주령의 ICR계 암컷 마우스의 비장을 무균적으로 적출하여 배지액이 담긴 용기에 넣고 teflon pestle를 이용하여 200 mesh stainless steel sieve를 통과시켜 단일세포액으로 만들고, RBC lysis buffer용액으로 적혈구를 용혈시켜 제거한 후 trypan blue exclusion method¹⁵⁾로 2×10⁶ cells/ml이 되도록 비장세포 부유액을 만들었다.

세포독성 측정

MTT[3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide]assay는 각종 항암제에 대한 *in vitro* 세포독성에 관한 연구에서 dye exclusion test나 [³H]-thymidine uptake assay와 비교 시 실험 조작이 간편하고 재현성이 우수하여 대량 검색이나 초기 검색 단계에 적당한 방법으로 많이 이용되고 있다.¹⁴⁾

그러므로 본 연구에서는 aloe를 단독 또는 항암제와 병용처리시 *in vitro*에서 마우스와 사람의 암세포주에 나타나는 세포독성을 Mosmann법¹⁶⁾을 약간 변형한 MTT assay로 측정하였다. 즉, 실험하고자 하는 부유세포주(L1210, P388)와 마우스의 비장세포의 경우에는 원심분리하고, 부착세포주의 경우에는 0.25% trypsin-EDTA 용액으로 배양기의 부착면으로부터 분리시킨 다음에 원심분리한 후, trypan blue exclusion method¹⁵⁾로 예비 실험에서 결정된 적정수의 세포 농도(2×10⁶ cells/ml 또는 1×10⁶ cells/ml)로 보정하였다. 암세포 현탁액을 96well microplate의 각 well에 100 μl씩 가한 후, 배양기(37°C, 5% CO₂)에서 30분 동안 안정화시킨 후에 농도별로 시료용액을 각 well에 100 μl씩 넣어 실험군으로 하고, 배지액 100 μl씩 가한 것을 대조군으로 하였다. 마우스의 비장세포 부유액은 24well plate의 각 well에 1 ml씩 가하고 배양기(37°C, 5% CO₂)에서 30분 동안 안정화시킨 후에 농도별로 시료용액을 각 well에 1 ml 넣어 실험군으로 하고, 배양액 1 ml씩 가한 것을 대조군으로 하였다. 48시간 배양후 MTT 용액을 well당 50 μl (24well plate에는 500 μl)씩 넣어 4시간 동안 배양기에 방치한 후 원심분리하여 상등액을 제거하였다. DMSO 원액을 well당 50 μl(24well plate에는 500 μl)씩을 가하여 30분간 진탕하면서 formazan을 완전히 용해시켜 ELISA plate reader를 이용하여 흡광도

(570 nm)를 측정하였다. 이 때, 실험군과 대조군은 3 well에 동일하게 시행하였으며, 동일 실험을 2회이상 실시하였다.

생성된 formazan의 양은 well중의 생존 세포수와 정비례하므로 실험군에서의 시료액의 농도별 평균 OD값과 대조군의 평균 OD값을 구해 아래의 식에서와 같이 세포독성(%)을 산출하였다.

$$\text{Cytotoxicity (\%)} = \left(1 - \frac{\text{Mean of OD in Experimental group}}{\text{Mean of OD in Control group}}\right) \times 100$$

마우스의 비장세포증식능 측정

4~6주령의 ICR 마우스의 비장을 무균적으로 적출하여 단일세포액으로 만든 후, 비장세포 부유액을 4×10⁶ cells/ml이 되도록 보정하여 96well microplate에 각well당 50 µl씩 가하고 Con A(20 µg/ml) 50 µl 또는 LPS(40 µg/ml) 50 µl를 각 well에 가한 후, 30분 동안 세포를 안정화시킨 후에 각 well에 시료를 100 µl씩 가하고 48시간동안 배양하였다.

본 실험에서는 MTT assay를 사용하여 각 시료의 흡광도를 대조군의 흡광도에 대한 백분율로 계산하여 비장세포증식능에 미치는 영향을 측정하였다.

통계처리

각 실험군의 측정값의 평균과 표준편차를 구하고, 실험결과의 유의성을 student's t-test에 의해 검정하였다.

실험결과 및 고찰

Aloe의 암세포주에 대한 세포독성 - Aloe을 농도별로 각 암세포주에 적용한 결과 Table I에서 보는 바와 같이 저농도인 0.5 mg/ml에서는 암세포주에 대한 독성이 거의 나타나지 않았으나 용량이 증가됨에 따라 세포독성도 증가되었다. Aloe의 각종 암세포주에 대한 세포독성을 비교하여 보면, 가장 높은 농도인 aloe 5 mg/ml에서 L1210에 대해서 가장 높은 독성(74.4%)을 나타내었으며, P388, SK-HepG-1, HCT-15의 순으로 세포독성을 보였다. HCT-15세포주에 대해서는 다른 세포주와 비교하여 낮은 독성을 나타내었는데, 이는 Aloe aborescens의 석유에틸 추출물과 50% 알코올 추출물이 암세포에 세포독성을 나타낸 결과와도 일치하였다.⁹⁾

Aloe가 암세포주에 대한 cisplatin의 세포독성에 미치는 효과 - Aloe가 cisplatin의 세포독성에 미치는 영향을 알아보기 위하여, 먼저 4종의 암세포주와 마우스의 비장세포에 cisplatin을 농도별로 단독처리하여 실험한 결과는 Table I에서 보는 바와 같다.

1.5 µg/ml의 농도에서는 모든 세포주에서 15%내외의 비슷한 정도의 독성을 나타내었으나, 15 µg/ml의 농도에서는 L1210과 P388에 대해서 각각 44.7%와 49.1%의 독성을 나타내었고, HCT-15와 SK-HepG-1에서는 이보다 낮은 33.0%와 32.1%의 독성을 나타내었다. 고농도인 150 µg/ml에서는 HCT-15을 제외하

Table I—Effect of the methanol extract of Aloe vera on the cytotoxicity(%) of cisplatin against cancer cell lines

Experimental groups	L1210	P388	HCT-15	SK-HepG-1
Cis 1.5 µg/ml	15.1±1.8	14.8±3.3	16.0±1.6	13.1±6.1
Cis 15 µg/ml	44.7±3.0	49.1±3.6	33.0±2.9	32.1±8.7
Cis 150 µg/ml	87.2±1.7	76.7±7.5	67.5±3.0	84.4±2.6
A 0.5 mg/ml	8.6±0.4	10.5±4.16	8.7±1.6	2.1±1.0
A 1.25 mg/ml	14.7±1.1	16.5±0.4	15.7±1.4	17.3±3.2
A 2.5 mg/ml	31.6±2.5	22.4±1.5	24.2±4.0	30.4±3.1
A 5.0 mg/ml	74.4±3.4	59.3±3.8	44.2±5.0	52.0±4.0
Cis 1.5 µg/ml+A 0.5 mg/ml	18.2±3.0	23.5±7.7	22.9±2.8	6.4±2.1
Cis 1.5 µg/ml+A 1.25 mg/ml	25.0±6.1	26.0±8.4	28.9±2.8	16.4±2.2
Cis 1.5 µg/ml+A 2.5 mg/ml	49.9±8.7	32.4±9.8	29.8±3.6	27.7±3.2
Cis 15 µg/ml+A 0.5 mg/ml	49.4±2.2	53.3±8.5	34.3±3.3	26.9±1.9
Cis 15 µg/ml+A 1.25 µg/ml	66.7±17.9	50.0±3.8	37.0±6.4	32.7±1.9
Cis 15 µg/ml+A 2.5 mg/ml	64.0±11.0	50.3±3.7	42.7±2.1	42.7±1.1

Cancer cell lines were seeded in 10% FBS-supplemented RPMI medium at 2×10⁵ or 1×10⁵/well and exposed to methanol extract of Aloe vera (A) alone or combination of A with cisplatin (Cis). Cis was added simultaneously with A. After 48hr, cell survival was determined by MTT assay and absorbance was measured at 570 nm with microplate reader. Results were expressed as the relative percentage of absorbance as compared with untreated control. Each value is the mean of standard deviation for two or three experiments in triplicate.

고는 모두 80%정도의 세포독성을 나타내었다.

Aloe를 cisplatin과 병용처리하여 aloe가 cisplatin의 세포독성에 미치는 영향을 Table I에서 보면, L1210 암세포주에 저농도인 cisplatin 1.5 $\mu\text{g/ml}$ 와 aloe을 농도별(0.5 mg/ml, 1.25 mg/ml, 2.5 mg/ml)로 병용처리시의 세포독성이 각각 18.2%, 25%, 49.9%이며, cisplatin 1.5 $\mu\text{g/ml}$ 단독처리시의 세포독성과 aloe 단독처리시의 세포독성을 합한 값과의 차이가 약 5%이내였다. 그러므로 aloe를 cisplatin과 병용처리시 암세포주에 대한 세포독성의 상승효과가 나타났다고 볼 수 있다. 그러나 고농도인 cisplatin 15 $\mu\text{g/ml}$ 와의 병용처리시에는 단독처리시의 세포독성을 합한 값보다 낮은 독성을 보여 저농도의 cisplatin에 병용처리할 때 확실한 상승효과를 보여주었다. P388과 HCT-15 암세포주에 대해서도 이러한 현상이 나타났으나 SK-HepG-1 암세포주에 대해서는 저농도에서도 상승효과를 볼 수 없었다.

Aloe가 암세포주에 대한 mitomycin C의 세포독성에 미치는 효과 - Aloe가 mitomycin C(이하 MMC로 표기함)의 세포독성에 미치는 영향을 알아보기 위하여, 먼저 MMC를 농도별로 단독처리한 결과를 Table II에서 보면, 0.1 $\mu\text{g/ml}$ 에서는 암세포주에 대한 세포독성이 12.8~18.7%로 나타나고 용량의존적으로 증가되었으며, 10 $\mu\text{g/ml}$ 에서는 L1210(86.5%), SK-HepG-1(79.2%), P388(70.4%), HCT-15(60.8%)의 순으로

높은 세포독성을 보여 주었다.

Aloe를 MMC와 병용처리(Table II)하여 aloe가 MMC의 세포독성에 미치는 영향을 보면, L1210 암세포주에 대하여 거의 모든 실험군에서 뚜렷한 상승효과가 나타났다. P388 암세포주에 대하여 MMC 0.1 $\mu\text{g/ml}$ 와 1 $\mu\text{g/ml}$ 를 aloe와 병용처리시에 MMC 0.1 $\mu\text{g/ml}$ 와 aloe 0.5 mg/ml와의 병용처리군만을 제외하고는 모두 확실한 상승효과를 나타내었다. 그러나, MMC 0.5 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도와 aloe와의 병용처리시에는 MMC 0.5 $\mu\text{g/ml}$ 의 세포독성을 저하시키지는 않았으나, 뚜렷한 상승효과를 보이지는 않았다. HCT-15에 대하여 MMC 각 농도에 aloe 2.5 mg/ml와의 병용처리시에는 aloe 단독처리시의 세포독성과 MMC 단독처리시의 세포독성을 합한 값보다 다소 낮았으나(약 10%), 그 외의 모든 실험군에서는 뚜렷한 상승효과가 나타났다. SK-HepG-1 암세포주에 대해서는 MMC와 aloe를 병용처리시의 세포독성이 다소 증가되었거나 거의 유사하여 aloe의 상승효과는 볼 수 없었다.

Aloe가 암세포주에 대한 5-fluorouracil의 세포독성에 미치는 효과 - Aloe가 5-fluorouracil(이하 5-FU로 표기함)의 세포독성에 미치는 영향을 알아보기 위하여, 먼저 5-FU를 농도별로 단독처리한 결과(Table III), 모든 암세포주에 대한 세포독성이 0.31 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서는 8.5~15.5%로 낮았으나 0.63 $\mu\text{g/ml}$ 에서는 17.3~

Table II— Effect of the methanol extract of Aloe vera on the cytotoxicity(%) of mitomycin C against cancer cell lines

Experimental groups	L1210	P388	HCT-15	SK-HepG-1
M 0.1 $\mu\text{g/ml}$	13.8 \pm 3.0	15.5 \pm 5.3	12.8 \pm 2.2	8.7 \pm 1.0
M 0.5 $\mu\text{g/ml}$	31.3 \pm 3.2	36.3 \pm 6.4	27.0 \pm 3.1	27.4 \pm 3.0
M 1.0 $\mu\text{g/ml}$	38.2 \pm 1.2	39.7 \pm 8.0	35.0 \pm 1.8	33.1 \pm 4.6
M 10 $\mu\text{g/ml}$	86.5 \pm 4.1	70.4 \pm 9.2	60.8 \pm 3.1	79.2 \pm 3.8
A 0.5 mg/ml	8.6 \pm 0.4	10.5 \pm 4.2	8.7 \pm 1.6	2.0 \pm 1.0
A 1.25 mg/ml	14.7 \pm 1.1	16.5 \pm 0.4	15.7 \pm 1.4	17.3 \pm 3.2
A 2.5 mg/ml	31.6 \pm 2.5	22.4 \pm 1.5	24.2 \pm 4.0	30.4 \pm 3.1
M 0.1 $\mu\text{g/ml}$ +A 0.5 mg/ml	18.7 \pm 1.6	11.7 \pm 2.3	19.1 \pm 2.8	22.0 \pm 3.7
M 0.1 $\mu\text{g/ml}$ +A 1.25 mg/ml	25.0 \pm 5.8	28.4 \pm 5.5	22.4 \pm 4.1	25.3 \pm 2.3
M 0.1 $\mu\text{g/ml}$ +A 2.5 mg/ml	41.8 \pm 11.8	38.5 \pm 1.8	28.0 \pm 1.0	32.5 \pm 4.2
M 0.5 $\mu\text{g/ml}$ +A 0.5 mg/ml	35.7 \pm 3.4	31.1 \pm 3.4	40.0 \pm 3.8	27.9 \pm 3.3
M 0.5 $\mu\text{g/ml}$ +A 1.25 mg/ml	37.8 \pm 3.8	37.7 \pm 2.8	38.9 \pm 5.1	31.5 \pm 5.5
M 0.5 $\mu\text{g/ml}$ +A 2.5 mg/ml	47.8 \pm 1.7	43.9 \pm 2.4	40.9 \pm 5.2	35.7 \pm 2.8
M 1.0 $\mu\text{g/ml}$ +A 0.5 mg/ml	40.2 \pm 5.4	46.8 \pm 5.7	40.5 \pm 3.4	30.5 \pm 1.6
M 1.0 $\mu\text{g/ml}$ +A 1.25 mg/ml	46.2 \pm 1.0	44.3 \pm 4.6	42.7 \pm 4.8	33.8 \pm 2.0
M 1.0 $\mu\text{g/ml}$ +A 2.5 mg/ml	63.7 \pm 4.1	57.0 \pm 4.4	49.2 \pm 2.4	40.0 \pm 2.9

Cancer cell lines were seeded in 10% FBS-supplemented RPMI medium at 2×10^5 or 1×10^5 /well and exposed to methanol extract of Aloe vera(A) alone or combination of A with mitomycin C(M). M was added simultaneously with A. After 48hr, cell survival was determined by MTT assay and absorbance was measured at 570 nm with microplate reader. Results were expressed as the relative percentage of absorbance as compared with untreated control. Each value is the mean of standard deviation for two or three experiments in triplicate.

Table III—Effect of the methanol extract of Aloe vera on the cytotoxicity(%) of 5-fluorouracil against cancer cell lines

Experimental groups	L1210	P388	HCT-15	SK-HepG-1
F 0.31 µg/ml	8.5±3.0	15.5±3.4	8.6±1.6	9.1±1.2
F 0.63 µg/ml	17.7±3.7	23.3±5.4	17.3±2.5	19.6±2.4
F 1.25 µg/ml	25.2±4.3	28.2±4.0	22.8±1.4	29.1±1.4
F 2.5 µg/ml	38.0±3.7	37.5±5.0	31.9±4.0	35.1±1.2
A 0.5 mg/ml	8.6±0.4	10.5±4.2	8.7±1.6	2.1±1.0
A 1.25 mg/ml	14.7±1.1	16.5±0.4	15.7±1.4	17.3±3.2
A 2.5 mg/ml	31.6±2.5	22.4±1.5	24.2±4.0	30.4±3.1
F 0.31 µg/ml+A 0.5 mg/ml	20.6±1.3	26.3±3.4	18.7±3.8	14.8±2.3
F 0.31 µg/ml+A 1.25 mg/ml	31.9±2.6	29.5±2.7	19.2±3.1	19.3±1.5
F 0.31 µg/ml+A 2.5 mg/ml	40.4±1.1	29.5±2.0	21.6±1.1	28.4±1.1
F 0.63 µg/ml+A 0.5 mg/ml	29.5±3.0	28.2±6.0	25.4±3.7	24.9±0.4
F 0.63 µg/ml+A 1.25 mg/ml	39.2±1.5	33.7±1.9	29.1±2.2	28.1±2.7
F 0.63 µg/ml+A 2.5 mg/ml	43.7±3.3	33.6±4.0	28.1±3.8	30.0±1.6
F 1.25 µg/ml+A 0.5 mg/ml	34.4±6.2	27.2±5.2	25.1±4.8	33.3±0.4
F 1.25 µg/ml+A 1.25 mg/ml	40.8±5.6	35.5±3.2	27.8±3.7	32.4±2.1
F 1.25 µg/ml+A 2.5 mg/ml	42.7±9.4	36.2±2.3	29.4±3.1	36.9±2.6

Cancer cell lines were seeded in 10% FBS-supplemented RPMI medium at 2×10^5 or 1×10^5 /well and exposed to methanol extract of Aloe vera(A) alone or combination of A with 5-fluorouracil(F). F was added simultaneously with A. After 48hr, cell survival was determined by MTT assay and absorbance was measured at 570 nm with microplate reader. Results were expressed as the relative percentage of absorbance as compared with untreated control. Each value is the mean of standard deviation for two or three experiments in triplicate.

23.3%, 1.25 µg/ml에서는 22.8~29.1%, 그리고 2.5 µg/ml에서는 31.9~38.0%로 나타나 cisplatin이나 MMC와 마찬가지로 농도의존적으로 증가되었다.

Aloe를 5-FU와 병용처리(Table III)하여 aloe가 5-FU의 세포독성에 미치는 영향을 보면, L1210 암세포주에 대하여 거의 모든 실험군에서 뚜렷한 상승효과가 나타났다. P388 암세포주에 대하여 5-FU 0.31 µg/ml농도와 aloe의 각 농도를 병용시켰을 때 확실한 상승효과를 나타내었으나, 5-FU 0.63 µg/ml 또는 1.25 µg/ml와 aloe의 각 농도를 병용시켰을 때에는 5-FU 자체의 암세포주에 대한 세포독성이 다소 증가되기는 하였으나, 두 시료를 단독처리한 값을 합한 값보다는 낮은 독성을 나타내어 확실한 상승효과를 나타내지는 않았다. 이러한 현상이 HCT-15와 Sk-HepG-1 암세포주에 대해서도 보였다.

Aloe가 정상세포에 대한 항암제의 세포독성에 미치는 효과 - Aloe가 항암제인 cisplatin, MMC 및 5-FU의 정상세포에 대한 독성에 미치는 영향을 알아보기 위하여, 먼저 aloe 0.5 mg/ml 또는 2.5 mg/ml를 마우스 비장세포에 처리한 결과(Table IV) 대조군에 비해서 각각 12.6%, 15.2%의 세포증식효과를 나타내었다. 이 결과는 aloe가 사람의 정상 적혈구 수를 증가시켜준다는 Winters 등¹⁷⁾의 보고와도 일치하였으며, aloe의 메탄올 추출물이 앞의 결과에서 보듯이 암세포주에는 세포증식

Table IV—Effect of the methanol extract of Aloe vera on the cytotoxicity of anticancer drugs against mouse splenocytes *in vitro*

Experimental groups	Cytotoxicity(%)
A 0.5 mg/ml	-12.6±3.9
A 2.5 mg/ml	15.2±2.2
Cis 15 µg/ml	17.8±1.8
M 0.5 µg/ml	17.2±6.4
F 0.63 µg/ml	10.4±3.0
Cis 15 µg/ml+A 0.5 mg/ml	-0.7±1.1
Cis 15 µg/ml+A 2.5 mg/ml	1.1±1.6
M 0.5 µg/ml+A 0.5 mg/ml	-19.6±7.4
M 0.5 µg/ml+A 2.5 mg/ml	17.2±0.5
F 0.63 µg/ml+A 0.5 mg/ml	5.4±2.1
F 0.63 µg/ml+A 2.5 mg/ml	8.2±2.3

Mouse splenocytes were seeded in 10% FBS-supplemented RPMI medium at 2×10^5 or 1×10^5 /well and exposed to methanol extract of Aloe vera(A) alone or combination of A with cisplatin(Cis), mitomycin C(M) or 5-fluorouracil(F). Anticancer drugs (Cis, M or F) was added simultaneously with A. After 48hr, cell survival was determined by MTT assay and absorbance was measured at 570 nm with microplate reader. Results were expressed as the relative percentage of absorbance as compared with untreated control. Each value is the mean of standard deviation for two or three experiments in triplicate.

억제효과를 나타내고, 정상세포인 마우스 비장세포에는 세포독성을 전혀 나타내지 않고 오히려 세포증식을 증가시켜 선택적인 항암작용을 하는 것으로 보인다.

마우스의 비장세포에 cisplatin 15 µg/ml, MMC

0.5 $\mu\text{g/ml}$, 5-FU 0.63 $\mu\text{g/ml}$ 을 단독처리한 결과 각각 17.8%, 17.2%, 10.4%의 세포독성을 나타내었으며, aloe 단독처리시에는 마우스 비장세포를 증식시켜준 결과와 비교해 볼 때 이미 알려진 바와 같이 기존의 항암제는 정상세포인 마우스 비장세포에 대하여도 높은 독성을 나타냄을 확인할 수 있었다.

Aloe가 정상세포에 대한 항암제의 독성에 미치는 영향을 보기 위하여, 정상세포인 마우스 비장세포에 cisplatin 15 $\mu\text{g/ml}$ 와 aloe 0.5 mg/ml 또는 2.5 mg/ml를 병용처리하여 독성을 측정한 결과, cisplatin 단독처리시 비장세포에 대한 세포독성이 17.8%인데 비하여 aloe의 병용처리로 세포독성이 거의 나타나지 않고 대조군과 비슷하게 세포가 증식되었다. 즉 Aloe 0.5 mg/ml과의 병용처리군은 -0.7%를 나타내었으며, aloe 2.5 mg/ml과의 병용처리군은 -1.1%의 독성을 나타내었다. 따라서 cisplatin과 aloe를 병용시키면 정상세포에 전혀 독성을 발현하지 않는 결과를 보였다.

또한 마우스의 비장세포에 MMC 1 $\mu\text{g/ml}$ 와 aloe 0.5 mg/ml 또는 2.5 mg/ml을 병용처리한 결과, 0.5 mg/ml 병용처리군은 -19.6%, 2.5 mg/ml 병용처리군은 -17.0%의 결과를 나타내었다. 즉, MMC에 알로에를 병용처리하면 비장세포에 대한 MMC의 세포독성이 전혀 발현되지 않고 오히려 비장세포가 증식되는 결과를 나타내었다.

5-FU와 aloe 0.5 mg/ml을 병용처리시에는 5-FU의 비장세포에 대한 독성을 5%정도 감소시켰고, aloe 2.5 mg/ml 병용처리시는 2%정도 감소시켜주는 결과를 나타내어 cisplatin과 mitomycin C의 경우와는 달리 aloe가 마우스의 비장세포에 대한 5-FU의 세포독성

을 현저히 저하시켜주지는 못하였다. 그러나, aloe와 5-FU와의 병용처리가 암세포주에 대한 세포독성의 상가효과를 나타내었으나 정상세포인 마우스 비장세포에는 상가효과를 전혀 나타내지 않고 오히려 5-FU 단독처리시의 비장세포에 대한 독성을 약간 감소시켜주는 효과를 나타내었다.

그러므로, aloe는 항암제와 병용처리하면 항암제의 암세포주에 대한 독성에 상가효과와 정상세포에 대한 독성을 경감시키는 효과를 나타내는 것으로 보인다.

Aloe가 mitomycin C의 비장세포증식억제에 미치는 효과 - Aloe가 MMC의 mitogen(Con A, LPS)에 의한 마우스의 비장세포증식억제 미치는 영향을 보기 위하여 aloe와 MMC를 각각 단독처리하고, 또한 aloe와 MMC를 병용처리하여 대조군과 비교한 결과는 Table V와 같다.

Table V에서 보는 바와 같이 aloe 0.5 mg/ml 또는 2.5 mg/ml를 단독처리한 경우 Con A에 의한 비장세포의 증식능은 대조군(100%)에 비하여 130.4%($p < 0.05$), 141.8%($p < 0.01$)로 유의성 있게 뚜렷이 증가되었으며, MMC 0.5 $\mu\text{g/ml}$ 을 단독처리시에는 70.7%로 비장세포의 증식이 유의성 있게($p < 0.05$) 뚜렷이 감소되었다. 그러나, MMC와 aloe를 병용처리시에는 aloe 단독처리시와 비슷한 결과를 보여 MMC의 비장세포증식억제작용이 전혀 나타나지 않음을 알 수 있었다. 또한, LPS에 의한 비장세포의 증식능에 대한 aloe의 영향도 Con A에 의한 결과와 유사하였다.

그러므로, aloe는 T세포와 B세포의 증식능을 증가시키고 MMC의 세포증식억제작용을 저하시키는 것으로 보인다.

Table V—Effect of the methanol extract of Aloe vera on the mitogenicity (%) in normal and mitomycin C-treated mice

Experimental Groups	Con A	LPS
Control	100.0 \pm 9.4	100.0 \pm 10.4
A 0.5 mg/ml	130.4 \pm 15.8*	126.0 \pm 9.6*
A 2.5 mg/ml	141.8 \pm 13.4**	143.2 \pm 13.9**
M 0.5 $\mu\text{g/ml}$	70.7 \pm 11.2*	70.7 \pm 11.5*
M 0.5 $\mu\text{g/ml}$ +A 0.5 mg/ml	122.4 \pm 10.6*	122.6 \pm 10.0*
M 0.5 $\mu\text{g/ml}$ +A 2.5 mg/ml	137.7 \pm 13.8**	141.4 \pm 14.4**

Mouse splenocytes were seeded in 10% FBS-supplemented RPMI medium at 2×10^5 /well and exposed to methanol extract of Aloe vera(A) alone or combination of Aloe extract(A) with mitomycin C(M). M was added simultaneously with Aloe extract. One μg /well of Con A and 2 μg /well of LPS were used to induce the proliferation of splenocytes. After 48h, cell survival was determined by MTT assay and absorbance was measured at 570 nm with microplate reader. Results were expressed as the relative percentage of absorbance as compared with control group treated only with mitogens. Each value is the mean of standard deviation for two or three experiments in triplicate. Significant difference from control group (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$).

결 론

Aloe vera gel의 메탄올 추출물을 4종의 암세포주 (L1210, HCT-15, SK-HepG-1, P388)와 마우스의 비장세포에 단독처리 및 3종의 항암제(cisplatin, mitomycin C, 5-fluorouracil)에 병용처리하여 MTT assay로 세포독성을 측정한 결과, aloe를 단독처리시 암세포주에 대해서만 선택적으로 농도의존적인 암세포증식억제작용을 나타내었으며, 고농도에서도 정상세포에 독성을 보이지 않고 Con A와 LPS에 의한 비장세포증식능을 증가시켰다. 또한 aloe는 항암제에 병용처리시 암세포증식억제에 상가효과를 나타내고 정상세포인 마우스의 비장세포에 대한 항암제의 독성을 현저히 감소시키는 효과를 보였다.

감사의 말씀

본 연구의 일부는 숙명여자대학교 1998년도 교비연구비 지원에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

문 헌

- 1) 약품식물학회연구회저 : 신약품식물학, 학창사, 서울, p.261 (1996).
- 2) Kim, J. G. : The therapeutic effect of Aloe vera on the peptic ulcer. *最新醫學* **35**, 97 (1992).
- 3) Shin, H. J., Choi, M. C., and Sung, J. K. : The effects of Aloe vera on hematology and blood chemical values of Cobalt-60 gamma irradiated mice. *Korean Soc. Ver. Clin. Med.* **7**, 139 (1990).
- 4) Sung, J. K., Choi, M. C., Kim, D. J., and Hwang, S. W. : The effects of Aloe arborescens on survival and blood picture of cobalt-60 gamma irradiated mice, *Korean J. Ved. Clin. Med.* **8**, 152 (1991).
- 5) Choi, M. C. : Modification of survival and blood-forming stem cells in cobalt-60 gamma irradiated mice by Aloe vera, 서울대학교 수의학박사학위논문 (1990).
- 6) Hart, L. A. T, Nibbering, P. H., M. TH. VAN DEN Barselaar, H.VAN DUK, A. J. J. VAN DEN Berg, and Labadie, R. P. : Effects of low molecular constituents from Aloe vera gel on oxidative metabolism and cytotoxic and bactericidal activities of human neutrophils. *Int. J. Immunopharm.* **12**, 427 (1990)
- 7) Lee, P. W., Kim, Y. C., and Chung, D. H. : Antiviral action of aloe extracts. *J. Kor. Soc. of Virology* **22**, 64 (1992).
- 8) Klein, Alan D. and Penneys, Neal S. : Aloe vera. *J. AM. Acad. Dermatology* **18**, 714 (1988).
- 9) 황우익 : Aloe성분의 암세포 증식억제 효과, 고려대학교 의과대학 (1990).
- 10) Davis, Robert H., Kabbani, Joseph M. and Maro, Nicholas P. : Aloe vera and wound healing. *J. An. Podi. Med. Assoc.* **77**, 165 (1987).
- 11) Hart, L. A. t, van Enckevort, P. H., van Dijk, H., Zaat, R., de Silva, K. T. D. and Labadie, R. P. : Two functionally and chemically distinct immunomodulatory compounds in the gel of Aloe vera. *J. of Ethnopharmacology* **23**, 61 (1988).
- 12) Womble, Debra and Helderman, J. Harold : Enhancement of allo-responsiveness of human lymphocytes by acemannan (Carrisyn™), *Int. Soc. of Immunopharm.* **25**, 967 (1988).
- 13) Ahn, B. Z., Lee, Y. H., and Kim, S. I. : Isolation of cytotoxicity-potentiating substances from red ginseng. *J. of Korean Cancer Association* **24**, 795 (1992).
- 14) Kim, J. H., Kim, B. S., Choi, J. J., Kim, K. M., Yoo, N. C., Choi, J. H., Lim, H. Y., Roh, J. K., Lee, K. S., and Kim, B. S. : Effects of verapamil, tamoxifen and cyclosporin A for the modulation of multidrug resistance in human lung cancer cell lines. *J. of Korean Cancer Association* **25**, 225 (1993).
- 15) Mischell, B. B and Shiigi, S. M : Selected methods in cellular immunology. W. H. Freeman and company., p.16 (1980).
- 16) Tim Mosmann. : Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival: Application to Proliferation and Cytotoxicity Assays. *J. of Immunological Method.* **65**, 55 (1983).
- 17) Winters, W. D., Benavides, R. and Clouse, W. J. : Effects of aloe extracts on human normal and tumor cells in vitro, *Economic Botany* **35**, 89 (1981).