

간암 세포주 HepG2에 대한 麥門冬湯 추출물의 항암 및 항전이 효능

전명숙¹, 천진미¹, 윤태숙¹, 이아영¹, 문병철¹, 추병길¹, 김성환², 김호경^{1*}

1: 한국한의학연구원 한약자원연구센터
2: 한국화학연구원 화학유전체실

Anti-carcinogenetic and Anti-metastatic Effects of Extract from *Maekmoondong-tang* in HepG2 Cells

Myeong Sook Cheon¹, Jin-Mi Chun¹, Taesook Yoon¹, Ayeong Lee¹,
Byeong Cheol Moon¹, Byung Kil Choo¹, Seong Hwan Kim², Ho Kyoung Kim^{1*}

1: Center of Herbal Resources Research, Korea Institute of Oriental Medicine
2: Laboratory of Chemical Genomics, Korea Research Institute of Chemical Technology

ABSTRACT

Objectives : *Maekmoondong-tang* (MMDT), a Korean herbal medicine, has been used to treat severe dry cough in patients with bronchitis and pharyngitis. MMDT has been reported to have anti-inflammatory, anti-allergic, immunomodulatory, secretory-modulating, and metabolic regulatory actions. However, there are no evidence in regard to the effects of MMDT on carcinogenesis and metastasis. Here, we investigated the effects of 70% ethanol extract of MMDT on cell viability, apoptosis, and motility in human hepatocarcinoma HepG2 cells.

Methods : Cell viability was measured using the CCK-8 assay, and the apoptosis induction was evaluated by caspase-3 activity. To detect apoptotic features, the cells treated with MMDT were stained with 4'-6-diamidino-2-phenylindole (DAPI). Cell motility was examined by Boyden chamber assay and Real-time Cell Index of Migration assay. Gelatin zymography also performed to measure matrix metalloproteinase (MMP)-2/9 activity.

Results : We found that MMDT significantly inhibited cell proliferation and increased caspase-3 activity in a dose-dependent manner in HepG2 cells. Apoptotic features such as chromatin condensation and apoptotic bodies were observed in MMDT-treated cells by DAPI staining. MMDT also suppressed PMA-induced cell motility and activities of MMP-2/9.

Conclusions : Our results exhibited that MMDT possess the anti-carcinogenetic and anti-metastatic activities via caspase-3 activation and down-regulation of cell motility and invasion in HepG2 cells. Therefore, these findings suggest that MMDT could be potentially applied to the prevention and treatment of cancer.

Key words : Anti-tumor; Apoptosis; Caspase-3; *Maekmoondong-tang*; Metastasis; MMPs

* 교신저자 : 김호경, 대전시 유성구 엑스포로 483 한국한의학연구원 한약자원연구센터
· Tel : 042-868-9502 · E-mail : hkkim@kiom.re.kr
· 접수 : 2009년 8월 31일 · 수정 : 2009년 9월 12일 · 채택 : 2009년 9월 23일

서론

암이란 다양한 원인에 의해 세포의 분열과 사멸 간의 균형이 파괴됨으로써 계속적인 분열과 증식에 의해 발생한 비정상적인 세포의 집단을 의미하며, 종양 또는 신생물이라고도 한다. 일반적으로 장기, 백혈구, 뼈, 림프절 등을 포함한 100가지 이상 신체의 여러 부분에 발병하며, 주변조직으로 침윤하는 현상과 다른기관으로 이동하는 전이를 통해 심각한 증상으로 발전한다¹⁾.

암 발생의 원인으로는 화학물질, 바이러스, 세균, 전리 방사선 등의 환경적 또는 외적 요인과 선천성 유전자 변이 등의 내적 요인을 들 수 있다²⁾. 초기에 발견된 암일 경우 수술, 방사선 치료, 화학적 요법 등의 치료법이 있으나, 그 부작용 또한 큰 문제로 대두되고 있으며, 말기 암이나 전이된 암의 경우 특별한 치료법 없이 시한부 인생으로 삶을 마감하는 상황이다. 이에 따라 암 치료를 위한 새로운 접근 방법으로, 독성이 비교적 낮은 천연물로부터 부작용이 적고 효능이 뛰어난 발암 억제제나 암 치료제를 개발하기 위한 연구가 활발히 진행되고 있다. 다양한 기초 및 임상 연구에 따르면, 한방처방은 면역기능 강화 및 종양 성장억제 등에 의한 항암효과가 있으며, 화학적 요법과 방사선 치료 등에서 흔히 관찰되는 조혈, 면역기능 억제 등의 부작용이 크게 감소되는 것으로 나타났다³⁻⁶⁾.

암은 한의학적으로 癭瘤, 積聚, 癰疽, 癥瘕, 疔瘡 등에 해당하며, 전반적인 正氣虛의 바탕에 熱毒, 瘀血, 氣鬱, 濕痰 등이 더해져 발생한다. 따라서 清熱解毒, 活血祛瘀, 理氣解鬱, 燥濕化痰 등의 효능이 있는 한약재에 항암 효과를 기대할 수 있으며, 이에 더불어 補養 효능이 있는 한약재로 허약해진 체력과 면역기능을 복돋울 수 있다.

麥門冬湯은 麥門冬을 主藥으로 하여 구성되는 처방으로, 麥門冬과 粳米만으로 이루어진 《醫方集解》의 것부터 甘草, 桔梗 등 10여 가지의 본초로 이루어진 《景岳全書》의 것까지 문헌에 따라 여러 종류가 있다. 또한 그 主治症도 구성에 따라서 肢體浮腫, 勞復, 氣欲絕, 內熱, 表邪, 喘咳, 上氣, 咽喉不利, 乾霍亂, 眉髮脫落, 肺熱, 血氣衰弱, 煩熱, 多渴飲水, 胸脇脹滿, 病後虛熱, 羸瘦, 咳血 등 여러 가지가 있다⁷⁾.

본 연구에서 소재로 삼은 麥門冬湯은 《東醫寶鑑·雜病篇·寒門》에 수록된 처방으로, 勞復으로 인해 기운이 끊어질 것 같은 증세를 보일 때 起死回生시키는 효능이 있다고 기록되어 있다. 본초학적 견지에서 보면 이 처방을 구성하고 있는 麥門冬과 甘草·粳米는 각각 補陰藥과 補氣藥으로서⁸⁾, 주로 虛證에 응용할 만 하며, 性味에 따르면 주로 肺熱을 치료하는 작용이 있음을 알 수 있다. 기존의 다른 연구에서 사용된 麥門冬湯은 《傷寒論》에 수록된 것으로 半夏, 人蔘 등이 함유되어 본 연구에서 사용된 麥門冬湯과는 구성 및 主治症이 상이하며^{9,10)}, 항암 효과를 확인한 연구는 없었다. 따라서 본 연구에서는 만성 熱性 질환이라고 할 수 있는 암에 대한 麥門冬湯의

효능을 확인하기 위해 항암 및 항전이 활성을 분석하였다. 항암 활성 분석을 위해 麥門冬湯의 간암세포주(HepG2)에 대한 세포독성과 세포사멸(apoptosis) 증진 효과를 조사하였다. 또한 항전이 활성 분석을 위해, 麥門冬湯의 세포 침투 및 세포이동 억제효과를 확인하여 매우 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 재료

1) 약재 및 시료

본 실험에 사용한 麥門冬, 甘草, 粳米는 옴니허브(영천, 경북)에서 구입하여 한국한의학연구원 한약자원연구센터에서 검정하고 정선한 것을 사용하였다. 麥門冬(KIOM0077055), 甘草(KIOM00770411), 粳米(KIOM00770412), 세 약재 시료는 한국한의학연구원 한약자원연구센터 표본관에 보관되었다. 麥門冬 8 g, 甘草 12 g, 粳米 180 ml의 비율로 섞인 총 200 g의 약재에 70% 에탄올 1 L를 가한 다음 2시간씩 2회 환류 냉각 추출하여 여과한 후 농축하고 동결 건조하여 6.5 g의 분말(수율 3.25%)을 얻었다.

2) 시약

Eagle's Minimum Essential Medium (EMEM)은 American Type Culture Collection (ATCC, Manassas, VA)에서 구입하였다. Fetal bovine serum (FBS), penicillin-streptomycin은 Invitrogen Co. (Grand Island, NY)에서, Cell Counting Kit-8 (CCK-8)은 R&D systems, Inc (Minneapolis, MN)에서, Caspase-Glo 3/7 Assay는 Promega (Madison, WI)에서 구입하였다. Phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA), 4'-6-diamidino-2-phenylindole (DAPI), 그 외의 시약들은 Sigma (St. Louis, MO)에서 구입하였다.

2. 방법

1) 세포배양

간간 암세포주인 HepG2 세포를 ATCC로부터 구입하여 10% FBS, 100 units/ml penicillin, 100 ug/ml streptomycin을 첨가한 EMEM 배지로 37°C, 5% CO₂ 환경에서 배양하였다.

2) 세포독성 시험

麥門冬湯의 세포 독성을 확인하고자 CCK-8 assay를 실시하였다. 96-well plate에서 24시간 동안 배양된 HepG2 세포에 시료를 정해진 농도로 처리하고 48시간 동안 배양하였다. 배지를 제거하고 CCK-8이 10% 첨가된 새 배지를 각 well에 가하고 추가로 2시간 동안 37°C에서 반응시킨 뒤, SpectraMax 340 reader (Molecular Devices, Silicon Valley, CA)를 이용하여 450 nm에서의 흡광도를 측정하

고 대조군과의 비교를 통해 세포생존율을 계산하였다.

3) Caspase-3 활성 측정

96-well plate에서 24시간 동안 배양된 HepG2 세포에 시료를 정해진 농도로 처리하고 24시간 동안 배양한 후, Caspase-Glo 3/7 Assay로 세포 내 caspase-3의 활성을 측정하였다.

4) DAPI에 의한 세포 염색

96-well plate에서 24시간 동안 배양된 HepG2 세포에 시료를 정해진 농도로 처리하고 48시간 동안 배양하였다. 세포를 10% formalin으로 5분 동안 고정하고 0.1% Triton X-100을 5분 동안 처리 한 후 DAPI로 15분 동안 염색하였다. 염색된 세포는 형광현미경 IX51로 관찰하면서 DP Controller (Olympus Optical, 일본)로 사진을 촬영하였다.

5) Cell motility assay with Boyden chamber

48-well microchemotaxis chamber (Neuro Probe, MD)의 아래쪽 plate에 200 nM의 PMA와 정해진 농도의 시료를 처리하고, 0.1% gelatin으로 코팅된 위쪽 plate에 세포를 넣어주었다. 8시간 후에 위쪽과 아래쪽 plate의 중간에 위치한 filter membrane의 아래쪽 면을 Diff-Quick solution (Dade Behring, DE)으로 염색하여 현미경으로 관찰하였다.

6) Cell motility assay with Real-time Cell index of migration (RT-CIM)

48-well microchemotaxis chamber (ACEA Biosciences, Inc, San Diego, CA)의 아래쪽 plate에 200 nM의 PMA와 정해진 농도의 시료를 처리하고, 위쪽 plate에 세포를 넣은 뒤 chamber를 RT-CIM System (ACEA Biosciences, Inc.)에 설치하고 48시간 동안 실시간으로 motility를 측정하였다.

7) Gelatin zymography

24 well plate에서 24시간 동안 배양된 HepG2 세포에 200 nM의 PMA와 정해진 농도의 시료를 처리하고 24시간 동안 배양한 후, 배지를 모아 centricon으로 시료를 농축하였다. 농축된 샘플의 단백질을 Bio-Rad Protein assay kit (Hercules, CA)로 정량하여 non reducing sample buffer (0.5 M Tris-HCl, pH 6.8, 5% SDS, 20% glycerol, 1% bromophenol blue)와 동량으로 섞은 후, 미리 준비된 1.5 mg/ml gelatin이 포함된 10% SDS-PAGE gel에 loading 하였다. 전기영동이 끝난 후, 2.5% (v/v) Triton X-100 용액으로 gel의 SDS를 제거하여, zymogram development solution (50 mM Tris-HCl, pH 7.6, 5 mM CaCl₂)에 넣고 18시간 동안 37°C에서 반응시켰다. 0.1% Coomassie brilliant blue G250 (in 45% (v/v) methanol/ 10% (v/v) acetic acid)으로 gel을 염색을 한 후, 10% (v/v) acetic

acid/20% (v/v) methanol로 탈색하였다. Matrix metalloproteinases (MMPs)에 의한 분해 영역은 과란 바탕 위의 흰 밴드로서 관찰되었으며, 밴드의 intensity는 Multi Gauge software version 3.0 (Fuji Photo Film Co., LTD, Japan)으로 측정하였다.

8) 통계처리

모든 측정 결과는 평균과 표준편차로 나타내었으며, 실험군간의 차이는 Student's *t*-test를 사용하여 통계적으로 유의성을 나타내었고, $p < 0.05$ 값인 경우에 통계적으로 유의성이 있는 것으로 판정하여 결과분석 하였다.

결 과

1. 麥門冬湯 추출물이 HepG2 세포의 세포생존율에 미치는 영향

麥門冬湯 추출물이 HepG2 세포의 세포생존율에 미치는 영향을 알아보기 위해, HepG2 세포에 麥門冬湯 추출물을 농도별로 처리하여 48시간 후 CCK-8 assay를 수행하였다. Fig. 1에서 나타난 것처럼, HepG2 세포의 세포생존율은 麥門冬湯 추출물에 의해 25, 50, 100, 200, 400 µg/mL의 농도에서 각각 90%, 70%, 57%, 35%, 24%까지 농도의존적으로 감소하였고($p < 0.05$), IC₅₀은 131.45±15.33 µg/mL으로 나타났다.

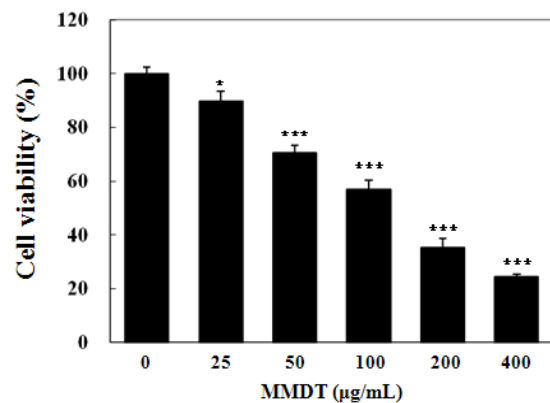


Fig. 1. The effects of *Maekmoondong-tang* (MMDT) on the cell viability of HepG2

Cells were treated with serially diluted MMDT for 48 h, and cell viability was determined by CCK-8 Assay as described in Materials and Methods. Each bar represents the mean±S.D. from three independent experiments. * $p < 0.05$, *** $p < 0.001$ vs untreated control.

2. 麥門冬湯 추출물이 caspase-3 활성에 미치는 영향

麥門冬湯 추출물에 의한 세포독성이 apoptosis와 관련되어 있는지 확인하기 위해, HepG2 세포에 麥門冬湯 추

출물을 농도별로 처리하여 24시간 후에 caspase-3의 활성을 측정하였다. 그 결과 麥門冬湯 추출물은 통계적으로 유의하게 농도의존적인 caspase-3 활성증진 효과를 나타냈다. 대조군에 비해 25, 50, 100, 200, 400 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 각각 1.1, 1.7, 2.0, 2.3, 2.5배까지 caspase-3의 활성을 증진하였다(Fig. 2, $p < 0.05$).

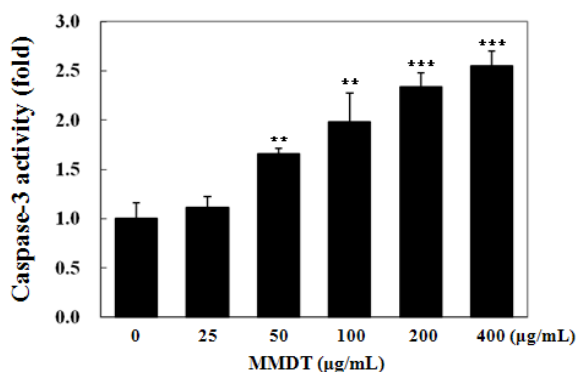


Fig. 2. Effects of MMDT on caspase-3 activity of HepG2

Cells were treated with serially diluted MMDT for 24 h and caspase-3 activity was measured by Caspase-Gio 3/7 Assay. Each bar represents the mean \pm S.D. from three independent experiments. ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ vs untreated control.

3. 麥門冬湯 추출물이 세포 형태에 미치는 영향

Fig. 3은 麥門冬湯 추출물에 의해 apoptosis의 가장 특징적 현상인 염색체 응축이 발생한 결과를 보여주고 있다. HepG2 세포에 麥門冬湯 추출물을 100 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도로 처리하여 48시간 후에 DAPI 염색한 후 형광현미경으로 관찰한 결과, 대조군과 달리 세포핵 내에서 염색체 응축현상이 나타났다.

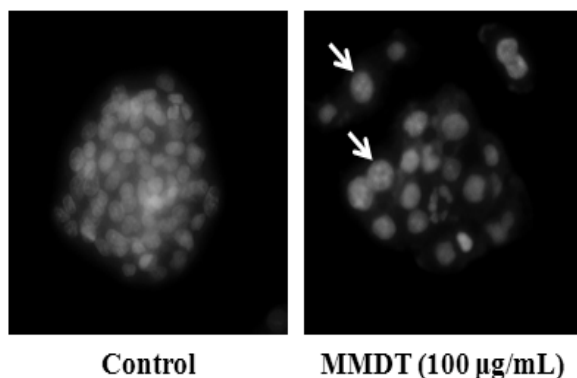


Fig. 3. Effects of MMDT on apoptotic chromatin condensation of HepG2 cells

Cells were treated with 100 $\mu\text{g/mL}$ of MMDT for 24 h. Nuclei were stained with DAPI. Stained cell images were captured under a fluorescent microscope. White arrows indicated the apoptotic chromatin condensation. Photographs are representative results of three independent experiments.

4. 麥門冬湯 추출물이 세포 이동에 미치는 영향

Boyden chamber assay를 이용해 麥門冬湯이 HepG2 세포의 이동에 미치는 영향을 조사하였다.

HepG2 세포에 200 nM의 PMA와 麥門冬湯 추출물을 100, 400 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도로 처리하고 DAPI로 핵을 염색하여 관찰하였다. Fig. 4A에서 나타난 것처럼 세포이동은 PMA 처리에 의해 현저하게 증가되었으나, 麥門冬湯 추출물에 의해 농도의존적으로 억제되었다. 또한 RT-CIM assay를 통해 48시간 동안 세포이동을 실시간으로 관찰한 결과, Boyden chamber assay에서의 결과와 동일하게, PMA 처리에 의해 현저하게 증가된 세포이동은 麥門冬湯 추출물에 의해 농도의존적으로 억제되는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 4B).

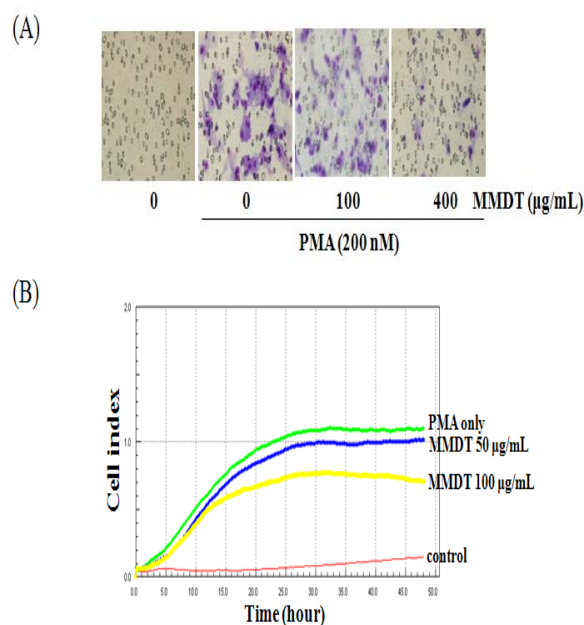


Fig. 4. Effects of MMDT on motility of HepG2 cells

In vitro motility assay was performed using a 48-well microchemotaxis chamber.

(A) Cells on the bottom of the filter membrane were stained with Diff-Quick solution.

(B) Cell motility in chamber was measured for 48 h in real time. Photographs are representative results of two independent experiments.

5. 麥門冬湯 추출물이 세포 침투에 미치는 영향

麥門冬湯 추출물이 HepG2의 세포침투에 미치는 영향을 조사하기 위해, gelatin zymography를 이용해 MMP-2와 MMP-9의 활성을 측정하였다. MMP-2와 MMP-9 모두 PMA 처리에 의해 활성이 증가되었으나, 麥門冬湯 추출물에 의해 농도의존적으로 활성이 억제되었다(Fig. 5, $p < 0.05$).

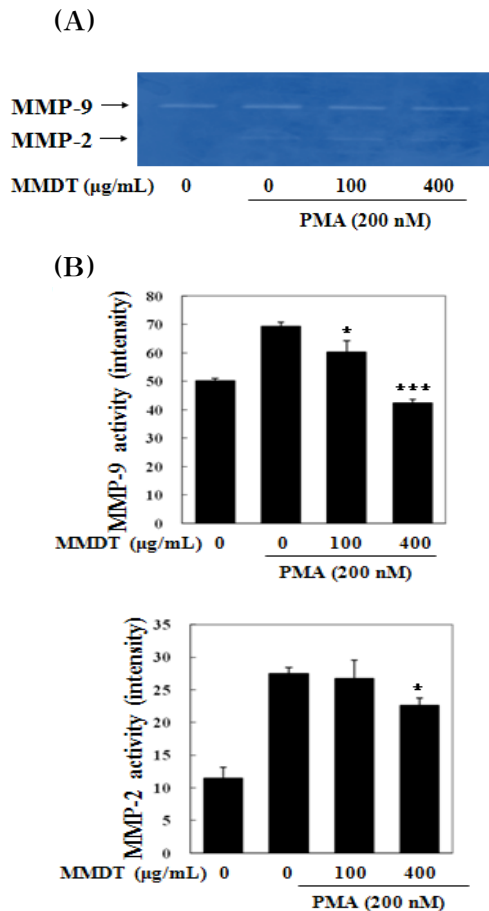


Fig. 5. Effects of MMDT on the activities of MMP-2/9 of HepG2 cells

(A) Cells were treated with MMDT for 24 h, and samples were taken and subjected to gelatin zymography.

(B) The activities of MMP-2 and MMP-9 were measured by densitometry of zymogram.

Each bar represents the mean±S.D. from three independent experiments. * $p < 0.05$, *** $p < 0.001$ vs PMA only.

고찰

지금까지 麥門冬湯에 대한 연구는 주로 한국, 일본, 대만 중국 등에서 이루어져 왔으며 이러한 기존의 연구에서 사용된 대부분의 麥門冬湯은 麥門冬, 甘草, 粳米, 人蔘, 半夏, 大棗 등 6가지 약재로 구성되어 있다¹¹⁻¹⁴. 이 외에도 變形麥門冬湯 또는 加味麥門冬湯이라 하여 일부 약재를 제외하거나 추가하여 구성된 경우가 보고되었다¹⁵⁻¹⁷. 이러한 麥門冬湯은 항염증, 항알레르기, 면역조절, 대사 조절 등의 효과가 있고, 특히 건기침을 동반한 기관지염과 인두염 및 천식에 효과가 매우 뛰어난 것으로 알려져 있으나^{13-15,17-19}, 아직까지 麥門冬湯의 항암 효과에 대해서는 발표된 바가 없다. 본 연구에서는 간암세포주인 HepG2 세포를 이용하여 麥門冬湯의 추출물이 암세포주의 세포성장 억제에 미치는 영향과 세포사멸 증진 효과,

세포이동 및 세포침투에 대한 억제 효과를 분석하였다.

발암 과정은 크게 발암물질이 생체 표적 세포의 DNA를 공격하여 돌연변이를 유도하는 발암개시 단계와 발암개시된 세포가 빠르게 증식하여 양성암 상태로 전환되는 발암촉진 단계 이어서 악성암으로 변형되는 발암진행 단계로 구분된다. 첫 번째, 개시 단계는 자외선, 방사선, 벤조피렌 등 발암의 개시자가 되는 물질이 세포에 직접 작용함으로써 이루어지는데, 이때 세포의 염색체 내에 있는 암 관련 유전자의 일부가 손상된다. 두 번째, 촉진 단계에서는 세포에 기능적, 형태적인 변화가 일어나고, 이 변형된 세포들이 암세포로서의 본격적인 기능을 나타낸다. 세 번째, 진행 단계에서는 암세포 자신에게 영양분과 산소를 공급할 새로운 혈관을 만들고, 다른 장기를 침범할 전이의 능력을 보유하게 된다. 이처럼 발암 과정은 여러 단계로 구성되어 있기 때문에 각각의 단계를 차단할 수 있다면 암의 진행을 막을 수 있게 된다²⁰.

발암 촉진 과정에서는 개시 단계보다 더욱 빠른 세포 분열을 초래하는 일련의 과정을 거치게 되는데, 이러한 촉진과정은 가역적으로 진행이 되고 오랜 기간이 소요되기 때문에 암의 진행과정을 차단할 수 있는 최적의 기간이라 할 수 있다. Apoptosis는 세포죽음과 더불어 세포생산을 파괴시킴으로써 조직 항상성을 유지하는 체내의 정상적인 작용 중 하나이다. 그러나 정상적인 세포사멸 경로에서 발생한 결함으로 인해 면역을 경유한 공격 등에 암세포가 둔감하게 되고, 점진적으로 비정상적인 세포 행동이 허용됨으로써 암이 진행되게 된다. 세포사멸을 유도하는 가장 일반적인 경로는 caspases라고 알려진 세포내 단백질 가수분해 효소가 관여하고 있다. Caspases는 다단계의 네트워크를 통해 cascade를 이루기 위해 서로 다른 caspase를 가수분해하여 절단하고 활성화한다. 일단 활성화된 위쪽의 개시 caspase는 분해되고, 아래쪽에서 영향을 받은 caspase가 다시 활성화된다. 세포사멸이 일어나게 되면 세포가 세포의 기질로부터 떨어져 등갈게 되면서 위축되고, 세포핵 내의 염색체는 응축하게 된다²¹.

발암 진행과정에서 일어나는 침윤과 전이는 악성종양 세포의 기본적인 성질이다. 이 과정에서 세포외 기질(ECM)이나 기저막 등과 같은 외부 장벽을 파괴하는 많은 단백질 가수분해 효소들이 관여하게 된다²². MMP 그룹은 ECM의 다양한 구성성분을 가수분해하는데 중요한 역할을 담당하는 것으로 보고되어 왔다. MMP 그룹의 MMP-2와 MMP-9은 암 침윤과 전이 과정에서 기저막의 주요성분인 type IV collagen을 분해하며, 다양한 암세포에서 발현되는 것으로 알려져 있다²³. MMP-9의 발현 증가가 암 진행 및 침윤과 연관되어 있고, 특히 MMP-9의 과발현이 간암의 진행에 관련되어 있음이 보고되었다²⁴.

따라서 본 연구에서는 麥門冬湯 추출물에 대해 항암 활성 검색의 가장 기본적인 단계인 암세포주의 세포성장 억제효과를 조사하였다. 다음으로 발암 촉진 과정에서 핵심적인 역할을 담당하는 apoptosis에 대한 영향을 분석하기 위해 caspases 경로의 가장 하위단계인 caspase-3에

대한 활성 증진효과를 조사한 후, 마지막으로 발암 진행 과정에서 나타나는 침윤과 전이에 대한 작용을 살펴보기 위해 세포이동과, MMP-2 및 MMP-9의 활성화에 미치는 영향을 분석하였다. 그 결과, 麥門冬湯 추출물은 농도의존적인 세포성장 억제효과와 caspase-3 활성 증진효과를 보였으며, apoptosis의 전형적 지표인 염색체 응축 현상을 뚜렷하게 관찰할 수 있었다. 또한 암의 침윤과 전이에 있어 핵심적 과정인 세포이동에 대한 영향을 조사하기 위해, 세포의 이동을 이미지로 확인할 수 있는 Boyden chamber assay를 수행한 결과, PMA로 유도된 세포의 이동을 농도의존적으로 억제하였으며, RT-CIM assay를 통해 48시간 실시간으로 관찰한 세포이동 실험에서도 Boyden chamber assay의 결과와 일치하게 농도의존적인 세포이동 억제 효과를 볼 수 있었다. 다음으로 이러한 세포이동 억제효과가 MMP 단백질의 활성 억제와 관련이 있는지를 살펴보기 위해 gelatin zymography를 실시한 결과, MMP-2 및 MMP-9의 활성 억제 효과를 볼 수 있었다.

본 연구에 사용된 麥門冬湯의 구성약재들의 특징을 살펴보면, 우선 麥門冬은 麥門冬(*Liriope platyphylla*)과 소엽麥門冬(*Ophiopogon japonicus*)이 《대한약전》(제 9개정)에 수재되어 있으며, 甘苦, 性微寒한 약물로 淸熱, 潤燥生津, 化痰止咳의 작용이 있으므로 咳逆上氣, 咳嗽痰稠, 咽喉不利 등의 증을 다스리는데 사용된다. 甘草는 성미가 甘平하고, 淸熱解毒, 補脾益氣, 潤肺止咳, 緩急止痛의 작용이 있으며, 粳米는 甘平하여, 補中益氣, 健脾和胃, 養胃止渴한다²⁵⁻²⁸. 본 연구에서 사용된 麥門冬(*L. platyphylla*)은 한국에서 기침과 가래를 치료하기 위해 쓰여 왔다. 구성성분으로는 spicatoside A, spicatoside B, lupenone, lupeol, ursolic acid, β -sitosterol, diostenin, LP-A, LP-B 등이 있으며^{29,30}, 이 중 스테로이드 사포닌 spicatoside A는 다양한 암세포주에서 세포독성을 보여 항암활성을 나타냈다³⁰. 甘草는 사용빈도가 가장 높은 약재 중 하나로서 주성분인 Glycyrrhizin (GL)을 비롯하여 culsoliquiritin 등의 flavonoids, 사포닌 등으로 구성되어 있다. 甘草는 발암물질에 의한 DNA 손상을 억제하고, 甘草의 구성 성분이 암세포에 대한 독성과 apoptosis를 유발한다는 사실이 확인되었다³¹⁻³⁴. 따라서 麥門冬 성분의 암세포주 세포독성—, 甘草 성분의 암세포 독성 및 apoptosis 유발 효과를 보고한 연구결과를 통해, 麥門冬湯의 항암 효과가, 적어도 부분적으로는, 麥門冬과 甘草의 구성 성분에서 비롯된 것이라 짐작할 수 있다.

이러한 연구 결과를 종합하여 보면, 麥門冬湯 추출물은 caspase-3 활성을 통해 apoptosis를 증진함으로써 사람 간 암세포주인 HepG2의 세포생존율을 감소시키고, MMP-2/9 활성 억제를 통해 세포이동과 침투를 억제함으로써 탁월한 항암 효능을 발휘하는 것으로 생각된다. 이로써 麥門冬湯이 항암 치료에 효과적으로 이용될 수 있을 것으로 보이며, 앞으로 麥門冬湯이 관여하는 세포사멸 및 침윤, 전이의 작용기전에 대한 체계적인 연구와, 항암 및 암예방

동물모델에서의 심도있는 연구가 지속적으로 이루어져야 할 것으로 판단된다.

감사의 글

본 연구논문은 한국한의학연구원 한의본초 활용기반 구축사업(K09090)의 지원으로 이루어졌으며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. WHO, Executive Summary, National Cancer Control Programmes, Policies and Management Guidelines. 2002.
2. Klaunig JE, Kamendulis LM. The role of oxidative stress in carcinogenesis. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2004 ; 44 : 239-67.
3. Ryu MH, Lee SC, Shin HD, Shin MK, Song HJ. Studies on the anti-tumor effects of the extract from *Herba Ajugae multiflorae*. *Kor J Herbology.* 2004 ; 19 : 35-45.
4. Kim JY, Seong NS, Lee YJ. A study on the effects of *Rhodiola rosea* on the cancers. *Kor J Herbology.* 2006 ; 21 : 79-87.
5. Ahn YS, Seong NS, Ham I, Choi HY. Study on the effect of medicinal herbs used as Bu-pyung (*S. polyrhiza* and *L. paucicostata*) on immune and anti-cancer. *Kor J Herbology.* 2004 ; 19 : 117-27.
6. Park SC, Song HC, Kim DH, Seo YB, Park YC, Kim SH. Study on antitumor activity and immunomodulatory effect of Bujunghaedok-tang. *Kor J Herbology.* 2000 ; 15 ; 101-15.
7. 특허청, 한국전통지식포탈, <http://www.koreantk.com>
8. 전국한의학대학 공동교재편찬위원회. 본초학. 서울 : 영림사. 2004 ; 586, 647, 719.
9. 김현영, 한상환. 麥門冬湯이 백서의 기관지 평활근에 미치는 영향. *대한한방내과학회지.* 1994 ; 15 : 240-8.
10. 김현영, 장경선, 한상환. 麥門冬湯이 화천(火喘)에 응용된 문헌적 고찰. *대한한방내과학회지.* 1994 ; 15 : 112-6.
11. Kagami H, Horie K, Nishiguchi H, Shigetomi T, Ueda M. Effect of 'bakumondo-to', a Chmi Te-Japan Te herbal medicine, on cultured and dispersed salivary gland ctols. *J Ethnopharmacol.* 1996 ; 53 : 89-95.
12. Aizawa H, Yoshida M, Inoue H, Hara N. Traditional oriental herbal medicine, Bakumondo-to, suppresses vagal neuro-effector transmission in guinea pig trachea. *J Asthma.* 2003 ; 40 : 497-503.

13. Miyata T. Pharmacological basis of traditional medicines and health supplements as curatives. *J Pharmacol Sci.* 2007 ; 103 : 127-31.
14. Kim H, Jeong HS, Kwon J, Lee KG. Effect of Maekmoondong-tang on the immunomodulatory action. *Kor J Orient Physiol Pathol.* 2003 ; 17 : 946-51.
15. 서창훈, 박동일. 가미麥門冬湯이 알레르기 천식의 호흡양상 및 기관조직의 호산구침윤에 미치는 영향. *동의한의연.* 2000 ; 4 : 19-31.
16. Lee SH, Park DL. The effect of Macmoondong-tang in rat exposed to cigarette smoke. *Kor J Life Sci.* 1997 ; 7 : 39-48.
17. Hsu CH, Lu CM, Chang TT. Efficacy and safety of modified Mai-Men-Dong-Tang for treatment of allergic asthma. *Pediatr Allergy Immunol.* 2005 ; 16 : 76-81.
18. Asano T, Murayama T, Hirai Y, Shoji J. Comparative studies on the constituents of ophiopogonis tuber and its congeners. VIII. Studies on the glycosides of the subterranean part of *Ophiopogon japonicus* Ker-Gawler cv. Nanus. Tokyo : Chem Pharm Bull. 1993 ; 41 : 566-70.
19. Takahama K, Miyata T. Cough-diversity and the peripheral mechanisms of production. *Nippon Yakurigaku Zasshi.* 1995 ; 105 : 41-52.
20. Morse MA, Stoner GD. Cancer chemoprevention: principles and prospects. *Carcinogenesis.* 1993 ; 14 : 1737-46.
21. Shearwin-Whyatt LM, Kumar S. Caspases in developmental cell death. *IUBMB Life.* 1999 ; 48 : 143-50.
22. Woessner JF Jr. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in connective tissue remodeling. *FASEB J.* 1991 ; 5 : 2145-54.
23. Nelson AR, Fingleton B, Rothenberg ML, Matrisian LM. Matrix metalloproteinases: biologic activity and clinical implications. *J Clin Oncol.* 2000 ; 18 : 1135-49.
24. Sakamoto Y, Mafune K, Mori M, Shiraishi T, Imamura H, Mori M, Takayama T, Makuuchi M. Overexpression of MMP-9 correlates with growth of small hepatocellular carcinoma. *Int J Oncol.* 2000 ; 17 : 237-43.
25. 안정화. *중약학.* 북경 : 인민위생출판사. 1991 : 594, 721, 752, 759, 837.
26. 신재용. *방약합편해설.* 서울 : 전통의학연구소. 1993 ; 547, 554, 555, 587, 588.
27. 신민교. *원색임상분초학.* 서울 : 도서출판 영립사. 1994 ; 232, 233, 420, 421, 566, 629, 630.
28. 이상인. *천진처방해설.* 서울 : 도서출판 정보사. 1987 ; 85, 86.
29. Jiang T, Huang BK, Zhang QY, Han T, Zheng HC, Qin LP. Studies on chemical constituents of *Liriope platyphylla*. *Zhong Yao Cai.* 2007 ; 30 : 1079-81.
30. 백남인, 조성지, 방면호, 이인자, 박창기, 김무성, 김금숙, 성재덕. 麥門冬(*Liriope platyphylla* W. T.) 스테로이드 사포닌의 항암활성. *한국농화학지.* 1998 ; 41 : 390-4.
31. Wang ZY, Nixon DW. Licorice and cancer. *Nutr Cancer.* 2001 ; 39 : 1-11.
32. Watanabe M, Hayakawa S, Isemura M, Kumazawa S, Nakayama T, Mori C, Kawakami T. Identification of licocoumarone as an apoptosis-inducing component in licorice. *Biol Pharm Bull.* 2002 ; 25 : 1388-90.
33. Tamir S, Eizenberg M, Somjen D, Stern N, Shelach R, Kaye A, Vaya J. Estrogenic and antiproliferative properties of glabridin from licorice in human breast cancer cells. *Cancer Res.* 2000 ; 60 : 5704-9.
34. Chung JG, Chang HL, Lin WC, Wang HH, Yeh CC, Hung CF, Li YC. Inhibition of N-acetyltransferase activity and DNA-2-aminofluorene adducts by glycyrrhizic acid in human colon tumour cells. *Food Chem Toxicol.* 2000 ; 38 : 163-72.