

NCI-H460 폐암 유발 누드마우스 모형을 이용한 난담반의 항암 효과 연구

최은아 · 김정근 · 김경순 · 최정은 · 조종관 · 이연월 · 유화승*

대전대학교 둔산한방병원 동서암센터

Anticancer Effects of Egg White Combined-Chalcanthite on NCI-H460 Tumor Regression Model

Eun A Choi, Jung Keun Kim, Kyung Soon Kim, Jung Eun Choi, Chong Kwan Cho, Yeon Weol Lee, Hwa Seung Yoo*

East-West Cancer Center, Dunsan Oriental Medical Hospital, Daejeon University

This experimental study was performed to investigate the antitumor effect of Egg white combined-Chalcanthite (InSan 4, IS4) in xenografted nude mice with NCI-H460 human lung cancer cell. We cultured NCI-H460 cell lines and xenografted them on nude mice. These mice were divided into 3 groups; group with dose of 45 mg/kg IS4 orally, group with dose of 90 mg/kg IS4 orally, and the control group. They had been raised and treated for 28 days. We checked their body weight, tumor weight and volume twice a week, and their absolute organ weight, microhistological observation and biochemical blood analysis at the final day by sacrificing them. We also calculated their tumor inhibition rate (IR), mean survival time and percent increase in life span (% ILS). In this study, we observed that all of the IS4 treated mice have tumor regression, dosage-dependently, compared to the control group. Tumor weight and volume of high dose treated mice were smallest. IR increased in IS4 in a dose-dependent manner. Mean survival time and percent increase in life span (% ILS) in high-dose IS4 treatment group were the highest of the three groups. There was no significant difference in biochemical blood analysis, alanine phosphatase (ALP), Calcium, creatinine (CRE), alanine transferase (ALT), and aspartate transaminase (AST) levels. The urea nitrogen (UN) level results significantly decreased by IS4 45 and 90 mg/kg (IS4 45 mg/kg, IS4 90 mg/kg, $p < 0.01$). IS4 may have potential anti-tumor effect in a solid tumor induced by NCI-H460 without remarkable side effects.

Key words : egg white combined-chalcanthite, NCI-H460 cell, anti-tumor effect, xenografted nude mice

서 론

인류가 직면한 가장 큰 문제는 암으로부터의 해방일 것이다. 현재 세계적으로 사용되는 항암제는 정도의 차이는 있지만 인체에 발생하는 부작용으로 인해 많은 한계점을 가지고 있어^{1,2)} 상대적으로 부작용이 적을 것으로 예측되는 천연물을 이용한 항암제의 개발이 필요해졌다^{3,4)}.

천연 한약물을 대상으로 한 암 치료 물질을 찾기 위한 연구는 서양 현대 의약품 시장에 비해 미미하지만 식물 기원성 한약물에서 세포사멸(apoptosis) 유도 항암물질을 개발하는 연구는

일부 진행되고 있다. 최근 삼칠근, 동충하초 등의 한약물에 대한 인체 폐암세포주 이식 누드마우스에 대한 효능실험이 진행된 바 있어 천연물로부터의 항암제 개발 가능성을 더욱 높여주고 있다^{5,6)}. 그러나 광물성 한약물에 대해서는 관심이 적다고 할 수 있다⁷⁻⁹⁾.

광물성 한약제는 중국, 한국 등에서 오랫동안 약용으로 사용되어 왔으며 본초강목에 264종, 동의보감에 144종 등이 수재되어 있다⁷⁾. 그러나 활석, 석고 등 몇몇 종류를 제외하고는 활용도가 높지 않다¹⁰⁾. 이는 광물성 한약제의 맹렬한 약성 및 독성에 대한 불안감과 미비한 제법, 그리고 광물성 한약제에 대한 연구가 부족하기 때문일 것이다.

膽礬은 광물성 한약재로 황산동 Copper vitriol ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)의 천연품 Chalcanthite이며⁷⁾, 『신농본초경』에 '石膽'으로 최초로 기재되었다¹¹⁾. 주성분으로 CuO , SO_3 , H_2O 를

* 교신저자 : 유화승, 대전시 서구 둔산2동 1136 대전대학교 둔산한방병원

· E-mail : altyhs@dju.ac.kr, · Tel : 042-470-9132

· 접수 : 2010/02/17 · 수정 : 2010/03/09 · 채택 : 2010/03/31

함유하고 있으며 미량부존성분으로 Zn, Ga, Ti, Na, Ca, Fe, Al, Mg, Si, Cr, Ni 등이 혼합되어 있다¹²⁾.

卵膽礬은 미네랄 덩어리인 광물성 한약재 담반을 열처리한 枯膽礬을 卵白(계란 흰자)과 결합하는 방식으로 만들어진 것이다¹³⁻¹⁵⁾. 난담반의 NCI-H460 인체폐암세포에 대한 세포사살유도효능을 알아보기 위해 생담반, 고담반 그리고 난담반에 대한 in vitro 실험을 진행한 결과 난담반이 세포사살 능력이 가장 높게 나타났다. 난담반은 농도 의존적으로 인체폐암세포의 성장을 억제시켰고 이에 대한 기전연구에서 caspase-3의 활성화에 의해 세포 사멸을 유도하는 것으로 밝혀졌다¹⁶⁾. 난담반은 미량부존성분(불순물)이 함유된 천연 광물성 생약 담반을 12시간 가열처리하여 얻은 고담반을 토종 유정란의 난백과 혼합해 만들었다.

본 연구에서는 사람 유래 폐암세포인 NCI-H460을 누드마우스의 전지 겹부에 피하 이식하여 일정한 크기까지 고형암을 형성시킨 후 in vivo 실험^{17,18)}에서 난담반을 4주간 경구투여 하여 난담반의 항암효과에 대한 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

1. 실험물질

본 연구에서는 담반을 가열하여 탈수, 분말한 후 난백과 혼합, 반응시킨 난담반(고담반 : 난백 = 30 : 13)(InSan 4, 이하 IS4)을 사용하였다. 실험물질 100 mg을 deionized water에 총 양을 1 ml로 하여 녹이고, 실험물질이 다 녹은 뒤에 6,000 rpm으로 10분 동안 centrifuge를 하여 상층액을 0.8 μm의 syringe filter로 filtering하였다.

2. 이식 암세포 준비

이식할 Human lung carcinoma (NCI-H460) cells은 100 U/ml penicillin, 100 g/ml streptomycin, 10% heating된 fetal calf serum이 들어있는 RPMI-1640(Gibco BRL)을 260 ml tissue flasks에 담아 95% CO₂, 37°C incubator(MCO-20AIC, Sanyo)에서 배양하였다. Cell이 유착되면 Hanks balanced salt solution(HBSS) (Gibco BRL)로 2번 washing하고 0.2% trypsin in HBSS로 washing하여 사용하였다.

3. 검역 및 순화

실험동물 입수시 모든 동물의 일반건강상태에 대한 수의학 적 검역을 실시하였다. 시험을 실시하는데 적합하고 건강한 동물을 선발하며 환경에 적응시키기 위하여 1주일간의 순화기간을 거쳤다.

4. 군 분리

순화기간을 거친 후 건강한 계대군 피하에 종양괴를 이식하고 배양한 종양괴(tumor lump)를 적출하여 표면에 분포한 혈관과 지방층을 제거한 뒤, 신선한 종양조직만을 선별하여 무치 동물에 피하에 이식하였다. 이식 후 개별 종양 체적이 100 mm³에 이르면 체중과 종양크기를 측정하고 무작위법으로 군분리 하

였다.

5. 개체식별

사육 상자에는 시험유형, 시험번호, 시험물질, 군 번호, 개체 번호, 성별, 투여량, 실험기간 및 시험책임자를 기재한 개체식별 카드를 부착하였다. 개체식별은 tail marking법을 사용하였다.

6. 투여방법

시험물질을 생리식염수에 녹여 zonde를 사용하여 4주간 1일 1회 강제 경구투여 하였다.

7. 평가방법

1) 체중 측정

시험기간 중 체중 변화를 관찰하기위하여 시험 시작 후 7일 마다 체중을 측정하였다.

2) 종양함유 모델 제작

1x 10⁷ cells/nude mouse/100 μl을 injection하여 종양주를 획득한 후 계대군에 계대하였다. 3회에 걸친 반복계대로 원래의 고형암의 성질을 회복한 종양괴를 얻은 후 이 종양괴를 5마리의 계대군에 이식하였다.

종양의 중심괴사(central necrosis)가 일어나기 전에 충분한 혈액공급으로 급속히 자라는 단계의 종양을 함유한 동물을 희생시켜 주로 급속한 분열이 일어나는 외곽부위를 일정한 크기(3 × 3 × 3 mm)로 잘라 종양절편을 만들었다. 투관침(trocar)의 끝에 종양편(tumor fragment)을 올리고, 동물의 좌측후지 전측방을 약 4 mm가량 절제하여 이곳을 통하여 준비한 투관침을 삽입, 좌측 전지의 후방의 체간 측면부에 끝이 이르도록 하였다. 투관침을 가볍고 빠르게 360도를 회전시키며 빼주어 종양편이 목표한 위치에 자리 잡도록 해주고 절제부위는 소독하였다. 피부 위를 만져 종양편의 위치를 확인하고 1주일에 2회 이상 성장을 관찰하였다. 이식 후 부피가 100 mm³에 도달한 것들로 군분리 후 시험물질을 투여하였다.

3) 항암시험 (평균 종양 용적, mean tumor volume)

1주일에 2회씩 캘리퍼스(calipers)로 종양의 장, 단축을 측정하고 체중을 측정하였다. 최초 약물투여 후 28일이 경과하면 실험을 종료하고 실험 자료를 정리하여 시험물질에 의한 고형암 억제효과를 판정하였다. 경시적인 고형암 부피 및 억제율의 계산은 아래의 공식을 이용 환산하였다.

$$V(\text{mean tumor volume}) = (A \times B^2) / 2 \quad (A = \text{장축길이}, B = \text{단축길이})$$

$$IR(\text{inhibition rate}) = [CV - TV / TV] \times 100$$

(CV = Control group tumor volume, TV = Treatment group tumor volume)

4) 평균 생존 시간과 수명 연장율 (%ILS)

시험 기간 중 시험 군들의 일일 증상 관찰을 통해 고형암 중심괴사가 나타나는 개체와 고형암 크기 측정일의 결과에서 고형암 부피가 1500 mm³ 이상이 되는 개체를 확인하여 두 조건 중 한 가지에 해당하는 개체를 사망개체로 간주하고 생존증가율을

아래 공식과 같이 계산하였다.

$$\% \text{ ILS} = [(T-C)/C] \times 100$$

(where C and T are mean survival days of mice in control and treatment group)

8. 혈중 지질치 검사와 일반 혈액 검사

부검 시 복대동맥을 통하여 채혈하여 혈청을 얻어 혈액생화학자동분석기(HITACHI, Tokyo, JAPAN)를 이용하여 alanine phosphatase (ALP), creatinine (CRE), Calcium, glucose (GLU), alanine transferase (ALT), aspartate transaminase (AST), urea nitrogen (UN)를 분석하였다.

9. 병리조직학적 검사 (Histopathological finding)

시험 종료 시 방혈치사 시킨 후 간, 심장, 비장, 신장, 고환을 적출하여 중량을 측정하고 육안적인 소견을 관찰하였다. 조직을 10% 중성 포르말린 액에 고정한 후 파라핀 포매 과정을 거쳐 4 μm 두께의 조직절편을 제작한 다음 Hematoxylin & Eosin으로 염색하여 광학현미경으로 관찰하였다.

10. 통계 분석

각각의 실험결과에 대해 분산의 동질성을 비교하기 위한 Levene's test를 실시하고, 분산이 동질성을 갖는 경우 one-way analysis of variance (ANOVA)를 실시하여 유의성이 관찰되면 대조군과의 유의차가 있는 시험군을 알아내기 위하여 Dunnett's t-test를 실시하였다(p<0.05 or p<0.01).

결 과

1. 체중 변화

본 실험기간 중 체중의 변화와 사료 및 음수 섭취량의 변화에 있어서 NCI-H460 cell 단독군보다 IS4의 투여군에서 투여 초기 체중과 사료의 섭취량이 감소하였으나, 1주 후부터는 정상으로 회복되었다(Fig. 1, 2, 3). 시험기간 중 군 간의 유의할만한 사항은 나타나지 않았다.

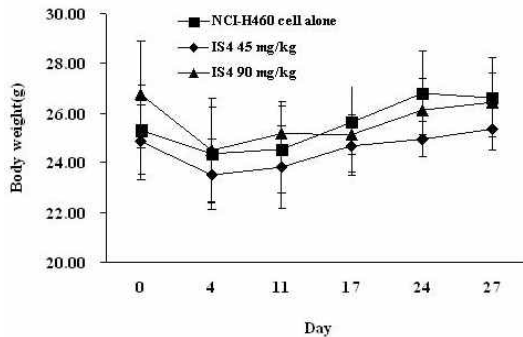


Fig. 1. Changes in body weights in nude mice bearing NCI-H460 cell solid tumor. After nude mice with NCI-H460 cell-transplanted tumor were treated with 27 daily dose of IS4 45, 90 mg/kg, the body weights of nude mice in the positive control, NCI-H460 cell alone (■, n=7), IS4 45 mg/kg (◆, n=7) and IS4 90 mg/kg (▲, n=6) were measured two times a week.

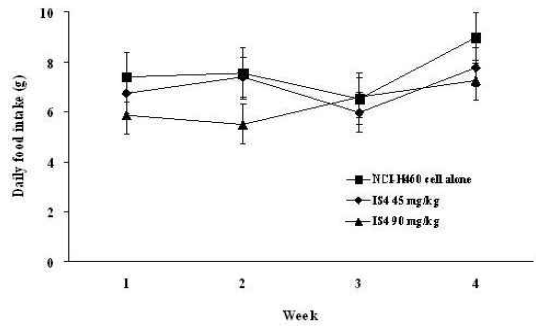


Fig. 2. Changes in food consumption level of db/db mice treated with test materials (IS4 45, 90 mg/kg) for 4 weeks. Data are expressed as mean ± S.D. (n = 6-7).

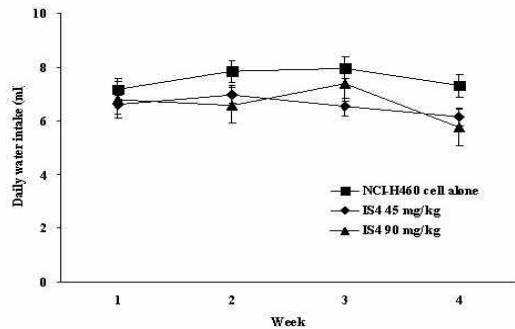


Fig. 3. Changes in water consumption level of db/db mice treated with test materials (IS4 45, 90 mg/kg) for 4 weeks. Data are expressed as mean ± S.D. (n = 6-7).

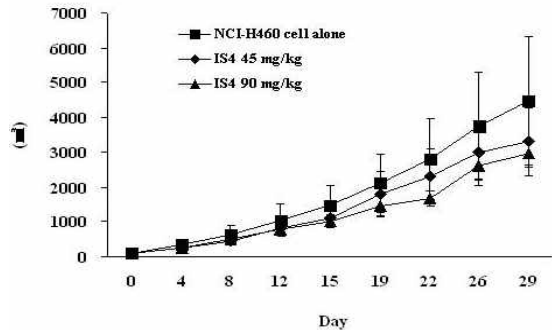


Fig. 4. Time-course of increase in tumor volumes in NCI-H460 cells-bearing mice treated with IS4. The mice xenografted with tumor fragments were treated with the anticancer agents from the day when tumor mass reached 100 mm³. The length and width of solid tumor in the positive control, NCI-H460 cell alone (■, n=7), IS4 45 mg/kg (◆, n=7), IS4 90 mg/kg (▲, n=6) was measured two times a week and tumor volumes was evaluated.

2. 고형암 부피 변화 (measurement with a calipers)

시험 기간 중의 고형암 부피를 일주일에 두 번 calipers를 사용 측정한 결과를 보면 NCI-H460 cell alone 군보다 IS4 45, 90 mg/kg 투여 군에서 tumor volume이 농도 의존적으로 억제되었다(Fig. 4). 각 군들의 경시적 변화를 살펴보면 IS4 투여 후 12일 정도 후부터 NCI-H460 tumor 성장을 억제하여 15일 이후부터는 NCI-H460 cell alone 군에 비해 고형암 성장 억제 경향을 나타냈다. 고형암 억제 경향을 수치적으로 살펴보면 시험 후반일인 22일에서 NCI-H460 cell alone군 2806.47 mm³에 비해 IS4 45

mg/kg군은 2221.74 mm³, IS4 90 mg/kg군은 1517.07 mm³로 나타났다.

3. 고형암 부피 성장 억제율 (I.R)

측정한 고형암 부피를 NCI-H460 cell alone군의 고형암부피를 100% 기준으로 한 성장 억제율 분석 결과에서 보면 시험물질 투여 군들에서 8일 이후 25일까지 용량 의존적인 억제경향이 나타났다. (IS4 45 mg/kg I.R 82.47% < IS4 90 mg/kg I.R 59.99% at 22day) IS4 90 mg/kg 투여군은 투여 22일 이후 고형암 성장 억제율이 감소한 것으로 나타났다(Table 1).

Table 1. Inhibition Rate (I.R) on Tumor Volume of NCI-H460 Tumor-bearing Mice (%)

treat group	day								
	0	4	8	12	15	19	22	26	29
NCI-H460 cell alone	100	100	100	100	100	100	100	100	100
IS4 45 mg/kg	99.99	76.19	72.11	79.55	75.44	85.92	82.47	79.32	73.73
IS4 90 mg/kg	92.76	75.26	78.71	75.41	68.23	68.97	59.99	69.37	66.06

4. 고형암 무게와 부피 (plethysmography)

시험 종료일에 적출한 고형암의 무게 및 plethysmometer에 의한 부피측정 결과를 보면 양성대조군인 NCI-H460 cell alone의 고형암 무게 및 부피 2.52 ± 0.75 g과 4.67 ± 1.18 cm³에 비해 IS4 45 mg/kg군은 2.24 ± 0.78 g, 4.03 ± 1.28 cm³로 감소하였고 IS4 90 mg/kg군은 2.17 ± 0.60 g, 3.79 ± 0.85 cm³로 모두 유의성 있는 감소가 나타났다(p<0.05)(Table 2).

Table 2. Tumor Weights in Mice Xenografted with NCI-H460 Cells on the Final Day

	NCI-H460 tumor alone	IS4 45 mg/kg	IS4 90 mg/kg
tumor weight (g)	2.52 ± 0.75	2.24 ± 0.78	2.17 ± 0.60*
tumor volume (cm ³)	4.67 ± 1.18	4.03 ± 1.28	3.79 ± 0.85*

* Significant difference from positive control (NCI-H460 cell only) group at p<0.05.

5. 평균 생존 시간과 수명 연장율 (%ILS)

시험 기간 중 시험 군들의 일일 증상 관찰을 통해 고형암 중심피사가 나타나는 개체와 고형암 크기 측정일의 결과에서 고형암 부피가 1,500 mm³ 이상이 되는 개체를 확인하여 두 조건에 해당하는 개체를 사망개체로 간주하여 얻은 결과로 평균생존시간을 계산해보니 양성대조군인 NCI-H460 cell alone군은 18.29 ± 3.59일이었으며 IS4 45 mg/kg 투여군은 20.71 ± 2.61일로 생존율이 10.68% 증가하였다. 또한 IS4 90 mg/kg 투여군은 22.33 ± 2.44일로 생존율이 22.08% 증가하였다(p<0.05)(Table 3).

Table 3. Percent Increase in Life Span (%ILS) of NCI-H460 Tumor-bearing Mice

Treatment	Mean survival time (day)	%ILS
NCI-H460 tumor only	18.29 ± 3.59	0
IS4 45 mg/kg	20.71 ± 2.61	10.68
IS4 90 mg/kg	22.33 ± 2.44	22.08*

* Significant difference from positive control (NCI-H460 cell only) group at p<0.05.

6. 조직병리학적 결과(light microscopy)와 장기 무게

부검 시 장기무게 변화 확인에서 IS4 투여군(45 mg/kg)의 간의 상대중량이 NCI-H460 cell alone군에 비해 유의성 있게 감소된 것(p<0.01)을 제외하고는 다른 장기 무게에서 유의할 만한 변화는 나타나지 않았다. 상세결과를 살펴보면 부검 당시 간의 장기무게가 NCI-H460 cell alone군의 1.76 ± 0.07 g에 비해 IS4 45 mg/kg군은 1.54 ± 0.07 g으로 유의성 있는 감소 (p<0.01)가 나타났다. 하지만 IS4 90 mg/kg군 1.69 ± 0.10 g으로 감소하는 경향이 있으나 유의성은 나타나지 않았다(Table 4). 조직병리학적으로도 군 간의 유의할 만한 소견은 보이지 않았다(Fig. 5).

Table 4. Organ Weights, on the Final Day, of NCI-H460 Tumor-bearing Mice

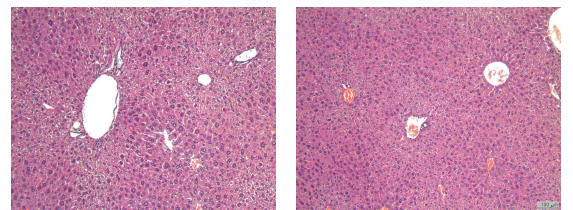
Treatment	Absolute organ weights			
	Body weight (g)	Liver (g)	Spleen (g)	Heart (g)
NCI-H460 cell alone	26.64 ± 1.61	1.76 ± 0.07	0.33 ± 0.04	0.15 ± 0.01
IS4 45 mg/kg	25.37 ± 0.88	1.54 ± 0.07*	0.31 ± 0.04	0.15 ± 0.01
IS4 90 mg/kg	26.13 ± 0.90	1.69 ± 0.10	0.31 ± 0.08	0.15 ± 0.01

Treatment	Absolute organ weights			
	Kidney (g)		Testis (g)	
	L	R	L	R
NCI-H460 cell alone	0.22 ± 0.06	0.21 ± 0.05	0.11 ± 0.06	0.11 ± 0.06
IS4 45 mg/kg	0.22 ± 0.03	0.22 ± 0.02	0.09 ± 0.01	0.09 ± 0.01
IS4 90 mg/kg	0.23 ± 0.01	0.23 ± 0.01	0.09 ± 0.01	0.09 ± 0.01

Treatment	Relative organ weights			
	Body weight (g)	Liver (g)	Spleen (g)	Heart (g)
NCI-H460 cell alone	26.64 ± 1.61	6.61 ± 0.22	1.27 ± 0.22	0.58 ± 0.03
IS4 45 mg/kg	25.37 ± 0.88	6.07 ± 0.13*	1.24 ± 0.19	0.58 ± 0.05
IS4 90 mg/kg	26.13 ± 0.90	6.47 ± 0.24	1.18 ± 0.28	0.59 ± 0.03

Treatment	Relative organ weights			
	Kidney (g)		Testis (g)	
	L	R	L	R
NCI-H460 cell alone	0.82 ± 0.22	0.80 ± 0.19	0.42 ± 0.21	0.42 ± 0.20
IS4 45 mg/kg	0.86 ± 0.10	0.87 ± 0.08	0.35 ± 0.04	0.36 ± 0.04
IS4 90 mg/kg	0.89 ± 0.04	0.90 ± 0.06	0.34 ± 0.03	0.35 ± 0.03

* Significant difference from positive control (NCI-H460 cell only) group at p<0.05.



NCI-H460 cell alone X 100 (A) IS4 45 mg/kg X 100 (B)



IS4 90 mg/kg X 100 (C)

Fig. 5. Gross finding of liver of NCI-H460 cells-bearing mice with positive control. NCI-H460 cell only (A), IS4 45 mg/kg (B), IS4 90 mg/kg (C). H & E stain (x 100).

7. 혈액 생화학 분석

부검 시 혈액 생화학분석결과를 보면 혈중 ALP, CA, CRE, ALT, AST 수치에서는 시험물질 투여에 의한 유의할 만한 차이는 나타나지 않았다. 한편 혈중 UN 수치에서 시험물질 투여군 모두에서 유의성 있는 감소 결과가 나타났다. (IS4 45 mg/kg, IS4 90 mg/kg, $p < 0.01$) 또한 IS4 45 mg/kg군의 PHOS 수치는 7.79 ± 0.82 mg/dl 로 NCI-H460 cell alone군의 9.27 ± 0.99 mg/dl 에 비해 유의성 있는 감소가 나타났다 (IS4 45 mg/kg군, $p < 0.05$).

Table 5. Blood Chemistry Levels, on the Final Day, of NCI-H460 Tumor-bearing Mice.

Group	ALP	CA	CRE	ALT	AST	PHOS	UN
	IU/U	mg/dl	mg/dl	IU/L	IU/L	mg/dl	mg/dl
NCI-H460 cell only	67.62 ± 7.27	10.18 ± 0.44	0.35 ± 0.06	184.08 ± 43.85	25.75 ± 4.62	9.27 ± 0.99	29.38 ± 3.68
IS4 45 mg/kg	70.57 ± 13.61	10.10 ± 0.79	0.30 ± 0.06	175.19 ± 53.17	24.10 ± 3.51	7.79 ± 0.82*	21.23 ± 2.29**
IS4 90 mg/kg	67.93 ± 4.45	10.40 ± 0.43	0.35 ± 0.06	160.50 ± 36.66	30.25 ± 11.91	8.35 ± 0.75	21.58 ± 1.63*

Results are mean ± S. D. * Significant difference from positive control (NCI-H460 cell alone) group at $p < 0.05$. ** Significant difference from positive control (NCI-H460 cell alone) group at $p < 0.01$.

고찰 및 결론

『신농본초경』, 『의학입문』, 『본초강목』 등에는 담반은 눈을 밝게 하고 종창을 치료하고 오래 먹으면 장수할 수 있다고 기록되어 있다^{11,19,20}. 담반은 2000년경 전부터 고대 동양에서 사용되어 왔는데, 약리작용이 강하고 법제법이 미비하며, 동의보감 등 일부 문헌에서 다른 광물성 약재와 오인 혼동이 많아 유독하다고 기록되어 있어 한약재로서의 사용이 꺼려지게 된 것으로 추측된다. 지금까지 담반에 대한 자료를 종합해보면 다음과 같이 정리할 수 있다.

첫째, 녹반과 담반은 유사한 파란 빛깔의 광물로 그 형상과 명칭이 비슷하여 오인, 혼동되기 쉬운데 담반을 녹반인줄 잘못 알고 기술한 문헌들이 동의보감을 비롯하여 다수 있다²¹.

둘째, 명칭의 오인 혼동 때문인지는 몰라도 담반에 대한 평가는 고대에는 문헌마다 각각 달라 유독하다 무독하다 의견이 양분되어 있는데^{11,19-21} 현대에 와서는 담반에 대한 관심이 적어 양쪽의 문헌을 비교하지 않고 한 쪽의 문헌만을 채택해 담반을 유독하다고^{7,12,23,24} 기술하고 있다.

셋째, 오늘날에는 천연품과 합성품의 오인 혼동이 추가되어 『중약대사전』 및 『동의약용광물학』 등 여러 문헌에 천연광물인 담반 $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 와 화학적 합성품인 순수화합물 $CuSO_4$ 를 같은 한약재로 기재하고 있다^{12,24}. 화학적으로 합성한 순수화합물 $CuSO_4$ 는 담반이 아니므로 천연광물성 한약재인 담반으로 명명해서는 안 될 것이다. 천연 광물성 한약재인 담반의 주성분은 $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 로 순수화합물 $CuSO_4$ 와 형태, 성질 및 분자구조가 다르며 주성분 $CuSO_4$ 외의 미량부존 미네랄의 존재여부로 인해 약리작용이 다르다. 그러므로 담반과 $CuSO_4$ 와의 오인 혼동을 피하기 위하여 $CuSO_4$ 는 원소명인 황산동으로 명칭 해야 하고 천연

담반은 단순한 원소명인 황산동으로 불러서는 안 될 것이다.

우리는 체내에서 효소의 보조인자나 단백질의 구성 성분으로 존재하는 중요한 미량원소이다²⁵. 구리 원자를 갖는 당단백질로서 ceruloplasmin은 Fe+2를 Fe+3으로 산화시키는 작용을 하고 구리는 단독으로 또는 아연과 함께 세포의 산화적 손상을 방지하는 역할도 하며²⁶, 구리함유 효소(cuproenzyme)의 보조인자(cofactor)로서 뿐 아니라, 혈관형성(angiogenesis), 신경 수초화 형성(myelination)과 endorphin 작용 등에도 중요한 역할을 한다²⁷.

이들 미량원소가 염증의 진행에 중요한 자유기에 의한 손상을 억제하는 항산화 효소의 중요한 보조인자로 알려지고 있으며, 이들 미량 원소의 역할에 대한 관심이 증가하고 있다²⁸. 광물성 한약재는 미네랄 덩어리로 인체와 동물 및 식물세포의 중요한 미량원소이며 생리작용에 관여하는 효소의 보조인자 물질로 이루어져 있어 항암 후보물질로 연구할 필요성이 크다고 할 수 있다.

난백은 Lysozyme을 함유하고 있으며 Lysozyme은 대부분의 Gram 양성 균에 항균효과를 나타낸다고 보고되어 있다²⁹. 이러한 사항을 종합해 보면 난백 알부민의 구리대사 및 Lysozyme의 항균효과 등 난담반 구성 물질의 항암효능에는 다양한 기전이 작용할 것으로 추측된다.

生膽礬, 枯膽礬, 卵膽礬(IS4)은 in vitro 시험에서 모두 NCI-H460 인체폐암세포의 증식을 억제하여 DAPI stain에서 핵의 분절과 염색질의 응축이 관찰되며 이 중 IS4 그룹에서 가장 많은 apoptotic body를 관찰할 수 있었다¹⁶. IS4의 세포사멸유도 과정에서 caspase-3의 발현이 확인되는데 항암효능이 있는 일반적인 다른 한약물과는 달리 bcl-2/bax 발현과는 다른 경로를 통하여 apoptosis를 유발하는 것으로 보고되어 있다¹⁶. 다양한 단백질 변화를 일으키는 IS4는 특히 암의 침투 및 전이와 연관이 있으며 핵 내부로의 신호 전달에 중요한 역할을 하고 있는 Vimentin의 발현을 조절하는 것으로 알려져 있다. IS4의 이러한 치료적 가치를 가지는 단백질 조절을 연구하고, 암생존인자(cancer survival factors)를 관찰, 추적하고자 하는 과정의 일환에서 IS4의 in vivo 시험은 의미가 있다고 볼 수 있다¹⁶.

본 연구에서 고행암의 크기, 성장 억제율, 최종일의 고행암의 무게 및 부피측정 결과 모두 농도 의존적으로 유의성 있는 감소를 나타내었다. 또한 생존율은 농도 의존적으로 유의하게 증가하였으며, 이는 기존의 실험과 비교할 경우 난담반이 길경이나 삼기보폐탕, 동충하초 등 다른 천연물을 이용한 NCI-H460을 이용한 동물실험의 결과에 비해 효능과 생존율이 더 뛰어난 것으로 보인다³⁰⁻³².

시험 군에서 특이한 이상 증상이 발견되지 않았고 사료 섭취율 및 체중 변화에 있어서도 변화가 나타나지 않아 시험물질의 중독성은 보이지 않는 것으로 여겨지며 혈중 생화학적 수치에서도 유의할 만한 결과는 나타나지 않았으며 혈중 UN 수치에서 시험물질 투여군 모두에서 유의성 있는 감소 결과가 나타났다.

부검 당시 장기무게 변화 확인에서 IS4 투여군(45 mg/kg)의 간의 상대중량이 NCI-H460 cell alone군에 비해 유의성 있게 감

소된 것($p < 0.01$)을 제외하고는 다른 장기 무게에서 유의할 만한 변화는 나타나지 않아 조직병리학적으로도 장기 손상 소견은 보이지 않았다.

결론적으로 IS4가 장기에 부작용을 미치지 않으면서 NCI H460 인간폐암세포를 이식한 누드마우스의 종양성장을 억제하고 동시에 생존율을 높이는 항암효능을 나타내는 것으로 보이나, IS4를 투여한 기간이 짧은 점으로 미루어 장기에 대한 부작용을 완전히 배제할 수는 없다. 또한 IS4의 폐암 이외의 다른 암종에 대한 항암 작용, 효과, 작용 기전에 대한 연구가 필요할 것으로 사료되며 향후 천연물, 특히 광물질을 이용한 항암제 개발의 진일보한 연구가 진행되기를 기대하는 바이다.

참고문헌

- 김원재. 경구용 항암제. 대한의사협회지, 50(5):464-470, 2007.
- Kasper Braunwald, Fauci Hauser, Longo Jameson. Harrison's 내과학. 대한내과학회 해리슨내과학 편집위원회, 도서출판 MIP, pp 501-536, 2006.
- Park, S.C., Yoo, H.S., Cho, C.K., Lee, Y.W. Recent Experimental Tendency for Herbal Medicines Treating Lung Cancer in South Korea. J of Kor. Traditional Oncology 13(1):43-54, 2008.
- 具滋權, 金聖勳, 金炳卓. 平消丹加減方の 抗癌性에 關한 實驗的 研究. 동의병리학회지 11(1):49-57, 1997.
- 박승찬. Akt 활성화 및 Caspase-3의 활성화를 통한 삼칠근 열수 추출물의 인간 폐암세포에서의 세포사멸 유도. 대전대 대학원 박사학위논문, 2009.
- 박상은. 인체 폐암세포에서 동충하초 추출물의 세포사멸 유도 및 telomerase 활동 억제. 대전대 대학원 박사학위논문, 2009.
- 홍문화. 한국의 광물성 한약(1). 생약학회지 4(3):105-152, 1973.
- 허 성, 구병수. 정신질환에 사용된 광물성 약재에 대한 고찰. 동의신경정신과학회지 10(1):159-177, 1999.
- 한현정, 김혜자, 정명수. 홍삼의 법제유향 처리가 당노취의 혈중지질 및 대사지표물질에 미치는 영향. The Korea journal of herbalogy 24(1):89-98, 2009.
- 徐富一, 卞俊哲. 鑛物藥의 利用 現況에 關한 調査. 東西醫學, 23(3):1-5, 1998.
- 吳普. 神農本草經. 서울, 의성당, p 27, 35, 38, 2003.
- 이장천, 박맹언. 동의약용광물학. 서울, 의성당, p 57, 437, 438, 2005.
- 仁山 金一勳. 宇宙와 神藥. 서울, 동문출판사, p 145, 1980.
- 仁山 金一勳. 救世神方. 전주, 제일사, p 155, 1981.
- 仁山 金一勳. 神藥. 서울, 나무출판사, p 47, 131, 1986.
- 최은아, 김경희, 유병철, 유화승. 난담반의 인체폐암세포주 NCI-H460에 대한 세포자살유도 효능. 대한약침학회지 12(3):49-60, 2009.
- Teicher, B.A. Anticancer Drug Development Guide : Humana Press, New Jersey. pp 91-97, 1997.
- Langdon, S.P., Hendriks, H.R., Braakhuis, B.J., Pratesi, G., Berger, D.P., Fodstad, O., Fiebig, H.H., Boven, E. Preclinical phase II studies in human tumor xenografts: a European multicenter follow-up study. Ann Oncol 5(5):415-422, 1994.
- 李挺. 醫學入門. 서울, 고려의학, pp 162-163, 189, 1989.
- 李時珍. 本草綱目. 臺北: 文光圖書有限公司, pp 350-351, 394, 중화민국 71년.
- 최은아. 난담반의 인체폐암세포주 NCI-H460에 대한 세포자살유도 효능. 대전대 대학원 보건학석사논문, 2009.
- 허 준. 東醫寶鑑. 서울, 南山堂, p 748, 1989.
- 강병수 외. 本草學. 서울, 圖書出版 永林社, p 637, 1991.
- 김창민 외. 中藥大事典. 서울, 도서출판 정담, p 786, 877, 1999.
- 최진호. 가축영양에서의 유향. 유향비료 국제심포지움. 한국 토양비료학회, p 101, 1988.
- 최보영, 남혜경, 황용주, 김선희. 청소년기 여자에서 고칼슘 섭취가 아연과 구리 평형에 미치는 영향. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 한국식품영양과학회지 30(5):894-899, 2001.
- 최재혁, 박정덕, 최병선. 체내 철 수준이 뇌의 구리 이동과 분포에 미치는 영향. J. Toxicol. Pub. Health 23(3):279-287, 2007.
- 이명수, 강효종, 홍승재, 도주호, 윤종현, 김완욱 외. 류마티스 관절염 환자의 혈중 아연 및 구리 농도와 질병 활성도와와의 관계. 대한류마티스학회지 10(4):413-421, 2003.
- 한국식품개발연구원. Phosvitin과 Lysozyme의 기능성 식품 소재화 연구. 과천, 농림부, pp 90-92, 2002.
- 박봉규, 감철우, 허태율. 길경 수용액 추출물에 의한 NCI-H460 인체 폐암세포의 p53 및 pRB의 발현에 미치는 영향. 동의생리병리학회지 20(6):1530-1537, 2006.
- 김진영, 김현중, 정광식. A539 및 NCI-H460 인체 폐암세포의 증식 및 apoptosis 유도에 미치는 가미삼기보폐탕의 영향. 대한한방내과학회지 29(1):130-148, 2008.
- 허만규, 박철, 최영현. 인체폐암세포 NCI-H460 및 A549의 증식에 미치는 삼기보폐탕의 영향 비교. 동의생리병리학회지 21(4):973-981, 2007.