

# 셀러리악 추출물의 암세포 증식 억제 효과

이재혁<sup>1</sup>, 박정숙<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>남부대학교 응급구조학과 교수, <sup>2</sup>남부대학교 간호학과 교수

## Inhibitory Effect of Celeriac Extract on Cancer Cell Proliferation

Jae-Hyeok Lee<sup>1</sup>, Jeong-Sook Park<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Professor, Department of Emergency Medical Rescue, Nambu University

<sup>2</sup>Professor, Department of Nursing, Nambu University

**요약** 본 연구는 다양한 항암성분을 함유한 Celeriac Extract의 암세포 증식에 미치는 영향을 살펴보기 위하여 실시되었다. 실험에 사용한 암 세포주는 5종으로 폐암세포 A549, 전립샘암세포 DU-145, 자궁암세포 HeLa, 유방암세포 MCF-7, 간암세포 SNU-182 로 모두 인체 유래 암 세포주를 사용하였으며 Celeriac Extract 10ug/mL, 100ug/mL, 1000ug/mL 에 대한 암세포의 증식 억제는 CCK-8 방법을 이용하여 측정하였다. 암세포 증식 억제를 살펴본 결과 Celeriac Extract 1000ug/mL는 폐암세포 A549, 전립샘암세포 DU-145, 자궁암세포 HeLa, 간암세포 SNU-182에서 유의한 증식 억제를 보였으며 농도 의존성을 나타냈다. 그러나 유방암세포 MCF-7 에서는 농도 의존적인 감소만 보였다. 결론적으로, 다양한 인간유래 암 세포주를 이용한 Celeriac Extract의 세포 증식 억제기전들은 암 예방효과 및 치료제 개발의 잠재력을 제공한다고 볼 수 있다.

**주제어** : 셀러리악추출물, 폐암세포, 전립샘암세포, 자궁암세포, 간암세포

**Abstract** This study was carried out to examine the effect of Celeriac Extract, which contains various anticancer ingredients, on the proliferation inhibition of human-derived cancer cells and the degree of inhibition. The five cell lines used in the experiment were lung cancer cells A549, prostate cancer cells DU-145, uterine cancer cells HeLa, breast cancer cells MCF-7, and liver cancer cells SNU-182. All cancer cells derived from the human body were used, and the inhibition of cancer cell proliferation with Celeriac Extract 10ug/mL, 100ug/mL, and 1000ug/mL was measured using the CCK-8 method. As a result of examining the inhibition of cancer cell proliferation, Celeriac Extract 1000ug/mL showed significant proliferation inhibition in lung cancer cells A549, prostate cancer cells DU-145, uterine cancer cells HeLa, and liver cancer cells SNU-182, and showed a concentration dependence. However, only a concentration-dependent decrease was observed in breast cancer cells MCF-7. In conclusion, it can be seen that the cell proliferation inhibition mechanisms of Celeriac Extract using various human-derived cancer cell lines provide the potential for cancer prevention and therapeutic development.

**Key Words** : Celeriac extract, Lung cancer cell, Prostate cancer cell, Uterine cancer cell, Liver cancer cell

\*This paper was supported by research funds from Nambu University, 2020.

\*Corresponding Author : Jeong-Sook Park(pk0207@nambu.ac.kr)

Received June 1, 2021

Accepted September 20, 2021

Revised June 22, 2021

Published September 28, 2021

## 1. 서론

최근 고령인구증가와 서구화된 식생활로 인하여 암 발생률이 점점 증가하고 있다[1]. Siegel의 보고서에 따르면 인구 증가와 연령 분포의 변화, 위험 요인에 의한 유병률과 관련하여 전 세계의 암 발생 부담도 크게 증가할 것으로 예상되고 있다[2]. 이에 건강한 수명 연장과 건강 관리를 위해 천연물의 기능성 및 생리활성에 대한 연구가 널리 진행되고 있으며, 암 치료 및 예방을 위해 각종 과일과 채소를 이용한 식이의 중요성이 대두되고 있다[3]. 또한 녹황색 채소류의 섭취 횟수가 많을수록 암 발생의 위험이 감소한다고 알려져있다[4]. 특히, Phytochemicals는 잘 알려진 항암 성분으로 다양한 과일과 채소에 풍부하게 존재하며, Phytochemicals의 일종인 폴리페놀은 가장 광범위하게 연구되고 있는 생리활성 물질이다[5]. 폴리페놀은 다양한 과일, 채소 및 곡물에 존재하며 항산화 역할을 하고 DNA 손상 및 염증과 관련된 자유 라디칼을 제거함으로써 암을 억제한다는 보고가 많다[6]. 폴리페놀은 폐, 위, 결장 직장, 유방암, 난소 암, 자궁 내막암 및 비호지킨 림프종의 위험 감소와 관련이 있음을 보여주고 있다[7-9]. 폴리페놀 성분 중 미나리과인 셀러리나 셀러리아에 풍부한 apigenin은 암 위험 감소와 연관성이 있음이 보고되었다[10,11].

셀러리아(Celeriac, *Apium graveolens* var. *rapaceum*, turnip-rooted celery, celery root)은 미나리과의 두해살이풀로 셀러리의 일종이며 뿌리 셀러리, 셀러리 아크라고 불린다. 둥글납작한 배축(胚軸)이 있는 뿌리는 엷은 갈색으로, 수많은 작은 뿌리가 있는 뿌리채소이다[12,13]. 초기에는 지중해 분지와 북유럽에서 약용식물로 경작되었으며[14], 폴리페놀 성분이 풍부하여 면역계 활성화와 항산화, 항염, 항 종양효과에 대한 보고들이 있다[15,16]. 또한 항암 효과가 증명된 apigenin, genistein 성분이 셀러리에 비해 많이 함유되어 있다[17]. 그러나 Celeriac Extract을 이용한 생리활성 실험은 많지 않아 본 연구에서는 Celeriac Extract의 다양한 농도를 인체 유래 암세포인 폐암세포 A549, 전립샘암세포 DU-145, 자궁암세포 HeLa, 유방암세포 MCF-7, 간암세포 SNU-182에 처리하여 증식 억제에 미치는 영향을 살펴보았다.

## 2. 연구방법

### 2.1 실험 재료

위 실험에 사용된 셀러리아는 시중에서 유기농원료를 구입하여 사용하였으며 약 20kg를 음건세절 후 2kg을 methanol로 진탕하면서 50℃에서 48시간동안 2회 추출하였다. methanol 추출물을 수욕상에서 감압 농축하여 methanol 엑스를 얻었으며, 이 methanol 엑스를 냉동 보관 후 시료로 사용 하였다.

### 2.2 시약

암세포 배양 배지는 Dulbecco's modified eagle medium(DMEM)을 사용하였으며 소 태아 혈청(fetal bovine serum, FBS), 항생제, trypsin-EDTA 등은 모두 GIBCO (Grand Island Biological Co., NY, USA) 제품을 사용하였고, 추출용 유기용매인 methanol (MeOH), ethanol(EtOH)은 덕산약품(KOREA), 그 외의 시약은 Sigma-Aldrich Co. Ltd(Irvine, UK) 시약과 분석용 시약 특급을 사용하여 실시하였다. CO<sub>2</sub> incubator는 My CO<sub>2</sub>(Science Technology, Korea)를 사용하였고, 세포 현미경은 자이스 inverted microscope(Axioverts 100, Germany)를 사용하였다.

### 2.3 암세포주 배양

실험에 사용한 세포주는 5종으로 폐암세포 A549, 전립샘암세포 DU-145, 자궁암세포 HeLa, 유방암세포 MCF-7, 간암세포 SNU-182이며, 모두 인체 유래 암세포주를 사용하였으며 한국 세포주 은행 (KCLB)에서 분양받았다. 세포배양을 위해 100mm petri dish에 DMEM (5% FBS 함유) 배지와 약  $2 \times 10^4$  cells/ml의 5ml을 CO<sub>2</sub> incubator 에서 48시간 계대 배양하였다.

### 2.4 Cell viability assay (CCK-8 assay)

Celeriac Extract의 인체유래 암세포주에 대한 증식 억제에 대한 효과는 CCK-8 방법[18]을 이용하여 측정하였다. 100  $\mu$ l의 암세포 현탁액  $5 \times 10^3$  cells / well을 96well 플레이트에 분주한 후 24 시간 동안 37 °C, CO<sub>2</sub> 5 % 조건에서 미리 플레이트 배양한다. 다양한 농도의 Celeriac Extract 10  $\mu$ l를 96well 플레이트에 첨가한다. 그리고 동일한 조건에서 24시간 배양하고 플레이트의 각 well에 10  $\mu$ l의 CCK-8 solution을 첨가한 후 2 시간 동안 플레이트를 배양하고 ELISA 리더를 사용하여 450 nm에서 흡광도를 측정한다. 흡광도 값은 살아있는 세포의 수와 비례하므로 각 sample의 암세포 성장 억제를 흡광도 값으로 알 수 있다.

## 2.5 통계적 분석

모든 data는 평균±표준오차(Mean±S.E.)로 나타냈으며 students' *t*-test를 사용하여 유의성 검사를 실시하였다. 실험결과에 따라 각 그룹 간의 유의성은  $p < 0.05$ 에 해당하는 경우에 유의수준에 준하는 것으로 판단하였다.

## 3. 결과 및 고찰

### 3.1 인간 유래 폐암세포 A549 증식억제 효과

Celeriac Extract의 인체유래 폐암 세포주 A549 증식 억제에 미치는 영향을 살펴본 결과 Celeriac Extract은 100ug/mL 및 1000ug/mL에서 농도 의존적으로 유의한 증식 억제를 보여주었다. Chunhua등에 의하면 A549 폐암 이종 이식을 한 마우스에서 셀러리악의 주요 성분인 apigenin 처리시 종양 부피를 감소시켰으며, 이것은 혈관 신생 및 세포 증식의 억제에 기인한다고 하였다[19].

### 3.2 인간 유래 전립샘암세포 DU-145 증식억제 효과

Celeriac Extract의 인체유래 전립샘 암세포주 DU-145 증식 억제에 미치는 영향을 살펴본 결과 Celeriac Extract은 농도 의존적으로 DU-145암세포 증식 억제 효과가 나타났다. 또한 Fig. 2에서 나타난 것처럼, Celeriac Extract 1000ug/mL에서 유의한 증식 억제를 나타냈다. 20주 동안 apigenin 20 및 50  $\mu$ g을 경구 투여한 마우스에서 종양 부피를 감소시키고 마우스 전립선 (TRAMP) 모델의 형질 전환 선암에서 기관 전이 억제를 보여주었다[20,21]. 또한 인간 전립선암을 앓고 있는 누드 마우스에서 종양의 부피와 습윤 중량을 감소시켰다[22].

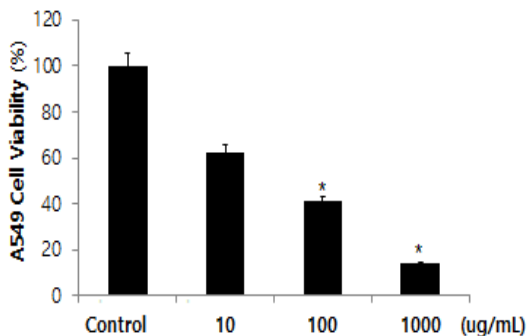


Fig. 1. Inhibitory effect of Celeriac Extract on human lung cancer cell A549 proliferation \* :  $p < 0.05$  shows a significantly different from the control group.

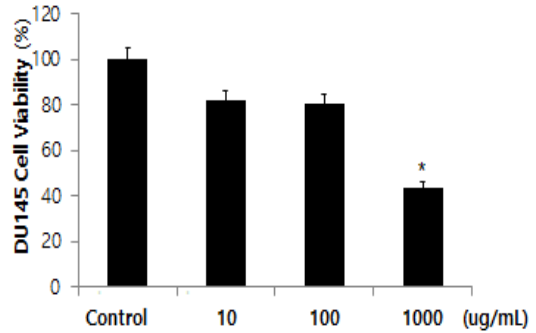


Fig. 2. Inhibitory effect of Celeriac Extract on human prostate cancer cell DU-145 proliferation. \* :  $p < 0.05$  shows a significantly different from the control group.

### 3.3 인간 유래 자궁암세포 HeLa 증식억제 효과

Celeriac Extract의 인체 유래 자궁암 세포주 HeLa 증식 억제에 미치는 영향을 살펴 본 결과, Celeriac Extract은 농도 의존적으로 증식 억제를 보여주었으며, Fig. 3에서 보여주는 것처럼, Celeriac Extract 1000ug/mL에서 유의한 억제를 보여주었다.

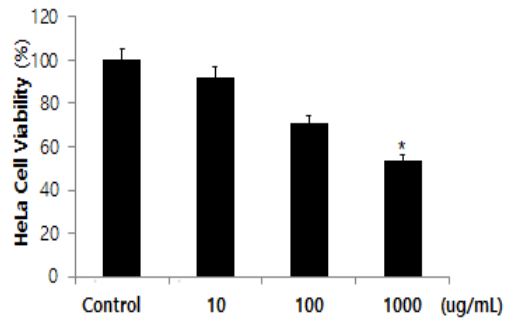


Fig. 3. Inhibitory effect of Celeriac Extract on human cervical cancer cell HeLa proliferation. \* :  $p < 0.05$  shows a significantly different from the control group.

### 3.4 인간 유래 유방암세포 MCF-7 증식억제 효과

Celeriac Extract의 인체 유래 유방암 세포주 MCF-7 증식 억제에 미치는 영향을 살펴본 결과 Celeriac Extract은 농도 의존적으로 증식 억제가 나타났다. 그러나 Fig. 4에서 보여주는 것처럼, Celeriac Extract 10ug/mL, 100ug/mL, 1000ug/mL에서 유의한 증식억제를 보여주지는 않았다. Celeriac Extract가 유방암세포 억제효과에는 민감하게 작용하지 않는 것으로 사료된다.

### 3.5 인간 유래 간암세포 SNU-182 증식억제 효과

Celeriac Extract의 인체 유래 간암 세포주 SNU-182에 대한 증식 억제에 미치는 영향을 살펴본 결과 Celeriac Extract은 농도 의존적으로 증식 억제를 보여주었으나, Fig. 5에서 보여주는 것처럼, 특히 Celeriac Extract 1000ug/mL에서 유의한 증식 억제를 보여주었다. 셀러리악의 유효성분인 apigenin은 많은 동물실험에서 세포자멸과 자가포식을 통하여 종양성장 억제와 전이억제를 시사하였다[23]. 미나리과의 Apiaceae 속에 속하는 셀러리악은 apigenin 성분이 풍부하며 Birt 등은 아피게닌의 효과적인 항 변이원성 특성을 입증하였고[24], 그 이후로 암 예방 및 치료에서 아피게닌의 잠재적 가치는 다양한 암 동물 모델에 대한 광범위한 연구에 의해 더욱 뒷받침되었다[25,26]. 셀러리악 추출물은 apigenin 성분에 의해 다양한 암세포의 증식을 억제하는 것으로 사료된다.

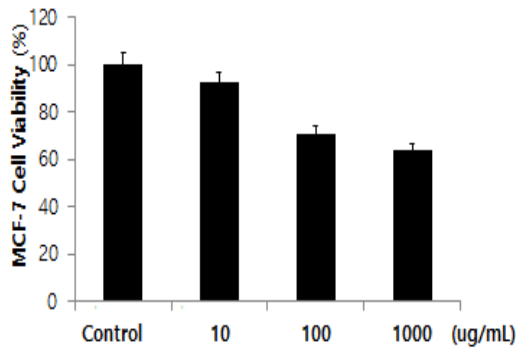


Fig. 4. Inhibitory effect of Celeriac Extract on human breast cancer cell MCF-7 proliferation.

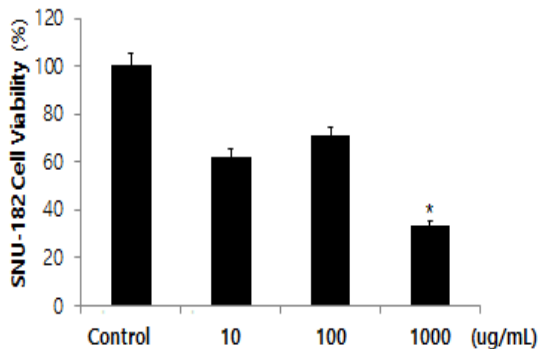


Fig. 5. Inhibitory effect of Celeriac Extract on human liver cancer cell SNU-182 proliferation. \* :  $p < 0.05$  shows a significantly different from the control group.

### 4. 결론

본 연구는 Celeriac Extract의 인체 유래 암세포주 증식 억제에 미치는 영향을 살펴보기 위하여 실시되었다. 실험에 사용한 세포주는 5종으로 폐암세포 A549, 전립샘암세포 DU-145, 자궁암세포 HeLa, 유방암세포 MCF-7, 간암세포 SNU-182이며, 모두 인체 유래 암 세포주를 사용하였다. Celeriac Extract 10ug/mL, 100ug/mL, 1000ug/mL에 대한 영향을 살펴본 결과 Celeriac Extract은 대부분의 암세포에서 농도 의존적으로 증식을 억제하였다. 특히, Celeriac Extract 1000ug/mL에서 폐암세포 A549, 전립샘암세포 DU-145, 자궁암세포 HeLa, 간암세포 SNU-182는 유의한 증식 억제를 보였다. 그러나 유방암세포 MCF-7에서는 농도 의존적인 감소만 보였다. 결론적으로, 다양한 인간유래 암 세포주를 이용한 Celeriac Extract의 세포 증식 억제 기전들은 암 예방효과 및 치료제 개발의 잠재력을 제공한다고 볼 수 있다.

### REFERENCES

- [1] B. Rocca & G. A. FitzGerald. (2002). Cyclooxygenases and prostaglandins shaping up the immune response. *Int. Immunopharmacol.* 2, 603-607.
- [2] R. L. Siegel, K. D. Miller & A. Jemal (2016). Cancer statistics. *CA Cancer J Clin.* 66, 7-30.
- [3] I. Goleberg. (1994). Functional Foods. *Chapman & Hall Press, New York, USA.* 350-550.
- [4] O. Sadaki. (1996). The development of functional foods and material. *Bio-industry.* 13, 44-50.
- [5] X. Wang, Y. Ouyang, J. Liu, M. Zhu, G. Zhao & W. Bao. (2014). Fruit and vegetable consumption and mortality from all causes, cardiovascular disease, and cancer: systematic review and dose-response meta-analysis of prospective cohort studies. *BMJ.* 349.
- [6] R. C. Garcia, C. A. Gonzalez, A. Agudo & E. Riboli. (1999). Intake of specific carotenoids and flavonoids and the risk of gastric cancer in Spain. *Cancer Causes Control.* 10, 71-75.
- [7] M. Rossi, E. Negri, R. Talamini, C. Bosetti, M. Parpinel & P. Gnagnarella. (2006). Flavonoids and colorectal cancer in Italy. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 15, 1555-1558.
- [8] C. Bosetti, L. Spertini, M. Parpinel, P. Gnagnarella, P. Lagioui & E. Negri. (2005). Flavonoids and breast cancer risk in Italy. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 14, 805-808.

[9] M. A. Gates, A. F. Vitonis, S. S. Tworoger, B. Rosner, L. Titus-Ernstoff & S. E. Hankinson. (2009). Flavonoid intake and ovarian cancer risk in a population-based case-control study. *Int. J. Cancer*, 124, 1918-1925.

[10] P. L. Horn-Ross, E. M. John, A. J. Canchola, S. L. Stewart, & M. M. Lee. (2003). Phytoestrogen intake and endometrial cancer risk. *J. Natl. Cancer Inst*, 95, 1158-1164.

[11] C. L. Frankenfeld, J. R. Cerhan, W. Cozen, S. Davis, M. Schenk & L. M. Morton. (2008). Dietary flavonoid intake and non-Hodgkin lymphoma risk. *Am J. Clin Nutr*, 87, 1439-1445.

[12] Growing Crops: Celery and Celeriac. (2011). *Urban Organic*.

[13] H. Chisholm. (1911). *Encyclopædia Britannica*. Cambridge University Press.

[14] S. Wolfgang. (2012). *Celeriac (Apium graveolens rapaceum). Desirable Vegetable Varieties, By Vegetable*. The Owlcroft Company.

[15] W. L. Chen & Y. Xiao. (2020). Apigenin protects against ischemia/hypoxia-induced myocardial injury by mediating pyroptosis and apoptosis. *In Vitro Cellular & Developmental Biology*, 13, 307-312.

[16] P. T. Ana et al. (2015). The Effect of *Apium Nodiflorum* in Experimental Osteoporosis. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 16(5), 414-423.

[17] J. H. Lee, H. J. Jeong, J. S. Park. (2021). Effect of Celeriac Extract on the LPS-Induced Production of Pro-inflammatory Cytokines by RAW 264.7 cells. *Journal of the Korea Convergence Society*, 12(2), 295-300.

[18] S. F. Jin, H. L. Ma, Z. L. Liu, S. T. Fu, C. P. Zhang, & Y. He. (2015). XL413, a cell division cycle 7 kinase inhibitor enhanced the anti-fibrotic effect of pirfenidone on TGF- $\beta$ 1-stimulated C3H10T1/2 cells via Smad2/4. *Exp Cell Res*, 10:339(2), 289-299.

[19] L. Chunhua, L. Donglan, F. Xiuqiong, Z. Lihua, F. Qin, & L. Yawei. (2013). Apigenin up-regulates transgelin and inhibits invasion and migration of colorectal cancer through decreased phosphorylation of AKT. *J. Nutr. Biochem*, 24, 1766-1775.

[20] D. F. Birt, B. Walker, M. G. Tibbels & E. Bresnick. (1986). Anti-mutagenesis and anti-promotion by apigenin, robinetin and indole-3-carbinol. *Carcinogenesis*, 7, 959-963.

[21] S. Shukla, N. Bhaskaran, M. A. Babcook, P. Fu, G. T. Maclennan, & S. Gupta. (2014). Apigenin inhibits prostate cancer progression in TRAMP mice via targeting PI3K/Akt/FoxO pathway. *Carcinogenesis*, 35, 452-460.

[22] S. Shukla, P. Fu & S. Gupta. (2014). Apigenin induces apoptosis by targeting inhibitor of apoptosis proteins and Ku70-Bax interaction in prostate cancer. *Apoptosis*, 19, 883-894.

[23] B. Mafuvadze, Y. Liang, C. Besch-Williford, X. Zhang, & S. M. Hyder. (2012). Apigenin induces apoptosis and blocks growth of medroxyprogesterone acetate-dependent BT-474 xenograft tumors. *Horm Cancer*, 3, 160-171.

[24] D. F. Birt, B. Walker, M. G. Tibbels & E. Bresnick. (1986). Anti-mutagenesis and anti-promotion by apigenin, robinetin and indole-3-carbinol. *Carcinogenesis*, 7, 959-963.

[25] X. Tong, S. Mirzoeva, D. Veliceasa, B. B. Bridgeman, P. Fitchev, & M. L. Cornwell. (2014). Chemopreventive apigenin controls UVB-induced cutaneous proliferation and angiogenesis through HuR and thrombospondin-1. *Oncotarget*, 5, 11413-11427.

[26] B. B. Bridgeman, P. Wang, B. Ye, J. C. Pelling, O. V. Volpert & X. Tong, (2016). Inhibition of mTOR by apigenin in UVB-irradiated keratinocytes: A new implication of skin cancer prevention. *Cell Signal*, 28, 460-468.

이 재 혁(Jae-Hyeok Lee)

[정회원]



- 1987년 2월 : 우석대학교 약학과(약학사)
- 1989년 2월 : 우석대학교 약학과(약학석사)
- 2005년 2월 : 우석대학교 약학과(약학박사)
- 2005년 2월 ~ 2018년2월 : 남부대학교 한방제약개발학과 교수
- 2018년 3월 ~ 현재 : 남부대학교 응급구조학과교수
- 관심분야 : 천연물
- E-Mail : jhlee@nambu.ac.kr

박 정 숙(Jeong-Sook Park)

[정회원]



- 1996년 2월 : 원광대학교 약학과 (약학석사)
- 2002년 2월 : 원광대학교 약학과 (약학박사)
- 2006년 3월 : 남부대학교 대체의학과 교수
- 2014년 9월 ~ 현재 : 남부대학교 간호학과교수
- 관심분야 : 생약학, 면역학, 대체의학
- E-Mail : pk0207@nambu.ac.kr