



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

2010년 2월

碩士學位論文

일엽초 열 수 추출물과 메탄올
추출물에 의한 항암효과에 대한 연구

The study of anti-cancer effects by boiled and methanol
extracts of *Lepisorus thunbergians*

朝鮮大學校 保健大學院

代替醫學科

張永姬

일엽초 열 수 추출물과 메탄올
추출물에 의한 항암효과에 대한 연구

The study of anti-cancer effects by boiled and methanol
extracts of *Lepisorus thunbergians*

2010년 2월 일

朝鮮大學校 保健大學院

代替醫學科

張永姬

일엽초 열 수 추출물과 메탄올
추출물에 의한 항암효과에 대한 연구

The study of anti-cancer effects by boiled and methanol
extracts of *Lepisorus thunbergians*

지도 교수 문 경 래

이 論文을 代替醫學 碩士學位申請 論文으로 提出함

2009년 10월

朝鮮大學校 保健大學院

代替醫學科

張 永 姬

張永姬의 碩士學位論文을 認准함

심사위원장 조선대학교 교수 _____인

심 사 위 원 조선대학교 교수 _____인

심 사 위 원 조선대학교 교수 _____인

2009년 12월

朝鮮大學校 保健大學院

목 차

도 목 차

ABSTRACT

I. 서 론	1
II. 방법 및 재료	3
III. 결 과	6
IV. 고 찰	12
V. 참고문헌	14

도 목 차

Figure 1. Effect of Lepisorus thunbergians(boiled extracts) on cell proliferation in KB cells.	8
Figure 2. Effect of Lepisorus thunbergians(Methanol extracts) on cell proliferation in KB cells.	9
Figure 3. Effect of Lepisorus thunbergians on Cox-2 protein expression in KB cells.	11

ABSTRACT

The study of anti-cancer effects by boiled and methanol extracts of *Lepisorus thunbergians*

By Young Hee Jang

Advisor: Prof. Moon, Kyung Rye M.D., Ph. D

Department of Alternative Medicine,

Graduate School of Health Science

Chosun University

Currently, many researchers reported that oral squamous cell carcinomas in Korea patients have a high level of Cyclooxygenase(COX)-2 expression when compared with normal mucosa. And, induced Cox-2 by stimuli such as cytokines and growth factors is involved in various inflammation and in various cancer tissue and is known as one of the critical factor in carcinomas of various organs.

Treatment of oral cancers with chemotherapeutic agents are evaluated as an effective method for remission to reduce cancer proliferation nowadays. But, minimization of side effects such as bone marrow suppression, gastrointestinal toxicity and renal damage is another problem to be solved. Thus, a possible approach to develop a clinically applicable chemotherapeutic agents is to screen anticancer activity among traditional medicinal plants which have been used for thousands of years with very low side-effects in orient. Among them, *Lepisorus thunbergians* have been traditionally used in oriental folk medicine for the treatment of hemostasis, diuretic effect, inflammation of the (urinary) bladder, inflammatory diseases. In this

study we focused on anti-oral cancer activities of *Lepisorus thunbergians*, which was medicinal plant extracts that was revealed anticancer activities on KB cell line.

In this results, treated KB cells experimental groups with *Lepisorus thunbergians* extracts showed significant concentration dependent growth inhibition (concentration range; 125~500 µg/ml). And then, cell proliferation inhibition by methanol extracts of *Lepisorus thunbergians* is more effective to boiled extracts of *Lepisorus thunbergians* in KB cells. The expression levels of cox-2 protein as cancerous marker were significantly decreased by boiled extracts and methanol extracts of *Lepisorus thunbergians*.

These data suggest that extracts of *Lepisorus thunbergians* may play a role in management of oral carcinoma by independent cytotoxic effects and more advanced research must processed confirming anti-cancerous effects.

I. 서 론

구강암은 전체 암 발생율의 3~5% 정도를 차지하는 것으로 알려져 있으며, 다른 부위의 암종에 비하여 발생비율이 낮음에도 불구하고 예후가 좋지 않은 악성 암에 속하며(Tsai LC 등, 1997), 항암제 등에 의한 다양한 감수성, 심각한 기능과 심미적 장애, 근치의 어려움 등으로 구강암에 대한 다양한 치료법들에 대하여 관심이 높아져 가고 있다(이영훈 등, 2000; Avi Khafif 등, 2009). 구강암의 치료방법으로 외과적 수술, 방사선 치료, 화학요법 등이 있으며 이중 전신적 요법으로의 화학요법은 구강암의 치료를 위한 효과적인 방법으로 평가받고 있다(이종환 등, 1998, 서경성 등, 2001). 그러나 암치료 방법 중의 하나인 화학 요법은 눈부신 발전을 거듭하고 높은 치료율에도 불구하고 암세포를 공격함과 동시에 정상세포도 공격함으로써 그에 따른 부작용이 심각하다. 부작용으로서 오심, 탈모증, 골수 기능저하, 신독성 및 면역능력 저하 등 부작용의 발현으로 그 사용에 큰 제한을 받고 있기 때문에 이러한 부작용을 줄이고 치료 효과를 높이기 위한 약물병용요법의 연구(Kish JA 등, 1994)와 신약개발에의 연구가 활발히 진행 중에 있다(박승오 등, 1991). 최근에 들어 상대적으로 부작용이 적은 것으로 알려져 왔고 항암효과가 입증되고 있는 전래의 천연약용식물의 성분을 추출, 정제하여 암세포에 작용하는 항암활성정도를 검색하고 확인하는 연구들이 진행되고 있다.

그리고 진행된 암종에 대한 치료에 앞서 초기단계의 암의 성장을 억제하거나, 암 발생을 예방하기 위한 화학적 암 예방에 대한 연구 또한 진행되어지고 있다. 구강암은 전암병소의 관찰이 상대적으로 용이하기 때문에 이러한 화학적인 암 예방의 좋은 후보군이라 할 수 있다. 화학적 암 예방 제재로서 비스테로이성 소염진통제(Non steroidal anti inflammatory drugs, NSAIDs)의 장기 복용시 암종 발현을 예방할 수 있다는 여러 보고가 있었다(Waddell WR 등, 1989). 비록 현재까지 NSAIDs의 종양억제 작용의 기전이 아직 명확히 밝혀지진 않았으나 지금까지의 연구에 의하면 발암물질 활성화의 억제, 세포 증식의 억제, 세포사의 활성화 및 면역 감시 기능의 강화 역할 등으로 설명하고 있으며 이중에서 비스테로이성 소염제의

cyclooxygenase(cox)억제 작용은 발암물질 활성화의 억제, 세포증식의 억제와 관련되어 있는 것으로 잘 알려져 있는데, cox의 발암물질에 관한 직접적인 활성화, MDA(malondialdehyde)의 생성, peroxy radical의 형성에 의한 procarcinogen의 활성화를 통한 발암 과정 유도에 대해 NSAIDs이 억제함으로써 암 예방 및 암세포에 대한 성장 억제를 통해 항암 효과를 나타내는 것으로 추측된다(Masferrer JL 등, 1994; Williams CW 등, 1996). 특히, cox-2는 cytokine, growth factor 등과 같은 자극에 의해 유도되어 prostaglandin을 생성시키는 효소로서, 세포성장, 및 분화에 밀접하게 관련하는 것으로 보이며 암발현 촉진과 매우 밀접한 관련이 있을 것으로 관찰되어지고 있다(Simon LS 등, 1996).

일엽초(一葉草, *Lepisorus thunbergianus*)는 고사리과(Polypodiaceae)에 속하는 상록 다년생초이며 잎 가장자리는 밋밋하고 잎끝은 뾰족하며 한방에서는 칠성초, 검단, 골비초라고도 불리우기도 한다. 민간에서 일엽초의 효능은 위암, 자궁암, 유방암 등에 효과가 있다고 알려져 왔으며, 오줌을 잘 나가게 하고 지혈작용이 있어서 출혈을 멎게 하며, 이질, 해수, 토혈, 요도염이나 신장염, 방광결석, 신장결석, 부종, 경풍, 안목성예, 임질, 타박상, 하리, 뱀에 물린 상처, 대장염 등에도 쓰여진다고 알려졌다. 한방에서는 식물전체를 말려 사용하며 하루 10~15그램을 달여 세 번에 나누어 먹으면 효과가 있다고 한다. 그러나 이러한 작용에 의한 일엽초에 대한 학문적 연구는 아직 이루어지지 않고 있으며 참고문헌도 거의 존재하지 않는다(참조: 토종의학 암 다스리기 387면 감수 최진규).

따라서 본 논문은 일엽초를 선택하여 열 수 추출물과 메탄올 추출물을 형성하였다. 이 두 물질을 이용하여 먼저 사람 구강암세포주 중의 하나인 KB 세포주에 농도별로 처리하여 세포 생존률을 측정하여 암세포를 얼마나 죽이는지 확인하였고, 암세포표지물질 중 하나인 cox-2를 선택하여 일엽초 추출물에 의해 감소됨을 Western 분석방법을 이용하여 관찰하여 구강암의 천연치료제로서의 가능성에 대해 알아보고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 일엽초의 추출 및 분리

일엽초는 한약방에서 구매하여 건조중량 100g을 사용하였다. 시료의 열 수 추출은 3차 증류수를 1.3L를 첨가하여 약탕기(대웅, DWP-5000M)에서 3시간 동안 가열하여 열 수 추출하였다. 추출이 끝나면 부직포 여과지를 이용하여 압착여과하고 4000rpm에서 30분간 원심분리하여 Whatman NO.3로 여과하여 추출물을 감압 농축하여 추출물을 동결건조하였다.

Methanol (MeOH) 추출은 100g의 시료에 99% MeOH을 1L 사용하여 24시간 침지시킨 후 2~3시간 단위로 교반하여 시료가 골고루 섞여 추출을 유도하였다. 이후 거즈로 한번 거른 후 Whatman NO.3로 여과하여 35~37℃를 유지하여 MeOH를 제거하면서 추출물을 감압 농축하였다. 추출 농축액을 chloroform과 1:1 비율로 혼합하여 강하게 섞어준 후 4000rpm에서 30분간 원심분리하여 엽록소 및 여분의 잔여 미세 시료를 층분리 하였다. 하층의 chloroform 이 무색이 될 때까지 4번의 과정을 수행하여 상층액만을 수거하여 회전증발농축하였다. 추출물을 동결건조한 후 분쇄하여 건조중량을 측정하여 본 실험에 사용하였다.

2. 세포배양

사람 구강암 세포주 KB 세포주는 한국 세포주은행에서 동결상태로 구입하였다. KB 세포주는 FBS (10%)과 penicillin (100 U/ml)와 streptomycin(100 µg/ml)가 함유된 DMEM(high glucose)배지에서 습한 조건의 37℃, 5% CO₂ Incubator에서 배양하였다. 배지는 2~3일에 한 번씩 배지를 교환하며 배양하였다.

3. 세포생존률 측정

KB 세포주는 96 well plate에 한 well당 1×10^4 cells/ $100 \mu\text{l}$ 로 동일하게 분주하고 24시간 동안 배양하였다. 다음날에 기존의 배지를 제거하고 새로운 배지를 넣어준 후 다양한 농도(125~500 $\mu\text{g/ml}$)의 시료를 DMEM 배지에 희석하여 첨가하였다. 이를 다시 24시간, 48시간, 그리고 72시간 배양한 후에 배지를 제거하고 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulphophenyl)-2H-tetrazolium(MTS) 시약을 PMS 용액에 녹여, 배지 $50 \mu\text{l}$ 당 $10 \mu\text{l}$ 를 첨가하여 2시간 동안 방치한 후 ELISA reader(MolecularDevices, Sunnyvale, CA, USA)를 이용하여 490 nm에서 흡광도를 측정하였다. 실험은 3회 반복 실시하여 평균값을 구하였으며, Control의 흡광도 값을 기준으로 세포 생존율을 비교하였다. 또한 흡광도가 50% 감소할 때 나타내는 시료의 농도(IC₅₀)값을 구하여 시험물질 간의 세포 독성을 비교하였다.

4. 단백질 분리 및 Western 분석법

KB 세포주는 6 well plate에 한 well당 5×10^5 cells/ 2ml로 동일하게 분주하고 24시간 동안 배양하였다. 다음날에 기존의 배지를 제거하고 새로운 배지를 넣어준 후 다양한 농도(0, 125, 250, 500 $\mu\text{g/ml}$)의 시료를 DMEM 배지에 희석하여 첨가하여 얻은 샘플은 lysis buffer로 RIPA buffer(1M Tris-HCl, 150mM NaCl, 1% Triton X-100, 2mM EDTA)에 1mM PMSF, Halt™ Phosphatase inhibitor, Halt™ Protease inhibitor cocktail (Thermo, Rockford, IL, USA)을 사용하여 세포들을 부유시킨 후 ice에 박아 10분간 방치한 후 섭씨 4°C에서 13,000 rpm으로 원심분리 하였다. 상층액(cell extraction)을 새로운 튜브로 옮긴 후 단백질 정량을 시행하였다. 단백질 정량은 Bio-Rad DC protein assay (Bio-Rad, Hercules, CA)를 이용하였다. 이렇게 얻은 단백질은 환원제를 포함한 10% SDS-PAGE 젤을 이용하여 전기영동하여 분리시켰다. 그런 다음, 젤에 분리되어있는 단백질을 PVDF

membrane (Amersham Pharmacia Biotech, Piscataway, N.J., USA)에 이동시킨 후 5% nonfat dry milk/TBST로 1시간 상온에서 방치하였다. 일차 항체는 rabbit anti-human Cox-2(74kDa)와 그리고 housekeeping gene을 보기위한 polyclonal anti-human actin (42kDa, Santa Cruz, Avenue, CA, USA)를 1: 1000으로 희석하여 4℃에서 밤샘처리 하였다.

다음날, TBST washing buffer로 10분씩 3번 씻어준 후 이차항체인 Anti-rabbit monoclonal IgG (Amersham, Buckinghamshire, England)를 5% nonfat dry milk/PBS (TPBS)에 1:4000으로 희석하여 상온에서 1시간 동안 처리한 후, TBST로 10분씩 3번 씻어주었다. chemiluminescence(ECL) reagents (Amersham Life Science, Buckinghamshire, UK) I, II를 1:1로 섞어 membrane과 1분 정도 반응시켜 image reader (Ras-4000, Fugifilm, Tokyo, Japan)를 이용하여 분석하였다.

5. 통계처리

MTS assay와 western 분석법에 의해 나온 결과는 각각 3회에 걸쳐 검증하였고, 일엽초 추출물의 농도별 결과는 student t-test를 시행하여 유효성을 확인하였다.

III. 결 과

1. MTS에 의한 세포독성 결과

구강암 세포주 KB에 일엽초 추출물을 다양한 농도(0, 125, 250, 500 $\mu\text{g/ml}$)의 시료를 배지에 희석하여 첨가하여 각각의 농도에서 24, 48, 72시간 동안 처리하였을 때의 세포독성을 MTS 시약을 이용하여 측정하였다. 일엽초 추출물은 추출하는 방법에 따라 다시 열 수 추출물과 메탄올 추출물 나누어 세포독성을 측정하였다.

먼저, 일엽초 열 수 추출물을 24시간동안 처리한 세포독성 관찰 결과, 일엽초 열 수 추출물을 처리하지 않은 대조군에서의 세포활성을 100%로 보았을 때 125 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서는 87.5%, 250 $\mu\text{g/ml}$ 에서는 70.9%의 세포활성을 보였으며, 500 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서는 42.8%의 세포활성을 나타내었다(Fig. 1A). 세포성장을 50% 저해하는 농도인 IC_{50} 값은 약 430 $\mu\text{g/ml}$ 으로 나타났으며 이를 볼 때 우수한 성장 저해 효과 및 항암 활성을 보였다. 그리고 일엽초 열 수 추출물을 48시간 처리했을 때 각각의 농도에서 84.4%, 74.4%과 54.3%로 나타났으며(Fig. 1B), 72시간 처리했을 때 각각의 농도는 92.7%, 74.5%과 57.8%로 나타났다(Fig. 1C). 이를 볼 때 농도가 높아짐에 따라 세포활성이 낮아지며 처리하는 시간이 길어질수록 열 수 추출물의 효과가 낮아짐을 관찰할 수가 있었다.

다음으로 일엽초 메탄올 추출물을 열 수 추출물과 똑같이 처리하여 관찰하였다. 첫째로, 24시간동안 처리한 세포독성 관찰 결과, 메탄올 추출물을 처리하지 않은 대조군에서의 세포활성을 100%로 보았을 때 125 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서는 88.1%, 250 $\mu\text{g/ml}$ 에서는 75.6%의 세포활성을 보였으며, 500 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서는 26.4%의 세포활성을 나타내었다(Fig. 2A). 그리고 48시간 처리했을 때 각각의 농도에서 92.6%, 72.9%과 31.8%로 나타났으며(Fig. 2B), 72시간 처리했을 때 각각의 농도는 100.6%, 60.8%과 40.2%로 나타났다(Fig. 2C). 일엽초 메탄올 추출물을 처리한 결과도 농도가 높아지면 세포활성이 떨어지고 처리시간이 지날수록 그 효과가 낮아짐을 관찰할 수가 있었다.

그리고 일엽초 열 수 추출물과 메탄올 추출물에 의한 MTS 세포독성 결과를 간단히 비교해 보면, 일반적으로 메탄올 추출물에 의한 세포독성의 결과가 더 우세한 것으로 관찰되었다.

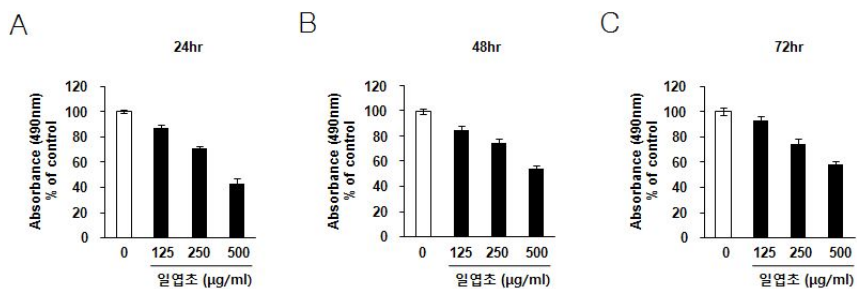


Figure 1. Effect of *Lepisorus thunbergiana*(boiled extracts) on cell proliferation in KB cells.

Lepisorus thunbergiana(boiled extracts) treated KB cells experimental groups showed significant concentration dependent growth inhibition (concentration range; 125~500 µg/ml). But, in length of time(24, 48, 72 hrs), cell growth inhibition decreased slightly in same concentration. Cell proliferation in KB cells was estimated using a MTS assay. The points are the means \pm SD of three independent experiments.

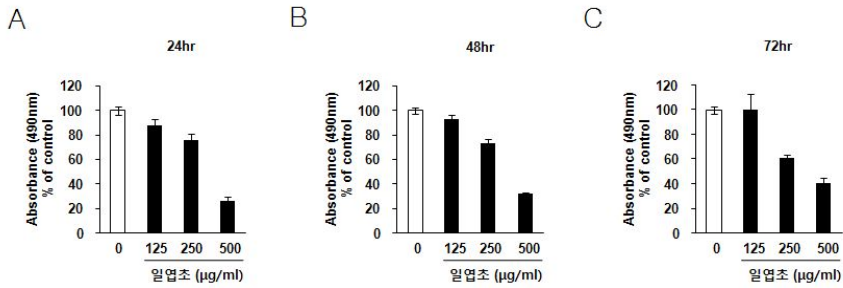


Figure 2. Effect of *Lepisorus thunbergians*(Methanol extracts) on cell proliferation in KB cells.

Lepisorus thunbergians(Methanol extracts) treated KB cells experimental groups showed significant concentration dependent growth inhibition (concentration range; 125~500 µg/ml). Proliferation Inhibition by Methanol extracts is more effective to boiled extracts in KB cells. But, in length of time(24, 48, 72 hrs), cell growth inhibition decreased slightly in same concentration. Cell proliferation in KB cells was estimated using a MTS assay. The points are the means \pm SD of three independent experiments.

2. Western blot에 의한 COX-2 발현 측정

일엽초 열 수 추출물과 메탄올 추출물을 다양한 농도로 처리한 KB 구강암 세포에서 COX-2 단백질의 발현 양상을 관찰하기 위하여 Total protein extraction과 COX-2 일차항체를 이용해 측정하였으며 각각의 단백질들이 똑같은 양으로 실험이 되었는지 확인하기 위하여 actin 일차항체를 사용하였다. 그 결과, 열 수 추출물에서는 COX-2의 발현이 각각의 농도에서 모두 저해되어 발현되지 않음을 관찰할 수 있었다(Fig 3A). 그리고 메탄올 추출물에서도 100 μ g/ml, 200 μ g/ml와 400 μ g/ml을 처리했을 때 모두 COX-2의 발현이 저해됨을 관찰할 수 있었으며 특히 100 μ g/ml의 농도에서 가장 효과적으로 COX-2의 발현이 억제되는 것을 확인할 수 있었다(Fig 3B).

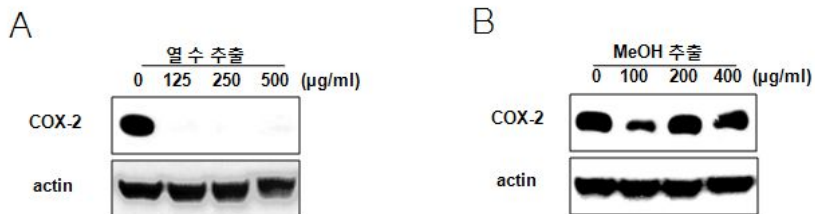


Figure 3. Effect of *Lepisorus thunbergiana* on Cox-2 protein expression in KB cells.

Cox-2 expression were determined by Western blot analysis. The levels of Cox-2 protein expression were significantly decreased by boiled extracts(A) and Methanol extracts(B) of *Lepisorus thunbergiana*. Actin was probed to determine the evenness of the loading protein extract from each treatment.

IV. 고 찰

COX는 arachidonic acid를 prostaglandins로 전환시키는 rate-limiting enzyme이며 두 개의 isoform을 가지며 COX-1과 COX-2이다. COX-1은 대부분의 조직에서 발현되며 염증인자가 퍼지지 않도록 혈액을 응고시키고 피가 잘 통하지 않게 하고 혈관을 수축시키는 물질을 만들어낸다. 그리고 위점막이 상하지 않게 점막 보호물질을 형성한다(Vane J, 1994). 그와는 다르게 COX-2는 염증과 통증에 관계가 있고, 염증을 유발하는 물질인 prostaglandin이 생성되게 하며, 혈관을 확장하는 기능이 있다(Muller-Decker K 등, 1999). 특히 COX-2 단백질과 mRNA의 발현은 mitogens, cytokines, growth factor 와 tumor promoter에 의해 형성되어, 다양한 사람의 악성종양을 증가시키며 암 발전에 중요한 역할을 하는 것으로 보고되었다.(Hida T 등, 1998; Ristimaki A 등, 1997; Uefuji K 등, 2000; Ohno R 등, 2001). 그러나 항암의 약물치료를 하는 경우 COX-1와 COX-2 모두 억제하게 되어 COX-1의 기능이 없어져 장막 손상과 같은 부작용을 초래하기 쉽다. 따라서 암발전에 영향을 미치는 COX-2만을 선택적으로 억제시킬 수 있는 방법을 모색한다면 COX-1의 감소에 따른 부작용을 없애주면서 효과적으로 암이나 염증반응을 방지할 수 있을 것이다(Parrett ML 등, 1997; Zimmermann KC 등, 1999).

따라서 본 연구에서 KB 구강암 세포에 일엽초 열 수 추출물과 메탄올 추출물을 다양한 농도로 처리한 결과 COX-2 단백질의 발현 양상이 열 수 추출물에서는 COX-2의 발현이 각각의 농도에서 모두 저해되어 발현되지 않음을 관찰할 수 있었다(Fig 3A). 그리고 메탄올 추출물에서도 100 μ g/ml, 200 μ g/ml와 400 μ g/ml을 처리했을 때 모두 COX-2의 발현이 저해됨을 관찰할 수 있었으며 특히 100 μ g/ml의 농도에서 가장 효과적으로 COX-2의 발현이 억제되는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 3B). 최근 들어 상대적으로 부작용이 적은 것으로 알려져 왔고 항암효과를 입증하고 전래의 천연약용식물의 성분을 추출, 정제하여 암세포에 작용하는 항암활성 정도를 검색하고 확인하는 연구들이 매우 활발하게 진행되고 있는데(DK Lee 등, 1998; 이영훈 등, 2000), 본 연구의 결과는 그동안 잘 알려지지 않았던 일엽초가

구강암을 예방하며, 치료할 수 있는 가능성을 보여준다.

또한 최근 연구는 COX-2가 암생성과 진행 과정에서 여러 잠재적인 기작에 관여하고 세포사멸 억제유전자인 bcl-2의 활성화를 도와 세포사멸을 억제한다 하였다 (Tsuji M 등, 1998). 유전자 전이에 의해 Cox-2 발현이 증가된 rat 장 세포들이 butyrate 유도 세포 괴사에 있어서 훨씬 더 잘 저항하였으며 부가적인 불특정 Cox inhibitor인 sulindac sulfide에 의한 세포 괴사를 볼 수 있었다는 보고도 있었다. 그리고 COX-2는 암침습에 필요한 metalloprotease를 활성화시켜 암세포의 침습 능력을 증가시키며(Tsuji M 등, 1997), 다양한 혈관생성 요소들을 합성함으로써 암생성을 위한 혈관생성을 촉진시켜 암의 진행을 더욱 더 증가시키는 요인이 된다고 보고하였다(Tsuji M 등, 1995). 이러한 보고에 따라 일엽초를 응용하여 종양 억제 기전으로 발암물질 활성화의 억제, 세포 증식의 억제, apoptosis의 유발 등에 효과가 있는지 더욱 더 연구해야할 것이며 또한 일엽초의 항침습 작용에 대한 평가도 시행해야 할 것이다.

본 연구에서는 그 중 우선적으로 시행한 세포사멸 효과를 MTS 방법을 이용하였으며, 일엽초 추출물은 추출하는 방법에 따라 다시 열 수 추출물과 메탄올 추출물 나누어 세포독성을 측정하였다. 그 결과, 일엽초 추출물들을 농도 별로 투여한 KB 세포주 실험군에서는 처리시간이 지날수록 그 효과가 낮아짐을 관찰할 수가 있었으나 일엽초 추출물들의 다양한 농도에서 증식능의 유의한 농도 의존성 감소를 보였다. 그리고 일엽초 열 수 추출물과 메탄올 추출물에 의한 MTS 세포독성 결과를 간단히 비교해 보면, 일반적으로 메탄올 추출물에 의한 세포독성의 결과가 더 우세한 것으로 관찰되었다.

이는 명확한 일엽초의 항암효과를 입증하는 결과로 보였으나 단지 본 연구에서는 KB cell만을 실험하였기 때문에 앞으로 다양한 사람 암세포(in vitro)와 실험동물(in vivo)에 실시하여 항암테스트를 시행할 필요가 있을 것으로 사료된다.

본 연구 결과를 토대로 천연약용식물 중의 하나인 일엽초 추출물은 cox-2를 억제하고 암세포에 효과적으로 세포독성을 가지는 것으로 보아 항암물질로서의 가능성을 가지고 있다고 판단한다.

V. 참 고 문 헌

박승오, 신효근, 김오환: MTT법을 이용한 사람 골육종과 상피암 세포주들에 대한 항암제 감수성 검사. 대한악안면성형외과학회지 13:391, 1991.

서경성, 김여갑 : 천연약제 Momordin의 구강암(KB) 세포주에 대한 항암작용기전에 관한 연구. 대구외지 27(3): 209-213, 2001

이영훈, 김여갑, 김정희 : 구강암에 대한 약용식물 추출물의 항암효과에 관한 연구. 대한구강악안면외과학회지 26: 53-58, 2000.

이종환, 김명진 : 구강편평세포암 세포주에서의 cisplatin 과 5-fluorouracil의 항암 감수성의 측정. 대한구강악안면외과학회지 24: 165-171, 1998.

이은진, 김명진, 명훈 : 선택적 COX-2 저해를 통한 구강암세포주 KB의 침습성 변화에 관한 예비연구. J Kor. Oral Maxillofac. Surg. 33: 103-108, 2007.

Avi Khafif, Shahar LA, Akiva V, Itai B, Alex S, Vicki K, Sasha H, Rami BY, Curcumin: a potential radio-enhancer in head and neck cancer. Laryngoscope 119: 2019-2026, 2009.

DK Lee, BS Kim, SG Lee, HJ Gwon, EY Moon, HS Hwang, SK Seong, MS Lee, MJ Lim, HJ Sung, DH Shin, SJ Yoon, CH Yang Momordins inhibit both AP-1 function and cell proliferation. Anticancer Research 18: 119-124, 1998.

Hida T, Yatabe Y, Achiwa H, et al : Increased expression of cyclooxygenase 2 occurs frequently in human lung cancers, specifically in adenocarcinomas. *Cancer Res* 58: 3761-3764, 1998.

Kish JA, Drelichman A, Jacobs J : Clinical trial of cisplatin and 5-fluorouracil infusion as initial treatment of advanced squamous cell carcinoma of the head and neck. *Cancer Treat Res* 66: 471-474, 1982.

Muller-Decker K, Scholz K, Marks F and Furstenberger G. Differential expression of prostaglandin H synthase isozymes during multistage carcinogenesis in mouse epidermis. *Mol Carcinog.* 12:31-41, 1999.

Masferrer JL, Zweifel BS, Manning PT et al. Selective inhibition of inducible cyclooxygenase-2 in vivo is antiinflammatory and nonulcerogenic. *Proc Natl Acad Sci USA* 91(*): 3228, 1994.

Ohno R, Yoshinaga K, Fujita T, et al. Depth of invasion parallels increased cyclooxygenase-2 levels in patients with gastric carcinoma. *Cancer.* 91: 1876-1881, 2001.

Parrett ML, Harris R, Joarder FS, Ross MS, Clausen KP and Robertson FM: Cyclooxygenase-2 gene expression in human breast cancer. *Int J Oncol* 10: 503-507, 1997.

Ristimaki A, Honkanen N, Jankala H, Sipponen P and Harkonen M: Expression of cyclooxygenase-2 in human gastric carcinoma. *Cancer Res* 57: 1276-1280, 1997.

Simon LS. Actions and toxicity of nonsteroidal antiinflammatory drugs. *Curr Opin Rheum* 8: 169, 1996.

Tsuji M, DuBois RN. Alterations in cellular adhesion and apoptosis in epithelial cells overexpressing prostaglandin endoperoxide synthase 2. *Cell*. 83: 493–501, 1995.

Tsuji M, Kawano S, Tsuji S, et al. Cyclooxygenase regulates angiogenesis induced by colon cancer cells. *Cell*. 93: 705–716, 1998.

Tsuji M, Kawano S, DuBois RN. Cyclooxygenase-2 expression in human colon cancer cells increases metastatic potential. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 94: 3336–3340, 1997.

Tsai LC, Hung MW, Yuan CC, Chao PL, Jiang SY, Chang GG, Chang TC. : Effects of tamoxifen and retinoic acid on cell growth and c-myc gene expression in human breast and cervical cancer cells. *Anticancer Res*. 17(6D):4557–62, 1997.

Uefuji K, Ichikura T, Mochizuki H. Cyclooxygenase-2 expression is related to prostaglandin biosynthesis and angiogenesis in human gastric cancer. *Clin Cancer Res*. 6: 135–138, 2000.

Vane J. Towards a better aspirin. *Nature* 367: 215–216, 1994.

Waddell WR, Ganser GF, Cerise EJ et al. Sulindac for polyposis of the colon. *Am J Surg*. 157: 175, 1989.

Williams CW, DuBois RN, Prostaglandin endoperoxide synthase: why two isoforms? *AM J Physiol* 270: G393, 1996.

Zimmermann KC, Sarbia M, Weber AA, Borchard F, Gabbert HE and Schror K: Cyclooxygenase-2 expression in human esophageal carcinoma. *Cancer Res* 59: 198-204, 1999.

저작물 이용 허락서

학 과	대체의학과	학 번	20088635	과 정	석사
성 명	한글: 장 영 희 한문 : 張 永 姬 영문 : Young-Hee, Jang				
주 소	500-160, 광주 북구 일곡동 삼호아파트 103-1805				
연락처	016-636-0800	E-MAIL	heeya9339@hanmail.net		
논문제목	한글 : 일엽초 열 수 추출물과 메탄올 추출물에 의한 항암효과에 대한 연구				
	영어 : The study of anti-cancer effects by boiled and methanol extracts of <i>Lepisorus thunbergians</i>				

본인이 저작한 위의 저작물에 대하여 다음과 같은 조건아래 조선대학교가 저작물을 이용할 수 있도록 허락하고 동의합니다.

- 다 음 -

1. 저작물의 DB구축 및 인터넷을 포함한 정보통신망에의 공개를 위한 저작물의 복제, 기억장치에의 저장, 전송 등을 허락함
2. 위의 목적을 위하여 필요한 범위 내에서의 편집·형식상의 변경을 허락함.
다만, 저작물의 내용변경은 금지함.
3. 배포·전송된 저작물의 영리적 목적을 위한 복제, 저장, 전송 등은 금지함.
4. 저작물에 대한 이용기간은 5년으로 하고, 기간종료 3개월 이내에 별도의 의사 표시가 없을 경우에는 저작물의 이용기간을 계속 연장함.
5. 해당 저작물의 저작권을 타인에게 양도하거나 또는 출판을 허락을 하였을 경우에는 1개월 이내에 대학에 이를 통보함.
6. 조선대학교는 저작물의 이용허락 이후 해당 저작물로 인하여 발생하는 타인에 의한 권리 침해에 대하여 일체의 법적 책임을 지지 않음
7. 소속대학의 협정기관에 저작물의 제공 및 인터넷 등 정보통신망을 이용한 저작물의 전송·출력을 허락함.

동의여부 : 동의(O) 반대()

2009년 10월 15일

저작자 : 장 영 희 (서명 또는 인)

조선대학교 총장 귀하

