

Eucalyptus와 Geranium이 암세포성장에 미치는 효과

김 광 혁

고신대학교 의과대학 미생물학교실

Effects of Eucalyptus and Geranium on Tumor Cell Growth

Kwang Hyuk Kim

Department of Microbiology, Kosin University College of Medicine, Busan, Korea

Abstract

Background : Aromatherpy is the controlled use of essential oils to promote health and well-being. The most frequent form of using the essential oils is through massage; however, essential oil can be used in a variety of other ways such as inhalation, vaporization, in the bath and through a compress. **Methods :** In this work we have investigated the effect of eucalyptus and geranium on the anti-proliferative activities for tumor cell lines. **Results :** The direct cytotoxicity of essential oils or essential oil-combined chemotherapeutic agents for tumor cells, K562 was observed. At certain doses (eucalyptus; 10, 100 μ g) of the essential oils, K562 cells were increased in comparison with the control group. The cell growth of geranium-combined 5-FU groups was lower than that of 5-FU single group. But the cell proliferation of essential oil-combined groups was higher than that of antitumor agent single group at the certain doses (mitomycin C or 5-FU + eucalyptus, mitomycin C + Geranium). **Conclusions :** These kinds of essential oils showed the usefulness in cancer patients may demand some deliberations.

Key words : Eucalyptus, Geraniumm, Mitomycin C, 5-FU, Cytotoxicity, Tumor cell

서 론

아로마는 그리스어 “향신료(spice)”에서 파생된 말로 오늘날에는 일반적으로 “향”을 의미한다. 아로마 에센셜 오일은 식물에서 추출한 화학물질과 호르몬 성분으로 인체에 사용 가능한 오일은 약 300여 종 이상이 있으며 그중 약 60여 종의 오일이 이용되고 있다. 이들 오일 중 eucalyptus는 *Eucalyptus globulus*라는 식물의 잎에서 추출한 오일로서 thuihone, carvone, menthrone,

atlantone, vetivone, pino cam phone, piperitone, cryptone, ververone, jasmone, fenchone, pulegone 등의 복합성분으로 이루어져 있으며 항박테리아, 항바이러스, 해열작용, 항염증작용 등을 나타내는 것으로 알려져 있는, 케톤 군에 속하는 오일이다. Geranium은 *Pelargonium graveolens*라는 식물의 잎에서 추출한 오일로서 geraniol, α -terpineol, terpineol-4, sabinol, linalol, thuyanol 등의 복합성분으로 이루어져 있으며 항박테리아, 항바이러스 작용, 상처치유, 염증완화를 나타내는 것으로 알려져 있는, 알코올 군에 속하는 오일이다¹⁾.

본 연구에서는 eucalyptus와 geranium이 암세포에 미치는 효과를 보기 위하여 단독 혹은 기존 항암제와 함께 사용하였을 때의 암세포에 대한 세포 독성 효과의 변화

교신저자 : 김 광 혁
주소: 602-703, 부산광역시 서구 암남동 34번지
고신대학교 의과대학 미생물학교실
TEL. 051-990-6422 FAX. 051-990-3081
E-mail: ghkim@ns.kosinmed.or.kr

· 본 연구는 고신대학교 의과대학 연구비 일부 지원에 의해 이루어짐

를 관찰하였다.

재료 및 방법

1. 연구재료

1) 암세포주 배양

사람 erythroleukemia의 세포주인 K562세포(KCLB 16243)를 25 cm² 플라스틱 플라스크(Falcon, Oxnard, USA)에 10 % 우태아혈청(fetal calf serum, FCS, Boehringer Mannheim, Mannheim, Germany), 2 mM L-glutamine(Gibco, Grand Island, USA), 100 IU /ml penicillin, 100 mg/ml streptomycin, 0.25 µg/ml amphotericin B(Gibco, Grand Island, USA)를 포함시킨 RPMI 1640 배지(complete RPMI 1640)로 부유 배양시켜 유지시켰다.

2) 시약

Eucalyptus와 geranium 에센셜 오일은 Razzmatazz Ltd.(England)의 제품으로서 Eucalyptus (Code No. AD01)과 Geranium (Code No. AD08)을 사용하였고 mitomycin C는 Kyowa Kogyo Co.(Japan), 5-fluorouracil (이하 5-FU)은 Sigma Co.(USA)의 제품을 사용하였다.

2. 연구방법

1) 암세포에 대한 세포 독성 효과

K562세포를 96 wells plate에 well당 5,000개(0.1 ml) 씩 분주하여 24시간 배양한 후 에센셜 오일 단독처리의 경우 각각 ml 당 10 µg, 100µg, 1 mg만을 투여하였으며 여기에 기존 항암제인 mitomycin C 0.1 µg, 5-fluorouracil 1 µg (ml 당)을 추가하여 복합 작용의 효과를 보았다. 약제를 작용시킨 후 plate는 5% CO₂, 37°C 그리고 충분한 습도가 유지되고 있는 배양기에 2일 동안 배양하였다. 2일 배양 후에 plate의 각 well에 Cell Counting Kit-8 (Dojindo Laboratories, Kumamoto, Japan) 액 10 µl 씩을 적하하고 4시간 추가 배양하였다. Optical density (OD)는 microplate reader (Model 550 microplate reader, Bio-Rad, Richmond, USA)를 이용하여 450 nm에서 측정하였다.

2) 통계학적 분석

실험성적은 평균 또는 평균±표준편차로 나타냈으며 각 군 간의 통계학적 검정에는 Student's t-test를 사용하고 P값이 0.05 미만일 때 유의 있는 차로 간주하였다.

결 과

K562세포에 eucalyptus나 geranium을 노출시킨 후 나타나는 세포독성효과는 비 노출군인 대조군에 비하여 OD상의 감소를 보임으로서 *in vitro*에서의 시료노출에 의한 세포독성 효과를 나타냈다. 즉, 세포독성은 K562세포 5x10³개에 ml당 eucalyptus를 10 µg, 100 µg, 1 mg 작용시켰을 때 각각 2.38, 2.45, 1.88을 나타낸 반면 대조군에서는 2.14를 나타냄으로서 고농도에서만 유의한 세포독성효과를 보였다. K562세포에 ml당 geranium을 10 µg, 100 µg, 1 mg 작용시켰을 때 각각 2.12, 1.76, 0.16을 나타냄으로서 100 µg, 1 mg군에서 유의한 세포독성효과를 보였다(P<0.01)(Fig. 1).

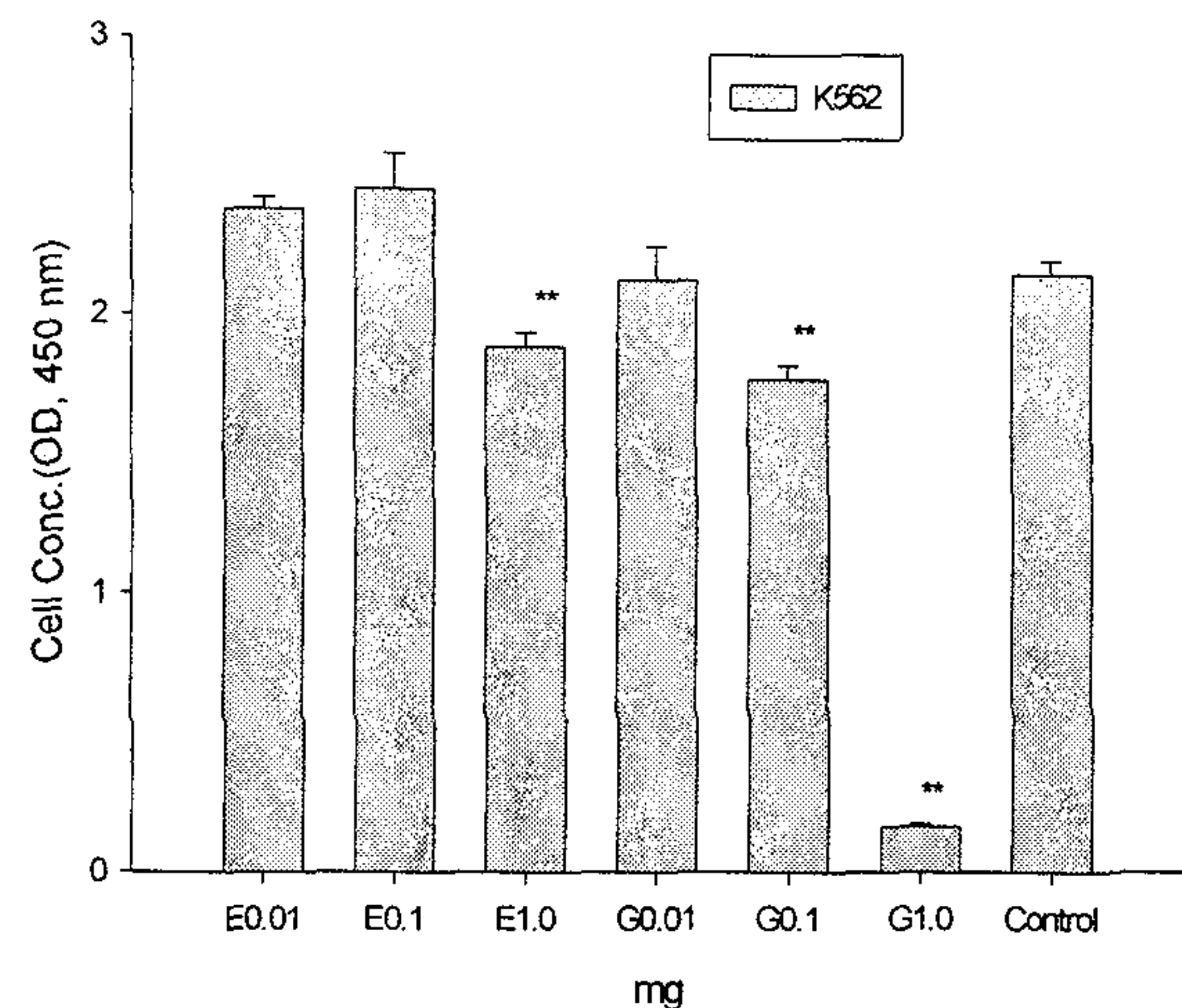


Fig. 1. Cytotoxic effect of Eucalyptus (E) or Geranium (G) on K562 cells. K562 cells were exposed with Eucalyptus or Geranium for 48 hrs. Data are mean ± SD. Cytotoxicity was determined as described in materials and methods. ** Significantly different from the corresponding control value (P<0.01).

K562세포에 항암제 mitomycin C를 작용시켰을 때는 1.07를 나타냈으며 mitomycin C와 함께 eucalyptus를 상기와 동량 작용시켰을 때 2.38, 2.38, 0.45를 나타내어 eucalyptus가 고농도로 첨가된 군을 제외하고는 오히려 암세포수를 증가시키는 결과를 보였다(Fig. 2). K562세포에 항암제 5-FU를 작용시켰을 때는 1.51를 나타냈으

며 5-FU와 함께 eucalyptus를 상기와 동량 작용시켰을 때 1.58, 1.72, 1.13을 나타내어 eucalyptus에 의한 세포독성효과는 eucalyptus 고농도를 제외하고는 5-FU 단독 노출 때보다 낮게 나타남으로서 5-FU의 세포독성효과를 감소시켰다(Fig. 3).

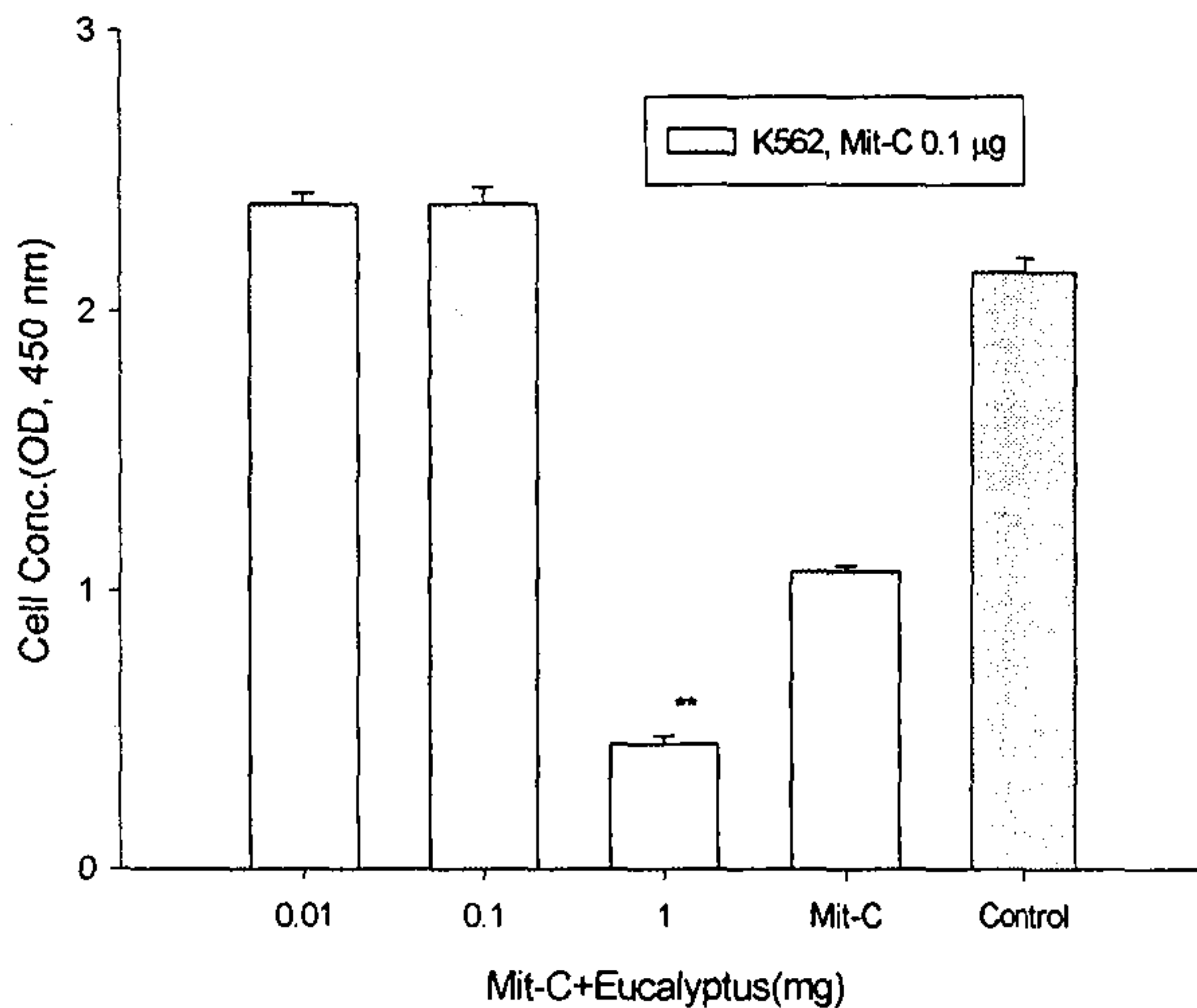


Fig. 2. Cytotoxic effect of mitomycin-C (Mit-C) and Eucalyptus on K562 cells. K562 cells were exposed with Mit-C and Eucalyptus for 48 hrs. Data are mean $\pm$ SD. Cytotoxicity was determined as described in materials and methods. ** Significantly different from Mit-c control value ($P < 0.01$).

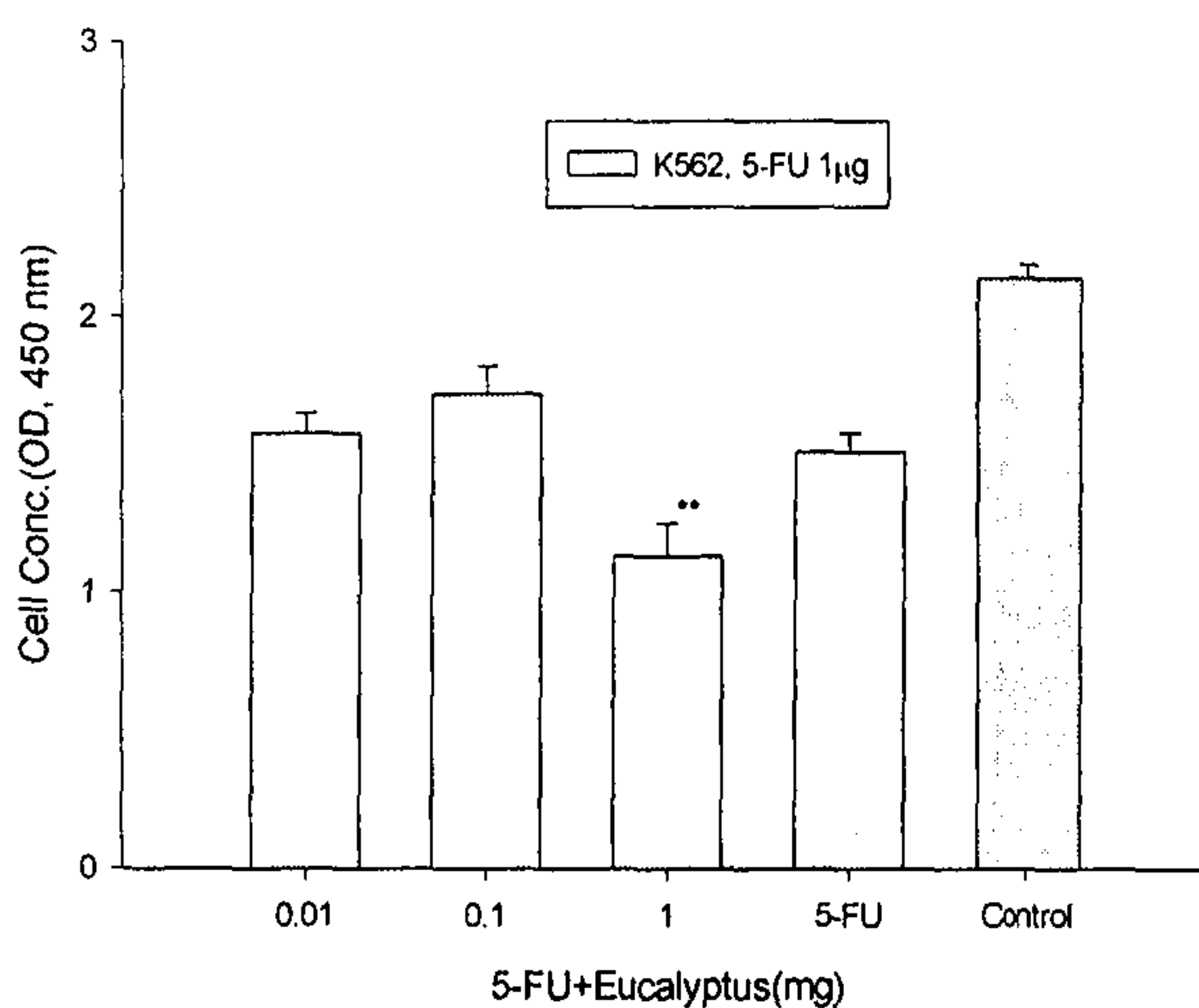


Fig. 3. Cytotoxic effect of 5-FU and Eucalyptus on K562 cells. K562 cells were exposed with 5-FU and Eucalyptus for 48 hrs. Data are mean $\pm$ SD. Cytotoxicity was determined as described in materials and methods. ** Significantly different from 5-FU control value ($P < 0.01$).

K562세포에 항암제 mitomycin C를 작용시켰을 때는 1.07를 나타냈으며 mitomycin C와 함께 geranium을 상기와 동량 작용시켰을 때 1.23, 1.01, 0.18를 나타내어 geranium이 고농도로 첨가된 군은 암세포의 발육을 저지

하였지만 저농도의 노출에서는 오히려 암세포수를 증가시키는 결과를 보였다(Fig. 4).

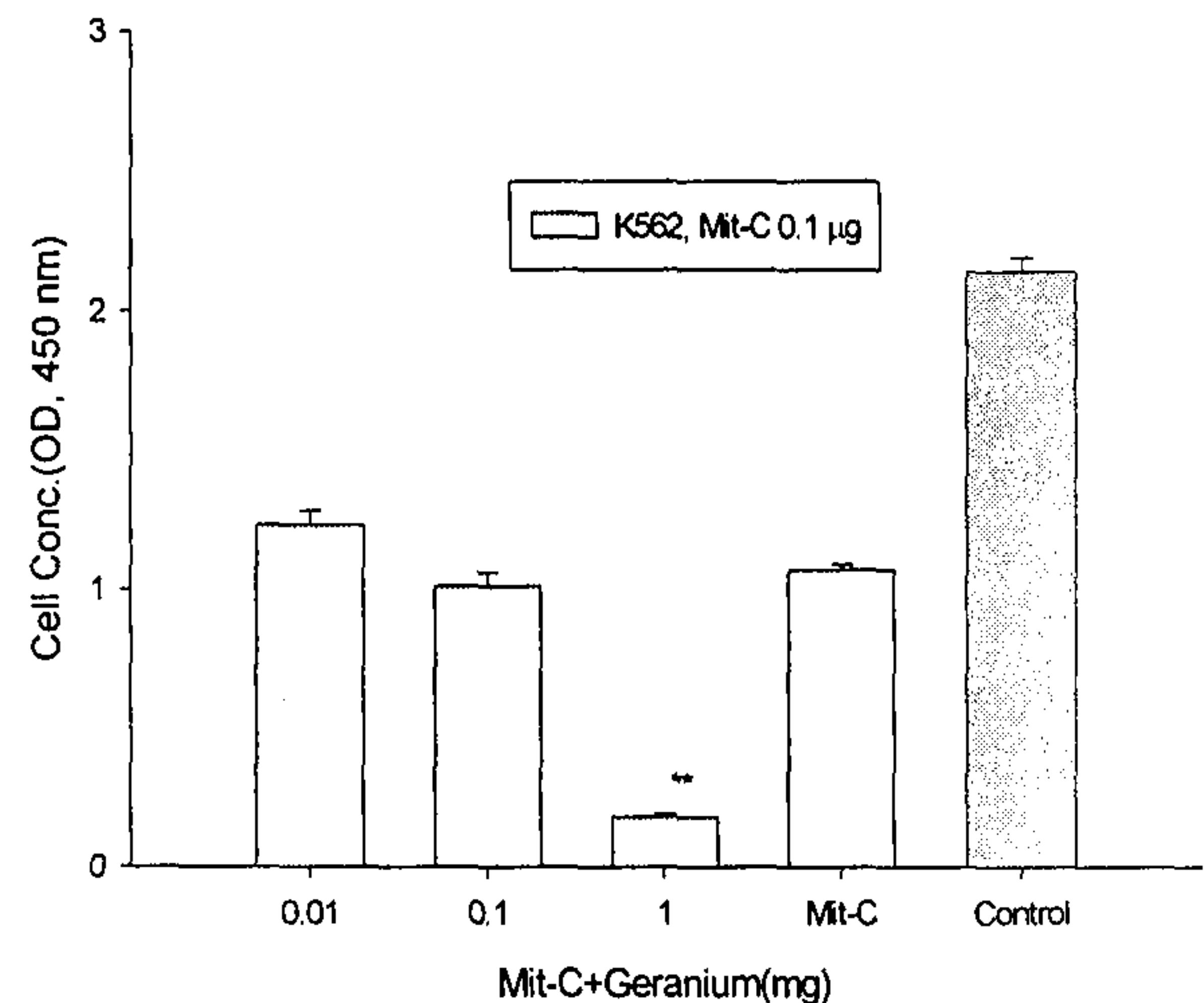


Fig. 4. Cytotoxic effect of mitomycin-C (Mit-C) and Geranium on K562 cells. K562 cells were exposed with Mit-C and Eucalyptus for 48 hrs. Data are mean $\pm$ SD. Cytotoxicity was determined as described in materials and methods. ** Significantly different from Mit-c control value ($P < 0.01$).

K562세포에 항암제 5-FU를 작용시켰을 때는 1.51를 나타냈으며 5-FU와 함께 geranium을 상기와 동량 작용시켰을 때 1.12, 1.09, 0.19를 나타내어 geranium의 첨가에 의한 세포독성효과는 모든 군들에서 증가로 나타났다(Fig. 5).

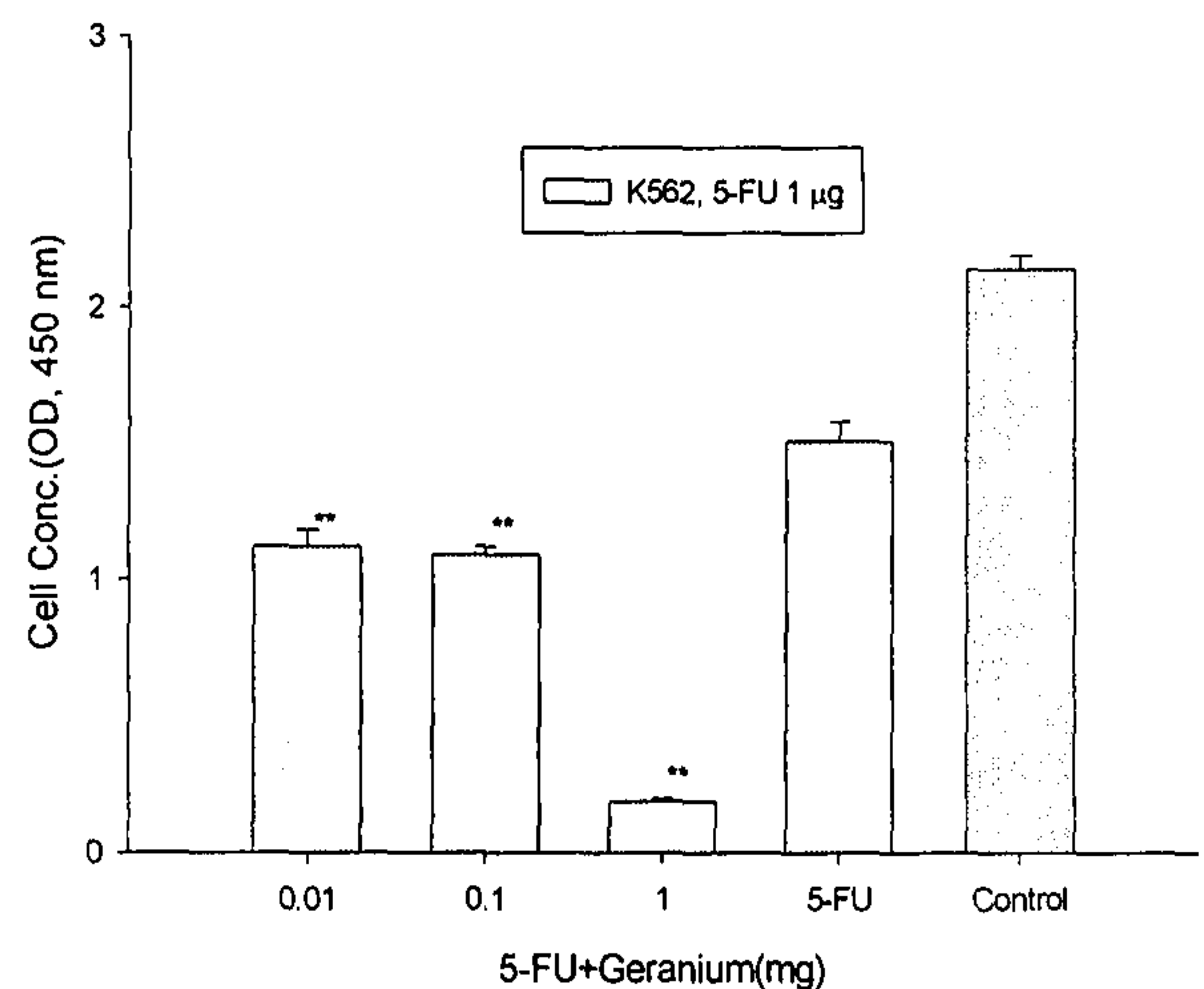


Fig. 5. Cytotoxic effect of 5-FU and Geranium on K562 cells. K562 cells were exposed with 5-FU and Eucalyptus for 48 hrs. Data are mean $\pm$ SD. Cytotoxicity was determined as described in materials and methods. ** Significantly different from 5-FU control value ($P < 0.01$).

고 찰

아로마테라피란 건강과 삶의 만족을 증진시키기 위하여 에센셜 오일을 적합하게 사용하는 것을 말한다. 에센셜 오일의 가장 빈번한 이용은 마사지나 목욕시 피부를 통한 흡수방법이 있지만 그 외에도 후각, 호흡, 입을 통한 섭취방법 등이 적용되고 있다. 아로마 에센셜 오일이란 식물에서 추출한 화학물질과 호르몬 성분의 천연 식물향으로 부작용이 거의 없고 정신적 안정, 피부미용, 공기정화 등에 탁월한 효능이 있으며 향기요법은 향의 독특한 성분을 이용한 자연치료의 개념으로 이용되고 있다. 에센셜 오일은 각종 식물의 꽃, 잎, 열매, 줄기, 뿌리 등에 따라 추출방법이 다양하며 추출 부위에 따라 인체에서의 치료 효능도 다르기 때문에 효능별 오일의 종류 또한 여러 가지이다. 일부 에센셜 오일이 면역계의 유지, 억제, 자극을 위한 조절자로서 작용하고 있으며 류마티스 관절염^{2,3)}, 혈관질환^{4,6)}, 종양⁷⁻⁹⁾, 스트레스¹⁰⁾, 염증^{11,12)}, 통증^{13,14)}, 정신장애¹⁵⁾, 감염질환¹⁶⁾과 같은 여러 질환들의 상태를 호전시키는 데에 어떻게 작용하는 것인가에 대한 연구들이 보고 되고 있다¹⁷⁾. Visioli¹⁸⁾ 등은 LPS를 미리 노출시킨 마우스 대식세포에 알로마 오일인 oleuropein을 작용시키면 nitrite생성이 증가하고 nitric oxide 생성효소의 활성이 상승하는 것을 관찰하여 내독소가 관여된 생체반응에서 대식세포 매개성 반응이 증강되어 결과적으로 세포성 혹은 생체방어에 유익할 수 있음을 보고하였다. Fujiwara 등¹⁹⁾과 Shibata 등²⁰⁾은 고압에 의한 스트레스를 나타낸 마우스에 향료를 노출시켰을 때 면양적혈구에 대한 항면양적혈구 프라크형성세포수의 정상회복과 흉선퇴화현상이 정상화되는 것을 관찰함으로써 스트레스에 의해서 유도된 면역억제가 향료에 의해서 회복됨을 보고하였다.

사람 leukemia세포주인 K562세포에 있어서 두 종류의 에센셜 오일 고농도에서만 성장억제효과를 보였으며 geranium의 경우가 더 크게 나타났다. K562세포에 작용시킨 저농도의 eucalyptus는 오히려 암세포의 성장을 증가시킴으로서 실제 오일을 암환자에 적용할 때 고려해야 할 점으로 생각된다. 기존으로 항암 요법에서 사용되고 있는 약제와 복합으로 eucalyptus를 작용시켰을 때 암세포 성장 억제능을 보기 위하여 K562세포에 mitomycin C와 eucalyptus를 함께 작용시켰을 때 mitomycin C 단독작용에 비하여 eucalyptus를 포함시킨

mitomycin C군들에서 eucalyptus 고농도군에서만 유의하게 성장 억제능을 나타냈으며 eucalyptus 저농도군들에서는 오히려 대조군보다 세포성장이 높게 나타났다. 5-FU와 함께 작용시켰을 때에도 고농도에서만 유의한 성장억제효과를 보였으나 5-FU 단독군보다는 세포성장이 증가하였다. 이 또한 기존 항암제를 투여하고 있는 환자에서 주의를 요하는 부분이라 생각된다. 기존으로 항암 요법에서 사용되고 있는 약제와 복합으로 geranium을 작용시켰을 때의 암세포 성장 억제능을 보기 위하여 K562세포에 mitomycin C와 geranium을 함께 작용시켰을 때 mitomycin C 단독작용에 비하여 geranium을 포함시킨 mitomycin C군들에서 geranium 고농도군에서만 유의하게 성장 억제능을 보인 것은 eucalyptus 노출군들에서 보이는 결과와 유사였다. 5-FU와 함께 작용시켰을 때에는 geranium 저농도와 고농도군 모두에서 5-FU 단독군보다 세포성장이 억제되었다. 이 경우는 복합작용의 긍정적인 면을 보인 결과로 보인다.

결론

암세포에 아로마 에센셜 오일인 eucalyptus나 geranium을 노출시켰을 때 암세포독성에 미치는 효과를 관찰하였다.

암세포에 대한 세포독성효과는 오일의 종류에 따라 상당한 차이를 나타냈으며 K562세포의 경우 오일의 일정농도에서 암세포의 증식이 더욱 활발해짐을 보였다. 기존항암제와 오일의 중복노출에서도 오일의 농도에 따라서는 항암제의 단독 노출 때보다 암세포의 성장이 증가되어 나타났다. 따라서 암환자에 에센셜 오일을 적용할 때는 보다 신중함이 요구된다.

참고문헌

1. 오홍근: 아로마테라피 핸드북, 서울, 양문, 2002, 15-184
2. Sharma JN, Ishak FI, Yusof APM, Srivastava KC: Effects of eugenol and ginger oil on adjuvant arthritis and the kallikreins in rat. Asia Pacific J Pharmacol 12: 9-14, 1997
3. Osborn CE, Barlas P, Baxter GD, Barlow JH: Aromatherapy: a survey of current practice in the management of rheumatic disease symptoms. Complement Therapies Med 9: 62-67, 2001
4. Visioli F, Galli C: Oleuropein protects low density lipoprotein

- from oxidation. Life Sciences 55: 1965-1971, 1994
5. Visioli F, Bellomo G, Montedoro G, Galli C: Low density lipoprotein oxidation is inhibited in vitro by olive oil constituents. Atherosclerosis 117: 25-32, 1995
6. Ghanta VK, Hiramoto RN, Solvason B, Spector NH: Influence of conditioned natural immunity on tumor growth. Ann New York Aca Sciences 496: 637-646, 1987
7. Solvason HB, Ghanta VK, Hiramoto RN : Conditioned augmentation of natural killer cell activity. Independence from nociceptive effects and dependence on interferon-beta. J Immunol 140: 661-665, 1988
8. Evans B: An audit into the effects of aromatherapy massage and the cancer patient in palliative and terminal care. Complement Therapies Med 3: 239-241, 1995
9. Kite SM, Maher EJ, Anderson K, Young T, Young J, Wood J, Howells N, Bradburn J: Development of an aromatherapy service at a cancer center. Palliative medicine 12: 171-180, 1998
10. Yamada K, Miura T, Mimaki Y, Sashida Y: Effect of inhalation of chamomile oil vapor on plasma ACTH level in ovariectomized-rat under restriction stress. Biol Pharma Bulletin 19: 1244-1246, 1996
11. Lyss G, Schmidt TJ, Merfort I, Pahl HL: Helenalin, an anti-inflammatory sesquiterpene lactone from Arnica, selectively inhibits transcription factor NF-kappa B. Biol Chemistry 378: 951-961, 1997
12. Bensouilah J: Psoriasis and aromatherapy. Int J Aromatherapy 13: 2-8, 2003
13. Hiramoto RN, Ghanta VK, Rogers CF, Hiramoto NS: Conditioning the elevation of body temperature, a host defensive reflex response. Life Sciences 49: 93-99, 1991
14. Howarth AL: Will aromatherapy be a useful treatment strategy for people with multiple sclerosis who experience pain ?. Complement Therapies in Nursing & Midwifery 8: 138-141, 2002
15. Fujiwara R, Komori T, Yokoyama M: Psychoneuroimmunological benefits of aromatherapy. Int J Aromatherapy 12: 77-82, 2002
16. Yu J, Lei J, Cai X, Zou G: Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of Scutellaria barbata. Phytochemistry 65: 881-884, 2004
17. Alexander M: Aromatherapy and immunity: How the use of essential oils aids immune potentiality. Int J Aromatherapy 12: 49-56, 2002
18. Visioli F, Bellosta S, Galli C: Oleuropein, the bitter principle of olives, enhances nitric oxide production by mouse macrophages. Life Sciences 62: 541-546, 1998
19. Fujiwara R, Komori T, Noda Y, Kuraoka T, Shibata H, Shizuya K, Miyahara S, Ohmori M, Nomura J, Yokoyama MM: Effects of a long-term inhalation of fragrances on the stress-induced immunosuppression in mice. Neuroimmunomodulation 5: 318-322, 1998
20. Shibata H, Fujiwara R, Iwamoto M, Matsuoka H, Yokoyama MM: Immunological and behavioral effects of fragrance in mice. Int J Neurosci 57: 151-159, 1991