

TSPE16350-047-12

## 극지해양생물 추출물의 항암활성 효능 연구



한양대학교

# 제 출 문

극지연구소장 귀하

본 보고서를 “극지생물 유래 유용 대사체 활용기반 구축” 과제의 위탁연구  
“극지해양생물 추출물의 항암활성 효능 연구” 과제의 최종보고서로 제출합니다.



2017. 01.

(본과제) 총괄연구책임자 : 임 정 한

위탁연구기관명 : 한양대학교 산학협력단

위탁연구책임자 : 정 희 경

위탁참여연구원 : 왕 성 은

“ : 고 승 연

“ : 이 영 림

## 보고서 초록

위탁연구과제명	극지해양생물 추출물의 항암활성 효능 연구 Studies on the anti-cancer effect of polar marine organism extracts				
위탁연구책임자	정 희 경	해당단계 참여연구원수	4	해당단계 연구비	25,000,000원
연구기관명 및 소속부서명	한양대학교 산학협력단		참여기업명		
국제공동연구	상대국명 :		상대국연구기관명 :		
요약(연구결과를 중심으로 개조식 500자 이내)				보고서 면수	46
<p>극지해양생물 추출물의 항암활성 효능을 연구하기 위해 2013년 남극 Ross Sea에서 채집한 해양미생물시료 추출물 10 여 종을 교모세포종(GBM)과 급성전골수백혈병(APL) 세포주인 T98G와 NB4에 처리하여 항암활성을 측정하였음. 추출물 단독투여와 기존항암제와 추출물 병용투여 방법을 사용하였고, 모두 기존 항암제 단독처리 시 보다 같거나 높은 항암활성을 기대하였음. 항암활성 측정은 trypan blue 염색 후 계수, WST-8 assay, LDH assay를 사용하였음.</p> <p>NB4에서는 추출물 12종을 단독 또는 기존 항암제인 arsenic trioxide (ATO)와 병행 처리했으나, 기준인 ATO 단독처리 항암활성보다 같거나 높은 추출물이 없었음. T98G에서는 추출물 30여 종을 단독 처리하였을 때 기준인 기존 항암제 temozolomide (TMZ)보다 같거나 높은 추출물을 없었으나, 병행 처리 시 TMZ의 항암활성을 제고하는 추출물을 10여 종 동정함.</p> <p>향후 상세기전 및 생리활성물질의 규명 등 추가적인 연구가 필요하나 극지해양생물 유래 항암활성을 확인하는 의의가 있음.</p>					
색 인 어 (각 5개 이상)	한 글	교모세포종, 급성전골수백혈병, 항암활성, 단독투여, 병행투여, 삼산화비소, 테모졸로미드			
	영 어	glioblastoma (GBM), acute promyelocytic leukemia (APL), anti-cancer activity, single treatment, combination treatment, arsenic trioxide (ATO), temozolomide (TMZ)			

# 요 약 문

## I. 제 목

극지해양생물 추출물의 항암활성 효능 연구

## II. 연구개발의 목적 및 필요성

최근 구축된 극지연구 인프라를 활용하여 독자적인 극지해 해양생물 유래 대사체 다양성을 확보하고 활용연구 기반구축을 통하여 국가생명과학산업에 기여할 필요가 있음. 이를 위해 신규 극지 해양생물 대사체의 탐색을 통한 유용 의약품 물질개발을 목적으로 하며, 그 첫 단계로 극지 유래 추출물의 항암활성을 측정하고 항암활성 수준 규명을 목표로 함.

## III. 연구개발의 내용 및 범위

극지해양생물 추출물의 항암활성 효능을 연구하기 위해 2013년 남극 Ross Sea에서 채집한 해양미생물시료 추출물 10여 종을 교모세포종(GBM)과 급성전골수백혈병(APL) 세포주인 T98G와 NB4에 처리하여 항암활성을 측정하였음. 추출물 단독투여와 기존항암제와 추출물 병용투여 방법을 사용하였고, 모두 기존 항암제 단독처리 시보다 같거나 높은 항암활성을 기대하였음. 항암활성 측정은 trypan blue 염색 후 계수, WST-8 assay, LDH assay를 사용하였음.

## IV. 연구개발결과

NB4에서는 추출물 12종을 단독 또는 기존 항암제인 arsenic trioxide (ATO)와 병행 처리했으나, 기준인 ATO 단독처리 항암활성보다 같거나 높은 추출물이 없었음. T98G에서는 추출물 30여 종을 단독 처리하였을 때 기준인 기존 항암제 temozolomide (TMZ)보다 같거나 높은 추출물을 없었으나, 병행 처리 시 TMZ의 항암활성을 제고하는 추출물을 10여 종 동정함.

## V. 연구개발결과의 활용계획

상세기전 및 생리활성물질의 규명 등 추가적인 연구를 통해 특허 출원, 연구논문 게재를 기대함.

# SUMMARY

## I. Title

Studies on the anti-cancer effect of polar marine organism extracts

## II. Purpose and Necessity of R&D

It is necessary to contribute to the national biomedical industry through independent assurance of diversity of polar marine organism-derived metabolites and establishment of basis for the applied research. For this purpose, the ultimate goal of this project is set at developing useful medicinal substances through screening novel polar marine organism-derived metabolites. As a first step, this study aims to measure the anti-cancer activity of polar organism extracts and to identify the level of anti-cancer activity.

## III. Contents and Extent of R&D

In order to study the anticancer effect of polar marine organism extracts, 10 different extracts from marine microorganisms that were collected from Antarctic Ross Sea in 2013 were added to T98G and NB4 cell lines, which have been established from glioblastoma (GBM) and acute promyelocytic leukemia (APL) patients, respectively. Extracts were treated either alone or in combination with well-known anticancer drugs, expecting equal or higher anti-cancer activity than anticancer drugs that are in use clinically. Anti-cancer activity were assessed by counting cells after trypan blue staining, WST-8 assay or LDH assay.

## IV. R&D Results

In NB4 cells, 12 extracts were treated alone or with arsenic trioxide (ATO), but none of them showed equal or higher anti-cancer activity than ATO alone. In T98G cells, about 30 extracts showed neither equal nor better anti-cancer activity than temozolomide (TMZ) alone. However, when treated in combination with TMZ, 10 extracts showed equal or better anti-cancer activity than TMZ alone.

## V. Application Plans of R&D Results

Further studies such as to elucidate the detailed mechanism and to identify the bioactive substance(s) are required in order to apply for a patent or for publication.

# 목 차

제 1 장 서론 . . . . .	6
제 2 장 국내외 기술개발 현황 . . . . .	9
제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과 . . . . .	20
제 4 장 연구개발목표 달성도 및 대외기여도 . . . . .	41
제 5 장 연구개발결과의 활용계획 . . . . .	43
제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보 . . . . .	44
제 7 장 참고문헌 . . . . .	45



## 제1장 서론

### 1. 연구개발의 목표

본 과제는 “양극해 미래자원 탐사 및 활용기술 개발(K-POD)” 사업 내의 위탁과제로 “신규 극지 해양생물 대사체의 탐색을 통한 유용 의료용 물질 개발”을 최종목표로 한다[그림 1]. 본 위탁과제의 연구기간인 6개월 동안의 단기 목표는 “극지 유래 추출물의 항암활성 측정 및 항암활성 수준 규명”이다.

### 2. 연구개발의 필요성

세계적인 유용 생물자원에 대한 선점 확보경쟁이 심화됨에 따라 국가차원의 생물자원 확보가 필수적인데 우리나라는 최근 국가차원의 극지연구 인프라인 왜빙연구선 “아라온” 및 “장보고기지” 확보하여 극지해 해양생물 연구의 활성화를 위한 기반이 구축된 상태이다. 그러므로 구축된 극지연구 인프라를 활용하여 독자적인 극지해 해양생물 유래 대사체 다양성을 확보하고 활용연구 기반구축을 통하여 국가생명과학산업에 기여하고자 한다.

### 3. 연구개발의 범위

본 위탁연구과제에서 수행한 항암효능을 가진 극지생물 추출물의 탐색은 유용 의료용 물질 개발의 첫 단계다. 연구에 사용된 추출물은 2013년 남극의 Ross Sea에서 채취한 해양 미생물의 추출물로, 총괄과제 내 타 연구팀에서 채취, 동정, 배양, 추출물 준비 등의 오랜 과정을 거쳐 총 359 종의 추출물이 확보된 상태이다. 6개월의 연구기간 중 준비된 추출물이 추가로 준비될 경우 탐색을 하려고 했으나 미비로 진행하지 못하였다. 2016년 6월에 종료된 이전의 위탁연구과제를 통해 Ross Sea 해양미생물 추출물의 항암효능을 다형성아교모종 (glioblastoma, GBM)과 급성골수백혈병(acute promyelocytic leukemia, APL)의 두 가지 암 질환 유래 세포주에서 1, 2차 screening 하였고, 본 위탁연구과제에서는 이 중 10여 종 이상을 선별하여 추가로 단독투여 시의 효능을 검증할 뿐만 아니라, 나아가 기존의 항암제와 병용투여 시 항암효과가 제고되는지 검증하였다. 이상의 연구범위를 요약하면 아래 그림과 같다[그림 2].

<본(총괄)과제>

본 사업은  
국가생물공학산업의 Blue Ocean으로  
양극해 신규 해양생물을 대상으로  
**(i) 해양생물 탐사 및 신규 대사체 연구를 수행하고**  
**(ii) 생물공학적 활용을 위한 원천기술을 구축하여,**

극지 인프라를 활용한 독자적인 “극지바이오” 연구  
기반 확보 및 국가생물공학산업의 가치창출을 위한  
**미래지향적 사업**입니다.

[양극해 미래자원 탐사 및 활용기술 개발 (K-POD)  
사업내용 요약]

<위탁 과제>

본 위탁과제는  
“신규 극지 해양생물 대사체의 탐색을 통한  
**유용 의료용 물질개발**”을  
최종목표로 함

[본 위탁과제의 최종목표]



[그림 1] 연구개발의 목표





[그림 2] 연구개발의 범위



## 제2장 국내외 기술개발 현황

### 1. 국내외 동향

#### 가. 국외 기술, 기술동향

선진국에서의 미답지역 생물자원으로부터의 신약개발: 개념 정립의 단계이다.

쇄빙선, 대륙기지, 국가 간 공동연구 수행 등을 통해 극지 생물자원의 확보가 가능해졌으나, 현재까지 극지 생물자원으로부터 유래된 물질을 이용한 신약개발 사례는 없다. 남북극 생물자원 유래 활성화, 효용, 공정 등에 대한 특허는 1980년대부터 출원, 등록되기 시작했다.

#### 나. 국내 기술, 산업동향

국내에서의 미답지역 생물자원으로부터의 신약개발: 역시 개념 정립의 단계이다.

생물자원 유래 신약개발 관련하여 국내에서는 천연물신약개발에 기초가 되는 천연물 생리활성 탐색기술과 약리작용 및 독성연구 등에 대한 기초연구가 선진국 대비 약간 미흡한 편이나, 최근 남극 과학기지(세종, 장보고) 설치 및 쇄빙연구선(아라온호) 활용 등으로 양극해 생물자원 확보가 가능하며, 특히 한국해양과학기술원 무설 극지연구소를 중심으로 지속적이고 체계적인 자원 확보 및 관리가 진행되고 있다. 그러므로 현재 선진국과 유사한 개념 정립의 단계에 있으나 가능성과 잠재력은 매우 높다고 사료된다.

#### 다. 특허 동향: 극지 생물자원 관련 특허 분석

특허 동향을 파악하기 위하여 ndsl.kr로 접속하여 데이터베이스를 검색했으며, 검색 키워드로 (\*arctic\* AND activ\* AND !instrument AND !equipment AND !apparatu\* AND !arch AND !drill\*)로 검색한 결과 전체 96건이 검색되었다. 검색된 96건을 수작업으로 검토하여 동일 내용을 발명품으로 묶은 결과 관련특허(출원 또는 등록) 49건으로 좁힐 수 있었다[그림 3].

이렇게 검색된 49개 관련특허를 몇 가지 기준으로 분석한 결과는 아래와 같다. 특허출원시기, 출원/등록국가별로 분류하면 선진국에 비해 우리나라의 특허 출원/등록 기간이 늦은 편이나(2000년대 후반 이후), 2010년대에는 출원 건수의 절반을 차지하고 있고 실제 등록된 특허의 수에 있어서 매우 고무적이다[그림 4, 5]. 복수의 대표 ICP 중 제1 ICP를 기준으로

# NDSL 검색

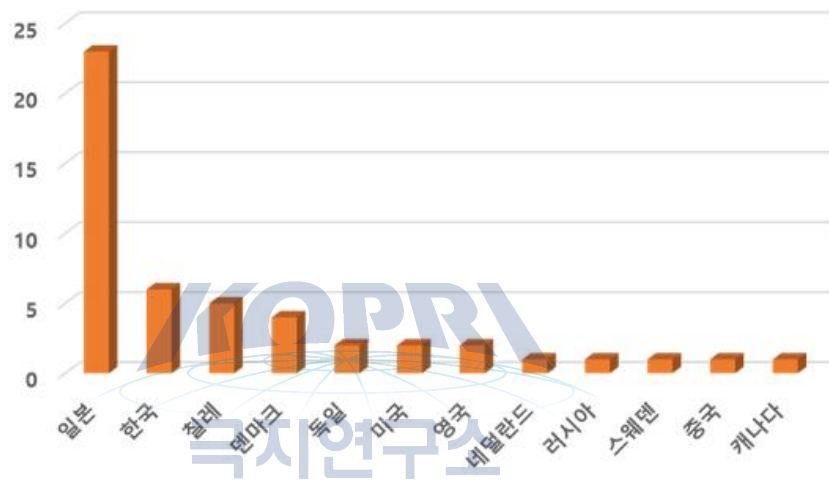
검색대상	특허
검색어	초록=*arctic* AND 초록=activ* AND 초록=!instrument AND 초록=!equipment AND 초록=!apparatu* AND 초록=!arch AND 초록=!drill*
검색조건	(AB:*arctic*AB:activ*AB:!instrumentAB:!equipmentAB:!apparatu*AB:!archAB:!drill*) and (REG:P or REG:R) and (PT:10 or PT:20 or PT:30) and (CY:ko or CY:us or CY:ep or CY:wo or CY:ja)
검색건수	96건

<검색된 96건 중>

- 검토 후 1개 삭제
- 동일제목의 발명품으로 묶어 **총 49건** (출원기준)으로 압축

[그림 3] NDSL 특허 검색 결과

### 국가별 특허 출원 수 (총 49건)

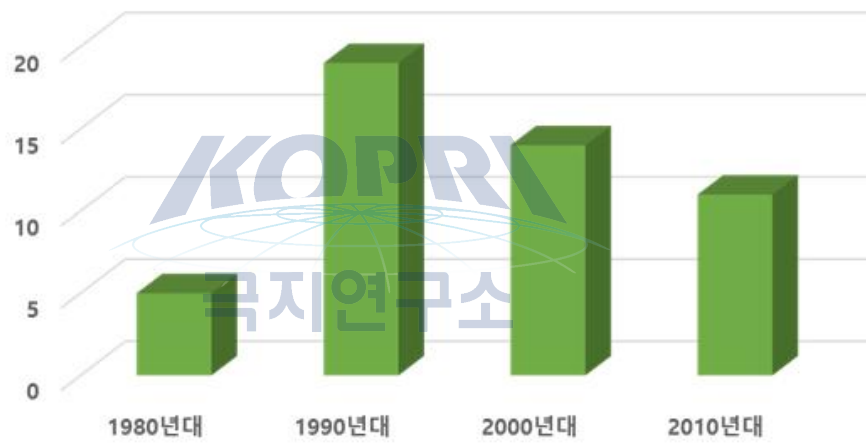


<특허 등록 수: 총 5개>

- 2개: 한국
- 1개: 칠레, 덴마크, 미국

[그림 4] 국가별 특허 출원 수 (총 49건 중)

### 연도별 특허 출원 수 (총 49건)



- <특허 출원 연도: 한국 6개>
- 2000년대: 1개 (2009년)
  - 2010년대: 5개

[그림 5] 연도별 특허 출원 수 (총 49건 중)

특허를 내용별로 분류하면, Section C (Chemistry, Metallurgy)와 Section A (Human Necessities)가 약 3:5의 비율로 나타난다[그림 6]. 이 중 “Health”와 관련된 특허만 고르면 (복수의 대표 ICP 중 순서에 관계없이 A61을 포함하는 경우) 16건이 나오는데, 특허물의 출처가 되는 극지생물을 분류하니 미생물, 식물, 동물 및 공생생물인 지의류 등 골고루 분포하나, 그 중 지의류 유래 특허는 모두 한국의 극지연구소에서 출원한 특허이다[그림 7]. A61로 분류된 특허를 관련 질환별로 분류하니 비특이적인(nonspecific, N/S) 6건을 제외하면 다양한 질환에 대한 효능이 출원되었으며, 그 중 6건은 한국의 극지연구소에서 출원한 것이다[그림 8].

이상의 결과를 종합하면, 우리나라는 극지연구에 있어 선진국 대비 후발주자임에도 다수의 특허가 있으며, 지속적이고 체계적인 지원만 있다면 더 많은 특허가 예상된다.

#### 라. 종합결론

특허 검색결과 극지 생물 유래 천연물에 대한 연구는 매우 유망한 분야로 사료된다. 특히 세계적으로도 희귀한 연구용 쇄빙선을 보유 및 남극 연구기지 건설 등으로 구축된 인프라를 적극 활용하여 연구개발로 발전시켜야 하는데, 본 연구과제와 같은 지속적인 연구를 통해 극지생물 유래 의료용 유망 물질 확보를 선점해야 한다.

## 극지연구소

### 2. 국내외 연구현황

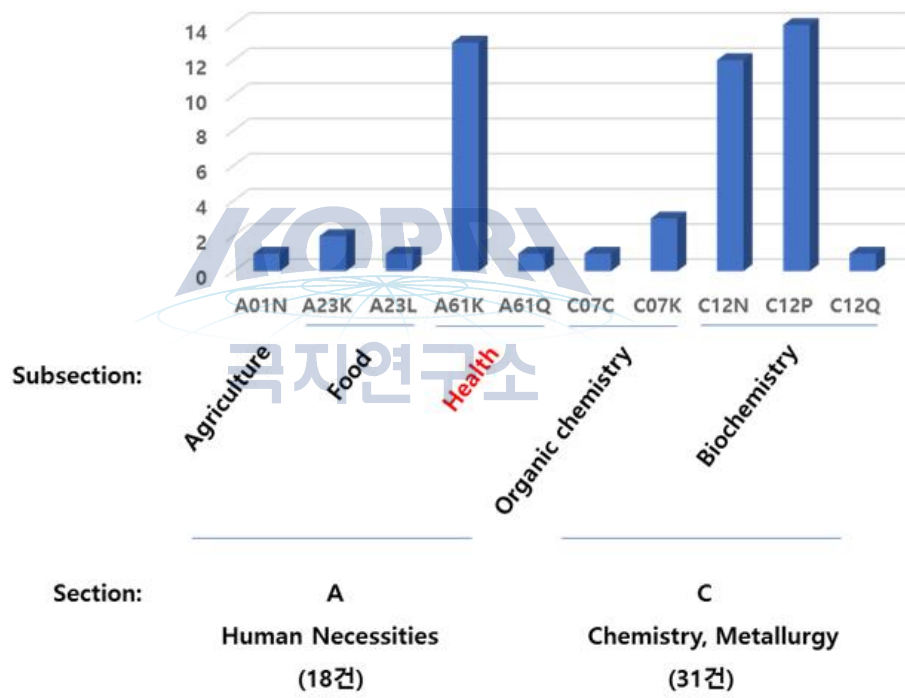
#### 가. 교모세포종(glioblastoma, GBM)

GBM은 중추신경계의 아교세포(glial cell)와 그 전구세포에서 기원하는 악성 종양으로 뇌의 피질층두엽 내 대뇌반구의 피질하 백질(white matter)에 가장 흔히 발생한다. 외과적 수술로 병변 제거 후 방사선요법과 화학요법을 병행하는 표준 치료법이 시행되고 있으나 평균 생존율이 14.6개월에 불과한 매우 치명적인 종양이다[1].

표준 치료법에 사용하는 약물인 temozolomide (TMZ)는 alkylating agent의 일종으로 DNA 손상을 유발하여 암세포를 제거한다[1, 2]. DNA 회복 유전자인 O<sup>6</sup>-methylguanine-DNA-methyltransferase (MGMT)나 약물의 세포 내 bioavailability를 조절하는 transporter(예, P-glycoprotein)의 발현이 높은 경우 약물에 대한 저항성을 보이므로 사용할 수 없다는 문제가 있다. 재발률도 매우 높아 6개월 progression-free survival (PFS) 15-21%에 불과하고 평균 생존율도 25주로 예후가 극히 불량한 악성질환이다[3-5] [그림 9].

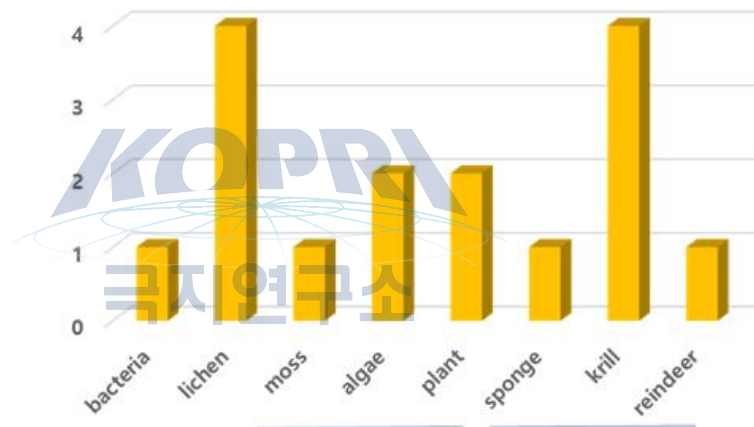
최근 약물에 대한 저항성이 매우 높고 암줄기세포(cancer stem cell)로 기능하여 재발을 유도하는 side population이 보고되어, 이 세포의 효과적인

### 내용별 특허 출원 수 (대표 ICP 기준)



[그림 6] 대표 ICP 중 제1 ICP 기준 내용별 특허 출원 수

### Health 관련(A61) 특허물의 출처 (총 16건)

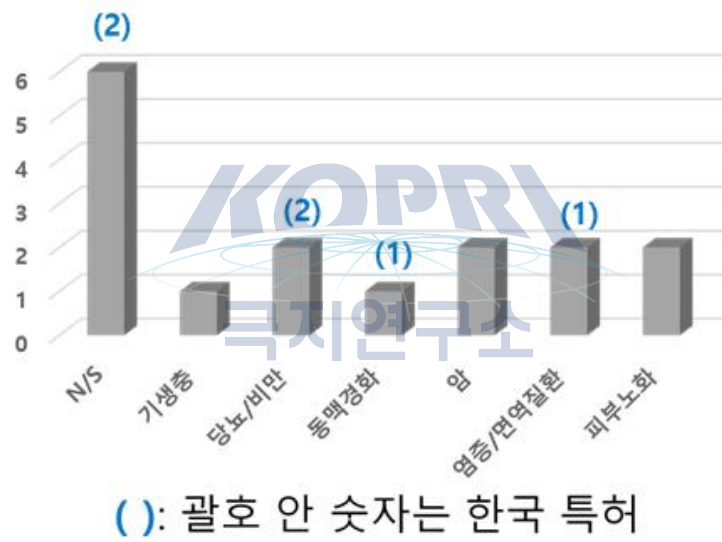


Source: 미생물 지의류 식물 동물

[그림 7] Health 관련 특허물의 출처 (총 16건 중)



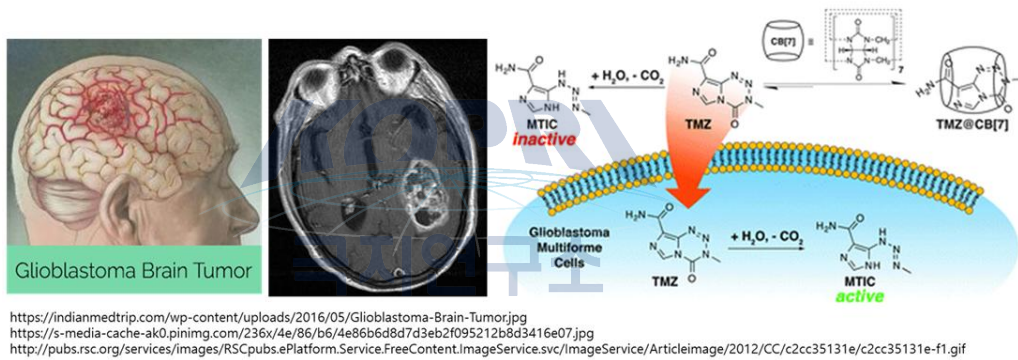
### Health 관련(A61) 특허의 효능 (총 16건)



[그림 8] Health 관련 특허의 효능 (총 16건 중)

### <교모세포종(glioblastoma, GBM)>

- 중추신경계의 아교세포(glia cell)와 그 전구세포에서 기원하는 악성종양
- 예후 매우 불량
- 기존 항암제: temozolomide (**TMZ**)



[그림 9] 교모세포종(GBM) 질환과 치료제 작용 기전

제거를 통한 완치의 가능성이 제시 되었으나 구체적인 치료표적을 찾기 위한 상세한 기전연구가 필요한 단계이다[6, 7].

#### 나. 급성전골수백혈병 (APL, acute promyelocytic leukemia)

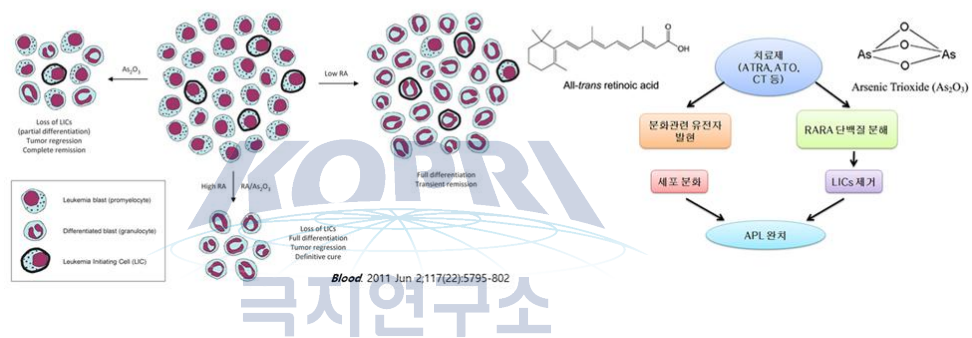
APL은 급성골수백혈병(acute myelogenous leukemia AML)의 특이한 형태로, 전(前)골수세포 단계에서 미분화 상태로 남은 세포로 인한 악성질환이다[8]. 일반적으로 약물의 독작용을 이용하여 암세포를 제거하는 항암치료와 달리, APL의 치료는 해당 암에 대한 분자생물학적 수준의 이해 기반으로 표적치료(targeted therapy)를 통해 항암제에 대해 반응하지 않는 난치성 암에서 표적치료를 통해 예후가 급격히 호전된 성공적인 질환의 예에 해당한다[8].

APL 치료를 위한 표적치료로 분화요법(differentiation therapy)이 있는데, 이는 임상적으로 미분화 상태의 암세포를 분화시켜 암을 치료하는 방법으로, APL 환자에게 all-trans retinoic acid (ATRA)를 투여하여 암세포를 과립구(granulocyte)로 분화시킴으로써 완전관해(complete remission; CR)를 이룰 수 있다[9, 10]. 최초 진단 환자에게 ATRA를 단독 투여하면 초기 CR율은 높으나 CR후 5년 내 재발률이 40%에 이르며, 일부는 retinoic acid syndrome 등의 심각한 부작용도 나타난다는 문제가 있어 개선의 여지가 있다[11]. 이와 같은 완치의 어려움은 부분적으로 분화하지 않고 남아 재발을 일으킬 수 있는 leukemia-initiating cells (LICs leukemic stem cells, leukemia-repopulating cells 등으로도 불린다)에 기인하는 것으로 생각되므로, 재발없는 완치를 위해 분화요법 외에 LIC까지 제거할 수 있는 치료법의 개발이 요구된다[그림 10]. LIC 제거의 surrogate marker로 retinoid acid receptor alpha (RARA) 단백질 분해를 이용하기도 한다[12] (Fig. 6).

이와 같은 치료의 어려움을 극복하기 위해 ATRA와 병용투여가 가능한 보조치료제의 개발이 활발한데, 현재 미국 식품의약국(FDA)의 승인을 받은 치료법으로 화학요법(CT)과 arsenic trioxide (ATO)가 사용되고 있으나 사용이 매우 제한적이고 세포독성이 비교적 높아 개선의 여지가 있다[13].

## <급성전골수백혈병(promyelocytic leukemia, APL)>

- 전(前)골수세포 단계에서 미분화 상태로 남은 세포로 인한 악성질환
- 분화요법: all-trans retinoic acid (**ATRA**)
- LICs 제거: arsenic trioxide (**ATO**)



[그림 10] 급성전골수백혈병 질환과 치료제 작용 기전

## 제3장 연구개발수행 내용 및 결과

### 1. 연구 내용

#### 가. 본과제와의 연계성

##### <본(총괄)과제와의 연계성>

극지 고유생물 유래 추출물의 항암활성 연구를 통해 대사체 활용기반을 구축할 수 있음

#### 나. 연구내용 요약[그림 11]

#### 다. 연구의 내용

##### (1) 극지 환경에서 유래한 추출물의 항암활성 측정

###### (가) 극지환경 유래 추출물

- 극지환경 유래 추출물은 총괄과제 내 쇄빙선 아라온호 탐사 및 세종, 장보고 기지 주변 등에서 채취한 극지생물에서 유래
- 탐색에 사용한 추출물: 2013년 남극 Ross Sea에서 채집한 해양미생물시료 추출물 359개 (Sample No. KES0516~KES2956) [그림 12]

###### (나) 항암활성 측정

- ① 항암활성: cell proliferation 억제 또는 cytotoxicity 증진
- ② 암세포:
  - 교모세포종(glioblastoma, GBM): T98G 세포주
  - 급성전골수백혈병(acute promyelocytic leukemia, APL): NB4 세포주
- ③ 투여 방식: 단독처리 효과 검증, 기존 항암제와 병행처리 시 효과 검증 [그림 13]

##### (2) 기존 항암활성 물질과 활성 비교 연구

###### (가) 기존 항암활성 물질

- 급성전골수백혈병(APL): ATO 사용
- 교모세포종(GBM): TMZ 사용

###### (나) 활성 시험법 [그림 14]

- Cell proliferation assay (e.g. WST-8 assay)
- Cell toxicity assay (e.g. LDH assay)

**<2016년 6월 종료 선행과제>**

- 추출물: Ross Sea 해양 미생물 359개 추출물
- 세포체계: APL 세포주인 NB4, GBM 세포주인 T98G와 U87MG
- 시험법(assay): WST-8 assay
- 1, 2차 screening 결과 cell proliferation를 억제시킨 추출물 선별 (10종 이상)



**<단독효과 검증>**

- 추출물: 선별된 Ross Sea 해양 미생물 추출물 **10종 이상**
- 세포체계: NB4, T98G
- 시험법: WST-8 assay, trypan blue 염색 후 계수, LDH assay
- 대조군: 기존 항암제, lobarstin (각각 단독처리)



**<병용효과 검증>**

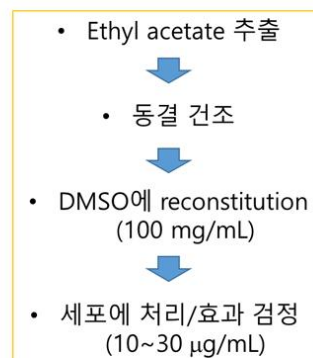
- 추출물: 선별된 Ross Sea 해양 미생물 추출물 **10종 이상**
- 세포체계: NB4, T98G
- 시험법: WST-8 assay, trypan blue 염색 후 계수, LDH assay
- 대조군: 기존 항암제+lobarstin (병용처리)

[그림 11] 연구내용 요약

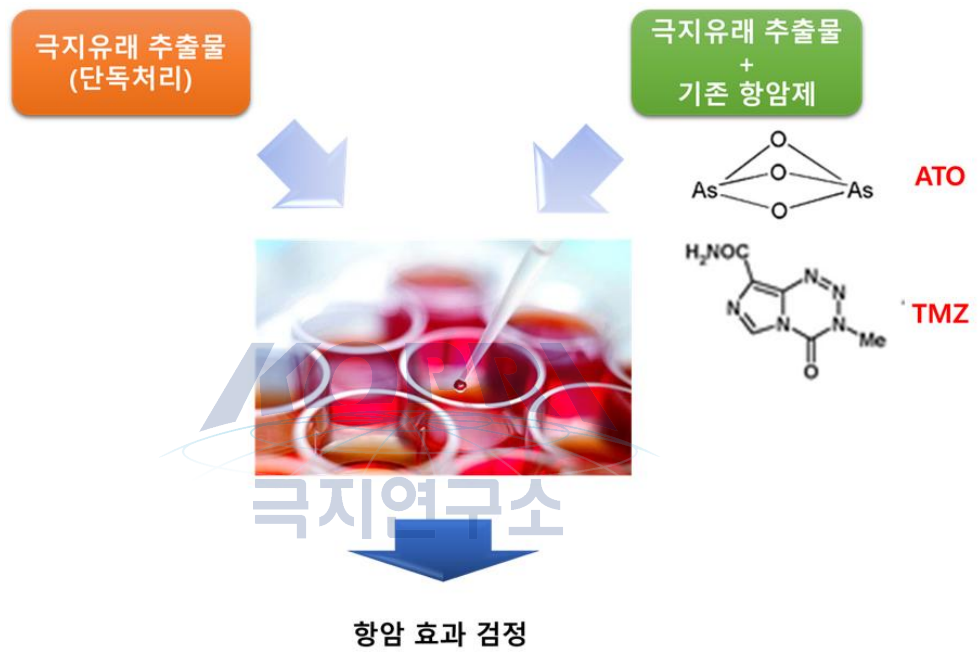
2013 남극 Ross sea 해양미생물시료 추출물 List

No.	Sample No.	Method	Amount (mg)	Storage name	Notes
1	KES0516	CTD	2.5	CTD1-A5	
2	KES0524	CTD	1.1	CTD1-B1	
3	KES0567	CTD	1.0	CTD1-E8	
4	KES0571	CTD	1.0	CTD1-E12	
5	KES0573	CTD	0.8	CTD1-F2	
6	KES0574	CTD	1.0	CTD1-F3	
7	KES0576	CTD	0.7	CTD1-F5	
8	KES0604	CTD	0.6	CTD1-H9	
9	KES0605	CTD	1.4	CTD1-H10	
10	KES0606	CTD	1.1	CTD1-H12	

351	KES2936	BN	1.1	BN3-D5	
352	KES2937	BN	0.9	BN3-D6	
353	KES2938	BN	0.9	BN3-D7	
354	KES2939	BN	1.3	BN3-D8	
355	KES2940	BN	1.3	BN3-D9	
356	KES2941	BN	0.8	BN3-D10	
357	KES2942	BN	1.1	BN3-D11	
358	KES2950	BC	1.3	BC-A8	
359	KES2956	BC	1.4	BC-B4	

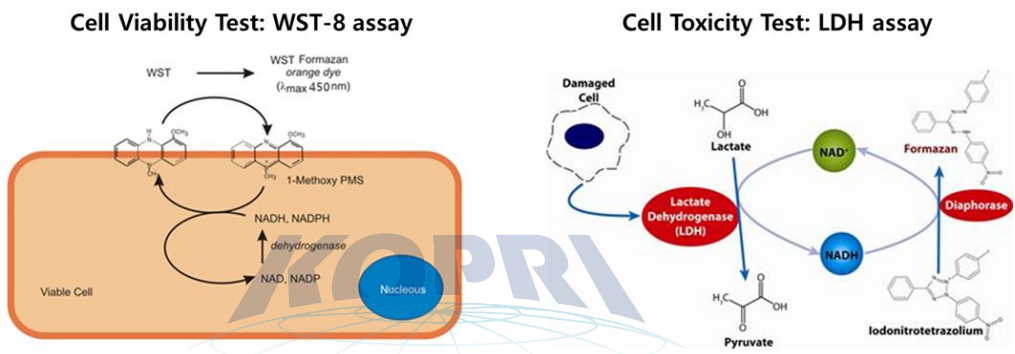


[그림 12] 2013년 남극 Ross Sea에서 채집한 해양미생물시료 추출물 359개 (Sample No. KES0516~KES2956)



[그림 13] 투여 방식: 단독처리 효과 검정, 기존 항암제와 병행처리 시 효과 검정





(출처: [www.daeillab.co.kr](http://www.daeillab.co.kr))

[그림 14] 항암활성 측정

(다) 비교연구

- 추출물 단독 처리 대비 기존 항암활성 물질과 활성 비교:  
추출물의 항암활성 검정
- 기존 항암활성 물질 단독처리 대비 추출물과 기존 항암활성 물질  
병행처리: 기존 항암활성 물질에 대한 감수성(민감도) 제고 효능  
검정[그림 15]

(3) 10종 이상 극지 추출물 활성 측정[그림 16]

- (가) 현재 확보한 추출물: 2013년 남극 Ross Sea에서 채집한  
해양미생물시료 추출물 359개 (Sample No. KES0516~KES2956)
- (나) 추가 확보 가능 추출물
  - 극지연구소 보유 극지 추출물: 극지연구소로부터 분양 받아야  
검정 가능
  - 극지연구소 신규 채집 극지생물 유래 추출물: 본 과제 연구기간  
중 극지연구소가 신규 극지생물 채집, 분류, 동정, 추출물 확보  
과정을 거쳐 분양하는 경우 검정 가능

2. 연구개발수행 결과

가. APL 세포주에서 검정할 추출물의 선별

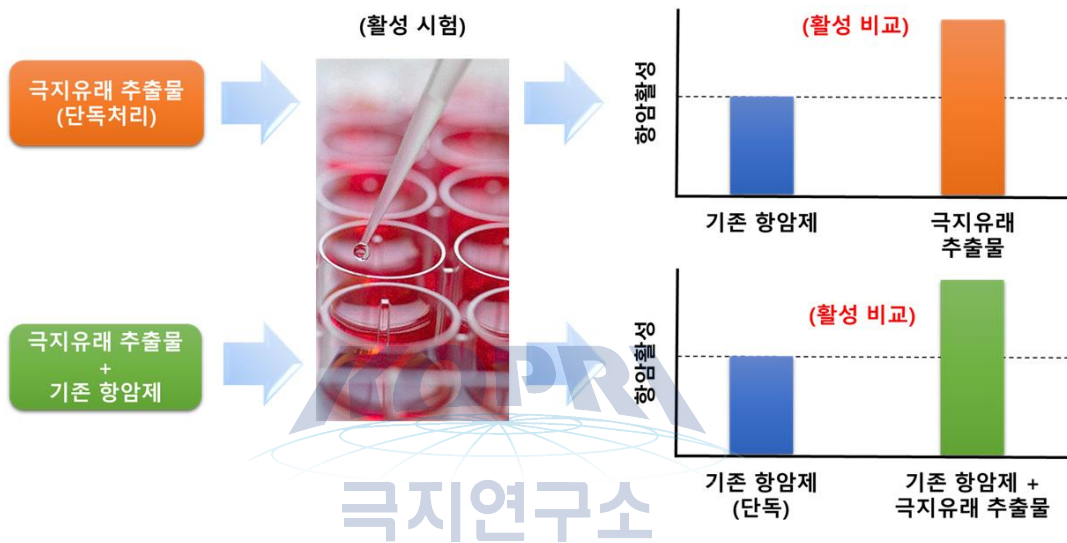
- (1) 2016년 6월 종료 위탁과제의 1, 2차 screening 결과를 검토하여 선별
- (2) 선별된 12종[그림 17]

나. APL 세포주에서의 단독투여 효과 검정

- (1) 단독투여 결과[그림 18~20]
- (2) 결론: 검정한 추출물 중 기존 항암제인 ATO 대비 항암효과가 더 나은  
추출물은 없다

다. APL 세포주에서의 병행투여 효과 검정

- (1) ATO와의 병행투여 결과[그림 21, 22]
- (2) 결론: 검정한 추출물 중 기존 항암제인 ATO 대비 병행투여 시 항암효과  
가 더 나은 추출물은 없다



[그림 15] 비교연구: 기존 항암활성 물질에 대한 감수성(민감도) 제고 효능 검증



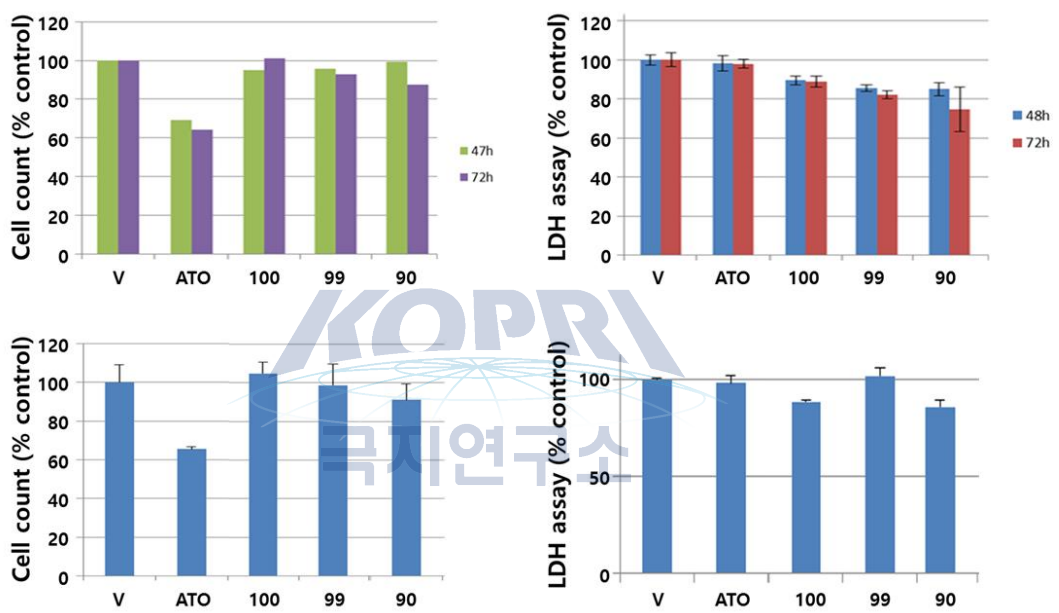
[그림 16] 10종 이상 극지 추출물 활성 측정

<APL 세포주인 NB4에서의 검정에 사용할 추출물>

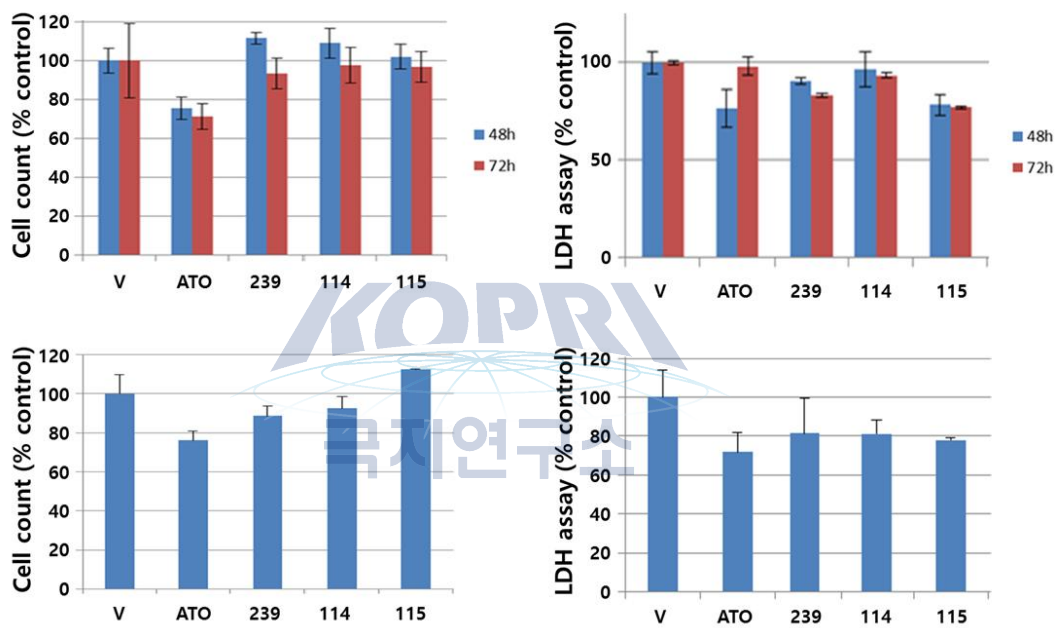
	No.	Sample No.	Method	Amount (mg)	Storage name
1	100	KES2144	CTD	1.0	CTD18-D2
2	99	KES2143	CTD	1.0	CTD18-D1
3	90	KES2134	CTD	0.6	CTD18-C4
4	239	KES2337	CTD	0.9	CTD20-E1
5	114	KES2161	CTD	0.7	CTD18-E7
6	115	KES2162	CTD	1.1	CTD18-E8
7	95	KES2139	CTD	0.8	CTD18-C9
8	238	KES2336	CTD	0.6	CTD20-D12
9	240	KES2338	CTD	1.0	CTD20-E2
10	118	KES2172	CTD	1.2	CTD18-F6
11	119	KES2175	CTD	0.8	CTD18-F9
12	109	KES2153	CTD	1.0	CTD18-D11

↑  
(사용 번호)

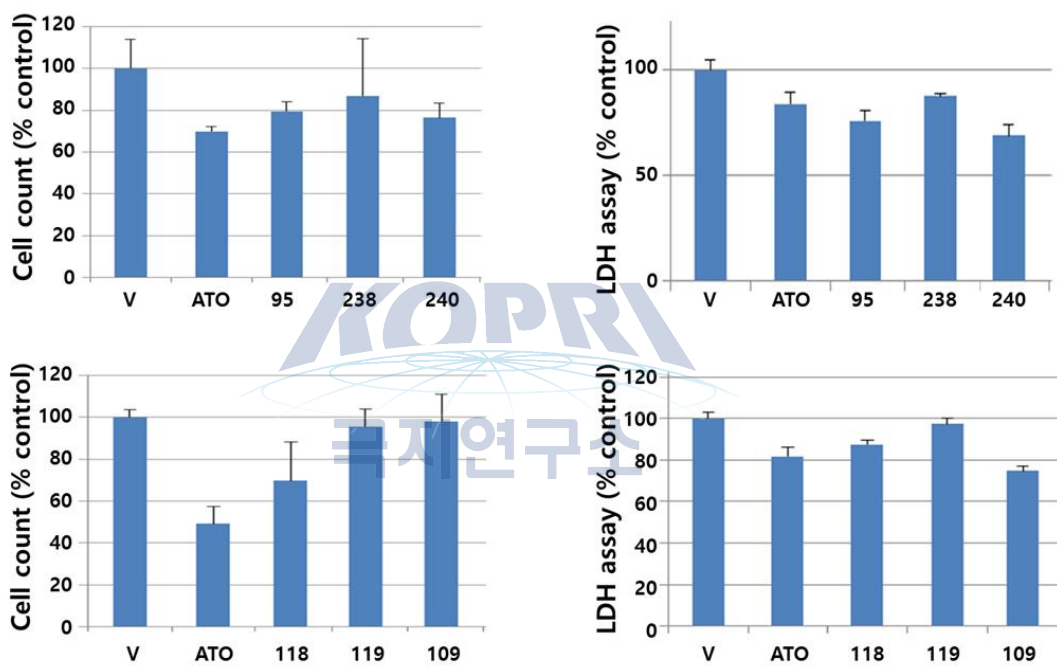
[그림 17] APL 세포주에서 검정할 추출물의 선별 (12종)



[그림 18] APL 세포주에서의 단독투여 효과 검정 (#100, 99, 90)

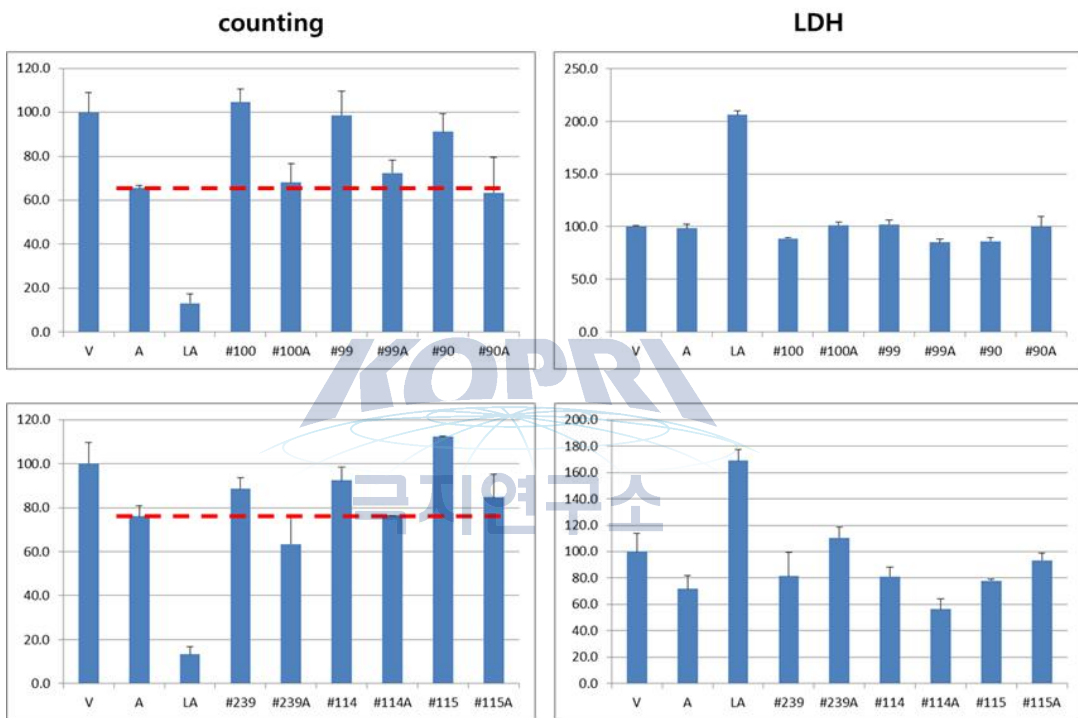


[그림 19] APL 세포주에서의 단독투여 효과 검정 (#239, 114, 115)

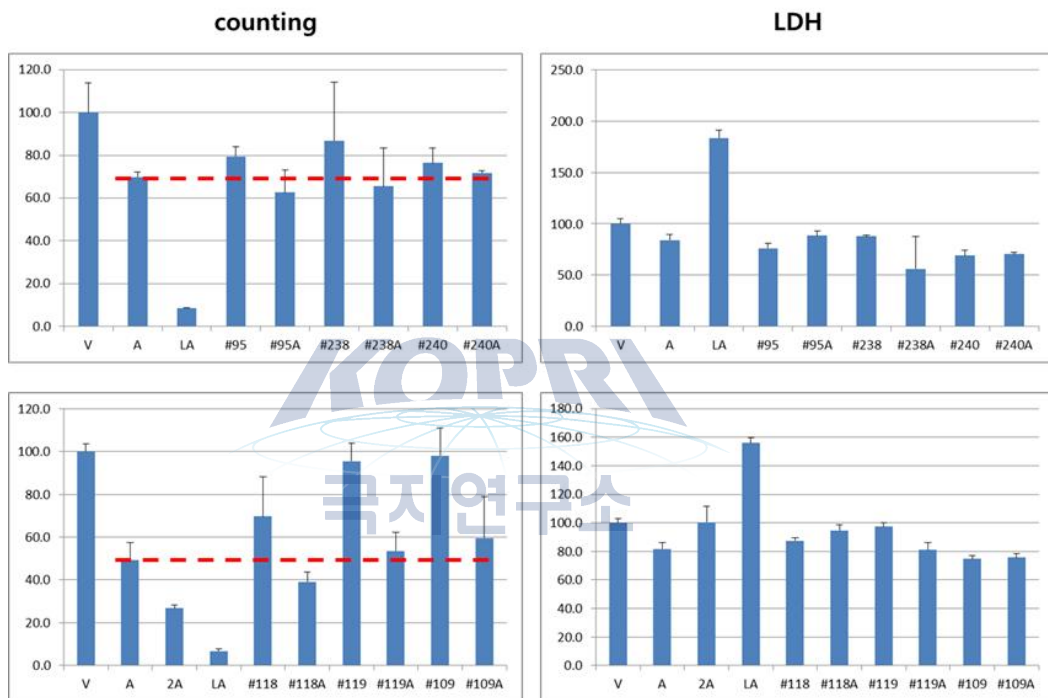


[그림 20] APL 세포주에서의 단독투여 효과 검정(#95, 238, 240, 118, 119, 109)





[그림 21] APL 세포주에서 ATO와의 병행투여 효과 검정(#100, 99, 90, 239, 114, 115). 적색 점선은 기존 항암제인 ATO의 효과.



[그림 22] APL 세포주에서 ATO와의 병행투여 효과 검증(#95, 238, 240, 118, 119, 109). 적색 점선은 기존 항암제인 ATO의 효과

- 라. GBM 세포주에서 검정할 추출물의 선별
  - (1) 2016년 6월 종료 위탁과제의 1, 2차 screening 결과를 검토하여 선별
  - (2) 선별된 추출물 [그림 23, 24]
- 마. GBM 세포주에서의 단독투여 효과 검정
  - (1) 단독투여 결과 [그림 25, 26]
  - (2) 결론: 검정한 추출물 중 기존 항암제인 TMZ 대비 항암효과가 더 나은 추출물은 없다
- 다. GBM 세포주에서의 병행투여 효과 검정
  - (1) 단독투여 결과를 검토하여 병용효과를 검정할 추출물 10종 선별 [그림 27]
  - (2) TMZ와의 병행투여 결과 [그림 28]
  - (3) 결론: 검정한 추출물 대부분이 기존 항암제인 TMZ 대비 병행투여 시 항암효과가 더 낮다



<GBM 세포주인 T98G에서의 검정에 사용할 추출물>

	No.	Sample No.	Method	Amount (mg)	Storage name
1	102	KES2146	CTD	1.1	CTD18-D4
2	109	KES2153	CTD	1.0	CTD18-D11
3	111	KES2157	CTD	1.1	CTD18-E3
4	148	KES2229	CTD	0.7	CTD19-C3
5	150	KES2231	CTD	0.8	CTD19-C5
6	151	KES2233	CTD	0.8	CTD19-C7
7	152	KES2234	CTD	0.7	CTD19-C8
8	154	KES2237	CTD	1.5	CTD19-C11
9	156	KES2239	CTD	1.0	CTD19-D1
10	159	KES2242	CTD	0.7	CTD19-D4
11	160	KES2243	CTD	0.7	CTD19-D5
12	162	KES2245	CTD	1.1	CTD19-D7
13	163	KES2246	CTD	1.0	CTD19-D8
14	169	KES2252	CTD	0.7	CTD19-E2
15	179	KES2268	CTD	0.8	CTD19-F6
16	180	KES2269	CTD	0.6	CTD19-F7
17	182	KES2271	CTD	0.8	CTD19-F9
18	189	KES2282	CTD	0.8	CTD19-G8
19	190	KES2283	CTD	0.9	CTD19-G9
20	197	KES2291	CTD	1.0	CTD19-H5
21	201	KES2295	CTD	0.7	CTD19-H9
22	202	KES2296	CTD	0.9	CTD19-H10



(사용 번호)

[그림 23] GBM 세포주에서 검정하기 위해 선별된 추출물(1)

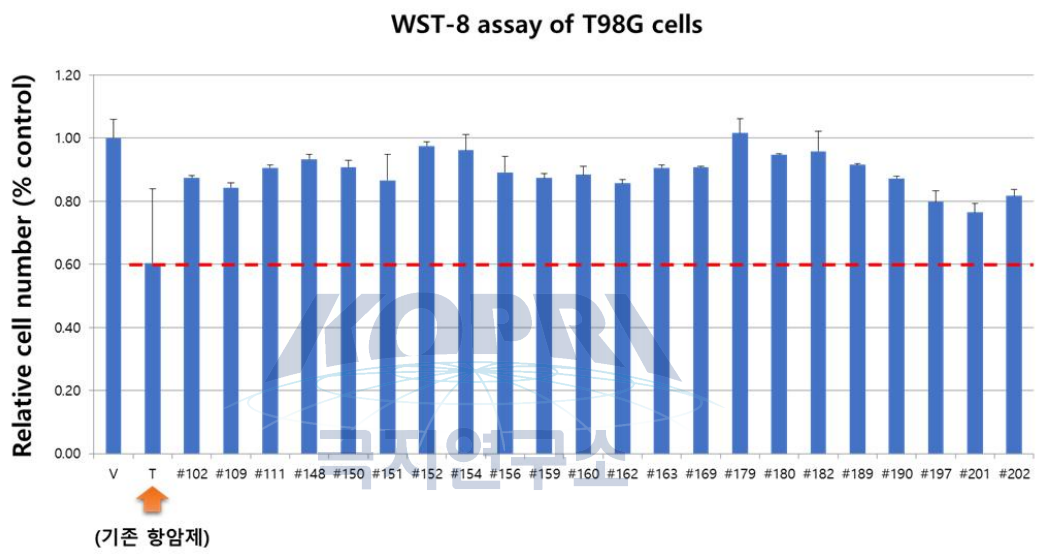
<GBM 세포주인 T98G에서의 검정에 사용할 추출물\*>

	No.	Sample No.	Method	Amount (mg)	Storage name
1	201	KES2295	CTD	0.7	CTD19-H9
2	197	KES2291	CTD	1.0	CTD19-H5
3	202	KES2296	CTD	0.9	CTD19-H10
4	109	KES2153	CTD	1.0	CTD18-D11
5	162	KES2245	CTD	1.1	CTD19-D7
6	151	KES2233	CTD	0.8	CTD19-C7
7	190	KES2283	CTD	0.9	CTD19-G9
8	159	KES2242	CTD	0.7	CTD19-D4
9	102	KES2146	CTD	1.1	CTD18-D4
10	160	KES2243	CTD	0.7	CTD19-D5
11	156	KES2239	CTD	1.0	CTD19-D1
12	149	KES2230	CTD	1.1	CTD19-C4
13	161	KES2244	CTD	0.7	CTD19-D6
14	165	KES2248	CTD	0.7	CTD19-D10
15	166	KES2249	CTD	0.9	CTD19-D11
16	167	KES2250	CTD	0.8	CTD19-D12
17	170	KES2254	CTD	0.8	CTD19-E4
18	171	KES2255	CTD	0.7	CTD19-E5
19	172	KES2257	CTD	0.7	CTD19-E7
20	175	KES2263	CTD	1.0	CTD19-F1
21	176	KES2264	CTD	0.9	CTD19-F2
22	178	KES2266	CTD	0.8	CTD19-F4

↑  
(사용 번호)

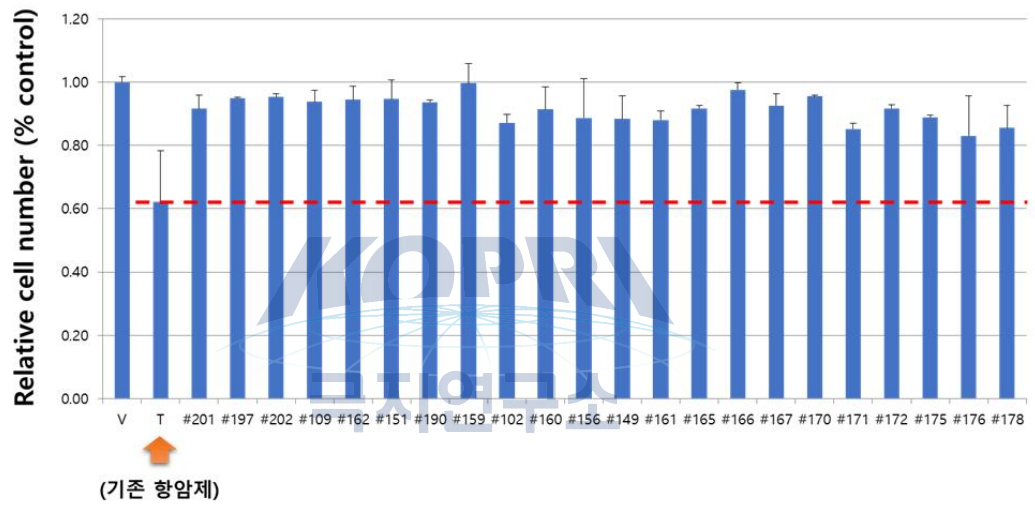
(\*: 일부 시료는 직전 실험과 중복)

[그림 24] GBM 세포주에서 검정하기 위해 선별된 추출물(2)



[그림 25] GBM 세포주에서의 단독투여 효과 검정(1)

WST-8 assay of T98G cells (단독처리 효과)



[그림 26] GBM 세포주에서의 단독투여 효과 검정(2)

<GBM 세포주인 T98G에서의 검정에 사용할 추출물\*>

	No.	Sample No.	Method	Amount (mg)	Storage name
1	176	KES2264	CTD	0.9	CTD19-F2
2	171	KES2255	CTD	0.7	CTD19-E5
3	178	KES2266	CTD	0.8	CTD19-F4
4	102	KES2146	CTD	1.1	CTD18-D4
5	161	KES2244	CTD	0.7	CTD19-D6
6	149	KES2230	CTD	1.1	CTD19-C4
7	156	KES2239	CTD	1.0	CTD19-D1
8	175	KES2263	CTD	1.0	CTD19-F1
9	160	KES2243	CTD	0.7	CTD19-D5
10	201	KES2295	CTD	0.7	CTD19-H9

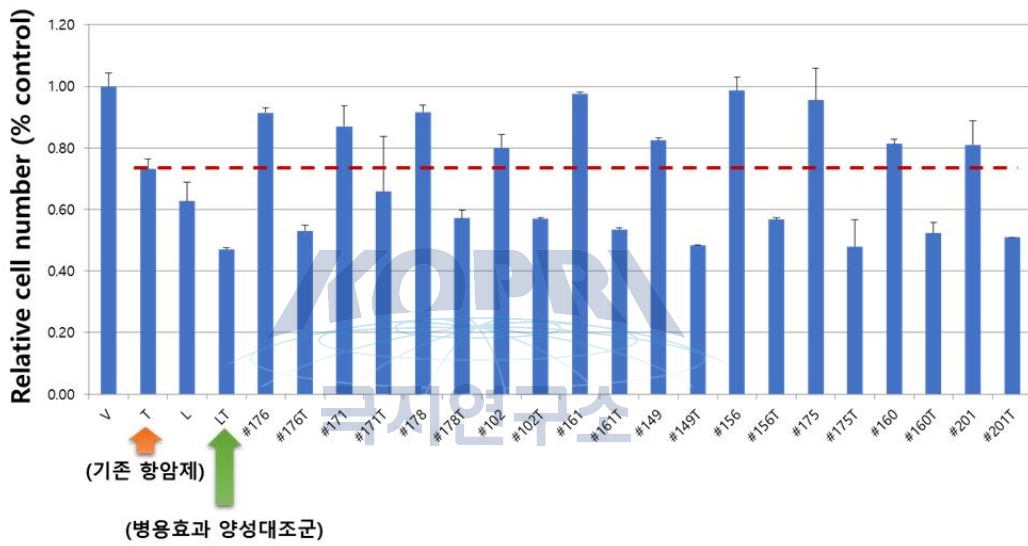
↑  
(사용 번호)

(\*: 병용 효과 검정)

[그림 27] 단독투여 결과를 검토하여 병용효과를 검정하기 위해 선별한 추출물 10종



WST-8 assay of T98G cells (병용처리 효과)



[그림 28] 기존 항암제인 TMZ와의 병행투여 결과. 적색 점선은 기존 항암제인 TMZ 단독투여 효과이며, 녹색 화살표로 표시한 LT는 TMZ와 lobarstin을 병행투여한 positive control(양성대조군)의 결과.

## 제4장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

### 1. 연구개발목표 달성도

성과목표	세부목표		평가지표(핵심성과 스펙)	달성도 (%)
1. 극지 환경에서 유래한 추출물의 항암활성 측정	1-1	APL 세포주에서의 항암활성 측정	- 탐색체계 구축: 적정용량 및 처리 시간 설정 - 세포에 미치는 독성을 알아보기 위한 세포독성 평가	100
	1-2	GBM 세포주에서의 항암활성 측정	- 탐색체계 구축: 적정용량 및 처리 시간 설정 - 세포에 미치는 독성을 알아보기 위한 세포독성 평가	100
2. 기존 항암 활성 물질과 활성 비교	2-1	기존 항암 활성물질 대비 극지유래 추출물의 항암활성 비교, 분석	- vehicle (DMSO) 처리 대조군, 극지유래 추출물 처리 실험군과 비교, 분석 - APL 세포주에서 ATRA 또는 ATO 단독투여군을 대조군으로 비교, 분석 - GBM 세포주에서 TMZ 단독투여군을 대조군으로 비교, 분석	100
	2-2	기존 항암 활성물질 대비 극지유래 추출물 병용 시 항암활성 비교, 분석	- 극지유래 추출물의 병용효과를 보기 위해 기존 항암제 단독 투여군을 대조군으로 하고, 항암제와 추출물 병행투여군을 실험군으로 하여 비교, 분석 - APL 세포주에서 ATRA 또는 ATO와 추출물 병행투여군을 실험군으로 하여 비교, 분석 - GBM 세포주에서 TMZ와 추출물 병행투여군을 실험군으로 하여 비교, 분석	100

3. 10종 이상 극지 추출물 활성 측정	3-1	2013 남극 Ross Sea 해양미생물 추출물 시료 359종	<ul style="list-style-type: none"> <li>- APL 세포주에서 ATRA 또는 ATO 단독투여군을 대조군으로 비교, 분석</li> <li>- GBM 세포주에서 TMZ 단독투여군을 대조군으로 비교, 분석</li> </ul>	100
	3-2	추가 분양 추출물	<ul style="list-style-type: none"> <li>- APL 세포주에서 ATRA 또는 ATO 단독투여군을 대조군으로 비교, 분석</li> <li>- GBM 세포주에서 TMZ 단독투여군을 대조군으로 비교, 분석</li> </ul>	0

## 2. 대외 기여도

추가 분양 추출물의 검정을 제외한 모든 연구를 계획대로 진행하였으나, 연구가 기초적인 검정단계에 머물러 대외적인 성과를 내기에 부족하여 가시적인 연구성과는 없다. 특히 APL에서는 단독, 병행투여 모두 기존 항암제 대비 효과가 없었고, GBM에서도 단독투여 효과가 없었으나 병행투여 결과는 고무적이라 추가 연구가 필요하며, 상세기전 규명 및 생리활성물질 분리가 완료되면 특허 출원 및 연구논문 게재도 가능할 것으로 예상된다.



## 제5장 연구개발결과의 활용계획

### 1. 연구결과의 활용방안

본 위탁과제의 연구결과로부터 도출한 선도물질 수 있는 기술은 기술발전주기의 개념정립단계에 해당하는데, 연구단 내 타 연구팀과의 유기적인 공조가 필수적이다. 본 과제 종료 후에도 신약개발을 하려면 별도의 과제로 추진되어야 한다.

### 2. 기대성과 및 파급효과

#### 가. 기술적 측면

본 위탁과제의 연구결과로부터 도출할 수 있는 기술은 기술발전주기의 개념정립단계에 해당하며, 신약개발의 발견 단계 중 타겟 검증과 선도물질 탐색의 기초연구에 걸쳐 있다.

#### 나. 경제·산업적 측면

본 위탁과제의 연구결과로부터 도출할 수 있는 기술은 기술발전주기의 개념정립단계에 해당하므로 직접적인 경제적 파급효과는 거의 없으나, 극지생물로부터 신규물질을 활성 탐색을 통해 선도물질을 발굴함으로써 향후 경제성이 있는 항암제 개발을 통한 경제적 효과를 예측할 수 있다.



## 제6장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

특허정보나 논문정보 검색을 통해 극지생물 유래 유용 의료용 물질 개발을 위한 연구결과가 있는 것은 알 수 있으나 치료제나 약제로 상용화된 것을 찾지 못하였다.



## 제7장 참고문헌

1. Wen, P.Y. and S. Kesari, *Malignant gliomas in adults*. N Engl J Med, 2008. **359**(5): p. 492–507.
2. Patel, M., et al., *Molecular targeted therapy in recurrent glioblastoma: current challenges and future directions*. Expert Opin Investig Drugs, 2012. **21**(9): p. 1247–66.
3. Bobola, M.S., et al., *Role of O6-methylguanine-DNA methyltransferase in resistance of human brain tumor cell lines to the clinically relevant methylating agents temozolomide and streptozotocin*. Clin Cancer Res, 1996. **2**(4): p. 735–41.
4. Kanu, O.O., et al., *Glioblastoma multiforme: a review of therapeutic targets*. Expert Opin Ther Targets, 2009. **13**(6): p. 701–18.
5. Zhang, X., et al., *Glioblastoma multiforme: Molecular characterization and current treatment strategy (Review)*. Exp Ther Med, 2012. **3**(1): p. 9–14.
6. Dell'Albani, P., *Stem cell markers in gliomas*. Neurochem Res, 2008. **33**(12): p. 2407–15.
7. Binda, E., et al., *The EphA2 receptor drives self-renewal and tumorigenicity in stem-like tumor-propagating cells from human glioblastomas*. Cancer Cell, 2012. **22**(6): p. 765–80.
8. Tallman, M.S. and J.K. Altman, *Curative strategies in acute promyelocytic leukemia*. Hematology Am Soc Hematol Educ Program, 2008: p. 391–9.
9. Huang, M.E., et al., *Use of all-trans retinoic acid in the treatment of acute promyelocytic leukemia*. Blood, 1988. **72**(2): p. 567–72.
10. Wang, Z.Y. and Z. Chen, *Differentiation and apoptosis induction therapy in acute promyelocytic leukaemia*. Lancet Oncol, 2000. **1**: p. 101–6.
11. Patatanian, E. and D.F. Thompson, *Retinoic acid syndrome: a review*. J Clin Pharm Ther, 2008. **33**(4): p. 331–8.
12. Wang, J., et al., *Retinoid-induced G1 arrest and differentiation activation are associated with a switch to cyclin-dependent kinase-activating kinase hypophosphorylation of retinoic acid receptor alpha*. J Biol Chem, 2002. **277**(45): p. 43369–76.
13. Soignet, S.L., et al., *Complete remission after treatment of acute promyelocytic leukemia with arsenic trioxide*. N Engl J Med, 1998.

339(19): p. 1341-8.



## 주 의

1. 이 보고서는 극지연구소 위탁과제 연구결과보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 극지연구소에서 위탁연구과제로 수행한 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 안됩니다.