

매실, 마늘 및 생강첨가 된장을 투여한 쥐의 Sarcoma-180 종양세포에서 항암효과

박건영 · 이수진 · 이경임¹ · 이숙희
부산대학교 식품영양학과 및 김치 연구소
¹양산대학 호텔조리과

The Antitumor Effect in Sarcoma-180 Tumor Cell of Mice Administered with Japanese Apricot, Garlic or Ginger Doenjang

Kun-Young Park, Soo-Jin Lee, Kyeoung-Im Lee¹, Sook-Hee Rhee
Dept. of Food Science and Nutrition, and Kimchi Research Institute, Pusan National University
¹Dept. of Hotel Culinary Arts, Yangsan College

Abstract

The study was carried out to measure the antitumor effect of traditional *doenjang* (Korean soybean paste) added with Japanese apricot, garlic or ginger. Four kinds of traditional *doenjang* inhibited significantly the tumor growth in mice injected sarcoma-180 cells. Especially, traditional *doenjang* added with ginger (Gi-TD) showed an inhibition of tumor cell activity of 97% by the administration of 1.0 mg/kg methanol extracts. Among Balb/c mouse administered *doenjang* extracts, the liver weight of mice fed Gi-TD was heavier than that of the group not administered *doenjang*. However, no difference was found between the control and *doenjang* administrated groups in weights of body, spleen, kidney and heart. The activity of natural killer (NK) cells was relatively high in mice administrated with the four kinds of *doenjang*. Particularly, mice administrated with the Gi-TD methanol extracts showed a strong activity of 82.9%. The activity of glutathione S-transferase (GST) in mice administrated with the 4 kinds of *doenjang* was higher than that of the group not administered with *doenjang*. In particular, the GST activity was the strongest in the group administrated with Gi-TD. The results suggest that Gi-TD has a strong growth inhibition activity against sarcoma-180 tumor cells.

Key words : traditional *doenjang*, Japanese apricot, garlic, ginger, sarcoma-180

I. 서 론

된장은 대두를 자연의 미생물로 장기간 발효시켜 제조한 한국 고유의 전통발효식품으로 조미료의 기능뿐 아니라 단백질의 공급원으로서 한국인의 식생활에서 매우 중요한 역할을 해 왔다(이봉기 1999, 이서래

1988). 우리나라 장류의 역사를 보면 ‘해동역사(海東譯史)’에 발해의 명물로서 콩과 소금을 가지고 발효시킨 식품으로 소개되고 있으며, ‘삼국사기(三國史記)’에는 통일신라시대의 신문왕 3년(683년)에 폐백 중 간장과 된장이 포함되어 있었다는 기록으로 보아 약 1300년 전부터 장류를 섭취한 것으로 추정된다(이서래 1997, 최청 1998, 황혜성 등 1989). 고려시대에는장을 메주라 하였으며 조선시대에 이르러서는장을 만드는 누룩을 말장이라 하였고 장은 된장이나 간장 등을 나타내게 되었다. 콩으로 메주를 쑤는 법이 ‘증보산림경제(增補山林經濟)’에서 보이기 시작하여 오늘날까지 된장

Corresponding author: Kyeoung-Im Lee, Yangsan College, 922-2, Myunggok-dong, Yangsan, Kyungnam 626-040, Korea
Tel : 82-55-370-8148
Fax : 82-55-370-8256
E-mail : kylee@yangsan.ac.kr

제조법의 기본을 이루고 있다(윤숙자 1997).

허준이 저술한 ‘동의보감(東醫寶鑑)’에 “장은 모든 어육·채소·버섯의 독을 지우고 열상과 화독을 다스린다.”라고 하였는데(한복려와 한복진 1989) 이는 우리 전통 장류의 생체기능성에 대한 최초의 언급이라 여겨진다. 국내에서는 1980년대에 처음으로 흰쥐를 이용해 된장의 암예방에 대한 약리효과를 실험하였으며(권태완 1995), Son MH(1995)는 고농도의 sarcoma-180 종양세포를 접종한 후 된장추출물을 처리한 결과 항암효과가 있다는 것을 관찰하였고, Lim SY 등(1999)은 *in vitro* SRB assay에 의한 실험을 이용하여 된장이 항암효과가 높다는 것을 보고하였다. 또한 콩에서 된장이 되면서 genistin의 당이 떨어져 나가 더 높은 항암작용을 가지고 있는 phytoestrogen인 genistein으로 되어 유방암 및 전립선암의 예방에 중요한 역할을 하는 것으로 밝혀졌으며 암세포의 G₁/M기를 차단하고 apoptosis를 유발하는 효과가 입증되는 등 수년간에 걸쳐 된장의 항암기능에 대해 다양하게 연구되고 있다(박건영 1999). 된장은 이외에도 혈전용해능(Kim SH 1998), 면역증진(이봉기 등 1997), 혈압강하(Suh HJ 등 1994, Shin ZI 등 1995, Hwang JH 1997) 및 항산화능(Cheigh HS 등 1990, Lee JS와 Cheigh HS 1997, Lee JH 등 1994)을 가지는 등 다양한 생체조절기능이 있는 것으로 밝혀지고 있다.

최근 된장의 기능성을 증대시키는 연구로 매실, 마늘 및 생강을 첨가하여 제조한 된장은 일반 재래된장보다 항산화 및 항돌연변이 효과가 더 뛰어나며(Lee KI 등 2001), 표고버섯, 영지버섯 및 상황버섯을 첨가한 된장도 항산화 및 항돌연변이 효과뿐만 아니라 암세포 성장억제 효과가 일반된장보다 더 우수하다는 것이 보고되었다(Lee SJ 등 2004). 따라서 본 연구는 앞서 연구된 매실, 마늘 및 생강첨가된장에서 항암활성을 살펴보기 위하여 sarcoma-180 종양세포를 이식한 생쥐에 시료를 투여하여 일반재래된장과 비교하면서 종양 억제효과를 관찰하였으므로 이를 보고하고자 한다.

II. 재료 및 방법

1. 된장의 재료 및 제조

된장에 사용된 메주는 국산콩(남천태콩)을 이용하여

비닐하우스에서 자연발효하여 재래식으로 제조된 것이며 울산 농협에서 구입하였다. 메주와 물의 비율을 1:4로 하여 된장을 제조하였으며 식염농도를 Be' 17°로 맞추었다. 이때 사용한 식염은 천일염을 1년간 보관하여 간수를 뺀 것이었다. 매실된장, 마늘된장 및 생강된장에 사용한 매실, 마늘과 생강은 경남 양산에서 재배된 것이었으며, 마늘과 생강을 물 1 L당 각각 300 g을 넣어 1시간 동안 달여서 사용하였으며 매실은 청매실즙을 사용하였다. 첨가한 양은 총 물 양의 20%가 되도록 넣어 제조하였으며 2월 말에서 5월 말까지 3개월간 항아리에 넣어 상온에서 숙성시켰다(Lee KI 등 2001).

실험을 위하여 시료는 동결 건조하여 메탄올로 추출하여 사용하였다.

2. Sarcoma-180 종양세포를 이용한 항암실험

1) 실험동물

본 실험에 사용한 동물은 25 g 전후의 웅성 Balb/c mouse(한국화학연구소, 대전)이었으며 표준사료(삼양주식회사, 서울)로 사육하였다. 사육시 물과 사료를 충분히 공급하였으며 동물실험실의 온도는 22±1°C, 습도는 55±5%를 유지하면서 12시간 간격으로 light-dark cycle을 유지하였다.

2) Sarcoma-180 종양세포

Balb/c mouse의 복강 내에 1주일 간격으로 계대 배양하여 보존하고 있는 sarcoma-180 세포(한국세포주은행, 서울)를 실험용 종양세포로 사용하였다. 즉, 실험동물의 복강 내에서 1주일간 배양된 sarcoma-180 세포를 복수와 함께 취하여 phosphate buffered saline(PBS, Gibco, USA)을 함께 섞어 원심분리(1,200 rpm, 10 min)하여 종양세포를 분리하였다. 분리된 세포를 다시 PBS에 부유시켜 원심분리하였다. 상등액을 제거한 후 1×10^6 cells/mL가 되도록 종양세포 부유액을 만들어 쥐에 1 mL씩 복강 주사하여 이식 보존하면서 실험에 사용하였다.

3) 시료의 조제

시료는 멸균된 PBS를 사용하여 조제하였고 투여량은 마우스 체중 kg당 1 mg으로 하였으며, 대조군은 멸균 PBS만 투여하였다.

4) 세포독성실험(Viability test)

시료의 직접적인 세포독성작용의 유무를 알아보기 위하여 dye exclusion method를 이용하여(Priest JH 1977, Jakoby WB와 Pastan IH 1979) *in vitro*에서 viability test를 행하였다. 1회용 24 well plate에 조제한 종양세포 부유액 1 mL(2×10^5 cells)와 최종농도 10% HFBS(heat inactivated fetal bovine serum: Gibco, USA)의 RPMI 1640 배지(Gibco, USA) 1 mL를 가하였다. 여기에 100 μ L의 시료를 넣어서 37°C, 5% CO₂ incubator에서 24시간 배양하였다. 배양 후 세포 50 μ L를 0.2% trypan blue 용액 50 μ L와 잘 섞어 hemocytometer를 사용하여 전체의 세포, 염색된 세포(non-viable cell) 및 염색되지 않은 세포(viable cell)의 수를 측정한 다음, 시료를 넣지 않은 대조군과 비교하여 viability 비율을 계산하였다.

$$\text{Viability (\%)} =$$

$$\frac{\text{The number of viable cells per mL of aliquot}}{\text{The number of total cells per mL of aliquot}} \times 100$$

5) 고형암 성장저지 실험

실험동물은 각 군당 6마리씩 사용하여 실험하였다. 실험실에서 1주일 간격으로 계대 보관 중인 종양세포 부유액 0.2 mL(6×10^6 cells/mouse)를 쥐의 왼쪽 서혜부(left groin)에 피하 이식하여 24시간 후부터 20일간 매일 1회씩 시료 용액을 복강에 주사하였다. 종양세포를 이식하여 26일째 되는 날 치사시켜 생성된 고형암을 적출하여 무게를 측정한 후 다음의 공식에 의하여 종양성장저지백분율(tumor growth inhibition ratio, I.R. ; %)을 계산하였다(Son MH 1995, Ryu BH 등 1989, Lee YS 등 1992).

$$\text{I.R. (\%)} = \frac{C_w - T_w}{C_w} \times 100$$

Cw : 대조군의 평균 종양무게
Tw : 처리군의 평균 종양무게

6) 비장의 자연살해(Natural killer, NK)세포의 활성 측정

가) Mouse 비장 림프구의 분리

Balb/c mouse의 비장을 clean bench 내에서 무균적으로 적출하여 penicillin(100 U/mL)과 streptomycin(100 μ g/mL)을 함유한 5 mL의 RPMI 1640 배지로 3회 세척

한 후 곱게 마쇄하였다. 이 세포 부유액을 70 μ m nylon mesh로 여과하고 원심분리하여 림프구를 모아서 배지에 부유시켰다. 이것을 histopaque-1077(Sigma, USA)을 이용하여 원심분리(500 × g, 30 min, 18°C)하여 림프구를 분리하였다.

나) Effector cell의 준비

위의 방법으로 준비된 세포를 10% FBS, 2 mM L-glutamine, penicillin(100 U/mL), streptomycin(100 μ g/mL)을 함유한 RPMI 1640 배지에 재현탁시키고, 37°C, CO₂ incubator에서 12시간 배양시켜서 세포가 배양 플라스크(60 mm dish)에 부착되도록 하였다. 비부착성 NK 세포를 원심분리를 통하여 수집하여 배양배지에 재현탁시킨 다음 적정 세포수를 계수하여 사용하였다.

다) NK 세포의 활성 측정

NK 세포의 활성측정은 MTT 방법을 이용하였다(Park JG 등 1987, Skehan P 등 1990). Yac-1 mouse의 lymphoma cell을 target cell로 사용하였다. Yac-1 세포를 10% FBS, 2 mM L-glutamine, penicillin(100 U/mL), streptomycin(100 μ g/mL)을 함유한 RPMI 1640 배지에 5 × 10⁴ cells/mL의 밀도가 되도록 희석한 후, 각 well에 50 μ L씩 첨가하였다. NK 세포는 1 × 10⁷ cells/mL의 밀도로 현탁시켜 50 μ L씩 96 well flat-bottomed microtire plate에 첨가하였다. 이것을 37°C, CO₂ incubator에서 3 일간 배양시킨 후 5 mg/mL의 농도로 제조한 3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2H tetrazolium bromide(MTT) 용액을 10 μ L씩 각 well에 가한 다음 37°C에서 4시간 배양하였다. 여기에 SDS(10% in 0.02 N HCl)를 25 μ L 첨가하여 실온에서 30분간 발색시킨 후 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. Cell cytolysis의 백분율을 아래 공식에 의해서 계산하였다.

$$\text{Cell cytolysis(\%)} =$$

$$\frac{\text{OD of non-lysed target cells} - \text{OD of effector cell}}{\text{OD of target cell alone}} \times 100$$

7) 효소 활성 측정

가) 효소원의 조제

Mouse를 치사시킨 후 4°C 이하의 생리식염수로 간을 관류하여 간장 내에 남아있는 혈액을 제거한 후 간을 적출하였다. 간조직 1 g당 0.1 M potassium phosphate

buffer(pH 7.4)를 가하여 냉동하에서 glass teflon homogenizer로 마쇄하였다. 이 마쇄액을 homogenate 분획으로 하였으며, 이것을 13,000 rpm에서 10분간 원심 분리하여 핵 및 미마쇄세포 부분을 제거하고 다시 105,000 × g에서 1시간 동안 초원심분리하여 얻은 상등액을 cytosol 분획으로 하였다. 이렇게 얻은 cytosol 분획을 glutathione S-transferase 활성 측정에 이용하였다(Kim SH 등 1994).

나) Glutathione S-transferase의 활성 측정

Habig WH 등(1974)의 방법에 준하여 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 6.5)에 0.04 M reduced glutathione 75 µL와 효소액을 0.1 mL 넣고 blank에는 20% trichloroacetic acid 0.5 mL를 가해 효소를 실활시킨 다음 25°C에서 5분간 반응시켰다. Blank와 시료에 0.12 M 1-chloro-2,4-dinitrobenzene을 25 µL 가하여 25°C에서 2분간 반응시켰다. 여기에 20% trichloroacetic acid를 넣어 반응을 완결시킨 후 원심분리하여 얻은 상등액을 340 nm에서 흡광도를 측정하여 1-chloro-2,4-dinitrobenzene의 mole 흡광계수 $9.6 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ 을 이용하여 활성도를 산정하였다. 효소 활성의 단위는 1분간 mg protein이 생성한 2,4-dinitrobenzene-glutathione의 nmole 수로 표시하였다.

다) 단백질의 정량

단백질의 함량은 Lowry OH 등(1951)의 방법에 준하여 bovine serum albumin(Sigma, USA)을 표준품으로 하여 측정하였다.

3. 통계 분석

각 시료로부터 얻은 실험 자료로부터 ANOVA를 구한 후 Duncan's multiple range test를 이용하여 통계 분석하였다(Steel RG와 Torrie JH 1980).

III. 결과 및 고찰

1. 암세포에 대한 시료의 독성

매실, 마늘 및 생강을 첨가한 전통된장이 종양세포에 대한 직접적인 세포살해 효과가 있는지 살펴보기 위하여 sarcoma-180 종양세포에 된장의 메탄을 추출물을 여러 농도로 첨가하여 24시간이 지난 후에 종양세포의 생존율을 관찰하였다(Table 1). 실험에 사용한 된

장의 메탄추출물의 농도는 0.1, 0.5, 1.0 및 2.0 mg/mL이었다. 농도 0.1~1.0 mg/mL를 사용하였을 때 종양세포의 생존율이 79~97%를 나타내었으나 2.0 mg/mL일 때 생존율이 크게 감소하는 것을 관찰할 수 있었다. 따라서 시료의 농도가 1.0 mg/mL일 때 독성이 없는 것으로 여겨지므로 1.0 mg/mL의 시료를 mouse의 복강에 투여하여 고형암 성장저지 효과를 살펴보았다.

2. 고형암 성장저지 효과

Sarcoma-180 종양세포를 이식시킨 후 된장의 메탄추출물을 투여하여 사육한 mouse에서 종양의 무게를 측정하여 대조군과 비교한 결과는 Table 2와 같다. 된장을 첨가하지 않은 군에서 종양의 무게는 4.6 g이었으나 된장의 메탄추출물을 투여한 군에서는 종양의 크기가 크게 줄어든 것을 알 수 있었다. 즉 일반 재래식된장의 메탄추출물을 투여한 군은 종양의 크기가 0.5 g으로 대조군과 비교하여 88% 작았으며 매실첨가

Table 1. Viability of sarcoma-180 cells in a culture medium containing the methanol extracts from various traditional doenjang added sub-ingredients

Samples	Final conc. (mg/mL)	Total cell numbers ($\times 10^4$)	Viability of cells (%)
Control	-	30.0±0.0 ^a	98
TD ¹⁾	0.1	29.1±0.0 ^b	95
	0.5	28.2±0.7 ^b	92
	1.0	25.7±0.7 ^c	84
	2.0	21.4±0.5 ^d	70
	0.1	29.7±0.8 ^a	97
Ja-TD ²⁾	0.5	29.1±0.7 ^a	95
	1.0	27.5±0.7 ^b	90
	2.0	23.9±0.9 ^c	78
	0.1	27.5±0.5 ^b	90
Ga-TD ³⁾	0.5	26.6±0.7 ^b	87
	1.0	24.2±0.5 ^c	79
	2.0	18.7±0.8 ^d	61
	0.1	27.5±0.9 ^b	90
Gi-TD ⁴⁾	0.5	26.6±1.0 ^{bc}	87
	1.0	25.7±0.8 ^c	84
	2.0	19.6±0.5 ^d	64

¹⁾TD : Traditional doenjang.

²⁾Ja-TD : Traditional doenjang prepared by adding Japanese apricot

³⁾Ga-TD : Traditional doenjang prepared by adding Garlic.

⁴⁾Gi-TD : Traditional doenjang prepared by adding Ginger.

^{ad}Means with the different letters in the groups are significantly different($p<0.05$) by Duncan's multiple range test($n=3$).

된장, 마늘첨가된장 및 생강첨가된장의 메탄올추출물을 투여하였을 때 종양의 크기가 각각 0.4, 0.2 및 0.1 g으로 대조군보다 각각 92, 96 및 97%씩 유의적으로 감소되었다($p<0.05$). 특히 생강첨가된장 투여군의 종양 무게는 일반된장과 비교하여 유의적인 차이를 가지면서 작게 나타나 sarcoma-180 종양세포의 형성 억제 효과가 큰 것을 알 수 있었다($p<0.05$).

한편, 동일한 실험에서 Son MH(1995)는 대조군에 비하여 된장의 혼산추출물 5.0 mg/kg 투여군이 64.0 %, 메탄올추출물 투여군이 79.3%의 고형암 성장 저지 효과를 나타내었다고 보고하였다. 이러한 연구와 비교해 볼 때 매실, 마늘 및 생강의 첨가는 원래 된장이 가지고 있는 sarcoma-180 종양세포의 성장저지 효과를 더욱 상승시키는 것으로 판단된다.

Table 2. Antitumor activities of methanol extracts from various kinds of doenjang added with sub-ingredients in tumor bearing Balb/c mouse with sarcoma-180 cell

Samples	Tumor weight (g)	Inhibition rate (%)
S180 + PBS	4.6±0.3 ^a	-
S180 + TD ¹⁾	0.5±0.2 ^b	88
S180 + Ja-TD ²⁾	0.4±0.1 ^{bc}	92
S180 + Ga-TD ³⁾	0.2±0.1 ^{bc}	96
S180 + Gi-TD ⁴⁾	0.1±0.1 ^c	97

¹⁾TD : Traditional doenjang.

²⁾Ja-TD : Traditional doenjang prepared by adding Japanese apricot

³⁾Ga-TD: Traditional doenjang prepared by adding Garlic.

⁴⁾Gi-TD : Traditional doenjang prepared by adding Ginger.

^{a-c}Means with the different letters are significantly different ($p<0.05$) by Duncan's multiple range test(n=6).

Table 3. The effects of methanol extracts from various traditional doenjang added sub-ingredients on the liver, spleen, kidney and heart weight of Balb/c mouse

Samples	Dose (mg/kg)	Body weight (BW)(g)	Liver/BW (%)	Spleen/BW (%)	Kidney/BW (%)	Heart/BW (%)
Control	-	27.1±0.74 ^{ns}	6.58±0.60 ^{ab}	0.37±0.01 ^{ns}	1.60±0.18 ^{ns}	0.37±0.01 ^{ns}
S-180 + PBS	-	26.4±1.04	5.90±0.26 ^b	0.37±0.02	1.51±0.07	0.37±0.02
S-180 + TD ¹⁾	1.0	26.4±0.97	6.36±0.75 ^{ab}	0.39±0.01	1.62±0.29	0.38±0.02
S-180 + Ja-TD ²⁾	1.0	26.5±0.76	6.61±0.81 ^{ab}	0.39±0.01	1.66±0.15	0.39±0.01
S-180 + Ga-TD ³⁾	1.0	26.6±1.16	7.22±0.67 ^{ab}	0.39±0.01	1.79±0.20	0.39±0.02
S-180 + Gi-TD ⁴⁾	1.0	26.5±0.49	7.36±0.80 ^a	0.39±0.02	1.71±0.19	0.39±0.02

¹⁾TD : Traditional doenjang.

²⁾Ja-TD : Traditional doenjang prepared by adding Japanese apricot

³⁾Ga-TD: Traditional doenjang prepared by adding Garlic.

⁴⁾Gi-TD : Traditional doenjang prepared by adding Ginger.

^{a-b}Means with the different letters in the groups are significantly different($p<0.05$) by Duncan's multiple range test(n=6).

3. 장기의 중량 비교

종양세포를 이식한 쥐에서 된장추출물을 투여한 후 체중, 간, 비장, 신장 및 심장의 중량을 측정하여 비교하였다(Table 3). 종양세포를 이식한 쥐에 비하여 종양 세포를 이식하지 않은 쥐의 체중이 약간 높게 나타났으나 유의적인 차이는 아니었으며 된장추출물의 첨가에 의한 변화는 거의 없었다. 체중에 대한 간의 중량 비는 PBS만 주사한 쥐와 비교하여 일반된장, 매실 및 마늘첨가된장의 메탄올추출물을 투여한 쥐에서는 차이가 없었으나 생강첨가된장 투여군은 유의적으로 높게 나타났다($p<0.05$). 신장에서는 된장을 투여하지 않은 군보다 마늘과 생강첨가된장 투여군에서 신장의 크기가 크게 나타났지만 유의적인 차이는 아니었다. 비장과 심장의 중량은 대조군에 비하여 여러 가지 된장추출물을 첨가한 쥐에서 약간 높게 나타났으나 유의적인 차이는 없었다.

4. NK 세포의 면역활성 증강효과

NK 세포는 주로 혈액과 비장에서 발견되는 cytotoxic lymphocyte로 비특이적 면역계에 관여하며 주된 역할은 미생물, 바이러스, 종양세포 등을 살해하는 역할을 한다. 따라서 NK 세포가 결핍될 경우 신생물의 성장에 대한 높은 감수성을 나타내게 되며 면역능의 저하로 쉽게 감염되어 심각한 결과를 초래하게 된다(Erickson KL과 Schumacher LA 1989).

Sarcoma-180 종양세포를 이식한 쥐에 20일 동안 된장의 메탄올추출물을 투여하였으며 사육 후 쥐의 비장

을 무균적으로 적출하여 비장의 NK 세포를 분리한 후 이들의 Yac-1 cell에 대한 세포파괴 활성을 살펴본 결과는 Fig. 1과 같다. S-180 종양세포를 처리한 후 PBS 만 투여한 군에서는 비장내 NK 세포의 Yac-1 cell에 대한 세포파괴 활성이 낮았으나, 된장추출물을 투여한 군에서는 모두 유의적인 차이를 가지며($p<0.05$) 활성이 크게 증가되었다. 또한 일반 재래식된장 투여군에 비하여 매실, 마늘 및 생강첨가된장 투여군의 활성이 유의하게 높게 나타났으며, 특히 생강첨가된장을 투여한 군은 된장을 투여하지 않은 군에 비하여 활성이 82.9% 더 높았으며 매실 및 마늘첨가된장 투여군보다도 유의적으로 높게 나타났다($p<0.05$).

매실, 마늘 및 생강을 첨가한 재래식된장은 *Salmonella typhimurium* TA100 균주를 이용한 Ames test와 SOS chromotest에서 aflatoxin B₁과 MNNG의 돌연변이유발 억제작용을 강하게 나타내며 특히 생강첨가된장이 가장 항돌연변이 효과가 높은 것으로 보고되어(Lee KI 등 2001) 생강첨가된장이 항돌연변이활성 뿐만 아니라

NK 세포의 면역활성 증강효과도 높다는 것을 알 수 있다.

5. Glutathione S-transferase(GST) 활성의 변화

간에서 일어나는 대사 효소계의 phase II 단계는 내인성 물질이나 외부에서 투여되어지는 독성물질을 포함하거나 수용성물질로 전환시켜 체외로 배출시킴으로써 이물질을 제거하는 작용을 하는데, glutathione S-transferase reduced glutathione은 체내 독성물질과 과산화물질을 전이, 배설함으로서 무독화에 관여하는 효소이다(Burk RF 등 1980, Nair SC 등 1992, Jakoby WB 1978).

Fig. 2에서 나타난 것과 같이 sarcoma-180 종양세포를 이식하지 않은 쥐(정상군)에서 GST의 활성은 425.1 nmol/mg protein/min이었으나 종양세포를 이식한 대조군에서는 249.1 nmol/mg protein/min으로 활성이 매우 낮았다($p<0.05$). 된장추출물을 투여한 쥐에서는 종양세포를 이식하였으나 GST의 활성이 매우 높게 나타났는데, 일반 재래식된장, 매실, 마늘 및 생강첨가된장 투

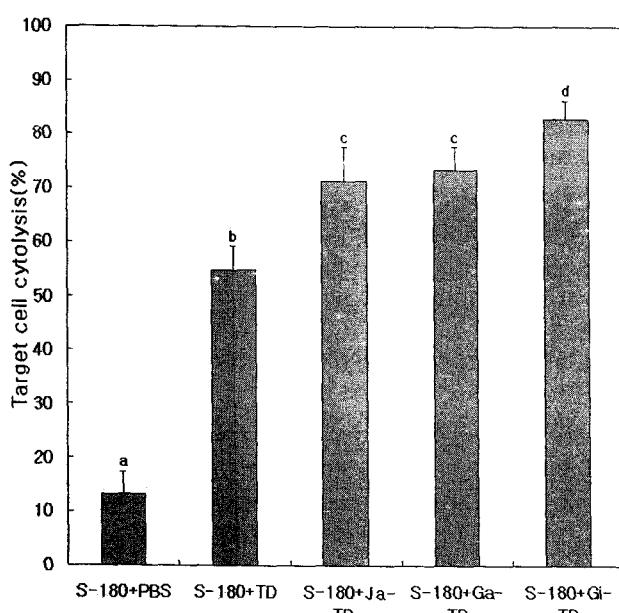


Fig. 1. The effects of methanol extracts from various kinds of *doenjang*(TD) added with sub-ingredients on natural killer(NK) cell activity of mouse splenic lymphocytes.

¹⁾TD : Traditional *doenjang*.

²⁾Ja-TD : Traditional *doenjang* prepared by adding Japanese apricot

³⁾Ga-TD: Traditional *doenjang* prepared by adding Garlic.

⁴⁾Gi-TD : Traditional *doenjang* prepared by adding Ginger.

^{a-d}Means with the different letters are significantly different ($p<0.05$) by Duncan's multiple range test(n=3).

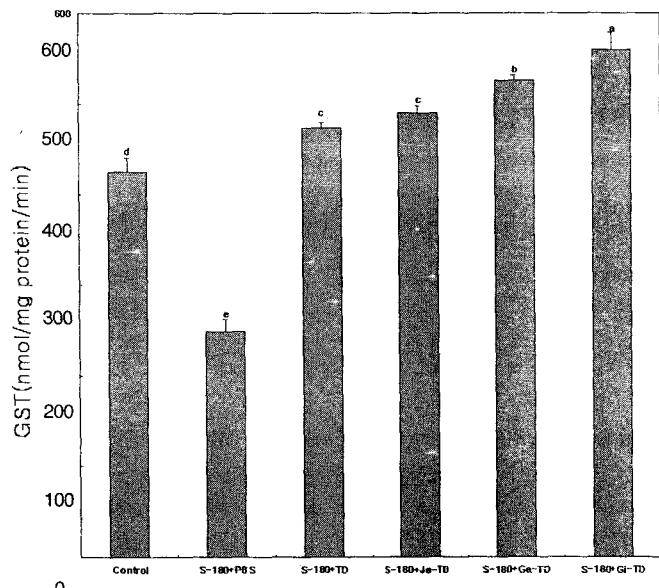


Fig. 2. The effects of various kinds of *doenjang* added with sub-ingredients on hepatic glutathione S-transferase activity.

¹⁾TD : Traditional *doenjang*.

²⁾Ja-TD : Traditional *doenjang* prepared by adding Japanese apricot

³⁾Ga-TD: Traditional *doenjang* prepared by adding Garlic.

⁴⁾Gi-TD : Traditional *doenjang* prepared by adding Ginger.

^{a-d}Means with the different letters are significantly different ($p<0.05$) by Duncan's multiple range test(n=3).

여군의 활성은 473.5, 490.1, 525.2 및 559.6 nmol/mg protein/min을 나타내었다. 특히 마늘과 생강첨가된장은 일반 재래식된장과 매실첨가된장 투여군보다 유의적으로 높은 활성을 나타내었으며, 생강첨가된장 투여군이 가장 높은 활성을 나타내었다($p<0.05$). 이것은 마늘의 메탄올추출물과 allyl sulfide가 간의 GST의 활성을 증가시켜 친전자성 발암물질의 대사산물을 해독하는 효과가 있다고 보고한 Kim 등의 연구(Kim SH 등 1994)에서처럼 마늘과 생강이 된장의 GST 활성을 상승시키는 작용을 가지는 것으로 여겨진다.

IV. 요약 및 결론

Sarcoma-180 종양세포를 이식한 쥐에 매실, 마늘 및 생강을 첨가하여 제조한 된장추출물을 투여하였을 때 나타나는 변화를 관찰하였다. 된장의 메탄올추출물을 투여한 군에서는 대조군보다 종양의 크기가 크게 감소되었다. 일반 재래식된장뿐만 아니라 매실, 마늘 및 생강첨가된장의 메탄올추출물을 투여하였을 때 종양의 크기가 대조군보다 88, 92, 96 및 97% 감소하였으며, 특히 생강첨가된장에서 종양생성 억제 능력이 가장 강한 것을 알 수 있었다. Sarcoma-180 종양세포를 이식 시킨 후 된장추출물을 투여한 쥐에서 장기의 중량 변화를 살펴 본 결과 된장을 투여하지 않은 군에 비하여 생강첨가된장 투여군에서 간장의 중량이 큰 것으로 나타났으나($p<0.05$), 일반된장, 매실 및 마늘첨가된장 투여군은 차이가 없었다. 체중, 비장, 신장 및 심장의 중량은 대조군 및 된장투여군 간에 유의적인 차이를 나타내지 않았다. NK 세포의 활성은 된장을 투여하지 않은 쥐에 비하여 된장추출물을 투여한 쥐에서 활성이 높았으며, 특히 생강첨가된장을 투여한 경우 82.9%의 높은 활성을 나타내었다. 또한 쥐의 간에 있는 효소인 glutathione S-transferase의 활성을 측정한 결과, 된장추출물을 투여한 쥐에서 종양세포를 이식하지 않은 정상 쥐만큼 활성이 높게 나타났으며, 생강첨가된장 투여군의 효소활성이 가장 높았다. 이상의 결과에서 매실, 마늘 및 생강을 첨가하여 제조한 된장이 종양세포를 억제하는 효과가 뛰어나며, 그 가운데 생강첨가된장이 가장 우수한 종양세포 생성 억제작용을 가지는 것으로 관찰되었다.

감사의 글

본 연구는 산업자원부·한국산업기술평가원 지정 대구대학교 농산물 저장·가공 및 산업화 연구센터의 지원에 의한 것입니다.

참고문헌

- 권태완. 1995. 콩 건강여행, 성하출판사, p 72
- 박건영. 1999. 장류의 항암효과. 제2회 영남대학교 부설 장류 연구소 심포지움, pp 71-72
- 윤숙자. 1997. 한국의 저장 발효음식. 신광출판사, 서울, p 55
- 이봉기. 1999. 된장의 면역증강 물질. 제2회 영남대학교 부설 장류연구소 심포지움, pp 75-95
- 이봉기, 장윤수, 이숙이, 정건섭, 최신양. 1997. 식품과 면역 증진 효과. -된장의 면역조절기능과 그 작용기전. 한국 식품영양과학회 추계학술대회 초록집 SL 5
- 이서래. 1988. 장류의 특성과 개선점. 식품과 영양, 9(3):27-29
- 이서래. 1997. 한국의 발효식품. 이화여자대학교 출판부, 서울, p 54
- 최청. 1998. 장류의 생리활성과 산업화 전망. 제6회 인제식품 과학 FORUM 논총, 인제대학교 식품과학연구소, pp 122-151
- 한복려, 한복진. 1995. 장 담그는 법. 등지, 서울, p 126
- 황혜성, 한복려, 한복진. 1989. 한국의 전통음식. 교문사, pp 159-160
- Burk RF, Trumble MJ, Lawerence RA. 1980. Rat hepatic cytosolic glutathione dependent enzyme protection against lipid peroxidation in the NADPH-microsomal lipid peroxidation system. Biochem Biophys Acta 618(1): 35-41
- Cheigh HS, Park KS, Moon GS, Park KY. 1990. Antioxidative characteristics of fermented soybean paste and its extracts on the lipid oxidation. J Korean Soc Food Sci Nutr 19:163-167
- Erickson KL, Schumacher LA. 1989. Lack of an influence of dietary fat on marine natural killer cell activity. J Nutr 119(9):1311-1317
- Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB. 1974. Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. J Biol Chem 249(22):7130-7139
- Hwang JH. 1997. Angiotensin I converting enzyme inhibitory effect of *doenjang* fermented by *B. subtilis* isolated from *meju*, Korean traditional food. J Korean Soc Food Sci Nutr 26:775-783
- Jakoby WB. 1978. The glutathione S-transferases : A group of multifunctional detoxication proteins. Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol 46:383-414
- Jakoby WB, Pastan IH. 1979. Methods in enzymology cell culture. Academic Press, NY, vol. 56, p 119
- Kim SH. 1998. New trends of studying on potential activities

- of Doen-Jang. -Fibrinolytic activity-. Korea Soybean Digest 15:8-15
- Kim SH, Park KY, Suh MJ, Chung HY. 1994. Effect of garlic on glutathione S-transferase activity and the level of glutathione in the mouse liver. J Korean Soc Food Sci Nutr 23:436-442
- Lee JH, Kim MH, Im SS, Kim SH, Kim GE. 1994. Antioxidative materials in domestic *meju* and *doenjang* 3. Separation of hydrophilic brown pigment and their antioxidant activity. J Korean Soc Food Sci Nutr 23:604-613
- Lee JS, Cheigh HS. 1997. Composition and antioxidative characteristics of phenolic fractions isolated from soybean fermented food. J Korean Soc Food Sci Nutr 26:383-389
- Lee KI, Moon RJ, Lee SJ, Park KY. 2001. The quality assessment of doenjang added with Japanese apricot, garlic and ginger, and samjang. Korean J Soc Food Cookery Sci 17(5):472-477
- Lee SJ, Lee KI, Rhee SH, Park KY. 2004. Physiological activity in Doenjang added with various mushrooms. Korean J Food & Cookery Sci 20(4):365-370
- Lee YS, Kim DS, Ryu BH, Lee SH. 1992. Antitumor and immunomodulating effects of seaweeds toward sarcoma-180 cell. J Korean Soc Food Nutr 21(5):544-550
- Lim SY, Park KY, Rhee SH. 1999. Anticancer effect of Doenjang in *in vitro* sulforhodamine B(SRB) assay. J Korean Soc Food Sci Nutr 28(1):240-245
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. J Biol Chem 193(1):265-275
- Nair SC, Salomi MJ, Varghese CD, Panikkar B, Panikkar KR. 1992. Effect of saffron on thymocyte proliferation intracellular glutathione levels and its antitumor activity. Biofactors 4(1):51-54
- Park JG, Kramer BS, Steinberg SM, Carmichael J, Collins JM, Minna JD, Gazdar AF. 1987. Chemosensitivity testing of human colorectal carcinoma cell lines using a tetrazolium-based colorimetric assay. Cancer Res 47(22):5875-5879
- Priest JH. 1977. Medical cytogenetics and cell culture. Lea & febriger, p 263
- Ryu BH, Kim DS, Cha KJ, Sin DB. 1989. Antitumor activity of seaweeds toward sarcoma-180. Korean J Food Sci Technol 21(5):595-600
- Shin ZI, Ahn CW, Nam HS, Lee HJ, Moon TH. 1995. Fractionation of angiotensin converting enzyme(ACE) inhibitory peptides from soybean paste. Korean J Food Sci Technol 27:230-234
- Skehan P, Storeng R, Scudiero D, Monks A, McMahon J, Vistica D, Warren JT, Bokesch H, Kenney S, Boyd MR. 1990. New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening. J Natl Cancer Inst 82(13):1107-1112
- Son MH. 1995. Anticancer effect of Doenjang and its mechanism in mice. MS Thesis, Pusan national university
- Steel RG, Torrie JH. 1980. Principles and procedure of statistics. McGraw-Hill kogakusha Ltd, Tokyo, p 96
- Suh HJ, Suh DB, Chung SH, Whang JH, Sung HJ, Yang HC. 1994. Purification of ACE inhibitor from soybean paste. Agric Chem Biotechnol 37:441-446

(2005년 5월 6일 접수, 2005년 9월 20일 채택)