

7종 갈조류의 항돌연변이 및 인체 암세포 증식 억제 효과

최형주¹ · 길정하² · 박순선² · 공창숙¹ · 박건영² · 서영원¹ · 임선영^{1*}

¹한국해양대학교 해양환경생명과학부, ²부산대학교 식품영양학과

Received July 12, 2006 / Accepted October 11, 2006

Inhibitory Effects of Solvent Extracts from Seven Brown Algae on Mutagenicity and Growth of Human Cancer Cells. Hyung-Ju Choi¹, Jeung-Ha Kil², Soon-Sun Bak², Chang-Suk Kong¹, Kun-Young Park², Youngwan Seo¹ and Sun-Young Lim^{1*}. ¹Division of Marine Environment & Bioscience, Korea Maritime University, Busan 606-791, Korea, ²Dept. of Food Science and Nutrition, Busan National University, Busan 609-735, Korea – This study was carried out to determine the inhibitory effects of solvent extracts from seven brown algae on mutagenicity using Ames test and growth of AGS human gastric adenocarcinoma and HT-29 human colon cancer cells. The treatment of acetone with methylene chloride and methanol extracts (1.25 mg/assay) from *Sargassum horneri* to Ames test system inhibited aflatoxin B₁ (AFB₁) induced mutagenicity by 96% and 91%, respectively and showed a higher anti-mutagenic effect than other various marine sources. Similar inhibitory effects were detected in methanol extracts from *S. tortile*, *S. yezoense*, *S. hemiphyllum* and in acetone with methylene chloride extracts from *Carpopeltis affinis*, *S. fulvellum*, *Colpomenia sinuosa* and *S. hemiphyllum*. In case of N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) induced mutagenicity, the acetone with methylene chloride and methanol extracts from *S. yezoense* showed 62% and 50% inhibitory rate, respectively, although the inhibitory effect was not stronger compared to AFB₁ induced mutagenicity. These results suggest that brown algae have an inhibitory effect to mutagenic agents and that the inhibition was more effective in mutagenicity induced by AFB₁ than by MNNG. Inhibitory effects of acetone with methylene chloride and methanol extracts from *S. horneri* and *S. hemiphyllum* on the growth of AGS and HT-29 human cancer cells were increased as dose dependent patterns and the methanol extracts showed a stronger inhibitory effect against these cancer cells. The above results indicate that the consumption of these seaweeds may be recommended as potent functional foods for preventing cancer.

Key words – Brown algae, antimutagenicity, human cancer cell, growth inhibition, Ames test

서 론

세계 8대 해양국의 하나인 우리나라는 3면이 바다로 둘러싸여 있어 비교적 해양생물 자원이 풍부하여 예로부터 해양생물은 국민생활상 중요한 물질이었다. 특히 해조류에는 일반적으로 단백질이 10% 정도 포함되어 있고 당질은 30~40% 정도 함유되어 있으며, 또한 영양학적으로 열량이 매우 낮으면서 다양한 미네랄과 비타민이 풍부하게 함유되어 있는 것이 특징이다. 해조류는 소화 흡수율이 낮아 영양학적인 측면에서 관심을 끌지 못하였으나, 어떤 특정 성분에서는 항균효과[14], 항산화효과[8,11,16], 항암활성[4,12,18,20], 항발암효과[2,21] 및 항돌연변이효과[9,23,26]가 있는 것으로 알려져 있으며 항응고활성[27] 및 항고혈압[3] 등의 성인병예방에도 효과적인 것으로 보고되어 해조류에 내재되어 있는 잠재적 활성들을 엿볼 수 있었다.

해조류에는 녹조류, 홍조류, 그리고 황색조류의 일부인 갈조류가 있으며 이들은 얇은 바다의 서식지를 풍요롭게 하고

있다. 녹조류의 대표적인 식품인 파래(*Enteromorpha*)는 항산화효과가 우수하며, 지질과산화물이 단백질과 결합하는 반응을 매우 효과적으로 저해한다고 보고되었다[11]. 홍조류인 김(*Porphyra tenera*)은 신경증양, 간암 및 여성암의 대표적인 유방암세포의 성장억제효과가 탁월한 것이 알려졌다[21]. 갈조류에는 미역(*Undaria pinnatifida*), 다시마(*Laminaria japonica*), 모자반(*Sargassum*) 등이 있으며, 이들은 항암활성[4,12]과 angiotensin-I converting 효소 저해와 관련된 고혈압 억제 활성[3]을 갖는 것으로 알려져 있다.

Park 등[17]은 해조류 추출물을 이용한 연구 결과에서 갈조류인 감태, 곰피, 다시마 및 모자반의 항발암 효과가 우수하다고 하였으며, 특히 곰피 추출물에서 발암 억제 물질인 phenol, chlorophyll 및 carotenoid 화합물을 확인하였다. 또한, 미역, 다시마, 파래, 김 등의 해조류는 체내 무기질 이온의 대변으로의 배설을 촉진하여 정상인의 Na, Ca 및 K 대사 조절에 영향을 미치며 혈청 지질 강하효과가 있음이 밝혀졌다[22]. Yan 등[25]은 모자반(*S. kjellmanianum*)로부터 분리한 phlorotannins 성분이 우수한 지질과산화 억제효과를 보인다고 밝힌 바 있으며 톱을 acetone으로 추출했을 때 높은 항산화효과를 나타내어 이것을 분석한 결과 fucoxanthin 이라

*Corresponding author

Tel : +82-51-410-4757, Fax : +82-51-410-3988

E-mail : sylim@bada.hhu.ac.kr

는 것을 밝혔다고 보고하였다[24].

따라서 본 연구에서는 천연자원인 해조류에서 항돌연변이 및 항암 생리활성물질을 검색하여 발암물질 생성 방지 및 생체 방어 물질로서의 이용 가능성을 검토하고자 해조류 중에서 갈조류인 다시마(*L. japonica*), 팽생이모자반(*S. horneri*), 껍배기모자반(*S. tortile*), 모자반(*S. fulvellum*), 불레기말(*Colpomenia sinuosa*), 왜모자반(*S. yezoense*), 짝잎모자반(*S. hemiphyllum*)과 홍조류인 까막살(*Carpopeltis affinis*)을 대상 원료로 하여 Ames test를 이용하여 직접돌연변이원(N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine, MNNG)과 곰팡이의 대사에 의한 강한 발암 물질인 간접돌연변이원(aflatoxin B₁, AFB₁)에 대한 항돌연변이 효과를 검토하였다. 또한 MTT assay를 이용하여 항돌연변이 효과가 우수했던 팽생이모자반(*S. horneri*), 짝잎모자반(*S. hemiphyllum*)의 인체 위암세포(AGS, human gastric adenocarcinoma cell)와 인체 결장암세포(HT-29, human colon cancer cell)에 대한 암세포 증식 억제 효과를 알아보고자 한다.

재료 및 방법

재료

실험에 사용된 해조류는 다시마(*L. japonica*), 까막살(*C. affinis*), 팽생이모자반(*S. horneri*), 껍배기모자반(*S. tortile*), 모자반(*S. fulvellum*), 불레기말(*C. sinuosa*), 왜모자반(*S. yezoense*), 짝잎모자반(*S. hemiphyllum*)으로 2003년 5월 제주도에서 채집하였으며 응달에서 건조한 후 추출하기 전까지 -25℃에서 보관하였다. 유기용매 추출을 위하여 채집한 해조류는 잘게 자른 후 acetone:methylene chloride (1:1)로 24시간 방치한 후 추출하였고 이 과정을 2회 반복하여 얻은 여액은 40℃ 수욕 상에서 rotary vacuum evaporator (EYELA, Japan)을 사용하여 농축하였다(acetone/methylene chloride 추출물). 남은 잔사는 동량의 methanol로 2회 추출하여 동일한 방법으로 농축하여 각각 dimethyl sulfoxide (DMSO)에 녹여 실험에 사용하였다(methanol 추출물).

Ames 돌연변이 유발실험

Salmonella typhimurium TA100은 *S. typhimurium* LT-2의 histidine auxotroph로서 미국 California 대학의 B.N. Ames 박사로부터 제공받아 정기적으로 histidine 요구성, deep rough (*rfa*) 돌연변이, *worB* 돌연변이, R factor 등의 유전형질을 확인하면서 실험에 사용하였다. 간접 돌연변이 유발물질인 AFB₁은 Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 DMSO에 녹여 실험에 사용하였고 직접 돌연변이원인 MNNG는 Sigma Chemical Co.에서 구입하여 증류수에 녹여 실험에 사용하였다. 간접돌연변이원인 AFB₁의 경우 활성화를 위하여 Maron과 Ames의 방법[13]에 따라 S9 mixture를 첨가하였다. 항돌연변이 실험은 미리 건열 멸균시킨

glass cap tube에 S9 mix 혹은 phosphate buffered saline (PBS) 0.5 ml, 하룻밤 배양된 균주 0.1 ml (1~2x 10⁹ cells/ml)와 돌연변이 유발물질 (50 μl)을 가한 후, 시료를 1.25 mg/plate 가하여 37℃에서 20분간 예비 배양한 다음 histidine/biotin이 첨가된 top agar (45℃) 2 ml씩을 가하고 vortex하여 minimal glucose agar plate에 도말하고 37℃에서 48시간 배양한 후 revertant 숫자를 계수하였다. 돌연변이 억제효과의 정도(inhibition rate)는 아래식에 의해 계산하였다[1].

$$\text{Inhibition rate (\%)} = 100 \times [(a-b)/(a-c)]$$

여기서 a는 돌연변이원에 의해 유도된 복귀돌연변이원 수, b는 시료를 처리하였을 때의 복귀돌연변이의 수이며, c는 돌연변이원과 시료가 없을 경우의 자연복귀돌연변이원의 수이다.

암세포 및 암세포 배양

한국 세포주 은행(서울의대)으로부터 인체 위암세포(AGS)와 인체 결장암세포(HT-29)를 분양받아 본 실험실에서 배양하면서 실험에 사용하였다. AGS와 HT-29 암세포를 100 units/ml의 penicillin-streptomycin과 10% fetal calf serum (FCS)가 함유된 DMEM 배지를 사용하여 37℃, 5% CO₂ incubator에서 배양하였다. 배양 중인 세포를 1주일에 2번 re-feeding하고 1주일 후 PBS로 세척한 뒤 0.05% trypsin-0.02% EDTA (Gibco Co., USA)로 부착된 세포를 분리하여 원심분리 한 후 집적된 암세포에 배지를 넣고 피펫으로 암세포가 골고루 분산되도록 잘 혼합하여 75 mm³ cell culture flask에 10 ml 씩 일정수 분할하여 주입하고 계속 6~7일마다 계대 배양하면서 실험에 사용하였다. 계대 배양 시 각각의 passage number를 기록하였고 passage number가 10회 이상일 때는 새로운 암세포를 액체 질소 탱크로부터 꺼내어 다시 배양하여 실험하였다.

MTT assay

배양된 암세포는 96 well plate에 2x10⁴ cells/ml이 되도록 180 μL씩 분주하여 37℃, 5% CO₂ incubator에서 24시간 배양한 후 시료를 phosphate buffered saline (PBS)로 5배 희석하여 각 well당 시료 농도별로 20 μL씩 첨가하고, 대조군에는 시료 대신 PBS를 20 μL씩 첨가하였다. 이 plate를 다시 37℃, 5% CO₂ incubator에서 48시간 배양하였다. 2일 후 3-(4,5-dimethylthiazol)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) assay를 위하여 MTT 20 μL를 첨가하고 4시간 동안 더 배양하여 MTT가 환원되도록 한다. 배양종료 후 생성된 formazan 결정을 가라앉힌 후 각 well에 형성된 결정이 흐트러지지 않도록 주의하면서 배지를 180 μL를 제거하였다. 배지가 제거된 각 well에 formazan 결정을 용해시키기 위하여

DMSO를 150 μ l씩 가한 후 formazan 결정이 녹을 수 있도록 약 5분간 가볍게 진탕해 주고 바로 96 well plate용 광도계 (ELISA reader)로 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이 흡광도는 MTT가 세포에 의해서 환원된 양을 나타내며, 따라서 각 well에 존재하는 생존 수와 비례한다[5].

통계분석

실험결과는 Mean \pm SD로 나타내었고 분석된 실험 데이터는 대조군과 각 시료로부터 얻은 실험 자료로부터 one-way ANOVA를 실시하여 유의성이 있을 경우에 post-hoc test로 Duncan's multiple range test를 실시하여 95% 수준에서 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

해조류의 항돌연변이 효과

간접 돌연변이원인 AFB₁은 *Aspergillus flavus*와 *A. parasiticus*에 의해 생성되는 2차 대사산물로서 잠재적인 hepatotoxin이고 *in vitro* 돌연변이 실험에서 뿐만 아니라 동물 실험에서도 강력한 발암원으로 알려져 있다. AFB₁의 경우 간접 돌연변이원으로 쥐의 간추출물의 microsomal fraction의 mixed function oxidase에 의해 AFB₁-2,3-epoxide가 될 때 활성화되어 최종 돌연변이원으로 작용하여 DNA 또는 RNA와 결합한다고 보고되었다[6]. 실험에 사용한 해조류들에 의한 AFB₁ (0.6 mg/plate)에 대한 돌연변이 억제 효과는 Table 1에 나타내었다. AFB₁에 대해서 팽생이모자반(*Sargassum horneri*) 이 실험에 사용된 다른 해조류들 중에서 가장 높은 돌연변이 억제 효과를 보였다. 첨가농도 1.25 mg/plate일 때, 팽생이모자반(*S. horneri*)의 acetone+methylene chloride 추출물과 methanol 추출물은 각각 96%, 91%로 실험에 사용된 다른 해조류들의 acetone+methylene chloride 추출물과 methanol 추출물들 중에서 가장 높았으며 양성 대조군인 다시마의 용매 추출물보다도 높은 돌연변이 억제 효과를 보였다. 또한, 페배기모자반(*Sargassum tortile*), 왜모자반(*Sargassum yezoense*), 짝잎모자반(*Sargassum hemiphyllum*)에서의 methanol 추출물도 동일한 첨가농도일 때 각각 89%, 82%, 87%의 돌연변이 억제 효과를 보였다. 그리고 acetone+methylene chloride 추출물 1.25 mg/plate농도에서 까막살(*Carpopeltis affinis*), 모자반(*Sargassum fulvellum*), 불레기말(*Colpomenia sinuosa*), 짝잎모자반(*Sargassum hemiphyllum*)이 각각 89%, 95%, 95%, 95%의 돌연변이 억제 효과를 보였다. 갈조류를 이용한 다른 연구자들의 결과에서도 다시마와 미역의 열수 추출물은 돌연변이원에 대하여 강한 억제효과를 보였고 다시마는 바다당류 층에서, 미역은 다당류 층에서 더 강한 항돌연변이 효과가 나타났음이 보고되었다[15]. Ryu 등 [20]도 미역, 다시마, 곰피, 청각, 파래, 김 등의 해조 추출물이 AFB₁에 대해 효

Table 1. Effect of various marine algae on the mutagenicity of AFB₁ (0.6 mg/plate) in *Salmonella typhimurium* TA100¹

Sample (1.25 mg/plate)	Revertants/plate	Inhibition rate (%) ²
Spontaneous	113 \pm 12 ³	
Control (AFB ₁)	1245 \pm 151	
<i>Laminaria japonica</i> A+M ⁴	584 \pm 31	58.4
MeOH ⁵	525 \pm 25	63.6
<i>Carpopeltis affinis</i> A+M	235 \pm 6	89.2
MeOH	469 \pm 17	68.6
<i>Sargassum horneri</i> A+M	157 \pm 11	96.1
MeOH	211 \pm 9	91.3
<i>Sargassum tortile</i> A+M	1010 \pm 86	20.8
MeOH	243 \pm 9	88.5
<i>Sargassum fulvellum</i> A+M	174 \pm 1	94.6
MeOH	805 \pm 27	38.9
<i>Colpomenia sinuosa</i> A+M	169 \pm 10	95.0
MeOH	553 \pm 59	61.1
<i>Sargassum yezoense</i> A+M	406 \pm 40	74.1
MeOH	320 \pm 18	81.7
<i>Sargassum hemiphyllum</i> A+M	171 \pm 12	94.8
MeOH	263 \pm 54	86.8

¹0.5 ml of the S9 mix, 0.1 ml of the test bacterial suspension from an overnight culture and 0.1 ml of the test compound were added. Then the plates were incubated at 37°C for 48 hr. and the revertant bacterial colonies on each plate were counted.

²Inhibition rate (%) = (Control-Sample)/(Control- Spontaneous)* 100

³Values are mean \pm SE

⁴A+M indicates acetone+methylene chloride extracts from marine algae

⁵MeOH indicates methanol extracts from marine algae

과적인 항돌연변이 활성을 지녔다고 보고하였다.

직접 돌연변이인 MNNG은 *S. typhimurium* TA100에 대한 대표적인 diagnostic mutagen으로서 이들의 활성화에 S9 activation을 필요로 하지 않는 직접 돌연변이원이다. MNNG 혹은 그 동족체인 N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (EMNG)의 투여로 쥐의 선위에서 암을 발생시킬 수 있기 때문에 위암 연구에 많이 이용되고 있으며, 이들의 발암 작용은 핵산의 alkyl화와 같은 DNA 염기 배열에 유전적 이상을

일으키는 유전적인 작용과 단백질의 아미노산의 니트로아미노화 등 DNA 정보 발현에 이상을 일으키는 것과 같은 기전에 관여한다고 알려져 있다[28]. AFB₁과 같은 농도인 0.6 mg /plate의 농도의 MNNG를 사용하여 *S. typhimurium* TA100 균주에 대한 해조류의 항돌연변이성 실험을 한 결과, 간접 돌연변이원인 AFB₁에 비해 직접 돌연변이원인 MNNG에 대해서는 다소 항돌연변이 효과가 떨어지지만, 여기서도 실험에 사용된 해조류들의 돌연변이 억제 효과를 살펴볼 수 있었다(Table 2). Acetone+methylene chloride 추출물 (1.25 mg /plate 첨가농도)의 경우, 패배기모자반(*S. tortile*), 모자반(*S. fulvellum*) 및 왜모자반(*S. yezoense*)의 추출물이 MNNG에 대해 각각 38%, 35%, 62%의 돌연변이 억제 효과를 보였다. Methanol 추출물의 경우, 동일 농도에서 다시마(*L. japonica*), 까막(*C. affinis*) 및 왜모자반(*S. yezoense*)의 methanol 추출물은 MNNG에 대해 각각 42%, 41%, 50%를 보였다. 이상의 결과에서 *S. typhimurium* TA100 균주에 대한 AFB₁과 MNNG의 돌연변이 유발실험에서 해조류는 뚜렷한 항돌연변이 효과가 있었음을 관찰할 수가 있었고 AFB₁과 MNNG 돌연변이원 중에서는 AFB₁에 대하여 이상의 해조류들이 훨씬 높은 돌연변이 억제 효과를 보였다. Kim 등 [9]의 연구에서도 5종의 해조류 에탄올 추출물들의 직접 및 간접 돌연변이원에 대한 항돌연변이 효과의 차이를 살펴볼 수가 있었는데, 예를 들면 툃과 파래의 경우, 직접 및 간접 작용 돌연변이원에 대한 항돌연변이 효과가 우수하였으나, 미역은 간접작용 돌연변이원에 의한 돌연변이 억제효과, 다시마는 직접작용 돌연변이원에 의한 돌연변이 억제효과가 다소 떨어지는 경향이었고 김은 직접작용 돌연변이 억제효과는 약간 나타났지만 미미하였고 간접작용 돌연변이 억제효과는 확인할 수가 없다고 보고하였다.

인체 암세포 증식 억제 효과

7종의 해조류들 중 높은 항돌연변이 효과를 보였던 팽생이모자반(*S. horneri*)과 짙잎모자반(*S. hemiphyllum*)의 acetone+methylene chloride 추출물과 methanol 추출물을 중심으로 이들 추출물들에 의한 암세포 증식 억제 효과를 조사하기 위해 MTT assay를 행하였다. 팽생이모자반(*S. horneri*)의 용매 추출물을 0.5%, 1% 및 2%의 농도별로 인체 위암세포 (AGS)에 처리했을 때(Fig. 1A), acetone+methylene chloride 추출물과 methanol 추출물은 둘 다 가장 낮은 농도인 0.5%에서부터 농도 의존적으로 암세포 증식 억제 효과가 증가하였다. Acetone+methylene chloride 추출물은 1% 첨가농도에서 37%의 암세포 성장 억제 효과를 보였고, 2% 농도에서 94%의 높은 암세포 증식 억제 효과를 나타내었다. Methanol 추출물의 경우에는 1% 농도에서 65%로 acetone+methylene chloride 추출물과 비교했을 때 높은 암세포 성장 억제 효과를 보였다. 2% 첨가농도에서는 acetone+methylene chloride

Table 2. Effect of various marine algae on mutagenicity of MNNG (0.6 mg/plate) in *Salmonella typhimurium* TA100¹

Sample (1.25 mg/plate)	Revertants/plate	Inhibition rate (%) ²
Spontaneous	160 ± 7 ³	
Control (MNNG)	1800 ± 23	
<i>Laminaria japonica</i> A+M ⁴	1439 ± 83	22.0
MeOH ⁵	1113 ± 55	41.9
<i>Carpopeltis affinis</i> A+M	1388 ± 11	25.1
MeOH	1128 ± 40	41.0
<i>Sargassum horneri</i> A+M	1534 ± 76	16.2
MeOH	1569 ± 56	14.1
<i>Sargassum tortile</i> A+M	1172 ± 44	38.3
MeOH	1466 ± 48	20.3
<i>Sargassum fulvellum</i> A+M	1220 ± 125	35.3
MeOH	1295 ± 26	30.8
<i>Colpomenia sinuosa</i> A+M	1534 ± 119	16.2
MeOH	1280 ± 53	31.7
<i>Sargassum yezoense</i> A+M	777 ± 68	62.4
MeOH	988 ± 91	49.5
<i>Sargassum hemiphyllum</i> A+M	1418 ± 14	23.3
MeOH	1218 ± 55	35.5

¹0.5 ml of PBS, 0.1 ml of the test bacterial suspension from an overnight culture and 0.1 ml of the test compound were added. Then the plates were incubated at 37°C for 48 hr. and the revertant bacterial colonies on each plate were counted.

²Inhibition rate (%) = (Control-Sample)/(Control-Spontaneous)*100

³Values are mean±SE

⁴A+M indicates acetone+methylene chloride extracts from marine algae

⁵MeOH indicates methanol extracts from marine algae

추출물과 유사하게 96%의 높은 암세포 성장 억제 효과를 나타내었다. Fig. 1B는 인체 결장암세포(HT-29)에 이들 팽생이모자반(*S. horneri*)추출물을 처리했을 때 암세포 증식 억제 효과를 나타낸 것이다. 인체 위암세포에 처리했을 때처럼 acetone+methylene chloride추출물과 methanol 추출물 모두 가장 낮은 농도인 0.5%에서부터 농도 의존적으로 암세포 성장 억제 효과가 증가하였다. Acetone+methylene chloride 추출

물의 경우, 2% 첨가농도에서 인체 위암세포와 비교했을 때 다소 낮은 인체 암세포 증식 억제 효과가 보였지만, 66%로 결장암세포의 증식을 억제시켰다. Methanol 추출물은 1% 및 2% 농도에서 각각 97%, 99%로 높은 암세포 성장 억제 효과를 보였다. 짝잎모자반(*S. hemiphyllum*)의 acetone+methylene chloride 추출물 및 methanol 추출물을 농도별로 인체 위암세포 (AGS)에 처리했을 때(Fig. 2A), acetone+methylene chloride 추출물의 경우 0.5% 및 1% 첨가농도에서 각각 14%, 69%의 암세포 증식 억제 효과를 보였고, 2% 농도에서 93%의 높은 암세포 성장 억제 효과를 나타내었다. Methanol 추출물의 경우에는 2% 첨가농도에서 97%의 높은 암세포 성장 억제 효과를 나타내었다. 짝잎모자반(*S. hemiphyllum*)추출물을 인체 결장암세포(HT-29)에 처리했을 때(Fig. 2A), Acetone+methylene chloride 추출물은 0.5%, 1% 및 2% 첨가농도에서 각각 11%, 16%, 45%로 다소 낮은 저해율을 나타내었다. 짝잎모자반(*S. hemiphyllum*)의 methanol 추출물의 경우는 acetone+methylene chloride 추출물의 경우보다 높은 인체 암세포 증식 억제 효과를 보여 1% 및 2% 첨가농도에서 각각 59%, 97%의 증식 억제 효과를 나타내었다.

Bae[2]는 모자반(*S. fulvellum*)을 용매 추출, 분획하여 *in vi-*

*tro*에서의 항발암효과를 알아보기 위하여 3종의 암세포주 (HepG2, HT-29, HeLa)를 이용하여 암세포 독성 효과를 본 결과, 모자반의 ethylether 분획층과 ethylacetate 분획층이 HepG2, HT-29 및 HeLa 암세포에서 모두 아주 높은 세포독성을 나타냄을 확인하였다. HT-29와 HeLa에서는 methanol 추출물과 hexane 분획층에서도 유의적인 암세포 독성 효과를 나타내었으며, 특히 methanol 추출물층은 적은 농도에서 암세포 독성 효과, 체내 독성물질이나 발암물질을 무독화시키는 phase II 효소인 Quinone reductase (QR) 유도 활성 효과를 나타내었다고 보고하였다. 또한, 톳과 미역의 열수 추출물을 쥐에게 투여했을 때 종양 성장 억제효과 및 수명 연장 효과가 있음이 보고되었다[20]. Riou 등[19]의 연구결과에 따르면 갈조류인 *Ascophyllum nodosum*에서 추출한 fucoidan은 인체 기관지 폐암세포의 G1를 차단하여 암세포 증식을 억제하였고 분리된 저분자 fucoidan은 인체 대장암세포에 대해서도 높은 증식 억제효과를 보였다고 보고하였다. 미역 등 갈조류의 carotenoids계 색소인 fucoxanthin은 신경 아세포의 증식을 저해하거나 증식 속도를 저하시켰다.[10] 일본에서 주로 식용되는 미역과 다시마 수용액 성분은 쥐의 유방암에 대한 강한 억제작용을 보였고 특히 인체 유방암 세포의

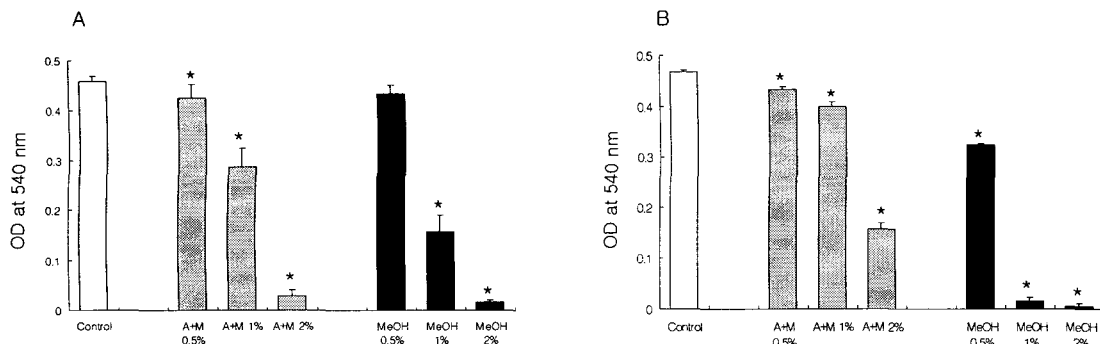


Fig. 1. Inhibitory effect of acetone+methylene chloride (A+M) and methanol (MeOH) extracts of *S. horneri* on the growth of AGS human gastric adenocarcinoma (A) and HT-29 human colon (B) cells after 2 days of incubation at 37°C using MTT assay. *p<0.05, significant effect between the control and experimental groups.

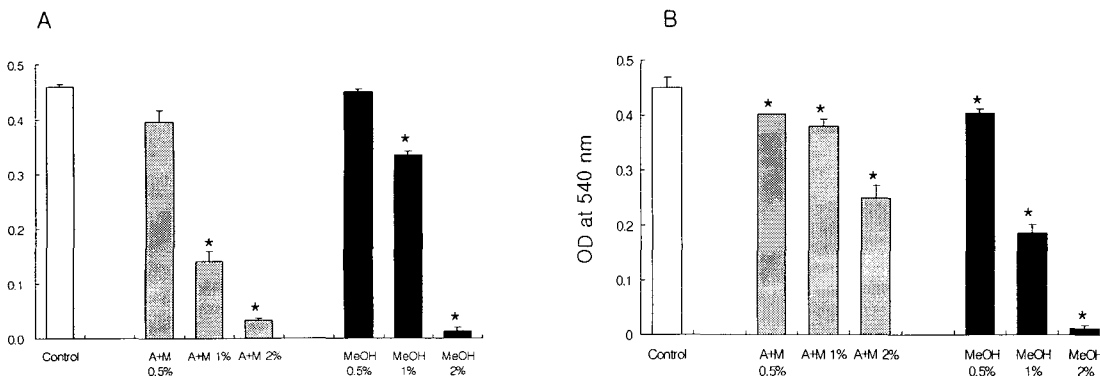


Fig. 2. Inhibitory effect of acetone+methylene chloride (A+M) and methanol (MeOH) extracts of *S. hemiphyllum* on the growth of AGS human gastric adenocarcinoma (A) and HT-29 human colon (B) cells after 2 days of incubation at 37°C using MTT assay. *p<0.05, significant effect between the control and experimental groups.

apoptosis를 유발하여 유방암 세포에 대한 증식 억제작용을 보였다고 보고하였다[7]. Kim 등[9]의 연구에서도 톳, 다시마, 미역 등 갈조류가 암세포에 대한 저해 효과가 큰 것으로 보아 갈조류에 함유된 fucoidan, fucoxanthin, 및 요오드 등에 의해 세포 증식이 억제된 것으로 제안하였다. 따라서 본 연구에서 살펴 본 이상의 7종의 갈조류 추출물들은 Ames test에서 항돌연변이 효과를 나타냈을 뿐만 아니라 인체 암세포에서도 높은 증식 억제 효과를 나타냄을 살펴 볼 수가 있었으므로 해조류들을 더욱 더 용매 추출 및 분획하여 해조류의 어떤 성분이 항돌연변이 및 암세포 증식 억제에 영향을 미치는지에 관하여 계속 연구가 필요하며, 이상의 연구를 통해 일반적인 전통 식품식품으로 사용되는 해조류를 이용한 유용한 생리활성물질 및 의약품의 개발을 기대해 본다.

요 약

본 연구에서는 해조류의 항돌연변이 및 항암 생리활성물질을 검색하여 발암물질 생성 방지 및 생체 방어 물질로서의 이용 가능성을 검토하고자 Ames test를 이용하여 직접돌연변이원인 MNNG와 간접돌연변이원인 AFB₁에 대한 항돌연변이 효과 및 암세포 증식 억제 효과를 알아보고자 하였다. AFB₁에 대해서 팽생이모자반(*S. horneri*)이 실험에 사용된 다른 해조류들 중에서 가장 높은 돌연변이 억제 효과를 보였다. 첨가농도 1.25 mg/plate일 때, 팽생이모자반의 acetone+methylene chloride 추출물과 methanol 추출물은 각각 96%, 91%로 실험에 사용된 다른 해조류들의 추출물들 중에서 가장 높았으며 양성 대조군인 다시마의 용매 추출물보다도 높은 돌연변이 억제 효과를 보였다. AFB₁과 같은 농도인 0.6 mg/plate의 농도의 MNNG를 사용하여 *S. typhimurium* TA100 균주에 대한 해조류의 항돌연변이성 실험을 한 결과, 간접 돌연변이원인 AFB₁에 비해 직접 돌연변이원인 MNNG에 대해서는 다소 항돌연변이 효과가 떨어지지만, 여기서도 실험에 사용된 해조류들의 돌연변이 억제 효과를 살펴볼 수가 있었으며 acetone+methylene chloride 추출물의 경우가 methanol 추출물보다 다소 높은 활성을 나타내었다. 항돌연변이 실험에서 효과가 뛰어난 팽생이모자반과 짝잎모자반을 중심으로 인체 암세포(위암세포, AGS 및 결장암 세포, HT-29) 증식억제효과를 살펴본 결과, 용매 추출물을 0.5%, 1% 및 2%의 농도별로 암세포에 처리했을 때 acetone+methylene chloride 추출물과 methanol 추출물은 둘 다 가장 낮은 농도인 0.5%에서부터 농도 의존적으로 암세포 증식 억제 효과가 증가하였다. 이상의 7종의 갈조류 추출물들은 Ames test에서 높은 항돌연변이 효과를 나타냈을 뿐만 아니라 팽생이모자반 및 짝잎모자반은 인체 암세포에 대해서도 높은 증식 억제 효과를 나타냄을 살펴 볼 수가 있었다.

감사의 글

본 연구는 해양수산부 마린바이오21사업의 해양바이오프로세스연구단 연구비 지원(과제관리번호 B-2004-07)에 의해 수행되었으며 이에 감사를 드립니다.

참 고 문 헌

- Ames, B. N., J. McGann and E. Yamasaki. 1975. Method for detecting carcinogens and mutagens with the *Salmonella*/mammalian-microsome mutagenicity test. *Muta. Res.* **31**, 347-364.
- Bae, S. J. 2004. Anticarcinogen effects of *Saogassum fulvellum* fractions on several human cancer cell lines *in vitro*. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **33**, 480-486.
- Cha, S. H., G. N. Ahn, S. J. Heo, K. N. Kim, K. W. Lee, C. B. Song, S. K. Cho and Y. J. Jeon. 2006. Screening of extracts from marine green and brown algae in Jeju for potential marine angiotensin-I converting enzyme (ACE) inhibitory activity. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **35**, 307-314.
- Cho, K. J., Y. S. Lee and B. H. Ryu. 1990. Antitumor effect and immunology activity of seaweeds toward Sarcoma-180. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **23**, 345-352.
- Denizot, F., and R. Lang. 1986. Rapid colorimetric assay for cell growth and survival modifications to the tetrazolium dye procedure giving improved sensitivity and reliability. *J. Immunol. Methods* **89**, 271-277.
- McCormick, J. J. and V. M. Maher. 1985. Cytotoxic and mutagenic effects of specific carcinogen-DNA adducts in diploid human fibroblasts. *Environ. Health Perspectives* **62**, 145-155.
- Funahashi, H., T. Imai, T. Mase, M. Sekitya, K. Tokoi, H. Hayashi, A. Shibata, T. Hayashi, M. Nishikawa, N. Suda, Y. Hibi, Y. Mizuno, K. Tsukamura, A. Hayakawa and S. Tanuma. 2001. Seaweeds prevent breast cancer? *Jpn. J. Cancer Res.* **92**, 483-487.
- Heo, S. J. and Y. J. Jeon. 2005. Antioxidant effect and protecting effect against cell damage by enzymatic hydrolysates from marine algae. *Food Induectry Nutr.* **10**, 31-41.
- Kim, S. A., M. K. Woo, C. S. Kwak and M. S. Lee. 2005. Antimutagenic and cytotoxic effects of ethanol extracts from five kinds of seaweeds. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **34**, 451-459.
- Krinsky, N. I. 1993. Micronutrients and their influence on mutagenicity and malignant transformation. *Ann. New York Acad. Sci.* **686**, 229-234.
- Kwak, C. S., S. A. Kim and M. S. Lee. 2005. The correlation of antioxidative effects of 5 Korean common edible seaweeds and total polyphenol content. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **34**, 1143-1150.
- Lee, Y. S., D. S. Kim, B. H. Ryu and S. H. Lee. 1992. Antitumor and immunomodulating effects of seaweeds toward Sarcoma-180 cell. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **21**, 544-550.

13. Maron, D. M. and B. N. Ames. 1983. Reversed methods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Muta. Res.* **113**, 173-215.
14. Nagayama, K., Y. Iwamura, T. Shibata, I. Hirayama and T. Nakamura. 2002. Bactericidal activity of phlorotannins from the brown alga *Ecklonia kurome*. *J. Antimicrob. Chemoth.* **50**, 889-893.
15. Okai, Y., K. Higashi-Okai and S. Nakamura. 1993. Identification of heterogenous antimutagenic activities in the extract of edible brown seaweeds, *Laminaria japonica* (Makonbu) and *Undaria pinnatifida* (Wakame) by the ume gene expression system in *Salmonella typhimurium* (TA 1535/pSK 1002). *J. Sci. Food Agric.* **303**, 63-70
16. Park, Y. B. 2005. Determination of nitrite-scavenging activity of seaweed. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **34**, 1293-1290.
17. Park, Y. B., J. K. Anh, S. J. Yoo, D. C. Park, I. S. Kim, Y. H. Park and S. B. Kim. 1998. Eluciation of anti-tumor initiator and promoter derived from seaweed-4: Desmutagenic principles of *Ecklonia stolonifera* extracts against carcinogenic heterocyclic amines. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **27**, 537-542.
18. Park, S. Y., B. M. Jung, Y. H. Choi and S. J. Bae. 2005. Growth inhibition effects of cancer cell lines by *gloiopeltis furcata* fractions *in vitro*. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **34**, 771-775.
19. Riou, D., S. Collic-Jouault, D. Pinczon del Sel, S. Bosch, S. Siavoshian, V. Le Bert, C. Tomasoni, C. Siquin, P. Durand and C. Roussakis. 1996. Antitumor and anti-proliferative effects of a fucan extracted from *Ascophyllum nodosum* against a non-small-cell bronchopulmonary carcinoma line. *Anticancer Res.* **16**, 1213-1218.
20. Ryu, B. H., D. S. Kim, K. J. Cho and D. B. Sin. 1989. Antitumor activity of seaweeds toward sarcoma-180. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **21**, 595-600
21. Shine, M. O. and S. J. Bae. 2005. Anti-proliferating effects of *Porphyra tenera* fractions on several cancer cell lines *in vitro*. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **34**, 1543-1519.
22. Son, H. S., H. S. Kim and J. S. Ju. 1992. Effect of seaweed intake on the absorption of sodium, calcium, potassium and hypolipidemic mechanism in healthy male subjects. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **21**, 471-477.
23. Yamamoto, L., T. Nagumo, M. Takahashi, M. Fujihara, Y. Suzuki and N. Lizima. 1981. Antimutagenic effect of seaweeds: III. Antitumor effect of an extract from *Sargasuum*. *Jap. J. Exp. Med.* **51**, 187-189.
24. Yan, X., Y. Chuda, M. Suzuki and T. Nagata. 1999. Fucoxanthin as the major antioxidant in *Hijikia fusiformis*, a common edible seaweed. *Biosci. Biotech. Biochem.* **63**, 605-607.
25. Yan, X. J., X. C. Li, C. X. Zhou and X. Fan. 1996. Prevention of fish oil rancidity by phlorotannins from *Sargassum Kjellmanianum*. *J. Appl. Phycol.* **8**, 201-203.
26. Yasuji, O. and H. O. Kiyoka. 1994. Identification of antimutagenic activities in the extract of an edible brown algae. *Hijikia fusiforme* (Hijiki) by ume gene expression system in *Salmonella typhimurium* (TA 1535/pSK 1002). *J. Sci. Food Agric.* **66**, 103-109.
27. Yoon, J. A., K. W. Yu, W. J. Jun, H. Y. Cho, Y. S. Son and H. C. Yang. 2000. Screening of anticoagulant activity in the extracts of edible seaweeds and optimization of extraction condition. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **29**, 1098-1106.
28. Zaidi, N. H., P. J. O'Connor and W. H. Butler. 1993. N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine-induced carcinogenesis: differential pattern of upper gastrointestinal tract tumours in Wistar rats after single or chronic oral doses. *Carcinogenesis* **14**, 1561-1567.