

참치지느러미 추출물에 의한 암세포 독성 및 Quinone Reductase 활성 증가 효과

신미옥* · 구미정* · 배송자**§

신라대학교 식품영양학과, * 마린-바이오 산업화지원센터**

Cytotoxicity and Quinone Reductase Activity Stimulating Effects of Fin of *Thunnus Thynnus* Extracts in Various Cancer Cells

Shin, Mi-Ok* · Ku, Mi-Jeong* · Bae, Song-Ja**§

Department of Food and Nutrition, * Marine Biotechnology, Busan 617-736, Korea
Center for Biofunctional Material Industries, ** Busan 617-736, Korea

ABSTRACT

In this study, we investigated the anticancer activity of the fin of *Thunnus Thynnus* (TT). TT was extracted with methanol (TTM), and then further fractionated into four subfractions by using solvent partition method, affording hexane (TTMH), methanol (TTMM), butanol (TTMB) and aqueous (TTMA) soluble fractions. We determined the cytotoxicity of these four fractions in four kind of cancer cell lines, such as HepG2, MCF-7, B16-F10 and HT29 by MTT assay. The TTMM showed the strongest cytotoxic effect at the concentration of 150 $\mu\text{g/mL}$, displaying 95% on the HepG2 cell lines and 82% on MCF-7 cell line. The morphological changes such as membrane shirinking and blebbing of cells were also observed by TTMM treatment in HT29 cell. In addition, we observed that quinone reductase (QR) activity was elevated by only TTMM and TTMH treatments in HepG2 cell. QR activity was increased to around 2.0 and 1.8 times in TTMM and TTMH treated HepG2 cell at 100 $\mu\text{g/mL}$, respectively, compared to that in control. Although further studies are needed, the present work could suggest that the fin of TT has a potential to be usable as a chemopreventive agent against cancer. (*Korean J Nutrition* 40(2): 147~153, 2007)

KEY WORDS : cytotoxicity, quinone reductase, fin of *Thunnus Thynnus* (TT).

서 론

현대 과학의 발달에도 불구하고 암은 사람의 질병 중 가장 높은 사망률을 차지하고 있다. 그러나 아직 그 기작과 확실한 치료 방법이 밝혀져 있지 않고 있으며, 암 발생 원인 중 40~60%가 잘못된 식이와 관련 있는 것으로 보고되고 있다.^{1,2)} 암 발병률이 식이의 영양학적 요인에 의해 달라질 수 있다는 최근 연구결과와 더불어 식이와 관련된 암 원인물질을 검증하는 연구가 활발히 진행되고 있으며 천연물 대체요법 등 새로운 암 예방 물질의 개발에 의한 예방과 치료의 방향이 전환되고 있는 실정이다.³⁾ 현재 임상에서 널리 사용

되고 있는 항암제의 대부분은 합성 물질들로 그 부작용이 심하여 문제시 되고 있는 반면 부작용이 적으면서 유효한 천연물을 대상으로 항암성 물질의 탐색이 많이 시도되고 있다.^{4,5)}

식품이면서 약이 되는 식의약 소재 (nutraceuticals) 개발이 집약적으로 이루어지고 있으며 그 가능성 생리활성에 대한 연구도 활발히 진행되고 있다. 그리고 이제까지는 그 소재의 대부분이 육상물질에 관한 것이었으나 최근 해양생물의 독특한 대사과정과 특이성에 따라 다양한 생리활성 물질에 대한 연구와 그 유전자탐색이 진행되고 있다. 해양생물은 이제까지 소재 개발의 조건 등 제한된 환경 등으로 인하여 그 연구가 제한되어 있었으므로 새로운 신소재 개발의 보고가 되고 있다. 최근 국내외의 연구 동향은 미지의 해양 천연물질 개발에 그 관심이 집중되고 있으며 특히 흔히 접할 수 있는 해조류인 미역, 다시마, 감태 및 곰피 등의 갈조류와 참가사리, 불등가사리 등의 홍조류에 대한 연구 내용들이⁶⁻⁹⁾ 많이 보고되고 있다. 그러나 해양 수산물에 대한

접수일 : 2006년 11월 1일

채택일 : 2007년 2월 6일

§To whom correspondence should be addressed.

E-mail : sjbae@silla.ac.kr

기능성 활성 성분 연구에의 접근은 아직 미흡한 실정이다.

해양수산물에는 인체에 유용한 기능성지질로서 eicosapentaenoic acid (EPA)나 docosahexaenoic acid (DHA) 등의 ω -3 고도불포화지방산이 다량 함유되어 있으며, 최근 이들 성분들이 HDL-cholesterol의 수준을 높이고 노화방지, 항종양 효과, 동맥경화의 방지, 기억력 및 학습능력의 향상에 기여한다는 것이 여러 연구에 의해 확인된 바 있다.¹⁰⁻¹²⁾ 해양 수산물 중 특히 DHA를 함유한 어유는 뇌신경계, 심혈관계 및 염증성 질환의 증상 개선에도 깊이 관여하고 있다.

본 연구는 해양수산물 중 횡감으로 애용되는 식품인 참치의 부산물 지느러미에 관한 항 발암 효과에 관한 연구로서 식품으로 널리 애용되는 참치는 고단백식품으로 영양적으로 우수할 뿐 아니라 혈중 콜레스테롤 농도를 낮춰 동맥경화를 예방하며,¹³⁾ 항암효과가¹⁴⁾ 있다고 보고되고 있으며 ω -3 지방산인 EPA나 DHA가 다량 들어 있는 영양 식품이다.¹⁵⁾ 참치 부산물에 대한 연구로는 통조림 가공 시 폐기되어지는 내장, 자숙액(煮熟液), 혈합육(血合肉), 두부(頭部) 및 뼈 등의 부산물들을 이용한 의가공 개발이 활발히 진행되고 있다.¹⁶⁻¹⁸⁾ 본 연구는 저이용 되는 참치 부산물인 지느러미 부분을 재료로 하여, 암세포 성장 저지효과를 MTT assay를 이용하여 알아보았으며 대표적인 암 예방 기전의 연구에 사용되어지는 생화학적 방법 중 세포 독성 또는 발암물질들을 무독화 시키는 효소인 quinone reductase (QR) 활성 증가 효과를 측정함으로써 발암 억제효과를 가진 기능성 식품으로서의 개발 가능성을 타진해 보고자 한다.

재료 및 방법

1. 실험 재료

본 실험에 사용한 참치지느러미 (fin of *Thunnus Thynnus*, TT)는 2006년 3월 대만 타이페이 참치 직판장에서 건조되어 시판되어지고 있는 건어물을 구입하였다. 세포실험에 사용된 시약 중 nonidet p-40 (NP-40)과 menadione은 Sigma (St. Louis, USA)사 제품을 구입하였고 Dulbecco's Eagle modified medium (DMEM)과 fetal bovine serum (FBS), phosphate buffered saline (PBS) 등은 Gibco-BRL (Grand Island, NY, USA)에서 구입하였으며 그 외 연구에 사용된 용매 및 시약은 특급을 사용하였다.

2. 시료의 추출 및 분획물 제조

시료로 사용된 참치지느러미 (fin of *Thunnus Thynnus*, TT)는 건조 후 세절하여 시료와 메탄올을 1 : 5 (W/V)로 첨가한 후 24시간 상온에서 방치하여 2회 추출하고, 극성

과 비극성 분획을 선별 추출하기 위하여 우선 에탄올과 다이클로로메탄 (CH_2Cl_2)을 1 : 1로 섞은 용액에 2회 추출하고 회전식 진공농축기로 감압 농축시켜 동결건조 후 참치지느러미 추출물 (TTM)을 얻었다. 이 추출물을 다이클로로메탄 (CH_2Cl_2)과 물로 다시 분획하여 다이클로로메탄 (CH_2Cl_2)층과 물층을 얻었으며, 다이클로로메탄 (CH_2Cl_2)층을 헥산과 메탄올 (1 : 1)용액으로 분획하여 헥산 (TTMH)과 메탄올 (TTMM)분획층을 얻었고, 물층은 부탄올용매로 분획하여 다시 부탄올 (TTMB)과 수층 (TTMA)을 얻었다. 이들 각 분획층을 감압 농축하여 동결 건조한 후 그 분말을 만들어 시료로 사용하였다 (Table 1).

3. 암세포 배양

본 실험에 사용한 암세포주는 대장암세포인 HT-29 (human colon adenocarcinoma), 간암세포인 HepG2 (human hepatocellular carcinoma), 유방암세포인 MCF-7 (human breast adenocarcinoma pleural effusion)과 피부암세포인 B16-F10 (mouse melanoma)로서 2006년 5월 한국 세포주은행 (Korean Cell Line Bank, KCLB)에서 구입하여 배양시킨 후 실험에 사용하였다.

HT-29 세포주는 RPMI1640 medium, HepG2, MCF-7과 B16-F10 세포주는 DMEM medium을 사용하였고 medium은 10%의 fetal bovine serum (FBS)과 1% 100 units/mL의 penicillin streptomycin이 함유된 것으로 세포를 T-75 flask에 이식한 후, 37°C 5% CO_2 incubator에서 monolayer로 배양하였다.

4. 암세포 독성 효과측정 (Cytotoxicity)

참치지느러미 추출 분획물의 암세포 성장 억제 효과는 MTT (3-[4, 5-dimethyl thiazol-2-yl]-2, 5-diphenyltetrazolium bromide) assay를 사용하여 행하였다.

세포의 생육을 측정하는 방법으로는 황색수용물질인 MTT가 미토콘드리아내의 탈수소효소 작용에 의하여 dark blue formazan을 생성하는 원리를 이용한 MTT assay^{19,20)}를 이용하였다. 이를 위해 각 세포주를 1×10^5 cells/well의 농도로 맞추고 48 well에 각각 500 μL 씩 첨가하여 24시간

Table 1. Yields of various solvent fractions of fin of *Thunnus thynnus* (TT)

Fraction	Yields (g)	Yields (%)
Methanol extract (TTM)	36.69	36.69
Hexane fr. (TTMH)	1.56	4.25
Methanol fr. (TTMM)	3.49	9.51
n-Butanol fr. (TTMB)	1.33	3.62
Aqueous fr. (TTMA)	25.00	68.13

동안 37°C, 5% CO₂ incubator에서 배양한 후 용매종류별 분획물을 각각 일정량의 dimethyl sulfoxide (DMSO)에 녹여서 30, 60, 90, 120, 150 µg/mL의 농도로 첨가하였으며, 최종 DMSO의 농도는 0.2%로 조절 하였다. 48시간 동안 배양 후 각 well에 PBS 완충용액에 녹인 MTT 용액을 100 µL씩 첨가하여 4시간 동안 다시 배양시켰다. well 바닥에 형성된 formazan이 흡수되지 않게 상등액을 제거하고 DMSO와 ethanol을 1 : 1로 혼합한 용액 1 mL를 첨가하여 천천히 녹인 후 multi-detection microplate를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조군 세포수를 기준으로 하여 상대적인 세포성장 억제율을 구하였다.

5. 위상차현미경을 이용한 세포형태의 관찰

각각의 암세포주를 세포배양용 petri dish에 24시간 동안 안정화시킨 다음 참치지느러미 분획물을 30, 60, 90, 120, 150 µg/mL씩 농도별로 처리하여 48시간 동안 배양한 후 현미경을 이용하여 200배의 배율로 각 농도에 따른 암세포의 형태변화를 관찰한 다음 Olympus DP70을 이용하여 촬영하였다.

6. Quinone reductase (QR) 활성 측정

QR은 간세포에서 주로 생성되는 phase II enzyme의 한 종류로 quinone을 환원시켜 무독하게 만들고 세포내에 유도되어 여러 돌연변이 물질에 의해 일어나는 돌연변이와 종양화를 막아주고 발암물질을 무독하게 만드는 역할을 한다.²¹⁾

본 실험에서는 Prochaska와 Santamaria의 방법²²⁾을 일부 변형하여 측정하였다. T-75 flask에 HepG2 세포가 80% 이상 증식하게 되면 24 well plate의 각 well에 1 × 10⁴ cells/mL 되도록 세포를 분주하여 37°C, 5% CO₂ incubator에서 24시간 동안 배양한 후 참치지느러미 분획물을 HepG2의 세포생존율이 50% 되는 양을 최종 농도로 잡아 각각 DMSO에 녹여 40, 60, 80, 100 µg/mL의 농도로 첨가하고 다시 24시간 배양하였다. 배양액을 제거한 후 각 well에 250 µL의 lysis buffer (10 mM Tris-HCl pH 8.0, 14 mM NaCl, 15 mM MgCl₂, 0.5% NP-40)를 첨가한 후 37°C, 5% CO₂ incubator에 10분간 두면서 cell을 lysis한 후 reaction mixture 즉, 10mM Tris-HCl (pH 7.4), 0.5 mg/mL BSA, 0.008% tween-20, 40 µM FAD, 0.8 mM glucose-6-phosphate, 2 U/mL glucose-6-phosphate dehydrogenase, 25 µM NADP, 40 µg/mL MTT 및 1 mM menadione을 혼합하여 well에 1 mL씩 첨가하여 5분 동안 반응시킨 후, 반응정지 용액인 0.3 mM dicumarol, 0.5% pyridine, 5 mM potassium phosphate (pH 7.4) 혼합액을 250 µL씩 첨가하여 효소반응을 정지시키고 multide-

tection microplate를 이용하여 610 nm에서 흡광도를 측정하여 계산하였다.

단백질량은 동일한 set의 well plate에 대한 crystal violet 염색방법으로 정량하였다. 24 well plate에 2% ethanol에 녹인 0.2% crystal violet 용액을 150 µL씩 첨가하고 37°C, 5% CO₂ incubator에서 배양한 후 증류수로 세척하였다. 각 well에 50%에탄올에 녹인 0.5% SDS 용액을 1 mL씩 가하여 37°C, 5% CO₂ incubator에서 1시간 방치한 후 610 nm에서 흡광도를 측정하였다. Quinone reductase 활성측정 (nmol/min/mg protein)은 다음과 같이 하였다.

Specific quinone reductase (QR) activity

$$= \frac{\text{absorbance change of MTT/min}}{\text{absorbance of crystal violet}} \times 3345 \text{ nmol/mg}$$

7. 통계처리

본 실험에 대한 실험결과는 세 번 실험하여 얻어진 평균치 및 표준편차를 나타내었고, 그룹간의 통계적 차이는 student's t-test를 이용하여 분석하였다.

결과 및 고찰

1. 참치지느러미 추출물의 각 용매별 분획물 수율

참치지느러미 (TT)를 메탄올로 2회 추출한 후 다이클로로메탄과 에탄올을 1 : 1로 섞은 용매에 2회 추출하여 회전식 진공농축기로 감압 농축시켜 동결건조 후 참치지느러미 추출물 (TTM)을 얻었다. 이 추출물 (TTM) 36.69 g을 hexan, 메탄올, 부탄올 및 물로 용매 분획하여 hexan (TTMH) 1.56 g, 메탄올 (TTMM) 9.51 g, 부탄올 (TTMB) 1.33 g 및 수층 분획물 (TTMA) 25 g을 얻었다. 각 시료의 용매별 수득율은 Table 1과 같다.

2. 암세포 성장 억제 효과 (Cytotoxicity)

본 실험에서는 4종의 암세포주에 대한 참치지느러미 분획물의 암세포 성장 억제 효과를 조사하기 위해 MTT assay를 행하였다. 실험에는 간암세포주인 HepG2, 피부암세포주인 B16-F10, 대장암세포주인 HT29 및 유방암세포주인 MCF-7가 사용되었으며, 실험결과는 Fig. 1-4에 나타내었다.

Fig. 1은 간암세포주인 HepG2에 대한 결과로 이 세포주에서는 각 분획물 시료를 30, 60, 90, 120 및 150 µg/mL 첨가 시 농도 의존적으로 암세포 성장 억제 효과를 나타내었으며, 특히 90~150 µg/mL에서 가장 높은 억제 효과를 나타내었다. 즉, 메탄올 분획물을 120 µg/mL 첨가했을 때 이미 89.98%, 150 µg/mL 첨가했을 때 94.96%의 매우

높은 암세포 성장 억제 효과를 나타내었으며 부탄올 분획물에서는 최고 농도인 150 $\mu\text{g/mL}$ 에서 74.01%의 억제 효과 수치를 나타내었다. 다음으로 수층 분획물, hexan 분획물 순으로 암세포 성장 억제 효과가 나타났다.

Fig. 2는 피부암세포주인 B16F-10에 대한 결과로서 역시 메탄올 분획물에서 가장 높은 암세포 성장 억제 효과를 나타내었으며, 최고 첨가농도인 150 $\mu\text{g/mL}$ 에서 81.9%의 억제 효과를 나타내었다. 다음으로 효과적인 분획은 부탄올 분획물이었으며 150 $\mu\text{g/mL}$ 에서 68.01%의 억제 효과를 나타내었다.

Fig. 3은 대장암세포주인 HT29에 각 층별 시료 분획물을 가했을 때 암세포 성장 억제 효과를 나타낸 그림으로 모든 층에서 농도 의존적으로 억제 효과를 보였으며 메탄올 분획물에서 높은 암세포 억제 효과를 보였고 다음으로 효과

적인 분획은 부탄올 분획물이었다. 메탄올 분획물의 경우 낮은 농도인 30 $\mu\text{g/mL}$ 첨가에서부터 서서히 농도 의존적으로 그 억제 효과가 증가하여 90, 120 및 150 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 각각 50.01, 65.31 및 70.30%의 암세포 성장 억제 효과를 나타내었다. hexan 분획물과 수층 분획물의 경우에는 저 농도에서는 그 효과가 미약하였고 최고 농도에서도 62.45%와 56.56%의 효과를 보였다.

유방암세포주인 MCF-7에 대한 실험결과는 Fig. 4에 나타내었으며 HepG2, B16F-10 및 HT29 세포주에서와 같이 메탄올 분획물에서 높은 성장 억제를 보였다. 메탄올 분획물은 최고 첨가농도인 150 $\mu\text{g/mL}$ 에서 67.8%의 성장 억제 효과를 나타내었고, hexan 분획물의 경우 최고 농도인 150 $\mu\text{g/mL}$ 에서 60.21%의 효과를 나타내었으나 부탄올 분획물과 수층 분획물에서는 낮은 암세포 성장 억제 효과를 나

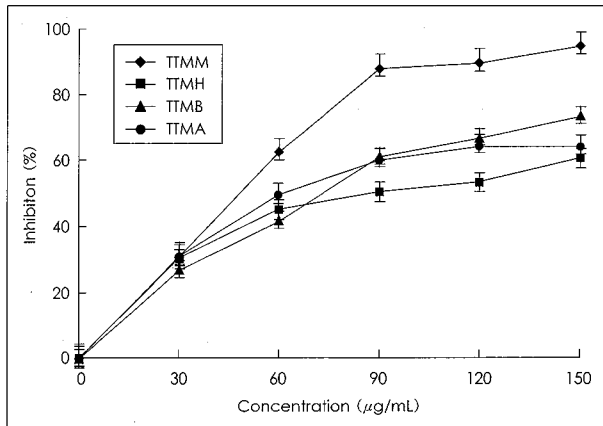


Fig. 1. Inhibitory effect of four fractions from *Thunnus thynnus* fin extract (TTM) on the survival of HepG2 cell. Values are represented mean \pm SD of 3 repeats. TTMM: Methanol partition layer of methanol extracts of fin of *Thunnus thynnus* (TTM), TTMH: Hexane partition layer of TTM, TTMB: Butanol partition layer of TTM, TTMA: Aqueous layer of TTM.

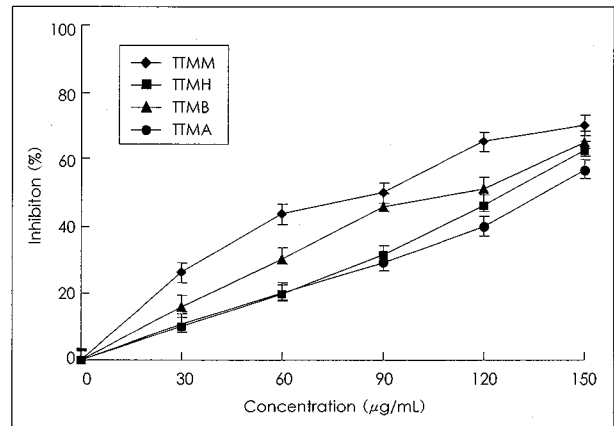


Fig. 3. Inhibitory effect of four fractions from *Thunnus thynnus* fin extract (TTM) on the survival of HT29 cell. Values are represented mean \pm SD of 3 repeats.

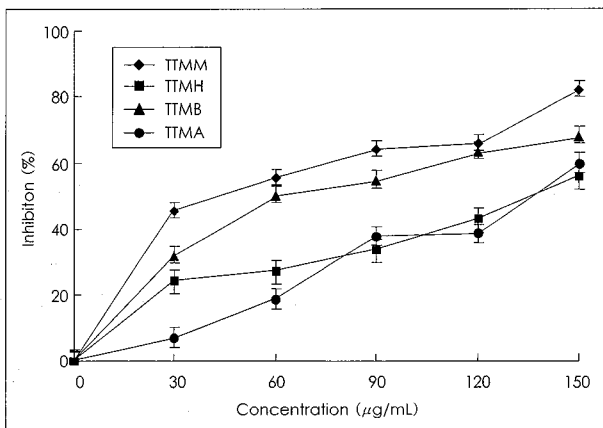


Fig. 2. Inhibitory effect of four fractions from *Thunnus thynnus* fin extract (TTM) on the survival of B16-F10 cell. Values are represented mean \pm SD of 3 repeats.

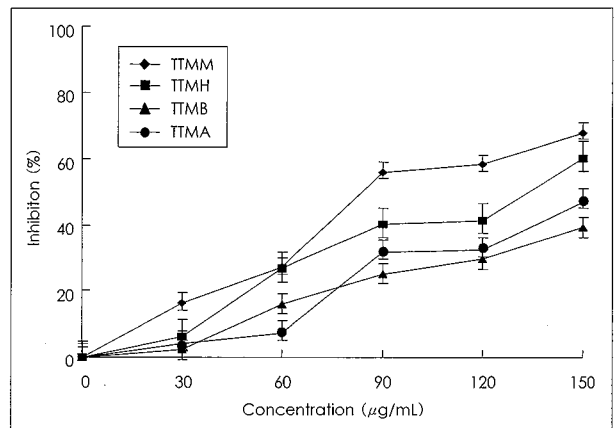


Fig. 4. Inhibitory effect of four fractions from *Thunnus thynnus* fin extract (TTM) on the survival of MCF-7 cell. Values are represented mean \pm SD of 3 repeats.

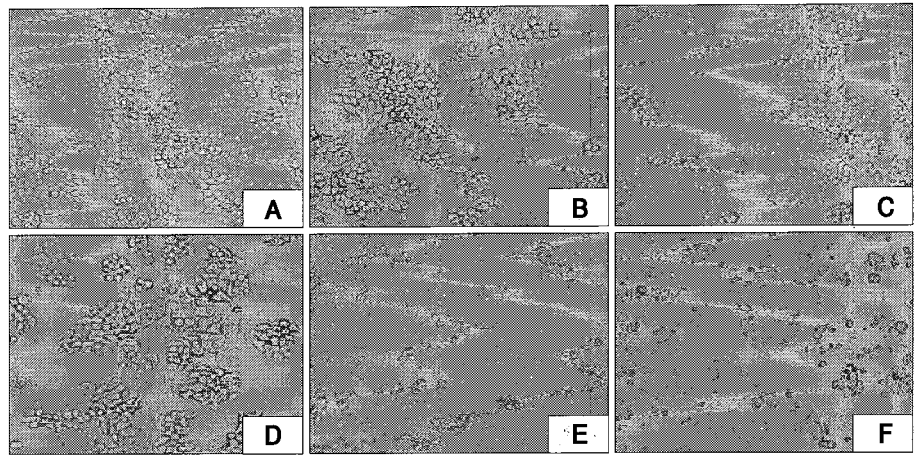


Fig. 5. Morphological changes of HT-29 human colon adenocarcinoma cells treated with TTMM. Cells were treated with TTMM at various doses for 48h and taken picture ($\times 200$). A : Control. B : TTMM 30 $\mu\text{g}/\text{mL}$. C : TTMM 60 $\mu\text{g}/\text{mL}$. D : TTMM 90 $\mu\text{g}/\text{mL}$. E : TTMM 120 $\mu\text{g}/\text{mL}$. F : TTMM 150 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

타내었다.

이상의 결과를 종합하여 볼 때 용매별로 분획한 4가지 참치지느러미 분획물이 각 암 세포주에 미치는 성장 억제 효과는 메탄올 분획물에서 가장 효과가 높았으며, 농도 의존적 경향은 거의 유사하였다. 이와 같은 결과는 해양식물인 서실,²³⁾ 불등가사리,⁸⁾ 참가사리⁹⁾ 등의 홍조류와 해양생물 중 키조개²⁴⁾에서의 결과와 유사하며, 특히 첨가 시료의 양은 육상식물인 적재, 쑥부쟁이^{25,26)} 등에 첨가한 시료량의 약 1/3에 해당되는 양으로서 낮은 농도에서도 높은 암세포 성장 억제 효과를 나타내었다. 그리고 농도 의존적으로 암세포 성장 저지를 일으키는 참치지느러미의 생리활성 물질은 약한 극성물질이 녹아있는 메탄올 분획물에 주로 존재한다고 추측해 볼 수 있었으며 이 층에서의 활성 물질의 구조에 대한 분석과 암세포 성장을 저지시키는 물질의 존재가 주목되는 바이다. 사용한 세포주를 비교해 볼 때, 간암세포주인 HepG2에서 가장 높은 효과를 나타내었으며 그 다음으로는 피부암 세포주, 대장암 세포주와 유방암 세포주의 순이었다. 앞으로 더욱 심도 있는 연구를 통해 이들 분획물의 생리활성 물질을 규명하고 구조 동정과 그 기전을 알아보고자 한다.

3. 메탄올 분획물의 처리에 따른 암세포의 형태학적 변화

Fig. 5는 참치지느러미 분획물의 메탄올 분획물을 일정량의 HT-29 세포주에 첨가했을 때 각 세포주의 형태가 어떻게 변화하는지 알아보기 위하여, 여러 농도별로 시료를 첨가한 후 48시간 처리하고 위상차 현미경을 이용하여 암세포의 형태를 관찰한 결과이다. 이 사진에서 관찰할 수 있듯이 참치지느러미 분획물의 농도 증가에 따른 암세포의 심한 형태적 변형이 일어났으며 저 농도 처리군에서는 전체적으로 세포질이 응축되면서 짧고 많은 가지를 친듯한 모양으로 바뀌었으며, 이러한 dendrite-like한 형태가 더욱 신장되면서 고농도 처리군에서는 암세포들의 부착력이 상실되어 세포

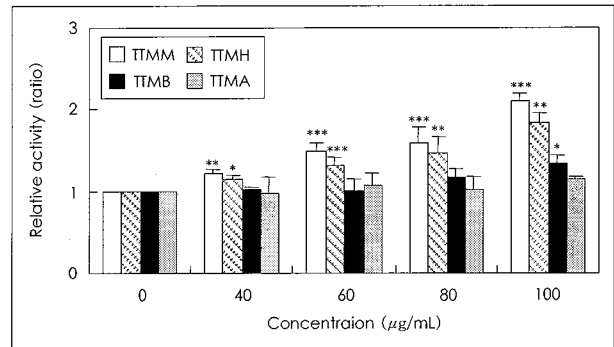


Fig. 6. Effect of four different fractions from *Thunnus thynnus* fin methanol extract (TTM) on the quinone reductase in HepG2 cells. Cells were cultured at a starting density of 1×10^4 cells/mL in DMEM. Values are represented mean \pm SD of 3 repeats. Significantly different by t-test: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ vs. control.

들이 떠있음이 관찰되고 파괴된 세포 잔여물들이 뚜렷이 관찰되었다. HT-29 세포주에서와 같이 다른 세포주에서도 거의 같은 경향을 보였는데 (Data not shown), 이것으로 보아 암세포의 심한 형태적 변형의 정도는 참치지느러미 분획물의 처리에 따라 암세포 성장이 억제되었음을 보여준다고 할 수 있겠다.

4. Quinone reductase 활성 증가 효과

Quinone reductase (QR)는 phase II 효소계의 지표 효소로서 다양한 종류의 항암물질에 의해 그 활성이 유도되어 암 예방을 선도하는 특성을 가지고 있으므로 암 예방 물질의 탐색에 많이 사용되어 왔다.²¹⁾ QR 유도물질 탐색은 인체 암세포 배양법으로 행해졌으며, 참치지느러미 분획물의 암 예방 효소 활성 증가 여부를 조사하기 위하여 암세포 성장 억제 효과에 사용된 4종의 암세포주 중 유일하게 quinone reductase를 가지고 있는 간암세포 HepG2를 사용하여 QR 활성 증가 효과를 측정하였으며, 그 결과는 Fig. 6에 나타

내었다. 즉, HepG2 세포주에 각 용매별 시료 분획물을 첨가했을 때 앞의 cytotoxicity 결과에서와 마찬가지로 메탄올 분획물에서 가장 높은 QR 활성이 나타났고 그 다음으로는 핵산 분획물이었다. 그 외의 분획물은 큰 영향을 미치지 않았으나 모든 분획층에서 농도 의존적 경향을 나타내었다. 메탄올 분획물의 경우 40, 60, 80, 100 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도로 처리 시 대조군에 비하여 QR 활성이 각각 1.23, 1.49, 1.58 및 2.09배로 증가하였고, 농도 의존성을 보였다. 다음으로 핵산 분획물의 경우에는 각각 1.15, 1.32, 1.47 및 1.84배 효과를 나타내었다.

이상의 결과에서 암 예방 효과의 척도로 사용되는 QR 활성 증가 효과는 참치지느러미 분획물중 메탄올 분획물에서 높은 활성을 보였으며 다음으로 핵산 분획물이었다. 메탄올 분획물과 핵산 분획물에 QR 활성을 증가시키는 어떤 물질이 존재함을 추정할 수 있었고 이러한 결과는 본 연구실에서 연구된 다른 시료들과 비교해 볼 때, 여러 해조류 분획물들^{8,9,26)}에 비해서는 다소 낮은 QR 활성 효과에 해당되나 해양생물인 키조개²⁴⁾와 육상식물인 적채²⁵⁾에서의 QR 활성 효과와 유사한 결과라 할 수 있다. 앞으로 더욱더 심도 있는 연구를 통해 참치지느러미 분획물중의 생리활성 물질을 추적, 보완하여 그 구조를 동정함으로써 식품산업에 있어서의 암 예방 효과를 지닌 기능성 식품개발에 매우 중요한 자료가 될 수 있을 것으로 사료된다.

요약 및 결론

참치지느러미의 암 예방 효과를 알아보기 위하여 건조한 참치지느러미를 메탄올로 추출한 후, 다시 핵산, 메탄올, 부탄올, 물로 순차적으로 분획 추출하여 각 분획별로 암세포에 대한 독성효과와 암 예방 지표인 QR 활성 증가 효과를 측정하였다. 그 결과 처리 분획물 모두 4종의 암 세포주 HepG2, B16-F10, HT29, 및 MCF-7에서 농도 의존적인 세포 독성효과를 나타내었지만, HepG2에서 가장 큰 독성효과를 나타내어 특히 간암에 대한 예방 효과가 기대된다. 또한 HepG2에서 측정된 QR 활성에 있어서는 메탄올과 핵산 분획물만이 증가시키는 효과를 보였다. 따라서, 앞으로 참치지느러미 부산물을 이용하여 항암 관련 기능성 식품을 개발할 수 있는 가능성이 보이며, 이를 위하여 특히 메탄올 및 핵산 분획물에 대한 집중적인 연구가 요구된다.

Literature cited

- Ong TM, Whong WZ, Stewart S, Brockman HE. Chlorophyllin; a potent antimutagen against environmental and dietary complex mixture. *Mutat Res* 173: 111-115, 1986
- Park BJ, Suk HS, Chung GS, Sohn JK. Studies on protoplast culture and fusion in cruciferae. *Korean J Breed* 19(2): 23-234, 1987
- Cho SG. Food chemoprevention and immunoactivity. *J Food Ind Nutr* 2(1): 56-101, 1997
- Ha YL, Michael WP. Naturally-occurring novel anticarcinogenes: Conjugated dienoic derivatives of linoleic acid (CLA) (in Korean). *J Korean Soc Food Nutr* 20(2): 401-407, 1981
- Banner SE, Pastorino U, Lippman SM and Hong WK. Second International cancer chemoprevention conference. *Cancer Res* 54(3): 854-856, 1994
- Ryu BH, Kim DS, Cho KJ, Sin DB. Antitumor activity of seaweeds toward sarcoma-180. *Korean J Food Sci Technol* 21(5): 595-600, 1989
- Park YB, Kim IS, Yoo SJ, Ahn JK, Lee TG, Park DC, Kim SB. Elucidation of anti-tumor initiator and promoter derived from seaweed-2: investigation of seaweed extracts suppressing mutagenic activity of PhIP and MeIQx. *J Korean Fish Soc* 31(4): 581-586, 1998
- Park SY, Jung BM, Choi YH, Bae SJ. Growth inhibition effects of cancer cell lines by *gloiopeltis furcata* fractions in vitro. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34(6): 771-775, 2005
- Jung YH, Jung BM, Shin MO, Bae SJ. A study on the effects of anticarcinogenic activity of *gloiopeltis tenax*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 35(4): 395-401, 2006
- Carrill KK. Biological effects of fish oils in relation to chronic diseases. *Lipid* 21: 732-734, 1986
- Sanders T. Fish and coronary artery disease. *Br Heart J* 57: 214-215, 1987
- Phillipson BE, Rothrock DW, Connor WE, Harris W, Ellingworth R. Reduction of plasma lipoprotein and apoprotein by dietary fish oils in patients with hypertriglyceridemia. *New Eng J Med* 312(19): 1210-1213, 1985
- Kromhout D. The inverse relation between fish consumption and 20-year mortality from coronary heart disease. *New Eng J Med* 312(19): 1205-1208, 1985
- Hwang WI. A study on the effects of anticarcinogenic activity of tuna extract, report (I). Dong Won Co., Ltd., Seoul, pp.8, 1987
- Hwang WI, Baik NG, Hwang YK, Lee SD. Antitumor and immunological effects of tuna extract. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 21(4): 353-366, 1992
- Kim SK, Park PJ. Evaluation of Mucous Membrane irritation by hydroxyapatite sinter produced from tuna bone in syrian hamsters. *J Life Sci* 19(6): 605-609, 2000
- Kim SK, Park PJ, Kim YT. Study on acute subcutaneous toxicity of hydroxyapatite sinter produced from tuna bone in sprague-dawley rats. *J Life Sci* 11(2): 97-102, 2001
- Choi JS, Lee CK, Jeon YJ, Byun HG, Kim SK. Properties of the ceramic composites and glass-ceramics prepared by using the natural hydroxyapatite derived from tuna bone. *J Korean Ind Eng Chem* 10(3): 394-399, 1999
- Alley MC, Scudiero DA, Monks A, Hursey ML, Czerwinski MJ, Fine DL, Abbrott BJ, Mayo JG, Shoemaker RH, Boyd MR. Feasibility of drug screening with panels of human tumor cell line using a microculture tetrazolium assay. *Cancer Res* 48: 589-601, 1988

- 20) Carmichael J, De Graff WG, Gazder AF, Minna JD, Mitchell JB. Evaluation of a tetrazolium based semiautomated colorimetric assay: assessment of chemosensitivity testing. *Cancer Res* 47: 936-942, 1987
- 21) Steinkellner HS, Rabot C, Freywald E, Nobis G, Scharf M, Chabicosky S, Knasmüller S, Kassie F. Effects of cruciferos vegetable and their constituents on drug metabolizing enzymes involved in the bioactivation of DNA-reactive dietary carcinogens. *Mutation Res* 48: 285-297, 2001
- 22) Prochaska HJ, Santamaria AB. Direct measurement NAD(P)H. Quinone reductase from cells cultured in microtiter wells. A screening assay for anticarcinogenic enzyme inducer. *Anal Biochem* 169: 328-336, 1988
- 23) Jeon KH, Shin MO, Bae SJ. A study on the effects of anticarcinogenic activity of chondria crassicaulis. *Korean J Nutrition* 38 (7): 503-511, 2005
- 24) Park YJ, Shin MO, Lee SH, Bae SJ. The growth inhibitory effects of atrina pectinata fractions on cancer cell lines. *Korean J Nutrition* 38(4): 307-312, 2005
- 25) Park YJ, Jeon KH, Kim SH, Bae SJ. The effect on antimicrobial and cytotoxicity of brassica oleracea L. fractions. *J Life Sci* 14 (4): 567-572, 2004
- 26) Jung BM, Lim SS, Park YJ, Bae SJ. Inhibitory effects on cell survival and quinone reductase induced activity of aster yomena fractions on human cancer cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34(1): 8-12, 2005