

케일 추출물 및 클로로필린의 *In vivo* 항암 및 면역활성 증강효과

부산대학교 식품영양학과, ¹고신대학교 의학부 미생물학교실

이선미 · 김광혁¹ · 이숙희 · 박건영

Antitumorigenic and Immunologic Effects of Kale Extracts and Chlorophyllin on Sarcoma 180 Cell-Transplanted Mice

Seon-Mi Lee, Kwang-Hyuk Kim¹, Sook-Hee Rhee and Kun-Young Park

Department of Food Science and Nutrition, Pusan National University,
Pusan 609-735, Korea

¹Department of Microbiology, Kosin Medical College, Pusan 602-702, Korea

In the present study, we examined tumor formation on sarcoma 180 cells- transplanted Balb/c mice, and phagocytic activity, nitroblue tetrazolium (NBT) reduction rate and nitric oxide (NO) production on the Balb/c mice by the treatment of kale juice, kale methanol extract and chlorophyllin. The kale (*Brassica oleracea* var. *acephala*) juice, kale methanol extract and chlorophyllin decreased the growth of sarcoma 180 cells *in vitro* and inhibited the tumor formation by 67.9%, 71.0% and 61.9% compared to the control on sarcoma 180 cell transplanted Balb/c mice, respectively. The phagocytic activity and NBT reduction rate in peritoneal phagocytic cells of the Balb/c mice were considerably increased by the treatment of the kale extracts and chlorophyllin in comparison with the control group, however, no significant changes were observed by the treatments in the NO production.

Key Words: Kale, Chlorophyllin, Antitumor, Immunologic effect

서 론

케일(kale, *Brassica oleracea* var. *acephala*)은 암 예방효과가 좋다고 알려진 십자화과(*Brassica*) 채소들 중의 하나로써 수 천년 동안 유럽과 아메리카의 온화한 나라들에서 자라왔고,¹⁾ 케냐에서는 가장 인기있는 잎채소로써 Sakuma Wiki라고 불리

워지고 있으며,²⁾ 또한 싱가포르의 중국인들도 많이 섭취하며, 브라질에서도 상업화되어 연구가 많이 행해지고 있다.³⁾ 우리 나라에는 도입된 지는 얼마 되지 않으나 녹즙과 썬용으로 꾸준히 애용되고 있으며, 특히 케일은 비타민 C, 카로티노이드, 무기질, 클로로필, 식이섬유소 등이 상당히 많이 함유되어 있는 것으로 알려져 이것들로 인한 항(발)암효과가 기대된다.^{4~7)} 또한 다른 채소들에 비해

케일에는 항암기능을 가진 플라보노이드로 알려진 quercetin과 kaempferol의 함량이 높은 것으로 나타났고,⁸⁾ benzyl isothiocyanate와 phenethyl isothiocyanate도 발견되었다.⁹⁾ 그리고 케일 주스는 고콜레스테롤혈증 흰쥐의 인지질 농도와 콜레스테롤농도의 저하효과를 나타냈으며 혈청 및 간장의 과산화지질 농도를 낮추는 작용도 있다.¹⁰⁾

케일에 풍부한 클로로필(chlorophyll)은 *in vivo*에서 대부분(95%)이 흡수되지 않고 Mg^{2+} 가 위산에 의해 제거되어 protoporphyrin을 형성하고, 또한 phytyl ester도 부분적으로 소화효소에 의해 제거되어 나머지는 pheophytin이 분뇨로 배출된다고 밝혀졌으며, monogastric 포유동물 소화시스템에 의해 발생하는 화학적 변화가 클로로필을 클로로필린(chlorophyllin, 클로로필의 수용성 유도체)과 비슷한 분자로 변화시켰으며, 이것은 소화과정이 클로로필을 활성화하여 돌연변이 저해제로써 역할을 하도록 변화시키는 것으로 추측되어진다.¹¹⁾ 또한 여러 가지 채소들의 항돌연변이효과 연구에서 채소들의 클로로필의 함량과 항돌연변이효과가 관련성이 있는 것으로 발견되었으며 사람의 발암과정에서 클로로필과 클로로필을 포함한 식품들의 잠재적인 방어적 역할에 대한 연구가 보고된 바 있다.^{12~14)}

본 연구에서는 케일 주스와 케일의 메탄올 추출물, 클로로필린이 *in vitro*상에서 항돌연변이 및 항암효과가 현저히 높은 것으로 밝혀져서,¹⁵⁾ *in vivo*상에서도 항암효과 및 면역활성 증강효과가 있는지를 검토하기 위해 sarcoma-180 cell에 대한 *in vitro* viability test 결과를 토대로 한 고형암 성장저지 실험과 phagocytic activity, nitroblue tetrazolium (NBT) reduction능, nitric oxide (NO) 생성 측정 실험 등을 행하였다.

재료 및 방법

1) 시료의 조제 및 준비

케일 주스 시료의 조제는 케일(tree kale, *Brassica oleracea* var. *acephala*)을 흐르는 물에 깨끗이 씻어 물기를 제거하고, 녹즙기(엔젤라이프사)를 사용하여 주스 부분을 모은 뒤 4°C, 9,000 rpm에서 30분간 원심분리하여 상등액(주스)을 채취한

후, milipore filter (0.45 μ m)로 여과하여 시료로 사용하였다.¹⁶⁾ 케일의 메탄올 추출물은 케일을 흐르는 물로 깨끗이 씻고 동결건조한 다음 분말화하여서, 건조시료 10 g에 각각 200 ml의 메탄올을 넣고 3회 추출한 후, 회전식 진공농축기(Buchi 011 & 461, Switzerland)를 이용하여 농축한 후 phosphate buffered saline (PBS, pH 7.2)에 녹여서 시료로 사용하였다.¹⁷⁾ 한편, chlorophyllin은 미국의 Sigma 회사에서 구입하여 PBS에 적당한 농도로 녹여서 시료로 사용하였다.

2) 마우스를 이용한 항암 및 면역활성 증강효과 실험

(1) 실험동물

암컷 Balb/c 마우스로 생후 8주의 체중 25 g 내외의 것을 한국생명공학센터(경북, 대구)로부터 구입하여 실험에 사용하였으며, 사료는 표준사료로 사용하였다. 사육시 물과 사료는 충분한 양을 공급하였고, 동물실은 12시간 간격의 light-dark cycle을 유지하였다.

(2) 복수암 세포

마우스의 복강내에 1주일 간격으로 계대배양하여 보존하고 있는 sarcoma-180 세포를 실험용 종양세포로 사용하였다. 즉 실험동물의 복강내에서 1주일간 배양된 sarcoma-180 세포를 복수와 함께 취하고, PBS와 함께 원심분리(1,200 rpm, 10 min.)하여 종양세포를 분리하였다. 분리된 세포를 다시 PBS에 부유시켜 재차 원심분리하여 상등액을 제거한 후 sarcoma-180 세포, 1.0×10^6 cells/ml가 되도록 종양세포 부유액을 만들어 1 ml씩을 복강 주사하여 이식 보존하면서 실험에 사용하였다.

(3) Viability test (cytotoxicity test)

계대한 지 7일된 마우스 복강내에 sarcoma 180 세포(2.5×10^5 세포/ml)를 5 ml의 조직배양액에 부유시킨 다음 시료들을 처리하여 37°C, 5% CO₂ incubator에서 배양하였다. 24시간 후 시료가 포함되지 않은 배지에 배양된 세포와 viability를 비교하기 위해 세포를 trypan blue로 염색하였다. 배지는 EMEM이었으며 FCS (Boehringer Mannheim, Germany)을 20% 추가하여 사용하였다. 염색시간은 2~3분이었으며 hemocytometer로 염색되어진 세포(non-viable cell)와 염색되지 않은 세포(viable

cell)의 수를 측정하여 viability를 결정하였다.^{18,19)}

(4) 고형암 성장저지 실험

고형암 성장저지 실험은 Suga등²⁰⁾의 방법에 따라 다음과 같이 시행하였다. 실험동물을 각 군당 5마리씩으로 하여 실험실에서 1주일 간격으로 계대 보관중인 종양세포 부유액 0.2 ml (6×10^6 cells/mouse)씩을 실험동물의 왼쪽 서혜부(left groin)에 피하 이식한 후 24시간 후부터 20일간 매일 1회씩 시료용액을 복강으로 투여하였다. 종양세포 이식 35일째 되는 날 치사시켜 생성된 고형암을 적출하고 그 무게를 측정 후 다음 식에 따라 종양 성장 저지 백분율(tumor growth inhibition ratio, I.R.;%)을 계산하였다.

$$I.R.(%) = \frac{Cw - Tw}{Cw} \times 100$$

Cw: 대조군의 평균 종양무게

Tw: 처리군의 평균 종양무게

(5) Phagocytic activity 측정 실험

Phosphate buffered saline (PBS, pH 7.2)에 녹인 시료를 0.5 ml씩 마우스 복강내로 주사하였다. 24시간 후 마우스 복강액을 수거하여 실험에 사용하였는데 수거방법은 Mishell과 Shiigi¹⁹⁾의 방법에 준하였다. 추가주사군들은 첫 주사 24시간 후에 일차주사 때와 같은 양을 주사한 후 24시간 후에 복강액을 수거하였다. 수거된 각 군의 복강액들은 200×g에서 10분간 원심분리하여 세포를 분리하였다. Phagocytic 활성측정은 Smith와 Rommel²¹⁾의 방법에 따랐는데 분리된 세포를 10% FCS RPMI 1640 배지에 부유시켜 2×10^5 세포/ml이 되게 조정하였다. 이 세포부유액을 미리 cover glass를 내재시킨 24 well plate에 1 ml씩 분주하고 37°C, 5% CO₂ incubator에서 45분 동안 배양하였다. 각 well 들은 PBS로 가볍게 씻어냄으로서 비부착성의 세포들을 제거하였다. 부착성의 식세포가 존재하는 cover glass상에 2×10^6 세포/ml의 *Candida albicans* (ATCC 10231), 0.2 ml을 작용하였다. 이때의 배지는 RPMI 1640에 autologous serum을 10%되게 포함시켜 사용하였다. 그 후 plate를 37°C, 5% CO₂ incubator에서 45분 동안 배양하였다. 배양이 완료된 후 cover glass를 PBS로 가볍게 씻어낸 다음

Wright strain액에 10분간 작용시켰다. 판독은 1000×의 현미경 하에서 식세포 50개 가운데 식균된 *C. albicans*의 수를 산정하였다.

(6) Nitroblue tetrazolium (NBT) reduction 실험

시료에 노출된 식세포의 과산화물(O₂) 생성능의 변화를 측정하기 위해 Osterm등²²⁾의 방법에 준하여 실시하였다. 상기 (5)와 같이 주사된 마우스의 복강으로부터 세포를 분리한 후 1.5×10^6 세포/ml되게 조정하였다. 상기 세포액 0.2 ml에 PMA/NBT액 0.2 ml를 섞어 37°C 수욕조에서 30분 동안 방치하였다. PMA/NBT은 PBS ml당 phorbol-12-myristate-13-acetate (PMA, Sigma, USA)를 100 ng 그리고 nitroblue tetrazolium (NBT, Sigma, USA)을 1 mg 포함시켜 조제하였다. 판독은 1000×현미경 하에서 세포내에 검푸른 formazan 침전물을 함유하는 세포를 hemocytometer 상에서 관찰하였으며 총 200개의 세포를 세어 산정하였다.

(7) Nitric oxide (NO) 생성

마우스에 시료를 각각 복강내로 0.5 ml씩 접종시킨 후 24시간 후에 마우스를 희생시켜 혈액을 취하고 혈청을 분리하였다. NO의 정량은 세포에서 생성되는 NO가 순간 NO₂으로 바뀌기 때문에 실제로는 NO₂을 정량하게 된다. Nitrite 이온의 측정은 Ding등²³⁾과 Lowenstein과 Snyder²⁴⁾의 microplate 검사법에 준하여 시행하였다. 즉 각각의 혈청으로부터 0.1 ml씩의 검체를 96 wells microplate로 옮긴 다음 Griess 시약(1% sulfanilamide/0.1% naphthylethylene diamine dihydrochloride/2.5% phosphoric acid) 0.1 ml씩을 작용시킨 후 실온에서 10분 동안 방치하였다. Optical density는 multiscanner를 이용하여 540 nm에서 측정하고 표준곡선은 sodium nitrite로 작성하였다.

결 과

케일 주스, 케일 메탄올 추출물 및 클로로필린의 sarcoma-180 세포에 대한 직접적인 세포 살해 효과를 보기 위하여, dye exclusion 방법으로 배지에 시료를 포함시켜 24시간 배양시킨 후 종양세포의 생존율을 관찰하였다. Table 1에서 보는바와 같이 케일 주스의 농도가 증가함에 따라 총 세포 수가 크게 감소되는 것으로 나타났으나, 5, 10 μl

Table 1. Total cell counts and viability of sarcoma 180 cells¹⁾ in culture medium containing kale juice, kale-methanol extract and chlorophyllin

Sample	Dose (/ml medium)	Total cell numbers ($\times 10^5$ /ml)	Viability (%) of the cell
Kale juice	0 μ l	3.5 \pm 0.2	100 \pm 0
	5 μ l	3.1 \pm 0.1	100 \pm 0
	10 μ l	2.7 \pm 0.2	100 \pm 0
	50 μ l	1.1 \pm 0.1	82 \pm 13
	100 μ l	0.8 \pm 0.1	60 \pm 18
Kale methanol ext.	0.00 mg	4.6 \pm 0.3	100 \pm 0
	0.05 mg	4.0 \pm 0.2	100 \pm 0
	0.10 mg	3.8 \pm 0.3	100 \pm 0
	0.50 mg	2.9 \pm 0.2	100 \pm 0
	1.00 mg	1.5 \pm 0.1	4 \pm 2
Chlorophyllin	0.00 mg	4.9 \pm 0.1	100 \pm 0.0
	0.05 mg	4.8 \pm 0.1	100 \pm 0.0
	0.10 mg	4.0 \pm 0.2	100 \pm 0.0
	0.50 mg	0.4 \pm 0.1	100 \pm 0.0

¹⁾ 1×10^5 sarcoma 180 cells were cultivated in 20% fetal calf serum (FCS) containing Eagle's minimal essential medium (EMEM) in the presence of various concentration of the above samples for 24hr at 37°C. Viable cells were counted by trypan blue dye exclusion method.

ml의 시료 첨가시에는 세포들의 viability가 100%로서 trypan blue로 염색되는 죽은 세포가 관찰되지 않았다. 또한 케일 메탄올 추출물의 경우, 시료농도가 증가함에 따라 총 세포수가 현저히 감소되었으나, 0.05~0.5 mg/ml의 농도에서 세포들의 viability가 100%인 것으로 나타나서 이들 시료 농도에서 *in vivo* 실험을 행하여도 별 무리가 없는 것으로 관찰되었다. 클로로필린의 수용성 유도체인 클로로필린에 대한 sarcoma-180 세포에서의 직접적인 세포 살해효과를 살펴본 결과 시료 농도(0.5 mg/ml medium)에서 총 세포수가 급격히 저하되었으나 세포들의 viability는 100%이었다. Viability test 결과를 토대로 케일 주스는 1.25 μ l/mouse, 케일 메탄올 추출물과 클로로필린은 모두 12.5 μ g/mouse를 마우스 서혜부에 투여하여 고형암성장 저지효과를 측정하였다. Sarcoma-180 종양세포만 투여한 대조군의 경우 종양무게가 6.27 g인데 반해 케일 주스, 케일 메탄올 추출물, 클로로필린을 투여한 경우는 종양무게가 각각 2.01 g, 1.82 g, 2.39 g으로 나타났다(Table 2). 이러한 결과로부터 고형암 성장저지율이 각각 67.9%, 71.0%, 61.9%로

Table 2. Antitumor activities of kale juice, kale-methanol extract and chlorophyllin in tumor bearing Balb/c mice with sarcoma-180 cells

Sample	Tumor weight ¹⁾ (g)	Inhibition rate (%)
Control	6.27 \pm 1.29	
Kale-juice	2.01 \pm 0.89	67.9
Kale-methanol ext.	1.82 \pm 1.64	71.0
Chlorophyllin	2.39 \pm 1.28	61.9

¹⁾7-day-old sarcoma-180 ascites cells were s.c. transplanted into the left groin of inbred strain. 1.25 μ l/mouse of kale juice, 12.5 μ g/mouse of kale-methanol extract and chlorophyllin or the equal volume of phosphate buffered saline (control) was I.P. injected once a day for 20 days from 24hr following transplantation. All mice were sacrificed at 5 weeks following the transplantation, and tumor weights were measured.

나타나서 케일과 클로로필린은 *in vivo*에서도 *in vitro*와 같이 직접적으로 종양생성을 억제함을 알 수 있었다. 한편 케일 주스, 케일 메탄올 추출물,

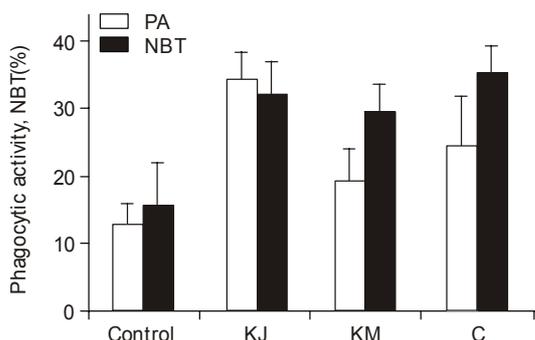


Fig. 1. Effects of kale juice (KJ), kale-methanol extract (KM) and chlorophyllin (C) on the phagocytic activity and nitroblue tetrazolium (NBT) reduction in the peritoneal phagocytic cells of Balb/c mice¹⁾.

¹⁾Mice were injected I.P. with KJ (1.25 µl/mouse), KM (12.5 µg/mouse) and C (12.5 µg/mouse) 1 time each. Phagocytic activities were calculated with *C. albicans* to be phagocytized in 50 phagocytes. NBT reduction were counted with cells to have intracellular blue black formazan in 200 phagocytes.

클로로필린의 sarcoma-180 cell 고형암에 대한 항암효과 실험시, 마우스의 체중변화를 살펴본 결과 시료처리군은 대조군과 비교해 볼 때 시험기간 중 체중의 변화에 큰 차이가 없었다(결과 생략).

Fig. 1은 위의 viability test을 행하여 *in vivo*상에서 독성이 없는 시료농도를 선택하여 케일의 시료와 클로로필린을 직접 생체내에 투여시켜 붉은로써 탐식세포의 탐식기능의 변화와 superoxide의 생성능의 변화를 관찰한 것이다. 마우스 복강내에 시료들을 일정량 1회 주사시킨 후 분리한 복강내 대식세포의 phagocytic 활성과 NBT (nitroblue tetrazolium) 환원능은 모든 시료군에서 대조군보다 높게 나타났는데 이것으로 시료를 투여함으로써 탐식세포의 탐식기능과 superoxide 생성능의 상승으로 면역활성증가가 일어났다는 것을 알 수 있다. Phagocytic activity 측정에서 가장 높은치를 나타낸 군은 케일 주스군이였으며 클로로필린군도 대조군에 비해 2배의 면역활성증강효과를 가졌고, NBT 환원능 측정에서는 클로로필린군의 활성이 가장 높았으며, 케일 주스군 및 메탄올 추출군도 대조군에 비해 2배 이상의 저해효과를 보였다.

한편 마우스 복강내로 적정 시료들을 일정량 1회 주사시킨 후, 혈액의 serum내의 NO (nitric

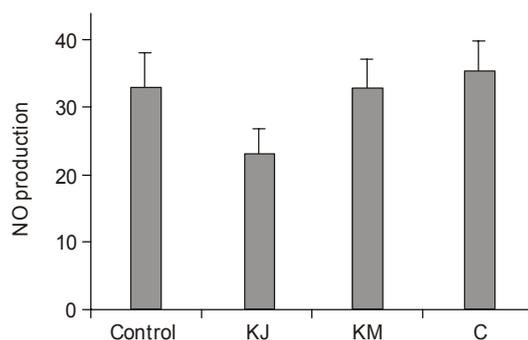


Fig. 2. Effect of kale juice (KJ), kale-methanol extract (KM) and chlorophyllin (C) on nitric oxide (NO) production in the blood serum of Balb/c mice¹⁾.

¹⁾The explanation is the same as in Fig. 1.

oxide) 생성량을 측정된 결과는 Fig. 2와 같다. 대조군에 비해 케일 주스 처리군은 더 낮은 NO 생성량을 가졌으며 케일 메탄올 추출물처리군도 대조군과 같은 값을 가지는 것으로 관찰되었으나 클로로필린처리군은 혈액 중 NO 생성량이 대조군에 비해 약간 높은 것으로 나타났다. 따라서 NO 생성능은 앞의 탐식세포의 탐식기능과 superoxide 생성능에 의한 면역활성 증가비율과는 달리 큰 영향을 나타내지 않았다.

고 찰

케일은 항암효과와 항돌연변이 효과의 잠재성을 가진 영양성분들을 다량 함유하는 것으로 조사되었는데, 특히 비타민 C (146 mg/100 g), β-carotene (70.3 µg/g) 등이 풍부하게 함유되어 있고, 클로로필과 식이섬유소의 함량도 매우 높으며,^{1,25,26)} 항암활성을 갖는 플라보노이드인 quercetin과 kaempferol 함량이 각각 100 mg/kg, 211 mg/kg으로 다른 채소들에 비해 다량 함유되어 있을 뿐 아니라,⁸⁾ benzyl isothiocyanate와 phenethyl isothiocyanate도 함유되어 있다.⁹⁾ 케일은 양배추, 브로콜리, 컬리플라워 등과 함께 십자화과 채소에 속하지만 다른 십자화과 채소들에 비해 많은 연구가 진행되지 못했으며 이용 섭취율도 훨씬 낮은 것으로 나타나지만 위에서 언급한 바와 같이 플라보노이드, 클로로필, 섬유소, 비타민 C, β-carotene, benzyl isothiocyanate와 phenethyl isothio-

cyanate 등을 많이 함유하고 있으므로 이것들로 인한 항(발)암 및 면역활성의 잠재적인 가능성이 매우 높은 것으로 사료되어진다.

케일의 메탄올 추출물 중 클로로포름분획에서 항돌연변이 및 항암활성을 가진 물질이 클로로필린인 것으로 동정되어서,¹⁵⁾ 본 실험에서는 클로로필린과 분자구조가 비슷하고 연구가 많이 되고 있는 수용성인 클로로필린을 케일 추출물과 함께 시료로 사용하였다. Olvera 등¹¹⁾은 monogastric 포유동물 소화시스템에 의해 발생하는 화학적 변화가 클로로필린을 클로로필린과 비슷한 분자로 변화시킨다고 하였다. 클로로필린은 *in vivo*에서 발암원-DNA 결합을 저해하며, 특히 식이로 주어졌을 때 더 효율적으로 AFB₁-DNA 결합을 저해하였으므로 식이 또는 소화관에서 AFB₁-클로로필린의 직접적 반응이 중요하다는 것을 알 수가 있다.²⁷⁾ Ames 돌연변이 유발실험계에서는 2.5 mg/plate 이하의 농도의 클로로필린에 2-aminoanthracene (2-AA), aflatoxin B₁ (AFB₁), benzo[a]pyrene (BaP), N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG)의 돌연변이성을 완전히 또는 거의 완전히 저해했고,²⁸⁾ 또한 클로로필린, 클로로필 a, 클로로필 b는 직접 돌연변이원인 4-nitro-*o*-phenylenediamine (NOP)에 대해 항돌연변이성을 나타내었는데, 클로로필린이 클로로필 a와 b에 비해 더 효과가 컸었다.¹³⁾ 클로로필린은 식품과 제약산업의 colourant로써 여러 나라에서 사용되고 허용되는 매일 섭취량은 15 mg/kg이며²⁹⁾ 미국 FDA에서는 하루에 클로로필린 100~200 mg의 경구투여는 안전하다고 제한한 바 있다.³⁰⁾ Sarcoma 180 암세포를 생쥐에 이식하여 종양형성억제능을 측정한 이 실험에서도 케일시료와 클로로필린은 항암효과를 나타내었다.

숙주에서 종양세포 등의 병적인자에 대한 방어력 증강은 매우 중요한 일이며, 종양면역에서 결정적 역할을 수행하고 있다.^{31,32)} 어떤 미생물 그 자체, 미생물의 추출물이나 산물, cytokine, 특정종양세포, 특정화학물질 등이 대식세포에 작용하면 세포는 활성화되고, 활성화된 결과로 신호전달물질의 생성과 세포독성 자체의 항진이 나타난다. 즉, 대식세포는 외부로부터의 감염이나 자극물질의 작용을 받게되면 활성화되게 되고 그 결과 spreading, 탐식작용, pinocytosis, lysozyme, cytopla-

smic, granule, O₂⁻ 생성, PGE₂ 생성, 항균작용, 항종양작용 등의 증가가 나타나게 된다. 또한 세균을 식균하면 탐식포가 형성되어서 탐식포 막에 있는 효소에 의해 O₂가 superoxide anion (O₂⁻)으로 환원되고 계속하여 ·OH, singlet oxygen 그리고 H₂O₂를 생성하게 된다. 또 다른 경로로는 식세포가 세균을 식균한 후 IFN- γ 와 TNF 자극으로 nitric oxide synthetase가 산소와 결합하여 L-알지닌을 산화시켜서 암세포에 대해 독작용을 나타내는 NO (nitric oxide)가 생성되어 암세포 제거에 중요한 역할을 한다.^{31,32)} 본 연구에서는 이런 작용들을 이용하여, 탐식세포의 탐식능(phagocytic activity)이 시료첨가시 높아지는 지를 대조군과 비교실험을 행하였으며, 탐식포 막에 있는 효소에 의해 O₂가 superoxide anion (O₂⁻)으로 환원되므로 시료첨가시 식세포의 과산화물(O₂⁻) 생성능이 대조군보다 높아지는 지를 검토하였다. 또한 식세포가 식균한 후 암세포에 독작용하는 NO가 생성되므로 시료첨가시 NO 생성능이 증가하는 지를 대조군과 비교하여 실험을 행하였다. Fig. 1에서 보듯이와 같이 케일 주스와 메탄올 추출물, 클로로필린 모두가 대식세포에 의한 phagocytic activity와 NBT 환원능을 크게 증가시켜서 면역활성증가가 일어난 것을 알 수 있었으나, NO생성량은 클로로필린 처리군만 대조군에 비해 약간 높은 것으로 나타나서 NO 생성능은 phagocytic activity와 NBT 환원능의 면역활성증가에 비해 크게 차이가 없었다. NO는 실험계에 따라서 종양세포를 억제하기도 하고 촉진하기도 하는 양면성이 있다고 알려져 있다. 결국 이런 실험으로부터 시료들에 의한 직접적, 간접적인 영향을 통해 마우스의 면역증강효과를 유추할 수 있겠다.

결 론

이 연구를 통해 케일 주스와 케일의 메탄올 추출물 그리고 클로로필린은 sarcoma 180 cell을 이용한 *in vivo* 실험에서 항암효과를 나타내었으며, NO 생성량에서는 큰 차이를 보이지 않았으나 식균작용 및 NBT 환원능의 증가로 면역활성에 영향을 끼치므로 암예방에 중요한 역할을 하리라고 생각된다. 그래서 케일은 암예방을 위한 중요한

식품이라고 할 수 있으며 케일을 씹음 및 녹즙으로만 섭취할 것이 아니라 앞으로 우리 식생활에서도 케일의 이용도를 다른 십자화과 채소들 못지 않게 높아지게 하는 것이 필요하며, 케일 속의 다른 활성물질의 동정과 활성물질간의 상승작용 및 그 암예방 기작에 대한 계속적인 연구가 필요하다.

감사의 글

본 연구는 한국과학재단 연구비 지원(과제번호: 951-0602-081-1)에 의한 결과의 일부이며 이를 감사드립니다.

참고 문헌

- 1) Ahluwalia KS, Roy SK, Chatterjee SS, Swarup V. Kale, a nutritionally rich vegetable. *Indian Horticulture* 1979; October-December: 9-10.
- 2) Mayatepek E, Atinga PEW, Mrotzek M, Bremer HJ. Food survey and chemical composition of food and ready-to-eat meals in the Luo area of South Western Kenya. *Ecol Food Nutr* 1991; 20: 259-269.
- 3) Mercadante AZ, Rodriguez-Amaya DB. Carotenoid composition of a leafy vegetable in relation to some agricultural variables. *J Agric Food Chem* 1991; 39: 1094-1097.
- 4) 박건영, 이경임, 이숙희. 녹황색 채소류의 돌연변이유발 억제 및 AZ-521위암세포의 성장저해효과. *한국영양식량학회지* 1992; 21: 149-153.
- 5) Lee SM, Rhee SH, Park KY. Antimutagenic effect of soluble dietary fibers from kale and soybean. *Environ Mutag Carcin* 1993; 13: 26-35.
- 6) 최영현, 박건영, 이선미, 유미애, 이원호. 케일 주스에 의한 Aflatoxin B₁의 유전독성 억제효과. *한국유전학회지* 1995; 17: 183-190.
- 7) 최성희. 차의 풍미성분과 보건효과. *생명과학* 1992; 2(4): 240-247.
- 8) Bilyk A, Sapers GM. Distribution of quercetin and kaempferol in lettuce, kale, chive, garlic chive, leek, horseradish, red radish and red cabbage tissues. *J Agric Food Chem* 1985; 33: 226-228.
- 9) Wattenberg LW. Inhibition of carcinogenic effects of polycyclic hydrocarbons by benzylisothiocyanate and related compounds. *J Natl Cancer Inst* 1977; 58: 395-398.
- 10) 김행자, 박재옥, 정승용, 강진순, 박필숙. 케일 녹즙이 고콜레스테롤식이 흰쥐의 혈청 및 간장의 지질성분에 미치는 영향. *경상대논문집* 1987; 26: 155-162.
- 11) Olvera O, Zimmering S, Arceo C, Cruces M. The protective effects of chlorophyllin in treatment with chromium (VI) oxide in somatic cells of *Drosophila*. *Mutat Res* 1993; 301: 201-204.
- 12) Gentile JM, Gentile GJ. The metabolic activation of 4-nitro-*o*-phenylenediamine by chlorophyll-containing plant extracts; The relationship between mutagenicity and antimutagenicity. *Mutation Res* 1991; 250: 79-86.
- 13) Newmark HL. Plant phenolics as inhibitors of mutational and precarcinogenic events. *Can J Physiol Pharmacol* 1987; 65: 461-466.
- 14) Guo D, Dashwood R. Inhibition of 2-amino-3-methylimidazo [4, 5-f] quinoline (IQ)-DNA binding in rats given chlorophyllin ; dose-response and time-course studies in the liver and colon. *Carcinogenesis* 1994; 15: 763-766.
- 15) 이선미. 케일의 항돌연변이 및 항암효과와 기작연구. 부산대학교 대학원 박사학위논문 1995.
- 16) Kada T, Morita K, Inoue T. Anti-mutagenic action on vegetable factor(s) on the mutagenic principle of tryptophan pyrolysate. *Mutat Res* 1978; 53: 351-353.
- 17) Nataka M, Kanazawa K, Mizuno M, Ueno N, Kobayashi T, Danno G, Minamoto S. Herb water-extracts markedly suppress the mutagenicity of Trp-P-2. *Agric Biol Chem* 1989; 53: 1423-1425.
- 18) Maeda YY, Chihara G. The effect of neonatal thymectomy on the antitumor activity of lentinan, carboxymethyl pachymaran and zymosan, and their effects on various immune responses. *Int J Cancer* 1973; 11: 153-161.
- 19) Mishell BB, Shiigi SM. Selected methods in cellular immunology. Freeman WH and Co., 1980; pp 4.
- 20) Suga T, Shiio T, Maeda YY, Chihara G. Antitumor activity of lentinan in murine syngenic and autochthonous hosts and its suppressive effect on 3-methyl-cholanthrene-induced carcinogenesis. *Cancer Res* 1984; 52: 5132-5137.
- 21) Smith DL, Rommel F. A rapid micro method for the simultaneous determination of phagocytic-microbicidal activity of human peripheral blood leukocytes *in vivo*. *J Immunol Methods* 1977; 17: 241-247.
- 22) Osterm VK, Tanaka Y, Prah J, Deluka HF, Ikekwa N. 24- and 26-homo-1, 25-dihydroxyvitamin D₃: preferential activity in inducing differentiation of human leukemia cells HL-60 *in vitro*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84: 2610-2614.
- 23) Ding AH, Nathan CF, Stuehr DJ. Release of reactive nitrogen intermediates and reactive oxygen intermediates from mouse peritoneal macrophages. Comparison of activating cytokines and evidence for independent production. *J Immunol* 1988; 141: 2407-2412.
- 24) Lowenstein CJ, Snyder SH. Nitric oxide, a novel

- biologic messenger. *Cell* 1992; 70: 705-707.
- 25) 정승용, 김성희, 김한수, 강진순, 정효숙, 김군자, 김행자. 영지, 케일 및 Sodium dextrothyroxine이 고콜레스테롤 혈증 흰쥐의 hormone 및 지질대사에 미치는 영향. 한국영양식량학회지 1990; 19: 381-386.
- 26) Jeraci JL, Lewis BA, Van Soest PT, Robertson JB. Vitamin and other nutrients. *J Assoc Off Anal Chem* 1989; 72: 677-680.
- 27) Dashwood RH, Breinholt V, Bailey GS. Chemopreventive properties of chlorophyllin: Inhibition of aflatoxin B₁(AFB₁)-DNA binding *in vivo* and antimutagenic activity against AFB₁ and two heterocyclic amines in the *salmonella* mutagenicity assay. *Carcinogenesis* 1991; 12: 939-942.
- 28) Warner JR, Nath J, Ong TM. Antimutagenicity studies of chlorophyllin using the *Salmonella* arabinose-resistant assay system. *Mutat Res* 1991; 262: 25-30.
- 29) Tawashi R, Cousineau M, Denis G. Crystallisation of calcium oxalate dihydrate in normal urine in presence of sodium copper chlorophyllin. *Urol Res* 1982; 10: 173-176.
- 30) Nahata MC, Slencsak CA, Kamp J. Effect of chlorophyllin on urinary odor in incontinent geriatric patients. *Drug Intelli Clin Pharm* 1983; 17: 732-734.
- 31) Bowlin TL, Rosenberger A, Stemerick D, Edwards ML. Potentiation of natural killer cell activity and tumor immunity by diacetylputrescine. *Cancer Res* 1990; 50: 5460-5463.
- 32) Denis M. Activated murine natural killer cells control growth of *Mycobacterium lepraemurium* in mouse macrophages; *in vitro* and *in vivo* evidence. *Int J Immunopharm* 1991; 13: 881-887.
-