

김치 추출물의 활성산소에 대한 피부세포 독성 완화효과

류승희 · 전영수* · 권명자* · 문정원** · 이영순*** · 문갑순†

인제대학교 식품영양학과

*부산대학교 식품영양학과 및 김치연구소

**부산여자전문대학 식품영양과

***경희대학교 식품영양학과

Effect of Kimchi Extracts to Reactive Oxygen Species in Skin Cell Cytotoxicity

Seung-Hee Ryu, Young-Soo Jeon*, Myung-Ja Kwon*, Jung-Won Moon**,
Young-Soon Lee*** and Gap-Soon Moon†

Dept. of Food Science and Nutrition, Inje University, Kimhae 621-749, Korea

**Dept. of Food Science and Nutrition, Pusan National University and Kimchi Research Institute at Pusan National University, Pusan 609-735, Korea*

***Dept. of Food and Nutrition, Pusan Women's Junior College, Pusan 614-734, Korea*

****Dept. of Food Science and Nutrition, Kyunghee University, Seoul 130-734, Korea*

Abstract

Kimchi is composed of many ingredients such as Chinese cabbage, garlic, ginger, red pepper and fermented fish extract. Some of them were known to have antioxidative activities due to their scavenging effect against reactive oxygen species(ROS). To study the health effects of kimchi on human skin cells, keratinocyte(A431, epidermoid carcinoma, human) and fibroblast(CCD-986SK, normal control, human) were cultured in oxidative stress condition provoked by paraquat, a superoxide anion generator, and hydrogen peroxide in the absence and presence of kimchi extract. The survival rate of keratinocyte was greatly reduced when exposed over 1mM concentration of hydrogen peroxide(H₂O₂), but cytotoxicity of H₂O₂ was significantly reduced by kimchi extracts on cells. Especially 2 week-fermented kimchi decreased remarkably the cytotoxicity by H₂O₂ to keratinocyte cells. Over 1mM of paraquat concentration showed strong cell toxicity on keratinocyte, but the extracts from kimchi fermented for 1, 2 and 3 weeks showed protective effects in order. Fibroblast cells were significantly affected by H₂O₂ as were keratinocyte cells. Although almost all extracts of kimchi of different fermentation periods showed protective effect against cell killing at 0.5mM concentration of H₂O₂, 2 week-fermented kimchi extract showed the strongest protective effect on fibroblast cells treated with 1mM H₂O₂ for either 1 day or 4 days. However most of kimchi extracts showed weak preventive effect or no effect on oxidative stress produced by paraquat. In conclusion, 2 week-fermented kimchi extract seems to have the best potential in preventing skin cells against oxidative damage which might be related to their scavenging effects of kimchi components produced during their fermentation process.

Key words: kimchi, keratinocyte, fibroblast, oxidative stress, cytotoxicity

서 론

오늘날 노년인구가 증가되면서 노화에 대한 관심이 높아지고 노화와 관련된 많은 연구가 이루어지고 있다 (1) 피부는 전신 중에서 가장 접근하기 쉬우며 유전인

자, 환경의 영향을 쉽게 관찰할 수 있는 기관이기 때문에 노화현상을 연구하는데 매우 적합한 연구대상이라 여겨진다(2). 피부노화를 일으키는 원인 중 하나는 유리기이론으로서 여러 원인으로 생성되는 유리기들이 세포내에 축적되면서 세포내 효소나 핵 등의 기능장애

†To whom all correspondence should be addressed

를 초래한다는 것이다(3). 피부에서의 유리기 생성을 촉진시키는 가장 중요한 요인은 자외선으로서 자외선 조사는 피부의 표피와 진피를 모두 변화시키는데 이는 자외선이 유해활성산소를 발생시키기 때문으로 알려져 있다(4). 유해활성산소가 세포나 조직에 손상을 가해 류마치스성 관절염 및 종양의 원인이 되거나 중추신경계를 포함한 전반적인 노화와 밀접한 관련이 있다는 것이 여러 실험에서 제기되었다. 최근에는 노화와 관련이 깊은 파킨슨씨병, 헌팅턴씨병, 근위축성 측색경화증(amyotrophic lateral sclerosis) 등과도 상당히 연관이 있는 것으로 보고되고 있다(5). 그러므로 유해산소를 소거하는 물질이나 항산화 관련 물질들은 피부세포 노화 억제효과를 나타낼 것으로 기대되고 있고 실제 자외선조사로 형성된 활성산소를 α -tocopherol, 비타민 C, propyl gallate 등과 같은 항산화물질들(6)과 SOD, catalase와 같은 항산화효소계(7)가 제거하는 것으로 보고되어 있다.

김치는 한국을 대표하는 식품으로 세계적으로 널리 알려져 있으며 그 과학성에 대해 많은 관심이 모아지고 있다. 최근에는 김치의 기능성 성분들에 관한 연구가 활발히 진행되고 있고 그중의 하나로서 김치의 항산화 효과에 관해 연구되고 있다. 이와 최(8)는 김치의 물 및 메타놀추출물에서 강한 항산화효과를 확인하였고, 김치부재료로 사용되고 있는 고추(9), 마늘(10) 및 생강(11)의 항산화효과도 보고되어 있다. 배추와 같은 십자화과 채소에는 glucosinolate, 플라보노이드, 페놀, 탄닌 화합물 등이 풍부하게 들어 있는데(12), 이들 성분들은 활성산소를 소거하는 역할이 있는 것으로 알려져 있다(13-15). 우리나라 사람들은 김치를 많이 섭취하고 있기 때문에 김치의 섭취가 국민건강에 여러가지로 영향을 미칠 것으로 여겨진다. 특히 김치의 섭취가 피부와 같이 자외선 등에 의한 산화적 스트레스를 받기 쉬운 노출된 조직에 미치는 영향을 알기 위하여 피부세포를 이용하여 피부건강에 미치는 김치의 효과를 검토해 보기로 하였다.

따라서, 본 연구에서는 피부의 주요 표피세포인 keratinocyte와 진피세포인 fibroblast를 이용하여 산화적 스트레스를 유발시키는 과산화수소와 paraquat을 농도별로 투여하여 김치시료의 활성산소에 대한 세포독성 완화효과를 연구하였다.

재료 및 방법

실험재료

실험에 사용한 fetal bovine serum(FBS), Dulbecco's

modified eagle medium(D-MEM)은 Gibco BRL(NY, USA)의 것을, paraquat(1,1'-dimethyl-4,4'-bipyridinium dichloride), 과산화수소(H_2O_2) 등의 일반시약은 Sigma사(St. Louis, MO, USA)의 제품을 사용하였으며 용액제조에 사용한 물은 증류수를 탈이온하여 사용하였다.

사용세포주 및 배양방법

Keratinocyte(A431 cell line, Epidermoid carcinoma, Human)와 fibroblast(CCD-986SK, skin, normal control, Human)를 한국암세포주은행에서 분양받아 사용하였고, 10% fetal bovine serum(FBS)를 함유하는 D-MEM배지를 사용하여 plastic culture dish(75cm²)당 5×10^5 cells씩 plating하여 6~7일간 배양하였으며, 96-well plate에서는 keratinocyte에는 well당 200 μ l의 배지에 10^4 cells씩, fibroblast는 well당 200 μ l의 배지에 5×10^3 cells씩 접종하여 6~7일간 배양하였다. 세포는 1회용 disposable plastic plate에서 monolayer로 자라도록 하였으며, 3일마다 배지를 교환하여 37°C, 5% CO₂의 조건에서 배양하였다.

김치 담금방법

김치레시피는 문 등(16)이 발굴한 명가 김치 중의 하나를 모델로 하였으며, 그 구성비는 절인배추 1kg에 대하여 고춧가루 50g, 마늘 15g, 생강 5g, 멸치액젓 0.5C, 배 45g, 무 60g, 부추 10g, 참쌀 0.5TBSP와 같이 조정하여 결정하였다 배추는 계절(여름)배추로 김해 삼방시장에서 구입하였으며, 부재료로 마늘(서산), 생강(서산), 배(나주), 고춧가루(안동농협)를 각각 사용하였다. 배추를 1/4포기로 절단한 후 10% 소금물에 20시간(실내 온도 10°C) 절인 후 3회 씻고 3시간 자연탈수시켰다 양념은 절인 배추무게의 18%가 되도록 버무려 8°C 냉장고에서 보관하였다.

김치추출물의 제조

냉장고(8°C)에서 0, 1, 2, 3, 4, 5주간 숙성시킨 김치시료를 분쇄하여 그 즙을 원심분리한 후 상등액을 0.22 μ m filter로 여과하여 사용하였다.

김치추출물들의 세포에 대한 TD₅₀ 측정

본 실험에 사용할 적정 시료의 농도를 결정하기 위하여 세포들에 대한 김치추출물의 세포독성을 측정하였다. Mosman의 방법(17)에 따라 96-well plate에 세포를 10^4 cells/well씩 plating하고 24시간 후에 김치추

치의 경우 5% 범위였고 숙성 1, 4 및 5주 김치의 경우 5~10% 범위였으며 숙성 2, 3주 김치의 경우 2.5~5% 범위였다.

진피세포인 fibroblast에 대한 숙성기간별 김치추출물의 독성실험 결과는 Table 2와 같았다. 사람의 정상 세포인 fibroblast에 대해서는 숙성기간에 따른 김치추출물의 TD₅₀은 0~3주 김치에서 10% 부근이었고 4, 5주 숙성김치의 경우 10~20% 범위였다. Fibroblast에 대해서는 keratinocyte보다 김치추출물의 세포독성이 낮게 나타났으나 김치추출물의 농도를 낮추어도 세포생존율에 약간의 영향을 미쳤다. 암세포인 keratinocyte에 대해 가장 강한 세포독성효과를 나타내었던 2주 숙성김치의 경우 정상세포인 fibroblast에 대해서는 독성효과가 비교적 낮은 것으로 나타나서 0.3~1.25% 범위에서 세포생존율에 거의 영향을 미치지 않았다.

이러한 결과를 바탕으로 피부세포에 첨가하는 숙성기간별 김치추출물의 농도를 결정하였다. 즉 세포에 영향을 미치지 않는 김치추출물의 농도를 keratinocyte에서는 1.25%로 하였고 fibroblast에 대해서는 2.5%의 농도로 결정하였다.

김치추출물의 keratinocyte에 대한 세포사멸 억제 효과

표피세포인 keratinocyte에 활성산소 생성을 유발시키는 과산화수소와 paraquat를 농도별로 투여하여 김치추출물들의 활성산소에 대한 독성완화작용을 살펴보았다. 먼저 keratinocyte에 과산화수소를 첨가하였을 때의 김치추출물의 효과를 숙성기간별로 비교해 보았다. Fig. 1은 장기간 과산화수소에 노출하였을 때의 숙성기간별 김치추출물의 세포독성 완화효과를 나타낸 것이

다. 과산화수소 0.5mM이내에서는 세포생존율이 유사한 것으로 나타났으나 과산화수소의 농도가 1mM이상이 되면 세포독성이 커서 대부분의 세포가 사멸하였다. 김치추출물을 첨가한 경우 0.25mM 농도까지는 숙성 4주 김치가 대조군보다 세포생존율이 낮았으나 나머지는 김치추출물 투여군의 세포생존율이 높았고 특히 2주 숙성김치의 세포독성 완화효과가 높은 것으로 나타났다. 과산화수소의 농도가 높아지는 0.5nM에서 대조군의 세포생존율은 감소했으나 김치추출물 첨가군의 경우 세포생존율을 높이는 것으로 나타났다. 0.25~0.5 nM로 과산화수소의 농도가 높아질수록 특히 효과가 큰 것은 2주 숙성김치와 0주, 3주 숙성김치의 순이었으며 1주, 5주, 4주 김치도 대조군에 비해 세포독성 완화효과를 나타내었다.

Fig. 2는 keratinocyte를 단기간 과산화수소에 노출시켰을 때의 김치추출물의 세포독성 완화효과를 본 것이다. 1.25%의 김치추출물을 세포에 투여하고 하루동안 과산화수소에 노출시켰을 때 세포가 받는 과산화수소에 의한 독성은 4일간 과산화수소에 노출시켰을 때와 거의 유사한 경향을 나타내어 1mM 이상의 농도에서 keratinocyte 대부분이 사멸하는 것으로 나타났다. 김치추출물의 경우 장기간 과산화수소에 노출시켰을 때와 마찬가지로 과산화수소에 대한 세포독성 완화효과가 나타났는데 2주 숙성김치에서 그 효과가 현저하였고 2주 숙성김치의 산화적 스트레스에 대한 확실한 억제효과는 세포를 장기간 과산화수소에 노출시켰을 때보다 단기간 노출시켰을 때 더욱 현저한 것으로 나타났다.

Fig. 3은 paraquat를 keratinocyte에 첨가하고 단기간의 김치추출물의 세포독성 완화효과를 본 것이다. Keratinocyte에 paraquat를 첨가한 본 실험에서 paraquat

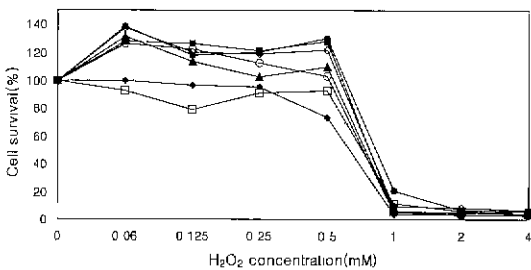


Fig. 1. Effect of kimchi extracts on survival rate of keratinocyte during 4-day exposure to H₂O₂. Keratinocyte cells were incubated for 24hr. Then 1.25% of kimchi extract was added and incubated for another 24hr, followed by exposure of cells to different concentrations of H₂O₂ for 4 days. ◆: Control, ■: 0-week kimchi, ▲: 1-week kimchi, ●: 2-week kimchi, ◇: 3-week kimchi, □: 4-week kimchi, ○: 5-week kimchi

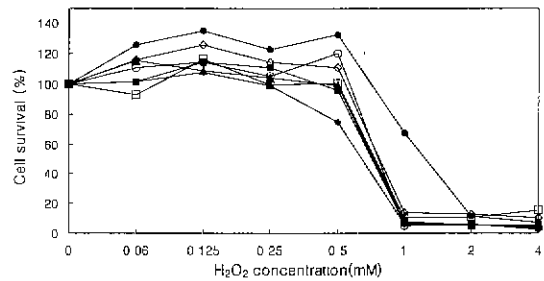


Fig. 2. Effect of kimchi extracts on survival rate of keratinocyte during 1-day exposure to H₂O₂. Keratinocyte cells were incubated for 4 days. Then 1.25% of kimchi extract was added and incubated for another 24hr, followed by exposure of cells to different concentrations of H₂O₂ for 24 hours. ◆: Control, ■: 0-week kimchi, ▲: 1-week kimchi, ●: 2-week kimchi, ◇: 3-week kimchi, □: 4-week kimchi, ○: 5-week kimchi

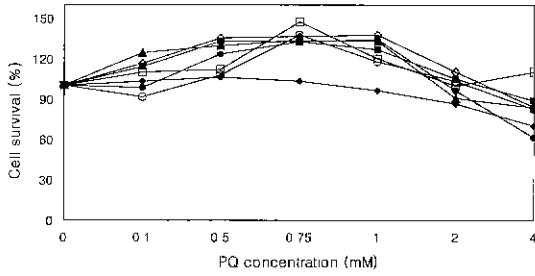


Fig. 3. Effect of kimchi extracts on survival rate of keratinocyte during 1-day exposure to PQ. Keratinocyte cells were incubated for 4 days. Then 1.25% of kimchi extract was added and incubated for another 24hr, followed by exposure of cells to different concentrations of PQ for 24 hours. ◆: Control, ■: 0-week kimchi, ▲: 1-week kimchi, ●: 2-week kimchi, ◇: 3-week kimchi, □: 4-week kimchi, ○: 5-week kimchi

의 농도가 증가할수록 세포생존률은 감소하였으나 과산화수소 처리군에 비해 현저하지는 않았다. Paraquat의 농도가 증가할수록 김치추출물의 세포독성 완화효과가 컸는데 특히 0.75~1mM의 농도에서 김치추출물의 세포독성 완화효과가 현저하였다. 1mM의 농도에서 3주>2주>1주>0주>4주>5주 김치의 순으로 독성 완화효과가 낮아졌으나 대조군에 비해 현저한 효과를 나타내었다. Paraquat 4mM 이상의 농도에서는 4주 숙성 김치를 제외하고는 김치추출물의 세포독성 완화효과가 낮아지는 경향을 나타내었고 2주 숙성김치의 경우 대조군보다 낮은 효과를 나타내어 활성산소를 유발시키는 방법에 따라 김치추출물의 세포독성 완화효과에 차이가 있음을 알 수 있었다.

김치추출물들의 fibroblast에 대한 세포사멸 억제 효과

피부의 진피세포인 fibroblast에 과산화수소 및 paraquat를 가해 산화적 스트레스를 가한 후 김치추출물들의 세포독성 완화효과를 살펴보았다. Fig 4는 과산화수소 및 김치추출물을 장기간 투여하여 김치추출물의 세포독성 완화효과를 본 것이다. Fibroblast의 경우도 keratinocyte와 유사한 경향을 나타내어 과산화수소 1mM 농도에서 세포독성이 크게 증가하였고 김치추출물을 첨가하였을 때 keratinocyte에서 보다 세포독성을 현저히 감소시켰고, 그 효과도 분명한 것으로 나타났다. 특히 김치의 숙성기간에 따라 차이가 현저하여서 과산화수소 1mM 농도까지의 전농도에 걸쳐 2주 숙성 김치의 효과가 가장 컸고 0주, 3주 숙성김치도 과산화수소 1mM 농도에서 현저한 효과를 나타내었다.

Fig. 5는 fibroblast에 김치추출물과 과산화수소를

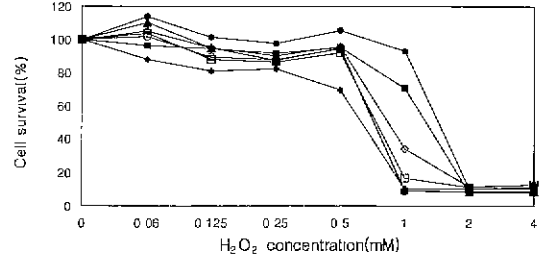


Fig. 4. Effect of kimchi extracts on survival rate of fibroblast during 4-day exposure to H₂O₂. Fibroblast cells were plated at the concentration of 5×10³ cells/well in 96-well plate and incubated for 24hr. Then 2.5% of kimchi extract was added and incubated for another 24hr, followed by exposure of cells to different concentrations of H₂O₂ for 4 days. ◆: Control, ■: 0-week kimchi, ▲: 1-week kimchi, ●: 2-week kimchi, ◇: 3-week kimchi, □: 4-week kimchi, ○: 5-week kimchi

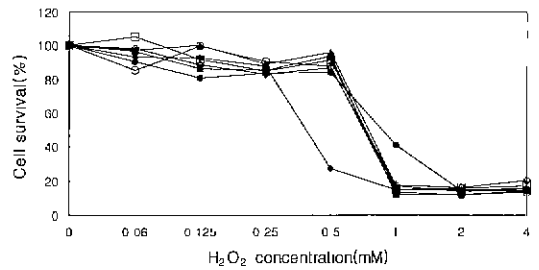


Fig. 5. Effect of kimchi extracts on survival rate of fibroblast during 1-day exposure to H₂O₂. Fibroblast cells were plated at the concentration of 5×10³ cells/well in 96-well plate and incubated for 96hr. Then 2.5% of kimchi extract was added and incubated for another 24hr, followed by exposure of cells to different concentrations of H₂O₂ for 1 days. ◆: Control, ■: 0-week kimchi, ▲: 1-week kimchi, ●: 2-week kimchi, ◇: 3-week kimchi, □: 4-week kimchi, ○: 5-week kimchi

단기간 투여한 후 fibroblast에 미치는 김치추출물의 세포독성 완화효과를 본 것이다. 대조군의 경우 과산화수소 0.5mM에서 현저하게 세포독성이 증가했으나 김치추출물을 첨가한 경우 전 김치 숙성기간에서 상당한 세포독성 완화효과가 있었다. 과산화수소 1mM의 경우 2주 숙성김치의 세포독성 완화효과가 매우 크게 나타나서 앞의 실험결과들과 일치함을 알 수 있었다. Fig. 6은 fibroblast에 paraquat과 김치추출물을 첨가하고 김치추출물의 세포독성 완화효과를 본 결과이다. Fibroblast에 있어서는 paraquat에 대한 김치추출물의 세포독성 완화효과는 현저하지 않은 것으로 나타났다. 이러한 결과는 keratinocyte에 paraquat를 부가하였을 때와 유사한 결과로서 paraquat의 농도가 증가할수록 세포생존률은 감소했으나 과산화수소 첨가시처럼 현

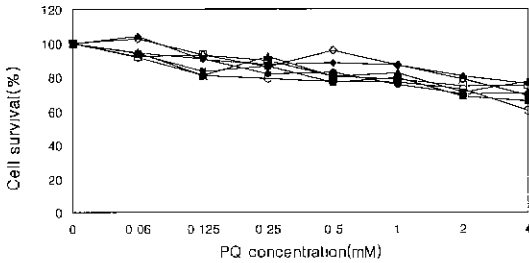


Fig. 6. Effect of kimchi extracts on survival rate of fibroblast during 1-day exposure to PQ.
 Fibroblast cells were plated at the concentration of 5×10^4 cells/well in 96-well plate and incubated for 96hr. Then 2.5% of kimchi extract was added and incubated for another 24hr, followed by exposure of cells to different concentrations of PQ for 1 days. ◆: Control, ■: 0-week kimchi, ▲: 1-week kimchi, ●: 2-week kimchi, ◇: 3-week kimchi, □: 4-week kimchi, ○: 5-week kimchi

저하지 않았고 김치추출물들의 세포독성 완화효과도 낮은 것으로 나타났다. 0.5mM 농도에서는 대조군보다 세포생존률에 유리하게 작용하는 것은 3주 숙성김치 뿐이었다. 1mM 이상의 농도에서는 김치추출물들이 오히려 세포생존률을 낮추는 역할을 하는 것으로 나타났다.

노화란 시간의 경과에 따른 기능의 쇠퇴로서 세포가 내외적 도전에 저항이 떨어지는 현상을 일컫는다. 현재까지 알려진 노화이론은 300여가지가 넘지만 그중 가장 많은 지지를 받고있는 이론은 유리기이론이다(19). 유리기 중에서도 세포독성을 주는 가장 강력한 물질로서 활성산소종이 알려져 있다. 인체의 대사과정 중 생성되는 유해산소종은 superoxide anion($O_2^- \cdot$)과 과산화수소(H_2O_2) 및 hydroxy radical($\cdot OH$)이 있고 이들은 반응성이 높아 세포의 구성물질인 지질, 단백질, 다당류 및 핵산을 파괴하고 세포의 기능을 저하시키고 노화현상을 일으키는 것으로 알려져 있다(20).

이러한 유리기들에 의한 과산화적 손상으로부터 생체를 보호하려는 항산화방어체가 생체내에 존재하고 있고 그 방어기전으로 selenium, 비타민 E, glutathione, 요산 등의 비효소계와 superoxide dismutase(SOD), glutathione S-transferase, catalase 및 glutathione peroxidase와 같은 효소들이 세포내 여러 구획에서 특이적으로 작용하여 조직의 과산화를 억제하는데 기여하고 있다(21). 이밖에도 식품 성분으로서 유해산소 소거능이 있는 것으로 알려져 있는 물질들 중에는 비타민 C, tocopherol, 요산, sulfhydryl compounds, 페놀물질, 환원glutathione, selenium, 카로테노이드, mannitol 등이 알려져 있고 이들은 항산화제로서 정의된다(20).

그런데 활성산소들의 독성에 관한 결정적인 증거를

제공하는데 일차적인 난관은 이들 산소종들의 성질이 매우 일시적이고 측정하기 어렵다는 것이다(20). 따라서 본 실험에서는 superoxide anion을 생성하여 폐의 호흡곤란을 초래한다고 알려져 있는 paraquat(22)와 유해산소종의 하나인 과산화수소를 직접 피부세포에 투여하여 산화적 스트레스를 유발하도록 하였다. Paraquat는 제초제로 사용되어지는 bipyridyl화합물 중에서 독성학적으로 가장 강력하며 superoxide anion을 발생시켜 세포의 막을 파괴시키고 식물잎을 고사시키는 물질로 알려져 있다. 인간에 있어서 독성은 paraquat에 의해 유도된 superoxide anion이 즉시 지방과 반응하여 fatty acid hydroperoxide를 형성하고 그 결과로 세포가 damage를 받아 염증, edema, 그리고 결국 fibrosis를 유발한다는 것이다(23).

과산화수소와 paraquat를 이용하여 활성산소를 유발하면서 김치추출물의 활성산소에 대한 독성 완화효과를 피부세포에 대하여 살펴본 결과, 김치추출물들은 산화적 스트레스에 대해 현저한 세포독성 완화효과를 나타내었고, 특히 숙성 2주 김치에서 그 효과가 큰 것으로 나타났다. 이와같은 김치추출물들의 산화적 스트레스에 대한 독성 완화효과는 김치 및 김치 재료속에 함유되어 있는 여러 성분들의 유해산소종 소거능에 의한 것으로 추정된다. 배추 속에 함유되어 있는 것으로 알려진 플라보노이드, 페놀물질들에 관한 유해 활성산소의 소거능이 이미 보고되어 있고(13-15), 녹황색 채소류 속에 풍부히 함유되어 있는 β -카로틴의 활성산소 소거능이 잘 알려져 있으며(24), 채소류 속에 함유되어 있는 α -tocopherol, 비타민 C, propyl gallate 등에 의한 활성산소 소거능이 Bissett 등(6)에 의해 hairless mouse를 이용한 실험에서 규명된 바 있다. Tanielian과 Wolff(15)는 클로로필과 그 유도체가 일중항산소 분자를 제거함으로써 항산화효과를 나타낸다고 보고하고 있어 김치의 활성산소 소거능에 관한 가능성을 뒷받침하고 있다.

숙성기간에 따라 김치추출물의 산화적 스트레스에 대한 세포독성 완화효과가 2주 숙성김치에서 가장 현저하였는데 이는 이와 최(8)의 연구와 일치하는 결과로서 이와 최(8)도 미발효김치보다 맛이 좋은 7일 발효김치에서 높은 항산화효과를 확인한 바 있다. 이러한 결과는 숙성기간에 따라 김치성분이 변화하기 때문으로 여겨지는데 김치의 숙성 중 비타민 C의 경우 김치가 맛있게 익었을 때 그 함량이 가장 많았다는 우(25)의 보고와, 김치 속에 함유되어 있는 phenolic acid들(26)이 숙성이 진행되면서 배당체에서 유리되어 나와 항산화효과에 기여하였을 가능성 및 이(27)의 연구 결과에서 처

럼 chlorophyll이 김치 속의 Zn과 안정한 결합체를 만들어 항산화효과를 높였을 가능성이 있고, 이외에도 발효과정 중 생성되는 어떤 물질에 의해 항산화효과가 영향을 받을 것으로 추정되므로 이에 관한 계속된 검토가 필요하다고 여겨진다.

그런데 본실험에서 활성산소의 종류에 따른 세포독성 완화효과는 과산화수소와 paraquat를 이용하였을 때 현저한 차이를 나타내어 과산화수소로 유발된 산화적 스트레스를 피부세포에 주었을 때는 keratinocyte와 fibroblast 모두 유사한 경향을 나타내어 김치추출물의 세포독성 완화효과가 현저하였고 특히 2주 숙성김치에서 그 효과가 현저하였는데 paraquat로 산화적 스트레스를 유발하였을 때는 김치추출물들의 세포독성 완화효과는 현저하지 않았고 특히 fibroblast의 경우에는 더욱 그 효과가 분명하지 않았다. 이는 활성산소종의 종류에 따라 paraquat에 의해 유발되는 일중항산소에 대해서는 김치추출물의 소거능이 확실하지 않으나 과산화수소에 대해서는 소거능이 현저함을 시사하는 것으로 여겨진다. Kohen(28)에 의하면 paraquat는 Fe에 의해 독성을 증진시킨다고 보고되어 있어 paraquat는 세포독성에 대해 과산화수소와는 다른 영향을 미치는 것으로 추정되므로 이에 관해서는 계속된 규명이 필요하다고 하겠다.

요 약

본 연구는 김치가 피부건강에 미치는 영향을 규명하기 위하여 피부의 주요 표피세포인 keratinocyte(A431: Epidermoid carcinoma, human)와 진피의 대표적인 세포인 fibroblast(CCD-986SK, skin, normal control, human)를 이용하여 김치추출물들의 활성산소에 의한 독성 제거효과를 살펴보았다. 먼저 숙성시기를 달리한 김치(0주~5주)추출물의 세포독성 실험결과 TD₅₀은 keratinocyte에서 대부분 2.5~5% 또는 5~10% 범위내였고 fibroblast에서는 10~20%였으므로 김치추출물을 keratinocyte에서는 1.25%, fibroblast에는 2.5%의 농도로 투여하고 산화적 스트레스를 유발시키는 과산화수소와 paraquat(1,1'-dimethyl-4,4'-bipyridinium dichloride)를 농도별로 투여하여 시료들의 활성산소에 대한 독성완화작용을 살펴보았다. 표피세포인 keratinocyte에 과산화수소를 투여하였을 때 과산화수소 1mM 농도에서 세포생존률이 급격히 감소하였는데 2주 숙성 김치의 경우 세포독성 완화효과가 가장 현저하였고, 이는 장기간 과산화수소를 투여하였을 때보다 단기간 투여하였을 때 분명하게 나타났다. Paraquat의 경우 1mM

농도에서 3주, 2주, 1주 숙성김치의 세포독성 완화효과가 현저하였다. 김치추출물들의 피부 진피세포인 fibroblast에 대한 세포사멸 억제효과도 keratinocyte와 거의 유사한 경향을 보여주었는데 장기간 및 단기간 과산화수소를 처리하였을 때 모두 과산화수소 1mM 농도에서 김치추출물들의 세포독성 완화효과가 현저하였고, 특히 2주 숙성김치의 효과가 현저하였다. Paraquat를 fibroblast에 첨가하였을 때는 keratinocyte에서와는 달리 김치추출물들의 세포독성 완화효과가 현저하지 않았고 단지 0.5mM 농도에서 3주 숙성김치의 세포독성 완화효과가 현저하게 나타났다. 이와같은 김치추출물들의 산화적 스트레스에 대한 독성억제효과는 김치 및 김치 재료 속에 함유되어 있는 여러 성분들의 유해산소 중 소거능에 의한 것으로 추정된다.

감사의 글

이 연구는 농림수산부에서 수행하고 있는 농림수산 특정연구사업(1995-2000)의 연구비 지원에 의한 결과의 일부이며 이에 감사드립니다

문 헌

- 100세까지 살 수 있다, Newsweek, 1997. 7. 2.
- Güchrest, B. A. : Skin and aging processes, CRC Press Inc., Florida, p.5(1984)
- 대한피부과학회 : 피부과학. 여문자, 서울, p.23(1994)
- Danno, K., Horio, T., Takigawa, M. and Imamura, S. : Role of oxygen intermediates in UV-induced epidermal cell injury. *J. Investigative Dermatology*, **83**, 166(1984)
- Coyle, J. T. and Puttfarcken, P. : Oxidative stress, glutamate and neurodegenerative disorders *Science*, **262**, 689(1993)
- Bissett, D. L., Chatterjee, R. and Hannon, D. P. : Photoprotective effect of superoxide-scavenging antioxidants against ultraviolet radiation-induced chronic skin damage in the hairless mouse. *Photodermatol. Photomed. Photobiol.*, **7**, 56(1990)
- Miyaki, Y., Horio, T. and Imamura, S. : Sunburn cell formation is prevented by scavenging oxygen intermediates. *Clinical and Experimental Dermatology*, **8**, 305(1983)
- 이영옥, 최홍식 : 김치 용매추출물의 항산화성. 생명과학회지, **6**, 66(1996)
- 이치호, 정구용, 임성천, 최도영, 김천제, 최명규 : 베이컨육에 있어서 capsaicin 및 oleoresin의 항산화작용에 관한 연구. 한국식품과학회지, **26**, 496(1994)
- 전희정, 이성우 : 마늘성분의 산화방지작용에 관한 연구, 제1보 전자공여능 및 과산화지질 생성억제 효과에 미치는 영향. 대한가정과학회지, **24**, 43(1986)
- 백숙은 : 생강 추출액의 대두유 및 흰쥐 간 마이크로솜 지질과산화 억제효과. 한국조리과학회지, **11**, 365(1995)

12. 오영주, 황인주, Claus Leitzmann · 김치의 영양생리학적 평가. 제1회 김치의 과학 심포지엄 발표논문집, 한국식품과학회(1994)
13. Hatano, T., Edamatsu, R., Hiramatsu, M., Mori, A., Fujita, Y., Yasuhara, T., Yoshita, T and Okuda, T. · Effects of the interaction of tannins with co-existing substances. VI. Effects of tannins and related polyphenols on superoxide anion radicals, and on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Chem. Pharm. Bull.*, **37**, 2016 (1989)
14. Bros, W. and Saran, M. : Radical scavenging by flavonoid antioxidants. *Free Rad. Res. Comm.*, **2**, 289(1987)
15. Tanielian, C. and Wolff, C · Mechanism of physical quenching of singlet molecular oxygen by chlorophylls and related compounds by biological interest. *Photochem. Photobiology*, **48**, 277(1988).
16. 문갑순, 송영선, 전영수 · 부산 및 부산근교의 냉가김치 발육을 위한 연구. 한국조리과학회지, **12**, 74(1996)
17. Mosman, T. : Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival; Application to proliferation and cytotoxicity assays *J. Immunol. Meth.*, **65**, 55(1983)
18. 박건영 · 김치의 영양학적 평가와 항돌연변이 및 항암효과. 한국영양식량학회지, **24**, 169(1995)
19. Yu, B. P. : Aging and oxidative stress' Modulation by dietary restriction. *Free Radical Biology & Medicine*. **21**, 651(1996)
20. Homer, S. B : Potential involvement of free radical reactions in ultraviolet light-mediated cutaneous damage. *Photochem. Photobiology*. **46**, 213(1987)
21. Bompard, G. J., Provot, D. S. and Bascands, J. L. : Rapid automated analysis of glutathione and S transferase activity: Application to cisplatin-induced toxicity *Clin. Biochem.*, **23**, 501(1990)
22. Watanabe, N., Shiki, Y., Morisaki, N, Saito, Y. and Yohida, S. : Cytotoxic effects of paraquat and inhibition of them by vitamin E. *Biochem. Biophys. Acta*, **883**, 420(1986)
23. Bryson, P. D. : Comprehensive review in toxicology. An Aspen Publication. Maryland, p.263(1986)
24. Micheline, M. M. : carotenoids quench evolution of excited species in epidermis exposed to UVB(290~320 nm) light. *Photochem. Photobiology*, **43**, 91(1986)
25. 우경자 · 김치의 숙성환경이 비타민 C의 생합성 및 파괴에 미치는 영향 서울대학교 석사학위논문(1968)
26. Uda, Y., Ozawa, Y., Takayama, M., Suzuki, K. and Mameda, Y. · Free and soluble bound phenolic acids in some cruciferous vegetables *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, **35**, 360(1988)
27. 이영옥 · 김치의 항산화특성과 항산화성 물질에 관한 연구 부산대학교 대학원 박사학위논문(1996)
28. Kohen, R. : Paraquat toxicity is enhanced by iron and reduced by desferrioxamine in laboratory mice. *Biochem. Pharmacol.*, **34**, 1841(1985)

(1997년 7월 14일 접수)