

## 부추 첨가 식이가 수컷 생쥐의 암예방 효소계 및 혈중 웅성호르몬 농도에 미치는 영향

곽연주<sup>\*\*\*</sup> · 전희정<sup>\*</sup> · 이민자 · 권태완 · 김정상<sup>†</sup>

인제대학교 식품과학연구소 및 식품영양학과

\*숙명여대 식품영양학과

\*\*인제대학교 기초과학연구소

## Modulation of Anticarcinogenic Enzyme and Plasma Testosterone Level in Male Mouse Fed Leek-Supplemented Diet

Yeon-Ju Kwak<sup>\*\*\*</sup>, Hee-Jung Jun<sup>\*</sup>, Min-Ja Lee, Tai-Wan Kwon and Jong-Sang Kim<sup>†</sup>

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

<sup>\*</sup>Dept. of Food and Nutrition, Sookmyung Women's University, Seoul 140-742, Korea

<sup>\*\*</sup>Institute of Basic Science, Inje University, Kimhae 621-749, Korea

### Abstract

*Allium tuberosum* Rotter(Liliaceae) is a perennial herb of which leaves are used for food. Leek has been reported to have pharmacological effects including alleviations of abdominal pain, diarrhea, hematemesis, snakebite, and asthma. To investigate the effect of dietary leek supplementation on the drug-metabolizing enzymes, quinone reductase(QR) and arylhydrocarbon hydroxylase(AHH) activities in the liver, stomach, small intestine and lung, and on the plasma testosterone and dihydrosterone hormone levels, mice were fed 2% and 5% leek diets for 8 weeks. Quinone reductase, an anticarcinogenic enzyme, was significantly induced in stomach, small intestine, and lung but slightly lowered in hepatic tissue in the experimental groups compared to control group. Arylhydrocarbon hydroxylase activity, involved in bioactivation of procarcinogens, was significantly decreased in liver and lung. Leek feeding led to the reduction in the plasma level of dihydrotestosterone which is associated with the incidence of prostate cancer. These findings support the potential chemopreventive activity of leek supplementation.

**Key words:** leek, quinone reductase, arylhydrocarbon hydroxylase, dihydrotestosterone

### 서 론

부추(*Allium tuberosum* L.)는 우리나라 산야에서 자생하는 *Allium*속에 속하는 채소류로서 실부추(*A. anisopodium*), 한라부추(*A. cyanem*), 한라세모부추(*A. cyanem* var. *deltoides*), 세모부추(*A. deltoidefistulosum*), 두메부추(*A. senescens*), 돌부추(*A. splendens*), 산부추(*A. thunbergii*), 참산부추(*A. sacculiferum*) 등이 있다(1,2). 개화시기는 5월부터 11월까지이며 독특한 맛과 향기가 있어서 이른 봄부터 인경과 근엽을 나물로써 애용해 왔을 뿐 아니라 한방에서는 보혈, 청혈,

구충, 이뇨, 진위, 진뇌, 강심, 진통, 해독제, 중풍, 코출혈, 치질, 당뇨, 치루, 타박상 등 다양한 증상의 완화제로서 이용되고 있다(3). 부추는 식이섬유와 클로로필이 풍부할 뿐 아니라, 항혈전성분으로 adenosine이 밝혀져 있고, 약물대사에 관여하는 효소의 작용을 억제하는 1, 2,3,4-tetrahydro- $\beta$ -carbonyl 3-carboxylic acid 성분 등이 보고되어 있다(4,5).

부추와 동일한 *allium*속의 마늘과 양파에 대해서는 암예방효과 등 많은 생리적 기능에 대한 연구가 이루어져 있으나(6-9), 부추에 대해서는 극히 제한적인 연구 결과만 보고되어 있는 실정이며, 더구나 서양에서 소비

<sup>†</sup>To whom all correspondence should be addressed

되는 leek와 국산 부추와는 외관에서 크게 차이가 나기 때문에 생리적 활성도 다를 것으로 예상된다. 따라서 본 연구에서는 국산 부추가 나타내는 생리활성 중 암예방효과 여부를 밝히기 위하여 발암물질의 대사와 관련이 깊은 1상 및 2상 효소계의 억제 또는 유도여부를 측정하였다. 특히 마늘섭취가 전립선암의 예방과 관련이 있다는 보고가 있어(10), 같은 allium속에 속하는 부추의 전립선암 예방효능을 평가하기 위하여 전립선암의 요인으로 지목되고 있는 혈중 dihydrotestosterone 농도(11)가 부추첨가 식이에 의해서 조절되는지 여부를 평가하였다.

## 재료 및 방법

### 재료

본 실험에 사용한 부추는 경남 김해시 대동면에서 3차로 수확된(1997년 5월 2일) 것을 구입하여 동결건조하고 분말화한 후,  $-70^{\circ}\text{C}$ 에 보관하면서 시험에 사용하였다.

### 실험동물의 사육

본 실험에 사육한 실험동물은 수컷 생쥐로, 실험식을 굽이하기 전 1주일 동안 고형배합사료(chow)를 제공하여 환경적응기간을 가진 후 평균체중이  $19 \pm 1.5\text{g}$ 에 도달하였을 때, 완전임의배치법(completely randomized design)에 의해 평균 체중이 유사하도록 각 군당 6마리씩 대조군과 실험군으로 나누었다. 대조군에는 부추가 첨가되지 않은 AIN-76 식이를 제공하였으며, 실험군은 AIN-76 식이에 부추분말 2% 및 5%를 첨가한 부추첨가 사료를 8주간 섭취시켰다. 대조군 및 실험군의 식이조성은 Table 1에 나타내었다. 건조 부추는 AOAC방법(9)에 따라 일반 성분을 분석하였으며 식이에 첨가시 단백질, 지방, 식이섬유함량이 대조군과 동일하도록 casein, corn oil, cellulose의 양을 조정하였다.

### 실험동물의 희생 및 시료의 채취

사육기간 종료 후 에테르로 채워진 desiccator로 동물을 마취시킨 후 심장에서 혈액을 채취하여 2,500rpm ( $4^{\circ}\text{C}$ )에서 15분간 원심분리하여 혈장을 분리하였다. 계속하여 간, 폐, 소장, 위 등을 적출하여 0.9% 생리식염수로 혈액을 씻고 여과지로 염용액을 제거한 뒤 무게를 측정한다 다음, 즉시 액체질소에서 급속 동결하였다. 혈액과 장기는  $-70^{\circ}\text{C}$  냉동고에 보관하면서 분석에 사용하였다.

Table 1. Composition of experimental diets

Ingredient	Control	2% Leek	5% Leek
Casein	20.00	20.00	20.00
D.L-Methionine	0.30	0.30	0.30
Corn starch	65.00	64.21	63.04
Cellulose	5.00	4.31	3.27
Corn oil	5.00	4.92	4.79
Vitamin mix. <sup>1)</sup>	1.00	1.00	1.00
Mineral mix. <sup>2)</sup>	3.50	3.50	3.50
Choline	0.20	0.20	0.20
Leek powder	-	2.00	5.00

<sup>1)</sup>ICN Vitamin mixture(g/kg mixture) : Thiamine hydrochloride 0.6, riboflavin 0.6, pyridoxine hydrochloride, nicotinic acid 3.0, D-Ca pantothenate 1.6, folic acid 0.2, D-biotin 0.02, cyanocobalamin 0.001, retinyl palmitate premix(250,000IU/gm) 1.6, DL-alpha-tocopherol acetate (250IU/gm) 20, cholecalciferol(vitamin D<sub>3</sub>)(400,000IU/gm) 0.25, Menaquinone(vitamin K<sub>2</sub>) 0.005

<sup>2)</sup>AIN-76 Mineral mix(g/kg mix) : CaHPO<sub>4</sub> 500, NaCl 74, K citrate monohydrate 220, K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 52, MgO 24, Mn carbohydrate 3.5, Fe citrate 6.0, Zn carbonate 106, Cu carbonate 0.3, KIO<sub>3</sub> 0.01, Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub> · 5H<sub>2</sub>O 0.01, CrK(SO<sub>4</sub>) · 12H<sub>2</sub>O 0.55, sucrose 118

### 부추를 섭취시킨 수컷 생쥐의 quinone reductase (QR) 효소활성의 측정

각 실험동물들의 장기(간, 폐, 소장, 위)를 0.1g씩 취하여 3ml 0.25M sucrose용액에 넣어 얼음물 속에서 균질화한 후 9,000×g, 20분간 원심분리하였다. 즉시 상등액을 취하고, 여기에 0.2배의 0.25M sucrose용액으로 제조한 0.1M CaCl<sub>2</sub>를 첨가하고, 30분간 얼음 위에서 방치한 후 다시 15,000×g에서 20분간 원심분리하였다. 즉시 상등액을 취한 후, QR 효소활성과 단백질 함량측정에 사용하였다. QR 효소활성은 Benson 등(12)의 방법에 따라 2,6-dichlorophenolindophenol(DCPIP)를 환원시키는 정도를 측정하여 나타내었으며 단백질함량은 Lowry 등(13)의 방법에 따라 측정하였다.

### 부추를 섭취시킨 수컷 생쥐의 arylhydrocarbon hydroxylase(AHH) 효소 활성 측정

각 동물의 장기 중 간은 10배의 ice-cold 0.15M KCl-0.25M potassium phosphate buffer(pH 7.25)를, 간을 제외한 장기는 ice-cold 0.15M KCl-0.25M potassium phosphate buffer(pH 7.55)를 가하여 Polytron tissue homogenizer(PT 10/35, Brinkmann Instruments Co., Westbury, NY, USA)로 균질화하고 원심분리(15,000×g, 15분,  $4^{\circ}\text{C}$ )하였다. 상등액을 취하여 AHH 효소활성과 단백질함량 측정에 사용하였으며, AHH 효소활성과 단백질함량은 각각 Nebert(14)의 방법과 Lowry 등(13)

의 방법에 따라 측정하였다.

부추를 섭취시킨 수컷 생쥐의 testosterone 및 dihydrotestosterone의 농도 측정

혈장의 testosterone(T) 및 dihydrotestosterone(DT) 농도는 T/DT [<sup>3</sup>H] assay kit(Biotrak, Amersham Korea Ltd, 서울)를 이용하여 측정하였다. 측정은 kit 공급자가 제시한 방법에 따라 수행하였으며, 방법을 요약하면 각 실험동물에서 채취한 혈장에 디에틸에테르를 가하여 추출하고, 질소가스로 디에틸에테르를 날려보낸 다음, 1ml의 assay buffer로 녹인 시료에 tracer 200 μl, anti serum 200μl을 가하고 실온에서 정치시킨 다음 ice-bath에서 냉각시켰다. Charcoal suspension 200μl을 첨가하여 12,000×g에서 1~1.5분간 원심분리한 다음 상등액 500μl에 scintillant(National Diagnostics, Atlanta, Georgia, USA) 10ml을 첨가하여 4분 동안 카운트하는 방사선면역측정법(radioimmunoassay)을 사용하였다.

#### 자료의 통계처리

본 실험에서 얻어진 결과의 통계처리는 SAS computer program(15)을 이용하였으며 실험군별로 평균과 표준오차를 구하였고, 실험군간 평균의 유의적인 차이를 검증하기 위하여 ANOVA를 수행하고, p<0.05 수준에서 Duncan's multiple range test를 실시하였다.

#### 결과 및 고찰

부추를 섭취시킨 생쥐에서의 QR 및 AHH효소 활성 변화

부추가 생체 암예방 지표효소계인 QR활성에 영향을 미치는지 확인하기 위하여 수컷 생쥐를 대상으로 8주간 부추를 0%, 2%, 5% 섭취시킨 다음, 장기들의 QR활성을 측정된 결과는 Table 2와 같다. 본 실험 결과 위와 소장에서 부추 첨가군이 모두 QR활성이 유의적으로 증가되었으며 특히 2%, 5% 첨가시에 위(75%, 87%)> 소장(18%, 38%)>폐(35%, 8%) 등의 순으로 효소활성이 증가하는 경향을 보였다. 이 결과로부터 부추에 암 예방물질로 추정되는 QR inducer가 존재하는 것이 확인되어 다음 단계로 발암물질의 활성화에 관련이 있는 AHH활성 유도여부를 평가하였다. 부추의 섭취가 생쥐의 간과 폐의 AHH 효소활성을 유의적으로 감소시켰고, 위와 소장에서는 유의적인 변화를 나타내지 않았다. 이와 같이 부추식이 생쥐의 폐와 소장에서 전발

Table 2. Changes of QR and AHH activities in the organs of mouse fed leek diet

Organ	Group	Relative QR activity(%)	Relative AHH activity(%)
Liver	0%	100 <sup>a</sup>	100 <sup>a</sup>
	2%	58±15 <sup>b</sup>	43±23 <sup>b</sup>
	5%	69±12 <sup>b</sup>	36±14 <sup>b</sup>
Lung	0%	100	100 <sup>a</sup>
	2%	136±70n.s.	67±19 <sup>b</sup>
	5%	109±18	77±19 <sup>ab</sup>
Stomach	0%	100 <sup>b</sup>	100
	2%	176±30 <sup>a</sup>	105±25n.s.
	5%	187±31 <sup>a</sup>	123±37
Small intestine	0%	100 <sup>b</sup>	100
	2%	119±11 <sup>ab</sup>	104±19n.s.
	5%	138±22 <sup>a</sup>	94±27

Values are Mean±SD.

Values within the same column with different alphabets are significantly different(p<0.05) among the groups by Duncan's multiple range test.

암성성분(procarcinogen)의 궁극적인 발암성분으로의 전환에 관련된 1상효소계(AHH)를 억제하는 것으로 나타나 부추가 암예방식품소재로서 계속 연구할 가치가 있는 것으로 판단된다. 마늘의 diallyl sulfide(DAS), diallyl disulfide(DADS), diallyl trisulfide(DATS), dipropyl sulfide(DPS) and dipropyl disulfide(DPDS) 등 소위 organosulfides들은 quinone reductase를 유도하는 것으로 보고되었다(9).

마늘의 향기성분인 diallyl sulfide는 화학적으로 유도된 발암과정을 억제하는 것으로 보고되었으며 CY-P2E1을 억제하고 CYP2B1을 유도하는 특성과 관련이 있는 것으로 추정된다(7,16). Diallyl disulfide와 allyl methyl sulfide도 CYP2E1을 유의적으로 억제함으로써 암예방효과를 발휘하는 것으로 보고되었다(17). 한편 네덜란드에서 수행된 역학조사에서 서양 부추의 섭취가 대장암 및 위암의 발생과 유의적인 상관성이 없는 것으로 보고되었다(18).

#### 혈중 testosterone 농도

수컷 생쥐를 대상으로 8주 동안 부추를 0%, 2%, 5% 첨가하여 섭취시킨 다음 혈중 testosterone(T)함량을 측정된 결과는 Table 3과 같다. 부추첨가 식이가 혈중 testosterone 농도에는 유의적인 영향을 주지 않았으나 활성화형 응성호르몬인 dihydrotestosterone 농도를 유의적으로 낮추는 것으로 나타났다. 이러한 현상은 2%나 5% 첨가 수준에서 모두 관찰되었으며, 두 가지 첨가수준에서는 차이가 관찰되지 않았다. 보고에 의하면 전

**Table 3. The testosterone and dihydrotestosterone levels in mouse plasma**

Group	Testosterone (ng/100ml plasma)	Dihydrotestosterone (ng/100ml plasma)
0% leek	10.52±1.53	61.39±37.74 <sup>a</sup>
2% leek	9.81±2.68n.s.	15.40± 7.2 <sup>b</sup>
5% leek	8.98±2.25	14.17±15.15 <sup>b</sup>

Values are Mean±SE.

Values within the same column with different alphabets are significantly different( $p<0.05$ ) among the groups by Duncan's multiple range test.

립선암이나 전립선 비대증의 발생에는 dihydrotestosterone 농도가 중요한 역할을 하는 것으로 추정된다(19).

부추가 혈중 dihydrotestosterone 농도를 낮추는 기작에 대해서는 다음과 같은 몇 가지 가능성을 제시할 수 있다. 우선 부추의 식이섬유성분에 의하여 장내미생물이 glucuronide나 sulfate conjugates를 deconjugate 하는 능력이 감소될 수 있다. 두 번째 가능성은 부추의 식이섬유성분이 성호르몬을 흡착하여 장간 순환을 억제함으로써 혈중 스테로이드 농도를 낮출 수 있다. 마지막으로 testosterone으로부터 dihydrotestosterone을 생성하는 효소인 5-alpha-reductase의 활성이 부추의 성분에 의하여 억제되어 혈중 스테로이드 호르몬 농도가 낮아지는 것을 가정할 수 있다. 본 연구결과에서 혈중 testosterone 농도에는 영향을 주지 않으면서 dihydrotestosterone 농도만 선택적으로 낮추는 것으로 나타나 부추에는 5-alpha-reductase를 저해하는 성분이 존재하는 것으로 추정된다.

Dihydrotestosterone(DHT)은 testosterone(T)의 산화된 형태로 T가 직접 분비되는 근육이나 뼈를 제외한 기타의 조직에서 남성호르몬으로 분비되기 전에 dihydrotestosterone으로 전환된다. 최근 식이, 호르몬, 전립선암과의 상관관계에 대한 관심이 높아지고 있는데 이는 식이가 호르몬의 생성, 대사, 분비에 영향을 미치며 전립선암을 저지하는 효과를 가지기 때문이다. 일반적으로 육식을 많이 하는 서양인과 비교하여 채식주의 자들이 있어서 전립선 암을 비롯한 암발생률이 적다(20,21). 전립선암의 원인을 규명하는데 있어서 내분비 스테로이드(endogeneous steroids)의 역할은 명확히 규명되지는 않았지만 채식자에게 있어 다른 호르몬 환경이 조성될 가능성은 높다. 채식자들이 비채식자보다 더 많은 종류의 지방과 섬유소를 섭취하는 것이 호르몬의 농도를 변화시켜 전립선암의 발생률을 저하시키는 것으로 보인다. 미국에서 전립선암의 발생률은 역학적으로 육류, 달걀, 및 유제품의 형태로 지방을 섭취하는 행동과 상관관계가 있었다(20).

조직과 혈중에서 testosterone과 dihydrotestosterone의 양은 종족, 성별, 나이와 sample을 채취할 때 동물의 신체조건에 따라 다르며, 일반적으로는 사람의 경우 testosterone의 함량이 남자가 여자보다 약 10배 정도 높다. 전립선암을 예방하는 수단으로 식이 패턴을 육류 위주로부터 채식위주로 바꾸는 것이 필요하며, 채소류 가운데서도 dihydrotestosterone 농도를 낮추는 것을 선택하는 것이 현명하다고 생각된다. 그러나 채소류에 대한 폭넓은 자료가 아직은 부족한 실정이어서 식이성분들과 혈중성호르몬 농도와의 상관관계를 규명하는 연구가 필요한 것으로 평가된다.

## 요 약

수컷 생쥐를 대상으로 부추를 0%, 2%, 5% 식이에 첨가하여 8주간 사육한 후, 각 장기들에서 암예방 지표 효소인 QR과 발암물질의 활성화와 관련이 있는 AHH 효소활성을 관찰하였다. QR활성은 위>소장>폐>간 순으로 유도정도가 큰 것으로 나타났으며, AHH 활성은 간과 폐에서는 유의적으로 감소되었다. 특히 폐에서 QR효소계의 변화함이 없이 1상 효소계의 감소가 관찰되어 부추가 폐에 대하여 암예방효과가 클 것으로 예상된다. 부추식이 생쥐의 혈중 testosterone의 함량에는 크게 영향을 주지는 않았으나 dihydrotestosterone 함량은 감소시키는 것으로 나타나 부추식이 전립선암을 예방하는 효과도 있을 것으로 기대된다.

## 감사의 글

본 연구는 1996~1998년도 농림부에서 시행한 농림수산특정연구사업(현장에로기술개발사업)의 일환으로 수행된 과제의 일부이며 이에 감사를 드립니다.

## 문 헌

1. 유성오, 배종향 : 한국 야생 부추의 개화분화. 한국원에 학회지, **34**, 395(1993)
2. 이창복 : 대한식물도감. 향문사, p.204(1982)
3. 한국식물대보감 : 한국자연식물연구소. 제일출판사, p.508 (1980)
4. 최재수, 김재연, 이지현, 양현석, 이태웅 : 부추잎으로부터 adenosine의 분리와 유리아미노산 조성. 한국식품영양과학회지, **21**, 286(1992)
5. 최재수, 박시향, 김일성 : 야채 식용식물의 약물대사 활성성분에 관한 연구. 한국생약학회지, **20**, 117(1989)
6. Brady, J. F., Ishizaki, H., Fukuto, J. M., Lin, M. C., Fadel, A., Gapac, J. M. and Yang, C. S. : Inhibition of cytochrome P-450 2E1 by diallyl sulfide and its

- metabolites. *Chem. Res. Toxicol.*, **4**, 642(1991)
7. Reicks, M. M. and Crankshaw, D. L. : Modulation of rat hepatic cytochrome P-450 activity by garlic organosulfur compounds. *Nutr. Cancer*, **25**, 241(1996)
  8. Srivastava, S. K., Hu, X., Xia, H., Zaren, H. A., Chatterjee, M. L., Agarwal, R. and Singh, S. V. : Mechanism of differential efficacy of garlic organosulfides in preventing benzo(a)pyrene-induced cancer in mice. *Cancer Lett.*, **118**, 61(1997)
  9. Singh, S. V., Pan, S. S., Srivastava, S. K., Xia, H., Hu, X., Zaren, H. A. and Orchard, J. L. : Differential induction of NAD(P)H : quinone oxidoreductase by anti-carcinogenic organosulfides from garlic. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **244**, 917(1998)
  10. Key, T. J., Silcocks, P. B., Davey, G. K., Appleby, P. N. and Bishop, D. T. : A case-control study of diet and prostate cancer. *Br. J. Cancer*, **76**, 678(1997)
  11. Zaccheo, T., Giudici, D., Panzeri, A. and di Salle, E. : Effect of the 5-alpha-reductase inhibitor PNU 156765, alone or in combination with flutamide, in the Dunning R3327 prostatic carcinoma model in rats. *Chemotherapy*, **44**, 284(1998)
  12. Benson, A. M., Hunkeler, M. J. and Talalay, P. : Increase of NAD(P)H : Quinone reductase by dietary antioxidants ; Possible role in protection against carcinogenesis and toxicity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **77**, 5216(1980)
  13. Lowry, O. H., Rosebrougr, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. : Protein determination with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 265(1951)
  14. Nebert, D. W. : Genetic differences in microsomal electron transport : the *Ah* locus. *Methods Enzymol.*, **52**, 226(1978)
  15. 최병선 : PC SAS 입문. 박영사, p.229(1994)
  16. Siess, M. H., Le Bon, A. M., Canivenc-Lavier, M. C. and Suschetet, M. : Modification of hepatic drug-metabolizing enzymes in rats treated with alkyl sulfides. *Cancer Lett.*, **120**, 195(1997)
  17. Kwak, M. K., Kim, S. G., Kwak, J. T., Novak, R. F. and Kim, N. D. : Inhibition of cytochrome P450E1 expression by organosulfur compounds allylsulfide, allylmercaptan and allylmethylsulfide in rats. *Biochem. Pharmacol.*, **47**, 531(1994)
  18. Dorant, E., van den Brandt, P. A. and Goldbohm, R. A. : A prospective cohort study on the relationship between onion and leek consumption, garlic supplement use and the risk of colorectal carcinoma in The Netherlands. *Carcinogenesis*, **17**, 477(1996)
  19. Peters, D. H. and Sorkin, E. M. : Finasteride. A review of its potential in the treatment of benign prostatic hyperplasia. *Drugs*, **46**, 177(1993)
  20. Pusateri, D. J., Roth, W. T., Ross, J. K. and Shultz, T. D. : Dietary and hormonal evaluation of men at different risk for prostate cancer : plasma and fecal hormone-nutrient interrelationships. *Am. J. Clin. Nutr.*, **51**, 371(1990)
  21. Ross, J. K., Pusateri, D. J. and Shultz, T. D. : Dietary and hormonal evaluation of men at different risks for prostate cancer fiber intake, excretion, and composition, with *in vitro* evidence for an association between steroid hormones and specific fiber components. *Am. J. Clin. Nutr.*, **51**, 365(1990)

(1998년 6월 30일 접수)