J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.
28(2), 458~463(1999)

순창 재래식 된장의 암세포 성장억제 효과

최신양† · 최미정 · 이정진 · 김현정 · 홍석산 · 정건섭* · 이봉기**

한국식품개발연구원
*연세대학교 생물자원공학과
**연세대학교 의과대학 미생물학교실

Growth Suppression Effect of Traditional Fermented Soybean Paste(*Doenjang*) on the Various Tumor Cells

Shin-Yang Choi†, Mee-Jeung Cheigh, Jung-Jin Lee, Hyun-Jung Kim, Seok-San Hong, Kun-Sub Chung* and Bong-Ki Lee**

Korea Food Research Institute, Songnam 463-420, Korea
**Dept. of Biological Resources and Technology, Yonsei Univerity, Wonju 220-710, Korea*
***Dept. of Microbiology, College of Medicine, Yonsei University, Seoul 120-752, Korea*

Abstract

Methanol extract and its fraction of traditional fermented soybean paste(*doenjang*) from Soonchang area were studied for growth suppression on the various tumor cells and suppression components, by using HPLC and GC were analysed. Hexane fraction of methanol extract was indicated 79%, 76%, 67%, 66%, 78% of growth suppression on L1210, P338D1, HepG2, WiDr and SNU-1 tumor cells, respectively. Ethylacetate fraction of methanol extract also showed 81%, 75%, 75%, 76% and 82% of growth suppression on the same tumor cells, respectively. Peak 8 obtained from HPLC of ethylacetate fraction indicated 81%, 77%, 77%, 75% and 79% of growth suppression on the same tumor cells and identified as a genistein, by comparing with standard one by HPLC analysis. Hexane fraction of methanol extract contained oleic acid, linoleic acid and palmitic acid.

Key words: *doenjang*, tumor cells, genistein, linoleic acid

서 론

우리나라 전통장류의 하나인 된장은 대두로부터 복잡한 미생물발효를 통하여 만들어진 식품으로 원료 대두에서 유래하는 우수한 영양원으로써 뿐만 아니라 여러 가지 생리활성도 갖고 있는 것으로 알려져 있다(1). 최근 식품의 기능성에 관한 연구가 활발히 수행되고 있는 가운데 대두에서 유래하는 항암활성물질로는 protease inhibitor(2-4), phytic acid(5,6), isoflavones (7,8) 등이 보고되어 있으며 일본의 된장(*miso*) 및 간장(*shoyu*)에서 항암성(9-12), 항돌연변이원성(13) 및 항산화성(13-15)물질이 발견되어 보고되어지고 있다. 우리나라 전통장류의 생리활성에 대한 연구로는 항돌연변이원성(16), 항산화성(15,16)에 대하여 보고된 바 있으나 항암성에 대한 연구는 미흡한 편이다. 즉, 손(17)의 마우스에서 된장추출물의 항암효과와 된장의 항돌연변이 및 항암효과에 대한 연구(18), 대두발효식품인 간장, 된장, 고추장, 청국장 등의 암세포에 대한 세포독성 시험(19) 등이 연구되어 있을 뿐이다.

따라서, 본 연구에서는 한국 전통 장류의 우수성을 밝히고자 순창에서 제조한 전통된장에서 항암효과가 있는 물질의 추출 및 분획을 시도하여 이 분획물이 암세포주의 성장에 미치는 효과를 조사하여 몇가지 결과를 얻었기에 이를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

된장 시료 및 추출

된장 시료는 전북 순창에 소재한 농림부 지정 전통식품업체에서 제조한 것을 구입하여 -20°C에서 보관하

†To whom all correspondence should be addressed

면서 사용하였다. 시료의 추출은 시료를 물 또는 메탄올을 10배(v/w) 첨가하여 믹서기로 잘 마쇄하고 7시간씩 3번 추출하였다. 이 추출물을 회전식 진공농축기를 이용하여 농축한 후 다시 헥산, 클로로포름, 에틸아세테이트 및 부탄올로 순차분획하여 진공하에서 농축건조시킨 후 적당한 농도로 조정하여 실험에 사용하였다.

사용 암세포주 및 배양

시험에 사용한 암세포주는 사람의 위암세포주인 SNU-1, 간암세포 HepG2, 대장암세포 WiDr와 쥐의 암세포주인 P338D1과 L1210을 한국세포주은행으로부터 분양받아 실험에 사용하였다. 세포는 100 units/ml의 penicillin 및 streptomycin과 10%의 fetal bovine serum (FBS)가 함유된 RPMI 1640(GIBCO. Co)을 사용하여 37°C, CO_2 배양기(5% CO_2)에서 배양하였다. 배양세포는 2~3일에 한번씩 계대배양하였고, 부착형세포는 일주일에 2~3번 refeeding하고 7~8일만에 PBS(phosphate buffered saline)에 0.05% trypsin-0.02% EDTA를 녹인 용액으로 부착한 세포를 떼어내고 분할하여 계대배양하면서 실험에 사용하였다.

MTT assay를 이용한 암세포 성장 억제 효과 실험

MTT assay는 생존 암세포의 효소활성을 측정하는 것으로 각 세포들을 96 well plate에 1×10^4 cell/well이 되게 180μl씩 분주하고 시료를 일정 농도로 제조하여 20μl 첨가하여 37°C, CO_2 배양기(5% CO_2)에서 96시간 배양하였다. 여기에 인산생리식염수에 5mg/ml의 농도로 제조한 MTT[3-(4,5-dimethylthizol-2-yl) 2,5-diphenyl tetrazolium bromide] 용액 20μl를 첨가하고 동 배양조건에서 4시간 더 배양하였다. 이를 2,000rpm에서 10분간 원심분리하여 상징액을 제거하고, 각 well당 DMSO 150μl를 가하여 30분간 교반한 후 ELISA reader(Molecular Device Co.)로 550nm에서 흡광도를 측정하였다(20).

암세포 증식 억제효과 측정

부착형 암세포인 HepG2, WiDr을 24-well plate에 20,000cell/ml의 농도로 seeding하여 하룻밤 배양하였다. 세포가 plate에 잘 부착되었을 때 배양액을 버리고 10% FBS가 있는 배지에 10μl/ml의 시료를 첨가하여 2일마다 새로운 배지로 교체하고 배양 6일 후에 증식된 세포를 0.05% trypsin-0.02% EDTA 효소로 분리하여 각 세포수를 hemocytometer로 계수하였다(21).

High Performance Liquid Chromatography (HPLC) 분석

앞에서 추출한 에틸아세테이트 분획물을 HPLC를 이용하여 Table 1과 같은 조건으로 분석하였고, genistein, glycetein, daidzein 등 함량을 측정하였다. 함량 측정은 각각의 표준물질을 사용하여 HPLC분석을 실시하여 peak면적을 환산하여 함량을 계산하였다(22).

Gas Chromatography(GC)에 의한 지방산 함량 측정

된장에서 추출한 지방을 일정량을 취해서 0.5N NaOH/MeOH, BF_3 등을 차례로 가해 모래상자에서 반응시켰다. 여기에 hexane을 가하여 진탕, 방치한 후 hexane층을 취하여 무수 Na_2SO_4로 탈수처리하였다. 이렇게 준비된 시료를 사용하여 Table 2와 같은 조건으로 GC분석을 하였으며 분석된 결과는 면적 백분비법(area %)을 이용하여 그 함량을 계산하였다(23).

결과 및 고찰

된장 분획물의 암세포 성장 저해효과

순창 재래식 된장에서 암세포 성장 저해효과를 나타내는 활성성분이 어떤 물질인가를 연구하기 위하여 된장의 메탄올 추출물 및 헥산, 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올층으로 분획하여 암세포성장 억제효과를 실험하였다. Fig. 1에 나타나 있듯이 에틸아세테이트와 헥산 분획물 그리고 메탄올 추출물에서 HepG2, WiDr 두 암세포에 대한 저해효과가 높았다. 뿐만 아니라 L1210, P338D1, SNU-1의 암세포주를 이용한 MTT assay 결과(Table 3)도 위와 유사한 경향을 나타내었

Table 1. The operation condition of HPLC for the ethylacetate fraction

Instrument	: Pu-987 dual pump system
Column	: 3.9×300mm μBondapak C18 colmn
Detector	: UV-975 detector(254nm)
Mobile phase	: A[95 : 5(v/v) water : acetic acid] B[95 : 5(v/v) metanol : acetic acid]
Flow rate	: 1.0ml/min

Table 2. The operation condition of GC for the analysis of non-volatile fatty acids

Instrument	: Hewlett packard GC Model 5890
Column	: Supelcowax 10, 0.33mm×30m
Oven temp.	: 160°C(hold, 1mim), 3°C/min, 220°C(hold, 10min)
Carrier gas	: Helium, 12psi
Make-up gas	: N_2 gas
Detector	: Flame ionization detector
Injector temp.	: 230°C
Detector temp.	: 250°C

Table 3. Inhibitory effect of the solvent fraction samples(500μg/ml) from methanol extract of *doenjang* on the growth of L1210, P338D1, SNU-1 cells in MTT assay.

Sample	L1210		P338D1		SNU-1	
	OD_{550}	I.R(%)[1)]	OD_{550}	I.R(%)	OD_{550}	I.R(%)
Control	1.153±0.050		1.033±0.075		1.090±0.016	
Methanol extract	0.240±0.010	79	0.260±0.010	75	0.260±0.010	76
Hexane fraction	0.237±0.010	79	0.251±0.065	76	0.240±0.010	78
Chloroform fraction	0.608±0.004	47	0.657±0.009	40	0.587±0.007	46
Ethylacetate fraction	0.222±0.019	81	0.255±0.035	75	0.200±0.010	82
Buthanol fraction	0.709±0.019	39	0.729±0.019	29	0.670±0.030	39

[1)]Inhibition rate(%)

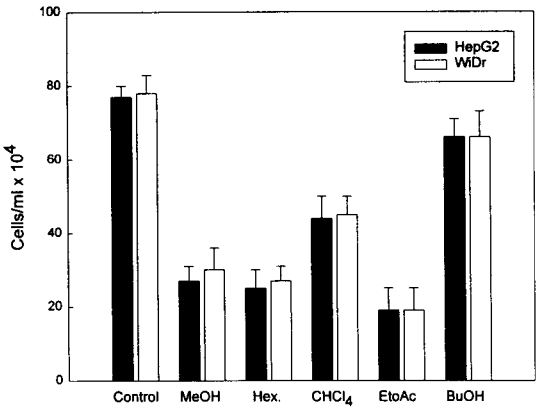

Fig. 1. Inhibitory effect of the solvent fraction from methanol extract of *doenjang* on the growth of HepG2, WiDr cells.

다. 에틸아세테이트, 헥산 분획물과 메탄올 추출물에서 대부분 75%이상의 암세포 억제효과를 나타내는 것으로 보아 순창 재래식 된장의 암세포 성장 저해 활성성분이 이들 분획물에 포함되어 있음을 짐작할 수 있다. 이미 콩 및 콩 관련 식품들의 항암성에 대해서는 여러 차례 보고되어 있어 콩을 많이 섭취하는 동양인들이 기름진 식사를 주로 하는 서양인들에 비해 유방암, 결장암, 전립선암 등이 훨씬 낮으며(24,25), 콩에서 유래된 trypsin inhibitor가 마우스, hamster 등의 실험동물에서 췌장암(26), 구강암(27), 대장암과 간암(28), 피부암, 유방암(29) 등에 대해서 항암효과를 가진다고 보고되고 있다. 또한 손(17)은 된장의 항암효과를 검토하기 위하여 마우스에 sarcoma-180을 32일간 접종한 결과 된장추출물 및 헥산 추출물로 처리한 마우스가 50%이상의 생명연장효과를 나타내었다고 보고하였다.

HPLC에 의한 성분분석

앞의 실험에서 암세포 성장 저해효과가 높았던 에틸아세테이트 분획물을 사용하여 HPLC 분석을 실시하였으며 결과는 Fig. 2와 같다. 7~8개의 작은 peak와

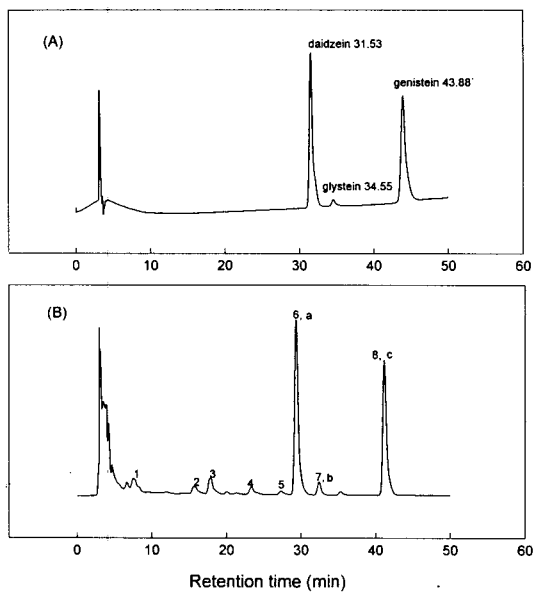

Fig. 2. HPLC analysis for daidzein, glycetein, genistein standards(A) and ethylacetate fraction from methanol extract of *doenjang*(B).

2개의 큰 peak가 나타났으며, 본래의 된장에서 여러번 분획이 된 후라 비교적 깨끗하게 분석되었다. 표준품을 사용하여 몇 개의 peak를 동정해본 결과 30분대에 높게 나타난 peak가 daidzein, 33분대의 peak는 glycetein, 42분대의 peak가 genistein임을 확인할 수 있었다. 이들의 함량을 측정하기 위하여 각 화합물의 양과 HPLC peak 면적과의 상관관계를 구하여 검량곡선을 작성하였다. 그 결과 된장 100g당 glycetein 0.002 mg, daidzein 0.075mg, genistein 0.060mg이 함유되어 있다.

HPLC분획물의 암세포 성장 저해효과

순창 재래식 된장의 에틸아세테이트 분획물을 HPLC 분석한 후 각 peak를 받아서 암세포 성장 억제효과와 MTT assay를 실시하였고 각각의 결과는 Fig. 3과

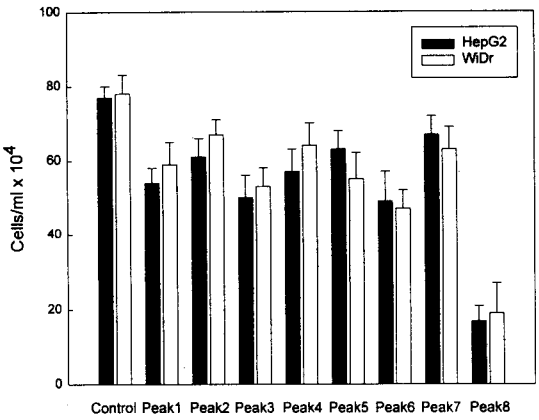

Fig. 3. Inhibitory effect of peaks abtained from HPLC of ethylacetate fraction on the growth of HepG2, WiDr cells.

Table 4와 같다. Genistein으로 확인된 peak 8에서 HepG2, WiDr 암세포에 대한 성장 저해효과가 가장 높았고, MTT assay 역시 L1210, P338D1, SNU-1 등의 암세포에 대해서 각각 81%, 77%, 79%의 높은 저해효과를 나타내었다. Genistein peak 외에 다른 peak들에서는 암세포 성장 저해효과를 관찰할 수 없었다. Genistein과 같은 isoflavones 계통인 daidzein에서도 유방암 세포의 성장을 억제하는 효과가 있다(30)는 발표도 있으나 이번 실험에서 daidzein의 암세포 성장 억제효과에 대해서는 확인할 수 없었다. 이 결과로써 순창 재래식 된장에서 항암효과를 나타내는 활성물질 중 하나가 genistein임을 알 수 있었다. 여러 연구들을 통해서 genistein이 암을 예방하는데 중요한 역할을 담당하고 있다는 것이 이미 밝혀져있다. 임(18)의 실험에 의하면 genistein을 농도별 암세포에 적용한 결과 100μl/ml 농도에서 사람의 위암세포, 간암세포, 결장암세포, 골육암세포에 대해 높은 암세포 저해효과가 있었다. Akiyama 등(31)은 genistein이 tyrosine-specific protein kinase를 선택적으로 저해한다고 발표하였으며, topisomerase II의 활성을 저해한다는 보고도 있다(32). 아직까지 genistein의 항암기작이 명확하게 밝혀지지는 않았지만 그 효과 및 발암을 저해시키는 과정에 대한 연구가 많이 진행되고 있다.

암세포 성장 저해효과 실험 및 MTT assay에 사용된 시료들에 대해 정상세포 효과에 대해서 실험한 결과 아무런 세포 독성들을 나타내지 않았으므로 이들 시료들이 암세포에 선택적으로 작용하는 것으로 생각된다.

지방산 함량분석

메탄올 추출물의 분획물 중 암세포 성장 저해효과가 있는 헥산 분획물의 함유성분을 동정하기 위해 Table 2의 조건으로 GC 분석을 실시한 결과는 Fig. 4와 같다. 순창 재래식 된장의 주된 지방산은 palmitic acid, stearic acid, oleic acid, linoleic acid, linolenic acid, arachidonic acid 등이다. 지방산의 표준물질 화합물을 분석, 면적 백분비법(area%)을 이용하여 시료에 포함된

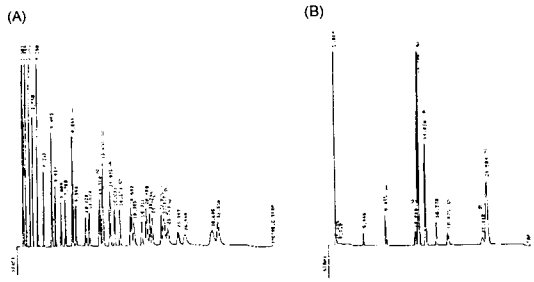

Fig. 4. GC analysis of the fatty acids standard mixture (A) and hexane fraction of methanol extract from *doenjang*(B).
1. palmitic acid, 2. stearic acid, 3. oleic acid, 4. linoleic acid, 5. linolenic acid, 6. arachidic acid, 7. erucic acid

Table 4. Inhibitory effect of the peaks according to HPLC of ethylacetate fraction from *doenjang* on the growth of L1210, P338D1, SNU-1 cells in MTT assay

Sample	L1210		P338D1		SNU-1	
	OD_{550}	I.R(%)[1)]	OD_{550}	I.R(%)	OD_{550}	I.R(%)
Control	1.153±0.050		1.033±0.075		1.025±0.075	
Peak 1	0.802±0.002	30	0.797±0.007	23	0.801±0.001	21
Peak 2	0.912±0.002	21	0.927±0.007	10	0.908±0.004	11
Peak 3	0.716±0.008	38	0.707±0.008	32	0.710±0.010	30
Peak 4	0.778±0.005	32	0.787±0.005	24	0.788±0.008	23
Peak 5	0.917±0.009	21	0.901±0.004	12	0.916±0.009	10
Peak 6	0.718±0.008	38	0.736±0.006	29	0.735±0.015	28
Peak 7	0.907±0.035	21	0.918±0.032	11	0.915±0.009	11
Peak 8	0.255±0.003	81	0.234±0.017	77	0.219±0.005	79

[1)]Inhibition rate(%)

지방산의 함량을 구하였다. Oleic acid의 함량이 된장 100g당 5.934g으로 가장 높았으며 linoleic acid의 함량은 0.189g이었다. Linoleic acid가 암세포 성장을 저해하는 효과가 있다는 사실은 이미 여러 실험들을 통해 밝혀져있다. 임(18)은 linoleic acid 역시 genistein과 마찬가지로 사람의 위암세포, 간암세포, 결장암세포, 골육암세포에 대해 높은 저해효과를 나타내었으며, 또한 안정한 상태로 존재할 때는 Ames test 및 SOS Chromotest 실험계에서도 강한 항돌연변이 효과가 있었다고 보고하였다. Linoleic acid는 ACR mice에 암세포를 이식시킨후 linoleic acid를 투여했을 때 항암효과가 있었다고 한다. Siegel 등(33)은 암을 가진 쥐에 linoleic acid와 linolenic acid 혼합액을 투여했을 때 생명연장 효과가 매우 높았으며, 뿐만 아니라 불포화 지방산이 포화 지방산들보다 암세포를 효과적으로 사멸시키며 그중 linoleic acid의 효과가 가장 높았다고 보고하였다. 이런 연구들을 바탕으로 할 때 순창 재래식 된장의 헥산 분획물에서 암세포의 성장을 억제하는 활성물질이 linoleic acid일 것으로 사료된다.

요 약

순창 재래식 된장의 암세포 성장 저해효과에 대하여 검토하였고, HPLC 및 GC 분석을 통하여 암세포 억제 활성물질을 동정하였다. 순창 재래식 된장의 에틸아세테이트 분획물과 헥산 분획물이 암세포 성장 저해효과 실험 및 MTT assay 결과, 사람의 HepG2 간암세포, WiDr 대장암 세포, SNU-1 위암세포 및 마우스의 L1210, P338D1 암세포에서 높은 성장 저해효과를 나타내었다. 효과가 높았던 에틸아세테이트 분획물을 HPLC로 분석하여 각각의 peak를 분취해 암세포 성장 저해효과 실험 및 MTT assay를 한 결과 genistein으로 확인된 peak에서의 효과가 가장 높았고, 그 함량은 된장 100g당 0.060mg이었다. 헥산 분획물을 GC 분석하여 표준물질의 GC 분석과 비교해 본 결과 oleic acid의 함량이 된장 100g 당 5.934g으로 가장 많았고 여러 연구를 통해 암세포 성장 억제효과가 있다고 밝혀진 바 있는 linoleic acid의 함량은 0.189g이었다.

감사의 글

본 연구는 농림부의 농림수산특정과제 연구비에 의하여 수행된 내용의 일부로 지원에 감사드린다.

문 헌

1. 권태완 : 콩과 현대인의 건강, 현대인의 건강을 위한 콩 단백질의 영양과 이용. 한국식품과학회 국제심포지움 초록, p.8(1993)
2. Kennedy, A. R. and Little, J. B. : Effects of protease inhibitors on radiation transformation *in vitro*. *Cancer Res.*, **41**, 2103-2108(1981)
3. Yavelow, J., Finlay, T. H., Kennedy, A. R. and Troll, W. : Bowman-Birk soybean protease inhibitor as an anticarcinogen. *Cancer Res.*, **43**, 2454s-2459s(1983)
4. St. Clair, W. H., Billings, P. C., Carew, J. A., McGandy, C. K., Newberne, P. and Kennedy, A. R. : Supression of dimethylhydrazine-induced carcinogenesis in mice by dietary addition of the Bowman-Birk protease inhibitor. *Cancer Res.*, **50**, 580-586(1990)
5. Shamsuddin, A. M., Ullah, A. and Chakravarthy, A. K. : Inositol and inositol hexaphosphate supress cell proliferation and tumor formation in CD-1 mice. *Carcinogenesis*, **10**, 1461-1463(1989)
6. Shamsuddin, A. M., Elsayed, A. M. and Ullah, A. : Supression of large intestinal cancer in F344 rats by inositol hexaphosphate. *Carcinogenesis*, **9**, 577-580(1988)
7. Coward, L., Barnes, N. C., Stechell, K. D. R. and Barnes, S. : Genistein, daidzein, and their β-glycoside conjugates: antitumor isoflavones in soybean foods from American and Asian diets. *J. Agric. Food Chem.*, **41**, 1961-1967(1993)
8. Peterson, G. and Barnes, S. : Genistein inhibition of the human breast cancer cells: Independence from estrogen receptors and the multi-drug registance gene. *Biochim. Biophys. Res. Commun.*, **179**, 661-667(1991)
9. Benjamin, H., Storkson, J., Tallas, P. G. and Pariza, M. W. : Reduction of benzo(a)pyren-induced mouse forestomach neoplasms in mice given nitrite and dietary soy sauce. *Food Chem. Toxic.*, **26**, 671-678(1988)
10. Benjamin, H., Storkson, J., Nagahara, A. and Pariza, M. W. : Inhibition of benzo(a)pyren-induced mouse forestomach neoplasia by dietary soy sauce. *Cancer Res.*, **51**, 2940-2942(1991)
11. Nagahara, A., Benjamin, H., Storkson, J., Krewson, J., Sheng, K., Liu, W. and Pariza, M. W. : Inhibition of benzo(a)pyren-induced mouse forestomach neoplasia by a principal flavor component of japanese-style fermented soy sauce. *Cancer Res.*, **52**, 1754-1756(1992)
12. Asahara, N., Zhang, X. B. and Ohta, Y. : Antimutagenicity and mutagen-binding activation of mutagenic pyrolyzates by microorganisms isolated from Japanese miso. *J. Sci. Food Agric.*, **58**, 395-401(1992)
13. Cheigh, H. S. and Lee, C. Y. : Antioxidative and antimutagenic characteristics of melanoidin related products. *J. Kor. Soc. Food Nutr.*, **22**, 246-252(1993)
14. Cheigh, H. S., Lee, J. S., Moon, G. S. and Park, K. Y. : Antioxidative activity of browning products fractionated from fermented soybean sauce. *J. Kor. Soc. Food Nutr.*, **22**, 565-569(1993)
15. Cheigh, H. S., Lee, J. S. and Lee, C. Y. : Antioxidative characteristics of melanoidin related products fractionated from fermented soybean sauce. *J. Kor. Soc. Food Nutr.*, **22**, 570-575(1993)
16. Park, K. Y., Moon, S. H., Baik, H. S. and Cheigh, H. S. : Antimutagenic effect of *doenjang*(Korean fer-

mented soy paste) toward aflatoxin. *J. Kor. Soc. Food Nutr.*, **19**, 156-162(1993)
17. 손미현 : 마우스에서 된장 추출물의 항암 효과 및 기작 연구. 부산대학교 대학원 석사학위논문(1995)
18. 임선영 : 된장의 항돌연변이 및 항암효과. 부산대학교 대학원 박사학위논문(1997)
19. Chung, K. S., Yoon, K. D., Kwon, D. J., Hong, S. S. and Choi, S. Y. : Cytotoxicity testing of fermented soybean products with various tumor cells using MTT assay. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **25**, 477-482(1997)
20. Alley, M. C., Scudiero, D. A., Monks, A., Hursey, M. L., Czerwinski, M. J., Fine, D. L., Abbott, B. J., Mayo, J. G., Shoemaker, R. H. and Boyd, M. R. : Feasibility of drug screening with panels of human tumor cell lines using a microculture tetrazelium assay. *Cancer Res.*, **48**, 589-601(1988)
21. Son, H. S. and Hwang, W. I. : A study on the cytotoxic activity of garlic(*Allium sativum*) extract against cancer cells. *Kor. J. Nutr.*, **23**, 135-147(1990)
22. Naim, M., Gestetner, B., Kirson, I., Brik, Y. and Bondi, A. : A new isoflavone from soya beans. *Phytochemistry*, **12**, 169-170(1973)
23. Ha, J. H., Hawer, W. D., Park, Y. K. and Nam, Y. J. : Analysis of non-volatile organic acids with capillary gas chromatography. *Analytical Sci.*, **2**, 131-135(1988)
24. Correa, P. : Epidemiologic correlation between diet and cancer frequency. *Cancer Res.*, **41**, 3685-3690(1981)
25. Phillips, R. L. : Role of life-style and dietary habits in risk of cancer among Seventh Day Adventists. *Cancer Res.*, **35**, 3515-3522(1975)
26. Takahashi, M., Imaida, K., Furukawa, F. and Hayashi, Y. : Inhibitory effects of soybean trypsin inhibitor during initiation and promotion phases of N-nitirosobis (2-oxopropyl) amine-induced hamster pancreatic carcinogenesis. In "*Chemically induced cell proliferation : Implications for risk assesment*" Wiley-Less. Inc., p.145(1991)
27. Messadi, D. V., Billings, P. C., Shaklar, G. and Kennedy, A. R. : Inhibitions of oral carcinogenesis by a protease inhibitor. *J. Natl. Cancer Inst.*, **76**, 447-452(1986)
28. Billings, P. C., Newberne, P. M. and Kennedy, A. R. : Protease inhibitor suppression of colon and gland cacinogenesis induced by dimethyldrazine. *Carcinogenesis*, **11**, 1083-1086(1990)
29. Becker, F. F. : Inhibition of spontaneous hepatocarcinogenesis in C3H/10T1/2 mice by Edi Pro A, an isolated soy protein. *Carcinogenesis*, **12**, 1213-1214(1981)
30. Barnes, S., Peterson, G., Grubbs, C. and Setchell, K. D. R. : Potetial role of dietary isoflavones in the prevention of cancer. In "*diet and cancer : Markers, prevention and treatment*" Jacobs, M. M.(ed.), Plenum, New York, p.135(1994)
31. Akiyama, T., Ishida, J., Nakagawa, S., Ogawa, H., Watanabe, S., Ito, N., Shibuya, M. and Fukami, Y. : Genistein, specific inhibitor of tyrosine specific protein kinase. *J. Biol. Chem.*, **262**, 5592-5595(1987)
32. Zwiller. J., Sassone-Crosi, P., Kakazu, K. and Boynton, A. L. : Inhibition of PDGF-induced *c-jun* and *c-fos* expression by a tyrosine protein kinase inhibitor. *Oncogene*, **6**, 219-221(1991)
33. Siegel, I., Liu, T. L., Yaghoubzadeh, E., Keskey, T. S. and Gleicher, N. : Cytotoxic effects of free fatty acids on ascites tumor cells. *J. Natl. Cancer Inst.*, **78**, 271-277(1987)

(1998년 12월 3일 접수)