

## 환경성 변이원에 대한 Genistein의 항돌연변이성

윤 희 선 · 유 미 애<sup>\*</sup> · 박 건 영<sup>\*\*</sup> · 이 원 호<sup>\*\*\*</sup>  
부산대학교 생물학과 · 분자생물학과<sup>\*</sup> · 식품영양학과<sup>\*\*</sup>  
(1999년 5월 21일 접수)

## Antimutagenic Effect of Genistein toward Environmental Mutagen

Hee-Sun Yun, Mi-Ae Yoo<sup>\*</sup>, Kun-Young Park<sup>\*\*</sup>, and Won-Ho Lee<sup>\*\*\*</sup>

Dept. of Biology, <sup>\*</sup>Molecular Biology and <sup>\*\*</sup>Food Science & Nutrition, Pusan National University, Pusan, Korea  
(Manuscript received 21 May, 1999)

This study was carried out to determine the antimutagenic effects of genistein on the somatic mutagenicity induced by aflatoxin B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>), using *Drosophila* wing spot test system. Mutagen alone or mutagen with genistein were administered to the heterozygous(*mwh*+) third instar larvae by feeding, and somatic cell mutations were detected in adult fly wing hairs.

Genistein did not show any mutagenicity with the feeding concentrations of 5~15% in the test system. As the feeding concentrations of genistein increased, genistein inhibited the mutagenicity induced by AFB<sub>1</sub> (14.6%~62.2% inhibition rate), while as the concentrations of AFB<sub>1</sub> increased, small *mwh* spots that arise mostly from chromosome deletion and nondisjunction were more strongly suppressed by genistein than the large *mwh* spots from chromosomal recombination. In each group of different AFB<sub>1</sub> concentrations, the rate of inhibition for total *mwh* spots was dependent on the dose of genistein.

These results indicate that genistein have inhibitory effect on the mutagenicity induced by a mutagen, AFB<sub>1</sub>. It seems to suggest that genistein may exert inhibitory effects to mutagenic and/or carcinogenic properties of DNA damaging agents.

Key words : genistein, AFB<sub>1</sub>, *Drosophila* wing spot test system

### 1. 서 론

여러 생물들을 대상으로 한 각종 물질들의 돌연변이 원성 및 발암성 검색을 위한 분석법들이 다양하게 개발, 이용되고 있는데 인간에 있어서의 발암성 검색은 실험동물에 의한 평가와 단기검색법 및 역학적 조사 등으로 판정되며 실험동물에 의한 발암성 시험평가는 국제적으로 확립된 장기 발암시험법의 지침에 의한 판정기준에 따라 특정물질들의 변이 유발검정을 위한 여러 검출계들이 고안, 사용되어지고 있다. 이러한 실험동물들을 이용한 장기간의 검색법을 대체하기 위한 단기간 검색법도 다양하게 개발, 사용되고 있는데 이 검색법의 기본은 DNA상해, 염색체이상 등의 돌연변이에 의하여 이 방법에 의한 발암성의 존재가 확인되어졌다.<sup>1)</sup>

또한 원핵생물과 포유류를 연결하기 위한 중간생물로서 오래전부터 유전학적으로 많은 정보가 축적되어 있고 포유류 대사 효소계의 대부분을 가지고 있는 submammalian 진핵생물에 해당하는 *Drosophila*를 이용한 검출법들이 다각도로 고안되어져 왔다.<sup>2)</sup>

*Drosophila*를 이용한 체세포 염색체 돌연변이 검출에

는 wing hair spot 검출계인 *mwh* / *flr* system과 *mwh* / + system 등이 있으며 이는 체세포 염색체 중 제 3염색체에 존재하는 표지유전자를 이용하여, 유충에 있어서 특정발생 단계에 검출대상물질을 처리하여 성체로 분화한 후 날개에 나타난 강모에 대한 mutant clone종류와 크기 등에 의해 제 3염색체에 유발된 다양한 체세포 돌연변이를 분석하는 검출계이다.<sup>3-5)</sup>

이러한 *Drosophila*를 재료로한 체세포 염색체 돌연변이 검출계를 이용하면 각종 화학물질들의 돌연변이 유발 정도를 단시간에 조사할 수 있고 기 조사된 항돌연변이 물질들과의 혼합처리에 의한 항돌연변이 및 항발암원의 효과정도를 검증하는 접근이 가능하게 될 것이다.

한편, 많은 돌연변이원과 발암원의 노출로부터의, 유해한 영향을 감소 또는 방지하는 효과적인 전략으로써 일상생활에서 항돌연변이원과 항발암원을 섭취하는 것이 제안되었다.<sup>6)</sup> 즉, 자연 또는 합성물질로부터 보호 성분을 추출하여 암형성 발생초기부터 막아보려는 화학적 예방법의 접근이다. 이상적인 화학적 예방제는 부작용이 거의 없거나 적고 유전적 독성을 효과적으로 억제하며

적은 비용 및 구강섭취가 가능한 물질 그리고 활성기작이 알려진 것이라고 제안하였다.<sup>6)</sup>

화학적 예방제들은 과일, 야채, 향료, 각종 차 종류 등에 자연적으로 함유되어 있다고 알려져 있다. 야채나 과일에서 추출된 화학적 예방물질을 phytochemicals라고 부르며 vitamins A·C·E, indoles, isothiocyanates, dithiolthiones, organosulfur 물질, vanillin, chlorophyllin, dietary fibres, carotenoids 및 retinoids 등이 알려져 있다.<sup>7)</sup>

이러한 식품 가운데 콩의 효능에 대한 연구는 나라마다 암 발생비 차이에 대한 역학적 조사에서 시작되었다. 이런 콩음식 섭취가 혈액과 urine에 isoflavones(genistein, daidzein) 성분이 아주 높은 농도로 나타났다는 보고들과 콩의 항암 성질은 methionine, saponins 그리고 isoflavones 등의 다양한 성분들과 관련있다는 여러 연구 보고들이 있어 왔다.<sup>8-10)</sup>

콩에 있어서 isoflavone에 속하는 genistein은 주로  $\beta$ -glucosides, 즉 당과 결합한 genistin 형태로 콩 속에 들어 있으나 된장과 같은 콩 발효식품에는 genistein 함량이 상대적으로 높게 함유되어 있다.<sup>11,12)</sup> 또한 genistein은 자성호르몬인 estradiol과 구조적으로 매우 유사하고 에스트로젠 수용체에 약하게 결합하며, free radical 형성, DNA 상해 그리고 궁극적으로 암 형성을 막는 강력한 항산화성질과 항암성질을 가지기 때문에 최근 연구에 많은 주목을 받고 있다.<sup>13)</sup> *In vitro*에서, 여러 암세포의 성장을 억제하며 protein tyrosine kinase(PTK), topoisomerase II를 억제한다는 연구가 보고되고 있으며, 최근에는 증식중인 인체 암세포의 G2/M기에서 특징적 분열정지와 apoptosis를 유발시킨다는 결과가 발표되었다.<sup>14,15)</sup>

본 실험에서는 *Drosophila*의 체세포 염색체 돌연변이 검출계 중에서  $w ; mwh$  system을 이용하여 여러 생물들에서 강력한 돌연변이원으로 알려진 화학적 돌연변이원을 처리하여 돌연변이의 유발정도를 조사하고, 여러 실험들에서 돌연변이 억제 효과기능이 있는 것으로 보고되어지고 있는 genistein을 혼합 처리하여, 이 검출계를 이용한 본 생물에 대한 영향정도를 조사하고자 한 것이다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1. 재료

Genistein(5,7,4'-trihydroxyisoflavone, Sigma)은 처리 직전에 용해시킨 후, 증류수로 희석하여 사용하였다. 체세포 돌연변이 유발을 위하여 사용된 돌연변이원 aflatoxin B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>)도 처리 직전에 희석하여 사용하였다. 체세포 염색체 돌연변이 검출계로서 사용한 초파리는  $w$ 와 표지 유전자로서  $mwh$ (1세포당 3이상의 강모를 나타내는 multiple wing hairs; 3-0.0)를 호모로 가지는  $w ; mwh$ 이다.  $w$ 계통에서는 미교배의 암컷( $w/w ; +/+$ )을,  $w ; mwh$ 계통에서는 수컷( $w/Y ; mwh/mwh$ )을 취하여 교배에 사용하였다(Fig. 1).

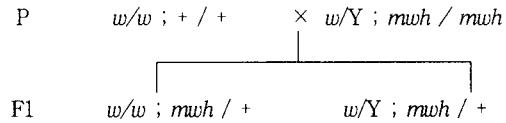


Fig. 1. Mating scheme for obtaining the heterozygous ( $mwh/+$ ) larvae.

### 2.2. 방법

#### 2.2.1. Genistein의 독성실험과 체세포 돌연변이원성 조사

Genistein의 적절한 처리 농도를 알기위해 농도별(5, 10, 12, 15, 20%)로 이형접합체 3령기 유충( $mwh/+$ ) 50마리가 들어 있는 배지 표면상에 genistein 250  $\mu$ l씩을 떨어뜨려 우화될 때까지 genistein에 노출되도록 하였다. 처리된 vial에서 생존하는 성체수를 계수, probit analysis로 LD<sub>50</sub> 값을 정하였다.

Genistein의 체세포 돌연변이 유발 정도를 알기 위해, 농도별(5, 10, 12, 15%)로, 이형접합체 3령기 유충( $mwh/+$ )에 genistein 250  $\mu$ l씩을 처리하였다. 처리 후 우화한 성체 날개의 표면에 나타난 mutant hair를 검경하였고, 염색체 돌연변이 빈도는  $\frac{\text{돌연변이 clone의 수}}{\text{측정한 날개의 수}}$ 로 나타내었다.

#### 2.2.2. Mutagens 처리와 genistein의 항돌연변이원성 실험

Fig. 1의 교배도에 준하여  $w ; +$ 계통에서는 미교배의 암컷을,  $w ; mwh$ 계통에서는 수컷을 취하여 3~4일간 양호한 조건하에서 사육하였다. 준비된 두 계통의 암수를 10 ml의 corn-meal agar 배지가 들어있는 사육병당 20쌍 정도로 교배시켜 형광등 아래에서 overnight 한 후, 새로운 배지가 든 사육병으로 transfer하여 8시간 동안 알을 수집하였다.

산란 72시간 경과 후의 heterozygous 3령기 유충(72  $\pm$  4 hr)시기에 유충들이 있는 배지 표면상에 처리물질을 떨어뜨려 용화될 때까지 처리물질에 노출되도록 하였다.<sup>5)</sup> Control(DMSO 2%), genistein, 돌연변이원 단독처리 그리고 돌연변이원과 genistein의 혼합물질의 처리량은 각각 250  $\mu$ l이었다. 모든 실험은 온도 25°C, 습도 70%, 압조건하에서 이루어졌다.

처리 후 우화되어 나온 성체( $mwh/+$ )를 70% ethanol에 고정시켜두었다가 개체 당 날개 한 장씩을 표본 제작에 사용하였고, 날개 표면에 mutant hair를 가진 세포수의 clone을 검경하였다.

Wing spot data는 Graf<sup>16)</sup>에 의한 방법으로, 유충 시기의 날개 원기 세포에서 염색체상  $mwh$  좌위와 + 좌위 사이의 결실이나 불분리에 의한 1-2개의 영향을 받은 세포를 가진 clone을 small  $mwh$  spots으로, 그리고 체세포 염색체 재조합에 의한 3개 이상의 영향을 받은 세포를 가진 clone을 large  $mwh$  spots으로 구분, 평가하였다. 보다 상세한 통계분석과정은 Frei와 Würgler<sup>17)</sup>에 준하였

으며 clone 형성의 control 보정빈도 / 24,400 cells(각 wing에서 측정되는 cell 수)에 기초를 두고, genistein에 의한 억제율은 [(genotoxin alone - genotoxin plus genistein) / genotoxin alone] × 100으로 계산하였다.

돌연변이원에 대한 genistein 농도별 억제효과는 ANOVA test(one-side)로서 분석하였으며  $H_0 : \mu_1 = \mu_2 = \mu_3$ ,  $\alpha = 0.05$ 에서 검증하였다.<sup>18)</sup>

### 3. 결과 및 고찰

#### 3.1. Genistein에 대한 lethal test 와 돌연변이 유발빈도 조사

*Drosophila melanogaster*의 wing hair spot 검출계로 변이원, AFB<sub>1</sub>에 의한 체세포 염색체 돌연변이 유발에 미치는 genistein의 영향을 조사하기 위해, 먼저 genistein을 단독처리하여 독성 효과가 나타나지 않는 농도의 범위를 알아보고 그 농도범위내에서 체세포 염색체 돌연변이 유발 정도를 조사하였다.

예비실험에 있어서 이형접합체 3령기 유충(*mwh*+)이 50마리씩 들어있는 vial에 5, 10, 12, 15, 20%로 genistein을 처리한 후 생존하는 개체의 수는 genistein의 농도가 증가함에 따라서 감소하는 경향성을 보였다. 그리고, probit analysis로 계산된 반치사량에 해당하는 LD<sub>50</sub>값은 10.7±0.7%였다.

Genistein의 체세포 염색체 돌연변이원성을 조사한 결과는 Table 1 및 Fig. 2와 같다. 본 실험에서의 대조구(DMSO 2%)의 돌연변이 유발 정도는 Graf *et al.*<sup>5)</sup>의 조사에서 염색체상 결실이나 불분리 등에 의한 small spot 유발 빈도 0.200~0.333 과 염색체 사이의 재조합에 의한 large spot 유발빈도가 0.017~0.062 였다는 실험결과와 유사하였다. Genistein(5%~15%)에 노출된 배지에서 자라 우화한 성체의 날개에 나타난 small spots, large spots 그리고 전체 spot 유발 빈도는 Frei와 Würigler<sup>17)</sup>의 통계방법으로 분석하여 볼 때, 대조구(DMSO 2%)와 전혀 차이를 보이지 않았다.

Table 1. Somatic mutation and recombination detected as mutant spots in the *Drosophila* wing spot system (*mwh*+) after genistein treatment

Dose(%)	No. of wings	Spots/wing* Statistical diagnosis†		
		Small <i>mwh</i> spots (1-2 cells)	Large <i>mwh</i> spots (>2 cells)	Total <i>mwh</i> spots
Genistein				
0	300	0.173(52)	0.027( 8)	0.200(60)
5	180	0.183(33)-	0.028( 5)-	0.211(38)-
10	240	0.188(45)-	0.025( 6)-	0.213(51)-
12	158	0.190(30)-	0.013( 2)-	0.203(32)-
15	120	0.192(23)-	0.000( 0)-	0.192(52)-

\* No. of spots in parenthesis.

† Statistical diagnosis according to Frei and Würigler(1988)  
: +, positive; -, negative; i, inconclusive; m, multiplication factor.

이러한 결과들은 본 실험조건하에서는 genistein이 염색체상의 불분리, 결실 또는 재조합 등을 포함하는 돌연변이를 유발하지 않았다는 것을 의미한다. 따라서, 돌연변이원과 genistein 혼합실험에 있어서는 genistein 10%를 중간 농도로 두고 5, 10 및 15%의 농도를 사용하였다.

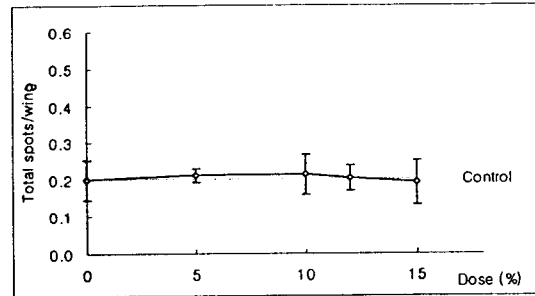


Fig. 2. Dose-response relations of total spots induced in the *mwh*+/+ flies after larval treatment with genistein.

#### 3.2. AFB<sub>1</sub> 처리에 대한 genistein의 돌연변이 유발억제 효과

Wing hair spot 검출계로서 체세포 염색체 돌연변이 유발에 미치는 genistein의 영향을 조사하기 위해 사용된 돌연변이원 AFB<sub>1</sub>은 *Aspergillus flavus*와 *Aspergillus parasiticus*가 식품이나 사료에 오염되어 생성하는 제2차 대사물로, 자연에서 발견되는 화합물들 중 발암성과 독성이 가장 강하며 *in vitro* 돌연변이 실험에서 뿐만 아니라 사람을 포함한 여러 동물에서 각종 암 발생의 원인이 되는 강력한 발암원으로 알려져 있다.<sup>19)</sup> AFB<sub>1</sub>은 포유류 간의 microsome 활성화에 의해 AFB<sub>1</sub>-2,3-oxide 즉 매우 electrophile한 화합물이 되어 DNA 또는 RNA염기의 nucleophilic한 부위와 반응하여 adduct를 형성하는 일종의 간접돌연변이원이다.<sup>20)</sup>

Fig. 3은 AFB<sub>1</sub> 0.025% 단독처리와 각 농도의 genistein 혼합처리에 의한 결과로서 AFB<sub>1</sub> 0.025% 단독처리구에서의 전체 *mwh* spots의 빈도는 1.125±0.035로서 대조구의 자연 돌연변이 빈도 0.200±0.055에 비하여 유의적 차이를 나타내었다. AFB<sub>1</sub> 0.025% 처리구에 있어서 염색체상 결실이나 불분리 등에 의한 small spot 유발에서 genistein 농도별 억제율은 2.4%~54.5%의 범위였다. 그리고 염색체 재조합에 의한 large spot 유발 억제율은 46.5%~78.5%의 범위로서 small spot 보다 돌연변이 유발억제 효과가 다소 높게 나타났다(Fig. 3A). Small spot 와 large spot를 종합한 본 농도 하에서의 돌연변이 유발 억제율은 genistein 5% 혼합처리의 결과에서는 약 29.7%, 10%에서는 약 55.9% 그리고 15% 처리에서의 경우에서 약 62.2%의 억제율을 보여 어느 정도까지의 농도 증가 범위에서는 돌연변이 억제율이 일정하게 증가하는 경향을 보였다(Fig. 3B).

Fig. 4는 AFB<sub>1</sub> 0.05%에 대한 genistein 농도별 혼합처리 결과이다. AFB<sub>1</sub> 0.05% 단독처리구의 전체 *mwh*

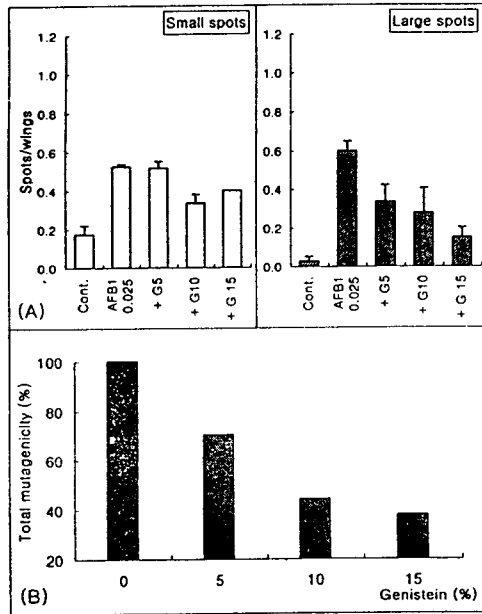


Fig. 3. Effect of genistein on the mutagenicity induced by AFB<sub>1</sub> 0.025% in the *Drosophila* wing spot system(*mwh*/+). The frequencies of small, large spot(A) and total mutagenicity(B).

spots 유발빈도는  $1.371 \pm 0.41$  로서 AFB<sub>1</sub> 0.025% 단독처리보다 높은 돌연변이 유발을 보였다. 염색체상의 결실이나 불분리 등에 의한 small spot 유발 억제율은 genistein의 3종류 혼합처리구에서 3.9%~76.9% 정도였다. 그리고 염색체 재조환에 의한 large spot 유발에서는 36%~53.4%의 돌연변이 유발억제 효과를 보였다(Fig. 4A). 본 농도의 전체 *mwh* spots 유발에 대해 genistein의 5, 10 및 15% 혼합처리농도에 따라 각각 30.3%, 33.1%, 61.6%로 억제율이 일정하게 증가하였고(Fig. 4B) AFB<sub>1</sub> 0.025%의 경우와 비교하여 볼 때 돌연변이의 억제 정도는 다소 낮게 나타났다.

Table 2는 AFB<sub>1</sub> 0.1%에 대한 genistein 농도별 혼합처리 결과이다. AFB<sub>1</sub> 0.1% 단독처리에 의한 전체 *mwh* spot 유발빈도가  $1.508 \pm 0.041$  로서 AFB<sub>1</sub> 0.05% 단독처리보다 높은 돌연변이 유발을 보였다. 염색체상의 결실이나 불분리 등에 의한 small spot 유발 억제율은 31.1%~61.3%였으나, 염색체 재조환에 의한 large spot의 경우에 있어서 genistein 5와 10% 혼합처리구에서는 억제 효과가 없었고 15% 처리구에서만 약 17.3% 정도의 억제 효과를 보여 이 경우에 있어서는 대부분의 억제 효과가 small spot 쪽이었음을 알 수 있었다. 전체 *mwh* spot 유발에서는 14.6%~41.4%의 억제율을 보여 AFB<sub>1</sub> 0.05%의 경우와 비교하여 돌연변이 억제 정도는 다소 낮게 나타났다.

본 실험에서 AFB<sub>1</sub> 단독처리에서는 농도증가에 따라 *mwh* spot 돌연변이 빈도가 농도 의존적으로 높게 유발되었다. 이러한 돌연변이 유발하에서 genistein은 AFB<sub>1</sub>

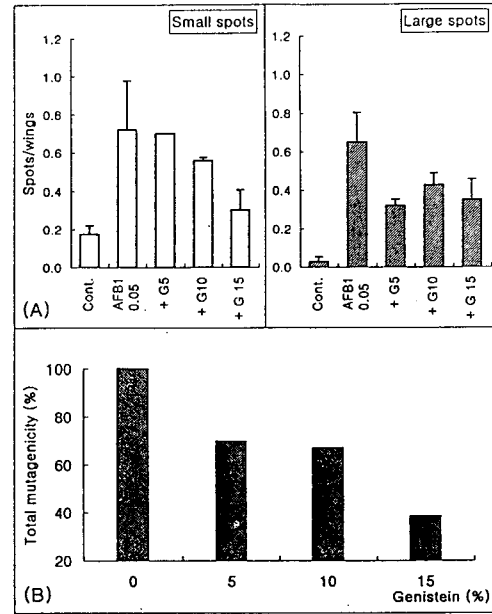


Fig. 4. Effect of genistein on the mutagenicity induced by AFB<sub>1</sub> 0.05% in the *Drosophila* wing spot system(*mwh*/+). The frequencies of small, large spot(A) and total mutagenicity(B).

Table 2. Frequencies of mutation and antimutagenic effect detected in the *Drosophila* wing spot test after treatments combined with AFB<sub>1</sub> 0.1% and genistein

Exposure Dose(%)	Genistein	No. of wings	Spots/wing* Statistical diagnosis†		
			Small <i>mwh</i> spots (1-2 cells)	Large <i>mwh</i> spots (>2 cells)	Total <i>mwh</i> spots
0	0	300	0.173(52)	0.027( 8)	0.200(60)
0.1	0	63	0.889(56)+	0.619(39)+	1.508(95)+
0.1	5	60	0.667(40)+ [31.1]‡	0.650(39)+ [-5.2]	1.317(79)+ [14.6]
0.1	10	91	0.484(44)+ [56.7]	0.626(57)+ [-1.2]	1.110(101)+ [30.4]
0.1	15	60	0.450(27)+ [61.3]	0.517(31)+ [17.3]	0.967(58)+ [41.4]

\* No. of spots in parenthesis.

† Statistical diagnosis according to Frei and Würzler(1988)

: +, positive; -, negative; i, inconclusive; m, multiplication factor.

Kastenbaum-Bowman tests, one sided; probability levels:  $\alpha = \beta = 0.05$ .

‡ Inhibition by Genistein (%) : Based on the control-corrected frequencies of clone formation per 24,400 cells, approximate number of cells examined per wing, (Clone/wings/24,400), the percentages of inhibition by genistein were calculated as follows : [( AFB<sub>1</sub> alone - AFB<sub>1</sub> plus Genistein ) / AFB<sub>1</sub> alone] × 100.

농도가 증가할수록 염색체 재조환에 의한 large spot 유

발 억제보다 염색체 결실 및 불분리에 의한 small spot 유발을 더 억제하는 경향을 보였고, 전체 돌연변이유발에서 불 때 genistein의 AFB<sub>1</sub>에 대한 영향은 첨가한 genistein의 농도 증가에 따라 돌연변이 유발 억제 효과도 크게 나타났다.

이상의 결과는 된장의 AFB<sub>1</sub>에 대한 항돌연변이 효과와 된장찌개 및 된장국의 메탄올 추출물이 AFB<sub>1</sub>에 대한 돌연변이 유발을 크게 억제하였다는 연구결과와 유사한 경향이었고, 된장 발효 동안 생성되는 NH<sub>3</sub>, 갈색물질 또는 숙성과정 중 물에 띄우는 숯등이 AFB<sub>1</sub>를 파괴했을 뿐만이 아니라 된장 발효 중에 genistein 성분함량증가도 AFB<sub>1</sub>의 돌연변이 억제를 도왔을 것이라는 것을 시사하고 있다.<sup>12,21)</sup>

지금까지 genistein에 대한 여러 연구들을 볼 수 있는데, *in vitro*에서 DNA 골격에 일시적인 분열을 야기시켜 복제 전사, 재조합, 전좌 같은 유전적 과정을 유도하는 topoisomerase II 활성을 저해하며 cell growth에 중요한 역할을 하는 protein tyrosine kinase를 억제하였다고 발표하였다.<sup>14)</sup> Zwiller *et al.*<sup>22)</sup>은 proto-oncogene인 *c-jun*와 *c-fos* 발현을 억제한다고 보고하였으며, 암세포 증식과 신혈관 생성을 저해한다는 결과를 Fotsis *et al.*<sup>23)</sup>이 보고하였다. 그리고 estrogen 수용체에 경쟁적으로 결합함으로써 항에스트로겐 활성을 나타내어 유방암 세포의 성장을 억제하고 유방암과 같은 호르몬 의존성인 전립선암 세포 성장을 억제한다고 보고한 바도 있다.<sup>24,25)</sup> 그외에도 Yanagihara *et al.*<sup>26)</sup>은 호르몬 비의존적인 위암 세포증식도 억제한다고 하였고 genistein이 세포 주기중의 G<sub>2</sub>-M기에서 세포 증식을 저지하는 기작에 관한 연구가 Matsukawa *et al.*<sup>27)</sup>과 Choi *et al.*<sup>15)</sup>에 의해 보고되었다. 또한 *in vivo*에서 genistein은 유방암을 유발시킨 SD rat 암컷 실험에서 화학적 예방 활성을 발휘하였고, neonatal genistein 또한 유방암을 억제하였다는 발표가 있기도 하였다.<sup>28,29)</sup>

여러 실험들에서 genistein이 돌연변이 억제 및 여러 종류의 항암 효과를 가지고 있음을 알 수 있는데,<sup>30)</sup> genistein은 콩에 풍부하게 존재하므로 부작용이 없고 유전적 독성을 억제하며 적은 비용 및 구강섭취가 가능하고 활동기작이 알려진 화학적 예방제로서 콩음식을 통한 genistein 섭취는 돌연변이 유발을 억제하고 발암성을 예방하는 방안이 될 것으로 사료된다. 또한 *Drosophila*를 이용한 wing spot 검출계는 순수 화학물질이나 복합물의 유전적 독성에 대한 정보 뿐만 아니라 화학적 예방제에 의한 유전적 독성변화 연구에 유용함을 알 수 있었고, 이 검출계를 이용한 본 실험에서 genistein은 돌연변이원에 의해 유도된 체세포 염색체상의 변이에 대하여 유의적인 항돌연변이 효과가 있는 것으로 확인되었다.

#### 4. 결 론

본 연구는 aflatoxin B<sub>1</sub>(AFB<sub>1</sub>)에 의하여 유발되는 체세포 돌연변이에 대한 genistein의 돌연변이 유발억제 효과를 조사하기 위하여, *in vivo* 돌연변이 검출계인 *Drosophila* wing spot test 계를 사용하여 수행하였다. 이런 목적으

로, 이형접합체(*mwh*+) 3령기 유충에 돌연변이원 단독처리 또는 돌연변이원과 genistein의 혼합처리를 실시하여 성체로 분화한 후 날개에 나타난 강모에 대한 mutant clone 종류와 빈도로 체세포 돌연변이를 분석하였다. Genistein자체(5~15%)는 돌연변이원성을 나타내지 않았으며, genistein의 농도에 따라 AFB<sub>1</sub>에 의해 유도된 돌연변이원성에 대하여 약 15%~62%의 억제효과를 나타내었고 AFB<sub>1</sub> 농도가 증가할수록 염색체 재조합에 의한 large spot 유발 억제보다 염색체 결실 및 불분리에 의한 small spot 유발을 더 억제하는 경향을 보였고, 전체 돌연변이유발에서 불 때 genistein의 AFB<sub>1</sub>에 대한 영향은 첨가한 genistein의 농도 증가에 따라 돌연변이 유발 억제 효과도 높게 나타났다.

본 실험의 결과에서 genistein이 각종 돌연변이원에 의해 유도된 체세포 염색체상의 변이에 대하여 유의적인 항돌연변이 효과를 나타내었고, 이는 DNA상해 요인에 의한 돌연변이 및 암 유발과정에 저해 효과를 나타낼 수 있음을 간접적으로 시사하는 것으로 사료된다.

#### 참 고 문 헌

- 1) Oliff, A., J. B. Gibbs, and F. McCormick, 1996, New molecular targets for cancer therapy, Scientific American, 275(3), 144~149.
- 2) Sato, T., H. Nishino, H. Nagase, and M. Niikawa, 1994, Bio-antimutagen detection method with wing spot test by *Drosophila melanogaster*, Japan. J. Toxicol. Environ. Health, 40(6), 498~503.
- 3) Würzler, F. E. and E. W. Vogel, 1985, *In vivo* mutagenicity tests using somatic cells of *Drosophila melanogaster*, In: Chemical Mutagens, Vol. 10 (F.J. de Serres, editor) Plenum Press, New York, 1~72pp.
- 4) Yoo, M. A., H. Ryo, T. Todo and S. Kondo, 1985, Mutagenic potency of heterocyclic amines in the *Drosophila* wing spot test and its correlation to carcinogenic potency, Japan. J. Cancer Res., 76, 468~473.
- 5) Graf, U., F. E. Würzler, A. J. Katz, H. J. Frei, C. B. Hall, and P. G. Kale, 1984, Somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*, Environ. Mutagen, 6, 153~188.
- 6) Morse, M. A., and G. D. Stoner, 1993, Cancer chemoprevention: Principle & prospects, Carcinogenesis, 14(9), 1737~1746.
- 7) Greenward, P., 1996, Chemoprevention of cancer, Scientific American, 275(3), 96~99.
- 8) Hawrylewicz, E. J., J. Z. Jose, and H. B. William, 1995, Soy and experimental cancer: Animal studies. J. Nutr., 125, 698~708.
- 9) Herman, C., T. Adlercreutz, B. R. Goldin, S. L. Gorbach, K. A. V. Hockerstedt, S. Watanabe, E. K. Hanalainen, M. H. Markkanen, T. H. Makela, K. T.

- Wahala, T. A. Hase, and T. Fotsis, 1995, Soybean phytoestrogen intake and cancer risk, *J. Nutr.*, 125, 757~770.
- 10) Kennedy, A. R., 1995, The evidence for soybean products as cancer preventive agents, *J. Nutr.*, 125, 733~743.
  - 11) Coward, L., N. C. Barnes, D. R. K. Setchell, and S. Barnes, 1993, Genistein, Daidzein and their  $\beta$ -glycoside conjugates, antitumor isoflavones in soybean foods from American and Asian diets, *J. Agric. Food Chem.*, 41, 1961~1967.
  - 12) Lee, J. S., and H. S. Cheigh, 1997, Composition and antioxidative characteristics of phenolic fractions isolated from soybean fermented food, *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 26(3), 383~389.
  - 13) Zava, D. T., and G. Duwe, 1997, Estrogenic and antiproliferative properties of genistein and other flavonoids in human breast cancer cells *in vitro*, *Nutr. Cancer*, 27(1), 31~40.
  - 14) Markovits, J., C. Linossier, P. Fosse, J. Couprie, J. Pierre, A. Jacquemin-Sablon, J. M. Saucier, J. B. Le Pecq and A.K. Larsen, 1989, Inhibitor effects of the tyrosine inhibitor genistein on mammalian DNA topoisomerase II, *Cancer Res.*, 49, 5111~5117.
  - 15) Choi, Y. H., S. J. Lee, M. Kim, L. Zhang, W. H. Lee, and K. Y. Park, 1998, Genistein induces inhibition of cell proliferation and programmed cell death in the human cell lines, *J. Korean Cancer Assoc.*, 30(4), 800~808.
  - 16) Graf, U., 1995, The relationship between age of larvae at mutagen treatment and frequency and size of spots in the somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*, *Experientia*, 51, 168~173.
  - 17) Frei, H., and F. E. Würzler, 1988, Statistical methods to whether mutagenicity test data from *Drosophila* assays indicate a positive, negative, or inconclusive result, *Mutation Res.*, 203, 297~308.
  - 18) Jerrold, H. Z., 1984, Multisample hypotheses : The analysis of variance. In : *Biostatistical analysis*, Prentice-Hall International, Inc., Englewood Cliffs, New Jersey, 162~184pp.
  - 19) Park, K. Y., 1984, Aflatoxin : factors affecting aflatoxin production, *J. Korean Soc. Food Nutr.*, 13(1), 117~126.
  - 20) Groopman, J. D., J. S. Wang, and P. Scholl, 1996, Molecular biomarkers for aflatoxins, from adducts to gene mutations to human liver cancer, *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 74, 203~209.
  - 21) Park, K. Y., S. H. Moon, and S. H. Rhee, 1994, Antimutagenic effect of Doenjang-Inhibitory effect of Doenjang stew and soup on the mutagenicity induced by Aflatoxin B<sub>1</sub>, *Environ. Mutag. Carcin.*, 14(2), 145~152.
  - 22) Zwiler, J., P. Sassone-Corsi, K. Kakazu, and A. L. Boynton, 1991, Inhibition of PDGF-induced *c-jun* and *c-fos* expression by a tyrosine protein kinase inhibitor, *Oncogene*, 6, 219~221.
  - 23) Fotsis, T., M. Pepper, H. Adlercreutz, T. Hase, R. Montesano, and L. Svhweigerer, 1995, Genistein, a dietary-derived ingested isoflavonoid, inhibits cell proliferation and *in vitro* angiogenesis, *J. Nutr.*, 125, 790~797.
  - 24) Monti, E., and B. K. Sinha, 1994, Antiproliferative effect of genistein and adriamycin against estrogen-dependent and -independent human breast carcinoma cell lines, *Anticancer Research*, 14, 1221~1226.
  - 25) Peterson, T. G., L. Coward, M. Kirk, C. N. Falany, and S. Barnes, 1996, The role of metabolism in mammary epithelial cell growth inhibition by the isoflavones genistein and biochanin A, *Carcinogenesis*, 17(9), 1861~1869.
  - 26) Yanagihara, K., A. Ito, T. Toge and M. Numoto, 1993, Antiproliferative effects of isoflavones on human cancer cell lines established from the gastrointestinal tract, *Cancer Res.*, 53, 5815~5821.
  - 27) Matsukawa, Y., N. Marui, T. Sakai, Y. Satomi, M. Yoshida, K. Matsumoto, H. Nishino, and A. Aoike, 1993, Genistein arrests cell cycle progression at G<sub>2</sub>-M, *Cancer Res.*, 53, 1328~1331.
  - 28) Lamartiniere, C. A., J. B. Moore, N. M. Brown, R. Thompson, M.J. Hardin, and S. Barnes, 1995a, Genistein suppresses mammary cancer in rats, *Carcinogenesis*, 16(11), 2833~2840.
  - 29) Lamartiniere, C. A., J. B. Moore, M. Holland, and S. Barnes, 1995b, Neonatal genistein chemoprevents mammary cancer, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 208, 120~123.
  - 30) Messina, M., V. Persky, D. R. K. Serchell, and S. Barnes, 1994, Soy intake and cancer risk : A review of the *in vitro* and *in vivo* data, *Nutr. Cancer*, 21, 113~131.