

## 재첩가공품의 생리학적 특성과 이용 - 재첩추출물의 항암효과와 면역활성증강 효과 -

서재수<sup>†</sup> · 최명원 · 전순실\* · 장명웅\*\*

고신대학교 식품영양학과

\*순천대학교 식품영양학과

\*\*고신대학교 의학부 미생물학교실

### Physiological Effects and Utilization of *Corbicula elatior* Products - Effect of Cockle Extracts on Carcinogen-induced Cytotoxicity and Immune Response Related to Its Antitumor Activity -

Jae-Soo Suh<sup>†</sup>, Myung-Won Choi, Soon-Sil Chun\* and Myung-Woong Chang\*\*

Dept. of Food and Nutrition, Kosin University, Pusan 606-701, Korea

\*Dept. of Food and Nutrition, Suncheon National University, Suncheon 540-742, Korea

\*\*Dept. of Microbiology, Kosin Medical College, Pusan 602-702, Korea

#### Abstract

Inhibitory effects of cockle extracts on carcinogen-induced cytotoxicity in C3H/10T1/2 cells were studied. Soup (62 µg/mL), solubility (28 µg/mL) and liposolubility (9 µg/mL) of the cockle inhibited 3-methylcholanthrene (MCA)-induced cytotoxicity in C3H/10T1/2 cells by 53 and 94%, respectively. These results suggest that the extracts cockle might have anticarcinogen-induced cytotoxicity of C3H/10T1/2 cells. The effects of cockle extracts on the immune response related to its antitumor activity *in vitro* and *in vivo* were investigated. The cockle extracts showed a direct cytotoxic effect on sarcoma-180 cells, tumor cells *in vitro*. Soup (0.49 mg/mL), solubility (0.11 mg/mL) and liposolubility (0.05 mg/mL) of the cockle markedly decreased the total numbers of sarcoma-180 cells, but not their viability. The phagocytic activity of peritoneal macrophage of mice was significantly augmented by these extracts of the cockle compared with that of control *in vivo*. These extracts also raised the phagocytic index, indicating that the number of phagocytized microbes per macrophage increased. Thus, cockle extracts might show a antitumor activity by enhancing the phagocytic cell activities.

**Key words:** cockle, C3H/10T1/2 cells, cytotoxicity, antitumor effects

#### 서 론

의학의 계속적인 발전에 의하여 암은 대규모의 연구와 많은 항암제가 개발되었지만 그 예방 혹은 치료법이 분명치 않고 결정적인 효과를 가진 약제를 발견하지 못하고 있는 실정이다. 현재 개발되어 사용되고 있는 화학요법제는 그 치료적 한계성 및 합성약품의 부작용과 독성으로 인해 이용이 제한적이므로 인체에 무해하면서도 암을 효과적으로 구축할 수 있는 새로운 암치료제를 천연물로부터 의약품개발을 하려는 연구가 진행되고 있다. 우리나라에서도 균류 및 각종 식물류로부터 분리한 물질들이 면역부활작용 뿐만 아니라 항종양작용이 있다는 임상경험이 확인되고 있다.

국민소득의 증대와 삶의 질이 향상됨에 따라 육류소비보다는 건강에 좋다고 생각하는 수산물을 선호하는 실정이다. 수산물은 그 성분이 대체적으로 단백질의 함량이 높고, 고도불포화 지방산의 함량 또한 높으며, 다량의 핵산을 함유하고 있어서 생리활성물질, 성인병의 예방 및 치료제 연구의 필요성이 대두되고 있다.

최근에는 육상생물에 비해 해양생물에 대한 관심이 높아지면서 해양동물, 해조류 그리고 해양미생물 등에서의 연구가 활발히 진행되고 있다(1-8).

본 연구에서는 우리나라 여러 지역의 강 하구에서 생산되는 재첩의 생리학적 특성인 항발암효과 및 항암효과와 면역기능에 미치는 영향을 조사함으로써 부작용 없이 효과적인 치료식의 제조 가능성인 재첩의 기능성 식품으

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

로서의 기초 자료를 제공하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 시료 조제

#### 재료

재첩은 하동에서 1999년 4월~5월에 구입하여 동량의 물을 넣고 끓인 후 국물과 건더기를 분리하여 실험에 이용하였다.

#### 재첩국물의 메탄올 추출물

재첩 국물을 동결건조시킨 후, 마쇄한 분말시료 25 g에 500 mL의 메탄올을 넣고, 12시간 교반을 3회 반복하여 여과한 다음, 이 메탄올 추출물을 농축한 후 dimethyl sulfoxide(DMSO)에 녹여 실험에 사용하였다(9,10).

#### 재첩의 지용성 추출물

재첩 건더기를 동결건조시킨 후, 마쇄한 분말시료 25 g에 500 mL의 헥산을 첨가하여 12시간 교반을 3회 반복하여 여과하고 헥산추출물을 얻은 다음, 농축한 후 dimethyl sulfoxide(DMSO)에 녹여 사용하였다(9,10).

#### 재첩의 수용성 추출물

헥산추출물을 얻고 남은 잔사(탈지된 재첩 분말)에 25 g에 500 mL의 메탄올을 넣고, 16시간 침지시킨 후 2분간 교반한 다음, 70~80°C의 항온 수조에서 90분 동안 반입시켜 여과하였다. 이 메탄올 추출물을 농축한 후 dimethyl sulfoxide(DMSO)에 녹여 사용하였다.

#### 단백질 정량

Working solution(CTC : 10% SDS : 0.8 N NaOH : D. W=1 : 1 : 1 : 1)에 시료를 넣고 혼합하여 실온에서 10분 방치한 후 phenol reagent 넣고 실온에서 30분 방치하였으며, 이것을 Spectrophotometer 750 nm에서 O.D.값으로 질량을 나타내었다.

### C3H/10T1/2 세포를 이용한 *in vitro* 항발암효과 실험

#### 사용 시약

Dulbecco's Modified Eagle Medium(DMEM), fetal bovine serum(FBS), 0.5% trypsin-EDTA 그리고 100 units/mL penicillin-streptomycin을 GIBCO사(Gibco Chemical Co., USA)로부터 구입하였고, 염색 시약으로 Gimsa's solution(Merck Chemical Co., Germany)을 구입하였으며, Phosphate buffered saline(PBS pH 7.2)와 MeOH을 실험에 사용하였다.

Carcinogen은 3-Methylcholanthrene(MCA: Acros chemical Co. USA)을 구입하여 dimethyl sulfoxide(DMSO)에 녹여서 사용하였다.

#### 세포 배양

C3H/10T1/2 cell은 일본의 cell line collection본부

(Tokyo, Japan)로부터 분양받아 사용하였다. 실험에 사용된 mouse embryo cell인 C3H/10T1/2 세포는 100 unit/mL penicillin-streptomycin과 10%의 fetal bovine serum(FBS)가 함유된 Dulbecco's Modified Eagle Medium(DMEM)을 사용하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 배양하였다. 배양된 C3H/10T1/2 세포는 5일마다 refeeding하고 10일마다 PBS용액으로 세척하고 0.5% trypsin-EDTA 효소로 부착된 세포를 떼어내어 cell culture flask에 일정 수 분할하여 계대 배양하면서 실험에 이용하였다(11).

### 마우스를 이용한 항암효과 및 면역활성 증강효과 실험

#### 사용 시약 및 균주

Minimum essential medium(MEM, GIBCO, Grand Island, NY, USA)과 trypan blue는 cytotoxicity test에 RPMI 1640(GIBCO, Grand Island, NY, USA)과 wright 염색액, mounting solution은 탐작작용에 사용하였다. 또한 Fetal bovine serum(FBS, Boehringer Mannheim, Germany), 100 units/mL penicillin-streptomycin을 GIBCO사(Gibco Chemical Co., USA)로부터 구입하였으며, phosphate buffered saline(PBS, pH 7.2)과 24 wells plate(Coster, Cambridge, MA, USA)를 사용하였고, *Candida albicans*(KCTC 1940)은 nutrient agar plate에서 배양한 후 실험에 사용하였다.

#### 실험 동물

본 실험에 사용한 동물은 수컷 Balb/c mouse(한국 생명공학센터, 대구)로서 생후 8주령을 사용하였다. 사료는 표준사료로 사육하였고, 사육시 물과 사료는 충분한 양을 공급하였다.

#### Sarcoma-180 세포

Sarcoma-180 세포(KCLB 40066: Korean cell line bank)는 20% FBS가 함유된 MEM medium에서 배양한 후, Balb/c mouse의 복강내에서 1주일 간격으로 계대배양한 sarcoma-180 세포를 사용하였다. 즉 실험동물의 복강내에서 sarcoma 세포를 복수와 함께 취하고 phosphate buffered saline(PBS)로 원심분리(1200 rpm, 10 min)하여 종양세포를 분리하였다. 분리된 세포를 다시 PBS에 부유시켜 재차 원심분리하여 상등액을 제거한 후 sarcoma-180세포( $1 \times 10^6$  cells/mL)가 되도록 종양세포 부유액을 만들어 1 mL씩을 복강 주사하여 이식 보존하면서 동계의 mouse 복수암 유발에 사용하였다(12).

### C3H/10T1/2세포를 이용한 cytotoxicity test

C3H/10T1/2세포를 2,000 cell/5 mL의 농도로 60 mm dish에 seeding한 후 24시간 동안 배양한 후 배양액을 버리고 free serum medium에 carcinogen[MCA(10 µg/mL)]과 시료를 첨가한 후 5 mL씩 60 mm dish에 feeding

하였다. 한편, 대조군에는 carcinogen과 DMSO 10  $\mu$ L을 첨가하여 배양하였다. 실험군과 대조군을 10% FBS가 함유된 신선한 배지로 refeeding하면서 일주일 배양 후 메탄올로 고정화하여 Giemsa stain으로 염색한 뒤 군집을 이룬 cell colony를 계수하여 아래 공식에 따라 C3H/10T1/2 세포에 대한 cytotoxicity 억제 효과를 측정하였다(13,14).

Cytotoxicity=

$$\frac{\text{Number of surviving colonies on treated dishes}}{\text{Number of surviving colonies on control dishes}}$$

#### Sarcoma-180 세포를 이용한 cytotoxicity test

Sarcoma-180 세포  $1 \times 10^6$  cell/mL을 Balb/c mouse의 복강에 주사하여 10일 된 마우스 복강으로부터 sarcoma-180 세포를 채취하여  $1 \times 10^5$  cell/mL되게 세포수를 조정하여 24 wells plate에 분주하였다. Complete MEM medium과 시료를 첨가한 후 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 배양하였다. 이 세포와 시료가 포함되어 있지 않은 배지에서 배양된 세포의 viability(15,16)를 비교하기 위하여 24시간이 경과한 후 각 세포를 trypan blue로 염색하여, 살아있는 세포수와 죽은 세포수를 계산하여 세포의 증식과 사멸의 정도를 대조군과 비교 검토하였다(17). 여기에는 hemocytometer에서 염색된 세포(non-viable cell)와 염색되지 않은 세포(viable cell)를 세어서 viability(viability=dead cells/total cells)를 정하였다.

#### Balb/c mouse를 이용한 phagocytic activity test

재첩추출물을 phosphate buffered saline(PBS, pH 7.2)으로 조제한 후 0.5 mL씩을 마우스 복강 내로 주사하였다. 주사한 지, 24시간이 경과된 후 마우스의 복강액을 수거하여 본 실험에 사용하였고, 수거방법은 Mishell과 Shiigi의 방법(16)에 준거하였다. 수거된 각 군의 복강액을 200  $\times$  g에서 10분간 원심분리하여 세포를 분리하였고, phagocytic activity의 측정은 Smith와 Rommel의 방법에 준거하였다(18). 즉, 분리한 세포를 FCS가 10% 함유된 RPMI 1640(GIBCO, Grand Island, NY, USA)에 부유시켜  $2 \times 10^5$  cell/mL되게 조정하였다. 멸균된 coverglass가 내재된 24 wells microplate(Costar Cambridge, MA, USA)에 세포부유액을 1 mL씩 분주하고 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 45분간 배양하였다. 부착되지 않은 세포를 제거하기 위해서 각 well을 PBS(Phosphate buffered saline, pH 7.2)로 가볍게 세척하였다. 부착성의 식세포가 존재하는 coverglass상에 *Candida albicans*(KCTC 1940)를  $4 \times 10^5$  cell/mL을 작용시켜 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 45분간 배양하였다. 배양이 끝난 후 coverglass를 PBS로 세척하고 wright stain액에 10분간 염색한 후 수세, 건조한 후 mounting solution으로 봉입하여 400X의 현미경으로 식

세포수를 산정하여 탐식율과 index를 아래와 같이 구하였다(19).

$$\text{탐식율} = (\text{C. albicans를 탐식한 대식세포수} / \text{대식세포수}) \times 100$$

$$\text{Index} = \text{C. albicans count} / \text{phagocytized count}$$

## 결과 및 고찰

C3H/10T1/2 cell은 C3H/10T1/2 mouse embryo세포로서 진핵세포의 발암기전을 연구하고 발암을 일으키는 화학물질을 검색하는데 있어서 target indicator세포 시스템으로 널리 이용되고 있다(20). 재첩이 발암물질로 인한 세포독성을 저해하는 효과가 있는지를 측정하기 위해 cytotoxicity test를 실시하였다.

또한 어떤 미생물 그 자체나 미생물의 추출물 또는 산물, cytokine, 특정 종양세포, 특정화학물질 등이 대식세포에 작용하면 세포는 활성화되고, 활성화된 그 결과로 신호전달물질의 생성과 세포독성 자체가 항진되는 것으로 나타나기 때문에(21,22) 이러한 점을 고려하여 재첩추출물의 항암기작 중에 하나인 면역계 활성화 증강효과가 있는지를 검토해 보았다.

#### 발암물질로 인한 재첩 추출물의 세포 독성 억제 효과

이 실험에서 cytotoxicity는 colony형성의 저해정도에 의해 결정되어질 수 있는데 Table 1~3에서 보는 바와 같이 C3H/10T1/2 cell에서 carcinogen에 대한 cytotoxicity효과를 어느 정도 저해하는지를 측정하여 survival fraction으로 나타내었다. MCA 10  $\mu$ g/mL에서 재첩국물의 methanol 추출물은 농도가 증가함에 따라 24, 42, 94%로 발암물질의 세포독성을 저해하였으며(Table 1), 수용성추출물은 46, 52, 78%의 저해율(Table 2)을 지용성추출물은 39, 51, 53%의 cytotoxicity저해효과를 나타내었다(Table 3). 또한 시료의 농도가 증가함에 따라 survival fraction이 더욱 증가함을 볼 수 있다.

즉, 이것은 carcinogen이 C3H/10T1/2세포에 대한 cytotoxicity효과를 일정한 비율로 억제하고 있음을 나타내

**Table 1. Cytotoxicity of C3H/10T1/2 cells treated with 3-methylcholanthrene (MCA, 10  $\mu$ g/mL) and MCA mixed with different levels of methanol extract of cockle soup**

Treatment	Cell colony	Survival fraction <sup>1)</sup>
Control (MCA)	50.7 $\pm$ 3.1	1.00
MCA + Soup (12 $\mu$ g/mL)	63.0 $\pm$ 2.7	1.24(24%)
MCA + Soup (31 $\mu$ g/mL)	72.0 $\pm$ 5.0	1.42(42%)
MCA + Soup (62 $\mu$ g/mL)	98.3 $\pm$ 3.5	1.94(94%)

<sup>1)</sup>Survival fraction =

$$\frac{\text{Number of surviving colonies on treated dishes}}{\text{Number of surviving colonies on control dishes}}$$

**Table 2. Cytotoxicity of C3H/10T1/2 cells treated with 3-methylcholanthrene (MCA, 10 µg/mL) and MCA mixed with different levels of hexane-methanol extract of cockle**

Treatment	Cell colony	Survival fraction <sup>1)</sup>
Control (MCA)	50.7±3.1	1.00
MCA+Solubility (6 µg/mL)	74.0±3.6	1.46(46%)
MCA+Solubility (14 µg/mL)	77.3±3.1	1.52(52%)
MCA+Solubility (28 µg/mL)	90.3±1.5	1.78(78%)

<sup>1)</sup>Survival fraction =  
 Number of surviving colonies on treated dishes  
 Number of surviving colonies on control dishes

**Table 3. Cytotoxicity of C3H/10T1/2 cells treated with 3-methylcholanthrene (MCA, 10 µg/mL) and MCA mixed with different levels of hexane extract of cockle**

Treatment	Cell colony	Survival fraction <sup>1)</sup>
Control (MCA)	50.7±3.1	1.00
MCA+Liposolubility (2 µg/mL)	70.3±2.5	1.39(39%)
MCA+Liposolubility (5 µg/mL)	76.7±2.1	1.51(51%)
MCA+Liposolubility (9 µg/mL)	77.7±2.1	1.53(53%)

<sup>1)</sup>Survival fraction =  
 Number of surviving colonies on treated dishes  
 Number of surviving colonies on control dishes

주며, MCA로 인한 세포의 독성효과를 재첩 추출물이 억제한다는 기작을 추론 가능케 한다.

#### Sarcoma-180 cell에 대한 재첩추출물의 항암효과

세포독성은 비특이적 방어기전으로서 암세포에 직접적으로 손상을 줄 뿐만 아니라(23) 동물생체내 림프구나 대식세포와 같이 표적세포에 대하여 세포독성효과를 나타내는 작동세포를 자극함으로써 그 세포독성효과를 항진시키는 것으로 보고 있다(24). 재첩의 추출물에서 종양세포에 대한 직접적인 세포살해효과를 보기 위하여 여러 농도로 이들 재첩시료가 포함되어 있는 배지에 배양하여 24시간 후에 종양세포의 생존율을 관찰하였다.

Table 4~6에서 보는 바와 같이 재첩국물, 재첩의 수용성 추출물, 재첩의 지용성 추출물 모두 농도가 증가함에 따라 총 세포수가 크게 감소되는 것으로 나타났으며, viability에서는 trypan blue로 염색되는 죽은 세포가 대조군과 거의 차이를 나타내지 않았다. 재첩국물은 0.49 mg의 농도에서, 재첩의 수용성과 지용성은 각각 0.06 mg, 0.05 mg의 매우 낮은 농도에서 효과를 나타내었다. 특히 재첩국물의 경우 0.49 mg에서 수용성 추출물의 경우 0.06 mg에서 세포수가 크게 감소되는 것을 볼 수 있다. 시료 농도의 증가에 따라 총 세포수의 감소가 나타났음에도 죽은 세포가 남아있지 않은 것으로 보아 세포에 직접적인 세포독성효과 및 세포증식에도 크게 영향을 미치는 것으로 생각된다. Viability가 크게 감소되지 않는 값인 97%로 비교

**Table 4. Cytotoxicity of sarcoma-180 cells in culture medium containing the methanol extract of cockle soup**

Dose (mg/mL)	Total cell number ( $\times 10^5$ /mL) <sup>1)</sup>	Viability of the cells (%) <sup>2)</sup>
Control	1.35±0.09	98.8±2.1
Soup (mg)		
0.12	0.85±0.05	98.0±3.4
0.25	0.75±0.08	97.4±4.5
0.49	0.62±0.10	97.6±4.1

<sup>1)</sup> $1 \times 10^5$ /mL sarcoma 180 cells were cultivated in 20% fetal bovine serum (FBS) containing minimal essential medium (MEM) in the presence of various concentration of the above sample for 24 hr.

<sup>2)</sup>Viable cells were counted by trypan blue dye exclusion method.  
 Viability = viable cells/(dead + viable cells)

**Table 5. Cytotoxicity of sarcoma-180 cells in culture medium containing the methanol extract of cockle**

Dose (mg/mL)	Total cell number ( $\times 10^5$ /mL) <sup>1)</sup>	Viability of the cells (%) <sup>2)</sup>
Control	1.20±0.15	98.4±2.8
Solubility (mg)		
0.03	0.90±0.15	98.4±2.8
0.06	0.77±0.03	97.8±3.8
0.11	0.52±0.03	87.6±5.0

<sup>1)</sup> $1 \times 10^5$ /mL sarcoma 180 cells were cultivated in 20% fetal bovine serum (FBS) containing minimal essential medium (MEM) in the presence of various concentration of the above sample for 24 hr.

<sup>2)</sup>Viable cells were counted by trypan blue dye exclusion method.  
 Viability = viable cells/(dead + viable cells)

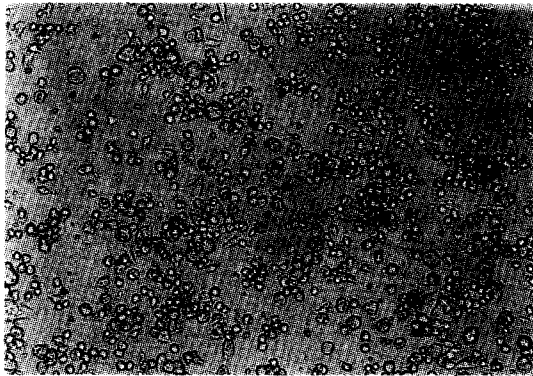
**Table 6. Cytotoxicity of sarcoma-180 cells in culture medium containing the hexane extract of cockle**

Dose (mg/ml)	Total cell number ( $\times 10^5$ /ml) <sup>1)</sup>	Viability of the cells (%) <sup>2)</sup>
Control	1.22±0.03	97.3±2.4
Liposolubility (mg)		
0.01	1.18±0.06	98.7±2.3
0.03	0.93±0.06	98.1±3.2
0.05	0.93±0.03	98.2±3.1

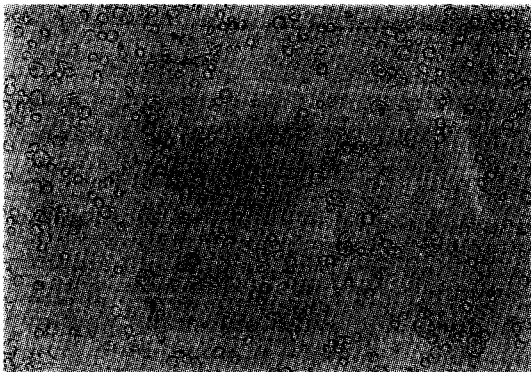
<sup>1)</sup> $1 \times 10^5$ /mL sarcoma 180 cells were cultivated in 20% fetal bovine serum (FBS) containing minimal essential medium (MEM) in the presence of various concentration of the above sample for 24 hr.

<sup>2)</sup>Viable cells were counted by trypan blue dye exclusion method.  
 Viability = viable cells/(dead + viable cells)

하면 0.49 mg의 국물에서 총 세포수가  $0.62 \times 10^5$ /mL, 수용성 추출물은  $0.77 \times 10^5$ /mL, 지용성 추출물은  $0.93 \times 10^5$ /mL로 종양세포에 대한 직접적인 세포 살해 효과는 재첩국물에서 가장 큰 것으로 나타났다. Fig. 1에서도 재첩국물의 수용성 추출물의 영향을 관찰한 결과 큰 효과가 있음을 알 수 있었다.



(A)



(B)

Fig. 1. Photomicrographs of cytotoxicity of sarcoma-180 cells in culture medium containing the methanol extract of cockle soup ( $\times 400$ ). A: Control. B: Sample treated.

Mice를 이용한 재첩추출물의 면역활성효과

대식세포는 외부로부터의 감염 등의 자극을 받게되면 활성화되고 그 결과 spreading, 탐식작용, pinocytosis, lysozyme, cytoplasmic granule,  $O_2^-$  생성,  $PGE_2$  생성, 항균작용, 항종양작용, 등의 증가가 나타나게 된다. 본 실험에서는 시료에 노출된 탐식세포의 탐식기능 변화를 관찰하고자 하였다. 탐식작용의 측정결과(Table 7)는 대조군에 비해 모든 추출물에서 3배 이상의 탐식율을 나타냈다. 즉 대조군 5.3%에 비해 재첩 국물의 경우 16.7%, 수용성 추출물의 경우 12.5%, 지용성 추출물의 경우 17.0%로 나타났다. 또 Fig. 2에서 재첩국물에서는 대식세포 개당 2개 정도의 *Candida albicans*를 탐식하고 있음을 관찰할 수 있었다. 또한, 탐식세포의 탐식기능 상승으로 면역활성을 증가시킨다는 다른 연구자들의 결과와 같이(24,25) 재첩의 추출물에서도 같은 효과를 볼 수 있었으며, 재첩의 추출물이 숙주의 대식세포 활성화와 이에 따른 세포성 면역 기전의 활성화 등에 기인될 것으로 생각된다.

Table 7. Effects of cockle extracts on the phagocytic activity and its index in the peritoneal phagocytic cells of Balb/c mice

Cockle extracts	Phagocytosis (%) <sup>1)</sup>	Phagocytic index <sup>2)</sup>
Control	5.3 $\pm$ 0.29	1.39 $\pm$ 0.03
Soup	16.7 $\pm$ 1.53	1.93 $\pm$ 0.10
Solubility	12.5 $\pm$ 2.29	1.48 $\pm$ 0.03
Liposolubility	17.0 $\pm$ 1.32	1.61 $\pm$ 0.08

<sup>1)</sup>Peritoneal phagocytes ( $2 \times 10^5$  cell/mL) from normal mice were exposed with soup (61.2  $\mu$ g/mL), solubility (13.8  $\mu$ g/mL), liposolubility (6.2  $\mu$ g/mL) and control (PBS) 1 time each.

<sup>2)</sup>Phagocytic activities were calculated with *C. albicans* ( $4 \times 10^5$  cell/mL) to be phagocytized in 200 phagocytes. Index = *C. albicans* count / phagocytized count.

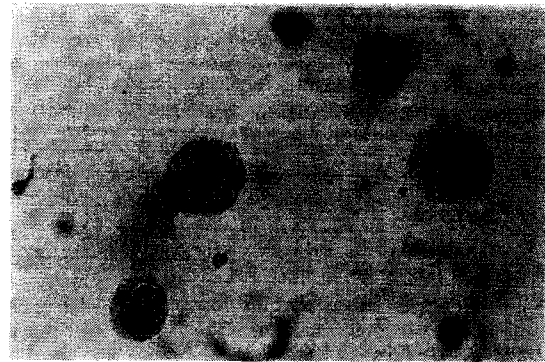


Fig. 2. Photomicrographs of phagocytic activity of mouse peritoneal macrophages stimulated with methanol extract of cockle soup ( $\times 400$ ).

요 약

본 연구에서는 마우스 진핵세포 실험제인 C3H/10T1/2 cells에서 direct carcinogen의 작용을 저해하는지를 알아보기 위해 *in vitro*에서 세포독성 억제효과를 관찰하였으며, *in vivo*에서 sarcoma-180 cells과 마우스를 이용한 재첩의 세포독성효과와 면역계, 특히 대식세포의 탐식능의 활성증강에 미치는 효과를 중심으로 재첩의 항암기작을 연구하였다. 재첩을 국물과 육으로 분리한 후 메탄올과 핵산추출물로 분리 조제하여 실험에 이용하였다. 이러한 실험결과를 요약하면 다음과 같다. C3H/10T1/2 cells에서 carcinogen인 20-methylcholanthrene(MCA)에 대한 cytotoxicity를 재첩 추출물이 저해하는 효과를 나타내었다. Sarcoma-180 종양세포에 대한 시료의 직접적인 작용에서는 재첩추출물에 의하여 총세포 수가 크게 줄어드는 것을 볼 수 있었다. Phagocytic activity에서는 대조군에 비해 재첩추출물에서 탐식율이 3배정도로 높게 나타났다. 또한 재첩국물에서는 대식세포 개당 평균 2개 정도의 *Candida albicans*를 탐식하고 있음을 알 수 있었다.

## 감사의 글

이 연구는 1998년 한국학술진흥재단의 학술연구비에 의한 결과의 일부이며 이를 감사드린다.

## 문헌

- Kamiya, H., Muramoto, K., Goto, R. and Yamazaki, M. : Characterization of the antibacterial and antineoplastic glycoproteins in a sea hare *Aplysia juliana*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **54**, 773-777 (1988)
- Cho, K.J., Lee, Y.S. and Ryu, B.H. : Antitumor effect and immunology activity of seaweeds toward sarcoma-180. *Bull. Korean Fish. Soc.*, **23**, 345-352 (1990)
- Tanaka, K., Konishi, F., Himeno, K., Taniguchi, K. and Nomoto, K. : Augmentation of antitumor resistance by a strain of unicellular green algae, *Chlorella vulgaris*. *Cancer Immunol. Immunother.*, **17**, 90-94 (1984)
- Konishi, F., Mitsuyama, M., Okuda, M., Kuniaki, T., Hasegawa, T. and Nomoto, K. : Protective effect of an acidic glycoprotein obtained from culture of *Chlorella vulgaris* against myelosuppression by 5-fluorouracil. *Cancer Immunol. Immunother.*, **42**, 268-274 (1996)
- Moon, J.H., Ryu, H.S., Yang, H.S. and Suh, J.S. : Antimutagenic and anticancer effects of glycoprotein and chondroitin sulfate from sea cucumber (*Stichopus japonicus*). *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **27**, 350-358 (1998)
- Lee, J.Y., Ryu, H.S., Moon, J.H. and Suh, J.S. : Antitumor effect and immunological activity of glycoprotein from *Urechis unicinctus*. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **28**, 917-923 (1999)
- Okutani, K. : A viscous antitumor substance obtained from a marine bacterium No. 9-12. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **43**, 323-326 (1977)
- Okutani, K. : Further investigation of the antitumor activity of the squid internal shell. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **48**, 421-424 (1982)
- Hammerschmidt, P.A. and Pratt, D.E. : Phenolic antioxidants of dried soy-beans. *J. Food Sci.*, **43**, 556-559 (1978)
- Pratt, D.E. and Blrac, P.M. : Source of antioxidant activity of soybeans and soy products. *J. Food Sci.*, **44**, 1720-1722 (1979)
- Jones, P.A., Laug, W.E., Cardner, A., Nye, C.A., Fink, L. M. and Benedict, W.F. : *In vitro* correlates of transformation in C3H/10T1/2 clone 8 mouse cell. *Cancer Res.*, **36**, 2863 (1976)
- Ryu, B.H., Kim, D.S., Cho, K.J. and Sin, D.B. : Antitumor activity of seaweeds toward sarcoma-180. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **21**, 595-599 (1989)
- Biling, P.C., Uwakfo, A.O. and Heidelberger, C. : Influence of benzoflavine on aflatoxin B<sub>1</sub>-induced cytotoxicity, mutation and transformation of C3H/10T1/2 cells. *Cancer Res.*, **43**, 2659-2663 (1983)
- Bovoiko, C.J., Abernethy, D.J. and Stedman, D.B. : Alteration of intercellular communication associated with the transformation of C3H/10T1/2 cells. *Carcinogenesis*, **8**, 321 (1987)
- Maeda, Y.Y. and Chihara, G. : The effect of neonatal thymectomy on the antitumor activity of lentinan, carboxymethylpachymaran and zymosan, and their effects on various immune responses. *Int. J. Cancer*, **11**, 153-161 (1973)
- Mishell, B.B. and Shiigi, S.M. : *Selected method in cellular immunology*. 1st ed., Freedman and W.H. Co., San Francisco, p.4 (1980)
- Naoka, S. and Misaki, A. : Isolation, characterization, and antitumor activities of the cell wall polysaccharides from *Elsinoe leucospila*. *Biosci. Biotech. Biochem.*, **56**, 29-33 (1992)
- Smith, D.L. and Rommel, F. : A rapid micro method for the simultaneous determination of phagocytic-microbicidal activity of human peripheral blood leukocytes *in vitro*. *J. Immunol. Methods*, **17**, 241-247 (1977)
- Kohno, N. : A new method utilizing nitroblue tetrazolium reduction to evaluate superoxide production of human polymorphonuclear leukocytes at phagocytosis of *Candida albicans*. *Jpn. J. Med. Mycol.*, **30**, 280 (1989)
- Billings, P.C., Heidelberger, C. and Londolph, J.R. : S-9 metabolic activation enhances aflatoxin mediated transformation C3H/10T1/2 cells. *Toxi. Appl. Pharm.*, **77**, 58-65 (1985)
- Markovic, S.N. and Murasco, D.M. : Anesthesia inhibits poly I : C induced stimulation of natural killer cell cytotoxicity in mice. *Clin. Immunol. Immunopathol.*, **56**, 202-209 (1990)
- Talcott, P.A., Exon, J.H. and Koller, L.D. : The effects of methylnitroso urea (MNU) on natural killer (NK) cell cytotoxicity and cytokine production in rats. *Carcinogenesis*, **11**, 829-834 (1990)
- Fischer, S.M., Leyton, J., Lee, M.L., Loeniskar, M., Belury, M.A. and Maldve, R.E. : Differential effects of dietary linoleic acid on mouse skin-tumor promotion and mammary carcinogenesis. *Cancer Res. (Suppl)*, **52**, 2049s-2054s (1992)
- Jeong, J.H., Kim, K.H., Chang, M.W., Lee, S.D. and Seo, J.K. : The influence of linoleic acid and ursolic acid on mouse peritoneal macrophage activity. *Korean J. Immunology*, **15**, 53-60 (1993)
- Park, M.I., Kim, K.H. and Chang, M.W. : Anti-tumor effect of *Mycoplasma hominis* on transplanted sarcoma 180 in mice. *J. Korean Cancer Association*, **26**, 484 (1994)

(2000년 2월 21일 접수)