

밤속껍질에서 기능성 음료의 개발(II)
- 밤차, 현미녹차 및 결명자차가 생체기능활성화에 미치는 효과 -

전병관 · 정현우* · 이종률** · 지준명***

동신대학교 환경공학과, *동신대학교 한의과대학 병리학교실,
목포과학대학 식품영양과, *동신대학교 환경연구소

**The Development of Functional Beverage from the Inner Skin
of the Chestnut *Castanea crenata*(II)**
**- Physiological Effects of Chestnut Inner Skin Tea,
Brown Rice-green Tea and *Cassia tora* Tea in Mouse and Rat -**

Byung-Gwan Jeon, Hyun-Woo Jeong*, Jong-Ryoul Lee and Joon-Myoung Ji*****

Dept. of Environmental Engineering, Dongshin University, Naju, 330-3151, Korea

**Dept. of Pathology, College of Oriental Medicine, Dongshin University, Naju, 330-3524, Korea*

***Dept. of Food and Nutrition, Mokpo Science College, Mokpo, 270-2602, Korea*

****Environmental Research Center, Dongshin University, Naju, 330-3159, Korea*

Abstract

The purpose of this study was to investigate effects of chestnut inner skin tea, brown rice-green tea and *Cassia tora* tea on the activation of physiological functions (regional cerebral blood flow, mean arterial blood pressure, proliferation of immunocytes *in vitro* and *in vivo*, suppression of cancer cell proliferation) in mouse and rat.

We used 8 weeks-old balb/c male mice, 300g ICR rats and L1210 cell lines. Regional cerebral blood flow(rCBF) and mean arterial blood pressure(BP) were measured using Leser-Doppler Flowmetry(LDF) and the proliferation of cells was measured using a colorimetric tetrazolium assay(MTT assay).

The experimental results are as follows :

1. rCBF was increased by *Cassia tora* tea, but decreased by chestnut inner skin tea in rats.
2. BP was increased by brown rice-green tea in rats.
3. Proliferation of mouse thymocytes and splenocytes were significantly increased by chestnut inner skin tea *in vitro*.
4. Proliferation of mouse thymocytes was decreased by *Cassia tora* tea and brown rice-green tea *in vitro*.
5. Proliferation of mouse thymocytes was decreased by *Cassia tora* tea and brown rice-green tea in L1210 transplanted mice.
6. Proliferation of splenocytes was accelerated by chestnut inner skin tea in L1210 transplanted mice.
7. Proliferation of L1210 cells was inhibited by chestnut inner skin tea and *Cassia tora* tea in L1210 transplanted mice.

Key words : chestnut inner skin tea, *Cassia tora* tea, brown rice green tea, regional cerebral blood flow, mean arterial blood pressure, immunocytes, cancer cell suppression.

* Corresponding author : Byung-Gwan Jeon

서 론

차는 사람의 기호품으로 대부분이 광합성에 의해 생성되는 자연합성물질인 식물의 열매나 뿌리, 줄기, 잎 등을 적절하게 가공 처리함으로써 고유한 맛과 향기, 색 또는 기능을 나타나게 된다. 더구나 생활 수준이 향상되면서 사람의 입맛이 더욱 다양화되고 많은 규제와 제약속에서 받는 스트레스 해소와 건강보존을 위한 음용 물질로서 다양한 기능을 가진 음료의 출현이 요구되는 시대라 볼 수 있다.

또한 우리 나라의 경우만 보더라도 1970년대 초반부터 시작된 공업화의 바람과 지적 수준이 향상됨에 따라 의식주의 생활 수준은 높아졌으나 많은 스트레스와 기름진 음식의 과잉섭취로 건강에 대한 우려감은 더욱 팽배해지고 보다 쾌적한 환경과 천연적인 먹거리에 대한 요구는 점점 증가하고 있는 실정인 동시에 세계적으로도 노인인구가 점점 증가하고 있어 농약 등을 최대한 적게 사용하여 경작하는 천연물질 증면역력을 증강시킬 수 있는 음료가 시대적으로 요구된다 할 것이다.

우리 나라의 경우 연간 차 시장에 대한 정확한 통계 자료는 없지만 차종별로 보면 녹차의 경우에 약 640억원(생산 640톤), 가공차 640억원, 차액기스 60억원, 칩차 20억원 등 매출액을 나타내고 있으며 이 매출액은 증가추세에 있지만 커피, 녹차, 홍차 등을 제외하면 세계적인 지명도가 매우 낮아 세계화를 위한 새로운 국산 차의 개발이 필요하다고 본다.

밤은 세계적으로 널리 자생하거나 경작되고 있지만 국제적으로 한국이나 일본에서 생산되는 밤이 가장 우수한 것으로 알려져 있다. 밤(*Chestnut*; *Castanea crenata*)은 주로 열매의 주성분인 전분만을 식용하고 있으며 실험적으로는 밤나무 잎으로부터 차를 제조한 경우가 있었지만 대중적인 인기를 얻지 못하고 있다. 또한 밤의 껍질에 대하여 한의학의 『중의학사전』에 이르기는 “栗殼은 反胃(현대의학적으로 위암에 해당)·콧피·血便을 치료하고, 栗莢는 癰癤(현대의학적으로 임파선종양 등)을 치료한다”고 하였으나 그 성분 및 기능에 대한 체계적인 규명이 되어 있지 않다. 따라서 밤 껍질의 특성을 체계적으로 규명하고 이를 이용한 음료가 개발된다면 그 이름이 가진 지명도 때문에 파급효과는 대단하리라 생각된다.

차는 가공방법이나 발효 등에 의해서 부분별로 필요한 기능을 강화하는 것이 가능하다고 볼 수 있다. 즉 차류의 질은 같은 시기에 채취한 것일지라도 가공

방법에 따라 차의 성분이 달라지며 발효정도나 가열 정도 등에 따라 색상이 달라지고 기능에 차이가 나는 것으로 알려져 있기 때문에 밤을 적절히 가공하여 차로 개발한다면 그 위상이 높아질 것이다.

그리하여 본 연구에서는 일반인들이 애용하고 있는 녹차 및 결명자차, 그리고 본 실험에 응용하고자 하는 밤차(밤의 속껍질을 이용)를 선택하여 이들 차들이 생체기능 활성화에 어떠한 영향을 미치는가에 대하여 알아보고자 하였다.

실험재료 및 방법

1. 재 료

밤 내피를 원료로 하여 제조한 차, 시중에서 판매 중인 현미녹차와 결명자차를 시료로 하여 차와 물을 1 : 50(w:v)의 비율로 70°C에서 3, 10, 15분 등 추출시간을 변화시켜 추출시간 변화에 따른 성분의 변화를 관찰하였으며, 70°C에서 10분간 추출한 것을 동물실험용으로 하였다. 또한 이렇게 추출한 차액을 동결건조하여 얻은 분말을 동물섭취용 시료로 하였다.

2. 동 물

1) 뇌혈류실험

Rat는 (주)대한실험동물센터에서 구입한 체중 300g 내외의 雄性 Sprague-Dawley계 흰쥐를 항온항습장치가 부착된 사육장에서 고형사료(등록성분량 : 조단백질 22.1%이상, 조지방 3.5%이상, 조섬유 5.0%이하, 조회분 8.0%이하, 칼슘 0.6%이상, 인 0.4%이상, 항생제·삼양프리믹스-무첨가 1.3%)와 물을 충분히 공급하면서 1주일 이상 실험실 환경에 적응시킨 후 사용하였다.

2) 면역 및 항암실험

Mouse는 (주)대한실험동물센터에서 구입한 Balb/c계 22±1(g) 수컷을 온도 20±3(°C), 습도 55±5(%), light/dark 12(hr)의 사육조건에서 1주일 이상 적응시키면서 고형 pellet 사료(등록성분량 : 조단백질 22.1%이상, 조지방 3.5%이상, 조섬유 5.0%이하, 조회분 8.0%이하, 칼슘 0.6%이상, 인 0.4%이상, 항생제·삼양프리믹스-무첨가 1.3%)와 물을 자유로이 섭취케 하였다.

3. 방 법

1) 성분분석

유리당, 아미노산, 카페인 등의 성분 분석은 기초과학지원센터에 의뢰하여, 당당류는 liquid chromatography(LC), amino acid는 pico-Tag법(Waters), 카페인은 High Performance Liquid Chromatography (HPLC) 등에 의해 분석하였다.

2) 뇌혈류 및 혈압측정

(1) 일반 수술 조작

흰쥐를 urethane (750mg/kg, I. p.)으로 마취시키고 체온을 37~38°C로 유지할 수 있도록 heat pad위에 양와위로 고정하였다. 전신 혈압 변동을 관찰하기 위하여 동물의 대퇴동맥에 삽입된 polyethylene tube에 연결된 pressure transducer(Grass, USA)를 통하여 혈압을 MacLab과 Macintosh computer로 구성된 data acquisition system에 기록하였다.

(2) Laser-Doppler Flowmetry^{1,2)}

동물은 stereotactic frame에 고정시키고 정중선을 따라 두피를 절개하여 두정골을 노출시킨 후 bregma의 4~6mm 측방, -2~1mm 전방에 직경 5~6mm의 craniotomy를 시행하였다. 이때 두개골의 두께를 최대한 얇게 남겨 경막의 출혈을 방지토록 하였다. Laser-Doppler Flowmeter(Transonic Instrument, U.S.A.)용 needle probe(직경 0.8mm)를 대뇌(두정엽) 피질 표면에 수직이 되도록 stereotactic micromanipulator를 사용하여 뇌연막동맥에 조심스럽게 근접시켰다. 일정 시간 동안 안정시킨 후 실험 protocol에 따라 국소뇌혈류량(regional cerebral blood flow, rCBF)을 측정하였다.

3) 면역세포 및 암세포 증식능 측정

(1) *in vitro*

① 세포주 및 세포 배양조건

세포주는 한국세포주은행에서 구입한 후 급성백혈병세포주인 L1210 cell lines을 사용하였고, 배양은 세포주, 마우스의 흉선 및 비장세포 모두 Roswell Park Memorial Institute 1640 (이하 RPMI 1640이라 함) 배지를 사용하였으며, 배지에는 10% Fetal Bovine Serum(이하 FBS라 함)과 penicillin-streptomycin (100 units/ml, 100 µg/µl)을 첨가하여 사용하였다. 계대 배양은 1 : 10~1 : 20 비율로 3일 간격으로 하였고, 세

포 증식에 미치는 시료의 영향을 관찰하기 위한 실험은 계대배양 2일째의 세포를 사용하였다.

② 마우스 흉선 및 비장세포의 분리

마우스의 흉선 및 비장세포 분리는 Wysocki³⁾ 및 Mizel 등⁴⁾의 방법을 이용하였다. Balb/c계 마우스를 경추탈골하여 도살시킨 후 적출한 흉선 및 비장을 DPBS-A를 넣은 petri dish에서 잘게 분쇄하고 stainless mesh로 여과하여 2회 세척한 다음 10 ml 주사기로 조심스럽게 세포 부유액을 취하여 1,500 rpm에서 5분간 원심분리하였다. 얻어진 세포를 DPBS-A에 재부유시켜 3회 반복 세척한 후 흉선 및 비장세포를 분리하였으며, 분리한 흉선 및 비장세포의 생존율 및 총세포수를 hemocytometer를 이용하여 측정하였다.

③ 흉선 및 비장세포의 증식을 변화

흉선 및 비장세포 부유액을 RPMI 1640 배지로 희석하고 96 well plate에 1.0×10^6 cells/ml 농도로 접종하여 흉선세포에는 Concanavalin A (이하 Con A라 함) 5 µg/ml과, 비장세포에는 Lipopolysaccharide(이하 LPS라 함) 5 µg/ml와 함께 농도별(1, 10, 100 µg/ml)로 희석된 시료를 첨가한 후 37°C의 CO₂ incubator에서 48시간 배양한 다음 배양 종료 4시간 전에 MTT시약을 가하여 MTT법^{5,6)}으로 측정하였다.

(2) *In Vivo*

① 암세포의 이식

L1210세포주를 (1)-①과 같이 계대배양하여 2×10^6 cells/mouse로 조제한 다음 마우스의 복강에 1.0ml를 주사함으로써 암세포를 이식하였다. 암세포를 이식한 대조군과 실험군의 시료투여는 대조군의 경우 증류수 0.1ml를, 실험군은 각각의 시료(결명자, 녹차, 밤차) 0.1ml를 7일 동안 1일 1회씩 경구투여하였다.

② 면역세포 증식을 변화

(2)-①와 같은 방법으로 실시한 후 경추탈골하여 도살시켰다. 도살 후 (1)-②와 같이 흉선세포 및 비장세포를 분리한 후 생존율 및 총세포수를 hemocytometer를 이용하여 측정하였다. 그 후 세포 부유액을 RPMI 1640 배지로 희석하고 96 well plate에 1.0×10^6 cells/ml 농도로 접종하여 흉선세포에는 Concanavalin A (이하 Con A라 함) 5 µg/ml과, 비장세포에는 Lipopolysaccharide(이하 LPS라 함) 5 µg/ml를 첨가한 후 37°C의 CO₂ incubator에서 48시간 배양한 다음 배양

종료 4시간 전에 MTT시약을 가하여 MTT법으로 측정하였다.

③ 암세포 증식을 변화

(2)-①와 같은 방법으로 실시한 후 경추탈골하여 도살시켰다. 도살 후 복강에 cold PBS 10 ml를 주입하여 잘 혼합시킨 다음 복강세포를 수집하였다. 수집한 세포를 4°C에서 1,500 rpm으로 5분간 원심분리하고 RPMI 1640 배지로 2회 세척한 후 직경 120 mm petri dish에 분주하여 CO₂ incubator에서 배양시키고 4시간 후에 부착한 세포를 제거하고 부착하지 않은 세포를 모아 4°C에서 1,500 rpm으로 5분간 원심분리를 하였다. 침전된 세포분획을 모아 1×10⁶ cells/ml로 조제하여 96 well plate의 각 well에 세포부유액 100 μl를 분주하고 배지 100 μl를 채워 37°C의 CO₂ incubator에서 48시간 배양한 다음 MTT법으로 측정하였다.

4. 통계처리

통계처리는 Student's paired and/or unpaired t-test⁷⁾에 의하였으며, p-value가 최소한 0.05 이하의 값을 보이는 경우에만 유의한 차이의 한계로 삼았다.

결과 및 고찰

1. 성분 분석

차를 70°C의 물로 추출하여 차액을 만들어 분석 시료로 하였으며 처리시간을 3, 10, 15분 등으로 변화시킨데 따른 유리당의 변화를 분석한 결과 Table 1과 같이 나타났다. 이들 차는 주로 glucose와 galactose로 구

Table 2. Amino acid composition of samples
(Brewing temp. 70°C, Brewing time 10min.)
(unit ; ng/ml)

Amino acid	Mw	BRGT	CIST	CTT
Cys	103.14	28.46	344.02	14.73
Asp	115.08	1045.8	292.38	46.99
Glu	129.11	1154.6	1203.4	13.67
Asn	114.1	172.93	8.06	20.65
Ser	87.07	273.58	15.39	6.57
Gln	128.13	286.44	19.73	16.52
Gly	57.05	35.23	0	0
His	137.14	191.88	0	0
Arg	156.18	154.72	232.96	6.22
Thr	101.1	156.49	71.16	8.4
Ala	71.07	253.68	752.72	11.57
Pro	97.11	140.12	258.48	23.96
Tyr	163.17	268.91	45.98	19.01
Val	99.13	206.71	155.29	3.49
Met	131.19	293.97	8.87	0.33
Cys2	204.14	22.56	29.47	1.55
Ile	113.15	103.55	81.78	60.33
Leu	113.15	68.57	100.26	78.09
Phe	147.17	109.43	55.37	3.01
Trp	186.2	199.41	19.48	9.82
Lys	128.17	48.16	21.86	2.01

BRGT: brown rice-green tea; CIST: chestnut inner skin tea; CTT: *Cassia tora* tea

성되어 있다고 볼 수 있으며, 추출시간에 따른 농도변화는 그다지 크지 않다는 것을 확인할 수 있다. 현미녹

Table 1. Sugar composition of BRGT, CIST and CTT(Brewing temp. 70°C) (unit ; mM)

Tea type	Brewing time(min.)	Sugars					
		Fructose	Galacto-samine	Gluco-samine	Galactose	Glucose	Mannose
BRGT	3	-	-	-	0.095	1.594	-
	10	-	-	-	0.127	1.535	-
	15	-	-	-	0.093	1.587	-
CIST	3	-	-	-	0.024	1.455	0.100
	10	-	-	-	0.014	1.464	0.130
	15	-	-	-	0.016	1.757	0.195
CTT	3	-	-	-	-	0.195	-
	10	-	-	-	0.055	0.164	-

BRGT: brown rice-green tea; CIST: chestnut inner skin tea; CTT: *Cassia tora* tea
(2nd): brewed second time

Table 3. Caffeine contents of BRGT, CIST and CTT

Tea type	Brewing temp.(°C)	Brewing time(min.)	Caffeine (mg/l)
BRGT	70	3	162.6
	70	10	126.6
	70	15	135.0
CIST	70	3	5.3
	70	10	-
	70	15	-
CTT	70	3	-
	70	10	-

BRGT: brown rice-green tea; CIST: Chestnut inner skin tea; CTT: *Cassia tora* tea

- : less than 0.2 mg/l or not detected.

차나 결명자차와는 달리 밤차에는 mannose가 0.1mM 정도 들어 있는 것을 볼 수 있다. Mannose는 천연에 유리상태로 거의 존재하지 않는 것으로 알려져 있으며, 특히 mannose는 유전자 질병에 치료에 관여되는 성분중의 하나로 알려져 있어 연구해볼 만한 가치가 있다.

Table 2는 현미녹차, 밤차, 결명자차를 70°C에서 10분간 추출한 차액의 아미노산을 분석한 결과를 나타낸 것으로 현미녹차에는 Asp., Asn., Ser., Gln., Gly., His., Thr., Tyr., Val., Met., Met., Ile., Phe., Trp., Lys. 등이 상대적으로 많이 들어있으며 밤차에는 Glu., Cys., Arg., Ala., Pro., Cys2, Leu. 등이 상대적으로 많이 들어 있고 결명자차에는 아미노산 존재량이 현미녹차나 밤차에 비해 현저히 적다는 것을 알 수 있다.

Table 3은 70°C에서 추출한 현미녹차 밤차 결명자차의 카페인을 분석한 결과로서 밤차와 결명자차에는 카페인이 거의 없으며 현미녹차에는 100 mg/l 이상 들어 있다는 것을 확인할 수 있다.

2. 밤차, 현미녹차, 결명자차가 국소 뇌혈류량에 미치는 영향

뇌란 생명유지의 중추로서 원활한 뇌혈류 유지를 통해 산소와 포도당 등의 영양물질을 얻고, 이산화탄소 등의 노폐물을 제거함으로써 적당한 기능을 하는 것¹²⁾으로, 분당 약 1 l 씩 박출하는 심장으로부터의 혈액을 공급받아 제기능을 하지만 만약 혈액이 제대로 공급되지 않을 경우에는 산소결핍과 포도당의 부족으로 뇌기능장애 및 뇌조직의 손상을 가져온다. 즉, 산소

가 차단되면 정상적인 뇌기능은 8~10초 정도만 유지될 뿐 6~8분이 지나면 신경계의 손상이 초래되는 것이다. 그러나 평균뇌혈류량과 대사량은 매일의 일상적인 생활에 의해 영향을 받지는 않지만 육체적 또는 정신적 활동에 의해 이러한 활동과 관련된 뇌의 일정 부위에서 국소뇌혈류량이 증가한다는 사실은 인체의 원활한 활동을 위해 뇌의 일정부위에서 적당한 혈류 유지가 필요하다라는 것이다. 또한 뇌혈류량(CBF)을 결정하는 요인으로는 외인적 요소인 동맥관류압, 즉 혈압으로서 이는 심장 박출량과 말초혈관 저항에 의해 결정되는데 이는 연수의 혈관운동중추에 의해 조절되며, 혈관의 변화인 죽종성반 또는 동맥경화증으로도 변화된다^{9~11)}.

흰쥐의 국소뇌혈류량에 미치는 결명자차, 녹차 및 밤차의 효과를 규명하기 위하여 각 농도별로 흰쥐의 대퇴정맥내 투여한 다음 초래되는 국소뇌혈류량의 변동을 LDF로 측정된 결과를 Fig. 1에 표시하였다.

결명자차의 경우 결명자차를 투여하기 전 control의 국소뇌혈류량을 100(%)로 하였을 때 0.01, 0.1, 1.0, 10.0(mg/kg, iv)을 투여한 결과는 각각 104.41±0.05, 103.51±0.05, 108.00±0.03, 110.13±0.08(%)로 농도에 의존하여 국소뇌혈류량이 증가하는 경향을 나타내었다. 녹차의 경우는 녹차를 투여하기 전 control의 국소뇌혈류량을 100(%)로 하였을 때 0.01, 0.1, 1.0, 10.0(mg/kg, iv)을 투여한 결과는 각각 92.52±0.07, 90.80±0.10, 93.62±0.07, 99.73±0.10(%)으로 저농도에서는 감소하는 경향을 보이다가 농도가 증가할수록 정상적으로 회복되는 경향을 나타내었다. 밤차의 경우는 밤차를 투여하기 전 control의 국소뇌혈류량을 100(%)로 하였을 때 0.01, 0.1, 1.0, 10.0(mg/kg, iv)을 투여한 결과는 각각 92.47±0.06, 93.26±0.17, 93.44±

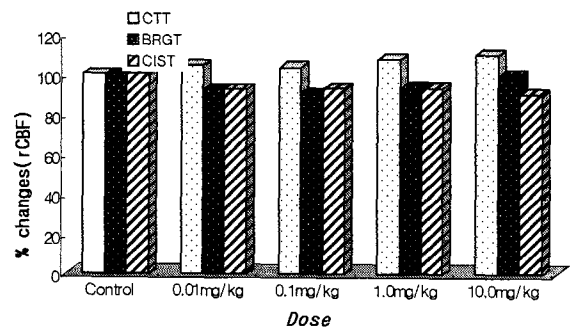


Fig. 1. Effects of CTT, BRGT, CIST on the regional cerebral blood flow(rCBF) in Rats. (CTT : *Cassia tora* tea, BRGT: brown rice-green tea, CIST: chestnut inner skin tea.)

0.10, 90.26 ± 0.10 (%)으로 대조군에 비하여 국소뇌혈류량이 감소하는 경향을 나타내었다.

3. 밤차, 현미녹차, 결명자차가 혈압에 미치는 영향

흰쥐의 혈압에 미치는 결명자차, 녹차 및 밤차의 효과를 규명하기 위하여 각 농도별로 흰쥐의 대퇴정맥내 투여한 다음 초래되는 혈압의 변동을 LDF로 측정된 결과는 Fig. 2에 나타난 바와 같다.

결명자차의 경우 결명자차를 투여하기 전 control의 혈압을 100(%)로 하였을 때 0.01, 0.1, 1.0, 10.0(mg/kg)을 투여한 결과는 각각 96.48 ± 0.09 , 98.84 ± 0.07 , 101.33 ± 0.07 , 97.81 ± 0.04 (%)로 대조군과 비교하여 혈압은 별다른 반응을 나타내지 않았다. 녹차의 경우는 녹차를 투여하기 전 control의 혈압을 100(%)로 하였을 때 0.01, 0.1, 1.0, 10.0(mg/kg)을 투여한 결과는 각각 103.56 ± 0.06 , 102.82 ± 0.05 , 104.95 ± 0.05 , 108.25 ± 0.06 (%)으로 저농도에서는 대조군과 유사한 결과를 나타내다가 농도가 증가할수록 혈압이 증가하는 경향을 나타내었다. 밤차의 경우는 밤차를 투여하기 전 control의 혈압을 100(%)로 하였을 때 0.01, 0.1, 1.0, 10.0(mg/kg)을 투여한 결과는 각각 99.03 ± 0.04 , 98.69 ± 0.04 , 101.47 ± 0.03 , 101.85 ± 0.03 (%)으로 대조군과 유사한 혈압의 변동을 나타내었다.

4. 밤차, 현미녹차, 결명자차가 면역세포의 증식에 미치는 영향

면역은 인체내에 이물질의 침입이나 변이세포가 발생하였을 때 면역계가 관여하여 이물은 물론 새로이 발생된 변이세포를 非自己로 인식하여 처리하는 능력을 발휘함으로써 개체의 항상성을 유지하려는 현상을 말하는 것으로 식세포나 보체가 관여하는 선천적 면역과 T세포와 B세포가 관여하는 후천적 면역으로 나누어진다. 또한 면역반응에 따라 체액성 면역(humoral immunity)과 세포매개성 면역(cell-mediated immunity)으로 분류되는데, 체액성 면역은 B세포가 주로 담당하는 것으로 혈액 및 기타의 체액속에서 방출된 항체로 생체에 감염을 일으킨 세균이나 세균독소, virus 등과 직접 결합하여 용균 또는 독소, virus의 중화, 식균현상을 나타냄으로써 생체를 감염으로부터 방어하는 기능을 담당하고, 세포 매개성 면역은 T세포가 주로 담당하는 것으로 알러지반응, 접촉피부염, 동종이식거부 등을 나타내는 면역의 종류이며, 화학전달물질(lymphokine)들을 분비함으로써 종양세포나 virus 감염세포에 대해 직접 손상을 준다^{9,11,12}. 암은 지금까지 알려져 있는 사망원인중 비교적 높은 비

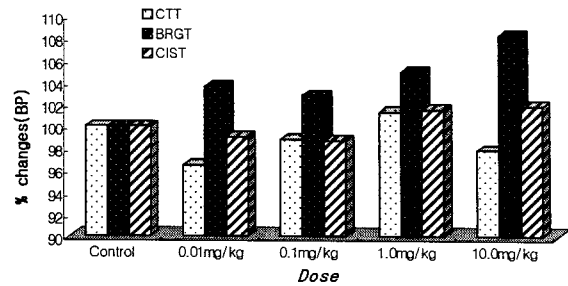


Fig. 2. Effects of CTT, BRGT, CIST on the mean arterial blood pressure(BP) in Rats. (CTT: *Cassia tora* tea, BRGT: brown rice-green tea, CIST: chestnut inner skin tea.)

율을 차지¹³)하고 있으며, 이를 정복하려는 노력 또한 국내외적으로 다양하게 진행되고 있는데, 한의학에서는 이를 치료하기 위하여 補氣·補血을 爲主로 하면서 破積·活血·清熱·解鬱·行氣 등의 치료법들을 겸용^{14~18})하고 있고, 양의학에서는 수술요법·방사선요법·화학요법¹⁹) 및 면역요법과 유전자요법 등을 사용하나 수술요법과 방사선요법은 국소적인 치료법이기 때문에 한계성이 있고, 전신요법인 면역요법도 현재로서는 치료방법이 정립되어 있지 않은 상태이며, 화학요법 자체도 화학 약제의 독성 및 부작용 문제를 해결하지 못하고 있는 실정이다^{20~22}). 이러한 이유로 한의학에서는 면역세포의 증식을 활성화시키면서 암세포의 증식을 억제하려는 노력들이 진행되고 있다. 본 실험은 비록 항암 및 면역기능 활성화에 유효한 치료약물을 개발하는 연구는 아닐지라도 암환자에 있어 암세포의 번식을 촉진시키지 않고 면역기능을 증강시킬 수 있는 음료개발에 그 목적을 두고 있을 뿐만 아니라 이와 더불어 항암효과까지 있는 음료가 있다면 암환자 및 일반인들에게까지 그 유용가치가 우수하리라 사료된다.

그리하여 마우스의 흉선세포 및 비장세포의 증식에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 결명자차, 녹차, 물로 추출한 밤차 그리고 에탄올로 추출한 밤차를 각각 *in vitro*로 투여한 결과 면역세포에 미치는 세포독성은 Fig. 3 및 Fig. 4와 같이 나타났다.

결명자차를 투여하지 않은 control의 증식율을 100(%)라 하였을 때 결명자차 1, 10, 100($\mu\text{g}/\text{ml}$)를 투여한 경우 흉선세포는 투여농도가 증가할수록 세포독성을 나타내었지만 유의성은 인정되지 않았고, 비장세포는 대조군의 증식율과 유사한 결과를 나타내었다.

녹차를 투여하지 않은 control의 증식율을 100(%)라 하였을 때 녹차 1, 10, 100($\mu\text{g}/\text{ml}$)를 투여한 경우

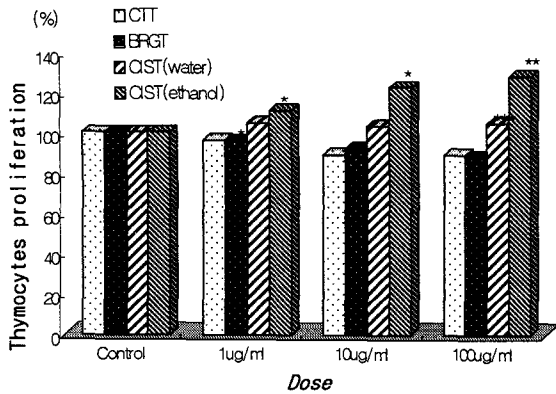


Fig. 3. Effects of CTT, BRGT, CIST on the cytotoxicity of thymocytes *in vitro*. * : statistically significance compared with control group (*; <0.05, *** ; P<0.001)(CTT: *Cassia tora* tea. BRGT: brown rice-green tea. CIST: chestnut inner skin tea.)

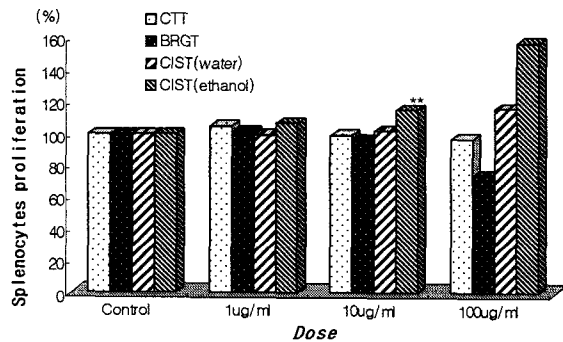


Fig. 4. Effects of CTT, BRGT, CIST on the cytotoxicity of splenocytes *in vitro*. * : statistically significance compared with control group (**; <0.01)(CTT: *Cassia tora* tea. BRGT: brown rice-green tea. CIST: chestnut inner skin tea.)

홍선세포는 결명자차와 유사한 투여농도의 증가에 따른 세포독성을 유의성(P<0.001)있게 나타내었고, 비장세포 역시 농도가 증가함에 따라 세포독성을 나타내었지만 유의성은 인정되지 않았다.

물로 추출한 밤차를 투여하지 않은 control의 증식율을 100(%)라 하였을 때 밤차 1, 10, 100(μg/ml)를 투여한 경우는 홍선세포와 비장세포 모두 투여농도가 증가할수록 면역세포의 증식을 나타내었고, 특히 비장세포의 경우는 대조군에 비하여 16(%)정도의 세포 증식 효과를 나타내었다. 또한 에탄올로 추출한 밤차의 경우는 물로 추출한 밤차보다 홍선세포는 대조군

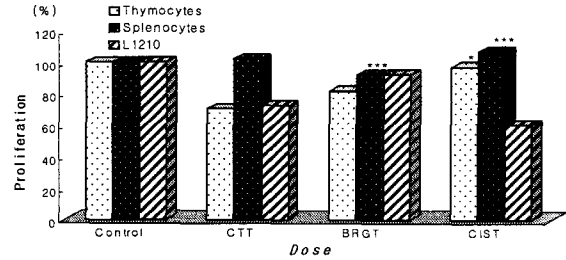


Fig. 5. Effects of CTT, BRGT, CIST on the proliferation of lymphocytes and L1210 cells *in vitro*. * : statistically significance compared with control group (*; <0.05, ***; P<0.001) (CTT: *Cassia tora* tea. BRGT: brown rice-green tea. CIST: chestnut inner skin tea.)

에 비해 약 28(%)정도의 유의성 있는 증식을, 비장세포는 대조군에 비해 약 58(%)정도의 증식효과를 나타내었다.

5. 밤차, 현미녹차, 결명자차가 암세포가 이식된 마우스의 면역세포 및 암세포의 증식에 미치는 영향

마우스에 백혈병 세포주인 L1210세포를 이식한 후 결명자차, 녹차, 밤차를 각각 7일 동안 1일 1회 0.1ml를 투여한 후 각 차들의 효능을 규명하기 위하여 마우스의 홍선세포 및 비장세포의 증식능, 그리고 마우스의 복강에 있는 L1210세포를 수집한 후 MTT assay를 통해 증식능을 관찰한 결과를 Fig. 5와 같이 나타냈다.

차를 투여하지 않은 control의 증식율을 100(%)라 하였을 때 결명자차를 투여한 경우 비장세포의 증식율은 대조군과 유사한 결과를 나타내었지만 홍선세포와 암세포는 각각 30(%)정도의 증식이 억제되었다.

녹차의 경우 홍선세포는 대조군에 비해 약 19(%)의 증식억제를 나타내었고, 비장세포와 암세포는 대조군에 비하여 약 9(%)정도의 증식억제를 나타내었다. 밤차의 경우 홍선세포는 대조군에 비교하여 유사한 결과를 나타내었지만 비장세포는 증식을 촉진시켰고, 특히 암세포의 경우는 면역세포의 증식과는 다른 40(%)정도의 증식 억제효과를 나타내었다.

요 약

결명자차, 녹차 및 밤차가 인체의 생체기능활성화에 미치는 영향을 알아보기 위하여 국소뇌혈류량 및 혈압, *in vitro*상에서의 면역세포의 활성화, 그리고 암세포가 이식된 동물에서의 면역세포 활성화와 암세포

의 증식억제 효과를 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 단당류는 현미녹차와 결명자차에는 glucose, galactose 등이 들어 있으나 밤차에는 glucose, galactose, mannose가 들어 있다.
2. 아미노산은 현미녹차, 밤차, 결명자차 순으로 들어 있다.
3. 카페인은 현미녹차에는 들어 있으나 밤차와 결명자차에는 들어 있지 않았다.
4. 결명자 차는 국소뇌혈류량을 증가시킨 반면 밤차는 감소시켰다.
5. 녹차는 혈압을 증가시켰다.
6. 밤차는 *in vitro* 상에서 흉선세포와 비장세포의 증식을 유의성있게 증가시켰다.
7. 결명자차와 녹차는 *in vitro* 상에서 흉선세포의 증식을 감소시켰다.
8. 결명자차와 녹차는 L1210세포가 이식된 동물의 흉선세포 증식을 감소시켰다.
9. 밤차는 L1210세포가 이식된 동물의 비장세포 증식을 촉진시켰다.
10. 밤차와 결명자차는 L1210세포가 이식된 동물의 암세포 증식을 억제하였다.

감사의 글

본 연구는 2000년도 농림부 첨단기술개발 사업에 의해 수행된 연구결과의 일부이며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Bederson J. B., et al : Rat middle cerebral artery occlusion : Evaluation of the model and development of a neurologic examination. *Stroke*, 17, 472~476 (1986).
2. Chen S. T., Hsu C. Y., Hogan E. L., Maricque H., Balentine J. D. : A model of focal ischemic stroke in the rat: reproducible extension cortical infarction. *Stroke*, 17, 738~743 (1986).
3. Wysocki L.J. and Sato V.L. : "Planning" for lymphocytes : A method for cell selection. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA.*, 75(6), 2844~2848 (1978).
4. Mizel S. B., Rosenstreich D. L. : Regulation of lymphocyte-activating factor(LAF) production and secretion in P388D1 cells ; identification of high molecular weight precursors of LAF. *J. Immunol. Methods*, 122(6), 2173~2179 (1979).
5. Mosmann T. : Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival ; application to proliferation and cytotoxic assays. *J. Immunol. Methods*, 65(1-2), 55~63 (1983).
6. Kotnic V. and Fleischmann W.R.Jr. : A simple and rapid method to determine hematopoietic growth factor activity. *J. Immunol. Methods*, 65(1-2), 55~63 (1983).
7. Snedecor G. H. and Cochran W. G. : *Statistical Methods*, 6th ed. Amos. Iowastate Univ. (1967).
8. 김기석 : 뇌, 서울, 성원사, 49~50 (1989).
9. 김상호, 문형배, 서재홍, 정동규, 정상우: 일반병리학, 서울, 고문사, 51~54, 131~146, 348~349 (1995).
10. 대한병리학회 : 병리학, 서울, 고문사, 1263~1264 (1994).
11. 이증달 : 그림으로 설명한 병리학, 서울, 고려의학, 740~743, 99~124 (1995).
12. 하대유의 25인 : 면역학, 서울, 고문사, 1~32 (1994).
13. 대한의학협회 분과학회협의회 편저 : 암의 진단과 치료, 서울, 여문각 (1992).
14. 郁仁存 : 中醫腫瘤學, 北京, 北京科學技術出版社, 1~10 (1983).
15. 李 岩 : 腫瘤臨證備要, 北京, 人民衛生出版社, 11~26 (1983).
16. 張代釗 : 中西醫結合治療癌證, 山西, 山西人民出版社, 11~19 (1984).
17. 錢伯文 : 腫瘤的辨證施治, 上海, 上海科學技術出版社, 1~10 (1980).
18. 崔昇勳 : 東醫腫瘍學, 서울, 杏林出版, 37~42 (1995).
19. 이창혜의 3인 : 시험관 및 생체내 암細胞(S-180YS)의 adriamycin에 대한 내성細胞의 염색체 분포특성, *연세 의대 논문집*, 16, 180 (1983).
20. Kim, S. H. : Clinical comparison with drug sensitivities by the human tumor clonogenic assay, *J. Kor. Cancer Assoc.*, 21, 11 (1989).
21. Park, C. G., Lim, D. K., Kook, Y. H., Cha, C. R. and Paik, C. G. : *in vitro* chemsensitivity of doxorubicin on human cancer cell lines, *J. Kor. Cancer Assoc.*, 22, 61 (1990).
22. Willson, J. K. V., Bittner, G. N., Oberley, T. D., Meisner, L. F., & Weese, J. L. : Cell culture human colon adenomas and carcinomas. *J. Cancer Res.*, 47(10), 2704~2713 (1987).

(2000년 8월 16일 접수)