

호장근에 의한 *Helicobacter pylori*의 생육 저해

이인선* · 임효권¹ · 이승욱

계명대학교 전통미생물자원개발 및 산업화연구(TMR) 센터, ¹계명대학교 식품가공학 전공

Growth Inhibition of *Helicobacter pylori* by *Reynoutria elliptica* Migo.

In-Seon Lee*, Hyo Gwon Im¹ and Syngook Lee

The Center for Traditional Microorganism Resources

¹Department of Food Science and Technology, School of Natural Science, Keimyung University

This study was performed to evaluate the potentiality of *Reynoutria elliptica* Migo., being used as a folk remedy and a herb medicine for urethritis, cystitis, etc., on growth inhibition of *Helicobacter pylori* which is known as the ulcerogenic pathogen. The minimum inhibitory concentration (MIC) value of methanol extract from *Reynoutria elliptica* Migo. was determined to be 120 ppm for *H. pylori* and urease activity derived from *H. pylori* was inhibited over 80% by the extract at 2 mg/mL in urea broth. Among various solvent fractions of the methanol extract, the hexane fraction showed a significant inhibitory effect on the growth of *H. pylori* reducing both its growth and urease activity. Scanning and transmission electron micrographs of *H. pylori* treated with the methanol extract at 2 mg/mL for 3 hr showed that the cell walls and membranes were disrupted so that the cytoplasmic components were leaked from the body. These results suggest that *Reynoutria elliptica* Migo. possesses a therapeutic potential on the gastric disease caused by *H. pylori*.

Key words: *Reynoutria elliptica* Migo., *Helicobacter pylori*, MIC, urease

서 론

Helicobacter pylori(*H. pylori*)는 1980년도 초반 Warren과 Marshall이 위 질환 환자의 위 유문부 생검 조직에서 처음으로 분리하여 보고⁽¹⁾된 이후 여러 가지 역학적 연구를 통하여 위염, 위궤양, 십이지장궤양, 나아가서는 위암의 발병에 있어 중요한 병원성 인자로 인식되어지고 있다⁽²⁻⁴⁾.

*H. pylori*는 주로 위 점막 상피세포간 접합부에 서식하는 미호기성의 Gram 음성 나선균으로 *in vitro*상의 agar 배지에서는 간균의 형태를 찾아보기 어렵고, 배양시간이 길어질수록 원형으로 변형된다. 하지만 사람의 위에 감염되면 위 점막에서 운동성의 나선형으로 바뀌어 위 세포 및 위 점막조직에 colony를 형성하며, 생육최적 온도는 30~37°C으로, 25°C 이하 또는 45°C 이상에서는 자라지 않는 것으로 알려져 있다⁽⁵⁻⁷⁾. *H. pylori*의 특이할 만한 생리화학적 특성은 아주 강한 urease 생산능을 가지고 있어 위 점막의 혈장 삼출액이나 조직액 내에 존재하는 요소를 암모니아와 중탄산염으로 분

해하여 균체 주위를 알칼리성으로 만듦으로써 강산성의 위 내에서 생존이 가능하며⁽⁸⁾, 특히 이때 암모니아가 생산하는 Vac A와 같은 세포독성물질이 위 표피세포를 손상 및 괴사시키고, *H. pylori*의 lipopolysaccharide가 위점막의 glycosylation과 sulfation을 저해하여 mucin의 구조변화를 일으킴으로써 위 표피세포가 위산에 쉽게 노출된다고 알려지고 있다^(9,10).

*H. pylori*의 정확한 오염경로나 전염원에 대하여서는 아직까지 정확히 증명된 바는 없지만 경구적 방법에 의하여 전달·감염되는 것으로 추정하고 있다. 우리나라의 성인의 약 80%정도가 이 균에 감염되었으나 임상증상을 나타내지 않고 있다가, 어떠한 발병촉진 인자의 영향으로 만성적인 위 십이지장 궤양을 유발한다는 보고^(11,12) 등을 감안하여 볼 때, *H. pylori* 자체에 대한 연구와 병행하여 근본적인 예방이나 치료를 위한 새로운 방법이 시도될 필요가 있다. 지금까지 많은 항생제들이 *H. pylori*에 대해 우수한 항균효과가 있는 것으로 알려져 있음에도 불구하고 단일 항생제에 의한 *H. pylori*의 박멸은 성공하지 못하고 있다. 현재 *H. pylori* 치료법으로는 bismuth제와 metronidazole과 함께 tetracycline 또는 amoxicillin을 병용 처리하는 일반적인 3중요법과 bismuth제, omeprazole, tetracycline과 metronidazole을 혼합한 4중요법 등이 *H. pylori*에 우수한 저해효과를 나타낸다고 보고되어 있으나 항생제 투여에 의한 내성 균주 출현 및 위 내에서의 약물의 침투성과 치료 후에 성장이 억제되어있던 균

*Corresponding author : In-Seon Lee, The Center for Traditional Microorganism Resources, Keimyung University, 1000 Sindang-Dong, Dalseo-Gu, Daegu 704-701, Korea
Tel: 82-53-580-5906
Fax: 82-53-580-5538
E-mail: inseon@kmu.ac.kr

이 다시 재 증식하는 문제가 지적되고 있다⁽¹³⁾.

따라서, *H. pylori*의 근절을 위한 새로운 접근은 위장질환의 효과적인 예방 및 치료를 위하여 필수적으로 요구되고 있으며, 이와 더불어 최근 다양한 천연 소재들을 이용한 실험들이 시도되고 있다. Tabak 등⁽¹⁴⁾은 향신료인 thyme에서, Diker 등⁽¹⁵⁾은 녹차, Francesco 등⁽¹⁶⁾은 식물의 polyphenol, Toshio 등⁽¹⁷⁾은 포도즙을 이용하여, Midolo 등⁽¹⁸⁾은 유산균으로부터, 남궁 등⁽¹⁹⁾은 곰팡이로부터 그리고 이 등⁽²⁰⁾은 소목 등 몇 가지 약용식물로부터 *H. pylori*에 대한 항균활성을 확인하였다.

虎杖은 마디풀과에 속하는 다년초로 옛부터 민간에서 이뇨, 요도염, 방광염등의 치료약으로 사용되어온 생약으로서 虎杖(*Polygonum cuspidatum* SIED. et Zucc. 'Polygonaceae')과 그 근목식물의 근경을 虎杖(*Reynoutria rhizoma*)으로 공용하고 있다. 한국에 분포되어 있는 호장류로서는 호장(*Polygonum cuspidatum* SIED. et Zucc.), 왕호장(*Polygonum sachalinense* FR. SCHM.) 및 둥근잎호장(*Polygonum ellipticum* MIGO) 등 3류가 있으며 시판 호장의 대부분은 직생성근경형인 왕호장의 근경이라는 것이 보고되었다. 호장류의 화학성분에 관한 연구로는 일본산 호장과 왕호장의 잎에서 anthraquinone류인 emodin, physcion, chrysophanol과 flavonoid류인 quercitrin, isoquercitrin, reynoutrin을 그리고 어린순에서 malic acid, tartaric acid, citric acid를 단리 보고하였고, 일본산 호장의 뿌리에서 anthraquinon류와 stilbene류인 resveratrol과 그 배당체인 piceid를 단리 보고한 바 있다^(21,22).

본 연구에서는 한방에서 위질환 치료에 사용되고 있거나 항균성을 가지는 것으로 알려진 약용식물들 중 기존에 보고되지 않은 28종을 토대로 하여 *H. pylori*에 대한 항균활성을 탐색한 후 가장 우수한 항균활성을 보인 호장근을 이용하여 메탄올 추출물과 다양한 용매 분획물을 제조하여 *H. pylori*에 대한 생육 저해 효과 및 urease 활성 억제 효과를 확인하였다.

재료 및 방법

시료의 제조 및 분획

본 실험에 사용된 호장근은 대구광역시 약령시장에서 건조상태인 것을 구입하여 사용하였다. 먼저 호장근을 10배 용량의 80% methanol과 혼합하여 24시간 동안 정치 추출하고, 이를 총 3회 반복 추출하였다. 추출액은 여과지(Whatman No. 1, England)를 사용하여 2회 여과하고 회전감압 농축기(R-3000, Buchi, Switzerland)로 농축하여 동결건조를 한 후 분말화 하여 본 실험의 시료로 사용하였다. 메탄올 추출물을 불에 녹인 후 극성이 서로 다른 용매(hexane, chloroform, ethyl acetate, butanol)를 이용하여 순차 분획 후 각각 농축하고 동결건조 함으로써 각 용매에 대한 분획물을 얻었다.

사용균주 및 배양

실험에 사용한 균주는 위십이지장 궤양 원인균으로 알려진 *H. pylori*로서 표준균주인 KCTC 2948을 유전자은행으로부터 분양 받아 사용하였다. 배양은 10%(v/v)의 calf serum (Gibco BRL, USA)을 함유하는 brucella broth(Difco, USA)

를 사용하여 10% CO₂ incubator에서 microaerobic condition을 유지시켜 주고, 습도는 항상 95% 이상 유지하면서 37°C에서 18시간 간격으로 3회 계대 배양하여 사용하였다.

호장근 추출물의 항균효과 및 MIC 측정

*H. pylori*에 대한 호장근 추출물의 항균효과는 agar disc diffusion으로 조사하였다. *H. pylori*를 10⁸~10⁹ CFU/mL의 농도로 brucella 한천배지에 도말 한 후 멸균된 cylinder(inner diameter 6 mm)를 올려놓았다. 호장근 추출물은 membrane filter(0.45 µm)로 제균하고 cylinder에 각각의 농도로 첨가하여 37°C의 CO₂ incubator에서 48시간 배양 후 cylinder 주위에 생성된 inhibition zone의 유무 확인 및 직경을 측정하여 항균 활성을 측정하였다.

MIC(minimum inhibitory concentration)측정은 이 등⁽²⁰⁾의 방법을 변형하였다. 먼저 brucella broth에 호장근 추출물을 0.45 µm membrane filter로 제균하여 2-fold dilution을 실시하였다. 여기에 *H. pylori*를 10⁶ CFU/mL의 농도로 접종하여 CO₂ incubator에서 18시간 배양 후, 100 µL 씩을 취하여 brucella 한천 배지에 도말하고 동 조건으로 배양시켜 colony 생성유무를 확인하여 해당 추출물에 대한 MIC를 측정하였다. 이상의 실험들은 항균효과가 초기 pH에 의해 나타나는 것을 방지하기 위해 추출물의 pH를 7.0으로 보정한 후 실시하였으며, 최초 호장근 추출물의 pH는 5.45이었다.

호장근 추출물의 urease 활성 억제 효과

먼저 *H. pylori*로부터 crude urease의 분리는 하⁽²³⁾의 방법을 변형하여 사용하였다. 즉 brucella broth에 3일간 배양한 *H. pylori*를 20 mM phosphate buffer(pH 7.2)로 2회 세척 한 후 4°C에서 6분간 sonication(U200S control, Ika, Germany) 시키고, 15,000 rpm으로 10분간 원심 분리하여 상등액을 crude urease로 사용하였다. 이 때 단백질 농도는 Lowry 방법⁽²⁴⁾에 따라 측정하였다. 분리된 urease 활성은 이 등⁽²⁰⁾의 방법으로 urea broth(Difco, USA) 1 mL에 urease 300 µL를 첨가하여 22°C에서 2시간 동안 반응시키며 20분 간격으로 pH 및 흡광도(O.D._{560nm}) 변화를 측정하였다.

호장근 추출물의 urease 억제효과는 이 등⁽²⁰⁾의 방법으로 4.2 mL urea broth에 각종 농도의 추출물을 500 µL 첨가한 후 pH를 7.0으로 보정한 다음 300 µL의 urease를 첨가하여 22°C에서 2시간 반응시키면서 20분 간격으로 pH변화를 측정하였다. Urease 활성억제율은 추출물을 첨가하지 않은 대조군의 pH 변화값을 1로 기준하여 각 농도에 따른 추출물의 pH 변화를 백분율로 환산하였다.

주사전자현미경 조사

호장근 추출물 처리에 의한 균체 표면의 손상 여부를 관찰하기 위하여, 18시간 동안 배양 한 후 시료를 처리하고 다시 3시간 배양시켰다. 배양한 균체를 2.5% glutaraldehyde를 함유한 0.1 M phosphate buffer로 4°C에서 4시간 전고정시킨 후 동일한 buffer로 3~4회 세척하고 다시 1% osmium tetroxide(OsO₄)를 함유한 buffer에서 90분간 후고정을 하였다. 다음에 동일한 buffer로 세척한 후 30~100% alcohol로 순차적으로 탈수하였으며, 이를 isoamyl acetate 에 1시간 정도 치

Table 1. Growth inhibition of *Helicobacter pylori* KCTC 2948 by methanol extract from *Reynoutria elliptica* Migo. and minimum inhibitory concentration (MIC) of the extract

	mg/cylinder					MIC (ppm)
	Control	0.5	1.0	2.5	5	
	Inhibition zone diameter (mm) ¹⁾					
<i>Reynoutria elliptica</i> Migo.	6	11	15	16	17	120

¹⁾Cylinder diameter (6.0 mm) was included.

Table 2. Growth inhibition of *Helicobacter pylori* KCTC 2948 by various solvent fractions from *Reynoutria elliptica* Migo.

Fraction	mg/cylinder				
	Control	0.125	0.25	0.5	1
	Inhibition zone diameter (mm) ¹⁾				
Hexane	6	15	18	20	24
Chloroform	6	12	13	15	17
Ethyl Acetate	6	6	6	6	13
Butanol	6	6	6	6	6
Water	6	6	6	6	6
Ampicillin	6	20	21	24	.

¹⁾Cylinder diameter (6.0 mm) was included.

환을 시킨 후 critical point dryer(HCP-2, HITACHI, Japan)로 건조하고, Ion coater(IB-5, EIKO, Japan)를 이용하여 백금 coating을 시킨 다음 주사전자 현미경(S-4100, HITACHI, Japan)으로 관찰하였다.

투과전자현미경 조사

호장근 추출물 처리에 의한 균체 내부의 손상 여부를 관찰하기 위하여, 위와 같은 조건으로 배양한 시험균의 균체를 2.5% glutaraldehyde를 함유한 0.1 M phosphate buffer로 4°C에서 4시간 전고정시킨 후 동일한 buffer로 3~4회 세척하고 다시 1% osmium tetroxide(OsO₄)를 함유한 buffer에서 90분간 후고정을 하였다. 다음에 동일한 buffer로 세척한 후 2% agar로 block을 만들어 30~100% alcohol로 순차적으로 탈수하였으며, epoxy와 propylene oxide를 섞은 용액으로 치환시킨 후 silicon capsule을 제조하였다. 이렇게 제조된 block sample을 Ultratome(MT-X, USA)을 사용하여 diamond knife로 절취하고, uranyl acetate와 Lead citrate로 염색을 한 후 투과전자 현미경(H-7600, HITACHI, Japan)으로 관찰하였다.

결과 및 고찰

호장근 추출물의 항균효과 및 MIC 측정

호장근 메탄올 추출물의 *H. pylori*에 대한 항균활성을 측정된 결과는 Table 1-2와 같다. 메탄올 추출물의 각 농도별 inhibition zone은 11~17 mm로 처리농도에 비례하여 *H. pylori*에 대한 항균효과가 증가하였으며, 최소저해농도(MIC)는 120 ppm으로 측정되었다. 한편, 호장근의 hexane과 chloroform 분획물에서만 항균효과가 나타났으며, 그 밖의 분획물에서는 항균효과를 거의 보이지 않았다. 그 중 hexane 분획물이 1 mg/cylinder의 농도에서 24 mm로 가장 높은 효과를 보여, positive control로 쓰인 ampicillin과 *H. pylori*에 대한 저해효과를 비

교한 결과 hexane(1 mg/cylinder) 분획물은 ampicillin(0.5 mg/cylinder)과 유사한 항균효과가 있음을 확인하였다.

Tabak 등⁽¹⁶⁾은 thyme의 열수추출물로부터 24 mm의 inhibition zone을 얻었으며, Diker와 Hascelik⁽¹⁷⁾는 차 추출물로부터 16~21 mm를, 하⁽²⁵⁾는 저령 메탄올추출물로부터 11 mm의 inhibition zone을 얻은 것으로 보고하였다. 또한 최소저해농도는 thyme이 3,500 ppm, 소엽이 190 ppm, 소목이 350 ppm 그리고 황련이 60 ppm으로 보고되었다. 이 등⁽²⁰⁾의 보고에 따르면 소엽의 경우 butanol 분획물에서, 소목은 ethyl acetate 분획물에서 황련의 경우는 butanol 분획물에서 가장 높은 효과를 보인 것으로 보고하였는데, 본 실험에서는 다소 다른 결과를 보여 hexane 분획물에서 가장 우수한 효과를 보였다. 이는 호장근에 존재하는 항균물질이 소엽, 소목 및 황련에 존재하는 활성물질들보다는 극성지수가 극히 낮은 물질임을 시사하며, 호장근의 hexane 분획물로부터 활성물질의 분리 및 구조규명에 대한 연구를 수행중에 있다.

Urease 분리 및 활성 억제 효과

*H. pylori*가 강산성 조건인 위 내에서 살 수 있는 이유는 위 내의 urea를 ammonia와 bicarbonate로 분해하여 산성조건을 중화시키는 urease 생산능이 있기 때문이다. *H. pylori*의 urease 생성능은 *Proteus* 균종의 생성능에 비해 100배 이상이며, 균체 단백질의 약 6% 정도가 urease로 알려져 있다^(25,26). Urease 활성의 저해는 *H. pylori*의 생육억제물질을 검색하기 위한 하나의 방법이 될 수 있다. 따라서, 우선 *H. pylori* 균체로부터 crude urease를 추출한 후 호장근 추출물이 urease 활성에 미치는 영향을 조사하였다.

먼저, urease 활성에 대한 억제효과를 검색하기에 앞서 분리한 crude urease의 활성을 urea broth를 이용하여 시간에 따른 pH와 흡광도(O.D._{560nm})의 변화로 확인하였다. 그 결과, pH 변화는 초기 pH 7.0에서 반응 2시간 후 pH 8.35로 계속적인

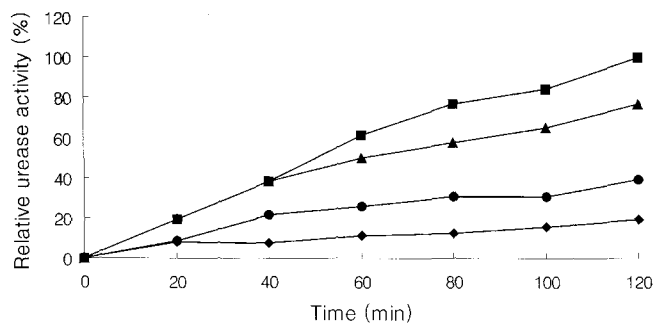


Fig. 1. Inhibition of *H. pylori* urease activity by *Reynoutria elliptica* Migo. methanol extracts in urea broth. ■ : control, ▲ : 0.5 mg/mL, ● : 1 mg/mL, ◆ : 2 mg/mL.

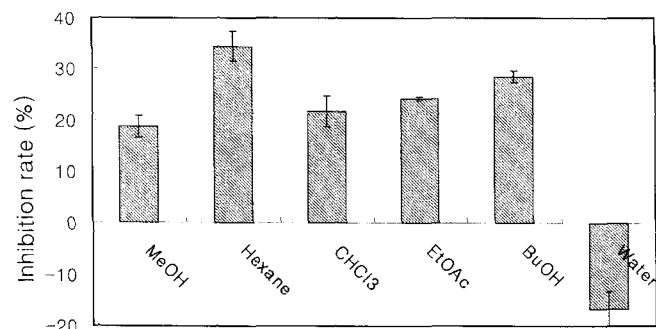


Fig. 2. Inhibition rate of *H. pylori* urease by methanol extract (200 µg/mL) and various solvent fractions (20 µg/mL) from *Reynoutria elliptica* Migo. at 2 hr after sample treatment in urea broth.

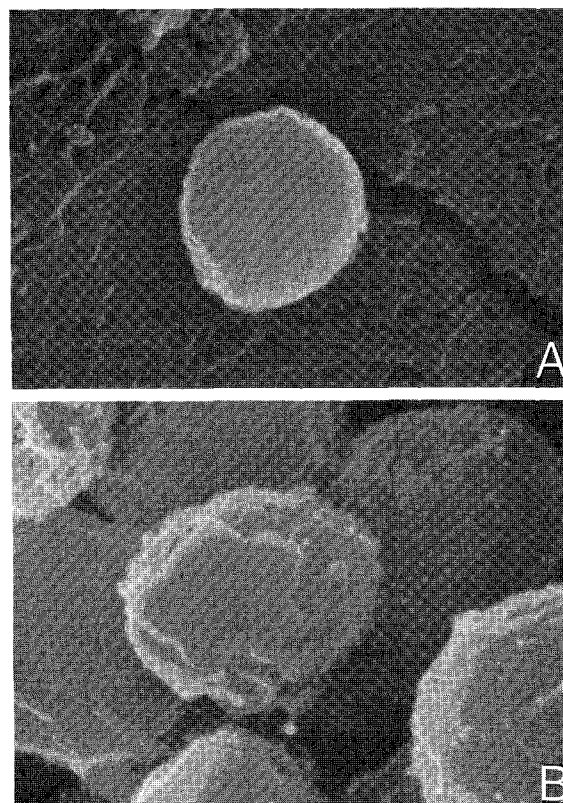


Fig. 3. Scanning electron micrographs of *H. pylori* treated with 2 mg/mL of methanol extract from *Reynoutria elliptica* Migo. for 3 hr.

A: control, B: treated with *Reynoutria elliptica* Migo..

증가를 보였고 흡광도는 2시간동안 0.85의 증가를 보였다. 이때의 단백질 함량은 Lowry⁽²⁴⁾ 방법으로 정량한 결과 4.32 ± 0.26 mg/mL로 측정 되었다.

호장균의 urease 활성 저해능을 확인한 결과, 반응 2시간 후 메탄올 추출물은 0.5 mg/mL의 농도에서 35%를 2 mg/mL의 농도에서 85%를 저해하는 것으로 나타났으며, 처리 농도가 증가 할 수록 저해 효과 또한 증가하였다(Fig. 1). 이는 thyme 열수추출물이 3 mg/mL의 처리농도에서 urease 활성을 약 45% 감소시킨다는 Tabak 등⁽¹⁶⁾의 보고와 저령 메탄올추출물이 10 mg/mL에서 약 55% 억제시킨다는 하⁽²³⁾의 보고 그리고 소목, 소엽 및 황련이 10 mg/mL에서 80% 이상의 억제 효과를 보였다는 이 등⁽²⁰⁾의 보고와 우수한 저해 효과이다. 또한, 각 분획물의 urease에 대한 저해 효과를 10배 농도의 메탄올추출물과 비교하였을 때, 20 µg/mL의 농도에서 water 분획을 제외한 모든 분획물들이 반응 2시간 후 대조군에 비해 30~40%의 저해를 보여 200 µg/mL 농도의 메탄올추출물이 20% 이하의 저해를 보인 것과 비교해 높은 활성을 보였다(Fig. 2). 그중 hexane 분획물이 항균실험 결과와 같은 경향으로 가장 높은 활성을 나타냈으며, 그와는 달리 항균효과를 보이지 않았던 butanol 분획물이 hexane 다음으로 높은 urease 저해활성을 보였다. 그리고 분획물의 종류에 따른 활성의 차이는 크게 보이지 않았다. 이와 같은 결과는 호장균에 존재하는 urease 활성 억제 물질이 항균 성분과는 달리 특정 분획물에 편중해서 존재하는 것이 아니라 여러 분획물에 다양하게 분포하고 있음을 시사한다.

주사전자현미경 조사

호장균 메탄올 추출물 처리에 의한 *H. pylori*의 형태변화를 조사하기 위하여 호장균 메탄올 추출물을 2 mg/mL 농도로 3시간 처리한 후 주사전자 현미경으로 관찰한 결과는 Fig. 3과 같다. 먼저 상에서 배양된 균체를 관찰한 결과 이 등⁽²⁰⁾의 보고와 같이 대부분의 균이 간균이 아닌 구균의 형태로 변형되어 있었다. 호장균을 처리하지 않은 균체는 표면이 깨끗하고 완전한 구형을 이루고 있는 반면, 호장균을 처리한 균체는 표층 구조가 심하게 허물고 떨어져 나간 것을 볼 수 있다. 이는 산수유 추출물을 대장균에 첨가 한 후 전자현미경으로 관찰한 결과 대조군에 비해 처리구의 표면은 세포막의 기능이 파괴되어 세포 내용물이 균체 외부로 유출된 현상이 보고⁽²⁷⁾된 것과, 백년초 추출물을 처리하였을 때 균체가 팽윤되고, 표층구조가 허물어지는 심한 형태학적 변화가 초래되었다는 보고⁽²⁸⁾와 유사한 형태를 보였다.

투과전자현미경 조사

호장균 메탄올 추출물 처리에 의한 세포내 상태나 세포벽의 형태변화를 조사하기 위하여 호장균 메탄올 추출물을 2 mg/mL 농도로 3시간 처리한 후 투과전자 현미경으로 관찰한 결과는 Fig. 4와 같다. 호장균을 처리한 처리구는 대조군에 비하여 세포가 팽대하고 일부 세포벽은 완전히 파괴되어 내용물이 모두 유출되어 균형태가 없어서 버린 것도 관찰되었다. 이는 강 등⁽²⁹⁾이 대장균에 갖 추출물을 처리한 결과 세

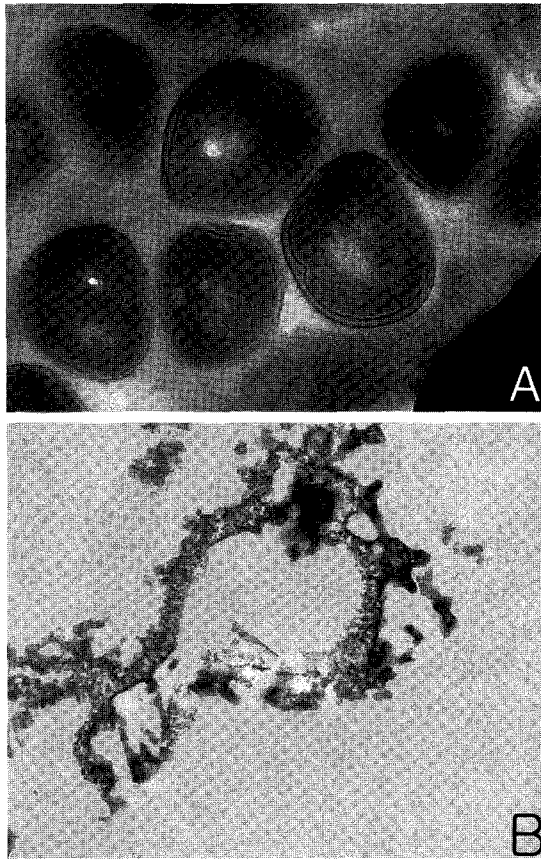


Fig. 4. Transmission electron micrographs of *H. pylori* treated with 2 mg/mL of methanol extract from *Reynoutria elliptica* Migo. for 3 hr.

A: Control, B: treated with *Reynoutria elliptica* Migo..

포벽의 약화로 인하여 균체성분이 세포외로 누출되었다는 보고와 일치하며, Tatsuguchi 등⁽³⁰⁾이 대장균에 NaCl 및 glycine 을 처리하여 균체성분이 외부로 유출되었다는 것과는 같은 형태 변화이다. 이들 결과로부터 호장균은 *H. pylori*의 세포벽 및 세포막의 기능을 약화시키거나 파괴하여 균체성분을 누출시킴으로써 균의 성장을 저해하리라 생각된다.

요 약

위질환 원인균으로 알려진 *H. pylori*의 생육을 저해하는 물질을 탐색하기 위하여 호장균 메탄올 추출물 및 분획물을 이용하여 *H. pylori*에 대한 항균실험 및 urease 활성 억제효과를 검토하였다. 호장균 메탄올 추출물의 항균실험을 실시한 결과 5 mg/cylinder의 농도일 때 inhibition zone이 17 mm 정도로 높은 항균성을 가지는 것으로 나타났으며, 분획물의 경우 1 mg/cylinder의 농도일 때 hexane 분획과 chloroform 분획물에서 각각 24 mm, 17 mm로 높은 항균 활성을 보였다. *H. pylori*의 crude urease를 분리하여 urea broth에서 흡광도와 pH를 조사한 결과, 반응 2시간 후 pH가 8.35까지 증가하였고 O.D._{560nm}에서의 흡광도는 0.859까지 증가하였다. 호장균에 의한 urease 활성억제는 호장균의 메탄올 추출물의 농도가 0.5 mg/mL에서 대조구에 비해 35% 억제효과를 보였고, 2

mg/mL에서는 85% 이상으로 매우 높은 억제활성을 보였다. 또한, 각 분획물의 저해 효과를 10배 농도의 메탄올추출물과 비교하였을 때, 20 µg/mL의 농도에서 water 분획을 제외한 모든 분획물들이 반응 2시간 후 30-40%의 저해를 보여 200 µg/mL 농도의 메탄올추출물이 20% 이하의 저해를 보인 것과 비교해 높은 활성을 보였다. 호장균 메탄올 추출물 처리에 의한 *H. pylori*의 형태변화를 조사하기 위하여 주사 및 투과전자 현미경으로 균의 형태를 관찰하였다. 주사전자 현미경 관찰 시 대조구는 균체 표면이 깨끗하고 완전한 구형을 이루고 있는 반면, 호장균 처리구는 균체 표층 구조가 심하게 허물고 떨어져 나간 것을 볼 수 있었고 또한 세포가 팽대하였고 일부 세포벽은 완전히 파괴되어 균체내 성분이 모두 유출되어 균 형태가 없어져 버린 것도 관찰되었다.

감사의 글

본 연구는 과학기술부·한국과학재단 지정 계명대학교 전통 미생물자원 개발 및 산업화 연구센터의 지원에 의한 것입니다.

문 헌

- Warren, J.R. and Marshall, B.J. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet* 1: 1273-1275 (1983)
- Marshall, B.J. and Warren, J.R. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet* 1: 1311-1314 (1984)
- Marshall, B.J., Goodwin, C.S., Warren, J.R., Murray, R., Blincow, E.D., Blackbourn, S.J., Phillips, M., Waters, T.E. and Sanderson, C.R. Prospective double-blind trial of duodenal ulcer relapse after eradication of *Campylobacter pylori*. *Lancet* 2: 1437-1442 (1988)
- Nomura, A., Stemmermann, G.N., Chyou, P.H., Kato, I., Perez-Perez, G.I. and Blaser, M.J. *Helicobacter pylori* infection and gastric carcinoma among Japanese Americans in Hawaii. *New Engl. J. Med.* 325:1132-1136 (1991)
- Hazell, S.L., Lee, A. and Hennessy, W. *Campylobacter pylori* and gastritis: Association to an environment of mucus as important factors in colonization of the gastric epithelium. *J. Inf. Dis.* 153:658-663 (1986)
- Jones, D.M. and Curry, A. The genesis of coccal forms of *Helicobacter pylori*, p. 29. In: *Helicobacter pylori* Gastritis and Peptic Ulcer, Malferteiner, P. and Ditschuneit, H. (eds.). Springer-Verlag, Berlin, Germany (1990)
- Rhee, K.H., Cho, M.J., Kim, J.B., Choi, S.K. and Kim, Y.C. Bacteriological characteristics of *Campylobacter pylori*. *J. Korea Soc. Microbiol.* 23: 17-26 (1988)
- Lee, A. and Hazell, S.L. *Campylobacter pylori* in health and disease: An ecological perspective. *Microbial Ecol. Health Disease* 1: 1-16 (1988)
- Labigne, A. and de Reuse, H. Determinants of *Helicobacter pylori* pathogenicity. *Infect. Agent. Dis.* 5: 191-202 (1996)
- Moran, A.P. The role of lipopolysaccharide in *Helicobacter pylori* pathogenesis. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 12: 39-50 (1996)
- Baik, S.C., Youn, H.S., Chung, M.H., Lee, W.K., Cho, M.J., Ko, G.H., Park, C.K., Kasai, H. and Rhee, K.H. Increased oxidative DNA damage in *Helicobacter pylori*-infected human gastric mucosa. *Cancer Res.* 56: 1279-1282 (1996)
- Rhee, K.H., Youn, H.S., Baik, S.C., Lee, W.K., Cho, M.J., Choi, H.J., Maeng, K.Y. and Ko, K.W. Prevalence of *Helicobacter pylori* infection in Korea. *J. Korean Soc. Microbiol.* 25: 475-490

- (1990)
13. Harris, A. Treatment of *Helicobacter pylori*. *Drugs If Today* 33:59-66 (1997)
 14. Tabak, M., Armom, R., Potasman, I. and Neeman I. *In vitro* inhibition of *Helicobacter pylori* by extracts of thyme. *J. Appl. Bacteriol.* 80: 667-672 (1996)
 15. Diker, K.S. and Hascelik, G. The bactericidal activity of tea against *Helicobacter pylori*. *Lett. Appl. Microbiol.* 19: 299-300 (1994)
 16. Francesco, T., Silvia, C., Laura, D.L., Paolo, R., Giuseppe, D.G., Emanuele, P. and Mario, Z. Plant polyphenols inhibit VacA, a toxin secreted by the gastric pathogen *Helicobacter pylori*. *FEBS Lett.* 543: 184-189 (2003)
 17. Toshio, F., Ai, M., Kiyoshi, K., Toshihisa, K., Sumio, T. and Taro, N. Anti-*Helicobacter pylori* flavonoids from licorice extract. *Life Sci.* 71: 1449-1463 (2002)
 18. Midolo, P.D., Lambert, J.R., Hull, R., Luo, F. and Grayson, M.L. *In vitro* inhibition of *Helicobacter pylori* NCTC 11637 by organic acids and lactic acid bacteria. *J. Appl. Bacteriol.* 79: 475-479 (1995)
 19. Namgoong, J., Yeon, S.W., Paek, N.S., Kim, T.H., Kim, Y.H., Kim, C.J. and Kim, K.W. Isolation and Structural Determination of Anti-*Helicobacter pylori* Compound from Fungus 60686. *Korean J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 26: 139-142 (1998)
 20. Lee, J.J., Kim, S.H., Chang, B.S., Lee, J.B., Huh, C.S., Kim, T.J. and Baek, Y.J. The antimicrobial activity of medicinal plants extracts against *Helicobacter pylori*. *Korean J. Food Sci. Technol.* 31: 764-770 (1999)
 21. Chi, H.J., Choi, J.R. and Yu, S.C. Pharmacognostical Studies on "Ho-Jang" (III) Phytochemical Study of the Rhizome of *Polygonum ellipticum migo*. *Korean J. Phytochem.* 13: 145-152 (1982)
 22. Park, Y.S., Rho, Y.S. and Kim, S.K. Studies on antibacterial activity of several herb medicinal Tars-Reynoutriae Radix, Sanguisorbae Radix and Albizziae cortex. *Bull. Pharm. Sci.* 12: 61-66 (1984)
 23. Ha, Y.D. Antitumoral and antimicrobial activities of solvent fractions from *Grifola umbellatus*. *Korean J. Postharvest Sci. Technol.* 8: 481-487 (2001)
 24. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A. and Randell, R. Protein measurement with Folin-phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 265-275 (1951)
 25. Park, C.K., Lee, W.K., Doh, Y.M., Cho, M.J. and Rhee, K.H. Development of diagnostic method of *Helicobacter pylori* infection. I. Molecular cloning and DNA sequenceing of urase. *J. Korean Soc. Microbiol.* 26: 541-552 (1991)
 26. Kim, J.I., Baik, S.C., Cho, M.J., Lee, W.K. and Rhee, K.H. Purification of the urease of *Helicobacter pylori* and production of monoclonal antibody to the urease of *Helicobacter pylori*. *J. Korean Soc. Microbiol.* 26: 531-540 (1991)
 27. Seo, K.I., Yang, K.H. and Shim, K.H. Antimicrobial and antioxidative activities of *Opuntia ficus-indica* var. saboten extracts. *Korean J. Postharvest Sci. Technol.* 6: 355-359 (1999)
 28. Seo, K.I., Lee, S.W. and Yang, K.H. Antimicrobial and antioxidative activities of *Corni Fructus* extracts. *Korean J. Postharvest Sci. Technol.* 6:99-103 (1999)
 29. Kang, S.K., Kim, Y.D. and Park, S.K. Antimicrobial activity of the extracts of vegetable *kimchi* stuff. *Korean J. Food Sci. Technol.* 27:216-220 (1995)
 30. Tatsuguchi, K., Sakamoto, J., Lee, J. K. and Tsutsumi, M. Effect of treatments with glycine and/or sodium chloride on phospholipid composition of *Escherichia coli*. *J. Food Hyg. Soc. Japan.* 30:506-511 (1989)
-
- (2003년 9월 24일 접수; 2003년 11월 15일 채택)