

암세포주 성장 억제에 미치는 키조개 분획물의 영향

박성영* · 신미옥* · 이상현** · 배송자*[§]

신라대학교 식품영양학과,* 신라대학교 생명공학과,** 마린-바이오 산업화 지원센터*^{§§}

The Growth Inhibitory Effects of *Atrina Pectinata* Fractions on Cancer Cell Lines

Park, Soung-Young* · Shin, Mi-Ok* · Lee, Sang Hyun** · Bae, Song-Ja*[§]

Department of Food and Nutrition,* Biotechnology,**

Marine Biotechnology Center for Biofunctional Material Industries,*^{§§}

Silla University, Busan 617-736, Korea

ABSTRACT

We investigated the growth inhibitory effects of *Atrina pectinata* (AP) on the proliferation in human cancer cell lines *in vitro*. AP was extracted with methanol which was further fractionated into four different types: methanol (APMM), hexane (APMH), butanol (APMB), and aqueous layers (APMA). Among various partition layers, the APMM showed the strongest cytotoxic effects on all cancer cell lines which we used. In the MTT assay of AP fractions, the growth inhibitory effects was increased in proportion to its concentration. We observed quinone reductase (QR) induced effects in all fraction layers of AP on HepG2 cells. The QR induced effects of APMM on HepG2 cell at 80 $\mu\text{g/mL}$ concentration indicated 2.0 with a control value of 1.0. (*Korean J Nutrition* 38(4): 307~312, 2005)

KEY WORDS : cytotoxicity, quinone reductase, *Atrina pectinata*.

서론

암에 의한 인간 사망률이 증가 추세에 있고 전 세계적으로 관심의 대상이 되고 있는 요즘 그 예방과 치료방법 등의 개발이 활발히 진행되고 있음에도 불구하고 암 발병율은 저하되지 않고 있다. 더욱이 최근 여러 가지 화학요법을 이용한 항암치료에 의해 나타나는 부작용들이 심각한 문제로 대두되고 있으며 이에 즈음하여 대체요법으로 천연물을 이용한 암예방 및 치료 등의 많은 연구들이 계속 행해지고 있다. 따라서 천연물 유래의 새로운 암예방 물질의 개발로 암 예방과 치료 면에서의 새로운 국면으로 전환되고 있다. 특히 암은 치료보다 천연물 대체 예방 방법으로서 천연물의 생리활성을 이용하여 미리 그 원인을 차단함으로써 암 발생의 50~80%를 예방 할 수 있을 것으로 보인다.^{1,2)}

최근에는 일상생활에서 섭취하는 식품으로부터 생리 활성을 가진 물질을 분리해 각종 질병예방이나 대체요법을 이용한 효과적인 연구가 여러 방면으로 진행되고 있다. 그

예로서 미국 국립 암 연구소를 중심으로 기존의 화학제제 또는 새로운 합성제제 차원에서 탈피한, 식품을 이용한 기능성 활성제등이 계속 연구 발표되고 있다. 일반적으로 연구되고 있는 기능성 생리활성 소재의 대부분은 육상물질에 관한 것이 대부분이었으나 최근 해양생물소재를 중심으로 한 연구가 활발히 진행되고 있다. 특히, 미역, 다시마, 감태, 곰피 등의 해조류에 대한 연구내용들이³⁻⁵⁾ 많이 보고되고 있는 반면, 어패류에 대한 연구는 기능성 활성성분 연구에의 접근이 미흡한 실정이다. 본 연구는 한국, 일본, 대만, 인도, 및 태평양 연안에서 서식하고 조하대의 얇은 바다로부터 수심 40여 미터의 깊은 곳까지 분포하고 있는 어패류중 하나인 키조개 (*Atrina pectinata*, AP)가 아직까지 생태와 분포, 종식별에 관한 연구 등 기초 생태와 양식개발을 위한 몇몇 연구만으로 보고되어^{6,7)} 있음에 착안하여 그의 생리활성을 이용한 암세포 성장억제 및 QR유도활성 효과를 연구하였다.⁸⁻¹²⁾

본 실험실에서는 4종의 인체 암세포주에 미치는 키조개 추출 및 용매별 분획물의 암세포 성장억제 효과를 MTT 방법으로 측정하였으며 체내 독성 또는 발암 물질을 무독화 시키는 phase II 효소인 quinone reductase (QR)의 유도 활성을 통하여 암예방 효과를 검토하여 그 결과를 보고

접수일 : 2005년 3월 14일

채택일 : 2005년 4월 8일

[§]To whom correspondence should be addressed.

하고자 한다.

재료 및 방법

1. 실험 재료

1) 재 료

본 실험에 사용한 키조개 (*Atrina pectinata*, AP)는 2004년 1월 부산 자갈치시장에서 구입하였다. 이 시료를 추출하고 각 용매별로 분획하여 4종의 인체암 세포주에 대한 암세포 증식억제 효과 (cytotoxicity) 및 quinone reductase 유도활성 효과 (QR induced effect) 검색에 사용하였다.

2) 시약 및 실험기기

(1) 시 약

세포실험에 사용된 시약 중 NP-40과 menadione은 Sigma사 제품을 구입하였고 flavin adenine dinucleotide (FAD), dicumarol 및 glucose-6-phosphate dehydrogenase는 Amresco사 제품을 구입하였으며, minimum essential medium (MEM), Dulbecco's Eagle modified medium (DMEM)과 phosphate buffered saline (PBS) 등은 Gibco-BRL (USA)에서 구입하였으며, 그외 연구에 사용된 용매 및 시약은 특급 또는 일급을 사용하였다.

(2) 실험기기

암세포 배양을 위해 사용한 실험기기는 CO₂ incubator (Forma scientific 3546, USA), Clean bench (Vision Scientific Co. LTD. VS-1400LS), Rotary evaporator (Tokyo rikakikai Co, LTD, NN10522423, Japan), Microscopy (Leica Mikroskopie & systeme Gembhy Wetzlas 520802, Germany), Deep freezer (Ilsin Engineering Co, DF 9071) 및 Multi-detection microplate (BIO-TEK, synergy HT) 등이었다.

2. 실험 방법

1) 시료의 제조

(1) 시료의 추출

시료로 사용된 키조개 (*Atrina pectinata*, AP)는 동결 건조 후 분쇄하여 메탄올과 1 : 5 (W/V)로비율로 상온에서 2회 추출하고, 다시 에탄올과 다이클로로메탄 (CH₂Cl₂)을 1 : 1로 섞은 용액에 2회 추출한 후 회전식 진공농축기로 일정시간 감압 농축시켜 동결건조한 후 키조개의 시료로 본 실험에 사용하였다.

(2) 시료 추출물의 분획

키조개 추출물을 non-polar층에는 hexane층 (APMH), moderate polar층인 methanol층 (APMM), polar층은 buthanol층 (APMB), semi polar층인 aqueous층 (APMA)으로 나누어 비극성에서 극성으로 계통 분획하고 각 분획층을 감압 농축 후 동결 건조하여 분말로 만들어 시료로 사용하였다.

2) 암세포 배양, 암세포 성장 억제 및 QR 유도효과 측정

(1) 세포 배양

본 실험에 사용한 암세포주는 인체 간암 세포인 HepG2 (human hepatocellular carcinoma), 자궁경부암 세포인 HeLa (human cervix adenocarcinoma), 유방암 세포인 MCF-7 (human breast adenocarcinoma pleural effusion) 및 대장암 세포인 HT-29 (human colon adenocarcinoma)로서 2004년 2월 대전 소재 한국과학 기술원 생명공학 연구소로부터 분양받아 사용하였다. HepG2, HeLa와 MCF-7세포주는 DMEM medium, HT-29세포주는 RPMI 1640 medium에 10%의 fetal bovine serum (FBS)와 1% 100units/mL의 penicillin streptomycin이 함유된 것으로 T-75 flask에 이식한 후, 37°C 5% CO₂ incubator에서 monolayer로 배양하였다.

위 4종의 세포주는 일주일에 2~3회 정도 새로운 배지로 교환하고 flask에 암세포가 5×10⁴ cells/mL정도 증식되면 phosphate buffered saline (PBS, pH 7.0)으로 2번 세척한 후 trypsin-EDTA를 처리하여 바닥에서 세포를 분리한 후, 배양액으로 암세포가 골고루 분산되도록 희석하여 T-75 flask에 10 mL씩 분할하여 주입하고 4~5일마다 계대배양하면서 실험에 사용하였다. 계대 배양시 각각의 passage number가 10회 이상일 때는 액체질소탱크로부터 새로운 세포를 꺼내어 다시 배양하여 실험하였다.

(2) 암세포 증식 억제 효과 (Cytotoxicity) 측정

키조개 추출 분획물의 암세포 증식 억제 효과는 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT assay)를 사용하여 행하였다. MTT assay는 세포의 생육을 측정하는 방법으로서 살아있는 세포의 미토콘드리아 내의 dehydrogenase가 황색 수용성 물질인 MTT에 의해 dark blue formazan을 생성하는 원리를 이용하였다.

이를 위해 각 세포주를 1×10⁵ cells/well의 농도로 맞추고 24 well에 각각 1 mL씩 첨가하여 24시간동안 37°C, 5% CO₂ incubator에 배양한 후 용매종류별 분획물을 각각 일정량의 dimethyl sulfoxide (DMSO)에 녹여서 30,

60, 90, 120 및 150 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도로 첨가하였다. 일정 시간동안 배양한 후 각 well에 PBS 원층액에 녹인 MTT 용액을 100 μl 씩 첨가하여 4시간동안 다시 배양시킨 후, well 바닥에 형성된 formazan이 흩어지지 않게 상층액을 제거하고 DMSO와 ethanol을 1 : 1로 혼합한 용액 1 mL를 첨가하여 천천히 녹인 후 Multi-detection microplate를 이용하여 570 nm, 690 nm에서 측정하였다. 대조군 세포수를 100%로 정하고 상대적인 세포성장 억제율을 구하였다.

(3) 세포의 형태학적 관찰

세포배양용 petridish에 HepG2 세포는 24시간동안 안정화시킨 다음 키조개의 메탄올 분획물을 농도별로 처리하여 48시간동안 배양한 후, 위상차 현미경을 이용하여 200배의 배율로 각 농도에 따른 형태의 변화를 관찰한 후에 사진 촬영하였다.

(4) Quinone reductase (QR) 유도 활성 측정

Quinone reductase는 phase II 무독화 효소 중의 하나로 돌연변이 되는 발암물질 등에 의한 DNA와의 상호 작용을 차단하는 효소이며, NAD (P)H를 이용하여 quinone류의 환원을 촉매하는 flavoprotein이다.¹³⁻¹⁵⁾

QR생성 유도 효과는 Prochaska와 Santamaria의 방법^{16,17)}을 일부 변형하여 측정하였다. T-75 flask의 세포가 80%이상 증식하게 되면 24 well plate의 각 well에 1×10^4 cells/mL 되도록 HepG2세포주를 분주하여, incubator에 24시간동안 배양한 후 키조개 분획물을 HepG2의 세포 생존율이 50%되는 양을 최종 농도로 잡아 각각 DMSO에 녹여 30, 60, 90, 120 및 150 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도로 첨가하고 다시 24시간동안 배양한 다음 배양액을 제거하였다. 배지가 제거된 각 well에 250 μl 의 lysis buffer (10 mM Tris-Cl, pH 8.0, 14 mM NaCl, 15 mM MgCl_2 , 0.5% NP-40)를 첨가한 후 37°C, 5% CO_2 incubator에 10분간 두면서 cell을 lysis한 후 reaction mixture 즉, 10 mM Tris-Cl (pH 7.4), 0.5 mg/mL BSA, 0.008% tween-20, 40 μM FAD, 0.8 mM glucose-6-phosphate, 2 Unit/mL glucose-6-phosphate dehydrogenase, 25 μM NADP, 40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ MTT 및 1 mM menadione을 혼합하여 well에 1 mL씩 첨가하여 5분동안 반응시킨 후, 반응 정지용액인 10.3 mM dicumarol, 0.5% pyridine, 5mM potassium phosphate (pH 7.4) 혼합액을 250 μl 씩 첨가하여 효소반응을 정지시키고 Multi-detection microplate를 이용하여 610 nm에서 흡광도를 측정하여 계산하였다. 그리고 단백질량은 동일한 set의 well plate에 대한 crystal

violet 염색방법으로 정량하였다.

단백질량은 동일한 set의 well plate에 대한 crystal violet 염색 방법으로 정량하였다. 24 well plate에 1×10^4 cells/well 농도로 분주하고, 37°C, 5% CO_2 incubator에서 2시간 배양한 후 증류수로 2분간 세척하였다. 각 well에 0.5% SDS (in 50% EtOH) 용액을 1 mL씩 가하여 37°C incubator에 1시간 방치한 후 610 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Quinone reductase 활성측정 (nmol/min/mg protein)은 다음과 같이 하였다.

* Quinone reductase (QR) activity

$$= \frac{\text{absorbance change of MTT/min}}{\text{absorbance of crystal violet}} \times 3345 \text{ nmol/mg}$$

(5) 통계처리

본 실험에 대한 실험결과는 4번실험하여 평균치 및 표준편차를 나타내었습니다.

결과 및 고찰

1. *In vitro*에서 키조개 추출물과 분획물의 암세포 증식억제 효과

키조개의 methanol 추출물과 용매별 각 분획물의 암세포 증식억제 효과는 인체 암세포주인 HepG2, HeLa, MCF-7 및 HT-29 세포주를 이용하여 각 암세포주의 증식 억제 효과를 보았다. MTT assay를 이용한 결과는 Fig. 1-4와 같으며 Fig. 1은 키조개의 용매별 분획물을 농도별로 HeLa 세포주에 가했을 때 methanol 분획층인 APMM의

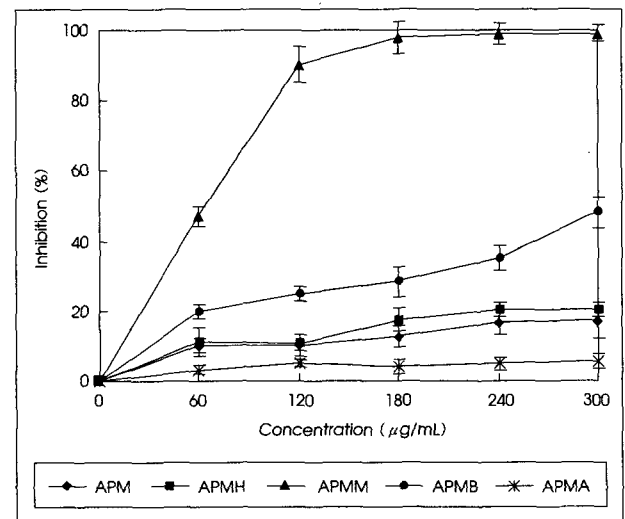


Fig. 1. Cytotoxicity of *Atrina pectinata* (AP) on human cervix adenocarcinoma HeLa cells. APM: Methanol extracts of *Atrina pectinata* (AP). APMH: Hexane Partition layer of APM. APMM: Methanol Partition layer of APM. APMB: Butanol Partition layer of APM. APMA: Aqueous layer of APM.

경우 120 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 첨가농도에서 이미 90.45%의 억제 효과를 보였고 시료첨가 두배의 농도인 240 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서는 99.01%의 암세포 증식억제 효과를 보여 APMM에서 월등히 높은 암세포 증식억제 효과를 나타내었다. APMB의 경우에는 300 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서 48.23%의 약한 증식 억제 효과를 나타내었으며 그 외의 층에서는 거의 효과가 없었다. Fig. 2는 HepG2세포주의 증식억제 결과로서, HeLa 세포주에서와 마찬가지로 methanol 분획층인 APMM층에서 그 효과가 제일 컸으며 240 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 첨가시 78.35%, 300 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서는 95.33%의 높은 암세포 증식 억제 효과를 보였다.

MCF-7세포주에 대한 실험 결과는 Fig. 3에 나타내었다. 앞의 두세포주 HeLa와 HepG2에서와 같이 APMM층이

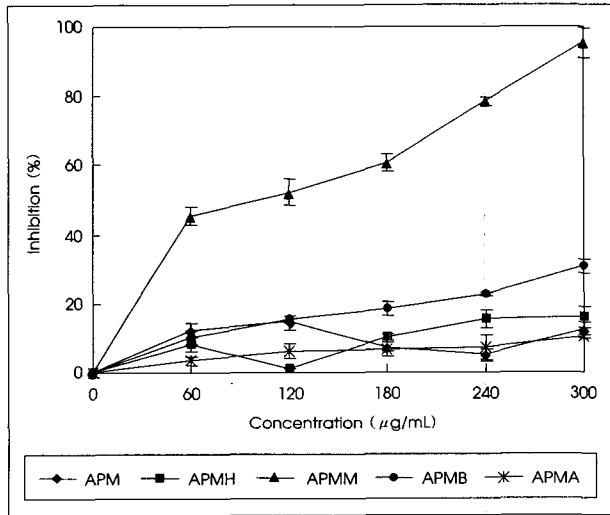


Fig. 2. Cytotoxicity of AP on human hepatocellular carcinoma HepG2 cells.

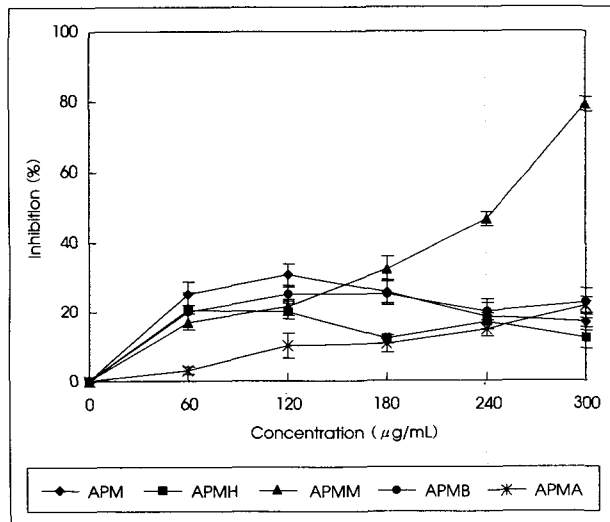


Fig. 3. Cytotoxicity of AP on human breast adenocarcinoma pleural effusion MCF-7 cells.

가장효과가 컸으며, 300 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 첨가 농도에서는 78.95%의 암세포 증식 억제효과를 얻을 수 있었으며 그 외 첨가 시료의 농도를 증량시켜도 억제효과는 별로 없었다. Fig. 4는 HT-29 세포주의 결과로서 APMM 첨가의 경우 Fig. 2의 HepG2의 결과와 그 양상이 거의 유사하였으며 240 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서 92.85%, 300 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 농도첨가시에는 99.21%라는 높은 암세포 증식 억제 효과를 관찰할 수 있었다.

위의 4가지 인체 암세포주에 미치는 키조개의 각 용매별 분획물이 암세포 성장 억제에 미치는 효과를 살펴보면 methanol 분획층인 APMM에서 괄목할 만한 높은 암세포 증식억제 효과를 나타내었으며, 본 실험에 사용한 4가지 암세포주의 성장억제효과는 각 첨가농도에 따라 다소 차이는 있었으나 그 경향은 매우 비슷하였다. 특히 키조개 분획물을 각 암세포주에 첨가한 농도는 다른 해양 생물 소재에서의 최종 첨가농도인 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 보다 훨씬 낮은 300 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 첨가시에 이미 높은 암세포 성장 억제 효과가 나타나는 것으로 보아⁸⁾ 해양생물 중 대표적 패류식품으로 인기가 높은 키조개의 보다 높은 항발암 효과를 기대할 수 있었다. 그리고 키조개 용매별 분획물중 특히, methanol 분획층에서 높은 암세포 성장 억제효과를 나타내었으므로 극성용매인 methanol층에서 그 유효생리활성물질이 존재함을 유추해 볼 수 있었고, 앞으로 더욱 심도있는 연구를 통해 키조개 메탄올 분획층의 생리활성물질을 규명하고, 구조 동정을 통해 항발암 효과를 지닌 기능성 식품으로서의 개발이 기대되어진다.

2. 세포의 형태학적 관찰

키조개의 메탄올 분획물 첨가시 HepG2세포주의 형태가

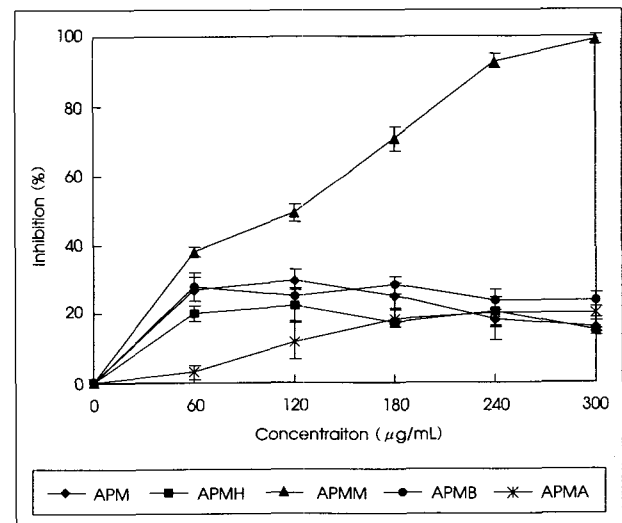


Fig. 4. Cytotoxicity of AP on human colon HT-29 cancer cells. Concentration ($\mu\text{g}/\text{mL}$)

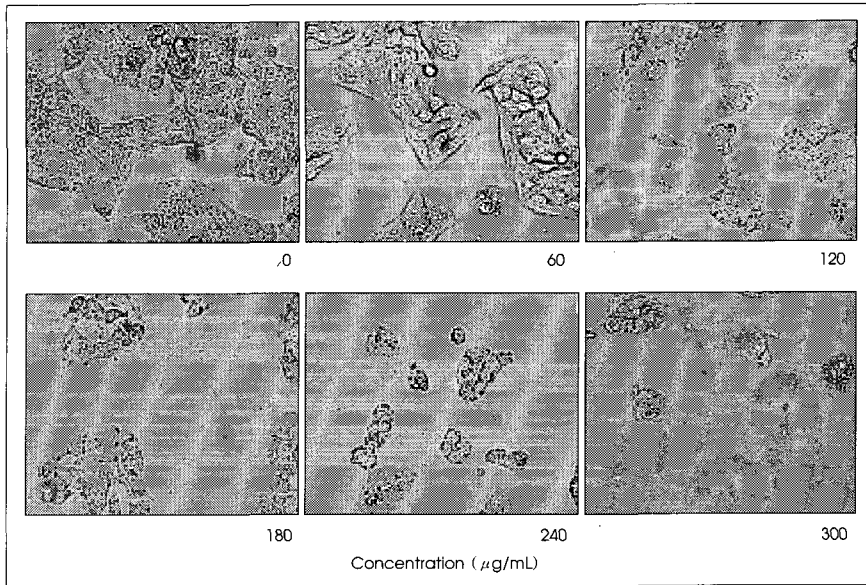


Fig. 5. Morphological changes of HepG2 human hepatocellular carcinoma cells following incubation with APM. Exponentially growing cells were incubated with methanol extracts of AP for 48h. Cell morphology was visualized by light microscopy. ×200.

어떻게 변화하는지 알아보기 위하여 여러 농도의 키조개 분획물을 48시간동안 처리한 후 위상차현미경을 이용하여 암세포의 형태를 관찰하였다. Fig. 5에서 나타난 바와 같이 시료의 처리 농도를 60, 120, 180, 240 및 300 µg/mL 첨가하였을 때 농도 의존적으로 현저한 세포밀도의 감소현상과 형태적인 변화를 관찰 할 수 있으며, 각 처리 농도 증가에 따라 세포막의 shrinking 및 blebbing 현상도 관찰 할 수 있었고, 처리농도가 높은 경우 cell elongation을 포함하는 dendrite-like structure가 관찰되었다. 이것으로 보아 암세포의 심한 형태적 변형의 정도는 키조개 분획물의 처리에 따른 암세포 성장억제가 진행되었음을 보여준다고 할 수 있겠다.

3. Quinone reductase (QR) 유도 활성 효과

본 연구에 이용한 phase II 무독화 효소중 암예방 물질 탐색의 지표가 되는 대표적인 효소인 quinone reductase는 quinone류 자체에 대한 보호 효과가 있는 것으로 알려져 있고 항암 작용이 있는 많은 화합물에 의해 유도되어 진다고 알려져 있다. Bae^{19,20)} 등이 연구한 논문에서와 같이 당근, 구기자등의 Quinone reductase는 NAD (P)H를 전자 공여체로 이용하고 2개의 전자를 이동시킴으로서 semiquinone를 미형성시키고, 항혈액 응고제인 dicumarol에 의해 강한 저해를 받으며, 많은 조직 및 세포에서 여러 가지 외부 물질들에 의해 유도된다고 알려져 왔다.^{20,21)}

본 연구에서는 암세포 증식억제 효과 실험에 사용된 인체의 4가지 암세포주 HeLa, HepG2, MCF-7 및 HT-29 중 유일하게 quinone reductase (QR)를 가지고 있는

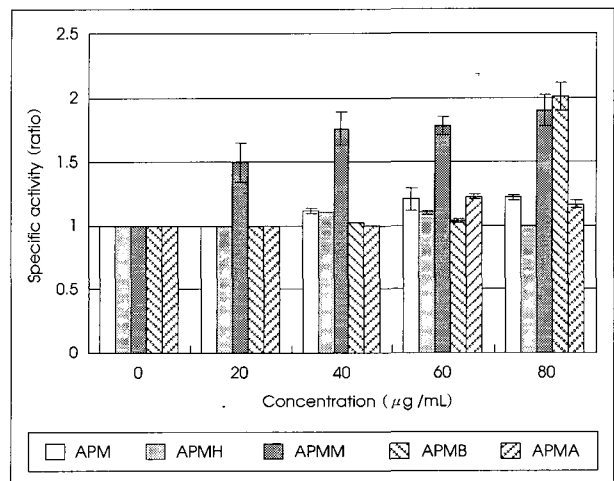


Fig. 6. Effect of various partition layers of AP on the induction of quinone reductase in HepG2 cells.

세포인 HepG2 세포주를 사용하여 QR 생성 유도 활성을 측정하였으며 그 결과를 Fig. 6에 나타내었다. 키조개 분획물의 농도를 20, 40, 60 및 80 µg/mL로 증가시키면서 첨가 하였을 때 암세포 성장억제 효과가 제일 높았던 APMM에서 역시 높은 QR 유도효과가 나타났다. 즉 대조군을 1.0으로 하였을 때 APMM의 경우 20 µg/mL 첨가에서 이미 그 효과가 나타나기 시작하여 농도의존성을 보이다가 80 µg/mL 첨가농도에서는 약 2.0배의 QR 유도 효과가 나타났다. 한편 키조개의 butanol 분획층인 APMB는 낮은 첨가농도에서는 그 효과가 거의 없었으나 최종시료첨가농도인 80 µg/mL의 경우 약 2.07의 QR유도효과를 나타내었다. 이상의 결과에서 키조개 분획물중 극성용매층인 APMM

층과 APMB층에서 암예방지표인 높은 QR 유도활성을 보였으므로 이 분획층에서의 quinone reductase inducer가 존재함을 추정할 수 있었다.

요 약

본 연구에서는 해양생물 중 대표적 패류에 속하며 게두라고 불리는 키조개를 추출, 각 용매별로 분획하여 암세포 성장억제 효과와 QR 유도활성 효과 등 각 생리활성효과에 대해 살펴보았다. 단백질이 많은 저칼로리 식품으로, 필수 아미노산과 철분이 많아 동맥경화와 빈혈예방에 좋다고 알려진 키조개의 암세포 성장억제에 대한 실험결과, 4종의 인체 암세포주 HepG2, HeLa, MCF-7 및 HT-29에서 모두 시료첨가 농도에 의존적으로 성장저지 효과가 나타났고, methanol 분획층인 APMM에서 괄목할 만한 높은 효과를 나타냈다. 특히 HeLa 세포주에서는 저첨가농도인 120 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서 이미 90.45%의 높은 세포독성 효과를 보였고, 다른 세포주들에서도 첨가농도별 효과의 차이는 있었으나 거의 유사한 세포성장 억제효과를 볼 수 있었다. 한편, 사용한 4가지 암세포주중 유일하게 quinone reductase를 가지고 있는 HepG2를 이용하여 quinone reductase 효소유도 활성여부를 측정한 결과 분획물 첨가농도를 20, 40, 60 및 80 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 로 소량을 첨가하였음에도 40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서 이미 1.5배의 높은 QR 유도효과가 나타났으며, 농도를 증가시킬수록 그 효과가 증가하여 최종농도인 80 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서는 약 2.0배의 QR 유도활성을 나타내었다. 이와 같은 실험결과에서, 패류인 키조개의 생리활성을 이용한 여러 유용한 기능성 식품의 개발이 기대되어진다.

Literature cited

- 1) Park YJ, Kim MH, Bae SJ. Enhancement of anticarcinogenic effect by combination of lucii fructus with vitamin C. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 31 (1) : 143-148, 2002
- 2) Park HR, Jung UH, Jeong IY, Yee ST, Jo SK. Inhibition of tumor growth through macrophage activation by polysaccharide fraction from peonia japonica. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32(1) : 149-154, 2003
- 3) Sakai T, Kimura H, Kato I. A marine strain of fucoidan. *Mar Biotechnol*, pp.399-405, 2002
- 4) Yan X, Chuda Y, Suzuki M, Nagata T. Fucoxanthin as the major antioxidant in hijikia fusiformis a common edible seaweed *Biosci Biotechnol Biochem* 63 (3) : 603-307, 1999
- 5) Yoo SK, Yoo MS. Studies on the pen shell culture development. *Bull Korean Fish Soc* 17 (9) : 529-535, 1984
- 6) Yoo SK, Lim HS, Ryu HY. Improvement of the seed production method of the pen shell. *Bull Korean Fish Soc* 21 (4) : 206-216, 1988
- 7) Prestera T, Holtzclaw WD, Zhand Y, Talalay E. Chemical and detoxify carcinogens. *Proc Natl Sci USA* 90: 2965-2969, 1993
- 8) Kang HJ. Screening for anticarcinogenic enzyme inducer form roasted and defatted perilla. Ph. D. Dissertation. *Pusan National University*, 1998
- 9) Shim SM, Kim MH, Bae SJ. Cytotoxicity and quinone reductase induced effects of caucus carota l. leaf extracts on human cancer cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30 (1) : 86-91, 2001
- 10) Fish B. Clinical trals for the evaluation of cancer therapy. *Cancer* 54: 2609-2616, 1984
- 11) Bae SJ. The effects of anticarcinogenic activity of solanum tuberosoum peel fractions. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 31 (5) : 905-909, 2002
- 12) Kim TH, Jo YJ, Ha YM, Shon YH, Bae BJ, Nam KS. Effect of chitosan oligosaccharide on enzymes for cancer chemoprevention. *J Korean Cancer Assoc* 33 (1) : 64-70, 2001
- 13) Hong EY, Kang HJ, Kwon CS, Na YJm, Suh MJ, Kim JS. Modulation of cellular quinone reductase inducibility by roasting treatment and acid hydrolysis of perilla. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 26 (2) : 186-192, 1997
- 14) Prochaska HJ, Santamaria AB. Direct measurement of NAD (P)H: Quinone reductase from cells cultured in microtiter wells: A screening assay for anticarcinogenic enzyme inducers. *Anal Biochem* 169: 328, 1988
- 15) Prochaska HJ, Santamaria AB, Talalay P. Rapid detection of inducers of exzymes that protect against carcinogens. *Proc Natl Acad Sci USA* 89: 2394, 1992
- 16) Prochaska HJ. Screening strtegies for the detection of anticarcinogenic enzyme inducers. *J Nutr Biochem* 5: 360, 1994
- 17) Bae SJ. Anticarcinogenic effects of Sargassum fulvellum fractions on seneral human cancer lines *in vitro*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33 (3) : 480-486, 2004
- 18) Shim SM, Kim MH, Bae SJ. Cytotoxicity and quinone reductase induced effects of daucus carota l. leaf extracts on human cancer cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30 (1) : 86-91, 2001
- 19) Park YJ, Kim MH, Bae SJ. Enhancement of anticrcinogenic effect by combination of lycii fructus with Vitamin C. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 31 (1) : 143-148, 2002
- 20) Han EJ, Roh SB, Bae SJ. The effects on quinone reductase induction of daucus carota L. *Korean Journal of Life Science* 10 (1) : 79-85, 2000
- 21) Bae SJ. Anticarcinogenic effects of sargassum fulvellum fractions on several human cancer cell lines *in vitro*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33 (3) : 480-486, 2004