

검정콩 된장의 사이토카인 생성 및 종양전이 억제에 미치는 영향

임선영¹ · 박건영¹ · 배명숙¹ · 김광혁^{2*}

한국해양대학교 해양환경생명과학부, ¹부산대학교 식품영양학과, ²고신대학교 의과대학 의과학연구소, 미생물학교실

Received December 18, 2008 / Accepted January 12, 2009

Effect of Doenjang with Black Soybean on Cytokine Production and Inhibition of Tumor Metastasis. Sun-Young Lim, Myung-Suk Bae¹, Kun-Young Park¹ and Kwang-Hyuk Kim^{2*}. *Division of Marine Environment & Bioscience, Korea Maritime University, ¹Dept. of Food Science and Nutrition, Busan National University, ²Dept. Microbiology, Institute for Medicine, Kosin University College of Medicine* - We investigated the effect of black soybean and doenjang with black soybean on production of cytokines including interleukin-2 (IL-2), interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) compared with yellow soybean and doenjang with yellow soybean. We also determined inhibitory effect of two types of soybeans and doenjang on tumor metastasis produced by colon 26-M3.1 carcinoma cells. The cytokine productions of mouse splenocytes increased by the exposure of lipopolysaccharide (LPS, 1 μ g/ml) compared to without treatment of LPS. The LPS-induced IL-2 production was highest in the black soybean methanol extract, while the methanol extract from black soybean doenjang fermented for 2 mo showed the higher levels of IL-2 without LPS ($p < 0.05$). In case of LPS-induced IL-6 production, the methanol extracts from control, yellow soybean, black soybean doenjang fermented for 2 and 7 mo showed higher levels of IL-6 compared to those of black soybean, and yellow soybean doenjang fermented for 2 mo ($p < 0.05$). The methanol extract of black soybean doenjang fermented for 2 mo showed significantly higher levels of TNF- α in both with and without LPS ($p < 0.05$). In experiment of tumor metastasis, the treatment (1 mg/mouse) of methanol extract from black soybean doenjang fermented for 7 mo inhibited tumor metastasis by 50% and had the highest inhibitory effect among other samples ($p < 0.05$). From these results, doenjang manufactured with black soybean modulated the production of cytokine and showed anticancer effect, suggesting that this effect was increased with increased periods of fermentation.

Key words : Black soybean doenjang, tumor metastasis, cytokine, interleukin-2, interleukin-6, tumor necrosis factor- α

서 론

검정콩은 흑대두라고도 하며 특정한 한 종류의 콩을 가리키는 것이 아니라 검은빛을 띠는 콩을 통칭한다. 흑대는 검은콩 가운데서도 크기가 크며 콩밥이나 콩자반 등에 사용되며 서목태는 다른 검은콩보다 크기가 작아 마치 쥐 눈처럼 보인다고 하여 쥐눈이콩이라고 부른다. 서리태는 껍질이 검은색이지만 속이 파랗다고 하여 속청이라고 불리며 작물의 생육 기간이 길어서 10월경에 서리를 맞은 뒤에나 수확할 수 있으며 서리를 맞아가며 자란다고 하여 서리태라는 명칭이 붙여졌다. 물에 담갔을 때 잘 무르고 당도가 높아 다른 잡곡과 함께 밥에 넣어서 먹거나 떡을 만들 때 함께 넣는 등 주로 식용으로 쓰인다. 한방에서는 오래 전부터 검정콩의 효과에 주목해 왔는데 검정콩은 해독력이 특히 뛰어나 한약제로 많이 사용되고 있을 뿐만 아니라 민간에서는 약콩이라 하여 알려져 있다[18]. 검정콩의 표피인 껍질에서는 노란콩의 껍질

에선 발견되지 않는 탁월한 항산화효과가 있는 glycitein이 검출되었으며 이소플라빈 및 안토시아닌 색소 등이 함유되어 있어 이의 생리적인 효과가 매우 크다고 기대된다[15,17]. 검정콩 종실의 성분을 살펴보면 단백질이 약 40%, 지방이 20%, 당 함량이 10% 수준으로, 현재까지의 연구결과로는 일반 노란콩과 성분 면에서 큰 차이가 없고, 단지 종피색이 다를 뿐이다[29]. 안토시아닌이라는 검정콩 종피의 페놀성 물질은 적색, 자색, 청색을 나타내는 수용성 플라보노이드 색소인데, 인체에 아무런 부작용이 없고 항산화 효과 등의 생리활성이 높은 것으로 알려져 있다[7,17,30,32]. 또한 이소플라본 및 천연 토코페롤이 함유되어 있어 일반 노란콩보다 높은 항산화 및 항노화작용[16,26,28]을 하는 것으로 보고되어 있으며, 검정콩 종류인 서리태, 서목태, 노란콩 종류인 황금콩으로 항암효과를 비교 실험해 본 결과 검정콩 서리태의 항암 및 항산화 효과가 우수하게 나타남이 보고되었다[12]. Bae와 Moon [1]은 노란콩, 대립 검정콩 및 소립 검정콩의 안토시아닌 색소 및 총 페놀 함량을 측정할 결과 소립 검정콩, 대립 검정콩 및 노란콩의 순으로 그 함량이 많았으며 이들 콩에 대한 항산화 효과는 안토시아닌 색소 및 총 페놀함량에 비례

*Corresponding author

Tel : +82-51-990-6422, Fax : +82-51-990-3029

E-mail : ghkim@ns.kosinmed.or.kr

하여 높게 나타나 이들과 상관관계가 있는 것으로 보고하였다. Shon 등[28]은 노란콩에 비하여 기능성이 우수한 것으로 알려진 검정콩에 단백질 분해력이 우수한 발효균주를 첨가하여 제조한 청국장은 높은 항균활성과 항산화 효과를 나타내었다고 하였다. 또한 노란콩 청국장보다 검정콩 청국장의 이소플라본 함량이 많은 이유로서 검정콩 자체에 함유한 이소플라본 함량 때문이었으며 소립보다는 대립 검정콩 이소플라본의 함량이 더 많았다고 보고하였다[28].

사이토카인은 면역세포에서 생성되는 단백질 중재자로 외부 항원에 대한 여러 면역세포간의 협력을 중재하므로 이들의 생성과 분비는 면역반응조절에 있어서 매우 중요하다. 현재 12가지 이상의 사이토카인들이 규명되었으나 대부분 최근에 밝혀진 것으로 기능이 많이 알려져 있지 않으나 그 중에서 interleukin-1 (IL-1), interleukin-2 (IL-2), interleukin-6 (IL-6) 및 tumor necrosis factor- α (TNF- α) 등을 중심으로 그 기능들이 알려져 있다[22]. IL-2는 특히 보조 T 세포에서 분비되는 당단백질로 T 세포의 증식에 필수적이므로 T 세포 성장 인자로 알려져 있으며 그 외에도 natural killer 세포 증식 및 B 세포의 항체 합성을 증가시키며 동물에서 종양 전이 효과가 있는 것으로 알려져 있다[6,23]. IL-6는 대식세포에서 합성되며 T 세포와 B 세포의 분화에 관여하며 IL-1과 협동적으로 작용[24]하고 TNF- α 는 대식세포에서 합성되는 폴리펩티드로 감염, 염증에 관여하며 여러 종양에 항증식작용을 하고 상처치료에 도움을 주고 식욕부진을 일으키며 쥐에서 세균감염에 저항성을 준다[3,4]. 한국 고유의 대표적인 대두 발효 식품인 된장에 대한 연구는 대부분 그 원료를 노란콩을 사용하여 만든 것으로 이루어져 있고, 검정콩으로 만든 된장에 대한 연구가 아직은 미미한 상태에 있으며 특히 면역기능 개선 효과에 대해서는 잘 알려져 있지 않다. 따라서 본 연구에서는 일반 표준화된 노란콩 된장의 제조 공정을 토대로 하여 발효기간이 짧고, 제조하기 쉬운 *Aspergillus oryzae*를 접종한 검정콩 메주 및 된장을 제조하여 메탄올 추출물을 얻어 후 면역과정의 생물학적 작용과 대사적 변화를 유도하는 IL-2, IL-6 및 TNF- α 같은 사이토카인의 생성을 측정하여 검정콩 된장에 의한 면역 기능 개선 및 종양 억제 효과에 대하여 검토하였다.

재료 및 방법

재료 및 시약

노란콩(황금콩.대립종)을 대조구로 하였고, 검정콩은 대립종(서리태·속 파란콩)을 충남 괴산군자농협에서 시판중인 것을 구입하여 사용하였다. 사이토카인 생성을 위한 실험동물은 암컷 Balb/c 마우스로서 생후 8주 내외, 체중 25 g 내외의 것을 대한바이오링크(음성군, 충청북도)로부터 구입하여 실험에 사용하였다. Lipopolysaccharide (LPS)는 *Escherichia*

coli (serotype 026:B6)에서 분리 정제된 표준(Sigma Cat. L8274, USA)을 사용하였다. IL-2, IL-6, TNF- α 를 측정하기 위한 시약은 Mouse IL-2, IL-6, TNF- α ELISA kit (eBioscience, USA)을 이용하였다.

용매 추출 및 분획

표준화된 방법[2]으로 검정콩 및 노란콩 메주를 제조한 후 소금 및 물을 첨가하여 혼합한 후 32°C incubator에서 2개월과 7개월 발효 및 숙성시켜 된장을 제조하였다. 각각의 된장을 동결 건조한 후 마쇄하여 시료에 20배(v/w)의 메탄올을 첨가하여 12시간 교반을 3회 반복한 후 여과하여 회전식 진공 농축기(EYELA, Tokyo Rikakikai Co. Japan)로 농축하여 메탄올 추출물(methanol extract)을 얻었다. 이들 추출물을 dimethylsulfoxide (DMSO)에 희석하여 실험에 사용하였다.

비장세포배양 상층액

비장세포배양 상층액 준비는 미리 준비된 비장세포 부유액을 10%가 되게 소 태아혈청을 가한 RPMI 1640 (Gibco, USA) 배지로 ml 당 2×10^6 세포가 되도록 조절하여, 24 wells tissue culture plate (Costar, USA)에 1 ml 씩 분주한 후 시료 10 μ g를 각각 작용시켜 37°C, 5% CO₂ 배양기에 배양하였다. 또한 시료 10 μ g 및 LPS 1 μ g와의 복합작용도 함께 시험하였다. 대조군은 DMSO액을 사용하였으며 배양시간은 상기의 조건에 72시간으로 하였다. 배양이 끝난 후 전량 배양액을 수거한 다음 300 \times g에서 10분간, 10,000 \times g에서 30분간 원침 시킨 후 그 상층액을 수거하여 -70°C에 보관하였다[13].

IL-2, IL-6, TNF- α 측정

미리 96 wells microplate에 mouse IL-2, IL-6, TNF- α 에 대한 capture 항체를 coating buffer에 희석하여 100 μ g 씩을 분주한 후 4°C에서 하룻밤 방치하였다. 다음날 plate를 세척용 완충액으로 5번 세척한 후 assay diluent 250 μ l을 분주한 후 실온에서 1시간동안 방치하였다. 세척용 완충액으로 5번 세척한 후 plate의 각 well에 시료 100 μ l을 적하하여 실온에서 2시간 동안 방치하였다. 세척용 완충액으로 5번 세척한 후 detection 항체 100 μ l을 분주한 후 실온에서 1시간 동안 방치하였다. 세척용 완충액으로 5번 세척한 후 avidin-horse-radish peroxidase액 100 μ l을 적하하여 다시 실온에서 30분 동안 방치하였다. 세척용 완충액으로 7번 세척한 후 tetramethylbenzidine이 포함된 기질 액 100 μ l을 적하하여 실온에서 15분 동안 방치한 후 stop액 50 μ l을 가하였다. Stop액 50 μ l을 가하여 반응을 정지시켰다. Optical density는 microplate reader (Bio-Rad, Model 550, USA)를 이용하여 450 nm에서 측정하였다[14].

마우스를 이용한 종양전이 억제 실험

본 실험에 사용한 동물은 음성 Balb/c 마우스(한국 화학연구소, 대전)로, 체중이 25 g 전후의 것을 사용하였으며, 사료는 표준사료로 사육하였다. 사육 시 물과 사료는 충분한 양을 공급하였고, 동물 실험실은 온도 22±1°C, 습도 55±5%를 유지하였으며, 12시간 간격으로 light-dark cycle을 유지하였다. 종양전이 억제효과를 살펴보기 위하여 폐(lung)에 대하여 전이력을 획득한 고전이성 종양세포주인 colon 26-M3.1 carcinoma cell을 100 unit/ml의 penicillin- streptomycin과 7.5%의 fetal bovine serum (FBS)이 함유된 Dulbecco's modified Eagle's medium (DEME) 배지를 사용하여 37°C, 5% CO₂ incubator에서 배양하였다. 배양된 각각의 암세포는 일주일에 2~3회 refeeding하고 6~7일 만에 0.05% trypsin EDTA로 부착된 세포를 분리하여 원심분리한 후 집적된 암세포에 phosphate buffered saline (PBS)를 넣고 피펫으로 암세포가 끌고루 분산되도록 잘 혼합하여 100 µl (2.5×10⁴ ml)를 Balb/c 마우스의 꼬리에 정맥 주사하였다. 각 군은 5마리로 하였으며, 시료는 종양세포접종 2일전에 피하 주사하였다. 전이된 종양의 판정은 종양접종 14일 후에 마우스를 희생시켜 종양의 표적기관인 폐를 적출한 다음, Bouin's 용액 (saturated picric acid : formalin : acetic acid = 15 : 5 : 1, v/v/v)에서 전이된 종양을 고정시킨 후 종양의 군집수를 계수하였고, 시료에 의한 종양전이억제 효과는 종양만 접종한 대조군과 비교하여 측정하였다[11,33].

통계 분석

대조군과 각 시료로부터 얻은 실험 자료로부터 ANOVA를 구한 후 Tukey honest significant difference test를 이용하여 통계 분석하였다.

결과 및 고찰

사이토카인 생성에 미치는 영향

Scrimshaw 등[27]은 영양, 면역 반응 및 감염증들 사이에는 상호작용이 존재한다고 제안하였다. 즉 영양소 결핍은 숙주 면역계의 결함과 관련이 있으며 특정 영양소의 권장량 이상의 섭취는 충분한 섭취량과 비교했을 때 면역력을 향상시킨다. 대조적으로 감염질환은 물론이고 급성 및 만성 염증반응은 영양불량 상태의 숙주에 대사적 이상을 초래할 수도 있다. 적절한 면역 개시반응은 대식세포, 자연살해세포, T 세포 및 B 세포와 같은 면역관련 세포들의 외부항원에 대한 즉각적인 반응에 의존한다. 또한 면역세포들과 섬유아세포, 연골세포 및 골아세포와 같은 조직구성 세포들의 상호 협력은 염증반응에 매우 필수적이다. 이러한 일련의 세포들의 간의 협력은 사이토카인이라는 단백질이 중재하고 사이토카인은 면역세포 뿐만 아니라 비면역세포로부터도 생성되어지며 사이토카인의 생성과 분비가 면역반응 조절에서 중요한 위치를 차지한다[22]. 본 연구에서는 노란콩과 검은콩의 메탄올 추출물과 각각의 콩으로부터 제조된 된장 메탄올 추출물이 IL-2, IL-6 및 TNF-α를 포함하는 사이토카인의 생성에 미치는 영향에 대해 검토하였다. 보조 T 세포에서 생성되어 T 세포, B 세포 및 자연살해세포의 증식에 관여하는 IL-2의 생성에 미치는 영향을 살펴보았을 때, LPS를 처리하지 않았을 경우(Fig. 1A) 대조군과 2개월 발효된 검은콩 된장 메탄올 추출물(10 µg/ml)에서 가장 높은 IL-2 생성을 나타내었고 LPS (1 µg/ml)를 처리한 후(Fig. 1B)에는 검은콩 메탄올 추출물에서 가장 높은 IL-2 생성을 보였고 대조군에서 가장 낮은 생성을 나타내었다(p<0.05). Fig 2는 이상의 시료들의 메탄올 추출물에 의한 IL-6의 생성을 나타낸 것으로 특히 IL-6은 B 세포

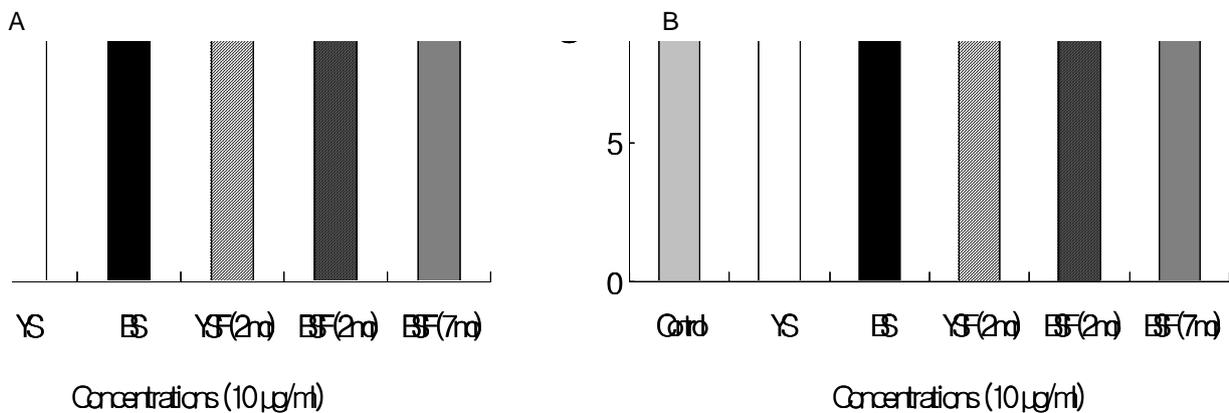


Fig. 1. Effect of methanol extracts from various kinds of soybeans and doenjang (10 µg/ml) on the levels of interleukin-2 in mouse splenocytes cultured for 72 hr. A: treated without LPS, B: treated with LPS (1 µg/ml) Control: no agent, YS: yellow soybean, BS: black soybean, YSF (2 mo): yellow soybean doenjang fermented for 2 months, BSF (2 mo): black soybean doenjang fermented for 2 months, BSF (7 mo): black soybean doenjang fermented for 7 months ^{a-c}Means with the different letters are significantly different at p<0.05.

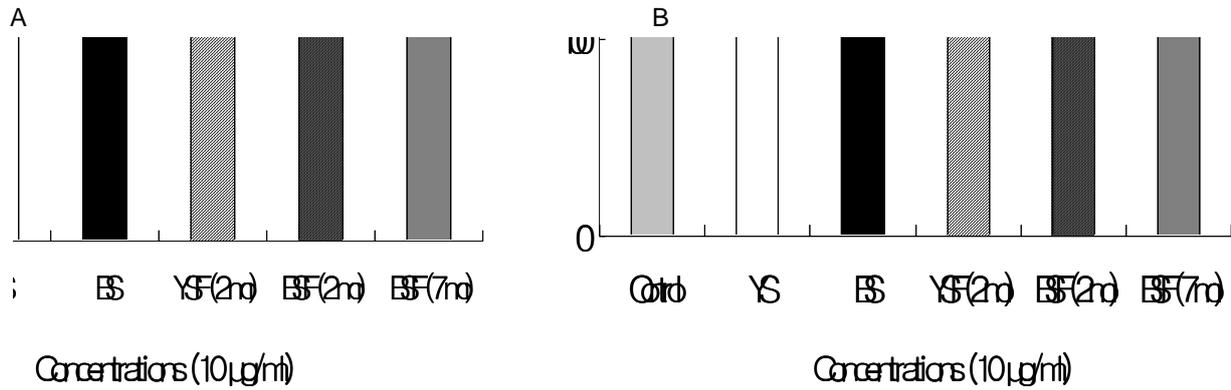


Fig. 2. Effect of methanol extracts from various kinds of soybeans and doenjang (10 µg/ml) on the levels of interleukin-6 in mouse splenocytes cultured for 72 hr. A: treated without LPS, B: treated with LPS (1 µg/ml)
 Control: no agent, YS: yellow soybean, BS: black soybean, YSF (2 mo): yellow soybean doenjang fermented for 2 months, BSF (2 mo): black soybean doenjang fermented for 2 months, BSF (7 mo): black soybean doenjang fermented for 7 months
^{a-c}Means with the different letters are significantly different at *p*<0.05.

의 자극인자로 B 세포를 활성화시켜 면역글로불린의 생성 및 분비를 증진시키는 분화 및 성숙 인자이며 상처와 감염반응에서 중요한 역할을 담당한다고 알려져 있다[9,10]. LPS를 처리하지 않았을 때(Fig. 2A) 앞서 IL-2의 경우와 유사하게 2개월 발효된 검은콩 된장 메탄올 추출물(10 µg/ml)에서 가장 높은 수치를 나타내었고 대조군과 2개월 발효된 노란콩 된장 메탄올 추출물(10 µg/ml)에서 가장 낮았다(*p*<0.05). LPS (1 µg/ml)를 처리한 경우(Fig. 2B), 대조군, 노란콩, 2개월 및 7개월 발효된 검은콩 메탄올 추출물(10 µg/ml)에서 검은콩 및 2개월 발효된 노란콩 된장 메탄올 추출물(10 µg/ml)에서 보다 유의적으로 높은 수치를 나타내었다(*p*<0.05). TNF-α의 생성에 미치는 영향을 살펴보았을 때(Fig. 3) 2개월 발효된 검은콩 메탄올 추출물(10 µg/ml)은 LPS를 처리하지

않을 때와 LPS (1 µg/ml)를 처리한 후 둘 다의 경우 기타 실험군들에 비해 유의적으로 높은 TNF-α의 생성을 나타내었다 (*p*<0.05). 검은콩과 관련된 면역 활성화 증진 효과에 대한 연구는 현재 거의 없는 상황이지만 Lim 등[21]은 노란콩 된장 디클로메탄 분획물과 에틸아세테이트 분획물에 의한 면역 활성화 증진 효과를 검토한 결과 디클로메탄 분획물은 첨가농도 1 g/ml에서 94%로 Yac-1 표적세포를 사멸시켰으며 에틸아세테이트 분획물도 동일 농도에서 96%의 억제효과를 나타내었다고 보고하였다. 또한 CTLL세포를 이용한 이들 분획물들에 의한 IL-2의 활성화 증진 효과를 살펴보았을 때 대조군에 비해 이상의 두 분획물들에 의한 IL-2 생성이 높았으므로 노란콩 된장에 의한 암세포 증식 억제효과는 IL-2와 같은 사이토카인 생성 증진에 따른 면역 담당 세포 활성화 작용과 관

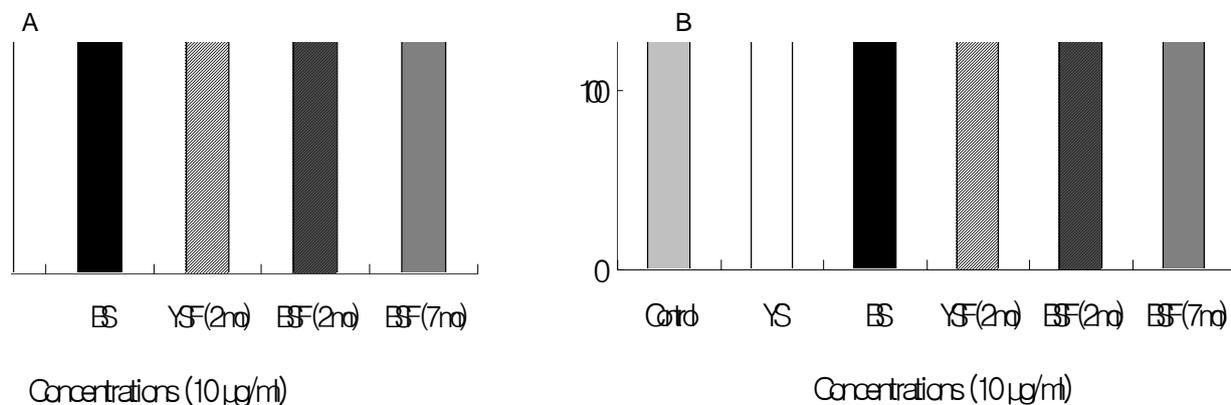


Fig. 3. Effect of methanol extracts from various kinds of soybeans and doenjang (10 µg/ml) on the levels of tumor necrosis factor-α in mouse splenocytes cultured for 72 hr. A: treated without LPS, B: treated with LPS (1 µg/ml)
 Control: no agent, YS: yellow soybean, BS: black soybean, YSF (2 mo): yellow soybean doenjang fermented for 2 months, BSF (2 mo): black soybean doenjang fermented for 2 months, BSF (7 mo): black soybean doenjang fermented for 7 months
^{a-b}Means with the different letters are significantly different at *p*<0.05.

련을 가질 가능성이 있을 것이라고 보고하였다.

*In vivo*에서 종양전이 억제 효과

*In vivo*에서 항암효과를 나타내는지 확인하기 위하여 colon 26-M3.1 carcinoma cells을 이용하여 검은콩, 2개월 발효된 노란콩 된장, 2개월 및 7개월 발효된 검은콩 된장 메탄올 추출물들에 의한 종양전이 억제효과를 살펴보았다(Fig. 4). 각각의 메탄올 추출물들을 1 mg/mouse농도로 투여하였을 때 검은콩, 각각 2개월 발효된 노란콩 및 검은콩 된장에서 각각 26%, 18%, 21%로 종양전이 억제효과를 나타내어 종양만 접종한 대조군에 비해 항종양전이 효과는 높게 나타났으나 ($p < 0.05$) 세 시료들 간의 차이는 없었다. 7개월 발효된 검은콩 된장 메탄올 추출물은 대조군에 비해 유의적으로 높은 50%의 항종양전이 효과를 확인할 수가 있었다($p < 0.05$). 따라서 종양전이 실험에서 검은콩으로 제조한 된장이 암전이의 예방효과를 높일 수 있음을 확인하였으며 또한 발효기간이 길어질수록 비례적으로 예방효과가 증진됨을 확인할 수 있었다. 노란콩을 주축으로 한 우리나라 전통 된장에 대한 항암효과에 대해서는 많은 연구가 진행되어 각종 성인병 예방뿐만 아니라 암을 예방하는 건강식으로 알려져 있으나 검은콩을 이용한 발효식품에 대한 연구는 아직 미진한 상태이다. Shon 등[28]은 단백질 분해력이 우수한 발효균주를 이용하여 검정콩으로 제조한 청국장은 우수한 항균활성과 항산화효과를 나타내었다고 보고한 바 있다. 노란콩 된장에 의한 항암실험의 한 예로 Son [31]은 고농도의 sarcoma-180 암세포를 접종한 후 32일 후에 마우스의 서혜부의 암조직을 적출하여 종양의 무게를 측정된 결과 대조군은 3.28 g을 나타내었지만 노란콩 된장의 핵산 추출물은 0.68 g로 79%로 가장

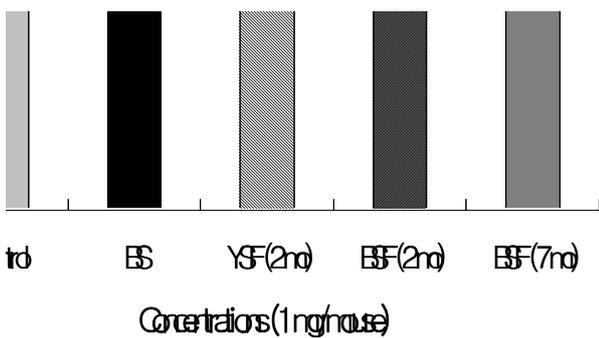


Fig. 4. Inhibitory effect of methanol extracts from various kinds of soybeans and doenjang (1 mg/ml) on tumor metastasis produced by colon 26-M3.1 carcinoma cells. Control: no agent, BS: black soybean, YSF (2 mo): yellow soybean doenjang fermented for 2 months, BSF (2 mo): black soybean doenjang fermented for 2 months, BSF (7 mo): black soybean doenjang fermented for 7 months ^{a-c}Means with the different letters are significantly different at $p < 0.05$.

높은 저해효과를 보였고 된장 가열액은 1.65 g로 50%의 저해효과를 나타내었다고 보고하였다. 또한 생명연장실험에서 대조군이 21일인데 비해 노란콩 된장 핵산 추출물 처리군은 33일로 58%의 생명연장효과를 나타내었으며 메탄올 추출물은 35일로 66%의 수명연장효과를 보였다고 보고하였다. Lim 등[19]은 인체 암세포 증식억제 실험에서 노란콩 된장 메탄올 추출물이 미소를 포함하는 다른 콩 관련 발효식품 및 원료에 비해 항암 활성 효과가 높았다고 보고하였고 Park 등 [25]은 이러한 된장의 암예방 효과는 된장을 끓은 후에도 계속 유지되었다고 보고하였다. 된장의 항암효과를 검토하기 위하여 Lim 등[20]은 된장 메탄올 추출물을 극성 용매별로 더욱 분획하여 얻어진 된장 분획물들에 의한 인체 암세포들의 증식 및 DNA 합성 저해 실험에서 특히 디클로로메탄 분획물과 에탈아세테이트 분획물에 의한 항암 활성이 높았다고 보고하였고 Choi 등[5]의 연구에서도 순창 재래식 된장의 에탈아세테이트 분획물이 가장 높은 암세포 증식 억제효과를 나타내었다고 보고하였다. 한편, 100% 콩만이 아니지만 전분질과 함께 제조된 전통고추장에 의한 *in vitro* 항암 실험에서 숙성시키지 않은 전통 고추장과 6개월 숙성시킨 것과 비교하였을 때 30%에서 41%로 유의적으로 항암효과가 증진되었고 발효기간이 상대적으로 긴 전통 방식의 고추장이 공장식 고추장보다 암예방 효과가 우수하였다고 보고하였다 [8]. 이는 본 연구의 결과와 유사한 것으로 발효 및 숙성 과정에 의한 발효산물의 효과라고 추정된다.

요 약

본 연구에서는 노란콩과 검은콩의 메탄올 추출물과 각각의 콩으로부터 제조된 된장 메탄올 추출물이 IL-2, IL-6 및 TNF- α 를 포함하는 사이토카인의 생성과 종양전이 억제에 미치는 영향에 대해 검토하였다. IL-2의 경우, LPS를 처리하지 않았을 때 대조군과 2개월 발효 검은콩 된장 메탄올 추출물 (10 μ g/ml)에서 가장 높은 IL-2 생성을 나타내었고 LPS (1 μ g/ml)를 처리한 후에는 검은콩 메탄올 추출물에서 가장 높은 IL-2 생성을 보였고 대조군에서 가장 낮은 생성을 나타내었다 ($p < 0.05$). 또한 IL-6 생성의 경우 LPS를 처리하지 않았을 때 2개월 발효 검은콩 된장 메탄올 추출물(10 μ g/ml)에서 가장 높은 수치를 나타내었고 대조군과 2개월 발효된 노란콩 된장 메탄올 추출물(10 μ g/ml)에서 가장 낮았다 ($p < 0.05$). TNF- α 의 생성에서 2개월 발효된 검은콩 메탄올 추출물(10 μ g/ml)은 LPS를 처리하지 않을 때와 LPS (1 μ g/ml)를 처리한 후 둘 다의 경우 기타 실험군들에 비해 유의적으로 높은 TNF- α 의

생성을 나타내었다($p < 0.05$). 한편 종양전이의 예방적 효과에 대한 실험결과에서 1 mg/mouse 농도로 투여하였을 때 2개월 발효된 노란콩 된장, 검은콩, 2개월 검은콩 된장, 7개월 검은콩 된장에서 각각 18%, 26%, 21%, 50%로 7개월 발효된 검은콩 된장에서 종양전이를 크게 억제하는 것으로 나타났다. 따라서 검은콩으로 제조한 된장은 사이토카인 생성을 증가시켜 면역증진 활성을 나타내었으며 암전이의 예방효과도 우수하였음을 확인할 수 있었다.

References

- Bae, E. A. and G. S. Moon. 1997. A study of the antioxidative activities of Korean soybeans. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **26**, 203-208.
- Bae, M. S. 2007. Studies on development of preparation method and increased anticancer effects of black soybean doenjang. Graduate School, Pusan National University.
- Beutler, B. A., I. W. Milsark, and A. Cerami. 1985. Cachectin/tumor necrosis factor: production, distribution and metabolic fate *in vivo*. *J. Immunol.* **135**, 3972-3977.
- Beutler, B. A. and A. Cerami. 1987. Cachectin: more than a tumor necrosis factor. *N. Engl. J. Med.* **316**, 379-385.
- Choi, S. Y., M. J. Cheigh, J. J. Lee, H. J. Kim, S. S. Hong, K. S. Chung, and B. K. Lee. 1999. Growth suppression effect of traditional fermented soybean paste (Doenjang) on the various tumors. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **28**, 458-463.
- Dauphinee, M. J., S. B. Kipper, D. Wofsy, and N. Tala. 1981. Interleukin 2 deficiency is a common feature of autoimmune mice. *J. Immunol.* **127**, 2483-2487.
- Francis, F. J. 1984. Future trends, pp. 233-247. In Walford, J. (ed.), *Developments in Food Colors-2*, Applied Science Publishers, New York, USA.
- Gong, G. L. 2001. Studies on the standardization of manufacture and cancer protection and anti-obesity effects of Kochujang. Graduate School, Pusan National University.
- Heeckeren, A. M., Y. Rikihisa, J. Park and R. Fertel. 1993. Tumor necrosis factor alpha, interleukin-1 α , Interleukin-6 and prostaglandin E2 production in murine peritoneal macrophages infected with *Ehrlichia risticii*. *Infect. Immun.* **61**, 4333-4337.
- Heinrich, P. C., J. V. Castell, and T. Andus. 1990. Interleukin-6 and the acute phase response. *Biochem. J.* **265**, 621-636.
- Hubbard, N. E. and K. L. Erickson. 1987. Enhancement of metastasis from a transplantable mouse mammary tumor by dietary linoleic acid. *Cancer Res.* **47**, 6171-6175.
- Hwang, K. M. 2004. Studies on the enhancement of chemopreventive and anticancer effects of doenjang. Graduate School, Pusan National University.
- Hwang, S. A., A. Dasgupta, and J. K. Actor. 2004. Cytokine production by non-adherent mouse splenocyte cultures to *Echinacea* extracts. *J. Clin. Chim. Acta* **343**, 161-166.
- Kim, K. H., S. H. Kim, and K. Y. Park. 2001. Effects of kimchi extracts on production of nitric oxide by activated macrophages, transforming growth factor-beta 1 of tumor cells and interleukin-6 in splenocytes. *J. Food Sci. Nutr.* **6**, 126-132.
- Kim, S. D., Y. H. Kim, S. H. Lee, and E. H. Hong. 1992. Characteristics of black soybean for cooking with rice in Korea. *Korea Soybean Society* **9**, 1-13.
- Kim, S. H., T. W. Yun, Y. S. Lee, M. G. Chung, and G. S. Moon. 2005. A major antioxidative components and comparison of antioxidative activities in black soybean. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **37**, 73-77.
- Kim, Y. H., H. T. Yun, K. Y. Park, and S. D. Kim. 1997. Extraction and separation of anthocyanins in black soybeans. *RDA J. Crop. Sci.* **39**, 35-38.
- Kwon, T. W. 2000. Soybean in the 21st century. *Korea Soybean Digest* **17**, 1-4.
- Lim, S. Y., K. Y. Park, and S. H. Lee. 1999. Anticancer effect of doenjang in *in vitro* sulforhodamine B (SRB) assay. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **28**, 240-245.
- Lim, S. Y., S. H. Lee, and K. Y. Park. 2005. Effect of solvent fractions from methanol extract of doenjang on inhibition of growth and DNA synthesis of human cancer cells. *J. Life Sci.* **15**, 685-691.
- Lim, S. Y., K. H. Kim, K. Y. Park, and S. H. Lee. 2007. Effect of solvent fractions from doenjang on antimutagenicity, growth of tumor cells and production of interleukin-2. *J. Life Sci.* **17**, 791-797.
- Meydani, S. N. 1990. Dietary modulation of cytokine production and biologic functions. *Nutr. Rev.* **48**, 361-369.
- Miller, R. A. 1989. The cell biology of aging: immunological models. *Age.* **44**, B4-B8.
- Mizel, S. B. 1989. The interleukins. *FASEB J.* **3**, 2379-2388.
- Park, K. Y., S. H. Moon, and S. H. Lee. 1995. Antimutagenic effect of doenjang (Korean soy paste) - Inhibitory effect of doenjang stew and soup on mutagenicity induced by aflatoxin B₁. *Environ. Mutagen Carcinogen* **14**, 145-152.
- Ryu, S. H. and G. S. Moon. 2003. Antioxidative and antiaging effects of dietary yellow and black soybean in rats. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **32**, 591-597.
- Scrimshaw, N. S., C. E. Taylor, and J. E. Gordon. 1959. Interaction of nutrition and infection. *Am. J. Med. Sci.* **237**, 367-403.
- Shon, M. Y., K. I. Seo, S. W. Lee, S. H. Choi, and N. J. Sung. 2000. Biological activities of chungkugjang prepared with black bean and changes in phytoestrogen content during fermentation. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **32**, 936-941.
- Son, J. H., M. G. Choung, H. J. Choi, U. B. Jang, G. M. Son, M. W. Byun, and C. Choi. 2001. Physiological effect of Korean black soybean pigment. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **33**, 764-768.
- Son, J. H., M. G. Choung, H. J. Choi, U. B. Jang, J. H. Bae, H. D. Lee, and C. Choi. 2002. Stability of black soybean pigment extract. *J. Kor. Soc. Agric. Chem. Biotechnol.* **45**, 179-184.

31. Son, M. H. 1995. Anticancer effect of doenjangg and its mechanism in mice. Graduate School, Pusan National University.
32. Tsuda, T., K. Shiga, K. Ohshima, S. Kawakishi, and T. Osawa. 1996. Inhibition of lipid peroxidation and the active oxygen radical scavenging effect of anthocyanin pigments isolated from *Phaseolous vulgaris* L. 1996. *Biochem. Pharmacol.* **52**, 1033-1039.
33. Utsugi, T., J. Shibata, Y. Sugimoto, K. Aoyagi, K. Wierzba, T. Kobunai, T. Terada, T. Ohhara, T. Tsurou, and Y. Yamada. 1996. Antitumor activity of a novel podophyllo-toxin derivative (TOP-53) against lung cancer and lung metastasis cancer. *Cancer Res.* **56**, 2809-2814.