

저온진공건조 참치추출물의 *in vitro* 항암 및 항산화 효과장주리 · 김경근¹ · 문수범¹ · 임선영*한국해양대학교 해양환경생명과학부, ¹한국해양대학교 기관시스템공학부

Received February 3, 2009 / Accepted April 16, 2009

***In Vitro* Anticancer and Antioxidant Effect of Solvent Extracts from Tuna Dried at Low Temperature Vacuum.** Joo Ri Jang, Kyung Kun Kim¹, Soo Beom Mun¹ and Sun-Young Lim*. *Division of Marine Environment & Bioscience, Korea Maritime University, Busan 606-791, Korea, ¹Division of Marine System Engineering Korea Maritime University, Busan 606-791, Korea* - We investigated the inhibitory effects of solvent extracts from dried tuna on the growth of cancer cell lines (HT1080 human fibrosarcoma and HT-29 human colon cancer cells) and H₂O₂-induced oxidative stress. Inhibitory effects of acetone with methylene chloride (A+M) and methanol (MeOH) extracts on the growth of HT1080 and HT-29 cancer cells increased in a dose dependent manner ($p < 0.05$). The inhibitory effect was more significant on the growth of HT1080 cells, and A+M extracts had a higher inhibitory effect compared to MeOH extracts. The treatments of hexane, 85% aq. methanol, butanol and water fractions significantly inhibited the growth of both cancer cells ($p < 0.05$). Among the fractions, hexane and 85% aq. methanol fractions showed higher inhibitory effects. In order to determine the protective effect on H₂O₂-induced oxidative stress, a DCHF-DA (dichlorodihydrofluorescein diacetate) assay was conducted. All fractions, including crude extracts of dried tuna, appeared to significantly reduce the levels of intracellular reactive oxygen species (ROS) with dose responses ($p < 0.05$). Among the fractions, BuOH and 85% methanol fractions showed a higher protective effect on the production of lipid peroxides. These results indicate that the consumption of tuna may be recommended as a potent functional food for preventing cellular oxidation and cancer.

Key words : Dried tuna, human cancer cell, growth inhibition, antioxidant, reactive oxygen species

서 론

참치(*Thunnus thynnus*)는 농어목 고등어과의 바닷물고기로서 북반구에 서식하는 북방 참다랑어와 3대양의 남부에만 서식하는 남방 참다랑어 2종으로 나뉜다. 지방 함량이 높아지는 12~2월에 가장 맛이 좋아 회, 초밥 등으로 먹으며, 육질이 곱고 맛이 매우 좋아 최고급 어종에 속한다. 또한 고단백 식품으로 영양학적으로 우수할 뿐만 아니라 혈중 콜레스테롤 농도를 낮춰 동맥경화를 예방하며[20], 뇌혈관 질환의 감소[28], 심장 질환의 회복[1], 항암 활성[25]과 같은 여러 가지 생리활성작용을 가진다.

어류의 근육은 eicosapentaenoic acid (EPA, 20:5n-3)와 docosahexaenoic acid (DHA, 22:6n-3)같은 n-3계 다가불포화 지방산을 많이 함유하고 있으며[18], 참치와 같이 넓게 이동하는 어종의 근육에서는 이동하지 않는 종보다 DHA 함량이 높게 나타난다[14,15]. 참치에 많이 함유되어 있는 n-3계 지방산은 고혈압 예방, 혈류 개선작용, 뇌신경 및 심근경색 예방, 노인성 치매 예방 등 건강을 증진시키는 효과가 있는 것으로 알려져 있다[16,19,23]. N-3계 다가불포화지방산의 하나

인 EPA는 혈액 중의 콜레스테롤, 중성 지질의 농도를 현저히 저하시키는 작용이 있어 혈전증, 동맥경화증 등 순환기계통의 질환 방지[11] 및 특정한 종양의 발육 억제 효과가 있다[2]. 또한 EPA보다 불포화도가 높은 DHA는 분자구조상 세포막을 유동적으로 만들어 혈액을 흐르기 좋은 형태로 만들어 주고 동시에 LDL-콜레스테롤을 제거해 동맥경화를 예방함으로써 혈압을 낮추는 효과가 있다고 보고되어[5,27], 현재 EPA 및 DHA를 포함하는 n-3계 다가불포화지방산을 함유한 건강기능식품이 시판되고 있다. 특히 n-3계 지방산의 섭취는 조직 내 지질, 혈장, 혈소판 막의 n-6계 지방산을 대체하는데 Kamali 등[9]의 연구에 의하면 arachidonic acid (AA, 20:4n-6) 수치는 정상 조직보다 neoplastic tissue에서 높으나 어유를 처리하였을 경우 AA 수치가 상당히 낮춰짐을 보고하였다. 또한 DHA나 EPA가 cyclooxygenase에 대하여 AA와 경쟁함으로써 AA 대사산물을 낮추는 억제제로 작용할 것이라는 보고도 AA 대사 작용과의 연관성을 설명하고 있다[3]. 이밖에도 n-3계 불포화지방산은 n-6계 불포화지방산에 비하여 대장암세포 증식을 억제하는 효과가 우수하였으며[17], 간암세포 증식도 억제하였음이 보고되었다[21]. Hwang 등[6]은 참치 에탄올 추출물에 의한 항암활성 및 면역학적 실험을 한 결과 *in vitro*에서 인체 장암세포 및 백혈병성 임파모세포의 증식을 억제하였으며 S-180세포를 접종한

*Corresponding author

Tel : +82-51-410-4757, Fax : +82-51-410-3988

E-mail : sylim@hhu.ac.kr

후 참치 추출물을 투여한 생쥐에서 용혈반 형성 세포수와 혈청 단백질 중 immunoglobulin의 상대적 비율이 현저히 증가함을 관찰하여 생체 내에서 면역 증강 효과를 나타내는 성분이 존재함을 보고하였다. 현재 참치 부산물이나 참치유를 이용한 연구는 보고되어 있지만, 실제 참치에서 섭취하는 부분인 근육 부위를 이용한 연구는 미비하다. 또한 주요 섭취 형태인 회와 초밥 외에 간편하면서도 참치가 가진 맛과 영양소를 유지할 수 있는 새로운 가공식품의 개발이 필요하다고 사료된다. 건조에 의한 식품가공기술은 식품을 보존하는 수단으로 오랫동안 사용되어져 왔으며 열풍건조, 진공건조 및 동결건조 방법 등이 이용되고 있다. 본 연구에서 사용된 저온 진공건조 방법은 재료의 수분함유량의 조절이 간편하며 재료의 건조온도가 비교적 낮아 참치 재료의 열에 의한 변형이 적고 산소농도가 매우 낮아 건조과정 중에 일어날 수 있는 부패와 변질을 방지할 수 있을 뿐만 아니라 열풍건조기에 비하여 건조시간도 비교적 짧은 장점이 있다. 에너지 비용 절약이라는 측면에서도 열풍건조 및 동결건조와 비교했을 때 1/3~1/4 정도로 결과적으로 생산단가를 낮출 수 있으며, 건조 품질의 향상과 다양한 응용식품의 개발이 가능하다.

따라서 본 연구에서는 참치의 근육 부위를 저온 진공 건조기를 이용하여 참치에 함유된 유용성분의 파괴를 최소화하고자 하였고 이상의 방법으로 건조된 참치를 유기용매로 추출하여 이들 참치 추출물과 분획물들에 의한 인체 결장암 및 섬유육종세포에 대한 증식 억제 및 세포 내 활성산소종 억제 효과에 대해 검토하고자 한다.

재료 및 방법

재료

냉동된 참치는 2008년 4월 부산 자갈치 수산시장에서 구입하여 적당한 크기로 토막 내어 저온 진공 건조기를 이용하여 40°C에서 40 torr의 압력으로 30시간 건조하였다.

추출 및 분획

건조된 참치는 실험 사용 전까지 -75°C에 냉동 보관되었다가 유기용매 추출을 위하여 acetone:methylene chloride를 1:1 비율로 혼합하여 건조 참치가 충분히 잠기도록 하여 24시간 방치한 후 추출하였다. 이 과정을 2회 반복하여 얻은 여액은 40°C 수욕 상에서 rotary vacuum evaporator (EYELA, Japan)로서 농축하여 acetone:methylene chloride 추출물(A+M)을 얻었다. 남은 잔사에 동량의 methanol을 부어 위와 동일한 방법으로 2회 반복한 후 농축하여 methanol 추출물(MeOH)을 얻었다. 두 추출물을 혼합한 추출물은 용매 극성에 따라 순차적으로 분획하여 hexane, 85% aq. MeOH, butanol (BuOH), water 분획물을 얻었다. 실험에는 각각의 추출물들을 dimethyl sulfoxide (DMSO)에 녹여 실험에 사용하였

고 암세포에 대한 생육억제활성 시험에는 필요한 농도로 희석하여 실험에 사용하였으며 DMSO의 최종농도는 0.1% 이하가 되도록 하였다.

MTT assay

한국 세포주 은행(서울의대)으로부터 인체 섬유육종세포(HT1080)와 인체 결장암세포(HT-29)를 분양받아 사용하였다. 이들 세포들은 각각 100 units/ml의 penicillin-streptomycin과 10% FBS가 함유된 DMEM 배지와 RPMI 1640 배지를 사용하여 37°C, 5% CO₂ incubator에서 배양하였다. 배양된 암세포는 96 well plate에 2×10⁴ cells/ml이 되도록 100 µl씩 분주하여 37°C, 5% CO₂ incubator에서 24시간 배양한 후 배지는 제거하고 배지로 희석한 각각의 시료를 well당 100 µl씩 첨가하였으며, 대조군에는 시료 대신 PBS를 100 µl씩 첨가하였다. 이 plate를 다시 37°C, 5% CO₂ incubator에서 24시간 배양하였다. 배양 후, MTT assay를 위하여 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) 시약 5 mg을 1 ml PBS로 녹인 후, 10% FBS가 함유된 배지 9 ml와 희석하고 희석된 MTT 시약을 각 plate에 100 µl씩 첨가하고 3~4 시간 동안 더 배양하여 MTT가 환원되도록 하였다. 배양종료 후 생성된 formazan 결정을 가라앉힌 후, 각 well에 형성된 결정이 흐트러지지 않도록 주의하면서 반응 후 남은 MTT가 처리된 배지를 조심스럽게 제거하였다. 배지가 제거된 각 well에 100 µl의 DMSO를 가하여 5-10 분간 반응시켜 formazan 결정을 용해시키고 광도계(ELISA reader)로 540 nm에서 흡광도를 측정하였다[4]. 이 흡광도 값은 MTT가 세포에 의해서 환원된 양을 나타내며, 따라서 각 well에 존재하는 생존 수와 비례한다.

세포 내 활성산소종(reactive oxygen species) 측정

인체 섬유육종세포인 HT1080세포는 한국 세포 주 은행으로부터 분양받아 실험에 사용하였다. 인체 섬유육종세포(HT1080)는 100 units/ml의 penicillin-streptomycin과 10% FBS가 함유된 DMEM 배지를 사용하여 37°C, 5% CO₂ incubator에서 배양하였다. 세포 내 활성산소종은 2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate (DCHF-DA) assay로 측정하였다[12,26]. DCHF-DA (Sigma, USA)는 세포 내 활성산소종과 반응하여 형광물질(dichlorofluorescein, DCF)을 만들어 내는 것으로 이 시약을 세포 속에 넣어 발생하는 형광을 측정함으로써 세포 내의 활성산소종을 측정할 수 있다. 세포를 96 well plate에 분주한 후 24시간 배양하고, PBS로 씻은 후 20 µM DCHF-DA를 각 well에 분주하여 37°C, 5% CO₂ incubator에서 20분간 pre-incubation하였다. 각 well에 시료를 처리하여 37°C, 5% CO₂ incubator에서 1시간 incubation한 후, 반응하고 남은 DCHF-DA를 없애고 세포는 다시 PBS로 씻은 후 500 µM H₂O₂를 처리하여 시간별로 DCF fluorescence를 excitation 485 nm, emission 535 nm에서 형광 분석기로 측정하였다. 대

조군들(blank군과 control군)은 시료 대신 PBS를 처리하며, control군은 500 μ M H₂O₂를 처리를 하고, blank군은 500 μ M H₂O₂ 대신 PBS를 처리하여 측정하였다.

통계 분석

실험 결과는 Mean \pm SEM (Standard Error of Mean)으로 나타내었고 분석된 실험 데이터는 대조군과 각 시료로부터 얻은 실험 자료로부터 one-way ANOVA를 실시하여 유의성이 있을 경우에 post-hoc test로 Duncan's multiple range test를 실시하여 $p < 0.05$ 수준에서 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

In vitro 항암 효과

건조 참치 추출물과 그 분획물들의 인체 섬유육종세포(HT1080)와 인체 결장암세포(HT-29)에 대한 *in vitro* 증식 억제효과를 조사하기 위해 MTT assay를 행하였다. Fig. 1은 건조 참치의 acetone/methylene chloride 추출물(A+M)과 methanol 추출물(MeOH)을 0.5, 1, 5 mg/ml의 농도로 인체 섬유육종세포(HT1080)에 처리했을 때 인체 암세포 증식 억제효과를 나타낸 것이다. A+M 추출물은 가장 낮은 농도인 0.5 mg/ml에서부터 농도 의존적으로 인체 섬유육종세포(HT1080)의 성장을 억제시켜 1 mg/ml 첨가농도에서 74%의 증식 억제효과를 보였고, 5 mg/ml 첨가농도에서는 97%로 높은 억제효과를 보였다($p < 0.05$). MeOH 추출물의 경우 A+M 추출물과 비교하였을 때 낮은 활성을 나타내었으나 5 mg/ml를 첨가하였을 때 77%의 암세포 증식 억제효과를 보였다($p < 0.05$). 건조 참치 추출물을 hexane, 85% aq. MeOH, butanol (BuOH), water로 다시 추출하여 얻어진 각각의 분획물들을 농도별로 처리하였을 때 hexane과 85% aq. MeOH 분획물의 경우 낮은 농도에서부터 활성을 나타내어 1 mg/ml 농도에서 각각 97%, 85%를 나타내었고, 5 mg/ml 농도에서 각각 97%, 98%의 높은 암세포 증식 억제효과($p < 0.05$)를 나타내었다(Fig. 2). BuOH 분획물의

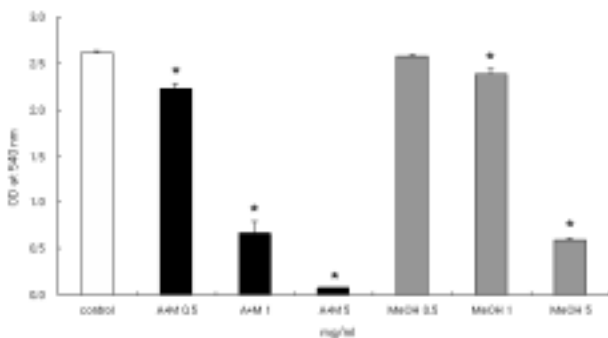


Fig. 1. Effect of acetone/methylene chloride (A+M) and methanol (MeOH) extracts of dried tuna on the growth of HT1080 human fibrosarcoma cells. * $p < 0.05$, significant effect between the control and each extract

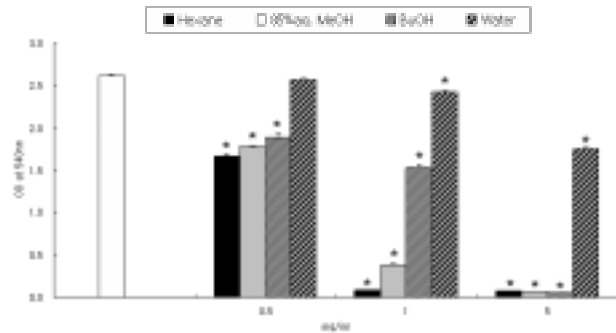


Fig. 2. Effect of its solvent fractions of dried tuna on the growth of HT1080 human fibrosarcoma cells. * $p < 0.05$, significant effect between the control and each fraction

경우에서도 인체 섬유육종세포(HT1080)에 5 mg/ml 농도로 처리하였을 때 98%의 높은 저해효과를 나타내었으나 water 분획물의 경우 기타 분획물들에 비해 낮은 활성을 나타내었다. Fig. 3은 인체 결장암세포(HT-29)에 대한 결과를 나타낸 것으로, A+M 추출물은 인체 섬유육종세포(HT1080)의 결과와 비교했을 때 다소 암세포 증식 억제 효과가 낮았으나 1 및 5 mg/ml의 첨가농도에서 각각 45% 및 95%로 암세포 증식 억제효과를 보였다($p < 0.05$). MeOH 추출물도 앞서 A+M 추출물 결과와 유사하게 인체 섬유육종세포(HT1080)에 비해 낮은 암세포 성장 억제효과를 보였지만, 첨가농도 5 mg/ml에서는 93%로 높은 암세포 증식 억제효과를 보였다($p < 0.05$). Fig. 4는 건조 참치 추출물의 hexane, 85% aq. MeOH, butanol (BuOH), water 분획물들을 농도별로 인체 결장암세포(HT-29)에 처리했을 때 암세포 증식 억제효과를 나타낸 것으로 모든 분획물들에서 농도 의존적으로 억제효과가 높은 것을 살펴 볼 수가 있었다. 특히 hexane과 85% aq. MeOH 분획물은 앞서의 인체 섬유육종세포(HT1080)의 결과와 유사하게 낮은 농도에서부터 활성이 나타나 1 mg/ml 이상의 농도에서 85% 이상의 억제 효과가 나타났다. 한편, 인체 결장암세포(HT-29)에서도 water 분획물의 활성이 가장 낮았으며 BuOH 분획물의 경우 첨가농

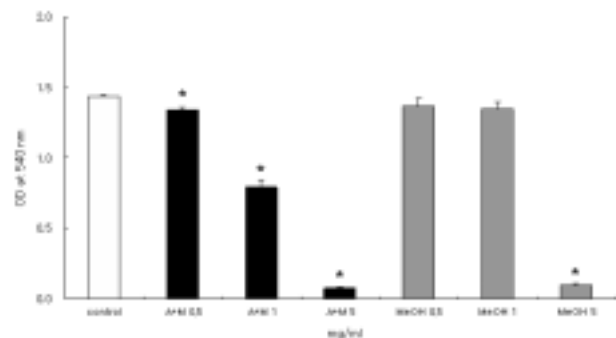


Fig. 3. Effect of acetone/methylene chloride (A+M) and methanol (MeOH) extracts of dried tuna on the growth of HT-29 human colon cancer cells. * $p < 0.05$, significant effect between the control and each extract

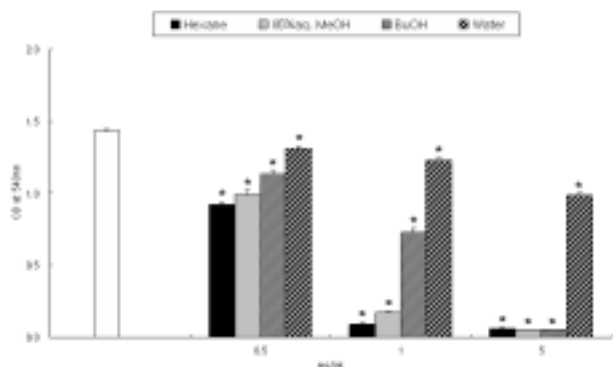


Fig. 4. Effect of its solvent fractions of dried tuna on the growth of HT-29 human colon cancer cells. * $p < 0.05$, significant effect between the control and each fraction

도 5 mg/ml에서 96%의 암세포 증식 억제효과($p < 0.05$)를 보였다. Shin 등[22]은 결장암세포(HT-29)를 비롯하여 간암세포(HepG2), 피부암세포(B16F-10), 유방암세포(MCF-7)에 대해 참치 지느러미 추출물에 의한 암세포 독성 효과를 검토한 결과 hexane, MeOH, butanol (BuOH), water 분획물 중 MeOH 분획물에서 암세포 성장 억제 효과가 높았으며, 네 가지 암세포주 중 간암세포에서 가장 높은 효과를 나타내었다고 보고했다. 또한 형태학적 변화 관찰 결과 분획물 농도 증가에 따라 암세포의 부착력이 상실되고 심한 형태적 변형이 나타났다. Hwang 등[7]은 DHA가 함유된 참치유를 처리한 실험에서 직장암세포(HRT-18), 결장암세포(HT-29), 임파모세포(L1210)에 대해 DHA가 35% 함유된 참치유를 100 μ g/ml 이상 처리 했을 때 암세포 증식 억제 효과를 나타내었다고 보고하였다. Kim 등[10]은 n-6 계열 지방산 급원으로 옥수수기름과 n-3 계열 지방산 급원으로 참치기름의 식이내 수준에 따라 쥐 간세포 암화 과정에 미치는 영향에 대해 연구한 결과 옥수수기름군의 경우 25% 수준에서 암화과정을 크게 촉진시켰으나 참치기름군의 경우 암화과정을 억제하는 효과를 나타내었다고 보고하였다. 이는 옥수수기름군에서 유도된 지질과산화물과는 다르게 세포독성 효과를 보여 전암성 병변의 속도를 제한하거나 억제시켰으며 참치기름군은 높은 소포체막 안정도를 유지하고, glutathione reductase (GR) 활성도 역시 높아져 환원형 glutathione 생성을 원활히하여 free radical 공격에 대응할 수 있는 상황을 조성하여 간세포 보호효과를 가질 것이라고 추정하였다. 이와 같은 결과는 본 연구 결과와 유사하였으며, 현재 참치 섭취 형태인 회와 초밥 외에도 여러 실험에 사용된 참치 부산물이나 근육 부위를 이용한 새로운 가공식품의 개발을 통해 참치를 보다 쉽게 섭취할 수 있을 것이라 생각된다.

In vitro 항산화 효과

건조 참치의 A+M 추출물 및 MeOH 추출물과 각 분획물들에 의한 세포내 활성산소종 억제효과를 알아보고자 인체 섬유육종세포(HT1080)를 이용하여 DCHF-DA assay를 행하

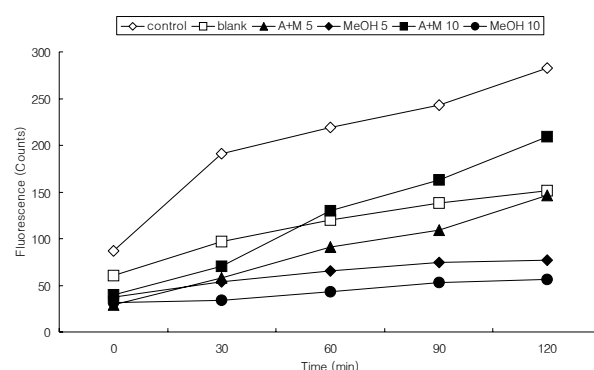


Fig. 5. Inhibitory effect of acetone/methylene chloride (A+M) and methanol (MeOH) extracts from dried tuna on levels of reactive oxygen species in HT1080 cells. A+M 5, acetone with methylene chloride extract 5 mg/ml; MeOH 5, methanol extract 5 mg/ml; A+M 10, acetone with methylene chloride extract 10 mg/ml; MeOH 10, methanol extract 10 mg/ml

였다. Fig. 5는 건조 참치 A+M 추출물 및 MeOH 추출물을 농도별로 인체 섬유육종세포(HT1080)에 처리하였을 때 A+M 추출물(10 mg/ml 농도)을 제외하고 측정시간 120분 동안 모든 추출물들이 blank군과 control군에 비해 세포내 활성산소종을 크게 억제하였고($p < 0.05$), A+M 추출물(10 mg/ml 농도)의 경우 측정시간 60분 이후부터는 500 μ M H_2O_2 만을 처리한 control군에 비해서는 활성산소종을 감소시켰으나 blank군보다는 높았음을 살펴볼 수가 있었다. 건조 참치 추출물을 hexane, 85% aq. MeOH, BuOH, water로 다시 추출하여 얻어진 각 분획물들을 인체 섬유육종세포(HT1080)에 처리했을 때 첨가농도 5 mg/ml 에서 hexane과 water 분획물을 제외한 기타 분획물들의 경우 blank군과 control군에 비해 측정 시간 120분 동안 계속적으로 세포 내 활성산소종을 감소시키는데 우수한 능력을 나타내었으나, hexane과 water 분획물의 경우 blank 보다는 높은 수치였으나 control군보다는 낮았다(Fig. 6A). 다시 이들 분획물들을 첨가농도 10 mg/ml로 처리하였을 때 hexane 분획물을 제외하고 기타 분획물들은 세포내 활성산소종을 크게 감소시켰으나 그 중에서도 특히 BuOH 및 85% aq. MeOH 분획물에 의한 항산화 효과가 우수하였다. Lee 등[13]은 수산 가공 폐기물 중 하나인 참치 자숙액으로부터 얻어진 에탄올 추출물을 감마선을 조사한 후 항산화 활성을 연구한 결과 전자공여능 및 hydroxyl 라디칼 소거능이 증가하였고 항산화지수도 증가하는 경향을 보였다고 보고하였다. 앞서 언급한 바와 같이 EPA와 DHA와 같은 다불포화지방산을 다량 함유하는 어유는 다른 유지에 비해 쉽게 산화되어 과산화물을 형성하며, 산화분해와 중합반응에 의해 산패취의 발생과 독성을 유발시키는 문제점을 갖고 있어 그에 따라 어유의 산패를 방지하려는 여러 가지 연구가 보고되어 있다[19,24]. 참치와 함께

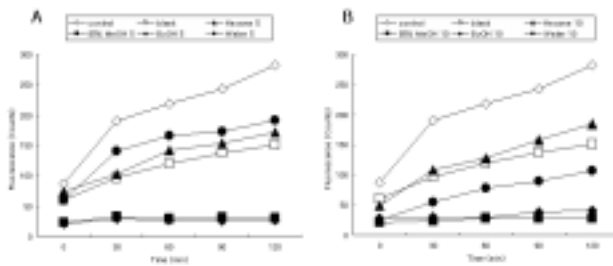


Fig. 6. Inhibitory effect of its solvent fractions from dried tuna on levels of reactive oxygen species in HT1080 cells. (A) BuOH, butanol fraction 5 mg/ml; water, water fraction 5 mg/ml; Hexane, hexane fraction 5 mg/ml; 85% MeOH, 85% aqueous methanol fraction 5 mg/ml (B) BuOH, butanol fraction 10 mg/ml; water, water fraction 10 mg/ml; Hexane, hexane fraction 10 mg/ml; 85% MeOH, 85% aqueous methanol fraction 10 mg/ml

대표적인 등푸른 생선 중의 하나인 고등어 또한 다가불포화 지방산을 많이 함유하고 있어 지질 산화의 용이성이라는 단점이 있었으나 선행된 연구에서 고등어 또한 지질과산화물로 인한 세포의 손상을 억제하였음을 관찰하였다[8]. Hwang 등[6]은 참치의 석유 에텔 추출물로부터 항암효과가 있는 활성성분을 분리 정제하여 얻은 fraction의 경우 7가지의 성분이 섞여있는 혼합물로서 그 중 4가지 성분은 지방산이었고, 나머지 3가지는 지방 성분으로 분자식은 확인되지 않았다고 보고하였다. 따라서 본 연구로부터 얻어진 결과에서도 유사하게 건조 참치 추출물 및 분획물에 의한 우수한 항산화효과를 살펴보았으며 특히 hexane과 85% aq. MeOH 분획물에서 생리활성이 높았으므로 향후 건조 참치 추출물과 분획물 정제와 같은 연구가 진행되어야 할 것으로 여겨진다.

요 약

저온 진공 공정으로 건조된 참치를 유기용매로 추출하여 이들 참치 추출물 및 분획물들에 의한 인체 결장암 및 섬유육종세포에 대한 증식 및 세포 내 활성산소종 억제 효과에 대해 검토하였다. 건조 참치의 A+M 추출물과 MeOH 추출물을 0.5, 1, 및 5 mg/ml의 농도로 인체 섬유육종세포(HT1080)에 처리했을 때 농도 의존적으로 인체 암세포 증식을 억제시켰으며($p < 0.05$), 특히 A+M 추출물이 MeOH 추출물에 비하여 그 억제효과가 우수하였다. 건조 참치 추출물로부터 얻어진 분획물들의 경우 특히 hexane과 85% aq. MeOH 분획물들에 의한 암세포 증식 억제효과가 높았다. 인체 결장암세포(HT-29)에 대한 결과로 A+M 추출물은 인체 섬유육종세포(HT1080)의 결과와 비교했을 때 다소 암세포 증식 억제 효과가 낮았으나 5 mg/ml의 첨가농도에서 95%로 암세포 증식 억제효과를 보였고($p < 0.05$), MeOH 추출물도 앞서 A+M 추출물 결과와 유사하게 인체 섬유육종세포

(HT1080)에 비해 낮은 암세포 성장 억제효과를 보였지만, 첨가농도 5 mg/ml에서는 93%로 높은 암세포 증식 억제효과를 나타내었다($p < 0.05$). 건조 참치 분획물들의 경우도 앞서의 인체 섬유육종세포(HT1080)와 유사하게 모든 분획물들에서 농도 의존적으로 억제효과가 높은 것을 살펴 볼 수가 있었고, 인체 결장암세포(HT-29)에서도 hexane과 85% aq. MeOH 분획물에 의한 항암효과가 우수하였다. *In vitro* 항산화 실험에서 건조 참치 A+M 추출물 및 MeOH 추출물을 농도별로 인체 섬유육종세포(HT1080)에 처리하였을 때 A+M 추출물(10 mg/ml 농도)를 제외하고 측정기간 120분 동안 모든 추출물들이 blank군과 control군에 비해 세포 내 활성산소종을 크게 감소시켰다. 건조 참치 분획물들 중 BuOH 및 85% aq. MeOH 분획물들은 세포내 활성산소종을 크게 감소시키는 우수한 항산화 효과를 나타내었다.

감사의 글

본 연구는 한국해양수산기술진흥원 수산기술개발사업 연구비 지원에 의해 수행되었으며 이에 감사를 드립니다.

References

- Albert, C. M., H. Campos, M. J. Stampfer, P. M. Ridker, J. E. Manson, W. C. Willett, and J. Ma. 2002. Blood levels of long-chain n-3 fatty acids and the risk of sudden death. *N. Engl. J. Med.* **346**, 1113-1118.
- Carroll, K. K. 1990. Experimental and epidemiological evidence on marine lipids and carcinogenesis. pp. 99, In *Omega-3 Fatty Acids in Health and Disease*. Lees, R. S. and Barrel, M. (eds.), Marcel Decker Inc., New York, USA.
- Chaudry, A., S. McClinton, L. E. F. Moffat, and K. W. J. Wahle. 1991. Essential fatty acid distribution in plasma and tissue phospholipids of patients with benign and malignant prostate disease. *Br. J. Cancer.* **64**, 1157-1160.
- Denizot, F. and R. Lang. 1986. Rapid colorimetric assay for cell growth and survival. Modifications to the tetrazolium dye procedure giving improved sensitivity and reliability. *J. Immunol. Methods.* **89**, 271-277.
- Froyland, L., H. Vaagenes, D. K. Asiedu, A. Garras, O. Lie, and R. K. Berge. 1996. Chronic administration of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid as ethyl esters reduced plasma cholesterol and changed the fatty acid composition in rat blood and organs. *Lipids.* **31**, 169-178.
- Hwang, W. I., N. G. Baik, Y. K. Hwang, and S. D. Lee. 1992. Antitumor and immunological effects of tuna extract. *J. Korean Soc. Food Nutr.* **21**, 353-366.
- Hwang, W. I., Y. H. Ji, M. J. Woo, and J. Y. Lee. 1994. Effects of tuna DHA on the growth of cancer cells, *In Vitro. Korean J. Nutr.* **7**, 655-662.
- Jang, J. R., H. J. Choi, K. K. Kim, and S. Y. Lim. 2008.

- Effect of extracts from dried mackerel on antioxidant activity and inhibition of growth of human cancer cell lines. *J. Life Sci.* **18**, 680-685.
9. Kamali, R. A., J. Marsh, and C. Fuchs. 1984. Effect of n-3 FA on growth of a rat mammary tumors. *J. Natl. Cancer Inst.* **73**, 457-461.
 10. Kim, S., S. Kang, and H. Choi. 2005. Effects of Dietary levels of corn and tuna oils on the formation of preneoplastic lesions in rat hepatocellular carcinogenesis. *Kor. J. Nutr.* **38**, 20-29.
 11. Kromhout, D. M., E. B. Bosschier, and C. Coulander. 1985. The inverse relation between fish consumption and 20-year mortality from coronary heart disease. *New Engl. J. Med.* **312**, 1205-1209.
 12. LeBel, C. P., H. Ischiropoulos, and S. C. Bondy. 1992. Evaluation of the probe 2', 7'-Dichlorofluorescein as an indicator of reactive oxygen species formation and oxidative stress. *Chem. Res. Toxicol.* **5**, 227-231.
 13. Lee, H. S., H. J. Kim, J. I. Choi, J. H. Kim, J. G. Kim, B. S. Chun, D. H. Ahn, Y. J. Chung, Y. J. Kim, M. W. Byun, and J. W. Lee. 2008. Antioxidant activity of the ethanol extract from cooking drips of *Thunnus thynnus* by gamma irradiation. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **37**, 810-814.
 14. Medina, I., S. P. Auboug, and R. P. Martin. 1995. Composition of phospholipids of white muscle of six tuna species. *Lipids* **30**, 1127-1135.
 15. Murase, T. and H. Saito. 1996. The docosahexaenoic acid content in the lipid of albacore *Thunnus alalunga* caught in the two separate localities. *Fish Sci.* **62**, 634-638.
 16. Nordoy, A., L. F. Hatcher, D. L. Ullmann, and W. E. Connor. 1993. Individual effects of dietary saturated fatty acids and fish oil on plasma lipids and lipoproteins in normal men. *Am. J. Clin. Nutr.* **57**, 634-639.
 17. Reddy, B. S. and S. Sugie. 1988. Effect of different levels of omega-3 and omega-6 fatty acids on azoxymethane-induced colon carcinogenesis in F344 rats. *Cancer Res.* **48**, 6642-6647.
 18. Ruxton, C. H., S. C. Reed, M. J. A. Simpson, and K. J. Millington. 2004. The health benefits of omega-3 polyunsaturated fatty acids: a review of the evidence. *J. Hum. Nutr. Diet.* **17**, 449-459.
 19. Saito, H. and K. Nakamura. 1990. Antioxidative effect of sesamol on fish oil oxidation. *Nippon Suisan Gakkaishi* **56**, 1893.
 20. Saito, H., I. Saito, K. J. Chang, Y. Tamura, and S. Yoshida. 1991. Effect of ingestion of eicosapentaenoic acid ethyl-ester on the scavenger activity for acetylated LDL and the production of platelet-derived growth factor in rat peritoneal macrophages. *Adv. Prostaglandin Thromboxane Leukot. Res.* **21**, 241-244.
 21. Sasagawa, T., K. Kosai, Y. Ota, M. Mori, and M. Okita. 2002. Influences of a dietary fatty acid composition on the emergence of glutathione S-transferase-P (GST-P) positive foci in the liver of carcinogen treated rats. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids* **67**, 327-332.
 22. Shin, M. O., M. J. Ku, and S. J. Bae. 2007. Cytotoxicity and Quinone Reductase activity stimulating effects of fin of *Thunnus Thynnus* extracts in various cancer cells. *Korean J. Nutr.* **40**, 147-153.
 23. Simopopulos, A. P. 1991. Omega-3 fatty acids in health and disease and in growth and development. *Am. J. Clin. Nutr.* **54**, 438-463.
 24. Son, J. Y., J. H. Rhim, and H. S. Son. 1995. Effect of some synthetic and natural antioxidants on the oxidative stability of skip jack oil. *Kor. J. Food Nutr.* **8**, 88-92.
 25. Takahashi, M., T. Minamoto, N. Yamashita, K. Yazawa, T. Sugimura, and H. Esumi. 1993. Reduction in formation and growth of 1,2-dimethylhydrazine-induced aberrant crypt foci in rat colon by docosahexaenoic acid. *Cancer Res.* **53**, 2786-2789.
 26. Tsuchiya, M., M. Suematsu, and H. Suzuki. 1994. *In Vivo* visualization of oxygen radical-dependent photoemission. *Methods Enzymol.* **233**, 128-140.
 27. Yamada, N., J. Shimizu, M. Wada, T. Takita and S. Innami. 1998. Changes in platelet aggregation and lipid metabolism in rats given dietary lipids containing different n-3 polyunsaturated fatty acids. *J. Nutr. Sci. Vitaminol (Tokyo)*. **44**, 279-289.
 28. Zhang, J., S. Sasaki, K. Amano, and H. Kesteloot. 1999. Fish consumption and mortality from all causes, ischemic heart disease, and stroke: an ecological study. *Prev. Med.* **28**, 520-529.