

Feline calicivirus에서 항바이러스 활성을 가지는 천연식물자원 탐색

김경란 · 김영목¹ · 이은우² · 이대성 · 이명숙*부경대학교 미생물학과, ¹부경대학교 식품공학과, ²동의대학교 생명응용학과

Received March 19, 2009 / Accepted July 22, 2009

Screening of Antiviral Activity from Natural Plants against Feline Calicivirus. Kyoung-Lan Kim, Young-Mog Kim¹, Eun-Woo Lee², Dae-Sung Lee and Myung-Suk Lee*. *Department of Microbiology, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea, ¹Department of Food Science & Technology, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea, ²Department of Life Science and Biotechnology, Donggeui University, Busan 614-714, Korea* - In an effort to discover an antiviral substance against norovirus (NV), which causes gastroenteritis illness world-wide, several plants including spices and herbs were evaluated for their antiviral activities against feline calicivirus (FCV) as a surrogate for NV. Among them, methanolic extract of green tea (*Camellia sinensis* L.) exhibited significant antiviral activity against FCV. After treatment with green tea extract (3.13 mg/ml) for 1 hr, FCV was completely inactivated. The antiviral activity of green tea extract against FCV was also determined to be dose- and time- dependent. The results obtained in this study suggested that green tea will be effective in the prevention of food-borne diseases caused by NV.

Key words : Norovirus, feline calicivirus, food-borne pathogens, antiviral activity

서 론

노로바이러스는 분류학상 family *Caliciviridae*에 속하며 단일가닥의 RNA를 갖는 virus로[22], 생김새로 인하여 소형구형 바이러스(small round structured virus, SRSV)로 불리기도 하다가 최근 노로바이러스로 공식명명 된 식중독 바이러스이다. 최근 전세계적으로 노로바이러스 식중독에 대한 사례가 많이 보고되고 있으며[4,16], 미국 질병관리본부조사(CDC)에 의하면 수인성으로 인한 장염환자의 70% 이상이 노로바이러스에 의한 것으로 보고되고 있다[22]. 국내에는 1999년 처음 보고되어 2003-2004년 대형식중독을 일으키며 주목받기 시작하여 2007년 1~5월까지 발생한 식중독 사고 중 40% 이상이 노로바이러스가 원인체로 밝혀지는 등[15], 매년 노로바이러스에 의한 식중독발생이 증가하고 있어 집단식중독 유발 병원체의 효과적인 관리를 위해 2006년 질병관리본부는 신고대상 병원체로 지정하여 감시를 강화하고 있다[11].

노로바이러스 식중독은 감염된 환자의 토사물, 분변 및 신체접촉에 의한 것이며 식수 및 어패류, 과일, 채소 등 즉석 섭취가 가능한 식품이 오염된 경우 10~100개의 작은 입자로도 질병을 일으킬 수 있으며, 입자가 매우 작아 공기 중에 에어로졸 형태로 부유하기 때문에 집단감염이 급속도로 발생하여 메스꺼움, 구토, 설사, 복통 등의 급성위장염의 증상을 나타낸다[1]. 노로바이러스 식중독은 5세 이하의 유아에게 가장 많이

발생 하지만 청장년층까지 폭넓은 연령층에 감수성을 나타내며, 겨울에 유행하는 계절적인 특징을 보이거나 최근에는 여름철까지 지속적으로 발생하여 공중보건학상 큰 위협을 받고 있다[16].

노로바이러스는 60°C의 가열, 냉장·냉동 온도에서도 생존하며, ether, 낮은 pH, 알코올계의 소독제에도 제어효과가 크지 않고 염소농도 1,000~5,000 ppm에서도 생존하는 것으로 알려져 있다[7,8,12,17]. 본 균을 제어시키기 위한 화학적인 소독제는 과다 사용할 경우 열, 가려움 등 인체에 부작용을 가져올 수 있으므로 최근에는 효과적이고 친환경적인 소독제의 개발과 평가에 대한 필요성이 강조될 수밖에 없다. 이에 부합하여 최근 천연물질을 이용하여 항균 및 항바이러스성을 가지는 천연물질에 대한 연구는 많이 보고되고 있으나[19], 항노로바이러스 활성을 가지는 천연물질에 대한 연구는 전무한 상태이다. 그 이유는 노로바이러스는 인간의 장을 숙주로 하기 때문에 동물실험이나 세포배양의 방법으로 증식 시킬 수 없어[6], 바이러스 증식을 선택적으로 억제하는 약제를 찾기란 쉽지 않고, 현재 각종 virus에 대한 증식작용 억제 및 그 작용 방식에 대한 체계적인 연구를 할 수 없기 때문이다. 따라서, 노로바이러스와 같은 calicivirus과에 속하면서 단일가닥의 RNA를 지니고 유전학적, 생화학적, 물리화학적인 특성이 유사한 feline calicivirus를 노로바이러스의 대체모델로 이용하여 연구하고 있다[9,21]

본 연구에서는 다양한 생리활성 작용이 있다고 알려진 여러 향신료 및 식물성 한약재를 대상으로 노로바이러스의 대체모델인 feline calicivirus에 대한 항바이러스 활성을 조사하였다.

*Corresponding author

Tel : +82-51-629-5615, Fax : +82-51-629-5619

E-mail : leems@pknu.ac.kr

재료 및 방법

세포 및 바이러스의 배양

본 연구에 사용한 feline calicivirus (FCV) VR-782와 FCV의 숙주세포인 Crandell-reese feiline kidney (CrFK) CCL-94는 American Type Culture Collection (ATCC, USA)에서 분양받아 사용하였다. CrFK 세포는 75 cm² tissue culture flask (Corning, USA)에서 10% fetal bovine serum (FBS; GIBCO/BRL, USA), 100 U/ml penicillin과 100 µg/ml streptomycin이 포함된 Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM; GIBCO/BRL, USA)을 사용하여 37°C, 5% CO₂ 조건에서 배양하였으며, 세포가 90% 이상 monolayer을 형성하면 계대 배양하여 사용하였다.

FCV는 monolayer로 형성된 CrFK 세포에 FCV 배양액을 90분 동안 흡착시킨 후, maintenance medium (DMEM, 2% FBS)를 넣어준 뒤 37°C, 5% CO₂ 조건에서 배양하였고, 16~24 시간 후 세포병변효과(cytopathic effects; CPE)가 일어나 부착된 세포들이 떨어지면 FCV가 감염된 flask를 freezing-thawing을 2번 반복한 후, 1,500× g에서 15분 원심분리 하였다. Cell-debris는 제거하고 세포를 파쇄시킨 후 바이러스를 함유하고 있는 상등액을 cryogenic vial (Nalgene, USA)에 0.5 ml 분주한 후 사용할 때 까지 -80°C에 보관하였다[2].

대상 천연물질 추출물 준비

FCV에 대한 항바이러스 시험에 사용될 천연식물자원은 향신료 3종(마늘, 생강, 고춧가루), 차(茶) 2종(로즈마리, 녹차) 그리고 식물성 한약재 6종(천궁, 홍화씨, 헛개, 탕자, 당귀, 진피) 등 총 11종의 물질을 시험에 사용하였다(Table 1). 그중 향신료와 녹차는 국내 일반적으로 시판되고 있는 것을 사용하였으며, 그 외의 식물자원은 2008년 4월 부산 부전시장에서 구입하였다. 각 천연물질들은 건조중량 10배량의 95% methanol로 45°C에서 3시간 동안 3회 반복하여 교반 추출하였고, 이를 여과한 후 60°C 수욕 상에서 rotary evaporator로 감압·농축하

였다. 각 추출물을 250 mg/ml의 농도로 dimethyl sulfoxide (DMSO; Kanto, Japan)에 녹인 다음 0.45 µm millipore filter로 여과한 것을 실험에 사용하였다.

세포독성 시험

각 추출물에 대한 FCV의 숙주세포인 CrFK cell의 세포독성은 96 well culture plate 표면에 CrFK cell이 부착하여 증식하게 되는 세포부착성 시험(cell attachment test)으로 측정하였다[14,19]. 각 추출물을 25, 12.5, 6.25, 3.13 및 1.56 mg/ml의 농도로 함유하는 세포배양액내에 세포(6.3×10³ cell/ml)를 부유시켜, 96 well plate에 4 well 씩 1 set로 하여 접종한 다음, 3일간 배양하면서 매일 세포가 부착, 증식 상태를 현미경으로 관찰하였다. 이때 세포가 부착, 증식하면서 독성을 일으키지 않는 최대농도를 MNCC (maximum non cytotoxic concentration)으로 정하였다[14].

항바이러스 시험 및 바이러스 감염가 측정

FCV의 항바이러스 시험은 end point dilution assay 방법인 50% tissue culture infectious dose (TCID₅₀)으로 바이러스 감염가를 측정하였다[8,9]. 바이러스 감염가는 바이러스 감염 후 배양 5일째에 바이러스에 의해 lysis된 세포를 가시화한 후 50% 이상 CPE가 나타난 well의 희석단계를 Reed-Muench method로 산정하고 log TCID₅₀/ml로 표시하였다[10].

먼저 96 well plate에 CrFK cell이 6.3×10³ cell/well 되도록 분주한 후 37°C, 5% CO₂ 조건에서 48시간 배양하여 monolayer을 얻는다. 각 추출물의 항바이러스 활성은 약 10⁵ TCID₅₀/ml로 희석된 FCV를 각 추출물과 농도별로 1:1로 혼합하여 실온에서 3, 5, 24시간별로 실온에서 반응시킨다. 반응 종료 후 virus를 maintenance medium에 10 진법으로 희석하고 CrFK cell이 monolayer로 형성된 96 well plate에 growth medium을 aspirate를 이용하여 제거한 후, 희석된 바이러스를 25 µl씩 8개의 well에 접종하고 37°C, 5% CO₂의 incubator 90분 동안 방치하여 FCV를 CrFK cell에 감염시키고, 각 well

Table 1. Medicinal plants used in this study

Scientific name	Commercial name	Materials	Utilization
<i>Allium scorodorpasum</i> var. <i>viviparum</i> Regel	garlic	root	
<i>Zingiber officinale</i> Rosc.	ginger	root	spice
<i>Capsicum annuum</i> L.	red pepper	fruit	
<i>Rosemary officinalis</i> L.	rosemary	leaf	
<i>Camellia sinensis</i> L.	green tea	leaf	tea
<i>Cnidium officinale</i> Makino	cnidii rhizoma	root	
<i>Carthamus tinctorius</i> L.	safflower	seed	
<i>Hovenia dulcis</i> var. <i>koreana</i>	raisin tree	stem	medical
<i>Poncirus trifoliata</i> Raf.	trifoliolate orange	rind of fruit	herb
<i>Angelica gigas</i> Nakai	danggwı	root	
<i>Citrus aurantium</i> L. subsp	tangerine peel	rind of fruit	

Table 2. Cytotoxicity effects of various methanolic extracts

Medicinal plants	Concentration (mg/ml)					MNCC* (mg/ml)
	25	12.5	6.25	3.12	1.56	
<i>Allium scorodorpasum</i> var. <i>viviparum</i> Regel	+	-	-	-	-	25
<i>Zingiber officinale</i> Rosc.	++	++	+	-	-	6.25
<i>Capsicum annuum</i> L.	-	-	-	-	-	>25
<i>Rosemary officinalis</i> L.	++	++	+	-	-	6.25
<i>Camellia sinensis</i> L.	++	++	+	-	-	6.25
<i>Cnidium officinale</i> Makino	++	+	-	-	-	12.5
<i>Carthamus tinctorius</i> L.	++	+	-	-	-	12.5
<i>Hovenia dulcis</i> var. <i>koreana</i>	+	-	-	-	-	25
<i>Poncirus trifoliata</i> Raf.	++	++	+	-	-	6.25
<i>Angelica gigas</i> Nakai	++	++	+	-	-	6.25
<i>Citrus aurantium</i> L. subsp	+	-	-	-	-	25
Control	-	-	-	-	-	-

*MNCC, maximum non cytotoxic concentration; ++, strong cytotoxicity; +, weak cytotoxicity; -, negative cytotoxicity.

에 100 µl의 maintenance medium을 첨가한다. 추출물의 항바이러스 활성은 FCV 희석액을 일정시간 추출물과 반응시킨 후 CrFK cell에서 측정된 TCID₅₀로 나타내었다.

결과 및 고찰

추출물의 세포독성 시험

각 추출물의 CrFK cell에 대한 세포독성은 25 mg/ml의 농도부터 2배 단계로 희석하여 추출물을 가지지 않은 well의 세포의 부착 정도와 비교하였다. 그 결과, 11종의 향신료, 차 및 식물성 한약재의 메탄올 추출물들은 CrFK cell에 대해 서로 다른 세포독성을 나타내었다(Table 2). 생강, 로즈마리, 탕자, 당귀, 녹차 추출물의 경우 6.25 mg/ml의 농도에서는 약한 독성을 나타내었으나 세포의 부착 및 성장에는 거의 영향을 미치지 않아 MNCC를 6.25 mg/ml로 정하였다. 천궁, 홍화씨 메탄올 추출물의 경우 12.5 mg/ml의 농도에서 세포독성을 나타내었으나 세포의 부착 및 성장에 거의 영향을 미치지 않아 MNCC를 12.5 mg/ml로 정하였다. 마늘, 헛개 및 진피의 MNCC는 25 mg/ml 그리고 고춧가루 추출물은 25 mg/ml 이상으로 조사되었다.

추출물의 calicivirus에 대한 항바이러스 활성

CrFK cell이 FCV에 감염될 경우 세포병변효과(CPE)가 일어나 부착된 세포들이 떨어지게 된다(Fig. 1, right). 이를 이용하여 바이러스 감염가는 FCV에 감염시킨 세포의 5일 배양 후, 50%이상 CPE가 나타난 well의 희석단계를 log TCID₅₀/ml 값으로 표시하였다.

김치 부재료로 많이 사용되고 있으며 항균작용을 가지는 것으로 알려진 마늘, 생강 및 고춧가루 추출물[13]의 FCV에 대한 항바이러스 활성을 알아보기 위하여, 각 추출물을 농도

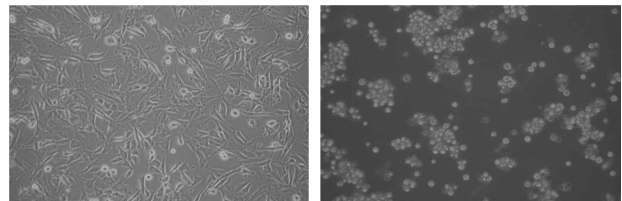


Fig. 1. Inverted microscopic photograph of normal Crandell-reese feiline kidney (CrFK) CCL-94 cells (left) and CrFK cells infected by feline calicivirus (right) after 24 hr.

별로 FCV 희석액과 반응시키고 CrFK cell에 감염시킨 후 FCV에 대한 추출물의 항바이러스 활성을 log TCID₅₀/ml 값으로 조사하였다(Table 3). 향신료 추출물질을 함유하지 않은 대조군과 비교하였을 때, 마늘의 경우 25 mg/ml의 농도에서도 TCID₅₀ 값이 거의 감소하지 않아 항바이러스 활성이 나타나지 않았으며, 생강과 고춧가루 추출물의 경우도 마늘 추출물과 마찬가지로 항바이러스 활성은 나타나지 않았다.

일반적으로 흔히 응용되고 있는 로즈마리와 녹차의 FCV에 대한 항바이러스 활성을 조사하였다. 로즈마리 추출물의 경우 FCV에 대한 항바이러스 활성을 관찰 한 결과 6.25 mg/ml에서 3시간 반응 후 1 log가 감소하였으나, 그 이하의 농도에서는 항바이러스 활성이 나타나지 않았다. 로즈마리는 그람 양성균에 대하여 항균활성이 있다고 보고되고 있으나[5], 항바이러스 활성은 미약한 것으로 나타났다. 녹차 추출물을 가지고 경우 3.13 mg/ml의 농도에서 3시간 이상 FCV와 반응시킨 경우 CrFK cell에서 바이러스 감염이 나타나지 않았으며, 1.56 mg/ml의 농도에서는 24시간 반응 시킨 경우 바이러스 감염이 나타나지 않아 다른 추출물에 비해 상대적으로 뛰어난 항바이러스 활성을 나타내었다(Table 3).

Bellamy [3]에 따르면 바이러스 log TCID₅₀/ml 값이 4 log 이상 감소하였을 경우 항바이러스 효과가 있는 것으로 판단한

Table 3. Antiviral activity of various methanolic extracts against feline calicivirus

Medicinal plants	Concentration (mg/ml)	log TCID ₅₀ /ml			
		0 time	3 hr	5 hr	24 hr
<i>Allium corodorpasum</i> var. viviparum Regel	25.00	5.00	4.67	4.17	4.17
	12.50	5.00	4.53	4.58	3.87
	6.25	5.00	4.67	4.67	4.00
	3.13	5.00	4.67	4.17	4.00
	1.56	5.00	4.73	4.50	4.00
<i>Zingiber officinale</i> Rosc.	6.25	5.00	5.00	4.50	4.17
	3.13	5.00	5.00	4.34	4.17
	1.56	5.00	4.83	4.17	3.00
<i>Capsicum annuum</i> L.	25.00	5.00	5.45	5.00	4.83
	12.50	5.00	4.56	4.24	4.17
	6.25	5.00	4.00	4.00	4.17
	3.13	5.00	4.83	4.67	4.34
	1.56	5.00	5.00	4.33	4.17
<i>Rosemarinus</i> L.	6.25	5.00	4.00	4.00	3.50
	3.13	5.00	4.17	4.17	4.00
	1.56	5.00	4.34	4.17	4.00
<i>Camellia sinensis</i> L.	6.25	5.00	neg*	neg	neg
	3.13	5.00	neg	neg	neg
	1.56	5.00	3.50	3.00	neg
<i>Cnidium officinale</i> Makino	12.5	5.00	5.00	5.00	3.00
	6.25	5.00	5.17	4.83	3.73
	3.13	5.00	5.17	5.50	4.00
	1.56	5.00	4.83	4.83	4.33
<i>Carthamus tinctorius</i> L.	12.50	5.00	neg	neg	neg
	6.25	5.00	2.17	neg	neg
	3.13	5.00	3.50	2.17	neg
	1.56	5.00	4.50	4.00	3.33
<i>Hovenia dulcis</i> var. koreana	6.25	5.00	5.00	4.67	neg
	3.13	5.00	4.67	4.33	neg
	1.56	5.00	5.00	5.00	3.00
<i>Poncirus trifoliata</i> Raf.	6.25	5.00	4.34	4.33	3.00
	3.13	5.00	4.67	3.50	3.17
	1.56	5.00	4.83	4.50	3.17
<i>Angelica gigas</i> Nakai	6.25	5.00	5.50	5.17	4.00
	3.13	5.00	5.00	5.34	4.00
	1.56	5.00	4.83	4.50	4.50
Control	25.00	5.00	4.50	4.00	3.00
	12.50	5.00	4.49	3.71	3.00
	6.25	5.00	4.83	4.67	3.56
	3.13	5.00	4.50	4.34	3.83
<i>Citrus aurantium</i> L. subsp	1.56	5.00	5.17	4.90	4.33
	Control	-	5.00	5.00	5.00

TCID₅₀, 50% tissue culture infectious dose; *neg, feline calicivirus are inactivated.

다. 녹차추출물의 경우 3.13 mg/ml에서 TCID₅₀ 값이 5 log 이상 감소하였으므로 뛰어난 항바이러스 활성을 가지고 있음을 알 수 있다.

약리작용 및 항균활성이 있다고 알려진 그 밖의 식물성 한약재 6종을 메탄올로 추출하여 노로바이러스의 대체모델인 FCV에 대한 항바이러스 활성을 조사하였다. FCV에 대한 항바이러스 활성을 조사한 결과 천궁, 헛개, 탕자, 당귀 및 진피의 경우 MNCC 농도에서 대조군과 비교하였을 때, log TCID₅₀/ml 값이 감소하는 경향을 나타내지 않아 항바이러스 작용은 매우 미약한 것으로 관찰되었다(Table 3). 그러나 홍화씨의 경우 MNCC 농도인 12.5 mg/ml에서 대조군과 비교하였을 때 3시간이상 반응 시킨 경우 TCID₅₀ 값이 4 log 이상 감소하였고, 6.25 mg/ml의 농도에서는 5시간 이상 반응시킨 경우에 4 log 이상 감소하여 다른 식물성 한약재보다 뛰어난 항바이러스 활성을 가지고 있는 것으로 나타났다(Table 3). 그러나, 1.56 mg/ml의 저농도에서는 3시간 반응시킨 경우 1 log 정도 감소하였으나 그 이후로는 반응시간을 연장하여도 지속적인 항바이러스 활성이 관찰되지 않았다. 이러한 결과는 홍화씨 추출물의 경우 농도 의존적인 항바이러스 활성을 가지고 있다는 것을 의미한다.

녹차 및 홍화씨 추출물의 항바이러스 활성

천연 식물자원 11종의 항바이러스 활성에 대한 탐색 결과, 녹차 추출물과 홍화씨 추출물이 FCV에 대한 항바이러스 효과가 뛰어난 것으로 조사되었다(Table 3). 녹차추출물의 경우 6.25 mg/ml에서 3시간 이상 반응 시킨 경우 FCV가 완전히 불활성화 되었으며, 홍화씨 추출물위 경우 6.25 mg/ml에서 5시간 이상 반응시킨 경우 FCV가 완전히 불활성화 되는 것으로 나타나 반응시간을 단축하여 반응 시간대에 따른 항바이러스 활성을 조사하였다(Table 4).

녹차 추출물의 경우, 3.13 mg/ml의 농도에서 30분 만에 TCID₅₀ 값이 1.5 log 감소되었으며, 반응 1시간 안에 바이러스가 불활성화 되는 것으로 나타났다. 그러나 1.56 mg/ml의 농도에서는 반응 시간이 경과하여도 약 1 log 정도 감소하여 낮

Table 4. Antiviral activity of methanolic extracts of *Camellia sinensis* and *Carthamus tinctorius* against feline calicivirus

Medicinal plants	Concentration (mg/ml)	log TCID ₅₀ /ml			
		0 time	30 min	1 hr	3 hr
<i>C. sinensis</i> L.	6.25	5.00	2.17	neg*	neg
	3.13	5.00	3.50	neg	neg
	1.56	5.00	4.00	4.00	3.50
<i>C. tinctorius</i> L.	12.5	5.00	3.17	4.00	neg
	6.25	5.00	4.50	4.00	2.17
	3.13	5.00	4.50	4.17	3.50
	1.56	5.00	4.50	4.17	4.50
Control	-	5.00	5.00	5.00	5.00

TCID₅₀, 50% tissue culture infectious dose; *neg, feline calicivirus are inactivated.

은 농도에서는 항바이러스 활성이 미약한 것으로 나타났다. 녹차의 주요 성분인 카테킨은 식중독균이나 병원성 세균에 대해 항균작용을 나타내고 또한, 항노화 및 항바이러스 작용을 가진다고 알려져 있다[18]. 따라서 녹차에 포함된 카테킨이라는 물질이 FCV를 불활성화 시키는 물질들 중의 하나로 사료되며 추후 이에 대한 연구를 진행할 예정이다.

홍화씨추출물의 경우, 6.25 mg/ml의 농도에서 반응 5시간 만에 바이러스 감염을 나타내지 않았으나(Table 3), 시간을 단축한 결과 12.5 mg/ml의 농도에서는 30분 만에 2 log 정도가 감소하였고, 반응시간이 경과함에 항바이러스 활성이 점차 증가하여 3시간 이상 경과한 경우 FCV가 불활성화 되는 것으로 조사되었다. 6.25 mg/ml의 농도에서는 3시간이 지나야 2 log 이상이 감소하는 것으로 나타나 녹차보다는 항바이러스 활성이 약하지만 농도 및 반응시간에 유의적으로 항바이러스 활성을 나타내는 것으로 관찰되었다(Table 4). 향후, 홍화씨 추출물의 FCV에 항바이러스 활성을 나타내는 물질에 대한 세부적인 연구가 더 진행되어야 할 것으로 판단된다.

본 연구에서는 사회경제적으로 막대한 피해를 일으키고 있는 노로바이러스를 효과적으로 제어 시킬 수 있는 방안을 찾고자 norovirus의 대체 모델인 feline calicivirus를 이용하여 가장 흔하게 접할 수 있는 향신료, 차(茶), 식물성 한약재 등 11종의 여러 가지 천연물질을 대상으로 농도 및 시간별로 FCV를 효과적으로 억제시킬 수 있는 항바이러스 활성을 가지고 있는 물질을 탐색하였다. 이상의 결과를 조합하여 보면 녹차와 홍화씨의 추출물이 FCV에 대한 항바이러스 효과가 뛰어난 것으로 나타났으며, 그중 녹차 추출물의 항바이러스 활성이 가장 강하게 나타났다.

바이러스는 숙주세포의 대사과정에 의존하여 증식하는 절대 세포내 기생체이므로 천연물질을 이용한 항바이러스 물질의 개발은 인체에 부작용을 획기적으로 줄일 수 있을 뿐만 아니라 면역체계의 활성을 높여 보다 뚜렷한 효과를 기대할 수 있으며[20], 천연물질을 이용함으로써 식재료 이용시에 식품의 맛과 영양을 더 증가 시킬 수 있다. 따라서, 이러한 FCV에 대한 천연물질의 *in vitro*에서 불활성화 작용을 조사함으로써 노로바이러스 저감화를 위한 기초자료를 제공함과 동시에 식중독 사고에 대한 피해와 혼란을 줄일 수 있을 것으로 기대된다.

요 약

노로바이러스는 인간에게 급성위장염을 일으키는 식중독 바이러스로, 최근 전세계적으로 노로바이러스 식중독 사고가 증가하고 있다. 따라서 본 연구에서는 다양한 생리 활성 작용이 있다고 알려진 향신료, 차(茶), 식물성 한약재 등 11종의 천연물질을 대상으로 노로바이러스의 대체모델인 feline calicivirus (FCV)에 대한 항바이러스 활성을 조사

하였다. 각 추출물에 대한 항바이러스 활성은 end point dilution assay 방법인 50% tissue culture infectious dose (TCID₅₀)으로 바이러스 감염가를 측정하였다. 녹차(*Camellia sinensis* L.) 추출물의 경우 3.13 mg/ml의 농도에서 1 시간 만에 FCV가 완전히 불활성화 되었으며, 홍화씨(*Carthamus tinctorius* L.) 추출물은 6.25 mg/ml의 농도에서 5시간 만에 바이러스가 불활성화 되어 녹차추출물이 FCV에 대한 항바이러스 활성이 가장 뛰어난 것으로 조사되었으며, 농도 및 반응시간에 유의적으로 항바이러스 활성을 나타내는 것으로 관찰되었다. 녹차 및 홍화씨 추출물 등과 같은 천연 식물 자원을 이용하여 FCV에 대한 항바이러스 활성을 조사한 결과는 궁극적으로는 노로바이러스에 의한 식중독 저감을 위한 기초자료에 이용될 수 있을 것으로 기대된다.

감사의 글

본 연구는 국토해양부수산특정연구개발 사업의 연구비지원에 의해 수행되었습니다.

References

- Blackburn, B. G., G. F. Craun, J. S. Yoder, V. Hill, R. L. Calderon, N. Chen, S. H. Lee, D. A. Levy, and M. J. Beach. 2004. Surveillance for waterborne-disease outbreaks associated with drinking water-United States. 2001-2002. *MMWR Surveillance Summaries* **53**, 23-45.
- Bidawid, S., N. Malik, O. Adegbunrin, S. A. Sattar, and J. M. Farber. 2003. A feline kidney cell line-based plaque assay for feline calicivirus, a surrogate for Norwalk virus. *J. Virol. Methods* **107**, 163-167.
- Bellamy, K., 1995. A review of the test methods used to establish virucidal activity. *J. Hosp. Infect* **30**, 389-396.
- Bull, R. A., E. T. V. Tu, C. J. McIver, W. D. Rawlinson, and P. A. White. 2006. Emergence of a new norovirus genotype II. 4 variant associated with global outbreaks of gastroenteritis. *J. Clin. Microbiol.* **44**, 327-333.
- Chung, D. O., I.D. Park, and H. O. Jung. 2001. Evaluation of functional properties of onion, rosemary, and thyme extracts in Onion Kimchi. *Kar. J. Soc. Food Cookery Sci.* **17**, 24-29.
- Duizer, E., K. J. Schwab, F. H. Neill, R. L. Atmar, M. P. G. Koopman, and M. K. Estes. 2004a. Laboratory efforts to cultivate noroviruses. *J. Gen. Virol.* **85**, 79-87.
- Duizer, E., P. Bijkerk, B. Rockx, A. Groot, F. Twisk, and M. Koopmans. 2004b. Inactivation of Caliciviruses. *Appl. Environ. Microbiol.* **70**, 4538-4543.
- Doultree, J. C., J. D. Druce, C. J. Birch, D. S. Bowden, and J. A. Marshall. 1999. Inactivation of feline calicivirus, a Norwalk virus surrogate. *J. Hosp. Infect* **41**, 51-57.
- Gehrke, C., J. Steinmann, and P. Goroncy-Bernes. 2004. Inactivation of feline calicivirus, a surrogate of norovirus

- (formerly Norwalk-like viruses), by different types of alcohol *in vitro* and *in vivo*. *J. Hosp. Infect* **56**, 49-55.
10. Hierholzer, J. C. and R. A. Killington. 1996. Virus isolation and quantitation. In: *Virology Methods Manual*, In Mahy, B. W. J, and H. O. Kangro (eds.), Academy Press, San Diego, 35-37.
 11. Jee, Y. M. 2006. Norovirus food poisoning and laboratory surveillance for viral gastroenteritis in Korea. *Korea Institute for Health and Social Affairs* **118**, 26-34.
 12. Jimenez, L. and M. Chiang. 2006. Virucidal activity of a quaternary ammonium compound disinfectant against feline calicivirus: A surrogate for norovirus. *Am. J. Infect Control* **34**, 269-273.
 13. Kim, M. L., K. H. Choi, and C. S. Park. 2000. Growth inhibition of food-borne bacteria by juice and extract of ginger and garlic. *J. East Asian Soc. Dietary Life* **10**, 160-169.
 14. Kott, V., L. Barbini, M. Cruaños, J. de D. Muñoz, E. Vivot, J. Cruaños, V. Martino, G. Ferraro, L. Cavallaro, and R. Campos. 1998. Antiviral activity in Argentine medicinal plants. *J. Ethnopharmacol* **64**, 79-84.
 15. Lee, N. R. 2007. Norovirus and foodborne disease. *J. Food Hyg. Saf.* **2**, 20-29.
 16. Lopman, B., H. Vennema, E. Kohli, P. Pothier, A. Sanchez, A. Negredo, J. Buesa, E. Schreier, M. Reacher, D. Brown, J. Gray, M. Iturriza, C. Gallimore, B. Bottiger, K. O. Hedlund, M. Torven, C. H. von Bonsdorff, L. Maunula, M. Poljsak-Prijatelj, J. Zimsek, G. Reuter, G. Szucs, B. Melegh, L. Svennson, Y. van Duynhoven, and M. Koopmans. 2004. Increase in viral gastroenteritis outbreaks in Europe and epidemic spread of new norovirus variant. *Lancet* **363**, 682-688.
 17. Malik, Y. S., S. Maherchandani, and S. M. Goyal. 2006. Comparative efficacy of ethanol and isopropanol against feline calicivirus, a norovirus surrogate. *Am. J. Infect Control* **34**, 31-35.
 18. Park, C. S. 2000. Effect of pine needle and green tea extracts on the survival of pathogenic bacteria. *J. Food Sci. Nutr.* **16**, 40-46.
 19. Park, K. J. and H. H. Lee. 2005. *In vitro* antiviral activity of aqueous extracts from korean medicinal plants against influenza virus type A. *J. Microbiol. Biotechnol.* **15**, 924-929.
 20. Rym, K. H., S. K. Eo, Y. S. Kim, C. K. Lee, and S. S. Han. 1999. Antiviral activity of water soluble substance from *Elfvigia applanata*. *Kor. J. Pharmacogn.* **30**, 25-33.
 21. Steinmann, J. 2004. Surrogate viruses for testing virucidal efficacy of chemical disinfectants. *J. Hosp. Infect* **56**, 49-54.
 22. Widdowson, M. A., A. Sulka, S. N. Bulens, S. R. Beard, and S. S. Chaves. 2005. Norovirus and foodborne disease, United States. 1991-2000. *Emerging Infect Dis.* **11**, 95-102.