

## 전통된장의 면역증강 효과

이창현<sup>1</sup> · 윤 영<sup>2</sup> · 송근섭<sup>3</sup> · 김영수<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>우석대학교 한의과대학 해부학교실

<sup>2</sup>전북대학교 식품공학과

<sup>3</sup>전북대학교 바이오식품공학과

## Immunostimulatory Effects of Traditional *Doenjang*

Chang-Hyun Lee<sup>1</sup>, Young Youn<sup>2</sup>, Geun-Seoub Song<sup>3</sup>, and Young-Soo Kim<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Anatomy, College of Oriental Medicine, Woosuk University, Jeonbuk 565-701, Korea

<sup>2</sup>Dept. of Food Science and Technology, Chonbuk National University, Jeonbuk 561-756 Korea

<sup>3</sup>Dept. of Food Science and Biotechnology, Chonbuk National University, Jeonbuk 570-752 Korea

### Abstract

We investigated the immunostimulatory effects of *doenjang*, a famous Korean traditional food made from fermented soybean paste, on the immunohistochemical reaction in the gastrointestinal (GI) tract and immune response in mice. Male C57BL/6N mice (6 weeks-old) were divided into 4 experimental diet treatment groups and a basal diet (control) group, and fed with different diets for 4 weeks. The immunoreactive density of CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> lymphocytes were strongly stained in the jejunum and colon in Group III. The immunoreactivity of universal nitric oxide synthase (uNOS) was strongly stained in the myenteric plexus in the colon of all *doenjang*-fedgroups (I, II and III). The colonic immunoreactive density of protein kinase C- $\alpha$  (PKC- $\alpha$ ) was strongly increased in Groups II and III, while that of stem-cell factor (c-kit) was increased in colonic mucosa of all *doenjang*-fedgroups (I, II and III) and especially increased in the colonic muscle layer of Group III. These morphological and immunological results indicated that the intake of *doenjang* could improve the mucosal immune reaction, gastrointestinal motility, blood circulation in the GI tract, and the immuneactivity of the body. These results provide experimental evidence about the health benefits of *doenjang*.

**Key words:** *doenjang*, immunohistochemical reaction, CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> lymphocytes, universal nitric oxide synthase, protein kinase C- $\alpha$

### 서 론

식생활의 서구화에 따른 동물성식품의 섭취량이 증가되고, 이로 인한 여러 가지 심혈관계질환, 암, 당뇨병 등 각종 만성퇴행성 대사성 질환이 증가되고 있다. 최근 이러한 질환의 치료와 예방법을 기능성식품에서 찾고자 하는 노력들이 늘어나면서, 전통식품에 대한 다양한 연구들이 진행되고 있으며, 그중에서 식물성 단백질원인 두류를 이용한 전통발효식품인 된장, 청국장 및 고추장의 기능성 물질들에서 그 해답을 조금씩 찾아가고 있다.

된장은 대두를 주원료로 하여 가공한 저장성이 있는 조미식품으로서 예로부터 전해내려 온 발효식품인 동시에 우리 식생활의 단백질 공급원으로서도 중요한 전통부식이다(1-3). 된장의 품질은 맛이나 향기 그리고 색깔 등에 의해 결정되어 지는데, 된장의 맛은 주로 발효 숙성과정에서 콩 단백질로부터 생성된 아미노산에 기인하며, 여기에 미량의 당분과 소금

의 짠 맛이 조화되어 맛을 더하게 되고, *Aspergillus oryzae*, *Bacillus* 속, 효모 그리고 젖산균의 발효과정에서 생성된 휘발성 성분과 미생물 발효에서 생성되는 색이 조합되어 된장의 품질이 결정된다(4,5). 전통된장은 원료인 콩으로부터 유래되는 각종 영양성분을 제공하는 1차 기능과 맛과 풍미를 제공하는 2차 기능 이외에도 최근의 연구 보고들에 따르면 혈당 강하, 항산화 효과(6,7), 고혈압 방지 효과(8), 항돌연변이성, 항암성, 혈전용해능 등 식품의 3차 기능인 각종 생리활성이 있는 것으로 알려져 있다(9-13). 이렇듯, 최근 식품 성분들이 소유한 기존의 영양학적 역할 외에 다양한 생리조절 작용을 밝히려는 노력이 여러 각도에서 이루어지면서, 생명 유지와 건강에 가장 기본적 작용을 하며 암을 비롯한 각종 질환의 발생과 밀접한 관련이 있는 생체 면역 조절 기능에도 관심을 모으고 있다.

생체면역조절 기능이란 외부로부터 자기 자신을 보호하기 위해 사용되는 생물체의 수단으로, 그중 면역계는 침입한

\*Corresponding author. E-mail: ykim@jbnu.ac.kr  
Phone: 82-63-270-2569, Fax: 82-63-270-2572

항원에 대하여 활성화되는 각종 면역세포들의 작용으로 속주를 방어한다. 이러한 면역세포들의 증식, 분화 및 작용기전은 다양한 종류의 외부자극에 의해 조절되고 활성화된다. 이런 관점에서 질병상태는 면역 반응이 저하된 상태라고 전제하고, 암 환자 또는 노약자 등에서 면역능을 증진시킬 수 있는 물질을 추구하게 되었다(14-16).

따라서 본 연구에서는 두류제품의 기능성 평가에 관한 연구의 일환으로 순창에서 생산된 전통된장의 면역조절 작용을 확인함으로써 우리지역의 대두 발효식품인 전통된장의 기능성을 과학적으로 입증하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 된장

된장은 전북 순창에서 전통적인 방법으로 제조된 된장을 구입하여 동결건조 시킨 뒤 100 mesh sieve를 통과한 분말을 실험에 사용하였다.

### 시약

면역조직화학적 염색을 위한 primary antibodies로 anti-CD4, anti-CD8, PKC- $\alpha$  및 stem cell factor는 Santa Cruz Biotechnology Inc.(Santa Cruz, CA, USA), anti-uNOS는 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO, USA) 제품을, biotinylated anti-rat IgG와 biotinylated anti-rabbit IgG의 secondary antibodies는 Vector Laboratories Inc.(Burlingame, CA, USA)를 사용하였다. 그 밖에 사용된 시약들은 대부분이 Sigma Chemical Co. 제품들로 사용되었다.

### 실험동물 및 실험군의 분류

립프기관에서의 면역반응과 위장관도에서의 면역조직화학적 변화를 관찰하기 위하여 생후 6주령 된 C57BL/6N 계통의 웅성 생쥐를 각 군에 6마리씩 배정하여 4주간 사육하였다(Table 1). 각각의 생쥐들은 대조군과 실험식이 투여군으로 임의대로 배정하여 나누었으며, 실험동물은 온도  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ , 습도  $55 \pm 10\%$ , 명암주기 12시간의 사육조건에서 일주일 동안 적응시킨 후 4주간 고형사료와 물을 자유로이 섭취하도록 하였다. 실험식은 대조군에는 AIN-76 basal diet (17)만을, 투여군은 AIN-76 basal diet에 농도별로 0.5%, 2.5% 그리고 5%의 된장을 첨가하여 제조한 후 급여하였다(Table 2). 된장분말시료의 일반적인 영양성분 분석 자료는

Table 1. The experimental design of animals (n=6)

Groups	Animals & diet
Control	Basal diet
Group I	Basal diet+0.5% <i>doenjang</i> diet
Group II	Basal diet+2.5% <i>doenjang</i> diet
Group III	Basal diet+5% <i>doenjang</i> diet

Male C57BL/6N mice (6 weeks-old) were fed with diets for 4 weeks to investigate immunostimulatory effects of traditional *doenjang*.

Table 3과 같다.

### 면역조직화학적 염색

면역조직화학적 염색을 위하여 위, 십이지장, 공장 및 결장의 절편들을 xylene으로 paraffin을 제거한 후 합수과정을 거쳤다. 비특이적 항원반응을 차단하기 위하여 10% normal goat serum(Vector Laboratories Inc.)을 실온에서 1시간 동안 처리하고 0.1 M phosphate buffer로 세척하였다. 1차 항체는 anti-CD4(1:100, Santa Cruz Biotechnology Inc.), anti-CD8(1:100, Santa Cruz Biotechnology Inc.) 그리고 anti-uNOS(1:50, Sigma), PKC- $\alpha$ (1:100, Santa Cruz Biotechnology Inc.) 및 stem cell factor(1:100, Santa Cruz Biotechnology Inc.)를 1% normal serum(Vector Laboratories Inc.)과 0.3% Triton-X 100(Sigma)이 함유된 phosphate buffer saline(PBS, pH 7.4, Gibco BRL, Grand Island, NY, USA)으로 희석하여  $4^\circ\text{C}$ 에서 24시간 반응시켰다. 그 후 2차 항체인 biotinylated anti-rat IgG(Vector Laboratories Inc.)와 biotinylated anti-rabbit IgG(Vector Laboratories Inc.)를 1:200으로 희석하여 실온에서 1시간 동안 반응시킨 후, 0.1 M PBS(Gibco BRL)로 수세하였다. 그리고 peroxidase가 표지된 avidin-biotin complex(ABC, Vector Laboratories Inc.)를 1:100으로 희석하여 실온에서 1시간 동안 반응시킨 후 0.1 M PBS로 다시 수세하였다. 발색제는 3,3'-diaminobenzidine(DAB, Sigma)을 0.1 M PBS(Gibco BRL)에 0.05%가 되게 용해하여, 사용 직전에  $\text{H}_2\text{O}_2$ 를 0.003

Table 2. The composition of experimental diets (unit: %)

Ingredients	Groups <sup>1)</sup>			
	Control	Group I	Group II	Group III
Casein	20	20	20	20
DL-Methionine	0.3	0.3	0.3	0.3
Sucrose	55	55	55	55
Corn starch	10	10	10	10
Corn oil	5	5	5	5
AIN-76 mineral mix <sup>2)</sup>	3.5	3.5	3.5	3.5
AIN-76 vitamin mix <sup>3)</sup>	1	1	1	1
Choline bitartrate	0.2	0.2	0.2	0.2
Cellulose	5	5	5	5
<i>Doenjang</i>	0	0.5	2.5	5

<sup>1)</sup>Control: basal diet, Group I: basal diet+0.5% *doenjang*, Group II: basal diet+2.5% *doenjang*, Group III: basal diet+5% *doenjang*.

<sup>2,3)</sup>AIN-76 mineral mixture and AIN-76 vitamin mixture (17).

Table 3. Proximate composition of *Doenjang*

Component	<i>Doenjang</i>
	(unit: % wet basis)
Moisture	57.0 $\pm$ 0.32
Crude protein	13.1 $\pm$ 0.05
Crude fat	8.0 $\pm$ 0.02
Carbohydrate	9.9 $\pm$ 0.08
Crude ash	12.0 $\pm$ 0.11
Salinity	10.8 $\pm$ 0.03

Table 4. The effect of *Doenjang* on the body weight and food intake in C57BL/6N mice

Groups <sup>1)</sup>	Initial body weight (g)	Final body weight (g)	Changes of body weight (g, (% of increase rate))	Daily food intake (g)
Control	24.1±0.8	31.2±0.7	7.1 (29.5)	3.6
Group I	24.2±0.5	30.1±0.5	5.9 (24.3)	3.3
Group II	23.9±0.5	29.4±0.4	5.5 (23.0)	3.1
Group III	23.9±0.7	28.6±0.6	4.7 (19.7)	2.9

<sup>1)</sup>Groups are the same as in Table 2.

Values are means±SE of 6 separate animals.

가 되게 첨가하여 실온에서 10~15분 동안 발색시켰다. 반응이 끝난 조직은 수세한 후 통상적인 조직처리 방법에 따라 탈수, 투명화 과정을 거친 다음 봉입하여 광학현미경으로 관찰하였다.

### 통계분석

모든 자료는 mean±SE이며, 통계학적 유의성 검정은 Student's *t*-test에 의하여 검정하였다. *p*값은 *p*<0.05 수준에서 유의적 차이를 검증하였다.

## 결과 및 고찰

### 사료섭취량 및 체중변화

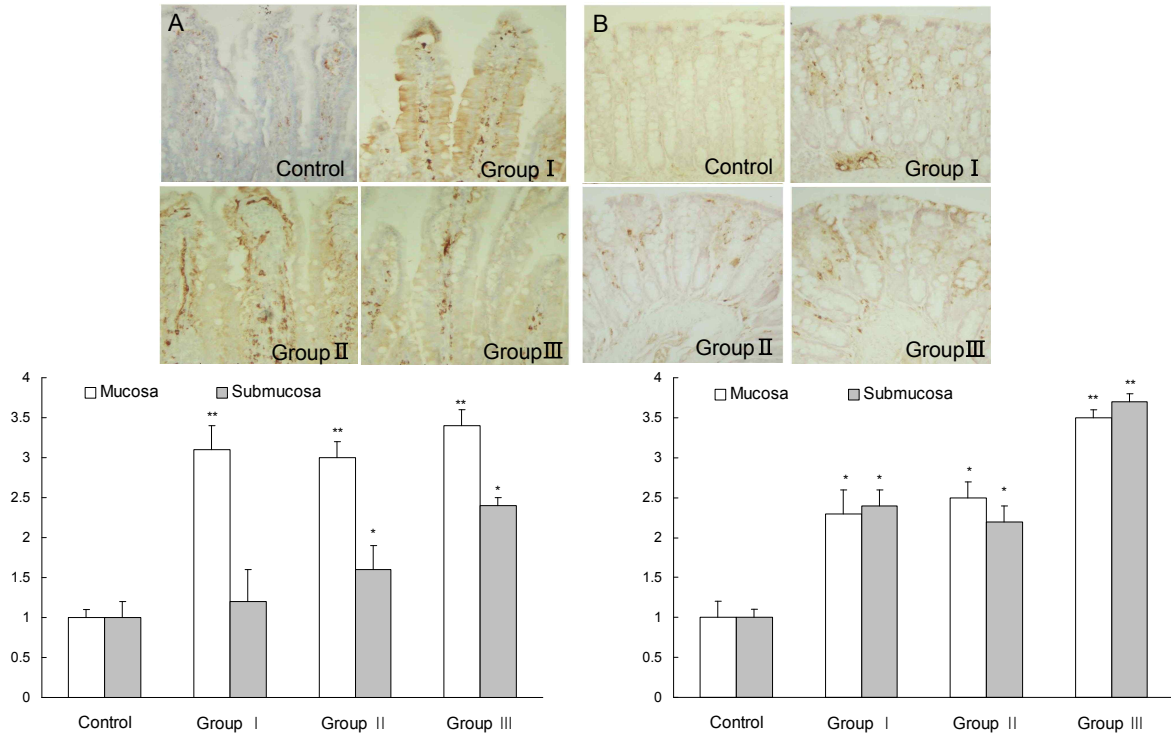
전통된장 식이를 4주간 섭취시킨 후 실험동물의 체중변화와 사료섭취량을 비교한 결과는 Table 4와 같다. 즉, 사료섭취량은 Control이 3.6 g으로 가장 높고, Group III이 2.9 g으로 가장 낮아 된장의 첨가량이 증가할수록 사료섭취량은 감소하는 경향을 나타내었다. 또, 체중변화는 Control이 24.1±0.8 g에서 31.2±0.7 g으로 약 7.1 g(29.5%) 증가한 반면, 실험군인 Group I은 24.2±0.5 g에서 30.1±0.5 g으로 약 5.9 g(24.3%) 증가하였고, Group II는 23.9±0.5 g에서 29.4±0.4 g으로 약 5.5 g(23.0%) 증가하였으며, Group III는 23.9±0.7 g에서 28.6±0.6 g으로 약 4.7 g(19.7%)이 증가하여 Control에 비하여 모든 실험군에서 감소하는 경향을 나타내었다. 이는 된장 첨가군에서의 사료섭취량의 감소가 실험동물의 체중변화에도 영향을 준 것으로 사료되었다.

### CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> T 림프구의 면역조직화학적 변화

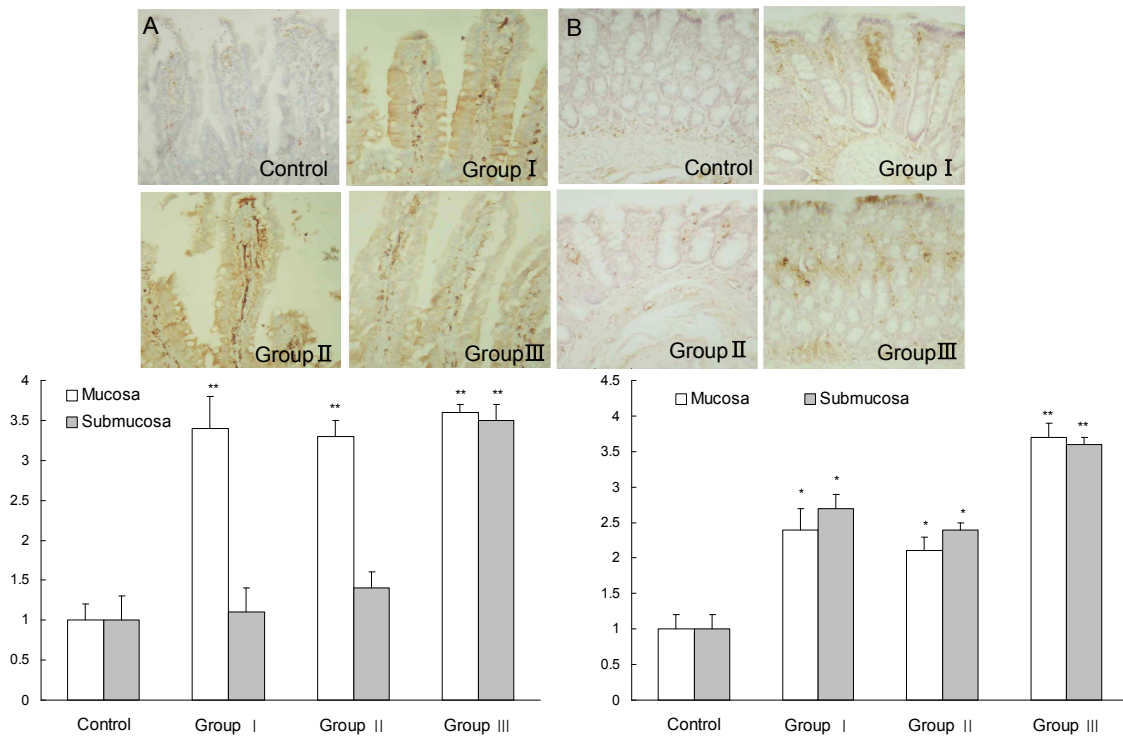
전통된장을 식이한 후 면역증강 효과를 살펴본 결과는 Fig. 1, 2와 같다. 면역계는 임파구 및 단핵포식세포와 부속세포로 구성되며 항원에 대한 특이면역 능력을 가지는 유일한 세포집단은 임파구이다. 이러한 임파구는 T임파구와 B임파구의 두 가지 세포로 나뉘며, T임파구는 면역계 전체를 통제하는 중심세포로서 T세포수용체 유전자가 활성화되어 분화단계에서 CD4<sup>+</sup>와 CD8<sup>+</sup> 마커의 발현유무에 따라 다른 임파구의 활성을 촉진하는 T<sub>H</sub>(CD4<sup>+</sup>)세포와 종양세포 등의 표적세포를 파괴하는 Tc(CD8<sup>+</sup>)세포로 나뉜다. 그중 T<sub>H</sub>임파구는 T<sub>H</sub>1과 T<sub>H</sub>2세포로 나뉘며 T<sub>H</sub>1세포는 interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ )와 IL-2를 선택적으로 생성해서 지연형과민반응과 NK세포, Tc임파구 응답을 촉진하고, T<sub>H</sub>2세포는 IL-4,

IL-5, IL-6를 분비하여 B세포가 생성하는 항체응답을 촉진한다(18). 세포매개성 면역반응에 중요한 역할을 담당하는 T 림프구에는 살해 T 세포(killer T cell, Tc)와 도움 T세포(helper T cell, T<sub>H</sub>)가 있는데, 외부에서 세균과 같은 항원이 들어왔을 때 CD4<sup>+</sup> 세포인 T<sub>H</sub>가 활성화되어 cytokine과 같은 특정물질을 분비하고, 분비된 cytokine은 Tc의 활성화를 도와서, 활성화된 Tc인 CD8<sup>+</sup>는 병원체에 감염된 세포들을 제거하는 것으로 알려져 있으며(19), CD4<sup>+</sup> 림프구는 대장 내음와(crypt) 바닥의 상피세포에 위치하고, CD8<sup>+</sup> 림프구는 선택적으로 분화된 상피세포 사이에 위치하면서(20), 위장관에서의 점막면역계통의 생리적 기능과 관련되어 있는 것으로 알려져 있다(21). CD4<sup>+</sup> T 세포의 면역조직화학적 염색 반응의 결과(Fig. 1), 공장에서의 관찰조건은 대조군에서는 공장 용모내 고유층 내에서 미약하게 관찰되었으나 농도별로 된장 식이를 첨가한 모든 실험군(Group I, II 및 III)에서는 강한 면역반응을 나타내었다(Fig. 1A). 결장에서의 관찰 조건은 대조군에서는 결장의 점막 고유층과 점막하층에서 미약하게 소수의 세포들이 관찰되었으나, Group I에서는 점막하층과 외막층의 혈관 주위에서 강한 면역반응을 나타내었고, Group III에서는 점막 고유층, 점막하층 및 외막층의 혈관 내에서 강한 면역반응을 나타내었다(Fig. 1B).

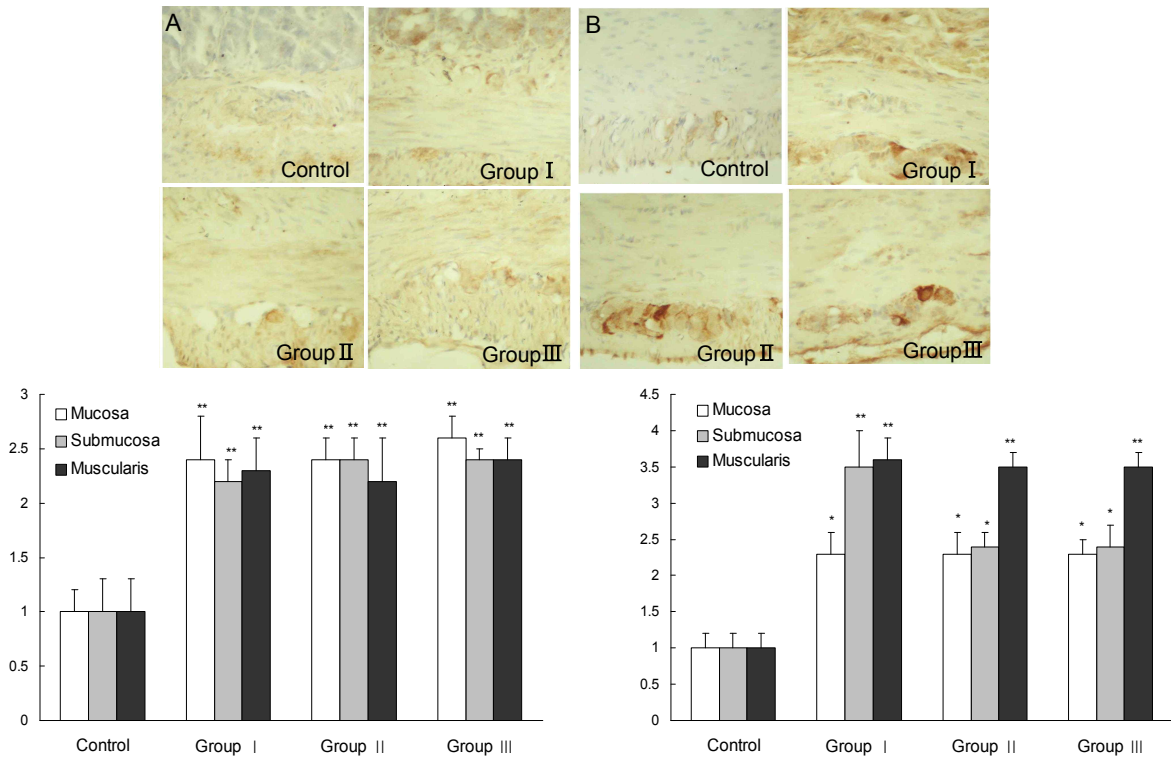
CD8<sup>+</sup> 림프구의 면역조직화학적 염색반응의 결과(Fig. 2), 공장에서의 관찰 조건은 대조군에서는 공장의 용모와 음와 아래의 고유층 내에서만 미약하게 관찰되었으나, 농도별로 된장 식이를 첨가한 모든 실험군(Group I, II 및 III)에서는 용모의 점막 고유층에서 강한 면역반응을 나타내었다(Fig. 2A). 결장에서의 관찰 조건은, Group III에서는 점막 고유층, 점막하층, 외막층 및 점막상피에서 강한 면역반응을 나타내었다(Fig. 2B). 일반적으로 결장의 상피내세포는 세균총에 의한 내장내 감염에 대하여 방어기능을 수행하며, 소장과 대장의 점막 고유층내 상존하는 림프구 대부분은 면역글로블린을 분비하는 세포로서, 특히 IgA를 분비하는 세포가 주류를 이루고 있다. 이러한 대장의 상피내림프구들은 T<sub>H</sub>에서 분비하는 물질과 유사한 다양한 사이토카인을 분비하므로 CD4<sup>+</sup>세포가 우세하게 존재하는 것으로 알려져 있다(22). 이상의 실험결과로 대조군에 비하여 된장 식이를 첨가한 모든 실험군에서 CD4<sup>+</sup> 및 CD8<sup>+</sup> T 림프구에 강한 면역 반응을 나타낸 것으로 보아 된장의 섭취가 위장관내 T 림프구(T<sub>H</sub>/Tc cells)의 활성을 증가시켜 위장관내에서 면역능력의 향상



**Fig. 1.** Immunohistochemical density of CD4<sup>+</sup> lymphocytes in jejunum and colon tissues (×100). (A) Expression of CD4<sup>+</sup> in jejunum (upper panel), the expression of CD4<sup>+</sup> was normalized to CD4<sup>+</sup> as a relative ratio (lower panel). (B) Expression of CD4<sup>+</sup> in colon (upper panel), the expression of CD4<sup>+</sup> was normalized to CD4<sup>+</sup> as a relative ratio (lower panel). Immunohistochemical density of CD4<sup>+</sup> lymphocytes in group I, II, and III was strongly stained compared to control group. Values are means±SE of 6 separate animals. Values are significantly different from the basal diet control group (\*p<0.05, \*\*p<0.01). Groups are the same as in Table 2.



**Fig. 2.** Immunohistochemical density of CD8<sup>+</sup> lymphocytes in jejunum and colon tissues (×100). (A) Expression of CD8<sup>+</sup> in jejunum (upper panel), the expression of CD8<sup>+</sup> was normalized to CD8<sup>+</sup> as a relative ratio (lower panel). (B) Expression of CD8<sup>+</sup> in colon (upper panel), the expression of CD8<sup>+</sup> was normalized to CD8<sup>+</sup> as a relative ratio (lower panel). Immunohistochemical density of CD8<sup>+</sup> lymphocytes in group I, II, and III was strongly stained compared to control group. Values are means±SE of 6 separate animals. Values are significantly different from the basal diet control group (\*p<0.05, \*\*p<0.01). Groups are the same as in Table 2.



**Fig. 3.** Immunohistochemical density of uNOS in jejunum and colon tissues ( $\times 100$ ). (A) Expression of uNOS in jejunum (upper panel), the expression of uNOS was normalized to uNOS as a relative ratio (lower panel). (B) Expression of uNOS in colon (upper panel), the expression of uNOS was normalized to uNOS as a relative ratio (lower panel). Immunohistochemical density of uNOS in group I, II, and III was strongly stained compared to control group. Values are means  $\pm$  SE of 6 separate animals. Values are significantly different from the basal diet control group (\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ ). Groups are the same as in Table 2.

에 도움이 되는 것을 알 수 있었다.

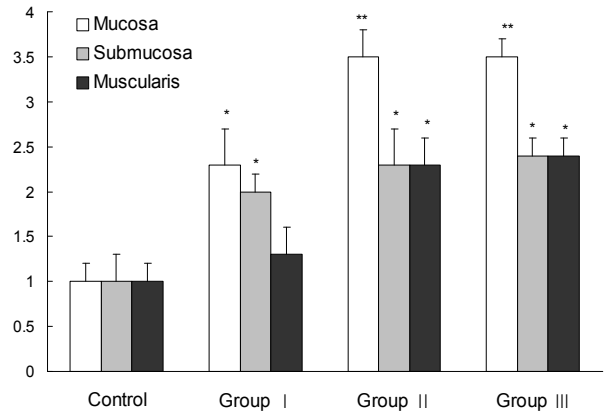
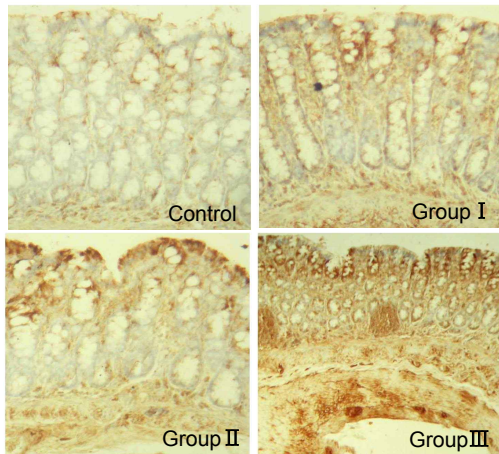
**공장과 결장에서의 universal nitric oxide(uNOS)의 면역조직화학적 변화**

전통된장을 섭취한 흰쥐의 공장과 결장에서 uNOS의 면역조직화학적 변화를 관찰한 결과는 Fig. 3과 같다. 면역계의 최전방에서 작용하는 대식세포는 nitric oxide(NO)를 생성하여 대식세포의 방어 작용을 매개하여 세포 염증반응에서 중심적인 역할을 담당하는데(23), 합성된 NO는 혈관이완, 신경전달 및 암세포억제와 같은 여러 가지 생리학적 반응과 관련이 있는 것으로 알려져 있다(24,25). 공장에서 uNOS의 면역조직화학적 변화에 대한 관찰소견은 대조군에서 공장의 근육층신경절기와 외막층에서 약하게 관찰되었으나, 농도별로 된장 식이를 첨가한 모든 실험군(Group I, II, III)에서는 공장 용모의 표면상피, 점막저부의 분비상피 및 점막고유층, 점막하층, 근육층신경절기 및 외막층에서 중등도의 면역반응을 나타내었다(Fig. 3A). 또한 결장에서의 uNOS에 대한 면역조직화학적 변화에 대한 관찰소견은 대조군에서는 결장의 근육층신경절기와 외막층 및 일부 결장 표면 상피에서 미약한 면역반응을 나타냈으나, Group I에서는 결장의 점막하층과 근육층신경절기에서, Group II와 Group III에서는 근육층신경절기에서 강한 면역반응을 나타내었다(Fig. 3B). 최근 약리 및 생리학적 연구에 의하면 NO는 포유

류 위장관도에서 비아드레날린성, 비콜린성 억제신경에서 신경전달물질로서 작용하여 위장관에서 신경세포의 조절에 중요한 역할을 하며, NOS의 활성화는 주요 내장신경계의 신경세포나 신경섬유에서 관찰되고(26), NOS의 신경 동질 효소들은 근육층신경절기에서 관찰된다고 하였다(27). 또한 근육층신경절기에서 방출된 NO는 결장 통과시간 및 결장 내용물의 추진을 용이하게 하는 것으로 보고되었다(28). 따라서 본 실험의 결과에서 나타난 된장식이를 첨가한 실험군에서 NOS의 발현의 촉진은 NO의 방출을 증가시켜 위장관의 운동과 혈관운동을 촉진함으로써 위 비움과 결장의 운동을 촉진할 것으로 사료되었다.

**결장에서의 protein kinase C- $\alpha$ (PKC- $\alpha$ )에 대한 면역조직화학적 변화**

Fig. 4는 결장에서의 PKC- $\alpha$ 에 대한 면역조직화학적 변화를 나타내었다. 대조군에서는 결장의 점막과 점막하층에서는 약한 면역반응을 나타내었고, 근육층에서는 중등도의 면역반응이 관찰되었으나, Group I의 점막층과 근육층에서는 중등도의 면역반응을, Group II 및 Group III의 점막층과 근육층에서는 강한 면역반응을 나타내었다. PKC- $\alpha$ 는 다양한 신호전달과정에 관여하는 효소로서 세포막에 존재하는 인지질에 의존하는 serine/threonine kinase 군에 속하고, 이중 PKC- $\alpha$ 는 classical PKC의 대표적인 칼슘의존성 효소이며



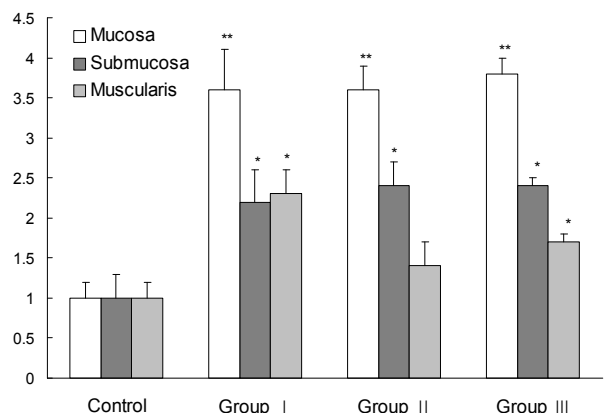
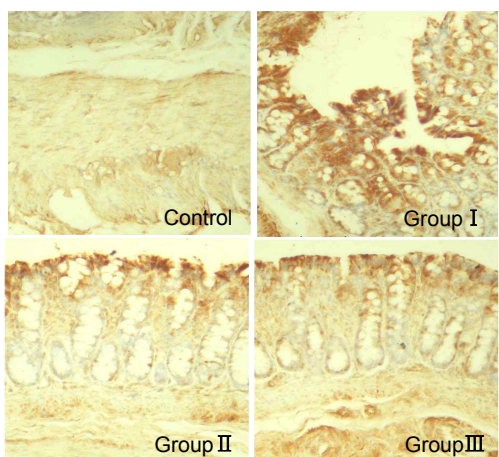
**Fig. 4. Immunohistochemical density of protein kinase C- $\alpha$  (PKC- $\alpha$ ) in colon tissues ( $\times 100$ ).** Expression of PKC- $\alpha$  in jejunum (left panel), the expression of PKC- $\alpha$  was normalized to PKC- $\alpha$  as a relative ratio (right panel). Immunohistochemical density of PKC- $\alpha$  in group I, II, and III was strongly stained compared to control group. Values are means  $\pm$  SE of 6 separate animals. Values are significantly different from the basal diet control group (\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ ). Groups are the same as in Table 2.

(29), 대식세포에서 lipopolysaccharide로 유도된 iNOS의 생성과 밀접한 관련이 있다고 알려져 있다(30,31). 또한, PKC- $\alpha$ 에는 최소한 11가지 정도의 동질효소가 존재하여 광범위한 범위의 신호를 매개하고 세포 성장과 분화를 조절한다고 알려졌다(32). PKC의 활성을 주위의 정상적인 점막과 비교하였을 때, 실험동물(33,34)이나 결장암 환자(35)에서 일관되게 결장암을 감소시키는 것으로 보고되어져 있다. 따라서 본 실험의 된장식이군에서 농도의 증가에 따라 PKC- $\alpha$ 에 대한 면역반응이 위장관의 점막상피에서 강하게 나타난 것으로 보아 점막 상피세포의 증식과 분화를 촉진하여 여러 가지 물질의 흡수와 전달에 관여할 것으로 사료되었다.

Stem cell factor(c-kit)의 면역조직화학적 변화

Fig. 5는 줄기세포 인자인 c-kit에 대한 면역조직화학적

변화의 결과로서 대조군에서는 결장의 점막과 점막하층에서는 약한 면역반응을 나타내었고, 근육층에서는 중등도의 면역반응이 관찰된 반면, 농도별로 된장 식이를 첨가한 Group I에서는 점막층과 근육층에서 강한 면역반응을 나타내었고, Group II와 Group III에서는 점막층에서 강한 면역반응만을 나타내었다. c-kit는 수용체 타입의 tyrosine kinase로 줄기세포 인자를 ligand로 갖고 있는데, c-kit 수용체와 줄기세포 인자 사이의 상호작용은 세포의 증식과 분화와 같은 세포분열 과정과 조직의 수선에 관여하여 상처치유에 영향을 주는 것으로 알려져 있다(36). 따라서 된장의 농도가 증가함에 따라 c-kit에 대한 위장관의 점막층에서 강한 면역반응을 나타낸 결과는 전통 된장이 점막 상피세포의 증식과 분화를 촉진하여 여러 가지 물질의 흡수와 전달에 관여할 것으로 생각된다.



**Fig. 5. Immunohistochemical density of stem cell factor (c-kit) in colon tissues ( $\times 100$ ).** Expression of c-kit in colon (left panel), the expression of colon was normalized to colon as a relative ratio (right panel). Immunohistochemical density of c-kit in group I, II, and III was strongly stained compared to control group. Values are means  $\pm$  SE of 6 separate animals. Values are significantly different from the basal diet control group (\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ ). Groups are the same as in Table 2.

## 요 약

된장의 면역증강 효과에 미치는 영향을 위장관도에서 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다. CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> T 림프구의 면역조직화학적 염색반응에서 된장식이를 첨가한 모든 실험군에서 CD4<sup>+</sup> T 세포는 공장의 점막 고유층과 음와 아래의 고유층에서 강한 면역 반응을 나타내었고, 결장에서는 점막하층과 외막층의 혈관 주위에서 강한 면역반응을 나타내었다. 반면, CD8<sup>+</sup> T 세포는 Group III에서 결장의 점막상피, 점막 고유층, 점막하층 및 외막층에서 강한 면역반응을 나타내었고, uNOS에 대한 면역 반응에서는 된장 식이를 첨가한 모든 실험군에서 결장 점막하층과 근육층신경얼기에서 강한 면역반응을 나타내었다. Protein kinase C- $\alpha$ 에 대한 면역 반응은 Group II와 Group III에서 점막상피와 근육층에서 강한 면역반응을 나타내었고, stem cell factor에 대한 면역 반응은 된장식이를 첨가한 모든 실험군의 점막상피와 Group I의 근육층에서 강한 면역반응을 나타내었다. 이상의 실험 결과로 대조군에 비하여 농도별로 된장식이를 첨가한 실험군에서 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>에 대하여 강한 면역반응을 보인 것으로 보아 위장관에서 면역능을 증가시킬 것으로 사료되며, uNOS의 증가에 따른 NO의 방출이 위장관의 운동과 혈관운동을 촉진하여 위비움과 결장의 운동을 촉진할 것으로 사료되었다. 또한 농도별로 된장 식이를 첨가한 실험군에서 protein kinase C- $\alpha$ 와 stem cell factor에 대한 면역반응이 위장관의 점막상피에서 강하게 나타난 것으로 보아 점막 상피세포의 증식과 분화를 촉진시켜 여러 가지 물질의 흡수와 전달에 관여할 것으로 사료되었다.

## 감사의 글

이 논문은 2011학년도 우석대학교 교내학술연구비 지원에 의하여 연구되었습니다.

## 문 헌

- Joo HK, Oh KT. 1992. Chemical composition change in fermented Doenjang depend on Doenjang koji and its mixture. *Kor J Agric Chem Soc* 35: 351-360.
- Kim JH, Yoo JS, Lee CH, Kim SY, Lee SK. 2006. Quality properties of soybean pasts made from meju with mold producing protease isolated from traditional meju. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 49: 7-14.
- Shin JH, Choi DJ, Kwen OH. 2008. Quality characteristics of Doenjang prepared with Yuja juice. *Korean J Food Cookery Sci* 24: 198-205.
- Yang SH, Choi MR, Kim JK, Chung YG. 1992. Optimization of the taste components composition in traditional Korean soybean paste. *J Korean Soc Food Nutr* 21: 449-453.
- Lee HT, Kim JH, Lee SS. 2009. Analysis of microbiological contamination and biogenic amines content in traditional and commercial doenjang. *J Fd Hyg Safety* 24: 102-109.
- Kim MH, Lee JH. 1994. Antioxidant materials in domestic meju and Doenjang. *J Korean Soc Food Nutr* 23: 251-260.
- Kurechi T, Kikuda S, Hasunuma M. 1981. Inhibition of N-nitrosamine formation by soya products. *Food Cosmet Toxicol* 19: 425-450.
- Yu RN, Chung DK, Nam HS, Shin ZI. 1996. Effect of soybean hydrolysate on hypertension on spontaneously hypertensive rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 25: 1031-1036.
- Fang YZ, Yang S, Wu G. 2002. Free radicals, antioxidants and nutrition. *Nutr* 18: 872-879.
- Park KY, Moon SH, Cheigh HS. 1996. Antimutagenic effect of Doenjang (Korean soy paste). *J Food Sci Nutr* 1: 151-156.
- Messina M. 1995. Modern applications for an ancient bean: soybeans and the prevention and treatment of chronic disease. *J Nutr* 125: 567-572.
- Lee JJ, Lee YM, Chang HC, Lee MY. 2009. Antioxidative effects of Doenjang fermented using *Bacillus subtilis*. *Korean J Food Preserv* 16: 554-561.
- Kim MH, Im SS, Kim SH, Kim GE, Lee JH. 1994. Antioxidative materials in domestic Meju and Doenjang. 2. Separation of lipophilic brown pigment and their antioxidative activity. *J Korean Soc Food Nutr* 23: 251-269.
- Kim J, Ryu HS, Shin JH, Kim HS. 2005. In vitro and in vivo supplementation of *Houttuynia cordata* extract and immunomodulating effect in mice. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34: 167-175.
- Kwon J, Lee SJ, So JN, Oh CH. 2001. Effects of *Schizandra chinensis* fructus on the immunoregulatory action and apoptosis of L1210 cells. *Korean J Food Sci Technol* 33: 384-388.
- Suh JS. 1996. Effect of *Codonopsis lanceolata* radix water extract on immunocytes. *Korean J Food & Nutr* 9: 379-384.
- American Institute of Nutrition. 1977. Report of the American Institute of Nutrition ad hoc committee on standards for nutritional studies. *J Nutr* 107: 1340-1348.
- Kuby J. 2002. *Immunology*. 5th ed. W.H. Freeman & Co. New York, NY, USA. p 285-307.
- Roitt I, Brostoff J, Male D. 2001. *Immunology*. 4th ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA, USA. p 11.1-11.14.
- Ishizuka S, Tanaka S, Xu H, Hara H. 2004. Fermentable dietary fiber potentiates the localization of immune cells in the rat large intestinal crypts. *Exp Biol Med* 229: 876-884.
- Vega-Lopez NA, Telemo E, Bailey M, Stevens K, Stokes CR. 1993. Immune cell distribution in the small intestine of the pig: immunohistological evidence for an organized compartmentalization in the lamina propria. *Vet Immunol Immunopathol* 37: 49-60.
- Beagley KW, Husband AJ. 1998. Intraepithelial lymphocytes: origins, distribution, and function. *Crit Rev Immunol* 18: 237-254.
- Butchar JP, Parsa KV, Marsh CB, Tridandapani S. 2006. Negative regulators of toll-like receptor 4-mediated macrophage inflammatory response. *Curr Pharm Des* 12: 4143-4153.
- Kalkishima K, Shiratsuchi A, Taoka A, Nakanishi Y, Fukumori Y. 2007. Participation of nitric oxide reductase in survival of *Pseudomonas aeruginosa* in LPS-activated macrophages. *Biochem Biophys Res Commun* 355: 587-591.
- Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA. 1991. Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol Rev* 43: 109-141.
- Konturek SK, Konturek PC. 1995. Role of nitric oxide in

- the digestive system. *Digestion* 56: 1-13.
27. Nicholes K, Staines W, Kranti A. 1993. Nitric oxide synthase distribution in the rat intestine: a histochemical analysis. *Gastroenterology* 105: 1651-1661.
  28. Takahashi T, Qoubaitary A, Owyang C, Wiley JW. 2000. Decreased expression of nitric oxide synthase in the colonic myenteric plexus of aged rats. *Brain Res* 883: 15-21.
  29. Greenberg SS, Jie O, Zhao X, Wang JF. 1998. Role of PKC and tyrosine kinase in ethanol-mediated inhibition of LPS-inducible nitric oxide synthase. *Alcohol* 16: 167-175.
  30. Sodhi A, Biswas SK. 2002. FMLP-induced in vitro nitric oxide production and its regulation in murine peritoneal macrophages. *J Leukoc Biol* 71: 262-270.
  31. Salonen T, Sareila O, Jalonen U, Kankaanranta H, Tuominen R, Moilanen E. 2006. Inhibition of classical PKC isoenzymes downregulates STAT1 activation and iNOS expression in LPS-treated murine J774 macrophages. *Br J Pharmacol* 147: 790-799.
  32. Nishizuka Y. 1995. Protein kinase C and lipid signaling for sustained cellular responses. *FASEB Journal* 9: 484-496.
  33. Craven PA, DeRubertis FR. 1992. Alterations in protein kinase C in 1,2-dimethylhydrazine induced colonic carcinogenesis. *Cancer Res* 52: 2216-2221.
  34. Guillem JG, O'Brian CA, Fitzer CJ, Forde KA, LoGerfo P, Treat M, Weinstein IB. 1987. Altered levels of protein kinase C and Ca<sup>2+</sup>-dependent protein kinases in human colon carcinomas. *Cancer Res* 47: 2036-2039.
  35. Wali RK, Baum CL, Bolt MJG, Dudeja PK, Sitrin MD, Brasitus TA. 1991. Down-regulation of protein kinase C activity in 1,2-dimethylhydrazine-induced rat colonic tumors. *Biochim Biophys Acta* 1092: 119-123.
  36. Tian Q, Frierson HF Jr, Krystal GW, Moskaluk CA. 1999. Activating c-kit gene mutation in human germ cell tumors. *Am J Pathol* 154: 1643-1647.

(2011년 6월 8일 접수; 2011년 8월 26일 채택)