

양배추즙 및 양배추 혼합즙의 인체위암세포(AGS) 성장 억제효과와 HCl-Ethanol로 유발된 흰쥐의 항위염 효과

홍예지¹ · 김성윤¹ · 한재갑² · 임양이³ · 박건영^{1*}

¹부산대학교 식품영양학과

²대상(주) 중앙연구소

³성신여자대학교 식품영양학과

Inhibitory Effects of Cabbage Juice and Cabbage-Mixed Juice on the Growth of AGS Human Gastric Cancer Cells and on HCl-Ethanol Induced Gastritis in Rats

Ye-Ji Hong¹, Seong Yoon Kim¹, Jaegab Han², Yaung-Iee Lim³, and Kun-Young Park^{1*}

¹Dept. of Food Science and Nutrition, Pusan National University, Busan 609-735, Korea

²Daesang R&D Center, Icheon 467-813, Korea

³Dept. of Food and Nutrition, Sungshin Women's University, Seoul 142-732, Korea

Abstract

This study determined the effects of cabbage juice and cabbage-mixed juices on the growth of AGS human gastric cancer cells and their anti-gastritic effects on HCl-ethanol induced gastritis in SD rats. Cabbage juice showed the highest growth inhibition on AGS gastric cancer cells *in vitro* (42%), compared with chlorella (20%) and kale juice (21%). However, cabbage-chlorella and cabbage-kale juice mixtures (at a 7:3 ratio) showed synergistic effects (57% and 65% inhibitory effects, respectively) on the gastric cancer cells. Inflammatory genes (iNOS, COX-2, TNF- α and IL-1 β) were significantly down-regulated in the mixed juices. Tests of DPPH radical scavenging activity and acid-neutralizing capacity with the mixed juices also showed this trend, as cabbage-chlorella and cabbage-kale mixed juices showed synergistic effects compared to cabbage juice alone. The inhibition rate of acute gastritis induced by HCl-ethanol in rats was 46% with high amounts of cabbage (CH; 800 mg/kg), 71% with high amounts of cabbage and chlorella (CChH; 800 mg/kg), 74% with high amounts of cabbage and kale (CKH; 800 mg/kg), and 75% with cimetidine (positive control) compared with the control. In addition, rates with CChH and CKH showed decreasing gastric secretions with increasing pH. These results show that cabbage juice and cabbage-mixed juices, especially with chlorella or kale, exhibit remarkable anti-gastritic effects and can be administered for a long period for the prevention and treatment of gastric cancer and gastritis.

Key words: cabbage juice, chlorella, kale, AGS human cancer cells, antigastritis

서 론

채소즙(녹즙)은 가열하지 않은 생채소나 과일을 절단하여 즙을 낸 것으로 가열 조리된 채소와는 달리 효소, 비타민, 무기질, 엽록소, 기타 영양성분이 소화 흡수되기 좋은 형태로 가공된 식품이다(1). 일반적으로 사용되는 녹즙의 원료는 명일엽, 케일, 양배추, 당근, 돌미나리 등이 있으며 최근에는 맛과 기능성을 보강한 혼합즙의 형태로 많이 출시되고 있다.

양배추(*Brassica oleracea* var. capitata)는 십자화과 초본이며, 세계적으로 *Brassica* 속 채소는 소비량이 증가하는 경향을 나타내며 영양학적으로 많은 유익을 준다(2). 십자화과 채소는 glucosinolates(3), phenolics(4), 베타-카로틴, 비

타민 C, lutein, zeaxanthin(5)이 다량 함유되어 있으며, 특히 glucosinolates는 황(sulfur)을 함유하여 휘발성 있는 매운 향기를 가진다. 현재까지 약 100여종의 glucosinolate가 확인되었으며, 이는 채소를 즙을 내거나 조리하는 과정에서 myrosinase에 의해 가수분해 되어 isothiocyanates, thiocyanates, nitriles, indole-3-carbinol, sulforaphane, butenyl isothiocyanate, allyl isothiocyanate로 전환되는데 이들은 높은 암발생 억제 효과를 가진다(6). 선행기능성 관련 연구로는 미생물 번식 저해효과(7), 항돌연변이(8), 항산화, 항암 효과 특히 위암과 같은 소화기계 질환 발생 감소(9), 실험적으로 유발된 위궤양의 회복효과(10), 위·십이지장 궤양 치료 효과(6) 등이 있다.

*Corresponding author. E-mail: kunypark@pusan.ac.kr
Phone: 82-51-510-2839, Fax: 82-51-514-3138

케일(*Brassica oleracea* var. *acephala*)은 십자화과 양배추 변종 중의 하나로서 우리나라에서는 녹즙 및 쌈용으로 많이 이용되고 있다. 영양학적으로 케일은 비타민과 무기질이 풍부한 채소로 100 g 중 비타민 C 146 mg, 비타민 U 54 mg, 베타-카로틴 7.03 mg, 칼슘 181 mg, 클로로필 187 mg 등 비타민 및 무기질의 함량이 높고(11,12), quercetin (110 mg/kg), kaempferol(211 mg/kg)과 같은 플라보노이드 함량도 다른 채소들보다 높다(13). 선행 기능성에 대한 연구로는 항돌연변이 효과(14), 혈중 콜레스테롤 농도 저하(15), 항산화, 과산화지질 농도 감소 효과(16)가 있다.

클로렐라는 기능성 생물소재로 각광받고 있는 담수 녹조 단세포 생물로 크기는 0.002~0.01 mm이지만 알칼리도가 높고 체내 중금속 축적 억제 및 배설, 면역기능 향상, 인슐린 작용 활성화, 콜레스테롤 저하와 같은 생리활성 기능을 가진다(17). 이를 상품화한 클로렐라 열수 추출물(*Chlorella vulgaris* extract, CVE) 또한 면역력 증강, 혈압강하, 간 기능 개선, 지질저하, 항산화·항암 기능성, 항균 작용을 나타낸다(18).

본 연구에서는 일반적으로 널리 알려진 양배추즙과 이에 클로렐라 또는 케일을 첨가하여 맛과 기능성을 증가시킨 양배추 혼합즙의 항 위염 기능성을 평가하기 위해 양배추, 클로렐라, 케일, 양배추-클로렐라 혼합즙, 양배추-케일 혼합즙의 *in vitro* 인체위암세포(AGS) 성장 억제효과, 항산화력, 제산력을 측정하였으며, 이를 바탕으로 흰쥐를 이용한 *in vivo* HCl-ethanol 급성 위염모델에서 이들 녹즙의 위염에 대한 보호 효과를 검토하였다.

재료 및 방법

채소즙과 클로렐라 추출물 제조

본 실험에 사용한 재료는 2011년 11월경 채취한 유기 재배 양배추(전북 익산), 케일(충북 진천)을 사용하였다. 채소즙(녹즙)을 제조하기 위하여 불가식 부위를 제거하는 정선 작업 후 3회 세척하고 탈수, 절단하여 착즙하였으며 80 mesh로 여과하여 5°C에 보관한 것을 동결건조 하여 시료로 사용하였다. 본 실험에 사용된 양배추, 케일 녹즙 동결건조분말은(주)대상 well-life(Icheon, Korea)에서 제공받아 실험에 사용하였고, 제품의 고형분 함량은 100 mL당 양배추 녹즙은 4.5 g, 케일 녹즙은 3.5 g이었다.

클로렐라(*Chlorella vulgaris*)는 90°C에서 열수 추출하여 균체를 분리하고 농축, 여과를 거쳐 동결건조 시킨 분말은(주)대상 well-life에서 공급받아 사용하였다(19).

AGS 인체위암세포 배양 및 MTT assay

AGS 인체위암세포는 한국세포주은행(서울의대)으로부터 분양받아 사용하였다. 세포 배양을 위하여 RPMI 1640, fetal bovine serum(FBS), 0.05% trypsin-0.02% EDTA, 100 units/mL penicillin-streptomycin을 GIBCO(Grand Island, NY, USA)로부터 구입하여 사용하였고, 5% CO₂ incubator

(model 311S/N29035, Forma, Marietta, OH, USA)를 이용하였다. 세포는 100 units/mL penicillin-streptomycin과 10%의 FBS가 함유된 RPMI 1640을 사용하여 37°C, 5% CO₂ incubator에서 배양하였다. 배양된 암세포는 일주일에 2~3회 refeeding하고 6~7일 만에 PBS로 세척한 후 0.05% trypsin-0.02% EDTA로 부착된 세포를 분리하여 원심분리 한 후 계대배양하면서 실험에 사용하였다. 계대배양 시 각각의 passage number를 기록하여 passage 2~8회의 세포를 사용하였다. 배양된 암세포는 96-well plate에 well당 1×10⁴ cells/mL가 되도록 100 µL씩 분주하고 24시간 부착시킨 후 시료를 첨가하여 37°C, 5% CO₂ incubator에서 48시간 배양하였다. 여기에 인산생리식염수에 5 mg/mL의 농도로 제조한 3-(4,5-dimethyl-thiazol)-2,5-diphenyltetrazolium bromide(MTT) 용액을 배지로 희석하여 첨가하고 동일한 배양 조건에서 4시간 동안 더 배양하였다. 이때 생성된 자주색 formazan 결정을 DMSO에 녹여 540 nm에서 ELISA reader(model 680, Bio-Rad, Hercules, CA, USA)로 흡광도를 측정하였다(20).

Reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) 분석

염증관련 유전자인 iNOS, COX-2, TNF- α (tumor necrosis factor- α) 및 IL-1 β 를 AGS 인체위암세포에서 측정하기 위하여 동일한 조건에서 준비된 암세포에 RNazol B(TEL-TEST, Inc., Friendswood, TX, USA)를 이용하여 total RNA를 분리하였다. 분리된 RNA를 정량한 후, oligo dT primer와 AMV reverse transcriptase를 이용하여 2 µg의 RNA에서 ss cDNA를 합성하였다. 이 cDNA를 template로 사용하여 iNOS(Sense: 5'-GCA GCT GGG CTG TAC AAA-3'; Antisense: 5'-AGC GTT TCG GGA TCT GAA T-3'), COX-2(Sense: 5'-GAA TCA TTC ACC AGG CAA CTT G-3'; Antisense: 5'-TCT GTA CTG CGG GTG GAA CA-3'), TNF- α (Sense: 5'-GAC CCT CAG ACT CAG ATC CTT CT-3'; Antisense: 5'-ACG CTG GCT CAG CCA CTC-3') 및 IL-1 β (Sense: 5'-CTC CAT GAG CTT TGT ACA AGG-3'; Antisense: 5'-TGC TGA TGT ACC AGT TGG GG-3') 유전자를 polymerase chain reaction(PCR) 방법으로 증폭하였다. 이때 housekeeping 유전자인 glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase(GAPDH) 유전자를 internal control로 사용하였다. 각 PCR 산물들을 1% agarose gel을 이용하여 전기영동하고 ethidium bromide(EtBr, Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)를 이용하여 염색한 후 UV 하에서 확인하였다(20).

1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH) radical 소거 효과

시료 100 µL를 DPPH 용액 100 µL와 혼합하여 96-well plate에 분주하고 30분간 실온에 방치시킨 후, 540 nm에서

분광광도계(UV/VIS spectrophotometer, Jasco, Tokyo, Japan)를 이용하여 흡광도를 측정하였다. 시료를 첨가하지 않은 대조군과 비교하여 radical 소거효과를 백분율(%)로 나타내었다(21).

시료의 제산력 측정

제산력 시험법은 대한약전에 명시된 시험법으로 위에서 산과 반응하여 제산작용을 나타내는 의약품의 원료 및 제제의 제산력을 구하는 실험으로 1일 또는 1회 복용량에 해당하는 검체의 0.1 mol/L 수산화나트륨 소비량(mL)으로 나타내었다. 약전에 명시된 방법을 약간 변경하여 마개 달린 플라스크에 녹즙 1회 투여량(흰쥐 200 g 기준 1회 투여량, 800 mg/kg-2 mL)를 취하고 물 35 mL로 희석한 후 0.2 mol/L 염산 25 mL를 넣어 37±2°C에서 1시간 흔들여 섞은 다음 여과하였다. 여과액 30 mL를 취하여 0.1 mol/L 수산화나트륨으로 적정하였다(종말점 pH 3.5). 또한 같은 방법으로 공시험을 하였다(22).

실험동물

실험동물은 체중 150~200 g의 5주령 Sprague-Dawley (SD)계 수컷 흰쥐로 사육기간 중 온도는 23±2°C, 상대습도 50±5%, 조명시간은 12시간(7:00~19:00)을 유지한 부산대학교 동물사육실험실에서 사육하였다. 사료는 1주일간 고품 배합사료(SAM #3, (주)샘타코, Osan, Korea)를 사용하여 적응시킨 후, 난괴법(randomized complete block design)으로 7마리씩을 한 군으로 총 9군으로 나누었다. 사료 및 음수는 제한 없이 자유로이 섭취하도록 하였다. 모든 동물실험 절차는 부산대학교 동물실험 윤리위원회의 허가를 받아 진행하였다(PNU-2011-00409).

시료의 투여 및 위염유발

실험동물은 정상군(NOR), 대조군(생리식염수, CON), 양배추 저농도(양배추즙 400 mg/kg, CL), 양배추-클로렐라 저농도(양배추즙 280 mg/kg과 클로렐라 추출물 120 mg/kg 혼합, CChL), 양배추-케일 저농도(양배추즙 280 mg/kg과 케일즙 120 mg/kg 혼합, CKL), 양배추 고농도(양배추즙 800 mg/kg, CH), 양배추-클로렐라 고농도(양배추즙 560 mg/kg과 클로렐라 추출물 240 mg/kg 혼합, CChH), 양배추-케일 고농도(양배추즙 560 mg/kg과 케일즙 240 mg/kg 혼합, CKH) 및 양성대조군(cimetidine 80 mg/kg, Cime) 총 9군으로 나누었다.

시료 조제는 성인이 양배추즙 1병(120 mL)을 소비한 것과 2병을 소비한 것을 기준으로 시료의 저농도, 고농도를 정하였으며 양배추와 케일, 클로렐라의 혼합비율은 시판제품의 혼합비율과 기호성을 고려하여 정하였다. 매일 경구투여 직전에 체중을 측정하여 체중당 시료투여 농도를 산출하여 녹즙 동결건조분말을 생리식염수에 용해시켜 1일 1회 2 mL씩 7일간 같은 시간에 경구투여 하였다. 시료 투여를 종료한 후 Mizui와 Doteuchi의 방법(23)에 따라 24시간 절식시킨

뒤 HCl-ethanol(60% ethanol-150 mM HCl) 1 mL를 경구투여 하고 절식·절수 하에서 1시간 동안 방치하여 위염을 유발하였다.

위 손상 면적 측정

위염이 유발된 흰쥐를 ether로 가볍게 마취하여 위를 적출하고, 적출한 위를 10% formalin 용액에 10분간 담가 고정시킨 후 위의 대만부를 절개하여 고정, 촬영하여 손상 정도를 확인하였다. Image J program(Wayne Rasband, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA)을 이용하여 발생된 손상 면적(mm²)을 측정하여 총합을 위 손상 지수로 하였다. 위 손상 억제율은 다음 식에 의하여 계산하였다(24). Inhibition ratio (%)=[{Control lesion index (mm²)-Sample lesion index (mm²)} / Control lesion index (mm²)]×100

위액의 pH 및 위액 분비량 측정

기초 위액분비에 대한 실험으로는 위액 분비량과 위액의 pH를 측정하였다. 위액 분비량은 Shay 등(25)의 방법을 변경하여 실시하였다. 위염이 유발된 흰쥐를 가볍게 마취하여 위를 적출하여 위액을 채취하여 위액량을 측정하였다. 채취한 위액은 3,000 rpm에서 15분간 원심분리시킨 다음 상등액을 pH meter(M220, Corning, Tewksbury, MA, USA)를 이용하여 측정하였다.

통계처리

본 실험에서 얻은 모든 결과는 평균±표준편차로 표기하였다. 실험결과에 대한 유의성을 검정하기 위해 SPSS program(18.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 one-way ANOVA를 시행하였고, 실험군 간의 유의적인 차이가 있을 경우 p<0.05 수준에서 Duncan's multiple range test로 사후 검증하였다.

결과 및 고찰

AGS 인체위암세포 성장 억제효과

시료의 AGS 인체위암세포 성장 억제율을 측정된 결과를 Fig. 1에 나타내었다. 시료 농도 의존적으로 억제율이 상승함을 관찰할 수 있었고, 2 mg/mL 농도에서 AGS 인체위암세포 성장 억제율은 클로렐라(Ch) 20%, 케일(K) 21%로 나타났고 양배추(C)는 이들보다 2배 정도 높은 억제 효과인 42%로 나타났다. 양배추에 클로렐라 또는 케일을 7:3 비율로 혼합했을 때 양배추 단일즙을 처리했을 때보다 암세포 성장 억제율이 크게 증가되어 양배추-클로렐라(CCh)는 57%, 양배추-케일(CK)은 65%의 AGS 인체위암세포 성장 억제효과가 있었다(p<0.05). Park 등(26)과 Hwang 등(27)이 보고한 양배추의 위암세포 성장 억제효과보다 본 연구에서 양배추에 클로렐라 또는 케일을 7:3 비율로 혼합하였을 때 더 높은 성장 억제율을 나타내었다. 이로써 양배추 혼합녹즙은 위암 세포의 성장을 억제하는 효과가 있는 것으로 보인다.

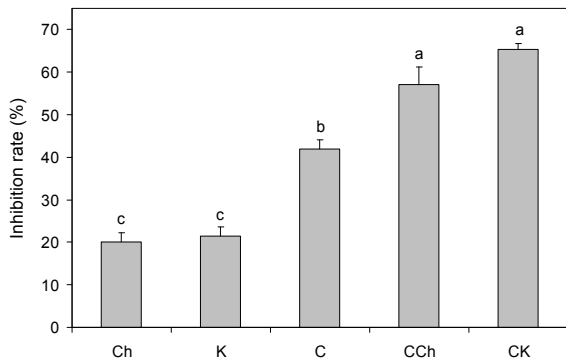


Fig. 1. Effect of cabbage juice, kale juice, chlorella extract and cabbage mixed juices (2 mg/mL) on the growth of AGS human gastric carcinoma cells. C: cabbage, Ch: chlorella, K: kale, CCh: cabbage+chlorella (7:3), CK: cabbage+kale (7:3). ^{a-c}Means with the different letters on the bars are significantly different (p<0.05) by Duncan's multiple range test.

염증인자 발현에 미치는 영향

양배추 단일즙을 처리했을 때와 비교하여 AGS 인체위암 세포 성장 억제효과가 유의적으로 높았던 양배추-케일, 양배추-클로렐라 혼합즙을 이용하여, *in vivo* 위염 실험을 하기에 앞서 세포 수준에서 염증 관련인자 발현 양상을 조사하였다. 염증 유발 단계의 주요 유전자인 iNOS, COX-2,

TNF- α 및 IL-1 β 의 전사 수준에 미치는 영향을 Fig. 2에 나타내었다. 시료를 처리하지 않은 군(control)에 비하여 시료를 처리한 모든 군에서 염증관련 인자들의 발현이 감소되었다. 양배추-클로렐라 혼합즙에서 TNF- α , IL-1 β 의 발현이 유의적으로 감소되었고, 특히 양배추-케일 혼합즙을 처리하였을 때 iNOS, COX-2, TNF- α 및 IL-1 β 염증인자 전체의 발현이 유의적으로 감소되었다(p<0.05). 일반적으로 cytokine, LPS, TNF- α 와 같은 자극에 의해 염증반응 전사인자인 NF- κ B를 활성화 시켜 그에 따라 iNOS, COX-2가 발현되어 nitric oxide(NO)와 PGE₂를 생성하여 염증반응을 일으키게 된다(28). 십자화과 채소의 sulforaphane이 COX-2의 발현을 저해하였다는(29) 결과와 같이, 두 가지 십자화과 채소를 혼합한 양배추-케일 혼합즙의 경우 염증을 유발하는 전사 단계에서 관련인자 발현을 효과적으로 억제하여 염증 작용을 저해시킬 수 있을 것으로 생각된다.

DPPH radical 소거 효과

양배추와 양배추 혼합즙의 항산화 효과를 측정하였다. 양배추즙, 양배추-클로렐라, 양배추-케일 혼합즙의 DPPH의 소거효과를 1 mg과 2 mg 두 가지 농도에서 실험하였다(Fig. 3). 특히 2 mg 농도에서 양배추(C)가 61.7%, 양배추-클로렐

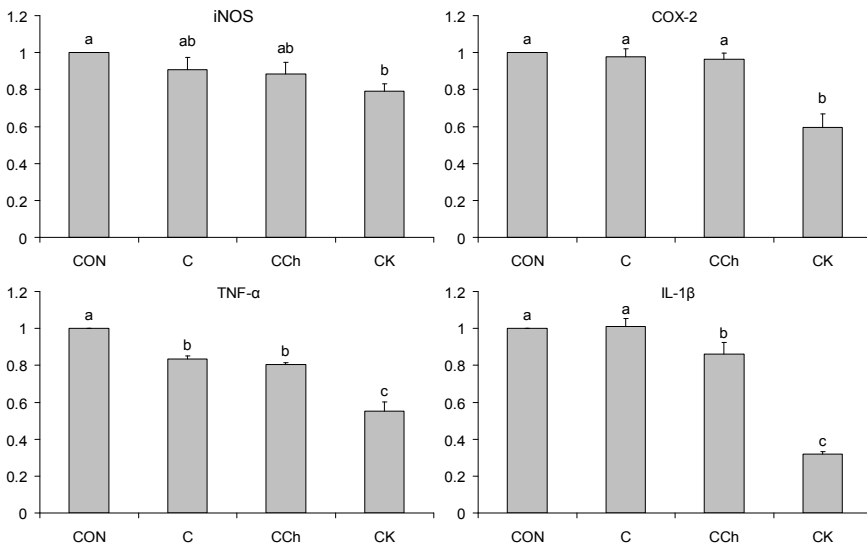
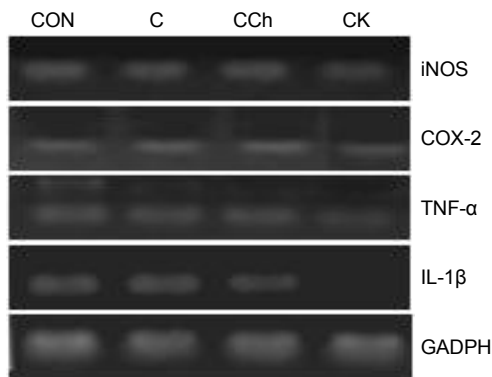


Fig. 2. Effects of cabbage and cabbage-mixed juices (2 mg/mL) on mRNA expressions of iNOS, COX-2, TNF- α and IL-1 β in AGS human gastric cancer cells. The abbreviations are same as shown in footnotes of Fig. 1. The intensity of the band was measured with densitometer and expressed as fold-rate of control. Fold ration: Sample numerical value/ Control numerical value. ^{a-c}Means with the different letters on the bars are significantly different (p<0.05) by Duncan's multiple range test.

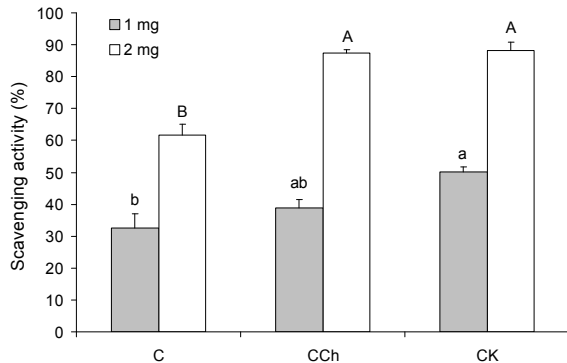


Fig. 3. DPPH radical scavenging activity of cabbage and cabbage-mixed juices. The abbreviations are same as shown in footnotes of Fig. 1. ^{a-b, A-B} Means with the different letters on the bars are significantly different (p<0.05) by Duncan's multiple range test.

라(CCh)가 87.3%, 양배추-케일(CK)이 88.1%로 DPPH의 소거능이 양배추즙보다 양배추 혼합즙에서 유의적으로 높았다(p<0.05). 십자화과 채소에 함유된 glucosinolates, phenolics, 베타-카로틴, 비타민 C, lutein, zeaxanthin 등은 높은 항산화 효과를 가지며(30,31), 이를 혼합한 양배추 혼합즙의 경우 성분 간의 긍정적인 상호보완작용으로 인하여 더 높은 항산화 효과를 나타낸 것으로 추정된다.

제산력 실험

200 g 흰쥐 기준으로 시료 1회 투여량의 제산력은 Table 1에 나타난 것과 같이 양배추즙과 양배추 혼합즙 모두가 가지고 있었고 농도 의존적으로 증가하는 경향을 나타내었다. 고농도 투여군에서 살펴보면 양배추즙 고농도(CH)의 제산력이 34.8%, 양배추-클로렐라 혼합즙(CChH)이 40.1%, 양배추-케일 혼합즙(CKH)이 44.9%, cimetidine이 41.8%로 나타났다. 양배추즙보다 양배추-클로렐라, 양배추-케일 혼합즙의 제산력이 유의적으로 더 높았고, 이들 혼합즙은 양성대조 약물인 cimetidine의 제산력과 유사하거나 더 뛰어났다. 특히 양배추-케일 혼합즙의 제산력이 가장 우수하였다(p<

Table 1. Acid-neutralizing capacity of cabbage and cabbage-mixed juices

Material	NaOH consumption volume	Acid-neutralizing capacity (%)
Control	35.4±1.2 ^a	—
Low (400 mg/kg)	C	28.3±2.5 ^b
	CCh	22.7±3.2 ^{cd}
	CK	23.2±1.6 ^{cd}
High (800 mg/kg)	C	23.1±4.3 ^{cd}
	CCh	21.2±1.5 ^d
	CK	19.5±2.1 ^d
Cimetidine	20.6±1.5 ^d	41.8

Control: D.W. 2 mL, C: cabbage juice 2 mL, CCh: 1.4 mL of cabbage juice mix with 0.6 mL of chlorella extract, CK: 1.4 mL of cabbage juice mix with 0.6 mL of kale extract, Cimetidine: 20 mg of cimetidine dissolved in D.W. 2 mL.

All values presents the mean±SD of triplicate determinations ^{a-d}Means with the different letters are significantly different (p<0.05) by Duncan's multiple range test.

0.05). 이는 양배추즙과 양배추 혼합즙이 공격인자로 작용하는 위산을 중화시킬 수 있으며, 저농도(400 mg/kg)보다는 고농도(800 mg/kg)로 섭취하였을 경우 위산을 중화시키는 효과가 더 크게 나타났다. 즉 양배추 또는 양배추 혼합즙의 섭취는 위액에 대한 높은 제산효과를 나타내어 위염 환자에게 도움이 될 수 있다고 사료된다.

위 손상에 대한 영향

In vitro 선행연구를 바탕으로 양배추즙과 양배추 혼합즙을 저농도(400 mg/kg)와 고농도(800 mg/kg)로 Sprague-Dawley계 흰쥐에 7일간 경구투여 하고 HCl-ethanol에 의한 위 손상에 대한 억제효과를 관찰하였다. 위의 대만부를 절개하여 위 점막의 손상 정도를 육안으로 관찰하였다(Fig. 4). 위염이 유발된 대조군(Control)은 위체부와 위저부에 출혈에 의한 검붉은 선의 출혈흔(hemorrhage)이 발생되어 위 전반적인 부분에 심각한 출혈성 점막손상이 관찰되었다. 이는 Vahle(32)이 보고한 알코올에 의한 위 손상 육안소견과 비슷한 경향을 보여 유도약물에 의하여 정상적인 위염이 유발되

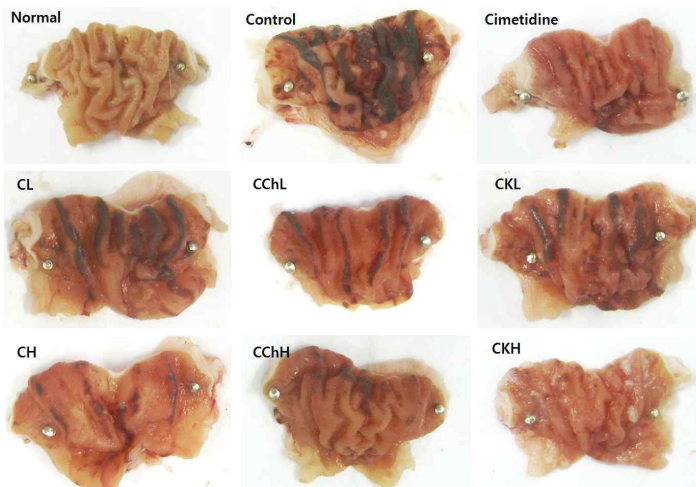


Fig. 4. Effect of cabbage juice and cabbage-mixed juice on stomach appearance in HCl-ethanol induced SD-rats. Normal: group received saline without induced gastritis, Control: group induced gastritis by HCl-ethanol, Cimetidine: group received 80 mg/kg of cimetidine dissolved in distilled water and induced gastritis by HCl-ethanol, CL: group received 400 mg/kg of cabbage juice and induced gastritis by HCl-ethanol, CChL: group received 280 mg/kg of cabbage juice and 120 mg/kg of chlorella extract and induced gastritis by HCl-ethanol, CKL: group received 280 mg/kg of cabbage juice and 120 mg/kg of kale juice and induced gastritis by HCl-ethanol, CH: group received 800 mg/kg of cabbage juice and induced gastritis by HCl-ethanol, CChH: group received 560 mg/kg of cabbage juice and 240 mg/kg of chlorella extract and induced gastritis by HCl-ethanol, CKH: group received 560 mg/kg of cabbage juice and 240 mg/kg of kale juice and induced gastritis by HCl-ethanol.

있음을 나타내었다. HCl-ethanol에 의한 위 병변은 에탄올이 위 점막을 직접 자극하여 점막하 근육층에 부종을 유발하고 일시적인 허혈상태를 발생시켜 미세혈액순환이 정체되며, HCl이 위운동을 항진시키고 위점막의 균형을 파괴하여 H⁺ 이온의 역확산(back diffusion)을 통해 급성위염을 더욱 악화시키는 위염 유발모델이다(33). 시료 투여에 따른 결과를 살펴보면 시료 저농도군보다 고농도군에서 위점막 손상이 적게 나타났다. 또한 양배추 단일즙보다는 양배추 혼합즙 투여군의 위 점막 손상 정도가 적었고, cimetidine군과 CKH의 위점막 손상 정도는 유의적으로 비슷하여 높은 위 손상 보호효과를 나타내었다(p<0.05).

위 손상 면적(Table 2) 측정 결과는 대조군의 손상면적이 11.9 mm²로 가장 높았으며 시료 투여군 전체에서 유의적인 위 손상 면적 감소 효과가 나타났다(p<0.05). 저농도 투여군의 경우 양배추즙을 단일 투여한 CL군이 9.2 mm², CChL 6.5 mm², CKL 6.3 mm²로 각각 30%, 45%, 47%의 위 손상 억제율을 나타내었다. 고농도 투여군 양배추즙 CH군의 위 손상 면적은 6.4 mm², 양배추 혼합즙 CChH 3.5 mm², CKH 3.1 mm²로 각각 46%, 71%, 74%로 위손상 억제율이 단일즙의 형태보다 혼합즙일 때 그 효과가 유의적으로 상승하였다(p<0.05). 양배추 혼합즙 고농도 투여군 두 가지 모두 양성대조군인 cimetidine의 위 손상 억제율 75%에 가까운 효과를 나타내었다. 본 실험에 사용된 cimetidine은 위벽세포의 histamine 수용체에 길항적으로 작용하여 주·야간의 기초위액 분비를 억제할 뿐만 아니라, 음식물, 가스트린 및 미주신경 자극에 의한 위산분비 또한 억제시키는 대표적인 항위염제제이다(34).

위 점막에 상해를 주는 요인(*H. pylori*, NSAIDs, stress 등)에 의한 위 손상은 주로 자유기(free radical)와 대식세포(macrophage)에 의한 손상이다(35). 이에 양배추즙과 양배추-혼합즙의 높은 항산화 효과는 위점막에 직접적으로 상해를 끼칠 수 있는 자유기를 즉시 소거함으로써 위 손상 억제

기전에 관여하며, 이에 DPPH radical 소거효과의 결과와 같이 위 점막 손상 억제효과도 양배추즙, 양배추-클로렐라 혼합즙, 양배추-케일 혼합즙의 순서로 높았다.

비타민 U로 잘 알려진 십자화과 채소 특히 양배추의 대표적인 항산화성케양인자인 MMSC(s-methylmethionine sulfonium chloride)가 위점막에서 분비되는 국소 호르몬인 프로스타글란딘(prostaglandin)의 생성을 촉진하고, 위강내로 분비된 프로스타글란딘이 위산이나 다른 공격인자로부터 위점막 방어능력을 부여(36)한 것으로 사료된다. 프로스타글란딘은 케양 형성방지 및 치료작용 역할을 하는데 그중 PGL₂, PGE₂가 위점막 혈류와 산분비의 조절 등 위장기능에 영향을 미친다고 보고되어 있다(37). 이러한 위 손상 보호 효과를 가지는 양배추에 케일 또는 클로렐라를 7:3으로 혼합한 결과, 양배추-클로렐라 혼합 고농도 투여군(CChH), 양배추-케일 혼합 고농도 투여군(CKH)군에서 시판되는 양성대조약물과 유사하게 높은 위 손상 보호효과가 나타났다(p<0.05). 녹즙혼합음료의 섭취가 흡연자의 입과구 DNA 손상을 억제하고, 혈압, 혈장의 지질과 항산화상태에 영향을 끼친다(38)는 연구결과와 신선초 녹즙에 클로렐라 추출물을 혼합했을 때 간 보호효과가 상승한다는 결과(19)와 같이 두 가지 이상의 녹즙을 혼합하는 것은 상호 보완 작용을 일으켜 더 좋은 결과를 나타내는 것으로 생각된다. 그러나 상호 보완작용에 대한 구체적인 내용에 대해서는 추가적인 연구가 필요하다.

위액분비량 및 위액의 pH에 대한 영향

위액분비량과 위액 pH를 Table 3에 나타내었다. 위액분비량은 위 손상을 유도시키지 않은 Normal군의 경우 0.3 mL로 위액이 거의 없었고, 위 손상이 가장 심한 대조군에서는 4.3 mL로 위액 분비량이 가장 많았다. 위 손상 면적이 적을수록 위액분비량도 적은 경향을 나타냈는데, 녹즙 투여군 CKH가 2.7±0.9 mL, CChH가 3.2±1.1 mL, CH가 3.3±0.9 mL 순으로 대조군보다 유의적으로 위액분비량이 적었다.

Table 2. Effect of cabbage juice and cabbage-mixed juices on the changes of gastric injury in HCl-ethanol induced SD-rats

Treatment ¹⁾		Gastric injury (mm ²)	Inhibition rate (%)
Normal		-	100
Contol		11.9±1.4 ^a	0
Low (400 mg/kg)	CL	9.2±1.3 ^b	30
	CChL	6.5±0.7 ^c	45
	CKL	6.3±1.2 ^c	47
High (800 mg/kg)	CH	6.4±0.8 ^c	46
	CChH	3.5±0.7 ^d	71
	CKH	3.1±1.2 ^d	74
Cimetidine		3.0±0.8 ^d	75

¹⁾The abbreviations are same as shown in footnotes of Fig. 4. Values are mean±SD, n=7.

^{a-d}Means with the different letters are significantly different (p<0.05) by Duncan's multiple range test.

Table 3. Effect of cabbage juice and cabbage-mixed juice on the changes of secretion of gastric juice volume and pH in HCl-ethanol induced SD-rats

Treatment ¹⁾		Volume (mL)	pH
Normal		0.3±0.1 ^c	-
Contol		4.3±0.4 ^a	2.5±0.7 ^c
Low (400 mg/kg)	CL	3.5±0.9 ^{ab}	4.4±1.3 ^{ab}
	CChL	3.4±0.5 ^b	3.7±0.4 ^b
	CKL	3.8±0.5 ^{ab}	4.3±0.6 ^{ab}
High (800 mg/kg)	CH	3.3±0.9 ^b	5.0±1.4 ^{ab}
	CChH	3.2±1.1 ^b	3.9±0.5 ^b
	CKH	2.7±0.9 ^b	5.4±1.2 ^a
Cimetidine		3.0±0.6 ^b	4.6±1.1 ^{ab}

¹⁾The abbreviations are same as shown in footnotes of Fig. 4. Values are mean±SD, n=7.

^{a-c}Means with the different letters in the same column are significantly different (p<0.05) by Duncan's multiple range test.

CKH군의 위액분비량은 cimetidine군(3.0 ± 0.6 mL)보다 더 적었다. 녹즙은 위점막 표면에 도달되어 직접적인 자극을 차단하고 녹즙이 가지는 높은 제산력이 분비되는 위액과 유도 약물의 산성을 중화시키며, 위 운동 항진을 완화시켜 위액 분비를 최소화시킨 것으로 생각된다.

위액의 pH의 경우 대조군의 위액이 pH 2.5로 가장 낮게 나타났고, 모든 치료군의 pH가 대조군보다 유의적으로 높았다($p < 0.05$). 특히 CKH군이 pH 5.4, CH군이 5.0으로 양성 대조약물인 cimetidine군 4.6보다 높은 pH값을 나타내었다. 양배추즙과 양배추 혼합즙 저농도 투여군이 고농도 투여군보다 위액의 pH가 더 낮았고, 위 손상 면적이 적을수록 위액의 pH는 증가하는 경향을 나타내었다. 급성위염의 경우 점막의 저항성 및 점막의 혈류장애 등에 의한 방어기능이 저하되어 있는 상태로 위산과 위액분비가 촉진되어 위액의 pH가 낮아질수록 pepsin과 같은 소화효소 등이 활성화되어 위벽 손상을 악화시킬 수 있다. 따라서 위액분비량은 최소화시키고, 위액의 pH가 4 이상일 때 pepsin의 단백질 분해효과가 현저히 감소되어 위액의 pH를 높일수록 위 손상 개선에 도움이 된다고 볼 수 있다(39).

이상의 결과 양배추는 위 손상 보호 효과를 가지며 양배추에 클로렐라와 케일을 7:3 비율로 혼합하였을 때 그 보호 효과가 상승할 수 있음을 확인하였고, 장기적인 양배추 혼합즙의 섭취 시 치료 약제와 비슷한 효과를 기대할 수 있을 것으로 사료된다.

요 약

본 연구에서는 양배추즙과 양배추 혼합즙의 항위염 효과를 검토하고자 *in vitro*에서 AGS 인체위암세포의 성장 억제율, 염증인자 발현, 항산화력, 제산력 결과를 바탕으로 SD-rat에 HCl-ethanol로 급성위염을 유도하여 이에 대한 위 손상 억제효과를 평가하였다. 인체위암세포(AGS) 성장 억제율을 조사한 결과 클로렐라(Ch)가 20%, 케일(K)이 21%, 양배추(C) 42% 순으로 성장 억제율이 상승하였고, 양배추에 클로렐라나 케일을 7:3 비율로 혼합하였을 때 양배추-클로렐라(CCh) 57%, 양배추-케일(CK) 65%로 성장 억제율이 상승하는 경향을 나타내었다. 염증인자 발현 또한 양배추(C) 단일로 처리했을 때보다 양배추-클로렐라 혼합(CCh), 양배추-케일 혼합(CK)에서 염증인자 발현이 유의적으로 감소되는 경향을 나타내었다($p < 0.05$). DPPH radical 소거능에서도 2 mg 농도에서 양배추(C) 61.7%, 양배추-클로렐라(CCh) 87.3%, 양배추-케일(CK) 88.1%로 높은 항산화력을 나타냈으며, 제산력 실험에서도 양배추 고농도(CH) 34.8%, 양배추-클로렐라 고농도(CChH) 40.1%, 양배추-케일 고농도(CKH) 44.9%로 양성대조약물인 cimetidine 41.8%와 비슷하거나 더 높은 제산력을 나타냈다. 이를 바탕으로 HCl-ethanol 위염모델에서 위 손상에 대한 영향을 평가한 결과, 양배추를

기본으로 한 모든 저농도(CL, CChL, CKL), 고농도(CH, CChH, CKH) 투여군에서 보호 효과가 나타났으며 양배추 단일 고농도(CH) 46%보다 클로렐라와 케일을 혼합한 양배추-클로렐라 고농도(CChH) 71%, 양배추-케일 고농도(CKH) 74%에서 그 보호 효과가 유의적으로 높아져 양성 대조약물과 비슷한 보호 효과를 나타내었다($p < 0.05$). 위액분비량과 위액 pH 또한 모든 투여군에서 보호 효과가 유의적으로 나타났으며($p < 0.05$), 특히 양배추-케일 혼합즙(CKH)이 대조약물보다 더 높은 보호 효과를 나타내었다. 이상의 결과에서 양배추즙에 클로렐라나 케일을 7:3 비율로 혼합하였을 때 위염예방효과가 시판 대조약물만큼 크게 상승하여 장기간 섭취 시 뛰어난 항위염 효과를 기대할 수 있겠다.

감사의 글

본 연구는 한국보건산업진흥원과 인하대병원 국가지정 소화기질환 의료제품 유효성평가 서비스센터의 사업지원에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

문 헌

1. Shin CK. 2003. Present and prospect of fresh vegetable-extract juice industry. *Food Industry and Nutrition* 8(1): 1-7.
2. Hounsome N, Hounsome B, Tomos D, Edwards-Jones G. 2009. Changes in antioxidant compounds in white cabbage during winter storage. *Postharvest Biol Technol* 52: 173-179.
3. Hayes JD, Kelleher MO, Eggleston IM. 2008. The cancer chemopreventive action of phytochemicals derived from glucosinolate. *Euro J Nutr* 47: 73-88.
4. Harbaum B, Hubbermann EM, Wolff C, Herges R, Zhu Z, Schwarz K. 2007. Identification of flavonoids and hydroxycinnamic acids in pak choi varieties (*Brassica campestris* L. ssp. *chinensis* var. *communis*) by HPLC-ESI-MS and NMR and their quantification by HPLC-DAD. *J Agric Food Chem* 55: 8251-8260.
5. Kim MR, Kim JH, Wi DS, Na JH, Sok DE. 1999. Volatile sulfur compounds, proximate components, minerals, vitamin C content and sensory characteristics of the juices of kale and broccoli leaves. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28: 1201-1207.
6. Lee YS, Jang WS, Eui MJ, Lee SJ, Jang JJ. 1990. Inhibitory effect of Chinese cabbage extract on diethylnitrosamine-induced hepatic foci in Sprague-Dawley rats. *J Korean Cancer Assoc* 22: 355-359.
7. Han DC, Kyung KH. 1995. Antimicrobial activity of autoclaved cabbage juice. *Korean J Food Sci Technol* 27: 74-79.
8. Lee SM, Rhee SH, Park KY. 1997. Antimutagenic effect of various cruciferous vegetables in *Salmonella* assaying system. *J Fd Hyg Safety* 12: 321-327.
9. Hu JF, Zhang SF, Jia EM, Wang QQ, Lie SD, Liu YY, Wu YP, Cheng YT. 1988. Diet and cancer of the stomach: a case-control study in China. *Int J Cancer* 41: 331-336.
10. Murdock DH. 1996. *The encyclopedia of foods*. Academic press, San Diego, CA, USA. p 221.
11. Hong YJ. 2013. Effects of cabbage-mixed juice on gastritis prevention and *Angelica keiskei* juice on hepatoprotection.

- MS Thesis*. Pusan National University, Busan, Korea.
12. Hertog MGL, Hollman PCH, Katan MB. 1992. Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of 28 vegetables and 9 fruits commonly consumed in the Netherland. *J Agric Food Chem* 40: 2379-2386.
 13. Bilyk A, Saper GM. 1985. Distribution of quercetin and kaempferol in lettuce, kale, chive, garlic chive, leek, horse-radish, red radish and red cabbage tissues. *J Agric Food Chem* 33: 226-232.
 14. Wattenberg LW. 1977. Inhibition of carcinogenic effects of polycyclic hydrocarbons by benzyl isothiocyanate and related compounds. *J Natl Cancer Inst* 58: 395-403.
 15. Chung EJ, Kim SY, Nam YJ, Park JH, Hwang HJ. 2005. Effects of kale juice powder on serum lipids, folate and plasma homocysteine levels in growing rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34: 1175-1181.
 16. Djousse L, Arnett DK, Coon H, Province MA, Moore LL, Ellison RC. 2004. Fruit and vegetable consumption and LDL cholesterol: the national heart, lung, and blood institute family heart study. *Am J Clin Nutr* 79: 213-217.
 17. Park CU, Cho IH, Hwang HK. 1973. Nutrition value of chlorella (I). *J Korean Soc Food Nutr* 2: 35-40.
 18. Hasegawa T, Kimura Y, Hiromatsu K, Kobayashi N, Yamada A, Makino M, Okuda M, Sano T, Nomoto K, Yoshikai Y. 1997. Effects of hot water extract of *Chlorella vulgaris* on cytokine expression patterns in mice with *Listeria monocytogenes*. *Immunopharmacol* 35: 273-282.
 19. Lee YJ. 2011. Hepatoprotective effects of *Angelica keiskei* and *Chlorella vulgaris* extract mixed juices in rats. *MS Thesis*. Pusan National University, Busan, Korea.
 20. Zhao X. 2011. Anticancer and antiinflammatory effects of bamboo salt and *Rubus coreanus* Miquel bamboo salt. *PhD Dissertation*. Pusan National University, Busan, Korea.
 21. Jung HJ. 2012. Molecular mechanism of cell proliferation, dedifferentiation and inflammatory responses by sulforaphane in rabbit articular chondrocyte. *MS Thesis*. Kongju National University, Chungnam, Korea.
 22. Cho SY, Lee SH, Choi JY, Myoung SE, Kang SS, Jeong JS, Jeong CS. 2007. Antigastric effects of carbenoxolone disodium from *Glycyrrhizae Radix*. *J Toxicol Pub Health* 23: 165-172.
 23. Mizui T, Doteuchi M. 1983. Effect of polyamines on acidified ethanol-induced gastric lesions in rats. *Jpn J Pharmacol* 33: 939-945.
 24. Kim SJ. 2012. Preventive effects of *Beopje* ginger and *Taemyeongcheong* on *in vivo* gastritis and colitis. *MS Thesis*. Pusan National University, Busan, Korea.
 25. Shay H, Komarov SA, Fels SS, Merance D, Gruenstein M, Sipler H. 1945. A simple method for the uniform production of gastric ulceration in the rats. *Gastroenterol* 4: 43-61.
 26. Park KY, Lee KI, Rhee SH. 1992. Inhibitory effects of green-yellow vegetables on the mutagenicity in *Salmonella* assay system and on the growth of AZ-52 human gastric cancer cells. *J Korean Soc Food Nutr* 21: 149-153.
 27. Hwang ES, Hong EY, Kim GH. 2012. Determination of bioactive compounds and anti-cancer effect from extracts of Korean cabbage and cabbage. *Korean J Food & Nutr* 25: 259-265.
 28. Shew RL, Papka RE, McNeill DL, Yee JA. 1993. NADPH-diaphorase-positive nerves role of nitric oxide in CGRP relaxation of uterine contraction. *Peptides* 14: 637-641.
 29. Kim MJ. 2009. Induction of apoptosis by sulforaphane analogues in human colon cancer cells. *MS Thesis*. Sejong University, Seoul, Korea.
 30. Min DR, Park SY, Chin KB. 2010. Evaluation of antioxidative and antimicrobial activities of garlic stem and red cabbage and their application to pork patties during refrigerated storage. *Korean J Food Sci Ani Resour* 30: 291-297.
 31. Divisi D, Di-Tommaso S, Salvemini S, Garramone M, Crisci R. 2006. Diet and cancer. *Acta Biomed* 77: 118-123.
 32. Vahle JL. 2002. Skeletal changes in rats given daily subcutaneous injections of recombinant human parathyroid hormone (1-34) for 2 years and relevance to human safety. *Toxicologic Pathol* 30: 312-321.
 33. Henn RM, Isenberg JI, Maxwell V, Sturdevant RA. 1975. Inhibition of gastric acid secretion by cimetidine in patients with duodenal ulcer. *N England J Med* 293: 371-375.
 34. Oates PJ, Hakkinen JP. 1988. Studies on the mechanism of ethanol-induced gastric damage in rats. *Gastroenterol* 94: 10-21.
 35. Ishii T, Fujii Y, Homma M. 1976. Gastric acid stimulating action of cysteamine in the rat. *Eur J Pharmacol* 36: 331-336.
 36. Cho JY, Nam KH, Yoo ES, Yu YH, Park MH, Park JH. 1995. Pharmacokinetics and gastric adhesion of aceglutamide aluminium on the combination of antacid in rats. *Yakhak Hoeji* 39: 577-584.
 37. Yang WK, Jung CS, Jung KW, Kim JW, Lee EB. 1992. Antigastric and antiulcerative action of the extract of *Zingiberis rhizoma*. *Yakhak Hoeji* 36: 173-179.
 38. Kim HY, Kyoung PY, Seok KT, Kang MH. 2006. The effect of green vegetable drink supplementation on cellular DNA damage and antioxidant status of Korean smokers. *Korean J Nutr* 39: 8-27.
 39. Sciffers MJ, Segal HL, Miller LL. 1963. Separation of pepsinogen 1, pepsinogen 2 and pepsinogen 3 from human gastric moccosa. *Am J Physiol* 205: 1106-1111.

(2012년 12월 7일 접수; 2013년 2월 20일 채택)