

소금의 HepG2 인체 간암세포에서의 *in vitro* 항암 효과

- 연구노트 -

김희영 · 주재현 · 이경희 · 박건영

부산대학교 식품영양학과

In vitro Anticancer Effect of Salt on HepG2 Human Hepatocellular Carcinoma Cells

Hee-Young Kim, Jaehyun Ju, Kyung Hee Lee, and Kun-Young Park

Department of Food Science and Nutrition, Pusan National University

ABSTRACT We investigated the anti-proliferative effects of solar salt and purified salt (PS) on HepG2 human hepatocellular cancer cells as well as their effects on mRNA and protein expression of apoptosis- and cell cycle-related genes, including Bcl-2, Bax, p53, and p21. Each salt sample suppressed cancer cell proliferation when treated at a concentration of 0.5% or 1%. Especially solar salt from T salt field (SS-T) and solar salt from Y salt field (SS-Y) significantly suppressed proliferation of cancer cells in comparison with PS. Treatment of HepG2 cells with salt samples at a concentration of 1% suppressed expression of Bcl-2 and promoted expression of Bax, p53, and p21 at the mRNA and protein levels in comparison with the control group. Inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES) showed that SS-T and SS-Y had higher concentrations of Ca, Mg, S, and K than PS, and SS-T contained higher concentrations of these minerals than SS-Y. It seems that Na and mineral contents in solar salt may contribute to regulation of the genes. Taken together, salt, especially mineral rich solar salt, inhibits cancer cell growth by regulating apoptosis and cell cycle-related genes.

Key words: salt, solar salt, HepG2 cancer cells, anticancer

서 론

소금은 인간이 살아가는 데에 있어서 필수로 요하는 무기질로 인체 혈액의 0.9%를 차지하고, 인체의 산·염기의 균형 조절, 근육흥분성 유지, 신진대사 촉진, 체내 삼투압 유지 등의 기능을 한다(1). 또한 식품에서는 짠맛을 내는 조미료의 역할과 식품을 오래 보존토록 하는 방부제 역할을 하여 세계적으로 오랫동안 사용되어 왔으며, 특히 우리나라에서는 김치, 된장 등 전통 발효식품에 필수적인 식재료로 이용되어 왔다. 소금은 다양한 종류가 있으며 대표적으로는 천일염과 정제염 및 가공염으로 나눌 수 있다(2). 정제염은 이온막 투과법을 이용하여 Na과 Cl 이온만을 걸러 내 NaCl이 99% 이상 함유되어 있으며(3), 식탁에서 기호에 맞게 첨가해서 먹을 수 있는 식탁염으로 사용할 수 있다. 천일염은 생산 방식에 따라 구별되는데, 갯벌 바닥에 PVC 장판을 깔아 그 위에서 생산하는 장판염, 갯벌 흙판에서 전통 방식으로 생산하는 토판염 등이 있다(4). 천일염은 바닷물에서 물이 증발한 후 결정되는 결정형 소금으로, 햇빛에 의해 완전

히 건조된 형태이며 이는 Na과 Cl뿐만 아니라 Fe, Mg, Ca, K, Mn 등의 다양한 해수무기질을 함유한다(5). 천일염에 대한 연구는 꾸준히 이루어져 왔으나 광물로 분류되던 천일염이 2008년에 식품으로 분류된 후로 미네랄 및 중금속 함량(6), 안전성(7) 등에 대한 연구가 더 많이 이루어졌다. 소금의 기능성에 관한 연구에서는 소금 자체가 유해한 효과를 보이지 않으나 MNNG 등의 발암물질이 존재할 경우 보돌염변이 효과를 가지며(8,9), 천일염이 정제염을 비롯한 다른 소금에 비해 낮은 보돌염변이를 나타낸다고 밝혀진 바 있다(8). 한편 기능성 소금으로 최근 주목받고 있는 죽염은 항산화(10), *in vitro* 항암 효과(11,12), 위 보호 효과(13)를 나타낸다. 소금을 김치나 된장 등의 재료로 사용하여 인체 건강 기능성을 확인한 연구(14,15)가 이루어진 바 있으나, 일반적으로는 소금이 성인병을 유발하여 좋지 않은 식품으로 인식되고 있고 아직 정제염 및 천일염을 비롯한 소금 그 자체로서의 인체 건강 기능성에 대한 연구는 미비한 실정이다. 특히 소금의 항암 활성에 대한 연구로는 인체 대장암세포에서 천일염(8), 칼륨 죽염(11), 9회 죽염(12)의 항암 효과를 확인한 정도밖에 보고되지 않아 소금의 항암 활성에 대한 연구가 매우 부족하다. 따라서 본 연구에서는 정제염과 국내 주요 산지 천일염의 *in vitro* 항암 효과를 HepG2 인체 간암 세포를 통해 확인함으로써 소금 자체의 항암 기능성을 확인

하고자 하였다.

재료 및 방법

소금 준비

정제염(PS)은 현재 시판되고 있는 성분의 99% 이상이 NaCl인 H사(Ulsan, Korea)의 제품으로 부산광역시 금정구의 S마트에서 구입하였으며, 국내산 천일염은 전라남도 신안의 T염전(SS-T)과 전라남도 영광의 Y염전(SS-Y)으로부터 1년간의 숙성을 통해 간수가 제거된 것을 제공받아 실험에 사용하였다.

무기질 측정

실험에 사용한 소금의 무기질 함량 측정은 inductively coupled plasma optical emission spectrometry(ICP-OES)(Optima 4300DV ICP-OES, PerkinElmer, Shelton, CT, USA)를 이용하여 분석하였다. 실험조건은 주파수 40 MHz(free-running), power 1,300 W, plasma gas flows 20 L/min, auxiliary gas flows 1.0 L/min, nebulizer gas flows 0.5 L/min, sample uptake rate 2 mL/min으로 하였다(8).

세포배양

HepG2 인체 간암세포는 한국세포주은행(Seoul, Korea)으로부터 분양받아 실험에 사용하였다. HepG2 세포의 배양을 위해 Dulbecco's modified Eagle's medium(DMEM), fetal bovine serum(FBS), 0.05% trypsin-0.02% EDTA, 100 unit/mL penicillin-streptomycin을 GIBCO BRL(Grand Island, NE, USA)로부터 구입하여 사용하였다. 100 unit/mL penicillin-streptomycin과 10%의 FBS를 함유한 DMEM을 사용하여 37°C 온도 하에 5% CO₂ incubator(model 3154, Forma Scientific Inc., Marietta, OH, USA)에서 배양하였다(16). 배양된 암세포는 일주일에 3회 refeeding 하고, 6~7일 만에 PBS로 세척한 후 0.05% trypsin-0.02% EDTA를 이용하여 부착된 세포를 분리한 다음 원심분리 하여 계대배양 하였다.

MTT assay

배양된 HepG2 세포를 96-well plate에 well당 1×10^5 cells/mL가 되도록 100 μ L씩 분주하여 5% CO₂ incubator에서 37°C, 24시간 동안 배양한 후 0.5%와 1% 농도로 DMEM 배지에 희석한 소금 시료를 100 μ L 첨가하여 24시간 배양하였다. 처리하였던 시료를 제거하고 PBS에 5 mg/mL의 농도 조절한 3-(4,5-dimethylthiazol)-2,5-diphenyltetrazolium bromide(MTT)(Amresco, Solon, OH, USA) 용액을 20 μ L 첨가하여 동일 조건 하에 4시간 동안 배양하였다. 이때 생성된 formazan 결정을 DMSO에 녹여 ELISA reader(model 680, Bio-Rad, Tokyo, Japan)를 이용하여

540 nm에서 흡광도를 측정하였다(16).

Reverse transcription polymerase chain reaction(RT-PCR)

배양한 HepG2 세포에 소금 시료를 DMEM 배지에 1% 농도로 조절하여 처리한 후 24시간 배양하고 시료를 제거한 다음 PBS로 1회 세척하여 TRIzol reagent(Invitrogen Co., Carlsbad, CA, USA)를 이용하여 total RNA를 분리하였다. Spectrophotometer(UV-2401PC, Shimadzu, Kyoto, Japan)를 이용하여 total RNA를 정량한 후 oligo dT primer(Invitrogen Co.)와 AMV reverse transcriptase를 이용하여 RNA에서 mRNA에 상보적인 ss cDNA로 역전사하고, 이를 template로 하여 Bcl-2(forward, 5'-CTC GTC GCT ACC GTC GTG ACT TGG-3'; reverse, 5'-CAG ATG CCG GTT CAG GTA CTC AGT C-3'), Bax(forward, 5'-AAG CTG AGC GAG TGT CTC CGG CG-3'; reverse, 5'-CAG ATG CCG GTT CAG GTA CTC AGT C-3'), p53(forward, 5'-AAC GGT ACT CCG CCA CC-3'; reverse, 5'-CGT GTC ACC GTC GTG GA-3'), p21(forward, 5'-TGG AGA CTC TCA GGG TCG AAA-3'; reverse, 5'-GGC GTT TGG AGT GGT AGA AAT C-3') 그리고 housekeeping 유전자로서 glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase(GAPDH, forward, 5'-CGG AGT CAA CGG ATT TGG TC-3'; reverse, 5'-AGC CTT CTC CAT GGT CGT GA-3') 유전자를 BIONEER thermocycler(Mygenie96, BIONEER, Daejeon, Korea)를 이용하여 특정 부위를 증폭시켰다. Ethidium bromide(Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA)를 포함하는 2% agarose gel(Invitrogen Co.)을 이용하여 PCR 산물들을 전기영동하고 UV 하에서 확인하였다(17).

Western blot

배양한 세포에 소금 시료를 24시간 처리한 후 시료를 제거하고 RIPA lysis buffer(Amresco)로 균질화하여 13,000 rpm에서 4°C, 10분간 원심분리 하고 상등액을 분리하였다. 단백질 농도는 Bio-Rad 단백질 정량 시약(Bio-Rad, Hercules, CA, USA)을 이용하여 정량하였다. 추출한 단백질을 10% SDS-polyacrylamide gel에 loading 하여 전기영동한 뒤 nitrocellulose membrane으로 이동시켰다. 5% skim milk로 blocking 한 후 PBS-T로 10분간 3번, 5분간 3번 washing 하였다. Membrane을 1차 항체에 4°C에서 24시간 반응시킨 후 PBS-T로 washing 하고, 상온에서 2시간 동안 1차 항체에 맞는 2차 항체에 반응시킨 후 다시 PBS-T로 washing 후 Enhanced Chemiluminescence를 사용하여 현상하였다. Bcl-2, Bax, p53, p21 유전자의 1차 및 2차 항체는 Santa Cruz Biotechnology(Santa Cruz, CA, USA)로부터 구입하여 사용하였다(17).

통계분석

각 실험군들과 대조군의 유의성 검증을 위하여 분산분석(ANOVA)을 행한 후 $P < 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test를 실시하였고 결과를 평균±표준편차로 표시하였으며, PASW statistics 18(IBM Co., Armonk, NY, USA) 통계프로그램을 이용하였다.

결과 및 고찰

암세포 성장 억제 효과

HepG2 인체 간암세포에 정제염 PS와 국내산 천일염 두 종류 SS-T와 SS-Y를 처리하여 세포 성장 억제 효과를 확인하였다(Fig. 1). 소금 처리 농도는 선행연구(8)를 참고하여 정상세포인 HaCaT 인체 피부세포에서 독성을 나타내지 않으면서 암세포의 성장 억제 효과를 보이는 0.5%와 1% 농도로 설정하여 처리하였으며, 시료를 아무것도 처리하지 않은 Control의 세포 성장 저해율을 0%로 하였다. 그 결과 0.5% 농도에서 SS-Y가 $48.6 \pm 6.2\%$, SS-T는 $41.3 \pm 8.9\%$ 로 유의적으로 높은 억제율을 나타냈으며, PS도 $26.2 \pm 2.6\%$ 의 억제율을 보였다. 1%의 소금 농도에서 SS-Y는 $69.3 \pm 2.6\%$ 로 가장 높은 억제율을 보였으며 SS-T가 $61.6 \pm 2.6\%$, PS는 $52.2 \pm 7.6\%$ 의 억제율을 보였다. 한편 SS-T, SS-Y, PS는 0.1% 농도에서 17~28%, 2% 농도에서 97% 정도의 HepG2 세포 성장 억제율을 보여, 소금 2% 함량까지는 농도 의존적인 억제 효과를 보였다(실험 결과 미제시). 따라서 소금 시료 모두 HepG2 세포의 성장을 억제하였으며 정제염보다는 천일염의 세포 성장 억제 효과가 높았다.

소금은 발암원과 공존할 시에 보툴렌변이 작용을 하지만(9) 소금이 필수적으로 들어가는 된장과 김치는 오히려 항돌연변이 효과를 보인다(18,19). 또한 김치(염도 3% 이하)도 그 자체가 돌연변이 유발성이 없지만 김치를 고염도(9.5%

이상)로 제조할 시에 MNNG와 함께 존재하게 되면 보툴렌변이 작용을 한다(20). 따라서 소금은 고농도일 때는 인체에 좋지 않으나 적절한 농도를 이용하면 오히려 좋은 기능성을 나타낼 수 있을 것으로 보이며, 이와 관련된 연구가 더 많이 필요하겠다. 한편 앞서 수행된 연구들에 의하면 소금은 모두 HCT-116 인체 대장암세포의 성장을 억제시켰으며, 이들 중 천일염은 정제염에 비해 암세포 성장을 억제하는 효과가 높았다(8). 천일염을 이용하여 제조한 김치와 된장은 정제염을 이용해 만든 것보다 AGS 인체 위암세포 및 HT-29 인체 대장암세포의 성장을 효과적으로 억제해(14,15) 본 연구 결과와 비슷한 경향을 보였다.

Bcl-2와 Bax의 mRNA 및 단백질 발현

선행된 연구에 의하면 소금은 apoptosis를 유도하여 암세포 성장을 억제하는 효과를 가지고 있다(16). Apoptosis에 관여하는 여러 인자 중 Bcl-2 family는 가장 중요한 역할을 수행한다고 볼 수 있으며, Bcl-2 family의 대표적인 인자로는 anti-apoptotic 인자인 Bcl-2와 pro-apoptotic 인자인 Bax를 들 수 있다. 국내산 천일염이 HepG2 세포에서 apoptosis와 관련하여 자연 세포 사멸을 일으키는지 확인하기 위하여 Bcl-2와 Bax 유전자의 mRNA(Fig. 2A) 및 단백질(Fig. 2B) 발현 정도를 측정하였다. HepG2 세포에 아무것도 처리하지 않은 Control의 Bcl-2 mRNA 발현이 가장 높게 나타났고, 이어서 PS, SS-T, SS-Y 순으로 나타나 SS-Y가 가장 유의적으로 낮게 나타났다($P < 0.05$). Bax의 경우에는 Control이 가장 낮았으며, 소금 처리군들인 PS, SS-T, SS-Y가 비슷한 수준으로 높게 나타난 가운데 SS-Y가 가장 높은 발현을 보였다. 단백질 수준에서는 Bcl-2의 경우 mRNA 발현 때와 같이 Control이 가장 높게 발현되었고, 다음으로 PS, 그리고 천일염 두 종류인 SS-Y와 SS-T가 비슷한 수준으로 유의적으로 낮았다($P < 0.05$). Bax의 단백질 발현은 Control과 PS가 비슷한 수준으로 낮게 나타난 반면에 천일염 처리군인 SS-T와 SS-Y가 비슷한 수준으로 유의하게 높은 발현을 나타냈다($P < 0.05$).

Apoptosis 조절에서 Bcl-2 family는 미토콘드리아 외막에 존재하며, Bcl-2, Bcl-X_L, Bcl-w 및 Mcl-1 등의 apoptosis를 억제하는 단백질들과 Bax, Bad, Bak, Bid, Bcl-Xs 등의 apoptosis를 유발하는 단백질들이 포함된다. 이들 유전자들은 dimer 형태로 결합하여 균형을 이루고 있으나 그 균형이 깨지게 되면 cytochrome c 같은 apoptosis 유발 물질이 미토콘드리아 내부에서 세포질로 방출되어 caspases, 종양 억제 유전자 p53 등을 활성화하여 apoptosis가 일어나게 된다(21,22). 본 실험에서 HepG2 세포에 세 가지 소금을 처리하였을 때 대표적인 anti-apoptotic Bcl-2의 발현이 mRNA와 단백질 수준에서 모두 감소하고, pro-apoptotic Bax의 발현은 모두 증가하여 정제염과 국내산 천일염, 특히 SS-Y는 DNA 전사 및 번역 단계에서 일어나는 apoptosis에 Bcl-2 family 유전자들을 관여시키는 것으로 나타

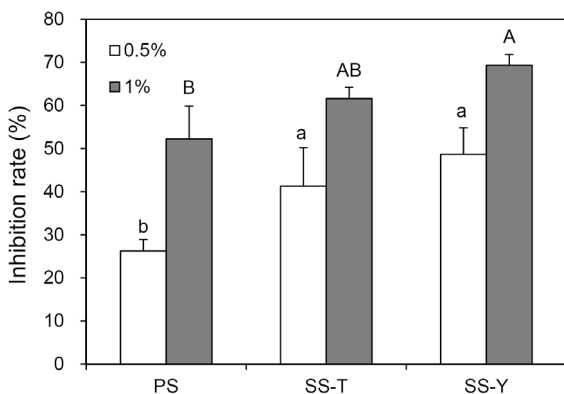


Fig. 1. Inhibitory effect of solar salts on the growth of HepG2 human hepatocellular carcinoma cells in 3-(4,5-dimethyl-thiazol)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) assay. PS, purified salt; SS-T, solar salt from T salt field in Korea; SS-Y, solar salt from Y field in Korea. Means with the different letters (a,b) (A,B) above the bars are significantly different ($P < 0.05$) by Duncan's multiple range test.

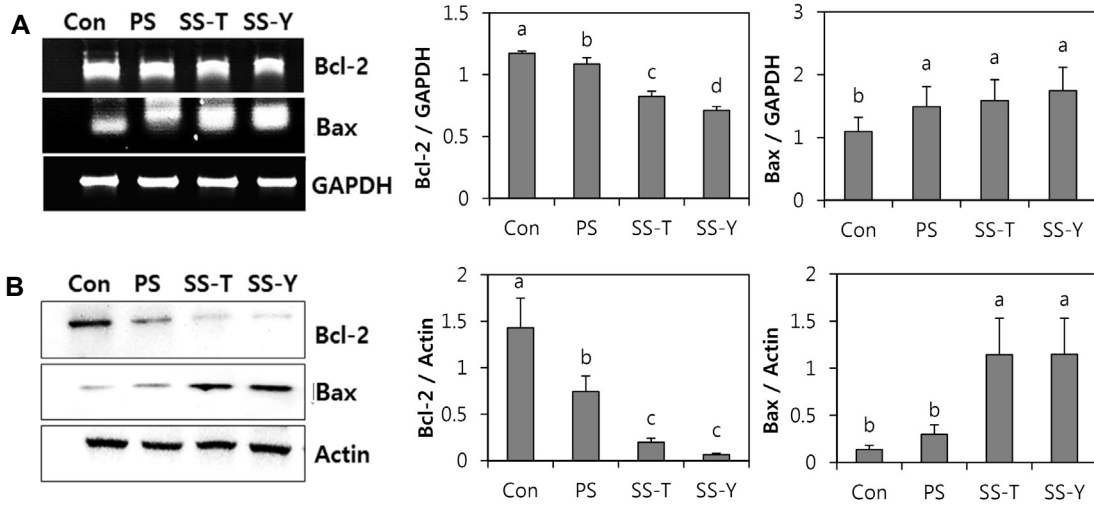


Fig. 2. Effects of salt samples (1%) on mRNA and protein expressions of Bcl-2 and Bax in HepG2 human hepatocellular carcinoma cells. PS, purified salt; SS-T, solar salt from T salt field in Korea; SS-Y, solar salt from Y field in Korea. Means with the different letters (a-d) above the bars are significantly different ($P<0.05$) by Duncan's multiple range test.

났다.

p53과 p21 유전자의 mRNA 및 단백질 발현

HepG2 세포에서 종양 생성을 억제하는 유전자 또는 세포 주기 조절을 억제하는 인자와 관련하여 apoptosis가 일어나는지 알아보기 위하여 종양 억제에 가장 중요한 역할을 한다고 알려진 p53과 세포주기 조절에 중요한 역할을 하는 p21의 mRNA(Fig. 3A) 및 단백질(Fig. 3B) 발현에 국내산 천일염이 미치는 효과를 측정하였다. RT-PCR 방법을 통해 mRNA 발현 정도를 살펴본 결과 p53은 SS-Y가 다른 군들에 비해 유의적으로 높았고($P<0.05$), 이어서 SS-T, PS, Control 순으로 나타났으나 이들은 통계적으로 비슷한 수준이었다. p21은 SS-T와 SS-Y가 비슷한 정도로 유의성 있게

높은 발현을 보였으며($P<0.05$), 다음으로 PS가 높았고 Control은 가장 낮게 나타났다. Western blot 방법을 통해 단백질 발현 수준에서의 p53 발현을 확인한 결과 SS-Y, SS-T, PS가 비슷한 수준으로 Control보다 유의적으로 높게 나타났고, 이들 중에서도 SS-Y가 가장 높은 발현을 보였다. p21은 SS-T가 다른 군들에 비하여 가장 높았고($P<0.05$), 이어서 SS-Y와 PS가 비슷한 수준으로 나타났으며 Control은 가장 낮았다.

p53은 암 발생과 관련하여 중요한 종양 억제 인자로서 DNA 손상이나 세포 내외 신호에 따라 cell cycle arrest와 apoptosis를 일으킨다(23). p53은 인체 암세포에서 돌연변이 형태로 존재하는 경우가 많으나 HepG2 인체 간암세포에서는 정상 형태로 존재한다(24). p21은 cyclin-dependent

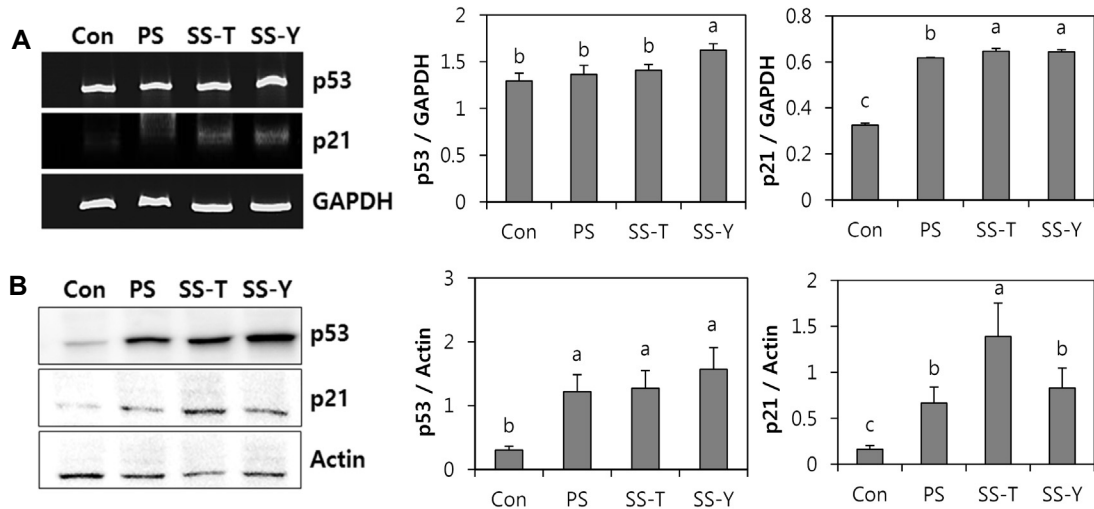


Fig. 3. Effects of salt samples (1%) on mRNA and protein expressions of p53 and p21 in HepG2 human hepatocellular carcinoma cells. PS, purified salt; SS-T, solar salt from T salt field in Korea; SS-Y, solar salt from Y field in Korea. Means with the different letters (a-c) above the bars are significantly different ($P<0.05$) by Duncan's multiple range test.

kinase inhibitor(CDKI)로서 cell cycle arrest뿐 아니라 apoptosis를 조절할 수 있다(25,26). 본 실험에서 사용한 소금의 처리에 의해 HepG2 세포의 p53이 mRNA 및 단백질 수준에서 발현이 증가된 것이 p21 발현과의 연관성을 가지며, 이를 통해 HepG2 세포의 증식을 억제하는 효과를 나타내는 것으로 보이거나 flow cytometry 등의 방법을 이용하여 후속 연구를 수행할 필요가 있다.

무기질 함량

국내산 천일염 두 종류 SS-T와 SS-Y, 정제염의 무기질 함량을 ICP-OES를 이용하여 확인하였다(Table 1). SS-T와 SS-Y는 PS에 비해 다양한 무기질을 함유하고 있었으며, SS-T는 Na가 34.560%로 다른 소금에 비하여 낮은 함량을 보였고, Ca, Mg, S, K는 세 가지 소금 시료 중에서 가장 많았다. PS는 Na가 40.337%로 다른 소금에 비하여 가장 높았으며, K(0.467%)를 제외한 다른 무기질은 검출되지 않았다. 본 실험에서 사용한 소금 시료들은 정제염보다 천일염에서 무기질 함량이 높게 나타난 다른 연구(7,15) 결과들과 비슷한 경향을 보였다.

선행된 연구들에 의하면 소금의 Na는 과다 섭취할 시 고혈압과 신장 기능의 이상을 야기할 수 있다(27). 하지만 본 연구 결과에 의하면 NaCl이 99%인 정제염도 HepG2 세포의 성장 억제 및 Bcl-2, Bax, p53, p21 유전자의 발현을 조절하였으므로 소금이 인체 질병에 부정적으로 작용하지 않은 않으며, 오히려 적당량의 Na는 간암세포에 있어서 암을 억제할 수 있을 것으로 사료되어 이에 대한 후속적인 연구가 필요할 것으로 생각된다. 또한 소금은 자체의 돌연변이 활성은 없으나 돌연변이원(발암물질)과 공존할 시에 보돌연변이 활성을 보인다(9)고 하였으므로 소금 섭취를 무조건 배척하기보다는 발암물질과 함께 섭취하는 것을 예방하는 등의 식생활 개선과 함께 소금의 인체 건강 기능성에 대한 연구가 더욱 상세하게 진행되어야 하겠다.

천일염은 소금의 주성분인 NaCl뿐만 아니라 CaSO₄, MgSO₄ 등의 무기질을 함유하여(28) 인체에서 유리한 생화학적인 작용을 한다(14). 또한 소금의 K, Mg, Ca 등의 무기질은 혈관 확장, 알도스테론과 레닌의 분비 억제, 안지오텐신 II 활성 억제 등의 기능을 하고(3), 특히 K는 항암 활성을

나타낸다고 알려진 바 있다(29). 본 연구에서 사용한 천일염 두 종류 중 SS-T의 전반적인 무기질 함량이 SS-Y에 비해 더 높은 수준을 보였으나 RT-PCR과 western blot 실험 결과를 보았을 때 SS-T가 다른 소금 시료들에 비해 유의적인 효과를 드러낸 것은 p21 유전자의 단백질 발현 정도였다. SS-T와 SS-Y는 비슷한 정도로 apoptosis 관련 유전자들을 mRNA 및 단백질 수준에서 조절하였고, Bax의 mRNA 발현 및 p53의 단백질 발현은 SS-T, SS-Y, PS가 모두 비슷한 수준으로 나타나 소금의 무기질 함량만이 HepG2 인체 간암세포의 항암 효과에 영향을 미치는 것은 아니며 Na 및 소금 제조 방법, 제조 환경, 미네랄 종류 및 농도 등의 다른 요인이 작용할 것으로 생각된다. 따라서 이에 대한 후속 연구가 필요하다.

요 약

본 연구에서는 국내산 천일염 두 종류와 정제염이 HepG2 인체 간암 세포에서의 세포 성장 억제 효과, apoptosis 관련 유전자 Bcl-2, Bax, p53 및 p21의 mRNA 발현과 단백질 발현을 확인하였다. 소금 시료들은 HepG2 인체 간암세포에 0.5% 및 1% 농도로 처리하였을 때 세포 성장을 억제시켰으며 T염전의 천일염(SS-T)과 Y염전의 천일염(SS-Y)은 정제염(PS)에 비해 암세포 성장을 유의적으로 억제하였다($P < 0.05$). 또한 HepG2 세포에 1% 농도로 소금 시료를 처리하였을 때 대조군에 비해 apoptosis를 억제하는 유전자들을 mRNA 및 단백질 수준에서 조절하여 Bcl-2는 낮게 나타났고, Bax, p53, p21은 높게 발현되었다. SS-T와 SS-Y는 PS에 비하여 Ca, Mg, S, K 함량이 많았으며, 천일염 중에서도 SS-T가 SS-Y보다 많이 함유되어 있었다. 전반적으로 무기질이 많이 함유된 천일염이 정제염보다 항암 효과가 높았으며 이는 소금의 Na 및 그 외 다른 무기질들이 항암 관련 유전자들을 조절한 것으로 보인다. 이상의 결과를 통해 국내산 천일염과 정제염은 HepG2 세포에서 apoptosis와 cell cycle 관련 유전자 조절을 통해 항암 효과를 나타냄을 확인하였으며 그중에서도 천일염의 효과가 더 높게 나타나 그 원인 물질 및 항암 기작에 대한 후속 연구가 필요하다.

감사의 글

본 연구는 해양수산부 수산연구센터지원사업(국립목포대학교 천일염연구센터, 과제번호 20130209)의 지원에 의해 수행되었음.

REFERENCES

1. Chang M, Kim IC, Chang HC. 2010. Effect of solar salt on the quality characteristics of doenjang. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39: 116-124.
2. Cho SD, Kim GH. 2010. Changes of quality characteristics

Table 1. Mineral contents of different kinds of salts evaluated using ICP-OES

	PS	SS-T	SS-Y
Na	40.337	34.560	36.363
Ca	ND ¹⁾	0.170	0.085
Mg	ND	1.303	0.662
S	ND	0.897	0.556
K	0.467	0.892	0.511
Total	40.804	37.822	38.177

¹⁾ND, not detected.

PS, purified salt; SS-T, solar salt from T salt field in Korea; SS-Y, solar salt from Y field in Korea.

- of salt-fermented shrimp prepared with various salts. *Korean J Food & Nutr* 23: 291-298.
3. Kim HL, Son YH, Kim SJ, Kim DW, Ma SJ, Cho GS, Kim IC, Ham KS. 2007. Effects of chronic chitosan salt supplementation on blood pressure, plasma component, and lipid profile in healthy male and female adults. *Food Sci Biotechnol* 16: 249-254.
 4. Yoon HH, Chang HC. 2011. Growth inhibitory effect of kimchi prepared with four year-old solar salt and Topan solar salt on cancer cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40: 935-941.
 5. Prospero JM. 1979. Mineral and sea salt aerosol concentrations in various ocean regions. *J Geophysical Res* 84: 725-731.
 6. Park JW, Kim SJ, Kim SH, Kim BH, Kang SG, Nam SH, Jung ST. 2000. Determination of mineral and heavy metal contents of various salts. *Korean J Food Sci Technol* 32: 1442-1445.
 7. Na BJ, Ha SD. 2009. Effectiveness and safety of salt. *Food Science and Industry* 42(2): 60-73.
 8. Zhao X, Kim SH, Qi Y, Kim SY, Park KY. 2012. Effects of different kinds of salt in the comutagenicity and growth of cancer cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 41: 26-32.
 9. Kim SH, Park KY, Suh MJ. 1995. Comutagenic effect of sodium chloride in *Salmonella*/mammalian microsome assay. *Food Biotech* 4: 264-267.
 10. Zhao X, Jung OS, Park KY. 2012. Alkaline and antioxidant effects of bamboo salt. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 41: 1301-1304.
 11. Zhao X, Jeong JK, Kim SY, Park KY. 2012. Increased *in vitro* anticancer effects of potassium bamboo salt. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 41: 1248-1252.
 12. Zhao X, Kim SY, Park KY. 2013. Bamboo salt has *in vitro* anticancer activity in HCT-116 cells and exerts anti-metastatic effects *in vivo*. *J Med Food* 16: 9-19.
 13. Zhao X, Song JL, Jung OS, Lim YI, Park KY. 2014. Chemical properties and *in vivo* gastric protective effects of bamboo salt. *Food Sci Biotechnol* 23: 895-902.
 14. Han GJ, Son AR, Lee SM, Jung JK, Kim SH, Park KY. 2009. Improved quality and increased *in vitro* anticancer effect of kimchi by using natural sea salt without bitter and baked (Guwun) salt. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 996-1002.
 15. Yoon HH, Kim IC, Chang HC. 2012. Growth inhibitory effects of *Doenjang*, prepared with various solar salts, on cancer cells. *Korean J Food Preserv* 19: 278-286.
 16. Zhao X. 2011. Anticancer and antiinflammatory effects of bamboo salt and *Rubus coreanus* Miquel bamboo salt. *PhD Dissertation*. Pusan National University, Busan, Korea.
 17. Zhao X, Ju JH, Kim HM, Park KY. 2013. Antimutagenic activity and *in vitro* anticancer effects of bamboo salt on HepG2 human hepatoma cells. *J Environ Pathol Toxicol Oncol* 32: 9-20.
 18. Park KY, Moon SH, Baik HS, Cheigh HS. 1990. Antimutagenic effect of doenjang (Korean fermented soy paste) toward aflatoxin. *J Korean Soc Food Nutr* 19: 156-162.
 19. Park KY. 1995. The nutritional evaluation, and antimutagenic and anticancer effects of kimchi. *J Korean Soc Food Nutr* 24: 169-182.
 20. Park KY, Kim SH, Suh MJ. 1990. Comutagenicity of high-salted kimchi in the *Salmonella* assay system. *J College Home Econ Pusan National University* 16: 45-50.
 21. Reed JC. 1998. Bcl-2 family proteins. *Oncogene* 17: 3225-3236.
 22. Donovan M, Cotter TG. 2004. Control of mitochondrial integrity by Bcl-2 family members and caspase-independent cell death. *Biochim Biophys Acta* 1644: 133-147.
 23. Vogelstein B, Lane D, Levine AJ. 2000. Surfing the p53 network. *Nature* 408: 307-310.
 24. Kim KM, Park C, Choi YH, Lee WH. 2008. Induction of apoptosis by water extract of *Cordyceps militaris* (WECM) in human hepatocellular carcinoma HepG2 cells. *J Life Sci* 18: 804-813.
 25. Hengst L, Göpfert U, Lashuel HA, Reed SI. 1998. Complete inhibition of Cdk/cyclin by one molecule of p21^{Cip1}. *Genes Dev* 12: 3882-3888.
 26. Yang HL, Pan JX, Sun L, Yeung SC. 2003. p21 Waf-1 (Cip-1) enhances apoptosis induced by manumycin and paclitaxel in anaplastic thyroid cancer cells. *J Clin Endocrinol Metab* 88: 763-772.
 27. Blackwood AM, Sagnella GA, Cook DG, Cappuccio FP. 2001. Urinary calcium excretion, sodium intake, and blood pressure in a multi-ethnic population: results of the Wandsworth Heart and Stroke Study. *J Hum Hypertens* 15: 229-237.
 28. Park JW, Kim SJ, Kim SH, Kim BH, Kang SG, Nam SH, Jung ST. 2000. Determination of mineral and heavy metal contents of various salts. *Korean J Food Sci Technol* 32: 1442-1445.
 29. Ha JO, Park KY. 1999. Comparison of autooxidation rate and comutagenic effect of different kinds of salt. *J Korean Assoc Cancer Prev* 4: 44-51.