

## 염산/에탄올로 유도된 급성 위염 동물모델에서 십자화와 생즙 발효물의 위점막 보호 효과

박양규 · 조정휘 · 최진영\* · 김영필\* · 이상엽\* · 박주현\*\* · †오홍근\*\*\*

(주)휴벳 책임연구원, (주)휴벳 연구원, \*\* (주)풀무원 풀무원기술원 책임연구원, \*\*\* (주)휴벳 대표이사

### Protective Effect of Fermented Brassica Puree on HCl/Ethanol-Induced Acute Gastritis via Prevention of Gastric Mucosal Injury

Yang-Gyu Park, Jeong-Hwi Cho, Jinyoung Choi\*, Youngpil Kim\*,  
Sang-yeob Lee\*, Ju-Hun Park\*\* and †Hong-Geun Oh\*\*\*

Specialist, HUVET Co., Ltd., Jeongeup 56212, Korea

\*Researcher, HUVET Co., Ltd., Jeongeup 56212, Korea

\*\*Specialist, Corporate Technology Office, Pulmuone Co., Ltd., Cheongwon 28164, Korea

\*\*\*Ceo, HUVET Co., Ltd., Jeongeup 56212, Korea

#### Abstract

In recent years, there has been an increase in the morbidity of gastritis in Korea due to lifestyle factors mostly changes in eating habits and stress. Gastritis is more likely to progress to gastric cancer, and therefore it is important to prevent and manage gastritis through lifestyle adjustment and treatment at an early stage. In this study, cabbage, which was found to be effective in gastritis, was mixed and fermented with other crucifer plants such as kale and broccoli to evaluate the overall efficacy of fermented brassica puree on alcoholic acute gastritis. Based on our results, fermented brassica puree alleviated gastric injury induced by 150 mM HCl/60% ethanol. In addition, it was confirmed that PGE<sub>2</sub>, a gastric mucosal protective factor, was increased, and other positive effects such as an increase of MUC1 and regulation of PKC were observed. The results of this study suggest that fermented brassica puree can relieve acute alcoholic gastritis by regulating PGE and the expression of MUC1, a gene related to mucus secretion, and activating PKC, which is related to mucosal cell activity.

Key words: fermented brassica puree, acute alcoholic gastritis, gastroprotective, gastric injury

#### 서 론

위염이란 위 점막의 손상과 염증에 의해 발생하는 질환을 총칭하는 것으로 명치 부근의 통증, 복부 팽만, 구토 등 다양한 증상을 나타낸다. 이러한 위염의 원인으로는 헬리코박터균 (*Helicobacter pylori*) 감염, 불규칙한 식생활 스트레스, 음주, NSAIDs(Non-steroidal anti-inflammatory drugs) 등 다양한 요인이 있다(Kim 등 2018). 위염의 발병요인이 명확하게 밝혀지지 않아 해당 질환의 치료를 위해 공격인자(위산이나 펩신, 헬리코

박터균 등) 및 보호인자(알칼리성 점액층, Prostaglandin(PGE), 손상세포의 빠른 재생 등)를 대상으로 다양한 치료방법이 사용되고 있다(Kim 등 2016a). 국민보험심사평가원의 조사 결과에 따르면, 국내 위염환자의 비율은 매년 500만명 수준으로, 국민 10명중 1명이 위염을 앓고 있는 것으로 밝혀져 있으며, 식생활의 서구화와 일상생활에서의 스트레스에 의해 국내 위염 이환률은 높게 유지될 것으로 예상된다. 따라서, 위염의 예방을 위한 해결책이 필요한 실정이다. 위염은, 장기간 방치 시 만성위축성위염, 장상피화생 등으로 진행되

† Corresponding author: Hong-Geun Oh, Ceo, HUVET Co., Ltd., Jeongeup 56212, Korea. Tel: +82-63-851-7061, Fax: +82-63-303-0944-7061, E-mail: dvmoh@hanmail.net

며, 이로 인해 위암 발생 위험도 또한 증가하게 된다(Park 등 2004; Kim BJ 2020). 따라서, 이를 막기 위해서는 초기에 위염 치료를 시작하거나, 위염의 예방을 위해 건강한 식이 요법 및 생활습관 개선이 필요하다.

위염에 효과가 있는 식재료로 알려진 양배추(*Brassica oleracea* var. *capitata*)는 위궤양 치료제로 사용되는 비타민 U를 다량 함유하고 있다(Hong 등 2013; Ryou 등 2021). 그러나 비타민U가 열에 약해 조리를 하는 식품보다는 즙이나 샐러드 등의 형태로 섭취하여 위염과 같은 소화기 질환의 예방에 사용된다(Gianelli & Bellafiore 1945; Choi 등 2019). 양배추의 비타민U와 같은 유효성분의 섭취를 증가하기 위해 가열된 조리를 하지 않는 채소즙과 같은 형태의 조리가 영양 성분의 소화흡수를 원활하게 할 수 있다(Kim 등 2014). 양배추 이외에 채소즙으로 활용되는 식재료로는 케일(*Brassica oleracea* var. *sabellica*), 브로콜리(*Brassica oleracea* var. *italica*) 등이 있으며, 최근에는 기호성이나 기능성을 강화한 형태의 제품이 출시되고 있다. 대표적인 십자화과(Brassicaceae) 식물로 알려진 양배추, 케일, 브로콜리 등은 ascorbic acid, phenolics, carotenoids, glucosinolates과 같은 생리활성 물질을 포함하고 있어 항산화, 항염, 항균 활성 및 항암효과 등 다양한 효능을 띤다(Hwang 등 2012; Jeong & Han 2018). 뿐만 아니라, 선행연구에서 유산균에 의한 발효는 양배추의 항산화 활성을 증진시키고, 이러한 증가 효과는 브로콜리와 케일을 발효한 경우에도 관찰되었다(Sun 등 2009; Hunaefi 등 2013; Verni 등 2019; Szutowaska 등 2020).

알코올성 위염은 음주에 의한 산화스트레스 및 위 점막 보호물질 감소 등에 의해 위장의 출혈 및 염증발생을 유도하여 발생하는 급성 위염으로, 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)이 알코올성 위염의 발병에 밀접하게 관련되어 있다고 알려져 있다(Hossen 등 2021). 알코올을 이용한 위염 및 위궤양 동물실험은 급성 위염의 치료제 개발을 위해 널리 사용되는 방법이다(Kim 등 2016b; Kim 등 2019).

이전 연구들을 통해, 알코올성 급성 위염의 완화에 항산화 활성을 가진 천연물들이 효과가 있음을 예상하였고, 이러한 항산화 활성 이외에 십자화과 식물들의 생즙 발효물이 위 보호 효과를 보유하고 있는지 규명하고자 하였다. 구체적으로 양배추 즙에 기호성 및 기능성을 강화하기 위해 항산화 및 항염 기능을 보유한 브로콜리와 케일을 혼합 발효하여 십자화과 생즙 발효물(fermented brassica puree, FBP)이 알코올성 급성 위염에 미치는 효과를 관찰하였다. 십자화과 생즙 발효물의 위 점막 보호 효과를 확인하기 위해, PGE<sub>2</sub>, mucin, 위점막 조직 관찰, protein kinase C 등을 관찰하여 십자화과 생즙 발효물이 급성 위염의 완화에 미치는 전반적인 효능을 측정하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험 재료

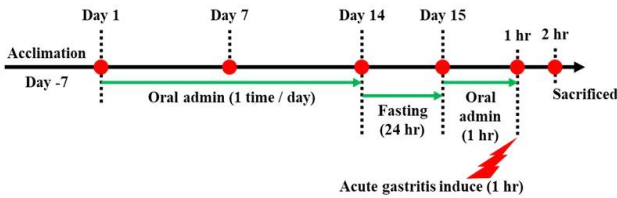
십자화과 생즙 발효물(fermented brassica puree, FBP)은 십자화과 식물로 알려진 양배추, 브로콜리, 케일을 파쇄하여 일정 비율(양배추 22 %, 브로콜리 새싹 15 %, 브로콜리 잎 5 %, 케일 3%)로 혼합한 뒤 유산균을 접종하여 발효시켰다. 발효는 *Lactobacillus plantarum* PMO 08(1×10<sup>6</sup> CFU)를 접종하여 35~39°C에서 18~30시간 동안 진행하였고, 유산균의 수가 1×10<sup>9</sup> CFU가 되는 시점에 발효를 종료하였다. 이후, 마이크로밀(Micro Mill) 설비를 이용하여 미립자 형태로 분쇄한 뒤 튜블러 살균기를 이용하여 103°C에서 2분간 살균을 진행하였다. 살균 후 4°C 이하 온도로 70시간 이상 저온숙성 한 뒤 본 실험에 사용하였다. 실험에 사용된 십자화과 생즙 발효물은 풀무원기술원(Cheongwon, Chungcheongbuk-do, Korea)에서 공급받았다.

### 2. 실험동물 및 처지

6주령 수컷 Sprague - Dawley Rats(SD-랫드) 35마리를 중앙실험동물(Seoul, Korea)에서 구입하여 1주일 동안 실험 환경(온도 22±1, 습도 60%)에 순화시킨 후 실험을 진행하였다. 실험군은 정상군(Nor), 급성 위염 유도군(Con), 양성대조군(PC), FBP 125 mg/kg 투여군(FBP 1), FBP 250 mg/kg 투여군(FBP 2)으로 군당 7마리씩 총 5군으로 나눠 실험을 진행하였고, 양성대조군의 약물은 소화 궤양 치료제로 사용되는 Ranitidine을 사용하였다. FBP의 효능을 평가하기 위해, 2주 동안 경구투여를 진행하였고, 급성 위염 유도 하루 전에 절식하였다. 유도 1시간 전에 FBP(125, 250 mg/kg)와 Ranitidine (20 mg/kg)을 경구 투여하였고, 150 mM HCl/60% ethanol을 1 mL 경구 투여하여 급성 위염을 유도한 뒤 1시간 방치하였다. 이후, Sodium pentobarbital(60 mg/kg, JW Pharmaceutical, Seoul, Korea)을 복강 내 주입하여 희생한 뒤 위 조직 및 혈액 샘플을 적출하여 분석을 진행하였다(Fig. 1). 체중측정을 위해, 실험동물의 순화기간 경과 후 체중별로 군을 분리하여, 2일 간격으로 개체별 체중을 측정하였다. 측정 오차를 최소화하기 위해 매일 오전 10시 전후로 동일한 시간대에 동일한 저울을 이용하여 2주 동안 체중을 측정하였다(Fig. 2). 실험은 전북대학교 실험동물위원회의 승인 (IACUC; CBNU-2018-041)을 받아 시행하였다.

### 3. 혈액 및 조직 시료 채취

희생 후 랫드의 복부를 개복하여 혈액과 위 조직을 채취하였다. 혈액 시료를 1,500×g, 4°C에서 5분간 원심 분리하여 혈청만 따로 분리하였다. 위 조직은 대만부를 따라 절개한



**Fig. 1. Experimental scheme of HCl/ethanol-induced acute gastritis.** SD-Rats were orally administered with 125 or 250 mg/kg of FBP once a day for 14 days. Acute gastritis was induced by oral administration of HCl/ethanol in SD-Rats. At 24 hr after fasting, FBP(125 or 250 mg/kg) or ranitidine(20 mg/kg) were orally administered 1 hr before acute gastritis. At 1 hr after induction of acute gastritis, all SD-Rats were sacrificed.

뒤 4°C PBS로 세척하여 위 내부를 깨끗하게 한 뒤 분석을 진행하였다.

#### 4. 조직 관찰

위 손상 정도를 확인하기 위해, 적출한 위 조직을 절개한 후 식염수로 세척하여 고정된 뒤 촬영을 진행하여 병변 부위를 관찰하였다. 위 점막 손상면적을 측정하기 위해, ImageJ (NIH, USA)를 이용하여 위 점막 손상면적 및 위 전체면적을 측정한 뒤 다음 공식을 대입하여 손상 면적을 계산하였다. Hemorrhagic inflammation(%)=위 점막 손상면적/위 전체면적×100 이후, 위 조직을 고정액(10% Neutral Buffered Formalin; Sigma, St. Louis, MO, USA)에서 24시간 동안 고정된 뒤 조직처리 과정에 따라 파라핀으로 포매 후 5 µm로 미세박절하여 박절한 조직을 Hematoxylin과 eosin으로 염색하여 점막(mucosa), 근층(muscular layer), 장막(serosa) 등을 관찰하였다. 각 표본(×100)의 5부분을 무작위로 측정하여 위점막의 조직병리학적 점수를 5등급(0등급; 정상, 4등급; 손상도 매우 높음)으로 나눠 평가한 뒤 각 군별 등급은 백분율로 제시하였다(Bergin 등 2003). 병변 부위와 조직학적인 양상은 ImageJ(NIH, USA)를 이용하여 분석하였다.

#### 5. 혈액을 이용한 Prostaglandin E<sub>2</sub> 분석

희생 후, 채취한 혈액으로부터 혈청을 분리하여 혈청 내에 Prostaglandin E<sub>2</sub>(PGE<sub>2</sub>)를 Rat ELISA assay kit(CSB-E07967r; Cusabio, Hubei, China)을 이용하여 측정하였다. 측정은 제조사의 프로토콜을 따라 진행하였다(Luo 등 2018).

#### 6. PCR을 이용한 조직 내 mRNA 발현 분석

조직내 RNA의 분리는 Hybrid-RTM(305-101; Geneall, Seoul, Korea)를 이용하여 진행하였고, cDNA 합성은 HelixAmp™

Speed-Pfu polymerase(DPRU200; Nanohelix, Daejeon, Korea)와 TOPscript™ cDNA Synthesis kit(EZ005S; Enzynomics, Daejeon, Korea)를 이용하여 진행하였다. Primers는 Genbank에 등록된 유전자 배열을 기준으로 COX-2(Genbank accession; L20085, forward, 5'-GCTCAGCCATGCAGCAAAT-3'; reverse, 5'-CCCTTGAAGTGGGTCAGGAT-3'), MUC1(Genbank accession; XM\_032897995, forward, 5'-GGTGGCTTTGGTCATCGTCT-3'; reverse, 5'-TTGCCTGTCGAAACCTCTTCA-3'), ATP4B(Genbank accession; NM\_012510.2, forward, 5'-ACGATGAGGACTTGCCTGTT-3'; reverse, 5'-ACTGCACCTTCAGGATGAC-3'), β-Actin(Genbank accession; XM\_032887061, forward, 5'-Forward ATATCGCTGCGCTCGTCGT-3'; reverse, 5'-TGAAGGTCTCAAACATGATCTGGGT-3')를 제작(Cosmogentech, Seoul, Korea)하여 사용하였다. 각 과정은 제조사의 프로토콜을 따라 진행하였고, 관찰은 1.5 % Agrose gel에 전기영동하여 분석하였다.

#### 7. Western blot를 이용한 조직 내 단백질 발현 분석

위 조직은 RIPA buffer(R2002; Biosesang, Seongnam, Korea)에 넣어 균질화를 진행하였고, Pierce™ BCA Protein Assay Kit(23225; ThermoFisher Scientific, Waltham, MA, USA)을 이용하여 단백질 정량을 진행하였다. 정량된 단백질을 이용하여 8~12% SDS-PAGE 겔에서 전기영동을 진행한 뒤, Nitrocellulose membrane(88014; ThermoFisher Scientific, Inc., Waltham, MA, USA)에 Transfer를 진행하였다. Transfer가 된 NC membrane에 항체를 붙혀 PKC(ab31; abcam, Cambridge, UK), p-PKC(ab109539; abcam, Cambridge, UK), β-actin(a5441; Sigma, St. Louis, MO, USA)의 발현량을 관찰하였다. 분석은 이미지분석기기(Fusion FX7; Vilber, France)와 Quantity One software(v4.6.2; Bio Rad Laboratories Inc., CA, USA)를 이용하여 진행하였다.

#### 8. 통계처리

본 연구에서 얻은 결과는 Prism 5.0(Graphpad software Inc., SanDiego, CA, USA)를 사용하여 평균 및 표준편차를 계산하였고, Student's *t*-test를 사용하여 결정하였다(유의수준 \**p*<0.05, \*\**p*<0.01).

### 결과 및 고찰

#### 1. 십자화과 생즙 발효물이 알코올성 급성위염에 의한 위 점막출혈에 미치는 효과

십자화과 생즙 발효물(FBP)의 경구투여가 SD-랫드의 체중변화에 미치는 영향을 확인하고자, 실험기간(Day 0~Day

15)동안 각 개체들의 체중변화를 관찰하였다(Fig. 2). 체중 변화를 관찰한 결과 Nor군의 경우, Day 0일 차와 Day 15일 차에 각각 208.4±5.09 g, 237.2±7.22 g, Con군 212.3±6.25 g, 241.9±5.21 g, PC군 210.9±7.33 g, 237.4±6.22 g, FBP 1군 206±7.77 g, 236.5±5.21 g, FBP 2군 206.3±3.25 g, 233.6±7.22 g 으로 관찰되었다. FBP의 경구투여에 따른 각 군별 체중변화는 관찰되지 않았다. 이 결과를 통해, FBP의 경구투여는 체중의 변화에는 영향을 미치지 않음을 확인하였다. FBP가 위 점막조직에 미치는 효과를 확인하고자, 위 조직을 적출하여 위 점막부위의 변화를 관찰하였다(Fig. 3). Nor군에서는 점막 손상이 관찰되지 않았고, 150 mM HCl/60% ethanol을 이용해 알코올성 급성위염을 유도한 나머지 군에서는 점막이 손상되어 점막 출혈이 관찰되었다. Con군에서는 점막 손상 면적이 10.86±1.49%, PC군에서는 4.41±1.18%, FBP 1군에서는 5.35±1.51%, FBP 2군에서는 4.74±2.38%로 관찰되었다. Con군의 점막 손상 면적을 기준으로 점막 손상 면적을 비교한 결과, PC군에서는 Con군 대비 59.34%, FBP 1군에서는 Con군 대비 50.68%, FBP 2군에서는 Con군 대비

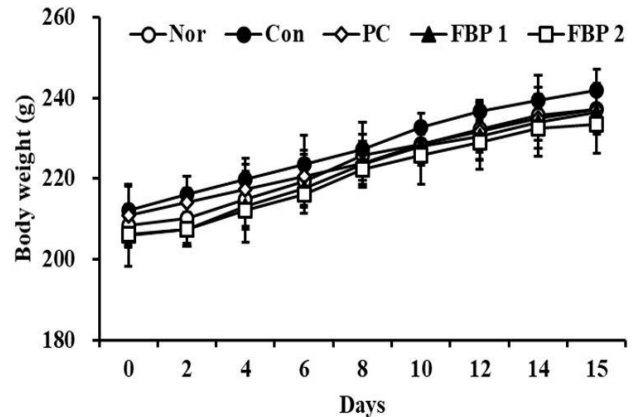


Fig. 2. Variation of body weight according to oral administration of fermented brassica puree. Nor, normal; Con, control; PC, positive control (ranitidine); FBP, fermented Brassica puree. Each concentration of drug was following; ranitidine: 20 mg/kg, FBP: ascending order with 125, 250 mg/kg. All the data has been depicted as the average of each group with the mean value±S.D.

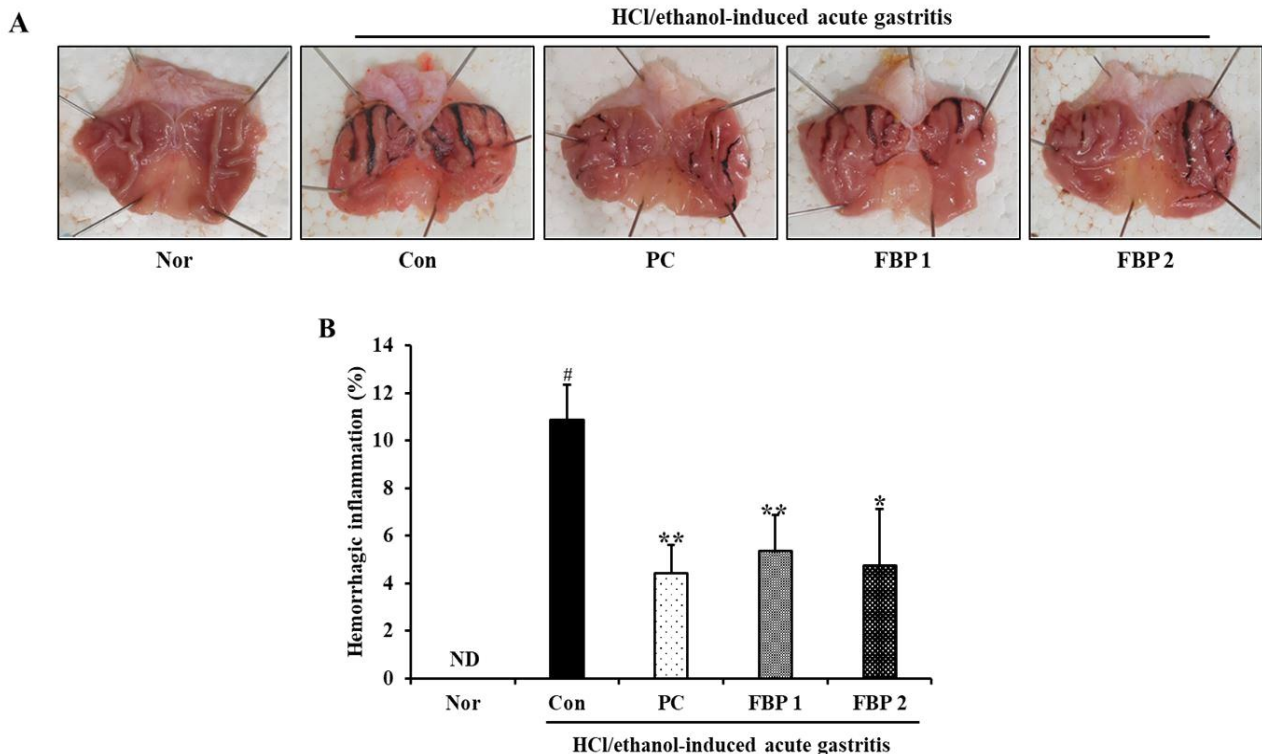


Fig. 3. Optical changes in acute gastritis lesions following oral administration of fermented brassica puree. (A) Representative photographs of HCl/ethanol-induced acute gastritis. (B) The effect of reducing hemorrhagic inflammation by oral administration of FBP. All the data has been depicted as the average of each group with the mean value±S.D. # $p < 0.05$  vs Nor, \* $p < 0.05$  vs Con, \*\* $p < 0.01$  vs Con. Nor, normal; Con, control; PC, positive control (ranitidine); FBP, fermented Brassica puree. Each concentration of drug was following; ranitidine: 20 mg/kg, FBP: ascending order with 125, 250 mg/kg.

56.31%의 점막 손상 면적이 감소하는 양상을 확인하였다. FBP의 경구투여에 따른 위 점막 손상 완화는 선행 연구에서 십자화과 식물인 양배추-케일 혼합즙에 의한 위 보호효과와 유사한 경향을 보였다(Hong 등 2013). 125~250 mg/kg 농도의 FBP 경구 투여는 알코올성 급성 위염에 의해 유도되는 위 점막의 손상을 완화하여 급성위염의 증상을 완화시킬 수 있음을 보여준 결과로 판단된다. 선행 연구결과와 본 실험 결과를 비교해 볼때, 십자화과 생즙발효물의 위 점막 보호효과는 양배추의 항염효과가 케일 및 브로콜리 등의 혼합에 의해 강화된 것으로 예상된다.

## 2. 십자화과 생즙 발효물이 위 조직 병변 개선에 미치는 효과

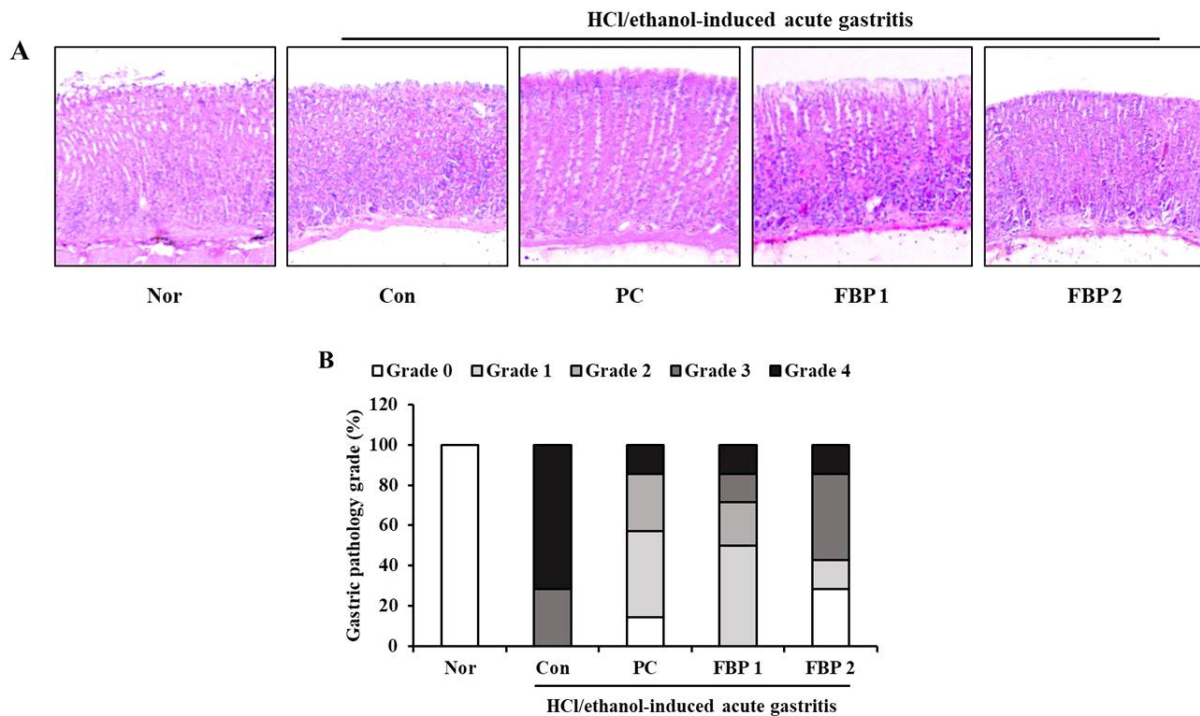
알코올성 급성 위염에 의해 발생한 위 조직손상에 FBP가 미치는 효과를 확인한 결과, 150 mM HCl/60% ethanol에 의해 위 조직 내 점막층의 손상이 관찰되었고, 십자화과 생즙 발효물을 경구 투여함에 따라, 점막층의 손상이 완화된 것을 확인하였다(Fig. 4A). 위점막의 조직병리학적 차이를 비

교하고자, 병변 부위를 무작위로 선정하여 중증도에 따라 분류하여 그 차이를 비교하였다(Bergin 등 2003). 그 결과, 십자화과 생즙 발효물 경구 투여군에서 Con군에 비해 병변의 등급이 감소하는 것을 확인하였다(Fig. 4B). 이 결과를 통해, 십자화과 생즙 발효물의 경구투여는 알코올성 급성위염에 의한 위점막 조직의 손상에 직접적인 영향을 미칠 수 있음을 확인하였다.

## 3. 십자화과 생즙 발효물이 위 점막 보호 인자들에 미치는 영향

### 1) PGE<sub>2</sub> 및 COX-2 발현

위염 동물모델에 흔히 활용되는 HCl/ethanol은 위염 동물 모델의 위 점막에 직접적인 자극을 주어 점막 세포를 손상시키고, 위 점막 손상으로 인해 PGE<sub>2</sub>가 감소하는 것으로 밝혀져 있다(Nho 등 2019; Liu 등 2021). 선행연구를 바탕으로, 십자화과 생즙 발효물에 의한 위 점막 손상의 완화 효과가 실제로 PGE<sub>2</sub>와 관련되어 있는지 확인하였다. 그 결과,



**Fig. 4. Optical changes in acute gastritis lesions following oral administration of fermented brassica puree.** (A) Characteristic histology of stomach was noted with mucosa, muscularis mucosa and submucosa. Muscularis externa was shown only in normal groups. Surface mucous cell, pit cell and several stomach cell types were damaged and partly exfoliated. Extensive submucosa edema was found in all HCl/ethanol treated groups. (B) Changes in gastric pathological grade according to oral administration of FBP. Nor, normal; Con, control; PC, positive control (ranitidine); FBP, fermented Brassica puree. Each concentration of drug was following; ranitidine: 20 mg/kg, FBP: ascending order with 125, 250 mg/kg.

십자화과 생즙 발효물의 경구 투여는, 150 mM HCl/60% ethanol을 이용해 알코올성 급성위염에 의해 감소된 PGE<sub>2</sub>를 증가시켰다. PGE<sub>2</sub>의 농도는 각각 Nor군 46.14±4.73 pg/mL, Con군 38.59±8.59 pg/mL, PC군 58.51±8.33 pg/mL( $p=0.0449$ ), FBP 1군 79.82±18.51 pg/mL( $p=0.0251$ ), FBP 2군 56.84± 7.45 pg/mL ( $p=0.0485$ )로 PC군, FBP 투여군 모두 Con군 대비 유의적인 차이가 관찰되었다. 십자화과 생즙 발효물에 의한 PGE<sub>2</sub>의 농도는 FBP 1군 및 FBP 2군 모두 PC군보다 높게 관찰되었으며, FBP 2군에서 가장 높게 관찰될 것으로 예상하였으나, FBP 1군에서 가장 높은 PGE<sub>2</sub> 값이 확인되었다.

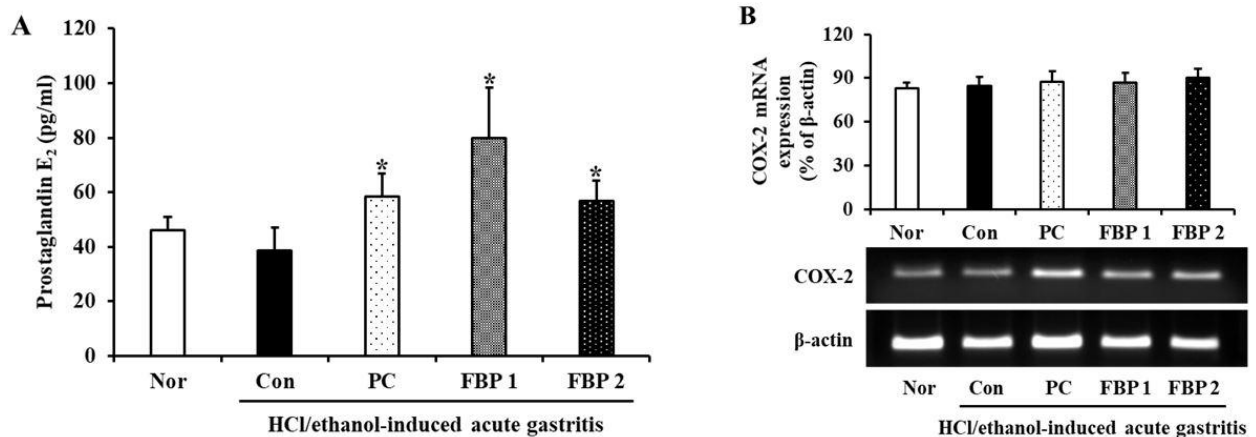
COX-2는 염증이 있는 부위에서 활성화되며, PGE<sub>2</sub>의 분비를 조절하는 것으로 밝혀져 있다(Hatazawa 등 2007). 십자화과 생즙 발효물에 의한 PGE<sub>2</sub>의 농도 증가가, COX-2에 의한 현상인지 확인하고자, COX-2 mRNA 발현을 관찰하였다(Fig. 5B). COX-2는 십자화과 생즙 발효물에 의해 FBP 1군( $p=0.093$ ) 및 FBP 2군( $p=0.081$ ) 모두 유의적인 변화가 관찰되지 않았다. 이 결과는 150 mM HCl/60% ethanol에 의한 위 조직 내 COX-2의 발현이 Nor군과 차이가 보일만큼 발현되지 않았거나, 혈청 내의 PGE<sub>2</sub> 농도가 COX-1에 의해 증가되었을 가능성을 원인으로 들 수 있다. 여러 선행연구에서 PGE<sub>2</sub>의 조절은 COX-1, 2 모두 관련성이 높다고 밝혀져 있고, 위 점막 손상 시 COX-1이 감소한다고 밝혀져 있다(Choi & Lim 2004; Khan 등 2007; Park YS 2007; Morsy 등 2012; Kim 등 2013). 본 연구 결과에서는 150 mM HCl/60% ethanol에 의해 COX-2의 발현 변화가 미약한 반면에 PGE<sub>2</sub>의 농도 변화는 각 군간 유의적인 차이가 관찰되었다. 이러

한 결과를 놓고 볼 때, 혈청 내 PGE<sub>2</sub>의 농도 증가는 십자화과 생즙 발효물이 염증 부위의 COX-2 발현 뿐만 아니라, 체내의 COX-1을 조절하여 나타난 현상으로 예상된다. COX-1은 체내 대부분의 세포에서 분비되며, 위 상피세포의 보호 및 항상성 유지에 밀접하게 관련되어 있다(Ricciotti & FitzGerald 2011). 따라서, 향후 연구에서는 COX-1의 발현 또한 관찰할 예정이다.

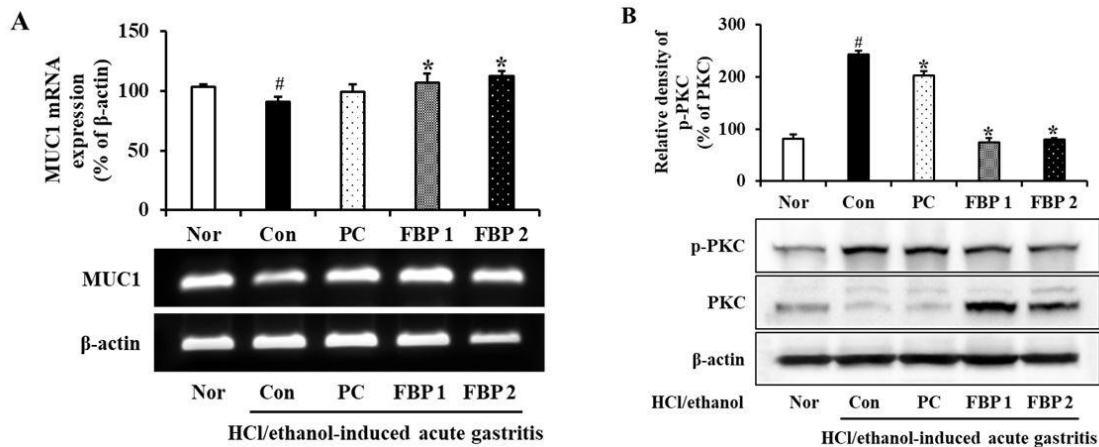
## 2) Mucin 및 Protein kinase C 발현

십자화과 생즙 발효물에 의한 PGE<sub>2</sub>의 농도가 변하는 것을 확인하였고, 이렇게 조절된 PGE<sub>2</sub>가 점막 내에 미치는 영향을 확인하고자, 점액 분비와 관련된 유전자인 MUC1과 점막내 세포활성과 관련된 Protein kinemase C(PKC)를 관찰하였다. 그 결과, 150 mM HCl/60% ethanol에 의해 감소된 MUC1은 십자화과 생즙 발효물에 의해 증가된 양상을 확인하였다(Fig. 6). MUC1의 발현량을 Con군을 기준으로 비교한 결과, PC군에서는 8.72%( $p=0.059$ ), FBP 1군에서는 16.3% ( $p=0.045$ ), FBP 2군에서는 21.7%( $p=0.04$ ) 증가하는 양상이 관찰되었다. 이 결과를 통해, 십자화과 생즙 발효물은 농도 의존적으로 점액 분비능을 조절하는 것을 확인하였다.

외부 자극으로 인해, 위 점막 세포의 Proton pump인 H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase가 활성화되면, 위 점막의 손상이 가속화되며, 이때, PKC는 활성화되어 H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase의 활성조절을 통해, 위 점막에 영향을 미친다(Cornelius & Mahmmoud 2003). 또한, 위염 환자의 위 조직에서, phospholated PKC(p-PKC)는 증가된 것으로 밝혀져 있다(Sokolova 등 2013). 이를 바탕으로,



**Fig. 5. The gastric mucosal protective effect by fermented brassica puree is via PGE<sub>2</sub> expression.** Effects of FBP on the PGE<sub>2</sub> level (A) and COX-2 expression (B) in HCl/ethanol-induced acute gastritis. All the data has been depicted as the average of each group with the mean value±S.D. \* $p<0.05$  vs Con. Nor, normal; Con, control; PC, positive control (ranitidine); FBP, fermented Brassica puree. Each concentration of drug was following; ranitidine: 20 mg/kg, FBP: ascending order with 125, 250 mg/kg.



**Fig. 6. fermented brassica puree regulates MUC1 expression and PCK activation.** Effects of FBP on the MUC1 (A) and phosphorylated PKC (B) expression in HCl/ethanol-induced acute gastritis. All the data has been depicted as the average of each group with the mean value±S.D. <sup>#</sup> $p < 0.05$  vs Nor, <sup>\*</sup> $p < 0.05$  vs Con. Nor, normal; Con, control; PC, positive control (ranitidine); FBP, fermented Brassica puree. Each concentration of drug was following; ranitidine: 20 mg/kg, FBP: ascending order with 125, 250 mg/kg.

십자화과 생즙 발효물에 의한 위 점막 보호 효과가 PKC 및 p-PKC에 미치는 영향을 확인하였다. 그 결과, p-PKC는 농도 의존적으로 감소하는 양상을 띠는 반면에, PKC의 발현은 오히려 증가하는 양상으로 관찰되었다(Fig. 6B). Con군에서 증가된 p-PKC는 십자화과 생즙 발효물에 의해 Nor군 수준까지 떨어지는 것을 확인하였다. 이 결과를 통해, 십자화과 생즙 발효물에 의한 위 점막 보호 효과는 MUC1 발현을 조절하여 위 점막층을 강화시키고 PKC 활성을 조절하여 H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase 활성화에 의한 위 손상을 완화시킬수 있음을 확인하였다.

## 요약 및 결론

본 연구에서는 항산화능을 보유한 십자화과 식물들을 혼합 발효하여 십자화과 생즙발효물이 항산화능 이외의 어떤 작용을 통해, 알코올성 급성 위염에 미치는 영향을 규명하고자 하였다. 그 결과, 십자화과 생즙 발효물은 체내 PGE<sub>2</sub>의 농도를 증가시켜, 알코올성 급성 위염에 의한 위 점막 조직의 손상을 완화시키는 것을 확인하였다.

본 연구 결과를 통해, 십자화과 생즙 발효물은 체중의 변화에 영향이 없음을 확인하였고, 위 점막 보호 인자로 밝혀진 PGE<sub>2</sub>, MUC1, PKC 활성화에 영향을 미치는 것을 확인하였다.

결과를 요약해 보면, 십자화과 생즙 발효물에 의한 위 점막 보호 효과는 PGE<sub>2</sub>와 밀접하게 관련되어 있으며, 십자화과 생즙 발효물은 COXs 조절을 통해 PGE<sub>2</sub>의 농도를 증가시

키고, 증가된 PGE<sub>2</sub>는 MUC1의 발현 조절을 통해 점액 분비를 강화시킬 뿐만아니라, PKC의 활성화를 감소시켜 H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase에 의한 위 손상 약화를 통해 HCl/ethanol에 의해 관찰되는 위 손상을 완화시키는 것으로 예상된다.

추후 연구를 통해, 본 연구에서 확인된 각 인자들 간의 상호작용을 확인하여 구체적인 작용기전 규명을 통해 십자화과 생즙 발효물에 의한 위 보호 효과를 더욱 자세하게 검증하고, 각 혼합 성분들의 시너지 효과에 대해 증명하고자 한다.

## References

- Bergin IL, Sheppard BJ, Fox JG. 2003. *Helicobacter pylori* infection and high dietary salt independently induce atrophic gastritis and intestinal metaplasia in commercially available outbred Mongolian gerbils. *Dig Dis Sci* 48: 475-485
- Choi EH, Lee SB, Lee DY, Kim GT, Shim SM, Park TS. 2019. Increased intestinal absorption of vitamin U in steamed graviola leaf extract activates nicotine detoxification. *Nutrients* 11:1334
- Choi HM, Lim SW. 2004. The effects of *Hyangsapyeongwisan* on gastric mucosal lesions induced by indomethacin. *J Int Korean Med* 25:518-528
- Cornelius F, Mahmoud YA. 2003. Direct activation of gastric H,K-ATPase by N-terminal protein kinase C phosphorylation. Comparison of the acute regulation

- mechanisms of H,K-ATPase and Na,K-ATPase. *Biophys J* 84:1690-1700
- Gianelli VJ, Bellafore V. 1945. The fundamental importance of diet in the treatment of peptic ulcer in an Army General Hospital: With special reference to vitamin-U therapy. *Med Clin North Am* 29:706-713
- Hatazawa R, Tanaka A, Tanigami M, Amagase K, Kato S, Ashida Y, Takeuchi K. 2007. Cyclooxygenase-2/prostaglandin E<sub>2</sub> accelerates the healing of gastric ulcers via EP<sub>4</sub> receptors. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 293:G788-G797
- Hong YJ, Kim SY, Han J, Lim YI, Park KY. 2013. 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. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 42:682-689
- Hossen MA, Reza ASMA, Ahmed AMA, Islam MK, Jahan I, Hossain R, Khan MF, Maruf MRA, Haque MA, Rahman MA. 2021. Pretreatment of *Blumea lacera* leaves ameliorate acute ulcer and oxidative stress in ethanol-induced Long-Evan rat: A combined experimental and chemico-biological interaction. *Biomed Pharmacother* 135:111211
- Hunaefi D, Gruda N, Riedel H, Akumo DN, Saw NMMT, Smetanska I. 2013. Improvement of antioxidant activities in red cabbage sprouts by lactic acid bacterial fermentation. *Food Biotechnol* 27:279-302
- Hwang ES, Hong E, 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
- Jeong YJ, Han YS. 2018. Antioxidant and quality characteristics of raw noodle added kale (*Brassica oleracea* var. *acephala*) powder. *Korean J Food Nutr* 31:400-407
- Khan AA, Iadarola M, Yang HYT, Dionne RA. 2007. Expression of COX-1 and COX-2 in a clinical model of acute inflammation. *J Pain* 8:349-354
- Kim BJ. 2020. Natural course of atrophic gastritis and intestinal metaplasia. *Korean J Helicobacter Up Gastrointest Res* 20:101-106
- Kim JD, Lee OH, Lee JS, Jung HY, Kim B, Park KY. 2014. Safety effects against nitrite and nitrosamine as well as anti-mutagenic potentials of kale and *Angelica keiskei* vegetable juices. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 43:1207-1216
- Kim MY, Kwon OJ, Noh JS, Roh SS. 2016b. Inhibitory activities of water extracts of black ginseng on HCl/ethanol-induced acute gastritis through anti-oxidant effect. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 45:1249-1256
- Kim OK, Nam DE, You Y, Jun W, Lee J. 2013. Protective effect of *Canavalia gladiata* on gastric inflammation induced by alcohol treatment in rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 42:690-696
- Kim SH, Lee JA, Lee AR, Shin MR, Park HJ, Roh SS. 2019. Protective effect of gardenia fruit ethanol extract in HCl/ethanol-induced acute gastritis. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 48:198-205
- Kim SW, Hwang IY, Lee SY, Jeong CS. 2016a. Protective effects on gastric lesion of ursolic acid. *J Food Hyg Saf* 31:286-293
- Kim YS, Park H, Song J, Lee D, Kim H. 2018. Anti-ulcer effects of HT074 on HCl/EtOH-induced gastric injury. *Korean J Herbol* 33:9-18
- Liu J, Lin H, Yuan L, Wang D, Wang C, Sun J, Zhang C, Chen J, Li H, Jing S. 2021. Protective effects of Anwulignan against HCl/ethanol-induced acute gastric ulcer in mice. *Evidence Based Complementary Altern Med* 2021:9998982
- Luo C, Chen H, Wang Y, Lin G, Li C, Tan L, Su Z, Lai X, Xie J, Zeng H. 2018. Protective effect of coptisine free base on indomethacin-induced gastric ulcers in rats: Characterization of potential molecular mechanisms. *Life Sci* 193:47-56
- Morsy MA, Heeba GH, Abdelwahab SA, Rofaeil RR. 2012. Protective effects of nebivolol against cold restraint stress-induced gastric ulcer in rats: Role of NO, HO-1, and COX-1,2. *Nitric Oxide* 27:117-122
- Nho JH, Jang JH, Lee HJ, Yang B, Woo KW, Kim AH, Seo JW, Hwang TY, Cho HW, Jung HK. 2019. Preventive effect of the water extract of *Agrimonia pilosa* Ledeb and micronucleus assay-based evaluation of genotoxicity in gastritis animal models. *Korean J Med Crop Sci* 27:136-142
- Park SY, Joo YE, Noh DY, Joo SY, Lee WS, Park CH, Kim HS, Choi SK, Rew JS, Park CS, Kim SJ. 2004. A study on the epithelial proliferation in *Helicobacter pylori* associated gastric premalignant and malignant lesions. *Korean J Med* 66:389-396
- Park YS. 2007. COX-2 inhibitors in inflammatory bowel



- disease: Friends or foes? *Korean J Gastroenterol* 50: 350-355
- Ricciotti E, FitzGerald GA. 2011. Prostaglandins and inflammation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 31:986-1000
- Ryou SH, Cho IJ, Choi BR, Kim MB, Kwon YS, Ku SK. 2021. *Brassica oleracea* var. *capitata* L. alleviates indomethacin-induced acute gastric injury by enhancing anti-inflammatory and antioxidant activity. *Processes* 9:372
- Sokolova O, Vieth M, Naumann M. 2013. Protein kinase C isozymes regulate matrix metalloproteinase-1 expression and cell invasion in *Helicobacter pylori* infection. *Gut* 62:358-367
- Sun YP, Chou CC, Yu RC. 2009. Antioxidant activity of lactic-fermented Chinese cabbage. *Food Chem* 115:912-917
- Szutowska J, Rybicka I, Pawlak-Lemanska K, Gwiazdowska D. 2020. Spontaneously fermented curly kale juice: Microbiological quality, nutritional composition, antioxidant, and antimicrobial properties. *J Food Sci* 85:1248-1255
- Verni M, Verardo V, Rizzello CG. 2019. How fermentation affects the antioxidant properties of cereals and legumes. *Foods* 8:362
- 

Received 20 August, 2021

Revised 06 September, 2021

Accepted 22 September, 2021