Journal of Life Science 2009 Vol. 19. No. 12. 1737~1742 ⓒJLS / ISSN 1225-9918

식물성 오메가-3계 지방산 급원인 아마씨 및 들깨의 항돌연변이 및 암세포 증식 억제 효과

임 선 영*

한국해양대학교 해양환경생명과학부

Received July 29, 2009 / Accepted October 26, 2009

Inhibitory Effect of *Linum usitatissimum* and *Perilla frutescens* as Sources of Omega-3 Fatty Acids on Mutagenicity and Growth of Human Cancer Cell Lines. Sun-Young Lim*. *Division of Marine Environment & Bioscience, Korea Maritime University, Busan 606-791, Korea* - It has been known that *Linum usitatissimum and Perilla frutescens* are dietary sources of possible chemopreventive compounds such as lignans and α-linolenic acid. Here, we investigated and compared the inhibitory effects of methanol extracts from *Linum usitatissimum* and *Perilla frutescens* on mutagenicity using the Ames test, and growth of human cancer cells (AGS human gastric adenocarcinoma, HT-29 human colon cancer, Hep 3B hepatocellular carcinoma cells). In the Ames test system using *Salmonella typhimurium* TA100, aflatoxin B_1 (AFB_1)-induced mutagenicity was significantly inhibited by treatment with the methanol extract from either *Linum usitatissimum* or *Perilla frutescens* ($p < 0.05$) in a dose dependent manner. As for N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguamidine (MNNG)-induced mutagenicity, the methanol extracts (5 mg/assay) from *Linum usitatissimum* and *Perilla frutescens* showed 63% and 78% inhibitory rates, respectively, indicating that *Perilla frutescens* possessed stronger antimutagenic activity than did *Linum usitatissimum*. Inhibitory effects of methanol extracts from *Linum usitatissimum* and *Perilla frutescens* on the growth of human cancer cells (AGS, HT-29 and Hep 3B) appeared to increase dose dependently, and the inhibition was more effective against AGS and HT-29 compared to Hep 3B cells. Our results suggested that the methanol extract from *Perilla frutescens* showed stronger antimutagenic activity than that from *Linum usitatissimum*as assayed by the Ames mutagenic test, whereas the methanol extract from *Linum usitatissimum* was more effective than its counterpart for growth inhibition of human cancer cells. It is concluded that intake of *Linum usitatissimum* and *Perilla frutescens* as sources of omega-3 fatty acids will be beneficial for preventing cancer.

Key words : *Linum usitatissimum*, *Perrilla frutescens*, antimugenicity, human cancer cells, Ames test

서 론

서구사회에서는 성스러운 씨앗으로 알려진 아마씨(*Linum usitatissimum* L.)는 중앙아시아 고산지대가 원산지인 아마과(*Linaceae*) 식물의 종자로 자생력이 강하며 높은 함량의 α-linolenic acid를 함유하고 있는 채종유이며 이외에도 식이섬유, 리그난, 토코페롤, 엽산 및 미네랄 등 수많은 필수성분이 집약되어 있는 식물이다. 유럽과 북미에서는 아마씨를 오래 접해왔기 때문에 전통식품으로 인정하여 특별한 규제를 두지 않고 있는 상태에서 다양한 식품으로 개발되어 있지만 우리나라의 경우 아마에 대한 도입과 인식이 늦어 대중화는 되지 않고 있는 실정이다. 그러나 동의보감에 의하면 아마는 약재로 사용되어 왔으며 뼈와 피부를 건강하게 하고 부인병과 대변 장애, 결장의 염증치료에 응용되었다. 들깨(*Perilla frutescens* Britton)는 꿀풀과(*Labiatae*)에 속하는 열대아시아 원산의 일년생 초본과 식물로서 특히 들깨로 착유한 기름은 우리나라에서 옛날부터 많이 이용해 오고 있는 식용유 중의 하나이다. 들깨유의 지질 함량은 40%이며 지방산 조성을 살펴보면 50-60% 이상이 오메가-3계 다가불포화지방산인 α-linolenic acid로서 다른 식용유에 비해 높은 함량을 지니므로 식품적, 영양적인 의의가 크다고 본다. 들깨는 적정온도로 볶음 처리한 뒤 압착법으로 들깨유를 착유하며[22] 이러한 들깨유 착유시 필수적으로 수반되는 부산물인 들깨박에는 암세포 증식 억제효과, 혈압 저하 및 혈전증 개선, 두뇌발달을 촉진시키는 등의 인체에 유효한 성분들이 다량 함유되어 있다고 보고되었다[15]. 또한 볶은 들깨의 용매 분획물로부터 토코페롤을 비롯하여 여러 가지의 항산화성분과 스테롤, monoterpene류 등의 특수성분들이 분리됨으로써 이들이 생체 내에서 여러 가지 생리활성을 나타낸다고 하였다[10,18].

지방의 섭취와 암발생간의 역상관관계가 알려져 있으며 현대인의 건강한 삶을 위해 포화지방산의 섭취량을 줄이고 다가불포화지방산의 섭취량을 늘려야 한다고 권장되고 있다[28]. 이러한 의견에는 특히 n-6계 다가불포화지방산은 변화시키지 않으면서 n-3계 다가불포화지방산의 섭취량을 현재 수준보다 2배 이상 늘리는 것이 바람직한 것으로 알려졌다[25]. 옥수수기름, 참기름 및 해바라기유 등에 함유된 포화지방산과 n-6계 linoleic acid의 과도한 섭취는 암, 특히 유방암과 대장암의 발

*Corresponding author
Tel : +82-51-410-4757, Fax : +82-51-404-4750
E-mail : sylim@hhu.ac.kr

생이 촉진되는 반면 어유나 들기름 및 아마인유에 함유된 α-linolenic acid, eicosapentaenoic acid (EPA)와 docosahexaenoic acid (DHA)등 n-3계 다가불포화지방산에 의해서는 대장암의 발생 및 암세포의 증식이 억제된다고 하였다[3,24]. 예를 들면 Wang 등[29]은 아마씨의 섭취는 유방암의 증식과 전이를 감소시켰다고 보고하였고 Yan 등[32]은 마우스 모델에서 아마씨의 공급은 melanoma 세포가 폐로 전이되는 것을 저해했다고 보고하였다. 또한 옥수수 식이군과 비교했을 때 아마씨 식이군은 오메가-3 지방산, lignan의 함량을 증가시키고 cyclooxygenase-1 (Cox-1)과 Cox-2의 활성을 저하시켜 소장 및 대장의 종양 생성을 감소시켰다[2]. α-Linolenic acid와 면역계 기능과 관련하여 들기름과 잇꽃유를 이용하여 α-linolenic acid와 linoleic acid의 비율을 달리하여 쥐에 투여했을 때 n-6에 대한 n-3 지방산의 비율이 증가함에 따라 지방에 의해 유발되는 알러지성 매개물의 형성을 억제하여 심각하면서도 즉각적인 알러지성 과민증을 감소시키는 효과가 있다고 보고되었다[30]. 림프구의 증식과 관련된 연구에서 α-linolenic acid를 함유한 아마인유는 토끼의 mitogen 유도에 의한 splenocyte의 증식을 촉진하는데 EPA보다 더 효과적이었다는 보고가 있다[11]. 들깨와 아마씨는 지질의 함량이 약 40%이며 이로부터 착유한 기름에는 다가불포화지방산 함량이 40-60% 이상이므로 산패에 대해 불안정하다고 할 수 있으나 종실 상태에서는 상당기간 산패 없이 저장이 가능한 것으로 보아 이들은 강력한 항산화물질을 함유하고 있는 것으로 추정된다. Kim 등[12]은 대두유-물 에멀젼 시스템을 이용하여 들깨박과 참깨박 추출물의 항산화효과를 측정함으로써 이들이 합성항산화제인 0.02% butylated hydroxytoluene (BHT)보다 더 우수한 항산화력을 나타내었다고 보고하였다. Lee 등[16]도 종실상태의 들깨 채유 후에 남는 들깨박의 에탄올 추출물에서 얻어진 에틸아세테이트 분획물을 돈지에 첨가했을 때 높은 항산화성을 확인하였다. 따라서 본 연구에서는 식물 종자들 중에서 특히 α-linolenic acid의 급원으로 대표적인 아마씨와 들깨를 중심으로 Ames 실험을 이용한 돌연변이 유발 및 인체 암세포 증식 억제 효과에 대해 알아보고자 하며 아울러 상대적으로 우리나라에서는 잘 연구되지 않았던 아마씨에 의한 항돌연변이 및 항암활성을 들깨와 비교하고자 한다.

재료 및 방법

재료

실험에 사용된 들깨(국산)와 아마씨(캐나다산)는 부산 부전시장에서 구입하여 세척한 후 동결 건조한 다음 분쇄한 후 각각 5배의 메탄올을 넣고 3회 추출하였다. 회전식 진공 농축기(Buchi oil & 461, Switserland)를 이용하여 농축한 후 dimethyl sulfoxide (DMSO)에 녹여 실험에 사용하였다. 세포배양에 사용된 DMSO의 최종농도는 0.1% 이하가 되도록 하였다.

Ames 돌연변이 유발실험

Salmonella typhimurium TA100은 *S. typhimurium* LT-2의 histidine auxotroph로서 미국 California 대학의 B.N. Ames 박사로부터 제공받아 정기적으로 histidine 요구성, deep rough (*rfa*) 돌연변이, *uvr*B 돌연변이, R factor 등의 유전형질을 확인하면서 실험에 사용하였다. 간접 돌연변이 유발물질인 aflatoxin B_1 (AFB_1)과 직접 돌연변이원인 N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguamidine (MNNG)은 Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA)로부터 구입하였고 AFB_1은 DMSO에, MNNG는 증류수에 녹여 실험에 사용하였다. 간접돌연변이원인 AFB_1의 경우 활성화를 위하여 Maron과 Ames의 방법[17]에 따라 S9 mixture를 첨가하였다. 항돌연변이 실험은 미리 건열 멸균시킨 glass cap tube에 S9 mix 혹은 phosphate buffered saline (PBS) 0.5 ml, 하룻밤 배양된 균주 0.1 ml ($1\sim2\times10^9$ cells/ml)와 돌연변이 유발물질(50 μl)을 가한 후, 시료 0.1 ml를 가하여 37°C에서 20분간 예비 배양한 다음 histidine/biotin이 첨가된 top agar (45°C) 2 ml씩을 가하고 vortex하여 minimal glucose agar plate에 도말하고 37°C에서 48시간 배양한 후 revertant 숫자를 계수하였다. 돌연변이 억제효과의 정도(inhibition rate)는 아래 식에 의해 계산하였다[1].

$$\text{Inhibition rate (\%)} = 100\times[(a-b)/(a-c)]$$

여기서 a는 돌연변이원에 의해 유도된 복귀돌연변이원수, b는 시료를 처리하였을 때의 복귀돌연변이의 수이며, c는 돌연변이원과 시료가 없을 경우의 자연복귀돌연변이원의 수이다.

암세포 배양 및 증식 억제 실험

한국 세포주 은행(서울의대)으로부터 인체 위암세포(AGS), 인체 결장암세포(HT-29) 및 인체 간암세포(Hep 3B)를 분양받아 본 실험실에서 배양하면서 실험에 사용하였다. 인체 암세포를 100 units/ml의 penicillin-streptomycin과 10% fetal calf serum (FCS)가 함유된 DMEM 배지를 사용하여 37°C, 5% CO_2 incubator에서 배양하였다. 배양 중인 세포를 1주일에 2번 refeeding하고 1주일 후 PBS로 세척한 뒤 0.05% trypsin-0.02% EDTA (Gibco Co., USA)로 부착된 세포를 분리하여 원심분리한 후 집적된 암세포에 배지를 넣고 피펫으로 암세포가 골고루 분산되도록 잘 혼합하여 75 mm^3 cell culture flask에 10 ml 씩 일정수 분할하여 주입하고 계속 6~7일마다 계대 배양하면서 실험에 사용하였다. 계대 배양 시 각각의 passage number를 기록하였고 passage number가 10회 이상일 때는 새로운 암세포를 액체 질소 탱크로부터 꺼내어 다시 배양하여 실험하였다. 암세포 증식 억제 실험은 암세포 배양과 동일한 방법으로 배양하되 원심분리 한 후 집적된 암세포를 골고루 분산되도록 잘 혼합하여 24-well plate에 20,000 cells/ml의 농도를 seeding하여 18시간 배양하였다. 각 시료 유기용매 추출물을 첨가하여 2일 마다 배지로 교체해서 배양 6일 후에 증식

된 세포를 0.05% trypsin-0.02% EDTA로 분리하여 각 세포수를 hemocytometer로 측정하여 대조군과 비교하여 암세포 성장 억제효과를 관찰하였다[5,6].

통계분석

실험결과는 mean±SD으로 나타내었고 분석된 실험 데이터는 대조군과 각 시료로부터 얻은 실험 자료로부터 one-way ANOVA를 실시하여 유의성이 있을 경우에 post-hoc test로 Duncan's mutiple range test를 실시하여 95% 수준에서 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

아마씨 및 들깨의 항돌연변이 효과

Ames test는 식품을 포함하여 환경적인 요인에 의한 돌연변이 유발 물질을 탐지하는데 널리 이용되어 왔다. 간접돌연변이원인 AFB_1 (0.7 mg/plate)에 대해 들깨 메탄올 추출물은 농도의 증가와 더불어 돌연변이 억제 효과가 증가하였다 (Table 1). 첨가농도 2.5 및 5 mg/plate일 때 각각 86% 및 94%의 높은 돌연변이 억제 효과를 나타내었다. 아마씨 메탄올 추출물의 경우도 첨가농도 2.5 및 5 mg/plate일 때 각각 74% 및 75%의 항돌연변이 효과를 관찰 할 수가 있었다. 직접 돌연변이원인 MNNG은 *S. typhimurium* TA100에 대한 대표적인 diagnostic mutagen으로서 이들의 활성화에 S9 activation를 필요로 하지 않는 직접 돌연변이원이다[33]. MNNG 0.6 mg/plate의 농도를 사용하여 *S. typhimurium* TA100 균주에 대한 들깨 및 아마씨 메탄올 추출물의 항돌연변이성 실험을 한 결과, 첨가농도 1.25 mg/plate일 때부터 활성이 나타나 5 mg/plate 일 때는 각각 78, 63%의 돌연변이 억제 효과를 살펴볼 수 있었다(Table 2). 이상의 결과에서 *S. typhimurium* TA100 균주에 대한 AFB_1과 MNNG의 돌연변이 유발실험에서 두 가지 종자인 들깨와 아마씨는 직접돌연변이원에 대해서보다는 간접돌연변이원에 의해 유발된 돌연변이 저해에 더 효과적이었으며 들깨에 의한 항돌연변이 효과가 더 우수하였음을 관찰할 수가 있었다. Park 등[23]의 연구에서도 들깨 메탄올 추출물은 AFB_1에 의해 유발된 돌연변이를 상당히 억제시켰으나 직접돌연변이원인 MNNG를 돌연변이원으로 사용한 경우 항돌연변이 효과는 크게 나타나지 않았다고 보고하여 본 연구 결과와 유사하였다. 들깨유가 쥐에서 대장암과 유방암을 억제하며 이것은 들깨유에 다량 함유된 α-linolenic acid에 의한 암세포 증식 억제 작용이라고 보고되었다[7]. 들깨의 이러한 지질 성분이외의 생리활성을 알아보는 연구[23]에서 불용성 식이 섬유소의 함량을 측정한 결과 들깨는 16.1%의 불용성 식이 섬유소를 함유하고 있으며 총 식이 섬유소의 94%를 차지하는데 이들 불용성 식이 섬유소는 장내 돌연변이 물질과 발암물질과 결합하여 배설시키므로 결국 결장암을 방지하는 효과를 지니는 것으로 알려져 있다. 실제 들깨의 불용성 식이 섬유소는 Trp-P 2 돌연변이 유발물질의 제거효과가 나타났음을 확인하였다. Kim 등[13]은 종실상태가 아니라 들깨를 채유한 후 남는 들깨박의 메탄올 추출물이 세포계에서

Table 1. Effect of methanol extracts from *Perilla fruntescens* and *Linum usitatissimum* on the mutagenicity of AFB_1 (0.7 mg/plate) in *Salmonella typhimurium* TA100[1]

Sample (mg/plate)		Revertants/plate	Inhibition rate (%)[2]
Spontaneous		138±15[3]	
Control (AFB_1)		986±96[a]	
Perilla fruntescens	1.25	370±53[c]	73
	2.5	259±30[d]	86
	5	187±29[e]	94
Linum usitatissimum	1.25	503±66[b]	57
	2.5	359±20[c]	74
	5	351±17[c]	75

[1]0.5 ml of the S9 mix, 0.1 ml of the test bacterial suspension from an overnight culture, 50 μl of AFB_1 and 0.1 ml of the test compound were added. Then the plates were incubated at 37°C for 48 hr. and the revertant bacterial colonies on each plate were counted.
[2]Inhibition rate (%)=(Control-Sample)/(Control-Spontaneous) ×100
[3]Values are mean±SD.
[a-e]Values with different letters are significantly different at $p<0.05$.

Table 2. Effect of methanol extracts from *Perilla fruntescens* and *Linum usitatissimum* on mutagenicity of MNNG (0.4 mg/plate) in *Salmonella typhimurium* TA100[1]

Sample (mg/plate)		Revertants/plate	Inhibition rate (%)[2]
Spontaneous		112±25[3]	
Control (MNNG)		1082±32[a]	
Perilla fruntescens	1.25	569±55[c]	53
	2.5	454±83[d]	65
	5	328±37[e]	78
Linum usitatissimum	1.25	685±40[b]	41
	2.5	539±84[c]	56
	5	473±64[d]	63

[1]0.5 ml of PBS, 0.1 ml of the test bacterial suspension from an overnight culture, 50 μl of MNNG and 0.1 ml of the test compound were added. Then the plates were incubated at 37°C for 48 hr. and the revertant bacterial colonies on each plate were counted.
[2]Inhibition rate (%)=(Control-Sample)/(Control-Spontaneous) ×100
[3]Values are mean±SD.
[a-e]Values with different letters are significantly different at $p<0.05$.

Quinone reductase (QR) 효소 활성을 증가시킴을 보고하였으며 Hong 등[8]은 들깨박의 산가수분해 및 볶음처리가 동물의 간과 위에서 QR의 활성을 유의적으로 유도함을 확인하였다. QR은 발암물질의 대사에 관여하는 효소계의 지표효소로 다양한 종류의 항암물질에 의해 활성이 유도되는 특성을 갖고 있는 효소들 중의 하나이다. 아마씨는 들깨와 유사하게 α-linolenic acid의 함량이 높은 종자로 지금까지 항돌연이 효과에 대해서는 잘 알려져 있지 않으므로 본 연구 결과에서 나타난 아마씨에 의한 돌연변이 유발 억제효과는 고무적이라고 여겨진다.

암세포 증식 억제효과

우수한 돌연변이 유발 억제효과를 보였던 아마씨 및 들깨 메탄올 추출물들에 의한 암세포 증식 억제 효과를 검토한 결과, 아마씨 메탄올 추출물을 0.5, 1, 2 mg/ml의 농도별로 인체 위암세포(AGS)에 처리했을 때(Fig. 1) 농도 의존적으로 암세포 증식 억제 효과가 증가하여 1 mg/ml 첨가농도에서 64%의 암세포 성장 억제 효과를 보였고, 2 mg/ml 농도에서 79%의 높은 암세포 증식 억제 효과를 나타내었다. 들깨 메탄올 추출물의 경우도 아마씨 메탄올 추출물과 유사하게 농도 의존적으로 암세포의 증식을 억제시켰으며 첨가농도 2 mg/ml일 때 68%의 증식 억제효과를 살펴 볼 수가 있었다. Fig. 2는 인체 결장암세포(HT-29)에 이들 아마씨 및 들깨 추출물들을 처리했을 때 암세포 증식 억제 효과를 나타낸 것이다. 인체 위암세포에 처리했을 때처럼 아마씨 메탄올 추출물은 첨가농도 0.5 mg/ml에서부터 활성을 타나내어 첨가농도 2 mg/ml에서는 72%의 암세포 증식 억제 효과를 나타내었다. 들깨 메탄올 추출물의 경우 첨가농도 0.5 mg/ml에서는 43%의 억제효과를 나타내었으나 첨가농도 2 mg/ml에서는 64%로 결장암세포의 증식을 억제시켰다. 세계적으로 결장암은 폐암과 유방암 다음으로 흔한 암질환 중의 하나이다. 주로 지방섭취 비율과 관련이 있는 것으로 서구사회에서는 결장암에 의한 사망률이 2위로 알려져 있다. Dwivedi 등[4]은 오메가-6 지방산이 풍부한 옥수수유 식이와 비교했을 때 아마씨유 섭취는 결장 종양의 생성을 감소시켰고 종양의 사이즈도 유의적으로 감소시켰다고 보고하였다. 결장과 혈청의 지방산 조성에서도 아마씨 섭취에 의해 오메가-3계 지방산 함량이 증가하였다. 들깨에 관한 연구로 Hirose 등[7]은 동물실험에서 오메가-3계 지방산을 많이 함유한 들깨유 식이군은 오메가-6계 지방산이 풍부한 잇꽃유(safflower seed oil) 및 대두유 식이군에 비해 유방암, 결장암 및 신장암의 발생을 유의적으로 저해하였다고 보고하였다. 인체 간암세포(Hep 3B)에 의한 증식 억제효과는 이상의 암세포에 대한 효과보다 다소 낮았으나 아마씨 및 들깨 메탄올 추출물은 첨가농도 2 mg/ml에서 각각 65% 및 59%의 저해효과를 나타내었다(Fig. 3). Thuy 등[26]은 간에서 자연적으로 발생하는 종양생성은 올리브유와 아마인유를 공급한 군에서 잇꽃유를 공급한 대조군과 비교했을 때 유의적으로 억제되었으며 이러한 효과는 간과 혈장의 총콜레스테롤 및 중성지질의 함량과 지질 과산화, 그리고 혈장 aspartate aminotransferase (AST)와 alanine aminotransferare (ALT)의 활성과는 무관하였다고 보고하였다. 아마씨 및 들깨에 의한 항암효과에 대한 기작에 대해서는 아직 확실하지 않지만 이들이 많이 함유하고 있는 오메가-3 지방산에 의한 효과라고 여겨진다. Jelinska 등[9]은 쥐에 아마인유와 어유를 섭취시켰을 때 정상 간과 7,12-dimethylbens[*a*]anthrancene를 처리한 쥐의 간 및 종양의 지방산 조성과 prostaglandins E_2 (PGE_2) 생성을 측정한 결과, 이들 유지를 섭취한 쥐의 간과 종양에서 오메가-3계 불포화지

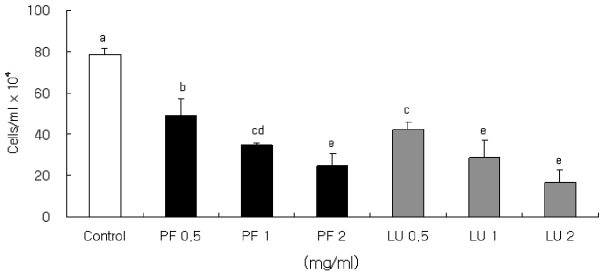

Fig. 1. Inhibitory effect of methanol extracts of *Perilla fruntescens* (PH) and *Linum usitatissimum* (LU) on the growth of AGS human gastric adenocarcinoma cells. [a-e]Values with different letters are significantly different at $p<0.05$.

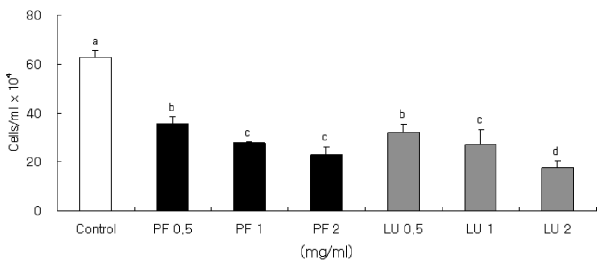

Fig. 2. Inhibitory effect of methanol extracts of *Perilla fruntescens* (PH) and *Linum usitatissimum* (LU) on the growth of HT-29 human colon adenocarcinoma cells. [a-d]Values with different letters are significantly different at $p<0.05$.

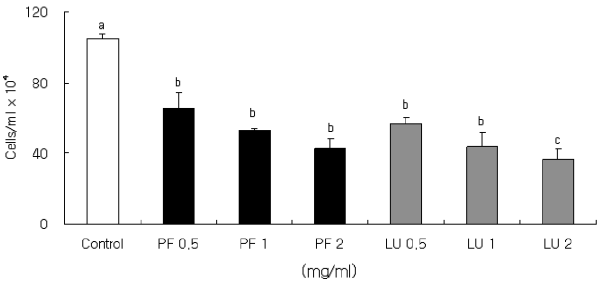

Fig. 3. Inhibitory effect of methanol extracts of *Perilla fruntescens* (PH) and *Linum usitatissimum* (LU) on the growth of Hep 3B human hepatocellular carcinoma cells. [a-c]Values with different letters are significantly different at $p<0.05$.

방산 함량은 증가하였고 암발생 위험과 정의 상관관계가 있는 PGE_2의 함량은 감소되었고 보고하였다. Narisawa 등[19]도 들깨유는 결장 상피세포의 인지질막의 지방산 조성을 변화시켜 종양 촉진물질에 대한 결장 점막의 민감성을 감소시키므로써 항종양효과를 나타내었음을 보고하였다. 또한 들깨유를 섭취한 식이군에서 Aberrant crypt foci (ACF)가 유의적으로 감소되었음을 확인하였으며 이러한 효과는 아주 적은 양의 들깨유 섭취로 나타났으며[20,21], 베타-카로틴의 첨가와 더불어 상승효과도 있었다[14]. ACF는 설치류와 인간에서 결장암 발생 초기의 생체지표로 결장 점막에 변이가 일어나 정상 선와보다 2-3배 큰 변형된 이상선와가 형성되고 이와 같이 변형된 선와와 그들이 집합적으로 모여 형성된 전암병변성 이상선와이다. 아마씨에 의한 결장암 예방효과도 들깨의 효과와 유사하게 azoxymethane에 의해 유도된 결장암에서 ACF의 형성을 유의적으로 감소시켰다는 보고가 있다[31]. 또한 아마씨의 경우에는 lignan을 상당양 함유하고 있는데 Tou와 Thompson [27]은 쥐에게 아마씨와 lignan의 투여는 유선의 구조를 변형시켜 결과적으로 유방암의 위험을 감소시킨다고 보고하였다. 따라서 본 연구의 결과로부터 Ames test를 이용한 항돌연변이 실험에서 아마씨 메탄올 추출물에 의한 돌연변이 억제 활성도 우수하였으나 특히 들깨 메탄올 추출물에 의한 돌연변이 저해효과가 더 높았으며 *in vitro* 암세포 증식 억제효과에서는 들깨보다는 아마씨 메탄올 추출물에 의한 항암활성이 더 우수한 것으로 나타났다.

요 약

본 연구에서는 식물 종자들 중에서 특히 α-linolenic acid의 급원으로 대표적인 아마씨와 들깨를 중심으로 Ames 실험을 이용한 돌연변이 유발 및 인체 암세포 증식 억제 효과에 대해 비교 검토하였다. 간접돌연변이 AFB_1 (0.7 mg/plate)에 대해 들깨 메탄올 추출물은 농도의 증가와 더불어 돌연변이 억제 효과가 증가하였다. 첨가농도 2.5 및 5 mg/plate일 때 각각 86% 및 94%의 돌연변이 억제 효과를 나타내었다. 아마씨 메탄올 추출물의 경우도 첨가농도 2.5 및 5 mg/plate일 때 각각 74% 및 75%의 항돌연변이 효과를 보였다. 직접 돌연변이인 MNNG (0.6 mg/plate)에 대한 들깨 및 아마씨 메탄올 추출물의 항돌연변이성 실험을 한 결과, 첨가농도 1.25 mg/plate일 때부터 활성이 나타나 5 mg/plate 일 때는 각각 78, 63%의 돌연변이 억제 효과를 나타내었다. *S. typhimurium* TA100 균주에 대한 AFB_1과 MNNG의 돌연변이 유발실험에서 두 가지 종자인 들깨와 아마씨는 직접돌연변이원에 대해서보다는 간접돌연변이원에 의해 유발된 돌연변이 저해에 더 효과적이었으며 들깨에 의한 항돌연변이 효과가 더 우수하였음을 관찰할 수가 있었다. 한편, 아마씨 메탄올 추출물을 0.5, 1, 2 mg/ml의 농도별로 인체 위암세포(AGS)에 처리했을 때 농도 의존적으로 암세포 증식 억제 효과가 증가하여 1 mg/ml 첨가농도에서 64%의 암세포 성장 억제 효과를 보였고, 2 mg/ml 농도에서 79%의 높은 암세포 증식 억제 효과를 나타내었다. 들깨 메탄올 추출물의 경우도 아마씨 메탄올 추출물과 유사하게 농도의존적으로 암세포의 증식을 억제시켰으며 첨가농도 2 mg/ml일 때 68%의 증식 억제효과를 살펴 볼 수가 있었다. 인체 결장암세포(HT-29)의 경우, AGS 세포에 처리했을 때처럼 아마씨 메탄올 추출물은 첨가농도 0.5 mg/ml에서부터 활성을 타나내어 첨가농도 2 mg/ml에서는 72%의 암세포 증식 억제 효과를 나타내었다. 들깨 메탄올 추출물의 경우 첨가농도 0.5 mg/ml에서는 43%의 억제효과를 나타내었으나 첨가농도 2 mg/ml에서는 64%로 결장암세포의 증식을 억제시켰다. 인체 간암세포(Hep 3B)에 의한 증식 억제효과는 이상의 암세포에 대한 효과보다 다소 낮았으나 아마씨 및 들깨 메탄올 추출물은 첨가농도 2 mg/ml에서 각각 65% 및 59%의 저해효과를 나타내었다.

References

1. Ames, B. N., J. McGann, and E. Yamasaki. 1975. Method for detecting carcinogens and mutagens with the *Salmonellsa*/mammalian-microsome mutagenicity test. *Muta. Res.* **31,** 347-364.
2. Bommareddy, A., X. Zhang, D. Schrader, R. S. Kaushil, D. Zeman, D. P. Matthees, and C. Dwivedi. 2009. Effects of dietary flaxseed on intestinal tumorigenesis in Apc (Min) mouse. *Nutr. Cancer* **61**, 276-283.
3. Cognault, S., M. L. Jourdan, E. Germain, R. Pitavy, E. Morel, G. Durand, P. Bougnoux, and C. Lhuillery. 2000. Effect of an α-linolenic acid-rich diet on rat mammary tumor growth depends on the dietary oxidative status. *Nutr. Cancer* **36**, 33-41.
4. Dwivedi, C., K. Natarajan, and D. P. Mattees. 2005. Chemopreventive effects of dietary flaxseed oil on colon tumor development. *Nutr. Cancer* **51**, 52-58.
5. Franceschi, R. T., W. M. James, and G. Zerlauth. 1985. 1α, 25-dihydroxy vitamin D3 specific regulation of growth, morphology and fibronectin and a human osteosarcoma cell line. *J. Cell Physiol.* **123**, 401-409.
6. Goldburg, E., H. Nitowsky, and S. Colowick. 1965. The role of glycolysis in the growth of tumor cells. *J. Biol. Chem.* **240**, 2791-2796.
7. Hirose, M., A. Masuda, N. Ito, K. Kamano, and H. Okuyama. 1990. Effects of dietary perilla oil, soybean oil and safflower oil on 7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA) and 1,2-dimethy-hydrazine (DMH)-induced mammary gland and colon carcinogenesis in female SD rats. *Carcinogenesis* **11**, 731-735.
8. Hong, E. Y., H. J. Kang, C. S. Kwon, Y. J. Nam, M. J. Suh, and J. S. Kim. Modulation of cellular quinone reductase induciblity by roasting treatment and acid hydrolysis of perilla. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **26**, 186-192.

9. Jelinska, M., A. Tokarz, R. Oledzka, and A. Czorniuk-Sliwa. 2003. Effects of dietary linseed, evening primose or fish oils on fatty acid and prostaglandin E2 contents in the rat livers and 7,12-dimethylbenz[*a*]anthracene-induced tumores. *Biochim. Biophys. Acta* **1637**, 193-199.
10. Karp, F., C. A. Mihaliak, J. L. Harri, and R. Croteau. 1990. Monoterpene biosynthesis specificity of the hydroxylactions of (-)-limonene by enzyme preparations from peppermint (Mentha spicata), and perilla (*Perilla frutescens*) leaves. *Arch. Biochem. Biophys.* **276,** 219-226.
11. Kelley, D. S., G. J. Nelson, C. M. Serrato, P. C. Schmidt, and L. B. Branch. 1988. Effects of type of dietary fat on indices of immune status of rabbits. *J. Nutr.* **118**, 1376-1384.
12. Kim, E. H. and D. H. Kim. 1981. Antioxidant activity of ethanol-extracts of defatted soybean, sesame, and perilla flours in a soybean oil-water emulsion system. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **13**, 283-288.
13. Kim, J. S., Y. J. Nam, and J. W. Kim. 1995. Screening of quinone reductase induces from agricultural byproducts using mouse hepatoma cell line. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **27**, 972-977.
14. Komaki, C., M. Okuno, N. Onogi, H. Moriwaki, T. Kawamori, T. Tanaka, H. Mori, and Y. Muto. 1996. Synergistic suppression of azoxymethane-induced foci of colonic aberrant crypts by the combination of β-carotene and perilla oil in rats. *Carcinogenesis* **17**, 1897-1901.
15. Kurowska, E. M., G. K. Dresser, L. Deutsch, D. Vachon, and W. Khalil. 2003. Bioavailablity of omega-3 essential fatty acids. *Prostaglandins Leukotrienes Essential Fatty Acids* **68**, 207-212.
16. Lee, Y. J., D. H. Shin, Y. S. Chang, and J. I. Shin. 1993. Antioxidantvie effect of some edible plant solvent extracts with various synergists. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **25**, 683-688.
17. Maron, D. M. and B. N. Ames. 1983. Reversed methods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Muta. Res.* **113,** 173-215.
18. Nagatsu, A., K. Tenmaru, H. Matsuura, N. Murakami, T. Kobayashi, H. Okuyama, and J. Sakakibara. 1995. Novel antioxidants from roasted perilla seeds. *Chem. Pharm. Bull.* **43,** 887-889.
19. Narisawa, T., M. Takahashi, H. Kotanagi, H. Kusaka, Y. Yamazaki, H. Koyama, Y. Fukaura, Y. Nishizawa, M. Kotsugai, Y. Isoda, J. Hirano, and N. Tanida. 1991. Inhibitory effect of dietary perilla oil rich in the n-3 polyunsaturated fatty acid alpha-linoleic acid on colon carcinogenesis in rats. *Jpn. J. Cancer Res.* **82,** 1089-1096.
20. Narisawa, T., Y. Fukaura, K. Yazawa, C. Ishikawa, Y. Isoda, and Y. Nishizawa. 1994. Colon cancer prevention with a small amount of dietary perilla oil high in alpha-linolenic acid in an animal model. *Cancer* **15,** 2069-2075.
21. Onogi, N., M. Okuno, C. Komaki, H. Moriwaki, T. Kawamori, T. Tanaka, H. Mori, and Y. Muto. 1996. Suppressing effect of perilla oil on azoxymethane-induced foci of clonic aberrant crypts in rats. *Carcinogenesis* **17**, 1291-1296.
22. Park, W. K., B. H. Park, and Y. H. Park. 2000. Encyclopedia of food and food science. Shin Kwang Publishibg Co. seoul, Korea. pp. 234.
23. Park, D. S., K. I. Lee, and K. Y. Park. 2001. Quantitative analysis of dietary fibers from *perilla frutescens* seeds and antimutagenic effect of its extracts. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **30**, 900-905.
24. Rose, D. P., J. M. Connolly, J. Rayburn, and M. Coleman. 1995. Influence of diets containing eicosapentaenoic or docosahexaenoic acid on growth and metastasis of breast cnacer cells in nude mice. *J. Natl. Cancer Inst.* **87**, 587-592.
25. Sandstrom, B., S. Bugael, C. Lauridsen, F. Nielsen, C. Jensen, and L. H. Skibsted. 2000. Cholesterol-lowering potential in human subjects of fat from pigs fed rapseed oil. *Br. J. Nutr.* **84**, 143-150.
26. Thuy, N. T., P. He, and H. Takeuchi. 2001. Comparative effect of dietary olive, safflower, and linseed oils on spontaneous liver tumorigenesis in C3H/He mice. *J. Nutr. Sci. Vitaminol. (Tokyo)* **47**, 363-366.
27. Tou, J. C. L. and L. U. Thompson. 1999. Exposure to flaxseed or its lignan component during different developmental stages influences rat mammary gland structures. *Carcinegenesis* **20**, 1831-1835.
28. Wachi, A. M., L. A. Sinclair, R. G. Wilkinson, M. Enser, J. D. Wood, and A. V. Fisher. 2002. Effect of dietary fat source and breed on the carcass composition, n-3 polyunsaturated and conjugated linoleic acid content of sheep meat and adipose tissue. *Br. J. Nutr.* **88**, 697-709.
29. Wang, L., J. Chen, and L. U. Thompson. 2005. The inhibitory effect of flaxseed on the growth and metastasis of estrogen receptor negative human breast cancer xenografts is attributed to both its lignan and oil components. *Int. J. Cancerm.* **116**, 793-798.
30. Watanabe, S., N. Sakai, Y. Yasui, Y. Kimura, T. Kobayashi, T. Mizutani, and H. Okuyama. 1994. A high α-linolenate diet suppresses antigen-induced immunoglobin E response and anaphylactic shock in mice. *J. Nutr.* **124**, 1566-1573.
31. Williams, D., M. Verghese, L. T. Walker, J. Boateng, L. Shackelford, and C. B. Chawan. 2007. Flax seed oil and flax seed meal reduce the formation of aberrant crypt foci (ACF) in azoxymethane-induced colon cancer in fisher 344 male rats. *Food Chem. Toxicol.* **45**, 153-159.
32. Yan, L., J. A. Yee, D. Li, M. H. McGuire, and L. U. Thompson. 1998. Dietary flaxeed supplementation and experimental metastasis of melanoma cells in mice. *Cancer Lett.* **124**, 181-186.
33. Zaidi, N. H., P. J. O'Connor, and W. H. Butler. 1993. N-methyl-N'-nitro-N-nitrodoguamidine-induced carcinogenesis: differential pattern of upper gastointestinal tract tumours in Wistar rats after single or chronic oral doses. *Carginogenesis* **14**, 1561-1567.