

건강한 성인의 glutathione S-transferase M1과 T1 유전자 다형성에 따른 한식에서의 식물성 식품군과 한식의 DNA 손상 감소 효과

김현아 · 이민영 · 강명희[†]

한남대학교 대덕밸리캠퍼스 생명나노과학대학 식품영양학과

Effects of lymphocyte DNA damage levels in Korean plant food groups and Korean diet regarding to glutathione S-transferase M1 and T1 polymorphisms

Kim, Hyun-A · Lee, Min-Young · Kang, Myung-Hee[†]

Department of Food & Nutrition, Daedeok Valley Campus, Hannam University, Daejeon 34054, Korea

ABSTRACT

Purpose: GST (glutathione S-transferase) M1 and T1 gene polymorphisms are known to affect antioxidant levels. This study was carried out to evaluate genetic susceptibility by measuring the effect of DNA damage reduction in the Korean diet by vegetable food according to GST gene polymorphisms using the *ex vivo* method with human lymphocytes. **Methods:** Vegetable foods in the Korean diet based the results of the KNHANES V-2 (2011) were classified into 10 food groups. A total of 84 foods, which constituted more than 1% of the total intake in each food group, were finally designated as a vegetable food in the Korean diet. The Korean diet applied in this study is the standard one-week meals for Koreans (2,000 Kcal/day) suggested by the 2010 Dietary Reference Intakes for Koreans. *Ex vivo* DNA damage in human lymphocytes was assessed using comet assay. **Results:** In the Korean food group, the DNA damage protective effect of GSTM1 and GSTT1 was found to be greater in mutant type and wild-type, respectively, and the DNA damage protective effect according to the combined genotype of GSTM1 and GSTT1 was different depending on the food group. On the other hand, in Korean Diet, the DNA damage protective effect appeared to be larger in GSTM1 wild-type than in mutant type and was found to not be affected by GSTT1 genotype. **Conclusion:** These results can be used as basic data to demonstrate the superiority of the antioxidant function of Korean dietary patterns and food groups. Furthermore, it may be a starting point to begin research on customized antioxidant nutrition according to individual genes.

KEY WORDS: DNA damage, GST polymorphism, Korean plant food groups, Korean Diet, Comet assay

서 론

우리나라는 현재 서구화된 식사패턴과 고칼로리, 고지방 음식의 섭취 증가로 인해 과거에 비해 만성질환이 증가하는 추세이다.¹ 이에 비해 한식 식사는 전통적으로 탄수화물, 단백질, 지방의 비율이 균형적으로 이루어져 있으며, 동물성 식품의 비율이 적고 다양한 식물성 식품으로 이루어져 있다.² 한식을 구성하고 있는 과일과 채소, 곡류, 버섯류 등과 같은 식물성 식품에는 carotenoids, phytosterols, polyphenol 등 비영양소 활성성분들 (bioactive compounds, phytochemical or nonnutrient microconstituents)이 풍부

하며 인체를 보호하고 건강하게 유지시킨다.^{2,3} 뿐만 아니라 고혈압, 심장병, 비만, 당뇨병은 물론 암 발생의 위험까지 낮출 수 있는 건강한 식사로 세계적으로 주목을 받고 있다.⁴ 이렇게 한식의 효능과 우수성이 여러 한식 관련 논문 및 서적에서 밝혀지면서 우리나라에서도 서구화된 식사 대신 한식으로 섭취하려는 노력이 이어지고 있다.⁵ 한식 식사는 식물성 식품과 동물성 식품의 비율이 8:2 정도 되는데, 이는 대표적인 건강식으로 알려진 지중해식 식사 패턴에서 식물성 식품과 동물성 식품의 비율이 7:3인 것과 매우 비슷하며 또한 한식은 식사 구성의 측면에서도 절제성, 균형성, 다양성을 고루 갖춘 식사패턴이라고 할 수 있

Received: January 13, 2017 / Revised: February 6, 2017 / Accepted: February 10, 2017

[†]To whom correspondence should be addressed.

tel: +82-42-629-8791, e-mail: mhkang@hnu.kr

© 2017 The Korean Nutrition Society

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

다.³ 최근 저자들의 실험실에서 한식을 구성하는 식물성 식품군⁶ 및 한식 식단⁷의 항산화 우수성과 DNA 손상 보호 효과가 보고된 바 있다.

같은 환경에 노출되어 있는 서로 비슷한 대상자에게 항산화 보충제를 섭취하게 한 연구에서 보충제 섭취 후 개인의 질병 위험 정도가 개인마다 달랐으며⁴ 또한 항산화 식품과 과일주스 등을 보충 섭취시키는 영양중재 연구에서도 평균값에서는 보충 전후에 항산화능이 개선되었으나 개개인의 항산화능을 비교하여 볼 때 항산화 영양상태가 나빠지거나 변화가 없는 대상자가 있는 것을 볼 수 있었다.^{8,9} 이와 같이 개인 차이를 보이는 이유는 각 개인의 유전적 민감도 (individual genetic susceptibility)가 다르기 때문이다.⁸ 즉 산화스트레스를 유발 및 억제하는 효소, 외부에서 유입되는 유해 환경물질에 대한 활성화와 해독에 관여하는 효소의 유전자 다형성 (genetic polymorphisms)이 존재하기 때문이다.¹⁰ 따라서 같은 조건의 대상자라 할지라도 각 개인의 유전자 다형성에 따라 항산화 상태 및 DNA 손상 감소 효과가 다르게 나타날 수 있으므로 그 효과를 더 정확하게 해석하기 위해서는 개개인의 유전자 다형성을 분석한 후 그 유전적 감수성에 따라 해석할 필요가 있다.¹¹

GST (glutathione S-transferase)는 내재적, 외재적 electrophilic compounds의 해독에 관여하는 phase II 효소로서 glutathione-dependent peroxidase에 의해 자유라디칼을 제거함으로써 산화스트레스에 대한 보호 작용을 하며, 고혈압 등 질병에 대한 개인적 감수성에 영향을 미친다.¹² 현재 GST polymorphisms의 형태로 모두 8개가 밝혀졌으며 이들은 여러 gene과 isozymes를 가지고 있으며 그 중에서도 특히, GSTM1과 GSTT1의 유전자 다형성은 흡연, DNA 및 항산화 수준에 영향을 준다고 알려져 있다.¹³

그동안 식사패턴과 항산화 활성화, 그리고 GST 유전자 다형성 관련 선행 연구는 국내외적으로 매우 제한되어 있다. 최근 *in vitro* 방법으로 측정된 스페인식 지중해 식사의 총 항산화활성 연구¹⁴ 및 한식의 총항산화 활성화 측정 연구¹⁵가 보고되었으며 GST 유전자 다형성과 개별식품, 또는 식품속 특정 화합물과의 항산화활성에 대한 연구^{16,17}와 GST 유전자 다형성과 질병¹⁸에 대한 연구는 보고되었으나 어느 한 나라의 식사패턴과 GST 유전자 다형성에 따른 항산화 활성화 혹은 DNA 손상 감소효과의 차이를 연구한 결과는 아직 보고된 바 없다. 다만 식사패턴 중에서도 식물성 식품이 풍부한 한식 식사의 항산화활성 연구에서는 식사패턴과 질병과의 상관관계,^{19,20} 또는 개별식품에 초점이 맞춰 있을 뿐이다. 따라서 본 연구에서는 인체 임파구세포를 이용한 *ex vivo* 방법으로 GST 유전자 다형성에 따른 우리

나라 한식에서 주로 섭취하는 식물성 식품군별, 한식의 DNA 손상 감소효과를 평가하며 이 효과가 GST 유전자 다형성 별로 달라지는지 그 유전적 민감도를 측정하고자 수행되었다.

연구방법

한식 식물성 식품군과 한식 식단 선정

한식에서 주로 섭취하는 식물성 식품군은 5기 2차년도 국민건강영양조사 결과를 활용하여 한식에서 섭취하는 식물성 식품을 선정하였다 (Table 1). 식물성 식품을 10가지 식품군 (감자류, 견과류, 곡류, 과일류, 김치류, 두류, 버섯류, 오일류, 채소류, 해조류)으로 나누었다. 한식의 식물성 식품의 최종 선정은 식품군별 총 섭취량의 1% 이상을 섭취한 84종의 식품으로 선정하였다. 선정된 식물성 식품은 대전 지역 시중에서 구입하였으며 식물성 식품과 기름은 각각 별도의 과정을 거쳐 전 처리 하였다. 식물성 식품의 섭취 방법은 식품군마다 다양하므로 가열 조리된 상태로 섭취하는 식품은 밥 짓기, 삶기, 데치기 등의 방법을 이용하여 전 처리하였으며, 조리가 필요하지 않은 식품의 경우 세척하거나 또는 구입 시 식품 상태 그대로 사용하였다. 전 처리된 식물성 식품은 각 식품군 마다 개별 식물성 식품의 국민건강영양조사에 나타난 1인 1일 섭취량 비율대로 혼합하였다. 10가지 식품군을 섭취량 비율로 모두 혼합하여 만든 식품군인 총 한식 혼합군 (total군)과 10가지 식품군을 포함하여 모두 11가지 시료를 준비하였다.

한식 식단 (Korean diet)은 한국영양학회에서 발행한 2010 한국인영양섭취기준²¹에 제시되어 있는 우리나라 사람을 위한 1주일 표준 식단을 적용하였다. 본 식단은 1일 2,000 kcal를 기준으로 각 식품군의 1일 권장섭취 횟수와 1인 1회 분량 고려하여 작성되었다. 또한 권장 에너지 적정 비율, 비타민 및 무기질, 식이섬유 등의 영양섭취 기준에 맞추어 작성하였으며, 우유 및 유제품의 1회 제공량 섭취를 기본으로 성인의 식사 패턴을 반영하였다 (Table 2). 한식 식단의 재료는 대전 지역 시중에서 신선한 상태로 구입하였다. 각 메뉴에 사용되는 여러 가지 재료의 종류, 분량은 CAN-Pro 4.0을 기준으로 하였으며, 표본 식단에 명시되어 있는 주재료 분량의 비율에 맞추어 조리하였으며 조리된 음식은 한 끼 식단 단위로 1인 1회 섭취 분량의 비율에 맞게 7일의 식단을 모두 혼합하여 만든 1주일 혼합 식단 샘플을 준비하였다. 전처리한 식물성 식품군과 한식 식단의 시료는 동결조건을 한 후 분석 시까지 -20°C 냉동고에 보관하였다.

Table 1. Intake of plant foods and oils in the Korean diet (KNHANES V-2, 2011)

Food group (plant foods and oils) ¹⁾	Intake ²⁾ (g/day)	Food group (plant foods and oils)	Intake (g/day)
Cereals		Kimchi	
Rice	180.86	Chinese cabbage kimchi	62.98
Rice cake	15.14	Cubed radish kimchi	8.54
Noodles	9.58	Young leafy radish kimchi	5.98
Glutinous rice	10.17	Dong chi mi	5.42
Barley	6.8	Small radish kimchi	6.02
Brown rice	6.6	Na bak kimchi	5.7
Corn	5.53	Watery young leafy radish kimchi	2.95
Flour	5.02	Cucumber kimchi	1.64
Buckwheat noddles	3.73	Beak kimchi	1.24
Noodle soup	3.41	Green onions kimchi	1.1
Total	246.84	Total	101.57
Potatoes		Mushroom	
Potato	20.9	Oyster mushrooms	1.33
Sweet potato	13.03	Pine mushrooms	1.36
Chinese noodle	1.21	Oak mushrooms	1.25
Starch	0.71	Winter mushrooms	0.52
Arrow roots	0.58	White mushrooms	0.49
Total	36.43	Phellinus linteus	0.23
Fruits		Total	5.18
Apples	31.12	Legumes	
Citrus fruits	34.73	Tofu	21.26
Pears	16.56	Soybean milk	10.91
Water melons	16.49	Soybean	3.8
Grapes	12.63	Kidney beans	0.66
Oranges	8.20	Red beans	0.6
Persimmons	18.94	Total	37.23
Musk melons	8.13	Oils	
Banana	6.14	Soybean oil	3.49
Strawberries	5.21	Sesame seed oil	1.47
Peaches	4.87	Wild sesame seed oil	0.21
Japanese apricots	4.61	Rape seed oil	0.27
Kiwies	2.16	Total	5.44
Total	169.79	Nuts	
Vegetables		Chestnuts	0.8
Onions	23.68	Sesame	0.65
Red peppers	21.81	Peanuts	0.92
Tomatoes	20.33	Perilla seeds	0.36
Cucumbers	14.93	Walnuts	0.24
Green onions	11.01	Ginko nuts	0.08
Chinese cabbage	10.4	Pine nuts	0.06
Squash	9.78	Total	3.11
Radish leaves	9.14	Seaweeds	
Soybean sprouts	8.83	Sea mustard	7.06
Radishes	7.06	Sea tangle	1.91
Spinach	6.64	Laver	1.38
Lettuce	6.57	Green laver	0.34
Carrots	5.43	Total	10.69
Sesame leaf	4.7		
Garlic	4.06		
Cabbage	3.45		
Leeks	2.67		
Eggplants	2.45		
Bracken	2.44		
Chwinamuls	2.18		
Total	177.56		

1) Individual items that comprised more than 1% of the total dietary intake by the group selected in this study are representative of the plant foods commonly consumed in the Korean diet. 2) g of edible portion/day/person

Table 2. Normal dietary pattern of Korean diet (a week_2,000 kcal/day)¹⁾

	Monday	Tuesday	Wednesday	Thursday	Friday	Saturday	Sunday
	KD ²⁾ 1	KD 2	KD 3	KD 4	KD 5	KD 6	KD 7
Breakfast	Sorghum rice Spinach soup Cutlassfish (boiled down in soy sauce) Bellflower salad Stir-fried Korean-leek	Rice with beans Beef radish soup Boiled chicken Laver Cooked crown daisy	Mixed cereals rice Sea mustard soup Steamed egg Cooked spinach Cooked mungbean sprout	Rice with beans Soybean soup Grilled Spanish mackerel Stir-fried oyster mushrooms Radish salad	Toasted bread Grilled ham Vegetable stick Milk (200 ml)	Rice with red beans Soybean paste soup with cabbage Grilled Mackerel Cooked squash Cooked mungbean sprout	Rice with beans Radish soup Grilled sole (flatfish) Cooked leaf beet Japchae
Lunch	Rice Dried Pollack soup Cooked soybean Grilled tofu Chinese cabbage kimchi	Rice Yukgaejang Soft tofu Cooked sweet potato stem Green laver salad	Rice with raw fish Soybean paste soup with winter mushrooms Rakkyo	Rice Soybean paste soup with dried radish leaves Bulgogi Lettuce Cucumber salad	Soybean paste soup with chinese cabbage Hotstone pot Bibimbap Fried eggs Cucumber kimchi	Rice Seolleongtang Cooked dried radish leaves Cubed radish kimchi	Noodle soup with clams Fried fish paste Small radish kimchi
Dinner	Barley rice Soybean paste soup with chinese cabbage Fried spicy pork Leafy vegetables Green onions salad	Brown & glutinous rice Curled mallow soup Grilled yellow croaker Squash pancake Chinese cabbage kimchi	Rice with beans Kimchi stew Cooked cabbage Grilled saury Cooked bokchoy	Mixed cereals rice Soft tofu stew Cooked chwinamul Na bak kimchi	Brown & glutinous rice Pollack stew Cooked spinach Grilled deodeok Dotorimuk (Acorn jelly salad)	Mixed cereals rice Soybean paste stew with tofu Pyeonyuk (steamed pork) Fried Bellflower Water parsley salad	Brown & glutinous rice Beef and mushroom stew Stir-fried anchovy Cooked eggplant
Snack	Milk (200 ml) Apple (100 g) Citrus fruit (100 g) Injeolmi (50 g)	Milk (200 ml) Kiwi (100 g) Persimmon (100 g) Jeolpyeon (50 g)	Liquid yogurt (145 ml) Strawberry (200 g) Citrus fruit (100 g) Sweet potato (50 g)	Yoghurt (110 ml) Apple (100 g) Pear (100 g) Potato (130 g)	Citrus fruit (100 g) Banana (100 g)	Milk (200 ml) Orange (200 g)	Milk (200 ml) Strawberry (200 g) Persimmon (100 g)

1) Reference: 2010 Dietary Reference Intakes for Koreans first revision (The Korean Nutrition Society) 2) KD: Korean diet

시료의 추출

한식에서 주로 섭취하는 식물성 식품군 및 한식 식단의 추출물 시료를 제조하기 위해 다음의 추출과정으로 거쳐 시료를 추출하였다. 선행연구 결과 유기용매 중 메탄올 용매추출의 생리활성물질 용출량이 높았기에 추출 용매로 메탄올을 사용하였으며 우수한 항산화효과를 나타낸 50% 메탄올을 사용하였다.²² 각 샘플이 들어 있는 시험관에 50% 메탄올 (methanol : D.W = 50:50)을 넣고 실온에서 1시간 동안 shaking 한다. 그 다음 시험관을 3,000 rpm, 4°C에서 30분 동안 원심분리한 후 상등액을 회수한다. 같은 시험관에 다시 70% 아세톤 (acetone : D.W = 70:30)을 넣고 실온에서 1시간 동안 shaking 한 후에 원심분리하여 상등액을 회수한다. 메탄올과 아세톤 추출물을 섞어서 추출물 시료를 완성한다. 오일류의 경우 99.9% 메탄올 2 ml 와 오일류 2 g을 섞은 후 30분 동안 아주 강하게 저어 섞은 다음 3,000 rpm, 4°C에서 15분 동안 원심분리한다. 그 다음 메탄올 층을 따라낸 다음 다시 메탄올 2 ml를 섞어 원심분리 하여 다시 추출한다. 두 번의 메탄올 추출물을 합하여 시료를 완성한다. 각각의 메탄올-아세톤 추출물, 오일류의 메탄올 추출물을 *ex vitro* 실험인 Comet assay에 사용하여 DNA 손상 정도를 측정하는 시료로 사용하였다.

혈액 내 glutathione S-transferase 유전자 다형성 분석

glutathione S-transferase (GST) M1은 Pemble 등²³의 방법을, GSTT1은 Bell 등²⁴의 방법을 수정하여 수행하였다. GST 유전자 다형성 분석을 위해 건강한 성인 남녀 59명의 자발적인 동의를 얻은 후 채혈하였으며, 채혈한 혈액은 분석 시까지 -80°C 냉동고에 보관하였다. 채혈 후 냉동고에 보관해 두었던 전혈 200 µl를 취하여 Genomic DNA Prep kit를 이용하여 DNA를 추출하였고 추출한 DNA는 사용하기 전까지 냉장 보관 하였다. GSTM1과 GSTT1의 유전자 다형성을 검사하기 위한 internal standard로 β -globin을 사용하였으며 추출한 DNA의 GST 유전자 확인을 위해 PCR을 시행하였다. PCR 과정을 위한 primer는 ㈜바이오니아에서 제작한 primer를 사용하였으며 염기서열은 Table 3과 같다. GSTM1과 GSTT1 유전자 분석을 위해서 0.1 µg genomic DNA를 각각의 10 nmol primers, 5 mM dNTP, 0.5 Unit Taq polymerase (TakaraTaq), 200 mM Tris-HCl (pH 8.3), 500 mM KCl과 30 mM MgCl₂를 20 µl의 PCR 혼합액에 첨가하여 94°C에서 7분 처리 후 94°C에서 30초, 65°C에서 30초, 72°C에서 30초의 조건으로 30회 반복한 후 72°C에서 5분간 반응시켰다. 증폭된 PCR product는 ethidium bromide (0.1 µg/mL)를 포함한 1% agarose gel에서 전기영동 하여 UV 하에서 확인하였다. 여기서 wild

Table 3. Primer sequences used in the PCR reactions

Primer	Sequences (5' ----- 3')
GSTM1-forw.	gaa ctc cct gaa aag cta aag c
GSTM1-rev.	gtt ggg ctc aaa tat acg gtg g
GSTT1-forw.	ttc ctt act ggt cct cac act tc
GSTT1-rev.	tca ccg gat cat ggc cag ca
β -Globin-forw.	caa ctt cat cca cgt tca cc
β -Globin-rev.	gaa gag cca agg aca ggt ac

genotype은 wild (+/+), 한쪽의 allele mutant (+/-)이며, mutant type은 양쪽의 allele mutant (-/-)을 의미한다.

채혈 대상자 선정 및 채혈

채혈 대상자는 20대 건강한 남녀 성인이며 GSTM1 및 GSTT1 유전자 다형성 type 별로 아래와 같이 4군으로 나누었다. 각 군별 4~5명의 대상자를 선정하여 총 17명의 자발적인 동의를 받아 채혈을 진행하였다. 대상자 선정 기준은 과거부터 현재까지 고혈압, 당뇨, 심혈관계 질환과 같은 DNA 손상을 일으킬 수 있는 만성질환 병력이 없으며 비타민 또는 다른 건강기능식품을 전혀 복용하지 않은 사람이었다. 본 연구는 건강한 성인의 혈액을 채혈하여 임파구를 분리하고, 식물성 식품군과 한식 추출물을 처리 후 DNA 손상 감소여부를 알아보는 *ex vivo* 연구 방법을 사용하여 진행되는 인체대상 연구이므로 수행에 앞서 한남대학교 산하 인체연구심의위원회 (IRB)의 승인을 받았다 (2013-07k). 대상자로부터 채혈한 혈액은 10 ml heparinated sterile tube (Vacutainer Becton Dickinson Co.)에 담아 실험실에 가져온 후 3시간 이내에 임파구를 분리를 실시하였다.

Alkaline comet assay를 이용한 임파구 DNA 손상 측정

본 연구는 한식 식물성 식품군과 한식 식단의 DNA 손상 감소 효과 정도를 알아보기 위하여 alkaline comet assay를 통해 알아보았으며 Singh²⁵의 방법을 수정, 보완하여 실시하였다. 신선한 전혈 100 µL을 1 ml PBS에 섞은 후 histopaque 1077을 200 µL 사용해 임파구만을 분리하였다. 처리 과정을 마친 임파구 20 µL를 채취하여 75 µL의 0.7% low melting agarose gel (LMA)과 섞은 후, normal melting agarose (NMA)가 precoating 된 fully frosted slide 위로 고루 분산되게 한 후 cover glass로 덮어 4°C 냉장보관 하였다. Gel이 굳으면 cover glass를 벗기고 그위에 다시 0.7% LMA 용액 75 µL로 한 겹 더 덮었다. Cell lysis를 위해 미리 준비해 둔 차가운 alkali lysis buffer (2.5 M NaCl, 100 mM Na₂EDTA, 10 mM Tris)에 사용직전에 1% triton X-100와 10% dimethyl sulfoxide를 섞은 후 slide를 담가

저온, 암실에서 1시간 동안 침지시키어 DNA의 double strand를 풀어주었다. Lysis가 끝난 슬라이드를 electrophoresis tank에 배열하고 냉장 보관하였던 전기영동 buffer (300 mM NaOH, 10 mM Na₂EDTA, pH > 13)를 채워 40분 동안 unwinding시켜 DNA의 알칼리에 취약한 부위가 드러나게 한 후 25 V/300 ± 3 mA의 전압을 걸어 20분간 전기영동을 실시하였다. 전기영동이 끝난 후 Tris 완충 용액 (pH 7.4)에 10분씩 담가 세척하는 과정을 3회 반복하여 슬라이드를 건조시켰다. 20 µL/mL 농도의 ethidium bromide로 핵을 형광 염색하여 cover glass로 덮은 뒤 형광 현미경 (Leica, Germany)상에서 관찰하였다. CCD camera (Nikon Japan)를 통해 보내진 각각의 세포핵 image는 comet image analyzing system (Kinetic image 4.0, UK)에 설치된 컴퓨터상에서 분석하였다. 임파구의 DNA 손상 정도는 핵으로부터 이동한 DNA 파편거리인 tail length (TL), % DNA in tail, 그리고 TL과 % DNA in tail을 곱한 값인 tail moment (TM) 등 세 가지 분석 지표로 살펴보았다. 각 대상자 당 3개의 슬라이드를 만들어 각각 50개씩 총 150개의 임파구에서 DNA 손상 정도를 측정하였으며 세 가지 분석지표의 값을 relative score로 계산 후 DNA 손상 감소 효과를 비교하였다. Relative score 계산 방법은 항산화 물질을 처리하지 않은 positive control (P) 즉, 100 µM H₂O₂만을 처리한 임파구의 DNA 손상 정도를 100으로 하고, negative control (N) 즉, H₂O₂를 처리하지 않은 임파구를 0으로 하여 각 샘플의 값을 계산하여 비교하였다.

자료의 통계 처리

모든 자료는 MS의 excel database system을 이용하여 입력한 후 statistical package for social science (SPSS-PC+, version 21.0)을 사용하여 처리하였다. 각 항목에 따라 평균 ± 표준오차 (mean ± SE)를 구하고 GST genotype 별 유의성 검증을 위해 Student's t-test 혹은 one-way 분산분석 (ANOVA)과 Duncan's multiple range test를 이용하였다. 모든 결과에 대하여 통계적 유의성 검증은 $\alpha = 0.05$ 수준으로 하였다.

결 과

한식 식물성 식품군의 GSTM1 및 GSTT1 유전자 다형성에 따른 DNA 손상 감소 효과

국민건강영양조사 1인 1일 섭취량 비율대로 혼합되어진 11종의 식품군 시료를 50 µg/ml 농도로 전 처리 한 후 Comet assay를 통해 DNA 손상 감소 효과를 GSTM1 wild type과 GSTM1 mutant type에 따라 살펴보았다. GSTM1

유전자 다형성에 따른 DNA 손상 감소 효과를 알아본 결과는 Fig. 1와 같다. % DNA in tail과 Tail length 본 DNA 손상 감소 효과를 볼 때 DNA 손상 감소 효과는 있었지만 GSTM1 genotype에 따른 유의한 차이는 나타나지 않았다 (Fig. 1(A), (C)). Tail moment로 살펴보았을 때, 곡류와 오일류에서만 GSTM1 wild type에 비해 mutant type에서 DNA 손상 감소 효과가 유의하게 높았고 다른 식품군에서는 genotype에 따른 유의한 차이를 보이지 않았다 (Fig. 1(B)).

GSTT1 wild type과 mutant type에 따른 대상자의 임파구 DNA 손상 감소 효과를 알아본 결과는 Fig. 2와 같다. % DNA in tail로 살펴보면, 감자류, 곡류, 오일류, Total을 제외하고 7가지 식품군에서 GSTT1 mutant type에 비해 wild type에서 DNA 손상 감소 효과가 유의하게 높았다 (Fig. 2(A)). Tail moment로 본 DNA 손상 감소 효과는 감자류, 곡류, 두류, 오일류, Total에서는 genotype에 따라 유의한 차이가 나타나지 않았으나 견과류, 과일류, 김치류, 버섯류, 채소류, 해조류에서 GSTT1 mutant type에 비해 wild type에서 DNA 손상 감소 효과가 높았으며 유의하게 나타났다 (Fig. 2(B)). 또한 Tail length로 본 DNA 손상 감소 효과는 감자류에서만 GSTT1 wild type에 비해 mutant type에서 유의하게 높게 나타났을 뿐 다른 식품군에서의 DNA 손상 감소 효과는 genotype에 따른 유의한 차이가 없었다 (Fig. 2(C)).

GSTM1과 GSTT1의 combined genotype에 따라 대상자를 4군으로 나누어 각 군별로 식물성 식품군의 DNA 손상 감소 효과를 비교한 결과는 Table 4와 같다. DNA 손상 감소 효과를 세 가지 지표로 살펴보았을 때 과일류, 김치류, 버섯류, 채소류, 해조류는 DNA 손상 감소 효과가 2군 (GSTM1+/GSTT1-) 및 4군 (GSTM1-/GSTT1-)에 비해 1군 (GSTM1+/GSTT1+) 및 3군 (GSTM1-/GSTT1+)에서 유의하게 높았다. 반면, 감자류, 견과류, 곡류, 두류, Total는 DNA 손상 감소 효과가 1군 (GSTM1+/GSTT1+) 및 4군 (GSTM1-/GSTT1-)에 비해 2군 (GSTM1+/GSTT1-) 및 3군 (GSTM1-/GSTT1+)에서 유의하게 높게 나타났으며 오일류는 3군 (GSTM1-/GSTT1+)에서 유의하게 높은 DNA 손상 감소 효과가 나타났다.

한식 식단의 GSTM1 및 GSTT1 유전자 다형성에 따른 DNA 손상 감소 효과

한식 식단은 1인 1회 섭취 분량의 비율에 맞게 7일의 식단을 모두 혼합 한 한식 혼합식단의 추출물을 임파구에 pre-treatment 방식으로 처리하여 DNA 손상 감소 효과를 알아본 결과 Fig. 3와 같다. GSTM1 genotype에서 보면,

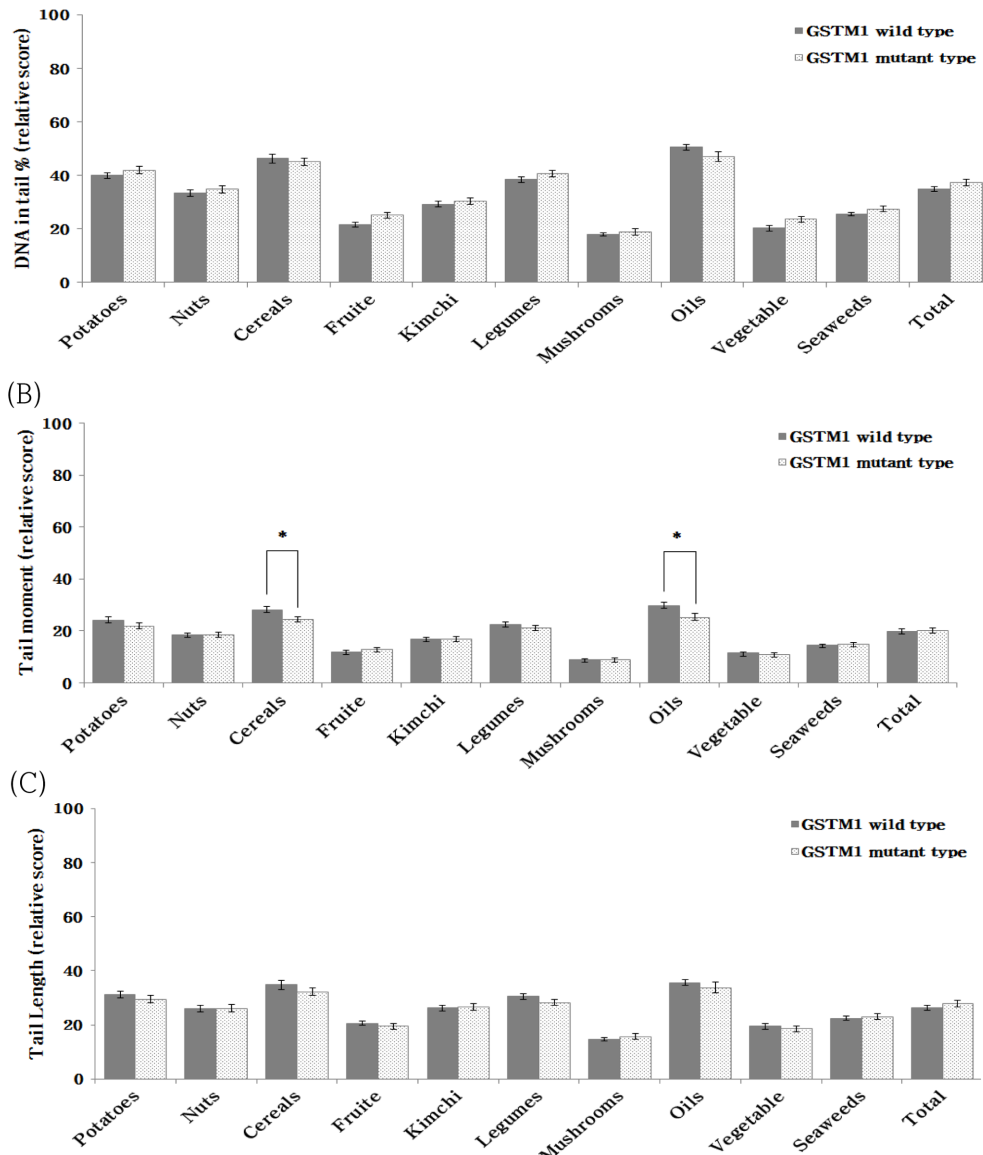


Fig. 1. Relative score of lymphocyte DNA damage of Korean plant food groups at 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ concentration according to the GSTM1 genotype. * $p < 0.05$, t-test. Total: mixture of 10 Korean plant food groups.

Tail moment와 Tail length로 본 DNA 손상 감소 효과는 GSTM1 genotype에 따른 차이를 보이지 않았지만 (Fig. 3(B), (C)), % DNA in tail로 본 DNA 손상 감소 효과는 GSTM1 mutant type에 비해 wild type에서 유의하게 높은 차이를 보였다 (Fig. 3(A)). 그러나 GSTT1 genotype을 살펴보면, DNA 손상 감소 효과는 GSTT1 genotype에 따라 세가지 지표 모두 유의한 차이를 보이지 않았다 (Fig. 4).

GSTM1과 GSTT1의 combined genotype에 따라 DNA 손상 감소 효과를 1군 (GSTM1+/GSTT1+), 2군 (GSTM1+/GSTT1-), 3군 (GSTM1-/GSTT1+), 4군 (GSTM1-/GSTT1-)으로 분류하여 살펴본 결과 Fig. 4와 같다. 한식 혼합식단

추출물에서 세 가지 지표 모두 4군 중 2군 (GSTM1+/GSTT1-)일 때 DNA 손상 감소 효과가 가장 높은 경향을 보였으나 유의한 차이는 없었다 (Fig. 4).

고 찰

본 연구에서 한식에서 주로 섭취하는 식물성 식품군 중 대부분의 식품군에서 GSTM1 유전자 다형성에 따른 DNA 손상 감소효과가 차이를 보이지 않았으나 곡류와 오일류의 DNA 손상 감소효과가 GSTM1 mutant type에서 wild type 보다 더 높게 나타났다. 사용한 식품류가 다르

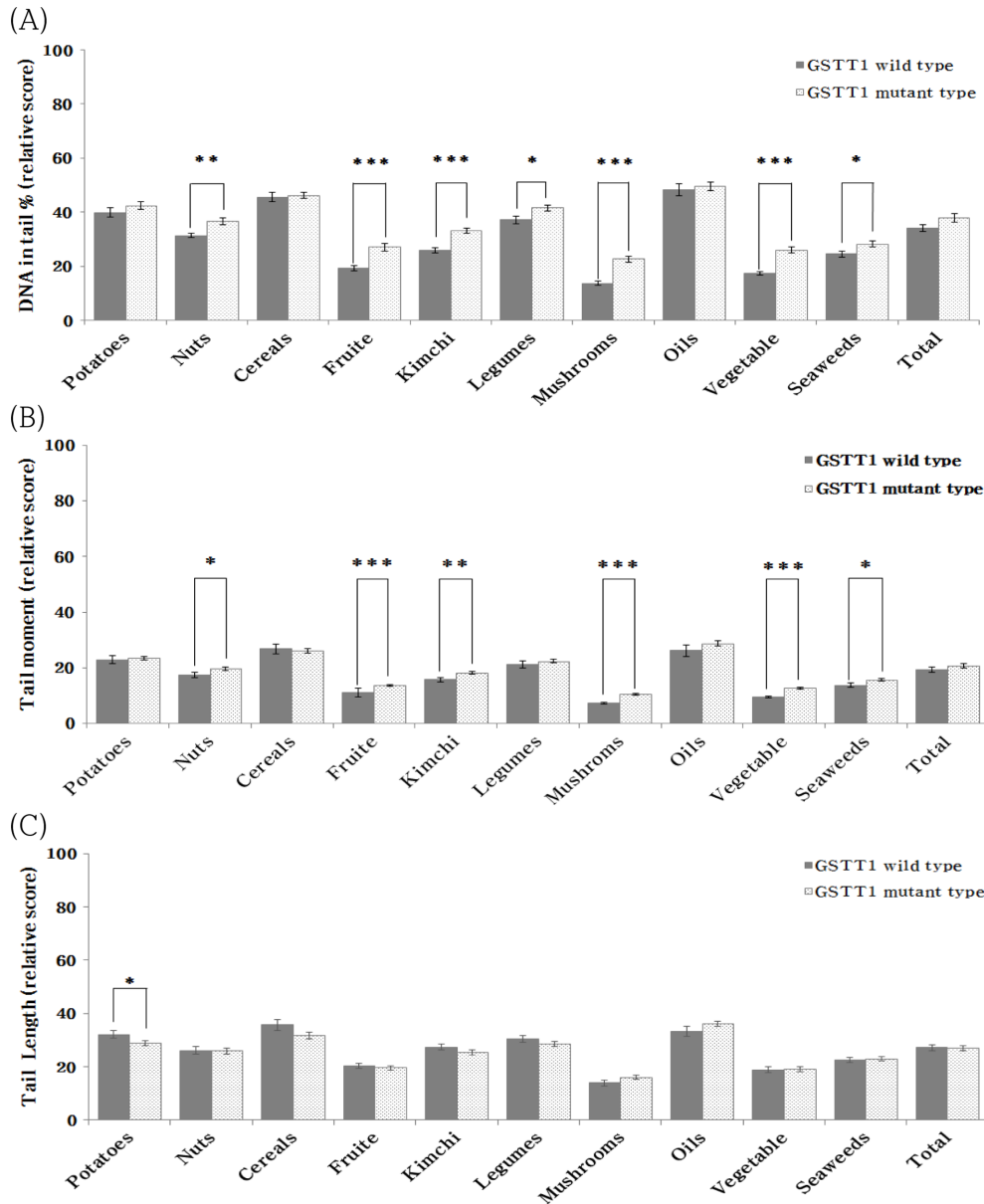


Fig. 2. Relative score of lymphocyte DNA damage of Korean plant food groups at 50 µg/ml concentration according to the GSTT1 genotype. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, t-test. Total: mixture of 10 Korean plant food groups.

긴 하지만, GSTM1의 경우 mutant type에서 DNA 손상 감소효과가 높게 나타난 결과가 몇몇 연구에서 보고되었다.^{15,26-29} Riso 등²⁶은 브로콜리를 섭취한 건강하고 젊은 흡연자의 DNA 복구력과 손상을 관찰한 결과, 브로콜리의 섭취에 따라 GSTM1 mutant type을 가진 대상자들에게서 wild type에 비해 DNA 손상 감소효과가 더 크게 나타남을 관찰하였다. 본 연구실에서 수행한 실험에서 8주간 건강한 성인에게 포도주스를 섭취시킨 후 GST 유전자 다형성에 따른 항산화 영양상태 변화를 관찰한 결과, 포도주스 섭취 후 GSTM1 mutant type 대상자에서 혈장 γ -tocopherol이

증가했으며 DNA 손상이 감소하였다.¹¹ Marotta 등²⁷은 72세~84세 남녀노인에게 발효된 파파야 조제물을 섭취시킨 결과, GSTM1 mutant type에서 8-OHdG와 DNA adduct가 감소함을 보고하였으며, Hofmann 등¹⁵은 물냉이 (watercress)를 건강한 성인에게 8주 동안 85 g을 보충 섭취시킨 결과, 항산화효소인 GPX (glutathione peroxidase)와 SOD (superoxide dismutase)의 발현효과가 GSTM1 mutant type에서만 나타남을 보고하였다. 위의 선행연구들에서 몇 가지 서로 다른 항산화 식품을 섭취한 후 GSTM1 mutant type을 가진 대상자들에게서 wild type에 비해 항산화능 개

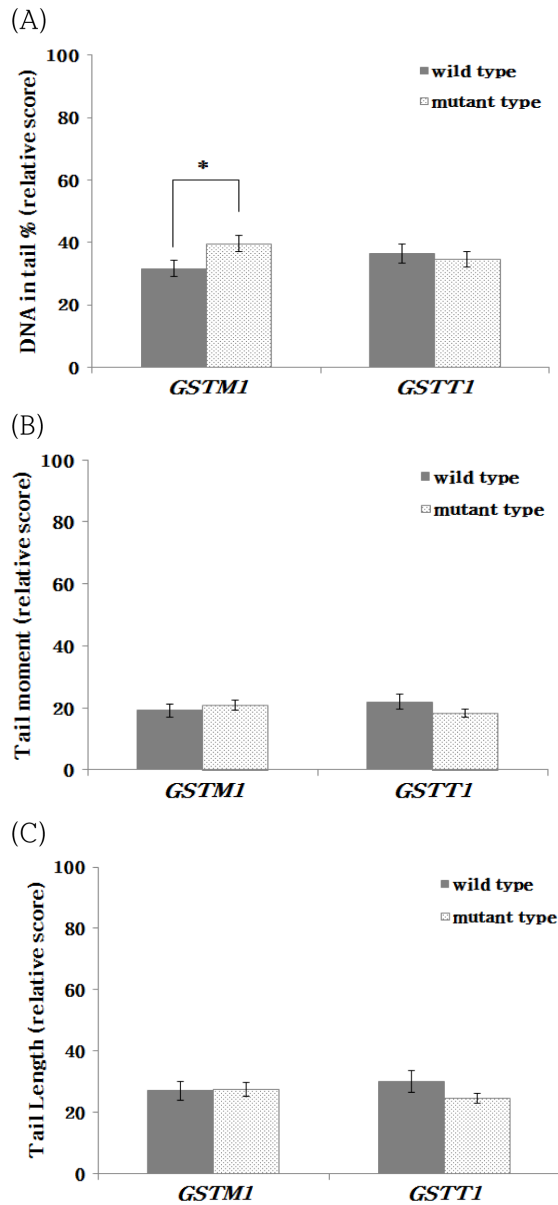


Fig. 3. Relative score of lymphocyte DNA damage of Korean diet at 250 μ g/ml concentration according to the GSTM1 and GSTT1 genotype. * $p < 0.05$, *** $p < 0.001$. NS: not significant, t-test

선효과 및 DNA 손상 감소효과가 더 뚜렷하게 나타난 결과에 대한 정확한 이유는 알 수 없지만 GSTM1 mutant type 대상자의 체내에서는 십자화과 채소 등에 풍부하게 들어있는 생체에 유용한 ITC (isothiocyanate) 또는 설포라판 등이 천천히 대사됨으로써 조직에 더 많은 ITC가 머물게 되고,¹⁵ 따라서 이들의 생체 이용률이 높아지기 때문이라는 설명이 가능하다.^{28,29} 또 GSTM1 genotype이 GST 계열의 다른 효소 활성화에 영향을 미칠 수 있으며, 살충제 노출 시 GSTM1 mutant type일 경우 신체의 자체 보호 이전에 의해 GSTM1이 결손되어 항산화능이 감소하는 것에

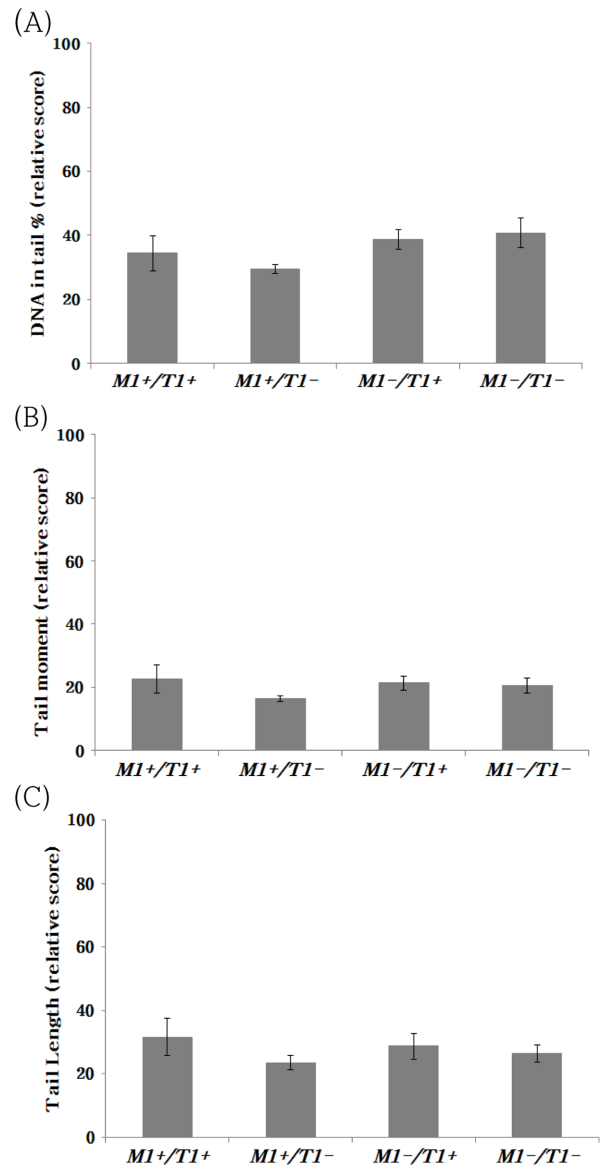


Fig. 4. The effect of Korean diet pre-treatment on H₂O₂-induced DNA damage in human lymphocytes, classified according to GST genotype. Different letters are significantly different among GST genotypes by Duncan's multiple range test.

대한 보상으로 다른 GST 유전자형인 GSTT1 type이 활성화됨이 보고되었다.³⁰ 본 연구에서 사용한 곡류, 오일류와 선행연구에서 사용한 식품들이 다르기는 하지만, 식물성 식품군 속 여러 항산화 물질들이 GSTM1 유전자 다형성에 따라 DNA 손상 보호 효과와 항산화 효소에 영향을 미칠 수 있을 것으로 생각된다. 한편, 이런 연구결과들과는 반대로 GSTM1 wild type에서 녹차 섭취의 DNA 손상 감소효과가 mutant type보다 더 크게 나타났다는 연구결과³¹가 있는가 하면, GST 유전자 다형성에 따른 관상동맥질환 환자의 산화 스트레스와 염증 마커와의 관계를 관찰한 연

Table 4. The effect of Korean plant food group pre-treatment on H₂O₂-induced DNA damages in human lymphocytes, classified according to GST genotype¹⁾

Food Groups	GST genotypes			
	Group 1 (N = 4) GSTM1+/ GSTT1+	Group 2 (N = 5) GSTM1+/ GSTT1-	Group 3 (N = 4) GSTM1- /GSTT1+	Group 4 (N = 4) GSTM1- / GSTT1-
Positive control (H ₂ O ₂) ²⁾	100	100	100	100
DNA in tail (%)				
Potatoes	41.8 ± 3.0 ^{ab3)}	39.7 ± 1.7 ^{ab}	38.1 ± 2.1 ^a	45.9 ± 2.0 ^b
Nuts	32.3 ± 1.3 ^a	34.2 ± 1.9 ^a	30.3 ± 1.1 ^a	39.4 ± 1.2 ^b
Cereals	47.3 ± 2.7 ^{NS4)}	45.7 ± 1.5	43.6 ± 2.2	46.6 ± 1.7
Fruits	17.9 ± 1.0 ^a	24.6 ± 1.9 ^b	20.5 ± 1.4 ^{ab}	30.0 ± 1.4 ^c
Kimchi	25.7 ± 1.2 ^a	32.1 ± 1.4 ^b	25.9 ± 1.7 ^a	34.6 ± 1.2 ^b
Legumes	38.4 ± 1.8 ^a	38.5 ± 1.4 ^a	36.0 ± 2.2 ^a	45.4 ± 1.2 ^{ab}
Mushroom	14.4 ± 1.1 ^a	20.8 ± 1.5 ^b	13.0 ± 1.0 ^a	24.8 ± 1.0 ^c
Oils	50.8 ± 3.3 ^{NS}	50.5 ± 2.5	45.9 ± 2.8	48.4 ± 1.9
Vegetables	15.8 ± 0.4 ^a	23.8 ± 1.6 ^b	18.8 ± 1.2 ^a	28.5 ± 1.1 ^c
Seaweeds	23.5 ± 1.2 ^a	27.2 ± 1.4 ^{ab}	25.5 ± 2.0 ^{ab}	29.4 ± 1.6 ^b
Total ⁵⁾	36.9 ± 1.3 ^a	33.6 ± 2.4 ^a	31.3 ± 2.1 ^a	43.3 ± 1.1 ^b
Tail moment (%)				
Potatoes	24.7 ± 1.9 ^{NS}	23.8 ± 1.2 ³⁾	20.8 ± 2.0	23.0 ± 0.8
Nuts	19.2 ± 1.0 ^{bc}	18.1 ± 0.8 ^{ab}	15.6 ± 1.4 ^a	21.5 ± 0.4 ^c
Cereals	30.5 ± 2.4 ^b	26.3 ± 1.4 ^{ab}	23.0 ± 2.4 ^a	25.6 ± 0.6 ^{ab}
Fruits	11.1 ± 0.5 ^a	12.7 ± 0.5 ^a	11.2 ± 1.0 ^{ab}	14.7 ± 0.4 ^b
Kimchi	16.4 ± 0.9 ^{ab}	17.5 ± 0.8 ^{ab}	15.0 ± 1.2 ^a	19.0 ± 1.4 ^b
Legumes	23.4 ± 1.7 ^b	21.9 ± 1.0 ^{ab}	19.0 ± 1.7 ^a	23.1 ± 0.8 ^b
Mushroom	8.3 ± 0.3 ^b	9.6 ± 0.4 ^b	6.3 ± 0.7 ^a	11.8 ± 0.3 ^c
Oils	28.8 ± 2.3 ^{ab}	30.3 ± 1.4 ^b	23.4 ± 3.2 ^a	26.7 ± 1.1 ^{ab}
Vegetables	10.1 ± 0.5 ^a	12.4 ± 0.4 ^b	9.0 ± 0.6 ^a	13.0 ± 0.3 ^b
Seaweeds	13.7 ± 0.8 ^a	15.1 ± 0.5 ^{ab}	13.7 ± 1.1 ^a	16.3 ± 0.4 ^b
Total	20.7 ± 1.3 ^{ab}	19.3 ± 0.9 ^{ab}	17.7 ± 1.6 ^a	22.5 ± 0.6 ^b
Tail length (%)				
Potatoes	35.0 ± 1.0 ^b	28.1 ± 1.4 ^a	29.4 ± 2.4 ^a	29.7 ± 1.4 ^a
Nuts	29.6 ± 1.5 ^b	23.0 ± 1.5 ^a	22.7 ± 2.1 ^a	29.6 ± 0.6 ^b
Cereals	40.7 ± 2.1 ^b	30.1 ± 1.9 ^a	30.7 ± 2.7 ^a	33.7 ± 0.9 ^a
Fruits	22.9 ± 1.3 ^b	18.7 ± 0.8 ^a	17.9 ± 1.0 ^a	20.9 ± 1.5 ^{ab}
Kimchi	29.9 ± 0.7 ^c	23.2 ± 1.3 ^a	25.0 ± 1.9 ^{ab}	28.2 ± 1.2 ^{bc}
Legumes	34.3 ± 1.0 ^b	27.4 ± 1.2 ^a	26.6 ± 1.7 ^a	29.9 ± 1.4 ^a
Mushroom	15.4 ± 1.2 ^a	13.8 ± 0.4 ^a	12.4 ± 1.4 ^a	19.0 ± 1.2 ^b
Oils	36.1 ± 1.3 ^{ab}	35.2 ± 1.6 ^{ab}	30.3 ± 3.5 ^a	37.3 ± 0.9 ^b
Vegetables	21.7 ± 1.4 ^b	17.6 ± 1.2 ^a	15.9 ± 1.2 ^a	21.2 ± 1.2 ^b
Seaweeds	23.9 ± 1.2 ^{ab}	21.2 ± 0.8 ^a	21.0 ± 1.5 ^a	25.0 ± 1.1 ^b
Total	28.1 ± 1.5 ^{ab}	24.8 ± 1.0 ^a	26.2 ± 1.9 ^{ab}	29.6 ± 1.4 ^b

1) All values are Relative score (%) for positive control (means ± SE) 2) Positive control (H₂O₂): The maximum amount of DNA damage 3) Different letters are significantly different among GST genotypes by Duncan's multiple range test. 4) NS: not significant 5) Total : mixture of 10 Korean plant food groups

구에서, 혈장 GSH 수준은 GSTM1 genotype 따라 차이를 보이지 않았다고 연구결과³²⁾도 보고되었다. 이렇게 연구자에 따라 서로 다른 결과가 보고되는 것은 식품이 단일 성분으로 구성되어 있지 않고 복합적인 성분이기 때문일 것이다. 이러한 문제에 대해 어떤 결론을 도출하기 위해서는 앞으로 이 부분에 관해 더욱 상세하고 심화된 연구가 수행되

어야 하리라고 본다.

GSTT1 유전자 다형성에 따른 한식 식물성 식품군의 DNA 손상 감소효과는 GSTM1과는 반대로 식물성 식품 중 과일류, 채소류, 버섯류, 김치류, 견과류, 해조류 등 거의 모든 식물성 식품군에서 큰 차이를 보였으며, GSTT1 mutant type보다 wild type에서 DNA 손상 감소효과가 더

높게 나타났다. 이러한 결과는 선행 연구보고들³¹⁻³⁴과 잘 일치한다. Wilms 등³³은 성인에게 4주간 블루베리와 사과 주스를 섭취시킨 결과, GSTT1 wild type에서 mutant type보다 DNA 손상 보호효과가 더 크게 나타났음을 보고하였으며, 그 이유로 GSTT1이 결손되면 산화와 항산화의 균형이 pro-oxidant 쪽으로 치우쳐 폴리페놀의 산화가 촉진되어 블루베리와 사과주스 같은 항산화 식품을 투여하였을 때 GSTT1 mutant type에서는 투여한 항산화제의 효과가 덜 나타나기 때문이라고 설명하였다.³³ GSTT1 wild type에 quercetin과 vitamin C나 녹차 등을 처리하거나 투여할 경우, GST 등을 포함한 UGT, NQO1과 같은 phase II 효소가 잘 유도되며 H₂O₂에 의해 일어나는 산화가 감소되기 때문인 것으로 보인다.^{29,32,33} 이렇게 몇 가지 가설이 제시되고 있긴 하지만, 특정 식품의 섭취가 GSTM1 genotype에서는 mutant type에서, GSTT1 genotype에서는 거꾸로 wild type에서 항산화 효과와 DNA 손상 감소효과에 유의한 영향을 주는 작용 기전이 현재까지 정확하게 밝혀지지는 않고 있다. 다만 본 연구를 통해 한식에서 주로 섭취하는 식물성 식품군 속 여러 항산화 물질들이 GSTM1과 GSTT1 유전자 다형성에 따라 DNA 손상 보호 효과와 항산화 활성에 서로 다른 영향을 미친다는 것은 확인할 수 있었으며, 앞으로 식품군별로 GST 유전자 다형성에 따른 이러한 효과의 정확한 기전을 밝힐 더 치밀하고 깊은 연구가 필요할 것으로 보인다.

GSTM1과 GSTT1 중에서 어느 genotype이 각 식품군에 미치는 영향이 큰지를 알아보기 위해 GSTM1과 GSTT1의 combined genotype을 네 그룹으로 나누고 한식 식물성 식품군의 DNA 손상 감소효과를 비교해 보았을 때, GSTM1이 모두 wild type인 1군과 2군보다 GSTT1이 모두 wild type인 1군과 3군에서 DNA 손상 보호효과가 크게 나타난 식품군이 더 많았던 것으로 보아 GSTM1 mutant type보다는 GSTT1 wild type의 영향력이 더 크다는 해석이 가능할 것이다. GST 유전자 다형성과 isothiocyanate (ITC)가 풍부하게 함유되어 있는 양배추, 브로콜리 등의 십자화과 채소 섭취와의 관련성을 본 연구에서 소변 중 ITC 수준과 십자화과 채소섭취와의 관련성이 GSTM1 type에 따라서는 유의하게 달라지지 않았으나, GSTT1에서는 wild type에서 더 높은 관련성을 나타내어 GSTT1 wild type에서 ITC가 더 활성화되는 것으로 생각된다.³⁶ ITC는 phytochemical인 glucosinolate가 장내로 흡수되면서 장내 미생물에 의해 형성되는 물질로써 세포사멸을 유도하며,¹⁵ 세포성장을 억제하여 강력한 항암작용을 한다.³⁷ 또한 ITC는 개시단계에서 phase I 효소를 억제하고 phase II 효소를 활성화 시키는데 영향을 미친다.³⁸ 본 연구에서

사용한 채소류에는 십자화과 채소인 배추, 무, 양배추가 포함되어 있으며, 김치류에 속하는 여러 김치의 주재료 또한 대부분 십자화과 채소들이므로 위에서 언급한 여러 선행 연구는 본 연구에서 과일류, 버섯류, 채소류, 해조류를 처리하였을 때 GSTT1 wild type에서 DNA 손상 감소효과가 높았던 이유를 뒷받침해 주는 연구들이라고 볼 수 있다. 그러나 십자화과 채소 외에도 채소류와 김치류 외에 과일류와 버섯류 해조류의 경우에도 ITC를 비롯한 다른 유효 성분들이 DNA 손상 감소효과 증가에 영향을 미쳤을 것으로 보이며, 본 연구에서 다른 각 식품군에 들어있는 항산화물질이 무엇인가에 따라 GST 유전자 다형성에 미치는 유전적인 민감도가 서로 다를 것이므로 이 부분에 대해서는 앞으로 더욱 깊은 기전 연구가 필요할 것이다.

한편 본 연구에서 4가지 type에 따른 DNA 손상 감소효과가 식품군 및 DNA 손상 정도를 측정하는 지표에 따라 다르게 나타나 어떠한 결론을 내리기는 어려웠으나, DNA 손상 지표 중 DNA in tail(%) 지표로 보았을 때 과일류, 김치류, 버섯류, 채소류, 해조류의 DNA 손상 감소효과가 both wild type인 1군에서 더 높았다는 결과도 주목할 만하다. Yuan 등³⁹은 건강한 성인에게 2주간 과일과 채소를 섭취시킨 후 GSTM1과 GSTT1 유전자 다형성에 따라 항산화능에 미치는 영향을 살펴본 결과, both mutant type에 비해 both wild type에서 적혈구 catalase, 적혈구 GR (glutathione reductase), GST (glutathione S-transferase) 활성이 증가함을 밝혔으며 이와 같은 결과는 본 연구 결과와 일치한다. 또 Wilms 등³⁴도 vitamin C를 인체 임파구 세포에 처리하였을 때 GSTM1, GSTT1 both mutant type에서 오히려 DNA가 더 손상됨을 관찰하여 본 연구를 뒷받침 하였다. 그러나 GSTM1과 GSTT1 유전자 다형성에 따른 ITC 섭취와 폐암 발병위험을 연구한 Zhao 등⁴⁰의 연구에서는 ITC가 풍부한 식사를 할 경우 폐암 발병률이 both wild type보다 both mutant type에서 더 낮아 both mutant type이 더 유리함을 관찰하여 본 연구결과와는 반대의 결과도 보고되었으며 이는 아마도 mutant type에 대한 신체 보상의 결과라고 생각된다.³⁰ 따라서 본 연구에서 몇몇 식품군을 처리하였을 때 both wild type인 1군과 함께 2군 (GSTM1+/GSTT1-) 및 3군 (GSTM1-/GSTT1+)에서도 DNA 손상 보호효과가 높게 나타남은 GSTM1 또는 GSTT1의 mutant type의 영향을 부분적으로 받아 보상 작용이 일어나므로써 DNA 손상 감소효과에 차이가 나타난 것으로 보인다. 그러나 다른 한편으로 GSTM1 및 GSTT1 both mutant type인 4군에서 모든 식품군의 DNA 손상 보호효과가 가장 적게 나타난 것으로 보아, 두가지 효소가 모두 결손 되었을 때는 이와 같은 신체 보호 기전에 따른 보상효

과가 나타나지 않을지도 모른다는 추측이 가능하다. 앞으로 이 부분에 대해서는 더욱 깊은 연구가 필요하다.

한식 식단의 경우, 식물성 식품군 결과와는 반대로 GSTM1 wild type에서 mutant type에 비해 DNA 손상 보호효과가 높게 나타났는데 이는 식품이 단일 성분으로 구성되어 있지 않고 복합적인 성분으로 구성되어 있으므로 연구에 사용하는 식품이 무엇인가에 따라 체내 대사가 달라지기 때문일 것이다. 한식 식단은 여러 식품들을 섞어서 식단으로 구성한 것이어서 한식을 구성하는 각 식물성 식품에 비해 한식 식사 패턴을 더 잘 나타내준다고 볼 수 있다. Lampe 등¹⁶은 GSTM1 wild type과 mutant type에 따른 채식식단 중재연구에서 미나리과와 배추과 식품이 많이 포함된 식단을 섭취한 대상자의 GST-mu 활성을 측정한 결과, GSTM1 wild type에서 각각 18%, 26% 증가함을 보고하면서, 그 이유로 GSTM1 결손은 채소에 많이 들어있는 ITC를 배설시키므로 GST-mu 활성에 차이가 나타난 것으로 보고하여 본 연구결과를 뒷받침 하였다. 식품도 단일 성분으로 구성되어 있지 않고 복합적인 성분일 뿐 아니라 그런 식품들로 구성된 식단은 더욱 복합적인 조성을 가지게 되므로 단일 결론을 내기는 쉽지 않다. 이러한 문제에 대해 어떤 결론을 도출하기 위해서는 앞으로 더욱 통합적이고 광범위한 연구가 수행되어야 하리라고 본다.

한식 식단에 대해 GSTM1과 GSTT1 combined genotype 네 그룹의 DNA 손상 감소효과를 비교한 결과 유의한 차이가 나타나지 않았다. 이와 같은 결과는 아마도 한식을 구성하는 각 식품군 추출물에 비해 한식 식단 추출물은 총체적으로 여러 식품이 훨씬 더 다양하게 포함되어 있으므로 GST genotype에 대해 어떤 특이한 반응을 보이지 않는 것으로 보인다. 그 동안 이와 관련된 연구로는 한식 식단을 구성하는 각 식물성 식품군의 *in vitro* 총 항산화능을 측정한 연구,¹⁵ 그리고 한식 식물성 식품군의 *in vitro* 총 항산화능 (TDAC)과 *ex vivo* DNA 손상 보호효과와의 관련성 연구⁶ 등 한식 식단 혹은 한식을 구성하는 각 식품군의 항산화 우수성을 여러 가지 측면에서 밝힌 선행연구들이 진행되어 왔다. Schroeder 등⁴¹은 심혈관계 질환 위험 요인인 과체중, 비만인 성인을 대상으로 한 Dietary Guidelines for Americans (DGA)와 한식 식사의 식사패턴 효과를 비교한 영양중재연구에서 4주간 DGA와 한식 식사 섭취 후 대상자의 total cholesterol 및 LDL 수준이 감소함으로써 심혈관 질환의 위험 요인에 긍정적인 변화가 나타났음을 보고하였다.

현재까지 한 나라의 고유한 식사패턴과 항산화능의 관련성을 본 연구는 많지 않으며 주로 지중해식 식사패턴에 대한 연구가 가장 많다. 한식 식사와 식물성 식품과 동물성

식품의 비율이 비슷한 지중해식 식사는 대표적인 건강식사로 알려져 있다. 스페인 지중해식 식사는 커피와 와인 등 음료는 총 항산화능의 68%를 기여하고 과일류와 채소류가 20%정도 총 항산화능에 기여한다는 연구가 있으며,¹⁴ 지중해식 식사가 NEAC (non enzymatic antioxidant capacity)에 미치는 영향을 관찰한 Zamora-Ros 등⁴²의 연구에서 심혈관계 위험 요인을 가진 50~80세 대상자에게 1년간 영양중재연구 후 인체 항산화 활성을 측정한 결과 혈장 NEAC 수준이 증가하였다. 또한 지중해식 식사가 심혈관계 질환을 예방할 수 있는지를 알아 본 Estruch 등⁴³은 지중해식 식사에 엑스트라 버진 올리브 오일과 견과류를 보충한 식사가 심혈관계 질환을 예방하는데 도움이 된다고 밝혔다. Chung 등⁴⁴은 식사패턴과 아토피피부염, GSTM1 및 GSTT1 유전자 다형성과의 관계를 살핀 결과 전통적인 한식 식사패턴을 가진 어린이들 중 GSTM1 wild type이거나 혹은 GSTT1 wild type인 어린이들에게서 아토피 피부염 발병이 낮음을 보고하였다. 그 외에도 과일주스와 채소의 섭취가 많은 식사를 하는 건강한 성인에게서 GSTM1, GSTT1 both wild type에서 적혈구 GST 활성과 항산화능 바이오마커 수준이 유의적으로 증가함도 보고되었다.³⁰

요약하면, 한식에서 주로 섭취하는 식물성 식품군에서는 식품에 따라 부분적으로 GSTM1은 mutant type에서, GSTT1은 wild type에서 DNA 손상 보호효과가 더 크게 나타났으며, GSTM1과 GSTT1의 combined genotype에 따른 DNA 손상 보호효과는 식품군에 따라 다르게 나타났다. 반면, 한식 식단에서는 DNA 손상 보호효과가 GSTM1 wild type에서 mutant type보다 더 크게 나타났으며, GSTT1 genotype에는 영향을 받지 않는 것으로 나타났다. 이와 같은 결과는 한식 식물성 식품군 및 식사패턴의 항산화 기능 우수성을 증명하는 기초자료가 될 것이며, 나아가 개인별 유전자에 따른 항산화 맞춤형영양연구를 시작하는 시발점이 될 수 있을 것이다. 앞으로 GST 유전자 다형성에 따른 한식과 한식에서 주로 섭취하는 식물성 식품군의 유전적 민감도를 더 명확하게 규명하기 위해서는 대상 인원을 늘려 수행하는 광범위한 연구가 필요할 것으로 보인다.

본 연구의 첫 번째 제한점으로는 *ex vivo* 연구를 위한 채혈대상자 수가 부족하여 각 GST 유전자 다형성별로 충분한 인체대상자를 확보하지 못하였다는 점을 들 수 있다. 본 연구에서 각 유전자 다형성별로 모두 27명의 대상자가 참여하였으며, 4군으로 나누면 각 군당 4명 혹은 5명의 대상자가 참여하였는데, 적어도 각 군당 10명 이상의 대상자를 모집하였으면 더욱 신뢰할만한 데이터를 얻을 수 있었을 것이다. 그러나 실제로 DNA 손상을 측정하기 위한 comet assay를 수행하기 위해서는 각 대상자별로 식품군 하나당

150개 이상의 임파구를 현미경으로 관찰하여야 하고, 여기에 각 식품군 추출물 샘플이 10개 이상이 되므로 현실적으로 실험을 해야 하는 양이 너무 많은 것도 대상자 수를 늘리기 어려운 하나의 원인이 되었다. 두 번째 제한점으로는 한식에서 주로 섭취하는 식물성 식품군들의 DNA 손상 감소효과를 보이는 기전 중 하나로 ITC의 함량이 제시되고 있으나 본 실험에서 ITC 성분 함량을 측정하지 못한 점이다. 세 번째 제한점으로는 한식 식단의 경우 조금 더 다양한 식단, 혹은 일주일 이상 좀 더 장기간의 식단을 수집하여 실험을 진행하지 못한 점이다. 앞으로 이런 점들을 고려한 다양하고 깊은 장기 연구가 진행되어야 할 것이다.

요 약

본 연구는 건강한 성인 남녀를 대상으로 glutathione S-transferase (GST)M1 및 T1 유전자 다형성에 따라 한식에서 주로 섭취하는 식물성 식품군과 한식 식단의 DNA 손상 감소효과를 측정하여 유전적 민감도가 어떻게 나타나는지를 알아보기 위해 수행되었다. 이를 위하여 건강한 성인 남녀 59명을 대상으로 혈액을 채취하여 GST genotype을 분류하였으며 그 중 17명을 선발하여 DNA 손상 감소효과를 Comet assay를 이용하여 측정하였고 DNA damage relative score로 나타냈다. 제 5기 2차년도 국민건강영양조사를 활용하여 한국인이 많이 섭취하는 식물성 식품을 10가지 식품군 (감자류, 견과류, 곡류, 과일류, 김치류, 두류, 버섯류, 오일류, 채소류, 해조류)으로 분류 후, 각 식품군별 총 섭취량의 1% 이상을 섭취한 84종의 식품을 한식 식물성 식품으로 최종 선정하였으며 한식 식단 (Korean diet)은 한국영양학회에서 발행한 [2010 한국인 영양섭취 기준]에 제시되어 있는 1주일 표준식단 (2,000 kcal/day)을 사용하였다. GSTM1 유전자 다형성에 따른 한식 식물성 식품군의 Tail moment로 본 DNA 손상 감소효과는 곡류와 오일류에서만 GSTM1 wild type보다 mutant type에서 유의하게 높았다. 이에 비해 DNA 손상 감소 효과를 % DNA in tail과 Tail moment로 본 결과, 견과류 과일류 채소류 버섯류 김치류 해조류에서 GSTT1 mutant type에 비해 wild type에서 유의하게 더 높게 나타났다. GSTM1과 GSTT1의 combined genotype에 따라 한식 식물성 식품의 DNA 손상 감소효과를 본 결과, 과일류, 김치류, 버섯류, 채소류, 해조류는 1군 (GSTM1+/GSTT1+) 및 3군 (GSTM1-/GSTT1+)에서, 오일류는 3군 (GSTM1-/GSTT1+)에서 DNA 손상 감소 효과가 유의하게 높았으며, 감자류, 견과류, 곡류, 두류, Total은 DNA 손상 감소 효과가 2군 (GSTM1+/GSTT1-) 및 3군 (GSTM1-/GSTT1+)에서 유의하게 높아 식품군에 따라

GST 유전자 다형성에 따른 DNA 손상 감소효과가 다르게 나타나는 것을 확인할 수 있었다.

한식 식단은 DNA 손상의 세 가지 지표인 % DNA in tail, Tail moment, Tail length로 측정해본 결과 GSTM1의 경우 wild type에서 mutant type보다 더 크게 나타났으며, GSTT1의 경우는 genotype에 따라 DNA 손상이 달라지는 경향은 있었지만 유의한 차이를 나타내지 않았다.

결론적으로 한식에서 주로 섭취하는 식물성 식품군에서 식품에 따라 부분적으로 GSTM1은 mutant type에서, GSTT1은 wild type에서 DNA 손상 보호효과가 더 크게 나타났으며, GSTM1과 GSTT1의 combined genotype에 따른 DNA 손상 보호효과는 식품군에 따라 다르게 나타났다. 반면, 한식 식단에서는 DNA 손상 보호효과가 GSTM1 wild type에서 mutant type보다 더 크게 나타났으며, GSTT1 genotype에는 영향을 받지 않는 것으로 나타났다. 이와 같은 결과는 한식 식물성 식품군 및 식사패턴의 항산화 기능 우수성을 증명하는 기초자료가 될 것이며, 나아가 개인별 유전자에 따른 항산화 맞춤형영양연구를 시작하는 시발점이 될 수 있을 것이다. 앞으로 GST 유전자 다형성에 따른 한식과 한식 식물성 식품군의 유전적 민감도를 더 명확하게 규명하기 위해서는 대상 인원을 늘려 수행하는 광범위한 연구가 필요할 것으로 보인다.

References

1. Ministry of Health and Welfare, Korea Centers for Disease Control and Prevention. Korea Health Statistics 2015: Korea National Health and Nutrition Examination Survey (KNHANES VI-3). Sejong: Korea Centers for Disease Control and Prevention; 2016.
2. Lee HS, Cho YH, Park J, Shin HR, Sung MK. Dietary intake of phytonutrients in relation to fruit and vegetable consumption in Korea. *J Acad Nutr Diet* 2013; 113(9): 1194-1199.
3. Lee JY. A study on planning the policy for the globalization of Korean food [dissertation]. Seoul: Chung-Ang University; 2009.
4. Omenn GS, Goodman GE, Thornquist MD, Balmes J, Cullen MR, Glass A, Keogh JP, Meyskens FL Jr, Valanis B, Williams JH Jr, Barnhart S, Cherniack MG, Brodtkin CA, Hammar S. Risk factors for lung cancer and for intervention effects in CARET, the Beta-Carotene and Retinol Efficacy Trial. *J Natl Cancer Inst* 1996; 88(21): 1550-1559.
5. Park CH, Kim KH, Yook HS. Comparison of antioxidant and antimicrobial activities of bracken (*Pteridium aquilinum* Kuhn) according to cooking methods. *Korean J Food Nutr* 2014; 27(3): 348-357.
6. Lee MY, Han JH, Kang MH. Protective effect of Korean diet food groups on lymphocyte DNA damage and contribution of each food group to total dietary antioxidant capacity (TDAC). *J Nutr Health* 2016; 49(5): 277-287.
7. Lee MY, Kim HA, Kang MH. Comparison of lymphocyte DNA damage levels and total antioxidant capacity in Korean and Amer-

- ican diet. *Nutr Res Pract* 2017; 11(1): 33.
8. Park YK, Park E, Kim JS, Kang MH. Daily grape juice consumption reduces oxidative DNA damage and plasma free radical levels in healthy Koreans. *Mutat Res* 2003; 529(1-2): 77-86.
9. Pool-Zobel BL, Bub A, Müller H, Wollowski I, Rechkemmer G. Consumption of vegetables reduces genetic damage in humans: first results of a human intervention trial with carotenoid-rich foods. *Carcinogenesis* 1997; 18(9): 1847-1850.
10. Sinha R, Caporaso N. Diet, genetic susceptibility and human cancer etiology. *J Nutr* 1999; 129(2S Suppl): 556S-559S.
11. Cho MR, Han JH, Lee HJ, Park YK, Kang MH. Purple grape juice supplementation in smokers and antioxidant status according to different types of GST polymorphisms. *J Clin Biochem Nutr* 2015; 56(1): 49-56.
12. Cho HJ, Lee SY, Ki CS, Kim JW. GSTM1, GSTT1 and GSTP1 polymorphisms in the Korean population. *J Korean Med Sci* 2005; 20(6): 1089-1092.
13. Rebbeck TR. Molecular epidemiology of the human glutathione S-transferase genotypes GSTM1 and GSTT1 in cancer susceptibility. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1997; 6(9): 733-743.
14. Saura-Calixto F, Goñi I. Antioxidant capacity of the Spanish Mediterranean diet. *Food Chem* 2006; 94(3): 442-447.
15. Han JH, Lee HJ, Cho MR, Chang N, Kim Y, Oh SY, Kang MH. Total antioxidant capacity of the Korean diet. *Nutr Res Pract* 2014; 8(2): 183-191.
16. Hofmann T, Kuhnert A, Schubert A, Gill C, Rowland IR, Pool-Zobel BL, Glei M. Modulation of detoxification enzymes by watercress: in vitro and in vivo investigations in human peripheral blood cells. *Eur J Nutr* 2009; 48(8): 483-491.
17. Lampe JW, Chen C, Li S, Prunty J, Grate MT, Meehan DE, Barale KV, Dightman DA, Feng Z, Potter JD. Modulation of human glutathione S-transferases by botanically defined vegetable diets. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2000; 9(8): 787-793.
18. Kim SJ, Kim MG, Kim KS, Song JS, Yim SV, Chung JH. Impact of glutathione S-transferase M1 and T1 gene polymorphisms on the smoking-related coronary artery disease. *J Korean Med Sci* 2008; 23(3): 365-372.
19. Yu Y, Song Y. Three clustering patterns among metabolic syndrome risk factors and their associations with dietary factors in Korean adolescents: based on the Korea National Health and Nutrition Examination Survey of 2007-2010. *Nutr Res Pract* 2015; 9(2): 199-206.
20. Woo HD, Shin A, Kim J. Dietary patterns of Korean adults and the prevalence of metabolic syndrome: a cross-sectional study. *PLoS One* 2014; 9(11): e111593.
21. The Korean Nutrition Society. Dietary reference intakes for Koreans. 1st rev. ed. Seoul: The Korean Nutrition Society; 2010.
22. Lee SG, Oh SC, Jang JS. Antioxidant activities of citrus unshiu extracts obtained from different solvents. *Korean J Food Nutr* 2015; 28(3): 458-464.
23. Pemble S, Schroeder KR, Spencer SR, Meyer DJ, Hallier E, Bolt HM, Ketterer B, Taylor JB. Human glutathione S-transferase theta (GSTT1): cDNA cloning and the characterization of a genetic polymorphism. *Biochem J* 1994; 300(Pt 1): 271-276.
24. Bell DA, Taylor JA, Paulson DF, Robertson CN, Mohler JL, Lucier GW. Genetic risk and carcinogen exposure: a common inherited defect of the carcinogen-metabolism gene glutathione S-transferase M1 (GSTM1) that increases susceptibility to bladder cancer. *J Natl Cancer Inst* 1993; 85(14): 1159-1164.
25. Singh NP, McCoy MT, Tice RR, Schneider EL. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Exp Cell Res* 1988; 175(1): 184-191.
26. Riso P, Martini D, Møller P, Loft S, Bonacina G, Moro M, Porrini M. DNA damage and repair activity after broccoli intake in young healthy smokers. *Mutagenesis* 2010; 25(6): 595-602.
27. Marotta F, Weksler M, Naito Y, Yoshida C, Yoshioka M, Marandola P. Nutraceutical supplementation: effect of a fermented papaya preparation on redox status and DNA damage in healthy elderly individuals and relationship with GSTM1 genotype: a randomized, placebo-controlled, cross-over study. *Ann N Y Acad Sci* 2006; 1067(1): 400-407.
28. Gasper AV, Al-Janobi A, Smith JA, Bacon JR, Fortun P, Atherton C, Taylor MA, Hawkey CJ, Barrett DA, Mithen RF. Glutathione S-transferase M1 polymorphism and metabolism of sulforaphane from standard and high-glucosinolate broccoli. *Am J Clin Nutr* 2005; 82(6): 1283-1291.
29. Lampe JW. Interindividual differences in response to plant-based diets: implications for cancer risk. *Am J Clin Nutr* 2009; 89(5): 1553S-1557S.
30. Yuan L, Ma W, Liu J, Meng L, Liu J, Li S, Han J, Liu Q, Feng L, Wang C, Xiao R. Effects of GSTM1/GSTT1 gene polymorphism and fruit & vegetable consumption on antioxidant biomarkers and cognitive function in the elderly: a community based cross-sectional study. *PLoS One* 2014; 9(11): e113588.
31. Hakim IA, Harris RB, Chow HH, Dean M, Brown S, Ali IU. Effect of a 4-month tea intervention on oxidative DNA damage among heavy smokers: role of glutathione S-transferase genotypes. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2004; 13(2): 242-249.
32. Tang JJ, Wang MW, Jia EZ, Yan JJ, Wang QM, Zhu J, Yang ZJ, Lu X, Wang LS. The common variant in the GSTM1 and GSTT1 genes is related to markers of oxidative stress and inflammation in patients with coronary artery disease: a case-only study. *Mol Biol Rep* 2010; 37(1): 405-410.
33. Wilms LC, Boots AW, de Boer VC, Maas LM, Pachén DM, Gottschalk RW, Ketelslegers HB, Godschalk RW, Haenen GR, van Schooten FJ, Kleinjans JC. Impact of multiple genetic polymorphisms on effects of a 4-week blueberry juice intervention on ex vivo induced lymphocytic DNA damage in human volunteers. *Carcinogenesis* 2007; 28(8): 1800-1806.
34. Wilms LC, Claughton TA, de Kok TM, Kleinjans JC. GSTM1 and GSTT1 polymorphism influences protection against induced oxidative DNA damage by quercetin and ascorbic acid in human lymphocytes in vitro. *Food Chem Toxicol* 2007; 45(12): 2592-2596.
35. Valerio LG Jr, Kepa JK, Pickwell GV, Quattrocchi LC. Induction of human NAD(P)H:quinone oxidoreductase (NQO1) gene expression by the flavonol quercetin. *Toxicol Lett* 2001; 119(1): 49-57.
36. Seow A, Shi CY, Chung FL, Jiao D, Hankin JH, Lee HP, Coetzee GA, Yu MC. Urinary total isothiocyanate (ITC) in a population-based sample of middle-aged and older Chinese in Singapore: relationship with dietary total ITC and glutathione S-transferase M1/T1/P1 genotypes. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1998; 7(9): 775-781.
37. Visanji JM, Duthie SJ, Pirie L, Thompson DG, Padfield PJ. Dietary isothiocyanates inhibit Caco-2 cell proliferation and induce G2/M

- phase cell cycle arrest, DNA damage, and G2/M checkpoint activation. *J Nutr* 2004; 134(11): 3121-3126.
38. Pool-Zobel B, Veeriah S, Böhmer FD. Modulation of xenobiotic metabolising enzymes by anticarcinogens -- focus on glutathione S-transferases and their role as targets of dietary chemoprevention in colorectal carcinogenesis. *Mutat Res* 2005; 591(1-2): 74-92.
39. Yuan L, Zhang L, Ma W, Zhou X, Ji J, Li N, Xiao R. Glutathione S-transferase M1 and T1 gene polymorphisms with consumption of high fruit-juice and vegetable diet affect antioxidant capacity in healthy adults. *Nutrition* 2013; 29(7-8): 965-971.
40. Zhao B, Seow A, Lee EJ, Poh WT, Teh M, Eng P, Wang YT, Tan WC, Yu MC, Lee HP. Dietary isothiocyanates, glutathione S-transferase -M1, -T1 polymorphisms and lung cancer risk among Chinese women in Singapore. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001; 10(10): 1063-1067.
41. Schroeder N, Park YH, Kang MS, Kim Y, Ha GK, Kim HR, Yates AA, Caballero B. A randomized trial on the effects of 2010 Dietary Guidelines for Americans and Korean diet patterns on cardiovascular risk factors in overweight and obese adults. *J Acad Nutr Diet* 2015; 115(7): 1083-1092.
42. Zamora-Ros R, Serafini M, Estruch R, Lamuela-Raventós RM, Martínez-González MA, Salas-Salvadó J, Fiol M, Lapetra J, Arós F, Covas MI, Andres-Lacueva C; PREDIMED Study Investigators. Mediterranean diet and non enzymatic antioxidant capacity in the PREDIMED study: evidence for a mechanism of antioxidant tuning. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2013; 23(12): 1167-1174.
43. Estruch R, Ros E, Salas-Salvadó J, Covas MI, Corella D, Arós F, Gómez-Gracia E, Ruiz-Gutiérrez V, Fiol M, Lapetra J, Lamuela-Raventós RM, Serra-Majem L, Pintó X, Basora J, Muñoz MA, Sorlí JV, Martínez JA, Martínez-González MA; PREDIMED Study Investigators. Primary prevention of cardiovascular disease with a Mediterranean diet. *N Engl J Med* 2013; 368(14): 1279-1290.
44. Chung J, Kwon SO, Ahn H, Hwang H, Hong SJ, Oh SY. Association between dietary patterns and atopic dermatitis in relation to GSTM1 and GSTT1 polymorphisms in young children. *Nutrients* 2015; 7(11): 9440-9452.