

[P3-19]

클로렐라 디클로로메탄 추출물이 RAW 264.7 cell line에서 산화적 스트레스와 iNOS 발현에 미치는 영향

박지영*, 송영선

인제대학교 의생명공학대학 식품생명과학부, 바이오헬스소재 연구센터

클로렐라는 단백질과 필수아미노산이 풍부하게 함유되어 있으며 비타민군과 미네랄 등을 다량 함유하고 있어 건강식품으로 인지되고 있다. 클로렐라의 생리적 작용으로는 다이옥신류의 해독작용, 콜레스테롤 저하 작용, 혈압상승 억제작용 등의 생리활성 효과가 있는 것으로 보고되고 있으나 클로렐라가 동맥경화 예방과 관련된 항염증작용에 대한 연구는 부족한 실정이다. Macrophage는 다양한 기능을 가진 세포로 산화적 스트레스 상황에서 여러 가지 cytokine과 NO를 생성하여 염증반응에서 중요한 역할을 한다. 특히 대식세포에서 cytokine, TNF- α , LPS와 같은 자극에 의해 발현되는 iNOS는 장시간 동안 다량의 NO를 생산한다. 산화적 스트레스는 염증반응 전사인자인 NF- κ B 활성을 촉진시키는 것으로 알려져 있다. NF- κ B는 핵단백질이며 세포질에서는 I κ B와 결합되어 불활성인 형태로 존재하나 reactive oxygen, TNF- α 과 같은 chemokines 및 LPS 같은 다양한 자극에 의해 I κ B kinase가 활성화된 후 인산화 과정을 통해 I κ B가 떨어져 나가게 된다. p50과 p65의 heterodimer로 구성된 NF- κ B는 활성화된 후 핵으로 이동하여 염증반응을 유도하는 유전자 발현을 촉진시키는 것으로 알려져 있으며 이러한 NF- κ B 활성을 저해하면 염증반응을 억제하는 것으로 알려져 있다. 이러한 사실을 바탕으로 본 연구에서는 LPS로 자극한 RAW 264.7 cell line에서 항산화능이 가장 뛰어난 클로렐라 디클로로메탄 추출물이 산화적 스트레스와 iNOS 발현에 미치는 영향을 알아보았다. 클로렐라를 계통분류하여 얻은 디클로로메탄 추출물을 DMSO에 용해하여 사용하였으며 세포 생존율은 neutral red assay로 측정하였다. 산화적 스트레스의 정도는 NO생성과 TBARS와 GSH의 함량으로 알아보았는데 NO생성정도는 Griess reaction의 방법으로 측정하였고 TBARS의 함량은 Ohkawa등의 방법으로 측정하였으며 GSH의 함량은 Tietze등의 방법을 다소 수정하여 측정하였다. iNOS는 RT-PCR로, 반응의 전사 인자인 NF- κ B 활성은 EMSA로 측정하였다. 클로렐라 디클로로메탄 추출물을 25 μ g/ml, 50 μ g/ml, 100 μ g/ml 농도별로 처리한 군의 세포생존율은 대조군과 유의적 차이가 없었다. NO와 TBARS 생성능은 대조군에 비해 클로렐라 디클로로메탄 추출물을 처리한 군에서 농도 의존적으로 감소되었으며, GSH 함량은 대조군에 비해 증가되었다. RT-PCR에 의해 결정된 iNOS mRNA 발현은 클로렐라 디클로로메탄 추출물의 농도에 의존적으로 감소하였다. iNOS 발현에 필요한 전사인자인 NF- κ B 활성 또한 대조군에 비해 농도별로 억제되었다. 이러한 사실로 미루어 볼때 클로렐라 디클로로메탄 추출물은 산화적 스트레스를 감소시키고 NF- κ B 활성을 억제함으로써 iNOS 발현을 감소시키는 것으로 사료된다.

*본 연구는 과학기술부·한국과학재단 지정 지역협력연구센터인 인제대학교 바이오헬스 소재 연구센터의 연구비 지원에 의해 수행되었음.