한국환경과학회지 제18권(제12호), 1391～1398, 2009
Journal of the Environmental Sciences

광물성 미네랄이 동물세포의 손상에 미치는 효과

전유미·김점지·이미영
순천향대학교 의료생명공학과
(2009년 7월 20일 접수; 2009년 8월 31일 수정; 2009년 10월 19일 채택)

Effects of Ore Minerals on the Damages of Animal Cells

Yu-Mi Jeon, Jum-Ji Kim and Mi-Young Lee
Department of medical biotechnology, SoonChunHyang University, Chungnam 336-600, Korea
(Manuscript received 20 July, 2009; revised 31 August, 2009; accepted 19 October, 2009)

Abstract

In this study, we investigated the suppressive effects of ore minerals on the allergic cell damages and oxidative cell damages. The ore minerals significantly reduced the productions of tumor necrosis factor-alpha (TNF-α) and interleukin-4 (IL-4) in rat basophilic leukemia cells challenged with 2,4-dinitrophenol-bovine serum albumin (DNP-BSA). Lipoxygenase activity was also reduced by the ore minerals. Moreover, the ore minerals showed weak protective effects on the oxidative damage induced by hydrogen peroxide in pig kidney cells and retinal ganglion cells. Photohemolysis of erythrocytes in the presence of rose-bengal as a sensitizer was also inhibited by ore minerals. These results suggest that the ore minerals may be useful as the protectant for allergic and oxidative cell damages.

Key Words : Ore Minerals, Allergic cell damage, Oxidative cell damage

1. 서 론

세포손상에는 알레르기성 염증, 산화 스트레스 등 수많은 세포 내·외의 환경적 요인과 유전적 요인 이 작용하며, 최근 알레르기성 세포손상과 산화적 세포손상에 많은 관심이 집중되고 있다. 알레르기성 세포손상은 환경오염 뿐만 아니라 음식 알레르기 원인물질 등으로 인한 병적인 과민반응에 기인한다[1]. 알레르겐에 대한 면역학적 기전에 의해 야기되는 알레르기성 염증 반응은 Th2 (T-helper type 2) 세포반응으로 대표되는데, IL-4 및 IL-5와 종양괴사인자 (Tumor necrosis factor)-α와 같은 사이토카인이 관여하고, eotaxin과 macrophage chemoattractant protein 3 (MCP-3)같은 케모카인이 알레르기성 염증반응에 중요한 역할을 한다[2-6]. 또한, 과민 반응은 특정한 자극에 노출되면 증상이 재발하게 되므로 면역학적 또는 다른 기전에 의해 일어날 수 있는 여러 반응을 증폭시키게 된다. 염증과 면역 반응을 조절하고 세포 증식 및 분화에 관여하는 단백질 인자인 사이토카인에는, TNF-α 뿐만 아니라, IL-1, IL-4 및 IL-6 등이 있다. 이중 IL-1과 TNF-α는 proinflammatory 사이토카인으로 세포손상 유도와 강력한 염증조절 기능 및 사이토카인 관련 염증반응에서 중추적 역할을 수행하는 것으로 알려져 있다[7]. 또한 IL-4는 천식과 비염과 같은 알레르기성 염증반

Corresponding Author : Mi-Young Lee, Department of Medical Biotechnology, SoonChunHyang University, Chungnam 336-600, Korea
Phone: +82-41-530-1355
E-mail: miyoung@sch.ac.kr

응에서 중요한 역할을 할 뿐만 아니라, B-cell에 관여하여 IgE의 생산을 증가시키고 내피세포내 vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1)의 유전자발현을 유도하여 백혈구의 혈관외 유출에 크게 관여하고 있다[8].

알레르겐에 의해 비만세포가 활성화되면 염증관련 세포의 활성화가 유도되고 주로 히스타민과 사이토카인 및 류코트리엔을 방출하여 염증과 열을 유발하는 것으로 알려져 있다[9]. 알레르기성 세포손상도 염증반응을 수반하여 발생되는데, lipoxygenase는 아라키돈산으로부터 류코트리엔 생합성 반응에 관여하는 효소로서, 류코트리엔과 hydroxyeicosatetraenoic acids 등을 생성시킬 수 있는 효소이다. Lipoxygenase는 염증과 알레르기성 반응에 중요한 역할을 하며 비만세포, 호산구, 호염구에서 유리되는 화학매개체로 염증세포에 대한 알레르기 반응의 화학주성과 활성화에 관여한다. 또한 대장암 세포의 증식이 lipoxygenase에 의해 생성되는 류코트리엔과 특정 hydroxyeicosatetraenoic acids 양이 증가할수록 증가한다고 보고되었으며[10], lipoxygenase 저해제가 대장암, 폐암 증식과 발암물질의 발현을 막을 수 있음이 보고되기도 했다[11].

이에 비해 산화적 세포 손상은 세포내에서 활성산소 (ROS; reactive oxygen species)와 활성질소 (RNS; reactive nitrogen species)가 증가되어 대사조절이 파괴됨으로써 발생한다. 활성산소종은 세포안에서 여러 경로를 통해 생성되는데 생체내에서 미토콘드리아와 세포질의 전자전달 과정에서 생성되기도 한다[12]. 다양한 활성산소종은 생체내에서 생리학적 과정의 매개체로 작용하여 각종 염증질환을 유발하며 산화적, 환경적 스트레스를 받는 상황에서는 세포사멸을 유도하기도 한다[13]. 뿐만 아니라 돌연변이와 암, 노화, 면역 질환 등 각종 질병을 일으키는 것으로 알려져 있다[14,15]. 활성산소의 대표적인 물질중의 하나인 H_2O_2는 생체막을 비교적 자유롭게 통과하고 세포내에서 hydroxyl radical과 같은 활성산소를 생성하는 강력한 산화제로 산화스트레스를 유발한다. Hydroxyl radical은 세포막의 지질 과산화 반응을 야기시키고, 특히 세포내에 단백질 산화, lipid peroxidation, DNA 손상과 apoptosis를 유발한다고 알려져 있다[16,17]. 또한 세포 신호전달과정에 영향을 주며, 세포내 거대분자를 산화시킴으로써 세포의 항상성을 파괴하고, 알츠하이머병, 파킨슨병, 동맥경화와 같은 퇴행성 질병의 원인과 일반적 노화에 관련되어 있다고 알려져 있다.

활성질소는 peroxinitrite($ONOO^-$)와 NO(nitric oxide)등의 질소화합물들을 총칭하여 일컫는데 최근 활성질소에 대한 많은 연구가 수행되고 있다. 활성질소중 $ONOO^-$는 NO 보다 독성이 더 강한 것으로 알려졌으며, 단백질, 지질 그리고 DNA의 산화 등을 통하여 혈관 평활근의 세포 이완, 혈소판 응집 저해, 지질과산화 유도에 의한 세포 독성 등에 관여한다[18]. 또한 NO는 S-nitrosoglutathione 같은 NO donor로 부터 생성되거나, neuronal nitric oxide synthase, inducible nitric oxide synthases 등의 효소에 의해 합성되어 apoptosis와 같은 cell death를 유발하는 신호전달물질이다. 또한 necrotic cell death를 일으킬 수 있을 뿐만 아니라 DNA 손상 및 지질과산화 등 세포내에 다양한 작용을 나타낸다[19,20].

이러한 알레르기성 세포손상과 산화적 세포손상을 예방하거나 방지할 수 있는 대표적 물질로는 항산화물질을 들 수 있다. 항산화물질은 free radical이나 hydroperoxide를 생성하는 속도를 억제하고 안정한 화합물로 전환시킴으로써 세포의 산화를 억제시켜, ROS 생성에 의한 노화 및 암을 비롯한 각종 질병을 억제할 수 있다. 항산화물질에는 미네랄, 비타민, 폴리페놀 및 아스타잔틴 등 다양한 물질이 알려져 있는데, 그 중 셀레늄은 세포막 손상을 방지하는 항산화 효소인 글루타치온 과산화효소의 생성에 영향을 주며, 지방의 과산화를 막아 세포의 기능 손상을 예방한다.

최근 미네랄의 항산화 기능이 밝혀지면서 광물성 미네랄에 대한 연구도 새롭게 진행되고 있다. 의료지질학 (Medical geology)은 동식물과 인간의 건강한 삶의 문제와 지질학적인 측면과의 상관관계에 대하여 연구하는 다학제 융합과학으로서, 유럽을 중심으로 인체건강과 광물과의 연관성이 과학적으로 입증되기 시작하면서 주목받고 있는 연구분야이다[21,22]. 광물성 미네랄, 토양, 물 등 많은 요소들이 지질환경을 구성하는 필요 요소들로 그 중 미네랄이 인체 건강을 조절하는 중요 인자로 대두되고 있다. 미네랄은 인체를 구성하는 요소로 어떤 요소들

은 인체 건강과 밀접한 관계를 나타내고 있는 것이 다양한 연구를 통해 밝혀지고 있다[23,24]. 어떤 질병은 특정 무기물의 부족에 의하여 발생할 수 있는데, 이러한 무기물은 광물, 점토, 광석 등 지구표면에 유기체가 사는 곳에 편재하고 있을 뿐만 아니라 인간과도 공통의 구성성분을 가지고 있어서 상호작용이 가능할 수 있다고 보고 있다. 우리나라 동의보감에는 92종의 약용광물을 언급하고 있는데 약용광물에는 철분, 칼슘 등의 인체에 유익한 무기물을 다량 함유한 Sericite(견운모), Halloysite(적석지), Mucovite (백운모) 등이 포함되어 있다. 그러나 약용광물의 약리학적 효과가 다수 알려져 있기는 하지만 아직 과학적 입증이 전적으로 부족하며 특히, 세포와 분자 수준에서 광물성 미네랄의 효능평가는 전혀 시도되지 못하고 있다.

본 연구에서는 Sericite(견운모) 등을 사용하여 제조한 광물성 미네랄이 다양한 세포손상에 미치는 회복 효과를 살펴보았다. 염증성 사이토카인 방출로 인한 세포손상과 lipoxygenase 활성억제를 측정하였으며, 산화 스트레스 및 광용혈 반응으로 세포에 손상을 준 후 광물성 미네랄이 세포손상에 미치는 회복효과를 살펴보았다.

2. 재료 및 방법

2.1. 실험재료

실험물질로 사용한 광물성 미네랄은 엔티앤비티(주)에서 제공받아 사용하였고 광물성 미네랄 분말을 phosphate buffered saline (PBS) 용액에 녹여 분산시켜 사용하였다.

2.2. 실험방법

2.2.1. 세포주 및 세포주의 배양

본 연구에 사용한 rat basophilic leukemia cell line인 RBL-2H3 세포와 pig kidney cell line인 LLC-PK1 세포 및 retinal ganglion cell line인 RGC-5 세포는 ATCC(American Type Culture Collection)로부터 분양받아 실험에 사용하였다. RBL-2H3 세포와 RGC-5 세포는 10% heat inactivated fetal bovine serum (FBS) (Hyclone)과 1% antibiotics (penicillin-streptomycin) (Hyclone)이 첨가된 DMEM (Dulbecco's modified Eagle medium) (Hyclone)배지를 사용하고, LLC-PK1 세포는 3% heat inactivated fetal bovine serum (FBS) (Hyclone)과 1% antibiotics (penicillin-streptomycin) (Hyclone)이 첨가된 M199 (Hyclone)배지를 사용하였으며, 5% CO_2, 95% air가 공급되는 37℃의 CO_2 배양기에서 배양하였다.

2.2.2. 세포증식 측정

MTT (3-(4,5-dimethylthiozol-2-ly)-2,5-diphenyltetrazolium bromide)용액은 1XPBS buffer에 5 mg/ml의 MTT를 용해 후 살균된 여과지로 여과하여 불용성 물질을 제거한 것을 사용하였다. 세포수를 3×10^6 cell/ml로 희석하여 96-well plate에 100 μl씩 분주한 뒤 5% CO_2, 95% air가 공급되는 CO_2 배양기에서 24 시간 배양하였다. 그 후 광물성 미네랄 분말을 녹인 용액을 농도별로 첨가하여 24 시간 더 배양하고 조제한 MTT 용액을 50 μl/well씩 첨가하여 37℃에서 2 시간 동안 반응시켜 살아있는 세포가 보라색의 불용성 formazan을 형성하게 되면 DMSO (dimethyl sulfoxide)를 100 μl/well씩 가하고 잘 교반하여 침전물을 완전히 용해하였다. 용해된 formazan 산물이 들어있는 각 well의 흡광도는 ELISA reader를 이용하여 570 nm에서 측정하였다. 결과는 대조군의 살아있는 세포를 100%로 하였을 때의 상대적인 비율로 나타내었다.

2.2.3. TNF-α의 발현양 측정

RBL-2H3 cell을 $5x10^5$ cell/well로 24 well plate에 seeding한 후 DMEM 배지에서 배양하였다. 1 μg/ml의 anti-DNP-IgE가 들어간 배지에서 20 시간 배양한 후 0.2 ml의 시료를 넣고 4 시간 동안 배양하였다. 1 μg/ml DNP-BSA를 0.2 ml 넣고, 37℃에서 4 시간 동안 배양한 후 배양 상등액을 모아서 400 x g에서 5 분간 원심분리하고, 상등액을 50 μl 취해서 ELISA용 96 well plate에 넣어서 TNF-α의 발현을 측정하였다. TNF-α의 발현양을 측정하기 위해서 capture 항체를 각 well에 100 μl씩 넣고 4℃에서 밤새 반응시킨 후 wash buffer를 이용하여 3 회 수세하였다. 각 well에 assay diluent 200 μl을 넣고 상온에서 1 시간 반응시켰으며 3 회 wash후 희석해둔 표준물질과 시료, 그리고 대조군을 100 μl씩 넣고 상온에서 2 시간 동안 반응시켰다. wash buffer를 이용하여 5 회 수세후 detector 항체를 각 well에 100 μl씩 넣고, 상온에서 1 시간 반응시켰다. wash buffer를 이용하

여 7 회 수세후 각 well에 기질을 100 μl씩 넣고 상온의 어두운 곳에서 30 분간 반응시켰다. 그리고 각 well에 stop solution을 50 μl 씩 넣고 30분 이내에 450 nm에서 흡광도를 측정하였다[25~27].

2.2.4. IL−4의 발현양 측정

RBL-2H3 cell을 5x10^5 cell/well로 24 well plate에 seeding한 후 DMEM 배지에서 배양하였다. 1 μg/ml의 anti-DNP-IgE가 들어간 배지에서 20 시간 배양한 후 0.2 ml의 시료를 넣고 4 시간 동안 배양하였다. 1 μg/ml DNP-BSA를 0.2 ml 넣고, 37℃에서 4 시간 동안 배양한 후 배양 상등액을 모아서 400 x g에서 5 분간 원심분리하고, 상등액을 50 μl 취해서 ELISA용 96 well plate에 넣어서 IL-4의 발현을 측정하였다.

2.2.5. Lipoxygenase 억제 활성 측정

광물성 미네랄의 lipoxygenase 억제 활성을 측정하기 위하여 0.1 M borate 완충액 (pH 9.0) 에 lipoxygenase (Sigma) 110 Units을 첨가하고 광물성 미네랄 조성물을 0.2%, 0.4%로 연속 희석한 후 100 μl 첨가하였다. 30℃에서 10분간 반응시킨 뒤 500 μM linoleic acid를 첨가하고 234nm에서 흡광도 변화를 측정하였다.

2.2.6. 세포수준에서의 산화스트레스 측정

돼지 신장세포주인 LLC-PK1 세포주와 쥐 망막신경절 세포인 RGC-5 세포주를 각각 96 well plate에 well당 1x10^4 cell을 깔아주고 37℃에서 하루 동안 배양하였다. 세포에 산화스트레스를 유발하기 위해서 다양한 농도의 H_2O_2를 처리하고 동시에 광물성 미네랄을 농도별로 처리하여 3시간 동안 반응시켰다. 배지를 제거한 후 조제한 MTT 용액을 50 μl/well씩 첨가하여 37℃에서 2 시간 동안 반응시켜 살아있는 세포가 보라색의 불용성 formazan을 형성하게 되면 DMSO (dimethyl sulfoxide)를 100 μl/well씩 가하고 잘 교반하여 침전물을 완전히 용해하였다. 용해된 formazan 산물이 들어있는 각 well의 흡광도는 ELISA reader를 이용하여 570 nm에서 측정하였다. 결과는 대조군의 살아있는 세포를 100%로 하였을 때의 상대적인 비율로 나타내었다. 양성대조군으로는 항산화력이 우수한 것으로 알려진 astaxanthin을 사용하였다.

2.2.7. 광용혈 억제 측정

채혈 즉시 heparin이 첨가된 시험관에 전혈을 넣은 후 3,000 rpm에서 5분간 원심분리하였다. 적혈구만 분리하여 0.9% saline phosphate buffer로 3 회 세척하여 원심분리하고 백혈구 층을 제거하였다. 5×10^6 cell/ml의 적혈구 현탁액 3.5 ml을 시험관에 넣고 광물성 미네랄 용액을 50 μl 첨가하고 어두운 곳에서 반응시켰다. 12 μM rose bengal 500 μl을 넣고 parafilm으로 입구를 봉한 후 15 분간 광조사하였다. 광조사시 암상자 안에서 20 W의 형광등과 5 cm 거리에서 평행이 되게 하였다. 광조사가 끝나면 어두운 곳에 두고 시간에 따른 적혈구의 파괴정도를 알아보기 위하여 700 nm에서 흡광도를 측정하였다.

2.2.8. 통계학적 분석

결과는 독립된 3번의 실험을 통해 Mean ± SEM으로 나타내었으며, 통계는 SPSS for Windows 12.0 프로그램을 이용하였다. 세 집단 이상의 유의성은 ANOVA를 사용하여 분석했으며 Duncan's multiple-range test에 따른 사후 검정을 실시하였다. 모든 실험에서 유의한 p값은 0.05 이하로 분석하였다.

3. 결 과

3.1. 광물성 미네랄이 세포 생존율에 미치는 효과

Fig. 1에서는 rat basophilic leukemia cell line인 RBL-2H3 세포주에 다양한 농도로 희석한 광물성 미네랄을 처리한 후 세포생존율을 측정한 결과를 보여준다. 그 결과 광물성 미네랄 농도가 0.0156%과 0.25% 사이에서는 세포독성이 거의 나타나지 않

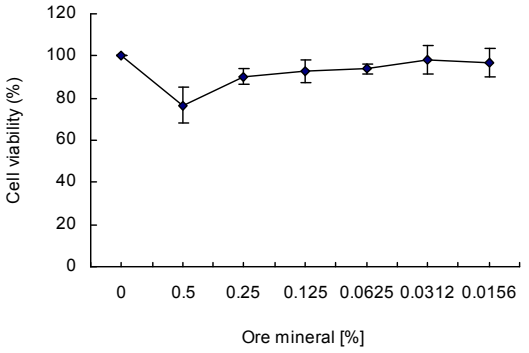

Fig. 1. The relative cell viability of RBL-2H3 cells in the presence of ore minerals.

았다.

3.2. 광물성 미네랄이 알레르기성 세포 손상에 미치는 효과

TNF-α는 염증성 cytokine중의 하나로 macrophage 뿐만 아니라 lymphoid cells, mast cells, endothelial cells, fibroblasts 등 다양한 종류의 세포에서도 만들어진다. 염증반응 모델 세포인 rat basophilic leukemia cell line인 RBL-2H3 세포에서 광물성 미네랄의 TNF-α 방출 억제 효능을 확인하였다(Fig. 2). DNP-BSA 자극에 의한 염증세포의 TNF-α 방출을 측정하였고 광물성 미네랄을 첨가하였을 때 TNF-α방출이 억제하는 것으로 나타났다. 광물성 미네랄 0.25%와 0.5%는 TNF-α 방출을 45% 이상 감소시키는 것으로 나타났다.

IL-4는 IgE와 basophils의 결합이후 allergen의 자극에 의해 방출되는 cytokine 중의 하나로 B-cell과 T-cell을 활성화시키는 역할을 하고, 염증을 유발하는 mediator로 작용한다. Fig. 3에서는 RBL-2H3 세포에서 광물성 미네랄의 IL-4 방출 억제 효능을 확인하였다. 그 결과 광물성 미네랄이 DNP-BSA 자극에 의한 염증세포의 IL-4방출을 억제하는 효과를 나타내었다. 특히 0.5% 광물성 미네랄의 IL-4 방출 억제율은 50% 내외인 것으로 나타났다.

Lipoxygenase는 류코트리엔 지질 합성에 관련된 효소로서 염증과 알레르기성 반응에 중요한 역할을 한다. 류코트리엔은 비만세포, 호산구, 호염구에서 유리되는 화학매개체로 염증세포에서 알레르기 반응 활성화와 화학주성에 관여한다. Fig. 4는 광물성 미네랄의 농도의존적 lipoxygenase 활성 억제 양상을 보여준다. 광물성 미네랄 0.2%는 lipoxygenase 활성을 약 18% 감소시켰으며 0.4%일 때는 대조군에 비해 약 55%의 활성억제 양상을 보였다.

3.3. 광물성 미네랄이 산화적 세포손상에 미치는 효과

Pig kidney cell line인 LLC-PK1 세포에 200 μM의 H_2O_2를 처리한 후 광물성 미네랄을 처리하였을 때, 산화스트레스에 의한 세포 손상이 회복되는지 살펴보았다. 그 결과 200 μM H_2O_2는 대조군 대비 생존하고 있는 세포의 약 20% 정도에 손상을 유발하였으나, 0.25% 광물성 미네랄 처리에 의해 약 5%의 회복효과를 나타냈다 (Fig. 5).

Fig. 6에서는 망막 신경절 세포인 RGC-5 세포의 산화적 손상에 광물성 미네랄이 미치는 영향을 살

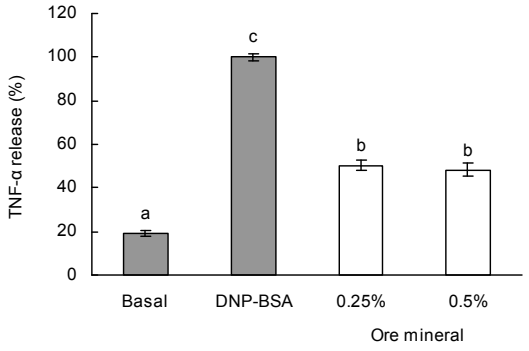

Fig. 2. Effects of ore minerals on the TNF-α release in RBL-2H3 cell.
a,b : $p<0.05$ versus the DNP-BSA stimulation group.

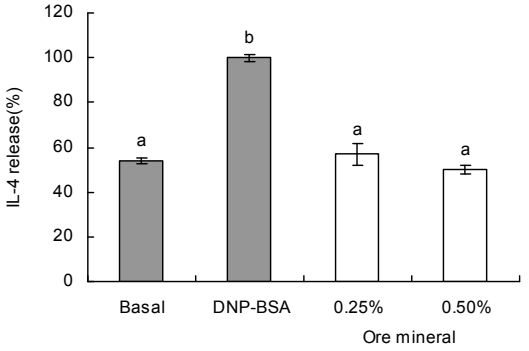

Fig. 3. Effects of ore minerals on the IL-4 release in RBL-2H3 cell.
a : $p<0.05$ versus the DNP-BSA stimulation group.

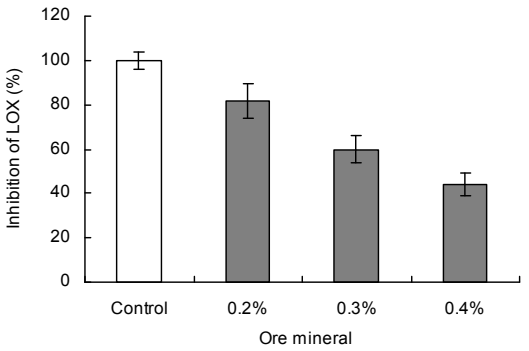

Fig. 4. Inhibition of lipoxygenase activity by ore minerals.

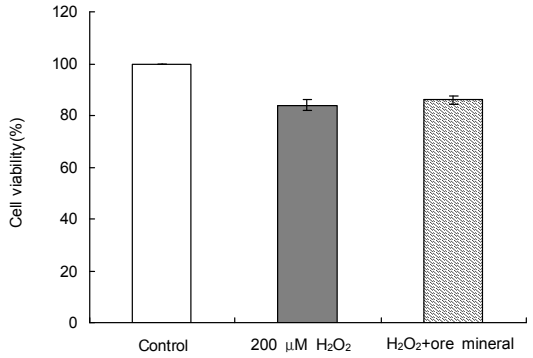

Fig. 5. Inhibitory effects of ore minerals on the H_2O_2-induced oxidative damage of LLC-PK1 cells. The final concentration of the ore minerals used were 0.25%.

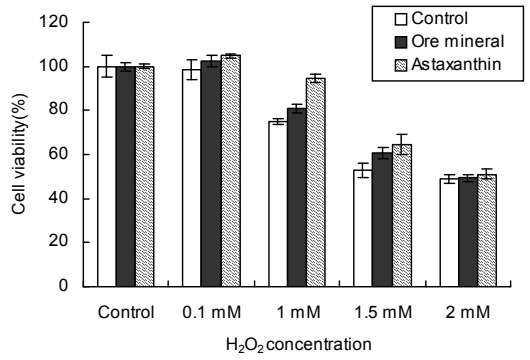

Fig. 6. Inhibitory effects of ore minerals on the H_2O_2-induced oxidative damage of RGC-5 cells. The final concentration of the ore minerals used were 0.25%.

펴보았다. 그 결과 1 mM H_2O_2를 처리하였을 때 세포손상이 약 30% 정도 진행되었으나 0.25% 광물성 미네랄 처리에 의하여 약 5% 세포손상이 억제되었다. 항산화력이 우수한 것으로 알려진 양성대조군인 astaxanthin 0.25% 처리에 의하여 동일조건에서 세포증식이 약 20% 정도 증가하였다. 1.5 mM H_2O_2를 처리하여 세포증식이 약 50% 정도 억제되었을 때 광물성 미네랄을 처리한 경우에도 약 5-10% 정도 세포생존이 회복되었다.

3.4. 광물성 미네랄의 광용혈 억제 효과 측정

Fig. 7은 광물성 미네랄의 적혈구의 광용혈 억제 효과를 측정한 결과이다. 적혈구에 각각의 시료를 처리한 후 광증감제인 rose bengal (12 μM)을 처리하

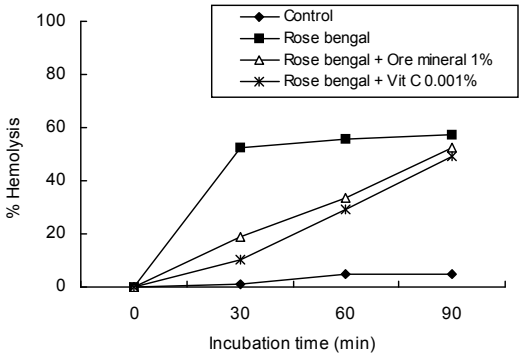

Fig. 7. Suppressive effects of ore minerals on the rose bengal-sensitized photohemolysis.

고 15 분간 광조사후, 용혈 정도를 암소에서의 반응시간에 따라 투광도로 측정하여 나타내었다. 그 결과 rose bengal을 처리하지 않고 광조사만 한 경우 90 분까지 반응시켰을 때 약 5%의 용혈현상이 일어났다. 이에 비해 rose bengal 존재하에서 30 분간 반응시켰을 때 약 50%, 90 분 반응시켰을 때 약 60%의 광용혈이 일어났으며 적혈구 세포가 50% 용혈되는데 걸리는 시간이 30 분으로 나타났다.

반면 광물성 미네랄 1% 전처리 후 rose bengal을 30 분간 반응시켰을 때 약 20%의 광용혈이 일어났으며, 적혈구 세포가 약 50% 용혈되는데 걸리는 시간은 90 분 정도로 나타났다. 비타민 C 0.001% 처리시에도 적혈구 세포가 약 50% 용혈되는데 걸리는 시간은 90 분 정도로 나타났다 이러한 결과는 광물성 미네랄이 광용혈 억제 효과를 가지고 있음을 의미한다.

4. 고찰 및 결론

본 연구에서는 광물성 미네랄이 알레르기성 세포손상과 산화적 세포손상에 대해 회복효능을 보이는지를 다양한 방법으로 살펴보았다. 선행연구에서 광물성 미네랄이 생쥐 기관지 세척액내의 IL-4와 TNF-α의 발현을 억제하였고, 생쥐 폐조직의 조직학적 실험에서 염증관련 세포가 감소되었다고 보고된 바 있다[27]. 또한 광물성 미네랄은 자외선이 조사된 사람 피부세포에 matrix metalloproteinases (MMPs) 발현을 억제시켰으며[28], 생쥐 피부 전층 창상에 대해서도 상처회복 효과를 나타냈고[22], 그람양성 세균

과 그람음성 세균에 대한 항균 효능을 보였다[29].

본 실험에서는 광물성 미네랄의 알레르기성 세포손상과 산화적 세포손상에 대한 억제효능을 분석하였다. 광물성 미네랄이 알레르기성 세포손상에 미치는 영향을 알아보기 위하여 염증성 사이토카인인 TNF-α와 IL-4 방출에 미치는 효과를 측정한 결과, 본 실험조건에서 우수한 염증성 사이토카인 분비억제 효능을 보이는 것으로 나타났다. 또한 염증반응 효소인 lipoxygenase 활성측정 실험에서도 광물성 미네랄이 lipoxygenase 활성을 효과적으로 억제하는 것으로 나타나 광물성 미네랄이 염증과 관련된 다양한 인자들을 억제하는데 효과가 있는 것으로 보였다. 또한 산화스트레스에 의한 산화적 세포손상에 대하여 광물성 미네랄의 억제효과를 측정한 결과, H_2O_2로 손상된 LLC-PK1세포에 광물성 미네랄이 세포 생존율을 약 5% 정도 증가시켰고, RGC-5 세포에서는 세포 생존율이 약 10% 정도 증가하였다. 그리고 광물성 미네랄은 광증감제인 rose bengal을 처리하여 적혈구에 광용혈을 유도했을 때 현저한 용혈 억제작용을 하였다. 이러한 결과는 광물성 미네랄이 in vitro에서 다양한 동물세포에서 다양한 형태의 세포손상에 대한 억제효능을 가지고 있음을 보여준다. 향후 세포와 분자 및 동물 수준에서 광물성 미네랄의 세포보호효과가 체계적으로 보완된다면, 안전성 평가 후 광물성 미네랄의 세포손상 억제효능이 식의약 소재 분야에서 응용될 수 있을 것으로 보인다.

참 고 문 헌

1. Yi J. M., M. S. Kim, S. W. Seo, K. N. Lee, C. S. Yook and H. M. Kim, 2001, Acanthopanax senticosus root inhibits mast cell-dependent anaphylaxis, Clin. Chim. Acta., 312, 163-168.
2. Wüthrich B., 1989, Epidemiology of the allergic diseases: are they really on the increase?, Int. Arch. Allergy Appl. Immunol., 90, 3-10.
3. El Gazzar M., R. El Mezayen, M. R. Nicolls, J. C. Marecki and S. C. Dreskin, 2006, Downregulation of leukotriene biosynthesis by thymoquinone attenuates airway inflammation in a mouse model of allergic asthma, Biochim. Biophys. Acta, 1760, 1088-1095.
4. Zimmermann N., G. K. Hershey, P. S. Foster and M. E. Rothenberg, 2003, Chemokines in asthma: cooperative interaction between chemokines and IL-13, J. Allergy Clin. Immunol., 111, 227-242.
5. Berkman N., V. L. Krishnan, T. Gilbey, R. Newton, B. O'Connor, P. J. Barnes and K. F. Chung, 1996, Expression of RANTES mRNA and protein in airways of patients with mild asthma, Am. J. Respir. Crit. Care Med., 154, 1804-1811.
6. Averbeck M., C. Gebhardt, F. Emmrich, R. Treudler and J. C. Simon, 2007, Immunologic principles of allergic disease, J. Dtsch. Dermatol. Ges., 5, 1015-1028.
7. Park M., I. Y. Kang, S. Y. Rhee, L. I. Jeong, S. Y. Na, K. H. Jeong, S. H. Lee, T. W. Lee and C. G. Ihm, 2006, Polymorphism of IL-1β, IL-Ra, TNF-α cytokine genes in korean patients with glomerulonephritis, Korean J. Nephrol., 25, 221-228.
8. Jahnsen F. L., P. Brandtzaeg, R. Haye and G. Haraldsen, 1997, Expression of functional VCAM-1 by cultured nasal polyp-derived microvascular endothelium, Am. J. Pathol., 150, 2113-2123.
9. Christodoulopoulos P., L. Cameron, S. Durham and Q. Hamid, 2000, Molecular pathology of allergic disease Ⅱ: upper airway disease, J. Allergy Clin. Immunol., 105, 211-223.
10. Bortuzzo C., R. Hanif, K. Kashfi, L. Staiano-Coico, S. J. Shiff and B. Rigas, 1996, The effect of leukotrienes B and selected HETEs on the proliferation of colon cancer cells, Biochim. Biophys. Acta, 1300, 240-246.
11. Moody T. W., J. Leyton, A. Martinez, S. Hong, A. Malkinson and J. L. Mulshine, 1998, Lipoxygenase inhibitors prevent lung carcinogenesis and inhibit non-small cell lung cancer growth, Exp. Lung Res., 24, 617-628.
12. Sies H., 1991, Oxidative stress: from basic research to clinical application, Am. J. Med., 91, 31S-38S.
13. Vuillaume M., 1987, Reduced oxygen species, mutation, induction and cancer initiation, Mutat. Res., 186, 43-72.
14. Finkel T. and N. J. Holbrook, 2000, Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing, Nature, 408, 239- 247.
15. Thompson C. B., 1995, Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease, Science, 267, 1456-1462.
16. Goldshmit Y., S. Erlich and R. Pinkas-Karamarski, 2001, Neuregulin rescues PC12-ErbB4 cells from cell death induced by H_2O_2, J. Biol. Chem., 276, 46379-46385.
17. Kitamura Y., T. Ota, Y. Matsuoka, I. Tooyama, H. Kimura, S. Shimohama, Y. Nomura, P. J. Gebicke-Haerter and T. Taniguchi, 1999, Hydrogen peroxide induced apoptosis mediated by p53 protein in glial cells, Glia, 25, 154-164.

18. Hazen S. L., R. Zhang, Z. Shen, W. Wu, E. A. Podrez, J. C. MacPherson, D. Schmitt, S. N. Mitra, C. Mukhopadhyay, Y. Chen, P. A. Cohen, H. F. Hoff and H. M. Abu-Soud, 1999, Formation of nitric oxide-derived oxidants by myeloperoxidase in monocytes: pathways for monocyte-mediated protein nitration and lipid peroxidation in vivo, Circ. Res., 85, 950-958.
19. Lipton S. A., Y. B. Choi, Z. H. Pan, S. Z. Lei, H. S. Chen, N. J. Sucher, J. Loscalzo, D. J. Singel and J. S. Stamler, 1993, A redox-based mechanism for the neuroprotective and neurodestructive effects of nitric oxide and related nitroso-compounds, Nature, 364, 626-632.
20. Benhar M. and J. S. Stamler, 2005, A central role for S-nitrosylation in apoptosis, Nat. Cell Biol., 7, 645-646.
21. Gomes C. S. F. and J. B. P. Silva, 2007, Minerals and clay minerals in medical geology, Appl. Clay Sci., 36, 4-21.
22. Choi K. M., C. W. Lee and M. Y. Lee, 2008, Effects of ore minerals on the healing of full-thickness skin injury model of rat, J. Environ. Sci., 17, 809-816.
23. Viseras C., C. Aguzzi, P. Cerezo and A. Lopez-Galindo, 2007, Uses of clay minerals in semisolid health care and therapeutic products, Appl. Clay Sci., 36, 37-50.
24. Buseck P. R., D. J. Jacob, M. Posfai, J. Li and J. R. Anderson, 2000, Minerals in the air: an environmental perspective, Int. Geol. Rev., 42, 577-593.
25. Jeong H. J., S. H. Hong, D. J. Lee, J. H. Park, K. S. Kim and H. M. Kim, 2002, Role of Ca(2+) on TNF-alpha and IL-6 secretion from RBL-2H3 mast cells, Cell. Signal., 14, 633-639.
26. Bradding P., I. H. Feather, S. Wilson, P. G. Bardin, C. H. Heusser, S. T. Holgate and P. H. Howarth, 1993, Immunolocalization of cytokines in the nasal mucosa of normal and perennial rhinitic subjects. The mast cell as a source of IL-4, IL-5, and IL-6 in human allergic mucosal inflammation, J. Immunol., 151, 3853-3865.
27. Park S. K., C. W. Lee and M. Y. Lee, 2008, Inhibitory effect of ore minerals on the allergic inflammation in mouse, J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem., 51, 269-275.
28. Kang D. K. and M. Y. Lee, 2008, Photoprotective effects of minerals from korean indigenous ores on uva-irradiated human dermal fibroblast, Mol. Cell. Toxicol., 4, 150-156.
29. Park S. K., C. W. Lee and M. Y. Lee, 2009, Antibacterial effects of minerals from ores indigenous to Korea, J. Environ. Biol., 30, 151-154.