

참모자반 (*Sargassum fulvellum*) 물 추출물의 염증 억제 활성

정다현¹, 김꽃봉우리², 강보경¹, 정슬아¹, 김현지¹, 정희예¹, 박시우¹, 안동현^{1*}

Anti-inflammatory Activity of the Water Extract of *Sargassum fulvellum*

Da-Hyun Jeong¹, Koth-Bong-Woo-Ri Kim², Bo-Kyeong Kang¹, Seul-A Jung¹, Hyun-Jee Kim¹, Hee-Ye Jeong¹, Si-Woo Park¹, and Dong-Hyun Ahn^{1*}

접수: 2012년 10월 31일 / 게재승인: 2012년 12월 11일
© 2012 The Korean Society for Biotechnology and Bioengineering

Abstract: The anti-inflammatory effects of *Sargassum fulvellum* water extracts (SFWE) were investigated using lipopolysaccharide (LPS)-induced inflammatory response in this study. To examine the potential anti-inflammatory properties of SFWE, the NO, TNF- α , IL-6, IL-1 β , and cell proliferation were measured. It was confirmed that the NO and TNF- α secretion were significantly suppressed when SFWE was added to LPS-stimulated RAW 264.7 cells. Moreover, the expression of IL-6 and IL-1 β cytokines was suppressed by SFWE in a dose-dependent manner. Especially, IL-6 inhibition activities were over 50% at 1% of SFWE. The cytotoxicity of SFWE and the proliferation of macrophages was measured by MTT assay. As a result, there was no cytotoxicity in the macrophage proliferation treated with SFWE compared to the control. In conclusion, these results suggested that the SFWE may have significant effects on inflammatory factors and can be a potential anti-inflammatory therapeutic materials.

Keywords: *Sargassum fulvellum*, anti-inflammatory

1. 서론

최근 경제성장과 더불어 평균 수명의 연장과 함께 고령자 인구의 비율도 날로 증가하고 있는 추세이다. 또한 풍요로운 식생활은 수산물이나 야채 등과 같은 식품 소재를 주로 이용 하던 전형적인 우리나라 식문화를 변화시켜 암, 당뇨병, 고혈압, 비만 및 혈관성 질환 등의 생활습관 병이 차지하는 비율이 매년 증가하고 있다. 이와 더불어 면역조절 이상으로 인하여 유발된 염증반응과 알러지 및 아토피 질환과 같은 염증성 질환은 최근 산업화, 도시화의 심화로 변화된 주거환경, 식생활의 변화, 유전적인 영향, 환경오염에 의해 발생되는 화학적, 생물학적 유해인자들에 대한 노출에 의해 유년기를 포함한 다양한 연령층에서의 발생이 크게 증가하고 있다 [1]. 현재까지 개발되어 이용되고 있는 일부 합성 염증 억제제는 그 효능과 부작용이 확실히 검증되지 않았고, 고가라는 문제점이 있다. 건강에 대한 관심도가 급증하면서 피부 트러블을 보완 할 수 있는 천연 항염증 소재에 대한 관심이 증대되고 있으나 아직 다양한 천연소재들이 개발되어 있지 않다 [2]. 염증은 생체나 조직에 물리적 충격이나 화학물질, 세균감염 등의 자극에 대한 생체 방어기전이며, 지속적인 염증반응은 점막 소산을 촉진시켜 결과적으로 통증, 부종, 발적, 발열 등을 일으켜 기능장애를 유발한다 [3]. 또한 당뇨병, 동맥경화증, 관절염 및 암 등의 발생과 깊은 연관을 갖고 있다 [4]. 체내 염증 과정에서 대식세포 (macrophage)는 선천 면역 뿐만 아니라 획득면역 등 다양한 숙주반응에 관여하여 항상성 유지에 관여하는 것으로 알려져 있으며 염증반응 시에는 일산화질소 (NO)와 tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-6 (IL-6) 및 interleukin-1 β (IL-1 β)와 같은 사이토카인을 생산하여 감염초기에 생체방어에 중요한 역할을 한다 [5]. 이 과정에서 대식세포와 같은 염증세포들이 활성

¹부경대학교 식품공학과/식품연구소

¹Department of Food Science & Technology/Institute of Food Science, Pukoung National University, Busan 608-737, Korea
Tel: +82-51-629-5831, Fax: +82-51-629-5824
e-mail: dhahn@pknu.ac.kr

²부경대학교 수산과학연구소

Institute of Fisheries Sciences/Pukyong National University, 474, Ilgwang-ro, Ilgwang-myeon, Gijang-gun, Busan, 619-911, Korea

화되면서 다량의 염증 매개 인자를 분비하게 되고 [6], 염증 반응이 지속적으로 또는 과민하게 일어나면 과민성 알러지 질환이나 만성 염증 질환, 순환기 장애, 암 등과 같은 다양한 질환의 원인을 제공하게 된다 [7]. 이와 같이 NO 및 염증성 사이토카인 등이 염증반응과 밀접하게 관련되어 있어, 이들의 생성을 조절할 수 있는 물질들이 염증 질환의 예방 및 치료제로서 각광을 받고 있다. 현재 천연물을 이용한 염증반응 완화에 대한 연구로는 삼백초 [8], 오가피 [9], 홍화 [10], 금은화 [11] 등 생약재의 항염증에 관한 연구들과 등골나물 [12], 큰비쭉 [13], 녹두 및 대두 [14] 등의 육상식물에 대한 연구들이 주를 이루고 있다.

참모자반 (*Sargassum fulvellum*)은 한국의 연안에 분포하고 있는 난해성 다년생 갈조식물로서 연안동물들이 먹이를 얻거나 산란하기 적합한 곳에 주로 서식하고 있는 대표적인 식용해조류이다. 참모자반의 일부는 식용으로 쓰이기도 하고, alginic acid 등이 해조공업의 원료나 비료로 널리 이용되고 있다. 하지만 참모자반에 관한 연구로는 항발암 [15], 항균 및 항산화 효과 [16,17]에 관한 일부 연구가 수행되고 있을 뿐, 풍부한 자원과 다양한 기능성에 비해 염증 분야에 적용되는 연구는 미흡한 실정이다. 이에 본 연구에서는 참모자반 물 추출물을 이용하여 LPS로 활성화 된 RAW 264.7 대식 세포에서 염증 매개물질들의 생성 억제 효과를 관찰함으로써, 항염증 활성을 갖는 기능성 소재로의 가능성을 밝히고자 연구하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 실험 재료

참모자반 (*Sargassum fulvellum*)은 전라남도 진도에서 구입하였으며, 담수로 깨끗이 씻어 건조시키고 이를 잘게 분쇄한 후 -70°C에서 저장하며 사용하였다.

2.2. 추출

분쇄한 해조류 700 g에 20배의 물을 가하여 24시간 동안 교반 추출한 후 원심분리기 (UNION 32R, Hanil Co., Incheon, Korea)로 2,090 × g에서 10분간 원심분리한 후 상층액을 취하였다. 얻어진 잔사는 이와 동일한 방법으로 2회 반복하여 추출하였다. 3회 추출하여 얻어진 상층액을 filter paper (Advantec 5A, Toyo Roshi Kaisha, Tokyo, Japan)를 이용하여 여과하였다. 그 상층액을 35°C water bath에서 rotary evaporator (RE200, Yamato Co., Tokyo, Japan)를 이용하여 감압하여 상층액의 1/20로 농축하였다. RAW 264.7 세포에 처리한 농도는 0.001, 0.01, 0.1, 1, 2% 농도이며, 2% 농도의 고형분 함량은 3.7 mg/mL로 시료는 4°C에 보관하면서 실험에 사용하였다.

2.3. 세포배양

마우스의 대식세포주인 RAW 264.7 세포는 한국세포주은행 (KCLB40071)에서 분양받아 사용하였으며, DMEM (GIBCO, Grand Island, NY, USA)에 10% inactivated fetal bovine

serum과 1% penicillin-streptomycin을 첨가한 배지를 배양액으로 37°C, 5% CO₂ incubator (MCO-15AC, Sanyo, Osaka, Japan)에서 배양하였다. 실험과정의 모든 세포는 80-90% 정도의 밀도로 자랐을 때 계대 배양하였고, 20 passages를 넘기지 않은 세포만 사용하였다.

2.4. Nitric oxide 분비량 측정

NO의 농도는 배양액 내의 nitrite 농도를 griess 반응을 이용하여 측정하였다. RAW 264.7 세포는 DMEM 배지를 이용하여 2.5 × 10⁵ cells/mL로 조절한 후 24 well plate에 접종하고 37°C, 5% CO₂ incubator에서 18시간 전 배양하였다. 배지를 교환 후, RAW 264.7 세포에 1 µg/mL의 LPS (Sigma, St. Louis, MO, USA)와 0.001, 0.01, 0.1, 1, 2%의 각 추출물을 처리하여 20시간 재 배양하였다. 배양액의 상층액을 얻은 후, 동량의 griess 시약 (1% sulfanilamide + 0.1% naphthylendiamine dihydrochloride, 1 : 1)을 첨가하여 실온에서 10분간 반응시킨 후, microplate reader (Model 550, Bio-Rad, Richmond, CA, USA)를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 세포배양액 내 NO의 농도는 sodium nitrite (NaNO₂)의 농도별 표준곡선과 비교하여 산출하였다.

2.5. IL-6, TNF-α, IL-1β 분비량 측정

세포배양액 내의 TNF-α, IL-6, IL-1β cytokine의 분비량을 ELISA-kit (Mouse ELISA set, BD Bioscience, San Diego, CA, USA)를 이용하여 측정하였다. 먼저, ELISA microplate에 anti-mouse TNF-α, IL-6 및 IL-1β mAb를 분주하여 하룻밤 동안 coating시켰다. 이를 0.05% Tween 20이 포함된 PBST로 세척하고, 10% FBS 용액으로 blocking하였다. PBST로 세척한 뒤, 각 microplate에 NO를 측정 하였던 것과 동일한 배양 상층액을 넣고 실온에서 2시간 반응시켰다. 다시 PBST로 세척한 뒤 희석한 biotinylated anti-mouse TNF-α, IL-6 mAb와 streptavidin-horseradish peroxidase conjugate를 첨가하여 실온에서 1시간 반응시켰다. IL-1β의 경우, biotinylated anti-mouse IL-1β detection antibody를 첨가하고 1시간 반응시킨 후, streptavidin-horseradish peroxidase conjugate를 첨가하여 30분 반응시켰다. 그 후, 이를 다시 PBST로 세척한 다음, OPD 용액을 첨가하여 암반응 시키고 microplate reader (Model 550, Bio-Rad, Richmond, CA, USA)를 이용하여 490 nm에서 흡광도를 측정하였다.

2.6. 세포 독성 측정

시료의 세포독성을 평가하기 위해 MTT assay를 실시하였다. RAW 264.7 세포를 1 × 10⁶ cells/mL 농도로 well plate에 분주하고 20시간 전 배양 후, 1 µg/mL의 LPS와 미역 물 추출물을 농도별 (0.001, 0.01, 0.1, 1, 2%)로 첨가하여 37°C, 5% CO₂ incubator (MCO-15AC, Sanyo, Osaka, Japan)에서 24시간 배양하였다. 배양 후, 5 mg/mL 농도의 MTT 시약을 첨가하여 2시간 재 배양하고 이를 4°C, 2,000 rpm에서 10분간 원심분리 (UNION 32R, Hanil Co., Incheon, Korea)하여 상층액을 제거하였다. 그 후, 각 well에 DMSO를 첨가하고 이

를 microplate reader (Model 550, Bio-Rad, Richmond, USA) 를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 결과 값은 다음 식에 의해 계산하였다.

$$\text{Proliferation Index (\%)} = \text{sample 흡광도} / \text{control 흡광도} \times 100$$

2.7. 통계 처리

모든 실험에 대한 통계 처리는 SAS program (Statistical analytical system V8.2, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) 을 이용하여 one way ANOVA법으로 분산분석을 실시하였으며, 조사 항목들 간의 유의성 검정은 Duncan의 다중검정법으로 $p < 0.05$ 수준에서 실시하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. RAW 264.7 세포의 NO 분비량

일반적으로 NO는 박테리아를 죽이거나 종양을 제거시키며, 평활근 이완, 혈소판 억제, 신경전달, 면역 조절과 혈관 확장에 중요한 역할을 하지만 과도한 NO 생성은 염증을 유발시키게 되며, 조직의 손상, 유전자 변이 및 신경 손상 등의 원인이 된다 [18]. 대식세포에서 분비되는 NO는 inducible nitric oxide synthase (iNOS)의 발현에 의하여 생성이 되는데 염증성 cytokine인 TNF- α 및 IL-6는 iNOS의 발현을 자극하는 것으로 보고되고 있다. LPS로 유도된 대식세포 RAW 264.7 세포에 물 추출물을 0.001, 0.01, 0.1, 1 및 2%의 농도로 처리하여 NO 양을 측정하였다 (Fig. 1). 그 결과, LPS에 의해 급격히 증가된 NO 생성이 참모자반 물 추출물첨가에 의해 각각 53.7 $\mu\text{M/mL}$, 46.2 $\mu\text{M/mL}$, 44.8 $\mu\text{M/mL}$, 39.1 $\mu\text{M/mL}$, 36.9 $\mu\text{M/mL}$ 로 억제되었으며, 농도 의존적으로 유의성 있게 감소하였다. 이와 같이 참모자반 물 추출물은 농도 범위 내에서 유의적으로 NO 생성을 감소시키는 것으로 나타났다.

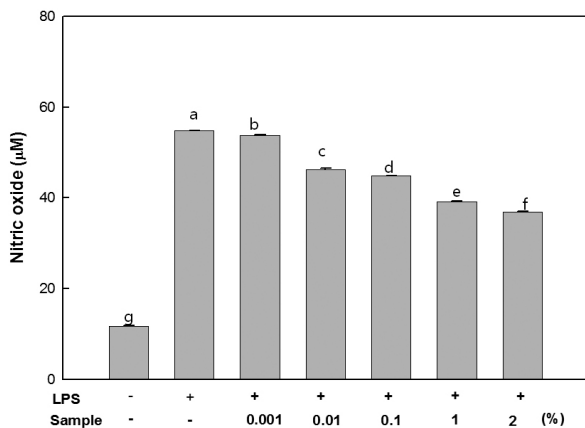


Fig. 1. Effect of *Sargassum fulvellum* water extract on nitric oxide production in LPS-stimulated macrophage. ^{a-g}means with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

3.2. RAW 264.7 세포의 IL-6 분비량

IL-6는 T-cell, monocytes, macrophage 등에 의해 생성되고 림프구를 활성화시키며 B-cell이 plasma세포로 분화되도록

촉진하고 항체의 분비를 자극하는 cytokine으로 생체 내에서 과잉 생산되면 여러 가지 염증성 질환을 일으킨다 [19]. RAW 264.7 세포에서 분비된 IL-6의 양은 아무런 처리를 하지 않은 세포에서는 거의 분비되지 않았으며, LPS 단독 처리 시 78.9 pg/mL 로 현저히 증가하였다 (Fig. 2). 참모자반 추출물을 0.001-2% 농도로 처리하였을 때 농도 의존적으로, 유의적으로 감소하였다. 특히, 1% 이상의 농도로 처리 시 LPS 단독으로 처리했을 때 보다 50% 이상의 억제를 보여 참모자반 물 추출물이 RAW 264.7 세포에서 IL-6의 발현을 억제하여 염증을 억제하는 기전을 가지고 있음이 확인되었다.

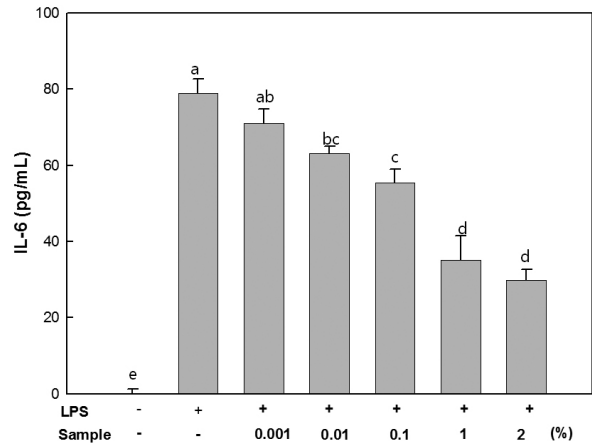


Fig. 2. Effect of *Sargassum fulvellum* water extract on IL-6 production in LPS-stimulated macrophage. ^{a-c}means with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

3.3. RAW 264.7 세포의 TNF- α 분비량

TNF- α 는 전구염증인자로서 비만세포와 대식세포 등에서 생성되어 많은 염증반응을 유발하는 인자로 알려져 있으며, 대식세포에서 유리된 TNF- α 는 국소의 혈관내피세포에 작용하여 국소 알레르기 염증반응에 중요한 역할을 하고 있다. 특히 TNF- α 는 염증이 발생된 부위에 높은 농도로 존재하여 이를 차단하기 위한 염증 치료제들이 연구되고 있다 [20,21].

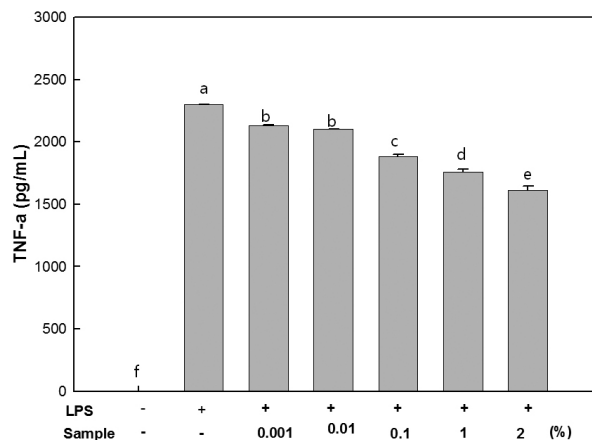


Fig. 3. Effect of *Sargassum fulvellum* water extract on TNF- α production in LPS-stimulated macrophage. ^{a-f}means with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

RAW 264.7 세포에서 분비된 TNF- α 의 양은 LPS로 세포를 자극시켰을 때에 2298.3 pg/mL으로 현저히 증가하였다 (Fig. 3). 그러나 참모자반 물 추출물을 0.001~2% 농도로 처리한 세포에서는 LPS로 세포를 자극시켰을 때와 비교 시, 참모자반 추출물의 농도에 의존하여 유의적으로 감소하였으며, 특히 2% 처리한 세포에서는 1613 pg/mL로 50%의 감소를 보였다. 이러한 결과는 참모자반 물 추출물이 RAW 264.7 세포에서 TNF- α 의 발현을 억제하여 항염증 기능에 관여하고 있는 것으로 나타났다.

3.4. RAW 264.7 세포의 IL-1 β 분비량

IL-1 β 는 단핵구, 대식세포, B-cell, 수지상세포, 간세포 등에서 분비되며, TNF- α , IL-6와 함께 염증성 cytokine이다 [22]. RAW 264.7 세포에서 분비된 IL-1 β 의 양은 LPS 처리를 하지 않은 세포에서는 1.7 pg/mL, LPS 처리를 하였을 때에는 33.6 pg/mL로 현저히 증가하였다 (Fig. 4). 하지만 참모자반 물 추출물을 0.001-2% 농도로 처리 시, LPS 단독 처리했을 때 보다 0.01% 이상의 농도에서 IL-1 β 의 분비량이 농도 의존적으로 감소되었다. 이는 갈조류에 속하는 잔가시 모자반 추출물의 항염증 효과에서도 TNF- α 와 IL-6의 농도 의존적인 감소와 더불어 낮은 수준의 IL-1 β 분비량 감소를 나타내었다 [23]. 이와 같이 참모자반 물 추출물은 IL-1 β 의 생성을 감소시켜 항염증 억제에 관여할 것으로 사료된다.

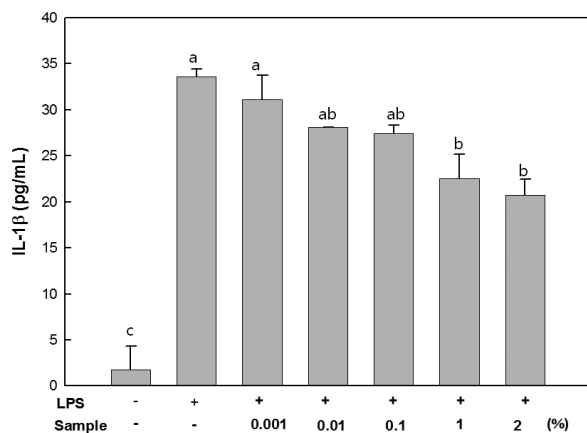


Fig. 4. Effect of *Sargassum fulvellum* water extract on IL-1 β production in LPS-stimulated macrophage. ^{a-c} means with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

3.5. 참모자반 물 추출물의 세포 독성

MTT assay를 이용하여 참모자반 물 추출물의 처리농도에 따른 RAW 264.7 세포생존의 변화여부를 측정하였다 (Fig. 5). 참모자반을 0.001-2% 농도로 24시간 배양한 후에도 아무것도 처리하지 않은 군과 비교 시 증가함을 보였다. 이는 모란 갈파래 (*Ulva conglabata*) 추출물에 대한 세포 독성 실험결과, 농도 의존적으로 세포의 수가 증가하는 경향을 보였으나 세포 독성은 나타나지 않은 결과와 유사하다 [24]. 따라서 lipopolysaccharide (LPS)로 유도된 NO, IL-6, IL-1 β 및 TNF- α 분비량의 감소가 물 추출물의 세포독성으로 인한 cell population의 저하에서 기인한 것이 아님을 확인하였다.

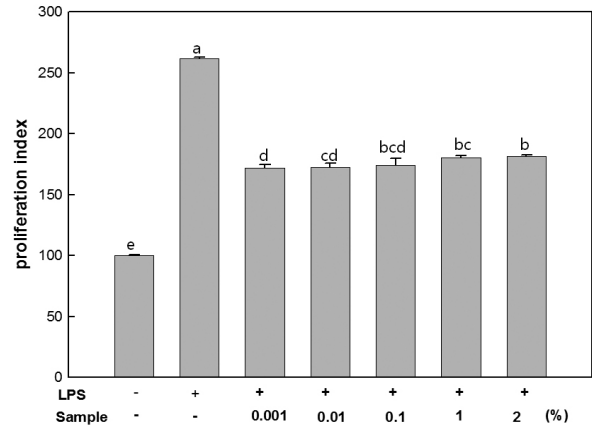


Fig. 5. Effect of *Sargassum fulvellum* water extract on the proliferation of macrophage. ^{a-e} means with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

4. 결론

참모자반 물 추출물의 염증 억제 활성을 알아보기 위하여 NO 분비량, TNF- α , IL-6 및 IL-1 β cytokine 분비량을 측정하였다. 대식세포 배양액의 NO₂-농도를 측정할 결과 NO 분비량이 참모자반 물 추출물의 농도에 따라 유의적인 감소 경향을 나타내는 것을 확인하였다. Cytokine 분비량은 모든 첨가 농도에서 TNF- α , IL-6 및 IL-1 β cytokine 분비량이 감소하는 것을 확인하였다. 참모자반 물 추출물 첨가에 의한 TNF- α , IL-6 및 IL-1 β cytokine과 NO 분비량의 감소가 세포 사멸에 의한 영향인지를 알아보기 위해 murine mouse macrophage인 RAW 264.7 세포에 대하여 MTT assay를 실시하였다. 대식세포 독성 시험 결과 모든 첨가 농도에서 대식세포 증식 능력이 무첨가구에 비해 유의적으로 증가하였다. 이를 통해 참모자반 물 추출물은 세포독성이 없으며, 세포사멸에 의해 cytokine 분비량이 감소한 것이 아님을 확인하였다. 결론적으로 참모자반 물 추출물은 염증성 cytokine인 IL-6, IL-1 β , TNF- α 분비량을 억제함으로써 염증 질환의 예방 및 개선에 유용할 것이라 사료된다.

감사

본 연구는 2011년도 지역산업기술개발사업의 지원을 받아 이루어진 것으로 이에 감사드립니다.

References

1. Heo, Y. and H. A. Kim (2008) Correlation between skin prick test and enzyme-linked immunoabsorbent assay using serum for identification of subjects positive to major respiratory allergens. *J. Env. Hlth. Sci.* 24: 369-373.
2. Park, G. H., J. Y. Lee, D. H. Kim, Y. J. Cho, and B. I. An (2011) Anti-oxidant and antiinflammatory effects of *Rosa multiflora*

- root. *J. Life Sci.* 21: 1120-1126.
3. Jew, S. S., O. N. Bae, and J. H. Chung (2003) Anti-inflammatory effects of asiaticoside on inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 in RAW 264.7 cell line. *J. Toxicol. Pub. Health* 19: 33-37.
 4. Ljung, T., S. Lundberg, M. Varsanyi, C. Johansson, P. T. Schmidt, M. Herulf, J. O. Jundberg, and P. M. Hellstrom (2006) Rectal nitric oxide as biomaker in the treatment of inflammatory bowel disease: responders versus non-responders. *World J. Gastroenterol.* 12: 3386-3392.
 5. Higuchi, M., N. Hisgahi, H. Taki, and T. Osawa (1990) Cytolytic mechanism of activated macrophages. Tumor necrosis factor and L-arginine-dependent mechanism act synergistically as the major cytolytic mechanism of activated macrophages. *J. Immunol.* 144: 1425-1431.
 6. Guha, M. and N. Mackman (2001) LPS induction of gene expression in human monocyte. *Cell Signal.* 13: 85-94.
 7. Gracie, J. A., R. J. Forsey, W. L. Chan, A. Cilmour, B. P. Leung, M. R. Greer, K. Kennedy, R. Carter, X. Q. Wei, D. Xu, M. Field, A. Foulis, F. Y. Liew, and I. B. McInnes (1999) A proinflammatory role for IL-18 in rheumatoid arthritis. *J. Clin. Invest.* 13: 85-94.
 8. Chen, Y. Y., J. F. Liu, C. M. Chen, P. Y. Chao, and T. J. Chang (2003) A study of antioxidative and antimutagenic effects of *Houttuynia cordata* thunb using an oxidized frying oil-fed model. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 49: 327-333.
 9. Lee, K. H., J. O. Nam, and W. H. Yoon (2007) Effect of protein-bound polysaccharide isolated from *Acanthopanax senticosus* in reducing the toxic effect of cisplatin. *Korean J. Pharmacogn.* 38: 1-17.
 10. Kawashima, S., M. Hayashi, R. Takii, H. Kimura, H. L. Zhang, A. Nagatsu, J. Sakakibara, K. Murata, Y. Oomoto, and K. Onozaki (1998) Serotonin derivative, N-(ρ -coumaroyl) serotonin, inhibits the production of TNF- α , IL-1 α , IL-1 β and IL-6 by endotoxin-stimulated human blood monocytes. *J. Interf. Cytok. Res.* 18: 423-428.
 11. Yun, Y. G., G. M. Kim, S. J. Lee, S. H. Ryu, and S. I. Jang (2007) Inhibitory effect of aqueous extract from *Lonicera japonica* flower on LPS-induced inflammatory mediators in RAW 264.7 macrophages. *Korean J. Herbology* 22: 117-125.
 12. Lee, H. N., D. Y. Lim, S. S. Lim, J. D. Kim, and J. H. Y. Park (2011) Anti-inflammatory effect of ethanol extract from *Eupatorium japonicum*. *Korean J. Food Sci. Technol.* 43: 65-71.
 13. Yoon, W. J., J. A. Lee, K. N. Kim, J. Y. Kim, and S. Y. Park (2007) *In vitro* anti-inflammatory activity of the *Artemisia fukudo* extract in murine macrophage RAW 264.7 cells. *Korean J. Food Sci. Technol.* 39: 464-469.
 14. Imm, J. Y. and S. J. Kim (2010) Anti-cancer and anti-inflammatory effects of mung bean and soybean extract. *Korean J. Food Sci. Technol.* 42: 755-761.
 15. Bae, S. J. (2004) Anticarcinogenic effects of *Sargassum fulvellum* fraction on several human cancer cell lines *in vitro*. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 33: 480-486.
 16. Lee, H. S., H. S. Jung, and H. S. Kuen (2000) Preparation of anti-bacterial agent from seaweed extract and its antibacterial effect. *J. Korean Fish Soc.* 33: 32-37.
 17. Lee, H. B., B. W. Choi, J. H. Chun, and B. S. Yu (1996) Extraction of water soluble antioxidants from seaweeds. *J. Korean Ind. Eng. Chem.* 7: 1069-1077.
 18. Weisz, A., L. Ciciatiello, and H. Esumi (1996) Regulation of the mouse inducible-type nitric oxide synthase gene promoter by interferon-gamma, bacterial lipopolysaccharide and NG-monomethyl-L-arginine. *Biochem. J.* 316: 209-215.
 19. Jirik, F. R., T. J. Podor, T. Hirano, T. Kishimoto, D. J. Loskuroff, D. A. Carson, and M. Lotz (1989) Bacterial lipopolysaccharide and inflammatory mediators augment IL-6 secretion by human endothelial cells. *J. Immunol.* 142: 144-147.
 20. Brian, T. (2002) The effect of fetal acidemia on fetal-placental vascular tone and production of inflammatory cytokines interleukin-6 and tumor necrosis factor- α . *Am. J. Obstet. Gynecol.* 187: 894-897.
 21. Charles, N. (2003) Expression of cyclooxygenase-2 in cervical, endometrial and ovarian malignancies. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 188: 1174-1176.
 22. Sung, J. H., D. H. Choi, D. H. Kim, B. G. Chun, and S. H. Choi (2004) White ginseng saponin upregulated the production of TNF- α , IL-1 β , and NO in primary cultures of mixed glial cells. *J. Ginseng Res.* 28: 120-126.
 23. Yoon, W. J., Y. M. Ham, S. S. Kim, B. S. Yoo, J. Y. Moon, J. S. Baik, N. H. See, and C. G. Hyun (2009) Suppression of pro-inflammatory cytokines iNOS and COX-2 expression by brown algae *Sargassum micracanthum* RAW 264.7 macrophages. *Eurasia. J. Biosix.* 3: 130-143.
 24. Jin, D. Q., C. S. Lim, J. Y. Sung, H. G. Choi, I. H. Ha, and J. S. Han (2006) *Ulva conglabata*, a marine alga, has neuroprotective and anti-inflammatory effects in murine hippocampal and microglial cells. *Neurosci. Lett.* 402: 154-158.