

RAW264.7 대식세포와 급성염증유발 동물모델에서 문관나무 종자유의 염증억제 효과

정혜정 · 이기연 · 홍수영 · 허남기 · 김희연*
강원도농업기술원

Anti-Inflammatory Effects of *Xanthoceras sorbifolia* Seeds Oil on RAW264.7 Macrophages and TPA-Induced Ear Edema Mice

Hye Jeong Jeong, Ki Yeon Lee, Soo Young Hong, Nam Ki Heo and Hee Yeon Kim*

Agriproduct Processing Experiment Station Gangwon-do Agricultural Research and Experiment Services, Chuncheon 200-822, Republic of Korea

Abstract

This study investigated the anti-inflammatory effects of *Xanthoceras sorbifolia* of seeds oil on RAW264.7 macrophages and TPA (12-O-tetra decanoylphorbol-acetate)-induced ear edema mice. MTT assay method to measure cytotoxicity was formed in RAW264.7 cell. The anti-inflammatory effect was measured by ability to inhibit production nitric oxide (NO) in RAW264.7 cell. Hexane and eight-percent methanol fractions from *Xanthoceras sorbifolia* seeds oil did not show cytotoxicity. Hexane and eight-percent methanol fractions were showed significantly inhibitory effect on NO production. TPA-induced acute edema was developed in the mouse ears, and *Xanthoceras sorbifolia* seeds oil dissolved in acetone was applied to inflamed ears. It was found out that *Xanthoceras sorbifolia* seeds oil could significantly reduce th ear swelling, compared to the control. Overall results indicate that the *Xanthoceras sorbifolia* seeds oil has anti-inflammatory activity and could be used as a resource of anti-inflammatory materials.

Key Words: *Xanthoceras sorbifolia* seeds oil, inflammation, nitric oxide, TPA

서 론

최근 각종 부작용을 유발하는 합성 식·의약품을 지양하고 천연자원으로부터 건강유지나 생체리듬 조절효능이 있는 생약, 기능성 식품을 개발하고자 하는 연구가 활발히 진행되고 있다(Oh et al. 2008; Park et al. 2010). 특히 천연물로부터 만성염증성 질환 및 퇴행성 뇌질환과 같은 다양한 염증질환 대상 치료제 개발과 주요 염증

매개물질들의 생성이나 활성을 억제할 수 있는 생리활성 효능 및 약물개발에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다(Lee et al. 2003; Talhouk et al. 2007; Park et al. 2010).

염증은 생체 내로의 이물질의 침입, 대사장애, 화상, 기계적 화학적 외상 등을 입었을 때 일어나는 생체의 방어 반응이다(Han et al. 2005). 염증 반응에서는 미소혈관의 확장, 혈액성분의 조직간극으로의 유출, 백혈구의 염증 부위로의 유주 및 조직의 변성과 섬유화 등이 연쇄

Received: November 19, 2013. Revised: November 22, 2013. Accepted: November 22, 2013.

Corresponding author: Hee Yeon Kim

Agriproduct Processing Experiment Station Gangwon-do Agricultural Research and Experiment Services, Chuncheon 200-822, Republic of Korea
Tel: 82-33-248-6526, Fax: 82-33-248-6555, E-mail: heeya80@korea.kr

적으로 일어나게 되며 임상적으로는 발적, 발열, 종창, 동통, 기능 장애의 5가지 증상이 나타난다(Storck et al. 1994).

문관나무(*Xanthoceras sorbifolia*)는 무환자과(Spinaidaceae)에 속하는 중국 원산 식물로서 중국의 흑룡강성, 요령성, 길림성 등의 해발 400-1,400 m에서 재배되고 있고, 우리나라에서는 기름밤나무로 불리우며, 소규모로 재배되고 있다(Lee et al. 2012). 열매의 직경은 4-6 cm이고, 종자는 타원형으로 종피는 검고 두껍다. 종피를 제거한 종자의 직경은 약 1 cm 정도로, 기름이 약 60% 정도 함유되어 있다. 문관나무 종자유에는 지방산, 스테롤, 토코페롤 등이 함유되어 있고(Deng et al. 2007), 심장질환, 고혈압, 동맥경화 등에 효과적인 것으로 알려져 있다(Zhang et al. 2010). 문관나무에 관한 연구는 문관나무 종자유의 DPPH 검정을 통한 항산화 효과(Zhang et al. 2010), 문관나무 종자유의 추출방법(저온압축 추출법, 극초단파 추출법, 초음파 추출법)에 따른 수율 및 성분 분석(Deng et al. 2007) 등이 있으며, 대부분 중국을 중심으로 연구되고 있다. 최근 추출방법별 문관나무 종자유의 일반성분, 지방산, 식물성 스테롤 등의 이화학적 특성 분석(Park et al. 2012), 문관나무 종자유의 산가 및 과산화 물가 등의 측정을 통한 산화안정성(Lee et al. 2012)에 관한 연구가 보고 되었으나 문관나무 종자유의 기능성에 관한 국내 연구는 미흡한 실정이다.

본 연구에서는 문관나무 종자유의 RAW264.7 대식세포에서 nitric oxide 생성량 측정 및 마우스 귀에서 TPA (12-O-tetradecanoylphorbol-acetate)로 염증을 유발시킨 후, 귀 부종 측정방법을 이용하여 부종에 대한 억제력을 조사함으로써 문관나무 종자유의 염증억제 효과를 알아보고자 수행되었다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험에 사용된 문관나무 종자는 2010년에 생산된 종자로 2011년 중국 내몽고 자치구(內蒙古自治區, Inner-mongolia)에서 구입하여 사용하였다.

종자유 추출

문관나무 종자의 불순물을 제거하고 40°C dry oven에 4시간 건조한 후, 가열압출 방식의 착유기(Oil love, National ENG Co., Ltd., Goyang, Korea)를 사용하여 180°C에서 종자유를 제조하여 원심분리 후 사용하였다.

문관나무 종자유의 정제

문관나무 종자유를 60°C로 가온하고, 60°C의 온수 2% (v/v)를 첨가하여 교반 후 침전물을 제거한 다음 85% 인산용액 0.2% (v/v)를 첨가하여 교반 후 침전물을 제거하였다. 침전물이 제거된 종자유를 4,000 rpm에서 10분간 원심 분리하여 탈검유를 얻었다. 탈검유에 20% NaOH용액 4% (v/v)를 첨가하여 30분간 상온교반 후 4,000 rpm으로 10분간 원심 분리하여 탈산유를 얻었다(Kim and Lee 2005).

문관나무 종자유 추출물의 제조

문관나무 종자 정제유 30 g에 hexane 30 mL와 80% methanol 6 mL를 가하여 1시간 동안 진탕하고 separate funnel에 1시간 방치하였다. 하층의 80% methanol 층을 분리하고, 남은 상층에 80% methanol 60 mL를 가하여 반복 추출하였다. 분리된 hexane 층과 80% methanol 층을 감압농축(Rotary evaporator N-1000, Tokyo, Japan)하여 용매를 완전히 제거한 후, hexane 층과 80% methanol 층의 농축물을 각각 10% DMSO와 10% ethanol에 녹여 nitric oxide (NO) 측정시료로 사용하였다(Kim 2000).

세포독성 측정

RAW264.7 세포주를 1×10^5 cells/well로 96well plate에 분주하여 배양한 다음, 문관나무 종자유를 최종 농도가 1 mg/mL, 5 mg/mL이 되도록 처리하여 37°C에서 24시간 배양하였다. 24시간 후 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetra-zoliumbromide (MTT)용액을 첨가하여 동일한 배양조건에서 4시간 동안 배양한 다음, 생성된 formazan 결정을 DMSO에서 녹여 microplate reader (UMV-340, Microplate reader with digiread and scanplus, UAS)를 이용하여 570 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Nitric oxide 생성량 측정

Nitric oxide (NO) 생성량은 한국세포주은행에서 분양받은 RAW264.7 세포주(mouse macrophage cell line)를 이용하여 측정하였다. NO 생성량 측정을 위해 RAW264.7 세포주를 96 well plate에 1×10^5 cells/well의 농도로 분주하여 24시간 동안 배양한 다음 문관나무 종자유를 최종 1 mg/mL, 5 mg/mL의 농도가 되도록 처리하여 24시간 동안 배양 후 NO 생성량을 확인하였다. NO의 정량은 상등액 100 μ L를 회수하여 griess reagent (Fluka chmie AG, Buchs, Switzerland)를 첨가하여 상온에서 15분간 반응시킨 후 microplate reader를 이용하여

517 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 대조구는 0.1 µg/mL 농도의 Lipopolysaccharide (LPS)를 사용하였다. 세포의 생존율은 시료를 처리하지 않은 대조군에 대비한 시료 처리군의 흡광도로 표시하였다(Lee et al. 2011).

세포 생존율(%)=시료처리군의 흡광도/대조군의 흡광도×100

실험동물

Balb/c mouse 4주령 32마리를 (주)오리엔트바이오에서 구입하여 1주일간 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 실험동물은 일정한 습도(50±5%), 온도(22±2°C)가 자동 유지되는 동물실에서 사육되었고 물과 사료는 자유롭게 공급되었으며, 일주일간의 적응기간을 거친 후 본 실험에 사용되었다. 동물실험에 사용된 모든 실험방법은 강원도농업기술원 동물실험 윤리 규정에 입각하여 수행되었다.

염증 유발 및 문관나무 종자유 처리

염증 유발 전 두께측정기(ID-C112B, Mitutoyo Co., Kawasaki, Japan)를 이용하여 mouse 왼쪽 귀의 두께를 측정 한 후, TPA (12-O-tetradecanoylphorbol-acetate)로 염증을 유발하였다. TPA (Sigma-Aldrich Co., USA)는 2.5 µg을 정량하여 20 µL의 아세톤에 녹여 사용하였고 왼쪽 귀의 양면에 10 µL씩 처리하였다. TPA를 24시간 간격으로 2회 도포하였으며 도포 완료 후 100 mg/mL와 500 mg/mL의 농도로 조제된 문관나무 종자유와 양성대조군인 Indomethacin (Sigma St. Louis, MO, USA)을 25 mg/mL의 농도로 조제하여 왼쪽 귀의 양면에 10 µL씩 도포하였다(Hahm et al. 2008). 실험군은 정상군, 대조군, 문관나무 종자유를 100 mg/mL의 농도로 사용한 실험군(T1), 500 mg/mL의 농도로 사용한 실험군(T2), 양

성대조군(INDO)으로 총 5개의 군으로 나누었다.

귀 부종 측정

염증유발 및 문관나무 종자유 처리 24시간 경과 후 직경 5 mm 편침을 이용하여 왼쪽 귀 조직을 얻어 귀의 무게와 두께(ID-C112B, Mitutoyo Co., Kawasaki, Japan)를 측정하였다(Hahm et al. 2008).

Percent inhibition (%)=(T₂₄-T₀) control-(T₂₄-T₀)treated group/(T₂₄-T₀)control×100

T₀: 염증 유발 및 문관나무 종자유 처리 전 귀의 무게

T₂₄: 염증 유발 및 문관나무 종자유 처리 24시간 경과 후 귀의 무게

통계처리

실험 결과는 평균값과 표준편차로 나타내었으며, 통계처리는 SPSS (statistical package for social sciences, version 12.0, SPSS Inc., Chicago, USA)를 이용하여 one-way ANOVA 분석을 실시한 후 Duncan's multiple range test로 유의성을 p<0.05 수준에서 검증하였다.

결 과

세포독성 및 Nitric oxide 생성 저해 효과

문관나무 종자유 hexane 분획물과 80% methanol 분획물이 RAW264.7 세포주에 미치는 영향을 실험한 결과, hexane 분획물과 80% methanol 분획물 모두 RAW264.7 세포의 생존율에 영향을 미치지 않았다(Fig. 1).

문관나무 종자유의 분획별 NO 생성량(Fig. 2)을 측정 한 결과, LPS만을 처리한 대조구에 생성된 NO의 양이 25.9 µM이었으며, hexane 분획물 1 mg/mL 농도와 5

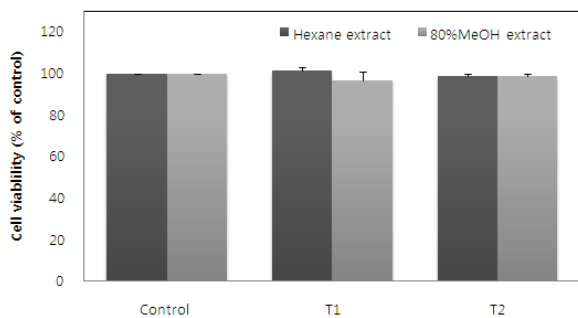


Fig. 1. Effect of *Xanthoceras sorbifolia* seeds oil on cell viability in RAW264.7 cell line.

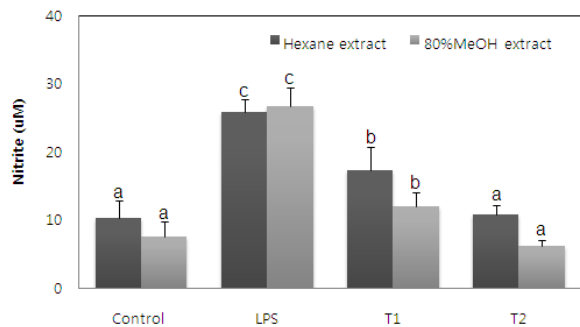


Fig. 2. Effect of *Xanthoceras sorbifolia* seeds oil on NO production in RAW264.7 cell line.

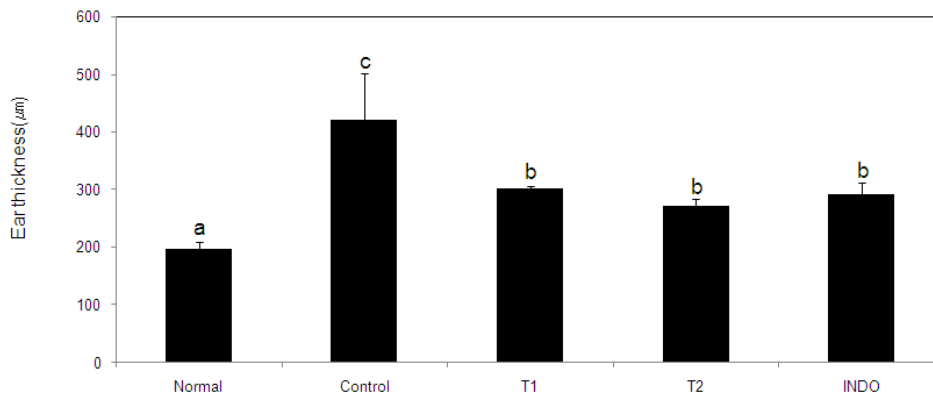


Fig. 3. Comparison of ear thickness after the treatment of *Xanthoceras sorbifolia* seeds oil and indomethacin on TPA-induced ear edema in mice. Ear swelling is expressed as mean thickness increase of ears. Ear edema was measured at 24 hours after TPA (12-O-tetradecanoylphorbol-acetate) treatment. INDO (Indomethacin) was used as a positive control.

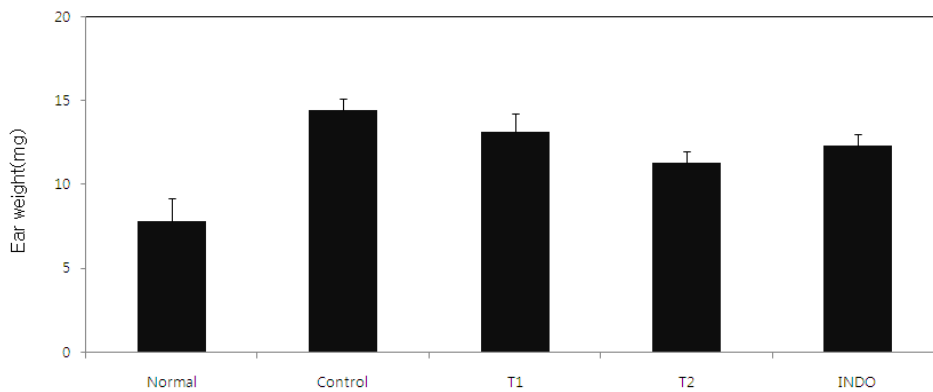


Fig. 4. Comparison of ear weight after the treatment of *Xanthoceras sorbifolia* seeds oil and indomethacin on TPA-induced ear edema in mice. Ear swelling is expressed as mean thickness increase of ears. Ear edema was measured at 24 hours after TPA (12-O-tetradecanoylphorbol-acetate) treatment. INDO (Indomethacin) was used as a positive control.

mg/mL의 농도에서는 17.4 µM, 10.8 µM로 NO 생성억제능은 각각 32.8%, 58.3%로 나타났다. 80% methanol 분획물의 NO 생성능을 측정된 결과, LPS만을 처리한 대조군의 NO 생성량은 26.7 µM이었고, 1 mg/mL과 5 mg/mL의 농도에서는 12.1 µM, 6.1 µM로 NO 생성억제능은 각각 54.7%, 77.1%로 나타났다. 문관나무 종자유 hexane 분획물과 80% methanol 분획물의 농도가 높을수록 NO 생성량은 낮게 측정되어 NO 생성 억제능은 증가됨을 확인하였다.

마우스 귀 부종 염증 억제 효과

마우스 귀에 TPA로 염증 유발 후 문관나무 종자유를 직접 처리하여 대조군인 indomethacin (INDO)을 처리한 군과 비교함으로써 염증억제효과를 알아보았다. 귀 두께를 측정할 결과, 정상군의 귀의 두께는 197.9 µm이고 유발 후 비처리군인 대조군은 420.5 µm으로 정상군에 비해 현저히 증가함을 확인하였다. 실험군 T1, T2의 경우 302.5 µm, 271.8 µm 정도의 증가량을 보임으로써 대조군에 비해 귀 두께의 증가폭이 작았다. 또한 실험군 T2의 경우 양성대조군(INDO)보다 귀 두께의 증가폭이

작게 나타남을 알 수 있었다(Fig. 3). 귀 무게를 측정할 결과, 양성대조군의 귀 무게는 12.3 mg, 문관나무 종자유 100, 500 mg/mL 처리군은 각각 13.1, 11.3 mg으로 대조군의 귀 무게인 14.4 mg에 비해 유의적인 차이는 나타나지 않았다(Fig. 4).

대조군을 기준으로 각 군의 염증억제 능력을 나타내었을 때 양성대조군(INDO)은 30.4%의 억제능력을 보였고, 실험군 T1은 28.1%, T2는 35.4%의 억제능력을 보였다. 각 실험군의 염증억제 능력이 양성대조군과 유사하게 나타나는 것으로 보아 문관나무 종자유가 TPA로 유발한 마우스 염증모델에서 염증억제 효과를 가진다는 것을 알 수 있었다. 특히 문관나무 종자유의 처리 농도가 높을수록 염증억제 효과가 뛰어남을 확인할 수 있었다 (Fig. 5).

고 찰

NO는 NO 합성효소에 의해 L-arginine으로부터 생성되는 무기유리체로 면역반응, 세포독성, 신경전달계 및 혈관이완 등 여러 가지 생물학적인 과정에 관여하는 것

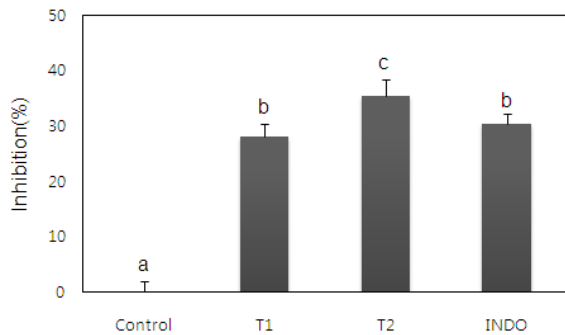


Fig. 5. Inhibitory effect of *Xanthoceras sorbifolia* of seeds oil on TPA-induced ear edema in mouse. Ear swelling is expressed as mean thickness increase of ears. Ear edema was measured at 24 hours after TPA (12-O-tetradecanoylphorbol-acetate) treatment. INDO (Indomethacin) was used as a positive control.

으로 알려져 있으며 농도에 따라 세포 기능유지에 중요한 작용을 하기도 하고 세포독성을 일으키기도 한다 (Moncada et al. 1991; Nathan and Xie 1994). LPS 자극에 의해 발현된 iNOS (inducible nitric oxide synthase)는 많은 양의 NO를 생성하게 되며 이에 의한 세포독성은 염증반응, 세포의 돌연변이 및 종양 발생 등에도 관여하는 것으로 알려져 있다. 염증반응과 관련된 조직 손상에서 NO와 iNOS의 발현이 증가되어 있음이 보고되어 있다 (Mu et al. 2001; Ryu et al. 2003). 생체 내 염증반응을 촉진하는 효소 및 인자들로서 cyclooxygenase-2 (COX-2), tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin (IL)-6, IL-1 β 와 신호전달경로인 nuclear factor kappa-B (NF- κ B) 및 mitogen-activated protein kinase (MAPK)가 잘 알려져 있고, 이들 효소 및 인자들을 억제하는 실험방법은 항염활성 검정법으로 많이 사용된다 (Eum et al. 2013).

피부는 우리 몸에서 면적이 가장 크고, 외부환경의 여러 유해 물질로부터 몸을 제일 먼저 보호하기 때문에 끊임없이 병원체에 의해 손상되고 침범 받게 되어 다양한 염증성 질환이 발생하게 된다 (Lee et al. 2004). 대부분의 급성 염증질환에는 non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs)와 steroidal anti-inflammatory drugs (SAIDs) 같은 약이 사용되는데 이들은 장기간 사용시 부작용이 빈번하게 일어난다. 따라서 최근에는 부작용이 적은 새로운 소재의 항염증, 소염제제의 필요성이 대두되고 있다 (Yeom et al. 2004).

마우스 귀 부종 억제 실험에 사용한 염증유발 물질인 TPA는 국소적으로 작용하는 염증유발 물질로 스테로이드와 비스테로이드성 약품의 염증 억제 효과분석 이외에 부종, 세포침윤, 세포증식 등의 염증반응과정을 주

도하는 조절자(regulator)들의 효능을 스크리닝 하는데 주로 사용되어 왔다 (Kawase et al. 2003; Otuki et al. 2005). 양성대조군으로 쓰이는 indomethacin은 cyclooxygenase-2를 비특이적으로 강력하게 억제하는 항염, 해열, 진통효과를 지닌 indoleacetic acid계 non-steroidal anti-inflammatory drugs로서 류마티스성 관절염, 골관절염(퇴행성관절질환), 건관절주위염, 외상에 의한 염증에 사용되고 있다 (Hahm et al. 2008).

문관나무는 중국 원산 식물로서 현재 우리나라의 북구지방에서 소규모로 재배되고 있으며, 주로 씨에서 얻은 기름으로 고약 기초제나 약용비누로 활용하고 있다 (Park and Kim 2012). 문관나무에 관한 연구는 대부분 중국을 중심으로 연구되고 있으며, 국내 연구는 거의 전무한 상태이다. 주로 문관나무의 재배와 관련한 연구가 대부분이며 문관나무 종자유의 활용을 위한 기능성 검정은 미흡한 실정이다.

본 연구는 문관나무 종자유의 염증 억제 효과를 확인하기 위하여 문관나무 종자유의 RAW264.7 대식세포에서 nitric oxide 생성억제 및 마우스 귀에서 TPA로 염증을 유발시킨 후, 귀 부종 측정방법을 이용하여 부종에 대한 억제능력을 조사하였다.

문관나무 종자유 hexane 분획물과 80% methanol 분획물이 RAW264.7 세포주에 미치는 영향을 실험한 결과, hexane 분획물과 80% methanol 분획물 모두 RAW264.7 세포의 생존율에 영향을 미치지 않았으며 (Fig. 1), 문관나무 종자유의 분획별 NO 생성능 (Fig. 2)은 1 mg/mL 농도와 5 mg/mL의 농도에서 17.4 μ M, 10.8 μ M로 대조군 (25.9 μ M)와 비교시 각각 32.8%, 58.3% NO 생성을 억제하였다. Methanol 분획물 1 mg/mL과 5 mg/mL의 농도에서는 12.1 μ M, 6.1 μ M로 NO 생성량이 대조군 (26.7 μ M)와 비교시 54.7%, 77.1% NO 생성을 억제하였다. 문관나무 종자유 hexane 분획물과 80% methanol 분획물의 모두 농도가 높을수록 NO 생성 억제능이 증가함을 알 수 있었다.

뒤 두께를 측정된 결과, 정상군의 귀의 두께는 197.9 μ m이고 유발 후 비처치군인 대조군은 420.5 μ m으로 정상군에 비해 현저히 증가함을 확인하였다. 실험군 T1과 T2는 각각 302.5 μ m, 271.8 μ m, 양성대조군(INDO)은 292.5 μ m로 (Fig. 3), 대조군을 기준으로 각 군의 염증억제 능력을 나타내었을 때, 실험군 T1은 28.1%, T2는 35.4%의 억제능력을 나타내 각 실험군의 염증억제 능력이 양성대조군(INDO)의 억제능력인 30.4%와 유사하게 나타나는 것으로 보아 문관나무 종자유가 TPA로 유발한 마우스 염증모델에서 염증억제 효과를 가진다는

것을 알 수 있었다.

이상의 실험 결과는 문관나무 종자유가 피부나 그 외의 염증 치료에 의학적 외용제로 이용할 수 있는 가능성을 시사하며 앞으로 주요인자의 추가적인 분석과 다양한 동물 모델 및 임상실험을 통해 염증억제 효능을 재검증하고 기능성소재로 개발하기 위한 연구가 지속되어야 할 것으로 판단된다.

결 론

본 연구는 문관나무 종자유의 항염 억제효과를 알아보고자, RAW264.7 대식세포에서 nitric oxide 생성억제 및 마우스 귀에서 TPA로 염증을 유발 시킨 후, 귀 부종 측정방법을 이용하여 부종에 대한 억제능력을 조사하였다. 그 결과, RAW264.7 세포주를 이용한 세포 생존율 실험에서는 hexane 분획물과 80% methanol 분획물 각각 1 mg/mL와 5 mg/mL의 농도에서 RAW264.7 세포의 생존율에 영향을 미치지 않았고, hexane 분획물 1 mg/mL와 5 mg/mL의 농도에서 NO 생성억제능이 각각 32.8%와 58.3%이었고, 80% methanol 분획물 1 mg/mL와 5 mg/mL의 농도에서 각각 54.7%와 77.1%로 나타났다. 마우스를 이용한 귀 부종 실험에서는 대조군 420.5 μ m의 증가량과 T1, T2의 실험군에서 302.5 μ m, 271.8 μ m의 증가량을 보임으로써 대조군에 비해 실험군 T1, T2의 귀 부종 증가량이 감소함을 확인하였다. 특히 양성대조군 (INDO)과 비교하였을 때 문관나무 종자유의 처리 농도가 높을수록 귀 부종 증가량은 감소하고, 염증억제 능력이 증가하는 것으로 나타났다. 따라서 문관나무 종자유가 피부나 그 외의 염증 치료에 의학적 외용제로 이용할 수 있는 가능성을 시사하며 앞으로 주요인자의 추가적인 분석과 다양한 동물 모델 및 임상실험을 통해 염증억제 효능을 재검증하고 기능성소재로 개발하기 위한 연구가 지속되어야 할 것으로 판단된다.

감사의 글

본 논문은 농촌진흥청에서 시행한 문관나무 종실의 식미용 소재화연구 어젠다과제(과제번호: PJ0082292012)의 지원으로 이루어졌으며 이에 감사드립니다.

References

Deng H, Sun J, Fan X, Wen H. 2007. Comparison of difference extraction technologies for seed oil of *Xanthoceras sorbifolia* Bge. J

- Northeast Forestry Univ 35: 39-41.
- Eum WS, Lee KJ, Kim DW, Lim SS, Kang IJ, Park J, Choi SY. 2013. Anti-inflammatory effects of extracts from *Caesalpinia sappan* L. On skin inflammation. J Korean Soc Food Sci Nutr 42: 384-388.
- Hahm DH, Sur BJ, Han DO, Park JH, Jung ET, Lee HJ, Koh YJ, Choi HD. 2008. Anti-inflammatory activity of *Dandelion* in mice. J Ori Med Physiol Pathol 22: 810-814.
- Han DO, Choi BH, Lee HJ, Shim I, Kang SK, Hahm DH. 2005. In vivo studies on anti-inflammatory activity of *Nephrite*. Korean J Ori Med Physiol Pathol 19: 977-981.
- Kawase Y, Hoshino T, Yokota K, Kuzuhara A, Kirii Y, Nishiwaki E, Maeda Y, Takeda J, Okamoto M, Kato S, Imaizumi T, Aizawa H, Yoshino K. 2003. Exacerbated and prolonged allergic and non-allergic inflammatory cutaneous reaction in mice with targeted interleukin-18 expression in the skin. J Invest Dermatol 121: 502-509.
- Kim HW. 2000. Studies on the antioxidative compounds of sesame oils with roasting temperature. Korean J Food Sci Technol 32: 246-251.
- Kim DS, Lee KB. 2005. Effect of deodorizing conditions on color in soybean oil. Korean Soc Food Culture 20: 627-631.
- Lee KJ, Park MH, Park YH, Lim SH, Kim KH, Kim YG, Ahn YS, Kim HY. 2011. Antioxidant activity and nitric oxide production of ethanol extracts from *Astragali membranaceus Bunge* and *A. membranaceus Bunge var mongholicus* Hisiao. J Korean Soc Food Sci Nutr 40: 1793-1796.
- Lee KY, Hong SY, Park YH, Kim SC, Heo NK, Kim HY. 2012. Oxidative Stability of *Xanthoceras sorbifolia* Bge. Seeds oil. J Agri Life Sci 24: 24-30.
- Lee SH, Ahn SK, Jeong SK. 2004. Skin barrier. Ryo Moon Gak.PCo., Seoul, pp 1-7.
- Lee SJ, Lee IS, Mar W. 2003. Inhibition of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 activity by 1,2,3,4,6-penta-O-galloyl-beta-D-glucose in murine macrophage cells. Arch Pharm Res 26: 832-839.
- Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. 1991. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. Pharmacol Rev 43: 109-142.
- Mu MM, Chakravorty D, Sugiyama T, Koide N, Takahashi K, Mori I, Yoshida T, Yokochi T. 2001. The inhibitory action of quercetin on lipopolysaccharide-induced nitric oxide production in RAW 264.7 macrophage cells. J Endotoxin Res 7: 431-438.
- Nathan C, Xie QW. 1994. Nitric oxide synthases: roles, tolls, and controls. Cell 78: 915-918.
- Oh SJ, Hong SS, Kim YH, Koh SC. 2008. Screening of biological activities in fern plants native to Jeju island. Korean J Plant Res 21: 12-18.
- Otuki MF, Vieira-Lima F, Malheiros A, Yunes RA, Calixto JB. 2005. Topical antiinflammatory effects of the ether extract from *Protium kleinii* and alpha-amyrin pentacyclic triterpene. Eur J Pharmacol 507: 253-259.

Anti-Inflammatory Effects of *Xanthoceras sorbifolia* Seeds Oil

- Park YH, Lim SH, Ham HJ, Kim HY, Jeong HN, Kim KH, Kim S. 2010. Isolation of anti-inflammatory active substance β -sitosterol from seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) stem. J Kor Soc Food Sci Nutr 39: 980-985.
- Park YH, Lee KY, Hong SY, Kim HY, Heo NK, Kim KH. 2012. A study on physiochemical characteristics of *Xanthoceras sorbifolia* seeds oil. J Kor Soc Food Sci Nutr 41: 1747-1752.
- Ryu JH, Ahn H, Kim JY, Kim YK. 2003. Inhibitory activity of plant extracts on nitric oxide synthesis in LPS-activated macrophages. Phytother Res 17: 485-489.
- Storck M, Schilling M, Burkhardt K, Prestel R, Abendroth D, Hammer C. 1994. Production of proinflammatory cytokines and adhesion molecules in ex-vivo xenogeneic kidney perfusion. J Transpl Int 7: 647-656.
- Talhouk RS, Karam C, Fostok S, El-Jouni W, Barbour EK. 2007. Anti-inflammatory bioactivities in plant extracts. J Med Food 10: 1-10.
- Yeom MJ, Choi BH, Han DO, Lee HJ, Shim IS, Kim SH, Hahm DH. 2004. In vitro inhibition of pro-inflammatory mediator mRNA expression by nephrite in lipopolysaccharide-induced mouse macrophage cells. Kor J Ori Med Physiol Pathol 18: 1622-1627.
- Zhang S, Zu YG, Fu YJ, Luo M, Liu W, Li J, Efferth T. 2010. Supercritical carbon dioxide extraction of seed oil from yellow horn (*Xanthoceras sorbifolia* Bunge.) and its anti-oxidant activity. Bioresour Technol 101: 2537-2544.