

디엠프리(녹차 추출물)가 나균 감염 중간엽 줄기세포의 유전자 발현에 미치는 영향

†박 란 숙

승의여자대학교 식품영양과

Effect of DMfree[®] (GTE) on Gene Array Profile of *M. leprae* Infected Mesenchymal Stem Cells

†Ran-Sook Park

Dept. of Food & Nutrition, Soongui Women's College, Seoul 100-751, Korea

Abstract

This study found antibacterial activity of DMfree[®] [green tea extract] on facultative bacteria by direct petri dish method and gene array of obligatory *M. leprae* infected mesenchymal stem cells (MSC). While DMfree showed DPPH radical scavenging effect and high contents of polyphenol, it did not inhibit growth of facultative bacteria such as *E. coli* and *S. aureus* on the petri dish. The result does not exclude a possible antibacterial effect of organic solvent extract of green tea rather than DMfree which comes from the water extract of green tea. Pre-treatment of DMfree appeared to have no effect on copy number of 14 genes compared with control MSC by real-time RT-PCR. However pre-treatment of DMfree on *M. leprae* infected MSC revealed a significant decrease of anti-inflammatory cytokine (IL-6), ($P<0.038$) and sharp down-regulation of pro-inflammatory cytokine (IL-1). Enhanced expression of VEGFR-1 mRNA was noted in DMfree pretreated *M. leprae* infected MSC group ($P<0.003$). These results show that DMfree would stabilize *M. leprae* infected MSC from further inflammation by down-regulating anti-inflammatory cytokine (IL-6) and pro-inflammatory cytokine (IL-1 β). This is the first report on DMfree inhibition of IL-6 and IL-1 β expression in *M. leprae* infected MSC. Further experiments that detect protein levels of IL-1 β and IL-6 may support the result of this gene array.

Key words: real-time RT PCR, DMfree, *E. coli*, *S. aureus*, *M. leprae*, IL-6, IL-1 β , polyphenol

서 론

차(*Camellia sinensis*)는 물 다음으로 많이 섭취하는 음료이며, 각 지역에 따라 녹차, 홍차(발효로 인하여 차잎이 검게 된 것은 흑차), 우롱차 등의 형태로 소비하고 있지만, 녹차의 카테킨 함량이 가장 많아 심혈관질환을 감소시키고, 항박테리아, 항바이러스, 구강보건 증진 효과는 녹차에서 가장 유의하다는 보고가 있다(Cabrera 등 2006; Chacko 등 2010). Sumpio 등(2006)은 심혈관질환, 심근경색증, 뇌졸중, 폐암 등의 유발 인자로 알려진 흡연과 심혈관질환, 폐암, 그리고 녹차 소비의

연관성을 조사한 바, 담배 소비가 높은 아시아지역 국가 특히 일본, 한국, 중국 등에서 폐암과 동맥경화로 인한 사망률이 미국이나 영국 등 서구 국가에 비하여 낮은 원인은 녹차의 소비량이 높기 때문이라는 소위 Asian Paradox를 주장하였다(Cordova 등 2012).

녹차는 발효차에 비하여 epigallocatechin-3-gallate(EGCG) 등 폴리페놀 성분이 많고, 중국, 일본, 한국에서 많이 마시며, 잎과 어린 싹을 볶아서 물에 타 마시는 음료로서, 오랜 세월 동안 우리가 즐겨온 풍미 중의 하나이다. 매일 같이 마시는 녹차를 통해 우리 몸에 필요한 유효성분인 폴리페놀, 플라보

† Corresponding author: Ran-Sook Park, Dept. of Food & Nutrition, Soongui Women's College, Seoul 100-751, Korea. Tel: +82-2-3708-9249, Fax: +82-2-3708-9121, E-mail: ransook@sewc.ac.kr

노이드를 섭취하고 있다. 또한, 녹차는 C형 간염 바이러스의 증식을 억제한다는 보고도 있다(Lin 등 2013). 국내산 보성 녹차의 추출물(green tea extracts, GTE)인 디엠프리®[DM free (CHMC-2032)]는 암세포주를 살해하는 기능이 있고(Lee 등 2011), 충치의 원인균에 대한 억제 기능이 보고되었다(Lim 등 2003).

충치의 원인균이며 세포외 환경에서 증식하는 통성세균인 *Streptococcus mutans*에 대한 디엠프리의 억제효과는 알려졌지만, 세포내 환경에서 증식하는 편성세균인 결핵균(*Mycobacterium tuberculosis*), 나균(*Mycobacterium leprae*) 등 만성염증 세균에 대한 GTE의 효과는 밝혀진 바가 없다.

따라서 본 연구는 디엠프리의 항세균 효과를 연구하기 위하여 통성세균이며, 급성 염증인 식중독의 가장 흔한 원인균인 대장균과 포도상구균의 증식을 억제하는 기능을 페트리 디쉬에서 항생제 처리하여 비교하였다. 더 나아가서 디엠프리의 항산화 활성과 폴리페놀 함량을 측정하였다. 편성세균에 대한 디엠프리의 효과는 나균(*Mycobacterium leprae*)을 중간엽 줄기세포(mesenchymal stem cell, MSC)에 감염시켜 연구하였다. 나균은 결핵균(*Mycobacterium tuberculosis*)에 비하여 다루기 쉽고 biosafety level 2인 클린벤치에서 실험할 수 있다.

최근 MSC가 대식세포의 면역조절능력을 유도한다는 보고(Eggenhofer & Hoogduijn 2012)가 있었기 때문에 transformed cell line인 대식세포주보다는 MSC를 사용하였다. 디엠프리 처리가 대조군 MSC와 차이가 있는지, 디엠프리 전처치가 나균 감염 후 MSC의 염증 관련 사이토카인에 영향을 미치는지 비교 관찰하였다. 특히 anti-inflammatory cytokine과 pro-inflammatory cytokine, 세포외기질과 뇌혈관염증 억제유전자, 그리고 지질 생산 유전자인 PPAR- γ 등 14개 유전자의 real-time RT PCR array를 이용하여 유전자 발현의 차이를 비교하였다.

재료 및 방법

1. 녹차 추출물(GTE)

연구에 사용한 녹차는 조선대학교 이병래 교수가 특허를 가진 녹차 추출물 디엠프리[DM free(CUMC-2032)]를 가톨릭 의대 순환기내과 명예교수인 김재형 교수로부터 기증받았다. 제작방법은 건조녹차 잎 분말 5 kg을 증류수 50 l에 가열하고 원심분리하여 얻은 상층액을 4°C에서 overnight 시킨 다음 원심분리하여 얻은 상층액을 건조기에서 건조하여 마쇄한 분말을 시료 처리한 만든 DM free를 사용하였다(Lee 등 2011).

2. 통성세균 증식 억제 측정

대수기까지 자란 *S. aureus*(황색포도상구균) 또는 *E. coli*

(대장균)의 집락을 2~3개 취하여 Trypticase soy broth에 현탁하였다. 현탁액을 표준탁도(MacFarland 0.5)로 조절배양한 후, 균액을 면봉으로 Mueller-Hinton(pH 7.2) 고체배지 표면에 선 획(streak)을 그으면서 접종하였다. 균이 접종된 평판배지의 표면에 표준 항생제 디스크(황색포도상구균; ampicillin 10 μ g, 대장균; gentamicin 10 μ g)와 디엠프리 1 mg/ml, 10 mg/ml의 디스크를 놓은 후 35°C의 배양기에서 뒤집어서 16~18시간 배양 후에 균의 성장이 억제된 증식억제 범위의 직경을 측정하였다.

3. DPPH(2,2-Diphenyl-1-picryl hydrazyl) radical 소거능 측정

Blois MS(1958)의 방법에 따라 Control(vit. C 100 μ g/ml)과 GTE를 계대희석한 15.62~250 μ g/ml의 시료 1.0ml에 0.4mM DPPH 1.0 ml를 첨가한 후 혼합교반하고 실온에서 30분간 방치한 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 라디칼 소거능력의 값은 DPPH가 첨가되지 않은 Blank 흡광도에서 각각의 시료흡광도를 빼고, Blank 흡광도로 나누어 백분율화($\times 100$)하였다.

4. 총 폴리페놀 함량 측정

일반적인 Folin-Denis 방법에 따라 control(vit. C 100 μ g/ml)과 GTE를 계대희석한 각각의 시료액 1 ml에 Folin-Ciocalteu's reagent 1 ml를 가하고 3분간 반응시킨 후 10% Na₂CO₃ 용액 1 ml를 가하여 혼합한 다음 실온에서 1시간 반응시킨 후 760 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준곡선은 gallic acid를 증류수로 녹여 농도가 15.62~250 μ g/ml 용액이 되도록 제조하여 시료와 동일한 방법으로 측정하고, 표준곡선으로부터 각각의 농도에 대한 총 폴리페놀의 함량을 산출하였다.

5. 디엠프리 전처치에 의한 MSC 및 나균 감염 MSC의 염증관련 유전자 발현

1) 디엠프리의 적정 농도와 나균의 감염

Kang 등(2004)의 방법에 따라 누드 마우스의 골수에서 분리하여 가톨릭의대에 보관 중인 MSC에 녹차 추출물인 디엠프리를 0.1, 1.0, 10, 100, 1,000 μ g/ml로 각각 투여하고, 24시간 배양(37°C, 5% CO₂)한 후 세포 증식과 세포 생존의 정도를 측정하였다(Park 2009). 그 결과, 세포의 증식과 생존력에 별다른 영향을 미치지 않는 디엠프리의 최종농도를 1.0 μ g/ml로 결정하였다. 각 균은 (1) 대조군(MSC), (2) 디엠프리 처치군(D+M), (3) 나균 처치군(M+ML), (4) 디엠프리 처치후 나균 감염군(D+M+ML) 등 4군이다. 나균(*M. leprae*)은 MSC 수에 1:25배로 4시간 감염시킨 후 세포외에 존재할 수 있는 나균은

수세로 제거하였다. 나균은 가톨릭의대 한센병연구소에서 공급받았다.

2) 검색 유전자의 선택과 Probe Design

디엠프리 전처치에 의해 변화를 보이는 유전자들을 문헌 검색한 다음, nuclear transcription factor, pro-inflammatory cytokines, anti-inflammatory cytokines, extracellular matrix, cerebral micro-vascular genes, T-cell mediated autoimmune disease genes, 지질 합성 유전자 등 임의로 7개 그룹의 유전자를 정하고, 각 그룹에서 대표적 유전자를 2개씩 선택하였다. 독일 Roche 사에 각각 유전자에 대한 특정한 DNA 염기 서열에 대응하는 probe의 labelling을 주문 제작하였다(Table 1).

3) Total RNA의 분리 및 정량

각각의 실험군에서 얻은 세포에 lysis buffer를 추가하여 RNA를 분리하고, high pure filter tube에서 거른 다음 DNase로 실온에서 15분간 처리하였다. Washing buffer로 수세하고, elution buffer로 total RNA를 수확하였다.

4) cDNA의 합성

Nano drop1000 분광계(Thermo scientific Ltd, USA)에서 RNA를 정량하고, 실험군 간에 같은 양의 RNA로 조정된 후 oligo dT와 random primer를 넣고, RNase inhibitor와 RNase를 첨가한 후 25 $^{\circ}$ C 10분, 50 $^{\circ}$ C 60분, 85 $^{\circ}$ C 5분간 cDNA를 합성하였다.

Table 1. Name of genes with their function and corresponding Roche number

Genes	Function of genes	Roche No.
NF- κ B	Nuclear transcriptional factor	300085
AP-1		311848
IL-1 β	Pro-inflammatory cytokines	310471
IFN- γ		310470
TNF α	Anti-inflammatory cytokines	314800
IL-6		300071
VEGFR-1	Extra-cellular matrix, inflammation & cancer	312129
MT1-MMP		301366
MCP-1	Inhibition inflammation in cerebral micro-vascular	310467
ICAM-1		310827
T-bet	T cell mediated autoimmune disease	313452
ROR1		310576
PPAR- γ	Lipid synthesis	310239
mTOR		311714

5) Real-time PCR

각 유전자들의 발현을 확인하고자 96 well plate에서 배양 중인 세포들을 high pure RNA isolation kit(Roche Co, Germany)로 RNA를 추출하고, RNase inhibitor 20 U를 첨가해 실험에 사용하였다. 로슈사의 cDNA synthesis kit의 설명서 방법대로 cDNA를 합성한 후, real-time PCR용 master mixtures(Tag polymerase, buffer, dNTP mix 포함)와 함께 probe가 표지된 plate에 넣고, Light Cycler 480(Roche)에서 각각의 샘플을 pre-incubation 1회, amplification (95 $^{\circ}$ C 10 sec/60 $^{\circ}$ C 30 sec/72 $^{\circ}$ C 1 sec) 40회, cooling 1회하여 증폭된 cDNA copy 수를 확인하였다(Park 2012).

6) 유전자의 발현 분석과 통계처리

유전자 발현은 동일한 실험 내에서 3회에 걸쳐 측정하였으며, 카피수는 mean \pm S.D. 치로 하였다. 발현된 양(Target/Reference Cp)은 MSC 군의 유전자 발현 copy 수를 1.0으로 normalize하고, 다른 군의 발현 카피 수를 비교 분석하였다(Park 2012). 통계처리는 student *t* test를 사용하여 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

1. 디엠프리에 의한 통성세균 억제

디엠프리는 1,10 mg/ml 수준에서는 페트리 디쉬에서 증식하고 있는 *E. coli*와 *S. aureus*의 증식을 억제시키지 못하였지만, 엠프실린과 겐타마이신에서는 24 mm의 투명한 증식 억제를 보였다(Fig. 1). Lim 등(2003)이 액체배지 희석법을 사용하여 충치의 원인균인 *Streptococcus mutans*의 최소억제농도가 5 mg/ml였다는 보고와 다른 결과를 보이는 이유는 검사방법의 차이라고 할 수 있다. 평판배지를 이용한 본 실험의 방법

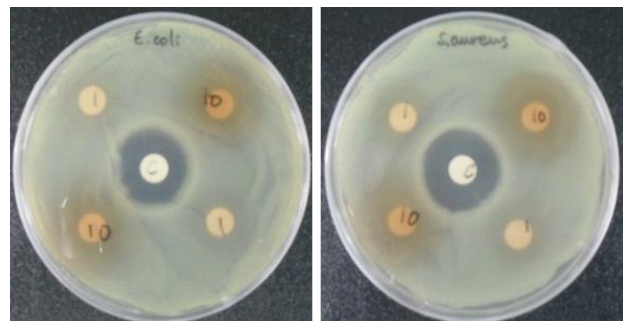


Fig. 1. DMfree at concentration of 1 mg (left upper and right lower) and 10 mg (right upper and left lower) can not inhibit growth of *E. coli* (left) and *S. aureus* (right) in comparing with antibiotics (gentamicin for *E. coli* or ampicillin for *S. aureus*) on center of the petri dish, which show clear area of inhibition up to 24 mm in diameter.

이 더 직접적이고 분명하다고 할 수 있고, 대장균이나 황색포도상구균을 항생제처럼 직접 증식 억제 능력이 없다고 판단된다. 그러나 Reygaert & Jusufi(2013) 역시 GTE가 액체배지 희석법상 요로감염에서 분리한 대장균의 증식을 억제하였다고 보고하였으며, 녹차섭취는 항미생물 효과를 나타낼 수 있다고 주장하였다. 따라서 수성추출물인 디엠프리와 달리 유기용매로 추출한 GTE를 사용할 경우 항박테리아 효과를 나타낼 수도 있다고 본다.

2. 항산화 능력 측정

DPPH radical을 제거하는 능력은 비타민 C를 기준으로 하였을 때, 31.25 $\mu\text{g/ml}$ 에서부터 250 $\mu\text{g/ml}$ 까지 비타민 C보다 높

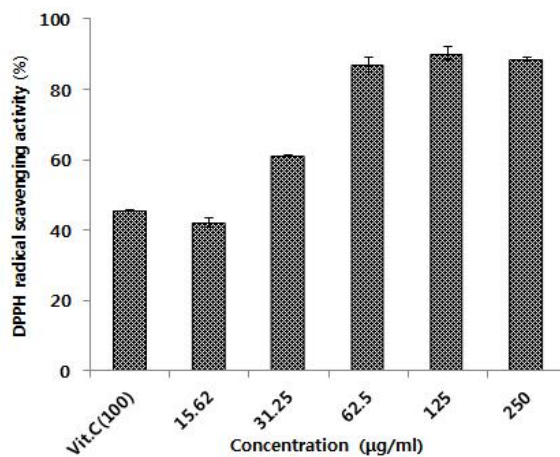


Fig. 2. DMfree scavenged DPPH radical more effectively than that of vitamin C from concentration of 31.25~250 $\mu\text{g/ml}$. IC_{50} of DMfree is 22.60 $\mu\text{g/ml}$.

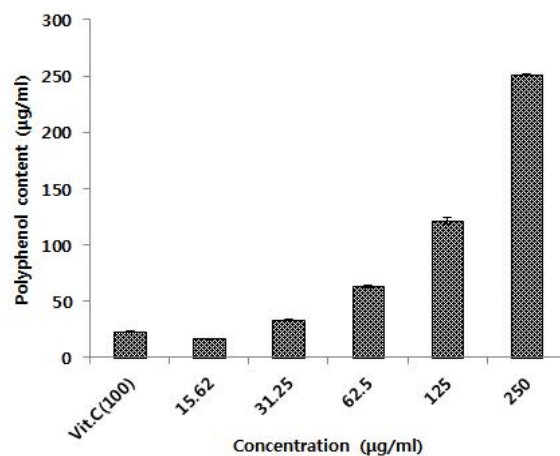


Fig. 3. Polyphenol contents of DMfree increased gradually by concentration from 15.62 $\mu\text{g/ml}$ to 250 $\mu\text{g/ml}$. The polyphenol contents of DMfree is 100.43 mgTAE/100 g.

은 항산화 능력을 보였으며(Fig. 2), IC_{50} 은 22.60 $\mu\text{g/ml}$ 였다. 본 실험에 사용한 GTE인 디엠프리 내의 폴리페놀은 31.25 $\mu\text{g/ml}$ 부터 비타민 C보다 높게 측정되었으며, 250 $\mu\text{g/ml}$ 이상부터는 폴리페놀이 250 $\mu\text{g/ml}$ 이상으로 비타민 C에 비하여 70배 이상으로 높았다(Fig. 3). 총 폴리페놀량은 비타민 C가 23.13 mg TAE/100 g이었지만, 디엠프리는 100.43 mgTAE/100 g이었다. 녹차는 홍차에 비하여 항산화제인 폴리페놀이 6배 더 많고, 다른 식품의 항산화제와 상가, 상승의 항산화 작용을 나타낸다고 한다(Chacko 등 2010). Hsu 등(2007)은 혈액 투석 중인 환자들에게 장기간 catechin을 섭취시킨 결과, 혈액 투석으로 인하여 발생한 유해물질인 혈중 hydrogen peroxide, hypochlorous acid, pro-inflammatory cytokine 등을 대조군, 비타민 C 투여군에 비하여 더욱 효과적으로 감소시켰다고 하였다.

3. 디엠프리 전처치 후 MSC 및 나균 감염 MSC의 염증 관련 유전자 발현의 변화

기초실험 결과, MSC의 증식과 생존율에 미치는 적절한 디엠프리의 농도는 1 $\mu\text{g/ml}$ 이었다. MSC에 10 $\mu\text{g/ml}$ 이상의 디엠프리를 투여하면 세포 증식이 감소되었고, 생존율 역시 80% 미만으로 감소하였다. MSC군과 디엠프리를 처치한 MSC군을 비교하면 anti-inflammatory, pro-inflammatory cytokine과 nuclear transcriptional factor 유전자 등 전체 14개 유전자 발현의 유의한 차이가 없었다. 그러나 디엠프리를 전처치하고 나균을 감염시킨 D+M+ML군에서는 pro-inflammatory cytokine 중 IL-1 β 의 감소(Fig. 4, Table 2)와 anti-inflammatory cytokine 중 IL-6 유전자 발현의 유의한 감소($P < 0.038$)가 관찰되었다(Fig. 5, Table 2). 또한 세포외기질에 관련하는 VEGFR-1 유전자 발현의 유의한 증가($P < 0.003$)가 나타났다(Table 2). 즉, 디엠프리가 편생세균인 나균 감염 후 MSC의 염증 관련 cytokine 중 대표적인 IL-1 β 와 IL-6 유전자 발현을 감소시킨 점으

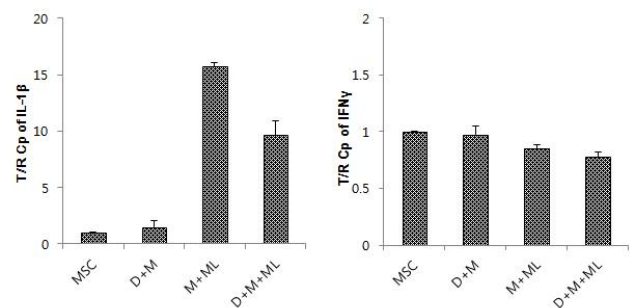


Fig. 4. DMfree pretreatment induced sharp decrease of gene expression of IL-1 β than that of *M. leprae* infected MSC (M+ML), but there was no difference of IFN- γ expression between control (MSC, M+ML) and DMfree treated (D+M, D+M+ML) groups.

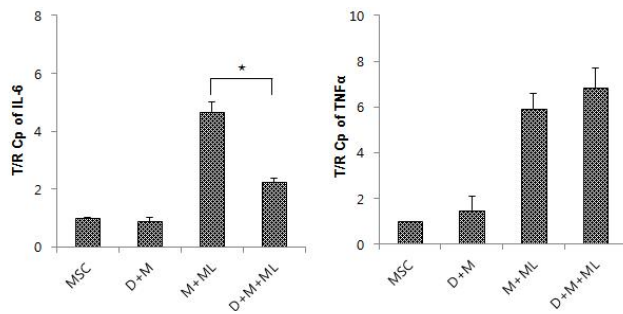


Fig. 5. DMfree treatment (D+M+ML) inhibited IL-6 expression significantly, but TNF α showed no significant changes between two groups.

로 볼 때 더 많은 연구가 필요하겠지만, 현재로서는 나균에 감염된 MSC를 안정화 시킬 수 있다고 가정할 수 있다.

녹차 성분이 항암 작용이나 항염증 작용을 나타내는 것은 녹차가 직접적으로 암세포 염증의 원인을 제거하기 때문이 아니라, 세포의 유전자 수준에 영향을 미쳐 단백질의 생산에 관련된 여러 가지 신호 경로 즉, post-transcription pathway에 영향을 주기 때문이라는 보고들이 있었다(Khan 등 2006; Cao 등 2007; Wu 등 2012). 대부분의 연구들이 단일 유전자의 copy 수 증가와 단백질 발현을 분자생물학적으로 분석하는데 그치고 있었다. 본 논문과 같이 디엠프리 전처치가 편성세균인 나균 탐식 MSC의 다양한 유전자 발현의 양적 변화를

윤곽적으로 파악한 연구는 없었다.

IL-1 β 유전자 발현 감소는 나균 감염 후 숙주세포가 생산하는 IL-1 β 의 양을 감소시켜 육아종 발생을 억제하는지는 더 많은 연구가 필요하다. Wheeler 등(2004)도 EGCG가 기관지상피세포의 IL-1 β 에 의한 pro-inflammatory cytokine signal을 차단한다고 보고하였다. Hsu 등(2007)도 혈액투석 환자에서 GTE 장기 투여가 혈중 IL-1 β 가 감소하였다고 보고한 바 있어서 본 연구의 결과와 잘 일치하고 있다. IL-6 유전자 발현은 MSC에 디엠프리를 투여한 경우에는 증감이 없었지만, 나균 감염에 의해 발생한 IL-6 발현의 유의한 감소는 디엠프리가 숙주세포의 염증 관련 유전자들을 억제하고 있음을 말해주고 있다. 이는 Relja 등(2011)이 랫트의 간 손상 후 발생한 IL-6 증가를 GTE가 유의하게 증가시킨다는 발표와 일치한다.

MSC의 NF- κ β 유전자 발현은 디엠프리 전 처치한 나균 감염군(D+M+ML)이 나균 감염군(M+ML)에 비하여 다소 감소된 양상을 보였다(Fig. 6). 이는 Yang 등(2001)이 EGCG가 I κ β kinase를 억제함으로써 장상피세포주의 NF- κ β 를 차단한다는 억제하는 기존의 보고와 일치하는 결과이다. 또한 Park 등(2012)도 GTE가 식이로 유발한 비만 랫트의 NF- κ β 활성을 억제한다고 하였다(Fig. 6).

기타 extracellular matrix gene과 MCP-1, ICAM-1, VEGFR1 등의 유전자 발현은 유의한 변화가 없었다.

Table 2. Gene profile expressed by DM-free administration before *M. leprae* infection

Groups	Genes	Description	Mean of T/R Cp		Folds	P value
			M+ML	D+M+ML		
Nuclear transcriptional factor	NF- κ β	Nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer	1.389	1.105	▼1.257	0.243
	AP-1	The activator protein 1/ Jun oncogene gene	1.106	1.134	▲1.025	0.450
Pro-inflammatory cytokines	IL-1 β	Interleukin 1 beta gene	15.710	9.623	▼1.633	0.126
	IFN- γ	Interferon gamma gene	0.848	0.776	▼1.093	0.450
Anti-inflammatory cytokines	TNF α	Tumor necrosis factor gene	5.937	6.821	▲1.149	0.113
	IL-6	Interleukin 6 gene	4.676	2.243	▼2.085	0.038*
Extra-matrix inflammation & cancer	VEGFR-1	Vascular endothelial growth factor receptor gene	1.471	1.814	▲1.233	0.003*
	MT1-MMP	Matrix metalloproteinase 14 (membrane-inserted) gene	0.975	1.092	▲1.120	0.129
Inhibition inflammation in cerebral micro-vascular	MCP-1	Monocyte chemoattractant protein-1/chemokine (C-C motif) ligand 2 gene	7.804	5.773	▼1.352	0.053
	ICAM-1	Intercellular adhesion molecule 1 gene/CD54	5.275	4.493	▼1.174	0.120
T cell mediated autoimmune disease	T-bet	Transcriptional gene for Th1 cell differentiation	0.953	1.002	▲1.051	0.562
	ROR1	Receptor-tyrosine-kinase-like orphan receptor 1 gene	0.964	0.866	▼1.113	0.294
Lipid synthesis	PPAR- γ	Peroxisome proliferator-activated receptor gamma gene	0.835	0.906	▲1.085	0.348
	mTOR	Mammalian target gene of rapamycin	1.116	1.006	▼1.109	0.322

Numerical value indicates decrement (▼) and increment (▲) in the fold of gene copy expression. T means target genes and R for reference genes. D; DMfree, M; MSC, ML; *Mycobacterium leprae*.

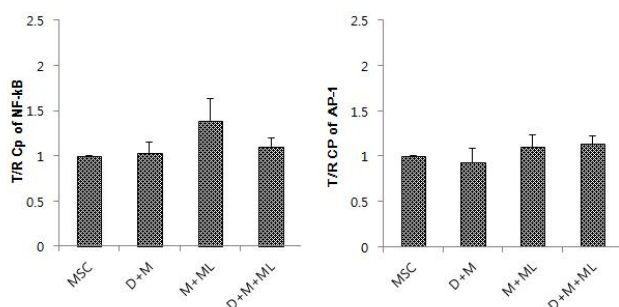


Fig. 6. NF- κ B gene expression in D+M+ML showed slight lower level than that of M+ML. AP-1 gene expression did not show any change in expression with no significance.

요약 및 결론

녹차추출물인 디엠프리[DMfree, CHMC-2032]의 항세균 효과를 연구하기 위하여 통성세균인 대장균, 황색포도상구균의 증식 억제기능을 페트리 디쉬에서 관찰하였으며, DPPH radical 소거능 및 폴리페놀 양을 측정하였다. 편성세균 감염에 대한 효과를 보기 위하여 디엠프리를 전처리한 후 MSC에 나균을 감염시켜, 나균만 감염시킨 대조군과 pro-inflammatory, anti-inflammatory cytokine 유전자와 NF- κ B 유전자 등 14개 유전자의 발현을 gene array와 real time RT PCR 로 cDNA copy를 측정하여 비교하였다.

수용성 추출물인 디엠프리는 DPPH radical 소거능은 높고, 폴리페놀 함량은 높았지만, 페트리 디쉬에서 통성세균인 대장균과 황색포도상구균의 증식을 직접적으로 억제할 수 없었다. 녹차분말의 유기용매 추출액의 통성세균 증식 억제 여부는 더 연구가 필요하다. MSC에 비하여 디엠프리를 처리한 MSC는 14개 유전자의 발현에 유의한 증감은 없었다. 그러나 디엠프리 전처치는 나균 감염 후 발생한 MSC의 IL-1 β 유전자를 현저하게 감소시켰으며, IL-6 유전자 발현을 유의하게 억제하였다($P<0.038$). 또한 VEGFR-1 유전자 발현을 유의하게 증가시켰다($P<0.003$). 이는 녹차가 편성세균인 나균 감염 후 숙주세포의 염증 관련 유전자를 억제한다는 최초의 보고이다. 디엠프리 전처치는 나균 감염 후 발생한 NF- κ B 유전자 발현을 다소 감소시켰지만 유의하지는 않았다.

이 결과를 뒷받침하기 위하여 IL-1 β 와 IL-6, VEGFR-1 단백질의 정량이 필요하다. 아울러 이미 알려진 바와 같은 NF- κ B 활성경로를 따라서 이와 같은 유전자 발현의 감소가 일어나는지에 대한 추후 연구가 필요하다.

감사의 글

본 논문은 숭의여자대학 교내 연구비 지원에 의해 이루어졌

다. 중간엽 줄기세포와 나균을 지원해준 가톨릭의대 연구팀과 통성세균과 실험에 도움을 준 삼육대학교 약학과에 감사드린다.

References

- Cabrera C, Artacho R, Gimenez R. 2006. Beneficial effect of green tea: A review. *J Am Coll Nutr* 25:79-99.
- Cao H, Kelly MA, Kari F, Dawson HD, Urban JF, Coves S, Roussel AM, Anderson RA. 2007. Green tea increases anti-inflammatory tristetraprolin and decreases pro-inflammatory tumor necrosis factor mRNA levels in rats. *J Inflamm (Lond)* 4:1-12
- Chacko SM, Thambi PT, Kuttan R, Nichigaki I. 2010. Beneficial effects of green tea: A literature review. *Chinese Medicine* 5:13-21
- Cordova AC, Sumpio BJ, Sumpio BE. 2012. Collective review, perfecting the plate: Adding cardioprotective compounds to the diet. *J Am Coll Surg* 214:97-114
- Eggenhofer E, Joogduijn M. 2012. Mesenchymal cell-educated macrophages. Review. *Transplant Res* 1:12
- Hsu SP, Wu MS, Yang CC, Huang KC, Liou SY, Hsu SM, Chien CT. 2007. Chronic green tea extract supplementation reduces hemodialysis-enhanced production of hydrogen peroxide and hypochlorous acid, atherosclerotic factors, and proinflammatory cytokines. *Am J Clin Nutr* 86:1539-1547
- Kang TJ, Yeom JE, Lee HJ, Rho SH, Han H, Chae GT. 2004. Growth kinetics of human mesenchymal stem cells from bone marrow and umbilical cord blood. *Acta Haematol* 112:230-233
- Khan N, Afaq F, Saleem M, Ahmad N, Mukhtar H. 2006. Review. Targeting multiple signaling pathways by green tea polyphenol (-)epigallocatechin-3-gallate. *Cancer Res* 66:2500-2505
- Lee BR, Park JY, Park PS. 2011. Effect of green tea extract on cisplatin- or doxorubicin-induced cytotoxicity in human lung cancer cell lines. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40:619-924
- Lim SH, Seo JS, Yoon YJ, Kim KW, Yoo SY, Kim HS, Kook JK, Lee BR, Cha JH, Park JY. 2003. Effect of leaf-extract from *Camellia sinensis* and seed-extract from *Casia tora* on viability of mutans streptococci isolated from the interface between orthodontic brackets and tooth surfaces. *Korea J Orthod* 33:381-389
- Lin Y-T, Wu Y-H, Tseng C-K, Lin C-K, Chen W-C, Hsu YC, Lee JC. 2013. Green tea phenolic epicatechins inhibit hepatitis

- C virus replication via cyclooxygenase-2 and attenuate virus-induced inflammation. *PLoS ONE* 8:e54466
- Liu D, Zhang X, Jiang L, Guo Y, Zheng C. 2013. Epigallocatechin-3-gallate (EGCG) attenuates concanavalin A-induced hepatic injury in mice. *Acta Histochem* 381:1916-1925
- Park HJ, Lee JY, Chung MY, Park YK, Bower AM, Koo SI, Giardina C, Bruno RS. 2012. Green tea extract suppresses NF κ B activation and inflammatory responses in diet-induced obese rats with nonalcoholic steatohepatitis. *J Nutr* 142:57-63
- Park RS. 2012. Gene profile of mesenchymal stem cells induced by SAC or hydrogen peroxide (H₂O₂). *Korean J Food & Nutr* 25:863-870
- Relja B, Töttel E, Breig L, Henrich D, Schneider H, Marzi I, Lehnert M. 2011. Effects of green tea catechins on the pro-inflammatory response after haemorrhage/resuscitation in rats. *Br J Nutr* 105:1791-1797
- Reygaert W, Jusufi I. 2013. Green tea as an effective antimicrobial for urinary tract infections caused by *Escherichia coli*. *Front Microbiol* 4:162 (article number)
- Sumpio BE, Cordowa AC, Berke-Schlessel DW, Qin F. 2006. Green tea, the "Asian Paradox," and cardiovascular disease. *J Am Coll Surg* 202:813-825
- Wheeler DS, Catravas JD, Odoms K, Denenberg A, Malhotra V, Wong HR. 2004. Epigallocatechin-3-gallate, a green tea-derived polyphenol, inhibits IL-1 beta-dependent proinflammatory signal transduction in cultured respiratory epithelial cells. *Nutr* 134:1039-1044
- Wu D, Wang J, Pae M, Meydani SN. 2012. Review. Green tea EGCG, T cells, and T cell-mediated autoimmune diseases. *Mol Aspects Med* 33:107-118
- Yang F, Oz HS, Barve S, Villiers JS, McClain GJ, Varlilek, GW. 2001. The green tea polyphenol(-)-epigallocatechin-3-gallate blocks nuclear factor- κ B activation by inhibiting I κ B kinase activity in the intestinal epithelial cell line ILC-6. *Mol Pharmacol* 60:528-533

접 수 : 2014년 2월 28일
 최종수정 : 2014년 4월 7일
 채 택 : 2014년 4월 10일