

후코이단이 쥐의 급성 알콜성 간손상에 미치는 영향

김미자 · 전홍일¹ · 이성표² · 이진실^{3,*}

성균관대학교 생명공학대학, ¹(주)해원 바이오테크, ²(주)미시바알텍
³상명대학교 외식영양학과

Protective Effects of Fucoidan against Acute Alcohol-induced Liver Injury in Rats

Mi-Ja Kim, Joseph Jeon¹, Sung Pyo Lee², and Jin-Sil Lee^{3,*}

College of Biotechnology and Bioengineering Bioengineering, Sungkyunkwan University

¹Haewon Biotech, Inc.

²Misuba RTech Co., Ltd.

³Department of Foodservice Management and Nutrition, Sangmyung University

Abstract The purpose of this study was to investigate the protective effects of fucoidan on acute alcohol-induced liver injury in rats. Experimental animals were randomly divided into four groups: (1) a control group, (2) a group fed 25% ethanol, (3) a group fed 25% ethanol and 250 mg/kg BW of fucoidan (25% ethanol+FUCO250), and (4) a group fed 25% ethanol and 500 mg/kg BW of fucoidan (25% ethanol+FUCO500). Each group was fed orally two times per day for 15 days. Liver weights in the 25% ethanol group were increased compared to the control group, while liver weights in the 25% ethanol+FUCO500 group were significantly decreased compared to the 25% ethanol group ($p<0.05$). Plasma concentrations of triglyceride, cholesterol, and LDL-cholesterol were elevated in the 25% ethanol group; however, these levels in the 25% ethanol+FUCO250 group were significantly decreased compared to the 25% ethanol group ($p<0.05$). The glutamic-pyruvic transaminase activity of the 25% ethanol+FUCO500 group also was significantly lower than the 25% ethanol group ($p<0.05$). These results indicate that fucoidan might protect against acute alcohol-induced liver injury.

Keywords: acute alcohol injury, fucoidan, glutamic-pyruvic transaminase, liver injury

서 론

최근 의학 기술의 발달과 영양상태의 개선 등으로 인해 평균수명이 연장됨에 따라 인구의 고령화 현상이 두드러지게 나타나고 있는데, 이로 인해 발생하는 만성퇴행성질환은 한 가지의 원인에 의한 것이 아니라 여러 복합적인 원인에 의해 발병되는 것으로 알려져 있다. 이러한 복합적인 원인으로는 평균수명 연장에 따른 흡연, 신체활동부족, 영양섭취, 음주 등 개인의 생활습관이 밀접한 관련이 있는 것으로 분석되었다(1). 이중에서도 2010년 최근 15세 이상 1인당 주류 소비량의 경우 OECD 국가들의 평균 주류소비량은 9.4L인데 우리나라는 9.0L로 적게 섭취하는 것으로 나타났으나, 가까운 일본(7.3L)과 비교하였을 때 소비량이 많은 것으로 분석되었고, 실제로 세계보건기구 회원국 중 13위에 속하여 개발도

상국들을 제외하면 사실상 최상위에 해당하는 것으로 나타났다(2). 또한 우리나라는 도수가 높은 증류주로만 보면 세계 1위로 나타났을 뿐만 아니라 1인당 한국인의 알코올 소비량도 감소하지 않거나 오히려 늘어나고 있는 추세이다. 따라서 현대인은 알코올의 지속적인 과량섭취 후에 나타나는 증후를 예방할 수 있는 유효성이 검증된 건강기능성 식품에 대한 관심이 늘고 있는 실정이다.

후코이단은 해조류에 존재하는 후코오스를 주성분으로 하는 황산기를 함유하고 있는 다당류로 일반적으로 다시마, 미역, 툇 등 갈조류에 존재한다(3). 후코이단의 생리활성으로는 항혈전(4), 항바이러스(5), 항종양(6,7), 면역조절(8), 항산화(9), 위장보호(10) 기능 등이 연구보고 된 바 있다. 뿐만 아니라, 후코이단의 간질환을 완화시켜주는 효능이 있는 것으로 알려져 있는데, Saito 등(11)은 후코이단이 내부 Interleukin (IL)-10을 증가시켜 concanavalin A로 유발된 간손상을 억제하는 것을 보고하였고 Hayashi 등(12)과 Kang 등(13)은 후코이단이 CCl₄로 유발된 간의 섬유화 동물 모델에서 부분적으로 간세포 소멸을 억제시키는 것을 보고 한 바 있다. 이와 같이 후코이단이 동물모델에서 간 손상을 회복시키는 효능이 보고되었으나, 현대인에게 문제가 되는 알코올로 인한 간손상에 관한 연구는 미비한 실정이다. 따라서 본 연구는 다시마 유래 후코이단이 급성 알코올성 간손상 동물모델에서의 간 보호 효능을 확인하고자 시도되었다.

*Corresponding author: Jin-Sil Lee, Department of Foodservice Management and Nutrition, Sangmyung University, Seoul 110-743, Korea
Tel: 82-2-2287-5353
Fax: 82-2-396-5705
E. mail: jsleefn@smu.ac.kr
Received October 3, 2013; revised December 16, 2013; accepted December 17, 2013

재료 및 방법

후코이단 추출

후코이단은 해원 바이오테크(Seoul, Korea)에서 제공한 다시마 (*Laminaria japonica*)에서 추출하여 사용하였다. 추출은 Kim 등 (14)의 방법을 이용하였으며 총당 61.5%, 수분 5.0%, 단백질 5.7%, 지질 0.5%, 회분 27.3%, 황산기 23.5%, 분자량은 80-100 kDa이었다.

실험동물 사육 및 후코이단 경구투여

본 실험에서 사용한 실험동물은 평균체중이 약 250 g인 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐(DBL, Eumseong, Korea)를 1주일간 적응기간을 가진 후, 10마리씩 4군으로 나누었으며, saline 경구 투여한 군(대조군), 25% 에탄올을 5 g/kg BW로 경구 투여한 군(25% ethanol), 25% ethanol과 후코이단 250 mg/kg BW (25% ethanol+FUCO250)을 경구 투여한 군, 25% ethanol과 후코이단 500 mg/kg BW (25% ethanol+FUCO500)을 경구 투여한 군으로 나누었다. 하루에 2회의 saline과 25% 에탄올을 각각 경구투여를 하였는데, 후코이단 경구 투여군은 2회 중 1회는 투여시 후코이단을 25% ethanol 에 녹여 체중 1 kg당 각각 250과 500 mg으로 15일간 경구 투여하여, 후코이단 효과를 관찰하였다. 동물실험실의 환경조건은 실내온도는 23±1°C, 상대습도는 53±2%로 유지하였고 명암은 12시간 주기로 자동 조절하였다.

혈장 채취 및 지질분석

실험기간 15일 후에 12시간 절식시킨 후 ether로 마취시켜 심장채혈법으로 채혈하고, 1,100×g에서 15분간 원심분리 하여 혈장을 분리하여 지질분석을 하였다. 총 중성지질과, 콜레스테롤, HDL-cholesterol commercial kit (Asan Pharmaceutical Co., Seoul, Korea)을 사용하여 표준검량선을 기준으로 산출하였으며 LDL은 다음의 Friedewald 등(15)의 공식으로 계산되었다.

$$\text{LDL-cholesterol} = \text{TC} - \text{HDL} - (\text{TG}/5)$$

또한 혈장중의 glutamic-oxaloacetic transaminase (GOT)와 glutamic-pyruvic transaminase (GPT) 활성치는 kit (Asan pharmaceutical, Seoul, Korea)로 측정하였다.

Haematoxylin & eosin 염색을 통한 간의 조직학적 분석

간을 생리적 식염수에 수세하고, 10% formalin에 48시간 고정시켰다. 이렇게 고정된 간조직을 파라핀 블록으로 만들어 4-5 μm 두께의 절편으로 만든 후, 슬라이드로 만들어 haematoxylin & eosin (H & E)을 이용한 염색을 시행하였다(16).

통계처리

모든 측정치들은 SPSS 12.0 (Chicago, IL, USA)평균과 표준오차로 산정하였고, 각 군간의 평균치와의 유의적인 차이($p < 0.05$)는 분산 분석을 한 후, Duncan's multiple range test에 의해 분석하였다.

결과 및 고찰

후코이단이 급성 알코올성 동물모델의 체중, 식이섭취량, 간 무게에 미치는 영향

본 연구에서 경구 투여한 후코이단 농도는 독성을 나타내지 않고 추출물로서 동물에게 공급하는 방식을 고려하여 결정하였는데, 후코이단의 독성관련 연구에는 Chung 등(17)이 들미역에서 추출한 후코이단의 독성실험 결과 체중 1 kg당 250, 500, 1,000, 2,000 mg을 섭취하여도 독성이 나타나지 않았다고 보고하였고, 다른 후코이단의 사염화탄소 처리에 의한 간중독 모델에서 복강주사로 100 mg/kg BW로 처리하여 효과를 관찰하였다는 연구(13,18)와 다른 여러 추출물의 간손상 모델 연구들(19-21)을 참고하여 결정하였다. 따라서 이와 같이 결정된 후코이단의 급성 알코올성 동물모델에서의 각 실험군의 체중, 식이섭취량, 간 무게의 변화는 Table 1과 같다. 모든 군에서 12일까지는 체중의 유의적인 차이가 없었으나 15일째에는 대조군, 25% ethanol군, 25% ethanol+FUCO250군, 25% ethanol+FUCO500군의 체중이 각각 323.7, 312.5, 327.8, 328.9 g으로 25% ethanol군은 나머지 군보다 체중이 유의적으로 낮은 것으로 나타났다($p < 0.05$). 또한 실험기간동안 하루에 섭취한 식이섭취량의 경우도 대조군, 25% ethanol군, 25% ethanol+FUCO250군, 25% ethanol+FUCO500군이 각각 20.3, 18.8, 20.2, 20.8 g/day로 나타나 25% ethanol군은 나머지 군보다 식이섭취량이 대략 7% 정도 유의적으로 감소한 것으로 나타났다($p < 0.05$). 이러한 결과는 알코올 섭취로 인해 감소된 체중이 후코이단 경구투여로 알코올섭취에 따른 체중 감소가 억제된 것으로 보인다. 이와 같이 알코올 섭취에 의한 체중에 대한 연구결과는 일반적으로 체중증가를 알코올이 저해하는 것으로 보고되었다(22,23). Lee와 Park(24)의 연구에서도 알코올 섭취동물모델에서 체중이 알코올을 섭취한 동물모델이 정상 동물모델보다 다소 체중이 감소함을 관찰할 수 있었고, 이러한 알코올섭취 동물모델에 영지버섯 4%를 섭취하였을 때 유의적인 체중증가는 없었으나 다소 체중이 증가되었다고 보고된 바 있다. 또한 Sohn 등(25)도 알코올 투여 흰쥐에서 실험기간 14일째 정상군에 비해 알코올투여군이 유의적으로 체중이 감소하였고, 대조군과 알코올투여군과의 식이섭취량 비교에서도 10%의 감소를 나타내었다고 보고하여 본 연구결과와 같은 양상을 보였다. 간 무게는 대조군, 25% ethanol

Table 1. Changes of body weight, food intake, and liver weight during fucoidan treatment

Parameters	Groups			
	Control	25% Ethanol	25% Ethanol+FUCO250	25% Ethanol+FUCO500
Body weight (g)				
Day 0	253.1±1.4	251.9±1.0	255±1.0	254.3±1.1
Day 6	296.8±3.2	291.9±5.3	289.3±5.9	290.7±2.8
Day 12	324.3±4.1	312.2±6.1	318.4±5.7	318.8±3.7
Day 15	323.7±3.7 ^{a1)}	312.5±5.5 ^b	327.8±6.9 ^a	328.9±3.5 ^a
Food intake (g/day)	20.3±0.5 ^a	18.8±0.5 ^b	20.2±0.6 ^a	20.8±0.4 ^a
Liver weight (g/100 g BW)	3.3±0.2 ^{ab}	3.6±0.1 ^a	3.3±0.1 ^{ab}	3.2±0.1 ^b

¹⁾Different letter represents significant difference among groups ($p < 0.05$).

Table 2. Effects of the fucoidan on lipid levels in blood

(Unit: mg/dL)

Parameters	Groups			
	Control	25% Ethanol	25% Ethanol+FUCO250	25% Ethanol+FUCO500
TG	30.8±1.5 ^{b1)}	54.3±1.4 ^a	31.5±2.5 ^b	32.9±2.2 ^b
TC	53.2±1.2 ^c	91.3±1.4 ^a	69.7±1.1 ^b	72.8±4.6 ^b
HDL	32.0±1.6 ^b	41.4±3.4 ^a	46.6±3.3 ^a	43.6±3.5 ^a
LDL	15.0±1.2 ^c	39.1±1.4 ^a	16.8±1.1 ^{bc}	22.6±4.6 ^b

¹⁾Different letter represents significant difference among groups ($p < 0.05$).

Table 3. Effects of the fucoidan on GOT and GPT in blood

(Unit: Karmen)

Parameters	Groups			
	Control	25% Ethanol	25% Ethanol+FUCO250	25% Ethanol+FUCO500
GOT	339.0±15.9	342.6±13.7	312.8±13.7	319.0±19.6
GPT	294.4±12.7 ^{b1)}	349.8±7.4 ^a	252.8±15.7 ^c	219.0±10.8 ^c

¹⁾Different letter represents significant difference among groups ($p < 0.05$).

군, 25% ethanol+FUCO250군, 25% ethanol+FUCO500군이 각각 3.3, 3.6, 3.3, 3.2 g/100 g BW로 25% ethanol군은 25% ethanol+FUCO500군 보다 유의적으로 높은 것으로 나타났다($p < 0.05$). 간 무게의 증가는 급성적인 알코올 섭취에 의한 지방대사 이상으로 나타난 것으로 사료되는데, Kim 등(26)은 고지방식이 섭취한 동물모델에서 비대한 지방무게를 후코이단 섭취에 의해 유의적으로 감소시킴을 보고한 바 있다.

후코이단이 급성 알콜성 동물모델의 혈중지질에 미치는 영향

후코이단이 급성 알콜성 동물모델의 혈중 지질에 미치는 영향에 대한 결과는 Table 2와 같다. 중성지질의 수치는 대조군, 25% ethanol군, 25% ethanol+FUCO250군, 25% ethanol+FUCO500군이 각각 30.8, 54.3, 31.5, 32.9 mg/dL로 25% ethanol군이 나머지 군들 보다 유의적으로 높은 수치를 보였다($p < 0.05$). 알코올 섭취에 의한 혈중 중성지질 수치를 후코이단 경구투여에 의해 41%가 유의적으로 감소하는 것으로 관찰되었다. 총콜레스테롤 수치는 대조군, 25% ethanol군, 25% ethanol+FUCO250군, 25% ethanol+FUCO500군이 각각 53.2, 91.3, 69.7, 72.8 mg/dL로 후코이단 농도에 따른 유의적인 차이는 없었으나, 후코이단 경구투여군은 에탄올 투여군보다 총 콜레스테롤 수치가 유의적으로 낮은 것(24%) 것으로 보아 후코이단이 혈중 콜레스테롤을 낮추는 것으로 사료된다($p < 0.05$). Rouach 등(27)은 만성적인 알코올 섭취는 알코올 대사를 촉진시켜 중성지질과 콜레스테롤을 증가시킨다고 보고한 바와 같이, 본 연구에서도 알코올이 중성 지질과 콜레스테롤 합성을 촉진 한 것으로 보이며, 후코이단이 이들 합성을 억제한 것으로 관찰되었다. 후코이단의 혈중 지질 변화에 관한 연구에 의하면, 후코이단은 고지방식이로 상승된 혈중 중성지질을 20-30%, 혈중 콜레스테롤은 60-70%까지 유의적으로 감소시켰음이 보고되어지고 있다(26). 또한 HDL-콜레스테롤은 대조군, 25% ethanol군, 25% ethanol+FUCO250군, 25% ethanol+FUCO500군이 각각 32.0, 41.4, 46.6, 43.6 mg/dL로 대조군은 나머지 실험군보다 유의적으로 낮은 것으로 나타났다($p < 0.05$). 반면 LDL-콜레스테롤은 대조군, 25% ethanol군, 25% ethanol+FUCO250군, 25% ethanol+FUCO500군이 각각 15.0, 39.1, 16.8, 22.6 mg/dL로 후코이단 투여군들은 알코올 투여군 보다 유의적으로 낮은 것(40-50%)으로 나타났다($p < 0.05$). Huang 등(28)은 다시마로부터 추출한 후코이단이 혈청 총 콜레스테롤, 중성지방, LDL-콜레스테롤은 감소시키고

HDL-콜레스테롤은 증가시키며 피하주사나 위의 관류를 통해서도 혈액의 지질을 낮추는 효과가 있다고 보고 한 바 있다. 이와 같이 후코이단이 알콜성 급성 동물모델에서 혈중 중성지질, 콜레스테롤, LDL-콜레스테롤을 효과적으로 낮추어주는 것으로 관찰되었다.

후코이단이 급성 알콜성 동물모델의 혈중 GOT, GPT 및 간 조직에 미치는 영향

일반적으로 혈중 GOT와 GPT는 간조직이 손상을 받게 되면, 혈중으로 방출되는 효소로 알려져 있어 간질환의 지표로 이용되고 있다. 본 연구에서도 급성으로 나타나는 알콜성 간 손상 억제에 후코이단의 효능을 관찰하기 위해 혈중 GOT와 GPT를 측정할 결과(Table 3), GOT는 25% ethanol군과 후코이단 투여군이 유의한 차이를 보이지 않았으나, GPT는 25% ethanol군(49.8 Karmen unit)은 대조군(294.4 Karmen unit)에 비해 유의적으로 상승하였고, 25% ethanol+FUCO250과 500군은 각각 252.8와 219.0 Karmen unit, 후코이단 투여군들은 나머지군들 보다 유의적으로 감소되었음을 관찰할 수 있었다($p < 0.05$). 이러한 결과로 인하여, 급성 알코올 투여에 따른 혈중 GPT의 감소가 후코이단 공급 농도에 의존적으로 각각 27.7%와 37.4% 감소함을 보여주어 급성 모델이지만 알콜성 간 손상을 후코이단이 저해하는 것으로 사료된다. 특히 GPT의 경우, 본 연구에서 후코이단 경구투여군이 대조군보다 더 유의적으로 감소되었는데 Lee와 Park(24)도 영지버섯의 알콜성섭취 동물모델에서의 GPT가 대조군에 비해 영지버섯 추출물 처리군이 더 감소됨이 관찰되었다. 이러한 현상은 GOT와는 달리 GPT는 거의 전적으로 간에만 존재하는 효소로 알려져 있으므로 후코이단이 건강한 동물에게도 간에 긍정적인 영향을 주는 것으로 사료된다. 간 손상 모델과 후코이단의 연구는 많은 연구자들이 여러 간 손상 동물 모델을 통해 연구하였는데, Hayashi 등(12)은 CCl₄처리에 의한 만성적 섬유화 모델을 통해 후코이단이 혈중 alanine aminotransferase (ALT)와 aspartate aminotransferase (AST) 농도를 유의적으로 감소시키고, 간세포의 생존율을 증가시켜 만성 간섬유화에 있어 후코이단의 효능이 탁월함을 보고한 바 있다. Kang 등(13)은 CCl₄ 간손상 모델을 통해 CCl₄처리에 의한 산화적 스트레스도 항산화관련 효소를 후코이단이 증가시킴으로써 간 손상을 감소시켰음을 증명하였으며, Saito 등(11)도 concanavalin A (Con A)처리에 의한 간 손상 모델을 통

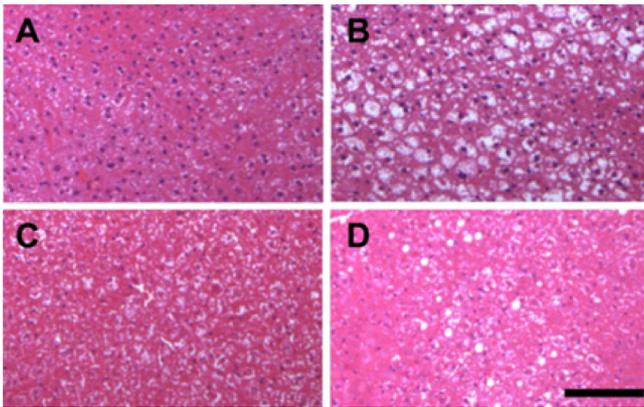


Fig. 1. Effect of fucoidan on hepatic tissue morphology. Representative picture of H & E stained sections of liver tissue from normal control (A), 25% ethanol (B), 25% ethanol treated with 250 mg/kg BW fucoidan (C), and 25% ethanol treated with 500 mg/kg BW fucoidan (D). Each figure is a representative obtained from 5 slides of different groups. Scale bar indicates 100 μ m.

해 혈중 ALT와 염증관련 지표를 관찰한 결과, 후코이단을 농도 의존적으로 처리함에 따라 유의적인 혈중 ALT의 감소 및 Con A 처리에 의한 염증지표의 감소를 관찰할 수 있었다. 이외에도 Mori 등(29)은 간 손상 및 간의 섬유화가 나타나는 hepatitis C virus (HCV) 감염환자에게 12개월 동안 하루에 0.83 g의 후코이단을 섭취시킨 결과, 부작용 없이 혈중 ALT 감소와 HCV의 RNA 수준이 유의적으로 감소한 것으로 보아 후코이단이 HCV 간염성 간질환에도 강력한 효과를 보인다고 보고하였다. 이와 같이 여러 연구를 통해, 독성물질에 의한 간 손상 모델과 바이러스성 간 손상 모델 모두에서 후코이단의 간보호 능력이 우수함이 관찰되었고, 본 연구에서도 급성 알코올성으로 상승한 혈중 GPT가 후코이단을 처리함에 따라 유의적으로 감소함을 관찰할 수 있어, 향후 후코이단이 만성적 알코올성 간 손상에도 우수한 효능을 보일 수 있을 것으로 사료된다.

또한 간을 조직학적으로 관찰 한 결과 Fig. 1과 같이, 급성으로 이루어진 알코올 섭취에 따라 대조군(Fig. 1A)에 비해 간 조직 내에 지방축적으로 지방구 형성이 과도하게 일어나, 지방소적(lipid droplet)이 세포 안을 차지하고 있음을 알 수 있었고(Fig. 1B), 후코이단은 이러한 급성 알코올 섭취로 인해 나타날 수 있는 지방구의 감소를 유도하는 것으로 관찰되었다(Fig. 1C and B). 이와 같이 알코올성 간질환은 초기에는 간세포의 지방증(steatosis)으로 작은 지방소적에서 큰 지방소적으로 진행되면서 지방간염(steatohepatitis), 알코올성 간질환의 마지막 단계인 간조직의 섬유화에 의한 간경변증(steatofibrosis)으로 조직학적 변화가 일어난다(30,31). 이에 후코이단이 간의 지방증이나 섬유화를 완화시킨다는 연구들이 진행되었는데, Kim 등(26)에 의해 후코이단이 고지방식으로 인해 나타나는 지방간 소견을 완화시킨다고 보고하였고, Hayashi 등(12)의 연구에서도 CCl₄ 처리에 의한 만성 간섬유화 모델에서 간의 섬유화를 후코이단이 감소시킴을 보고한 바 있다. 이와 같이 원인이 알코올성은 아니나, 다른 요인에 의해 간의 지방증이나 섬유화를 억제하는 후코이단의 효능이 연구되었고, 고농도의 sulfated 후코이단이 간정맥의 혈전을 완화시킨다는 연구 보고(32)도 있어 후코이단의 항혈전작용을 통한 간기능 개선 효과가 우수한 것으로 보고되고 있다. 이러한 연구 보고들과 본 연구결과도 일치하는 것으로 나타나 급성 알코올성 지방증을 후코

이단이 개선해 줄 수 있는 것으로 사료된다.

요 약

본 연구는 해조류에 존재하는 황산기를 함유하고 있는 후코이단의 급성 알코올 간 손상 모델에서의 간 보호능을 관찰하였다. 실험 결과 후코이단은 급성으로 알코올을 섭취시킨 쥐의 체중감소를 억제시켰으며, 알코올 섭취를 통해 나타날 수 있는 중성지방, 콜레스테롤, LDL-콜레스테롤 상승을 유의적으로 감소시킨 것으로 나타났다. 또한 간 기능을 대표하는 혈중의 GOT는 유의적인 차이는 없었으나, GPT는 유의적으로 후코이단 경구투여에 의해 감소되었다. 또한 후코이단은 지방이 비대해 지는 현상과 간세포의 지방축적을 감소시킨 것으로 관찰되었다. 따라서 이러한 결과로 보아 후코이단은 급성 알코올 섭취에 의한 간손상을 완화시켜 줄 수 있는 식품소재로 활용가능하다고 사료된다.

감사의 글

본 연구는 2013년도 상명대학교의 지원으로 이루어진 것으로 이에 감사를 드립니다.

References

- SK. Annual report on the cause of death statistics. Statistics Korea, Daejeon, Korea. pp. 1-231 (2012)
- MHW. OECD health data 2012. Kyungseong Press, Seoul, Korea. pp. 1-123 (2012)
- Chevolot L, Foucault A, Chaubet F, Kervarec N, Sinquin C, Fisher AM, Boisson-Vidal C. Further data on the structure of brown seaweed fucans: Relationships with anticoagulant activity. Carbohydr. Res. 319: 154-165 (1999)
- Cumashi A, Ushakova NA, Preobrazhenskaya ME, D'Incecco A, Piccoli A, Totani L, Tinari N, Morozevich GE, Berman AE, Bilan MI, Usov AI, Ustyuzhanina NE, Grachev AA, Sanderson CJ, Kelly M, Rabinovich GA, Iacobelli S, Nifantiev NE. A comparative study of the anti-inflammatory, anticoagulant, antiangiogenic, and antiadhesive activities of nine different fucoidans from brown seaweeds. Glycobiology 17: 541-552 (2007)
- Hayashi K, Nakano T, Hashimoto M, Kanekiyo K, Hayashi T. Defensive effects of a fucoidan from brown alga *Undaria pinnatifida* against herpes simplex virus infection. Int. Immunopharmacol. 8: 109-116 (2008)
- Usui T. Isolation of highly purified fucoidan from *Eisenia bicyclis* and its anticoagulant and antitumor activities. Agr. Biol. Chem. Tokyo 44: 1965-1966 (1980)
- Liu JM, Bignon J, Haroun-Bouhedja F, Bittoun P, Vassy J, Femandjian S, Wdzieczak-Bakala J, Boisson-Vidal C. Inhibitory effect of fucoidan on the adhesion of adenocarcinoma cells to fibronectin. Anticancer Res. 25: 2129-2133 (2005)
- Wang WT, Zhou JH, Xing ST, Guan HS. Immunomodulating action of marine algae sulfated polysaccharides on normal and immunosuppressed mice. Chin. J. Pharm. Toxicol. 8: 199-202 (1994)
- Zhang QB, Yu PZ, Zhou GF, Li ZE, Xu ZH. Studies on antioxidant activities of fucoidan from *Laminaria japonica*. Chin. Trad. Herbal Drugs 34: 824-826 (2003)
- Shibata H, Kimura-Takagi I, Nagaoka M, Hashimoto S, Aiyama R, Iha M, Ueyama S, Yokokura T. Properties of fucoidan from *Cladosiphon okamuranus tokida* in gastric mucosal protection. Biofactors 11: 235-245 (2000)
- Saito A, Yoneda M, Yokohama S, Okada M, Haneda M, Nakamura K. Fucoidan prevents concanavalin A-induced liver injury through induction of endogenous IL-10 in mice. Hepatol. Res. 35: 190-198 (2006)
- Hayashi S, Itoh A, Isoda K, Kondoh M, Kawase M, Yagi K.

- Fucoidan partly prevents CCl₄-induced liver fibrosis. *Eur. J. Pharmacol.* 580: 380-384 (2008)
13. Kang KS, Kim ID, Kwon RH, Lee JY, Kang JS, Ha BJ. The effects of fucoidan extracts on CCl₄-induced liver injury. *Arch. Pharm. Res.* 31: 622-627 (2008)
 14. Kim MJ, Chang UJ, Lee JS. Inhibitory effects of fucoidan in 3T3-L1 adipocyte differentiation. *Mar. Biotechnol.* 11: 557-562 (2009)
 15. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin. Chem.* 18: 499-502 (1972)
 16. Kim MJ, Kim HK. Effect of garlic on high fat induced obesity. *Acta Biol. Hung.* 62: 244-254 (2011)
 17. Chung H-J, Jeun J, Houg S-J, Jun H-J, Kweon D-K, Lee S-J. Toxicological evaluation of fucoidan from *Undaria pinnatifida* *in vitro* and *in vivo*. *Phytother. Res.* 24: 1078-1083 (2010)
 18. Nam CS, Kang KS, Ha BJ. *Ulva alcuta* fucoidan extract and its protective effects on CCl₄-induced liver dysfunction. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* 22: 73-77 (2007)
 19. Park SY, Kim DS, Kang S, Park S. Hepatoprotective effects of pig placental hydrolysates on liver damage induced rats by injecting carbon tetrachloride. *J. Appl. Biol. Chem.* 55: 109-115 (2012)
 20. Yang S-Y, Kang J-H, Lee K-W. Protective effect of functional *perilla frutescens* hot-water extract against *tert*-butyl hydroperoxide-induced liver oxidative damage in rats. *J. Fd. Hyg. Safety* 28: 146-151 (2013)
 21. Jo W-S, Nam B-H, Oh S-J, Choi Y-J, Kang E-Y, Hong S-H, Lee S-H, Jeong MH. Hepatic protective effect and single-dose toxicity study of water extract of *Cordyceps militaris* grown upon *Protetia dreujtarsis*. *Korean J. Food Sci. Technol.* 40: 1-5 (2008)
 22. Lee E-H, Chyun J-H. Effects of Chongkukjang intake on lipid metabolism and liver function in alcoholic fatty liver rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 38: 1506-1515 (2009)
 23. Oh SH, Cha YS, Choi DS. Effects of *Angelica gigas* Nakai diet on lipid metabolism alcohol metabolism and liver function of rats administered with chronic ethanol. *J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol.* 42: 29-33 (1999)
 24. Lee JH, Park KS. Effect of ganoderma lucidum on the liver function and lipid metabolism in alcohol-consuming rats. *Korean J. Nutr.* 32: 519-525 (1999)
 25. Sohn HS, Jung BM, Cha YS. Effects of *Ixeris Sonchifolia* H. Fiet on lipid metabolism and liver function of rats administered with ethanol. *Korean J. Nutr.* 34: 493-498 (2001)
 26. Kim MJ, Jeon J, Lee JS. Fucoidan prevents high-fat diet-induced obesity in animals by suppression of fat accumulation. *Phytother. Res.* 28: 137-143 (2014)
 27. Rouach H, Clement M, Ofanelli MT, Janvier B, Nordmann J, Nordmann R. Hepatic lipid peroxidation and mitochondria susceptibility to peroxidative attacks during ethanol inhalation and withdrawal. *Biochim. Biophys. Acta* 753: 439-444 (1983)
 28. Huang L, Wen K, Gao X, Liu Y. Hypolipidemic effect of fucoidan from *Laminaria japonica* in hyperlipidemic rats. *Pharm. Biol.* 48: 422-426 (2010)
 29. Mori N, Nakasone K, Tomimori K, Ishikawa C. Beneficial effects of fucoidan in patients with chronic hepatitis C virus infection. *World J. Gastroentero.* 18: 2225-2230 (2012)
 30. Lefkowitz JH. Morphology of alcoholic liver disease. *Clin. Liver Dis.* 9: 37-53 (2005)
 31. Crawford JM. Histologic findings in alcoholic liver disease. *Clin. Liver Dis.* 16: 699-716 (2012)
 32. Soeda S, Sakaguchi S, Shimeno H, Nagamatsu A. Fibrinolytic and anticoagulant activities of highly sulfated fucoidan. *Biochem. Pharmacol.* 43: 1853-1858 (1992)