pISSN 1225-4339 eISSN 2287-4992
Korean J. Food Nutr. Vol. 29. No. 6, 998~1007 (2016)
https://doi.org/10.9799/ksfan.2016.29.6.998

THE KOREAN JOURNAL OF
한국식품영양학회지
FOOD AND NUTRITION

상추 추출물(*Lactuca sativa* L.)의 혈관내피세포에서 항염증 작용과 고지방 식이 생쥐에서 혈중 지질농도 개선에 미치는 영향

황보전 · 장경옥 · 정하영** · 박종화 · 이태훈* · 김지영** · †정인식
경희대학교 생명공학원 유전공학과, *경희대학교 동서의학대학원, **(주)코스모젠

Anti-inflammatory Effect of *Lactuca sativa* L. Extract in Human Umbilical Vein Endothelial Cells and Improvement of Lipid Levels in Mice Fed a High-fat Diet

Jeon Hwang-Bo, Kyung Ok Jang, Hayoung Chung**, Jong-Hwa Park,
Tae Hoon Lee*, Jiyoung Kim** and †In Sik Chung
Dept. of Genetic Engineering and Graduate School of Biotechnology, Kyung Hee University, Yongin 17104, Korea
**Graduate School of East-West Medicinal Science Kyung Hee University, Yongin 17104, Korea*
***Cosmogen Co. Ltd. Suwon, 16690, Korea*

Abstract

The objective of this study was to investigate the effects of a lettuce (*Lactuca sativa* L.) extract on the inflammation of human umbilical vein endothelial cell (HUVEC) and blood lipid improvement in hypercholesterolemic mice fed a high cholesterol diet. The lettuce extract (100% ethanol extract) inhibited the expression of intercellular adhesion molecule-1 and vascular cell adhesion molecule-1 in HUVEC treated with tumor necrosis factor-α (TNF-α). The lettuce extract suppressed the adhesion of THP-1 to TNF-α-treated HUVEC. The lettuce extract decreased the TNF-α-stimulated production of proinflammatory cytokine interleukin-6, interleukin-8 and chemokine monocyte chemotactic protein 1. In hypercholesterolemic mice, the lettuce extract reduced serum total cholesterol, triglyceride, and low-density lipoprotein-cholesterol level, while the lettuce extract elevated high-density lipoprotein-cholesterol level, resulting in the decrease of atherogenic index and cardiac risk factor level. These results suggested that lettuce extract can be an useful resource to show an anti-inflammatory effect and improve lipid metabolism.

Key words: lettuce extract, inflammation, hypercholesterolemia, lipid metabolism

서 론

고스테로이드혈증, 이상지질혈증, 비만, 당뇨와 같은 대사성 질환은 식습관의 서구화, 음식물의 과잉섭취 및 불균형 섭취, 운동부족, 고령화, 스트레스 등과 같은 다양한 요인에 의해 발생되며 성인은 물론 청소년들에게까지 증가되는 추세이다(Jung 등 2014).

혈액의 흐름을 방해하고 혈관 노화를 촉진하는 콜레스테롤은 지방의 일종으로 세포의 원형질막 및 혈중 지질단백질(lipoprotein)의 필수 구성성분이다(Ikonen E 2008). 하지만 혈액 속의 콜레스테롤 농도가 높으면 다양한 대사성 질환의 원인이 되어 협심증이나 심근경색증(허혈성 심장병이라고도 함) 등의 심장질환과 뇌졸중, 고혈압 등의 뇌혈관 질환의 원인이 되기도 한다(Bhatt & Rohatgi 2016; Ellulu 등 2016). 간에서 생성되는 콜레스테롤은 작고 둥근 입자형태로 혈액 중에 존재하며, 동맥경화에 주로 관여하는 지질단백질에는 low-density lipoprotein(LDL)과 high-density lipoprotein(HDL) 두 종류가 있다. HDL은 다른 조직에서 간으로 콜레스테롤을 운반

† Corresponding author: In Sik Chung, Dept. of Genetic Engineering and Graduate School of Biotechnology, Kyung Hee University, Yongin 17104, Korea. Tel: +82-31-201-2436, Fax: +82-31-202-9885, E-mail: ischung@khu.ac.kr

하기 때문에 HDL이 많으면 혈관 등에서 콜레스테롤이 제거되나, LDL은 간에서 분비된 very low-density lipoprotein(VLDL)이 인체의 다른 조직으로 지질을 운반하고 남은 형태로서 고농도의 콜레스테롤을 함유하고 있어 LDL이 많으면 혈관에 콜레스테롤이 많이 쌓여서 동맥경화가 촉진된다(Durstine & Haskell 1994; White 등 2015). 또한 혈중 LDL이 축적되면 혈액 내 지방질이 높아지고 고지혈증을 유발하며 혈소판 응집 기능 항진, 혈소판 응고시간 단축 등 혈액 응고에 변화를 일으켜 혈액점도가 상승하고 결국 혈액의 성질과 상태에 병적 변화가 나타나 혈관염에 의한 말초순환장애를 일으키게 된다.

혈액 내 고농도 콜레스테롤에 의해 유발되는 여러 질환을 예방하거나 치료하기 위해 콜레스테롤의 합성을 억제하는 약물 및 혈액 내 중성지방의 농도를 낮추기 위한 많은 약물들이 사용되고 있으나 여러 가지 부작용이 나타나고 있어(McKenney JM 2001) 독성이나 부작용이 없는 천연추출물을 활용하여 혈액 내 콜로레스테롤의 농도를 조절하고자 하는 연구가 많이 진행되고 있다(Nam 등 2010; Jung 등 2014; Park 등 2014).

쌍떡잎식물 초롱꽃목 국화과의 1년생 또는 2년생 초본식물인 상추는 서아시아, 지중해, 유럽이 원산지로 한국, 중국, 일본, 미국, 영국 등 전 세계의 넓은 지역에서 재배되는 식용작물이다(http://www.doopedia.co.kr). 한방에서 상추는 와거, 와기채, 천금채, 와채 등으로 불리며 고혈압, 소변불리, 혈뇨, 스트레스 해소, 소화촉진, 숙취해소, 입냄새 제거, 벌레독, 뱀독, 오장을 이롭게 하는 것으로 알려져 있다(Jung & Shin 1990). 상추에는 철분과 필수 아미노산, 섬유소, 비타민, 미네랄 성분이 풍부하여 빈혈 예방, 변비 및 피로회복에 좋다. 상추에 함유되어있는 루테인 성분은 눈의 신경을 보호하고 눈을 건강하게 해주며 비타민 A 성분은 골다공증 예방에 좋다. 또한 상추에 함유된 락투세린과 락투신 성분은 스트레스를 줄여주고 통증을 완화시키는 효능이 있어 불면증에 좋은 것으로 알려져 있다(Ren 등 2004). 하지만 혈행개선 효과 및 지질대사와 관련된 고콜레스테롤 등에 대한 상추의 생리활성 기능에 대한 연구는 수행된 바 없다. 본 연구진은 기존의 연구에서 상추에서 추출한 파이톨이 acyl-CoA: cholesterol acyltransferase(ACAT)의 활성을 억제하는 것으로 확인한 바 있다(Jang 등 2003). ACAT는 세포내에서 콜레스테롤과 long chain fatty acyl CoA를 기질로 하여 콜레스테롤 에스터의 생성을 촉진하는 효소로 소장에서의 콜레스테롤 흡수, 간에서의 지질단백질 형성, 혈관 내벽 상처부위에서 콜레스테롤 에스터의 축적 등에 관여한다(Chang 등 2006; Chang 등 2009). 따라서 ACAT 활성 저해는 다량의 콜레스테롤 에스터 축적을 저해하여 콜레스테롤의 체내 축적 및 동맥경화의 예방과 치료에 효과가 있을 것으로 기대된다. 본 연구에서는 ACAT 활성을 억제하는 것으로 확인된 상추 추출물의 효능을 검증하기 위해 인간 제대정맥혈관내피세포주(human umbilical vein endothelial cell; HUVEC)의 세포접착단백질 intercellular adhesion molecule 1(ICAM-1), vascular cell adhesion molecule 1(VCAM-1)의 발현 및 단핵구 세포 부착, 염증성 사이토카인 및 케모카인의 발현에 미치는 영향 등을 확인하고 고콜레스테롤 식이로 고콜레스테롤혈증을 유발시킨 쥐 모델에서 상추 추출물의 섭취에 의한 지질대사 개선 효과를 검토하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 상추 추출물의 제조

상추(*Lactuca sativa* L.)는 가락동 농수산물시장에서 구입하였고 세척 후 건조기(45℃)에서 24시간 동안 배습조건으로 건조하였다. 건조한 상추는 잘게 파쇄한 후 10배량(v/w)의 주정 알코올로 실온에서 3회 추출하였고 여과지(Qualitative filter paper No 2, Advantec MFS, Tokyo, Japan)를 사용하여 여과하였다. 여과액을 50℃에서 감압 농축하고 얻어진 농축액을 동결건조하였고(건조한 상추 1 kg에서 약 160 g의 상추 추출물을 확보함) dimethyl sulfoxide(DMSO; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)에 200 mg/mL의 농도로 용해시킨 후 실험에 이용하였고 대조군으로는 0.2% (v/v) DMSO 용액을 사용하였다.

2. 세포주 배양

HUVEC는 Modern Cell and Tissue Technologies(서울, 한국)에서 분양받았으며, 10% heat-inactivated FBS가 함유된 EGM-2(Endothelial Growth Media-2, Lonza, Walkersville, MD, USA) 배지를 사용하여 37℃, 5% CO_2 조건에서 배양하였다. 단핵구 세포 THP-1 세포는 한국세포주은행(서울, 한국)에서 분양받았으며 1% penicillin-streptimycin과 10% heat-inactivated FBS가 함유된 RPMI 1640 배지를 사용하여 37℃, 5% CO_2 조건에서 배양하였다.

3. 상추추출물의 세포독성 확인

상추추출물의 세포독성을 MTT(3-(4,5-dimethylthiazol2yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) 분석을 통해 확인하였다(Ma 등 2012). HUVEC를 0.1% 젤라틴이 코팅된 96 well plate에 3×10^4 cells/well로 분주한 후 24시간 동안 배양하여 세포를 부착시키고 100, 200, 400 μg/mL의 상추 추출물을 함유하는 EGM-2 배지로 교환한 후 18시간 동안 배양하였다. MTT용액(5 mg/mL)을 첨가한 후 4시간 동안 배양하여 formazan의 형성을 유도하였고 배지 및 MTT 용액을 제거한 후 100 μL DMSO를 첨가하여 formazan을 용해시키고 540 nm에서 흡광도(EL800 Microplate Reader, Bio-Tek, Winnoski, VT, USA)를 측정하였다.

4. 세포 배양 및 단핵구 부착

HUVEC를 0.1% 젤라틴으로 코팅시킨 48 well plate에 5 × 10^4 cells/well로 분주한 후 24시간 배양하였고 10 ng/mL TNF-α 및 상추 추출물(100, 200, 400 μg/mL)을 첨가한 후 18시간 배양하였다. 단핵구 부착 능을 관찰하기 위해 THP-1을 10 μM BCECF-AM(2′,7′-bis(2-carboxyethyl)-5(6)-carboxyfluorescein acetoxymethyl ester)을 함유하는 RPMI 1640 배지에서 1시간 동안 배양하여 표지하였고 표지되지 않은 여분의 THP-1은 PBS(pH 7.4)로 3회 세척하여 제거하였다. BCECF-AM으로 표지된 THP-1을 TNF-α 및 상추 추출물이 전처리된 HUVEC에 첨가하고 1시간 동안 공동 배양하고 부착되지 않은 THP-1을 PBS(pH 7.4)로 세척하여 제거하였다. HUVEC에 부착한 TPH-1을 공초점 레이저 주사현미경(Carl-Zeiss, Oberkochen, Germany)을 이용하여 50배의 배율로 관찰하였고 BDECF의 형광도를 fluorescence microplate reader(Ex 485/Em 530)를 이용하여 측정하였다.

5. RT-PCR 분석

TNF-α 및 상추 추출물이 처리된 HUVEC를 PBS(pH 7.4)로 세척하고 Trizol reagent(Invitrogen, Calsbad, CA, USA)를 사용하여 Total RNA를 추출하였다. RNase-free DNase I(Invitrogen)으로 처리한 2 μg의 Total RNA을 주형으로 Improm-II^{TM} Reverse Transcription System(Promega, Medison, WI, USA)을 이용하여 cDNA를 합성하였고 2 μL의 cDNA를 LA taq polymerase를 이용한 PCR 반응의 주형으로 사용하였다(Hwang-Bo 등 2012). ICAM-1, VCAM-1을 증폭시키기 위한 primer 염기서열은 다음과 같다. ICAM-1 sense : 5′-AGGCCACCCCAGAGGACAAC-3′; ICAM-1 antisense : 5′-CCCATTATGACTGCGGCTGCTA-3′; VCAM-1 sense : 5′-CGTCTTGGTCAGCCCTTCCT-3′; VCAM-1 antisense : 5′-ACATTCATATACTCCCGCATCCTTC-3′; β-actin sense : 5′-ATGTTTGAGACCTTCAACAC-3′; β-actin antisense : 5′-CACGTCACACTTCATGATGG-3′. PCR 산물은 1% agarose gel을 이용하여 전기영동하였고 ethidium bromide 용액으로 염색한 후 ultraviolet light에서 관찰하였고 PCR 산물의 band intensity는 ImageJ(National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA) 프로그램을 이용하여 정량하였다.

6. Western blot

TNF-α 및 상추 추출물이 처리된 HUVEC를 PBS(pH 7.4)로 세척하고 complete protease inhibitor cocktail tablet(Roche, Nutley, NJ, USA)을 함유하는 RIPA buffer(Pierce, Rockford, IL, USA)로 용해시킨 후 4℃에서 20분간 4,000 rpm으로 원심분리하여 세포 단백질추출물을 확보하였다(Hwang-Bo 등 2012). 단백질추출물의 농도는 RC/DC Bio-Rad assay kit(Bio-rad, Hercules, CA, USA)를 이용하여 측정하였다. 동일 농도로 희석한 단백질 추출물을 10% SDS-polyacrylamide gel에서 전기영동하고 nitrocellulose membrane에 transfer한 후 blocking 완충용액(5% skim milk in TBST(TBS with 0.5% Tween-20))으로 1시간 동안 반응시켰다. Nitrocellulose membrane을 blocking 완충용액에 1:1,000으로 희석한 anti-ICAM-1, anti-VCAM-1 또는 anti-β-actin(Cell Signaling Technology, Danvers, MA, USA) 일차항체로 반응시키고 TBST 완충용액으로 세척한 후 blocking 완충용액에 1:2,000으로 희석한 이차항체(horseradish peroxidase-conjugated anti-mouse or anti-rabbit IgG; Santa Cruz Biotechnology, Dallas, TX, USA)로 반응시키고 TBST 완충용액으로 세척하였다. 단백질 밴드는 화학발광키트(Enhanced Chemiluminescence Pico Western blotting detection kit; ThermoFisher Scientific Inc., Cambridge, MA, USA)를 이용하여 X-ray film에 현상하였고 각 단백질의 발현량은 ImageJ 프로그램을 이용하여 정량하였다.

7. 세포배양액 내의 사이토카인 IL-6, IL-8 및 케모카인 MCP-1 분석

HUVEC 배양액 내에 존재하는 사이토카인 interleukin-6(IL-6), interleukin-8(IL-8) 및 케모카인 monocyte chemotactic protein 1(MCP-1)은 효소면역분석법(enzyme-linked immunosorbent assay; ELISA)으로 분석하였다(Zhou 등 2007). HUVEC를 0.1% 젤라틴으로 코팅시킨 48 well plate에 5 × 10^4 cells/well로 seeding한 후 24시간 배양하고 10 ng/mL TNF-α 및 상추 추출물(100, 200, 400 μg/mL)을 첨가하고 배양하였다. 18시간 배양 후 세포 배양액을 회수하고 IL-6, IL-8, MCP-1 측정에 이용하였고 세포배양액 내 IL-6, IL-8, MCP-1의 함량은 human IL-6, IL-8, MCP-1 ELISA kit(ThermoFisher Scientific Inc.)를 이용하여 측정하였다. 적절한 농도로 희석된 배양액을 IL-6, IL-8, MCP-1 antibody가 코팅된 96 well plate에 첨가하고 4℃에서 overnight 반응시켰다. Washing buffer로 3회 세척하고 100 μL의 biotinylated IL-6, IL-8, MCP-1 antibody reagent를 첨가한 후 상온에서 1시간 동안 반응시키고 세척하였다. 100 μL의 streptavidin-HRP solution을 첨가하고 상온에서 1시간 동안 반응시킨 후 세척하였고 TMB(di(2-ethylhexyl)-2,4,5-trimethoxy benzalmalonate) substrate를 처리하고 5~30분간 반응시킨 후 stop solution을 처리하고 450 nm에서 흡광도를 측정하여 IL-6, IL-8, MCP-1의 량을 측정하였다.

8. 실험동물 사육 및 식이

실험동물은 Balb/c mice 4 주령을 오리엔트바이오(Gyeonggi-Do, Korea)에서 구입하여 사용하였다. 물과 식이는 자유롭게 섭취할 수 있도록 공급하였고 동물실험실의 사육조건은 온도 23±1℃, 습도 45±5%, 명암은 12시간 주기로 자동 조명 조절되

었다. 동물실험은 경희대학교 실험동물윤리위원회의 승인(KHUASP-15-09)을 받아 수행하였다. 정상 식이는 Research Diets사(AIN-93G, D10012G Research Diets, New Brunswick, NJ, USA), 고콜레스테롤 식이는 Research Diets사(Purified Diet to Match Paigen's Atherogenic Rodent Diet, D12336 Research Diets)에서 구입하였다. 상추 추출물을 함유하는 고콜레스테롤 식이는 분쇄한 고콜레스테롤 식이에 상추 추출물의 함량이 3%, 6%(w/w)가 되도록 동결건조된 상추 추출물을 첨가하고 다시 고형화시켜 사용하였다. 정상 식이, 고콜레스테롤 식이, 3%, 6% 상추 추출물이 첨가된 고콜레스테롤 식이의 조성은 Table 1과 같다. 동물사육 조건에서 1주일간 적응시킨 실험동물을 정상군(normal, N군), 고콜레스테롤 식이군(high cholesterol diet, HC군), 3% 상추 추출물 함유 고콜레스테롤 식이군(HC-3LE), 6% 상추 추출물 함유 고콜레스테롤 식이군(HC6LE)으로 나누고 정상 식이, 고콜레스테롤 식이, 상추 추출물 함유 고콜레스테롤 식이를 6주간 급여하여 자유롭게 섭취하게 하였다.

9. 체중증가량, 식이섭취량 및 식이효율

식이섭취량과 체중은 3일 마다 측정하였고 최종 체중에서 실험개시 전 체중을 감하여 체중증가량을 측정하였으며 사육기간 중의 체중증가량을 같은 기간의 식이섭취량으로 나누어 각 실험군들의 식이효율(food efficiency ratio, FER)을 계산하였다(Jung 등 2014).

10. 혈액 채취 및 콜레스테롤 함량 측정

사육이 끝난 실험동물을 12시간 동안 절식시키고 안와정맥총을 통해 혈액을 채혈하였으며 실온에서 1시간 방치한 후 4,000 rpm에서 20분간 원심분리(Micro 17TR, Hanil Scientific, Kimpo, Korea)하여 혈청을 얻었고 분석 전까지 −80°C(Forma™ 907, ThermoFisher Scientific Inc.)에서 보관하였다. 혈청의 총 콜레스테롤(Total-cholesterol), HDL-콜레스테롤(high-density lipoprotein cholesterol) 및 중성지방(triglycerite, TG) 함량은 아산제약(Seoul, Korea)의 정량 검사용 kit를 이용하여 측정하였다.

Table. 1. Composition of experimental diet (Unit: g)

Ingredients	Normal diet[1)] (N)	High cholesterol diet[2)] (HC)	High cholesterol diet with 3% lettuce extract (HC-3LE)	High cholesterol diet with 6% lettuce extract (HC-6LE)
Casein, 30 mesh	200	75	75	75
L-Cystein	3	-	-	-
Soy protein	0	130	130	130
DL-Methionine	0	2	2	2
Corn starch	397	275	275	275
Maltodextrin 10	132	150	150	150
Sucrose	100	30	30	30
Cellulose, BW200	50	90	90	90
Soy bean oil	70	50	50	50
t-Butylhydroquinone	0.014	-	-	-
Cocoa buffer	0	75	75	75
Coconus oil, 76	0	35	35	35
Mineral mix S10001	35	35	35	35
Calcium carbonate	0	5.5	5.5	5.5
Sodium chloride	0	8	8	8
Potassium citrate	0	10	10	10
Vitamin mix V10001	10	10	10	10
Choline bitartrate	2.5	2	2	2
Cholesterol, USP	0	12.5	12.5	12.5
Sodium cholic acid	0	5	5	5
FD&C red dye #40	0	0.1	0.1	0.1
Lettuce extract	-	-	30	60
Total	1,000	1,000.1	1,030.1	1,060.1

1) AIN-93, D10012G Research Diets
2) Purified Diet to Match Paigen's Atherogenic Rodent Diet, D12336 Research Diets

LDL-콜레스테롤의 함량은 [LDL-cholesterol = 총 콜레스테롤 − HDL-콜레스테롤 − (중성지방/5)]의 식을 이용하여 계산하였다(Friedewald 등 1972). 임상진단에서 순환계와 관련한 진단 지수인 동맥경화지수(atherogenic index, AI)는 (Total choesterol − HDL cholesterol)/HDL cholesterol 식(Friedewald 등 1972)으로 계산하고, 심장위험지수(cardiac risk factor, CRF)는 Total cholesterol/HDL cholesterol 식(Friedewald 등 1972)에 의하여 산출하였다.

11. 통계학적 분석

본 실험에서 얻어진 결과는 평균±표준오차로 표기하였고, 통계적 유의성 검정은 Student's *t*-test 분석 후 *P*값이 0.05 미만 ($P<0.05$)인 경우를 통계학적으로 유의하다고 보았다.

결과 및 고찰

1. 상추 추출물의 세포독성 확인

상추 추출물의 세포독성을 확인하기 위해 HUVEC의 세포 생존에 미치는 상추 추출물의 영향을 MTT 분석을 통해 확인하였다(data not shown). 100, 200 μg/mL의 상추 추출물이 처리된 세포의 생존율은 상추 추출물이 처리되지 않은 정상 대조군에 비해 유의적인 차이를 보이지 않았고 400 μg/mL의 상추 추출물이 처리된 세포의 생존율은 94.6%로 정상 대조군과 유사하였다. 600 μg/mL 이상의 상추 추출물이 첨가된 경우 세포의 생존율은 농도 의존적으로 감소하였다. 따라서 상추 추출물 400 μg/mL 농도까지는 HUVEC 세포의 생존에 아무런 영향을 주지 않는 것으로 확인되었으며 추후 HUVEC을 이용한 *in vitro* 실험에서 100, 200, 400 μg/mL의 상추 추출물을 사용하기로 결정하였다.

2. 세포접착단백질(ICAM-1, VCAM-1)의 발현 억제 효과

상추 추출물을 이용하여 혈관내피세포에서 TNF-α가 유도하는 세포접착단백질의 발현에 미치는 상추 추출물의 영향을 살펴보았다. HUVEC에 TNF-α(10 ng/mL) 및 상추추출물(100, 200, 400 μg/mL)을 처리하고 12시간 배양 후 세포를 회수하고 세포접착단백질 ICAM-1, VCAM-1의 유전자 발현 및 단백질 발현을 RT-PCR과 Western blot 분석을 통해 확인하였다. ICAM-1, VCAM-1의 발현은 TNF-α에 의해 증가하였고 상추추출물이 동시에 처리된 경우 억제되었다(Fig. 1A, C).

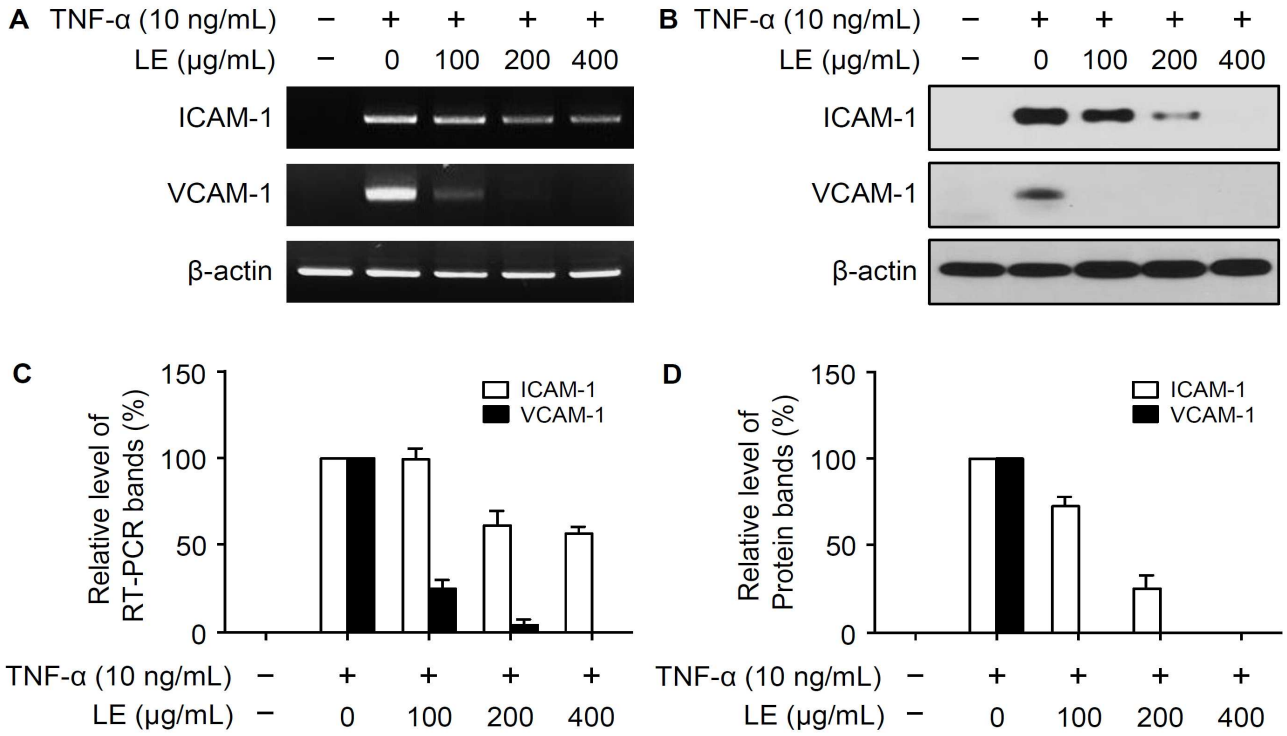

Fig. 1. Effect of lettuce extract on the expression of ICAM-1 and VCAM-1. (A, B) RT-PCR (A) and Western blot analysis (B) were performed to determine the expression of ICAM-1 and VCAM-1 in HUVEC treated with lettuce extract (LE) in the presence of TNF-α. (C, D) The transcript levels (C) and protein levels (D) of ICAM-1 and VCAM-1 obtained in three independent experiments of (A) and (B) were quantified and are represented as bar diagrams. The levels of ICAM-1 and VCAM-1 in the control (TNF-α-and lettuce extract-nontreated cells) were estimated as 100%.

이 결과는 상추추출물이 TNF-α에 의해 증가되는 ICAM-1, VCAM-1 단백질의 발현을 억제한다는 것을 의미한다. 동맥경화증에서 혈관협착 및 혈전형성은 세포접착단백질 ICAM-1, VCAM-1의 발현 증가 및 이에 따른 세포 간 접착 증가에 의해 유발될 수 있다(Hwang 등 1997; Utsumi 등 2007). 따라서 ICAM-1, VCAM-1의 발현을 효과적으로 억제하는 상추 추출물은 혈액순환장애의 발생 및 악화를 개선할 수 있을 것으로 기대된다.

3. 혈관내피세포와 단핵구세포의 부착에 미치는 상추추출물의 영향

혈관내피세포에서 ICAM-1, VCAM-1의 발현 증가는 혈관내벽에 단핵구 세포의 부착을 증가시킨다. 혈관내벽에 부착된 단핵구 세포는 염증반응에 의해 대식세포로 분화를 일으키고 거품세포로 분화되어 동맥경화를 유발하게 된다(Sima 등 2009). HUVEC의 세포접착단백질 발현을 억제하는 것으로 확인된 상추 추출물이 HUVEC와 단핵구 세포의 부착에 미치는 영향을 확인하기위해 BCECF-AM으로 표지된 단핵구 세포 THP-1을 TNF-α(10 ng/mL) 및 상추 추출물(100, 200, 400 μg/mL)이 처리된 HUVEC에 첨가하고 1시간 동안 공동배양한 후 HUVEC에 부착된 THP-1 세포를 형광현미경을 통해 관찰하고 BDECF의 형광도를 fluorescence microplate reader을 이용하여 측정하였다. THP-1 세포와 HUVEC의 접착은 TNF-α에 의해 크게 증가하였고 상추 추출물이 처리된 경우 농도의존적으로 감소하였다(Fig. 2). TNF-α가 처리된 경우 THP-1 세포와 HUVEC의 접착은 대조군에 비해 약 221% 증가하였고 100, 200, 400 μg/mL의 상추 추출물이 처리된 경우 TNF-α에 의해 증가된 THP-1 세포와 HUVEC의 접착은 16.1%, 38.7%, 53.2% 감소하였다. 상추 추출물의 혈관내피세포와 단핵구 세포의 접착 억제 효능은 50 μg/mL의 농도에서 약 94%의 억제 효능을 지니는 토목령 메탄올 추출물에 비해 낮았지만 해당근 메탄올 추출물과 비교하였을 때 유사하였다(Lee 등 2009; Nam 등 2010).

4. 염증성 사이토카인 및 케모카인의 발현에 미치는 상추추출물의 영향

염증을 나타내는 중요한 지표인 염증성 사이토카인(pro-inflammatory cytokines)과 염증세포의 유도 및 단핵구의 주화성 운동을 유발하는 것으로 알려진 케모카인(chemokine) MCP-1(monocyte chemoattachment protein-1)의 발현에 미치는 상추추출물의 영향을 확인하기 위해 TNF-α(10 ng/mL) 및 상추 추출물(100, 200, 400 μg/mL)이 처리된 HUVEC를 12시간 동안 배양하고 세포배양 배지를 회수한 후 IL-6, IL-8, MCP-1의 함량을 효소면역분석법으로 측정하였다. TNF-α는 IL-6의

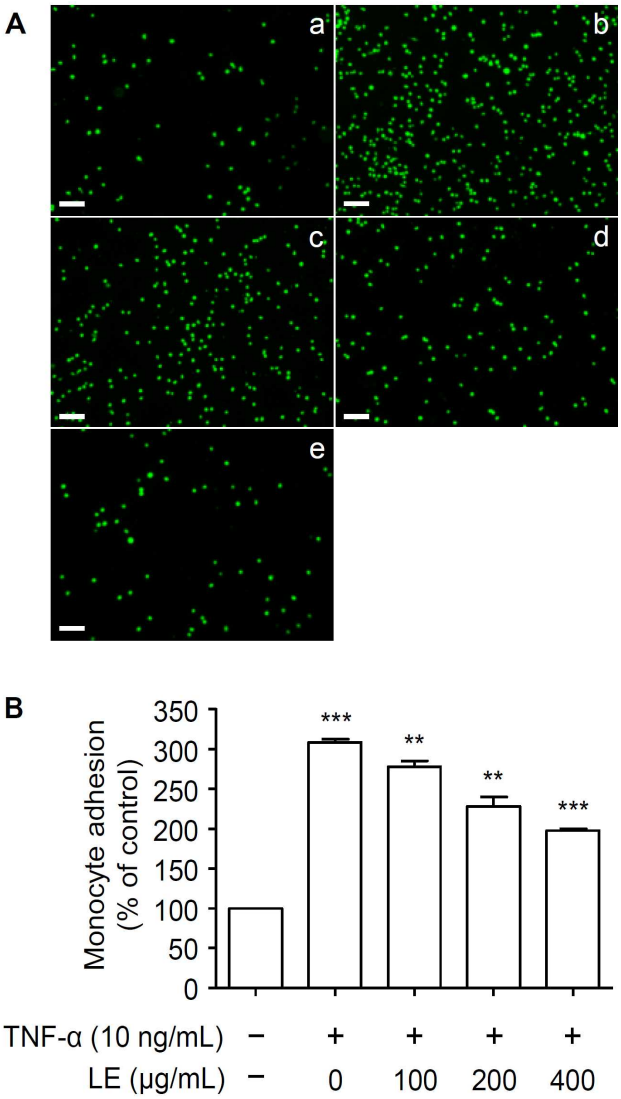

Fig. 2. Effect of lettuce extract on adhesion of THP-1 cells to HUVEC. (A) Fluorescent microscope images of adhesion of THP-1 cells to HUVEC treated with TNF-α. a, TNF-α- and lettuce extract-nontreated control; b, TNF-α-treated cells; c, TNF-α- and 100 μg/mL lettuce extract-treated cells; d, TNF-α- and 200 μg/mL lettuce extract-treated cells; e, TNF-α- and 400 μg/mL lettuce extract-treated cells. (white bar = 200 μm) (B) Fluorescence intensity was measured by fluorescence microplate reader (Ex 485/Em 530). Values represent the mean±S.D. of three independent experiments. Student's *t*-test was used for comparison between non-treated control and treated groups ($^{**}P<0.01$, $^{***}P<0.001$).

생성을 약 4.9배 증가시켰고 100, 200, 400 μg/mL의 상추 추출물이 처리된 경우 TNF-α에 의한 IL-6의 생성은 4.3%,

22.7%, 25.3% 감소하였다(Fig. 3A). TNF-α에 의해 IL-8의 생성은 약 5.5배 증가하였고 100, 200, 400 μg/mL의 상추 추출물이 처리된 경우 TNF-α에 의한 IL-8의 생성은 57%, 67.4%, 72.6% 감소하였다(Fig. 3B). TNF-α에 의해 유도되는 염증성 사이토카인 IL-6 및 IL-8의 상추 추출물에 의한 발현 억제 효과는 항산화 및 항염증 효능을 지니는 것으로 알려진 토복령 메탄올 추출물과 유사하였다(Lee 등 2009). 또한 TNF-α는 MCP-1의 생성을 약 2배 증가시켰고 100, 200 μg/mL의 상추 추출물이 처리된 경우 TNF-α에 의한 MCP-1의 생성은 19%, 46.8% 감소하였다(Fig. 4). 400 μg/mL의 상추 추출물이 처리된 경우 MCP-1은 대조군과 유사하게 감소하였다. 이 결과는 상추 추출물이 항염증 작용을 통해 염증성 사이토카인 및 케모카인의 발현을 억제한다는 것을 의미한다.

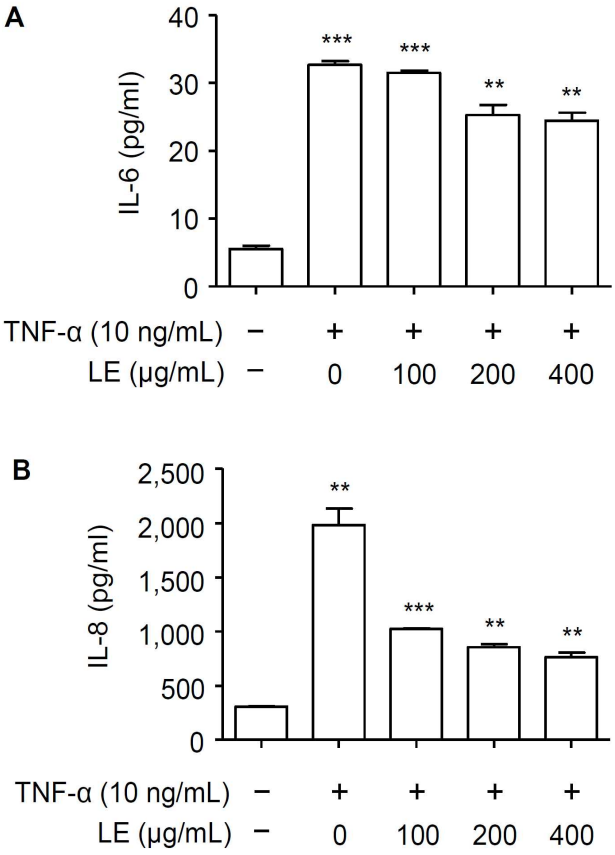

Fig. 3. Effect of lettuce extract on the production of proinflammatory cytokine IL-6 and IL-8. (A, B) The production of IL-6 (A) and IL-8 (B) in medium fraction of HUVEC treated with TNF-α and lettuce extract was measured by ELISA. Values represent the mean±S.D. of three independent experiments. Student's *t*-test was used for comparison between non-treated control and treated groups ($^{**}P<0.01$, $^{***}P<0.001$).

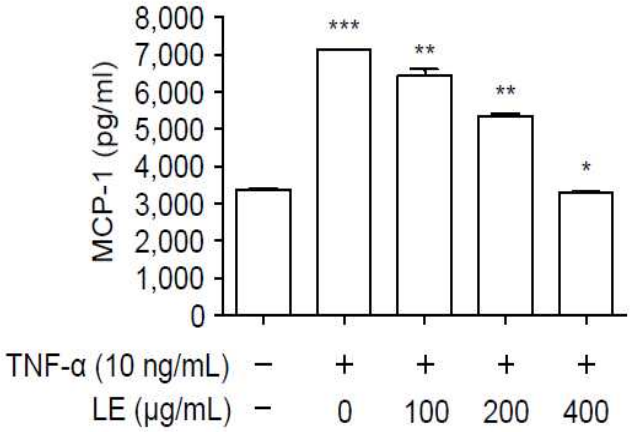

Fig. 4. Effect of lettuce extract on the production of chemokine MCP-1. The production of MCP-1 in medium fraction of HUVEC treated with TNF-α and lettuce extract was measured by ELISA. Values represent the mean±S.D. of three independent experiments. Student's *t*-test was used for comparison between non-treated control and treated groups ($^{*}P<0.05$, $^{**}P<0.01$, $^{***}P<0.001$).

5. 체중증가량, 식이섭취량 및 식이효율

고콜레스테롤 식이군 및 3%, 6% 상추 추출물을 함유하는 고콜레스테롤 식이군 Balb/c mice의 체중증가량, 식이섭취량을 측정하여 고콜레스테롤 및 상추 추출물에 의한 체중 변화 및 식이 효율을 확인하였다(Table 2). 정상 식이 N군과 고콜레스테롤 식이 HC군의 체중증가량은 0.081±0.027, 0.085±0.020 g/day로 유의적인 차이가 없었다. 또한 3%, 6% 상추 추출물이 첨가된 고콜레스테롤 식이군 HC-3LE, HC-6LE의 체중증가량

Table 2. Body weight gain, food intake and feed efficiency ratio (FER) in mice fed with high cholesterol diets for 6 weeks

Group	Body weight gain[1)] (g/day)	Food intake (g/day)	FER[2)]
N[3)]	0.081±0.027	2.35±0.11	0.034±0.011
HC[4)]	0.085±0.020	2.29±0.19	0.037±0.009
HC-3LE[5)]	0.087±0.035	2.72±0.13***	0.032±0.013
HC-6LE[6)]	0.084±0.032	2.69±0.17***	0.031±0.012

1) Body weight gain: (final body weight − initial body weigh)/42 (g/day)
2) FER: feed efficiency ratio (body weight gain/food intake)
3) N: mice fed a normal diet
4) HC: mice fed a high cholesterol diet
5) HC-3LE: mice fed a high cholesterol diet with 3% lettuce extract
6) HC-3LE: mice fed a high cholesterol diet with 6% lettuce extract
Values represent the mean±S.D.
$^{***}P<0.001$ compared with the HC group

은 0.087±0.035, 0.084±0.032 g/day로 정상 식이 N군 및 고콜레스테롤 식이 HC군과 비교하였을 때 유의적인 차이를 보이지 않았다. 이는 고콜레스테롤 식이가 정상 식이와 비교하였을 때 체중증가량에 큰 차이를 보이지 않는다는 기존의 결과와 유사한 결과이며(Park 등 2007; Jung 등 2014) 3%, 6% 상추 추출물의 식이가 체중 변화에 큰 영향을 미치지 않는다는 것을 의미한다. 고콜레스테롤 식이 HC군의 식이섭취량은 2.29±0.19 g/day로 정상 식이 N군(2.35±0.11 g/day)에 비해 약간 감소하였다. 3%, 6% 상추 추출물이 첨가된 고콜레스테롤 식이군 HC-3LE, HC-6LE의 식이섭취량은 2.72±0.13, 2.69±0.17 g/day로 정상 식이군 및 고콜레스테롤 식이군에 비해 유의적으로 증가하였다(P<0.001). 정상 식이군 및 고콜레스테롤 식이군, 3%, 6% 상추 추출물이 첨가된 고콜레스테롤 식이군의 식이효율은 0.034, 0.037, 0.032, 0.031로 유사하였다. 이상의 결과는 상추 추출물이 식이섭취량을 약간 증가시키기는 하였지만 체중증가량 및 식이 효율에 유의적인 차이가 없어 고콜레스테롤 식이에 첨가된 상추 추출물이 체중 변화 및 식이에 큰 영향을 미치지 않는다는 것을 의미한다.

6. 혈청의 지질 함량

정상 식이군, 고콜레스테롤 식이군 및 3%, 6% 상추 추출물을 함유하는 고콜레스테롤 식이군 Balb/c mice의 혈청 중 총 콜레스테롤, 중성지방, HDL-콜레스테롤, LDL-콜레스테롤의 함량을 측정하여 상추 추출물이 고콜레스테롤혈증에 미치는 영향을 확인하였다(Table 3). 혈청내 LDL-콜레스테롤 함량의 증가는 관상동맥벽에 콜레스테롤의 축적 및 동맥경화를 유발한다. HDL-콜레스테롤은 말초조직 및 혈관벽에 축적된 콜레스테롤을 재분산하여 혈중 콜레스테롤의 양을 저하시켜 동맥경화 개선 및 예방 효과를 지닌다(Tall AR 1990; White 등 2015; Bhatt & Rohatgi 2016). 고콜레스테롤 식이군 HC의 총 콜레스테롤 함량은 240.3±23.6 mg/dL이었으며 정상 식이군 N(120.1±17.1 mg/dL)에 비해 약 200% 증가하였다. 이는 고콜레스테롤 식이를 6주간 공급한 Balb/c mice에서 고콜레스테롤혈증이 성공적으로 유도되었다는 것을 의미한다. 3%, 6% 상추 추출물이 첨가된 고콜레스테롤 식이군 HC-3LE, HC-6LE의 총 콜레스테롤 함량은 211.2±25.9, 174.3±26.3 mg/dL이었다. 이는 고콜레스테롤 식이에 의해 증가되었던 혈중 내 총 콜레스테롤 함량이 3%, 6% 상추 추출물에 의해 24.2%, 55% 감소되었다는 것을 의미한다. 정상 식이 N군과 고콜레스테롤 식이 HC군의 혈청 중성지방의 함량은 87.7±13.4, 78.4±17.3 mg/dL이었고 고콜레스테롤 식이에 의해 중성지방의 함량이 약간 감소하는 것으로 나타났지만 유의적인 차이는 보이지 않았다. 이 결과는 고콜레스테롤 식이와 정상 식이 급여가 중성지방의 함량에 유의적인 차이를 보이지 않았다는 기존의 연구결과와 유사한 결과이다(Lee & Choi 2000; Jung 등 2014). 3%, 6% 상추 추출물이 첨가된 고콜레스테롤 식이군 HC-3LE, HC-6LE의 중성지방 함량은 73.7±15.8, 77.1±17.2 mg/dL이었고 고콜레스테롤 식이군 HC와 비교하였을 때 유의적인 차이를 보이지 않았다. 고콜레스테롤 식이 HC군의 혈청 HDL-콜레스테롤 함량은 57.7±5.6 mg/dL이었고 정상 식이 N군(82.1±8.8 mg/dL)에 비해 29.7% 감소하였다. 3%, 6% 상추 추출물이 첨가된 고콜레스테롤 식이군 HC-3LE, HC-6LE의 HDL-콜레스테롤 함량은 62.9±4.8, 70.3±10.6 mg/dL이었고 고콜레스테롤 식이군 HC와 비교하였을 때 유의적으로 증가하였다. 이는 고콜레스테롤 식이에 의해 감소되었던 혈중 내 HDL-콜레스테롤 함량이 3%, 6% 상추추출물에 의해 21.3%, 48.4% 증가되었다는 것을 의미한다. 고콜레스테롤 식이군 HC의 LDL-콜레스테롤 함량은 166.9±25.1 mg/dL이었으며 정상 식이군 N(20.4±18.6 mg/dL)에 비해 약 8배 증가하였다. 3%, 6% 상추추출물이 첨가된 고콜레스테롤 식이군 HC-3LE, HC-6LE의 LDL-콜레스테롤 함량은 133.6±26.5, 88.6±32.9 mg/dL이었고 이는 고콜레스테롤 식이에 의해 증가되었던 혈중 내 LDL-콜레스테롤 함량이 3%, 6% 상추 추출물에 의해 22.7%, 53.4% 감소되었다는 것을 의미한다. 이상의 결과를 통해 상추 추출물이 혈중 총 콜레스테롤을 유의적으로 개선시켰으며 HDL-콜레스테롤의 함량을 증가시키고 LDL-콜레

Table 3. Effects of lettuce extract on serum lipid parameters in hypercholesterolemic mice fed with high cholesterol diets

(Unit: mg/dL)

Group	Total-cholesterol	Triglyceride	HDL-cholesterol	LDL-cholesterol
N	120.1±17.1	87.7±13.4	82.1± 8.8	20.4±18.6
HC	240.3±23.6***	78.4±17.3	57.7± 5.6***	166.9±25.1***
HC-3LE	211.2±25.9*	73.7±15.8	62.9± 4.8**	133.6±26.5*
HC-6LE	174.3±26.3**	77.1±17.2	70.3±10.6*	88.6±32.9**

Values represent the mean±S.D.

***P<0.001 compared with the N group

*P<0.05, **P<0.01 compared with the HC group

스테롤의 함량을 감소시켜 전반적인 혈중 내 지질 개선 효과를 지닌다는 것을 확인하였다.

7. 혈청의 동맥경화 지수 및 심혈관위험 지수

심혈관계 질환의 위험을 나타내는 혈청의 동맥경화지수 및 심혈관질환지수를 정상 식이 N군, 고콜레스테롤 식이 HC군, 3%, 6% 상추 추출물이 첨가된 고콜레스테롤 식이 HC-3LE, HC-6LE군에서 산출하였다(Table 4). 동맥경화지수는 고콜레스테롤 식이 HC군(3.19±0.53)에서 정상 식이 N군(0.47±0.23)에 비해 유의하게 증가되었다(P<0.001). 임상에서 3 이상의 동맥경화지수는 동맥경화의 위험신호로 여겨지며(Rosenfeld L 1989) 본 연구에서 고콜레스테롤 식이에 의해 동맥경화의 위험이 유발되었다는 것을 의미한다. 3%, 6% 상추 추출물이 첨가된 고콜레스테롤 식이군 HC-3LE, HC-6LE의 동맥경화지수는 2.36±0.38, 1.53±0.56이었고 고콜레스테롤 식이군에 비해 유의적으로 감소하였다(P<0.01). 고콜레스테롤 식이 HC군의 심혈관위험지수는 4.19±0.53이었고 정상 식이 N군(1.47±0.23)에 비해 유의하게 증가되었다(P<0.001). 3%, 6% 상추 추출물이 첨가된 고콜레스테롤 식이군 HC-3LE, HC-6LE의 심혈관질환위험지수는 3.36±0.38, 2.53±0.56이었고 고콜레스테롤 식이군에 비해 유의적으로 감소하였다(P<0.01). 이상의 결과는 심혈관계 질환의 위험도 판단에 이용되는 동맥경화지수와 심혈관위험지수가 상추 추출물의 식이에 의해 유의하게 감소한다는 것을 의미하며 상추 추출물이 혈중 지질대사를 개선하여 심혈관계 질환의 위험을 감소시키는 효과가 있는 것으로 판단된다.

Table 4. Effects of lettuce extract on atherogenic index (AI) and cardiac risk factor (CRF) in hypercholesterolemic mice fed with high cholesterol diets

Group	AI	CRF
N	0.47±0.23	1.47±0.23
HC	3.19±0.53***	4.19±0.53***
HC-3LE	2.36±0.38**	3.36±0.38**
HC-6LE	1.53±0.56**	2.53±0.56**

Values represent the mean±S.D.
***P<0.001 compared with the N group
**P<0.01 compared with the HC group

요 약

본 연구에서는 상추 추출물이 혈관내피세포의 염증반응에 미치는 영향 및 지질대사 개선 효과를 확인하기 위해 HUVEC을 이용한 *in vitro* 실험 및 고콜레스테롤혈증 모델을 이용한 동물실험을 수행하였다. 상추 추출물은 HUVEC에서 TNF-α에 의해 증가되는 세포접착단백질 ICAM-1, VCAM-1의 발현을 억제하였고 TNF-α에 의해 촉진되는 HUVEC와 단핵구 세포의 부착을 감소시켰다. 또한 상추 추출물은 TNF-α에 의해 증가되는 염증성 사이토카인 IL-6, IL-8 및 동맥경화 유발 케모카인 MCP-1의 생성을 농도 의존적으로 억제하였다. 고콜레스테롤혈증 동물모델에서 고콜레스테롤 식이군 및 상추 추출물이 첨가된 고콜레스테롤 식이군의 체중증가량 및 식이섭취량은 유의적인 차이를 보이지 않았다. 고콜레스테롤 식이군의 혈중 총 콜레스테롤 함량은 정상 식이군에 비해 크게 증가하였고 상추추출물이 첨가된 고콜레스테롤 식이군의 콜레스테롤 함량은 유의적으로 감소하였다. 고콜레스테롤 식이군의 혈중 중성지방 함량은 정상 식이군에 비해 약간 감소하였지만 유의적인 차이는 보이지 않았다. 상추 추출물이 첨가된 고콜레스테롤 식이군의 경우 혈중 중성지방 함량은 고콜레스테롤 식이군과 비교하였을 때 유의적인 차이를 보이지 않았다. 고콜레스테롤 식이군의 HDL-콜레스테롤 함량은 정상 식이군에 비해 감소하였고 상추 추출물이 첨가된 경우 HDL-콜레스테롤 함량은 고콜레스테롤 식이군에 비해 유의적으로 증가하였다. LDL-콜레스테롤 함량은 고콜레스테롤 식이군에서 크게 증가하였고 상추 추출물이 첨가된 경우 감소하였다. 혈청의 동맥경화지수 및 심혈관지수는 고콜레스테롤 식이군에서 정상 식이군에 비해 유의적으로 증가하였고 상추 추출물이 첨가된 고콜레스테롤 식이군에서 유의한 감소를 나타내었다. 이상의 연구결과는 상추 추출물이 혈관내피세포의 염증반응을 억제하여 혈관협착을 방지할 수 있고 혈중 지질대사의 개선 효과를 보여 혈액순환개선 및 동맥경화, 심혈관질환의 예방과 치료에 효과가 있다는 것을 의미한다.

감사의 글

본 연구는 중소기업청에서 지원하는 2015년도 산학연협력기술개발사업(No. C0330861)의 연구수행으로 인한 결과로 이에 감사드립니다.

References

Bhatt A, Rohatgi A. 2016. HDL Cholesterol efflux capacity: cardiovascular risk factor and potential therapeutic target. *Curr Atheroscler Rep* 18:2

Chang TY, Chang CC, Ohgami N, Yamauchi Y. 2006. Cholesterol sensing, trafficking, and esterification. *Annu Rev Cell Dev Biol* 22:129-157

Chang TY, Li BL, Chang CC, Urano Y. 2009. Acyl-coenzyme A:cholesterol acyltransferases. *Am J Physiol Endocrinol*

Metab 297:E1-9

Durstine JL, Haskell WL. 1994. Effects of exercise training on plasma lipids and lipoproteins. *Exerc Sport Sci Rev* 22:477-522

Ellulu MS, Patimah I, Khaza'ai H, Rahmat A, Abed Y, Ali F. 2016. Atherosclerotic cardiovascular disease: a review of initiators and protective factors. *Inflammopharmacology* 24:1-10

Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. 1972. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 18:499-502

Hwang SJ, Ballantyne CM, Sharrett AR, Smith LC, Davis CE, Gotto AM Jr, Boerwinkle E. 1997. Circulating adhesion molecules VCAM-1, ICAM-1, and E-selectin in carotid atherosclerosis and incident coronary heart disease cases: the atherosclerosis risk in communities (ARIC) study. *Circulation* 96:4219-4225

Hwang-Bo J, Yoo KH, Park JH, Jeong HS, Chung IS. 2012. Recombinant canstatin inhibits angiopoietin-1-induced angiogenesis and lymphangiogenesis. *Int J Cancer* 131:298-309

Ikonen E. 2008. Cellular cholesterol trafficking and compartmentalization. Nat Rev Mol Cell Biol 9:125-138

Jang TO, Bang MH, Song MC, Hong YH, Kim JY, Chung DK, Jang T, Kwon BM, Kim YK, Lee HS, Kim IH, Baek NI. 2003. Development of biologically active compound from edible plant sources - V. Phytol ACAT (acyl-CoA: cholesterol acyltransferase) inhibitory diterpenoid from the leaves of *Lactuca sativa* L. *J Korean Soc Agric Chem Biotechnol* 46:66-68

Jung EB, Shin MK. 1990. Hyang Yak Dae Sa Jun, Young Lim Sa, Seoul, Korea, pp. 1060

Jung MA, Cho SH, Lee SY, Kim, JH, Oh K, Kim YS, Yoo GS, Lee, DW, Kim S. 2014. Effects of unripe Rubus coreanus miquel extract on improvement of lipid metabolism in C57BL/6 mice fed a high-cholesterol diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 43:650-655

Lee CH, Yi HS, Kim JE, Heo SK, Cha CM, Won CW, Park SD. 2009. Anti-oxidative and anti-inflammatory effect of fractionated extracts of Smilacis glabrae rhizoma in human umbilical vein endothelial cell. *Kor J Herbology* 24:39-50

Lee E, Choi MY. 2000. Effect of pine needle on lipid composition and TBARS in rat fed high cholesterol. *Korean J Food Sci Technol* 32:1186-1190

Ma J, Liu W, Yan X, Wang Q, Zhao Q, Xue Y, Ren H, Wu L, Cheng Y, Li S, Miao L, Yao L, Zhang J. 2012. Inhibition of endothelial cell proliferation and tumor angiogenesis by up-regulating NDRG2 expression in breast cancer cells. *PLoS One* 7:e32368

McKenney JM. 2001. Lipid management: tools for getting to the goal. *Am J Manag Care* 7:S299-306

Nam MH, Lee HS, Hong CO, Koo YC, Seomun Y, Lee KW. 2010. Preventive effects of Rosa rugosa root extract on advanced glycation end product-induced endothelial dysfunction. *Korean J Food Sci Technol* 43:210-216

Park SH, Jang MJ, Hong JH, Rhee SJ, Choi KH, Park MR. 2007. Effects of mulberry leaf extract feeding on lipid status of rats fed high cholesterol diets. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36:43-50

Park YS, Kang SS, Choi HJ, Yang SJ, Shon HH, Seo HH, Jeong JM. 2014. Effect of mulberry (Morus alba L.) extract on blood flow improvement. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 43:498-506

Ren YL, Zhou YW, Ye YH. 2004. Chemical components of Lactuca and their bioactivites. *Acta Pharmaceutica Sinica* 39:954-960

Rosenfeld L. 1989. Lipoprotein Analysis: Early Methods in the Diagnosis of Atherosclerosis. Arch Pathol Lab Med 113: 1101-1110

Sima AV, Stancu CS, Simionescu M. 2009. Vascular endothelium in atherosclerosis. *Cell Tissue Res* 335:191-203

Tall AR. 1990. Plasma high density lipoproteins: metabolism and relationship to atherogenesis. *J Clin Invest* 86:379-384

Utsumi K, Kawabe M, Hirama A, Ueda K, Kamada Y, Arii K, Komaba Y, Katsura K, Iino Y, Katayama Y. 2007. Effects of selective LDL apheresis on plasma concentrations of ICAM-1, VCAM-1 and P-selectin in diabetic patients with arteriosclerosis obliterans and receiving maintenance hemodialysis. *Clin Chim Acta* 377:198-200

White CR, Goldberg DI, Anantharamaiah GM. 2015. Recent developments in modulating atherogenic lipoproteins. *Curr Opin Lipidol* 26:369-375

Zhou Y, Ling EA, Dheen ST. 2007. Dexamethasone suppresses monocyte chemoattractant protein-1 production via mitogen activated protein kinase phosphatase-1 dependent inhibition of Jun N-terminal kinase and p38 mitogen-activated protein kinase in activated rat microglia. *J Neurochem* 102:667-678

Received 18 October, 2016
Revised 28 November, 2016
Accepted 13 December, 2016