

연구노트

옥수수수염 알코올 추출물의 항염 및 항아토피 효과

김현영 · 이미자 · 서우덕 · 최식원 · 김선림¹ · 정건호¹ · 강현중*
농촌진흥청 국립식량과학원 작물기초기반과, ¹농촌진흥청 국립식량과학원 증부작물부

Anti-inflammatory and anti-atopic effects of corn silk (*Zea mays* L.) ethanol extracts

Hyun Young Kim, Mi-Ja Lee, Woo Duck Seo, Sik-Won Choi, Sun Lim Kim¹, Gun-Ho Jung¹, and Hyeon Jung Kang*

Crop Foundation Division, National Institute of Crop Science, Rural Development Administration

¹Department of Central Area Crop Science, National Institute of Crop Science, Rural Development Administration

Abstract This study evaluates the ability of corn silk (*Zea mays* L.) extract to function as a natural anti-inflammatory and anti-atopic therapeutic agent. The anti-inflammatory effects of corn silk were evaluated by measuring the inhibitory activities of nitric oxide (NO) and production of tumor necrosis factor- α (TNF- α). Anti-atopic effects were assessed by measuring the repression of thymus and activation-regulated chemokine (TARC). These results indicated that NICS-1 (corn silk ethanol extract) and NICS-3 (high maysin corn silk ethanol extract) functioned as anti-inflammatory agents by down-regulating LPS-induced NO and TNF- α . Additionally, two extracts showed weak repression of TARC expression levels in tumor necrosis factor TNF- α plus IFN- γ induced HaCaT cells, respectively. These results suggest that corn silk extracts have anti-inflammatory and anti-atopic activities, and thus have the potential to reduce and alleviate the symptoms associated with atopic dermatitis.

Keywords: corn silk, anti-inflammatory, anti-atopic

서 론

옥수수(*Zea mays* L.)수염은 옥수수의 부산물로 열매를 싸고 있는 실 같은 부분으로 옥미발, 옥축서에 등으로 불린다. 이러한 옥수수수염에는 지방유, 지방, 쓴맛 글리코사이드, 사포닌, 알칼로이드, 메이신 외에 이노시톨, 크립토탄틴, 판토텐산, 비타민 C, 말산, 타타릭산, 글루코스, 자일란 등이 함유되어있으며, 특히 다량의 비타민 K가 포함되어 있다(1). 또한 옥수수수염에 함유된 성분 중 하나인 플라보노이드 계열로 메이신(maysin), 아피메이신(apimaysin), 메톡시메이신(methoxymaysin)이 있으며 이 중 메이신은 옥수수수염에 가장 많이 함유되어 있는 대표적인 물질이며, 이러한 메이신은 corn earworm의 생육 억제활성, 종양 세포주에 대한 세포독성 효과 및 라디칼 소거활성 등이 보고되어 있다(2). 최근 Kim 등(3)의 연구결과에 따르면 옥수수수염 추출물이 산화방지 활성 및 UV로부터 피부 보호효과가 있다는 연구가 발표되었으며, 옥수수수염으로부터 유효성분인 메이신 및 유사물질을 다량 추출하는 방법에 대한 연구결과도 보고되었다(4).

피부는 다양한 환경적인 요인에 대해 신체를 보호하는 물리적

장벽으로서 기능을 갖는 가장 첫 번째 기관이며, 다양한 환경적인 자극은 면역계의 활성화를 일으킨다(5). 또한 피부는 다양한 피부 질환중 하나인 아토피성 피부염은 일반적으로 유아 및 소아에게 발생하는 만성 및 재발성 피부질환으로 심한 가려움과 피부습진 등의 증상이 여러 가지 원인에 의해 악화, 완화, 재발이 계속된다(6). 산업화된 나라에서 아토피 피부염 발생률은 계속하여 증가되고 있는 실정이며 성인의 1-5%, 영유아 및 어린이의 10-20%에 이르고 있어(7) 이를 해결하기 위한 연구가 세계적으로 활발히 진행되고 있다. Yin 등(8)의 연구에서는 포도가지와 새송이버섯 혼합 추출물이 항염증 및 아토피 피부염 개선 효과가 있는 것으로 보고하였고, 우슬 뿌리(9), 젯산세균 발효에 의한 울피 열추출물(10) 및 상항버섯, 감초 복합 추출물(7) 등으로부터 항 아토피 효과 연구들이 진행되어왔다. 아토피 등과 같은 알레르기성 피부질환을 개선, 치료하기 위해서는 유발요인에 노출 및 접촉을 피하고 피부 청결을 유지하면서 약효성분을 도포하거나 투여하는 방법이 있다. 하지만 합성 아토피 피부질환 억제제는 가격이 고가이고, 의약품 및 화장품적인 방법 모두 확실하게 재발을 막을 수 없으며, 부작용이 검증되지 않는 등의 문제점을 가지고 있다(10). 반면, 항염 효능은 피부 진정과 여드름, 아토피에 관련하여 많이 사용되어지는 효능으로 피부 자극 완화를 목적으로 하는 화장품류에 많이 사용되어지고 있다(11). 항염제제로 사용되어 지고 있는 물질로 비스테로이드 계통 및 스테로이드 계통의 물질들이 사용되어 지고 있으나, 이러한 물질들은 화장품 원료로 사용할 수 없거나 사용량이 제한되어 있는 경우가 대부분이며, 특히 스테로이드 계통의 경우 피부 위축, 불면, 불안 등의 부작용을 동반하고 있어 최근에는 안정성이 우수한 천연 식물에서의 항염 및 아토피 효능을 갖는 물질 연구가 필요시 되고

*Corresponding author: Hyeon Jung Kang, Crop Foundation Division, National Institute of Crop Science, Rural Development Administration, 181 Hyeoksins-ro, Iseo-myeon, Wanju-gun, Jeonbuk, 55365, Korea

Tel: +82-63-238-5301

Fax: +82-63-238-5305

E-mail: happykorean@korea.kr

Received July 14, 2017; revised September 1, 2017;

accepted September 13, 2017

있다(12). 따라서 본 연구에서는 옥수수수염이 가지고 있는 많은 성분 중 메이신 유사물질을 추출·분리하여 설치류 유래 큰포식 세포주인 RAW 264.7 세포(cells)와 인간유래 각질세포인 HaCaT 세포에서 각각 항염증 효과 및 아토피 개선 효능에 대하여 연구하였다.

재료 및 방법

시험재료

본 실험에서의 공시재료는 국립식량과학원에서 수확한 광평옥의 옥수수수염을 사용하였으며, 2016년 4월 23일 파종하여 출사 후 7-10일경의 수염을 채취하였고 냉동건조하여 -20°C에서 보관하면서 시료로 사용하였다.

옥수수수염 추출물(NICS-1, NICS-3) 제조

본 실험에서 사용한 옥수수수염 추출물은 Kim 등(4)의 연구, 옥수수수염에서 메이신(maysin) 및 유사물질의 동정하는 방법을 토대로 추출하였다. 옥수수수염 시료는 농촌진흥청 국립식량과학원에서 재배 생산된 ‘광평옥’의 옥수수수염을 채취하여 사용하였으며, 채취 즉시 약 5-10 cm의 크기로 세절하였고, 세절된 옥수수수염 1 kg에 95% 주정(프레타놀 A, Reagents Duksan, Gyeonggi-do, Korea) 2000 mL를 투입하여 직사광선이 비추지 않는 곳에서 25°C의 온도로 9일간 추출하였다. 추출물을 탈지면으로 1차 여과 후 No. 3 거름종이로 2차 여과하고 감압 농축하여 옥수수수염 조추출물을 얻었다. 얻어진 옥수수수염 조추출물은 C₁₈ (Preparative C₁₈ reverse phase bulk packing material, 125, 55-105 μm, Waters, Milford, MA) 분말로 충전된 컬럼에 주입하여 초순수 중량%의 초기조성에서 에탄올(ethanol) 중량%만으로 된 기울기법으로 이동상을 흘려주어 옥수수수염 추출물(NICS-1)을 분리하였다. 상기의 과정을 거쳐 얻어진 옥수수수염 추출물(NICS-1)은 순도가 높은 메이신을 얻기 위해 C₁₈ 컬럼에 재주입시켜 메이신을 다량 함유하고 있는 분취물(fraction)을 취하고 이를 다시 감압농축시킨 후 순도가 높은 메이신 고형물(NICS-3)을 얻었다(4).

세포배양 및 세포 생존율 측정

RAW 264.7 세포(mouse macrophage cell, ATCC) 및 HaCaT 세포(human keratinocyte, HaCaT, ATCC) 은 37°C, 5% CO₂ 조건에서 10% FBS (fetal bovine serum), 페니실린(penicillin) (100 U/mL), 스트렙토마이신(streptomycin) (100 μg/mL)이 첨가된 Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) 배지로 배양되었다. 배양 3일 간격으로 충분히 증식되면, 1 mL의 0.25% trypsin-EDTA 용액을 넣고 실온에서 1분간 처리한 다음 세포를 탈착하여 계대 배양하였다. 탈착된 세포는 10% FBS가 첨가된 DMEM 배양액 10 mL에 부유시킨 다음, 새로운 배양용기에 옮겨 1:2의 split ratio로 CO₂ 배양기(37°C, 5% CO₂)에서 배양하였다. 옥수수수염 주정 추출물(NICS-1, NICS-3)이 세포독성을 보이는지 확인하기 위해 세포 생존율을 측정하였다. 세포 생존율은 WST-1 반응액(cell proliferation reagent WST-1, Roche, Bern, Swiss)을 DMEM 배지에 1/10로 희석하고 이를 각 웰당 100 μL씩 처리하여 1시간 동안 반응시킨 후, 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

NO 생성 억제 평가 통한 항염증 효과

96 well plate에 well 당 5×10⁴ cell/well의 Raw 264.7 세포를 분주한 후 18시간 동안 배양하였다. 배양 후 시료를 농도에 따라 처리하고 30분 후 염증 반응 유도 인자인 지방질다당류

(lipopolysaccharide, LPS)를 처리하여 24시간 동안 배양하였다. 생성된 NO의 양은 Griess reagent를 이용하여 세포 배양액 중에 존재하는 NO₂⁻의 형태로 측정하였다. 세포 배양 상등액 100 μL와 그리스시약 100 μL를 혼합하여 10분 동안 상온에서 반응시킨 후 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 배양액의 NO농도는 아질 산소염(sodium nitrite)의 표준물질(standard)로 비교하였다(13).

TNF-α 생성 억제 평가 통한 항염증 효과

48 well plate에 well 당 1×10⁶ cells/well의 Raw 264.7 세포를 분주한 후 24시간 동안 배양하였다. 배양 후 세포를 12시간동안 기아상태를 유지시킨 다음 LPS 1 μg/mL와 샘플을 단독 또는 혼합으로 처리하여 24시간 동안 배양 하였다. 배양된 세포의 배지를 수거하여 ELISA법으로 TNF-α 양을 측정하였다. 또한 바닥에 부착되어 있는 세포는 PBS로 세척한 후, 1N 수산화나트륨(NaOH)로 세포용해(lysis) 시켜 총 단백질 양을 측정하여 일정 단백질에 대한 TNF-α 생성량을 측정하였다. 측정 된 각각의 TNF-α 양과 단백질 양은 보정선에 따라 측정하였다(14).

아토피 개선 효과

HaCaT 세포를 이용하여 TARC (thymus and activation regulated chemokine)의 생성을 측정함으로써 샘플의 아토피 개선 정도를 분석하였다. 각질세포인 HaCaT 세포를 48 well plate에 1×10⁶ cells/well 로 분주 후 24시간 배양한다. 배지를 제거하고 10 ng/mL의 INF- γ 와 10 ng/mL의 TNF- α 및 샘플을 각각의 농도로 배지에 희석한 후 처리한다. 24시간 배양후 배양액을 취하여 Human TARC 면역분석키트(Immunoassay kit, R&D systems, PDDN00)을 사용하여 TARC 분비량을 측정한 후 측정된 TARC 양은 총 단백질 양으로 보정했다.

통계 처리

모든 통계 분석은 SAS ver. 9.2 (SAS Institute, Cary, NC, USA)을 사용하여 수행하였으며, 차이의 유의성은 Duncan의 다중 테스트 및 ANOVA를 사용하여 결정하였으며, p<0.05에서 유의한 차이를 평가하였다. 모든 데이터는 5% 범위에서 유의성이 있었으며, 평균값±표준편차로 표기하였다.

결과 및 고찰

NO생성 억제 활성

대식세포의 추출물 처리시 세포독성을 확인하기 위해 생존율을 확인해 본 결과 두가지 추출물 모두 세포독성은 관찰되지 않았다(data not shown). NO는 염증반응, 종양형성, 고혈압, 당뇨 및 피부부염 등과 같은 여러 가지 질병에서 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 일반적으로 큰포식세포에서 LPS의 자극을 받으면 염증 매개 인자인 NO를 대량으로 생산함으로써 염증반응을 유도한다고 알려져 있다(15). NICS-1 및 NICS-3를 RAW 264.7 세포에 처리 할 경우 NO 생성에 미치는 영향을 알아보기 위하여 각각 샘플농도 10, 50 및 100 μg/mL를 처리하고 30분 후에 LPS (1 μg/mL)로 자극하여 24시간 배양 후 NO생성량을 확인하였다. Fig. 1에서 보듯이와 같이 LPS 단독 처리구에서 NO생성량이 무처리 군에 비해서 크게 증가하였으나, 옥수수수염 추출물(NICS-1 및 NICS-3)을 처리한 군에서는 농도 의존적으로 NO생성량이 감소하였다. LPS 단독 처리 시 NO생성량이 49.43 nM로 나타났으나 추출물 중 정제가 1번 된 NICS-1를 100 μg/mL 농도로 병행 처리 하였을 때 21.43 nM로 약 50% 이상 감소하는 것으로

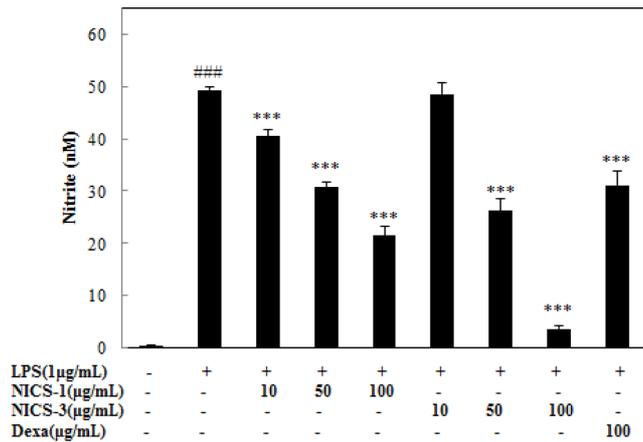


Fig. 1. Effect of NICS-1 and NICS-3 on NO production in LPS-stimulated RAW 264.7 cells. Data are presented as the mean±SD. ^{###}*p*<0.005 compared to the negative control, ^{***}*p*<0.005 compared to the positive control

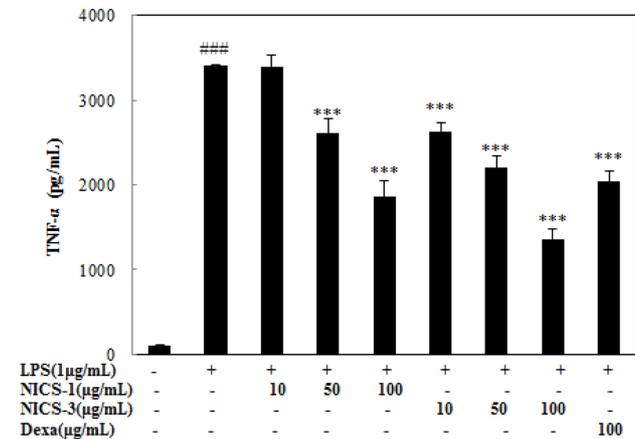


Fig. 2. Effect of NICS-1 and NICS-3 on TNF-α production in LPS-stimulated RAW 264.7 cells. Data are presented as the mean±SD. ^{###}*p*<0.005 compared to the negative control, ^{***}*p*<0.005 compared to the positive control

나타났다. 또한 옥수수수염 추출물 중 정제가 2번 이루어진 NICS-3는 각각 50 µg/mL 및 100 µg/mL 처리 시 각각 26.25 nM 및 3.60 nM 농도로 NO생성량이 크게 감소하는 것으로 나타났다. LPS에 의한 NO 생성 억제 효능은 NICS-1 보다 NICS-3를 처리하였을 때 더 우수한 억제 효능이 있음을 확인 할 수 있었다. Kim(16)의 연구에 따르면 사과 과피 추출물의 염증 관련 효소 억제 효과를 살펴 본 결과 농도 의존적으로 효소 활성 억제 효과가 우수하다고 보고하고 있으며, 또한 감귤의 부산물인 감귤 과피의 발효 추출물이 RAW 264.7 세포에서 NO 생성 억제 및 관련 단백질 발현 감소 등 항염증성 활성이 우수하다는 연구결과가 보고되는 등(17) 최근 다양한 부산물에 대한 항염 효능에 대한 연구가 지속적으로 이루어지고 있으며, 향후 부산물 사용에 따른 자연 소재로 이용할 수 있을 것으로 판단된다.

TNF-α assay 억제능

TNF-α는 LPS 반응의 주요 매개체로 염증의 개시 및 유지에 핵심적 작용을 하여 염증성 병변 과정에서 증가된 발현을 보이며, 특히 만성 염증 질환과 밀접한 관련이 있다(18-19). 이러한 TNF-α는 내분비와 외분비를 통해 자신과 다른 대식세포의 TNF-

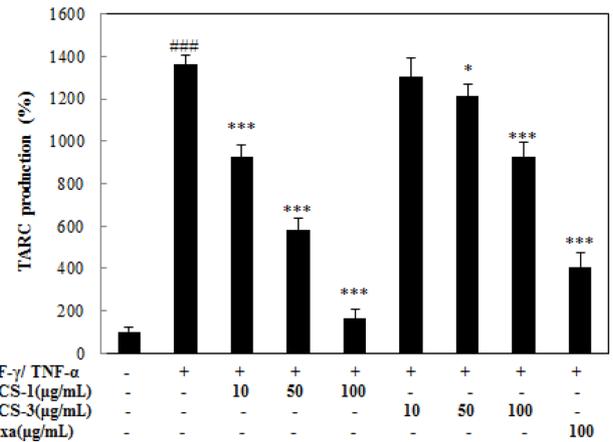


Fig. 3. Effects of NICS-1 and NICS-2 on TNF-α and IFN-γ-stimulated productions of chemokines in HaCaT cells. Data are presented as the mean±SD. ^{###}*p*<0.005 compared to the negative control, ^{*}*p*<0.01, ^{***}*p*<0.005 compared to the positive control

α 수용체에 리간드로 결합해 다양한 염증 매개 전사 인자들을 활성화시켜 TNF-α를 발현시키는 메커니즘을 통해 염증을 심화시킨다(20-22). 따라서 염증 반응의 억제를 위해 TNF-α의 분비 억제에 대한 다양한 연구가 진행되고 있다(23-24). 옥수수수염 추출물이 RAW 264.7 세포에서 TNF-α 분비 영향에 대해 알아보기 위하여 추출물 NICS-1 및 NICS-3을 각각 농도별 (0, 10, 50, 100 µg/mL)로 첨가하여 RAW 264.7 세포의 배양 상층액의 TNF-α를 측정하였다(Fig. 2). LPS 단독 처리구에서는 3401.09 pg/mL의 높은 TNF-α 분비량을 나타냈으나 NICS-1 및 NICS-3을 각각 함께 처리한 결과 100 µg/mL에서 1862.76 및 1364.25 pg/mL로 억제되었다. 또한 NICS-3의 경우 10 µg/mL 처리구에서는 2621.80 pg/mL이며 50 µg/mL 처리구에서는 2195.97 pg/mL로 농도의존적으로 생성량이 감소하는 효과를 확인하였다(^{***}*p*<0.005). 이러한 결과를 통하여 옥수수수염 주정 추출물에서 분리된 NICS-1 및 NICS-3이 RAW 264.7 세포에서 TNF-α 분비를 억제하여 항염증 기능에 관여하는 것을 확인하였다.

TARC 생성 억제능 시험을 이용한 아토피 개선 효능 평가

옥수수수염 추출물이 상피 세포 HaCaT 세포의 Th2 케모카인 생산에 미치는 영향을 살펴보기 위하여, HaCaT 세포에 TNF-α와 IFN-γ를 동시에 투여하여 케모카인 생산을 유도 한 후, 샘플 NICS-1 및 NICS-3을 각각 농도별로 처리하였다(Fig. 3). 아무런 처리도 하지 않은 대조군에 비하여, IFN-γ 및 TNF-α를 처리한 실험군에서 유의성 있는 TARC 생성의 증가를 보여 IFN-γ 및 TNF-α의 처리가 HaCaT 세포의 아토피를 효과적으로 유도하였음을 알 수 있었다. 또한 NICS-1의 경우 IFN-γ 및 TNF-α를 처리하지 않은 대조군에 대비하여 각각 925.3%, 580.9% 및 161.8%의 TARC가 생성되며, 이는 농도 의존적으로 감소하였고, NICS-3의 경우 대조군에 대비하여 각각 1301.5%, 1210.8% 및 924.9%의 TARC가 생성되었으며, NICS-1과 비슷하게 농도 의존적으로 감소하였다(^{***}*p*<0.005). 이상의 결과를 살펴보았을 때 옥수수수염으로부터 추출된 NICS-1 및 NICS-3은 상피 세포인 HaCaT 세포에서 TARC 생성을 억제하는 효과가 있는 것으로 나타났다. 항염활성인 NO생성 저하 및 사이토카인 발현 억제 활성에서는 NICS-3의 활성이 더 높았으며, 아토피 개선 효능 평가인 TARC 생성 억제능에서는 NICS-1의 활성이 조금 더 우수하게 나타났다

다. 이는 두 물질이 각 세포내에서 작용하는 기작들이 상이하여 발생한 결과로 사료되며 추후 *in vivo* 등 다양한 연구가 진행되어야 할 것이다. Kim 등(3)의 연구결과에 따르면 옥수수수염 추출물에서 분리한 메이신 유사 물질들이 라디칼 소거등과 같은 산화방지활성이 우수하고, 자외선 조사에 따른 상피세포(HaCaT cell) 손상 억제 효과 및 상피 세포내 염증성 사이토카인 발현 억제 효과가 높은 것으로 보고하였다. 이상의 결과를 종합하여 볼 때 옥수수수염 추출물에서 분리한 NICS-1 및 NICS-3은 아토피성 피부 질환의 억제 가능성이 있는 것으로 판단되며, 산화방지 및 항염증 작용을 통해 피부염 개선에 기여할 것으로 사료된다.

요 약

옥수수수염 추출물에서 분리한 NICS-1 및 NICS-3이 가지고 있는 항염 및 항아토피 활성을 알아보기 위하여 각각 RAW 264.7 및 HaCaT 세포를 이용하여 NO 및 TNF- α 생성 저해능과 TARC 생성량 정도를 측정하였다. 그 결과 항염활성의 경우 NICS-1 및 NICS-3 두 추출물 모두 NO 및 TNF- α 생성량이 농도의존적으로 크게 감소하였으며, NICS-3이 더 높은 활성을 나타냈다. 또한 항아토피 활성의 경우도 두 추출물 모두 TARC 생성이 대조구에 비하여 크게 감소하였으며 NICS-3 보다 NICS-1이 더 우수한 활성을 나타냈다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 연구사업(세부과제명: 옥수수수염 함유 메이신 다량 분리법 개발 및 산업소재화를 위한 기초특성연구, 세부과제번호: PJ011305032017)의 지원에 의해 수행되었습니다.

References

1. Cha SM, Son BY, Lee JS, Baek SB, Kim SL, Ku JH, Hwang JJ, Song BH, Woo SH, Kwon YU, Kim JT. Effect of particle size on physico-chemical properties and antioxidant activity of corn silk powder. *Korean J. Crop Sci.* 57: 41-50 (2012)
2. Ku KM, Kim SK, Kang YH. Antioxidant activity and functional components of corn silk (*Zea mays* L.). *Korean J. Plant Res.* 22: 323-329 (2009)
3. Kim HY, Seo WD, Seo KH, Lee MJ, Choi SW, Lee KS, Kim SL, Kang HJ. Antioxidative and protective effects of corn silk (*Zea mays* L.) extract on human HaCaT keratinocyte. *Korean J. Crop Sci.* 61: 184-190 (2016)
4. Kim SL, Snook ME, Kim EH, Park CH. Identification of maysin and related flavonoid analogues in corn silks. *Korean J. Crop Sci.* 45: 151-157 (2000)
5. Lee SJ, Choi HR, Lee JC, Park HJ, Lee HK, Jeong JT, Lee TB. The Anti-aging effects of various berries in the Human skin keratinocyte (HaCaT) cells. *Korean J. Food Sci. Technol.* 46: 198-204 (2014)
6. Rang MJ. Anti-inflammatory and anti-allergic effects of herbal extracts on atopic dermatitis (Part I). *J. Korean Oil Chem. Soc.* 28: 75-84 (2011)
7. Kwon OJ, Lee AR, Do KB. Anti-oxidant activities and anti-atopic dermatitis effect of combined extract of *Phellinus linteus* and *glycyrrhiza uralensis*. *Kor. J. Herbol.* 32: 49-56 (2017)
8. Yin HH, Cho BO, Lee HS, Chu JI, Jang SI. Synergistic effects of grape branch and *pleurotus eryngii* extract combination against inflammation on activated mast cells and atopic dermatitis-like skin lesions in mice. *Korea J. Food Sci. Technol.* 48: 582-589 (2016)
9. Kim KO, Ku CS, Kim MJ, Park YJ, Ryu HW, Song HH, Kim JH, Oh SR. Phytoecdysones from the roots of *Achyranthes japonica* Nakai and their anti-atopy activity. *J. Appl. Biol. Chem.* 58: 13-19 (2015)
10. Choi MO, Kim BJ, Jo SK, Jung HK, Lee JT, Kim HY, Kweon DJ. Anti-allergic activities of castanea crenata inner shell extracts fermented by *Lactobacillus bif fermentans*. *Korean J. Food Preserv.* 20: 583-591 (2013)
11. Kang BK, Kim KBWR, Kim M, Bark SW, Pak WM, Kim BR, Ahn NK, Choi YU, Ahn DH. Anti-inflammatory activity of an ethanol extract of *Laminaria japonica* root on lipopolysaccharide-induced inflammatory responses in RAW 264.7 cells. *Korean J. Food Sci. Technol.* 46: 729-733 (2014)
12. Kim NK, Kim MH, Yoon CS, Choi SW. Studies on the anti-inflammatory activity of paulownia coreana uyeki leaf extract. *J. Soc. Cosmet. Sci. Korea* 32: 241-247 (2006)
13. Lee ST, Jeong YR, Ha MH, Kim SH, Byun MW, Jo SK. Induction of nitric oxide and TNF- α by herbal plant extract in mouse macrophage. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 29: 342-348 (2000)
14. Choi Y, Kim MS, Hwang JK. Inhibitory effects of panduratin A on allergy-related mediator production in rat basophilic leukemia mast cell. *Inflammation* 35: 1904 - 1915.(2012)
15. Jin CH, Lee HJ, Park YD, Choi DS, Kim DS, Kang SY, Seo KI, Jeong IY. Isoeugenol inhibits lipopolysaccharide-induced nitric oxide production in RAW 264.7 macrophages through the heme oxygenase-1 induction and inhibition of the interferon- β -STAT-1 pathway. *J. Agr. Food Chem.* 58: 860-867 (2010)
16. Kim I. Inhibitory Effects of Apple Peel Extract on Inflammatory Enzymes. *Korea J. Food Sci. Technol.* 47: 534-538 (2015)
17. Lee SY, Hyun JM, Kim SS, Park SM, Park KJ, Choi YH, Kim SH, Yu SN, Ahn SC. Anti-inflammatory Effect of Citrus unshiu Peels Fermented with *Aspergillus niger*. *J. Life Sci.* 24: 750-756 (2014)
18. Kim YJ, Son DY. Antioxidant and inhibitory effects of Korean Panax ginseng extract on pro-inflammatory mediators in LPS-induced RAW 264.7 macrophages. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 41: 1371-1377 (2012)
19. Moon JH, Go H, Shin SM, Kim KT. Anti-inflammatory effect of extracts from *Ligustrum obtusifolium* S. fruits in RAW 264.7 macrophages. *J. Soc. Korean Med. Diagn.* 17: 263-273 (2013)
20. Giuliani C, Napolitano G, Bucci I, Montani V, Monaco F. NF- κ B transcription factor: role in the pathogenesis of inflammatory, autoimmune, and neoplastic diseases and therapy implications. *Clin. Ter.* 152: 249-253 (2001)
21. Medzhitov R. Origin and physiological roles of inflammation. *Nature* 454: 428-435 (2008)
22. Tak PP, Firestein GS. NF- κ B: a key role in inflammatory diseases. *J. Clin. Invest.* 107: 7-11 (2001)
23. Kim HJ, Park TS, Jung MS, Son JH. Study on the anti-oxidant and anti-inflammatory activities of sarcocarp and calyx of persimmon (Cheongdo Bansi). *J. Appl. Biol. Chem.* 54: 71-78 (2011)
24. Wang X, Luo Y, Liao WB, Zhang J, Chen TM. Effect of osteoprotegerin in combination with interleukin-6 on inhibition of osteoclast differentiation. *Chin. J. Traumatol.* 16: 277-280 (2013)