

상엽 추출물이 마우스 대식세포의 IL-1 α , IL-6, IL-10에 대한 항염활성 연구

박영식¹, 한효상^{2*}

¹남부대학교 대체의학과 박사과정, ²중부대학교 보건행정학과 교수

Anti-inflammatory activity Effects of Mori Folium Water Extracton IL-1 α , IL-6 and IL-10 on mouse macrophages

Young Sik Park¹, Hyo-Sang Han^{2*}

¹The doctor's course, Department of Alternative medicine, Nambu University

²Professor, Department of Health Administration, Joongbu University

요 약 상엽 추출물의 항염 효능을 연구하고자 하였다. 상엽을 열수 추출하여 제조한 시료를 대상으로 RAW 264.7 macrophage cells를 24시간 배양하여 세포생존율과 LPS로 유발된 RAW 264.7 macrophage cells의 일산화질소(NO) 생성증가, IL-1 α , IL-6 그리고 IL-10 등의 사이토카인 생성증가에 미치는 영향을 측정하였다. 상엽 추출물의 MTT assay를 수행한 결과 상엽 추출물은 대식세포의 생존율에는 크게 영향을 주지 않았다. LPS로 활성화된 대식세포의 일산화질소(NO)의 생성증가를 25 μ g/mL 이상의 농도에서 농도 의존적으로 유의하게 억제시켰다. 또한 LPS로 유발된 대식세포에 염증과 연관된 사이토카인인 IL-1 α , IL-6의 생성증가를 50 μ g/mL 이상의 농도에서 농도 의존적으로 유의하게 억제하는 등 항염효과를 가지고 있는 것으로 나타났다. 본 연구 결과는 상엽이 건강 친화적인 기능성 소재로 활용도가 높을 것으로 기대된다. 또한 향후 지속적인 연구를 통한 대식세포를 항염증과 관련된 신호전달경로를 확인하는 추가 실험이 필요하다고 사료된다.

주제어 : 상엽, 일산화질소, 항염증효능, 대식세포, 사이토카인

Abstract This study was conducted to investigate of Mori Folium Water Extract (MF) on anti-inflammation activity. MF Water extracts after 24 hours cultivation were examined to ascertain the cell viability of mouse macrophage RAW 264.7 cells. The influence of the Water extracts in RAW 264.7 macrophage cells treated with LPS was investigated. nitric oxide (NO) production, nterleukin(IL)-1 α IL-6 and IL-10 increased generation of cytokines. mouse macrophage RAW 264.7 cells cell viability changes were no decreas after MTT assay of MF Water extract. The MF water extracts inhibited NO generation caused by LPS in the macrophages over 25 μ g/mL. The MF water extracts increased in the control group the IL-1 α and IL-6 activation generated by LPS in the macrophages over 50 μ g/mL. Accordingly, it was found that different MF water extract concentrations significantly influenced certain anti-inflammation activities in RAW 264.7 macrophage cells. The results of this study are expected to be highly applicable to health - friendly functional materials. Further studies are needed to confirm the signaling pathways associated with anti-inflammation of macrophages through continuous studies.

Key Words : Mori Folium, Nitric oxide, Anti-inflammatory effect, Macrophage, Cytokine

*Corresponding Author : Hyo-Sang Han(hanhs@joongbu.ac.kr)

Received September 19, 2018

Revised October 30, 2018

Accepted November 20, 2018

Published November 28, 2018

1. 서론

상엽은 『神農本草經』에 처음 기록된 이래 疏散風熱, 清肺潤燥, 清肝明目的 효능이 있어, 風熱感冒, 肺熱燥咳, 頭暈頭痛, 目赤昏花를 치료하는 약물로 사용되어 왔다 [1]. 상엽의 기원은 대한민국약전의한약(생약)규격집[2]에 “뽕나무 *Morus alba* Linné 또는 산뽕나무 *Morus bombycis* Koidz (뽕나무과 *Moraceae*)의 잎”라고 收載되어 있다.

상엽의 성분으로 잎에는 rytin, quercetin, isoquercetin, moracetin 및 미량의 β -sitosterol, campesterol, lupeol, myoinositol 0.18%, inkosterone, ecdysterone, hemolysin, chlorogen acid 등이 함유되어 있다[1]. 약리작용으로는 항비만 효과[3], 근위축 억제 효능[4], 간섬유화 억제 효과[5], 항당뇨 효과[6], 항산화 효과[7], 항피부 노화 효과[8] 등이 보고되어 있다.

여러 수용체들에 의한 병원체 존재의 감지는 대식세포가 자극되어 일련의 사이토카인과 감염 부위로 물질을 분비하여 조직 내에서 염증 상황을 발전시킨다. 이러한 염증은 국소 모세혈관의 지름을 증가시키고(angiotectasis), 혈류 속도의 감소와 혈관벽의 고유 투과성(intrinsic permeability)을 증가시킨다[9].

염증은 한의학에서 창양의 속하며, 기혈이 정체되어 영위가 통하지 않아서 안에서 맺히거나 또는 여러 종류의 외적인 손상에 의하여 체표의 얇은 부분에 유형의 병증으로 나타나는 염증성 질환을 말한다[10].

대식세포의 핵으로의 NF κ B 전위는 다양한 사이토카인 유전자들의 전사를 개시하는데 이들 전염증 사이토카인 IL-1, IL-6, CXCL8, IL-12 그리고 TNF- α 는 감염된 조직에 국한되거나 신체 전부에 나타나는 강력한 효과를 갖는다. 이러한 염증 매개물질을 억제하는데 기여하는 물질을 발견한다면 각종 면역질환 치료에 도움이 될 것이다[9,11].

여러 천연물들에 관한 연구들은 이미 진행되어 왔으며[12-16], 또한 상엽의 약리 효과에 대한 면역매개인자들에 대한 여러 연구는 보고되었으나 상엽 물추출물을 이용한 염증매커니즘에 대한 연구는 부족한 것으로 인식하였다.

이에 본 연구에서는 상엽의 항염효과에 대하여 알아보기 위하여 상엽 물추출(MF = *Mori Folium*)을 대상으로 RAW 264.7 macrophage cells의 cell viability와 LPS로 활성화된 NO 그리고 IL-1 α , IL-6, IL-10의 사이토카인

인 생성증가에 대한 영향을 확인하고자 하였다.

2. 재료 및 방법

2.1 재료

2.1.1 약재

실험에 사용된 상엽(*Mori Folium*)은 한국 서울의 동양허브 주식회사로부터 2017년 8월에 구입(NO: 2017-009)하였으며, 약재는 가천대학교 한의과대학 본초학교실에서 감정하였고 모든 약재는 실험 전에 불순물을 제거하기 위해 초음파 세척기를 이용하였다.

2.1.2 세포주

실험에 사용된 세포주는 mouse macrophage RAW 264.7 cells로서 한국세포주은행(KCLB, Korea)으로부터 구입하여 실험에 사용하였다.

2.1.3 시약 및 기기

본 실험을 위해서 1 \times PBS(Sigma, USA), ethyl alcohol(Samchun Chemical, Korea), FBS(Sigma, USA), penicillin(Sigma, USA), Trypsin-EDTA(Sigma, USA), DMEM(Sigma, USA), DMSO(Sigma, USA), streptomycin(Sigma, USA), methyl alcohol(Samchun Chemical, Korea), cytokine assay kit(Panomics, USA), MTT assay kit(Sigma, USA), NO assay kit(Sigma, USA), EDTA(Sigma, USA), Fluo-4 calcium assay kit(Molecular Probes, USA) 등이 사용되었으며 각 시약의 품질은 분석용 등급 이상의 것으로 하여 사용하였다. 본 실험에 사용된 기기는 clean bench (Intron Biotech, Korea), Bio-Plex 200(Bio-Rad, USA), CO₂ incubator (Nuair, USA), rotary vacuum evaporator (Eyela, Japan), centrifuge (Hanil, Korea), fume hood (Hanil, Korea), research microscope (Becton dickinson, USA), ultrasonic cleaner (Branson, USA), microplate reader (Bio-Rad, USA), water bath (Intron Biotech, Korea), ice-maker (Vision Scientific Co, Korea), vortex mixer (Vision Scientific Co, Korea) 등이다.

2.2 방법

2.2.1 시료의 제조

상엽을 50 g으로 측정 한 후, 2,000 mL 1 차 증류수와 함께 환류추출기에 넣은 뒤 끓기 시작한 후 2 시간 가열하여 추출하였다. 추출액을 감압 여과한 뒤 농축액을 얻었으며, 동결건조기를 이용하여 건조한 분말을 실험에 사용하였다.

2.2.2 Cell culture

RAW 264.7 macrophage cells를 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 FBS, 페니실린(100 U/mL), 스트렙토마이신(100 µg/mL)이 첨가된 DMEM 배지로 배양되었다. RAW 264.7 macrophage cells를 75 cm² flask에서 증식된 후 배양 3 일에 한번씩 배양세포 표면을 PBS 용액으로 씻어주고 50 mL flask 당 1 mL의 0.25% 트립신+EDTA용액을 넣고 1분간 실온에서 처리한 다음 트립신 용액을 버리고 5 분간 37°C에서 보관하여 세포를 탈착하여 계대 배양하였다. 탈착된 세포는 10% FBS가 첨가된 배양액(DMEM) 10 mL에 떠다니게 한 다음 새 것의 배양용기(50 mL culture flask)에 옮겨서 비율을 1 : 2로 CO₂ 배양기에서 배양되었다.

2.2.3 Cytotoxicity assay

시료가 RAW 264.7 macrophage cells에 나타내는 세포독성을 알아보기 위하여 MTT assay를 실시하였다. 1×10⁴ cells/well의 세포를 96 well plate에 100µl씩 넣고 CO₂ 배양기에서 24 시간동안 배양한 후 배지를 없애고 배양세포의 표면을 PBS 용액으로 씻어 처리하였다. PBS에 녹인 시료 (25, 50, 100, 200 µg/mL)와 동일한 양의 배지를 24시간 동안 각 well에 처리하고 배양하였다. 배양이 완성된 PBS에 녹인 1 mg/mL MTT를 각 well에 100 µl씩 처리하여 빛이 들어오지 않도록 가리개로 막은 후 2시간 동안 같은 조건에서 배양하였다. 배양액을 모두 없앤 후 DMSO를 100µl 처리하고 2시간 37°C에서 방치 후 마이크로 플레이트 리더기를 이용하여 490 nm에서 흡광도를 측정하였다. 세포 생존능은 공식은 다음과 같다.

$$\text{세포생존율(\%)} = 100 \times \text{AT} / \text{AC}$$

AC : 대조 흡광도

AT : 시험 한 추출 용액의 흡광도.

2.2.4 Nitric oxide production measurement

다양한 농도의 시료(25, 50, 100, 200 µg/mL)와 함께 LPS를 단독처리(1 µg/mL)한 후 배지에 담아 각 well에

처리하고 24시간 동안 CO₂ 배양기에서 배양한 후 상등액 100 µl을 채취하여 여기에 15분 동안 그리스 시약 100 µl을 혼합하여 반응시킨 후 Microplate Reader를 이용하여 540nm에서 흡광도를 측정하였다. 세포의 일산화질소 생성 공식은 다음과 같다.

$$\text{일산화질소 생산(\%)} = 100 \times \text{AT} / \text{AC}$$

AC : 대조 흡광도

AT : 시험 한 추출 용액의 흡광도.

2.2.5 Cytokine secretion measurement

사이토카인 분비와 관련된 영향을 알아보기 위해 사이토카인 분석을 시행하였다. 1×10⁵ cells/mL의 cell을 96 well plate에 100 µl씩 넣고 CO₂ 배양기에서 24 시간동안 배양한 후 배지를 없애고 포 표면을 1×PBS 용액으로 씻어준 뒤 다양한 농도의 시료(25, 50, 100, 200 µg/mL)를 각 well에 넣고 동시에 LPS를 단독처리(1 µg/mL)한 후 24시간 동안 배양하였다. 배양이 끝나면 상등액을 채취하여 거름판(96 well type)에 준비되어 있던 항체가 결합된 포획 구슬과 결합시키고, 결합된 포획 구슬이 담긴 거름판의 각 well을 150 µl의 세척 완충액으로 세척한다. 세척이 끝난 뒤 각 well에 30 분간 검출 항체를 추가한 후 배양한다. 배양이 끝나면 세척 완충액으로 세척한 뒤 각 well에 스트렙타비딘-PE를 분주하고 37°C에서 30 분간 300~500 rSB의 조건으로 진동배양한다. 배양이 끝나면 세척 완충액으로 세척한 다음 각 well에 120 µl의 판독 완충액을 분주하고 37°C에서 5 분간 300~500 rSB의 조건으로 진동배양한 후 바이오 플렉스 어레이 리더기를 이용하여 측정코자 하는 사이토카인의 발현에 대한 영향을 계산하였다.

2.3 통계처리

본 실험에서 얻은 결과에 대해서는 mean ± SD로 나타내었으며, 각 실험군과 대조군과의 평균의 차이는 ANOVA test로 분석, Student's t-test로 p-value값이 0.05 미만일 때 통계적으로 유의한 것으로 검증하였다.

3. 결과

3.1 세포독성에 대한 효과

상엽 물추출물이 RAW 264.7 macrophage cells의 증

식에 미치는 영향을 알아보기 위하여 상엽 물추출물을 24 시간 동안 처리한 결과 25 ug/mL 이상의 모든 농도에서 세포생존률이 농도 의존적으로 증가하였다.

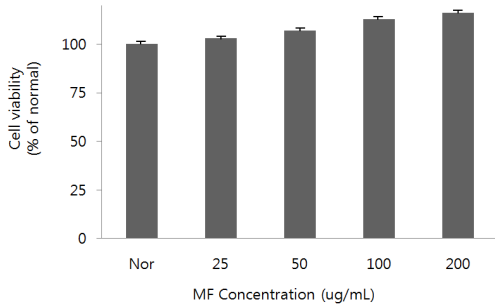


Fig. 1. Effect of MF on cell viability in RAW 264.7 macrophage cells incubated for 24 hrs. Results are the mean \pm SD of three independent experiments. MF : Mori Folium water extract. Normal :Treated with media only.

3.2 LPS로 유발된 NO 생성증가에 대한 효과

상엽 물추출물이 LPS로 활성화된 RAW 264.7 macrophage cells의 NO 생성의 증가 대한 효과를 알아보기 위하여 상엽 물추출물을 1 ug/mL LPS와 함께 24 시간 동안 처리한 결과 모든 농도(25 ug/mL 이상)에서 LPS에 의한 NO 생성의 증가를 농도 의존적으로 억제하였다.

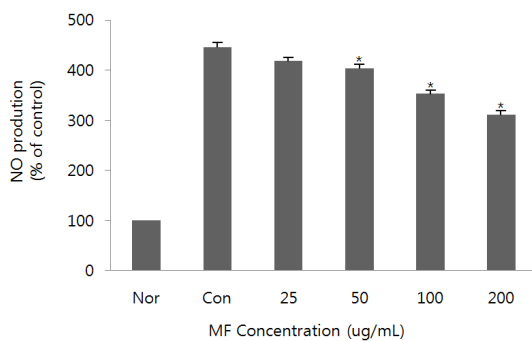


Fig. 2. Effect of MF on the nitric oxide production in RAW 264.7 macrophage cells were incubated for 24 hrs. treated with LPS; 1 μ g/mL. Results are the mean \pm SD of three independent experiments. MF : Mori Folium water extract. Normal : Treated with media only. Control : Treated with LPS 1 μ g/mL only. * P < 0.05 compared to the control.

3.3 IL-1 α 생성에 대한 효과

상엽 물추출물이 LPS로 활성화된 RAW 264.7 macrophage cells에서 IL-1 α 생성의 증가 대한 효과를 알아보기 위하여 상엽 물추출물을 1 ug/mL LPS와 함께 24 시간 동안 처리한 결과 50 ug/mL 이상 농도에서 LPS에 의한 IL-1 α 생성의 증가를 농도 의존적으로 억제하였다.

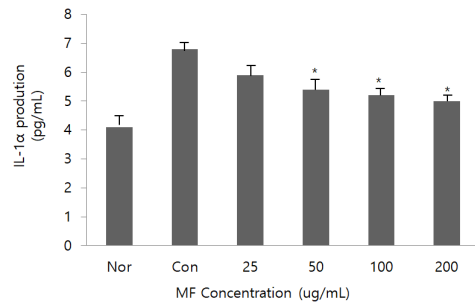


Fig. 3. Effect of MF on the IL-1 α production in RAW 264.7 macrophage cells were incubated for 24 hrs. treated with LPS; 1 μ g/mL. Results are the mean \pm SD of three independent experiments. MF : Mori Folium water extract. Normal : Treated with media only. Control : Treated with LPS 1 μ g/mL only. * P < 0.05 compared to the control.

3.4 IL-6 생성에 대한 효과

상엽 물추출물이 LPS로 활성화된 RAW 264.7 macrophage cells에서 IL-6 생성의 증가 대한 효과를 알아보기 위하여 상엽 물추출물을 1 ug/mL LPS와 함께 24 시간 동안 처리한 결과 50 ug/mL 이상 농도에서 LPS에 의한 IL-6 생성의 증가를 농도 의존적으로 억제하였다.

Table 1. Effect of MF on IL-6 Production in Raw 264.7 Cells Treated with LPS

| Concentration (μ g/mL) | IL-6 production (pg/mL) |
|-----------------------------|-------------------------|
| Normal | 300 \pm 0.33 |
| Control | 10531.30 \pm 53.17 |
| 25 | 9456.80 \pm 356.76 |
| 50 | 9340.30 \pm 274.01* |
| 100 | 9274.70 \pm 240.08* |
| 200 | 9137.50 \pm 138.36* |

PM : Water extract of Mori Folium. Cells were incubated for 24 hrs. Results are represented as mean \pm SD of the three independent experiments. Normal : Not treated with PM. Control : Treated with LPS (1 μ g/mL) only

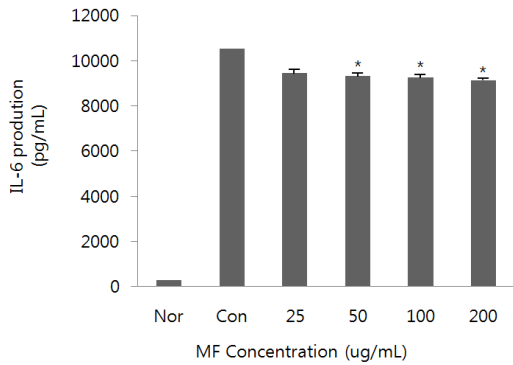


Fig. 4. Effect of MF on the IL-6 production in RAW 264.7 macrophage cells were incubated for 24 hrs. treated with LPS; 1 μg/mL. Results are the mean ± SD of three independent experiments.

MF : Mori Folium water extract.

Normal : Treated with media only. Control : Treated with LPS 1 μg/mL only. * P < 0.05 compared to the control.

3.5 IL-10 생성에 대한 효과

상엽 물추출물이 LPS로 활성화된 RAW 264.7 macrophage cells에서 IL-10 생성의 증가에 대한 효과를 알아보기 위하여 상엽 물추출물을 1 ug/mL LPS와 함께 24 시간 동안 처리한 결과 LPS에 의한 IL-10 생성증가에 대한 유의한 억제 효과가 나타나지 않았다.

Table 2. Effect of MF on IL-10 Production in Raw 264.7 Cells Treated with LPS

| Concentration (μg/mL) | IL-10 production (pg/mL) |
|-----------------------|--------------------------|
| Normal | 200 ± 0.24 |
| Control | 8212.00 ± 212.10 |
| 25 | 7391.00 ± 312.10* |
| 50 | 7312.00 ± 210.40* |
| 100 | 7210.00 ± 197.30* |
| 200 | 7197.00 ± 191.30* |

PM : Water extract of Mori Folium.

Cells were incubated for 24 hrs.

Results are represented as mean±SD of the three independent experiments.

Normal : Not treated with PM.

Control : Treated with LPS (1 μg/mL) only

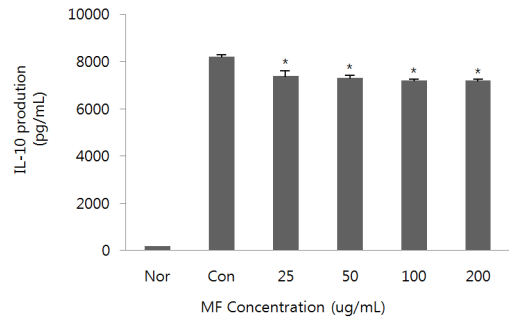


Fig. 5. Effect of MF on the IL-10 production in RAW 264.7 macrophage cells were incubated for 24 hrs. treated with LPS; 1 μg/mL. Results are the mean ± SD of three independent experiments.

MF : Mori Folium water extract.

Normal : Treated with media only. Control : Treated with LPS 1 μg/mL only. * P < 0.05 compared to the control.

4. 고찰

상엽은 잎으로 계란모양 또는 넓은 계란모양이고 3 ~ 5 개로 갈라진 것도 있으며 길이 8 ~ 15 cm, 너비 7 ~ 13 cm이다. 윗면은 황록색 또는 연한 황갈색이다. 잎 끝은 뾰족하고 아랫부분은 심장모양으로 되어 있으며, 잎 가장자리는 톱니가 있다. 아랫면에는 엽맥이 돌출되어 있고 작은 엽맥은 그물 모양이며 그 위에 털이 나 있다. 질은 부스러지기 쉽고 가볍다[2].

상엽의 정유성분 중에는 valeric acid, acetic acid, butyric acid, isobutyric acid, isovaleric acid, propionic acid, capronic acid, methyl salicylate, guaiacol, phenol, o-cresol, m-cresol, eugenol 등이 함유되어 있다. 또 fumaric acid, 구연산, 호박산, palmitic acid, hentriacontane, hydroxycoumarin, 자당, 과당, 포도당, asparagin acid, glutamin acid 등의 aminol acid도 들어 있다[1].

이와 같이 상엽은 여러 화학성분과 효과를 가지고 있지만, 상엽의 항염 효과에 대한 검증이 할 필요가 있다고 판단되었다.

이에 본 연구에서는 상엽을 물추출하여 얻은 시료(MF)를 대상으로 RAW 264.7 macrophage cells의 세포 생존율과 LPS로 활성화된 NO, IL-1α, IL-6, IL-10의 사이토카인 생성증가에 대한 영향을 측정하였다.

본 실험에서는 RAW 264.7 macrophage cells에 상엽

물추출물을 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이상의 농도로 처리한 뒤에 37°C에서 24 시간동안 배양한 뒤에, MTT assay를 이용하여 확인한 결과 상엽 물추출물은 모든 농도(25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이상)에서 농도 의존적으로 RAW 264.7 macrophage cells에 독성을 유발하지 않았으며 이는 상엽 물추출물이 RAW 264.7 macrophage cells에 독성을 유발하지 않는 것을 나타낸다.

NO는 pro-inflamatroy 사이토카인이나 LPS는 면역 세포에 작용하여 L-아르기닌으로부터 iNOS의 작용으로 NO 생성을 증가시켜 만성염증 관여한다[17,18].

상엽 물추출물이 LPS로 활성화된 RAW 264.7 macrophage cells의 NO 생성의 증가에 대한 효과를 알아보기 위하여 24 시간 동안 상엽 물추출물을 LPS(1 $\mu\text{g}/\text{mL}$)와 함께 RAW 264.7 macrophage cells에 처리한 결과 모든 농도(25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이상)에서 LPS에 의한 NO 생성증가를 농도 의존적으로 유의하게 억제하였다. 이와 같이 상엽 물추출물이 LPS(1 $\mu\text{g}/\text{mL}$)로 활성화된 RAW 264.7 macrophage cells의 NO 생성의 증가를 억제하는 것은 염증약화를 억제할 수 있는 효능을 가지고 있음을 내포한다.

항염증성 사이토카인은 전염증성 사이토카인 반응을 조절하는 일련의 면역 조절 분자이다. 사이토카인은 인간 면역 반응을 조절하기 위해 특정 사이토카인 억제제 및 가용성 사이토카인 수용체와 함께 작용한다. 염증에서의 이들의 생리학적 역할과 전신성 염증 상태에서의 병리학적 역할이 점차 인식되고 있으며, 주요 항염증성 사이토카인은 인터루킨 (IL) -1 수용체 길항제, IL-10, IL-6, IL-4, IL-11 및 IL-13을 포함한다[19].

IL-1은 거의 모든 cell들이 손상을 받았을 때 생산하며 염증의 매개물질로서 작용한다. 특히 IL-1 α 는 T cell과 B cell의 증식과 분화에 중요한 작용을 한다[20].

상엽 물추출물이 LPS로 활성화된 RAW 264.7 macrophage cells의 IL-1 α 생성증가에 대한 효과를 알아보기 위하여 24 시간 동안 상엽 물추출물을 LPS(1 $\mu\text{g}/\text{mL}$)와 함께 RAW 264.7 macrophage cells에 처리한 결과 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이상 농도에서 LPS(1 $\mu\text{g}/\text{mL}$)에 의한 IL-1 α 생성증가를 농도 의존적으로 유의하게 억제하였다.

IL-6는 감염과 조직 손상에 반응하며 신속하고 일시적으로 생성되고 급성기 반응, 조혈 및 면역 반응 자극을 통한 숙주 방어에 기여한다. IL-6의 발현은 전사 및 전사 후 기전에 의해 엄격히 통제되지만 만성 염증 및 자가 면

역에 병리학 적 영향을 미친다[21].

상엽 물추출물이 LPS로 활성화된 RAW 264.7 macrophage cells의 IL-6 생성증가에 대한 효과를 알아보기 위하여 24 시간 동안 상엽 물추출물을 LPS(1 $\mu\text{g}/\text{mL}$)와 함께 RAW 264.7 macrophage cells에 처리한 결과 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이상 농도에서 LPS(1 $\mu\text{g}/\text{mL}$)에 의한 IL-6 생성증가를 농도 의존적으로 유의하게 억제하였다.

IL-10은 병원균에 대한 숙주 면역 반응을 조절하여 숙주에 대한 손상을 방지하고 정상 조직 항상성을 유지하는 데 핵심적인 역할을 하는 강력한 항염증 특성을 갖는 사이토카인이며, IL-10의 조절 장애는 감염에 대한 면역 반응의 강화뿐만 아니라 많은 자가 면역 질환의 발병 위험 증가와 관련이 있다[22].

상엽 물추출물이 LPS(1 $\mu\text{g}/\text{mL}$)로 활성화된 RAW 264.7 macrophage cells의 IL-10 생성의 증가에 대한 효과를 알아보기 위하여 24 시간 동안 상엽 물추출물을 LPS(1 $\mu\text{g}/\text{mL}$)와 함께 RAW 264.7 macrophage cells에 처리한 결과 모든 농도(25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이상)에서 LPS(1 $\mu\text{g}/\text{mL}$)에 의한 IL-10 생성증가에 대한 유의한 억제가 나타나지 않았다

이와 같이 상엽 물추출물이 RAW 264.7 macrophage cells의 세포생존율을 감소시키지 않으면서도 LPS로 인해 활성화된 RAW 264.7 macrophage cells의 여러가지 염증매개물질들(inflammatory mediators) 생성증가를 농도 의존적으로 유의하게 억제하는 것은 상엽 물추출물이 RAW 264.7 macrophage cell과 관련된 다양한 항염효과가 있음을 시사하는 것이다.

이상의 결과, 상엽 물추출물은 RAW 264.7 macrophage cells에 세포독성을 유발하지 않으면서도 LPS(1 $\mu\text{g}/\text{mL}$)로 활성화된 RAW 264.7 macrophage cells의 NO, IL-1 α , IL-6의 생성증가를 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이상의 농도에서 농도 의존적으로 유의하게 억제시키는 등 RAW 264.7 macrophage cells와 관련된 염증매커니즘을 조절할 수 있는 효과가 있는 것을 알 수 있었다. 또한 지속적인 연구를 통한 대식세포를 항염증과 관련된 신호전달경로를 확인하는 추가 실험이 필요하다고 사료된다.

5. 결론

본 연구에서는 상엽 물추출물(MF)을 대상으로 RAW

264.7 macrophage cells의 세포생존율과 LPS로 활성화된 NO, IL-1 α , IL-6, IL-10의 사이토카인의 생성증가에 대한 효과를 측정하였다.

1. 상엽 물추출물은 모든 농도에서 RAW 264.7 macrophage cells에 농도 의존적으로 유의한 독성을 유발하지 않았다.

2. 상엽 물추출물은 LPS(1 μ g/mL)에 의해서 활성화된 RAW 264.7 macrophage cells의 NO 생성증가를 모든 농도에서 농도 의존적으로 유의하게 억제시켰다.

3. 상엽 물추출물은 LPS(1 μ g/mL)에 의해서 활성화된 RAW 264.7 macrophage cells의 IL-1 α 와 IL-6는 50 μ g/mL 이상에서 생성증가를 농도 의존적으로 유의하게 억제시켰다.

이상의 결과, 상엽 물추출물은 RAW 264.7 macrophage cells에 유의한 세포독성을 유발하지 않으면서도 LPS로 활성화된 RAW 264.7 macrophage cells의 NO, IL-1 α , IL-6의 생성증가를 유의하게 농도 의존적으로 억제시켰다. 이러한 결과는 상엽 물추출물이 RAW 264.7 macrophage cells와 관련된 항염효과가 뛰어나 염증매커니즘을 조절할 수 있는 소재로서 활용가능성이 높음을 의미하며 향후 지속적인 연구를 통한 대식세포를 항염증과 관련된 신호전달경로를 확인하는 추가 실험이 필요하다고 사료된다.

REFERENCES

- [1] I. R. Kim et al. *Boncho-Hak*. Seoul : Young-Lim Press.
- [2] Korea Food and Drug Administration. *The Korean Herbal Pharmacopoeia*. Seoul : Korea Food and Drug Administration.
- [3] S. Y. Ji et al. (2017). Ethanol Extracts of Mori Folium Inhibit Adipogenesis Through Activation of AMPK Signaling Pathway in 3T3-L1 Preadipocytes. *Journal of Life Science*, 27(2), 155-163.
- [4] Y. S. Lee et al. (2018). Ethanol Extract of Mori Folium Inhibits AICAR-induced Muscle Atrophy Through Inactivation of AMPK in C2C12 Myotubes. *Journal of Life Science*, 28(4), 435-443.
- [5] S. H. Byun, S. M. Park, S. C. Kim & I. J. Cho. (2013). Anti-fibrotic Effect of Mori Folium Extract in Hepatic Stellate Cells. *Kor. J. Herbology*, 28(4), 49-55.
- [6] T. O. Kwon et al. (2015). Anti-Diabetic Effects of Mori Folium Extract on High-Fat Diet and Streptozotocin-Induced Type II Diabetes Mellitus in Mice. *Kor. J. Herbology*, 30(1), 1-9.
- [7] J. E. Lee, Y. K. Song & H. H. Lim. (2007). Studies on the Antioxidant Effects of Mori Folium Extract. *The Journal of Korean Medicine*, 28(1), 148-158.
- [8] A. R. Lee et al. (2017). Anti-skin-aging Effect of Mori Folium through decreased Advanced glycation end product (AGEs). *Kor. J. Herbology*, 32(5), 7-12.
- [9] S. Y. Kim et al. (2016). *Myeonyeoh-Hak*. Seoul : Life Science Publishing Co.
- [10] S. S. No. (2006). *Wonsaek Pibugaw-Hak*. Seoul : IBC Gihoek Press.
- [11] J. B. Calixto, M. M. Campos, M. F. Otuki & A. R. Santos. (2004). Anti-inflammatory compounds of plant origin. Part II. modulation of pro-inflammatory cytokines, chemokines and adhesion molecules. *Planta Med*, 70(2), 93-103.
- [12] Y. B. Lee et al. (2013). The Effect of Mulberry Leaf Extract on Blood biochemical parameters in White Rats Exposed to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin(TCDD). *Journal of Digital Convergence*, 11(1), 299-308.
- [13] J. Kim. (2014). Antibacterial and anti-inflammatory effects of Platycodon grandiflorum extracts. *Journal of Digital Convergence*, 12(3), 359-366.
- [14] A. Y. Jang, Y. C. Sueng & J. G. Ji. (2016). The comparative study on physiological activity of White ginseng, Red ginseng and Black ginseng extract. *Journal of Digital Convergence*, 14(5), 459-471.
- [15] M. S. Kim, S. H. Park & H. R. Park. (2016). Convergence Studies Vascular Relaxation and Safty Evaluation in Viscum Coloratum, Chrysanthem Morifolium, Citri Percarpium, and Ophiopogonis Radix Mixture. *Journal of Digital Convergence*, 14(9), 479-484.
- [16] S. H. Park, B. J. Park & H. R. Park. (2016). Studies on Nutritional Analysis and Antioxidant activity of Oriental Medicines with Bloodstream Improvement. *Journal of Digital Convergence*, 14(10), 563-570.
- [17] J. N. Sharma, A. Al-Omran & S. S. Parvathy. (2007). Role of nitric oxide in inflammatory diseases. *Inflammopharmacol*, 15(6), 252-259.
- [18] R. Korhonen, A. Lahti, H. Kankaanranta & E. Moilanen (2005). Nitric oxide production and signaling in inflammation. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy*, 4(4), 471-479.
- [19] S. M. Opa & V. A. Depalo. (2000). Anti-inflammatory cytokines. *Chest*, 117(4), 1162-1172.
- [20] I. Nazarenko, R. Marhaba, E. Reich, E. Voronov & M. Vitacolonna. (2008). Tumorigenicity of IL-1 α and IL-1 β

deficient fibrosarcoma cells. *Neoplasia*, 10(6), 549-562.

- [21] T. Toshio, N. Masashi & K. Tadimitsu. (2014). IL-6 in Inflammation, Immunity, and Disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 6(10), a016295.
- [22] S. S. Iyer & G. H. Cheng. (2012). Role of Interleukin 10 Transcriptional Regulation in Inflammation and Autoimmune Disease. *Crit Rev Immunol*, 32(1), 23-63.

박 영 식(Park, Young Sik) [정회원]



- 2014년 2월 : 남부대학교 대체의학과(보건학사)
- 2016년 2월 : 남부대학교 대체의학과(보건학석사)
- 2008년 8월 : 남부대학교 대체의학과 박사과정

- 관심분야 : 대체의학, 의학
- E-Mail : pys113@empal.com

한 효 상(Han, Hyo Sang) [중신회원]



- 2003년 2월 : 경원대학교 보건관리학과(보건학사)
- 2005년 2월 : 경원대학교 한의학과(한의학석사)
- 2008년 8월 : 경원대학교 한의학과(한의학박사)

- 2012년 3월 ~ 현재 : 중부대학교 보건행정학과 교수
- 관심분야 : 한의학, 대체의학
- E-Mail : hanhs@joongbu.ac.kr