

## Anti-inflammatory Effects of Heat-treated Starfish Extract in Lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 Cells

Jae Hyeon Park<sup>1</sup>, Keun Jae Ahn<sup>2</sup> and Sun-Ryung Lee<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Biology, Jeju National University, Jeju 63243, Korea

<sup>2</sup>Department of Science Education, Jeju National University, Jeju 63243, Korea

Received April 23, 2020 / Revised June 16, 2020 / Accepted June 17, 2020

Starfish are a potential source of marine materials, but their unique odor can limit application. Our previous work suggested that brittle star *Ophioplocus japonicus* extract could be more effective as a cosmetic material by reducing its odor through a roasting process. However, the biological properties of heat-treated *Ophioplocus japonicus* extract (HOJE) remain poorly understood. We here examined the anti-inflammatory potential of HOJE in lipopolysaccharide (LPS)-induced RAW 264.7 cells. HOJE significantly inhibits LPS-stimulated nitric oxide (NO) production without affecting cell viability in a dose-dependent manner and suppresses LPS-induced expression of inducible nitric oxide synthases (iNOS) and pro-inflammatory cytokines such as interleukin-6 and -1 $\beta$ . Furthermore, treatment of pyrrolidine dithiocarbamate to inhibit nuclear factor kappa B (NF- $\kappa$ B) signaling accelerated the inhibitory effect of HOJE on NO production, and the translocation of NF- $\kappa$ B p65 from the cytosol to the nucleus was attenuated by HOJE. These results show that HOJE ameliorates inflammation partly through NF- $\kappa$ B signaling which consequently suggests that it has anti-inflammatory potential.

**Key words** : Inflammation, NF- $\kappa$ B, NO, *Ophioplocus japonicus*, starfish

### 서론

염증은 유해한 외부 자극으로부터 자신을 보호하는 면역시스템이지만 지속적으로 과도한 상태가 유지될 경우 만성 염증을 유발하여 섬유화, 관절염, 퇴행성 뇌질환, 아토피 및 암에 이르기까지 다양한 질병의 원인이 되기도 한다[5]. 만성 염증 반응은 대식세포의 과도한 활성화에 의해 생성되는 산화질소(NO), 프로스타글란딘 E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>), 사이토카인과 같은 다양한 염증 매개체 인자들의 조절을 통해 이루어진다[1, 20, 21]. 대식세포의 지속적인 활성을 자극하는 유발원은 지질다당류(LPS)나 활성산소종(ROS)에 의해 발생하는 내독소 같은 물질들이 있으며 그 중 지질다당류(LPS)는 그람 음성균의 외막 구조물로서 톨-유사 수용체-4(TLR4)를 통해 인지되어 L-아르기닌으로부터 유도성 산화질소 합성효소(iNOS)에 의해 합성되는 산화질소(NO)의 생성을 촉진시키거나 사이클로옥시게나제-2(COX-2)의 발현을 통해 아라키돈산(arachidonic acid)로부터 프로스타글란딘 E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>)의 합성을 증진시켜 염증반응을 조절한다. 또한, 친-염증 경로(pro-inflammatory pathway)를 활성화하

여 인터류킨-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ ), 인터류킨-6(IL-6), 종양괴사인자- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )와 같은 사이토카인이나 케모카인 등 염증 매개체(inflammatory mediators)의 발현을 조절하기도 한다[2, 7, 8, 25]. 이러한 일련의 과정은 mitogen-activated protein kinases (MAPKs)나 nuclear factor-kappa B (NF- $\kappa$ B)와 같은 여러 신호전달경로 활성화와 관련되어 있는 것으로 알려져 있다[4, 14, 15].

불가사리는 전세계적으로 1,700여종 분포하고 있는 해양 저서 생물이다. 우리나라 연안에서는 약 200여종이 서식하고 있으며 흔히 발견되는 불가사리는 아무르 불가사리(*Asterian amurensis*), 별 불가사리(*Asterina pectinifera*), 거미 불가사리(*Ophioplocus japonicus*) 등으로 번식력이 매우 뛰어나고 조개류를 먹이로 하고 있어 해양사업에 피해를 주는 것으로 알려져 있다[10, 12]. 불가사리는 스테로이드, 사포닌, 스테로이드 배당체, 알카로이드와 같은 독특한 생리 활성 이차대사물(bioactive secondary metabolite)을 포함하고 있어 항산화, 항암, 항염, 항알러지, 항균, 항노화와 같은 다양한 생물학적 활성을 가지는 잠재적인 해양 천연 소재로 보고되어 있다 [3, 11, 12, 16, 22, 23, 26]. 불가사리의 피해도 줄이면서 해양쓰레기로 버려지는 불가사리를 이용한 기능성 연구는 불가사리 체벽 내의 탄산칼슘을 이용한 칼슘 보충제나 콜라겐을 이용한 향장소재 등이 진행되었으나[9, 17] 불가사리 고유의 독특한 냄새로 인해 대부분 건조하여 비료로 사용할 뿐 실제 활용은 미미한 실정이다. 최근에 우리는 불가사리 추출물을 로스팅하여 냄새를 저감시킴으로써 화장품 소재로서의 활용 가능성이 증가될 수 있음을 제시하였으나[13] 이들의 생물학적 활성에 대한 연구는 진행 된 바 없다. 따라서 본 연구에서는 로스팅하

#### \*Corresponding author

Tel : +82-64-754-3522, Fax : +82-64-756-3541

E-mail : srlee@jeju.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

여 불가사리 특유의 냄새를 감소시킨 열처리 불가사리 추출물이 염증 반응에 미치는 효능과 기전을 밝힘으로써 천연 항염증 소재로서의 이용 가능성을 알아보고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 추출물의 제조

본 실험에서 사용한 불가사리 추출물은 ㈜삼다에서 제공받았다. 제주 연안에서 채집한 생불가사리는 염분 및 불순물 제거를 위해 수세한 후 1 kg당 3 l의 70% 에탄올을 이용하여 추출하였고, 여과 후 감압 농축 및 동결 건조를 실시하여 획득한 파우더 상태의 추출물은 200℃에서 5분간 로스팅하여 인산완충생리식염수(PBS)에 녹인 후 실험에 사용하였다.

### 세포배양

마우스 대식세포인 RAW 264.7 세포는 American Type Culture Collection (ATCC)로부터 구입하였고, 세포는 10% Fetal Bovine Serum (FBS), 1% penicillin/streptomycin (PS)가 첨가된 Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) 배지를 이용하여 5% CO<sub>2</sub>, 37℃ incubator에서 배양하였다.

### 세포 독성 측정

48 well plate에 RAW 264.7 세포를 1.8×10<sup>5</sup> cells/ml의 농도로 분주하여 18시간 배양한 후 LPS (1 µg/ml) 또는 열처리 불가사리 추출물을 농도별(10, 100, 200, 500 µg/ml)로 24시간 처리하였다. 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-tetrazoliumbromide 400 µg/ml을 첨가하여 3시간 반응시킨 후, 상층액을 제거하고 dimethyl sulfoxide (DMSO) 300 µl로 formazan을 녹여준 후 570 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### 산화질소(NO) 측정

48 well plate에서 1.8×10<sup>5</sup> cells/ml의 RAW 264.7 세포를 18시간 배양하고, LPS 및 열처리 불가사리 추출물을 처리하여 24시간 배양하였다. 세포배양 상층액과 griess 시약을 1:1로 섞어 10분 반응시킨 후 540 nm에서 흡광도를 측정하였고 NaNO<sub>2</sub>를 이용한 표준곡선으로 분비되는 NO의 양을 분석하였다.

### Western blot

LPS 및 열처리 불가사리 추출물이 처리된 세포를 RIPA buffer (50 mM Tris-HCl pH 7.4, 150 mM NaCl, 1 mM EDTA, 1% NP-40, 0.25% deoxycholic acid)로 lysis하여 단백질을 추출하였고 Bradford assay를 이용하여 정량하였다. 세포질 및 핵분획 단백질은 NE-PER nuclear and cytoplasmic extraction reagents (Thermo scientific, Rockford, IL, USA)를 이용하여 제공된 프로토콜에 따라 추출하였다. 동일한 양의 단백질(25

µg)은 10% sodium dodecyl sulfate (SDS)-Polyacrylamide gel에서 전기영동하고, nitrocellulose membrane에 전이시킨 후 3% skim milk가 포함된 TBS-T (0.1% tween 20 in tris buffered saline)에서 1시간 반응하였다. Anti-rabbit iNOS, anti-rabbit NF-κB p65, anti-mouse β-actin 항체로 반응한 후 Enhanced chemiluminescence (ECL)를 이용하여 결과를 분석하였다.

### Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)

RNA는 easy-blue total RNA extraction kit를 이용하여 제공된 프로토콜에 따라 분리하였다. 동일한 양의 RNA (500 ng)를 Maxime RT-PCR premix kit (iNtRON)를 이용하여 primer와 혼합한 후 RT-PCR을 진행하였다. 사용된 primer의 염기서열은 IL-1β Forward, 5'-CAG GAT GAC ATG AGC ACC-3'; IL-1β Reverse, 5'-CTC TGC AGA CTC AAA CTC CAC-3'; IL-6 Forward, 5'-GTA CTC CAG AAG ACC AGA GG-3'; IL-6 Reverse, 5'-TGC TGG TGA CAA CCA CGC CC-3'; GAPDH Forward, 5'-AGG CTG TGC TGT CCC TGT AT-3'; GAPDH Reverse, 5'-ACC CAA GAA GGA AGG CTG GA-3'이다. 45℃에서 30분, 94℃에서 5분 반응하여 cDNA를 합성하고, 94℃에서 45초, 57℃에서 45초, 72℃에서 1분으로 25회 진행하였다. 최종 PCR 산물을 red safe nucleic acid staining solution이 포함된 1% agarose gel에서 100 V, 30분 전기영동 후 Gel manager에서 확인하였다.

### 통계처리

실험 결과는 3회 이상 실시하여 평균값과 표준오차(mean ± SD)로 표시하였고 유의성 검정은 p<0.05 수준에서 SPSS 18.0의 Duncan's multiple range test로 분석하였다.

## 결과 및 고찰

### 열처리 불가사리 추출물의 염증 억제 효과

대식세포는 염증반응이 일어나는 동안 NO, PGE<sub>2</sub> 및 각종 사이토카인 등의 전염증인자를 분비한다. 정상적인 상태에서의 대식세포는 전염증인자의 분비와 제어가 제대로 이루어지면 면역을 조절하지만 지속적인 자극에 의해 과도하게 활성화가 일어나면 이들의 과잉 분비를 초래하고 만성 염증을 유발하게 되어 만병의 근원이 된다[7, 25]. 이처럼 다양한 질병의 원인으로 작용할 수 있는 만성 염증을 제어하는 것은 매우 중요한 분야이며 만성 염증에 수반되는 NO 생성 및 이들의 분비를 조절하는 iNOS/COX-2, 전염증매개 사이토카인을 분석하는 것은 항염증 효능을 평가하는 데 있어서 주요한 지표이다. 열처리 불가사리 추출물의 항염 활성을 알아보기 위해 염증반응을 유도한 Raw 264.7 대식세포에서 열처리 불가사리 추출물에 의해 생성되는 NO의 양과 NO 분비를 조절하는 iNOS 및

pro-inflammatory cytokine의 발현양을 분석하였다. Raw 264.7 대식세포의 지속적인 활성화는 1 µg/ml의 LPS를 처리하여 유도하였고 10-500 µg/ml의 농도별 열처리 불가사리 추출물을 24시간 처리하여 분비되는 NO의 양을 측정하였다. 그 결과, LPS 처리군은 대조군과 비교하여 3배 이상 증가한 NO 생성을 보여 주었고 열처리 불가사리 추출물이 100 µg/ml 이상의 농도로 처리되었을 경우 농도 의존적으로 NO 생성이 감소하는 것을 확인하였다(Fig. 1A). 열처리 불가사리 추출물의 NO 생성 억제 효과가 세포 생존율에 의한 영향 때문인지를 알아보기 위해 실시한 MTT 분석에서 대조군과 처리군 모두에서 90% 이상의 세포 생존율을 보여주어 세포 독성이 나타나지 않음을 확인하였다(Fig. 1B).

지속적인 염증성 자극은 iNOS, COX-2, IL-6, IL-1β 등과 같은 염증반응 촉진 인자의 분비를 유도하여 다량의 NO의 생성을 촉진한다. NO는 산화질소 합성효소(NOS)에 의해 생성되며 NOS는 내피세포 NOS (eNOS), 신경NOS (nNOS), 유도성 NOS (iNOS)의 3가지 유형이 존재한다. 항상 세포내에서 발현되는 eNOS나 nNOS와는 달리, 일반적인 상태에서는 존재하지 않는 iNOS는 지속적인 염증자극에 의해 발현되어 다량의 NO를 생성함으로써 염증을 심화시켜 조직 및 기관의

손상, 유전적 변이를 일으킨다. LPS와 같은 염증자극은 대식세포를 활성화하여 IL-6, IL-1β, TNF-α 등의 전염증사이토카인 분비 또한 자극하여 염증을 조절하기도 한다[6, 7, 24, 25]. NO의 생성을 억제한 열처리 불가사리 추출물이 다양한 전염증인자들의 조절에는 어떤 영향을 미치는지 확인하기 위해 세포내에서 합성되어 NO 분비를 조절하는 iNOS 단백질의 발현양상을 조사하였다. Fig. 2A에서 보여 주듯이, LPS에 의해 증가된 iNOS 단백질 발현은 500 µg/ml 농도의 열처리 불가사리 추출물 처리에 의해 현저하게 감소하였다. 이는 열처리 불가사리 추출물의 NO 생성 억제 효과와 일치되는 결과로 열처리 불가사리 추출물이 iNOS에 의해 NO 분비를 조절함으로써 항염증 활성을 가지고 있음을 보여주는 것이다. 열처리 불가사리 추출물이 또 다른 염증 표지자인 전염증사이토카인에 미치는 효과를 확인하기 위해 IL-6와 IL-1β의 발현 정도를 조사하였다. PCR을 통해 분석한 IL-6와 IL-1β의 RNA 발현은 200 µg/ml 이상의 농도로 12시간 처리된 열처리 불가사리 추출물 처리군에서 각각 유의미하게 억제되는 것을 관찰할 수 있었다(Fig. 2B). 이러한 결과는 열처리 불가사리 추출물이 염증매개 사이토카인 유전자 발현을 억제하여 염증성 반응을 차단함으로써 항염 효과를 발휘하고 있음을 보여주는 것이다.

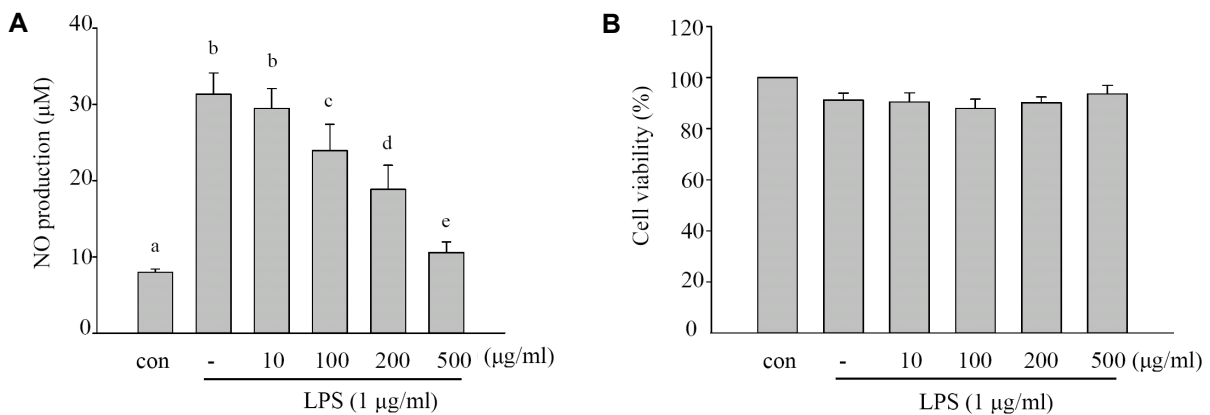


Fig. 1. Effect of heat-treated *Ophioplocus japonicus* extracts (HOJE) on NO production (A) and cell viability (B) in LPS-induced RAW 264.7 cells. The cells were pre-treated with indicated concentration of HOJE for 1hr and then stimulated with LPS for 24 hr. The data were showed as the mean ± SD. Different letters indicate significant differences among group at  $p < 0.05$ .

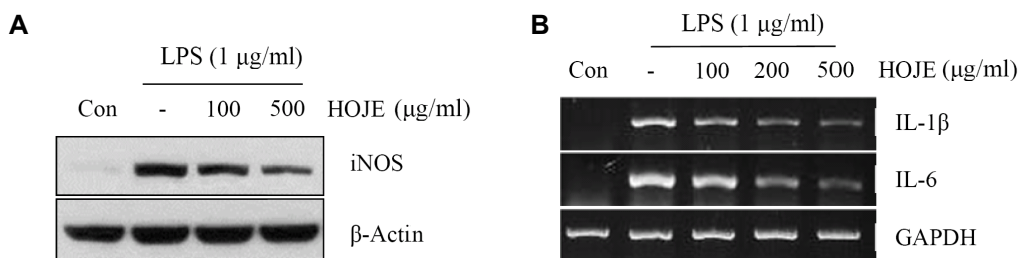


Fig. 2. Inhibitory effect of heat-treated *Ophioplocus japonicus* extracts (HOJE) on the expression of iNOS protein (A) and RNA level of pro-inflammatory cytokines, IL-1β and IL-6 (B) in LPS-stimulated cells. The cells were incubated with indicated concentration of HOJE for 1hr and then stimulated with LPS for 24 hr (A) or 12 hr (B).

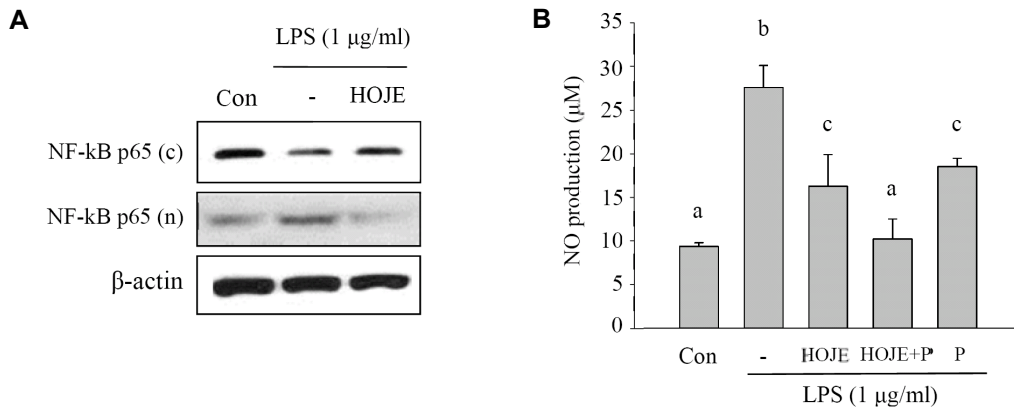


Fig. 3. Effect of heat-treated *Ophioplocus japonicus* extracts (HOJE) on NF-κB signaling. (A) The cells were incubated with LPS for 45 min in the absence or presence of 500 μg/ml HOJE. The cytosolic (c) and nuclear (n) protein was prepared to determine translocation of NF-κB p65. (B) The cells were treated with LPS for 24 hr after treatment of 500 μg/ml HOJE and/or 20 μM PDTC (P) for 1 hr. The data were showed as the mean ± SD. Different letters indicate significant differences among groups at  $p < 0.05$ .

### NF-κB 조절에 의한 열처리 불가사리 추출물의 NO 생성 억제 효과

NF-κB는 염증성 인자의 발현을 조절하는 전사인자중의 하나로 핵으로의 전이를 통해 활성화를 조절한다. 세포질에서 비활성화 상태의 NF-κB는 염증반응 동안 IκB와의 복합체가 분리되면서 활성화되어 핵 내부로 이동하게 되고 전사인자로 작용하면서 다양한 pro-inflammatory factor 발현을 촉진함으로써 염증 반응을 조절한다[4, 15, 18, 19]. 열처리 불가사리 추출물의 NO 생성 억제가 NF-κB의 활성 조절을 통해 이루어지는지 알아보려고 세포질 및 핵 분획에서의 NF-κB p65 단백질 발현을 분석하고 NF-κB 특이 저해제인 PDTC 처리에 의한 NO 생성 효과를 확인하였다. 500 μg/ml의 열처리 불가사리 추출물 처리는 세포질 분획에서 LPS에 의해 유의적으로 감소한 NF-κB p65 발현양을 증가시켰고 이와 반대로 핵분획에서는 LPS에 의해 증가된 NF-κB p65 발현양을 감소시켰다(Fig. 3A). 열처리 불가사리 추출물과 PDTC의 동시 처리군에서의 NO 생성은 열처리 불가사리 추출물의 단독 처리군에 비해 유의적으로 감소하는 것을 관찰하였다(Fig. 3B). 열처리 불가사리 추출물에 의한 세포질 분획에서의 NF-κB p65 단백질 발현 증가와 핵 분획에서의 NF-κB p65 단백질 발현 감소는 핵으로의 전이가 억제되면서 세포질내에서 비활성화 상태의 NF-κB p65로 존재하고 있음을 나타내는 것으로 기존에 보고된 천연자원들의 항염 활성 연구[18, 19]와 유사한 결과를 보여주었다. 이와 더불어 NF-κB의 저해제인 PDTC의 처리에 의한 NO 생성 감소 결과 또한 열처리 불가사리 추출물이 가지는 항염효과가 NF-κB 신호 조절과 연관이 있음을 뒷받침하고 있는 것으로 판단된다. 따라서 열처리 불가사리 추출물의 염증 억제 효과는 LPS에 의해 유도되는 NF-κB p65가 핵으로 이동하여 활성화되는 것을 저해함으로써 다량의 NO 생성을 억제하여 이루어질 것으로 생각된다.

이상의 결과를 종합해 볼 때 열처리 불가사리 추출물은 부분적으로 NF-κB 신호 조절을 통해 대식세포의 과도한 활성화에 의한 염증 매개 인자들의 축진을 억제하여 항염 활성을 가지는 것으로 생각되며 이는 열처리 불가사리 추출물이 염증 반응을 효율적으로 제어 할 수 있는 잠재력을 가진 기능성 소재로서 활용이 가능함을 제시함으로써 해양생물자원을 개발하고 활용하는 데에 있어서 중요한 정보를 제공할 것으로 기대한다.

### 감사의 글

이 논문은 2019학년도 제주대학교 교원성과지원사업에 의해 수행되었습니다.

### The Conflict of Interest Statement

The authors declare that they have no conflicts of interest with the contents of this article.

### References

1. Aktan, F. 2004. iNOS-mediated nitric oxide production and its regulation. *Life Sci.* **75**, 639-653.
2. Alexander, C. and Rietschel, E. T. 2001. Bacterial lipopolysaccharides and innate immunity. *J. Endotoxin Res.* **7**, 167-202.
3. Cho, W. J., Lee, H. H., Jung, Y. J., Kim, H., Jeong, E. J., Park, S. H., Lim, C. W. and Cha, Y. J. 2015. The antimicrobial, antioxidant, and tyrosinase inhibitory activities of solvent extracts of *Asterina pectinifera* and *Asterias amurensis*. *Kor. J. Fish Aquat. Sci.* **48**, 432-438.
4. Doyle, S. L. and O'Neill, L. A. 2006. Toll-like receptors: From

- the discovery of NF $\kappa$ B to new insights into transcriptional regulations in innate immunity. *Biochem. Pharmacol.* **72**, 1102-1113.
5. Ferrero-Miliani, L., Nielsen, O. H., Andersen, P. S. and Girardin, S. E. 2007. Chronic inflammation: importance of NOD2 and NALP3 in interleukin-1 $\beta$  generation. *Clin. Exp. Immunol.* **147**, 227-235.
  6. Förstermann, U. and Sessa, W. C. 2012. Nitric oxide synthases: regulation and function. *Eur. Heart J.* **33**, 829-837.
  7. Fujiwara, N. and Kobayashi, K. 2005. Macrophages in inflammation. *Curr. Drug Targets Inflamm. Allergy* **4**, 281-286.
  8. Gabay C. 2006. Interleukin-6 and Chronic inflammation. *Arthritis Res. Ther.* **8**, S3.
  9. Jeong, H. S., Kwon, M. C., Han, J. G., Ha, J. H., Jin, L., Kim, J. C., Kwak, H. G., Hwang, B. Y. and Lee, H. Y. 2008. Enhancement of skin immune activation effect of collagen peptides isolated from *Asterias amurensis*. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **40**, 522.
  10. Jin, M. H., Lee, S. Y., Yeo, H., Kim, H. J. and Chang, Y. H. 2018. Anti-aging effect of asterosaponin P1 isolated from *Asterina pectinifera*. *J. Sco. Cosmet. Sci.* **44**, 389-397.
  11. Jo, W. S., Choi, Y. J., Kim, H. J., Nam, B. H., Lee, G. A., Seo, S. Y., Lee, S. W. and Jeong, M. H. 2010. Methanolic extract of *Asterina pectinifera* inhibits LPS-induced inflammatory mediators in murine macrophage. *Toxicol. Res.* **26**, 37-46.
  12. Kim, Y. S. 1969. Selective feeding on the several bivalve molluscs by starfish, *Asterias amurensis* Lutken. *Bull. Fac. Fish.* **19**, 244.
  13. Lee, S. R., Moon, S. O. and Yu, H. S. 2019. Cosmetic composition including an extract of roasted starfish preventing injurious insect. Korea patent 10-20285850000.
  14. Li, X. and Stark, G. R. 2002. NF $\kappa$ B-dependent signaling pathways. *Exper. Hematol.* **30**, 285-296.
  15. Limtrakul, P., Yodkeeree, S., Pitchakarn, P. and Punfa, W. 2016. Anti-inflammatory effects of proanthocyanidin-rich red rice extract via suppression of MAPK, AP-1 and NF- $\kappa$ B pathways in Raw 264.7 macrophages. *Nutr. Res. Pract.* **10**, 251-258.
  16. Monmai, C., Go, S. H., Shin, I. S., You, S. G., Kim D. O., Kang, S. B. and Park, W. J. 2018. Anti-inflammatory effect of *Asterias amurensis* fatty acids through NF- $\kappa$ B and MAPK pathways against LPS-stimulated Raw264.7 cells. *J. Microbiol. Biotechnol.* **28**, 1635-1644.
  17. Park, H. Y., Lee, J. I., Nam, K. H. and Jang, M. S. 2012. Physicochemical characteristics of calcium supplement manufactured using starfish. *Kor. J. Food Preserv.* **19**, 727.
  18. Park, J. H. and Lee, S. R. 2018. Anti-inflammatory activities of *Scolopendra subspinipes mutilans* in Raw 264.7 cell. *J. Nutr. Health* **51**, 323-329.
  19. Park, J. H., Kim S. H. and Lee, S. R. 2017. Inhibitory effect of *Petalonia binghamiae* on neuroinflammation in LPS-stimulated microglial cells. *J. Nutr. Health.* **50**, 25-31.
  20. Saha, S., Shalova, I. N. and Biswas, S. K. 2017. Metabolic regulation of macrophage phenotype and function. *Immunol. Rev.* **280**, 102-111.
  21. Sharma, J. N., Al-Omran, A. and Parvathy, S. S. 2007. Role of nitric oxide in inflammatory diseases. *Inflammopharmacology* **15**, 252-259.
  22. Thao, N. P., Cuong, N. X., Luyen, B. T., Nam, N. H., Cuong, P. V., Thanh, N. V., Nhiem, N. X., Hanh, T. T., Kim, E. J., Kang, H. K., Kiem, P. V., Minh, C. V. and Kim, Y. H. 2013. Steroidal constituents from the starfish *Astropecten polyacanthus* and their anticancer effects. *Chem. Pharm. Bull.* **61**, 1044-1051.
  23. Wang, W., Hong, J., Lee, C. O., Cho, H. Y., Shin, S. and Jung, L. H. 2004. Bioactive metabolites from the brittle star *Ophioplocus japonicus*. *Nat. Prod. Sci.* **10**, 253-261.
  24. Zamora, R., Vodovotz, Y. and Billiar, T. R. 2000. Inducible nitric oxide synthase and inflammatory diseases. *Mol. Med.* **6**, 347-373.
  25. Zhang, X. and Mosser, D. M. 2008. Macrophage activation by endogenous danger signals. *J. Pathol.* **214**, 161-178.
  26. Zhang, W., Wang, J., Jin, W. and Zhang, Q. 2013. The antioxidant activities and neuroprotective effect of polysaccharides from the starfish *Asterias rollestoni*. *Carbohydr. Polym.* **95**, 9-15.

**초록 : 열처리 불가사리 추출물의 항염 활성**박재현<sup>1</sup> · 안근재<sup>2</sup> · 이선령<sup>1\*</sup>(<sup>1</sup>제주대학교 생물학과, <sup>2</sup>제주대학교 과학교육학과)

불가사리는 다양한 생리활성물질을 가진 유용한 해양생물자원으로 알려져 있으나 불가사리가 가진 특유한 냄새로 인해 기능성 소재로 활용하는데 많은 제약이 있다. 우리는 최근에 로스팅을 통해 이러한 문제점을 해결하고 효율적인 화장품 소재로서의 활용 가능성을 제시하였으나 열처리된 불가사리 추출물의 생리활성에 관한 연구는 거의 전무한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 LPS에 의해 염증을 유도한 Raw 264.7 세포에서 열처리 불가사리 추출물의 염증 조절 기전을 조사하여 항염증 소재로서의 활용 가능성을 확인하였다. 열처리 불가사리 추출물은 LPS에 의해 증가된 NO의 분비량과 iNOS의 발현을 현저히 감소시켰고 IL-1 $\beta$ 와 IL-6와 같은 pro-inflammatory cytokine의 발현에서도 유의미한 감소를 나타내었다. 또한 열처리 불가사리 추출물에 의한 NF- $\kappa$ B p65 단백질의 핵으로의 전이 억제와 NF- $\kappa$ B 저해제인 PDTC와의 동시 처리에 의한 NO 분비량 감소는 열처리 불가사리 추출물의 NO 생성 저해 효과가 NF- $\kappa$ B 신호전달을 통해 이루어짐을 보여주었다. 본 연구 결과는 열처리 불가사리 추출물이 NF- $\kappa$ B 신호전달 경로를 통해 염증매개인자들의 발현을 억제하여 염증반응을 효과적으로 제어할 수 있는 잠재력을 가진 기능성 소재로서의 가능성을 제시하고 있다.