

## Anti-tumor and Anti-inflammatory Effects of *Ecklonia cava* in CT26 Tumor-bearing BALB/cKorl Syngeneic Mice

Yu Jeong Roh<sup>1</sup>, Ji Eun Kim<sup>1</sup>, You Jeong Jin<sup>1</sup>, Ayun Seol<sup>1</sup>, Hee Jin Song<sup>1</sup>, Tae Ryeol Kim<sup>1</sup>, Kyeong Seon Min<sup>1</sup>, Eun Seo Park<sup>1</sup>, Ki Ho Park<sup>1</sup> and Dae Youn Hwang<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Biomaterials Science (BK21 FOUR Program)/Life and Industry Convergence Research Institute, College of Natural Resources & Life Science, Pusan National University, Miryang 50463, Korea

<sup>2</sup>Longevity & Wellbeing Research Center/Laboratory Animal Resources Center, Pusan National University, Miryang 50463, Korea

Received May 31, 2023 /Revised September 21, 2023 /Accepted October 19, 2023

The inflammatory response have been considered as one of important targets for cancer treatment because they play a key role during all steps of tumor development including initiation, promotion, malignant conversion and progression. To investigate the anti-inflammatory response during anti-tumor activity of an aqueous extracts of *Ecklonia cava* (AEC), alterations on the distribution of mast cells and the expression of inducible nitric oxide synthase (iNOS) and cyclooxygenase-2 (COX-2), nuclear factor (NF)- $\kappa$ B, inflammasome compositional protein and inflammatory cytokines were examined in CT26 colon tumor-bearing BALB/cKorl syngeneic mice after administrating AEC for five weeks. After treatment of AEC, total weight of tumor and necrotic region of tumor section were significantly decreased compared to vehicle treated group. The number of infiltrated mast cells was higher in AEC treated group than vehicle treated group, while the expression levels of COX-2 and iNOS were decreased in AEC treated group. Also, similar decrease pattern were detected in the expression levels of NF- $\kappa$ B, NLR family pyrin domain containing 3 (NLRP3), apoptosis-associated speck-like protein containing a caspase recruitment domain (ASC) and caspase-1 (Cas-1) after AEC treatment although the decrease rate was varied. Furthermore, the mRNA expressions of three inflammatory cytokines including tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleukin-1 $\alpha$  (IL-1 $\alpha$ ) and interleukin-6 (IL-6) were remarkably decreased in AEC treated group compared to vehicle treated group. These results suggest that inhibition of inflammatory response may be tightly associated with anti-tumor activity of AEC in CT26 colon tumor-bearing BALB/cKorl syngeneic mice.

**Key words :** Anti-inflammation, anti-tumor effects, colon cancer, *Ecklonia cava*, syngeneic mice

### 서 론

염증(inflammation)은 암(tumor)의 발달과 종양발생과정(tumorigenesis)의 모든 단계를 촉진하는 인자 중에 하나로 알려져 있다[33]. 이러한 과정 동안에, 암세포와 염증세포(inflammatory cells) 혹은 주변기질세포(surrounding stromal cells)는 상호작용을 통하여 염증성 종양미세환경(inflammatory tumor microenvironment (TME))을 형성하며, 암세포들은 TME에서 지속적으로 그들의 표현형과 특성을 변화시키면서 가소성(plasticity)을 증가시킨다[14]. 또한,

염증은 TME의 구성이나 세포간의 작용에 중요한 영향을 미치며, 종양발생과정에서 pro-tumorigenic 기능과 anti-tumorigenic 기능을 나타낸다[30, 42]. 이러한 과학적 근거에 기반하여 염증반응의 조절은 암의 치료 전략에서 중요한 표적으로 고려되고 있으며, 이와 관련된 다양한 연구가 활발히 진행되고 있다. 특히, 항암활성을 갖는 천연물(natural products)은 암의 면역치료(cancer immunotherapy) 과정에서 TME의 면역기능을 증진시키기 때문에 중요한 대체요법으로 고려되고 있으며, 천연물로부터 암의 면역치료의 새로운 잠재적 조절제(new potential modulator)를 발견하는 연구에 많은 관심이 집중되고 있다[15].

한편, 감태(*Ecklonia cava*)의 항암제로써의 잠재성은 이전의 다양한 논문에서 연구되었지만 대부분은 감태로부터 유래된 단일물질(single compound)인 dieckol [2], dioxinodehydroeckol [18], 6,6'-bieckol [43]에 대한 효능연구에 집중되어 있다. 이러한 연구들 중에서 dieckol의 항암효능은 다양한 세포주와 동물모델에서 연구되었다. Dieckol은

#### \*Corresponding author

Tel : +82-55-350-5388, Fax : +82-55-350-5389

E-mail : [dyhwang@pusan.ac.kr](mailto:dyhwang@pusan.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.

MCF-7 유방암 세포주에서 vascular endothelial growth factor (VEGF)와 matrix metalloproteinase (MMP)-9의 발현을 저해하였고, 세포이동을 억제하였으며, tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMP)-1/2를 촉진시켰다[4]. 또한, dieckol은 자궁암 세포주와 이종이식모델동물(xenograft model)에서 세포사를 활성화하고, 암 성장을 억제하며, 활성 산소종(reactive oxygen species (ROS))의 생성을 증가시키고, Akt/p38 신호전달과정을 억제하였다[2]. 암세포의 침투 및 혈관신생 저해와 유사한 항암효과는 N-nitrosodiethylamine-induced hepatocarcinogenesis 모델에서 dieckol의 처리 후에 관찰되었다[31]. 더불어, 감태로부터 추출된 dioxinodehydroeckol은 nuclear factor (NF)- $\kappa$ B 신호전달의 조절을 통하여 MCF-7 유방암 세포의 분열을 유의적으로 억제하는 효과를 나타내었다[18]. 다른 추출분자인 6,6'-bieckol은 인간의 섬유육종 세포주(human fibrosarcoma cell line)에서 MMP2/9의 발현억제, 세포이동억제, NF- $\kappa$ B 신호전달의 저해를 유도하였다[43]. 단일물질에 대한 효과와 더불어, 일부 감태로부터 유래된 복합물이나 추출물도 다양한 세포주에서 항암효능을 나타내었다. CT26 대장암 세포주의 분열과 성장은 carbohydrase hydrolysis 과정을 통해 감태로부터 추출된 생리활성물질들에 의해서 억제되었으며[4], 감태로부터 추출된 복합 황화 다당류(complex sulfated polysaccharides)도 대장암 세포주에서 세포성장 억제, apoptotic bodies 형성 촉진, caspase (Cas)-9/Poly ADP-ribose polymerase (PARP) 발현 증가, Bax/Bcl-2신호전달 조절 등을 유도하였다[1]. 최근에 감태의 열수추출물(aqueous extracts of *E. cava*, AEC)의 효능이 연구되었으며, AEC는 CT26 대장암 세포주와 CT26 고형암을 내포하는 BALB/cKorl syngeneic 마우스에서 암세포의 성장/증식 억제, 전이능력 저해 등을 유도하였다[13]. 하지만 대부분의 감태추출물을 이용한 항암연구에서 염증반응에 대한 작용기전 연구는 수행되지 않았다.

따라서, 본 연구에서는 CT26 고형암을 내포하는 BALB/cKorl syngeneic 마우스에서 AEC의 항암활성 동안에 염증반응의 변화를 관찰하고자 하였다. 이를 위하여, AEC를 CT26 고형암을 내포하는 BALB/cKorl syngeneic 마우스에 5주간 투여하고, iNOS단백질, COX-2단백질, NF- $\kappa$ B단백질, inflammasome 구성 단백질 그리고 inflammatory cytokines 발현을 고형암 조직에서 분석하였다.

## 재료 및 방법

### 감태추출물의 준비

AEC시료는 이전의 연구에서 적용된 방법으로 준비하였다[13]. 건조된 감태시료는 파라제주(Para Jeju Co., Jeju-do, Korea)에서 구매하여 사용하였으며, 분쇄기(MF-3100S, Hanil Electric Co., Seoul, Korea)를 이용하여 건조분말을

제조하였다. 증류수(dH<sub>2</sub>O)에 희석하여 추출한 AEC는 부산대학교 웰빙RIS센터(Wellbeing RIS Center)의 기능성소재뱅크(Functional Materials Bank)에 표준시료(WPC-19-001)로 보존하였다.

### 동물실험 설계

본 연구에 수행된 동물실험은 부산대학교 동물실험윤리위원회(PNU-IACUC)의 동물실험 윤리성과 과학성에 대한 검토를 승인(승인번호 PNU-2020-0108) 받아 실시하였다. 7주령의 BALB/cKorl 마우스는 식품의약품안전평가원(NIFDS, Chungju, Korea)에서 제공받았으며, 식품의약품안전청(KFDA) (Accredited Unit Number; 000231)과 Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care (AAALAC) International (Accredited Unit Number; 001525)에서 인증받은 부산대학교 청정실험동물센터(Laboratory Animal Resources Center)에서 사육하였다. 모든 실험동물은 물과 사료를 자유급식하였고, 12시간의 조명주기(08:00~22:00)로 specific pathogen-free (SPF) 상태에서 22±2°C의 온도와 50±10%의 상대습도에서 사육하였다.

BALB/cKorl syngeneic 마우스는 CT26 대장암 세포(4×10<sup>5</sup> cells)를 BALB/cKorl 마우스의 피하에 주사하여 확립하였으며, 고형암의 크기가 100 mm<sup>3</sup>에 도달하였을 때 다음과 같이 5개 그룹으로 분류하였다; 1) 대조군 처리그룹(vehicle, n = 7), 2) Cisplatin 처리그룹(Cis, n = 7), 3) 250 mg/kg 농도의 AEC처리그룹(LoAEC, n = 7), 4) 500 mg/kg 농도의 AEC처리그룹(MiAEC, n = 7), 5) 1,000 mg/kg 농도의 AEC처리그룹(HiAEC, n = 7). 먼저, vehicle처리그룹은 동일한 양(200  $\mu$ l)의 1× PBS를 5주 동안 매일 경구투여하였고, Cis처리그룹은 Cis의 장기 투여가 심각한 독성과 사망을 유도하기 때문에, 26일차부터 37일차까지 2일에 한번씩 복강주사(intraperitoneal injection)로 4 mg/kg의 농도로 투여하였다. 다른 3개 그룹은 AEC를 37일 동안 매일 250 mg/kg (LoAEC처리그룹), 500 mg/kg (MiAEC처리그룹), 1,000 mg/kg (HiAEC처리그룹)농도로 경구투여하였다. 모든 마우스의 건강과 생동상태는 매일 물질을 투여하기 전에 관찰하였으며, 죽은 동물은 관찰되지 않았다. 최종적으로 물질을 투여 후 24시간이 경과한 시점에, 모든 동물은 99%의 이산화탄소 가스를 이용하여 안락사하고, 고형암은 동물로부터 적출하여 화학저울을 이용하여 무게를 측정된 후 분석실험에 사용하였다.

### 조직분석

적출한 고형암은 10% 포르말린 용액으로 48시간 동안 고정된 후 병변 부위가 관찰될 수 있도록 절단(trimming)하였다. 고정된 조직은 카세트에 넣은 후 조직처리기(STP-DO, SM Medical Co., Gyeonggi-do, Korea)를 이용하여 70,

80, 90, 100% 에탄올(ethanol)에 각각 1-2시간 처리하고, 자일렌(xylene)으로 4시간 처리하였다. 그 후 조직을 paraffin embedding station (Leica Microsystems, Wetzlar, Germany) 을 이용하여 파라핀 블록으로 embedding하였고, rotary microtome (Leica Microsystems)을 이용하여 4 µm 두께로 박절하였다. 박절된 조직은 hematoxylin (Sigma-Aldrich, Darmstadt, Germany) 및 eosin (Sigma-Aldrich)으로 염색한 후 조직병리학적 특징을 현미경(Leica Microsystems)으로 400배 확대하여 관찰하였다. 또한, 조직 내 비만세포(mast cells)의 분포를 확인하기 위하여, 박절된 조직은 toluidine blue (Sigma-Aldrich)로 염색한 후 비만세포의 분포를 400 배 배율에서 현미경(Leica Microsystems)으로 관찰하였다.

**Western blot 분석**

고형암의 전체 단백질은 Pro-Prep Protein Extraction Solution (iNtRON Biotechnology Inc., Seongnam, Korea)을 이용하여 회사의 권장방법에 따라 추출하였다. 전체 단백질의 농도는 SMART™ Bicinchoninic Acid Protein assay kit (Thermo Fisher Scientific Inc., Wilmington, MA, USA)을 이용해 정량하였다. 약 30 µg의 단백질을 8-10% sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) gel에 전기영동하여 분리하고, 이 단백질은 enhanced chemiluminescence (ECL) 막(Amersham Life Science, Piscataway, NJ, USA)에 전이하였다. 단백질이 전이된 ECL 막을 3-5% skim milk에서 1시간 동안 블로킹하였고, anti-COX-2 항체(Cell Signaling Technology Inc., Danvers, MA, USA), anti-iNOS 항체(Cell Signaling Technology Inc.), anti-NLRP3 항체(Cell Signaling Technology Inc.), anti-ASC 항체(Cell Signaling Technology Inc.), anti-Caspase-1 항체(Cell Signaling Technology Inc.), anti-Cleaved Caspase-1 항체(Cell Signaling Technology Inc.), anti-β-actin 항체(Cell Signaling Technology Inc.)로 4°C에서 밤새 배양하였다. 미결합된 1차 항체는 세척하여 제거한 후 HRP가 결합된 Goat anti-rabbit IgG 항체(Zymed Laboratories Inc., South San Francisco, CA, USA)를 결합시켰다. 항체가 결합된 막은 EZ-Western Lumi Femto Kit (Dogen Bio, Seoul, Korea)를 사용하여 발광하고, 단백질의 형광은 FluorChem®FC2 (Alpha

Innotech Co., San Leandro, CA, USA)를 이용하여 확인하였다. 각 단백질에 특이적인 밴드의 밀도(density)는 Evolution Capt software (Vilber Lourmat Deutschland GmbH, Eberhardzell, Germany)를 이용하여 측정하였다.

**Reverse transcription Real-time Polymerase Chain Reaction (RT-qPCR) 분석**

고형암의 total RNA는 Tri-RNA Reagent (Favorgen Biotech, Ping-Tung, Taiwan)를 이용하여 회사의 권장방법에 따라 분리하였다. RNA의 농도는 Nano-300 Micro Spectrophotometer (Allsheng Instruments Co. Ltd., Hangzhou, China)를 이용하여 정량하였다. 상보적 DNA (cDNA)는 total RNA (5 µg), oligo-dT primer (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA), dNTP 및 Superscript II reverse transcriptase (Thermo Scientific)를 이용해 합성하였다. qPCR은 cDNA (2 ml)와 2 × Power SYBR Green (10 µl; Toyobo Life Science, Osaka, Japan)을 이용하여 95°C에서 15초간 denaturation, 70°C에서 60초간 extension의 과정을 40 cycle 동안 반복하여 수행하였다. 유전자 발현을 확인하기 위한 프라이머 서열은 Table 1에 나타내었다. 각 샘플의 형광 강도는 각 cycle의 extension 구간이 끝나면 측정되었고, Livak와 Schmittgen의 방법에 따라 일정한 형광 강도에서 임계값 주기(Ct)를 비교하는 것을 기반으로 하여 β-actin의 발현에 대한 표적 유전자의 발현을 정량화하였다[24].

**통계분석**

그룹 간의 실험 결과에 대한 유의성은 One-way Analysis of Variance (ANOVA) (SPSS for Windows, Release 10.10, Standard Version, IL, USA)를 이용하여 분석하였다. 분석한 결과는 모든 값을 평균 ± SD (Standard deviation)로 표기하였고, p-value (p<0.05)를 유의성 있는 값으로 제시하였다.

**결 과**

**CT26 syngeneic 마우스의 고형암 성장억제에 대한 AEC 효능**

Table 1. Primer sequences of RT-qPCR

Gene name		Sequence (5'-3')	Product size (bp)
β-actin	Forward	ACG GCC AGG TCA TCA CTA TTG	71
	Reverse	CAA GAA GGA AGG CTG GAA AAG A	
TNF-α	Forward	ATC CGC GAC GTG GAA CTG	70
	Reverse	ACC GCC TGG AGT TCT GGA A	
IL-1α	Forward	CCA TAA CCC ATG ATC TGG AAG AG	87
	Reverse	GCT TCA TCA GTT TGT ATC TCA AAT CAC	
IL-6	Forward	TTC CAT CCA GTT GCC TTC TTG	99
	Reverse	GGG AGT GGT ATC CTC TGT GAA GTC	

먼저, AEC가 CT26 syngeneic 마우스의 고형암의 성장을 억제하는 효능이 있는지 평가하기 위하여, CT26 고형암을 갖는 BALB/cKorl syngeneic 마우스에 세 가지 농도 (250, 500, 1,000 mg/kg)의 AEC를 5주 동안 경구투여하고 고형암의 무게와 조직학적 변화를 관찰하였다. 그 결과, 고형암의 무게는 500 mg/kg으로 AEC를 경구투여한 마우스에서만 유의적으로 감소하였고, 다른 농도에서는 유의적인 변화가 나타나지 않았다(Fig. 1A). 하지만, 암조직의 조직병리학적 분석에서, vehicle처리그룹은 암세포의 특징인 spindle세포(붉은 화살표)와 vacuolated세포(노란 화살표)가 명확하게 관찰되었다. 그러나 세포사멸의 특징인 세포 핵 크기 수축(하늘색 화살표) 및 세포괴사의 특징인 세포 팽창(초록색 원)은 AEC를 처리한 모든 고형암 조직에서 증가하는 것으로 관찰되었다(Fig. 1B). 이러한 결과는 AEC가 CT26 대장유래 고형암의 성장을 저해하는 효과가 있음을 제시하고 있으며, AEC의 항암활성 과정 동안에 항염증반응 작용기전 연구에 적합한 시료임을 제시하고 있다.

**AEC의 항암활성 동안에 암조직에서 비만세포의 침투 촉진**

AEC가 항암활성 동안에 비만세포의 침투에 미치는 영향을 평가하기 위하여, 암조직 절편을 toluidine blue로 염색하여 비만세포의 분포를 분석하였다. 그 결과, 비만세포의 수는 vehicle처리그룹에 비하여 3개의 AEC처리그룹에서 유의적으로 증가하였다. 그러나, 이들의 수는 AEC 처리그룹 간에 차이가 없었으며, Cis그룹에서도 유사하게 유지되었다(Fig. 2A, Fig. 2B). 이러한 결과는 AEC가 항암활성 동안에 암조직으로 비만세포 침투를 촉진함을 제시하고 있다.

**AEC의 항암활성 동안에 암조직에서 iNOS와 COX-2단백질 발현의 억제**

AEC가 항암활성 동안에 iNOS와 COX-2단백질 발현에 미치는 영향을 평가하기 위하여, 암조직에서 iNOS와 COX-2 단백질의 발현을 분석하였다. 그 결과, iNOS와 COX-2 단백질의 발현은 vehicle처리그룹에 비하여 MiAEC와 HiAEC처리그룹에서 감소하였으며, 가장 많은 발현 감소는 HiAEC처리그룹에서 관찰되었다. 하지만 Cis처리그룹은 vehicle처리그룹에 비하여 COX-2 단백질의 발현은 감소하였지만, iNOS단백질의 발현은 유의적으로 증가하였다(Fig. 3A). 이러한 결과는 AEC가 항암활성 동안에 암조직에서 iNOS와 COX-2단백질 발현을 억제함을 제시하고 있다.

**AEC의 항암활성 동안에 암조직에서 NF-κB단백질 및 inflammasome 구성 단백질의 발현 억제**

AEC가 항암활성 동안에 inflammasome pathway에 미치

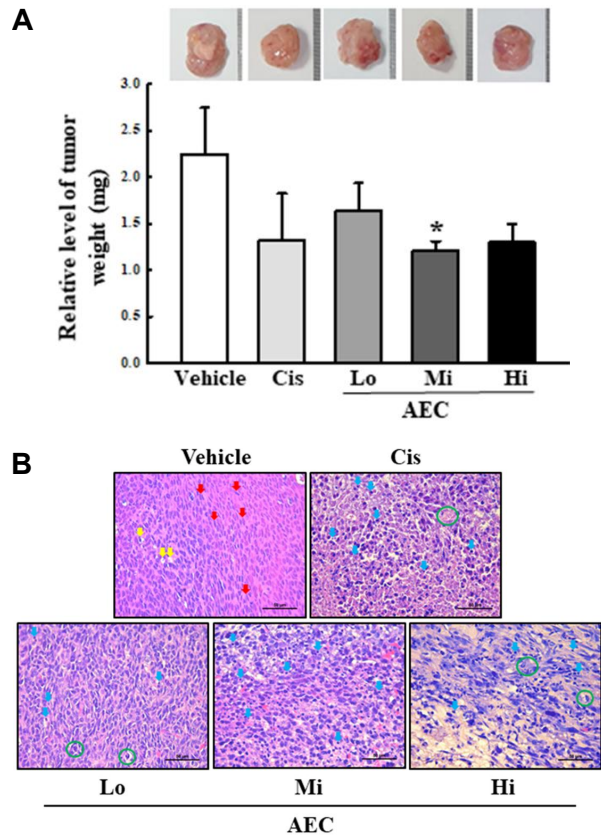


Fig. 1. Inhibition of CT26 colon tumors growth in BALB/cKorl syngeneic mice. (A) Weight of the CT26 colon tumors. On day 36, CT26 colon tumors were isolated from the subcutaneous region of the syngeneic model and their weight were measured. (B) Histopathological structure of the tumor. Tumorigenic alterations were observed in H&E stained tumor sections at 400× magnification. Red, yellow and blue arrow indicated the spindle cells, vacuolated cells and shrunken cells in the tumor tissue, while green circle indicated cytoplasmic expansion characterized by necrotic cells. The preparation of the H&E stained tissue sections was performed on five to six tumors group. The data represents the means ± SD. \**p*<0.05 vs. vehicle group. Abbreviation: AEC, aqueous extract of *Ecklonia cava*; Cis, cisplatin; Lo, low concentration; Mi, middle concentration; Hi, high concentration; H&E, hematoxylin and eosin.

는 영향을 평가하기 위하여, 암조직에서 inflammasome의 구성 단백질인 NLRP3, ASC, Cas-1의 발현을 분석하였다. 그 결과, NLRP3와 ASC의 단백질 발현은 vehicle처리그룹에 비하여 AEC처리그룹에서 유의적으로 감소하였지만 농도의존적인 변화는 관찰되지 않았다. NLRP3단백질의 발현은 MiAEC처리그룹에서 가장 크게 감소하였으며, ASC단백질의 발현은 Cis처리그룹에서 가장 적은 발현을 나타내었다(Fig. 3B). 더불어 NLRP3의 전사를 조절하는

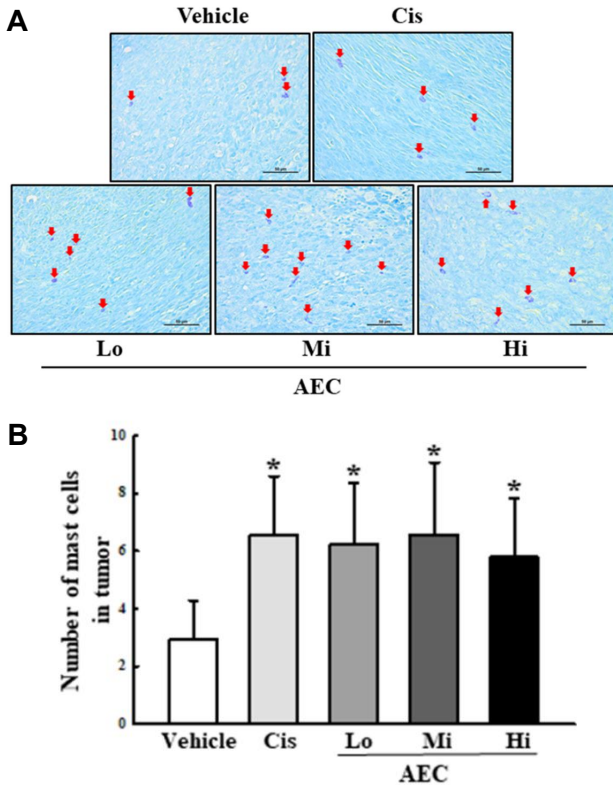


Fig. 2. Infiltration of mast cells after AEC treatment. (A) Infiltration of mast cells in each section of CT26 colon tumor was identified by staining with toluidine blue, followed by observation at 400× magnification. Arrows indicate the infiltrated mast cells in the tumor tissue. (B) The number of mast cells was counted in two fields of view (0.24 mm<sup>2</sup>) in each stained tumor tissue. The preparation of the toluidine blue stained tissue sections was performed on five to six tumors group, and the number of stained cells was counted in duplicate for each sample. Data shown are the means ± SD. \**p*<0.05 vs. vehicle group. Abbreviation: AEC, aqueous extract of *Ecklonia cava*; Cis, cisplatin; Lo, low concentration; Mi, middle concentration; Hi, high concentration.

인자인 NF-κB의 인산화도 NLRP3의 발현과 유사한 경향을 나타내었다(Fig. 3B). Cleaved Cas-1/Cas-1 단백질의 발현은 vehicle처리그룹에 비하여 AEC처리그룹에서 증가하였다(Fig. 3B). 이러한 결과는 AEC가 항암활성 동안에 암조직에서 NF-κB 단백질 및 inflammasome 구성 단백질의 발현을 억제함을 제시하고 있다.

#### AEC의 항암활성 동안에 암조직에서 inflammatory cytokines 발현의 억제

AEC가 항암활성 동안에 inflammatory cytokines에 미치는 영향을 평가하기 위하여, 암조직에서 TNF-α, IL-1α, IL-6의 전사량을 측정하였다. 그 결과, 3가지 cytokines의

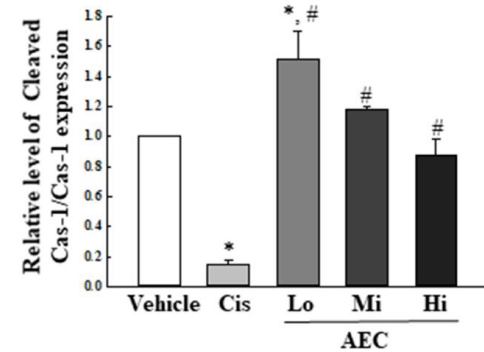
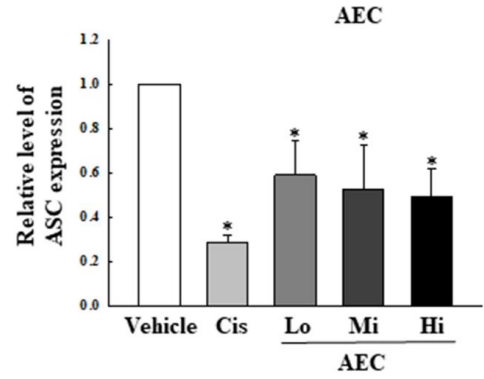
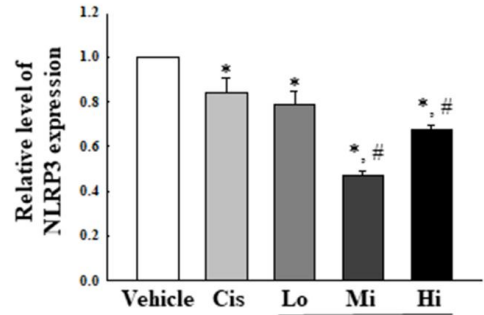
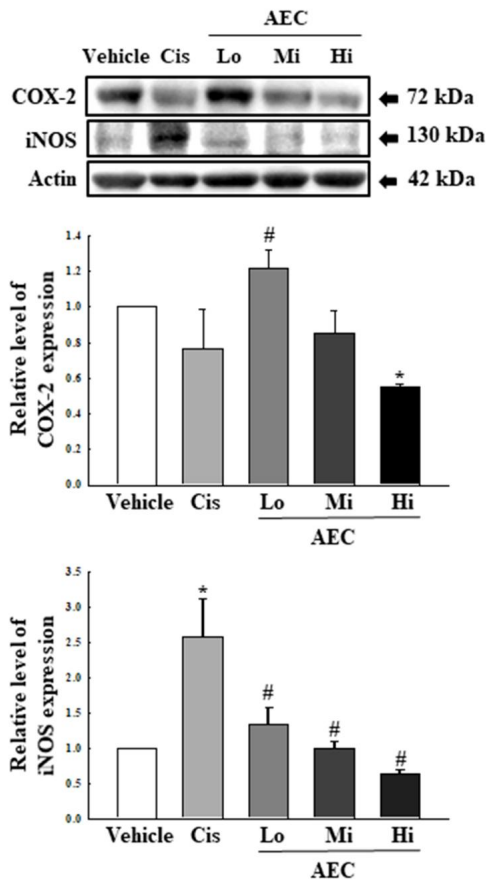
mRNA 수준은 LoAEC, MiAEC, HiAEC처리그룹에서 유사한 경향을 나타내었다. 이들 mRNA 수준은 농도의존적으로 감소하였으며, 최대 감소는 HiAEC처리그룹에서 관찰되었다. Cis처리그룹도 cytokines의 유의적인 감소를 나타내었다(Fig. 4). 따라서, 이러한 결과는 AEC가 항암활성 동안에 암조직에서 inflammatory cytokines의 발현을 억제함을 제시하고 있다.

### 고찰

해양으로부터 기원된 식물이나 미생물의 많은 추출물 (cytarabine, trabectedin, eribulin mesylate 등)은 백혈병, 자궁암 등을 치료하고, 예방하는 우수한 효과가 있는 것으로 알려져 있다[12, 16]. 특히, 해양생물들은 다양한 화학구조의 잔기를 갖는 새로운 생리활성 대사체의 보고로서 새로운 항암제를 개발하기 위한 중요한 연구대상이다 [16]. 이러한 연구의 일환으로 본 연구에서 감태의 추출물인 AEC의 항암효능에 대한 이전의 연구를 기반으로, 이들의 항암활성 동안에 염증반응에 대한 작용기전을 규명하고자 하였다. 그 결과, AEC가 대장암 성장 억제 동안에 비만세포의 침투 증가, COX-2와 iNOS단백질의 발현 감소, NF-κB 단백질 및 inflammasome 구성 단백질의 발현 저해, inflammatory cytokines의 발현 억제 등을 유도함을 제시하고 있다.

비만세포는 histamin과 heparin이 풍부한 과립을 많이 포함하고 있으며, 결합조직에 주로 분포하는 과립구(granulocytes)이다[11]. 이 세포는 면역계에서 항상성 유지에 기여하며, 특히 피부와 점막에서 체내로 침투하는 외부항원에 대한 방어기전으로 중요한 기능을 수행한다[6]. 따라서 대부분의 비만세포에 대한 연구는 홍조(flushing), 소양증(pruritus), 두드러기(urticarial), 혈관부종(angioedema), 기관지수축(bronchoconstriction) 등과 같은 알러지에서 기능에 집중되어 있지만, 암조직에서는 조건에 따라 암 발생을 촉진하거나 억제하는 등 다양한 역할을 하는 것으로 보고되고 있다[9]. 증가된 비만세포는 고형암, 호지킨림프종(Hodgkin lymphoma), 피부와 결합조직의 암조직에서 관찰되었으며, 흑색종모델에 anti-PD-1처리는 암조직의 성장을 제한적으로 억제하였으며, 비만세포를 암조직 부위로 침투하도록 유도하였다[9, 37]. 유선선암 세포주를 이식한 모델에서, Imatinib mesylate (Gleevec<sup>TM</sup>)는 암조직의 성장을 촉진하였고, 정상적인 비만세포의 성장과 기능감을 유도하였으며, 암조직으로 비만세포의 침투를 억제하였다[32]. 본 연구에서는 대장암 세포주를 이식한 모델의 고형암에서 AEC처리는 암의 성장을 억제하는 효과를 나타내는 동안 비만세포의 침투가 증가되었다. 이러한 결과는 anti-PD-1처리와 유사한 결과를 나타내고 있지만 작용기전 등에 대한 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료

**A**



**B**

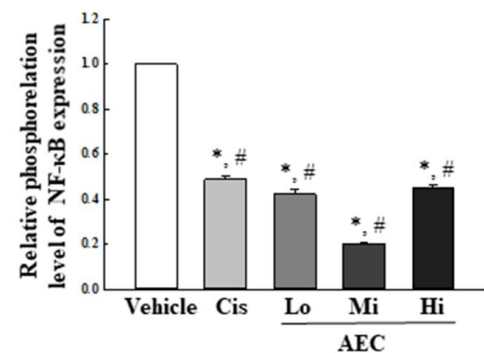
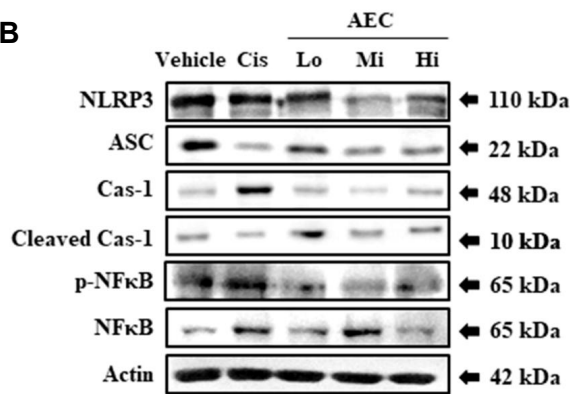


Fig. 3. Expression levels of iNOS, COX-2, NF-κB and inflammasome compositional proteins. (A) Analyses for iNOS and COX-2 proteins. After collecting the CT26 colon tumors, the protein expression levels of the iNOS and COX-2 proteins were analyzed using specific antibodies and densitometry. (B) Analyses for NF-κB and inflammasome compositional proteins. After collecting the CT26 colon tumors, the protein expression levels of NF-κB, NLRP3, ASC, Cas-1 and Cleaved Cas-1 proteins were assessed using specific antibodies and densitometry. The tissue homogenates were prepared from two to three tumors per group, and western blot was analyzed twice for each sample. The level of each protein was normalized to β-actin. Data shown are the means ± SD. \* $p < 0.05$  vs. vehicle group. # $p < 0.05$  vs. Cis group. Abbreviation: AEC, aqueous extract of *Ecklonia cava*; Cis, cisplatin; Lo, low concentration; Mi, middle concentration; Hi, high concentration; iNOS, inducible nitric oxide synthase; COX-2, cyclooxygenase-2; NLRP3, NLR family pyrin domain containing 3; ASC, apoptosis-associated speck-like protein containing a caspase recruitment domain; Cas-1, caspase-1; NF-κB, nuclear factor-κB.

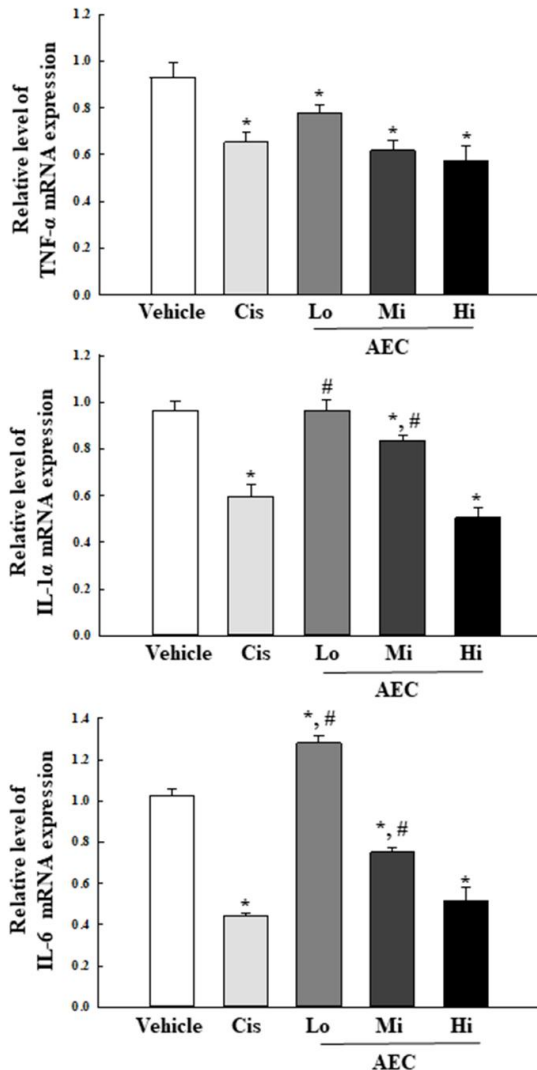


Fig. 4. Transcription levels of inflammatory cytokines. The mRNA levels of TNF- $\alpha$ , IL-1 $\alpha$  and IL-6 were quantified by RT-qPCR using specific primers. Total RNAs were prepared from two to three tumors per group, and RT-qPCR was analyzed twice for each sample. The level of each mRNA was normalized to  $\beta$ -actin. Data shown are the means  $\pm$  SD. \* $p$ <0.05 vs. vehicle group. # $p$ <0.05 vs. Cis group. Abbreviation: AEC, aqueous extract of *Ecklonia cava*; Cis, cisplatin; Lo, low concentration; Mi, middle concentration; Hi, high concentration; TNF- $\alpha$ , tumor necrosis factor- $\alpha$ ; IL-1 $\alpha$ , interleukin-1 $\alpha$ ; IL-6, interleukin-6.

된다.

한편, iNOS와 COX-2 단백질의 발현이 다양한 염증성 자극에 의해서 유도되기 때문에 iNOS-COX-2 cross-talk는 다양한 질병에서 중요한 조절기전으로 고려되고 있다[10, 45]. iNOS의 과발현과 활성화는 nitric oxide (NO)의 생성을 촉진하고 COX-2의 활성을 자극한다[28]. 이러한 과정은 NF- $\kappa$ B와 mitogen-activated protein kinase (MAPK) sig-

naling pathway에 의해 조절되며, 세포의 성장과 분화뿐만 아니라 cytokines과 스트레스에 대한 세포반응의 조절에서 중요한 역할을 한다[21, 29, 36]. 특별히, COX-2의 발현은 체장암, 대장암, 위암, 폐암 등에서 과발현되기 때문에 새로운 항암제의 중요한 표적으로 보고되었다[27]. 일부 항암제는 항암효능과 COX-2 저해능을 동시에 나타내었다. Licofelone은 HCA-7 대장암 세포주와 MCF-7 유방암 세포주에서 항암활성과 COX-2 효소활성을 억제하였으며, Darbufelone이 CRC 대장암 세포주에서 항암활성과 항염증활성을 나타내었다[7, 8]. 본 연구에서는 AEC의 항암활성 동안 염증반응의 작용기전을 분석하기 위하여 CT26 대장암 유래 암조직에서 iNOS와 COX-2 단백질의 발현을 분석하였다. 이러한 결과는 이전의 항암효능과 항염증효능을 동시에 갖는 물질에 의해 유발되는 효과와 매우 유사하였다.

또한, inflammasome은 다양한 스트레스 반응 동안에 ASC, pro-Cas-1, NLRP3 단백질이 활성화할 때 분자플랫폼으로서 형성된다. 이러한 복합체는 Cas-1을 활성화하고, IL-1 $\beta$ 와 IL-18을 포함하는 면역반응과 염증반응의 활성화를 유도한다[26]. 활성화 과정 동안에, IL-1 $\beta$ 는 IL-6와 TNF- $\alpha$ 의 분비를 유도하여 세포의 이동과 침투를 조절하고, IL-18은 면역세포의 활성화를 유도한다[35]. 하지만 inflammasome은 종양발생과정, 항암면역(anti-tumor immunity), 암 치료반응에서 세포의 종류에 따라 항암 면역을 자극하는 과정에 참여하지만, 암세포의 성장, 분화 그리고 전이를 촉진시키기도 하는 등 대조적인 역할을 한다[23]. Inflammasome 결함(assembly)과 활성(activity)은 *Rabdosia rubescens*으로부터 분리된 oridonin에 의해서 효과적으로 저해되었으며, 세포사의 촉진, 세포주기의 저해, 혈관신생 저해, 전이의 억제 등을 포함하는 항암활성도 oridonin과 oridonin의 유도체에 의해 다양한 암 세포주에서 증명되었다[22, 41, 44]. 본 연구에서는 AEC의 CT26 대장암 유래 암조직의 항암활성과정 동안에 inflammasome의 변화를 관찰하기 위하여 NLRP3, ASC, Cas-1의 발현을 분석하였다. 이들 단백질 중에서 NLRP3와 ASC의 발현은 AEC 처리그룹에서 유의적으로 감소하였으며, 이러한 결과는 oridonin과 oridonin의 유도체를 활용한 이전의 연구결과와 매우 유사하다[22, 41, 44]. 다만, 이전의 연구결과는 *Rabdosia rubescens*에서 추출한 단일물질을 이용한 연구이지만 본 연구에서는 복합물질을 이용한 연구로 수행한 것이 차이점으로 고려될 수 있다. 하지만 연구결과로 inflammasome의 활성결과인 IL-1 $\beta$ 나 IL-18의 단백질 농도를 측정하지 않은 것은 연구의 한계점이다.

천연물은 암의 조절과정에서 생리활성을 갖는 phytochemicals에 대한 잠재적인 중요한 근원이며, 이들은 염증 촉진 조절제(pro-inflammatory modulators)와 염증억제 조절제(anti-inflammatory modulators)로서 다양한 생물학적

활성을 조절한다[14, 38]. 인터류킨(interleukin)의 조절제들은 잠재적인 항암제로 고려되며, IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-12, IL-23은 IFN- $\gamma$ 와 TNF- $\alpha$ 의 생산을 유도하며, 세포성 면역을 조절하여 암세포의 세포사와 암형성 억제를 촉진한다[5]. 또한, IL-6, IL-8, GM-CSF, VEGF를 포함하는 암 관련 사이토카인들은 혈관신생을 증가시키는 효과를 나타낸다[34]. 한편, 항암효과를 갖는 다양한 천연물들은 염증성 사이토카인의 발현을 조절한다. 고함량의 탄수화물을 포함한 식물추출물(polysaccharide-rich plant extracts)은 우수한 항암효과를 나타내었으며, TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$ , IL-12, IFNs 등 다양한 사이토카인의 조절을 동반하였다[25, 40]. 유사한 변화는 항암효과를 갖는 플라보노이드와 스테롤을 과량포함하는 식물추출물(flavonoids and sterols-rich plant extracts)과 갈로탄닌을 과량포함하는 식물추출물(gallotannin-rich plant extracts)에서도 관찰되었다[3, 39]. 본 연구에서는 감태추출물인 AEC의 항암활성 동안 염증성 사이토카인의 발현 조절을 분석하기 위하여, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\alpha$ , IL-6의 발현을 5주 동안 AEC를 처리한 CT26 대장암 유래 암조직에서 측정하였다. 이들의 발현은 AEC 처리에 의해서 유의적으로 감소하였으며, 이러한 결과는 이전의 다른 항암효능을 갖는 추출물의 결과와 매우 유사하였다. 다만, 추출물에 포함된 성분분석에 대한 결과는 차이가 있다. 본 연구에서 사용된 AEC는 후코이단(fucoidan), 플로로탄닌(phlorotannin), 폴리페놀(polyphenol) 등의 생리활성물질을 다량 포함하고 있으며, 총 폴리페놀 농도, 총 탄닌 농도, 총 플라보노이드 농도 등에 대한 명확한 분석이 보고되었지만[13], 이전의 연구에서 사용된 감태의 효소처리 추출물은 폴리페놀, 황화다당류 등만을 단순 분석하여 성분의 차이가 있을 것으로 사료된다[19, 20].

이상의 결과에서 살펴본 바와 같이, 본 연구에서는 AEC가 CT26 대장고형암을 갖는 BALB/cKorl syngeneic 마우스에서 항암활성 동안에 염증반응의 억제를 동반함을 제시하고 있다. 이를 뒷받침하는 연구결과로서 AEC는 비만세포의 침투를 증가시키고, iNOS, COX-2, NF- $\kappa$ B, inflammasome 구성 단백질 및 inflammatory cytokines 발현을 억제하였다. 이러한 연구결과는 향후 감태 추출물을 활용한 항암제의 개발과정에서 염증반응 억제를 표적으로 개발할 필요성에 대한 과학적 근거를 제시하고 있다.

### 감사의 글

이 과제는 부산대학교 기본연구지원사업(2년)에 의하여 연구되었음.

### The Conflict of Interest Statement

The authors declare that they have no conflicts of interest

with the contents of this article.

### References

- Ahn, G., Lee, W., Kim, K. N., Lee, J. H., Heo, S. J., Kang, N., Lee, S. H., Ahn, C. B. and Jeon, Y. J. 2015. A sulfated polysaccharide of *Ecklonia cava* inhibits the growth of colon cancer cells by inducing apoptosis. *EXCLI J.* **14**, 294-306.
- Ahn, J. H., Yang, Y. I., Lee, K. T. and Choi, J. H. 2015. Dieckol, isolated from the edible brown algae *Ecklonia cava*, induces apoptosis of ovarian cancer cells and inhibits tumor xenograft growth. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* **141**, 255-268.
- Alonso-Castro, A. J., Juárez-Vázquez, M del C., Domínguez, F., González-Sánchez, I., Estrada-Castillón, E., López-Toledo, G., Chávez, M., Cébon, M. A. and García-Carranca, A. 2012. The antitumoral effect of the American mistletoe *Phoradendron serotinum* (Raf.) M.C. Johnst. (Viscaceae) is associated with the release of immunity-related cytokines. *J. Ethnopharmacol.* **142**, 857-864.
- Athukorala, Y., Kim, K. N. and Jeon, Y. J. 2006. Antiproliferative and antioxidant properties of an enzymatic hydrolysate from brown alga, *Ecklonia cava*. *Food Chem. Toxicol.* **44**, 1065-1074.
- Berraondo, P., Sanmamed, M. F., Ochoa, M. C., Etxeberria, I., Aznar, M. A., Pérez-Gracia, J. L., Rodríguez-Ruiz, M. E., Ponz-Sarvisé, M., Castañón, E. and Melero, I. 2019. Cytokines in clinical cancer immunotherapy. *Br. J. Cancer.* **120**, 6-15.
- Bulfone-Paus, S. and Bahri, R. 2015. Mast cells as regulators of T cell responses. *Front. Immunol.* **6**, 394.
- Cai, H., Huang, X., Xu, S., Shen, H., Zhang, P., Huang, Y., Jiang, J., Sun, Y., Jiang, B. and Wu, X. 2016. Discovery of novel hybrids of diaryl-1, 2, 4-triazoles and caffeic acid as dual inhibitors of cyclooxygenase-2 and 5-lipoxygenase for cancer therapy. *Eur. J. Med. Chem.* **108**, 89-103.
- Che, X. H., Chen, C. L., Ye, X. L., Weng, G. B., Guo, X. Z., Yu, W. Y., Tao, J., Chen, Y. C. and Chen, X. 2016. Dual inhibition of COX-2/5-LOX blocks colon cancer proliferation, migration and invasion *in vitro*. *Oncol. Rep.* **35**, 1680-1688.
- Choi, H. W., Naskar, M., Seo, H. K. and Lee, H. W. 2021. Tumor-associated mast cells in urothelial bladder cancer: optimizing immuno-oncology. *Biomedicines* **9**, 1500.
- Cianchi, F., Perna, F. and Masini, E. 2005. iNOS/COX-2 pathway interaction: a good molecular target for cancer treatment. *Curr. Enzym. Inhib.* **1**, 97-105.
- da Silva, E. Z. M., Jamur, M. C. and Oliver, C. 2014. Mast cell function: a new vision of an old cell. *J. Histochem. Cytochem.* **62**, 698-738.
- Dyshlovoy, S. A. and Honecker, F. 2018. Marine compounds and cancer: 2017 updates. *Mar. Drugs.* **16**, 41-43.
- Gong, J. E., Kim, J. E., Park, S. H., Lee, S. J., Choi, Y. J., Choi, S. L., Choi, Y. W., Lee, H. S., Hong, J. T. and Hwang, D. Y. 2023. Anti-tumor effects of an aqueous ex-



- tract of *Ecklonia cava* in BALB/cKorl syngeneic mice using colon carcinoma CT26 cells. *Oncol. Rep.* **49**, 128.
14. Greten, F. R. and Grivennikov, S. I. 2019. Inflammation and cancer: Triggers, mechanisms, and consequences. *Immunity* **51**, 27-41.
  15. Huo, J. L., Fu, W. J., Liu, Z. H., Lu, N., Jia, X. Q. and Liu, Z. S. 2022. Research advance of natural products in tumor immunotherapy. *Front. Immunol.* **13**, 972345.
  16. Khalifa, S. A. M., Elias, N., Farag, M. A., Chen, L., Saeed, A., Hegazy, M. F., Moustafa, M. S., Abd El-Wahed, A., Al-Mousawi, S. M., Musharraf, S. G., Chang, F. R., Iwasaki, A., Suenaga, K., Alajlani, M., Göransson, U. and El-Seedi, H. R. 2019. Marine natural products: A source of novel anticancer drugs. *Mar. Drugs* **17**, 491.
  17. Kim, E. K., Tang, Y., Kim, Y. S., Hwang, J. W., Choi, E. J., Lee, J. H., Lee, S. H., Jeon, Y. J. and Park, P. J. 2015. First evidence that *Ecklonia cava*-derived dieckol attenuates MCF-7 human breast carcinoma cell migration. *Mar. Drugs* **13**, 1785-1797.
  18. Kong, C. S., Kim, J. A., Yoon, N. Y. and Kim, S. K. 2009. Induction of apoptosis by phloroglucinol erivative from *Ecklonia cava* in MCF-7 human breast cancer cells. *Food Chem. Toxicol.* **47**, 1653-1658.
  19. Lee, S. H., Heo, S. J., Hwang, J. Y., Han, J. S. and Jeon, Y. J. 2010. Protective effects of enzymatic digest from *Ecklonia cava* against high glucose-induced oxidative stress in human umbilical vein endothelial cells. *J. Sci. Food Agric.* **90**, 349-356.
  20. Lee, S. H., Park, M. H., Park, S. J., Kim, J., Kim, Y. T., Oh, M. C., Jeong, Y., Kim, M., Han, J. S. and Jeon, Y. J. 2012. Bioactive compounds extracted from *Ecklonia cava* by using enzymatic hydrolysis protects high glucose-induced damage in INS-1 pancreatic  $\beta$ -cells. *Appl. Biochem. Biotechnol.* **167**, 1973-1985.
  21. Li, J., Xu, L., Sang, R., Yu, Y., Ge, B. and Zhang, X. 2018. Immunomodulatory and anti-inflammatory effects of total flavonoids of *Astragalus* by regulating NF- $\kappa$ B and MAPK signalling pathways in RAW 264.7 macrophages. *Int. J. Pharm. Sci.* **73**, 589-593.
  22. Liao, M., Dong, Q., Chen, R., Xu, L., Jiang, Y., Guo, Z., Xiao, M., He, W., Cao, C., Hu, R., Sun, W., Jiang, H. and Wang, J. 2021. Oridonin inhibits DNMT3A R882 mutation-driven clonal hematopoiesis and leukemia by inducing apoptosis and necroptosis. *Cell Death Discov.* **7**, 297.
  23. Lillo, S. and Saleh, M. 2022. Inflammasomes in cancer progression and anti-tumor immunity. *Front. Cell. Dev. Biol.* **10**, 839041.
  24. Livak, K. J., and Schmittgen, T. D. 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the  $2^{-\Delta\Delta CT}$  method. *Methods* **25**, 402-408.
  25. Long, T., Liu, Z., Shang, J., Zhou, X., Yu, S., Tian, H. and Bao, Y. 2018. *Polygonatum sibiricum* polysaccharides play anticancer effect through TLR4-MAPK/NF- $\kappa$ B signaling pathways. *Int. J. Biol. Macromol.* **111**, 813-821.
  26. Lukens, J. R., Dixit, V. D. and Kanneganti, T. D. 2011. Inflammasome activation in obesity-related inflammatory diseases and autoimmunity. *Discov. Med.* **12**, 65.
  27. Mohsin, N. A., Aslam, S., Ahmad, M., Irfan, M., Al-Hussain, S. A. and Zaki, M. E. A. 2022. Cyclooxygenase-2 (COX-2) as a target of anticancer agents: A review of novel synthesized scaffolds having anticancer and COX-2 inhibitory potentialities. *Pharmaceuticals* **15**, 1471.
  28. Murakami, A. and Ohigashi, H. 2007. Targeting NOX, iNOS and COX-2 in inflammatory cells: chemoprevention using food phytochemicals. *Int. J. Cancer.* **121**, 2357-2363.
  29. Piao, Y. J., Seo, Y. H., Hong, F., Kim, J. H., Kim, Y. J., Kang, M. H., Kim, B. S., Jo, S. A., Jo, I., Jue, D. M., Kang, I., Ha, J. and Kim, S. S. 2005. Nox 2 stimulates muscle differentiation via NF- $\kappa$ B/iNOS pathway. *Free Radic. Biol. Med.* **38**, 989-1001.
  30. Rosenthal, R., Cadieux, E. L., Salgado, R., Bakir, M. A., Moore, D. A., Hiley, C. T., Lund, T., Tanic, M., Reading, J. L., Joshi, K., Henry, J. Y., Ghorani, E., Wilson, G. A., Birkbak, N. J., Hanjani, M. J., Veeriah, S., Szallasi, Z., Loi, S., Hellmann, M. D., Feber, A., Chain, B., Herrero, J., Quezada, S. A., Demeulemeester, J., Loo, P. V., Beck, S. McGranahan, N. and Swanton, C. 2019. Neoantigen-directed immune escape in lung cancer evolution. *Nature* **567**, 479-485.
  31. Sadeeshkumar, V., Duraikannu, A., Ravichandran, S., Fredrick, W. S., Sivaperumal, R. and Kodisundaram, P. 2016. Protective effects of dieckol on N-nitrosodiethylamine induced hepatocarcinogenesis in rats. *Biomed. Pharmacother.* **84**, 1810-1819.
  32. Samoszuk, M. and Corwin, M. A. 2003. Acceleration of tumor growth and peri-tumoral blood clotting by imatinib mesylate (Gleevec<sup>TM</sup>). *Int. J. Cancer.* **106**, 647-652.
  33. Schreiber, R. D., Old, L. J. and Smyth, M. J. 2011. Cancer immunoeediting: integrating immunity's roles in cancer suppression and promotion. *Science* **331**, 1565-1570.
  34. Setrerreahmane, S. and Xu, H. 2017. Tumor-related interleukins: old validated targets for new anticancer drug development. *Mol. Cancer.* **16**, 153.
  35. Sims, J. E. and Smith, D. E. 2010. The IL-1 family: Regulators of immunity. *Nat. Rev. Immunol.* **10**, 89-102.
  36. Singleton, K. D., Beckey, V. E. and Wischmeyer, P. E. 2005. Glutamine prevents activation of NF- $\kappa$ B and stress kinase pathways, attenuates inflammatory cytokine release, and prevents acute respiratory distress syndrome (ARDS) following sepsis. *Shock* **24**, 583-589.
  37. Somasundaram, R., Connelly, T., Choi, R., Choi, H., Samarkina, A., Li, L., Gregorio, E., Chen, Y., Thakur, R., Abdel-Mohsen, M., Beqiri, M., Kiernan, M., Perego, M., Wang, F., Xiao, M., Brafford, P., Yang, X., Xu, X., Secreto, A., Danet-Desnoyers, G., Traum, D., Kaestner, K. H., Huang, A. C., Hristova, D., Wang, J., Fukunaga-Kalabis, M., Krepler, C., Ping-Chen, F., Zhou, X., Gutierrez, A., Rebecca, V. W., Vonteddu, P., Dotiwala, F., Bala, S., Majumdar, S., Dweep, H., Wickramasinghe, J., Kossenkov, A. V., Reyes-Arbujas, J., Santiago, K., Nguyen, T., Griss, J., Keeney, F., Hayden, J., Gavin, B. J., Weiner, D., Montaner, L. J., Liu, Q., Peiffer, L., Becker, J., Burton,

- E. M., Davies, M. A., Tetzlaff, M. T., Muthumani, K., Wargo, J. A., Gabrilovich, D., Herlyn, M. 2021. Tumor-infiltrating mast cells are associated with resistance to anti-PD-1 therapy. *Nat. Commun.* **12**, 346.
38. Sultana, S., Munir, N., Mahmood, Z., Riaz, M., Akram, M., Rebezov, M., Kuderinova, N., Moldabayeva, Z., Ali Shariati, M., Rauf, A. and Rengasamy, K. R. R. 2021. Molecular targets for the management of cancer using *Curcuma longa* Linn. phytoconstituents: a Review. *Biomed. Pharmacother.* **135**, 111078.
39. Uruña, C., Gomez, A., Sandoval, T., Hernandez, J., Li, S., Barreto, A. and Fiorentino, S. 2015. Multifunctional T lymphocytes generated after therapy with an antitumor gallotanin-rich normalized fraction are related to primary tumor size reduction in a breast cancer model. *Integr. Cancer Ther.* **14**, 468-483.
40. Wang, Y. Q., Mao, J. B., Zhou, M. Q., Jin, Y. W., Lou, C. H., Dong, Y., Shou, D., Hu, Y., Yang, B., Jin, C. Y., Shi, H. C., Zhao, H. J. and Wen, C. P. 2019. Polysaccharide from *Phellinus igniarius* activates TLR4-mediated signaling pathways in macrophages and shows immune adjuvant activity in mice. *Int. J. Biol. Macromol.* **123**, 157-166.
41. Yao, J., Liu, L., Sun, Q. and Shen, X. 2023. Direct cellular targets and anticancer mechanisms of the natural product oridonin. *MedComm. Futur. Med.* **2**, e35.
42. Zilionis, R., Engblom, C., Pfirschke, C., Savova, V., Zemmour, D., Saaticioglu, H. D., Krishnan, I., Maroni, G., Meyerovitz, C. V. and Kerwin, C. M. 2019. Single-cell transcriptomics of human and mouse lung cancers reveals conserved myeloid populations across individuals and species. *Immunity* **50**, 1317-1334.
43. Zhang, C., Li, Y., Shi, X. and Kim, S. K. 2010. Inhibition of the expression on MMP-2, 9 and morphological changes via human fibrosarcoma cell line by 6,6'-bieckol from marine alga *Ecklonia cava*. *BMB Rep.* **43**, 62-68.
44. Zhou, J., Li, Y., Shi, X., Hao, S., Zhang, F., Guo, Z., Gao, Y., Guo, H. and Liu, L. 2021. Oridonin inhibits tumor angiogenesis and induces vessel normalization in experimental colon cancer. *J. Cancer.* **12**, 3257-3264.
45. Zhu, Y., Zhu, M. and Lance, P. 2012. iNOS signaling interacts with COX-2 pathway in colonic fibroblasts. *Exp. Cell. Res.* **318**, 2116-2127.

### 초록 : CT26 고형암을 내포하는 BALB/cKorl Syngeneic 마우스에서 *Ecklonia cava*의 항암효과 및 항염증효과

노유정<sup>1</sup> · 김지은<sup>1</sup> · 진유정<sup>1</sup> · 설아윤<sup>1</sup> · 송희진<sup>1</sup> · 김태렬<sup>1</sup> · 민경선<sup>1</sup> · 박은서<sup>1</sup> · 박기호<sup>1</sup> · 황대연<sup>1,2\*</sup>

(<sup>1</sup>부산대학교 바이오소재과학과/생명산업융합연구원, <sup>2</sup>부산대학교 웰빙제품연구센터/청정실험동물센터)

염증반응(inflammation)은 발병, 진행, 악성 전이를 포함한 암의 진행과정(tumorigenesis)에서 중요한 역할을 수행하기 때문에 암 치료를 위한 전략으로 고려되고 있다. 감태(*Ecklonia cava*) 열수추출물(AEC)의 항암 활성 동안 나타나는 항염증 반응을 연구하기 위하여, 비만세포(mast cells)의 분포, inducible nitric oxide synthase (iNOS)단백질, cyclooxygenase-2 (COX-2)단백질, nuclear factor (NF)-κB단백질, inflammasome 구성 단백질, inflammatory cytokines 발현의 변화는 AEC를 5주간 경구투여한 CT26 대장암을 내포하는 BALB/cKorl syngeneic 마우스에서 분석하였다. AEC를 처리한 후, 고형암의 무게와 조직 절편의 피사 부위가 vehicle처리그룹에 비하여 감소하였다. 비만세포의 수는 vehicle처리그룹에 비하여 AEC처리그룹에서 증가했지만 COX-2와 iNOS의 발현은 AEC처리그룹에서 감소하였다. 또한, NF-κB, NLR family pyrin domain containing 3 (NLRP3), apoptosis-associated speck-like protein containing a caspase recruitment domain (ASC)과 Caspase-1 (Cas-1)단백질의 발현도 유사한 감소가 관찰되었다. 더불어, tumor necrosis factor-α (TNF-α), interleukin-1α (IL-1α)와 interleukin-6 (IL-6)의 mRNA 발현이 vehicle처리그룹에 비하여 AEC처리그룹에서 감소하였다. 이러한 결과는 AEC가 CT26 고형암을 내포하는 BALB/cKorl syngeneic 마우스에서 항암활성은 염증 반응과 밀접한 관련이 있음을 제시하고 있다.