



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

工學碩士 學位論文

팽생이 모자반 추출물의
아토피 억제 효과



2010年 8月

釜慶大學校 大學院

食 品 工 學 科

李 青 鳥

工學碩士 學位論文

팽생이 모자반 추출물의 아토피 억제 효과

指導教授 安 東 賢

이 論文을 工學碩士 學位論文으로 提出함



2010年 8月

釜慶大學校 大學院

食 品 工 學 科

李 青 鳥

李靑鳥의 工學碩士 學位論文으로 認准함

2010年 8月



주	심	농학박사	김 선 봉	인
위	원	공학박사	전 병 수	인
위	원	농학박사	안 동 현	인

목 차

Abstract	1
서 론	4
재료 및 방법	
1. 실험재료	8
1-1. 팽생이 모자반	8
1-2. 마우스	8
1-3. 시약	8
2. 추출	9
3. 일반 특성 분석	
3-1. 일반성분 분석	9
3-2. pH 및 색도	10
4. 알레르기 억제 효과 측정 - <i>In vitro</i>	
4-1. 알레르기 유발	10
4-2. 비장세포의 분리 및 배양	11
4-3. 비장세포 배양액의 IFN- γ 및 IL-4 cytokine 분비량 측정	11
4-4. 비장세포의 IgE 분비량 측정	12
4-5. 비장세포의 MTT assay	12
5. 염증 억제 효과 측정 - <i>In vitro</i>	
5-1. 대식세포의 분리 및 배양	13
5-2. 대식세포의 nitric oxide 분비량 측정	14
5-3. 대식세포의 TNF- α , IL-6 및 IL-1 β cytokine 분비량 측정 ..	14

5-4. 대식세포의 MTT assay	14
6. 아토피 피부염 억제 효과 측정 - <i>In vivo</i>	
6-1. 아토피 피부염 유발 및 치료 처리	15
6-2. 아토피 피부염 증상 관찰	15
6-3. 비장세포의 분리 및 배양	15
6-4. 비장세포 배양액의 IFN- γ 및 IL-4 cytokine 분비량 측정	16
6-5. 혈청의 total IgE 함량 측정	16
6-6. 비장세포의 MTT assay	16
7. 통계처리	17

결과 및 고찰

1. 팽생이 모자반 일반 특성	
1-1. 팽생이 모자반 일반성분	18
1-2. 팽생이 모자반 추출물의 pH 및 색도	19
2. 팽생이 모자반 추출물의 알레르기 억제 효과 - <i>In vitro</i>	
2-1. 비장세포의 IFN- γ , IL-4 cytokine 및 total IgE 분비량	21
2-2. 비장세포 증식능	27
3. 팽생이 모자반 추출물의 염증 억제 효과 - <i>In vitro</i>	
3-1. 대식세포의 nitric oxide 분비량	30
3-2. 대식세포의 TNF- α , IL-6 및 IL-1 β cytokine 분비량	33
3-3. 대식세포 증식능	38
4. 팽생이 모자반 추출물의 아토피 피부염 억제 효과 - <i>In vivo</i>	
4-1. 아토피 피부염 증상	40
4-2. 비장세포의 IFN- γ 및 IL-4 cytokine 분비량	44
4-3. 혈청의 total IgE 함량	49

4-4. 비장세포 증식능	51
요 약	53
참 고 문 헌	56



Inhibitory Effects of *Sargassum horneri* Extracts on Atopic Disease

Chung-Jo Lee

Department of Food Science and Technology, Graduate School,
Pukyong National University

Abstract

Atopy is the propensity of an individual to produce IgE antibody in response to various environmental antigens and to develop strong immediate hypersensitivity responses. The atopy is designated as symptoms like atopic dermatitis, allergic rhinitis, asthma and systemic anaphylaxis. Due to genetic, immunological and environmental factors, the incidence of atopy has been steadily growing. Recently, many investigators have initiated searches for anti-atopy substance from natural resources. Therefore, we studied chemical properties, inhibitory effects of allergy, inflammation and atopic dermatitis of *sargassum horneri* ethanol extract (SHEE) and water extract (SHWE). Moisture, ash, protein and lipid contents were measured to investigate the proximate composition of *sargassum horneri* (SH). Also, pH and color of SHEE and

SHWE were observed. The results showed that moisture, ash, lipid and protein contents of SH revealed 7.48, 17.01, 1.05 and 15.62%, respectively. To examine anti-allergic effects of SHEE and SHWE, the cell proliferation, IFN- γ , IL-4 and total IgE production were measured on OVA-immunized splenocyte treated with SHEE and SHWE *in vitro*. As a result, the IFN- γ production in murine splenocytes treated with SHEE at 10 μ g/mL was increased compared to positive control. SHWE, it significantly enhanced IFN- γ production at all tested concentrations. On the other hands, IL-4 production was suppressed by SHEE and SHWE. Total IgE production in murine splenocytes treated with SHEE and SHWE was considerably declined more than positive control. The cell proliferation in murine splenocytes treated with SHEE and SHWE at 1 and 10 μ g/mL showed no difference. However, when SHWE at 100 μ g/mL were added to splenocytes, the highest proliferation index was observed. Anti-inflammatory effects of SHEE and SHWE were estimated in LPS-induced murine macrophage *in vitro*. Nitric oxide (NO) production of macrophages treated with SHEE was lower than positive control at all tested concentrations whereas that of macrophages treated with SHWE at 1 and 10 μ g/mL showed no difference. When SHWE at 100 μ g/mL was added to

macrophages, NO production was increased compared to positive control. Also, SHEE suppressed pro-inflammatory cytokine production such as TNF- α , IL-6 and IL-1 β at all tested concentrations. Especially, the lowest TNF- α , IL-6 and IL-1 β production were shown in macrophages treated with SHEE at 100 μ g/mL, while there is no significant differences in TNF- α and IL-1 β production in macrophages treated with SHWE at all tested concentrations. To analysis inhibitory effects of atopic dermatitis of SHEE and SHWE, SHEE and SHWE applied to the dorsal skin of 2,4 dinitrochlorobenzene (DNCB)-induced Balb/c mice *in vivo* test. As a result, it showed that SHEE and SHWE decreased symptoms of the erythema, crust and dryness. The IFN- γ and IL-4 production of the group treated with SHEE showed no difference. However, the IFN- γ production of the group treated with SHWE was decreased more than positive control. Also, SHWE suppressed IL-4 production in splenocytes. Total IgE production of the group treated with SHEE and SHWE in sera was significantly decreased compared to the positive control. In conclusion, these results suggest that SHEE and SHWE which have inhibitory effects of allergy, inflammation and atopic dermatitis can inhibit atopy. Therefore, SHEE and SHWE can be applied to atopic disease therapy.

서론

아토피(atopy)는 비정상적인 면역반응의 하나로 다양한 항원에 대해 강력한 즉시형 과민반응을 나타내도록 IgE 항체를 생산하는 개체의 특성을 말한다(Abbass et al., 2004). 이러한 아토피 성향을 가진 사람에게는 아토피 피부염, 비염, 천식 및 아나필락시스 등(Broide, 2001)의 증상이 나타나며, 이는 산업사회의 발달, 식생활과 환경의 변화 및 스트레스 증가 등으로 인해 지속적으로 발생이 증가하고 있다.

알레르기 증상 중 아토피 피부염(atopic dermatitis)은 홍반, 부종, 심한 소양감, 삼출과 부스럼 등의 증상을 나타내는 만성, 재발성의 염증성 피부질환으로 전 세계적으로 약 10-20%의 인구가 아토피 피부염을 겪고 있다(Tanabe et al., 2002). 또한 최근 국내에서 실시한 2008년 주요 환경성 질환 진료환자에 대한 조사에서 10세 미만의 소아가 아토피 피부염 환자의 50.6%를 차지한다고 보고될 정도로 소아기에 빈번히 발생하는 질환이다(국민건강보험공단, 2010).

아토피성 피부염의 발생 원인은 아직 명확하게 밝혀지지 않았으나 유전적 요인, 면역기능의 불균형, 피부장벽의 손상 및 환경적 요인 등이 관련되어 있는 것으로 알려져 있다(Leung, 2000). 아토피 피부염 발생에 있어 지금까지 보고된 면역학적 특성으로는 혈중 IgE 항체의 분비량 증가와 더불어 IL-4 cytokine의 분비량이 증가하고 IFN- γ cytokine의 분비량은 감소하는 것으로, 질환 초기에는 Th 2

세포가 중요한 역할을 하는 것으로 보고되어 있다. 반면 후기에 발생 하는 만성 아토피 피부염의 경우에는 2차적인 미생물의 감염에 의해 IFN- γ cytokine의 발현 수준이 증가하여 Th 1 세포 면역반응이 증가하게 된다. IFN- γ cytokine은 대식세포 및 NK 세포를 활성화시켜 세포용해능을 증가시키고, 활성화된 대식세포는 TNF- α , IL-6와 같은 cytokine을 분비하여 각질세포의 자멸사를 촉진시키는 등 만성적인 염증반응을 유발한다(Sehra et al., 2008; Abbas et al., 2004).

최근에는 이러한 면역학적 기전뿐만 아니라 피부장벽의 손상도 아토피 피부염 악화의 주요한 요인으로 대두되고 있다. 표피 중에서도 가장 바깥에 존재하는 각질층은 각질형성세포로부터 형성되며, 분화가 완결된 각질 세포와 그를 둘러싼 지질층으로 구성되어 있다. 각질형성세포는 천연보습인자와 세포 간 지방질(세라마이드, 콜레스테롤, 지방산)을 생성하면서 각질층을 형성하고 각질층이 견고함과 유연성을 가지게 하여 피부장벽으로서의 기능을 보유하게 한다(Fry L, 2007). 이러한 피부장벽은 과도한 세안이나, 목욕 등의 생활 습관적 요소나 건조한 대기, 오염물질 등의 환경적인 요인, 그리고 각질형성세포의 지질합성능력 저하 등과 같은 내인성 질환 등으로 인해 쉽게 그 기능이 손실될 수 있다. 따라서 피부장벽 기능의 손상으로 인해 항원이나 자극성 물질 등이 피부투과성을 높여 피부염증 등의 피부 면역반응을 유발시킨다(Yoon, 2008).

현재 아토피 피부염 치료제는 염증 반응과 cytokine 생산을 억제하는 스테로이드제 dexamethasone이 주로 이용되고 있다. 그러나 이러한 스테로이드제는 단기간 사용에는 효과적이지만, 장기간 투여할

경우 피부의 위축이나 성장 지연 가능성 등 여러 가지 부작용을 초래하고 있다. 그러므로 최근에는 calcineurin 억제제인 tacrolimus와 cytokine의 생산을 억제하는 cyclosporin A와 같은 비스테로이드제가 주로 이용되고 있다. 하지만 이 또한, 홍반, 가려움, 건조 피부, 부종과 혈중, 짓무름 및 태선화 등의 증상과 면역력 약화 등의 다양한 부작용을 가지고 있으며 근본적인 아토피 피부염 치료가 어려운 상태이다(Arellano et al., 2007; Furue et al., 2004). 이에 따라 안전성이 입증된 천연물로부터 치료효과가 높고 부작용이 적은 치료제를 찾고자 하는 시도가 많이 이루어지고 있다(Gao et al., 2005). 현재까지 알려진 항아토피 관련 물질로는 단삼(Baik, 2006), 다래(Kim et al., 2009), 참소리쟁이(Ahn et al., 2009), 삼백초(Choi et al., 2008), 자운고(Yeo et al., 2008), 황련해독탕(Kim et al., 2008) 등 육상식물 및 한약재가 주를 이루고 있다.

한편, 지구의 약 70%를 차지하고 있는 해양에는 육상 생물과는 다른 대사작용과 생체방어계를 가진 다양한 해양생물들이 서식하고 있다(Kim et al., 2000). 그 중 해조류는 다량의 무기질과 비타민을 함유하고 있을 뿐만 아니라, 다당류의 함량이 높아 체내의 중금속을 흡착하여 배출시키는 효과(Kim et al., 2000), 높은 페놀함량과 유리 라디칼 소거능을 통한 항산화(Seo et al., 2003) 및 항균효과(Lee et al., 2000) 등 다양한 생리활성을 가지는 천연자원으로 그 중요성이 증대되고 있다. 특히 갈조류는 fucoidan, alginic acid 및 laminarin과 같은 점질성 다당류가 많이 함유되어 항암(Jung et al., 2001), 항혈액응고(Cho et al., 1990) 및 혈중 콜레스테롤 저하효과

(Hong et al., 1998) 등 다양한 생리활성을 가지는 것으로 알려져 있다. 현재까지 알려진 해조류 중 알레르기 억제 효과가 있는 물질로는 감태(*Ecklonia cava*), 곰피(*Ecklonia stolonifera*)의 phloroglucinol 유도체인 diocinodehydroeckol(DHE), fucodiphloroethol G(FPE-G), phlorofucofuroeckol A(PFF-A)(Li et al., 2008; Shim et al., 2009)가 알려져 있다. 또한 항염증 효과가 있는 물질로는 외톨개모자반(*Myagropsis myagroides*)에서 분리한 fucoxanthin (Heo et al., 2010)등이 보고되고 있으나, 풍부한 자원에 비해 연구는 소수에 불과할 뿐이다.

팽생이 모자반(*Sargassum horneri*)은 모자반목 모자반과에 속하는 갈조류로 우리나라 동남해안 및 일본의 전 연안에서 서식하고 있으며 주로 사료로 이용되고 있다. 풍부한 자원임에도 불구하고 현재까지 팽생이 모자반에 대한 연구로는 항산화(Mataukawa et al., 2004), 항혈액응고(Kim et al., 2004), 항암(Choi et al., 2006), 항돌연변이(Choi et al., 2006) 및 중금속 흡착 효과(Suh et al., 1999) 등에 대해 일부 보고 되고 있을 뿐 아토피 억제 효과에 대한 연구는 보고된 바 없다.

이에 본 연구에서는 팽생이 모자반 에탄올 및 물 추출물의 아토피 억제 효과에 대해 알아보기 위해 알레르기 억제, 염증 억제 및 아토피 피부염 억제 효과를 측정하여 아토피 억제를 위한 기능성 소재 및 기능성 식품으로의 이용가능성에 대해 연구하였다.

재료 및 방법

1. 실험 재료

1-1. 팽생이 모자반

본 실험에 사용한 팽생이 모자반(*Sargassum horneri*)은 부산 기장에서 채취한 것으로 담수로 깨끗이 수세하고 동결 건조한 후, 이를 분말화하고 진공 포장하여 -20°C 에서 저장하며 사용하였다.

1-2. 마우스

생후 6주령의 암컷, BALB/c 마우스를 오리엔트바이오(Orient Co., Seongnam, Korea)로부터 구입하여 항알레르기 및 항염증 실험에 사용하였으며, 생후 4주령의 수컷 BALB/c 마우스는 항아토피 피부염 실험에 사용하였다. 마우스는 온도 $20\pm 2^{\circ}\text{C}$, 습도 $50\pm 10\%$, 12시간 명암주기가 유지되는 동물실에서 1주일간 예비사육한 후 실험에 사용하였다.

1-3. 시약

Ovalbumin(Grade V), Aluminum hydroxide gel, Thioglycogallate medium, Lipopolysaccharide(LPS), Bovine serum albumin(BSA), 2,4-Dinitro chlorobenzene(DNCB), Olive oil, 3-(4,5-dimethyl thiazol2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide(MTT) reagent, Dimethylsulfoxide(DMSO)는 Sigma사(St.

Louis, USA)에서 RPMI 1640은 GIBCO(Grand Island, USA)에서 구입하여 사용하였으며, Fetal bovine serum(FBS), Penicilline/streptomycin은 Hyclone (Logan, USA)에서, IFN- γ , IL-4 및 IgE ELISA kit는 BD science(San Diego, USA)에서 구입하여 사용하였다.

2. 추출

분말상태의 팽생이 모자반에 10배량의 80% 에탄올을 가한 후 shaker(H-0802, Dongwon science co., Busan, Korea)로 실온에서 24시간 동안 교반하여 추출하였다. 이를 원심분리기(UNION 32R, Hanil Co., Incheon, Korea)를 이용하여 3,000 rpm에서 10분간 원심분리한 후 상층액을 취하고 잔사는 동일한 방법으로 10배의 80% 에탄올을 가해 2회 반복 추출하였다. 에탄올 추출 후 남은 잔사는 37℃에서 건조하여 물 추출에 사용하였다. 물 추출물은 건조된 잔사에 10배량의 초순수를 가하여 에탄올과 동일하게 3회 반복 추출하였다. 추출한 상층액은 여과지로 여과하여 Rotary evaporator(RE200, Yamato Co., Tokyo, Japan)로 농축한 뒤 37℃에서 건조하였다. 건조된 시료는 -20℃에서 보관하며 실험에 사용하였다.

3. 일반성분 분석 및 색도

3-1. 일반성분 분석

일반성분 분석은 AOAC(William, 2000)법에 따라 실시하였다. 수

분함량은 105℃의 조건 하에서 수분함량측정기(MB45 Moisture Analyzer, Ohaus Co., Seoul, Korea)를 이용하여 측정하였고, 회분함량은 550℃ 직접회화법(PDMF-5T, Rab Partner, Seoul, Korea), 조단백질 함량은 kjeldahl법(BUCHI Distillation Unit K-350/355, Hwashin Instrument Co., Seoul, Korea), 조지방은 soxhlet 추출법(EAM4202, Dongwon Science Co., Busan, Korea)으로 분석하여 백분율로 나타내었다.

3-2. pH 및 색도

팽생이 모자반 에탄올 및 물 추출물의 pH는 5 mg/mL 농도의 시료를 pH meter(HM-30V, TOA, Kobe, Japan)로 측정하였으며, 색도는 색차계(JC801, Color techno system Co., Tokyo, Japan)를 이용하여 측정하였다. 0.5 mg/mL 농도의 팽생이 모자반 에탄올 및 물 추출물을 액체 cell에 10 mL씩 넣고, L^* (명도), a^* (적색도), b^* (황색도) 값을 측정하였다. 이때 사용한 표준 백판의 값은 $L^*=93.73$, $a^*=-0.12$, $b^*=0.11$ 였다.

4. 알레르기 억제 효과 측정 - *In vitro*

4-1. 알레르기유발

알레르기 유발은 Sakai 등(2002)의 방법을 약간 변형하여 실행하였다. 알레르기를 유발하기 위해 200 µg/mL OVA와 2.25 mg/mL의 aluminum hydroxide gel을 마우스의 복강에 주사하여 감작시키고,

일주일 후 동일한 항원을 복강 주사하여 알레르기를 유발시켰다.

4-2. 비장세포의 분리 및 배양

Mishell 등(1980)의 방법을 약간 변형하여 비장세포를 분리하였다. 알레르기를 유발시킨 마우스를 경추탈골법으로 희생시킨 후, 비장을 무균적으로 적출하였다. 적출한 비장은 RPMI 1640 배지로 세척한 후, tissue grinder로 균질화하여 세포를 유리시켰다. 세포 현탁액을 4℃, 1,800 rpm에서 5분간 원심(UNION 32R, Hanil Co., Incheon, Korea)한 후, RPC lysis buffer (Tris-buffered ammonium chloride; 0.87% NH₄Cl, pH 7.2)에 10분간 정치시켜 적혈구를 제거하였다. 그 후, 10% FBS-RPMI 1640 배지를 첨가하여 2×10^6 cell/mL 농도로 희석된 비장세포 현탁액에 PBS, OVA(100 µg/mL) 팽생이 모자반 에탄올 및 물 추출물을 첨가하여 37℃, CO₂ incubator(MCO-15AC, Sanyo, Osaka, Japan)에서 72시간 배양하였다.

4-3. 비장세포의 cytokine 분비량 측정

비장세포 배양액을 10,000 rpm에서 3분 동안 원심분리(Micro 17TR, Hanil Co., Incheon, Korea)하여 상층액을 분리한 후, ELISA-kit (Mouse ELISA set, BD Bioscience, San Diego, USA)를 이용하여 IFN-γ 및 IL-4 cytokine의 분비량을 측정하였다. 먼저, ELISA microplate에 anti-mouse IFN-γ 및 IL-4 mAb를 분주하여 4℃에서 하룻밤 동안 coating시켰다. 이를 0.05% Tween 20이 포함된 PBST로 세척하고 10% FBS 용액으로 blocking하였다. PBST로 세척한 뒤, 각

microplate에 배양상층액을 분주하고 실온에서 2시간 반응시켰다. 다시 PBST로 세척하고 회석한 biotinylated anti-mouse IFN- γ , IL-4 mAb와 streptavidin-horseradish peroxidase conjugate를 첨가하여 실온에서 1시간 반응시켰다. 이를 다시 PBST로 세척한 다음, OPD 용액을 첨가하여 실온에서 30분 동안 암반응 시켰다. 반응을 종료시키기 위해 각 microplate에 2 M H₂SO₄를 첨가한 후, microplate reader기 (Model 550, Bio-rad, Richmond, USA)를 이용하여 490 nm에서 흡광도를 측정하였다.

4-4. 비장세포의 IgE 분비량 측정

비장세포 배양 상층액에서 total IgE의 분비량을 total IgE ELISA-kit(Mouse ELISA set, BD Bioscience, San Diego, USA)를 이용하여 4-3과 동일한 방법으로 측정하였다.

4-5. 비장세포의 MTT assay

비장세포 현탁액을 2×10^6 cell/mL 농도로 well plate에 분주한 후, 100 μ g/mL OVA와 팽생이 모자반 에탄올 및 물 추출물을 첨가하여 37°C, CO₂ incubator(MCO-15AC, Sanyo, Osaka, Japan)에서 72시간 배양하였다. 배양 후, 5 mg/mL농도의 MTT 시약을 첨가하여 2시간 재배양하고, 이를 4°C, 2,000 rpm에서 10분간 원심분리(UNION 32R, Hanil Co., Incheon, Korea)하여 상층액을 제거하였다. 그 후, 각 well plate에 DMSO를 첨가하고, 이를 microplate reader기(Model 550, Bio-rad, Richmond, USA)를 이용하여 540 nm에서 흡광도(optical

density (O.D))를 측정하였다. 비장세포 증식능은 다음 식에 의해 계산하였다.

$$\text{Proliferation Index(\%)} = \text{sample 흡광도} / \text{control 흡광도} \times 100$$

5. 염증 억제 효과 측정 - *In vitro*

5-1. 대식세포 분리 및 배양

Mishell 등(1980)의 방법을 약간 변형하여 마우스 복강 대식세포를 분리하였다. BALB/c 마우스에 3% thioglycollate를 복강주사하여 대식세포의 생성을 유도하고 4일 후, RPMI 1640 배지로 복강 세척액을 회수하였다. 회수한 복강세척액을 4℃, 1800 rpm에서 5분간 원심(UION 32R, Hanil Co., Incheon, Korea)한 후, RPC lysis buffer(Tris-buffered ammonium chloride; 0.87% NH₄Cl, pH 7.2)에 10분간 정치시켜 적혈구를 제거하였다. 그 후, 10% FBS-RPMI 1640 배지를 첨가하여 5×10^5 및 5×10^6 cell/mL 농도로 희석하고 이를 well plate에 분주하여 37℃, CO₂ incubator (MCO-15 AC, Sanyo, Osaka, Japan)에서 4시간 배양하였다. 4시간 배양 후, RPMI 배지로 3회 세척하여 비부착 세포를 제거하고 10% FBS-RPMI 1640 배지를 첨가하였다. 그 후, PBS, LPS(5 µg/mL), 팽생이 모자반 에탄올 및 물 추출물을 첨가하여 37℃, CO₂ incubator(MCO-15AC, Sanyo, Osaka, Japan)에서 12시간 및 24시간 배양하였다.

5-2. 대식세포의 nitric oxide 분비량 측정

대식세포로부터 생성되는 nitric oxide(NO)의 양을 griess 반응(Lee et al., 2000)을 이용하여 측정하였다. 각 microplate에 24시간 배양한 대식세포 상층액을 넣고, 동량의 griess 시약(1% sulfanilamide + 0.1% naphthylendiamine dihydrochloride, 1:1)을 첨가하여 실온에서 10분간 반응시킨 후, microplate reader기(Model 550, Bio-rad, Richmond, USA)를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 세포 배양액 내 NO의 농도는 sodium nitrite(NaNO_2)의 농도별 표준곡선과 비교하여 산출하였다(Lee et al., 2000).

5-3. 대식세포의 cytokine 분비량 측정

4-3과 동일한 방법으로 대식세포 배양 상층액의 TNF- α 와 IL-6 cytokine의 분비량을 측정하였으며, IL-1 β 의 경우 biotinylated anti-mouse IL-1 β 를 첨가하고 1시간 반응시킨 후, streptavidin-horseradish peroxidase conjugate를 첨가하여 30분 반응시켰다. 그 후, 4-3과 동일한 방법으로 IL-1 β cytokine의 분비량을 측정하였다.

5-4. 대식세포의 MTT assay

대식세포 현탁액을 5×10^5 cell/mL 농도로 well plate에 분주한 후, 5 $\mu\text{g/mL}$ LPS와 팽생이 모자반 에탄올 및 물 추출물을 첨가하여 37 $^{\circ}\text{C}$, CO₂ incubator (MCO-15AC, Sanyo, Osaka, Japan)에서 24시간 배양하였다. 그 후, 4-5와 동일한 방법으로 MTT assay를 실시하였다.

6. 아토피 피부염 억제 효과 측정 - *In vivo*

6-1. 아토피 피부염 유발 및 시료 처리

Ahn 등(2009)의 방법을 약간 변형하여 아토피 피부염을 유발하였다. BALB/c 마우스의 등 부위를 깨끗하게 제모한 후, 미세상처가 치유되도록 24시간 방치하였다. 24시간 후 1% DNCB 용액(acetone : olive oil = 3 : 1)을 일주일에 3번 마우스의 귀 뒤쪽과 등 부위에 도포하고, 일주일 후 부터는 0.3% DNCB 용액을 하루에 한번 동일한 부위에 고르게 도포하였다. 시료는 0.3% DNCB 용액과 12시간 간격으로 하루에 한번 2주 동안 마우스의 귀 뒤쪽과 등 부위에 고르게 도포하였다.

6-2. 아토피 피부염 증상 관찰

아토피 피부염 증상은 제모 직후, 팽생이 모자반 에탄올 및 물 추출 물을 도포 1주일 및 2주일 후에 마우스 등 피부조직의 외형적 변화(홍반, 가려움과 건조피부, 부종, 짓무름 및 태선화)를 관찰하였다(Ahn et al., 2009).

6-3. 비장세포의 분리 및 배양

4-2 와 동일한 방법으로 비장세포를 분리한 후, 2×10^6 cell/mL 농도의 비장세포 현탁액을 well plate에 분주한 후 PBS를 첨가하여 37℃, CO₂ incubator(MCO-15AC, Sanyo, Osaka, Japan)에서 72시간 배양하였다.

6-4. 비장세포 배양액의 cytokine 분비량 측정

비장세포 배양액의 IFN- γ 및 IL-4 cytokine 분비량을 4-3과 동일한 방법으로 측정하였다.

6-5. 혈청의 total IgE 함량 측정

실험 종료일에 eye bleeding으로 채혈한 후, 이를 10,000 rpm, 4℃에서 5분 동안 원심 분리(Micro 17TR, Hanil Co., Incheon, Korea)하여 혈청을 분리하였다. 분리한 혈청은 실험에 사용하기 전까지 -20℃ 냉동고에서 보관하였으며, 마우스의 혈청 내 total IgE의 함량은 ELISA kit(Mouse ELISA set, BD Bioscience, San Diego, USA)를 이용하여 측정하였다. 먼저, ELISA microplate에 anti-mouse IgE를 분주하여 4℃에서 하룻밤 동안 coating시켰다. 이를 PBST로 세척하고 2% BSA 용액으로 blocking하였다. 이를 PBST로 세척한 뒤, 각 microplate에 1/20로 희석한 혈청을 넣고 실온에서 2시간 반응시켰다. 다시 PBST로 세척하고 희석한 biotinylated anti-mouse IgE strepavidin-horseradish peroxidase conjugate를 넣어 실온에서 1시간 반응시켰다. 이를 다시 PBST로 세척한 다음, OPD 용액을 첨가하여 실온에서 30분 동안 암반응 시켰다. 반응을 종료시키기 위해 각 microplate에 2 M H₂SO₄를 넣은 후, microplate reader기(Model 550, Bio-rad, Richmond, USA)를 이용하여 490 nm에서 흡광도를 측정하였다.

6-6. MTT assay

4-5와 동일한 방법으로 비장세포의 증식능을 측정하였다.

7. 통계처리

모든 실험 결과에 대한 통계처리는 SAS software(SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)에서 평균값을 분산분석 한 후, $p < 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test법에 따라 처리구간의 유의적 차이를 검정하였다.



결과 및 고찰

1. 팽생이 모자반 일반 특성

1-1. 팽생이 모자반 일반성분

팽생이 모자반의 성분 조성을 알아보기 위해 수분, 회분, 조지방 및 조단백질의 함량을 측정하였다(Table 1). 동결건조한 팽생이 모자반 분말의 수분함량을 측정한 결과, dry basis 기준 9.48%로 나타났으며, 현재 보고된 연구에 의하면 wet basis 기준 수분함량은 86.94-87%로 알려져 있다(Hossain et al., 2003). 팽생이 모자반의 회분 함량을 측정한 결과, 17%로 나타났으며 이는 모자반과에 속하는 갈조류인 지충이(18.4%)(Choi et al., 2006)와 유사한 값을 보였다. 반면 일본 토야마현에서 채집한 팽생이 모자반의 회분함량 (32-33.58%)(Hossain et al., 2003)과 비교했을 때, 상당히 낮은 값을 보였다. 이는 해조류의 무기질 함량이 생산지와 채집시기에 따라 상당한 차이가 있다는 연구 결과(Cho et al., 1995)로 미루어 볼 때, 생산지와 채집시기의 차이로 인해 회분함량이 다른 것으로 사료된다. 팽생이 모자반의 조단백질 함량은 15.62%로 기장에서 채취한 모자반(Cho et al., 1995)과 유사한 값을 보였으며, 지충이 또한 15.7%(Choi et al., 2006)로 유사한 결과를 보였다. 조지방 함량에 있어서는 1.06%로 0.9%인 지충이(Choi et al., 2006), 1.2%인 대황(Kim et al., 2006), 0.82-0.96%인 팽생이 모자반(Hossain et al.,

2003)과 유사한 값을 보였다. 이를 통해 실험에 사용한 팽생이 모자반의 일반 성분 조성을 알 수 있었으며, 해조류의 구성성분은 생산지와 채집시기에 따라 차이가 있으므로 이에 대한 연구가 더욱 더 진행되어야 할 것으로 사료된다.

1-2. 팽생이 모자반 추출물의 pH 및 색도

팽생이 모자반 80% 에탄올 추출물과 물 추출물의 pH 및 색도를 측정하였다(Table 2, 3). 그 결과, 팽생이 모자반 에탄올 추출물의 pH는 6.05로 약산성을 보였고, 물 추출물의 경우 pH 7.33으로 중성을 보였다. 색차의 경우에는 팽생이 모자반 에탄올 추출물이 물 추출물에 비해 명도 및 적색도가 낮으며 황색도가 높은 것으로 나타났다. 이는 팽생이 모자반이 가지고 있는 chlorophyll a, c 및 carotenoid 같은 소수성 색소성분이 에탄올 추출에 의해 용출되었기 때문으로 생각된다(Hong et al., 2001; Sangeetha et al., 2009). 이를 통해 명도가 높고, pH가 약 6-7인 팽생이 모자반 에탄올 및 물 추출물은 식품소재 및 건강기능식품으로 이용에 있어 부정적인 영향을 미치지 않을 것으로 사료된다.

Table 1. Proximate composition of *Sargassum horneri*

(Unit: %, dry basis)

<i>Sargassum horneri</i>	
Moisture	9.48±0.19
Ash	17.01±0.09
Crude lipid	1.06±0.08
Crude protein	15.62±0.46

Table 2. pH value of *Sargassum horneri* extracts

	Ethanol	Water
pH	6.05±0.04	7.33±0.14

Table 3. Color of *Sargassum horneri* extracts

	Ethanol	Water
Lightness(L*)	86.57±0.01	93.59±0.00
Redness(a*)	-10.63±0.11	-0.40±0.01
Yellowness(b*)	40.20±0.03	8.02±0.00

2. 팽생이 모자반 추출물의 알레르기 억제 효과 - *In vitro*

2-1. 비장세포의 IFN- γ , IL-4 cytokine 및 total IgE 분비량

알레르기는 인체 내에서 발생하는 비정상적인 면역반응의 하나로, Th 2 세포에 의해 생산된 IL-4 cytokine과 IgE가 알레르기 발병의 주요인으로 알려져 있다. 알레르기에 관여하는 helper T 세포는 분비되는 cytokine의 종류에 따라 Th 1 세포와 Th 2 세포로 분류되며, 정상적인 면역계에서는 상호 견제를 통하여 균형을 이루고 있다 (Cory et al., 1999). 하지만 다양한 요인들에 의해 이들의 균형이 깨어지게 되어 여러 가지 면역질환이 발생하게 된다. 알레르기 질환은 Th 2 세포의 과도한 면역반응에 의해 야기되는 질병으로 (Mosmann et al., 1986), Th 2 세포에 의해 IL-4, IL-5 및 IL-13 cytokine이 주로 분비된다. 이 중 IL-4 cytokine은 B 세포를 자극하여 IgE의 생성을 유발하며, naive helper T 세포를 Th 2 세포로 분화를 촉진시켜 Th 1 세포의 증식을 억제하는 cytokine으로 알레르기의 발생에 본질적인 역할을 한다. 반면 Th 1 세포에서 분비되는 IFN- γ cytokine은 IL-4의 발현을 억제하여 IgE의 생성을 억제 할뿐만 아니라, naive helper T 세포를 Th 2 세포로 분화하지 못하게 한다. 또한 대식세포, NK 세포 및 cytotoxic T 세포를 활성화 시켜 선천면역 및 세포매개성 면역반응을 유도하는 것으로 알려져 있다 (Broide et al., 2001; Umetsu et al., 1997).

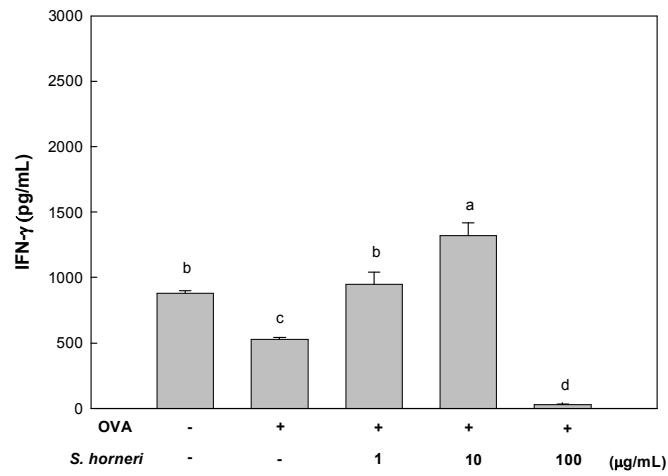
팽생이 모자반 에탄올 및 물 추출물이 Th 1 및 Th 2 면역반응 조절에 미치는 영향과 이를 통한 알레르기 억제효과를 살펴보기 위해

OVA로 알레르기를 유발한 마우스의 비장세포 배양액에 팽생이 모자반 에탄올 및 물 추출물을 첨가하여 배양한 후, IFN- γ , IL-4 cytokine 및 total IgE의 분비량을 측정하였다.

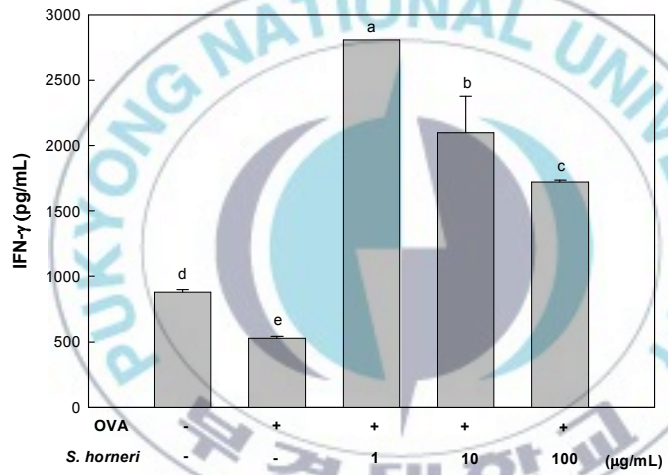
그 결과 팽생이 모자반 에탄올 추출물 첨가구의 경우, 1과 10 μ g/mL 농도에서 IFN- γ cytokine의 분비량이 OVA 첨가구에 비해 유의적으로 증가하였으며(Fig. 1(A)), 팽생이 모자반 물 추출물 첨가구의 경우 모든 첨가 농도에서 OVA 첨가구에 비해 상당히 높은 값을 보였다(Fig. 1(B)). 또한 팽생이 모자반 에탄올 추출물 첨가구의 IL-4 cytokine의 분비량은 OVA 첨가구에 비해 유의적으로 감소하였으며, 100 μ g/mL 농도에서 가장 낮은 분비량을 보였다(Fig. 2(A)). 물 추출물 첨가구의 경우, IL-4 분비량이 농도 의존적으로 감소하는 경향을 보였다(Fig. 2(B)). Total IgE 분비량은 팽생이 모자반 에탄올 및 물 추출물의 모든 첨가농도에서 OVA 첨가구에 비해 유의적으로 낮은 값을 보였다(Fig. 3(A, B)). 이처럼 팽생이 모자반 에탄올 및 물 추출물에서 IFN- γ 의 분비량이 다르게 나타난 결과는 IFN- γ 의 분비 증가에 관련된 물질이 에탄올 추출물보다 극성인 물에 많이 추출되었기 때문으로 생각된다. 이를 통해 팽생이 모자반 물 추출물이 에탄올 추출물에 비해 Th 1 cytokine인 IFN- γ 증가에 더 효과적이며, 에탄올 및 물 추출물 모두 Th 2 cytokine인 IL-4와 IgE의 분비량을 감소시키는 확인하였다. 이러한 결과는 ovalbumin으로 알레르기를 유발한 마우스에 peanut seed skin 추출물을 복강주사 하였을 때 IFN- γ 의 분비량이 증가하고, IL-4 및 total IgE의 분비량이 감소하였다는 연구 결과(Takani et al., 2007)와 유사하였으며, *Quillaja* saponin을 비장

세포에 첨가한 경우 IFN- γ 의 분비량 증가와 더불어 IL-4 및 IgE의 분비량이 감소하였다는 연구결과(Katayama et al., 2006)와 일치하였다. 따라서 팽생이 모자반 에탄올 및 물 추출물이 Th 1과 Th 2 조절을 통한 알레르기 억제에 효과적일 것으로 사료된다.





(A)

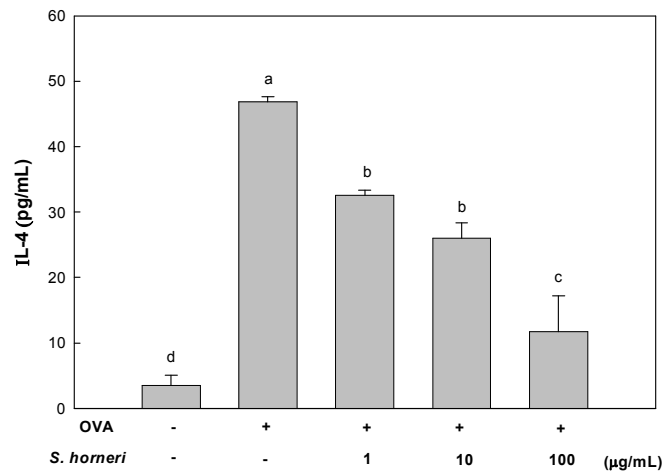


(B)

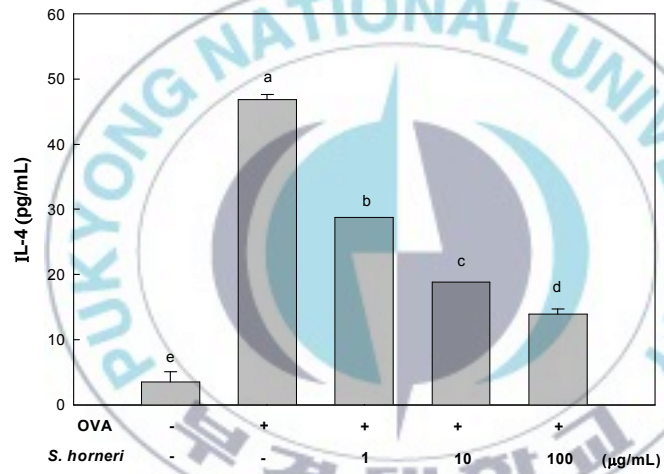
Fig. 1. Effects of *Sargassum horneri* extracts on IFN- γ production in splenocytes from OVA-immunized mice.

(A): *Sargassum horneri* ethanol extract, (B): *Sargassum horneri* water extract.

^{a-e} means with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).



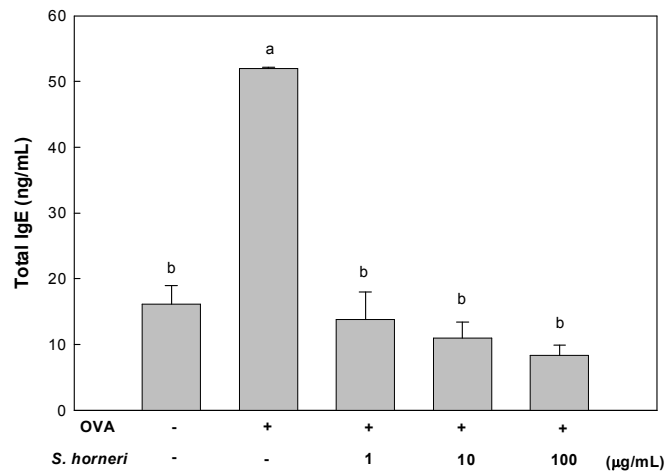
(A)



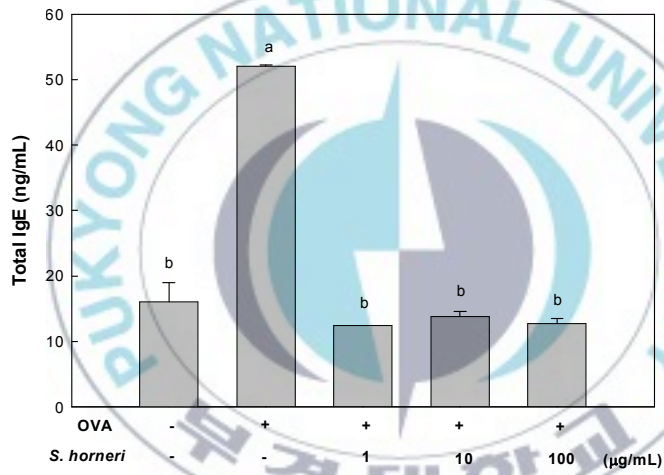
(B)

Fig. 2. Effects of *Sargassum horneri* extracts on IL-4 production in splenocytes from OVA-immunized mice.

(A): *Sargassum horneri* ethanol extract, (B): *Sargassum horneri* water extract.
^{a-e} means with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).



(A)



(B)

Fig. 3. Effects of *Sargassum horneri* extracts on total IgE production in splenocytes from OVA-immunized mice.

(A): *Sargassum horneri* ethanol extract, (B): *Sargassum horneri* water extract.

^{a-b} means with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

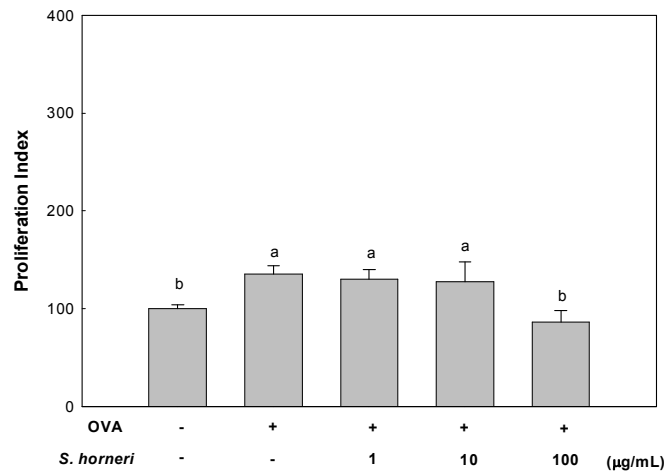
2-2. 비장세포 증식능

비장은 혈액에서 유래된 항원에 대한 면역반응이 일어나는 주요한 2차림프기관으로 적색속질과 백색속질로 나뉘게 된다. 적색속질은 적혈구, 수지상세포 및 대식세포로 이루어져 있으며, 백색속질에는 세포 매개성 면역을 담당하는 T 림프구와 체액성 면역을 담당하는 B 림프구로 이루어져 있다(Abbas et al., 2004). 이에 본 실험에서는 팽생이 모자반 에탄올 및 물 추출물이 비장세포의 증식에 미치는 영향에 대해 알아보기 위해 OVA로 알레르기를 유발한 마우스의 비장세포에 1, 10 및 100 $\mu\text{g/mL}$ 농도의 팽생이 모자반 에탄올 및 물 추출물을 첨가하여 배양한 후, MTT assay를 실시하였다.

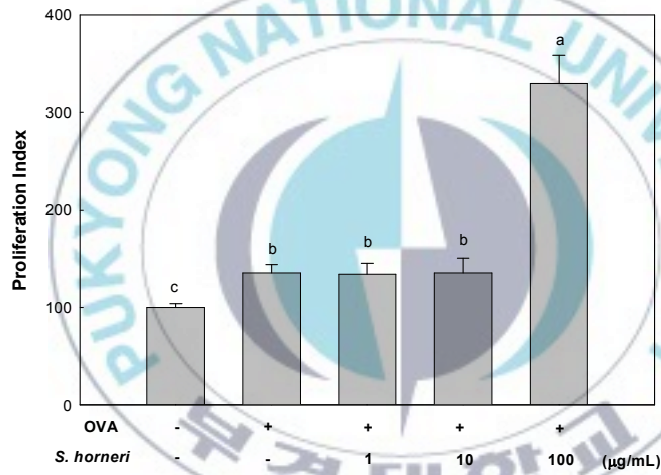
그 결과 1과 10 $\mu\text{g/mL}$ 농도의 팽생이 모자반 에탄올 추출물 첨가구의 비장세포 증식능이 OVA 첨가구와 유의적인 차이를 보이지 않았으며, 100 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서는 무첨가구와 유사한 값을 보였다(Fig. 4(A)). 또한 팽생이 모자반 물 추출물 첨가구의 경우, 1과 10 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 OVA 첨가구에 비해 유의적인 차이를 보이지 않았으나, 100 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 비장세포 증식능이 약 230% 증가하였다(Fig. 4(B)). 이 결과를 통해 팽생이 모자반 에탄올 및 물 추출물이 세포독성을 가지지 않으며, 세포사멸에 의해 IL-4와 IgE의 분비량이 감소한 것이 아님을 확인하였다. 이와 함께 팽생이 모자반 물 추출물이 100 $\mu\text{g/mL}$ 의 고농도에서 비장세포 증식을 자극함을 알 수 있었다. Kumazawa 등 (1982)에 따르면 *Angelica acutiloba* Kitagawa 열수추출물에서 분리한 다당류를 비장세포에 첨가하였을 때, 100 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 비장세포 증식능이 유의적으로 증가하여 mitogen 활성

을 보였다는 연구가 보고된 바 있다. 이로 미루어 볼 때, 팽생이 모자반 물 추출물은 100 $\mu\text{g/mL}$ 농도 이상에서 비장세포의 증식능을 증가시키는 mitogen 활성이 있는 것으로 생각되며, 팽생이 모자반 물 추출물에 함유되어 있는 다당류의 분리, 정제를 통해 천연 mitogen으로 이용 가능성이 있을 것으로 사료된다.





(A)



(B)

Fig. 4. Effects of *Sargassum horneri* extracts on the proliferation of splenocytes from OVA-immunized mice.

(A): *Sargassum horneri* ethanol extract, (B): *Sargassum horneri* water extract.

Proliferation index = sample O.D/control O.D *100.

^{a-c} means with different superscripts are significantly different (p<0.05).

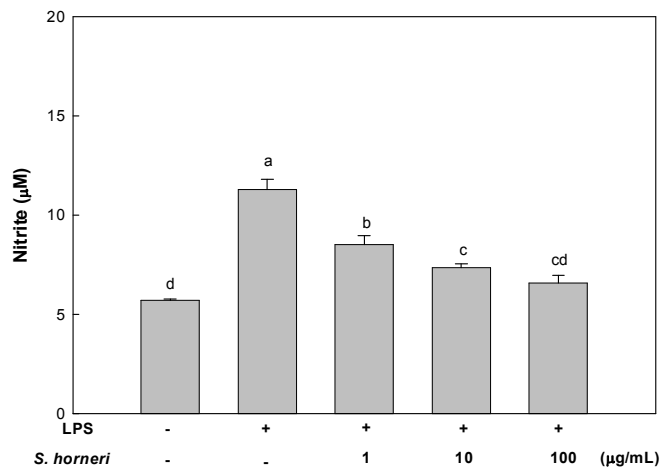
3. 팽생이 모자반 추출물의 염증 억제 효과 - *In vitro*

3-1. 대식세포의 nitric oxide 분비량

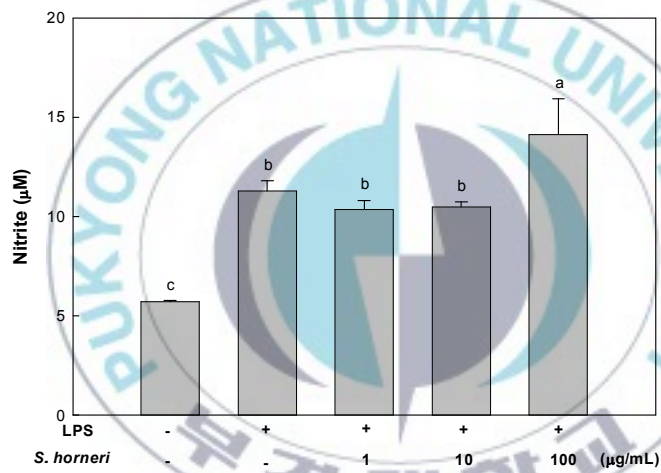
대식세포는 박테리아와 같은 항원의 침입에 의한 초기 면역반응을 담당하는 세포로서, 이러한 박테리아를 사멸시키기 위해 여러 가지 물질을 분비한다. 이 중 nitric oxide(NO)는 과산화수소나 과산화물과 결합하여 미생물을 사멸시킬 수 있는 고도의 반응성을 가진 과산화 질소라디칼을 생성하며, 혈관확장, 내피세포의 증식억제 및 종양세포에 대한 방어작용을 하는 중요한 신호전달 물질이다(Ignarro et al., 1990; Moncada et al., 1991). 하지만 과도한 NO의 분비는 정상숙주의 조직을 손상시켜 염증을 유발하며(Abbas et al., 2004), 불안정한 상태의 NO는 산소나 superoxide에 의해 nitrogen dioxide(NO₂), nitrite(NO₂⁻) 및 nitrate(NO₃⁻)와 같은 안정한 nitrogen oxide로 바뀌게 된다(Gross et al., 1995). 따라서 팽생이 모자반 에탄올 및 물 추출물이 LPS로 염증이 유도된 대식세포의 NO 분비능에 미치는 영향을 알아보기 위해 대식세포 배양액의 NO₂⁻ 농도를 측정하였다.

그 결과, 팽생이 모자반 에탄올 추출물 첨가에 의해 농도 의존적으로 NO의 분비량이 감소되는 경향을 보였으며, 특히 100 µg/mL 농도에서 NO 분비량이 6.5 µM로 5.7 µM인 무첨가구와 유사한 수준으로 감소하였다(Fig. 5(A)). 반면 물 추출물 첨가구의 경우 1과 10 µg/mL 농도에서 LPS 첨가구와 유사한 수준을 유지하였으며, 100 µg/mL 농도에서 LPS 첨가구에 비해 오히려 높은 분비량을 보였다(Fig. 5(B)). Lee 등(2009)에 따르면 Raw 264.7 세포에

Acanthopanax senticosus var. *subinerimis* 잎 에탄올 및 물 추출물을 첨가하였을 때, 에탄올 추출물의 경우 유의적으로 NO 분비량이 감소하고, 물 추출물의 경우 NO 분비량에 큰 영향을 미치지 않는다고 보고하였으며, 또한 Cho 등(2008)의 연구에서 청목노상 에탄올 추출물이 물 추출물에 비해 NO 생성 저해에 효과적이라고 보고한 바 있다. 일반적으로 에탄올 추출물에는 유기용매에 추출되는 소수성 물질과 가용성인 친수성 물질이 모두 추출되며, 물 추출물에는 친수성 물질이 함유되어 있는 것으로 알려져 있다(Lee, 2009). 이로 미루어 볼 때, NO의 생성을 저해하는 물질은 에탄올에 용출이 잘 되는 소수성 물질일 것으로 생각되며, 팽생이 모자반 에탄올 추출물이 물 추출물에 비해 효과적으로 NO의 생성을 억제시킴을 확인하였다. 이를 통해, 팽생이 모자반 에탄올 추출물이 NO의 과도한 생성으로 인한 염증반응의 억제에 효과적이며, 염증억제제로 이용 할 수 있을 것으로 사료된다.



(A)



(B)

Fig. 5. Effects of *Sargassum horneri* extracts on nitrite production in LPS-stimulated peritoneal macrophages from mice.

(A): *Sargassum horneri* ethanol extract, (B): *Sargassum horneri* water extract.

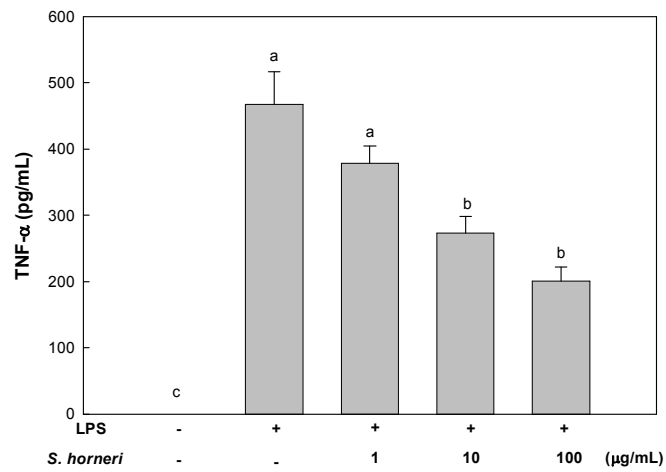
^{a-d} means with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

3-2. 대식세포의 TNF- α , IL-6 및 IL-1 β cytokine 분비량

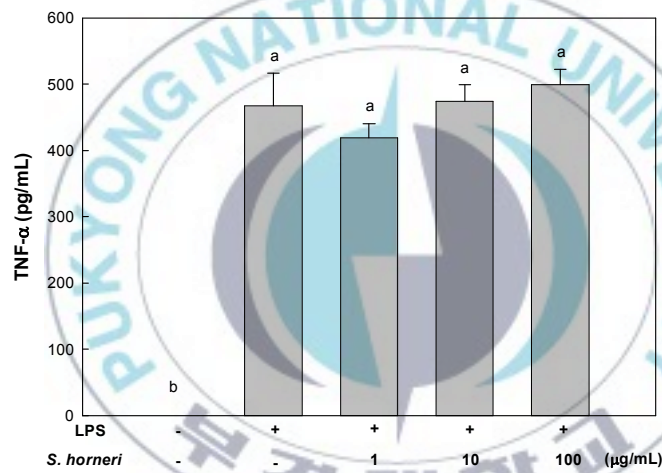
TNF- α , IL-6 및 IL-1 β cytokine은 활성화된 대식세포에서 분비되는 대표적인 항염증성 cytokine으로 초기 면역반응에 있어 중요한 역할을 한다(Tsuru et al., 1983). TNF- α 는 종양괴사인자로 알려진 물질로서 종양세포를 파괴하는 cytokine이며, 또한 IL-6는 B세포의 분화를 활성화시키는 B세포 성장인자로 작용하는 cytokine으로 알려져 있다. 또한 IL-1 β 는 국소 염증을 매개하며 혈관 내피세포에 작용하여 백혈구의 부착을 매개하는 표면분자의 발현을 증가시키는 cytokine이다(Chae et al., 2007). 따라서 팽생이 모자반 에탄올 및 물 추출물이 대식세포의 TNF- α , IL-6 및 IL-1 β cytokine의 분비에 어떠한 영향을 미치는지 알아보기 위해 마우스로부터 분리한 복강 대식세포에 LPS, PBS, 팽생이 모자반 에탄올 및 물 추출물을 첨가하여 배양한 후, 대식세포 배양상층액을 수거하여 TNF- α , IL-6 및 IL-1 β 의 분비량을 측정하였다.

그 결과, 팽생이 모자반 에탄올 추출물 첨가구의 경우, 10과 100 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 TNF- α 및 IL-1 β 의 분비량이 LPS 첨가구에 비해 유의적으로 감소하였다(Fig. 6, 8(A)). IL-6 분비량 또한 팽생이 모자반 에탄올 추출물 첨가에 의해 농도 의존적으로 감소하는 경향을 보였으며, 특히 100 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 1162 pg/mL로 가장 낮은 분비량을 보였다(Fig. 7(A)). 이러한 결과는 LPS로 염증을 유발한 대식세포에 *Ishige okamurae* 에탄올 추출물 첨가하여 배양했을 때 TNF- α , IL-6 및 IL-1 β 분비량이 감소한 결과(Kim et al., 2009)와 일치하며, *Gelidium amansii* 에탄올 추출물에 첨가에 의해 TNF- α , IL-6 및

IL-1 β 의 분비가 효과적으로 억제되었다는 결과(Choi et al., 2009)와 유사하였다. 팽생이 모자반 물 추출물 첨가구의 경우, 모든 첨가농도에서 TNF- α 및 IL-1 β 의 분비량이 유의적인 차이를 보이지 않았으며(Fig. 6, 8(B)), 반면, IL-6분비량은 모든 첨가농도에서 LPS 첨가구에 비해 유의적으로 감소하였다(Fig. 7(B)). 이러한 결과는 홍고추가루 수용성 추출물의 항염증효과에 대한 연구(Kwon et al., 2009)에서 IL-6의 분비량이 유의적으로 감소한 반면 TNF- α 의 분비량은 변화가 없었다는 연구결과와 비교해 볼 때, 팽생이 모자반 물 추출물이 IL-6의 분비에 작용하는 인자를 특이적으로 저해하며, TNF- α 및 IL-1 β 의 분비에는 영향을 미치지 않는 것으로 사료된다. 또한 에탄올과 물 추출물에서 항염증성 cytokine의 분비량이 상이한 결과는 청목노상 추출물이 추출되는 용매에 따라 TNF- α 의 분비량이 다르다는 Cho 등(2008)의 연구결과와 유사한 경향을 보였다. 이로 미루어 볼 때, 시료의 종류, 추출 방법 및 추출 용매에 따라 항염증 활성이 다른 것으로 사료되며, 팽생이 모자반 에탄올 추출물이 물 추출물에 비해 효과적으로 염증성 cytokine의 생성을 억제시켜, 항염증성 기능물질로 이용할 수 있을 것으로 기대된다.



(A)

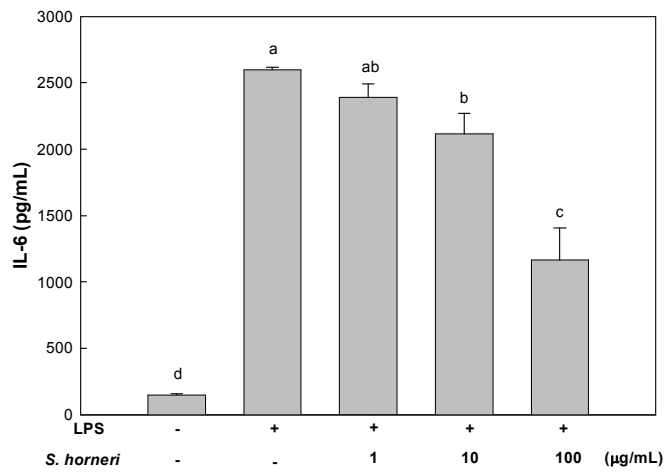


(B)

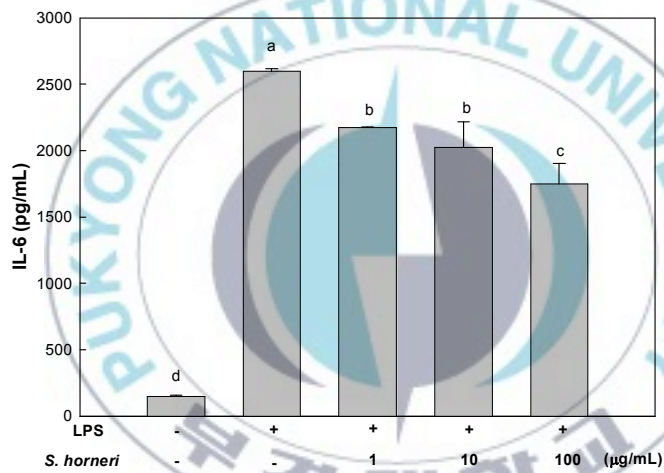
Fig. 6. Effects of *Sargassum horneri* extracts on TNF- α production in LPS-stimulated peritoneal macrophages from mice.

(A): *Sargassum horneri* ethanol extract, (B): *Sargassum horneri* water extract.

^{a-c} means with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).



(A)

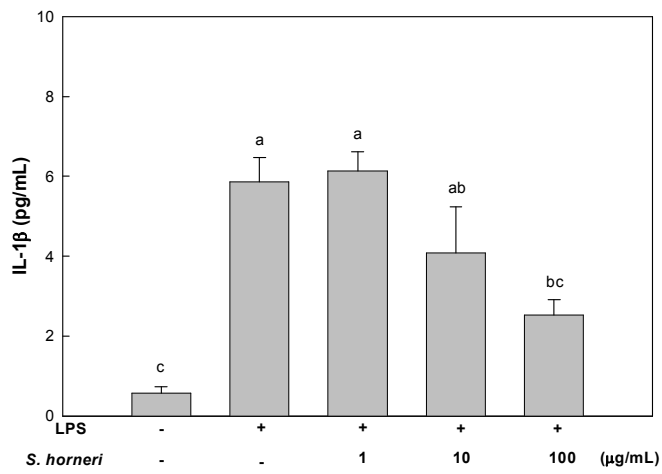


(B)

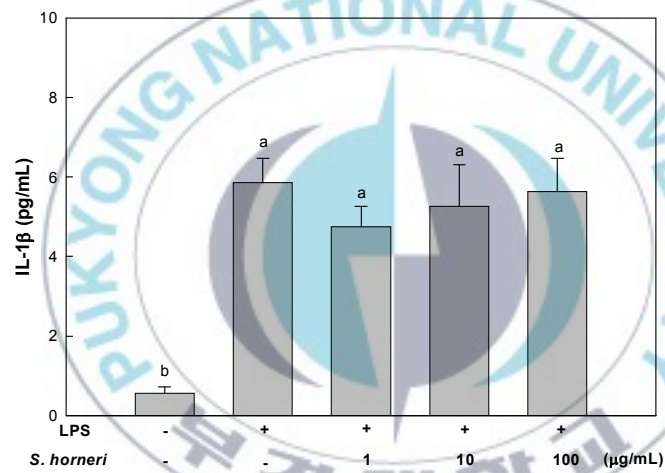
Fig. 7. Effects of *Sargassum horneri* extracts on IL-6 production in LPS-stimulated peritoneal macrophages from mice.

(A): *Sargassum horneri* ethanol extract, (B): *Sargassum horneri* water extract.

^{a-d} means with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).



(A)



(B)

Fig. 8. Effects of *Sargassum horneri* extracts on IL-1 β production in LPS-stimulated peritoneal macrophages from mice.

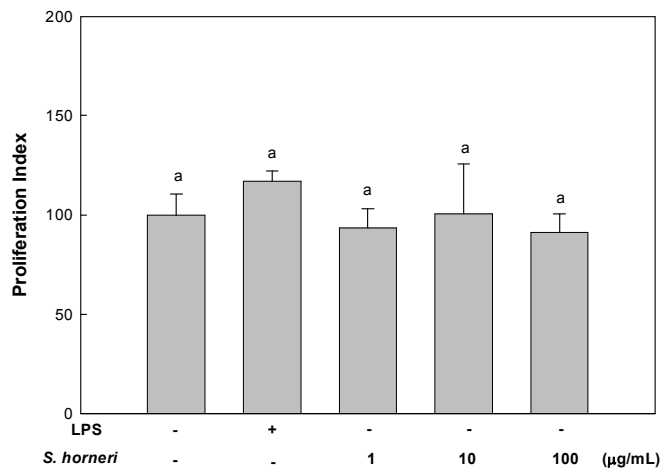
(A): *Sargassum horneri* ethanol extract, (B): *Sargassum horneri* water extract.

^{a-c} means with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

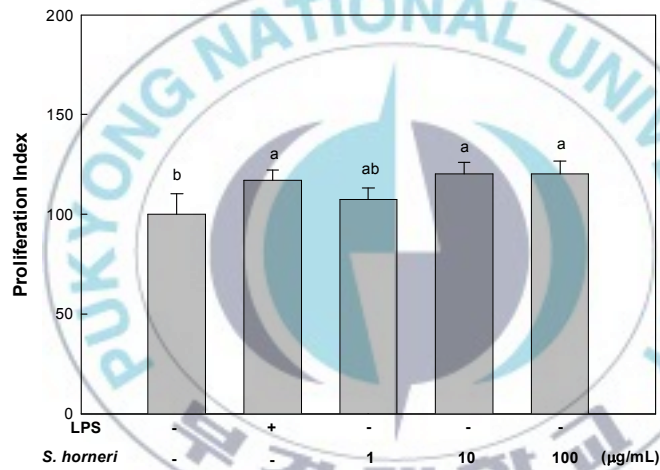
3-3. 대식세포 증식능

팽생이 모자반 에탄올 및 물 추출물 첨가에 의한 TNF- α , IL-6 및 IL-1 β cytokine 및 NO 분비량의 감소가 세포사멸에 의한 영향인지 알아보기 위해 1, 10 및 100 $\mu\text{g/mL}$ 농도의 팽생이 모자반 에탄올 및 물 추출물을 첨가하여 배양한 후, MTT assay를 실시하였다.

그 결과 1-10 $\mu\text{g/mL}$ 농도의 팽생이 모자반 에탄올 추출물 첨가구의 대식세포 증식능이 무첨가구와 유의적인 차이를 보이지 않았다(Fig. 9(A)). 팽생이 모자반 물 추출물 첨가구의 경우, 모든 첨가 농도에서 대식세포 증식능이 무첨가구에 비해 유의적으로 증가하였으며, 특히 10과 100 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 LPS 첨가구와 유사한 증식능을 보였다(Fig. 9(B)). 이는 감송향 메탄올 추출물을 대식세포에 첨가하여 배양하였을 때, 유의적인 차이를 보이지 않았다는 연구결과(Baek et al., 2009)와 일치하며, 토복령 물 추출물 첨가에 의해 대식세포의 증식능이 다소 증가하였다는 보고(Lee et al., 2009)와 유사하다. 이 결과를 통해 팽생이 모자반 에탄올 및 물 추출물은 세포독성이 없으며, 세포사멸에 의해 cytokine 분비량이 감소한 것이 아님을 확인하였다. 또한 팽생이 모자반 물 추출물의 경우 대식세포의 증식능을 증가시켜 면역세포를 활성화 시키는 것으로 나타났다.



(A)



(B)

Fig. 9. Effect of *Sargassum horneri* extracts on the proliferation of peritoneal macrophages from mice.

(A): *Sargassum horneri* ethanol extract, (B): *Sargassum horneri* water extract.

Proliferation index = sample O.D/control O.D*100.

^{a-b} means with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

4. 팽생이 모자반 추출물의 아토피 피부염 억제 효과

4-1. 아토피 피부염 증상

아토피 피부염의 급성기에는 IL-4, IL-5와 같은 Th 2 type의 cytokine과 혈청 내 IgE 함량의 증가로 인한 홍반, 구진, 삼출과 같은 증상이 일어나며, 만성기에는 IFN- γ , IL-12와 같은 Th 1 type의 cytokine이 증가하여 각질세포가 사멸되게 되고, 이로 인해 태선화, 인설 및 건조와 같은 증상이 나타나게 된다. 또한 급·만성기 전반에 걸쳐 소양감이 발생하게 되는데, 이는 긁는 행위로 인해 창상, 2차 감염 등 2차적인 피부증상 악화를 초래하기 때문에 아토피 피부염 치료에 있어서 중요시 되고 있다(Lee, 2000).

이에 본 연구에서는 피부염을 인위적으로 일으키는 hapten형성 물질인 DNCB(2,4-dinitro chlorobenzene)를 BALB/c 마우스의 등부위에 도포하여 아토피 피부염 유사 마우스 모델을 만든 후, 팽생이 모자반 에탄올 및 물 추출물을 도포하여 아토피 피부염 증상에 미치는 영향을 알아보았다. 아토피 피부염 증상은 제모 직후, 시료 도포 1주일과 2주일에 마우스 등 피부조직의 외형적 변화(홍반, 가려움과 건조피부, 부종, 짓무름 및 태선화)를 관찰하였다. Fig. 10, 11(A)는 제모한 직후의 사진으로 negative control과 차이를 보이지 않았으며, 팽생이 모자반 에탄올 및 물 추출물을 1주일 동안 도포(Fig. 10, 11(B))하였을 때, positive control에 비해 홍반, 가피 및 건조함의 증상이 감소하였다. 하지만 팽생이 모자반 에탄올 추출물 처리구가 물 추출물 처리구에 비해 홍반 및 건조 증상이 더욱 심했으며, 이에

따라 에탄올 및 물을 처리한 positive control도 상당한 차이가 있었다. 이는 에탄올의 지속적인 도포에 의해 표피층에 존재하는 수분이 손실되고, 항원의 침투가 용이해져 홍반 및 부종과 같은 피부과민반응이 더욱 심화된 것으로 생각된다(Sator et al., 2003).

팽생이 모자반 에탄올 및 물 추출물을 2주 동안 도포한 후 외형의 변화를 관찰한 결과, 팽생이 모자반 에탄올 추출물 처리구가 positive control에 비해 홍반 및 부종 증상이 현저히 감소하였으며 (Fig. 10(C)), 팽생이 모자반 물 추출물 처리구의 경우에도 positive control에 비해 홍반 증상이 감소하였다(Fig. 11(C)). 이러한 결과는 앞서 실험한 팽생이 모자반 에탄올 추출물의 항염증 효과에 의해 홍반 및 부종 등의 증상이 감소한 것으로 생각된다. 또한 팽생이 모자반 물 추출물 처리구와 positive control의 차이는 해조류 유래 다당류인 fucoidan의 보습효과에 대한 연구결과(Cha et al., 2010)로 미루어 볼 때, 팽생이 모자반 물 추출물에 존재하는 다당류의 보습효과에 의해 건조함 및 홍반 등의 증상이 감소한 것으로 사료된다. 이는 참소리쟁이 물 추출물을 경구투여 및 피부도포하였을 때 홍반, 부종, 인설, 가피 및 태선화 등 다양한 아토피 증상이 억제되었다는 연구결과(Ahn et al., 2009)와 유사한 경향을 보였으며, 황련해독탕 도포에 의해 홍반 증상이 감소하였다는 연구결과(Kim et al., 2008)와 일치하였다. 이상의 결과를 통해 팽생이 모자반 에탄올 및 물 추출물은 아토피 피부염 증상을 감소시켜 아토피 피부염 치료 외용제로 이용할 수 있을 것으로 기대되며, 향후 경구투여 실험을 통해 식품 소재로의 이용 가능성에 대한 연구가 더 진행되어야 할 것으로 사료된다.

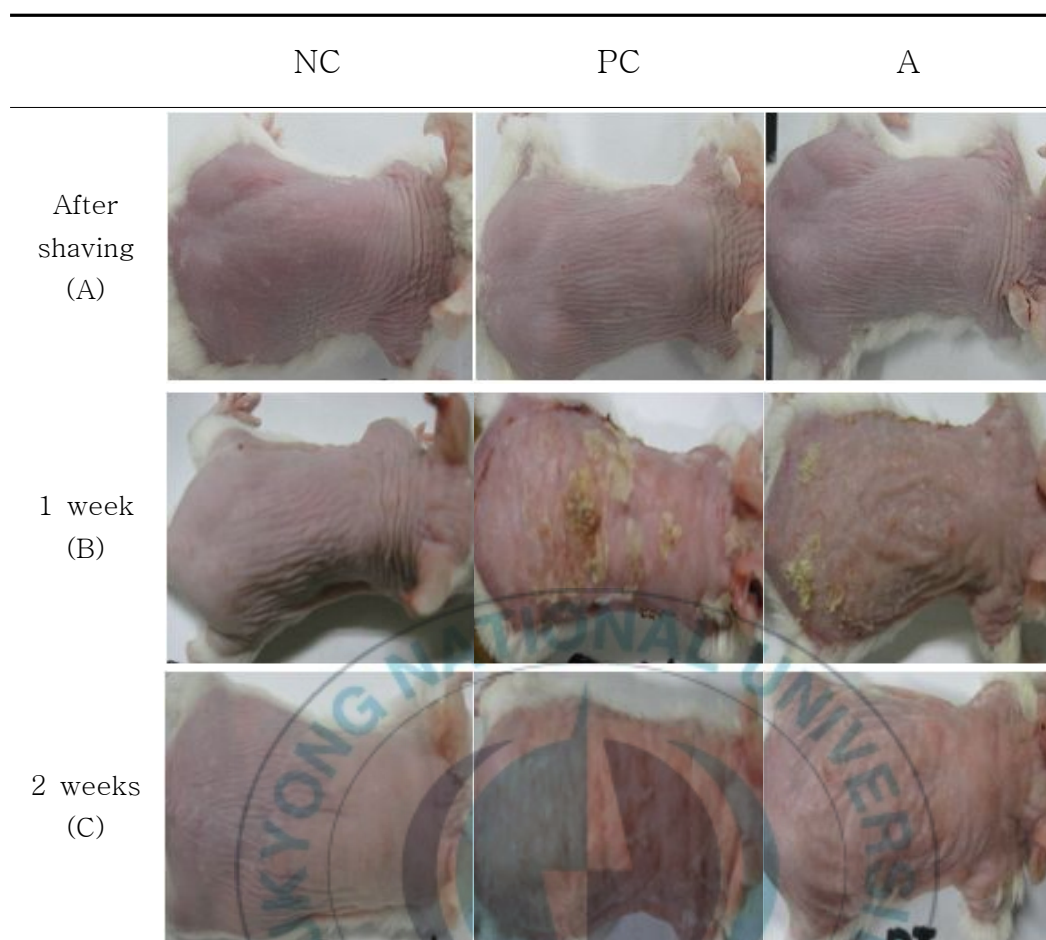


Fig. 10. Effects of *Sargassum horneri* ethanol extract in atopic dermatitis-like skin lesions mice.

Negative control(NC): untreated, Positive control(PC) : DNCB and vehicle and A: DNCB and *Sargassum horneri* ethanol extract.

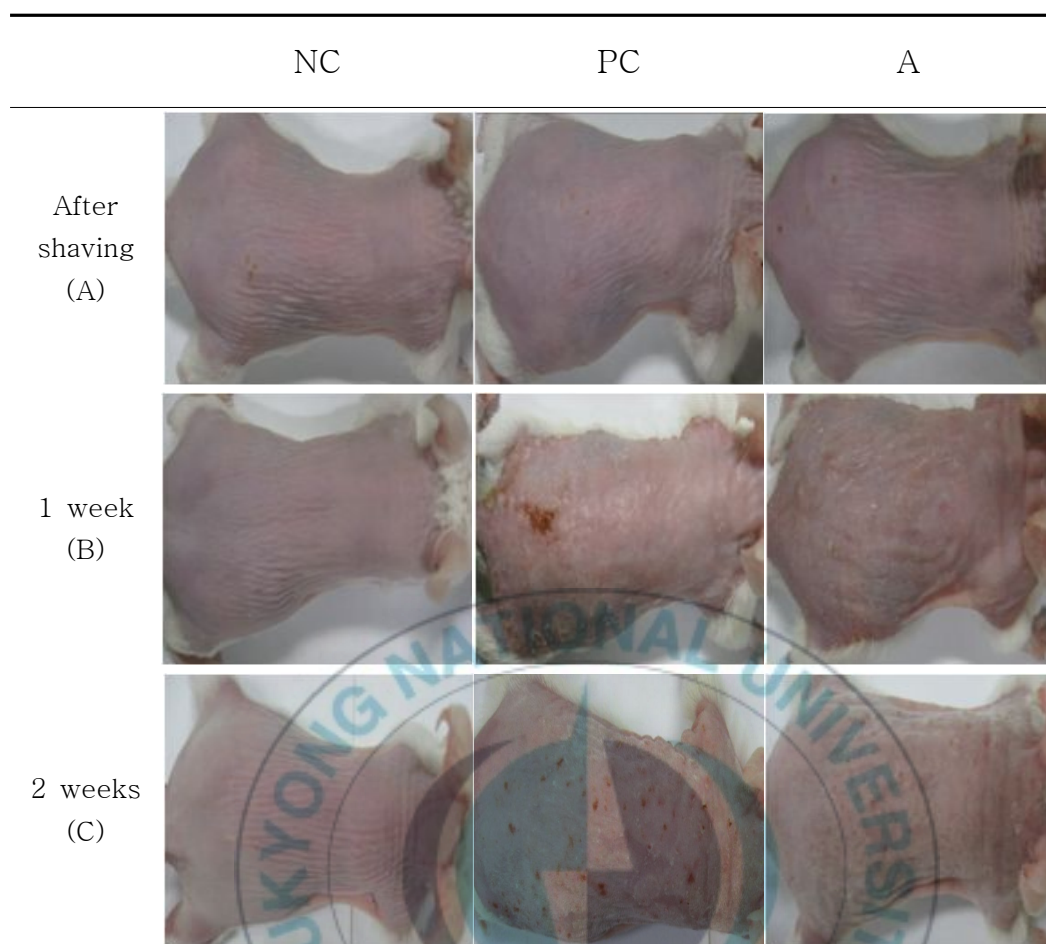


Fig. 11. Effects of *Sargassum horneri* water extract in atopic dermatitis-like skin lesions mice.

Negative control(NC): untreated, Positive control(PC) : DNCB and vehicle and A: DNCB and *Sargassum horneri* water extract.

4-2. 비장세포의 IFN- γ 및 IL-4 cytokine 분비량

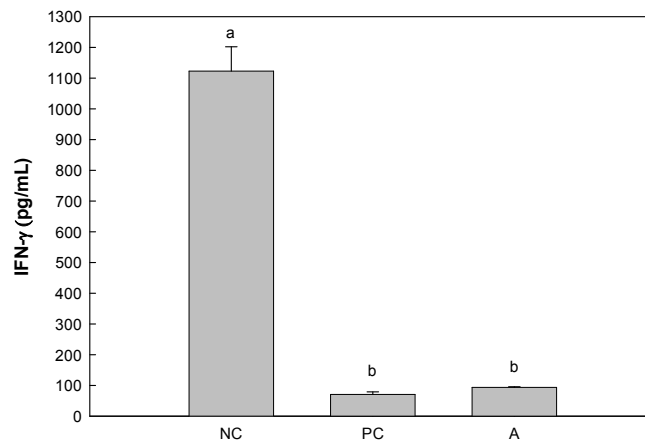
아토피 피부염은 알레르기 증상의 하나로, 면역학적으로 T 세포, 호산구, 비만세포 등 다양한 세포들에 의해 발병되는 것으로 알려져 있다. 그 중에서도 Th 2 세포가 발현하는 IL-4, IL-5 등의 Th 2 cytokine 및 과도한 IgE의 생산이 아토피 피부염 발병에 있어 주요인으로 보고되었다(Leung, 2000). 하지만 최근 아토피 피부염의 면역학적 요인에 관한 연구가 활발히 진행되면서 급성기와 만성기에 관여하는 면역기전에 차이가 있음이 밝혀지고 있다(Leung et al., 2004; Sehra et al., 2008). 급성기 병변에서는 항원을 인식한 T 세포가 IL-4, IL-5 및 IL-13 cytokine을 분비하여 naive CD4+ T 세포가 Th 2 세포로 분화하도록 조절하고, B 세포의 동형전환을 유발하여 IgE의 생성을 증가시킨다. 또한 혈관 유착분자를 증가시켜 호산구의 침윤을 증대시키고 IFN- γ 및 IL-12와 같은 Th 1 type의 cytokine을 감소시킨다. 반대로 만성기 병변에서는 IFN- γ 및 IL-12 cytokine이 급성기 병변에 비해서 상당히 증가한다. 만성기 병변에서는 각질세포의 자멸사가 촉진되는데, 이러한 일련의 과정은 Th 1 세포에서 분비된 IFN- γ 에 의해 진행되며 각질세포에 존재하고 있는 Fas에 의해 활성화 된다. IFN- γ 는 IL-12에 의해 생산이 촉진되어 대식세포를 활성화하고 Th 2 세포의 증식을 억제함과 동시에 Th 1 세포의 분화를 촉진함으로써, 면역반응을 유도하는 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다(Abbas et al., 2004; Jo, 2009).

이에, 본 연구에서는 팽생이 모자반 에탄올 및 물 추출물이 어떤 면

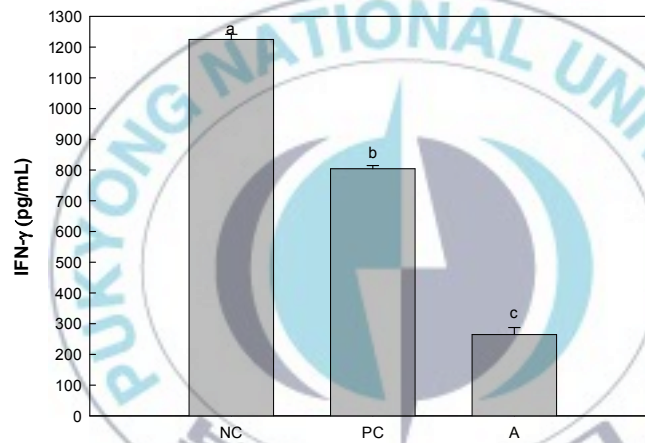
역학적 요인에 의해 아토피 피부염을 억제하는지 알아보기 위해 아토피를 유발한 마우스에 시료를 도포한 후, 비장세포를 분리·배양하여 배양액의 Th 1 cytokine인 IFN- γ 와 Th 2 cytokine인 IL-4 cytokine 함량을 측정하였다. 그 결과 팽생이 모자반 에탄올 추출물 처리구의 경우, IFN- γ cytokine의 분비량이 positive control과 차이를 보이지 않았으며(Fig. 12(A)), 팽생이 모자반 물 추출물 처리구의 경우 IFN- γ 분비량이 265.3 pg/mL로 804.4 pg/mL인 positive control에 비해 유의적으로 낮은 값을 보였다(Fig. 12(B)). 또한 팽생이 모자반 에탄올 추출물 처리구의 IL-4 cytokine의 분비량은 유의적인 차이를 보이지 않았으며(Fig. 13(A)), 물 추출물 처리구의 경우 IL-4분비량이 40.67 pg/mL로 78.59 pg/mL인 positive control에 비해 상당히 낮은 값을 보였다(Fig. 13(B)). 이를 통해 팽생이 모자반 물 추출물이 에탄올 추출물에 비해 급성기 및 만성기 아토피 피부염 억제에 효과적임을 확인할 수 있었다. 이러한 결과는 DNCB로 아토피 피부염을 유발한 후, 단삼을 처리한 사료를 먹인 마우스의 IFN- γ , IL-4 및 IL-5 cytokine 분비량이 감소하였다는 연구결과(Baik, 2006)와 유사하였으며, 호르몬의 한 종류인 melatonin의 복강주사에 의해 IFN- γ 및 IL-4의 분비량이 감소하였다는 연구 결과(Kim et al., 2009)와 일치하였다. 반면, 이러한 결과는 앞서 IFN- γ 의 분비량 증가와 IL-4 분비량 감소를 통한 항알레르기 실험(*in-vitro*)과 비교했을 때, 팽생이 모자반 에탄올 추출물 처리구의 IFN- γ , IL-4의 분비와 물 추출물 처리구의 IFN- γ 의 분비 경향에 있어 상당한 차이를 보였다. *In-vitro*상에서는 팽생이 모자반 에탄올 및 물 추출물이 세포에 직접적으로 작

용하여 세포를 활성화 시킬 수 있다. 하지만 *in-vivo*상에서 팽생이 모자반 에탄올 및 물 추출물의 도포는 세포에 직접적으로 작용하지 않고 피부내부로 침투에 의해 면역반응이 일어나며, 미생물 감염 등의 다양한 요인이 복합적으로 작용하므로 이로 인해 실험결과에 상당한 차이가 있는 것으로 생각된다. 그러므로 팽생이 모자반 에탄올 및 물 추출물 도포에 의한 아토피 피부염 억제효과는 앞서 실험한 *in-vitro*상의 항알레르기 실험으로 그 정확한 기전을 설명할 수 없으며, 향후 추가적인 실험이 진행되어야 할 것으로 사료된다.



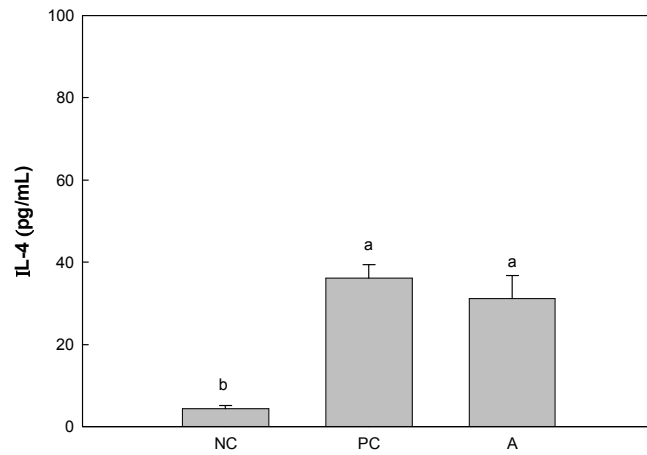


(A)

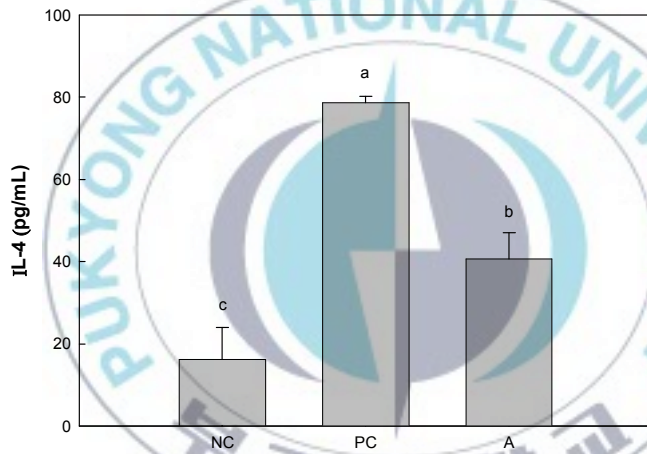


(B)

Fig. 12. Effects of *Sargassum horneri* extracts on IFN- γ production in splenocytes from atopic dermatitis-like skin lesions mice. (A): *Sargassum horneri* ethanol extract, (B): *Sargassum horneri* water extract. Negative control(NC): untreated, Positive control(PC): DNCB and vehicle and A: DNCB and *Sargassum horneri* extracts. ^{a-c} means with different superscripts are significantly different (p<0.05).



(A)



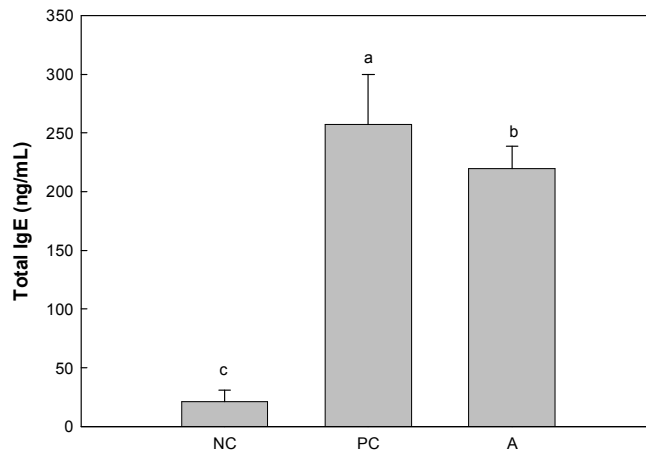
(B)

Fig. 13. Effects of *Sargassum horneri* extracts on IL-4 production in splenocytes from atopic dermatitis-like skin lesions mice. (A): *Sargassum horneri* ethanol extract, (B): *Sargassum horneri* water extract. Negative control(NC): untreated, Positive control(PC): DNCB and vehicle and A: DNCB and *Sargassum horneri* extracts. ^{a-c} means with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

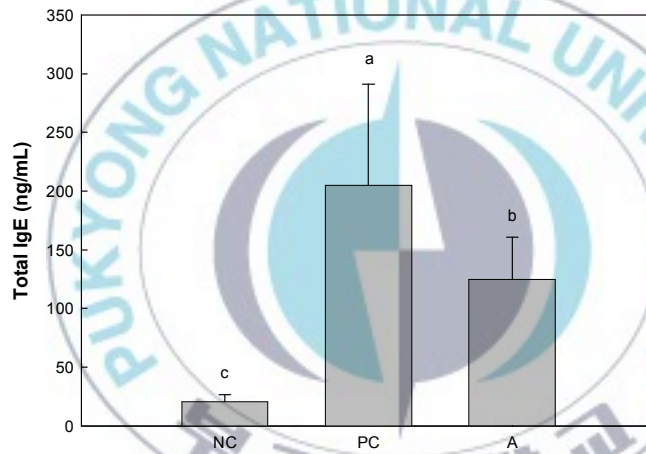
4-3. 혈청의 total IgE 함량

아토피 피부염을 가진 환자의 80-85%가 혈청 중 총 IgE의 함량이 상승되어 있으며(Lee, 2000), 아토피 피부염뿐만 아니라 천식, 비염 등의 알레르기성 질환의 발현에 IgE가 중요한 역할을 한다고 알려져 있다. 그러므로 알레르기성 질환에 있어 IgE의 생산 조절기전을 알아내려는 연구가 많이 보고(Ishizaka et al., 1984; Snapper et al., 1987)되어 왔다.

이에 본 실험에서는 팽생이 모자반 에탄올 및 물 추출물의 처리가 IgE의 분비에 미치는 영향을 알아보기 위해 혈청의 total IgE 함량을 측정하였다. 그 결과 팽생이 모자반 에탄올 및 물 추출물 처리구 모두 total IgE 분비량이 positive control에 비해 유의적으로 감소하였다(Fig. 14(A,B)). Segawa 등(2008)은 호프 열수 추출물의 경구투여가 IFN- γ 및 IL-4 cytokine 분비에는 영향을 주지 않았으나, IgE의 분비량을 현저히 감소시켰다고 보고하였다. 이를 통해 팽생이 모자반 에탄올 추출물이 IFN- γ 및 IL-4의 영향 없이 특이적으로 IgE 생성을 억제한 것이라 사료되며, 반면 물 추출물의 경우 IL-4 cytokine의 감소를 통해 IgE의 분비량이 억제되었을 것으로 생각된다. 따라서 IgE의 유의적인 감소는 팽생이 모자반 에탄올 및 물 추출물이 비만세포 및 호염구로부터 다양한 염증성 물질의 분비를 감소시켜 아토피 피부염을 억제할 수 있음을 보여준다. 이러한 결과는 결명자, 유근피 및 포공령 등의 생약재를 경구 투여하였을 때, 유의적으로 IgE의 생성이 감소하였다는 연구결과(Yang et al., 2010)와 일치하며, 다래 추출물의 경구투여에 의해 IgE의 분비가 감소한 결과(Kim et al., 2009)와도 유사하였다.



(A)

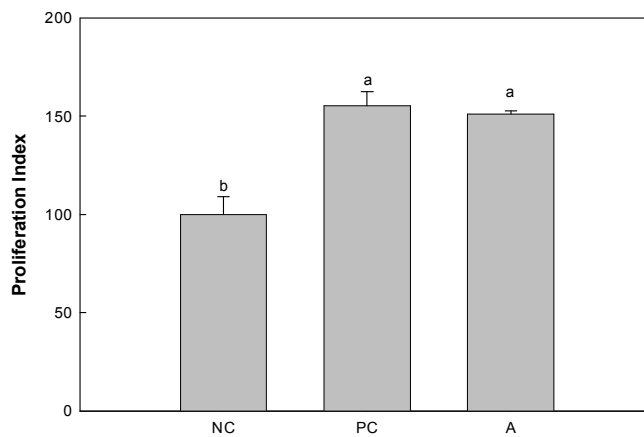


(B)

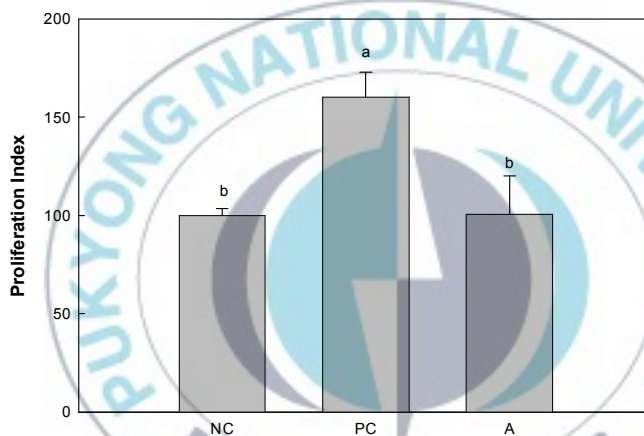
Fig. 14. Effects of *Sargassum horneri* extracts on total IgE production in sera from atopic dermatitis-like skin lesions mice. (A): *Sargassum horneri* ethanol extract, (B): *Sargassum horneri* water extract. Negative control(NC): untreated, Positive control(PC): DNCB and vehicle and A: DNCB and *Sargassum horneri* extracts. ^{a-c} means with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

4-4. 비장세포 증식능

MTT assay는 살아있는 세포내 미토콘드리아의 탈수소 효소작용에 의하여 노란색의 수용성 기질인 MTT tetrazolium을 청자색을 띠는 비수용성의 MTT formazan (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-di-phenyl-tetrazolium bromide)으로 환원시키는 원리를 이용하는 검사법이다(Gerlier et al., 1986; Twentyman et al., 1987). MTT formazan의 흡광도는 540 nm의 파장에서 최대가 되며, 이 파장에서 측정된 흡광도는 살아있고 대사가 왕성한 세포의 농도를 반영한다. 이에 팽생이 모자반 물 추출물의 도포가 비장세포의 증식에 미치는 영향에 대해 알아보기 위해 MTT assay를 실시하였다. DNCB로 아토피 피부염을 유발한 마우스에 2주간 팽생이 모자반 에탄올 및 물 추출물을 처리한 후, 비장세포를 분리·배양하여 MTT assay를 실시하였다. 그 결과 팽생이 모자반 에탄올 추출물 처리구의 비장세포 증식능이 약 50% 증가하였으며(Fig. 15(A)), 물 추출물 처리구의 경우 negative control과 유사한 수준을 보였다(Fig. 15(B)). 이를 통해 DNCB 및 팽생이 모자반 에탄올 추출물의 도포는 비장세포 증식능을 증가시켜 면역세포를 활성화 시키며, 반면 물 추출물의 도포는 비장세포 증식능에 큰 영향을 미치지 않는 것을 알 수 있었다.



(A)



(B)

Fig. 15. Effects of *Sargassum horneri* extracts on the proliferation of splenocytes from atopic dermatitis-like skin lesions mice. (A): *Sargassum horneri* ethanol extract, (B): *Sargassum horneri* water extract. Negative control(NC): untreated, Positive control(PC): DNCB and vehicle and A: DNCB and *Sargassum horneri* extracts. Proliferation index = sample O.D/negative control O.D*100. ^{a-b} means with different superscripts are significantly different (p<0.05).

요 약

팽생이 모자반 추출물의 아토피 억제효과에 대해 알아보기 위해, 일반특성, 알레르기 억제 효과, 염증 억제효과 및 아토피 피부염 억제 효과를 측정하였다.

1. 팽생이 모자반의 일반 특성

- 1-1. 팽생이 모자반의 일반성분을 측정한 결과, 수분 7.48%, 회분 17.01%, 조지방 1.05%, 조단백 15.62%로 나타났다.
- 1-2. 팽생이 모자반 에탄올 및 물 추출물의 pH는 6.03, 7.33으로 중성의 pH를 나타내었으며, 물 추출물의 경우 에탄올 추출물에 비해 명도, 적색도가 증가 하였다.

2. 팽생이 모자반 추출물의 알레르기 억제 효과

- 2-1. 팽생이 모자반 에탄올 추출물은 1과 10 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서, 물 추출물은 모든 첨가농도에서 IFN- γ 분비량을 증가시켰으며, IL-4와 IgE의 분비량은 에탄올 및 물 추출물의 모든 첨가농도에서 유의적으로 감소하였다.
- 2-2. 팽생이 모자반 에탄올 및 물 추출물은 1과 10 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 비장세포의 증식에 큰 영향을 주지 않았으며, 100 $\mu\text{g/mL}$ 물 추출물 첨가에 의해 비장세포 증식능이 약 230% 증가하였다.

3. 팽생이 모자반 추출물의 염증 억제 효과

- 3-1. 팽생이 모자반 에탄올 추출물의 경우 농도 의존적으로 NO의 분비량이 감소하였으며, 1과 10 $\mu\text{g/mL}$ 농도의 물 추출물을 첨가하였을 때 유의적인 차이는 보이지 않았다. 반면 100 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 증가하는 경향을 보였다.
- 3-2. 팽생이 모자반 에탄올 추출물 첨가에 의해 대식세포의 TNF- α , IL-6 및 IL-1 β cytokine의 분비가 유의적으로 감소하였으며, 물 추출물의 경우 TNF- α 와 IL-1 β cytokine의 분비에 큰 영향을 미치지 않은 것으로 나타났다.
- 3-3. 팽생이 모자반 에탄올 추출물 첨가구의 대식세포 증식능은 유의적인 차이를 보이지 않았으며, 물 추출물의 경우 모든 첨가 농도에서 대식세포의 증식능을 증가시켰다. 특히 10 및 100 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 무첨가구에 비해 약 20% 증가하였다.

4. 팽생이 모자반 추출물의 아토피 피부염 억제 효과

- 4-1. 팽생이 모자반 에탄올 및 물 추출물 도포 1주일 째, positive control에 비해 가피, 건조함 등의 증상이 개선되었고, 도포 2주일 째, 홍반이 다소 감소하였다.
- 4-2. 팽생이 모자반 에탄올 추출물 처리구의 경우, IFN- γ 과 IL-4 분비량이 positive control과 유의적인 차이를 보이지 않았다. 반면 물 추출물 처리구는 positive control에 비해 IFN- γ 의 분비량이 60% 정도 감소하였으며 IL-4 분비량은 약 50% 정도 감소하였다.

- 4-3. 팽생이 모자반 에탄올 및 물 추출물 도포에 의해 혈청 IgE 분
비량이 약 25, 80% 정도 감소하였다.
- 4-4. 팽생이 모자반 에탄올 처리구의 비장세포 증식능이 약 50% 증
가하였으며, 물 추출물 처리구의 경우 negative control와 유
사하였다.



참 고 문 헌

Abbas, A. K. and Lichtman, A. H. 2003. Cellular and molecular Immunology. 5th ed. WB Saunders Company, Philadelphia, USA. 31-32, 247-269, 285-288, 303-308, 432

Ahn, J. Y., Im, L. R., Park, J. H., Kim, D. K. and Lee, M. Y. 2009. Effects of *Rdaix* water extract on development of atopic dermatitis in BALB/c mice. *Kor. J. Pharmacogn.* 40(3), 218-223

Arellano, F. M., Wentworth, C. E. and Arana, A. 2007. Risk of lymphoma following exposure to calcineurin inhibitors and topical steroids in patients with atopic dermatitis. *J. Invest. Dermatol.* 127, 808-816

Baik, Y. H. 2006. *Salviae miltiorrhizae* root inhibits atopic dermatitis in the DNCB(dinitrochlorobenzene)-induced atopic dermatitis Nc/Nga mice. Kyungwon university DS thesis 1-39

Baek, S., Choi, J. H., Ko, S. H., Lee, Y. J., Cha, D. S., Park, E. Y., Kang, Y. G. and Jeon, H. 2009. Antioxidant and

anti-inflammatory effect of *Nardostachys chinensis* in IFN- γ /LPS-stimulated peritoneal macrophage. *Korean J. Oriental Physiology & Pathology* 23(4), 853-859

Broide, D. H. 2001. Molecular and cellular mechanism of allergic disease. *J. Allergy Clin. Immunol.* 108, S65-S71

Cha, S. H., Lee, J. S., Kim, Y. S., Kim, D. U., Moon, J. C. and Park, K. P. 2010. Properties of fucoidan as raw materials of water-holding cream and cosmetics. *Korean Chem. Eng. Res.* 48(1), 27-32

Chae, S. Y., Kim, M. J., Kim, D. S., Park, J. E., Jo, S. K. and Yee, S. T. 2007. Effect of *Asterina pectinifera* extracts on the activation of immune cells. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 36(3), 269-375

Cho, K. J., Lee, Y. S. and Ryn, B. H. 1990. Antitumor effects and immunology activity of seaweeds toward sarcoma-180. *Bull. Korean Fish Soc.* 23, 345-352

Cho, Y. J. and Ahn, B. J. 2008. Anti-inflammatory effect of extracts from *Chenopodium album* (*Morus alba* L.) in

lipopolysaccharide-stimulated Raw cells. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* 51(1), 44-48

Choi, S. Y., Kim, S. Y., Hur, J. M., Shin, J. H., Choi, H. G. and Sung, N. J. 2006. A study on the physicochemical properties of the *Sargassum thunbergii*. *Korean J. Food & Nutr.* 19(1), 8-13

Choi, M. S., Kim, E. K., Lee, H. S., Kim, S. K., Choi, H. M., Park, J. H., Han, J. B., An, H. J., Um, J. Y., Kim, H. M., Han, A. R., Hong, M. C., Bae, H. S. and Min, H. I. 2008. Inhibitory effects of *Saururus chinensis*(LOUR.) BAILL on the development of atopic dermatitis-like skin lesions in Nc/Nga mice. *Biol. Pharm. Bull.* 31(1), 51-56

Choi, W. S., Kim, Y. S., Lee, S. H., Chai, K. Y and Lee, Y. H. 2009. Anti-inflammatory effects of *Gelidium amansii* in Raw 264.7 macrophage. *Korean J. Oriental Physiology & Pathology* 23(3), 679-377

Choi, H. J., Kil, J. H., Bak, S. S., Kong, C. S., Park, K. Y., Seo, Y. W. and Lim, S. Y. 2006. Inhibitory effects of solvent extract from seven brown algae on mutagenicity and growth of

human cancer cells. *Journal of Life Science* 16(7), 1080-1086

Cory, D. B. and Kheradmand, F. 1999. Induction and regulation of the IgE response. *Nature* 402, B18-B23

Fry, L. 2007. An atlas of atopic eczema. Gunja Press. Seoul, Korea. 121-129

Furue, M., Terao, H., Moroi, Y., Koga, T., Kubota, Y., Nakayama, J., Furusawa, F., Tanaka, Y., Katayama, I., Kinukawa, N., Nose, T. and Urabe, K. 2004. Dosage and adverse effects of topical tacrolimus and steroid in daily management of atopic dermatitis. *J. Invest. Dermatol.* 31, 277-283

Gao, X. K., Fuseda, K., Shibata, T., Tanakam, H., Inagaki, N. and Nagai, H. 2005. Kampo medicines for mite antigen-induced allergic dermatitis in Nc/Nga mice. *Evid. Based Complement alternat. Med.* 2, 191-199

Gerlier, D. and Thomasset, N. 1986. Use of MTT colorimetric assay to measure cell activation. *J. Immunological Methods* 94(1-2), 57-63

Gross, S. S. and Wolin, M. S. 1995. Nitric oxide: pathophysiological mechanisms. *Annu. Rev. Physiol.* 57, 737-769

Heo, S. J., Yoon, W. J., Kim, N. K., Ahn, G. N., Kang, S. M., Kang, D. H., Affan, A., Oh, C. H., Jung, W. K. and Jeon, Y. J. 2010. Evaluation of anti-inflammatory effect of fucoxanthin isolated from brown algae in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 macrophages. *Food and Chemical Toxicology* Article in Press

Hong, Y. K., Park, I. S., Jung, Y. H., Song, S. H. and Hong, S. Y. 1998. Effect of the seaweed *Porphyra yezoensis* extract on triton WR-1339 induced hypercholesterolemia in mouse. *Bull. Korean Fish Soc.* 31, 508-515

Hong, Y. K. 1999. Biosorption and desorption of Pb by using *Sargassum horneri*. *J. Korean Fish. Soc.* 32(3), 333-337

Hong, S. K., Chun, B. S. and Park, S. Y. 2001. Extraction of pigment from sea mustard (*Undaria pinnatifida*) using supercritical carbon dioxide and entrainer. *J. Korean Fish. Soc.* 34(3), 213-217

Hossain, Z., Kurihara, H. and Takahachi, K. 2003. Biochemical composition and lipid compositional properties of the brown alga *Sargassum horneri*. *Pakistan J. Biological Sciences* 6(17), 1497-1500

Ishizaka, K. 1987. Regulation of IgE synthesis. *Annu. Rew. Immunol.* 2, 159-162

Ignarro, L. J., Buga, G. M., Woon, K. S., Byrns, R. E. and Chaudhuri, G. 1990. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 84, 9265-9269

Jung, B. M., Ahn, C. B., Kang, S. J., Park, J. H. and Chung, D. H. 2001. Effects of *Hijikia fusiforme* extracts on lipid metabolism and liver antioxidative enzyme activities in triton-induced hyperlipidemic rats. *Korean J. Soc. Food Sci. Nutr.* 30, 1184-1189

Lee, S. J. 2010. Lipase and α -amylase inhibitory activity of sargassum thunbergii extracts. Pukyong national university MS thesis 16

Katayama, S. and Mine, Y. 2006. *Quillaja* saponin can modulate ovalbumin-induced IgE allergic responses through regulation of Th1/Th2 balance in a murine model. *J. Agric. Food Chem.* 54, 3271-3276

Kim, B. A., Kim, M. S., Kang, B. M., Byeon, S. H., Park, I. H., Park, J. H., Jung, J. W., Ahn, E. M., Jung, H. A., Jang, J. H., Bae, Won., Lee, H. Y., Choi, P. N. and Park, C. I. 2008. Inhibitory studies of Hwangryunhaedok-tang on development of atopic dermatitis in Nc/Nga mice. *Kor. J. Herbology.* 23(2), 59-65

Kim, J. Y., Lee, I. K., Son, M. W. and Kim, K. H. 2009. Effects of orally administered *Actinidia arguta* (Hardly Kiwi) fruit extract on 2-chloro-1,3,5-trinitrobenzene-induced atopic dermatitis-like skin lesion in Nc/Nga mice. *J. Medical Food* 12(5), 1004-1015

Kim, M. M., Rajapakse, N. and Kim, S. K. 2009. Anti-inflammatory effect of *Ishige okamurae* ethanolic extract via inhibition of NF- κ B transcription factor in raw 264.7 cells. *Phytother. Res.* 23, 628-634

Kim, Y. Y., Lee, K. W., Kim, G. B. and Cho, Y. J. 2000. Studies on physiochemical and biological properties of depolymerized alginate from sea tangle, *Laminaria japonicus* by thermal decomposition. *J. Korean Fish Soc.* 33, 393-398

Kim, Y. M., Kim, D. S. and Choi, T. S. 2004. Anticoagulant activities of brown seaweed extracts in Korea. *Korean J. Food Sci. Technol.* 36(6), 1008-1013

Kim, Y. M., Choi, Y. S. and Park, J. H. 2006. Purification and chemical characterisation of laminaran from *Eisenia bicyclis* in Korea. *Korean J. Soc. Food Sci. Nutr.* 35(1), 78-86

Kim, T. H., Jung, J. A., Kim, K. D., Jang, A. H., Ahn, H. J., Park, Y. S. and Park, C. S. 2009. Melatonin inhibits the development of 2, 4-dinitrofluorobenzene-induced atopic dermatitis-like skin lesions in NC/Nga mice. *J. Pineal Res.* 47, 324-329

Kumazawa, Y., Mizunoe, K. and Otsuka, Y. 1982. Immunostimulating polysaccharide separated from hot water of *angelica acutiloba* Kitagawa (Yamato Tohiki). *Immunology* 47, 75-83

Kwon, H. S., Shin, H. K., Kwon, S. O., Yeo, K. M., Kim, S. M., Kim, B. N. and Kim, J. K. 2009. Antiinflammatory effect of aqueous extract from red pepper in lipopolysaccharide induced inflammatory responses in murine macrophages. *J. Koeran Soc. Food Sci. Nutr.* 38(10), 1289-1294

Li, Y., Lee, S. H., Le, Q. T., Kim, M. M. and Kim, S. K. 2008. Anti-allergy effects of phlorotannins on histamine release via binding inhibition between IgE and FcεRI. *J. Agric. Food Chem.* 56, 12073-12080

Lee, S. T., Jeong Y. R., Ha, M. H., Kim, S. H. and Byun, M. W. 2000. Induction of nitric oxide and TNF-α by herbal plant extract in mouse macrophage. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 29, 342-348

Lee, H. S., Suh, J. H. and Suh, K. H. 2000. Preparation of antibacterial agent from seaweed extract and It's antibacterial effect. *J. Korean Fish Soc.* 33, 32-37

Lee, H. R. 2000. Atopic dermatitis. *Korean J. Pediatr.* 43(9), 1162-1167

Lee, S. H., Oh, H. Y., Leem, J. Y. and Yoon, S. 2009. Antioxidant and NO-scavenging activities of *Acantopanax senticosus* var. *subinermis* leaf extracts prepared using ethanol and extrusion processing. *Food Sci. Biotechnol.* 18(5), 1124-1131

Lee, S. G. 2009. Anti-inflammatory effects and cytoprotective effects of *Smilacis chinae radix*. *Korean J. Oriental Physiology & Pathology* 23(1), 57-62

Leung, D. Y. M. 2000. Atopic dermatitis: new insights and opportunities for therapeutic intervention. *J. Allergy Clin. Immunol.* 105, 860-876

Matsukawal, R., Dubinsky, Z., Kishimoto, E., Masaki, K., Masuda, Y., Takeuchi, T., Chihara, M., Yamamoto, Y., Niki, E. and Karube, I. 2004. A comparison of screening methods for antioxidant activity in seaweed. *J. Applied Phycology* 9(1), 29-35

Moncada, S., Palmer, R. M. J. and Higgs, E. A. 1991. Nitric oxide: Physiology, pathophysiology and pharmacology. *Am. So. Pharm. and Exp. Rherap.* 43, 109-142

Mosmann, T. R., Cherwinski, H., Bond, M. W., Giedlon, M. A. and Coffman, R. L. 1986. Two types of murine helper T cell clone. Definition according to profiles of lymphokine activities, I., secreted proteins. *J. Immunol.* 136, 2347-2357

Mishell, B. B. and Shiigi, S. M. 1980. Selected methods in cellular immunology. 1th ed. W. H. Freemanan. Sanfrancisco, USA. 4-27

Sakai, S., Akiyama, H., Harikai, N., Toyoda, H., Toida, T., Maitani, T. and Imanari, T. 2002. Effect of chondroitin sulfate on murine splenocytes sensitized with ovalbumin. *Immunology Letter* 211-216

Sangeetha, N. K., Bhaskar, N. and Baskaran, V. 2009. Comparative effects of β -carotene and fucoxanthin on retinol deficiency induced oxidative stress in rats. *Mol. Cell Biochem.* 331, 59-67

Sator, P. G., Schmidt, J. B. and Honnigsamann, H. 2003. Comparison of epidermal hydration and skin surface lipid in healthy individuals and in patients with atopic dermatitis. *J. Am Acad dermatol.* 48, 352-358

Seo, Y. W. and Yoo, J. S. 2003. Screening for antioxidizing and tyrosinase-inhibitory activities of the extracts of marine algae from Busan coastal area. *Ocean and polar research* 25, 129-132

Senagawa, S., Kuroda, H., Kaneko, T. and Watari, J. 2008. Oral administration of a hop water extract ameliorates the development of dermatitis induced by the periodical topical application of a mite antigen in atopic dermatitis model Nc/Mga Mice. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 72(4), 974-981

Sehra, S., Holbreich, M., Kaplan, M. H., Tuana, F. M. B., Mousdicas, N., Travers, J. B. 2008. Clinical correlations of recent developments in the pathogenesis of atopic dermatitis. *An Bras Dermatol.* 83(1), 57-73

Suh, K. H., Ahn, K. H., Cho, M. C., Cho, J. K., Jin, H. J. and Hong, Y. K. 2001. *Sargassum cofusum* for biosorption of Pb and Cr. *J. Korean Fish. Soc.* 34(1), 1-6

Snapper, C. M. and Paul, W. E. 1987. IFN- γ and B cell stimulatory factor-1 reciprocally regulate Ig isotype production. *Science* 236, 944-947

Shim, S. Y., Choi, J. S. and Byun, D. S. 2009. Inhibitory effects of phloroglucinol derivatives isolated from *Ecklonia stolonifera* on FcεRI expression. *Bioorg. Med. Chem.* 17(13), 4734-4739

Takano, F., Takata, T., Yoshihara, A., Nakamura, Y., Arima, Y. and Ohta, T. 2007. Aqueous extract peanut skin and its main constituent procyanidin A1 suppress serum IgE and IgG1 levels in mice-immunized with ovalbumin. *Biol. Pharm. Bull.* 30(5), 922-927

Twentyman, P. R. and Luscombe, M. 1987. A study of some variables in a tetrazolium dye (MTT) based assay for cell growth and chemosensitivity. *Br. J. Cancer* 56(3), 279-285

Tanabe, S., Kobayashi, Y., Takahata, Y., Morimatsu, F., Shibata, R. and Nishimura, T. 2002. Some human B cell and T cell epitopes bovine serum albumin, the major beef allergen. *Biochemical and Biophysical Research Communication* 293(5), 1348-1353

Tsuru, S. and Nomoto, K. 1983. Effect of PSK on specific tumor immunity to syngeneic tumor cells. *J. Allergy Clin.*

Immunol. 4, 215-219

Umetsu, D. T. and Dekruyff, R. H. 1997. TH1 and TH2 CD4+ cells in human allergic diseases. *J. Allergy Clin. Immunol.* 100(1), 1-6

William, H. 2000. Official methods of analysis of AOAC International. 17th ed. AOAC International, Washington. D.C, USA. 17-24

Yang, H. J., Park, J. W., Kim, H. S., Cho, S. M. and Park, K. M. 2010. Effect of anti-atopic allergic reaction in response to oriental herb extracts. *Korean J. Food. Sci. Technol.* 42(1), 109-114

Yeo, E. J., Han, J. K. and Kim, Y. H. 2008. Effects of aopy ceam-combined with Jawoongo ointment on the development of atopic dermatitis-like skin lesions in NC/Nga mouse. *J. Korean Oriental Pediatrics* 17(2), 185-198

Yuhki, Y., Takaaki, H., Kawue, U., Kaori, I. Souichi, O., Hidenori, S., Shoji, M., Kazumasa, I., Horoaki, M., Nobukazu, O., Yoshikazu, K. and Michihiro, H., 2009. Peritoneal injection

of fucoidan suppresses the increase of plasma IgE induced by OVA-sensitization. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 387, 435-439

Yoon, M. Y. 2008. Therapeutic effects of hydrolyzed preparation of *Scutellanae radix* extracts on atopic dermatitis of Nc/Nga mice induced by DNCB. ptronysinus. Woosuk university DS thesis 23-24

국민건강보험공단. 2010. 2008년 주요 환경성질환 진료환자. 3-4



감사의 글

2년이라는 석사과정을 끝내고 새로운 시작을 하려고 합니다. 어느덧 짧지 않은 석사 과정을 마무리하며 지난 시간들을 돌이켜보니 많은 아쉬움과 후회가 남습니다. 학업적 성취에 있어서의 아쉬움만이 아닌, 고마운 많은 분들께 감사의 마음을 제대로 전하지 못했기에 더욱 그러한 것 같습니다. 제가 이렇게 성장하기까지 오랜 시간이 걸렸지만 따뜻한 관심과 애정 어린 질책으로 힘이 되고 방향을 잡아주셨던 많은 분들께 감사의 마음을 전해드리고자 합니다.

먼저 실수투성이인 저에게 많은 격려와 때로는 호된 꾸짖음으로 인생에 있어 큰 가르침을 주신 안동현 교수님께 진심으로 감사드립니다. 또한 부족한 제 논문을 심사해 주신 김선봉 교수님, 전병수 교수님께 감사드리며, 아낌없는 지도로 많은 가르침을 주신 조영제 교수님, 양지영 교수님, 이양봉 교수님, 김영목 교수님께도 감사드립니다.

저에게는 대학원 생활의 전부라고 해도 과언이 아닐 만큼 소중한 자원개발 식구들의 도움이 있었기에 석사 논문을 잘 마무리 할 수 있었습니다. 먼저 부족함이 많은 제게 학업뿐만 아니라 인생의 선배로 많은 도움을 주었던 유진이 언니, 실험실 생활에 있어 많은 충고와 조언을 아끼지 않았던 꽃봉 언니, 소영이 언니에게 감사의 마음을 전합니다. 서로 연구하는데 많은 도움과 힘이 되어준 동기 나비, 사오정 지연, 무한체력 지희와 꿈을 향해 나아가는 귀염둥이 문경, 친

구이자 멘토인 민지언니를 비롯하여, 듬직한 금동 선배, 메이커(?) 찬, 분위기 메이커 태규, 엄가수 준호, 애교쟁이 슬아, 마이너스의 손 주연, 만능스포츠걸 다현, 근육쟁이 민정, 샤우팅 막내 가영이에게 고마운 마음을 전합니다. 그리고 처음 실험실에 들어와 많은 도움을 주었던 미정이 언니, 서진이 언니, 윤소 언니, 소정이 언니에게도 감사의 말을 전합니다.

연락 한번 하지 않는 친구에게 괜찮냐며 항상 따뜻한 격려를 해준 미진이, 대학생활 동안 많은 추억을 함께 나누었던 나래, 문득 학교에 찾아와 웃음을 주곤 하는 보혜, 홍미, 멀리 있지만 항상 응원해주는 효주 그리고 자신이 하고자 하는 분야에서 최선을 다하고 있는 윤화, 지은, 민영, 슬아에게 고맙다는 말과 함께 각자 하고자 하는 분야에서 최고가 되어 만나자는 말을 전하고 싶습니다.

무엇보다도 저에게 항상 할 수 있다는 용기와 믿음을 주신 아버지와 언제나 제 편이 되어 힘을 주시고 바르게 생각하고 행동할 수 있도록 가르쳐주신 어머니께 이 자리를 빌어 정말 사랑한다는 말을 전하고 싶습니다. 또한 뒤에서 든든하게 동생을 응원해준 오빠와 힘들어하는 저에게 따뜻한 위로와 한결같은 마음으로 제 옆을 지켜준 경원이 오빠에게 감사의 마음을 전하고 싶습니다.

저 혼자만의 노력이 아닌 많은 분들의 격려와 가르침이 있었기에 무사히 논문을 완성할 수 있었습니다. 이에 다시 한번 모든 분들께 감사의 마음을 전하며, 실망시키지 않고 후회 없는 삶을 살도록 하루하루 노력하는 사람이 되겠습니다.