

## P8-85

### 류마티스성 관절염 억제 활성물질의 *in vitro* Assay계 확립 및 검색

서성호\*, 김혜경<sup>1</sup>, 신동훈, 홍범식, 조홍연.

고려대학교 생명공학원, <sup>1</sup>한서대학교 식품생물공학과

관절염은 관절의 비특이적 염증성 반응을 만성적으로 야기하여 동통과 강직을 일으키는 질환으로 퇴행성 관절염과 류마티스성 관절염으로 크게 나눌 수 있다. 전체 성인 인구의 약 1% 정도의 유병률을 보이고 있는 류마티스성 관절염은 남자보다 여자에서 3배 정도 그 발생율이 높으며, 대개 20~40 대에 발생하는 것으로 알려져 있다. 류마티스성 관절염은 autoimmune에 의한 활액막과 관절주위의 염증성 병변이 초래되어 지속적으로 진행되는 것이 특징으로 관절 조직에 MMPs를 방출함으로써 Matrix에 손상을 일으킨다. 관절 Matrix의 파괴에 중요한 역할을 하는 MMPs는 활액 내막의 활막 세포와 대식구 세포, 연골 세포 등에서 생성되는 것으로 알려져 있다. MMPs 중 collagenase인 MMP-1은 matrix의 주성분인 collagen의 분해 효소로서 matrix 파괴에 막대한 영향을 미치는 것으로 밝혀져 있다. 따라서 MMP-1의 생합성 억제 또는 활성 저해는 류마티스성 관절염의 예방 및 치료에 있어 중요한 방법 중 하나이다. 본 연구는 식용생물자원으로부터 류마티스성 관절염 억제활성물질을 분리하기 위해 검색용 *in vitro* assay 계로 human chondrosarcoma HTB-94 cell line을 사용한 ELISA (enzyme linked immunosorbent assay) 계를 확립하였다. 류마티스성 관절염 관련 inflammation의 주 cytokine으로 알려져 있는 NO를 NO donor인 SNAP(S-nitroso-N-acetyl-DL-penicillamine)을 사용하여 발생시킨 후 HTB-94 cell line이 세포외로 분비하는 MMP-1(matrix metalloproteinase-1)의 생합성량을 측정하였다. SNAP의 처리농도는 MTT assay를 통해 cell viability가 약 30%가 되도록 결정하였으며, SNAP에 의하여 생성된 NO는 Griess reaction으로 정량하였다. 1차적으로 극성도에 따라 추출한 갈조류균, 홍조류균, 녹조류균 등 40여종의 해조류추출물을 대상으로 검색을 실시한 결과 김파래를 비롯한 일부 추출물에서 MMP-1 생합성의 높은 억제 활성을 나타내었다.

## P8-86

### 다시마로부터 장관면역 활성화 물질의 분리 및 정제

이상용\*, 진우진, 신동훈, 조홍연, 홍범식. 고려대학교 생명공학원

면역기관중 점막 면역기관은 외부의 병원성 요인에 노출되어있다. 특히, 점막 면역기관 중 소장내 존재하는 Peyer's patch 는 B/T cell, macrophage, dendritic cell로 구성되고, 병원성 요인이 직접 흡수되는 곳으로 면역의 중추가 된다. 또한 조혈계 세포의 성숙과 분화에 필요한 cytokine을 생산하는 Th cell을 활성화시켜 항체를 형성하는 bone marrow cell의 분화와 성숙에 영향을 주는 것으로 알려져 있다. 본 실험에서는 국내연안에서 대량 채취되는 56가지의 해조류를 대상으로 용매별 극성도에 따라 냉수, 열수, hexane, methanol 획분으로 분리한 후 장관면역 활성도를 측정하였다. 장관면역 활성도는 Peyer's patch cell과 시료를 혐기성 배양기(37 °C, 5%, CO<sub>2</sub> + 95% air)에서 5일간 반응시킨 후, 다시 상등액을 bone marrow cell과 상기조건에서 6일간 배양시켰다. 세포 증식도는 Alamar Blue<sup>TM</sup> reduction assay를 이용하여 측정하였다. 그 결과 다시마의 methanol 획분에서 높은 활성도를 나타내었다. 따라서 다시마를 시료로 선정하여 대량추출을 실시한 결과 활성면에서 계통추출과 유사한 세포 증식도를 보였고, 수율면에서 약 3배의 증가를 보였다. 다시마의 methanol 추출물에 대한 장관면역 활성물질의 정제를 위하여 수용성 성분과 지용성 성분으로 분리한 후 장관면역 활성을 측정할결과 수용성 성분에서 그 활성을 나타내는 물질이 존재함을 알 수 있었다. 정제를 위하여 silica gel column chromatography를 실시하여 그 활성을 측정한 결과 chloroform:methanol 6'4(v/v)에서 높은 활성을 보였다. 이 획분에 대하여 TLC를 실시하여 5개의 획분을 얻었으며, 그 중 장관면역 활성이 높은 Rf = 0.77의 획분을 분리하였다.