

Sulfated fucan에 의한 NIH 3T3 세포의 염증성 cytokine 발현양상 규명  
덕성여자대학교 : 김민지, 서진아, 정하숙\*

The expression of inflammatory cytokine of Sulfated fucan on NIH 3T3  
College of Natural Sciences, Duksung Women's University  
Min Ji Kim, Jin Ah Suh, Ha Sook Chung\*

실험목적

본 연구는 천연물에서 유래된 면역증진소재 개발을 목표로, 해양생물에서 함유황다당체를 분리하여, 저분자화합물 분획을 제조·정제한 후, 세포 수준에서의 cytokine 발현 양상을 규명하였다.

재료 및 방법

○ 실험재료

국내산 다시마로부터 함유황다당체를 추출한 후, 약산을 이용한 site-specific 탈황기법으로 저분자화하여 균일한 성질의 화합물로 분리·정제한 후 실험재료로 사용하였다.

○ 실험방법

- ① 세포주 및 세포 배양: NIH 3T3세포는 Korean Cell Line Bank(Seoul, Korea)에서 구입하여 사용하였다.
- ② MTT assay: 시료의 농도별 처리에 따른 NIH 3T3 세포의 증식 정도는 MTT 방법으로 측정하였다. 세포 증식률은 시료의 흡광도를 대조군의 흡광도에 대한 백분율로 나타내었다.
- ③ RT-PCR: 세포의 증식억제 및 사멸유도 효과가 mRNA 수준에서의 영향을 RT-PCR 방법으로 확인하였다.

실험결과

Fucoidan(HSF)과 Fucoidan 가수분해 산물(LSF)이 NIH 3T3 세포의 증식에 미치는 영향을 MTT assay로 농도에 따른 세포성장 억제 정도를 측정하였다. Fucoidan(HSF)과 Fucoidan 가수분해 산물(LSF)을 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0mg/mL의 농도로 처리하였다. Fucoidan 가수분해 산물(LSF)은 0.01M 염산으로 시간에 따라 처리한 것이며 0시간은 F<sub>0</sub>, 30분 처리시 F<sub>30</sub>, 2시간 처리시 F<sub>120</sub>, 그리고 4시간 처리시 F<sub>240</sub>으로 표기하였으며 농도별 MTT 측정결과는 다음과 같다.(Fig. 1)

Fucoidan(HSF)과 Fucoidan 가수분해 산물(LSF)이 mRNA의 발현에 미치는 정도를 살펴보면 control과 비교시 IL-1은 24시간 배양시 가수분해 산물인 F<sub>30</sub>과 F<sub>120</sub>에서 특이적으로 증가함을 보이며, 이는 염증과 관련된 질환에서 F<sub>30</sub>과 F<sub>120</sub>의 효능을 기대할 수 있는 근거로 작용될 수 있다. 또한 IL-6는 control과 비교시 Fucoidan(HSF)에서는 감소하고 가수분해 산물의 경우 F<sub>0</sub>과 F<sub>30</sub>에서는 감소하나 F<sub>120</sub>과 F<sub>240</sub>에서는 다시 증가함을 보인다. 이를 통해 IL-6는 고분자(HSF) 보다는 가수분해물(LSF)에서 발현이 증가됨을 알 수 있었고, F<sub>120</sub>과 F<sub>240</sub>의 경우 중양 관련 질환에서의 치료개선 효능에 대한 긍정적인 단서로 활용될 수 있다. 또한 48시간 배양시 IL-6가 Fucoidan(HSF) 첨가시 고농도로 발현되는 것으로 확인되었다. (Fig. 2)

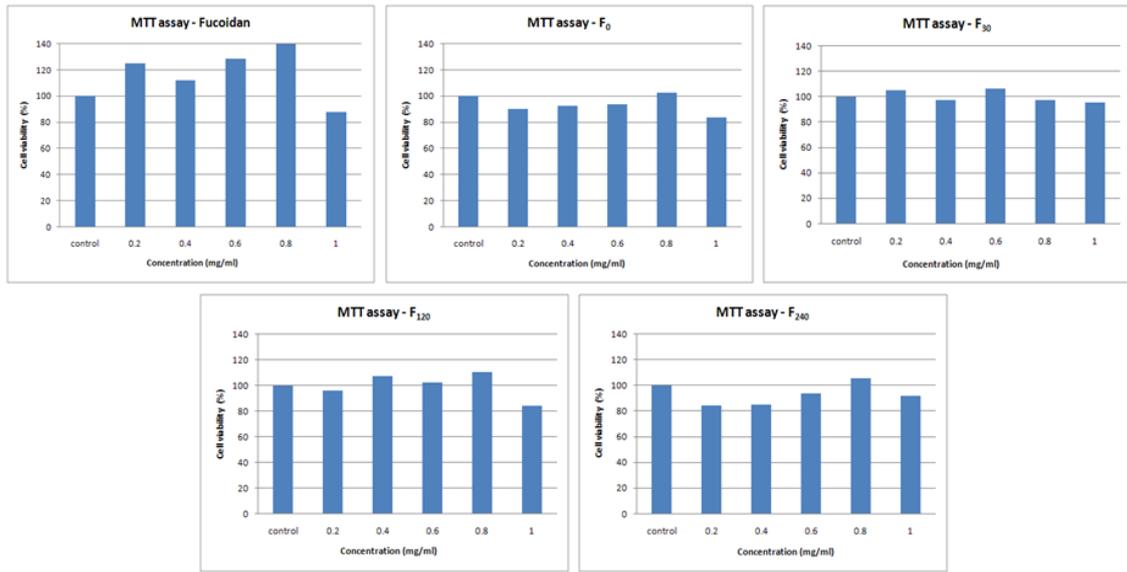


Fig. 1. Effect of Fucoidan(HSF) and Fucoidan(LSF) on NIH 3T3 cell viability by MTT assay

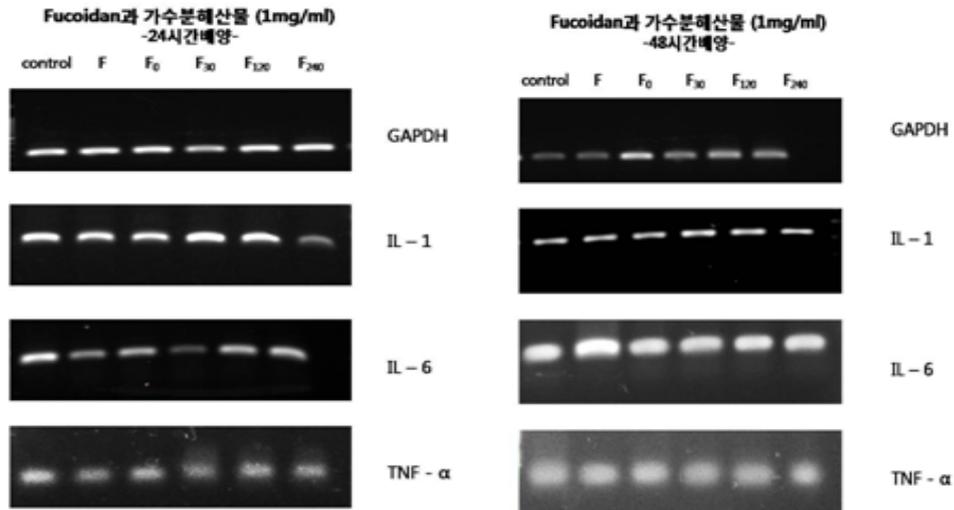


Fig .2. Effect of fucoidan(HSF) and fucoidan(LSF) IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  on mRNA expression in NIH 3T3 cells. Total RNA isolated and reverse-transcribed and PCR was performed with the specific primers for IL-1, IL-6 and TNF- $\alpha$ . PCR products were separated on an agarose gel with TBE buffer and stained with ethidium bromide.