

## 참깨의 리그난 화합물의 항염증 효과

이 화 정<sup>†</sup> · 손 동 주 · 강 명 화\* · 이 범 천\*\* · 홍 진 태

충북대학교 약학대학, \*호서대학교 식품영양학과, \*\*한불화장품(주) 기술연구소  
(2006년 7월 31일 접수, 2006년 8월 14일 채택)

### Effects of Lignan Compound of Sesame on LPS-induced Nitric Oxide Generation in Murine Macrophage RAW 264.7 Cells

Hwa Jeong Lee<sup>†</sup>, Dong Ju Son, Myung Hwa Kang\*, Bum Chun Lee\*\*, and Jin Tae Hong

College of Pharmacy, Chungbuk National University, 48 Gaesin-dong, Heungduk-gu, Cheongju-si, Chungbuk 361-763, Korea

\*Department of Food Science & Nutrition, Hoseo University

\*\*R&D Center, Hanbul Cosmetics Co. Ltd.,

(Received July 31, 2006; Accepted August 14, 2006)

요약: 참깨(*Sesamum indicum* L.)는 1년생 초본식물로서 붉은 참깨나 참기름은 우리나라 식단에서 아주 중요한 조미용 양념 및 식용유로서 이용되고 있다. 약효로는 동맥경화, 고혈압 및 노화 예방 등으로 알려져 왔으나, 참깨에 함유되어 있는 어떤 성분이, 이들 약효에 관여하고 있는지의 과학적인 규명이 미흡한 실정이다. 본 연구에서는 천연물 유래의 새로운 노화방지제를 개발하기 위해 참깨의 리그난 화합물(sesamin, sesamol, sesaminol, sesaminol diglucosides (SDG), sesaminol triglucosides (STG))의 항염증 활성을 검색하고, 그 중에서 항염증 효과가 가장 높게 나타난 sesamin을 전처치 방법과 동시처치 방법으로 NO 생성억제 효과, 세포독성, inducible nitric oxide synthase (iNOS) 및 cyclooxygenases-2 (COX-2) 발현에 미치는 영향을 탐색하고 작용기작을 규명하고자 하였다. 리그난 화합물의 NO 생성억제효과를 탐색한 결과, sesamol, sesaminol, sesamin에서 NO 생성에 미치는 억제율이 높았으나, sesamol, sesaminol은 세포독성이 나타났다. 하지만 sesamin (IC<sub>50</sub>: 64 μM)은 세포독성은 없으면서 농도의존적으로 NO 생성을 억제시켰으며, iNOS 발현에서도 억제 효과를 보여주었다. 결론적으로 sesamin은 피부노화에 원인 중 하나이며 체내 염증반응의 중요 매개체인 NO의 생성을 억제하는 항염증 물질로서 이와 같은 연구 결과는 향후 임상에서 항염증과 관련된 새로운 항노화 전략으로 개발하기 위해 기초자료로 응용될 수 있음을 시사한다.

**Abstract:** Sesame (*Sesamum indicum* L.), one of the oldest oilseed crops, has been known to possess antioxidative and inflammatory effects. This seed contains lignan compounds such as sesamin, sesamol, sesaminol, sesaminol diglucosides (SDG), and sesaminol triglucosides (STG). Sesamin, a major lignan in sesame, displayed several biological activities including a protective effects against oxidative damage in the skin. In the present study, we investigated the effect of sesamin, sesamol, sesaminol, SDG, and STG, on nitric oxide (NO) induction and inducible nitric oxide synthase (iNOS) and cyclooxygenases-2 (COX-2) expression in lipopolysaccharides (LPS)-treated RAW 264.7 cells. The results showed that sesamol and sesaminol significantly inhibited NO generation but they were also cytotoxicity however, sesamin effectively inhibited NO production (IC<sub>50</sub>: 64 μM) without any cytotoxic effect in LPS-stimulated macrophage RAW 264.7 cells. In further study, it was founded that sesamin inhibited the expression of inducible nitric oxide synthase but not COX-2 expression. These results suggest that sesamin may be useful for improvements of the inflammatory diseases.

**Keywords:** sesame, sesamin, nitric oxide, RAW 264.7, iNOS, COX-2

<sup>†</sup> 주 저자 (e-mail: pure-cell@hanmail.net)

## 1. 서 론

참깨(*Sesamum indicum* L.)는 참깨과(Pedaliaceae) 참깨속(*Sesamum*)의 1년생 초본식물로서, 붉은 참깨나 참기름은 우리나라 식단에서 아주 중요한 조미용 양념 및 식용유지로서 이용되고 있다[1]. 참깨에는 세사민(sesamin), 세사몰린(sesamol)과 같이 그 자체가 항산화 활성을 나타내거나, 또는 가공 중에 항산화 성분으로 전환되는 전구체로서의 성분인 세사몰(sesamol), 세사미놀(sesaminol), sesaminol diglucosides (SDG) 및 sesaminol triglucosides (STG) 등의 리그난류 화합물이 다량 함유되어 있어 이들 리그난 화합물의 성분에 관한 생리활성 기능연구에 많은 관심을 받아왔다[2].

최근 참깨의 생리활성 관련 연구 결과에 의하면 참깨의 리그난 화합물이 참기름에 다량 함유된 대표적 항산화 비타민인  $\gamma$ -tocopherol의 항산화 활성을 상승시킬 뿐 아니라[3], 폐경기 여성의 성호르몬 활성화와 혈액지질 개선[4], 항고혈압효과[5], 신장에서의 항산화 효과[6] 및 지방간 완화 작용[7] 등의 다양한 생리활성을 나타내는 것으로 보고되어 있다. 또한, 네팔에서는 전통적으로 신생아의 피부장벽형성에 참깨기름 마사지가 우수한 효과를 나타내는 것으로 알려져 있어 일상에 보편적으로 이용되고 있으며[8], 우리 한방에서는 참깨를 흑지마(黑芝麻)라 하여 피부 점막이 손상되었을 때 피부의 재생 및 회복 촉진의 목적으로 이용되고 있으며[9], 버짐과 주근깨에 참기름을 바르면 상태를 개선시키는 것으로 알려져 있으나[10], 이에 대한 과학적 규명이나 작용기전에 대한 연구는 미비한 실정이다.

피부손상 및 노화의 주요 원인의 일종으로서 염증반응이 알려져 있으며[11], 체내 염증과정에서 활성자유종(reactive radical species)의 일종인 nitric oxide (NO)는 대식세포와 같은 면역세포에 의해 생성되어 각종 생리 및 병리적 과정에 있어 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다[12]. NO는 매우 불안정한 화합물로서 lipopolysaccharide (LPS)와 같은 염증유발물질에 의한 NO 생성효소인 inducible nitric oxide synthase (iNOS)의 활성화를 통해 생성된다. Cyclooxygenase (COX)는 prostaglandin H synthase (PGHS)라고도 불리우며 membrane phospholipid를 prostaglandin류(prostaglandins, thromboxanes)로 변환시키는데 작용하는 중요한 조절효소로서 현재 COX-1과 COX-2가 알려져 있다[13]. COX-1은 조직 내에서 기본적으로 존재하며 일정한 작용을 꾸준히 나타내는 반면에, COX-2는 동물이나 인간의 염증반응 부위에서 발현되는데 다양한 자극에 의해 단기간 내에 급격히 발현되는 것으로 알려져 있다[14]. 대표적 염증유발효소인 COX-2의 발현 증가가 NO의 생성에도 영향을 미치는 것

으로 알려졌다[15].

본 연구에서는 참깨 리그난 화합물의 항염증 효과를 탐색하기 위하여 염증반응에서 화학전달물질을 생성하고 면역반응을 촉진하는 RAW 264.7 cells을 사용하여 LPS로 세포를 자극하면 염증성 화학 전달 물질을 생성하는 효소인 iNOS와 COX-2와 같은 염증매개 효소와 NO와 같은 염증성인자가 증강된다. 따라서, 참깨(sesame)의 리그난 화합물이 피부노화에 원인 중 하나이며 염증반응에 중요 매개인자의 일종인 NO 생성에 미치는 영향을 비교하였고, 그 작용기전으로 iNOS, COX-2 발현에 미치는 영향을 검토하여 작용기작을 규명하고자 하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1. 시험재료 및 시약

본 실험에서 사용된 참깨(*Sesamum indicum* L.)의 리그난 화합물은 호서대학교 식품영양학과에서 정확한 식물학적 검정을 거친 후 사용하였다. 각각의 구조식을 Figure 1에 나타내었다.

### 2.2. 세포배양

Mouse macrophage-like cell line인 RAW 264.7 cells은 한국세포주연구재단에서 구입하였으며, Dulbecco's modified Eagle medium (DMEM)에 10% fetal bovine serum (FBS), 100 U/mL penicillin 및 100  $\mu$ g/mL streptomycin을 혼합한 배지를 사용하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 배양하였다. 실험과정의 모든 cells은 80 ~ 90%의 confluency에서 실험하였고, 20 passages를 넘기지 않은 cell만 사용하였다.

### 2.3. 세포 생존율 측정

Raw 264.7 cells을 96well plate에  $5 \times 10^5$  cells/well로 세포를 분주하고 24 h이 지난 후 WST-8 assay system (Dojin Laboratory, Kumamoto, Japan)을 이용하여 세포의 생존율을 450 nm에서 흡광도를 측정하였다. 세포생존율은 control cell에 대한 백분율로 나타내었다.

$$[\text{cell viability (\% of control)} = \text{OD sample} / \text{OD control} \times 100] \text{ (식 1)}$$

### 2.4. Nitric Oxide 측정

RAW 264.7 세포주로부터 생성된 nitric oxide (NO)의 양은 세포 배양액 중에 존재하는 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>의 형태로써 Griess 시약을 이용하여 측정하였다. 즉, 세포배양 상등액 100  $\mu$ L와 Griess 시약 [0.1% N-(1-naphthyl)-ethylenediamine, 1% sulfanilamide in 5% phosphoric acid] 100  $\mu$ L

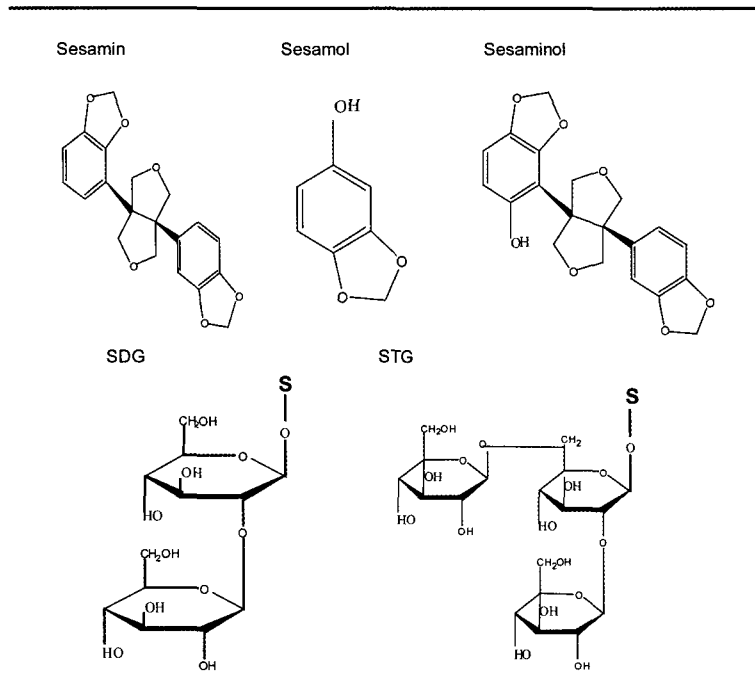


Figure 1. Chemical structure of sesame.

를 혼합하여 96 well plates에서 10 min 동안 반응시킨 후 550 nm 흡광도를 측정하였다. NO<sub>2</sub><sup>-</sup>의 농도는 sodium nitrate를 희석하여 흡광도를 측정하여 표준곡선을 얻었다.

2.5. Western Blot 시험

참깨(sesame)의 iNOS, COX-2 단백질 발현에 미치는 영향을 검색하기 위하여 Western blot 분석을 실시하였다. RAW 264.7 세포에 각 농도의 sesamin 및 LPS를 처리하여 24 h 동안 배양한 후 protein extraction solution (PRO-PREP, iNtRON Biotechnology Co, Inc., Seongnam, Korea)으로 단백질을 추출한 후 4°C에서 12,000 rpm으로 10 min간 원심 분리하여 상등액을 취하였다. 단백질은 bovine serum albumin을 표준물질로 Bio-Rad protein assay kit (Bio-Rad Laboratories, Inc., Hercules, CA, USA)을 사용하여 Bradford 법에 따라 정량하였다. 50 g의 단백질을 5 × SDS sample buffer에 넣고 100°C에서 5 min간 가열한 후 시료로 사용하였다. 10% SDS polyacrylamide gel에서 80 V로 전기영동한 후 nitrocellulose membrane으로 transfer시키고 5% skim milk를 함유한 blocking solution에서 1 h 동안 반응시켰다. iNOS 및 COX-2 항체(Santa Cruz Biotechnology Inc., Santa Cruz, CA, USA)를 1 : 500의 비율로 희석하여 4 h 동안 상온에서 반응시킨 후 Tris-buffered saline [10 Mm Tris (pH 8.0), 150 mM NaCl]으로 5 min씩 3번 washing하였다.

1 : 2000의 비율로 희석한 2차 항체(anti-rabbit immunoglobulin G-horseradish peroxidase, Santa Cruz Biotechnology Inc.)로 2 h 동안 상온에서 반응한 후 Tris-buffered saline으로 3번 washing하였다. 최종적으로 Western blot detection system (WEST-ZOL plus, iNtRON Biotechnology Co, Inc.)을 이용하여 단백질의 발현정도를 관찰하였다.

2.6. 자료분석 및 통계처리

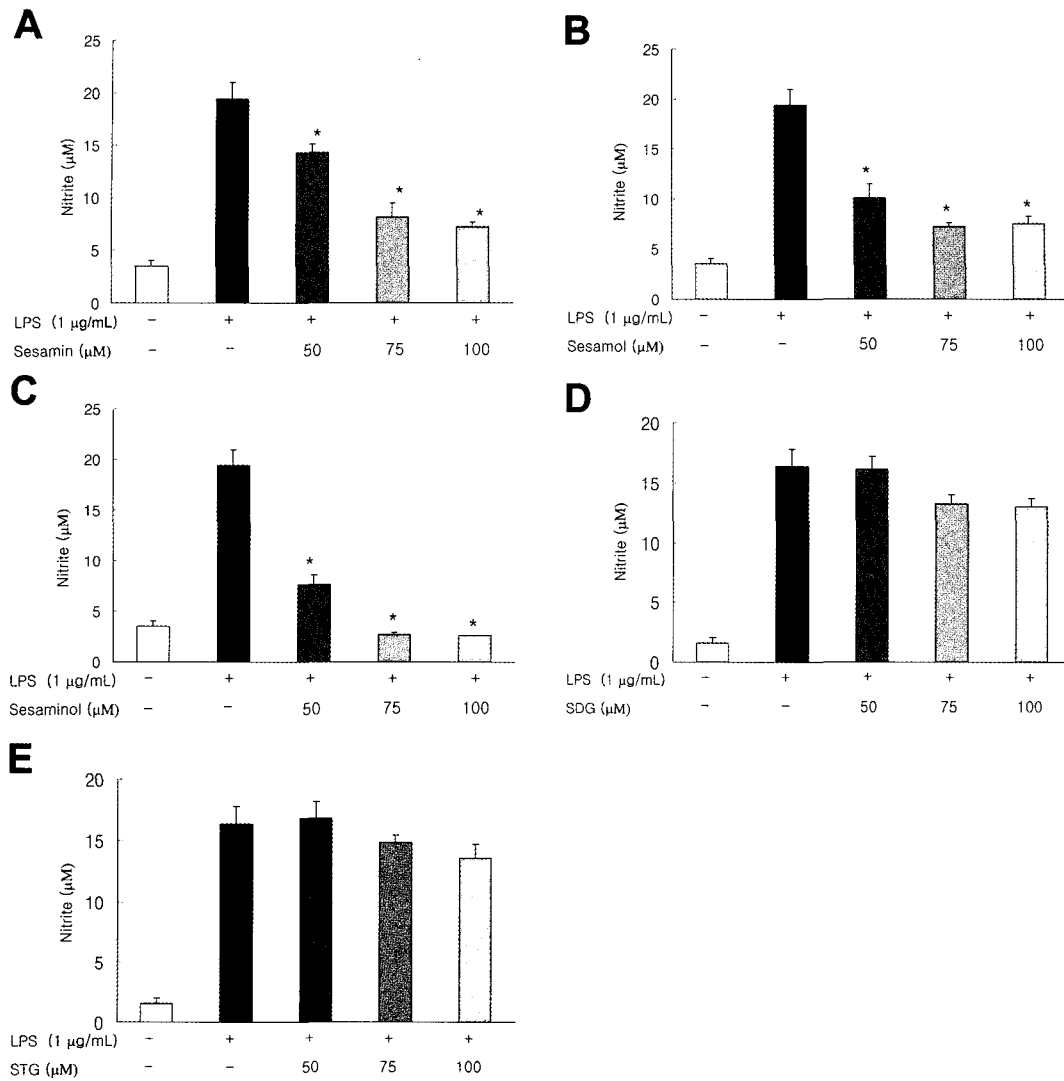
모든 실험 결과는 평균 표준편차로 표기하였고 통계적 유의성은 student's t-test로 하였으며 p값이 0.05 미만 일 때 통계적으로 유의하다고 판단하였다.

3. 결 과

3.1. LPS로 유도된 NO 생성에 있어 Sesame의 효과

RAW 264.7 cells은 LPS 자극에 의하여 염증 신호가 전달되면 다량의 NO를 생성하며, 생성된 NO는 배지로 방출된다. 활성화된 RAW 264.7 cell을 배양하여 sesamin, sesamol, sesaminol, SDG, STG의 NO 생성억제 정도를 규명하기 위해 50, 75, 100 μM의 농도로 24 h 처리하여 배양 상층액 내의 NO 생성량을 측정하였다(Figure 2).

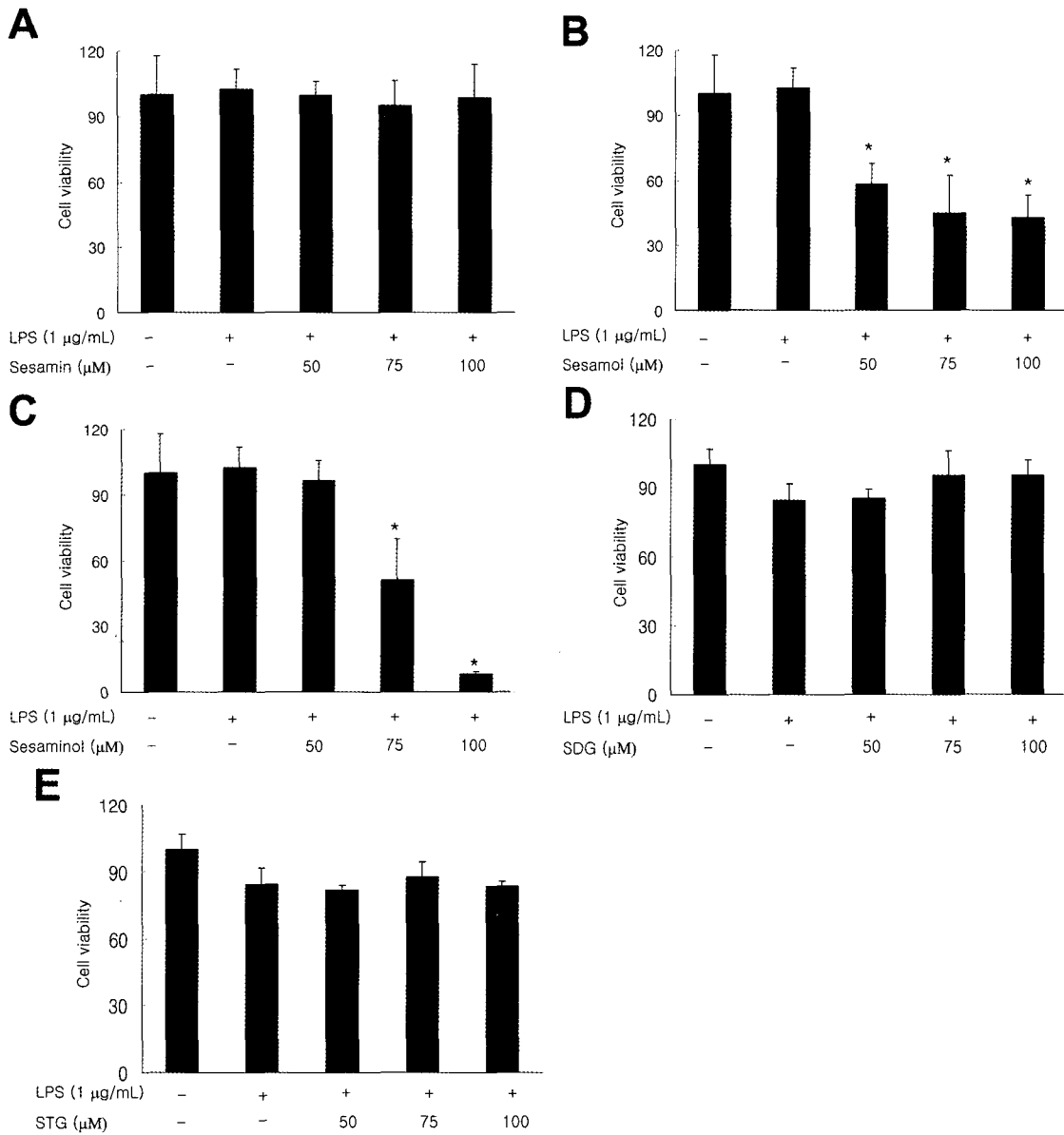
Sesamin에서 효과적으로 NO 생성을 억제시키는 것이 관찰되었는데, 자극을 하지 않은 안정 상태의 RAW 264.7



**Figure 2.** Effect of sesamin, sesamol, sesaminol, SDG and STG on LPS-induced NO generation in RAW 264.7 cells. NO generation was investigated by measuring the accumulated nitrite. (A) Inhibition of nitrite release by sesamin in RAW 264.7 cells. (B) Inhibition of nitrite release by sesamol in RAW 264.7 cells. (C) Inhibition of nitrite release by sesaminol in RAW 264.7 cells. (D) Inhibition of nitrite release by SDG in RAW 264.7 cells. (E) Inhibition of nitrite release by in STG in RAW 264.7 cells. The cells were treated with or without 1 µg/mL LPS in the absence or presence of various concentrations of sesame compounds for 24 h. Each 50 µL of culture medium was mixed with an equal volume of Griess reagent and absorbance at 550 nm was measured. Values are mean ± S.D. from three separated experiments with triplicate. \*P < 0.05 indicate significantly different from the LPS-treated cells.

cells에서는 3.4 µM의 NO가 생성되었으며, LPS로 자극된 RAW 264.7 cells은 16배 이상 증가한 19.4 µM의 NO가 생성되었다. Sesamin 최저 농도 50 µM에서 26%, 75 µM에서 58%, 그리고 100 µM에서는 62%의 억제효과를 나타내었다(Figure 2A). Sesamol은 최저 농도 50 µM에서 48%, 75 µM에서 62%, 그리고 100 µM에서는 61%의 억제효과를 나타내었다(Figure 2B). Sesaminol은 최저 농도

50 µM에서 60%, 75 µM에서 86.1%, 그리고 100 µM에서는 86.7%의 억제효과를 나타내었는데 NO를 농도의존적으로 가장 크게 억제하였다(Figure 2C). SDG 최종 농도 50 µM에서 6%, 75 µM에서 7.5%, 그리고 100 µM에서는 7.6%의 억제효과를 나타내었다(Figure 2D). STG 최저 농도 50 µM에서 5.9%, 75 µM에서 6.7%, 그리고 100 µM에서는 7.3%의 억제효과를 나타내었다(Figure 2E).

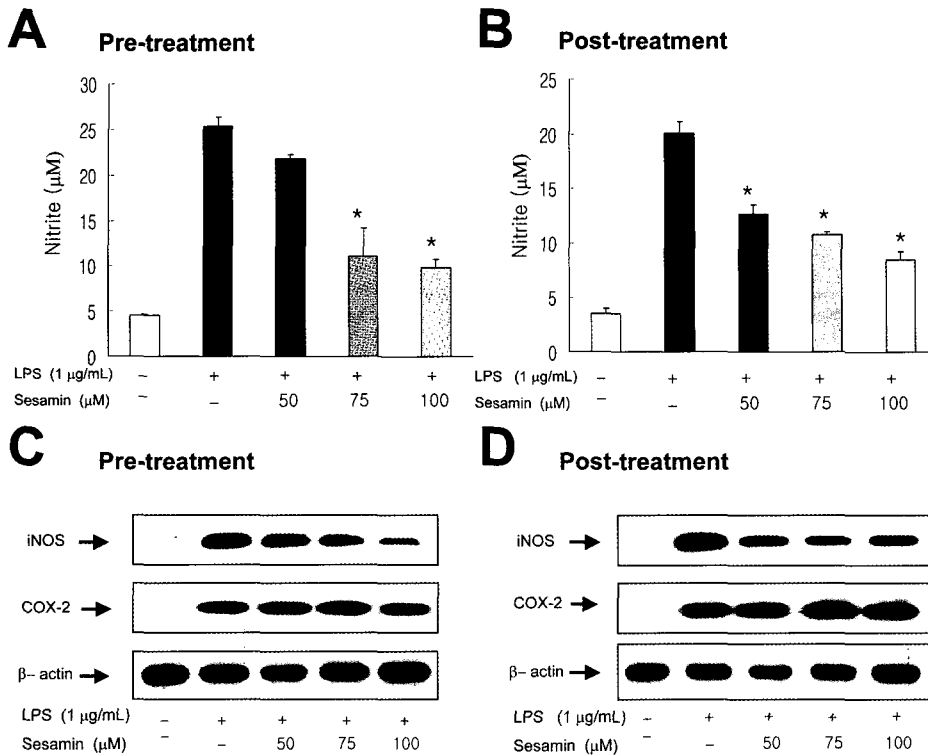


**Figure 3.** Effect of sesamin, sesamol, sesaminol, SDG and STG on cell viability in LPS-stimulated RAW 264.7 cells. (A) Cell viability sesamin in RAW 264.7 cells. (B) Cell viability sesamol in RAW 264.7 cells. (C) Cell viability sesaminol in RAW 264.7 cells. (D) Cell viability SDG in RAW 264.7 cells. (E) Cell viability STG in RAW 264.7 cells. Cells were treated with 50, 75, and 100 (µM plus 1 µg/mL LPS for 24 h. Cell viability was determined by WST-8 assay system. Values are mean ± S.D. from three separated experiments with triplicate. \*P < 0.05 indicate significantly different from the LPS-treated cells.

### 3.2. Sesame의 세포 생존력

참깨의 리그난 화합물이 NO 생성을 억제시킨 것이, 리그난 화합물의 세포독성으로 인한 cell population의 저하에서 기인하였는지를 관찰하기 위하여 sesamin, sesamol, sesaminol, SDG, STG를 50, 75, 100 µM로 처리한 후 WST-8 assay를 실시하여 cell viability를 측정하였다

(Figure 3). Sesamin은 최저농도 50 µM에서 99%, 75 µM에서 94%, 그리고 100 µM에서는 98%의 세포 생존력을 나타내었다(Figure 3A). NO 생성억제가 세포독성으로 인한 cell population의 저하에서 기인하지 않은 것이 관찰되었다. 그러나, Sesamol은 최저농도 50 µM에서 58%, 75 µM에서 44%, 그리고 100 µM에서는 42%의 세포 생존력



**Figure 4.** Effect of sesamin pretreatment on LPS- induced NO generation (A and B) and iNOS and COX-2 (C and D) protein expression in RAW 264.7 cells. The cells were pretreated with sesamin for 24 h and the medium was replaced with fresh medium containing sesamin. The cells were treated with 1 µg/mL of LPS alone or LPS plus different concentrations (50, 75, and 100 µM) of sesamin for 24 h. Equal amounts of total proteins were subjected to 10% SDS-PAGE, and expression of iNOS, COX-2 protein was detected by Western blotting using specific antibodies. β-actin protein was used here as an internal standard. Data were described as mean S.D. from three experiments performed in triplicate for iNOS/β-actin. \*P < 0.05 indicate significantly different from the LPS-treated cells.

을 나타내어 NO 생성억제가 세포독성으로 인한 cell population의 저하에서 기인하였다는 것이 관찰되었다 (Figure 3B). Sesamin도 최저농도 50 µM에서 96%, 75 µM에서 51%, 그리고 100 µM에서는 8%의 세포 생존력을 나타내어 리그난 화합물 중 가장 효과적으로 NO 생성을 억제시켰지만 이는 sesaminol의 세포독성으로 인한 cell population의 저하에서 기인하였다는 것이 관찰되었다 (Figure 3C). SDG는 최저농도 50 µM에서 85%, 75 µM에서 95%, 그리고 100 µM에서는 95%의 세포 생존력을 나타내었다 (Figure 3D). STG은 최저농도 50 µM에서 81%, 75 µM에서 87%, 그리고 100 µM에서는 83%의 세포 생존력을 나타내었다 (Figure 3E). 이상의 결과를 바탕으로 LPS에 의하여 생성이 증가한 NO를 농도의존적으로 억제하면서 세포생존도의 감소는 나타내지 않은 것은 sesamin으로 확인되었다.

**3.3. Sesamin 전처치 방법과 동시처치방법으로 NO 생성 억제에 미치는 효과**

참깨의 리그난 화합물 중 NO를 농도의존적으로 억제 하면서 세포생존도의 감소는 나타내지 않았던 sesamin을 전처치한 후 LPS를 처리하여 NO 생성이 억제되는지 실험하였다 (Figure 4). 실험결과, sesamin을 처리한 24 h 후 LPS를 처리하여 24 h 후에 NO를 농도의존적으로 감소하는지를 확인하였다. Sesamin 50 µM에서 13%, 75 µM에서 56%, 그리고 100 µM 농도에서는 61%로 모두 농도의존적으로 감소하는 것을 확인할 수 있었다. 실험에 사용된 sesamin의 농도가 증가함에 따라 NO 생성도 억제되었는데 최고농도인 100 µM에서도 세포독성은 없었으며, NO 생성을 억제하는 IC<sub>50</sub>는 69 µM로 확인되었다 (Figure 4A).

참깨의 리그난 화합물 중 NO 생성을 억제하면서 세포 생존도의 감소도 나타내지 않았던 sesamin을 LPS와 동시처치 하여 NO 생성이 억제되는지를 실험하였다 (Figure 4B). 실험결과, sesamin과 LPS를 동시에 처리하여 24 h

후에 NO를 농도의존적으로 감소하는지를 확인하였다. Sesamin 50  $\mu\text{M}$ 에서 37%, 75  $\mu\text{M}$ 에서 46%, 그리고 100  $\mu\text{M}$  농도에서는 58%로 모두 유의성 있게 농도의존적으로 감소하는 것을 확인할 수 있었다. 실험에 사용된 sesamin의 농도가 증가함에 따라 NO 생성도 억제되었는데 최고 농도인 100  $\mu\text{M}$ 에서도 세포독성은 없었으며, NO 생성을 억제하는  $\text{IC}_{50}$ 는 59  $\mu\text{M}$ 로 확인되었다(Figure 4B).

### 3.4. Sesamin 전처치 방법과 동시처치방법으로 iNOS와 COX-2 단백질 발현 억제효과

NO 생성에 대한 sesamin의 억제효과가 iNOS와 COX-2 단백질 발현 억제에 의한 것인지를 확인하기 위하여 iNOS와 COX-2에 미치는 영향을 평가하였다. Sesamin을 전처치 한 후 RAW 264.7 cell에 LPS 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  처리하였을 때 iNOS가 발현되었으며 LPS 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  처리하지 않은 RAW 264.7 cell은 단백질의 발현을 하지 않았다. LPS 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 과 sesamin의 세포생존도에 영향을 미치지 않은 50, 75, 100  $\mu\text{M}$  농도에서 iNOS 단백질의 발현을 농도 의존적으로 저해하였으며 특히, 100  $\mu\text{M}$ 에서는 매우 효과적으로 발현을 현저하게 억제하였다. 그러나 COX-2 단백질 발현에 대해서는 감소하는 경향을 나타내지 않았다(Figure 4C). 또한 sesamin을 동시처치 한 후 RAW 264.7 cell에 LPS 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  처리하였을 때 iNOS가 발현되었으며 LPS 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  처리하지 않은 RAW 264.7 cell은 단백질의 발현을 하지 않았다. Sesamin 50, 75, 100  $\mu\text{M}$  농도에서 iNOS 단백질의 발현을 농도 의존적으로 저해하였으며 전처치, 동시처치 모두에서 동일하게 감소함을 발견하였다. 그러나 sesamin 전처치 방법에서와 같이 COX-2 단백질 발현에 대해서는 감소하는 경향을 나타내지 않았다(Figure 4D). 이상의 실험 결과를 바탕으로 sesamin에 의한 NO 생성 억제는 iNOS 단백질 발현의 조절에 의한 것임을 알 수 있었으며 sesamin에 의한 COX-2 단백질의 발현 억제는 유의성이 없는 것으로 확인되었다.

## 4. 고 찰

염증반응은 세균이나 외부 이물질의 침입에 대한 생체 조직의 국소적 방어 반응으로 일어나며 동시에 염증성 세포와 방어 기작으로 대식세포가 활성화된다. 외부자극에 의하여 활성화된 대식세포는 여러 신호 경로를 통하여 염증 매개 효소(iNOS, COX-2), 사이토카인(TNF-, IL-1 $\beta$ , IL-6), 히스타민, PGE<sub>2</sub>, 보체 및 chemokine 등을 생성한다. 일반적으로 정상적인 상태에서 소량 생성되는 NO, PGE<sub>2</sub>, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ 와 IL-6는 정상적인 생리 기능 조절에 관여하지만 자극에 의하여 과량 생성되면 당뇨병, 동맥경화, 알츠하이머, 질환, 백내장, 재관류 상해,

암 그리고 뇌수막염 및 류마티스성 발열과 같은 감염 후 질환, 침투성 홍반성 낭창 및 류마티스 관절염 등 류마티스 질환과 같은 다양한 염증성 질병을 초래한다[16,17].

참깨는 예로부터 동맥경화나 고혈압을 비롯한 노화 예방 등의 약효를 갖는 훌륭한 전통식품으로 알려져 왔으며, 1990년대 이후로는 리그난류 화합물의 생리활성에 관한 연구가 보고되었다. 최근 연구에 의하면 Liu 등[18]은 LPS를 투여하여 패혈증을 유발한 rats에 sesame oil이 rats의 사망률을 낮추고 패혈증을 억제한다고 보고하였다. LPS는 세포막에 존재하는 수용체인 TLR-4와 결합하여 하위로 신호를 전달하여 NF- $\kappa$ B, AP-1 및 CREB와 같은 여러 전사인자를 활성화 시킨다. 따라서 대식세포는 LPS 자극에 대하여 빠른 시간에 신호를 전달할 수 있다는 것을 의미한다. NO는 정상상태의 세포에서도 소량 생성되어 혈관확장과 신경전달 등 정상적인 생리활성을 조절하지만 자극에 의하여 과량 생성된 NO는 염증성 질환을 초래한다.

지금까지 이루어진 NO 저해제 탐색 연구는 NO가 발현되는 세포주를 이용하는 실험으로 특히, 마우스의 대식세포에 LPS를 처리하면 염증매개물질의 최종 산물인 NO가 증가하게 되는데, 이는 주로 iNOS 염증 매개 효소에 기인하는 것으로 NO 억제 활성 검색에 유용한 것으로 사료된다. 이에 본 연구에서는 피부노화 원인 중에 하나인 염증반응에 대한 5가지 리그난 화합물이 항염증 효과를 보이는지를 관찰하였고 그 중 가장 효과적으로 나타난 화합물인 sesamin을 선택하여 전처치 방법과 동시처치 방법으로 NO 생성억제와 iNOS, COX-2 발현에 어떤 차이를 보이는지를 관찰하였다. 그 결과 RAW 264.7 cells에서는 sesamin 전처치, 동시처치 여부에 상관없이 LPS 유도 NO 생성능은 현저히 억제되었고, 세포 생존도에도 변화가 없음을 확인할 수 있었다. Western blot으로 분석한 결과에서는 전처치와 동시처치 sesamin에 의한 iNOS와 COX-2 발현 억제는 NO 생성 억제와 매우 유사한 경향을 나타냄으로써 NO 생성 억제는 iNOS의 발현저해를 경유한 것임을 알 수 있었다. 그러나 LPS에 의해 형성되는 COX-2 발현 억제는 감소시키지는 못하였다. 이와 같은 연구의 결과는 RAW 264.7 cells이 LPS에 상당시간 노출에도 sesamin에 의해 세포 생존도에는 영향을 미치지 않으면서 LPS 유도 NO 생성능을 효과적으로 억제시킬 수 있음을 시사한다.

결론적으로 본 연구를 통하여 RAW 264.7 cells에서 sesamin 전처치와 동시처치 모두 세포 생존도에는 영향을 주지 않으면서 NO 생성억제효과와 iNOS 발현이 억제되었으며, 이와 같은 현상이 나타나는 기전에는 NF- $\kappa$ B가 promoter로 작용하여 발현을 조절하는 것으로 알려져 있어 앞으로 이러한 유전자의 발현 조절물질 등의 활성

도 연구되어야 한다. 이와 같은 연구 결과는 향후 임상에서 항염증과 관련된 새로운 항노화 전략으로 개발하기 위해 기초자료로 응용될 수 있음을 시사한다.

### 참 고 문 헌

1. 김금숙, 김동휘, 정미란, 장인복, 심강보, 강철환, 이승은, 성낙술, 송경식, 참깨품종별 Sesamin, Sesamolin 함량 변이, *Korean J. Crop Sci.*, **49**, 496 (2004).
2. 엄민영, 최원희, 안지윤, 김성란, 하태열, 노화축진마우스에 있어서 참깨박 및 들깨박의 메탄올 추출물이 인지기능 및 항산화능에 미치는 영향, *한국식품학회지*, **4**, 637 (2004).
3. 강명화, 오명규, 방진기, 김동휘, 강철환, 이봉호, 국내 참깨 품종의 리그난 함량 및 지방산 조성, *Korean J. Crop Sci.*, **45**, 203 (2000).
4. W. H. Wu, Y. P. Kang, N. H. Wang, H. J. Jou, and T. A. Wang, Sesame ingestion affects sex hormones, antioxidant status, and blood lipids in postmenopausal women, *J. Nutr.*, **136**, 1270 (2006).
5. D. Nakano, C. J. Kwak, K. Fujii, K. Ikemura, A. Satake, M. Ohkita, M. Takaoka, Y. Ono, M. Nakai, N. Tomimori, Y. Kiso, and Y. Matsumura, Sesamin metabolites induce an endothelial nitric oxide dependent vasorelaxation through their antioxidative property-independent mechanisms: possible involvement of the metabolites in the antihypertensive effect of sesamin, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **318**, 328 (2006).
6. D. Z. Hsu, S. B. Su, S. P. Chien, P. J. Chiang, Y. H. Li, Y. J. Lo, and M. Y. Liu, Effect of sesame oil on oxidative-stress-associated renal injury in endotoxemic rats: involvement of nitric oxide and proinflammatory cytokines, *Shock*, **24**, 276 (2005).
7. Y. Kiso, N. Tsuruoka, A. Kidokoro, I. Matsumoto, and K. Abe, Sesamin ingestion regulates the transcription levels of hepatic metabolizing enzymes for alcohol and lipids in rats, *Alcohol Clin. Exp. Res.*, **29**, 116S (2005).
8. L. C. Mullany, G. L. Darmstadt, S. K. Khatry, and J. M. Titlsch, Traditional massage of newborns in Nepal: implications for trials of improved practice, *J. Trop. Pediatr.*, **51**, 82 (2005).
9. 박찬국, 한의학 특강, 집문당 (2002).
10. 김이현, 한방피부미용법 330 지혜, 한방미디어 (2000).
11. H. Kawamata, H. Ochiai, N. Mantani, and K. Terasawa, Enhanced expression of inducible nitric oxide synthase by Juzen-taiho-to in LPS-activated RAW 264.7 cells, a murine macrophage cell line, *Am. J. Chin Med.*, **28**, 217 (2000).
12. B. G. Lee, S. H. Kim, O. P. Zee, H. Y. Lee, J. W. Han, and H. W. Lee, Suppression of inducible nitric oxide synthase expression in RAW 264.7 macrophages by two-carboline alkaloids extracted from *Melia azedarach*, *Eur. J. Pharmacol.*, **406**, 301 (2004).
13. W. G. Seo, H. O. Pae, G. S. Oh, K. Y. Chai, Y. G. Yun, T. O. Kwon, and H. T. Chung, Inhibitory effect of ethyl acetate fraction from *Cudrania tricuspidata* on the expression of nitric oxide synthase gene in RAW 264.7 macrophages stimulated with interferon- and lipopolysaccharide, *Gen. Pharmacol.*, **35**, 21 (2000).
14. W. F. Chiou, C. J. Chou, and C. F. Chen, Camptothecin suppresses nitric oxide biosynthesis in RAW 264.7 macrophages, *Life Sci.*, **69**, 625 (2001).
15. H. J. Park, S. H. Lee, D. J. Son, K. W. Oh, K. H. Kim, H. S. Song, G. J. Kim, G. T. Oh, D. Y. Toon, and J. T. Hong, Antiarthritic effect of bee venom: Inhibition of inflammation mediator generation by suppression of NF- $\kappa$ B through interaction with the p50 Subunit, *Arthritis Rheum.*, **50**, 3504 (2004).
16. X. Mariette, Tolerance of anti-TNF alpha: the experience acquired in inflammatory rheumatic disease, *Ann Dermatol Venereol.*, **133**, 158 (2006).
17. H. S. Jang, S. K. Kim, J. B. Han, H. J. Ahn, H. Bae, and B. I. Min, Effects of bee venom on the pro-inflammatory responses in RAW 264.7 macrophage cell line, *J. Ethnopharmacol.*, **13**, 157 (2005).
18. D. Z. Hsu, K. T. Chen, Y. H. Li, Y. C. Chuang, and M. Y. Liu, Sesamol delays mortality and attenuates hepatic injury after cecal ligation and puncture in rats: role of oxidative stress, *Shock*, **25**, 528 (2006).