

해수산 클로렐라(*Chlorella ellipsoidea*) 유기용매 추출물의 항염증 효과

최유진·조월순·김현지·남병혁²·강은영²·오수정·이계안¹·정민호*
동아대학교 의학과, ¹엔엘피(주), ²부산 테크노파크 해양생물산업육성센터

Anti-Inflammatory Effect of *Chlorella ellipsoidea* Extracted from Seawater by Organic Solvents

Yoo Jin Choi, Wol Soon Jo, Hyoun Ji Kim, Byung Hyouk Nam²,
Eun Young Kang², Su Jung Oh, Gye An Lee¹ and Min Ho Jeong*

Department of Parasitology, College of Medicine, Dong-A University,
Busan 602-714, Korea

¹NLP Co. LTD, Busan 619-912, Korea

²Busan Techno-Park, Marine Bio-industry Development Center,
Busan 619-912, Korea

Chlorella has been reported to have certain beneficial physiological effects, including hypocholesterolemic, antihypertensive, antioxidative, and anti-tumor activities in animal and human studies. The aim of this study was to determine the anti-inflammatory activities of an 80% methanol extract (CE-Met), hexane fraction (CE-Hex), and ethyl acetate fraction (CE-EA) of *Chlorella ellipsoidea* in lipopolysaccharide (LPS)-stimulated RAW 264.7 murine macrophage. Treatment with various concentrations of the *C. ellipsoidea* extract resulted in a significant, dose-dependent reduction in nitric oxide (NO) production by LPS-induced macrophages. The *C. ellipsoidea* extract significantly inhibited LPS-induced NO production accompanied by an attenuation of IL-6 and TNF- α formation in macrophages. These results suggest potent inhibitory effects on the production of inflammatory mediators by a *C. ellipsoidea* extract. Thus, *C. ellipsoidea* extract may be a potent anti-inflammatory agent for troubled skin.

Key words: *Chlorella ellipsoidea*, Anti-inflammation, RAW264.7 cells, Nitricoxide, Pro-inflammatory cytokines

서 론

클로렐라는 광합성에 의하여 성장, 증식하는 직경 2~10 μm 의 구형 단세포 녹조류로 엽록소 (chlorophyll a와 b)를 다량 함유하고 있으며, 세포 표면은 셀룰로오스와 헤미셀룰로오스의 세포막으로 이루어져 있다. 클로렐라는 단백질과 비타민 B군, β -carotene 등의 비타민, 미네랄, 핵산 및 불포화지방산 등을 함유하고 있어 녹황색 야채의 대체작용이 있는 건강식품으로 인지되고 있으며(Kay et al., 1991), 클로렐라의 단백질은 필수아미노산인 이소루신, 루신, 라이신, 페닐알라닌, 타이로신 및 발린이 전체 아미노산의 36%를 차지하고 있어 우수한 단백질이다(Park et al., 2002). 특히 해수산 클로렐라인 *Chlorella ellipsoidea*는 일본과 한국에서 rotifer와 brine shrimp의 먹이로 많이 이용되며, 담수산 클로렐라에 비해 지질과 eicosapentaenoic acid (EPA)를 다량 함유하고 있다 (Hatano et al., 1982; Cabrera et al., 2005).

이러한 클로렐라는 다양한 생리적 기능성이 규명되고 있는데, 콜레스테롤 저하 작용 (Shibata et al., 2001), 혈압상승 억제 작용 (Merchant et al., 2002), 간 기능 개선 작용 (Shim et al., 2008), 면역기능 향상 (Guzman et al., 2003), 항산화 작용 (Lee

et al., 2003) 등이 보고되고 있다. 다양한 생리활성 기능을 가지고 있는 클로렐라는 기능성식품, 식품첨가물, 화장품 제조 등 다양하게 이용되고 있다.

자연환경이 파괴되고 공해가 심각해짐으로 인해 우리의 피부는 여러 가지 유해 물질들의 노출에 의하여 자극을 받게 되고, 이에 민감성 피부가 증가하였다 (Lee et al., 2004). 항염 효능은 피부 진정과 여드름, 아토피에 관련하여 피부 자극 완화를 목적으로 하는 화장품류에 많이 사용되고 있는데, 최근에 개발되어 광범위하게 사용되고 있는 합성 항염증제의 많은 부작용 및 경제성장에 따라 건강에 대한 관심이 급증하면서 피부 트러블의 보완 가능한 천연 항염증 소재에 대한 관심이 증대되고 있다 (Czamedkca et al., 2005).

염증반응은 감염 또는 조직손상 후에 손상을 이환부위에 제한시킴으로서 다양한 세포와 사이토카인들이 관여하여 초기 방어를 제공하는 일련의 과정이다 (Mariathan et al., 2007). 대식세포 (macrophage)는 선천면역뿐만 아니라 획득면역 등 다양한 숙주반응에 관여하여 항상성 유지에 관여하는 것으로 알려져 있으며, 염증반응 시에는 nitric oxide (NO)와 사이토카인을 생산하여 감염초기에 생체방어에 중요한 역할을 한다 (Higuchi et al., 1990). 내독소로 잘 알려진 lipopolysaccharide (LPS)는 그람-음성균의 세포외막에 존재하

*Corresponding author: mhjeong@dau.ac.kr

며, RAW 264.7과 같은 대식세포 또는 단핵구에서 TNF- α , IL-6, IL-1 β 같은 pro-inflammatory cytokine들을 증가시키는 것으로 알려져 있다 (Willeaume et al., 1996). 초기 염증반응에 깊이 관여하는 염증매개물질인 pro-inflammatory cytokine들의 형성은 phospholipase A2의 활성화로 인해 arachidonic acid가 prostaglandin으로 바뀌는 과정 및 NO 등을 대량 생성함으로써 염증매개에 큰 역할을 한다 (MeDaniel et al., 1996). 일반적인 NO의 형성은 박테리아를 죽이거나 종양을 제거시키는 중요한 역할을 하지만, 병리적인 원인에 의한 과도한 NO의 형성은 염증을 유발시키게 되며 조직의 손상, 유전자 변이 및 신경 손상등을 유발한다.

담수산 클로렐라에서의 카로티노이드계 물질의 추출 및 효능에 대해서는 많은 연구가 이루어 졌지만, 아직 해수산 클로렐라에 대해서는 그 연구가 미비하여, 본 연구에서는 해수산 클로렐라 *Chlorella ellipsoidea* 유기용매 추출물에서의 항염증 활성을 조사하기 위하여 LPS로 활성화된 마우스 대식세포 유래의 RAW 264.7 세포에서 NO의 생성억제 효과 및 염증성 사이토카인 IL-6, TNF- α 의 생성억제 효능을 확인하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 연구에 사용된 해수산 클로렐라 *Chlorella ellipsoidea*는 부산 사상구에 위치한 ㈜ 클로랜드에서 농축된 배양액을 제공 받았다.

해수산 클로렐라 (*Chlorella ellipsoidea*)의 유기용매 추출

농축된 배양액은 증류수를 첨가하여 4°C, 10,000 rpm에서 20분간 원심분리 하였다. 총 3회 세척하여 상등액은 제거하고 세포만 회수하였다. 세포의 5배량에 해당하는 증류수를 넣고, 30분간 초음파 파쇄 후, 동결 건조하여 추출용 시료로 사용하였다. 분말 건조된 시료에 4배량의 80% 메탄올을 첨가하여 추출한 후 여과하여 얻어진 추출액은 감압농축기 (rotary vacuum evaporator)로 45°C 이하에서 농축하여 동결건조기로 완전 건조시켰다.

건조된 메탄올 추출물에 10배량의 80% 메탄올과 동량의 헥산을 첨가하여 분획깔대기로 헥산과 80% 메탄올 층으로 분획화하였다. 80% 메탄올 층은 감압농축기를 이용하여 농축한 후, 에틸아세테이트와 물을 동량 처리하여 분획깔대기로 에틸아세테이트와 수층으로 분획화하였다. 순차적으로 분획화한 헥산, 에틸아세테이트 분획물은 감압농축기를 이용하여 각각 농축한 후, 동결 건조하였다. 각 동결 건조하여 얻은 80% 메탄올 추출물 (CE-Met)과 헥산 분획물 (CE-Hex), 에틸아세테이트 분획물 (CE-EA)을 실험에 사용하였다 (Fig. 1).

세포배양

마우스의 대식세포주인 RAW 264.7세포는 한국세포주은행 (KCLB)에서 구입하였고, 세포배양은 10% FBS, 100 unit/mL penicillin, 그리고 100 μ g/mL streptomycin을 포함하는 RPMI 1640 배지를 사용하여, 37°C, 5% CO₂조건에서 배양하였다.

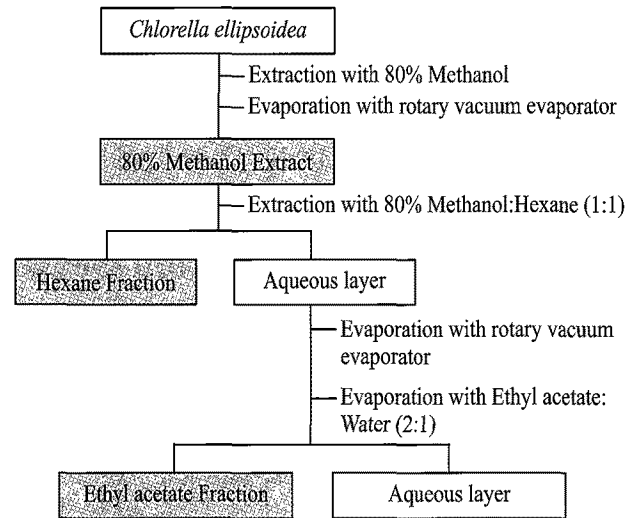


Fig. 1. The procedure for the solvent fraction of *Chlorella ellipsoidea*.

세포독성시험

해수산 클로렐라 유기용매 추출물의 세포독성을 확인하고자 MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide) (Sigma, MO, USA) assay를 실시하였다. 이 방법은 MTT가 formazan으로 전환되는 것을 측정하는 것으로, 96 well plate에 1×10^4 cells/well의 RAW 264.7 세포를 분주하고 37°C, 5% CO₂ incubator에서 24시간 동안 배양한 후, 클로렐라 추출물을 농도별(0, 5, 10, 20, 40, 80 μ g/mL)로 24시간 동안 처리하였다. 24시간 후, 배양액을 제거하고, MTT를 최종농도 500 μ g/mL이 되도록 각 well에 가하고 추가로 4시간 동안 37°C에서 반응시켰다. 배양액을 모두 제거하고 DMSO 용액 150 μ L을 첨가하여 생성된 formazan을 용해시킨 뒤, Microplate reader (Opsys MR, DYNEX, USA)를 이용하여 550 nm에서의 흡광도를 측정하고 대조군과의 비교를 통해 상대적인 세포생존율 (% of control)을 계산하였다.

NO 분비 억제능

RAW 264.7 세포를 24 well plate에 2×10^5 cells/well이 되도록 분주하고 37°C, 5% CO₂ incubator에서 24시간 배양하였다. 세포에 LPS 500 ng/mL와 클로렐라 추출물 (0, 5, 10, 20, 40, 80 μ g/mL) 및 양성대조물질 L-NMMA (NG-Methyl-L-arginine acetate salt, Sigma) (80 μ M)을 처리하여 24시간 배양하였다. 24시간 배양 후, 배지에 분비된 NO양을 Griess 반응에 기초하여 측정하였다. 배양 상층액 각 50 μ L씩을 96 well plate에 취하고, 여기에 동량의 Griess 시약을 넣어 상온의 어두운 곳에서 10분간 반응시킨 후 microplate reader를 이용하여 UV 550 nm에서 흡광도를 측정하였다. NO의 농도는 sodium nitrite (NaNO₂)를 사용하여 얻은 표준 직선과 비교하여 산출하였다. 100% 활성은 LPS만 처리한 군의 분비량으로 정의하여 상대적인 생성량 (% of control)을 계산하였다.

염증성 사이토카인 (IL-6, TNF- α) 분비 억제능

RAW 264.7 세포를 24 well plate에 2×10^5 cells/well이 되도록 분주하고 37°C, 5% CO₂ incubator에서 24시간 배양하였다. 세포에 LPS 500 ng/mL와 클로렐라 추출물(0, 5, 10, 20, 40, 80 μ g/mL) 및 양성대조물질 Polymyxin B (100 U/mL)을 처리하여 24시간 배양하였다. 24시간 배양 후, 배지에 분비된 IL-6, TNF- α 를 ELISA kits (BD, USA)의 실험방법에 따라 측정하였다. 100% 활성은 LPS만 처리한 군의 분비량으로 정의하여 상대적인 생성량 (% of control)을 계산하였다.

통계학적 분석

모든 실험 결과는 3회 이상 실험을 반복하여 얻은 자료를 Microsoft Excel을 이용하여 평균 \pm 표준편차로 나타내었으며, 데이터에 대한 분산의 동질성을 확인하고 그룹간의 유의성을 검증하기 위하여 SPSS 14.0 program (version 14.0 KO for Windows Release 14.0.2)을 사용하여 통계학적 해석을 실시하였다. 실험군간 비교에는 ANOVA test를 실시하였으며, 유의한 차이를 나타낼 경우 Dunnett's t-test를 이용하여 사후 분석을 실시하였다 (유의수준 $P < 0.05$).

결 과

유기용매 추출

해수산 클로렐라 *Chlorella ellipsoidea*를 조음과 파쇄 후 얻은 건조분말 시료 100 g을 80% 메탄올로 추출한 후 여과하여 얻어진 추출액을 감압 농축하고 조추출물 44.8 g을 획득하였다. 그리고 메탄올 추출물을 10배량의 80% 메탄올을 넣고 헝산, 에틸아세테이트로 순차적으로 분획하여 헝산 층에서 8.7 g, 에틸아세테이트 층에서 2.5 g의 분획물을 획득하였다 (Table 1).

Table 1. Yield of each fraction extracted from of *Chlorella ellipsoidea*

Solvent	Yield (% , w/w) ¹⁾
80% Methanol extract	44.8
n-Hexane fraction	8.7
Ethyl acetate fraction	2.5

¹⁾Yield (%) = solid extract or fraction (g)/raw material (dry weight) \times 100.

유기용매 추출물의 세포독성 효과

해수산 클로렐라 *Chlorella ellipsoidea*로부터 추출한 유기용매 추출물 CE-Met, CE-Hex 그리고 CE-EA를 이용하여 마우스 대식세포인 RAW 264.7 세포에 대한 독성을 알아보기 위하여 MTT assay를 수행하였다. CE-Met, CE-Hex 그리고 CE-EA를 농도별 (0, 5, 10, 20, 40, 80 μ g/mL)로 처리하여 24시간 후 세포생존율을 측정된 결과, 모든 농도에서 50% 이상의 생존율을 나타내었다 (Fig. 2).

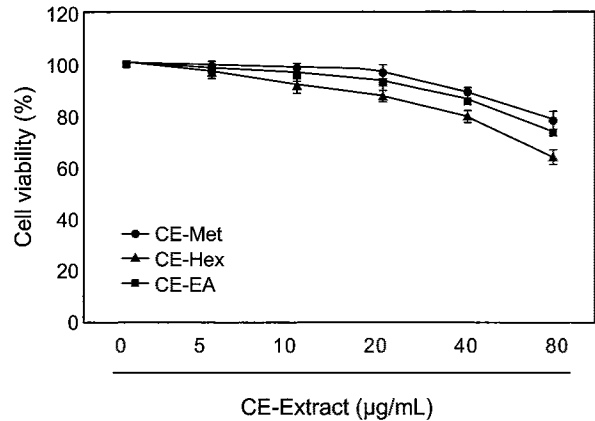


Fig. 2. Effects of CE extract on the viability of RAW 264.7 macrophages.

RAW 264.7 cells were treated with 0, 5, 10, 20, 40, 80 μ g/mL of CE-Met, CE-Hex, and CE-EA for 24 hr. Cell viability was determined by MTT assay. Three independent assays were performed in triplicate and the data shown are the mean \pm SD.

유기용매 추출물의 NO 생성 억제 효과

LPS로 활성화된 RAW 264.7 세포가 분비하는 NO에 대한 해수산 클로렐라 *Chlorella ellipsoidea*의 유기용매 추출물 CE-Met, CE-Hex 그리고 CE-EA의 영향을 Griess 시약을 사용하여 조사하였다 (Fig. 3). 그 결과 LPS를 처리하지 않은 세포에서는 NO가 소량 생성되었으나, LPS 처리 후 약 96배 증가하였으며, CE-Met, CE-Hex 그리고 CE-EA는 대조군인 LPS에 의해 유도된 높은 NO 생성에 대해 농도 의존적으로 유의성 있게 억제 효과를 나타내었다. 특히, CE-Met는 최고농도인 80 μ g/mL에서 73% 정도의 높은 억제효과를 나타내어 CE-Hex 27%, CE-EA 53%에 비해 NO 생성 억제 효과가 높음이 확인되었다. 양성 대조군으로는 L-arginine과의 기질경쟁에 의하여 iNOS 저해제로 알려진 L-NMMA을 사용하였고 54% 정도의 NO 생성 억제 효과를 나타내었다.

유기용매 추출물의 염증사이토카인 분비 억제 효과

RAW 264.7 세포에 LPS와 해수산 클로렐라 *Chlorella ellipsoidea*의 유기용매 분획물 CE-Met, CE-Hex 그리고 CE-EA를 처리한 후, IL-6, TNF- α 생성량의 변화를 확인하였다 (Fig. 4). IL-6 생성량은 정상세포에 비하여 LPS를 처리 후 약 96배 증가하였으며, CE-Met, CE-Hex 그리고 CE-EA는 대조군에 비해 농도 의존적으로 유의성 있게 감소하였다 (Fig. 4A). LPS 처리 후 TNF- α 생성량은 정상대조군 세포에 비해 97배 증가하였으며, CE-Met, CE-Hex 그리고 CE-EA를 처리한 군에서는 대조군에 비하여 농도 의존적으로 유의성 있게 감소하였다 (Fig. 4B). 또한, CE-Met는 CE-EA와 CE-Hex에 비해 IL-6와 TNF- α 생성 억제 효과가 모두 높음이 확인되었다. 양성 대조군으로는 LPS의 활성을 저해하는 물질로 알려진 polymyxin B를 사용하였다.

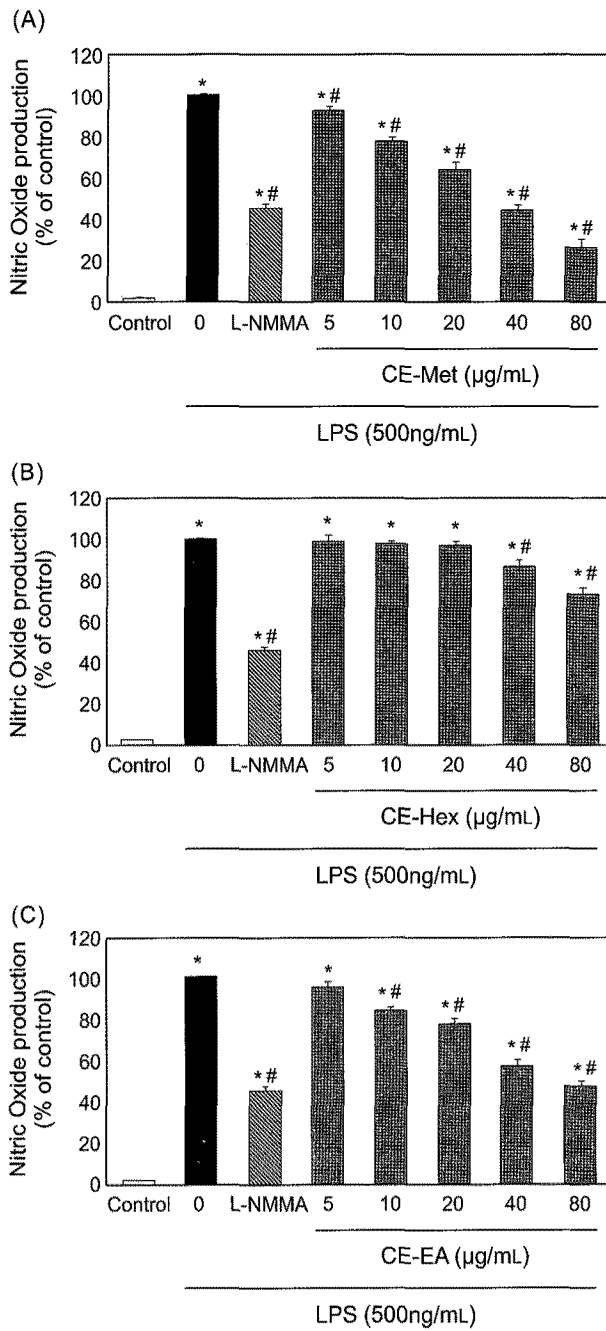


Fig. 3. Effects of CE extract on NO production in LPS-stimulated RAW 264.7 macrophages. RAW 264.7 cells were treated with LPS (500 ng/mL) alone or plus various concentration of CE-Met (A), CE-Hex (B) and CE-EA (C) for 24 hr. L-NMMA was used as a positive control. The production of NO was evaluated by Griess reaction. Three independent assays were performed in triplicate and the data shown are the mean \pm S.D. of the percent inhibition of nitrite compared with the control. *Significant difference of ($P < 0.05$) compared to the control group, #Significant difference of ($P < 0.05$) compared to the LPS group.

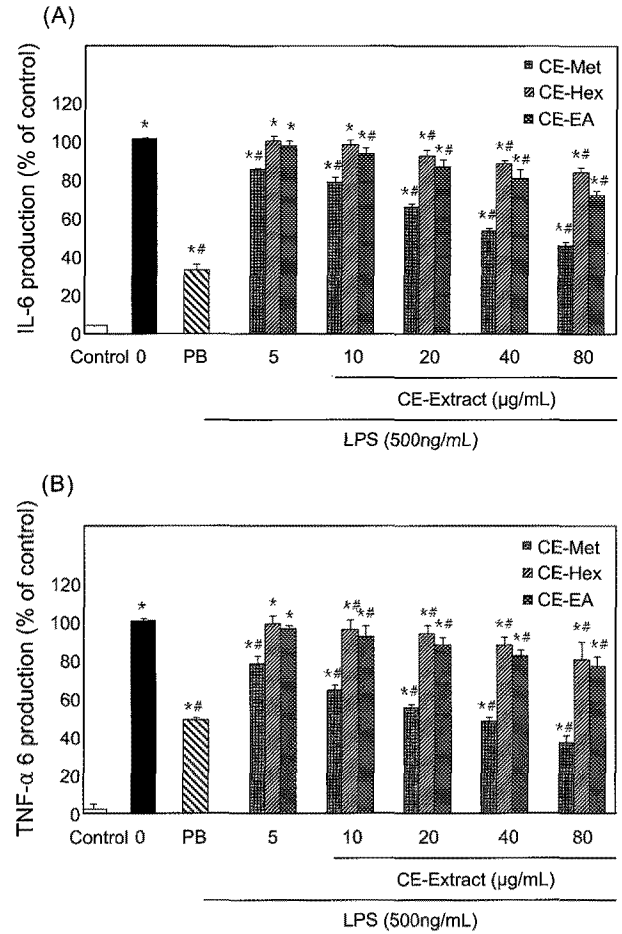


Fig. 4. Effects of CE extract on interleukin-6 (IL-6) (A) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) (B) production in LPS-stimulated RAW 264.7 macrophages. RAW 264.7 cells were treated with LPS (500 ng/mL) alone or plus various concentration of CE extract (CE-Met, CE-Hex and CE-EA) for 24 hr. Polymyxin B was used as a positive control. The production of IL-6 and TNF- α was measured by ELISA kit. Three independent assays were performed in triplicate and the data shown are the mean \pm S.D. of the percent inhibition of cytokine compared with the control. *Significant difference of ($P < 0.05$) compared to the control group, #Significant difference of ($P < 0.05$) compared to the LPS group.

고 찰

염증 부위의 활성화된 대식세포는 사이토카인 뿐 아니라 arachidonic acid 대사체인 prostaglandin (PG) 그리고 nitric oxide (NO) 등을 대량 생성함으로써 염증 매개에 큰 역할을 한다. 포유동물에서는 분리한 nitric oxide synthase (NOS)는 물리 화학적 성상에 따라 Type I, II 및 III 등 3 종류의 동종 효소로 나뉘어진다. Type I (neuronal NOS, nNOS)과 Type III (endothelial NOS, eNOS)는 세포 속에서 계속적으로 존재하기 때문에 지속적 NOS (constitutive NOS)로 분류되며, 상대적으

로 일부 세포에서 LPS, cytokines 및 박테리아 독소 같은 특수한 자극제들에 노출되는 경우에만 발현되는 Type II인 inducible NOS (iNOS)로 나누어진다. 이러한 NOS들은 L-arginine을 L-citrulline으로 전환시키면서 NO가 형성된다. 이들 NOS 중 iNOS에 의한 NO 생성이 절대적으로 많으며 이는 병리적으로 중요한 작용을 한다. 일반적인 NO의 형성은 박테리아를 죽이거나 종양을 제거시키는 중요한 역할을 하지만, 염증상태에서 iNOS (Yang et al., 2008)에 의해 과잉 생성된 NO는 혈관 투과성, 부종 등의 염증반응 (Stuehr et al., 1991)을 촉진시킬 뿐만 아니라 염증매개체의 생합성을 촉진하여 염증을 심화시키는 것으로 알려져 있다 (Lee, 2007a). LPS는 그람음성 세균의 세포벽에서 분리된 생물학적 독소로서, 염증 매개인자들을 분비하도록 대식세포를 자극하는 대표적 성분 중 하나이다 (Fujiwara et al., 2005). LPS에 의한 대식세포의 활성화는 다양한 염증매개물질 (IL-1, IL-6, TNF- α) 등을 유도하며, 이러한 염증매개 물질의 형성은 NO 형성 과정으로 이어지게 된다. 따라서, 항염증 생리활성 평가를 위해 LPS로 활성화된 RAW 264.7 마우스 대식세포가 널리 쓰이고 있다 (Shen et al., 2008; Yun et al., 2008; Lee and Cho, 2007b).

클로렐라는 필수아미노산 조성이 좋은 단백질과 비타민 B군, β -carotene 등의 비타민, 미네랄, 핵산 및 불포화지방산 등을 함유하고 있어 녹황색 야채의 대체작용이 있는 건강식품으로 인지되고 있으며 미생물, 식물 및 사람을 포함한 동물에 대해 다양한 생리활성 효과가 있는 것으로 보고되고 있다 (Kay et al., 1991) 해양 미세조류에서 분리된 항염증 물질에는 남조류 *Lyngbya majuscula*에서 분리된 laxaphycin이 대표적으로 알려져 있으며 (Burja et al., 2001), *Pseudopterogorgia elisabethae*에서 분리된 Pseudopterosin E와, *Luffariella variabilis*에서 분리된 manoalide가 항염증 효능이 있음이 확인되었다 (Abad et al., 2008).

이에 본 연구에서는 LPS로 활성화된 RAW 264.7 마우스 대식세포를 이용하여 염증 매개 인자들의 분비에 대한 해수산 클로렐라 *Chlorella ellipsoidea* 유기용매 추출물의 억제효과를 조사하여, 이들이 염증 반응에 미치는 영향을 비교하고자 하였다. LPS에 24시간 노출시키게 되면 뚜렷하게 NO가 축적되는데 해수 클로렐라 유기용매 추출물은 LPS에 의한 NO와 interleukin-6 (IL-6), TNF- α 발현을 억제함을 확인하였다. 염증전구물질인 TNF- α 와 IL-6는 in vivo 및 in vitro에서 모두 염증반응을 조절하는 물질로 알려져 있다. 이러한 cytokine들은 서로 상호작용이 있는 것으로 알려져 있으며 염증 반응을 일으키는 동안 일정하게 생성된다. 해수산 클로렐라 *Chlorella ellipsoidea* 유기용매 추출물에 의한 TNF- α 및 IL-6의 생성 저해는 염증전구물질의 형성억제를 나타내는 것이다.

본 실험 결과를 요약하면 해수 클로렐라 *Chlorella ellipsoidea* 유기용매 추출물 (CE-Met, CE-Hex 그리고 CE-EA)의 RAW 264.7 세포에서 LPS에 의한 NO와 염증성 사이토카인 interleukin-6 (IL-6), TNF- α 발현 억제효능이 있음이 확인되었고, 특히 CE-Met는 피부 트러블의 보완 가능한 천연 항염증 소재로의 가치가 있음을 제시하고 있다.

사 사

이 논문은 동아대학교 학술연구비 지원에 의하여 연구되었으며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

- Abad MJ, Bedoya LM and Bermejo P. 2008. Natural marine anti-inflammatory products. Mini-Reviews in Medicinal Chemistry 8, 740-754
- Burja AM, Banaigs B, Abou-Mansour E, Burgess JG and Wright PC. 2001. Marine cyanobacteria-a prolific source of natural products. Tetrahedron 57, 9347-377.
- Cabrera T, Bae JH, Bai SC and Hur SB. 2005. Comparison of the nutritional value of *Chlorella ellipsoidea* and *Nannochloris oculata* for rotifers and *Artemianauplii*. J Fish Sci Technol 8, 201-206.
- Czarnecka OM, Bator WM and Silny W. 2005. Atopy patch test reaction to airborne allergens in the diagnosis of atopy dermatitis. Acta Dermatovenerol Croat 13, 3-16.
- Fujiwara N and Kobayashi K. 2005. Macrophages in inflammation. Current Drug Targets Inflammation and Allergy 4, 271-286.
- Funk CD, Frunk LB, Kennedy ME, Pong AS and Fitzgerald A. 1991. Human platelet/erythrocyte cell prostaglandin G/H synthase: cDNA cloning, expression and gene chromosomal assignment. The FASEB Journal 5, 2304-2312.
- Guzman S, Gato A, Lamela M, Freire-Garabal M and Calleja JM. 2003. Anti-inflammatory and immunomodulatory activities of polysaccharide from *Chlorella stigmatophora* and *Phaeodactylum tricorutum*. Phytother Res 17, 665-670.
- Hatano S, Kabata K, Yoshimoto M and Sadakane H. 1982. Accumulation of free fatty acids during hardening of *Chlorella ellipsoidea*. Plant Physiol 70, 1173-1177.
- Higuchi M, Hisgahi N, Taki H and Osawa T. 1990. Cytolytic mechanisms of activated macrophages. Tumor necrosis factor and L-arginine-dependent mechanisms act synergistically as the major cytolytic mechanisms of activated macrophages. The Journal of Immunology 144, 1425-1431.
- Hong YL, Kim MH, Ahn C, Lee HY and Kim JD. 2000. Studies on the biological activities of the extract from *Hovenia dulcis* Thunb. Inst Agr Sci 11, 1-11.

- Kay PA. 1991. Microalgae as food and supplement. *Crit Rev Food Sci Nutr* 30, 555-573.
- Kim SY, Park KJ and Lee WC. 1998. Anti-inflammatory and antioxidative effects of *Morus* spp. Fruit extract. *The Korean Society of Medical Crop Science* 6, 204-209.
- Kundu JK and Surh YJ. 2005. Breaking the relay in deregulated cellular signal transduction as a rationale for chemoprevention with anti-inflammatory phytochemicals. *Mutation Research* 591, 123-146.
- Lee HS, Choi CY, Cho C and Song Y. 2003. Attenuating effect of *Chlorella* supplementation of oxidative stress and NF-kB activation in peritoneal macrophages and liver of C57BL/6 mice fed on an atherogenic diet. *Biosci Biotechnol Biochem* 67, 2083-2090.
- Lee KJ and Row KH. 2004. Comparison of extraction methods for aglycone isoflavones from Korean soybean. *Korean J Biotechnol Bioeng* 19, 421-426.
- Lee YH. 2007a. Effect of *Phellinus linteus* grown in germinated brown rice on atopic dermatitis. *The Korean Society of Cosmetology* 13, 514-519.
- Lee YG and Cho JY. 2007b. Inhibitory effect of curcumin on nitric oxide production in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 cells and its suppressive mechanism. *Korean Journal of Medicinal Crop Science* 15, 451-456.
- Marithasan S and Monack DM. 2007. Inflammasome adaptors and sensor: intracellular regulators of infection and inflammation. *Nature Reviews Immunology* 7, 31-40.
- Masferrer J, Zweifel BS, Manning PT, Hauser SD, Leahy KM, Smith WG, Isakson PC and Seibert K. 1994. Selective inhibition of inducible cyclooxygenase 2 in vivo is anti-inflammatory and non-ulcerogenic. *Proc Natl Acad Sci USA* 91, 3228-3232.
- MeDaniel ML, Kwon G, Hill JR, Marshall CA and Corbett JA. 1996. Cytokines and nitric oxide in islet inflammation and diabetes. *Proceeding of the Society for Experimental Biology and Medicine* 211, 24-32.
- Merchant RE, Andre CA and Sica DA. 2002. Nutritional supplementation with *Chlorella pyrenoidosa* for mild to moderate hypertension. *J Med Food* 5, 141-152.
- Morimoto T, Nagatsu A, Murakami N, Sakakibara J, Tokuda H, Nishino H and Iwashima A. 1995. Anti-tumor promoting glyceroglycolipids from the green alga, *Chlorella vulgaris*. *Phytochemistry* 40, 1433-1437.
- Mukaida N, Ishikawa Y, Ikeda N, Fujioka N, Watanabe S and Kuno K. 1996. Novel insight into molecular mechanism of endotoxin shock: biochemical analysis of LPS receptor signaling in cell-free system targeting NF-kB and regulation of cytokine production/action through beta2 integrin *in vivo*. *J Leukoc Biol* 59, 145-151.
- Mu MM, Chakravorty D, Sugiyama T, Koide N, Takahashi K, Mori I, Yoshida T and Yokochi T. 2001. The inhibitory action of quercetin on lipopolysaccharide-induced nitric oxide production in raw 264.7 macrophage cells. *Journal of Endotoxin Research* 7, 431-438.
- Park MK, Lee FM, Park CH and In MJ. 2002. Quality characteristics of sulgidduk containing *Chlorella* powder. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 31, 225-229.
- Paul A, Cuenda A, Bryant CE, Murray J, Chilvers ER, Cohen P, Gould GW and Plevin R. 1999. Involvement of mitogen activated protein kinase homologues in the regulation of lipopolysaccharide-mediated induction of cyclo-oxygenase-2 but not nitric oxide syntheses in RAW 264.7 macrophages. *Cell Signalling* 11, 491-497.
- Scott MG and Hancock RE. 2000. Cationic antimicrobial peptides and their multifunctional role in the immune system. *Crit Rev Immunol* 20, 407-431.
- Seibert K, Zhang Y, Leahy K, Hauser S, Masferrer J, Perkins W, Lee L and Kaskson P. 1994. Pharmacological and biochemical demonstration of the role of cyclooxygenase 2 in inflammation and pain. *Proc Natl Acad Sci USA* 91, 12013-12017.
- Shen T, Lee YJ and Cho JY. 2008. Effect of hot water extract from *Scutellaria barbata* on the macrophages activated by lipopolysaccharide. *Korean Journal of Medicinal Crop Science* 16, 313-319.
- Shibata S, Oda K, Onodera-Masuoka N, Matsubara S, Kikuchi-Hayakawa H, Ishikawa F, Iwabuchi A and Sansawa H. 2001. Hypocholesterolemic effect of indigestible fraction of *Chlorella vulgaris* in cholesterol-fed rat. *J Nutr Sci Vitaminol* 47, 373-377.
- Shim JY, Shin HS, Han JG, Park HS, Lim BL, Chung KW and Om AS. 2008. Protective effects of *Chlorella vulgaris* on liver toxicity in cadmium-

- administered rats. *J Med Food* 11, 479-485.
- Stuehr HH, Kwon NS, Weise M and Nathan C. 1991. Purification of the cytokine-induced macrophage nitric oxide synthase: and FAD- and FMN-containing flavoprotein. *Proc Natl Acad Sci USA* 88, 7773-7777.
- Willeaume V, Kruys V, Mijatovic T and Huez G. 1996. Tumor necrosis factor-alpha production induced by viruses and by lipopolysaccharides in macrophages: similarities and differences. *Journal of Inflammation* 46, 1-12.
- Yang JL, Jang JH, Radliakrishnan V, Kim YH and Song YS. 2008. β -Glucan suppresses LPS-stimulated NO production through the down-regulation of iNOS expression and NF-kB transactivation in raw 264.7 macrophages. *Food Science and Biotechnology* 17, 106-113.
- Yun JY, Choi SY, Park PJ, Chung HG, Shin HM, Suk K and Lim BO. 2008. Extract of *Artemisia princeps* Pampanini inhibit lipopolysaccharide-induced nitric oxide, cyclooxygenase2, prostaglandin E2, and tumor necrosis factor-a production from murine macrophages RAW 264.7 cells. *Korean Journal of Medicinal Crop Science* 16, 326-331.

2009년 12월 2일 접수

2010년 1월 19일 수정

2010년 2월 18일 수리