

모자반(*Sargassum fulvellum*) 주정 30% 추출물의 *In Vitro*에서의 연골 보호효과

장고은 · 한설희 · 김도경¹ · 김춘성^{1*}

해양헬스케어 유효성실증센터, ¹조선대학교 치과대학 치의예과

Chondroprotective Effects of a 30% Ethanol Extract of *Sargassum fulvellum*

Goeun Jang, Seul Hee Han, Do Kyung Kim¹ and Chun Sung Kim^{1*}

Marine Healthcare Research & Evaluation Center, Chosun University, Wando 59146, Republic of Korea

¹Department of Oral Biochemistry, College of Dentistry, Chosun University, Gwangju 61452, Republic of Korea

Osteoarthritis (OA) is an inflammatory disease due to wear caused by the continuous use of cartilage. Although many drugs for treating OA are being studied, they have side effects, such as digestive disorders and cardiovascular diseases. Glucosamine, a drug derived from natural products, is known to be less effective. Therefore, the marine organism, *Sargassum fulvellum*, was studied to determine whether it contains substances with a chondroprotective effect on the inflammatory response of chondrocytes induced by interleukin-1 β (IL-1 β). A 30% ethanol extract of *S. fulvellum* (SF30%EtOH) has therapeutic and few side effects. We first confirmed the presence of nitric oxide (NO) and the expression of inducible nitric oxide synthase (iNOS), which is expressed during inflammatory reactions. We then examined the expression of collagen type II, which is the main component of the extracellular matrix and cartilage. Finally, the expression of extracellular matrix degrading enzymes, MMPs and ADAMTS-4 and -5, was confirmed. The results showed that SF30%EtOH reduced the expression levels of NO, iNOS, MMPs, and ADAMT-4 and -5, and increased the expression level of collagen type II in chondrocytes induced with IL-1 β . Therefore, SF30%EtOH has a chondroprotective effect against inflammation, indicating its potential use for the prevention and treatment of OA.

Keywords: Articular cartilage, Chondroprotective effect, Inflammatory responses, Osteoarthritis, *Sargassum fulvellum*

서 론

퇴행성 관절염(osteoarthritis, OA)은 세계에서 가장 흔한 무릎 관련 질병이며, 오랜 기간 사용하여 연골이 마모되어 생긴다. 이는 무릎 통증과 만성적인 자가면역 및 자가염증 메커니즘의 기능이 손상되었기 때문이다(Lories and Luyten, 2011). 이 질병은 주로 60세 이상의 나이 환자들에게 나타나며, 10%는 남자, 18%가 여성이다(Glyn-Jones et al., 2015). OA는 초기에 연골 손상 시 이화작용 하는 사이토카인과 연골의 기질을 분해시키는 효소 합성을 증가시킨다. 대표적인 사이토카인은 interleukin 1 beta (IL-1 β)이며, 이는 연골 ECM (extracellular

matrix)를 분해하는 요소인 iNOS, MMPs (matrix metalloproteinases), ADAMTS (a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs)-4, ADAMTS-5의 발현을 증가시킨다(Goldring, 2000; Gu et al., 2017). 특히, MMPs와 ADAMTS -4와 -5는 연골의 정상 기능을 방해하는 효소이다(Mehana et al., 2019). 또한, 몸의 방어와 면역 반응에 관여하는 nitric oxide (NO)의 수치도 IL-1 β 에 의해 증가한다(Korhonen et al., 2005). 이 때문에 연골 표면에 있는 연골의 ECM의 주 구성요소인 proteoglycans aggrecan과 collagen type II가 손상된다(Poole et al., 2002). 이와 관련된 ADAMTS-4와 -5 proteinases는 연골 파괴에 관련 되어있으며 OA에서 이는 proteoglycan

*Corresponding author: Tel: +82. 62. 230. 7088 Fax: +82. 62. 232. 6896

E-mail address: cskim2@chosun.ac.kr



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

<https://doi.org/10.5657/KFAS.2022.0867>

Korean J Fish Aquat Sci 55(6), 867-874, December 2022

Received 17 October 2022; Revised 23 November 2022; Accepted 28 November 2022

저자 직위: 장고은(연구원), 한설희(연구원), 김도경(교수), 김춘성(교수)

aggrecan을 분해한다(Verma and Dalal, 2011). 또한, IL-1 β 는 염증을 일으켜 intracellular signalling에 영향을 주게 되는데 이는 mitogen-activated protein kinase (MAPK) pathway에 영향을 미친다. C-JUN N-terminal kinases (JNKs)와 p38 MAPKs는 염증 자극과 세포 스트레스에 의해 강하게 활성화되고 extracellularly regulated kinases (ERKs)는 좀 더 폭 넓은 자극과 사이토카인에 영향을 받는다(Saklatvala, 2007; Kyriakis and Avruch, 2012). OA는 수술법이 있기는 하지만 부작용과 일생을 살아가는데 불편함, 고통을 주고 비용적으로 부담이 되며, 지속적인 치료가 필요하기 때문에 초기에 미리 방지하고 치료하는 것이 매우 중요하다. 약물 치료 방법도 있는데 시중에 나와있는 대표적인 약물로는 acetaminophen과 논스테로이드 약물(nonsteroidal antiinflammatory drugs, NSAIDs)이 있다. 하지만 장기간 복용시 심혈관질환, 위장 및 신장 장애를 일으키는 등의 부작용이 있다(Goodrich and Nixon, 2006). 이 때문에 천연물 기반한 OA 치료 약물을 연구하는 것이 필요한데, 천연물은 합성약물보다 부작용이 적고 흡수율이 높다. 천연물 기반하여 OA 치료하는 대표적인 약물이 glucosamine과 methyl sulfonyl methane이 있지만 OA 증상 완화 효과에는 여전히 의문이 제기되고 있다(Goodrich and Nixon, 2006). 이 문제를 해결하기 위해 해조류에서 답을 찾고자 하였다. 그 이유는 해조류에는 항산화(Zhong et al., 2019) 효과가 좋은 mycosporine-glycine (Dunlap, 1995)과 carotenoids (Krinsky, 1991)가 풍부하고 항염증, 항산화, 항발암에 효과 있는 성분 등을 다량 함유하고 있다. 또한, 해양 생물에서 다양한 생리활성 유효성분이 있음이 밝혀지면서 많은 연구에 사용되고 있다(Lauritano and Adrianna lanora, 2016; Liu et al., 2020). 많은 해조류 중에서도 특히 모자반(*Sargassum fulvellum*)은 아시아 해안에 넓게 분포하고 있는 것으로 다량의 탄수화물과 소량의 지방을 포함하고 있다. 또한, 항발암(Bae, 2004), 항산화(Kim et al., 2007), 항염증(Kang et al., 2007), 부어오름, 고환암의 통증, 비뇨기계의 감염 등의 질병에도 사용되고 있다(Liu et al., 2020). 이처럼 모자반은 널리 질병의 치료 목적으로 이용되고 있으며, 상당히 신뢰할 만하다. 하지만 항관절염에 대한 치료 가능성은 연구된 바 없기에 모자반이 항관절염에 대한 효능이 있는지는 연구가 필요하다.

재료 및 방법

실험 재료

본 실험에 사용된 모자반(*S. fulvellum*)은 2022년 파라제주(Jeju, Korea)에서 구입하였다. 이 시료를 주정 30%로 추출, 농축, 동결건조 과정을 거쳐서 모자반 주정 30% 추출물을 만들었다. 모자반 주정 30% 추출물을 연골세포가 배양되고 있는 배지에 혼합하고 24시간동안 37°C, 5% CO₂ incubator에 배양하였다. 24시간 후 염증을 일으키기 위해 모자반 주정 30% 추출

물이 혼합된 연골세포 배양액에 IL-1 β (10 ng/mL)를 넣어주고 24시간, 37°C, 5% CO₂ incubator에 배양시켰다. 이를 통해 모자반 주정 30% 추출물이 연골 보호 효과가 있는지 알아보기 위해 염증 관련 인자인 NO, iNOS의 발현량을 각 ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay)와 Western blot을 통해 확인하고, 연골 관련한 인자인 MMPs, ADAMTS-4와 -5 그리고 MAPK signaling을 통해 확인하였다.

이 시료가 자체로 세포 독성이 있는지 확인하기 위해 사용된 시약은 N-(1-naphthyl) ethylenediamine dihydrochloride, 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) (Sigma-Aldrich Co., Ltd., St. Louis, MO, USA) 제품을 사용하였고 염증 유발을 위한 IL-1 β (ProSpec Protein Specialists Co., Ltd., Rehovot, Israel), 연골 세포 배양을 위한 배지인 Dulbecco's modified Eagle's medium/Nutrient mixture F-12 (DMEM/F12)와 penicillin-streptomycin solution (WelGene Co., Ltd., Daegu, Korea), Fetal bovine serum (FBS) (ATLAS Biologicals Co., Ltd., Fort Collins, CO, USA) 사용하였다. Western blot을 위해 1차, 2차 항체 MMP-13, ADAMTS-4, 그리고 iNOS (Abcam Co., Ltd., Cambridge, MA, USA)을 사용하였고 anti- α -tubulin (Thermo Fisher Scientific Co., Ltd., Waltham, MA, USA), 그리고 MMP-1 (Lifespan Biosciences Co., Ltd., Seattle, WA, USA), MMP-3, p-ERK,

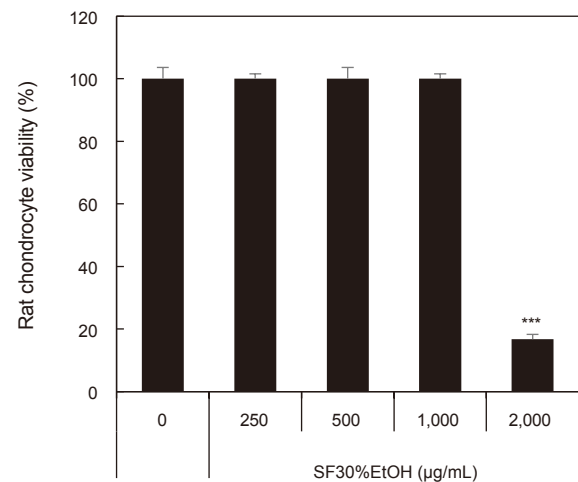


Fig 1. Effects of 30% ethanol extracts of *Sargassum fulvellum* on rat primary chondrocyte viability. Chondrocytes were treated with 30% ethanol extracts of *S. fulvellum* (250, 500, 1,000, 2,000 µg/mL) for 24 h, and cell viability was measured by MTT assay. Chondrocytes were incubated without 30% ethanol extracts of *S. fulvellum*. It was control group, which were considered 100% survival. Data are represented as mean±SD of three independent experiments. N=5 per group. ***P<0.005 compared with the control group.

ERK, p-JNK, JNK, p-p38, p38 (Cell Signaling Technology Co., Ltd., Danvers, MA, USA)을 사용하였다.

세포 배양

본 실험에서 사용한 연골 세포는 5일령 Sprague-Dawley rats 를 Damool Science (Daejeon, Korea)에서 구입하고 Kim et al. (2013)을 참고하여 추출하였다. 연골을 DMEM/F12 배지에 녹인 0.3% collagenase type II에 넣고 37°C incubator에 하루 둔다. 모든 동물 관리 및 절차는 조선대학교 동물 케어와 위원회로부터 승인받았다(CIACUC2021-A0013). 그리고 이 세포를 cell strainer (0.45 µm)로 거른 후 37°C, 5% CO₂ incubator에 10% FBS와 1% penicillin/streptomycin이 들어있는 DMEM/F12배지로 2 × 10⁶의 세포를 6well plate (SPL Life Science

Co., Ltd., Gyeonggi-do, Korea)에 배양하였다. 연골 세포는 90% 잘 때까지 배양하였고 실험하는 동안 계대 하지 않았다.

세포 독성 측정

모자반 추출물의 연골세포에 대한 독성 효과는 N-(1-naphthyl) ethylenediamine dihydrochloride, 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT)를 사용하여 행하였다. 이는 Sigma-Aldrich사의 방법으로 행하였다. MTT assay는 세포의 생존율을 측정하는 방법으로서 살아있는 세포에 있는 미토콘드리아의 dehydrogenase가 MTT로 인해 dark blue formazan을 생성하는 원리를 이용한다.

이를 위해 각 세포주를 1 × 10⁶ cells/well로 맞추고 모자반 주정 30% 추출물을 0, 250, 500, 1,000, 2,000 µg/mL로 24시간

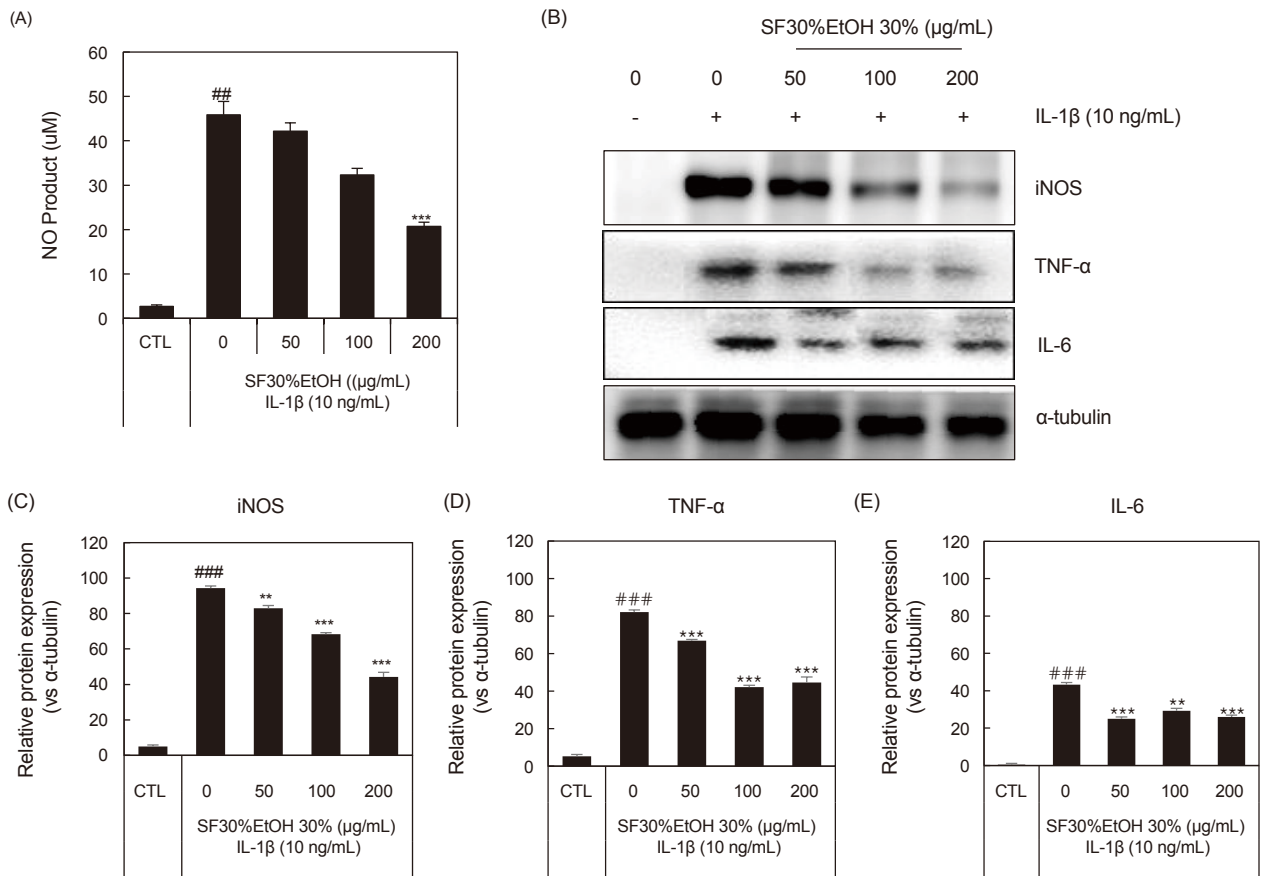


Fig. 2. Inhibitory effects of 30% Ethanol Extracts of *Sargassum fulvellum* on IL-1β-induced NO, iNOS, TNF-α, and IL-6 in rat primary chondrocytes. Chondrocytes were pre-treated with 30% Ethanol Extracts of *S. fulvellum* (10, 50, 100, 200 µg/mL) for 1 h, then IL-1β (10 ng/mL) was induced for inflammatory response for 24 h. A, NO production was measured in the cultured medium using a Griess reagent; B, Protein expression levels of the iNOS, TNF-α, and IL-6 was examined using Western blot analysis. C-E, Quantitative data of B were analyzed using the ImageJ bundled with Java 1.8.0_172 software. α-Tubulin represented as an internal control. CTL, Control. N=5 per group. Data are served as mean±SD of three independent experiments. ###P<0.005 vs. control group; **P<0.05, and ***P<0.005 compared with the IL-1β-treated group.

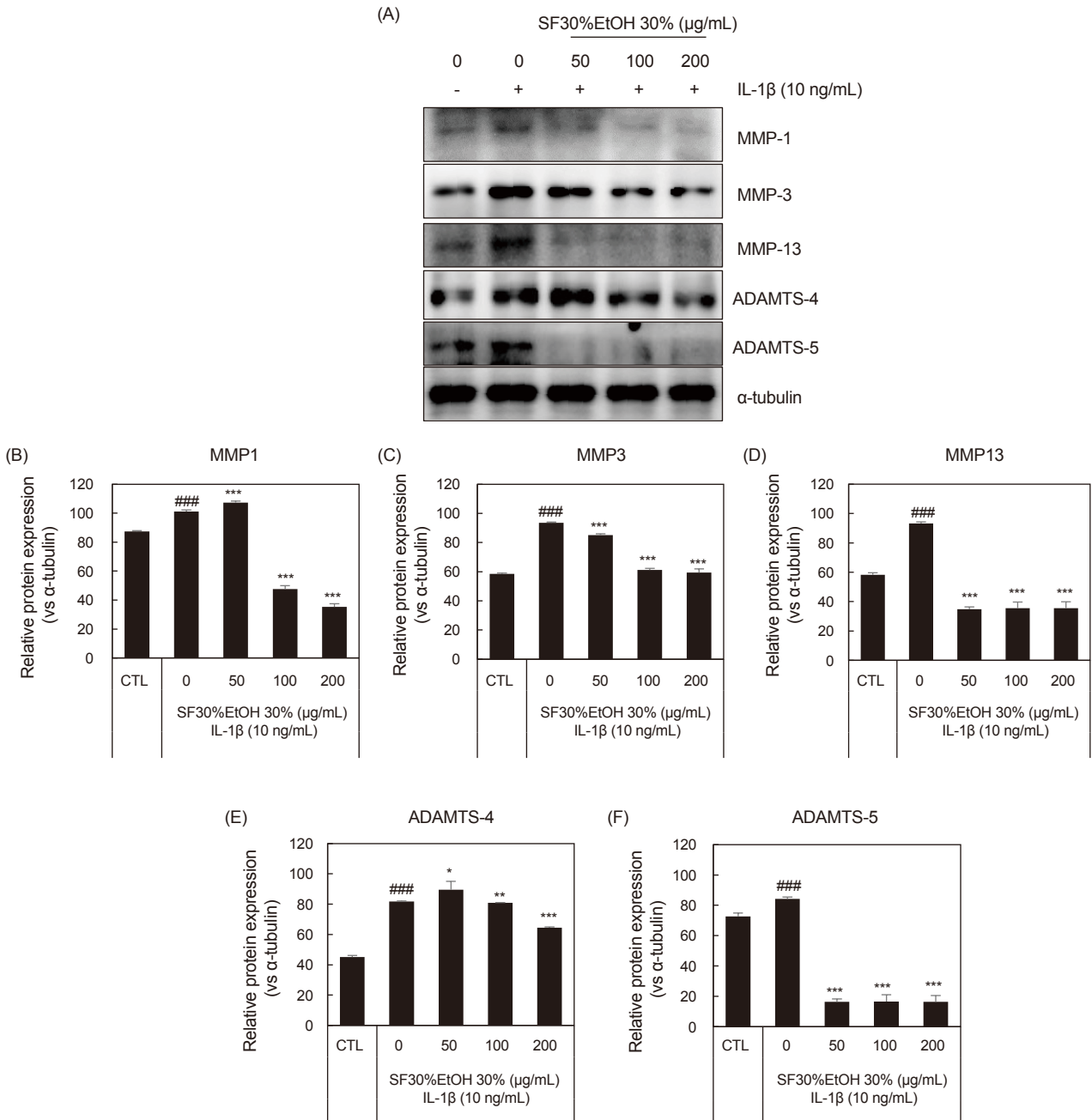


Fig. 3. Inhibitory effect of 30% ethanol extracts of *Sargassum fulvellum* on IL-1 β -induced MMP-1, MMP-3, MMP-13, ADAMTS-4 and ADAMTS-5 in rat primary chondrocytes. Chondrocytes were pre-treated with 30% ethanol extracts of *S. fulvellum* (50, 100, 200 μ g/mL) for 1 h, then IL-1 β (10 ng/mL) was induced for inflammatory response for 24 h. Protein expression levels of MMP-1, MMP-3, MMP-13, ADAMTS-4 and ADAMTS-5 were determined using Western blot analysis. B-F, Quantitative data of A were analyzed using the ImageJ bundled with Java 1.8.0_172 software. α -Tubulin represented as an internal control. N=5 per group. Data are served as mean \pm SD of three independent experiments. ###P<0.005 vs. control group; *P<0.5, **P<0.05, and ***P<0.005 compared with the IL-1 β -treated group.

동안 37°C, 5% CO₂ incubator에 배양했다. 그 후, MTT 시약을 5 mg/mL로 각 well에 처리한 후 37°C incubator에 2시간

넣어 두었다. 그 다음 MTT 시약이 포함된 배지를 제거한 후 dimethyl sulfoxide를 1 mL씩 각 well에 넣고 565 nm에서 흡

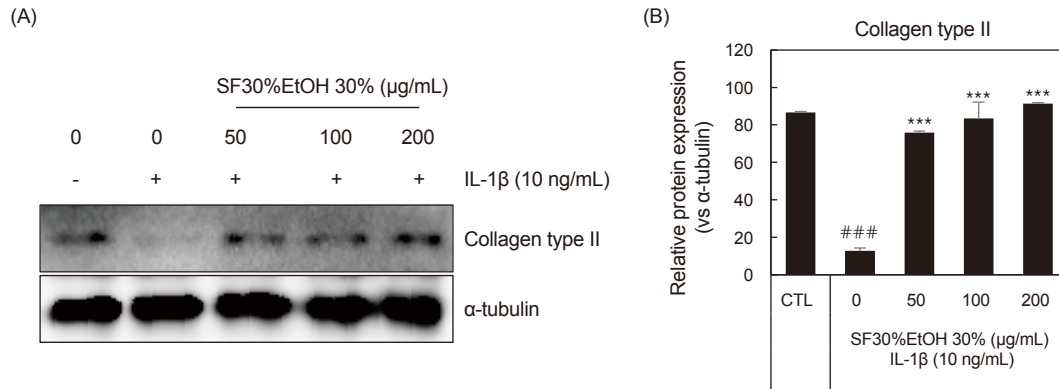


Fig. 4. Inhibitory effect of 30% ethanol extracts of *Sargassum fulvellum* on IL-1 β -induced collagen type II degradation in rat primary chondrocytes. Chondrocytes were pre-treated with 30% ethanol extracts of *S. fulvellum* (50, 100, 200 μ g/mL) for 1 h, then IL-1 β (10 ng/mL) was induced for inflammatory response for 24 h. Protein expression levels of collagen type II were measured using Western blot analysis. α -Tubulin represented as an internal control. B, Quantitative data of (A) were analyzed using the ImageJ bundled with Java 1.8.0_172 software. N=5 per group. Data are represented as mean \pm SD of three independent experiments. ###P<0.005 vs. control group, ***P<0.005 compared with the IL-1 β -treated group.

광도를 측정하였다.

Nitric oxide (NO) 측정

모자반 주정 30% 추출물(50, 100, 200 μ g/mL)을 연골세포에 1시간 처리한 후 IL-1 β (10 ng/mL)를 첨가해서 24시간 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ incubator에 배양했다. NO 생성물은 세포 배양액에 NO가 얼마나 축적되었는지 측정하는 것이다. 배양액(100 μ L)과 Griess reagent (5% phosphoric acid에 녹인 1% sulfanilamide와 H₂O에 녹인 0.1% α -naphthylamide)를 섞은 다음 microplate reader (Epoch BioTek Instruments Inc., Winooski, VT, USA)를 이용하여 540 nm에서 측정하였다.

Western blotting 분석

모자반 주정 30% 추출물(50, 100, 200 μ g/mL)을 연골세포에 1시간 처리한 후 IL-1 β (10 ng/mL)를 첨가해서 24시간 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ incubator에 배양했다. 그 다음 1X phosphate-buffered saline로 세척해주고 단백질을 추출하기 위하여 PRO-PREP protein extraction solution (iNtRON Biotechnology, Seongnam, Korea)을 이용하여 얼음에서 30분 동안 두었다. 그 후 14,000 g로 4 $^{\circ}$ C에서 15분간 원심분리를 진행하였다. 단백질 정량을 위해서 bicinoninic acid protein assay kit (Pierce, Rockford, IL, USA)를 이용하였다. Lysate protein (10 μ g)을 6, 8, 10, 12% sodium dodecyl sulfate polyacrylamide 젤로 분리하고 젤에 있는 단백질을 polyvinylidene difluoride membrane (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA)로 옮겨주었다. 그 후 이 membrane을 0.1% Tween 20 (TBST)가 포함된 Tris-buffered saline에 5% bovine serum albumin을 녹인 용액으로 상온에서 1시간 blocking을 행하였다. 그 다음 1차 항체를

1:1,000으로 하룻밤 동안 4 $^{\circ}$ C에 방치하였다. 이 membranes을 TBST로 3번 세척하고 2차 항체를 1:10,000으로 상온에서 1시간 두었다. 밴드 확인을 위해서 chemiluminescence kit (Millipore, Bedford, MA, USA)를 처리하고 시각화 하기 위해 MicroChemi 4.2 imager (DNR Bioimaging Systems, Jerusalem, Israel)를 사용하였다.

통계 분석

대조군과 각 시료로부터 얻은 실험 결과들은 standard deviation 값이며 GraphPad Prism 5.0 software (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA)로 Dunnett test인 one-way analysis of variance (ANOVA)를 이용하여 유의성을 검증하였다. 통계 유의성은 control과 비교하였을 때 ###P<0.005로 표기하였으며 IL-1 β 와 비교하였을 때는 *P<0.5, **P<0.05, ***P<0.005로 표기하였다.

결과 및 고찰

모자반의 세포 독성 측정(Cell viability)

모자반 주정 30% 추출물이 연골 세포에 대한 독성 효과를 보기 위해 세포에 모자반 주정 30% 추출물을 0, 250, 500, 1,000, 2,000 μ g/mL로 24시간 동안 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ incubator에 배양하고 세포 독성을 확인하였다. 그 결과 1,000 μ g/mL까지는 세포 독성이 확인되지 않았지만 2,000 μ g/mL에서는 독성이 확인되었다(Fig. 1).

모자반의 IL-1 β 에 의해 염증이 일어난 연골 세포에서의 Nitric oxide (NO) 측정

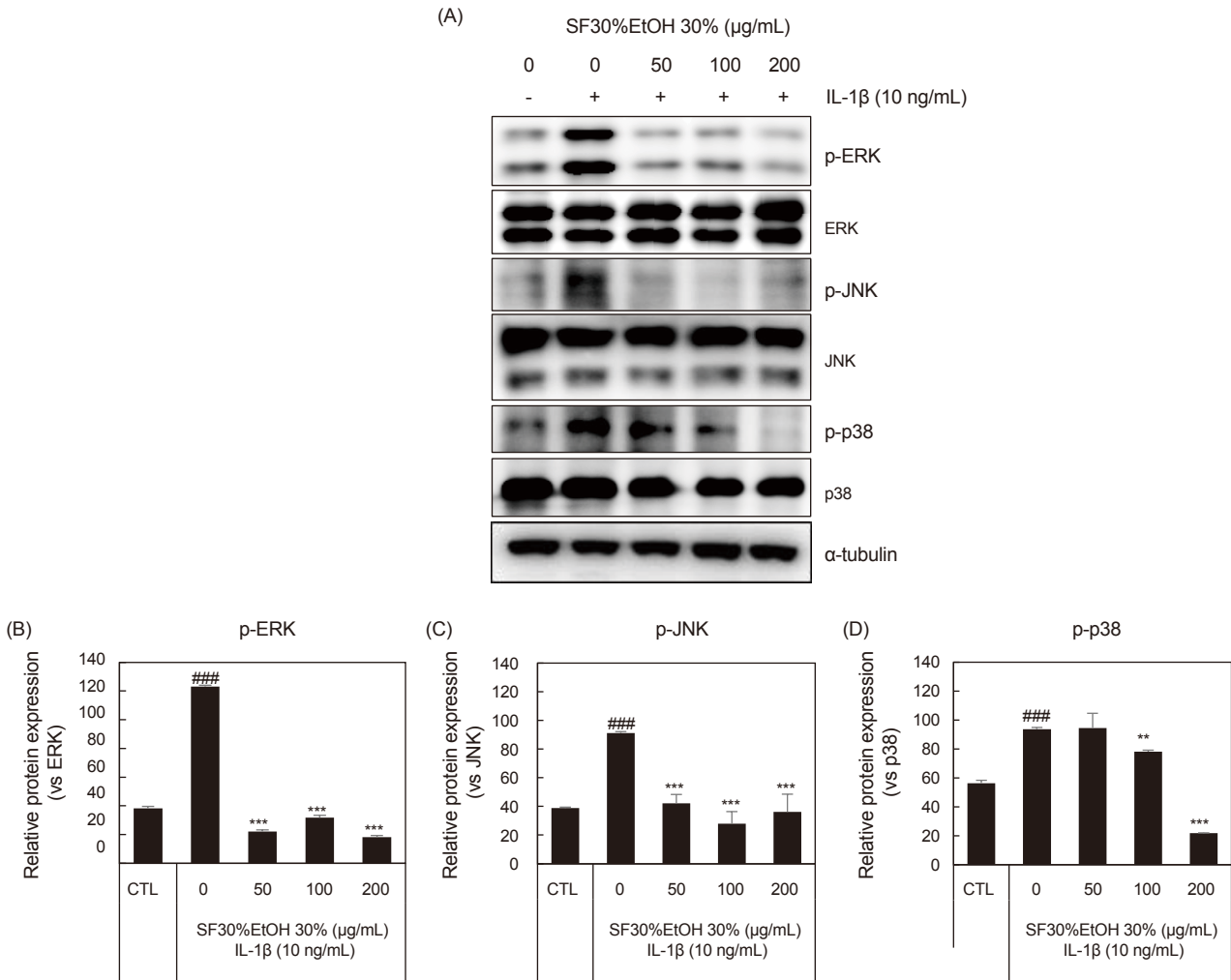


Fig. 5. Effects of 30% ethanol extracts of *Sargassum fulvellum* on IL-1β-induced phosphorylation of MAPKs in rat primary chondrocytes. Chondrocytes were pre-treated with 30% Ethanol Extracts of *S. fulvellum* (50, 100, 200 μg/mL) for 1 h, then IL-1β (10 ng/mL) was induced for inflammatory response for 24 h. Protein expression levels of phosphorylation of MAPKs (ERK, JNK, and p38) were measured using Western blot analysis. ERK, Extracellular signal-regulated kinase; JNK, c-Jun N-terminal kinase. B-D, Quantitative data of A were analyzed using the ImageJ bundled with Java 1.8.0_172 software. N=5 per group. Data are represented as mean±SD of three independent experiments. ###P<0.005 vs. control group, ***P<0.005 compared with the IL-1β-treated group.

OA가 진행됨에 따라 염증의 정도는 심해지므로 염증 여부를 알 수 있는 NO 양 측정을 통해 모자반이 염증 완화에 효과가 있는지 확인하였다. 그래서 NO 양은 IL-1β (10 ng/mL)가 처리된 연골 세포를 배양하는 배지를 마서 측정하였다. 모자반 주정 30% 추출물을 연골세포를 배양하는 배지에 50, 100, 200 μg/mL의 농도로 혼합 한 후 IL-1β (10 ng/mL)를 첨가해서 24시간 37°C, 5% CO₂ incubator에 배양했다. 오직 IL-1β만 처리한 군에서 NO 양이 증가하였고 모자반 주정 30% 추출물을 같이 처리한 군에서는 처리한 농도가 높아질수록 NO 양이 감소하는 경향을 나타내었다(Fig. 2A). 또한, western blot을 통해 본 결과에서 염증 관련 인자인 iNOS의 발현양이 IL-1β만 처리한 군

에서는 높았지만 모자반 주정 30% 추출물을 처리한 군에서는 농도가 높아짐에 따라 iNOS의 발현양이 낮아지는 경향을 보였다(Fig. 2B-2E). 이 결과는 IL-1β에 의해 유도된 염증 반응에 모자반 주정 30% 추출물이 항염증에 잠재적인 효과가 있음을 시사하는 바이다.

모자반의 IL-1β에 의해 염증이 일어난 연골 세포에서의 matrix-degrading enzyme 발현 측정

염증 발현 인자들인 NO는 MMPs와 ADAMTS-4, -5와 같은 matrix-degrading enzyme의 발현을 촉진시킨다. MMPs와 ADAMTS-4, -5는 proteoglycan molecule aggrecan과 ECM

를 파괴하는 효소이다(Verma and Dalal, 2011; Mehana et al., 2019). 그러므로 IL-1 β 에 의해 유도된 염증 반응에 모자반 주정 30% 추출물의 효능을 OA에서 두드러진 역할을 하는 MMP-1,-3,-13과 ADAMTS-4,-5의 발현양을 통해 보고자했다. IL-1 β 만 처리한 군에서는 MMPs와 ADAMTSs의 발현양이 아무것도 처리 하지 않은 군에 비해 높았으며 모자반 주정 30% 추출물을 함께 처리한 군에서는 농도가 높아질수록 발현양이 낮아지는 것을 볼 수 있었다(Fig. 3A-3F). 이처럼 모자반 주정 30% 추출물이 IL-1 β 로 인해 유도된 염증 반응에서 matrix-degrading enzyme의 발현양 감소에 효과가 있음을 시사한다.

모자반의 IL-1 β 에 의해 염증이 일어난 연골 세포에서의 collagen type II 발현 측정

Collagen type II는 cartilage extracellular matrix의 주 구성 요소중 하나이다. 그래서, IL-1 β 가 처리되어 염증이 일어난 연골 세포에 모자반 주정 30% 추출물이 collagen type II의 발현 양에 어떤 영향을 미치는지 측정함으로써 그 효과를 알 수 있다. IL-1 β 만 처리된 군에서는 collagen type II의 발현이 아무것도 처리 하지 않은 군에 비해 현저히 감소하였으며 모자반 주정 30% 추출물을 같이 처리한 군에서는 IL-1 β 만 처리한 군에 비해 증가하였다(Fig. 4A, 4B). 이 결과, collagen type II 발현양의 변화로도 모자반 주정 30% 추출물이 IL-1 β 에 의해 염증이 일어난 연골 세포에 효과가 있다는 것을 알 수 있다.

모자반의 IL-1 β 에 의해 염증이 일어난 연골 세포에서의 MAPK signaling pathways 발현 측정

Mitogen-activated protein kinase (MAPK) pathways는 염증 자극에 의해 활성화 되고 세포 증식, 분화, 생존, 죽음, 변형에 대한 중요한 역할을 한다. JNKs와 p38, Extracellularly regulated kinases (ERKs) MAPKs는 TNF- α 나 IL-1 β 와 같은 염증 사이토카인에 의해 강하게 활성화 되며 세포 스트레스에 반응한다(Kim and Choi, 2010). 그러므로 MAPK signaling pathways를 통해 염증이 일어난 연골 세포에 모자반 주정 30% 추출물이 어떤 영향을 미치는지 알아보았다. IL-1 β 가 처리되어 염증이 일어난 연골 세포에 모자반 주정 30% 추출물을 처리해본 결과, 오직 IL-1 β 만 처리된 군에서는 전체 양은 변화 없이 JNK, p38, 그리고 ERK의 인산화 된 양이 높았지만 모자반 주정 30% 추출물이 같이 처리된 군에서는 전체 양 변화없이 JNK, p38, ERK 인산화 된 양이 농도 의존적으로 낮아지는 것을 확인 할 수 있었다(Fig. 5). 이를 바탕으로 모자반 주정 30% 추출물은 IL-1 β 에 의한 염증이 일어난 연골 세포에서도 MAPK signaling pathways의 발현 양을 낮춤으로써 염증 완화에 확실히 효과가 있음을 보여준다. 이처럼 여러 염증 마커들과 연골 관련 마커들의 확인을 통해 모자반이 염증 및 연골 보호 효과가 있음을 알 수 있었다. 더 많은 마커들과 동물 실험을 진행하여 확실한 효과를 확인하는 연구가 필요하다. 또한 모자반 주정 추출물 외에도 다른 분획물들이 소량으로 더 좋은 효과를 낼 수 있는지에 대한 추가 연

구도 필요하다.

사 사

이 논문은 2021년도 해양수산부 재원으로 해양수산과학기술진흥원의 지원을 받아 수행된 연구입니다(20210656, 빅데이터 기반 해양바이러스 제어 및 마린바이오텍스 개발사업).

References

- Bae SJ. 2004. Anticarcinogenic effects of *Sargassum fulvellum* fractions on several human cancer cell lines *in vitro*. J Korean Soc Food Sci Nutr. 33, 480-486. <https://doi.org/10.3746/jkfn.2004.33.3.480>.
- Kim SH, Choi DS, Athukorala Y, Jeon YJ, Senevirathne M and Rha CK. 2007. Antioxidant activity of sulfated polysaccharides isolated from *Sargassum fulvellum*. J Food Sci Nutr 12, 65-73. <https://doi.org/10.3746/jfn.2007.12.2.065>.
- Choi DY and Choi H. 2015. Natural products from marine organisms with neuroprotective activity in the experimental models of Alzheimer's disease, Parkinson's disease and ischemic brain stroke: Their molecular targets and action mechanisms. Arch Pharm Res 38, 139-170. <https://doi.org/10.1007/s12272-014-0503-5>.
- Dunlap W and Yamamoto Y. 1995. Small-molecule antioxidants in marine organisms: Antioxidant activity of mycosporine-glycine. Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol 112, 105-114. [https://doi.org/10.1016/0305-0491\(95\)00086-N](https://doi.org/10.1016/0305-0491(95)00086-N).
- Glyn-Jones S, Palmer AJ, Agricola R, Price AJ, Vincent TL, Weinans H and Carr AJ. 2015. Osteoarthritis. Lancet 386, 376-387. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(14\)60802-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(14)60802-3).
- Goldring MB. 2000. Osteoarthritis and cartilage: The role of cytokines. Curr Rheumatol Rep 2, 459-465. <https://doi.org/10.1007/s11926-000-0021-y>.
- Goodrich LR and Nixon AJ. 2006. Medical treatment of osteoarthritis in the horse - A review. Vet J 171, 51-69. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2004.07.008>.
- Gu YT, Chen J, Meng ZL, Ge WY, Bian YY, Cheng SW, Xing CK, Yao JL, Fu J and Peng L. 2017. Research progress on osteoarthritis treatment mechanisms. Biomed Pharmacother 93, 1246-1252. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.07.034>.
- Kang JY, Khan MN, Park NH, Cho JY, Lee MC, Fujii H and Hong YK. 2008. Antipyretic, analgesic, and anti-inflammatory activities of the seaweed *Sargassum fulvellum* and *Sargassum thunbergii* in mice. J Ethnopharmacol 28, 187-190. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.10.032>.
- Kim EK and Choi EJ. 2010. Pathological roles of MAPK signaling pathways in human diseases. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis BBA Mol Basis Dis 1802, 396-405. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2009.12.009>.
- Kim JS, Ellman MB, Yan D, An HS, Kc R, Li X, Chen D, Xiao

- G, Cs-Szabo G, Hoskin DW, Buechter DD, Van Wijnen AJ and Im HJ. 2013. Lactoferricin mediates anti-inflammatory and anti-catabolic effects via inhibition of IL-1 and LPS activity in the intervertebral disc. *J Cell Physiol* 228, 1884-1896. <https://doi.org/10.1002/jcp.24350>.
- Korhonen R, Lahti A, Kankaanranta H and Moilanen E. 2005. Nitric oxide production and signaling in inflammation. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy* 4, 471-479. <https://doi.org/10.2174/1568010054526359>.
- Krinsky NI. 1991. Effects of carotenoids in cellular and animal systems. *Am J Clin Nutr* 53, 238S-246S. <https://doi.org/10.1093/ajcn/53.1.238S>.
- Kyriakis JM and Avruch J. 2012. Mammalian MAPK signal transduction pathways activated by stress and inflammation: A 10-year update. *Physiol Rev* 92, 689-737. <https://doi.org/10.1152/physrev.00028.2011>.
- Lauritano C and Ianora A. 2016. Marine organisms with anti-diabetes properties. *Mar Drugs* 14, 220. <https://doi.org/10.3390/md14120220>.
- Liu J, Luthuli S, Wu Q, Wu M, Choi JI and Tong H. 2020. Pharmaceutical and nutraceutical potential applications of *Sargassum fulvellum*. *Biomed Res Int* 2020, 2417410. <https://doi.org/10.1155/2020/2417410>.
- Lories RJ and Luyten FP. 2011. The bone-cartilage unit in osteoarthritis. *Nat Rev Rheumatol* 7, 43-49. <https://doi.org/10.1038/nrrheum.2010.197>.
- Mehana EE, Khafaga AF and El-Blehi SS. 2019. The role of matrix metalloproteinases in osteoarthritis pathogenesis: An updated review. *Life Sci* 234, 116786. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2019.116786>.
- Poole AR, Kobayashi M, Yasuda T, Laverty S, Mwale F, Kojima T, Sakai T, Wahl C, El-Maadawy S, Webb G, Tchetina E and Wu W. 2002. Type II collagen degradation and its regulation in articular cartilage in osteoarthritis. *Ann Rheum Dis* 61, ii78-81. https://doi.org/10.1136/ard.61.suppl_2.ii78.
- Saklatvala J. 2007. Inflammatory signaling in cartilage: MAPK and NF-kappaB pathways in chondrocytes and the use of inhibitors for research into pathogenesis and therapy of osteoarthritis. *Curr Drug Targets* 8, 305-313. <https://doi.org/10.2174/138945007779940115>.
- Verma P and Dalal K. 2011. ADAMTS-4 and ADAMTS-5: Key enzymes in osteoarthritis. *J Cell Biochem* 112, 3507-3514. <https://doi.org/10.1002/jcb.23298>.
- Zhong Q, Wei B, Wang S, Ke S, Chen J, Zhang H and Wang H. 2019. The antioxidant activity of polysaccharides derived from marine organisms: An overview. *Mar Drugs* 17, 674. <https://doi.org/10.3390/md17120674>.