

Lipopolysaccharide로 자극된 복강 대식세포에서 국내산 로열젤리의 염증 억제효과

Inhibitory Effect of Korean Royal Jelly on Inflammatory Response in Lipopolysaccharide-Stimulated Peritoneal Macrophages

저자 (Authors)

김건표, 권한올, 한상미, 이정민, 조윤희

Kunpyo Kim, Hanol Kwon, Sangmi Han, Jeongmin Lee, Yunhi Cho

출처 (Source)

Journal of Apiculture 29(2), 2014.6, 153-159 (7 pages)

발행처 (Publisher)

한국양봉학회

The Apicultural Society of Korea

URL

http://www.dbpia.co.kr/Article/NODE02438046

APA Style

김건표, 권한올, 한상미, 이정민, 조윤희 (2014). Lipopolysaccharide로 자극된 복강 대식세포에서 국내산 로열젤리의 염증 억제효과. Journal of Apiculture, 29(2), 153-159.

이용정보 (Accessed)

경희대학교 국제캠퍼스
163.***.175.63
2018/08/30 12:52 (KST)

저작권 안내

DBpia에서 제공되는 모든 저작물의 저작권은 원저작자에게 있으며, 누리미디어는 각 저작물의 내용을 보증하거나 책임을 지지 않습니다. 그리고 DBpia에서 제공되는 저작물은 DBpia와 구독계약을 체결한 기관소속 이용자 혹은 해당 저작물의 개별 구매자가 비영리적으로만 이용할 수 있습니다. 그러므로 이에 위반하여 DBpia에서 제공되는 저작물을 복제, 전송 등의 방법으로 무단 이용하는 경우 관련 법령에 따라 민, 형사상의 책임을 질 수 있습니다.

Copyright Information

Copyright of all literary works provided by DBpia belongs to the copyright holder(s)and Nurimedia does not guarantee contents of the literary work or assume responsibility for the same. In addition, the literary works provided by DBpia may only be used by the users affiliated to the institutions which executed a subscription agreement with DBpia or the individual purchasers of the literary work(s)for non-commercial purposes. Therefore, any person who illegally uses the literary works provided by DBpia by means of reproduction or transmission shall assume civil and criminal responsibility according to applicable laws and regulations.

Journal of Apiculture 제29권 제2호 (2014)
J. Apic. 29(2) : 153~159 (2014)

보문

Lipopolysaccharide로 자극된 복강 대식세포에서 국내산 로열젤리의 염증 억제효과

김건표 · 권한올 · 한상미[1] · 이정민 · 조윤희*
경희대학교 동서의학대학원 의학영양학과, [1]농촌진흥청 국립농업과학원

Inhibitory Effect of Korean Royal Jelly on Inflammatory Response in Lipopolysaccharide-Stimulated Peritoneal Macrophages

Kunpyo Kim, Hanol Kwon, Sangmi Han[1], Jeongmin Lee and Yunhi Cho*

Dept. of Medical Nutrition, Graduate School of East-West Medical Science, Kyung Hee University, Yongin, Korea
[1]National Academy of Agricultural Science, RDA, Suwon 441-100, Korea

(Received 9 May 2014; Revised 16 June 2014; Accepted 23 June 2014)

Abstract

Macrophages play an important role in inducing inflammation by producing inflammatory cytokines such as tumor necrosis factor (TNF)-α, interleukin (IL)-1β, IL-6 and reactive free radical nitric oxide (NO). Inflammation is protective response against invading microorganisms, but, when deregulated, it can lead to inflammatory diseases. In this study, we evaluated the effect of korean royal jelly on the production of inflammatory mediators such as TNF-α, IL-1β, IL-6, NO and activity of nuclear factor (NF)-κB. Peritoneal macrophages were isolated from thioglycollate medium-injected mice and cultured with lipopolysaccharide (LPS) in the presence of korean royal jelly (20, 50, 100μg/ml). Korean royal jelly decreased expression of TNF-α, IL-1β, IL-6 in LPS-stimulated macrophages. In particular, TNF-α and IL-1β levels were reduced in a concentration-dependent manner and TNF-α level was also significantly reduced. Korean royal jelly also decreased LPS-stimulated NO production in a concentration-dependent manner and inhibited the activity of NF-κB. Together, we demonstrate that korean royal jelly has anti-inflammatory effects through inhibition of TNF-α, IL-1β, IL-6, NO production and NF-κB activity.

Key words: Royal jelly, Inflammation, Macrophage, Lipopolysaccharide, Inflammatory cytokines

서 론

염증은 외부 이물질에 의해 활성화된 대식세포에서 분비된 매개물질들이 혈관의 확장 및 발열을 야기하고, 탐식세포를 불러들임으로써 이들을 제거하는 선천면역의 중요한 반응이다. 여러 외부의 이물질 중 toll-like receptor (TLR)4에 의해 인식되는 박테리아 내독소인 lipopolysaccharide (LPS)는 대식세포를 활성화시켜

*Corresponding author. E-mail: choyunhi@khu.ac.kr

경희대학교 국제캠퍼스 | IP: 163.***.175.63 | Accessed 2018/08/30 12:52(KST)

염증반응을 일으키는 주요한 인자 중 하나이다. TLR4에 의해 LPS가 인식되면 대식세포 내부의 여러 단계의 신호전달 과정을 거쳐 nuclear factor (NF)-κB가 활성화되고, 활성화된 NF-κB는 핵으로 이동하여 tumor necrosis factor (TNF)-α, interleukin (IL)-1β, IL-6 등의 염증성 사이토카인과 케모카인, inducible nitric oxide synthase (iNOS)와 같은 효소의 유전자 발현을 증가시키게 된다(Akira *et al*., 2006). LPS에 의해 활성화된 대식세포에서는 1차적으로 TNF-α가 발현되고, 이어서 IL-1β와 IL-6가 발현된다. TNF-α와 IL-1β는 국소 염증반응을 일으켜 외부 물질이 침입한 곳으로 호중구와 탐식세포를 불러들이고, 활성화시켜 외부 물질을 제거하는 역할을 하지만, 그 분비량이 많아지게 되면 혈액으로 유입되어 발열 및 급성단계 혈장단백 합성 등의 전신 반응을 유발한다(Ceciliani *et al*., 2002). IL-6는 TNF-α와 IL-1β에 의해 그 합성이 증가되고, 간세포의 급성단계 단백질 합성을 증가시켜 급성단계 염증반응을 유발한다(Ceciliani *et al*., 2002). 또한, LPS에 의해 활성화된 대식세포에서는 L-arginine으로부터 nitric oxide (NO)를 생성하는 iNOS의 발현이 증가하게 되고, 생성된 NO는 대식세포가 탐식한 이물질을 공격하여 제거하는 역할을 한다(MacMicking *et al*., 1997).

이처럼 활성화된 대식세포에서 분비되는 매개물질들에 의해 이루어지는 염증반응은 외부에서 침입한 이물질들을 제거하여 우리 몸의 항상성을 유지하는데 중요한 역할을 하지만, 제어되지 않는 염증반응은 만성염증으로 발전하여 류마티스 관절염, 심장질환, 궤양, 염증성 폐질환, 건선, 다발성 경화증과 같은 여러 질병을 유발하게 된다(Andreakos *et al*., 2004). 때문에 이런 질병들을 예방하고 치료하기 위해 활성화된 대식세포에서 발현되는 염증매개물질들을 억제하거나 조절할 수 있는 성분들에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다. 특히, 최근에는 염증을 조절할 수 있는 천연물이나 영양소의 발굴과 개발이 많이 진행되고 있는데, 그 소재 중 하나가 로열젤리이다.

일벌의 하인두선과 상악선에서 분비되며 여왕벌의 먹이로 잘 알려진 로열젤리는 벌들의 우유로 불릴 정도로 영양분이 풍부한 물질로, 예로부터 자양강장제로 널리 이용되어 왔다. 로열젤리의 주요 성분으로는 로열젤리의 지표물질로 사용되는 10-hydroxydecanoic acid(10-HDA)와 로열젤리의 단백질 성분 중 대부분을 차지하는 Major Royal Jelly Protein(MRJP)이 있다 (Schmitzova *et al*., 1998; Weaver and Law, 1960). 지금까지 보고된 항종양, 항염증 및 면역조절, 항균, 에스트로겐 유사기능, 콜라겐 생성 및 피부보습 등의 여러 로열젤리의 효능들은 주로 10-HDA 및 MRJP에 의한 것으로 알려져 있고(Li *et al*., 2013), 이 두 가지 성분은 모두 염증 관련 매개물질의 생성 또한 억제한다고 보고되어 있다 (Sugiyama *et al*., 2012a). 10-HDA는 LPS에 의해 활성화된 대식세포에서 분비되는 TNF-α와 IL-6의 생산을 억제하고(Kohno *et al*., 2004; Sugiyama *et al*., 2012b), iNOS의 합성을 억제하여 NO의 생성을 감소시킨다고 알려져 있다(Sugiyama *et al*., 2013). MRJP 또한 TNF-α의 분비를 억제한다고 보고되어 있다(Kohno *et al*., 2004). 그러나, 이와 같은 로열젤리의 항염증 기능들은 대부분 외국의 연구결과로 국내산 로열젤리의 항염증 기능에 대한 보고는 미비한 실정이다. 이에, 본 연구에서는 국내산 로열젤리가 LPS로 활성화된 복강 대식세포에서 염증매개물질 TNF-α, IL-1β, IL-6 및 NO 생성과 염증성 사이토카인의 발현을 조절하는 것으로 알려진 NF-κB 활성에 어떠한 영향을 미치는지 세포 수준에서 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

로열젤리 시료준비

로열젤리는 포천산을 농가에서 구입하여 1mg/ml 농도로 Dimethyl Sulfoxide (DMSO)에 용해시킨 후 phosphate-buffered saline (PBS)에 희석하여 최종농도 20, 50, 100μg/ml로 준비하였다.

복강 대식세포 분리 및 배양

6주령 암컷 Balb/c mouse(Daehan Bio Link, Eumseong, Korea) 복강에 thioglycollate (DIFCO, Detroit, USA) 2ml를 주사하여 대식세포를 유도하였다. 3일 후 마우스를 경추탈골법에 의해 희생시키고 RPMI 1640(Hyclone Laboratories, Logan, Utah, USA) 8ml을 복강에 주사하여 마사지 후 복강 대식세포를 회수하였다. 회수한 복강 대식세포는 tryphan blue dye를 이용하여 세포수

경희대학교 국제캠퍼스 | IP: 163.***.175.63 | Accessed 2018/08/30 12:52(KST)

를 확인한 후, 각 시험 분석에 맞는 농도로 10% fetal bovine serum(Hyclone Laboratories, Logan, Utah, USA), 2mmol/L glutamine(Hyclone Laboratories, Logan, Utah, USA), 100mg/L penicillin-streptomycin(Hyclone Laboratories, Logan, Utah, USA)를 첨가한 RPMI 1640를 이용하여 희석한 후, 37°C, 5% CO_2 세포 배양기에서 배양하였다.

사이토카인 측정

분리한 복강 대식세포를 96-well plate에 각 well 당 1 $\times 10^3$ cells/μl로 seeding한 후, 1μg/ml LPS(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)와 농도별 국내산 로열젤리를 처리하여 24시간 동안 37°C에서 배양하였다. 배양액에 생성된 TNF-α, IL-1β, IL-6의 양을 DuoSet sandwich ELISA mouse kit(R&D system, Mckinley place NE, USA)를 이용하여 측정하였다.

Nitric oxide 측정

분리한 복강 대식세포를 96-well plate에 각 well 당 1 $\times 10^3$ cells/μl로 seeding한 후, 1μg/ml LPS 와 국내산 로열젤리 농도별로 각각 처리한 후 72시간 동안 37°C에서 배양하였다. 상층액 50μl을 96-well plate에 옮기고 Griess reagent(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) 50μl를 첨가한 후 15분 이내에 흡광도 540nm에서 ELISA reader(VERSAMAXSL-20 Molecular Devices, Korea)를 이용하여 측정하였다.

NF-κB luciferase reporter gene assay

분리한 복강 대식세포를 24-well plate에 각 well 당 2 $\times 10^6$ cells/ml로 seeding한 후, Dual luciferase reporter assay system으로 promoter activity를 측정하였다. Lipofectamine™ 2000 reagent(Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)를 사용하여 세포에서부터 pNF-κB-luciferase (Stratagene, La Jolla, CA, USA) 1mg/ml, pRL-SV plasmid (Promega, Madison, WI, USA) 20ng을 transient transfect한 후 1μg/ml LPS와 국내산 로열젤리를 농도별로 처리하고 16시간 동안 37°C에서 배양하고 luminometer (Labsystems, Fluoroskan Ascent, FL, USA)로 측정하였다.

통계처리

실험결과는 SPSS(Statistical Package for the Social Science) version 21.0 프로그램(SPSS Inc. Chicago, IL, USA)을 이용하여 분석하였다. 모든 측정 항목의 결과는 평균±표준편차(mean±SD)로 표시하였고 실험군간 평균의 차이는 one-way ANOVA로 유의성을 확인한 후 Duncan's multiple range test를 이용하여 사후 검증하였으며, $P<0.05$ 수준에서 유의성의 여부를 검증하였다.

결과 및 고찰

국내산 로열젤리가 LPS에 의해 자극된 복강 대식세포의 염증성 사이토카인 TNF-α, IL-1β, IL-6 분비에 미치는 영향

국내산 로열젤리가 염증성 사이토카인 분비에 미치는 영향을 확인하기 위해 마우스 복강에서 대식세포를 분리하여 LPS와 함께 각기 다른 농도의 국내산 로열젤리를 처리하고 TNF-α, IL-1β, IL-6의 발현량을 살펴보았다. 복강 대식세포에 1μg/ml LPS를 처리한 경우 LPS 처리를 하지 않은 대조군에 비해 TNF-α는 약 13배, IL-1β와 IL-6는 약 4배 정도 발현량이 증가하였다(Fig. 1). LPS는 TLR4에 의해 대식세포를 활성화시킴으로써 TNF-α, IL-1β, IL-6와 같은 염증성 사이토카인을 발현한다고 알려져 있기 때문에(Hopkins, 2003), 이 결과를 통해 복강 대식세포가 LPS에 의해 적절하게 자극되었다는 것을 확인할 수 있었다. 복강 대식세포에 1μg/ml LPS와 함께 국내산 로열젤리를 각각 20, 50, 100μg/ml 농도로 처리하였을 때 TNF-α와 IL-1β는 농도 의존적으로 발현이 감소하였다. 특히, 100μg/ml의 농도에서 TNF-α는 LPS만 처리한 군 대비 75% 발현이 감소하였고, IL-1β의 경우도 58% 감소하였다(Fig. 1). IL-6의 경우 국내산 로열젤리 20μg/ml 농도에서는 LPS만 처리한 군과 차이가 없었지만, 50μg/ml와 100μg/ml에서는 LPS만 처리한 군 대비 각각 20, 34% 발현이 감소하였다(Fig. 1).

이 결과들은 국내산 로열젤리가 50μg/ml 이상의 농도에서 LPS에 의해 유도된 염증성 사이토카인인 TNF-α, IL-1β, IL-6의 분비를 모두 효과적으로 억제한

경희대학교 국제캠퍼스 | IP: 163.***.175.63 | Accessed 2018/08/30 12:52(KST)

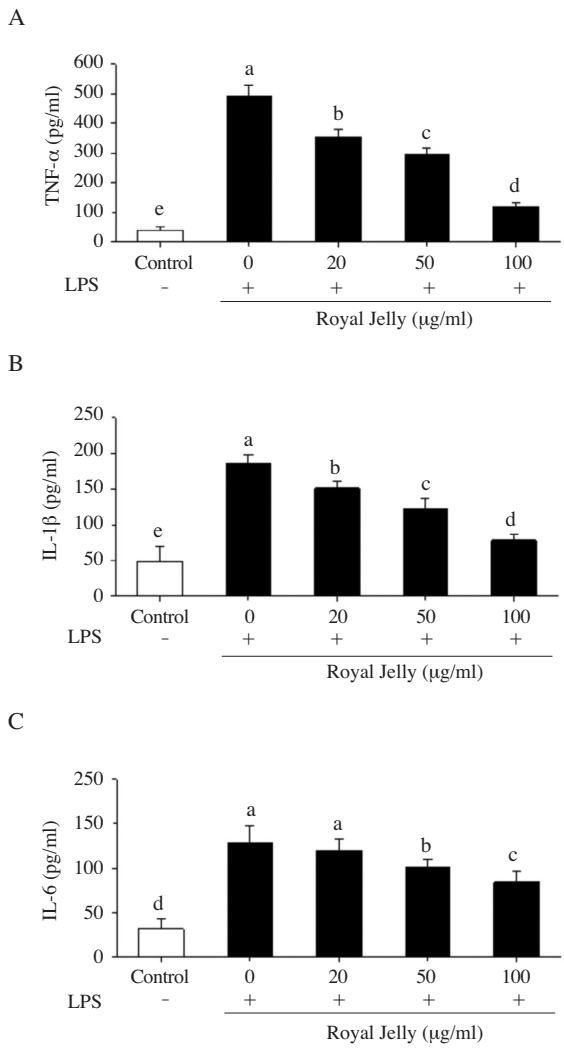


Fig. 1. Effects of korean royal jelly on production of pro-inflammatory cytokines from peritoneal macrophages stimulated with lipopolysaccharides (LPS). Cells (1×10^3 cells/μl) were incubated for 24h with various concentrations of korean royal jelly in the presence or absence of 1μg/ml LPS or absence. The levels of tumor necrosis factor (TNF)-α (A), interleukin (IL)-1β (B), and IL-6 (C) were determined by ELISA. All data were shown as mean ± SD (n=5). Means with different letters are significantly different ($P<0.05$) by Duncan's multiple range test.

다는 것을 나타내었다. 중국산 로열젤리는 LPS와 Interferon (IFN)-γ에 의해 활성화된 대식세포에서 발현되는 TNF-α, IL-6, IL-1의 생성을 효과적으로 억제한다는 유사한 연구 결과가 보고되었고, 로열젤리의 구성성분 중 MRJP3를 TNF-α의 생성을 억제하는 성분으로 제시하였다(Kohno *et al*., 2004). MRJP는 49~87 kDa의 분자량을 가지는 다섯 종류의 단백질(MRJP1~5)군으로 구성되는데 그 중 약 70 kDa의 크기를 가지는 MRJP3는 in vitro 상에서 T 세포의 IL-2, IL-4, IFN-γ의 발현을 억제하고 마우스에서 알레르기를 유발하는 IgE의 생성을 억제하는 등 선천면역뿐 아니라 적응면역에 이르는 전반적인 면역억제 기능을 보이는 것으로 알려져 있다(Okamoto *et al*., 2003). 또한, 로열젤리의 주요성분인 10-HDA도 LPS에 의해 활성화된 대식세포주(RAW264)에서 분비되는 IL-6를 농도 의존적으로 억제한다는 보고가 있다(Sugiyama *et al*., 2012b). 이를 바탕으로 국내산 로열젤리의 TNF-α, IL-6의 분비를 억제하는 기전에도 10-HDA와 MRJP3가 주요한 역할을 하는 것으로 사료된다.

국내산 로열젤리가 염증성 사이토카인인 TNF-α, IL-1β, IL-6의 분비를 모두 억제하였지만 그 중에서 TNF-α와 IL-1β를 더 강하게 억제한 것으로 나타났다. TNF-α와 IL-1β는 IL-6 보다 더욱 낮은 로열젤리 농도(20μg/ml)에서부터 발현이 감소되어 100μg/ml 농도에서는 LPS만 처리한 군 대비 절반 이상 발현량이 감소하였는데, TNF-α의 경우 발현량이 75%까지 감소하였다. 이는 국내산 로열젤리가 염증 반응의 시작에 있어 가장 중요한 역할을 하는 TNF-α를 더욱 강하게 억제하여, 염증반응을 효과적으로 관리할 수 있음을 시사한다. LPS 등과 같은 병원균의 신호에 반응하여 대식세포에서는 초기 염증 반응으로 TNF-α를 발현하고, TNF-α는 대식세포를 더욱 활성화시켜 염증 반응을 확대시킨다(Waters *et al*., 2013). 활성화된 대식세포는 그 후 IL-1β를 발현하는데 이것은 TNF-α 및 IL-1β 자신에 의하여 더욱 활성화 된다(Moller and Villiger, 2006). 3개의 사이토카인 중 마지막으로 발현되는 IL-6는 LPS는 물론 TNF-α와 IL-1β에 의해 발현이 증가하지만, IL-6 자신은 다른 염증성 사이토카인의 발현을 억제한다(Ceciliani *et al*., 2002). 이와 같이 TNF-α와 IL-1β는 염증을 시작하고 확대시키는 역할을 하기 때문에 류마티스 관절염과 같은 자가면역질환 및 패혈증, 알츠하이머병, 다발성 경화증 등 다양한 질병을 유발하며(Moller and Villiger, 2006), 이러한 염증성 질환을 막기 위해 TNF-α와 IL-1β의 발현을 조절하는 것

경희대학교 국제캠퍼스 | IP: 163.***.175.63 | Accessed 2018/08/30 12:52(KST)

이 중요하게 여겨지고 있다. 국내산 로열젤리는 이 두 가지 염증성 사이토카인을 강하게 억제하기 때문에 효과적인 염증 관리 소재로 사용될 수 있을 것이라 사료된다.

로열젤리가 LPS에 의해 자극된 복강 대식세포의 NO 생성에 미치는 영향

국내산 로열젤리가 염증성 사이토카인 TNF-α, IL-1β, IL-6의 발현에 미치는 영향을 살펴본 뒤, 또 하나의 주요한 염증 매개물질인 NO의 발현에 미치는 영향을 살펴보았다. 대식세포에 의해 생성되는 NO는 외부 세균, 바이러스, 기생충 등의 감염에 대한 방어 기전으로 중요한 역할을 하지만, 과도하게 생성된 NO는 정상 조직까지 파괴하여 자가면역 및 만성 염증 질병을 유발한다 (MacMicking *et al*., 1997). LPS를 처리하지 않은 복강 대식세포에서는 현저히 낮은 NO 생성을 보이는 반면, 1μg/ml LPS를 처리한 군에서는 대조군 대비 11배가 넘게 NO 생성이 증가하였다(Fig. 2). 반면 LPS와 함께 로열젤리를 각각 20, 50, 100μg/ml 농도로 처리한 경우 LPS만 처리한 군에 비해 NO 생성이 각각 23, 37, 65% 감소하였다(Fig. 2). 이를 통해

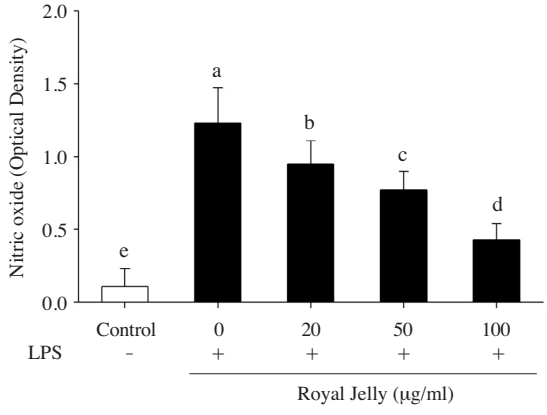


Fig. 2. Effects of korean royal jelly on nitric oxide (NO) production from peritoneal macrophages stimulated with lipopolysaccharides (LPS). Cells (1×10^3 cells/μl) were incubated for 72 h with various concentrations of korean royal jelly in the presence or absence of 1μg/ml LPS or absence. The level of NO was determined in culture supernatant by Griess reagent. All data were shown as mean ± SD (n=5). Means with different letters are significantly different ($P<0.05$) by Duncan's multiple range test.

국내산 로열젤리가 LPS로 활성화된 대식세포에서 생성되는 NO를 농도 의존적으로 억제시킨다는 것을 보여주었다.

NO는 L-arginine과 O_2로부터 3가지 NOS 동종효소에 의해 합성되는데, 그 중 neuronal NOS(nNOS)와 endothelial NOS(eNOS)는 본질적인 구성 요소로 칼슘 의존적인 효소 활성을 보이는 반면, iNOS는 칼슘과 독립적으로 염증성 사이토카인 및 LPS의 자극에 의해 전사 수준에서 그 활성이 조절된다(Nathan and Xie, 1994). 또한, nNOS와 eNOS에 의해 생성되는 NO는 혈관의 항상성 유지 등의 건강한 생리적 작용을 포함하는데 비해, 대식세포에서 발현되는 iNOS에 의해 생성되는 NO는 염증과 감염에 관여한다 (MacMicking *et al*., 1997). 이와 관련하여 로열젤리의 성분 중 10-HDA가 LPS와 IFN-β 자극에 의해 증가된 iNOS의 유전자 발현을 억제하여 NO 생성을 감소시켰다는 연구결과가 있다(Sugiyama *et al*., 2013). 또한, 10-HDA가 IFN-γ 자극에 의해 유도된 interferon regulatory factor(IRF)-8과 TNF-α 생성을 억제하여 iNOS 활성과 NO 생성을 감소시켰다는 연구결과도 보고되었다(Takahashi *et al*., 2012). 이를 바탕으로 국내산 로열젤리의 NO 생성 감소도 지표물질인 10-HDA의 iNOS 발현 억제에 의한 결과라 사료된다.

로열젤리가 LPS에 의해 자극된 복강 대식세포에서 염증성 신호전달 물질 NF-kB 활성조절에 미치는 영향

마지막으로 국내산 로열젤리의 염증성 사이토카인 TNF-α, IL-1β, IL-6의 발현 억제와 NO 생성 감소에 대한 기전을 확인해보기 위해 국내산 로열젤리가 NF-κB의 활성에 미치는 영향에 대해 살펴보았다. LPS에 의해 자극되지 않은 상태의 복강 대식세포에서는 낮은 NF-κB의 활성을 보였지만, 1μg/ml LPS를 처리함에 따라 대조군 대비 4배 활성이 증가하였다(Fig. 3). LPS와 함께 국내산 로열젤리를 함께 처리한 경우 20μg/ml 농도에서는 LPS만 처리한 군에 비해 활성의 변화가 없었지만, 50, 100μg/ml 농도에서는 LPS만 처리한 군 대비 NF-κB의 활성이 각각 29, 45% 감소하였다(Fig. 3). NF-κB의 활성은 TNF-α, IL-1β, IL-6와 같은 염증성 사이토카인, 접합분자, 케모카인, 성장인자 및

경희대학교 국제캠퍼스 | IP: 163.***.175.63 | Accessed 2018/08/30 12:52(KST)

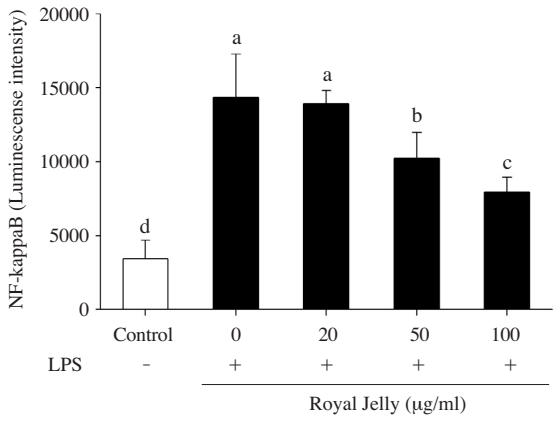


Fig. 3. Effects of korean royal jelly on nuclear factor κB (NF-κB) activation from peritoneal macrophages stimulated with lipopolysaccharides (LPS). Cells (2×10^6 cells/ml) were incubated for 16 h with various concentrations of korean royal jelly in the presence or absence of 1μg/ml LPS or absence. The NF-κB activity was determined by luminometer. All data were shown as mean ± SD (n=5). Means with different letters are significantly different ($P<0.05$) according to Duncan's multiple range test.

iNOS 등의 유전자 발현을 조절함으로써 염증에 있어서 중심적인 역할을 하는 것으로 알려져 있고, 이러한 과정은 LPS와 같은 병원균, TNF-α, IL-1과 같은 염증성 사이토카인 및 스트레스 등 외부 자극에 의해 활성화되는 것으로 알려져 있다(Hanada and Yoshimura, 2002). 그러므로 국내산 로열젤리가 LPS에 의해 활성화된 NF-κB를 억제하는 것이 염증 반응의 중심적인 조절 기전이고 이를 통해 TNF-α, IL-1β, IL-6 발현 및 NO 생성의 감소에도 영향을 미친 것으로 사료된다.

이와 관련하여 10-HDA가 대식세포주 (RAW264)에서 LPS에 의해 활성화된 NF-κB를 농도 의존적으로 감소시킨다는 보고가 있고, 이는 NF-κB의 하부단위와 상호작용하는 inhibitor of NF-κB (IκB)-ζ의 활성을 억제하여 이루어진다고 보고되었다(Sugiyama *et al*., 2012b). 또한, IκB-ζ 와 NF-κB 복합체는 IL-6의 발현을 유도하는데 10-HDA는 IκB-ζ 의 활성을 억제하여 IL-6의 발현을 감소시킨다고 보고되었다(Sugiyama *et al*., 2012b). 또한 10-HDA가 LPS와 IFN-β에 의해 활성화된 NF-κB를 강하게 억제함은 물론, TNF-α의 생성을 억제하여 TNF-α에 의해 활성화되는 NF-κB도 억제하고 이로 인해 iNOS의 유전자 발현 및 NO의 생성을 억제한다고 보고하였다(Sugiyama *et al*., 2013). 이를 바탕으로 국내산 로열젤리의 염증성 사이토카인 TNF-α, IL-1β, IL-6 발현 및 NO 생성을 감소시키는 항염증효과는 10-HDA의 NF-κB 활성 억제가 핵심적인 역할을 하는 것으로 사료된다. 그러나 로열젤리의 염증성 사이토카인 TNF-α, IL-1β, IL-6를 억제하는 성분에는 저분자(<5 kDa)와 고분자(>30 kDa) 물질이 함께 구성되어 있다는 보고에 따라(Kohno *et al*., 2004), 저분자 물질인 10-HDA 뿐 아니라 고분자 물질인 MRJP3와 같은 다른 여러 구성 성분들도 염증성 사이토카인의 발현을 억제하는데 주요한 역할을 하는 것으로 사료된다.

본 연구는 국내산 로열젤리가 LPS에 의해 활성화된 대식세포에서 발현되는 TNF-α, IL-1β, IL-6와 NO 생성 및 NF-κB 활성을 효과적으로 억제함을 제시하였다. 특히, 국내산 로열젤리가 염증 반응에 있어서 핵심적인 역할을 하는 TNF-α를 강하게 억제하였으므로, TNF-α가 유발하는 패혈증, 류마티스 관절염, 다발성 경화증 등과 같은 다양한 염증성 질환을 효과적으로 관리하는데 활용될 수 있을 것으로 사료된다. 또한 대식세포에서 발현되는 TNF-α가 아토피 피부염이나 건선과 같은 피부의 염증성 질환과 관계된다고 보고되었기에(Kasraie and Werfel, 2013), 국내산 로열젤리는 대식세포의 염증성 사이토카인에 의해 발생하는 피부 염증 감소와 이를 통해 피부 건강에도 도움을 줄 수 있을 것이라 사료된다.

적 요

본 연구는 LPS로 자극된 복강 대식세포를 이용하여 국내산 로열젤리 처리에 의한 항염증 효과를 알아보기 위해 TNF-α, IL-1β, IL-6와 NO의 발현 및 NF-κB 활성의 변화를 비교, 분석하였으며 그 결과는 다음과 같다.

1) 국내산 로열젤리 처리는 LPS로 자극된 복강 대식세포의 TNF-α와 IL-1β의 발현을 농도 의존적으로 억제하였고, IL-6의 발현은 50μg/ml 이상에서 효과적으로 억제하였다. 특히, TNF-α를 강하게 억제하였다.

경희대학교 국제캠퍼스 | IP: 163.***.175.63 | Accessed 2018/08/30 12:52(KST)

2) 국내산 로열젤리 처리는 LPS로 자극된 복강 대식세포의 NO 생성을 농도 의존적으로 억제하였다.
3) 국내산 로열젤리 처리는 LPS로 자극된 복강 대식세포에서 NF-κB 활성을 50μg/ml 이상에서 효과적으로 억제하였다.

결론적으로, 국내산 로열젤리는 LPS로 자극된 복강 대식세포에서 발현되는 염증성 사이토카인 TNF-α, IL-1β, IL-6 및 NO를 유의적으로 감소시키고, 염증성 신호전달 물질인 NF-κB 활성을 억제하여 항염증 효과를 나타내었다.

감사의 글

본 연구는 농진청 차세대바이오그린21(과제번호: PJ0090662013)에 의해 지원되었습니다.

인 용 문 헌

Akira, S., S. Uematsu and O. Takeuchi. 2006. Pathogen recognition and innate immunity. Cell. 124: 783-801.

Andreakos, E., B. Foxwell and M. Feldmann. 2004. Is targeting Toll-like receptors and their signaling pathway a useful therapeutic approach to modulating cytokine-driven inflammation? Immunological reviews. 202: 250-265.

Ceciliani, F., A. Giordano and V. Spagnolo. 2002. The systemic reaction during inflammation: the acute-phase proteins. Protein and peptide letters. 9: 211-223.

Hanada, T. and A. Yoshimura. 2002. Regulation of cytokine signaling and inflammation. Cytokine & growth factor reviews. 13: 413-421.

Hopkins, S.J. 2003. The pathophysiological role of cytokines. Leg Med (Tokyo). 5 Suppl 1: S45-57.

Kasraie, S. and T. Werfel. 2013. Role of macrophages in the pathogenesis of atopic dermatitis. Mediators of inflammation. 2013: 942375.

Kohno, K., I. Okamoto, O. Sano, N. Arai, K. Iwaki, M. Ikeda and M. Kurimoto. 2004. Royal jelly inhibits the production of proinflammatory cytokines by activated macrophages. Bioscience, biotechnology, and biochemistry. 68: 138-145.

Li, X., C. Huang and Y. Xue. 2013. Contribution of lipids in honeybee (*Apis mellifera*) royal jelly to health. Journal of medicinal food. 16: 96-102.

MacMicking, J., Q.W. Xie and C. Nathan. 1997. Nitric oxide and macrophage function. Annual review of immunology. 15: 323-350.

Moller, B. and P.M. Villiger. 2006. Inhibition of IL-1, IL-6, and TNF-alpha in immune-mediated inflammatory diseases. Springer seminars in immunopathology. 27: 391-408.

Nathan, C. and Q.W. Xie. 1994. Regulation of biosynthesis of nitric oxide. The Journal of biological chemistry. 269: 13725-13728.

Okamoto, I., Y. Taniguchi, T. Kunikata, K. Kohno, K. Iwaki, M. Ikeda and M. Kurimoto. 2003. Major royal jelly protein 3 modulates immune responses in vitro and in vivo. Life sciences. 73: 2029-2045.

Schmitzova, J., J. Klaudiny, S. Albert, W. Schroder, W. Schreckengost, J. Hanes, J. Judova and J. Simuth. 1998. A family of major royal jelly proteins of the honeybee *Apis mellifera* L. Cellular and molecular life sciences : CMLS. 54: 1020-1030.

Sugiyama, T., K. Takahashi, A. Kuzumaki, S. Tokoro, P. Neri and H. Mori. 2013. Inhibitory mechanism of 10-hydroxy-trans-2-decenoic acid (royal jelly acid) against lipopolysaccharide- and interferon-beta-induced nitric oxide production. Inflammation. 36: 372-378.

Sugiyama, T., K. Takahashi and H. Mori. 2012a. Royal jelly acid, 10-hydroxy-trans-2-decenoic acid, as a modulator of the innate immune responses. Endocrine, metabolic & immune disorders drug targets. 12: 368-376.

Sugiyama, T., K. Takahashi, S. Tokoro, T. Gotou, P. Neri and H. Mori. 2012b. Inhibitory effect of 10-hydroxy-trans-2-decenoic acid on LPS-induced IL-6 production via reducing IkappaB-zeta expression. Innate immunity. 18: 429-437.

Takahashi, K., T. Sugiyama, S. Tokoro, P. Neri and H. Mori. 2012. Inhibition of interferon-gamma-induced nitric oxide production by 10-hydroxy-trans-2-decenoic acid through inhibition of interferon regulatory factor-8 induction. Cellular immunology. 273: 73-78.

Waters, J.P., J.S. Pober and J.R. Bradley. 2013. Tumour necrosis factor in infectious disease. The Journal of pathology. 230: 132-147.

Weaver, N. and J.H. Law. 1960. Heterogeneity of fatty acids from royal jelly. Nature. 188: 938-939.

경희대학교 국제캠퍼스 | IP: 163.***.175.63 | Accessed 2018/08/30 12:52(KST)