



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

이 학 석 사 학 위 논 문

납에 의한 흰쥐의 간 손상에 대한
투스 및 클로렐라 추출물의
간 보호 효과



2018년 2월

부 경 대 학 교 대 학 원

식품생명과학과

박 주 현

이 학 석 사 학 위 논 문

납에 의한 흰쥐의 간 손상에 대한
투스 및 클로렐라 추출물의
간 보호 효과

지도교수 남 택 정

이 논문을 이학석사 학위논문으로 제출함

2018년 2월

부 경 대 학 교 대 학 원

식품생명과학과

박 주 현

박주현의 이학석사 학위논문을
인준함.

2018년 2월 23일



주	심	이학박사	김형락	(인)
위	원	이학박사	김재일	(인)
위	원	농학박사	남택정	(인)

목 차

LIST OF TABLE	III
LIST OF FIGURES	IV
ABBREVIATIONS	V
ABSTRACT	VII
 I. 서론	 1
 II. 재료 및 방법	 3
1. 실험재료	3
가. 실험동물	3
나. 시약 및 재료	3
2. 실험방법	4
가. 시료의 제조	4
나. 실험동물	7
(1) 실험동물의 사육	7
(2) 처치 및 시료의 채취	9
다. 혈청 중 GOT/GPT 활성 측정	9
라. TBARS 측정	9
마. 간 조직의 항산화 효소 활성	10
(1) 간 조직의 SOD 활성 측정	10
(2) 간 조직의 CAT 활성 측정	10
(3) 간 조직의 GSH 함량 측정	11
바. 간 조직 단백질 발현 및 분석 (Western blot analysis)	11
사. 통계학적 처리	12

III. 결과 및 고찰	13
1. 납 및 HZK/CHL 투여가 체중 변화에 미치는 영향	13
2. 납 및 HZK/CHL 투여가 장기 무게에 미치는 영향	14
3. 간 조직의 관찰	14
4. 납 및 HZK/CHL 투여가 혈청 GOT/GPT 수준에 미치는 영향	17
5. 납 및 HZK/CHL 투여 후 간 조직의 TBARS 변화	20
6. 납 및 HZK/CHL 투여 후 간 조직의 SOD 활성 변화	22
7. 납 및 HZK/CHL 투여 후 간 조직의 CAT 활성 변화	24
8. 납 및 HZK/CHL 투여 후 간 조직의 GSH 함량 변화	26
9. 납 및 HZK/CHL 투여가 간 조직 내 독성 관련 인자 및 염증 관련 인자에 미치는 영향	28
IV. 결론 및 요약	34
V. 참고 문헌	37

LIST OF TABLES

Table 1. Body weight gain

Table 2. Liver weight and Kidney weight



LIST OF FIGURES

Fig. 1. Extraction procedures of HZK and CHL from *Hizikia fusiforme* and *Chlorella* sp.

Fig. 2. Procedures of rat experiment.

Fig. 3. Photographs of liver after lead acetate or lead acetate with HZK and CHL.

Fig. 4. Effects of HZK and CHL on serum GOT activities in lead acetate-induced rats.

Fig. 5. Effects of HZK and CHL on serum GPT activities in lead acetate-induced rats.

Fig. 6. Effects of HZK and CHL on Thiobarbituric Acid-Reactive Substances (TBARS) levels in Liver tissue.

Fig. 7. Effects of HZK and CHL on SOD activity in Liver tissue.

Fig. 8. Effects of HZK and CHL on CAT activity in Liver tissue.

Fig. 9. Effects of HZK and CHL on GSH content in Liver tissue.

Fig. 10. Western blot analysis of MAPKs expression on lead acetate-induced rat.

Fig. 11. Western blot analysis of NF- κ B expression on lead acetate-induced rat.

Fig. 12. Western blot analysis of Inflammation inhibitor expression on lead acetate-induced rat.

ABBREVIATIONS

AP-1 : activating protein 1
BSA : bovine serum albumin
BW : body weight
CAT : catalase
CHL : *Chlorella* sp. crude protein
CON : control
COX-2 : cyclooxygenase-2
EDTA : trypsin-ethylendiamine tetraacetic acid
ERK : extracellular signal-regulated kinase
GAPDH : glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase
GOT : glutamate oxaloacetic transaminase
GPT : glutamate pyruvic transaminase
GSH : glutathione
GST : glutathione-S-transferase
HZK : *Hizikia fusiforme* crude protein
HO-1 : heme oxygenase-1
IL-1 : interleukin-1
iNOS : inducible NO synthase
IRF-1 : interferon Regulatory Factor-1
JNK : c-Jun N-terminal kinases
kDa : kilodalton
MAPK : mitogen-activated protein kinase

MDA : malondialdehyde

NF- κ B : nuclear factor κ B

NO : nitrogen oxide

Nrf2 : nuclear factor erythroid 2 related factor 2

Nqo-1 : NADPH quinine oxidoreductase-1

PVDF : polyvinylidene difluoride

p-38 : mitogen-activated protein kinases

ROS : reactive oxygen species

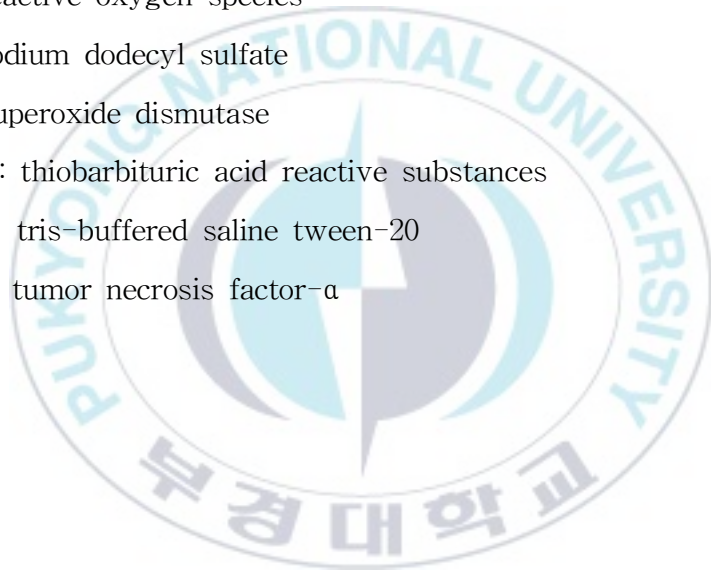
SDS : sodium dodecyl sulfate

SOD : superoxide dismutase

TBARS : thiobarbituric acid reactive substances

TBS-T : tris-buffered saline tween-20

TNF- α : tumor necrosis factor- α



Protective effect of *Hizikia fusiforme* and *Chlorella* extract on lead acetate-induced hepatotoxicity in rats

Joo hyun Park

Department of Food and Life Science, The Graduate School,
Pukyong National University

Abstract

Fine or ultra-fine Particulate matter (PM) less than 10 μm in diameter is an air pollutant causing various pulmonary diseases. These particles are often referred to as PM₁₀. It is mainly discharged through automobile exhaust gas or factory chimney, and the exposure of PM₁₀ due to yellow dust or severe smog from China. PM₁₀ is easily absorbed into the body through the respiratory system. Its lead content in the fine dust is 133 times of the lead content in the soil, and it is known that the inhaled PM₁₀ accumulates in the liver and the kidney in our body, resulting in a health problem. Studies have shown that seaweeds are foods that have been consumed in large quantities as food in Korea, Japan, and China, and seaweeds such as kelp and sea mustard are effective in the release of heavy metals when ingested orally. In this study, hepatic damage was induced by

intraperitoneal injection of lead acetate in rats, and the protective effect of lead acetate-induced hepatic damage on the liver was examined by oral administration of protein extracted from *Hizikia fusiforme* and *chlorella* sp. Weight change in rats, liver weights, GOT and GPT of hepatic tissue, Antioxidant enzyme activities (GSH, SOD, CAT) and lipid peroxidation (TBARS) were measured. In this process, NF- κ B and MAPK pathways, which play an important role in oxidative stress or inflammatory reaction, were identified by western blot.

The experimental results of this paper, body weight was recovered from loss of body weight due to accumulation of lead acetate when *Hizikia fusiforme* and *chlorella* sp. extract was administered, and liver weight was not significantly changed. GOT and GPT were significantly increased in the group treated with lead acetate only, Oral administration of *Hizikia fusiforme* and *chlorella* sp. tended to decrease to the control level. In the case of antioxidant enzyme, GSH and CAT measurement showed a significant decrease in the activity in the group treated only lead acetate. In the SOD activity assay, hepatotoxicity was induced by lead acetate administration, and enzyme activity was increased. The expression of NF- κ B and MAPK pathways, which play an important role in oxidative stress or inflammatory response, was significantly higher in the lead acetate-treated group compared to the control group and HZK/CHL groups, It was confirmed that the expression level was lower than that of the lead acetate-only treatment group.

Therefore, oral administration of *Hizikia fusiforme* and *chlorella* sp. extracts have protective effects on lead acetate-induced hepatotoxicity.

I. 서론

우리나라는 산업 기술의 발달과 자동차, 공장 등의 증가로 인하여 각종 환경오염이 심각해지고 있다. 그 중에서 대기오염 수준이 심각한데 대기오염은 우리 인체에 직접적으로 영향을 주는 환경오염 중 하나이다 (Cho *et al.*, 2003). 요즘은 의학의 발전과 더불어 평균수명 연장과 생활 수준의 향상으로 건강관리에 관심이 많아졌는데, 새로운 문제로 대두되고 있는 것이 바로 미세먼지이다. 미세먼지는 각종 질환을 일으키는 대기 오염 물질로 최근에는 입경이 작은 먼지일수록 건강이나 산업 활동에 미치는 유해성이 크다는 점이 강조되면서 대부분의 나라에서 PM10 혹은 PM2.5에 대한 환경기준을 설정해 놓고 있다 (Park *et al.*, 2009). 미세먼지는 일반적으로 입경에 따라 분류한다. 먼지의 크기별 분류는 입경이 $10\ \mu\text{m}$ 이내인 조대분진 (Coarse particle, PM10)과 입경이 $2.5\ \mu\text{m}$ 이내인 미세분진 (Fine particle, PM2.5)으로 분류하는 것이 일반적이며, 자동차 배출 가스나 공장 굴뚝 등을 통해 주로 배출되며 중국의 황사나 심한 스모그로 인한 미세먼지 노출이 증가하고 있는 추세이다. 미세먼지에 함유되어 있는 납, 카드뮴, 아연, 니켈, 크롬 등의 중금속이 인체에 흡수되어 활성산소의 생성 등 여러 가지 기전을 통해 호흡기 및 순환기계 뿐만 아니라 전신적 질환의 원인이 될 수 있다는 보고들이 발표되어 있다 (Donaldson and MacNee, 2001; Kumar and Jugdutt, 2003). 국립환경과학원의 조사에 따르면 한국인의 체내 납 농도가 미국, 캐나다인 보다 약 2배 높은 것으로 보고되어 있고 한국지질자원연구원의 조사에서는 초미세먼지 속 납 함량이 일반 토양 속 납 함량의 133배에 달한다고 하며 입

을 통하여 위로 들어갈 경우 납의 71%, 아연과 카드뮴의 경우 80% 이상 녹아 인체에 축적 될 수 있다는 연구결과가 보고되어지고 있다.

해조류는 한국, 일본, 중국에서 음식으로서 다량 섭취해온 식재료로서 해조류에 함유된 탄수화물이 장관운동을 원활하게 하고 중금속 배출 촉진, 고지혈증 개선에 유효하다는 결과가 발표되어 해조류 건강기능식품 개발의 관심이 높아지는 추세이다 (Lee and Kim, 2008; Kim *et al.*, 1998).

해조류의 일종인 툇은 갈조식물 모자반과의 바닷말로 우수한 식이섬유소의 공급원일 뿐만 아니라 함유산성 다당류인 fucoidan과 혈액응고작용, 면역증강작용 등의 기능성이 있는 중성다당류인 jaminaran이 다량 함유되어있다 (Lee and Chung, 1991). 클로렐라는 녹조류 단세포 생물인데 비타민, 무기질 등이 풍부하고 체질 개선, 건강 증진 및 유지에 효과가 있다. 클로렐라에는 CGF (chlorella growth factor)라는 생리 활성물질이 들어 있어 아이의 성장 발육과 질병의 회복에도 효과가 있는 것으로 보고되어져있고 (Kang *et al.*, 2004) 클로렐라 성분을 분리·정제하여 그 약리작용 및 작용기전에 대한 연구도 다양하게 진행중이다.

따라서 툇과 클로렐라의 영양학적이고 효과적인 장점들을 바탕으로 본 연구에서는 툇과 클로렐라가 납으로 유도된 간독성에 대한 매커니즘, 항산화효과 그리고 보호효과를 밝히고자 연구하였다.

II. 재료 및 방법

1. 실험재료

가. 실험동물

실험에 사용한 동물은 6주령 된 체중 160 g의 S.D. (Sprague Dawley) 계 수컷 흰쥐를 SAMTAKO (Korea)에서 구입하여, 7일간 예비 사육하여 환경에 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 실험동물은 온도 $22 \pm 1^{\circ}\text{C}$, 습도 $50 \pm 5\%$, 12시간 명암주기의 사육실에서 stainless cage에 분리하여 사육하였으며, 식이는 일반 고형사료와 물과 함께 공급하여 자유로이 섭취하도록 하였다. 임의로 7마리씩 6개 군으로 나누고, 총 동물실험 기간을 10일로 설정하였다. 처음 1주일간 적응기간을 주고 실험을 진행하였다.

나. 시약 및 재료

본 실험에서 사용한 톳은 2017년 2월 부산광역시 기장군에서 채취한 톳을 구입하여 재료로 사용하였고, 클로렐라는 (주)노바렉스에서 제조되어진 클로렐라 원말 100%가루를 구입하여 재료로 사용하였다.

실험에 사용한 GOT, GPT 성분 정량 검사용 시약은 아산제약주식회

사 (Korea) 제품을 사용하였고, SOD assay kit, Glutathione assay kit 그리고 Catalase assay kit는 Cayman Chemical Co. 제품을 사용하였고, TBARS kit는 Oxford Biomedical Research 제품을 사용하였다.

Western blot 실험에 BCA protein Assay kit는 (Pierce, USA)를 사용하였고 dual color marker (BIO-RAD, CA, USA)를 Protein standard marker로 사용하였다. Antibody는 Santa Cruz Biotechnology inc. (Santa Cruz, CA, USA) 제품을 사용하였다.

2. 실험방법

가. 시료의 제조

2017년 2월 부산광역시 기장군에서 채취한 톳은 깨끗한 물에 3~4회 수세하여 염분과 분순물을 제거하고 수세, 정선 및 탈수과정을 거쳐 동결건조기로 건조하였고 건조된 톳은 식품 분쇄기로 분말화하여 사용하였다. 클로렐라는 (주)노바렉스에서 제조되어진 클로렐라 원말 100% 가루를 구입하여 사용하였다.

3구 플라스크에 5 L 증류수와 200 g의 톳과 클로렐라 분말을 각각 침지시켜 상온에서 4시간 동안 교반하여 추출한 다음 원심분리 (3,000 rpm, 4℃, 30 min)하여 상층액을 분리하였다. 상층액의 약 3배 부피의 에탄올을 처리하여 저온에서 24시간 동안 반응시켜 당을 가라앉혔다. 그런 다음 감압여과 하여 당 제거 후 여과액을 감압 농축하였다. 원심분리 후 얻어진 잔사는 같은 방법으로 한 번 더 추출을 시행하였고, 이것을

최소한의 증류수에 녹여 동결건조기로 건조하여 실험에 사용하였다 (Fig. 1).



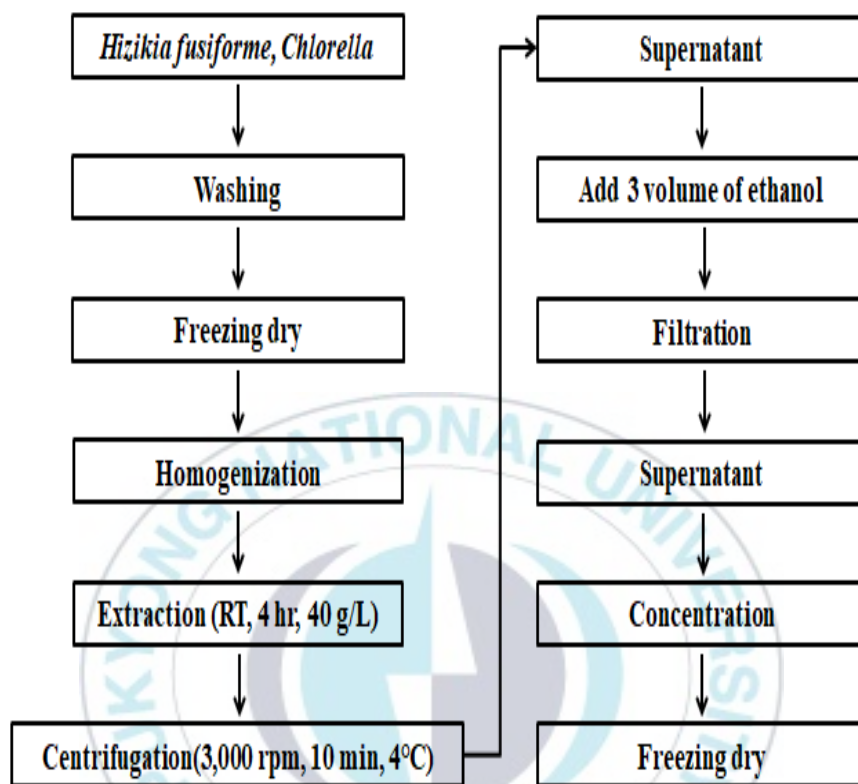


Fig. 1. Extraction procedures of HZK and CHL from *Hizikia fusiforme* and *Chlorella* sp.

나. 실험동물

(1) 실험동물의 사육

납 (Sigma Chemical Co.)에 의한 흰쥐의 간 독성에 대한 톳 및 클로렐라의 보호 매커니즘을 규명하기 위해 총 42마리의 랫드를 Control군 (CON), 납 25 mg/kg 단독 투여군 (Pb), 납 25 mg/kg + 톳 추출물 150 mg/kg (HZK 150), 납 25 mg/kg + 톳 추출물 300 mg/kg (HZK 300), 납 25 mg/kg + 클로렐라 추출물 150 mg/kg (CHL 150), 납 25 mg/kg + 클로렐라 추출물 300 mg/kg (CHL 300) 으로 각 군당 7마리씩 분류하였다.

모든 실험군에 정상 식이와 음용수를 매일 공급하였다. CON군은 10일간 증류수 경구투여와 마지막 5일 동안 생리식염수 0.5 mL를 복강투여하고, Pb군은 10일간 증류수를 경구투여하고, 마지막 5일 동안 납 25 mg/kg/day를 복강투여 하였다. HZK 150, HZK 300군은 각각 톳 추출물 150, 300 mg/kg/day, CHL 150, CHL 300군은 클로렐라 추출물 150, 300 mg/kg/day를 10일 동안 경구투여하고 마지막 5일 동안 납 25 mg/kg/day를 복강투여 하였다 (Fig. 2).

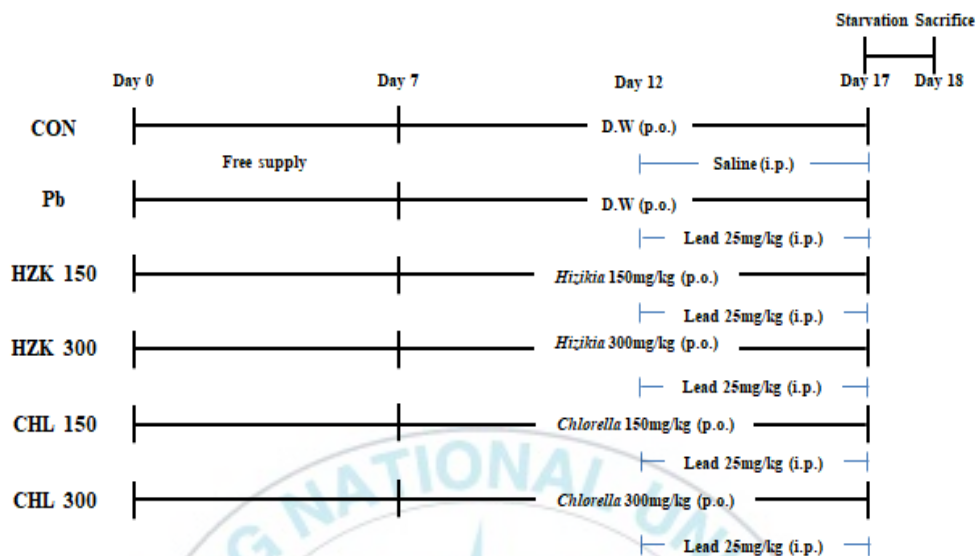


Fig. 2. Procedures of rat experiment.

Group CON was injected daily with 0.5 mL of saline solution (0.9% NaCl) i.p. for 10 days. Group Pb was injected (i.p.) by 0.5 mL lead acetate only at a dose of 25 mg/kg body weight/day for the last 5 days of the experiment. Groups HZK 150 and HZK 300 were administrated orally with doses of *Hizikia fusiforme* extract (150 and 300 mg/kg body weight, resp.) by gavage for the 10 days. Groups CHL 150 and CHL 300 were administrated orally with doses of *Chlorella* sp. extract (150 and 300 mg/kg body weight, resp.) by gavage for the 10 days. These groups were injected (i.p.) by 0.5 mL of lead acetate at a dose of 25 mg/kg body weight/day for the other 10 days in combination with *Hizikia fusiforme*/*Chlorella* sp. extract.

(2) 처치 및 시료의 채취

실험동물을 실험종료 12시간 전부터 절식시킨 후 ethyl ether로 흡입 마취하여 단두한 뒤 채혈하여 실온에서 30분 간 방치 후에 원심분리 (2,500 rpm, 4°C, 20 min)한 다음 혈청을 -70°C에 보관하여 시료로 사용하였다. 간 조직은 적출하여 생리식염수로 씻고 여과지로 수분을 제거하고 사진 촬영한 뒤 즉시 액체질소로 동결시켜 -70°C에 보관하여 간 조직 시료로 사용하였다.

다. 혈청 중 GOT / GPT 측정

납에 의해 유도된 간 독성에 미치는 혈액 생화학적 지표인 GOT 및 GPT 활성을 Reitman-Frankel의 방법에 따라 측정하였다. GOT와 GPT 기질액 100 μ L를 시험관에 넣고 37°C에서 5분 동안 방치한 뒤 혈청 10 μ L를 넣어 잘 혼합하고, 37°C의 워터배스에 넣어 GOT는 60분, GPT는 30분간 방치한다. 워터배스에서 꺼내 정색시액 100 μ L을 가해 흔들어 섞어 실온에 20분간 방치하고 0.4 N NaOH용액 1 mL를 가하여 마개를 해전도 혼화하여 실온에 10분간 방치한다. ELISA plate reader로 505 nm에서 흡광도를 측정하였다.

라. TBARS 측정

채취한 Rat의 간 조직을 얼음 위의 Dish에서 1 g 세절하여 TBARS buffer로 균질화 하고, Indicator solution 1 mL에 sample 1 mL을 첨가하여 1 분간 vortex 하고 실온에 60분 동안 반응시킨다. 15,000 g, 24°C,

5 min 원심 분리하여 얻은 상층액을 532 nm에서 흡광도를 확인하였다.

마. 간 조직의 항산화 효소 활성

(1) 간 조직의 SOD 활성 측정

SOD 활성은 xanthin oxidase와 hypoxanthin에 의해 생성되는 superoxide radical detection을 이용하여 측정하였다.

채취한 간 조직을 0.5 g 세절한 다음 5 mL SOD buffer로 균질화 시킨 후 1,500 g, 4℃, 5분간 원심분리하여 얻은 상층액을 효소원으로 사용하였다. 96-well에 Sample과 SOD Standard를 각각 10 μ L씩 분주하고 희석시켜 만든 Radical Detector 200 μ L를 첨가한 다음 Xanthine Oxidase 20 μ L를 넣는다. 실온에서 shaker에 30 분간 반응시킨 후 450 nm에서 흡광도를 측정하여 SOD 활성도를 계산하였다.

(2) 간 조직의 CAT 활성 측정

Catalase 효소 활성도 측정은 catalase와 methanol 그리고 H₂O₂의 반응으로 생성된 formaldehyde를 측정하는 방법이다.

채취한 Rat의 간 조직 0.5 g을 세절하여 CAT buffer에 넣어 균질화 시키고, 10,000 g, 4℃, 15 min 원심 분리하여 상층액을 얻었다. 상층액, Formaldehyde standard, Positive control을 각각 20 μ L씩 분주하고, 1X Catalase assay buffer 100 μ L, MeOH 30 μ L씩 분주 후 희석 한 Hydrogen Peroxide 20 μ L를 넣고 실온에서 shaker에 20분 반응시킨다. Potassium Periodate 30 μ L를 첨가하고 Catalase Purpald 30 μ L를 각 well에 분주하여 실온에서 shaker에 10분간 반응시키고 Catalase Potassium Periodate 10 μ L를 첨가하여 실온의 shaker에서 5분간 반응

시킨 뒤 540 nm에서 흡광도를 확인하였다.

(3) 간 조직의 GSH 함량 측정

GSH 함량을 측정하기 위해 먼저 간 조직의 0.5 g을 얼음 위의 Dish에서 세절한 뒤 phosphate buffer (pH 6-7, 1 mM EDTA) 용액으로 homogenizer를 이용하여 4℃에서 균질화 하였다. 이 균질액을 4℃, 10,000 g에서 15분간 원심 분리하여 얻은 상층액을 GSH 농도를 측정하기 위한 효소원으로 이용하였다.

바. 간 조직 단백질 발현 및 분석 (Western blot analysis)

간 조직 0.05 g을 RIPA lysis buffer (2 μ g/mL pepstatin, 2 g/mL Na₃VO₄, 2 μ g/mL NaF, 1 μ g/mL aprotinin, 5 μ g/mL leupeptin, 10 μ g/mL phenylmethylsulphonylfluoride) 속에서 homogenizer 하고 원심분리 (12,000 rpm, 4℃, 20 min)하여 상층액을 회수하였다. 단백질 농도는 BCA protein assay kit로 측정하였고 단백질 양을 50 μ g/lane으로 동일하게 취하여 5X sample buffer와 섞어 water bath에 끓이고 7.5%, 10% 그리고 12.5% SDS-PAGE gel에 Western blot을 하였다. 표준분자량은 dual color marker를 사용하였고 PVDF membrane (Millipore, USA)으로 Transfer 하였다. Membrane은 1% Bovine serum albumin (BSA)/TBS-T로 blocking 시킨 후, 1차 antibody에서 2시간 동안 상온에서 반응시키고, TBS-T로 15분간 2회 세척한 다음 2차 antibody를 1:10,000-5,000 비율로 희석하여 1시간 반응시켰다. 반응시킨 membrane을 TBS-T로 15분간 2회 세척한 후 Super Signal West Pico

Luminol/Enhancer solution 와 Super Signal West Pico Stable Peroxide solution (Rockford IL, USA)을 사용하여 형광 젤 이미지 분석장치 (Azure biosystems)로 현상한 후 scanning하여 나온 밴드로 단백질 발현 수준을 확인하였다.

사. 통계학적 처리

본 실험의 분석결과는 각 군별로 평균과 표준편차 (mean \pm S.D)를 사용하여 표기하였으며, 모든 자료는 windows용 SPSS 프로그램 (Statistical Package for Social Science, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 분석하였다. 실험군과 대조군의 차이를 확인하기 위해 ANOVA test를 이용하였고, 각 군의 유의성 검증은 Duncan's multiple range test를 적용하였다. 모든 통계적 유의도 수준은 $P < 0.05$ 에서 평가하였다.

Ⅲ. 결과 및 고찰

1. 납 및 HZK/CHL 투여가 체중 변화에 미치는 영향

Pb, HZK 150, 300, CHL 150, 300군들은 CON군에 비해 체중 증가량이 감소한 것을 볼 수 있었고, Pb군이 HZK 150, 300, CHL 150, 300군의 체중 증가량보다 낮은 것을 볼 수 있었다 (Table 1).

납은 식욕 감퇴, 구토, 체중감소 등을 유발하는데 이로 인해 납 급여 시 사료 섭취량이 감소한 것으로 보이며, 사료 섭취량의 감소와 소화 장애로 체중 증가량의 감소가 나타난 것으로 사료되고 이는 납이 성장저해를 초래하고, 납 투여가 사료 섭취에 직접 영향을 주어 사료섭취를 감소시킨다는 보고와 일치한다 (Lee *et al.*, 1997).

Table 1. Body weight gain

	Experimental Groups					
	CON	Pb	HZK 150	HZK 300	CHL 150	CHL 300
Body weight gain(g)	29.9 ± 10.3	8.8 ± 12.9	15.7 ± 9.7	18.9 ± 11.3	19 ± 7.3	18.2 ± 10.7

Values are mean ± S.D of 7 rats per each group by Duncan's multiple range test ($P < 0.05$).

2. 납 및 HZK/CHL 투여가 장기 무게에 미치는 영향

실험동물의 장기 무게는 Table 2. 와 같다. 간 무게는 CON군과 다른 군들을 비교했을 때 전체적으로 유의적인 차이를 보였고 CHL 300군에서 가장 큰 유의적인 차이가 나타났다. 신장 무게는 CON군과 다른 군들과의 비교에서는 미미한 차이를 보였지만 HZK 150, 300, CHL 150, 300군에서는 유의적인 차이를 확인하지 못했다.

Table 2. Liver weight and Kidney weight

	Experimental Groups					
	CON	Pb	HZK 150	HZK 300	CHL 150	CHL 300
Liver (g)	6.76 ± 0.87	7.43 ± 0.27	7.09 ± 0.75	7.3 ± 0.33	7.3 ± 0.89	6.89 ± 0.5
Kidney (g)	1.74 ± 0.29	2.24 ± 0.13	1.97 ± 0.11	2.53 ± 0.28	2.2 ± 0.15	2.27 ± 0.14

Values are mean ± S.D of 7 rats per each group by Duncan's multiple range test ($P < 0.05$).

3. 간 조직의 관찰

간 조직에서의 조직학적 변화를 Fig. 3.에 제시하였으며 이를 살펴보면, CON군은 무처리 군으로써 정상적인 간의 형태로 붉은 색으로 표면은 윤기를 띄고 있었다. Pb군은 간의 크기가 증가하였으며, 약간의 잿빛으로 색 변화가 나타났고 섬유화성 변화도 관찰되었다. 이에 비해 HZK 150, 300, CHL 150, 300군에서는 간의 색이나 크기가 CON군과 비슷하였고 농도에 의한 변화도 관찰되지 않았으며 납에 의한 간 손상으로 추정

되는 현상이 감소된 것을 확인 할 수 있었다. 이로써 톳과 클로렐라가
납에 의한 간 손상을 일부 보호해주는 것으로 보인다 (Fig. 3).



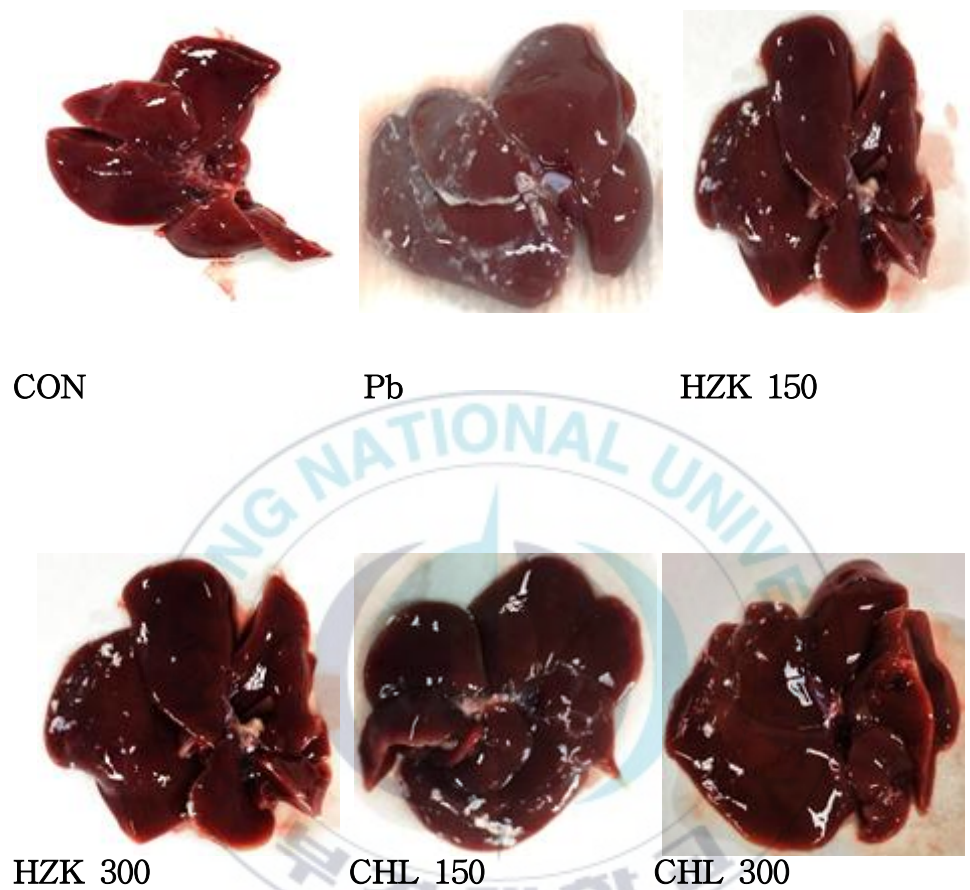


Fig. 3. Photographs of liver after lead acetate or lead acetate with HZK and CHL.

4. 납 및 HZK/CHL 투여가 혈청 GOT/GPT 수준에 미치는 영향

납 투여에 따른 간세포 손상의 정도는 GOT와 GPT의 양을 측정하여 혈청 mL 당 Karmen unit으로 표시하였다(Fig. 4). GOT 활성도는 CON군과 비교하였을 때 Pb 군은 유의성 있게 증가하였고 HZK 150, 300, CHL 150, 300군은 Pb군에 비해 농도 의존적으로 감소하였다 (Fig. 4). GPT 활성도는 Pb 군은 유의성 있게 증가하였고 HZK 150, 300, CHL 150, 300군은 Pb군에 비하여 GPT 활성이 낮아졌다 (Fig. 5).

GOT (Glutamic oxaloacetic transaminase)는 간, 심장, 횡문근, 혈액 내에도 존재하는 효소로 아미노산인 aspartate를 전달해 oxaloacetate를 생성하는 효소이며, cytosol과 mitochondria에서도 발견 된다 (McPhalen et al., 1982). GPT (Glutamic pyruvic transaminase)는 주로 간에서 존재하고 알라닌의 아미노기를 α -케토글루타르산에 전달하여, 피루브산과 글루탐산 생성반응을 촉매하는 효소로써, GOT와 GPT 모두 간의 합성능력 등으로 간세포의 상해 정도를 분석할 수 있는데 수치가 높을수록 간세포의 손상이 크다고 볼 수 있다. 조직이 손상을 받아 세포에 영향을 미치면 그 세포에 함유되어 있던 효소가 혈중으로 흘러 혈청의 효소 활성값이 높아진다 (Chung et al., 2009).

본 연구의 Pb군의 혈청 GOT 및 GPT 활성을 CON군과 비교하였을 때, Pb군의 GOT 및 GPT 활성치가 급상승이 더 큰 것을 알 수 있었다. 이는 납 투여로 급성 간장 장애가 유도되었다고 볼 수 있다. HZK 150, 300, CHL 150, 300군에서는 Pb군보다 GOT, GPT 효소 활성이 회복되어 간 손상에 대한 보호 효과를 나타내는 것으로 확인되었다.

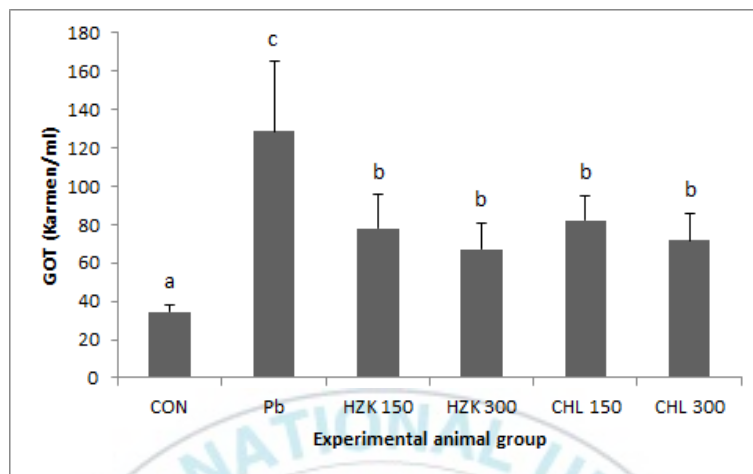


Fig. 4. Effects of HZK and CHL on serum GOT activities in lead acetate-induced rats.

CON is control group without lead acetate administration. Pb group (Distilled water 1.5 mL/rat, lead acetate 25 mg/kg) is abdominal injected for last 5 days. HZK 150, 300 (HZK 150, 300 mg/kg, i.p.), CHL 150, 300 (CHL 150, 300 mg/kg, i.p.) were oral administrated to rat for 10 days and injected of 25 mg of lead acetate for last 5 days. Values are mean \pm standard deviation of 7 rats per each group by Duncan's multiple range test ($P < 0.05$).

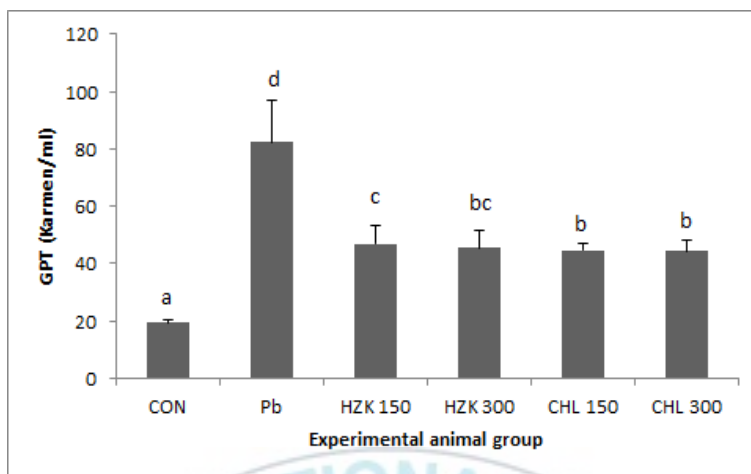


Fig. 5. Effects of HZK and CHL on serum GPT activities in lead acetate-induced rats.

CON is control group without lead acetate administration. Pb group (Distilled water 1.5 mL/rat, lead acetate 25 mg/kg) is abdominal injected for last 5 days. HZK 150, 300 (HZK 150, 300 mg/kg, i.p.), CHL 150, 300 (CHL 150, 300 mg/kg, i.p.) were oral administrated to rat for 10 days and injected of 25 mg of lead acetate for last 5 days. Values are mean \pm standard deviation of 7 rats per each group by Duncan's multiple range test ($P < 0.05$).

5. 납 및 HZK/CHL 투여 후 간조직의 TBARS 변화

간 조직 내 TBARS 생성을 측정된 결과 (Fig. 6)를 보면, Pb, HZK 150, 300, CHL 150, 300군에서 CON군에 비해 유의성 있게 증가하였으며, Pb군 보다 HZK 150, 300, CHL 150, 300군에서 농도 의존적으로 유의하게 감소하였다.

TBARS는 TBA reactive substances로 지질의 구성 성분 중 하나인 Linolenic acid를 넣어 Fenton 반응 처리를 하면 이 Fenton 반응에서 생성되는 OH radical에 의해서 Linolenic acid가 분해되면서 Malondialdehyde (MDA)를 생성한다. MDA는 발색제인 TBA를 만나 발색을 하게 된다.

한 연구에서, 납 처리는 MDA level을 유의하게 증가시켜 지질 과산화의 증가를 초래한 연구결과가 밝혀져 있다. (Newairy and Abdou, 2009; Upasani and Balaraman, 2003).

이 결과를 종합해보면 톳 및 클로렐라 추출물이 유의성 있게 MDA Level을 감소시켜 납에 의한 지질과산화의 방지에 영향을 미치는 것으로 보여 진다.

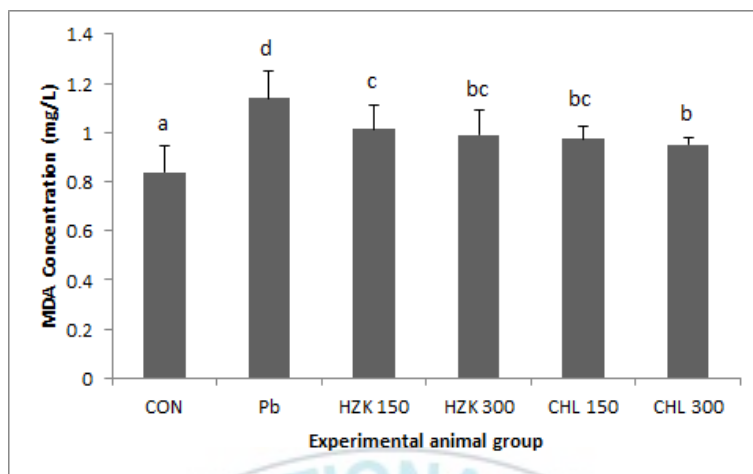


Fig. 6. Effects of HZK and CHL on Thiobarbituric Acid-Reactive Substances (TBARS) levels in Liver tissue.

CON is control group without lead acetate administration. Pb group (Distilled water 1.5 mL/rat, lead acetate 25 mg/kg) is abdominal injected for last 5 days. HZK 150, 300 (HZK 150, 300 mg/kg, i.p.), CHL 150, 300 (CHL 150, 300 mg/kg, i.p.) were oral administrated to rat for 10 days and injected of 25 mg of lead acetate for last 5 days. Values are mean \pm standard deviation of 7 rats per each group by Duncan's multiple range test ($P < 0.05$).

6. 납 및 HZK/CHL 투여 후 간조직의 SOD 활성 변화

SOD는 Superoxide radical 소거 효소로, SOD의 활성도 변화를 측정해 보았다. 각 군별 간 조직에서 SOD 활성을 비교해본 결과 (Fig. 7)를 보면, CON군에 비해 Pb, HZK 150, 300, CHL 150, 300군이 유의성 있게 증가하였고, Pb군에서 증가된 SOD에 비해 HZK 150, 300, CHL 150, 300군의 SOD 활성이 농도 의존적으로 감소함을 보였다.

SOD (Superoxide Dismutase)는 활성산소의 공격을 차단, 또는 감소시키는 인체 내 자동방어 기전이며, 항산화기전에 관여하고 있는 효소계 물질 중의 하나로 인체 내에서 생성되는 가장 강력한 항산화 작용을 가진 효소로 활성산소를 과산화수소로 전환시키는 반응을 촉매하고 이로 인해 생성된 과산화수소는 peroxidase 또는 catalase에 의해 물 분자와 산소분자로 전환하게 되는 중요한 효소이다 (Doh *et al.*, 2010).

본 연구결과에서 납 투여로 간세포의 손상이 유도되어 대조군에 비해 SOD 효소 활성이 증가되었음을 알 수 있었다. 납의 투여로 인해 증가된 활성산소를 소거하기 위한 생리적 적응 현상으로 사료된다. Pb군의 SOD 효소 활성이 증가한 것은 납에 의한 독성으로 산화적 스트레스의 증가로 인한 방어기작의 일환인 것으로 사료되어진다. HZK 150, 300, CHL 150, 300군의 SOD 활성이 농도 의존적으로 감소한 이유는 톡과 클로렐라 추출물에 의해 대량 분비되었던 SOD 효소 활성이 안정화 된 것으로 보인다.

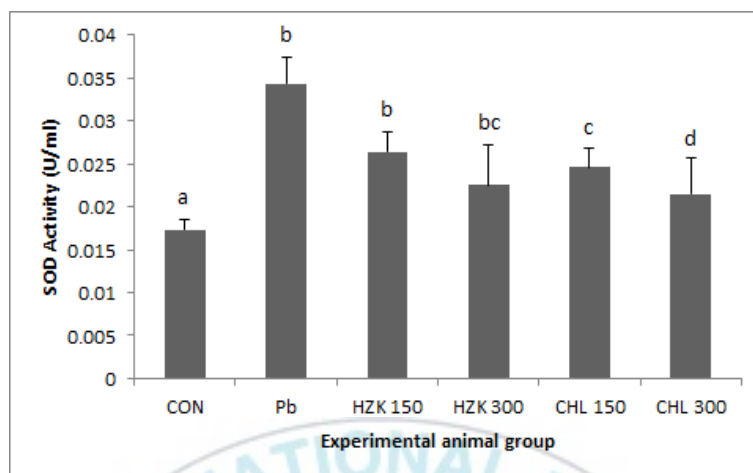


Fig. 7. Effects of HZK and CHL on SOD activity in Liver tissue.

CON is control group without lead acetate administration. Pb group (Distilled water 1.5 mL/rat, lead acetate 25 mg/kg) is abdominal injected for last 5 days. HZK 150, 300 (HZK 150, 300 mg/kg, i.p.), CHL 150, 300 (CHL 150, 300 mg/kg, i.p.) were oral administrated to rat for 10 days and injected of 25 mg of lead acetate for last 5 days. Values are mean \pm standard deviation of 7 rats per each group by Duncan's multiple range test ($P < 0.05$).

7. 납 및 HZK/CHL 투여 후 간조직의 CAT 활성 변화

간 조직 내 CAT 활성 변화를 측정한 결과 (Fig. 8), Pb군에서 CON군보다 조금 감소하였고 HZK 150, 300, CHL 150, 300군의 CAT 활성에서는 미미한 회복을 보였지만 유의성은 보이지 않았다.

Catalase (CAT)는 과산화수소를 무독성의 물로 환원시켜 세포손상을 방지하는 항산화 효소이며, 대사과정 중에 발생하는 활성산소종의 유리기를 제거한다 (Kang *et al.*, 2009). 세포의 항상성을 유지하게 하고 면역체계의 손상을 막아주는 역할도 한다 (Kim, 2013).

스피루리나를 이용한 납에 의한 간 손상 보호 효과 관련 연구결과에서 CAT 활성은 대조군에 비해 납 단독 투여군과 스피루리나 투여군이 유의하게 낮았고 납 단독 투여군에 비해 대조군과 스피루리나 투여군이 높게 나타났다 (Johny *et al.*, 2010).

이러한 결과를 종합해보면 Pb군에서 CAT 활성이 조금 저하되는 경향을 보였는데, 이는 SOD 활성에 의해 전환된 H_2O_2 를 빠르게 해독하지 못하고 납이 체내에 머물면서 간조직의 손상을 일으키는 것으로 해석된다 (Kim and Lim, 2005). 그리고 HZK 150, 300, CHL 150, 300군에서는 추출물 투여로 과산화수소의 소거를 위해 미미하지만 회복한 것으로 보인다 (Poonam and Ruchi, 2009).

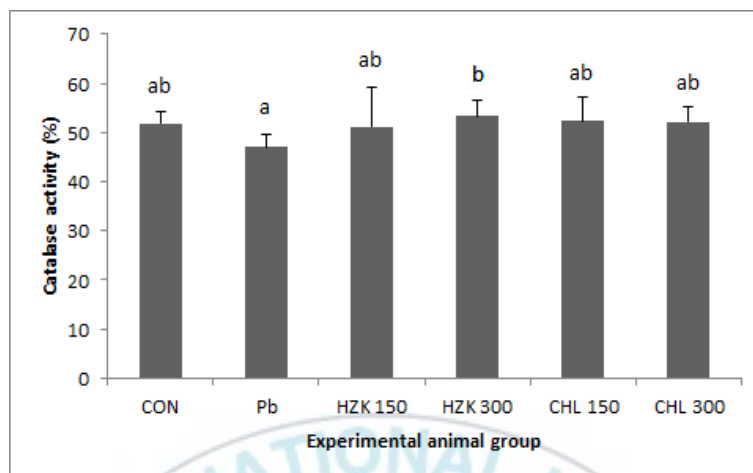


Fig. 8. Effects of HZK and CHL on CAT activity in Liver tissue.

CON is control group without lead acetate administration. Pb group (Distilled water 1.5 mL/rat, lead acetate 25 mg/kg) is abdominal injected for last 5 days. HZK 150, 300 (HZK 150, 300 mg/kg, i.p.), CHL 150, 300 (CHL 150, 300 mg/kg, i.p.) were oral administrated to rat for 10 days and injected of 25 mg of lead acetate for last 5 days. Values are mean \pm standard deviation of 7 rats per each group by Duncan's multiple range test ($P < 0.05$).

8. 납 및 HZK/CHL 투여 후 간조직의 GSH 함량 변화

간 조직의 GSH 함량을 측정한 결과 (Fig. 9), Pb군에서 CON군에 비해 유의적으로 감소하였으며 HZK 150, 300, CHL 150, 300군에서는 납으로 유도된 간 손상에 의해 감소된 GSH 함량이 농도 의존적으로 유의하게 증가하였다.

GSH는 Glutathion peroxidase (GPX) alc Glutathione S-transferase (GST) 항산화 효소의 기질로 이용되면서 반응성이 큰 유독한 대사물질을 제거하는데 상당한 역할을 한다는 것이 알려져 있다 (Hayes *et al.*, 2000). GSH는 동물 조직 중 nonprotein thiol의 대부분을 차지하고 H₂O₂ 및 과산화지질을 대사시키는 GPX의 기질로써 세포내의 항산화제중 가장 중요한 역할을 담당하고 생체 내 GSH의 결핍은 지질과산화 반응을 촉진시킨다 (Sung *et al.*, 2000).

간 손상을 보호하는 중요한 생체 내 항산화 물질인 GSH 함량을 조사한 결과, CON군에 비해 Pb군에서 GSH 함량의 감소를 통해 산화적 스트레스로 인한 간세포 사멸의 증가가 나타났다. HZK 150, 300, CHL 150, 300군에서 GSH 활성이 납 단독 투여군 보다 높게 나타난 것은 톡과 클로렐라 추출물의 투여로 간세포 내에 존재하는 GSH의 함량이 회복된 것으로 보이며, GSH 활성이 대조군에 비해 높은 것은 납 투여로 다량의 H₂O₂가 생성되고 이를 소거하기 위한 작용의 결과로 보여 진다 (Kim *et al.*, 2011).

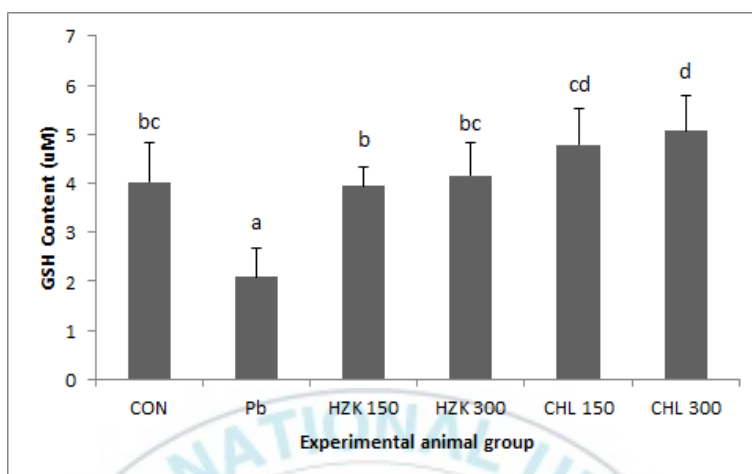


Fig. 9. Effects of HZK and CHL on GSH content in Liver tissue.

CON is control group without lead acetate administration. Pb group (Distilled water 1.5 mL/rat, lead acetate 25 mg/kg) is abdominal injected for last 5 days. HZK 150, 300 (HZK 150, 300 mg/kg, i.p.), CHL 150, 300 (CHL 150, 300 mg/kg, i.p.) were oral administrated to rat for 10 days and injected of 25 mg of lead acetate for last 5 days. Values are mean \pm standard deviation of 7 rats per each group by Duncan's multiple range test ($P < 0.05$).

9. 납 및 HZK/CHL 투여가 간 조직 내 독성 관련 인자 및 염증 관련 인자에 미치는 영향

독성, 염증 관련 단백질의 발현 정도를 Western blotting으로 측정해보았다. Mitogen-activated protein kinases (MAPKs)는 p38 MAPK, extracellular signal-regulated protein kinase (ERK), c-Jun N-terminal kinase/stress-activated protein kinase (JNK/SAPK)로 분류되고 세포 신호 전달 등의 다양한 세포기능을 담당한다 (Obata and Noguchi, 2004). ERK는 MAPK 경로 중 가장 먼저 밝혀진 물질로 세포 유사분열, 분화, 증식 그리고 생존에 중요하게 관여한다. p38 MAPK는 세포 스트레스와 염증반응에 중요한 역할을 한다 (Widmann *et al.*, 1999).

MAPK 경로의 하부 신호전달물질인 NF- κ B는 사이토카인을 생성하고 세포의 증식, 분화, 암의 발생, 염증반응, apoptosis 및 세포 내 신호전달계를 포함한 다양한 생물학적 현상의 중심적 역할을 수행하는 전사조절인자이다 (Park *et al.*, 2008). 염증반응의 시작에 관여하는 전자인자로써 I- κ B 단백질과 결합해 비활성화된 상태로 세포질에 존재한다. 외부 자극에 의해 활성화가 유도되어 I- κ B의 인산화를 거치면 ubiquitination이 일어나 NF- κ B (p65/p50)는 I- κ B에서 유리되어 핵으로 이동하여 inducible nitric oxide synthase (iNOS)와 cyclooxygenase-2 (COX-2) 등의 관련 유전자의 발현을 조절하게 된다 (Lee *et al.*, 2006). NF- κ B의 활성화를 위해선 tumore necrosis factor와 lipopolysaccharide 등이 알려져 있는데 일반적으로 MAPK 또는 I- κ B kinase 신호전달체계를 통해 활성화되는 것으로 알려져 있다 (Huang *et al.*, 2003). iNOS는 항산화와 더불어 심혈관 조절, 선천면역 등에 관여하는 단백질로 cytokine, interferon 등에 의해 활

성화 된 전사인자인 NF- κ B, AP-1 그리고 IRF-1이 핵 내로 유입되어 iNOS gene을 발현시키고 이로 인해 생성된 NO가 염증 및 면역반응에 관여하는데 특히 iNOS 발현은 항산화 효소를 억제한다 (Aktan, 2004). COX-2는 여러 종류의 자극에 의해 유도되는 효소로 염증과 통증을 야기하는 prostaglandine을 생산해 염증성 질환 및 종양의 생성에도 관여하는 것으로 알려져 있다 (Moon *et al.*, 1998).

Nrf2는 주요 기능이 염증조절과 항산화, 약제내성, 암 등의 관련 인자로 외부적 스트레스 (ROS, carbonyls, hydroperoxides, and quinones)에 의해 활성화되면 핵내로 이동하여 ARE (antioxidant response element)와 결합하여 NQO-1, HO-1, GST와 같은 항산화, 해독 효소를 발현시켜 세포생존 및 세포보호에 관여 한다 (Karspar *et al.*, 2009). NQO-1은 세포 외부로부터 다양한 산화적 자극에 대한 방어작용으로 활성화되는 phase II enzyme으로, 산화적 스트레스에 의한 방어뿐만 아니라, 산화적 염증적 과정이 매개되는 다양한 질병을 억제하는데 관여하는 것으로 연구되어져 있다 (Tang *et al.*, 2014). HO-1은 지질의 과산화, RNA/DNA 손상, 단백질 산화 등과 같은 산화적인 스트레스에 대한 세포 보호 작용을 하는 것으로 알려져 있다 (Perrella and Yet, 2003). GST는 여러 기능을 하는 효소로서 촉매작용 및 ligands (billirubin, steroids, carcinogen, azo dye)와 결합해 혈장에서 간으로 이동시키고 간 해독에 관여하고 산화적 스트레스에 의한 지질과산화로부터 생성된 유독한 대사산물의 해독에 중요한 역할을 한다 (Aniya and Naito, 1993).

본 연구에서 MAPK 경로의 ERK, JNK, p-38의 인산화를 확인하였는데 Pb군에 비해 HZK 150, 300, CHL 150, 300군에서 단백질의 인산화가 감소한 것으로 세포의 생존, 스트레스, 염증반응에 효과를 나타낸 것으로 확인

되었다 (Fig. 10). 전사인자인 NF- κ B에서 역시, Pb군에 비해 추출물 투여군이 발현의 감소를 보였고 염증반응과 관련된 세포 내 효소복합체인 I- κ B에서 톳 및 클로렐라 추출물의 투여에 의해 발현이 감소하였고 염증을 유발하는 단백질인 iNOS, COX-2에서도 HZK 150, 300, CHL 150, 300군에서 발현이 억제되었는데 이는 톳과 클로렐라 추출물이 항산화, 항염증에 관여하는 것으로 해석된다 (Fig. 11). 또 다른 전사인자인 Nrf2에서는 톳과 클로렐라 추출물 처리에 의해 발현이 증가하였고 NQO-1, HO-1, GST의 발현 역시 증가시킨 것으로 톳과 클로렐라 추출물의 투여가 산화적 스트레스에 대한 방어작용과 염증에 보호효과를 가지는 것으로 확인되었다 (Fig. 12).





Fig. 10. Western blot analysis of MAPKs Phosphorylation on lead acetate-induced rat.

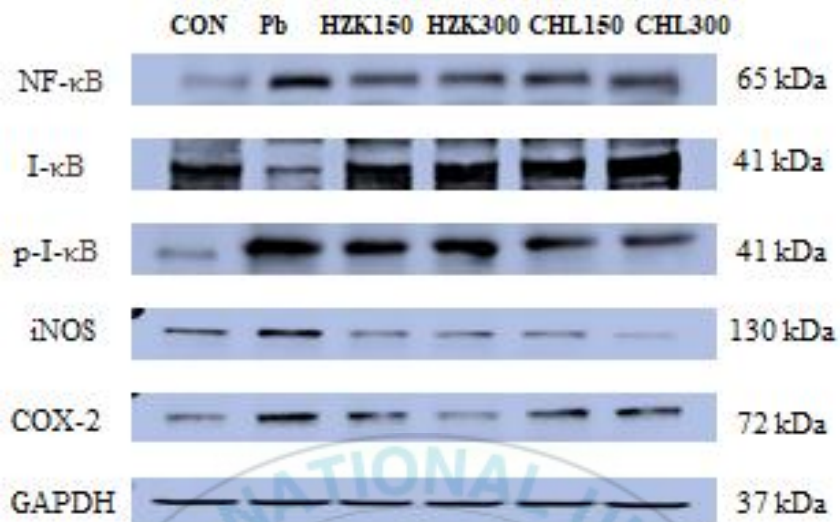


Fig. 11. Western blot analysis of NF-κB pathway expression on lead acetate-induced rat.

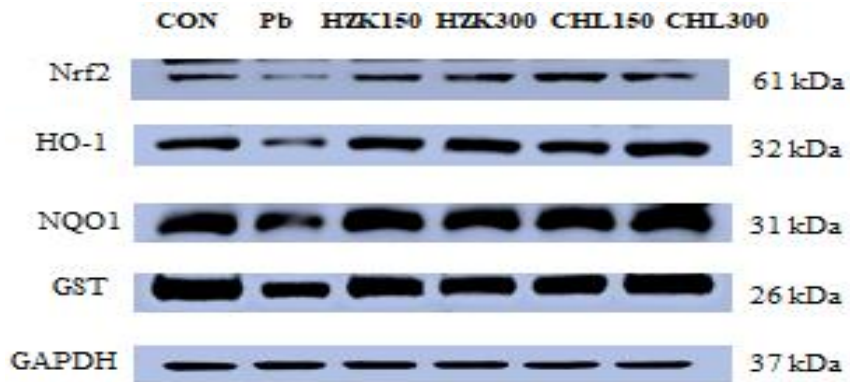


Fig. 12. Western blot analysis of Nrf2 pathway expression on lead acetate-induced rat.

IV. 결론 및 요약

최근엔 해조류의 다양한 영양 성분과 기능적 특성이 많이 밝혀져 항산화, 항염증, 항암, 다이어트 식품 등 여러 분야의 연구가 해조류의 생리활성 물질을 이용한 건강 기능 식품의 개발이 진행 중이다. 칼슘, 요오드, 철 등의 무기염류가 많이 포함되어있는 톳은 주로 식용으로 사용되고 여러 연구에 많이 이용되고 있는데, 항산화 스트레스 (Kimet *et al.*, 2011)와 간의 효소활성에 미치는 영향 등을 확인한 연구 (Jung *et al.*, 2001)등이 있다. 클로렐라는 엽록소가 풍부하고 각종 영양소의 소화흡수율을 높이고 간의 대사 작용을 돕고 (Singh *et al.*, 1998) 카드뮴과 같은 중금속의 배출 (Pairat and Qiming, 2001), 항염증에도 효과 (Choi *et al.*, 2010)가 있고 아직도 여러 분야에서 연구에 이용되어지고 있다. 본 연구에서는 톳 및 클로렐라 추출물이 납으로 유도된 간 손상 억제 작용을 알아보기 위해 체중이 약 160 g 정도의 S.D. Rat를 대조군 (CON), 납 단독투여군 (Pb), 톳 추출물 150 mg/kg과 납 투여군 (HZK 150), 톳 추출물 300 mg/kg과 납 투여군 (HZK 300), 클로렐라 추출물 150 mg/kg과 납 투여군 (CHL 150), 클로렐라 추출물 300 mg/kg과 납 투여군 (CHL 300)의 6개 군으로 나누어 10일간 사육하였다.

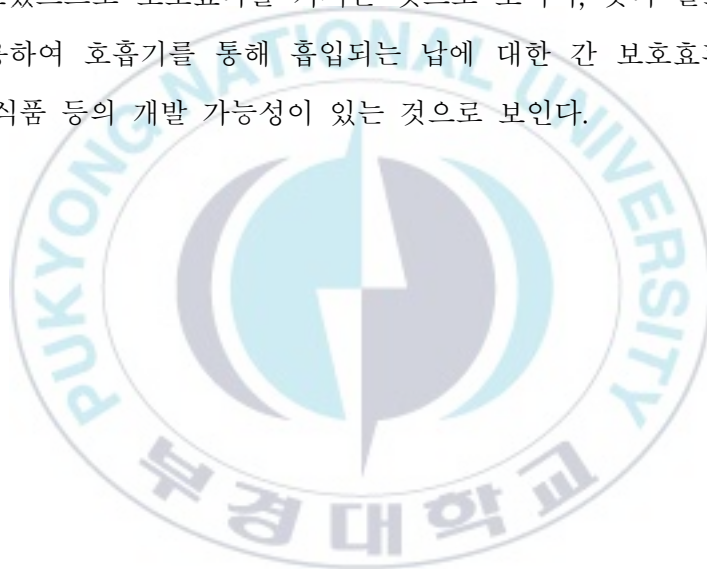
체중 증가량의 확인에서 Pb군에서 가장 낮은 체중증가량을 보인 것은 납에 의한 간독성으로 인한 식욕저하로 유추되어지고, 간과 신장의 무게 변화에서는 CON군에 비해 Pb, HZK 150, 300, CHL 150, 300군들에서 미미한 증가는 보였지만 유의성은 없었다. 간 손상 정도를 GOT, GPT 실험을 통하여 확인한 결과 HZK 150, 300, CHL 150, 300군에서는 Pb군 보다 GOT,

GPT 효소 활성이 회복되어 보호효과가 있는 것으로 확인하였다.

지질과산화물 확인하기 위해 TBARS kit를 이용하여 MDA의 변화를 보았는데 Pb군에서 CON군 보다 유의적으로 증가하였고 HZK 150, 300, CHL 150, 300군에서 농도 의존적으로 감소하는 경향을 보였다. 항산화효소 활성을 확인하기 위해 SOD, CAT, GSH 활성을 확인한 결과, SOD 효소 활성의 확인에서는 Pb 군에서는 납 투여로 간세포의 손상이 유도되어 CON 군에 비해 SOD 효소 활성이 증가되었고 HZK 150, 300, CHL 150, 300군에서는 농도 의존적으로 SOD 활성이 감소한 것으로 보아 추출물이 활성산소의 생성을 억제하여 독성을 감소시켰으므로 대량 분비되었던 SOD 효소 활성이 대조군 수준으로 회복된 것으로 보인다. H_2O_2 를 물로 전환하여 항산화 작용을 하는 효소인 CAT의 활성이 Pb군에서는 약간 감소하였고 HZK 150, 300, CHL 150, 300군에서는 미미한 경향을 보였는데, 이는 상당량의 활성산소를 H_2O_2 로 전환시키기 위해 SOD 활성이 증가되고, 전환된 H_2O_2 가 지속적으로 빠르게 해독되지 못하고 체내에 머물면서 간 조직에 영향을 주는 것으로 해석된다. GSH 함량은 Pb군에서 유의적으로 감소하는 경향이 나타났고 톳 및 클로렐라 추출물의 투여로 간세포 내에 존재하는 GSH의 함량이 농도 의존적으로 회복된 것으로 보이며, GSH 활성이 대조군에 비해 높은 것은 납 투여로 다량의 H_2O_2 가 생성되고 이를 소거하기 위한 작용의 결과로 보여진다.

Western blot을 시행하여 각 군의 단백질 발현을 확인하였는데, HZK 150, 300, CHL 150, 300군에서 세포 신호 전달 등의 다양한 세포기능을 담당하는 MAPK 경로의 ERK, JNK, p-38의 인산화가 억제되고 사이토카인을 생성하고 세포의 증식, 분화, 염증반응, apoptosis 및 세포 내 신호전달계를 포함한 다양한 생물학적 현상의 중심적 역할을 수행하는 전사인자인

NF- κ B의 활성을 억제하고 I- κ B의 인산화가 일어남으로써 톡과 클로렐라 추출물에 의한 효과를 확인하였고, 항산화와 염증 관련 대표적 인자인 iNOS와 COX-2의 발현에서는 HZK 150, 300, CHL 150, 300군에서 발현이 억제된 것을 확인하였다. 염증조절과 항산화기능을 담당하는 Nrf2 경로에서는 HZK 150, 300, CHL 150, 300군에서 Nrf2의 발현이 증가되었고 HO-1, GST, NQO-1의 발현 역시 증가시켰다. 이와 같은 결과를 종합해봤을 때, 톡 및 클로렐라 추출물이 납에 의한 간 손상에 대해 항산화, 항염증 등의 효과를 보였으므로 보호효과를 가지는 것으로 보이며, 톡과 클로렐라 추출물을 이용하여 호흡기를 통해 흡입되는 납에 대한 간 보호효과를 가지는 건강기능식품 등의 개발 가능성이 있는 것으로 보인다.



V. 참고 문헌

- Aktan, F. (2004). iNOS-mediated nitric oxide production and its regulation. *Life Sciences*, 75(6), 639 - 653.
- Aniya, Y., and Naito, A. (1993). Oxidative stress-induced activation of microsomal glutathione-S-transferase in isolated rat liver. *Biochem. Pharm.*, 45(1), 37-43.
- Choi, Y. J., Jo W. S., Kim, H. J., Nam, B. H, Kang, E. Y., Oh, S. J., Lee, G. A., and Jeong, M. H. (2010). Anti-Inflammatory Effect of *Chlorella ellipsoidea* Extracted from Seawater by Organic Solvents. *Korean J. Fish. Aquat. Sci.*, 43(1), 39-45.
- Cho, Y. S., Lee, J. T., Kim, Y. S., Hong, S. C., Kim, H., Ha, E. H., Park, H. S., and Lee, B. E. (2003). A Time-Series Study of Ambient Air Pollution in Relation to Daily Mortality in Seoul, 1998~2001. *J. KOSAE*, 19(6), 625-637.
- Chung, S. I., Kim, S. Y., and Kang, M. Y. (2009). Characteristics of Surimi Gel (King Oyster Mushroom and Cuttlefish Meat Paste) on Lipid Metabolism and Antioxidant Status in High-cholesterol-fed Rats. *J. Kor. Food Sci. Technol.*, 41(2), 191-195.
- Doh, E. S., Chang, J. P., Lee, K. H., and Seong, N. S. (2010). Ginsenoside Change and Antioxidation Activity of Fermented Ginseng. *Korean J. Medicinal Crop Sci.*, 18(4), 255-265.

- Donaldson, K., and MacNee, W. (2001). Potential mechanisms of adverse pulmonary and cardiovascular effects of particulate air pollution (PM10). *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 203(5-6), 411-415.
- Huang, W. C., Chen J. J., and Chen, C. C. (2003). c-Src-dependent tyrosine phosphorylation of IKKbeta is involved in tumor necrosis factor-alpha-induced intercellular adhesion molecule-1 expression. *J. Biol. Chem.*, 278(11), 9944-9952.
- Johny, C. P., Oscar, P. M., Rolando, H. M., Patricia, V. T. D., and Marco, A. J. O. (2010). Protective effects of *Spirulina maxima* on hyperlipidemia and oxidative-stress induced by lead acetate in the liver and kidney. *Lipids Health Dis.*, 9(35).
- Jung, B. M., Ahn, C. B., Kang, S. J., Park, J. H., and Chung, D. H. (2001). Effects of *Hijikia fusiforme* Extracts on Lipid Metabolism and Liver Antioxidative Enzyme Activities in Triton-Induced Hyperlipidemic Rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 30(4), 1184-1189.
- Kang, M. S., Sim, S. J., and Chae, H. J. (2004). *Chlorella* as a Functional Biomaterial. *KSBB*, 19(1), 1-11.
- Kang, S. R., Shin, M. O., Kim, S. G., Lee, S. H., and Kim, M. H. (2009). Antioxidative Activity of Pine (*Pinus densiflora*) Needle Extracts in Rats Fed High-Cholesterol Diet. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 38(4), 423-429.

- Kaspar, J. W., Niture, S. K., and Jaisel, A.K. (2009). Nrf2/INrf2 (Keap1) Signaling in Oxidative Stress. *Free Radic Biol. Med.*, 47(9), 1304-1309.
- Kim, H. S., Choi, E. O., Park, C., Choi, Y. H., Hyun, S. K., and Hwang, H. J. (2011). Effect of Hizikia fusiforme Extracts on Antioxidant Enzyme Activity and Vitamin E Concentration in Rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 40(11), 1556-1561.
- Kim, H. S., and Kim, G. J. (1998). Effects of the feeding *Hizikia fusiforme* (Harvey) Okamura on lipid composition of serum in dietary hyperlipidemic rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 27(4), 718-723.
- Kim, M. W. (2013). Effect of Sea Buckthorn Leaves on Hepatic Enzyme Levels in Streptozotocin Induced Diabetic Rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 42(1), 40-45.
- Kim, Y. C., and Lim, A. K. (2005). The effect of UVB irradiation on the generating and scavenging enzymes of oxygen free radical in mouse skin. *J. of NERI*, 10(1), 49-55.
- Lee, H. M., and Chung, Y. (1991). Effects of organic germanium on metallothionein induction in liver and kidney of cadmium and mercury intoxicated rats. *Yakhak Hoeji*, 35(2), 99-110.
- Lee, J., Kim, N., Cho, D. H., Chung, M. Y., Hwang, K. T., Kim, H. J., Jun, W., and Park, C. S. (2006). Ethanol Extract of *Oenanthe javanica* Modulates Inflammatory Response by Inhibiting NF- κ B Mediated Cyclooxygenase-2 Expression in

- RAW 264.7 Macrophage. *Food Sci. Biotechnol.*, 15(2), 303-307.
- Lee, J. S., Kim, M. J., and Park, E. M. (1997). Effects of Extract of *Pueraria radix* on Hematological Properties and Lead Level of the Tissues of the Pb-administered Rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 26(3), 488-493.
- Lee, Y. A., and Kim, M. H. (2008). The effect of sea tangle extract on serum lipid level in ovariectomized rats. *J. Life Sci.*, 18(2), 249-254.
- Moon, T. C., Murakami, M., Ashraf, M. D., Kudo, I., and Chang, H. W. (1998). Regulation of cyclooxygenase-2 and endogenous cytokine expression by bacterial lipopolysaccharide that acts in synergy with c-kit ligand and Fc epsilon receptor I crosslinking in cultured mast cells. *Cell Immunol.*, 185(2), 146-152 (1998).
- Newairy, A. S., and Abdou, H. M. (2009). Protective role of flax lignans against lead acetate induced oxidative damage and hyperlipidemia in rats. *Food Chem. Toxicol.*, 47(4), 813-818.
- Obata, K., and Noguchi, K. (2004). MAPK activation in nociceptive neurons and pain hypersensitivity. *Life Science*, 74(21), 2643-2653.
- Park, C., Kim, S. Y., Choi, B. T., Lee, W. H., and Choi, Y. H. (2008). Induction of Apoptosis by HDAC Inhibitor Trichostatin A through Activation of Caspases and NF- κ B in Human Prostate Epithelial Cells. *Life Science*, 18(3), 336-343.

- Park, S. M., Moon, K. J., Park, J. S., Kim, H. J., Ahn, J. Y., and Kim, J. S. (2012). Chemical Characteristics of Ambient Aerosol during Asian Dusts and High PM Episodes at Seoul Intensive Monitoring Site in 2009. *J. KOSAE*, 28(3), 282-293.
- Pairat, K., and Qiming, Y. (2001). Cadmium(II) removal from aqueous solutions by pre-treated biomass of marine alga *Padina* sp. *Environmental Pollution*, 112(2), 209-213.
- Perrella, M. A., and Yet, S. F. (2003). Role of heme oxygenase-1 in cardiovascular function. *Current Pharmaceutical Design*, 9(30), 2479-2487.
- Poonam, C. M., and Ruchi, K. (2009). Correlation of increased oxidative stress to body weight in disease-free post menopausal women. *Clinical Biochemistry*, 42(10-11), 1007-1011.
- Singh, A., Singh, S. P., and Bamezai, R. (1998). Perinatal influence of *Chlorella vulgaris*(E-25) on hepatic drug metabolizing enzymes and lipid peroxidation. *Anticancer Res.*, 18(3A), 1509-1514.
- Sung, K. S., Chun, C., Kwon, Y. H., and Chang, C. C. (2000). Effects of Red Ginseng Component Administration on Glutathione and Lipid Peroxidation Levels in Mice Liver. *J. Ginseng Res.*, 24(4), 176-182.
- Tang, W., Jiang, Y. F., Ponnusamy, M., and Diallo, M. (2014). Role of Nrf2 in chronic liver disease. *World Journal of Gastroenterology*, 20(36), 13079 - 13087.

- Upasani, C. D., and Balaraman, R. (2003). Protective effect of *Spirulina* on lead induced deleterious changes in the lipid peroxidation and endogenous antioxidants in rats. *Phytother. Res.*, 17(4), 330-334.
- Widmann, C., Gibson, S., Jarpe, M. B., and Johnson, G. L. (1999). Mitogen-activated protein kinase: conservation of a three-kinase module from yeast to human. *Physiol.*, 79(1), 143-180.

