

고지방식사로 유도된 신장 산화스트레스를 개선하는 가압볶음 무말랭이 열수추출물 효과

전연희 · 김미정 · 한성경 · 송영복¹ · 송영옥*
부산대학교 식품영양학과 및 김치연구소, ¹(주)세전식품연구소

Effects of hot water extracts of roasted radish against renal oxidative stress induced by high-fat diet

Yeonhui Jeon, Mijeong Kim, Seongkyung Han, Yeong-Bok Song¹, and Yeong Ok Song*

Department of Food Science and Nutrition, Kimchi Research Institute, Pusan National University

¹Sejeon Co., Ltd., Jincheon

Abstract The antioxidant and anti-inflammatory effects of roasted dried radish (RDR) against renal oxidative stress were examined in high-fat diet (HFD)-fed mice. The HFD was prepared by adding lard to chow diet to provide 50% of the calories from fat. Hot water extracts of dried radish (DR) or RDR were administered orally to mice at 237 mg/kg bw/day, whereas distilled water was administered as a vehicle for 12 weeks. Compared to the control group, renal reactive oxygen species, peroxynitrite, and thiobarbituric acid reactive substance level in the DR or RDR group were significantly decreased, whereas the glutathione level was increased ($p < 0.05$). Protein expressions of antioxidant factors such as nuclear factor erythroid 2-related factor-2, heme oxygenase-1, glutathione S-transferase, superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxidase were significantly increased in the DR and RDR groups; however, nuclear factor-kappa B expression was suppressed ($p < 0.05$). These antioxidant and anti-inflammatory effects of RDR were found to be significantly greater than those of DR.

Keywords: radish, roasting, kidney, antioxidant effect, anti-inflammatory effect

서 론

고지방식사는 비만, 고지혈증, 지방간, 동맥경화 등과 같은 퇴행성 질환을 일으키는 식사요인으로 알려져 있다(1). 최근 고지방식사는 사구체신염, 사구체 경화와 같은 만성신장질환의 원인으로도 보고되고 있는데, 쥐에게 16주간 고지방식사를 섭취시켰을 때 사구체 섬유화가 진행 되었고 이는 고지방식사가 염증반응에 참여하는 유도산화질소(II) 합성효소(inducible nitric oxide synthase, iNOS)의 발현을 증가시켰기 때문이었다고 설명하였다(2). 뿐만 아니라 고지방식사는 마우스의 신장에서 지방산 합성은 촉진한 반면 지방산 산화를 억제하여 신장에 지방질 축적을 유도하였는데 이는 지방산 합성을 조절하는 전사인자인 sterol regulatory element-binding protein-1과 효소인 fatty acid synthase의 발현을 증가시킨 반면 지방산 산화에 관여하는 carnitine palmitoyltransferase-1의 발현을 감소시켰기 때문이라고 보고하였다(3). 그 결과 신장에 지방질이 유의적으로 축적되었고, 지방질 과산화물(thiobarbituric acid reactive substance)의 농도가 증가하였다고 보고하였다(4). 축적된 지방질과산화물은 체내 대사과정 중

생성된 활성산소종과 결합하여 산화반응 및 염증 반응을 촉진시킴으로써 산화스트레스(oxidative stress)를 유발한다고 알려져 있다(5).

산화스트레스란 체내에서 활성산소종, 활성질소종 및 지방질과 산화물 등의 유리기를 지니고 있는 물질의 생성이 높아 이를 제거하는 산화방지시스템의 균형이 깨어진 상태를 일컫는 것으로 압, 동맥경화, 당뇨병, 그리고 심혈관 질환 등과 같은 퇴행성 질환의 발병과 연관이 있다(6,7). 산화스트레스가 발생하면 DNA, RNA 및 효소 등과 같은 중요한 기능을 수행하는 단백질 뿐 아니라 세포 및 조직에도 손상을 초래하여 기능장애를 일으킨다(8). 산화스트레스는 nuclear factor-kappa B (NF- κ B)를 활성화하여 염증 관련 사이토카인(cytokine) 및 케모카인(chemokine)의 생성을 촉진한다(9). 체내 산화방지 방어체계에는 토코페롤(tocopherol), 아스코브산(ascorbic acid) 및 글루타싸이온(glutathione)과 같은 산화방지물질과 초과산화물제거효소(superoxide dismutase, SOD), 카탈라이스(catalase, CAT), glutathione peroxidase (GPx), heme oxygenase-1 (HO-1) 및 glutathione S-transferase (GST)와 같은 산화방지효소가 존재한다(10).

무(radish, *Raphanus sativus* L.)는 십자화과(Cruciferae) 채소로 민간에서 감기 등의 예방 및 치료 목적으로 상용되어 왔다(11). 문헌에 따르면 무는 내복근이라 하여 소화촉진과 어패류 또는 면류의 중독해소에 효과가 있고, 무 종자는 내복자라 하여 기담, 혈담, 천식, 늑간 신경통 등에 사용하였다고 한다(12). 무의 기능성 성분으로 글루코시놀레이트(glucosinolate) (13), 설포라판(sulforaphane)(14), 과산화효소(peroxidases)(15) 및 L-트립토판(tryp-

*Corresponding author: Yeong Ok Song, Department of Food Science and Nutrition, Pusan National University, Busan 46241, Korea
Tel: +82-51-510-2847
Fax: +82-51-583-3648
E-mail: yosong@pusan.ac.kr
Received September 24, 2016; revised November 16, 2016;
accepted December 12, 2016

tophan) (16) 등이 알려져 있으며, 이들의 산화방지효과(16), 항균 효과(17), 항암효과(18) 및 항염증효과(19)는 잘 알려져 있다. 무에 함유되어 있는 allyl-isothiocyanate와 설폴라판과 같은 황함 화합물은 산화방지효소의 전사인자인 nuclear factor erythroid 2-related factor-2 (Nrf2)의 발현을 통해 GST, HO-1 등과 같은 산화방지효소 합성을 촉진한다고 알려져 있다(20,21). 본 연구팀은 무말랭이 차를 개발하기 위하여 무말랭이를 가압 볶음한 후 열수 추출물을 제조하여 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl hydrate (DPPH) 라디칼 소거능 및 산화스트레스를 유발한 LLC-PK1 cell의 세포 생존율에 대한 연구를 수행하였을 때 가압볶음 무말랭이는 무말랭이 보다 라디칼 소거능과 산화스트레스 개선 효과가 높았는데 이는 가압볶음 중 메일라드(maillard) 반응에 의해 산화방지기능성이 증가하였기 때문이라고 하였다. 무말랭이에는 존재하지 않았던 5-하이드록시메틸푸르푸랄(hydroxymethylfurfural)이 가압볶음 무말랭이에서 확인되었다(22). 식품가공법에서 볶음 공정은 향미 및 산화방지기능성을 증진시키기 위해 차 제조에 흔히 사용되고 있으며, 울무(23), 수수(24), 결명자(25) 및 흰민들레(26) 등을 볶음하였을 때 DPPH 라디칼 소거활성이 증가하였다고 보고하였다.

본 연구는 가압볶음 무말랭이의 산화스트레스 억제 효과를 고지방식사를 섭취한 마우스의 신장에서 확인하고자 하였다.

재료 및 방법

재료 및 시약

고랭지 무(Unduryeong, Gangwon-do, Korea)를 농수산물시장(Busan, Korea)에서 구입하여 사용하였다. 본 실험에 사용한 시약인 H_2O_2 -에틸렌다이아민테트라아세트산(ethylenediaminetetraacetic acid), 싸이오바비투르산(thiobarbituric acid)는 Bio Basic Inc. (Markham, ON, Canada)에서 구입하여 사용하였고, 소혈청알부민(bovine serum albumin), 2',7'-dichlorofluorescein-diacetate (DCF-DA), dihydrorhodamine 123, 5,5'-dithiobis (2-nitrobenzoic acid), protease inhibitor cocktail은 Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다. Bio-Rad protein assay kit와 Laemmli sample buffer는 Bio-Rad Laboratories (Hercules, CA, USA)에서 구입하였고 웨스턴블롯분석(western blot assay)에 사용된 CAT (F-17, sc-34285), cyclooxygenase (COX)-2 (29, sc-19999), GPx (B-6, sc-133160), GST (B-14, sc-138), HO-1 (H-105, sc-1078), NF- κ B (A, sc-109), Nrf2 (H-300, sc-13032), SOD (FL-154, sc-11407) 항체는 Santa Cruz Biotechnology Inc. (Santa Cruz, CA, USA)에서 구입하여 사용하였고, iNOS (PA1-036)은 Thermo Fisher Scientific Co. (Waltham, MA, USA)에서 구입하여 사용하였다. 2차 항체 α -tubulin antibody (EP1332Y) (ab52866), rabbit anti-goat IgG H&L (HRP) (ab6741), donkey anti-rabbit IgG H&L (ab6802), rabbit anti-mouse IgG H&L (HRP) (ab6728)는 Abcam Inc. (Cambridge, UK)에서 구입하여 사용하였다. 그 외의 기타 시약은 특급시약을 구입하여 사용하였다.

가압볶음 무말랭이 제조

무는 껍질을 제거하고 3×3×0.5 cm 크기로 자른 다음, 상온에서 12시간 예비건조한 후 50°C로 설정된 건조기(USD-6533F, Kyung Dong Navien, Seoul, Korea)에서 24시간 건조하였다. 가압볶음 무말랭이 제조는 재래시장에서 사용하는 튀밥용제조기를 사용하였다. 압력 4.5 kg/cm²에서 2분간 가압 볶음하여 본 실험에 사용하였다.

시료의 추출 및 제조

무말랭이와 가압볶음 무말랭이에 각각 20배(w/v)의 물을 넣고 100°C에서 1시간 추출하였다. 열수추출물을 여과(No 2, Whatman, Springfield Mill, UK)한 후, 감압농축기(Rotavator R-200, Bchi, Switzerland)에서 1차 농축하고, 동결 건조하여 실험에 사용하였다. 무말랭이와 가압볶음 무말랭이의 열수 추출물 수율은 36% (동결건조물량×100/가압볶음무말랭이 양)으로 한약재인 당귀(27) 및 감초의 열수추출물 수율(28)과 유사하였다. 당귀의 수율은 38-40% 그리고 감초의 열수추출물 수율은 31.6%로 보고되었다.

실험동물의 사육 및 식사

4주령 수컷 C57BL/6을 구입하여(DooYeol Biotech, Seoul, Korea) 1 주일 사육실에 적응시킨 후, 각 군의 평균 체중이 유사하도록 8마리씩 4군으로 나누었다. 고지방식사는 chow diet (2018S Teklad global 18% protein rodent diet, Harlan Teklad, Madison, WI, USA)에 라드를 섞어(20%, w/w) 총열량의 50%를 지방에서 공급할 수 있도록 제조하였다. 정상식사군(normal diet group, NOR group)은 chow diet를 공급하고, 존대(sonde)를 사용하여 증류수를 경구투여 하였고, 실험군은 고지방식사를 공급하면서 증류수를 공급하는 대조군(control group, CON group), 무말랭이 열수추출물을 투여한 무말랭이 추출물 투여군(DR group), 그리고 가압볶음 무말랭이 열수추출물을 투여하는 가압볶음 무말랭이 추출물 투여군(RDR group)이었다. 쥐에 공급한 DR 및 RDR 열수추출물의 농도는 다음과 같이 산출하였다. 성인(60 kg)이 하루 2잔의 차(2 g 건조차/팩)를 마신다고 가정하였을 때 가압볶음 무말랭이 4 g이 필요하고 추출 수율 36%와 및 사람과 쥐의 대사 속도 차(10배)를 감안하여 산출하였을 때 쥐 체중 kg 당 하루 공급량은 237 mg이었다. 사육실의 온도는 22±1°C, 습도는 55±5%를 유지하였으며, 명암주기는 12시간으로 조절하였다. 동물 사육 기간은 12주 이었으며, 실험 중 식사와 물은 자유롭게 섭취하도록 공급하였다. 동물 실험 과정은 부산대학교의 동물실험 윤리위원회의 승인 후 수행하였다(PNU-IACUC, approval No. PNU-2015-0824).

해부 및 시료 채취

12주 사육 후 12시간 동안 절식시킨 후 zolatil (30 mg/kg bw, Virbac Laboratories, Carros, France)과 xylazine (10 mg/kg bw, Bayer Korea, Seoul, Korea)으로 마취 시켜 개복하였다. 인산완충 소금물(phosphate buffered saline)으로 하대정맥을 통해 관류한 뒤 해당 장기를 적출하여 인산완충소금물로 헹군 후 여과지로 물기를 제거하고, 무게를 측정된 후 액체질소에서 바로 동결한 후 -80°C에서 보관하였다.

신장 균질액 및 post-mitochondrial fraction 제조

신장조직에 9배의 인산완충소금물을 첨가한 후 균질기(PT-MR 3100, Kinematica Inc., Lucerne, Switzerland)를 이용하여 조직을 균질화하여 지방질과산화물 및 글루타싸이온 실험 시료로 사용하였다. post-mitochondrial fraction은 조직 균질액을 4°C에서 2,012×g로 15분간 원심분리 하여 상층액을 얻은 후, 이를 4°C에서 18,627×g로 15분간 원심분리한 후 상층액을 얻어서 reactive oxygen species (ROS) 및 peroxynitrite (ONOO⁻) 실험에 사용하였다.

산화스트레스 관련 인자 측정

지방질과산화물 농도는 Ohkawa 등(29)의 방법에 의해 말론알

데하이드(malonaldehyde, MDA) 표준곡선을 이용하여 계산하고 nmol 말론알데하이드로 나타내었다. 글루타싸이온 농도는 disulfide reagent {0.1 M sodium phosphate buffer (pH 8), 0.01 M 5,5'-dithiobis}을 이용하여 Ellman(30)의 방법으로 측정하였다. ROS 및 ONOO⁻ 농도는 post-mitochondrial fraction를 사용하여 ROS 농도는 DCF-DA를 이용한 Ali 등(31)의 방법으로 ONOO⁻ 농도는 dihydrorhodamine 123 buffer를 이용한 Kooy 등(32)의 방법으로 측정하였다. ROS와 ONOO⁻는 분당 형광(fluorescence) 강도로 표시하였다.

Western blot assay

웨스턴블롯분석 시료로 whole cell 추출물을 사용하였다. 즉, 신장 조직에 nonidet-P40 lysis buffer {50 mM Tris (pH 8.0), 5 mM ethylenediaminetetraacetic acid (pH 8.0), 150 mM NaCl, 1% NP-40, 1 mM D,L-dithiothreitol, 1 mM phenylmethylsulfonyl fluoride}와 protease inhibitor cocktail을 혼합하여 첨가 후 균질화하였다(PT-MR 3100, Kinematica Inc.). 균질액을 1시간 동안 얼음에 보관한 후 4°C에서 18,627×g로 20분간 원심분리하여 상층액을 얻었다.

시료의 단백질 농도를 측정 후 일정량의 단백질이 함유된 whole cell 추출물에 Laemmli sample buffer와 β-mercaptomethanol을 첨가하여 혼합하고 이를 sodium dodecyl sulphate-polyacrylamide gel에 loading 한 후 90 V 전압으로 2시간 동안 전기영동(Power Pac300, Bio-Rad)하여 단백질을 분리하였다. 분리된 단백질은 니트로셀룰로스 막(nitrocellulose membrane) (0.45 μm pore size, Whatman)으로 이동시킨 후 5% 탈지우유(skim milk)에서 1시간 동안 blocking 하였다. 니트로셀룰로스 막을 1차 항체 용액에 충분히 잠기게 하여 4°C에서 밤새 반응시켰다. 이후 세척하여 1차 항체를 제거하고 2차 항체와 반응시켰다. 2차 항체와의 반응은 상온에서 1시간 동안 지속하였다. 반응 후 니트로셀룰로스 막을 세척하여 부착되지 않은 항체를 제거하고, enhanced chemiluminescence 용액으로 발색시켜 CAS-400SM (Davinch-K, Seoul, Korea)으로 촬영하였다. 단백질 발현은 image J software (Image J, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA, <http://www.rsbl.info.nih.gov/ij>) 사용하여 측정하였고, 단백질의 발현 정도는 α-tubulin에 대한 비율로 보정한 뒤 발현 정도는 정상식사군에 대한 비율로 표시하였다.

통계 처리

SPSS/PC package 20 (IBM, New York, NY, USA)을 사용하여, 평균과 표준편차를 구하였으며, one-way ANOVA를 실시한 후, Duncan's multiple range test로 사후검정을 실시하여 p<0.05 수준에서 유의차를 검증하였다.

결과 및 고찰

가압볶음 무말랭이 추출물의 신장 산화스트레스 개선 효과

고지방식사를 섭취한 CON group의 ROS, ONOO⁻ 및 지방질과 산화물 농도는 NOR group에 비해 각각 135.0%, 202.0% 및 137.4% 증가되었다(Table 1, p<0.05). 본 결과는 고지방식사 섭취가 신장의 ROS(33) 및 지방질과산화물의 농도(34)를 높인다는 보고와 일치하였다. 이러한 CON group의 ROS, ONOO⁻ 및 지방질과산화물 농도는 무말랭이 열수추출물 투여에 의해 감소되었는데, RDR group의 ONOO⁻와 지방질과산화물 농도는 DR group에 비해 각각 52.2% 및 27.2% 감소한 것으로 보아 유리기 제거 효과는 RDR group이 높은 것을 확인할 수 있었다. 체내 산화방지 물질인 글루타싸이온 농도는 NOR group에 비해 CON group에서 70.3% 유의적으로 감소하였고(p<0.05), DR 및 RDR group의 글루타싸이온 농도는 CON group에 비해 각각 262.2% 및 370.7% 유의적으로 증가하였다(p<0.05). 특히 RDR group의 글루타싸이온 농도는 DR group에 비해 141.4% 유의적으로 증가하였다(p<0.05). 이상의 결과에 의하면 고지방식사는 신장에서 ROS 생성 및 지방질과산화를 촉진시켜 산화스트레스를 유발하였고, 무말랭이 열수추출물 섭취에 의해 신장의 산화스트레스를 개선하는 효과가 확인되었다. 본 연구결과는 무 추출물은 zearalenone로 산화스트레스를 유발한 쥐의 신장에서 지방질과산화물의 농도를 낮추었다는 보고(35)와 일치하였다. 무의 산화방지물질로는 글루코시놀레이트(13), 설포라판(14), 과산화효소(15) 및 L-트립토판(16)등이 알려져 있다. 이러한 무말랭이의 산화스트레스 개선 효과는 가압볶음무말랭이 군에서 더욱 증가하였는데, 이는 볶음 과정 중 메일라드 반응에 의해 산화방지물질의 생성이 증대하였기 때문이라고 사료된다. 본 연구 팀의 선행연구에서 무말랭이를 가압볶음 하였을 때, 총 폴리페놀 함량 및 메일라드 반응 중간생성물인 5-하이드록시메틸푸르푸랄의 농도가 증가하였으며, 가압볶음 무말랭이 열수추출물의 DPPH 라디칼 소거능 및 산화스트레스가 유발된 LLC-PK1 cell의 세포생존율이 무말랭이군에 비해 높았다(22). 울무(23), 수수(24), 결명자(25), 흰민들레(26) 등을 볶음하였을 때 DPPH 라디칼 소거능이 증가하였다는 보고는 본 연구결과와 유사하였다.

가압볶음 무말랭이 추출물의 산화방지효과

고지방식사를 섭취한 CON group의 Nrf2 및 이에 의해 조절되는 산화방지효소인 HO-1, GST, 초과산화물제거효소, 그리고 GPx의 단백질 발현은 NOR group에 비해 유의적으로 낮았다(Fig. 1, p<0.05). 이러한 현상은 무말랭이 추출물을 섭취시킨 DR 및 RDR group에서 증가하여 무는 산화를 방지하는 효과가 있음을 확인하

Table 1. Protective effect of hot water extracts of roasted radish against renal oxidative stress induced by high-fat diet

Group ¹⁾	ROS	ONOO ⁻	TBARS	GSH
	(Flu/min/mg protein)		(nmol MDA/g tissue)	(mmol/g tissue)
NOR	2391±921 ^{ab}	3096±856 ^b	18.28±4.86 ^b	3.83±0.67 ^a
CON	3227±755 ^a	6254±751 ^a	25.12±2.41 ^a	1.14±0.69 ^c
DR	2173±841 ^{ab}	2394±984 ^b	20.90±2.85 ^b	2.98±0.64 ^b
RDR	1432±442 ^b	1144±377 ^c	15.22±1.05 ^c	4.22±0.32 ^a

Data are mean±SD (n=8 each group).

¹⁾Mice were fed high-fat diet for 12 weeks with oral administration of distilled water (DW) (CON group), hot water extracts of dried radish (DR group) or hot water extracts of roasted dried radish (RDR group), respectively. Normal group (NOR group) was fed chow diet with oral administration of DW.

^{a-c}Data with different letters in the column are significantly different with one-way ANOVA followed by Duncan's multiple range test at p<0.05.

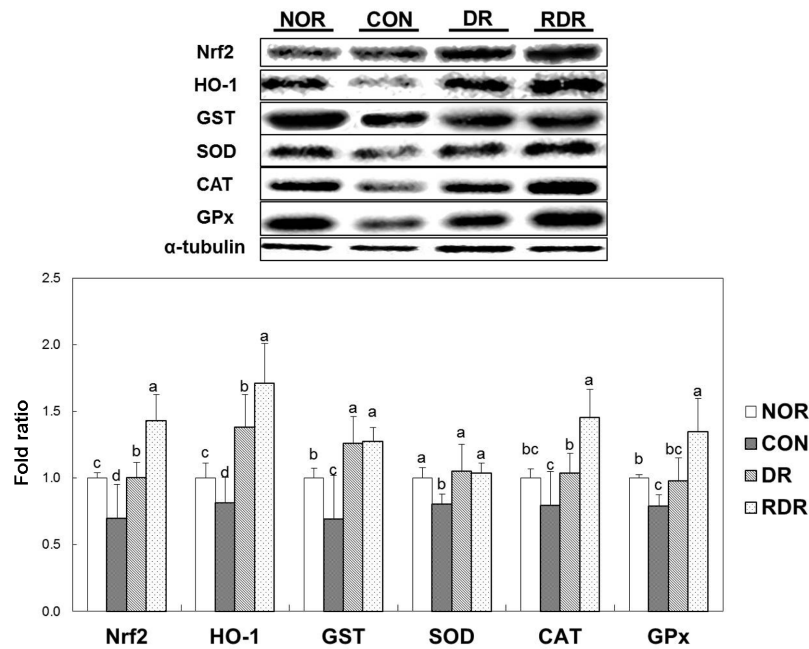


Fig. 1. Protein expression of Nrf2, HO-1, GST, SOD, CAT, and GPx of C57BL/6 mice fed high-fat diet for 12 weeks. Data are mean±SD (n=8 each group). Mice were fed high-fat diet for 12 weeks with oral administration of distilled water (DW) (CON group), hot water extracts of dried radish (DR group) or hot water extracts of roasted dried radish (RDR group), respectively. Normal group (NOR group) was fed chow diet with oral administration of DW. ^{a-d}Data with different letters are significantly different with one-way ANOVA followed by Duncan's multiple range test at *p*<0.05.

였다. 특히 가압볶음 무말랭이 추출물군인 RDR군의 효과는 DR 군에 비해 유의적으로 높았는데, Nrf2의 발현은 123.9% 증가하였고, HO-1, 카탈레이스 및 GPx의 발현은 각각 123.7%, 143.1% 및 140.6% 유의적으로 증가하였다(*p*<0.05). 본 연구결과는 무의 성분 중 함유물질인 설포라판은 산화방지효소계를 촉진시켜 산화스트레스를 억제한다는 보고와 일치하였다. 쥐에 설포라판을 정맥주사 한 후 신장에 산화스트레스를 유발하였을 때 지방질과 산화물의 생성이 감소하였는데 이는 설포라판이 Nrf2를 활성화시켜 HO-1과 GPx와 같은 산화방지효소의 발현이 증가하였기 때문이라고 보고하였다(36). 볶음 커피 열수 추출물은 과산화수소로 산화스트레스를 유발한 NR8383 큰대식세포(macrophages)에서 생 커피의 열수추출물보다 Nrf2의 발현이 유의적으로 증가했다고 보고하였다(37). 또한 볶음 보리추출물은 혈액과 간에서 노화로 인해 생성되는 지방질과산화물을 감소시켰다고 보고하였다. 이는 볶음과정 중 생성된 산화방지물질이 산화방지효소인 초과산화물제거효소 및 GPx의 발현을 증가시켰기 때문이라고 설명하여(38) 볶음 무말랭이 추출물에 의해 산화방지효소의 발현이 증가한 본 연구의 결과와 유사하였다.

가압볶음 무말랭이 추출물의 항염증 효과

산화스트레스가 유발된 쥐의 신장조직에서 염증조절 전사인자인 NF-κB와 염증 효소인 iNOS 및 COX-2의 발현 정도를 확인하였을 때 NOR group에 비해 CON group의 NF-κB와 iNOS 단백질 발현이 유의적으로 증가하였다(Fig. 2, *p*<0.05). NF-κB 발현은 DR 및 RDR group에서 CON group에 비해 각각 40.4% 및 59.3% 유의적으로 감소하였으며 iNOS 발현은 DR 및 RDR group에서 CON group에 비해 각각 13.9% 및 22.8% 유의적으로 감소하였다. 특히, RDR group의 NF-κB 단백질 발현은 DR group에 비해 31.7% 유의적으로 낮았다(*p*<0.05). NF-κB에 의해 전사가 조절되는 COX-2의 발현은 NF-κB와 같은 경향성을 보였으나 그 차

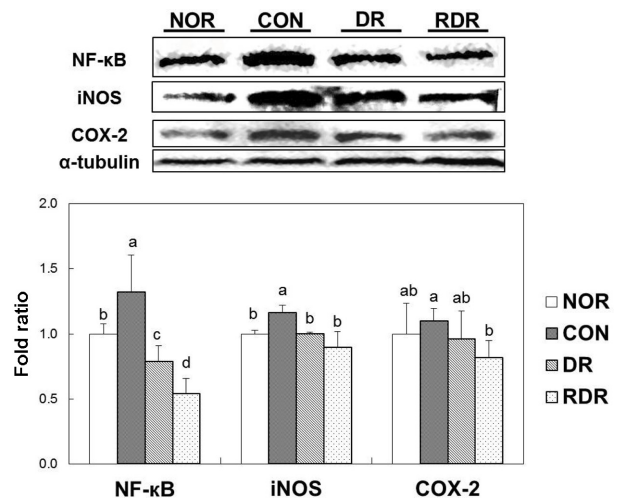


Fig. 2. Protein expression of NF-κB, iNOS, and COX-2 of C57BL/6 mice fed high-fat diet for 12 weeks. Data are mean±SD (n=8 each group). Mice were fed high-fat diet for 12 weeks with oral administration of DW (CON group), hot water extracts of dried radish (DR group) or hot water extracts of roasted dried radish (RDR group), respectively. Normal group (NOR group) was fed chow diet with oral administration of DW. ^{a-d}Data with different letters are significantly different with one-way ANOVA followed by Duncan's multiple range test at *p*<0.05.

이가 유의적이지 않았다. 산화스트레스 유발 시 생성된 ROS는 NF-κB를 활성화하여 iNOS 및 COX-2와 같은 염증성 효소의 생성을 촉진시킴으로써 염증반응을 촉진한다(9). 반면 Nrf2와 같은 산화방지 전사인자는 HO-1 등의 산화방지효소의 발현을 증가시킴으로써 NF-κB의 활성을 억제시켜 염증을 예방한다고 보고되

고 있다(39). 무의 성분 중 allyl-isothiocyanate와 설포라판 추출물은 lipopolysaccharide를 처리한 대식세포에서 Nrf2 발현과 HO-1의 전사를 증가시켰고 NF-κB 발현 및 iNOS의 전사를 억제하였다. 또한 고지방식사와 allyl-isothiocyanate 추출물을 경구 투여했을 때 간에서 Nrf2 와 HO-1의 발현이 증가하였고, iNOS의 발현은 억제 되었다고 보고하였다(40).

본 연구에서 관찰된 가압볶음 무말랭이의 항염증 효과는 볶음 과정 중 생성된 산화방지물질에 의해 산화스트레스가 억제된 효과로 생각된다. 가압볶음무말랭이 추출물의 섭취는 체내 산화방지물질인 글루타싸이온을 증가시키고 Nrf2와 같은 산화방지전사인자와 산화방지효소의 발현을 증가시킴으로써 NF-κB가 감소한 것으로 사료된다.

요 약

고지방식사를 섭취한 쥐의 신장에서 가압볶음 무말랭이 추출물의 산화방지, 항염증 효과를 확인하였다. 실험군은 chow diet와 증류수를 경구 투여하는 NOR group, 고지방식사와 증류수를 경구 투여하는 CON group, 고지방식사와 237 mg/kg bw/day농도의 DR과 RDR를 각각 경구 투여하는 DR group, RDR group으로 나누어 12주간 사육하였다. 신장의 산화스트레스 지표인 ROS, ONOO⁻, 그리고 지방질과산화물의 농도를 확인한 결과 CON group이 NOR group에 비해 유의적으로 증가하였다. 반면 DR group과 RDR group에서 유의적으로 감소하였다. 체내 산화방지 지표인 글루타싸이온의 농도와 산화방지단백질의 발현은 DR group과 RDR group 모두 CON group에 비해 증가하였다. NF-κB 발현은 CON group이 NOR group에 비해 증가하였으나 DR group과 RDR group은 모두 감소하였다. RDR group은 DR group에 비해 ONOO⁻ 및 지방질과산화물 농도가 감소하였고 글루타싸이온 농도와 산화방지 관련 단백질 발현 중 Nrf2, HO-1, 카탈레이스, 그리고 GPx가 증가하였고 염증반응 전사인자인 NF-κB의 발현이 낮아졌다. RDR group의 산화스트레스 개선효과는 유의적으로 높은 것으로 확인되었다. 따라서 가압볶음무말랭이를 차로 제조하여 섭취할 때 고지방식사로 유도된 신장의 산화스트레스를 억제할 수 있을 것으로 사료되며, 그 효과는 무말랭이보다 높은 것으로 확인되었다.

감사의 글

본 연구는 (주)세전의 지원을 받아 수행된 연구의 결과로 지원해 주신 (주)세전에 감사드립니다.

References

1. Huang QL, Jin Y, Zhang LN, Cheung PCK, Kennedy JF. Structure, molecular size and antitumor activities of polysaccharides from *Poria cocos* mycelia produced in fermenter. *Carbohydr. Polym.* 70: 324-333 (2007)
2. Ruggiero C, Ehrenshaft M, Cleland E, Stadler K. High-fat diet induces an initial adaptation of mitochondrial bioenergetics in the kidney despite evident oxidative stress and mitochondrial ROS production. *Am. J. Physiol-Endoc. Metab.* 300: 1047-1058 (2011)
3. Kume S, Uzu T, Araki SI, Sugimoto T, Isshiki K, Chin-Kanasaki M, Haneda M. Role of altered renal lipid metabolism in the development of renal injury induced by a high-fat diet. *J. Am. Soc. Nephrol.* 18: 2715-2723 (2007)
4. Muthulakshmi S, Saravanan R. Protective effects of azelaic acid against high-fat diet-induced oxidative stress in liver, kidney and

- heart of C57BL/6J mice. *Mol. Cell. Biochem.* 377: 23-33 (2013)
5. Cai H, Harrison DG. Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxidant stress. *Circ. Res.* 87: 840-844 (2000)
6. Bidchol AM, Wilfred A, Abhijna P, Harish R. Free radical scavenging activity of aqueous and ethanolic extract of *Brassica oleracea* L. var. *italica*. *Food Bioprocess Tech.* 4: 1137-1143 (2011)
7. Heo HJ, Kim DO, Choi SJ, Shin DH, Lee CY. Potent inhibitory effect of flavonoids in *Scutellaria baicalensis* on amyloid protein-induced neurotoxicity. *J. Agr. Food Chem.* 52: 4128-4132 (2004)
8. Golbidi S, Laher I. Antioxidant therapy in human endocrine disorders. *Med. Sci. Monitor.* 16: 9-24 (2010)
9. Pahl HL. Activators and target genes of Rel/NF-κB transcription factors. *Oncogene* 18: 6853-6866 (1999)
10. Nohl H and Jordan W. The mitochondrial site of superoxide formation. *Biochem. Bioph. Res. Co.* 138: 533-539 (1989)
11. Bae R, Lee YK, Lee SK. Changes in nutrient levels of aqueous extracts from radish (*Raphanus sativus* L.) root during liquefaction by heat and non-heat processing. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.* 30: 409-416 (2012)
12. Jung DH. Biochemical activity of food. Seonjinmunwhasa, Seoul, Korea. pp. 72-74 (1998)
13. Carlson DG, Daxenbichler ME, VanEtten CH, Hill CB, Williams PH. Glucosinolates in radish cultivars. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 110: 634-638 (1985)
14. Im JS, Lee EH, Lee JN, Kim KD, Kim HY, Kim MJ. Sulfuraphane and total phenolics contents and antioxidant activity of radish according to genotype and cultivation location with different altitudes. *Korean J. Hortic. Sci.* 28: 335-342 (2010)
15. Kim SH, Kim SS. Carbohydrate moieties of three radish peroxidases. *Phytochemistry* 42: 287-290 (1996)
16. Katsuzaki H, Miyahara Y, Ota M, Imai K, Komiya T. Chemistry and antioxidative activity of hot water extract of Japanese radish (daikon). *Biofactors* 21: 211-214 (2004)
17. Beevi SS, Mangamoori LN, Anabrolu N. Comparative activity against pathogenic bacteria of the root, stem, and leaf of *Raphanus sativus* grown in India. *World J. Microb. Biot.* 25: 465-473 (2009)
18. Barillari J, Iori R, Papi A, Orlandi M, Bartolini G, Gabbanini S, Valgimigli L. Kaiware daikon (*Raphanus sativus* L.) extract: a naturally multipotent chemopreventive agent. *J. Agr. Food Chem.* 56: 7823-7830 (2008)
19. Shon YH, Suh JI, Park IK, Hwang CW, Kim CH, Nam KS. Inhibitory effect of radish on gastric cell toxicity and interleukin-8 production induced by *Helicobacter pylori*. *J. Life Sci.* 15: 595-599 (2005)
20. Nakamura Y, Iwahashi T, Tanaka A, Koutani J, Matsuo T, Okamoto, S, Ohtsuki K. 4-(Methylthio)-3-butenyl isothiocyanate, a principal antimutagen in daikon (*Raphanus sativus*; Japanese white radish). *J. Agr. Food Chem.* 49: 5755-5760 (2001)
21. HY, Kang NI, Lee HK, Jang KY, Park JW, Park BH. Sulfuraphane protects kidneys against ischemia-reperfusion injury through induction of the Nrf2-dependent phase 2 enzyme. *Biochem. Pharmacol.* 75: 2214-2223 (2008)
22. Song YB, Choi JS, Lee JE, Noh JS, Kim MJ, Cho EJ, Song YO. The antioxidant effect of hot water extract from the dried radish (*Raphanus sativus* L.) with pressurized roasting. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 39: 1179-1186 (2010)
23. Chung HS, Kim JK, Youn KS. Effects of roasting temperature on phytochemical properties of Job's tears (*Coix lachryma jobi* L. var *ma-yeun*) powder and extracts. *Korean J. Food Preserv.* 13: 477-482 (2006)
24. Ko JY, Woo KS, Song SB, Seo HI, Kim HY, Kim JI Kim JI, Lee JS, Jung TW, Kim KY, Kwak DY, Oh IS. Physicochemical characteristics of sorghum tea according to milling type and pan-fried time. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 41: 1546-1553 (2012)
25. Lee MH, Cho JH, Kim BK. Effect of roasting conditions on the antioxidant activities of *cassia tora* L. *Korean J. Food Sci. Technol.* 45: 657-660 (2013)
26. Yu EM, Min SH. Biological activity of Korean dandelion (*Taraxacum coreanum*) extracts and preparation of Korean dandelion tea by roasting time. *Korean J. Food Cook. Sci.* 31: 581-587 (2015)
27. Kang SA, Jang KH, Lee JE, Ahn DK, Park SK. Differences of

- hematopoietic effects of *Angelica gigas*, *A. sinensis* and *A. acutiloba* extract on cyclophosphamide induced anemic rats. *Korean J. Food Sci. Technol.* 35: 1204-1208 (2003)
28. Mun YJ, Kim J, Lim NY, Lee SY, Seop G, Hwang CY, Woo WH. Inhibitory effect on melanogenesis of *Radix glycyrrhizae* water extract. *Korean J. Oriental Physiology & Pathology* 16: 1230-1235 (2002)
29. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.* 95: 351-358 (1979)
30. Ellman MA. A spectrophotometric method for determination of reduced glutathione in tissues. *Anal. Biochem.* 74: 214-226 (1959)
31. Ali SF, Lebel CP, Bondy SC. Reactive oxygen species formation as a biomaker of methylmercury and trimethyltin neurotoxicity. *Neurotoxicology* 13: 637-648 (1991)
32. Kooy NW, Royall JA, Ischiropoulos H, Beckman JS. Peroxynitrite-mediated oxidation of dihydrorhodamine 123. *Free Radical Bio. Med.* 16: 149-156 (1994)
33. Declèves AE, Zolkipli Z, Satriano J, Wang L, Nakayama T, Rogac M, Sharma K. Regulation of lipid accumulation by AMK-activated kinase in high fat diet-induced kidney injury. *Kidney Int.* 85: 611-623 (2014)
34. Folmer V, Soares JC, Gabriel D, Rocha JB. A high fat diet inhibits δ -aminolevulinic acid dehydratase and increases lipid peroxidation in mice (*Mus musculus*). *J. Nutr.* 133: 2165-2170 (2003)
35. SalahAbbes JB, Abbes S, Ouane Z, Houas Z, AbdelWahhab MA, Bacha H, Oueslati R. Tunisian radish extract (*Raphanus sativus*) enhances the antioxidant status and protects against oxidative stress induced by zearalenone in Balb/c mice. *J. Appl. Toxicol.* 28: 6-14 (2008)
36. Yoon HY, Kang NI, Lee HK, Jang KY, Park JW, Park BH. Sulforaphane protects kidneys against ischemia-reperfusion injury through induction of the Nrf2-dependent phase 2 enzyme. *Biochem. Pharmacol.* 75: 2214-2223 (2008)
37. Vitaglione P, Morisco F, Mazzone G, Amoroso DC, Ribocco M T, Romano A, D'Argenio G. Coffee reduces liver damage in a rat model of steatohepatitis: the underlying mechanisms and the role of polyphenols and melanoidins. *Hepatology* 52: 1652-1661 (2010)
38. Omwamba M, Li F, Sun G, Hu Q. Antioxidant effect of roasted barley (*Hordeum vulgare* L.) grain extract towards oxidative stress *in vitro* and *in vivo*. *Food Nutr. Sci.* 4: 139-146 (2013)
39. Kim J, Cha YN, Surh YJ. A protective role of nuclear factor-erythroid 2-related factor-2 (Nrf2) in inflammatory disorders. *Mutat. Res.* 690: 12-23 (2010)
40. Wagner AE, BoeschSaadatmandi C, Dose J, Schultheiss G, Rimbach G. Antiinflammatory potential of allylisothiocyanate-role of Nrf2, NF κ B and microRNA155. *J. Cell. Mol. Med.* 16: 836-843 (2012)