

해당화의 과육 및 종자 추출물이 골형성 관련 세포에 미치는 영향

강세찬¹, 임정대², 이재철³, 박혜진⁴, 강남성⁴, 손은화^{2*}¹세명대학교 자연약재과학과, ²강원대학교 생약자원개발학과, ³강원대학교 식품영양학과, ⁴성균관대학교 약학부Effects of Fructus and Semen from *Rosa rugosa* on Osteoimmune cellsSe Chan Kang¹, Jung Dae Lim², Jae Cheol Lee³, Hye Jin Park⁴, Nam Sung Kang⁴, and Eun Hwa Sohn^{2*}¹Department of Natural Medicine Resources, Semyung University, Jecheon, 309-711, Korea²Department of Herbal Medicine Resource, Kangwon National University, Samcheok, 245-711, Korea³Department of Food and Nutrition, Kangwon National University, Samcheok, 245-711, Korea⁴College of Pharmacy, Sungkyunkwan University, Suwon, 440-746, Korea

Abstract - *Rosa rugosa* has been used as a folk medicine with various pharmacological properties for a long time in Asia. We investigated effects of fructus extracts of *Rosa rugosa* (RRF) and semen extracts of this herb (RRS) on bone forming cells (osteoblastic and pre-osteoclastic cells) to evaluate the pharmacological possibilities in a variety of bone-related disease. RRF showed significant effect on proliferation of osteoblastic cells in dose-dependent manners at 72 hrs and 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of RRS was effective at 48 and 72 hrs. RRF and RRS did not decreased production of TNF- α but NO by pre-osteoclastic cells under inflammation circumstance induced by LPS. We also investigated the effects of RRF and RRS on the mitogen-induced lymphocyte proliferation in the old and young mice in ex vivo systems. RRF and RRS significantly enhanced proliferative effects of untreated and ConA-treated splenocytes from the old and young mice. But, RRS at 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ increased LPS-induced TNF- α production in pre-osteoclastic cells and reduced LPS-stimulated lymphoblastogenesis in the old and young at 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$. These results indicate that RRF has beneficial effects on osteoarthritis and give further possibilities for the immunomodulating effects not only in old that has more frequent bone related diseases but also in young.

Key words - *Rosa rugosa*, osteoblastic, nitric oxide, LPS, ConA, aging

서 언

골조직은 골흡수 작용과 골형성이 끊임없이 일어나는 동적인 작용인 골재형성(bone remodeling)에 의해 골량(bone mass) 및 골격의 항상성(skeletal homeostasis)을 유지하고 있다(Karsenty, 2003). 이와 같은 골재형성 과정에는 조골세포와 파골세포의 상호 작용이 매우 중요한데, 파골세포는 골수의 monocyte-macrophage 계통인 조혈모세포(hematopoietic precursor)로부터 분화하여 활성화되어 뼈를 파괴하고 흡수하는 역할을 하고, 조골세포는 뼈기질을 합성하고 채우는 역할을 한다. 이 두 종류 세포간의 밀접한 연관성으로 뼈의 항상성이 유지되게 되며, 파골세포에 의해 골 흡수가 이뤄진 만큼 조골세포에 의한 골 형성이

이루어짐으로써 항상 일정한 양의 골조직이 유지되게 된다. 따라서 골량은 이러한 세포들의 상대적인 기능에 의존하게 되며, 조골세포와 파골세포 활성화간의 불균형은 전체적인 뼈의 감소나 증가로 인한 골격의 이상 및 질환으로 나타나게 된다(Manolagas *et al.*, 2000; Seibel *et al.*, 2005).

골대사 질환 중 고령사회에서 큰 문제로 대두되고 있는 퇴행성 관절염 및 골다공증은 노화, 폐경, 흡연, 만성적 알코올 섭취, 생활태도 등과 같은 내인성 및 외인성 인자들에 의해 쉽게 발병된다고 알려져 있는데, 주로 골관련 면역세포의 만성적인 염증 반응과 단위 용적내 골량의 감소로 인하여 경미한 충격에도 쉽게 골절을 일으키는 비가역적인 반응을 동반하게 된다(Ilich *et al.*, 2000; Lee *et al.*, 2008).

해당화(*Rosa rugosa*)는 장미과에 속하는 넓은 잎의 교목이다. 우리나라 전국 해안의 모래밭이나 해변에서 자라

*교신저자(E-mail) : ehson@kangwon.ac.kr

며 일본 동북아시아에 분포한다. 해당화는 중국, 한국, 일본 등 동양에서 다양한 질환에 대한 민간요법 치료제로 사용되어 왔으며, 지금까지 연구된 해당화의 생리활성 연구로는 항당뇨작용, 만성염증 억제작용, 통증치료효과, 항암효과, 항산화작용 등을 가지고 있다고 알려져 있다(Jung *et al.*, 2005; Yoshizawa *et al.*, 2000; Ng *et al.*, 2004; Park *et al.*, 2005; Altiner *et al.*, 2008; Kamijo *et al.*, 2008). 해당화는 분획별로 다양하게 이용되기도 하는데, 일본에서는 해당화 꽃의 색소를 천연 착색료로 이용하기도 하고, 우리나라에서는 해당화 지하부를 당뇨병 치료제로 사용하고 있다는 보고가 있다(Cho *et al.*, 2004). 최근에는 해당화의 항알러지 작용과 항세포사멸 효과가 보고된 바 있다(Jeon *et al.*, 2009). 해당화의 잎, 꽃, 과실, 지하부 등에서 화학 성분 연구가 이루어졌는데(Hashdoko, 1996), 해당화에는 유기산과 vitamin C 등이 풍부하며, phenolic 화합물로서 rosamultin, quercetin, tannin 등이, terpenoid인 euscaphic acid과 saponin인 arjunetin과 glucoside성 물질로서 β -sitosterol glucoside, campesterol glucoside 등이 보고되었다(Nagai *et al.*, 2007). 이전의 연구에서 본 연구자는 vitamin C(L-ascorbic acid)가 조골세포의 증식과 분화에 효과가 있다는 것을 확인한 바 있으나(Son *et al.*, 2007), vitamin C가 풍부하게 함유된 해당화 추출물에서의 골다공증 및 골염증에 관련된 연구는 아직까지 보고되지 않고 있다. 따라서 본 연구에서는 해당화가 분획별로 다른 생리활성을 나타낼 가능성을 고려하고자, 해당화의 과육(fructus of *Rosa rugosa*: RRF)과 종자(semen of *Rosa rugosa*: RRS) 분획 추출물을 나누었으며, 골형성에 중요한 역할을 하는 조골세포의 세포증식 작용과 전구파골세포의 항염증 작용을 LPS에 의해 유도된 TNF- α 와 NO의 억제 조절능으로 확인하였고, 골다공증 및 골질환이 빈번하게 발생하는 노화 상태에서의 임상적 적용을 고려하고자 정상 생쥐와 노화 생쥐에서 분리된 B세포, T세포, 전구파골세포로 이루어진 비장세포의 세포증식효과를 측정하고자 하였다.

재료 및 방법

해당화 과육추출물 시료(RRF)와 해당화 종자 추출물 시료(RRS)의 제조

해당화(*Rosa rugosa*)의 열매는 2007년 강원도 삼척시

맹방에서 재배되고 있는 것으로부터 외관상 동일한 크기, 모양과 색깔을 지닌 것을 선별하여 채취하여 사용하였으며 열매를 씨와 과육을 완전히 분리하고 냉동보관 후(-20°C) 동결건조(PVTF 200K:Ilshin Lab Co, Korea) 하여 시료로 사용하였다. 각 시료의 추출물 제조는 식품산업에서 사용되어지는 주정(대한 주정판매 주식회사)을 증류수로 희석(알콜도수 50°)시켜 건중 당 100 배로 가하여 6시간 동안 추출하고 여과(와트만 No. 42)하였으며, 잔류물을 동일한 방법으로 2회 반복하여 추출하였다. 추출된 용액을 모두 합하여 40°C 감압농축장치에서 완전히 건조하여 해당화 과육추출물시료(RRF)와 해당화 종자 추출물시료(RRS)를 제조 하였다.

실험동물과 세포주

C57/BL6종의 수컷 생쥐를 Charles River Breeding Laboratories(Japan)에서 구입하였다. 생쥐는 무작위로 한 군당 5마리로 분주하여 사육하였으며 정상생쥐(8주)와 노화생쥐(82주)를 실험에 사용하였다. 동물의 사육은 성균관대학교 동물사육시스템에서 ILAR(Institute for Laboratory Animal Research) 가이드라인에 근거하여 사육되었다.

MG63(human osteoblastic cell line), Raw264.7(murine macrophage cells; pre-osteoclastic cells) 세포는 American Type Culture Collection(ATCC, Manassas, VA)에서 구입하여, 각각 10% FBS, 2% penicillin-streptomycin (10,000 U pen/ml, 10,000 μ g strep/ml)을 첨가한 DMEM과 RPMI 1640(GIBCO BRL, Grand Island, NY) 성장배지에 부착 배양하였으며 37°C, 5% CO₂ 조건을 유지하였다. 사용된 시약들은 특별한 언급이 없으면 모두 Sigma사(St Louis, MO)에서 구입하였다.

Osteoblastic cell proliferation

MG63 세포를 96-well plate에 1×10^5 /well이 되도록 분주하고 종자(RRS)와 과육(RRF)을 농도별로 처리하여 각각 24시간, 48시간, 72시간 동안 배양한 후 MTT assay를 이용하여 세포 증식능을 측정하였다.

Nitric oxide production

LPS에 의해 유도된 염증환경에서의 pre-osteoclastic cells의 NO 억제 작용을 확인하기 위하여 Raw264.7 세포를 96-well plate에 1×10^5 /well이 되도록 분주하고 1시간

동안 LPS를 전처리하고 난 후, 종자(RRS)와 과육(RRF)을 농도별로 24시간 처리하였다. 새 배양액으로 바꾸어 20시간 더 배양한 후, 상층액 100 μ l만을 취하여 새 plate에 옮긴 후 100 μ l Griess reagent를 넣고 10분간 실온에서 방치하였다. 540 nm에서 흡광도를 측정하고 sodium nitrite의 표준검량선으로 부터 NO 분비량을 정량하였다.

TNF- α production

LPS에 의해 유도된 염증환경에서의 pre-osteoclastic cells의 TNF- α 억제 작용을 확인하기 위하여 Raw264.7 세포를 96-well plate에 1×10^5 /well이 되도록 분주하고 1시간 동안 LPS를 전처리 하였다. 종자(RRS)와 과육(RRF)을 농도별로 처리하고 20시간 더 배양한 Raw264.7 세포의 상층액을 모아서 TNF- α ELISA system(Amersham Life Science, England)을 이용하여 TNF- α 의 분비 조절량을 측정하였다. TNF- α 에 대한 항체가 코팅된 microtitre plate에 biotinylated antibody 50 μ l를 넣은 다음 세포 배양 상층액을 50 μ l 넣은 후 실온에서 2시간 방치한 다음 세척하였다. 이어 streptavidine-HRP 용액 100 μ l를 넣고 실온에서 30분간 방치한 다음 TMB substrate 용액 100 μ l를 추가하여 반응시킨 후 반응 정지 용액을 넣고 450nm에서 흡광도를 측정하고 표준곡선을 작성하여 TNF- α 농도를 산출하였으며, 세 번 반복실험을 실시하였다.

Splenocyte blastogenesis

정상 생쥐(8주)와 노화 생쥐(82주)에서 분리된 비장세포(splenocyte)를 96-well plate에 well당 5×10^5 의 세포로 분주하고 mitogen으로 LPS(10 μ g/ml)와 ConA(2.5 μ g/ml)를 첨가하여 각각 B 림프구와 T 림프구의 세포증식력을 측정하였다. 전체 배양 부피는 200 μ l로 하여, 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 48시간 배양 후 20 μ l phenazine methosulphate (PMS; electron-coupling reagent)와 25 μ l XTT(2,3-Bis(2-methoxy-4-nitro-5-sulfophenyl)-2H-tetrazolium-5-carboxanilide)를 가하고, 3시간 더 배양한 후 XTT formazan의 생성량을 측정하여 세포증식력을 확인하였다.

통계분석

실험 결과는 3회 반복하였으며, 가장 대표적인 실험결과를 평균 \pm 표준오차(mean \pm S.E.)로 나타내었고, 유의 수

준은 * p<0.05와 ** p<0.01로 Student t'-test를 실시한 결과를 표시하였다

결과 및 고찰

Osteoblastic cell의 세포증식효과

현재 골다공증 예방 및 치료에 사용되고 있는 약제는 비스포스포네이트, 여성호르몬, 칼슘과 비타민 D, 칼시토닌 등 대부분 파골세포의 골흡수를 억제하는 작용 기전을 가지고 있다(Muncie *et al.*, 2010). 그러나 이와 같은 항파골효과 물질은 골절을 예방하는 효과가 있기는 하나, 이미 골밀도가 감소된 골다공증에 있어서는 골량의 많은 증가를 기대할 수 없고 단지 골소실률만을 감소하게 하는 한계점이 드러남으로써, 최근에는 골형성을 증가시키는 조골세포의 증식과 분화 및 조골세포의 조절 작용에 대한 관심이 집중되고 있다(Muncie *et al.*, 2010). 따라서 종자(RRS)와 과육(RRF)이 조골세포의 세포 증식에 영향을 주는지를 알아보기 위하여 MG63 cells을 이용하여 세포증식능을 측정하였다. 실험결과 과육(RRF) 처리군에서는 72시간 배양시에 농도의존적으로 세포증식능이 크게 증가한 것을 볼 수 있었으며, 종자(RRS) 처리군에서도 48 및 72시간의 농도 100 μ g/ml에서 특이적으로 세포증식능이 증가하였다(Fig. 1c, d). 그러나 종자(RRS) 500, 1000 μ g/ml 고농도에서는 세포증식이 보이지 않았는데, 이와 같이 종자(RRS) 500 μ g/ml 이상의 농도에서 세포증식을 나타내지 않는 이유는 종자(RRS)가 과육(RRF)과 달리 500 μ g/ml 이상의 고농도에서 세포독성을 나타내기 때문으로 사료된다(Fig. 1a, b).

NO 분비 억제조절 효과

골형성 과정과 골염증 단계에서 NO의 과도한 증가는 pre-osteoclastic cells의 움직임(mobility)를 증가시키고 조골세포의 재흡수 작용을 억제하는 것으로 알려져 있다(Beatrice *et al.*, 2005). 이에 본 연구에서는 LPS를 이용한 염증 유발 환경에서 종자(RRS)와 과육(RRF)의 NO 분비 억제 조절효과를 확인하였다. 실험결과 LPS를 전처리한 pre-osteoclast(Raw264.7 cells)의 종자(RRS)와 과육(RRF) 처리군 모두에서 과육(RRF) 1 μ g/ml 처리군을 제외하고는 염증환경에서 증가된 NO의 분비량이 유의성 있게 감소되었다(Fig. 2).

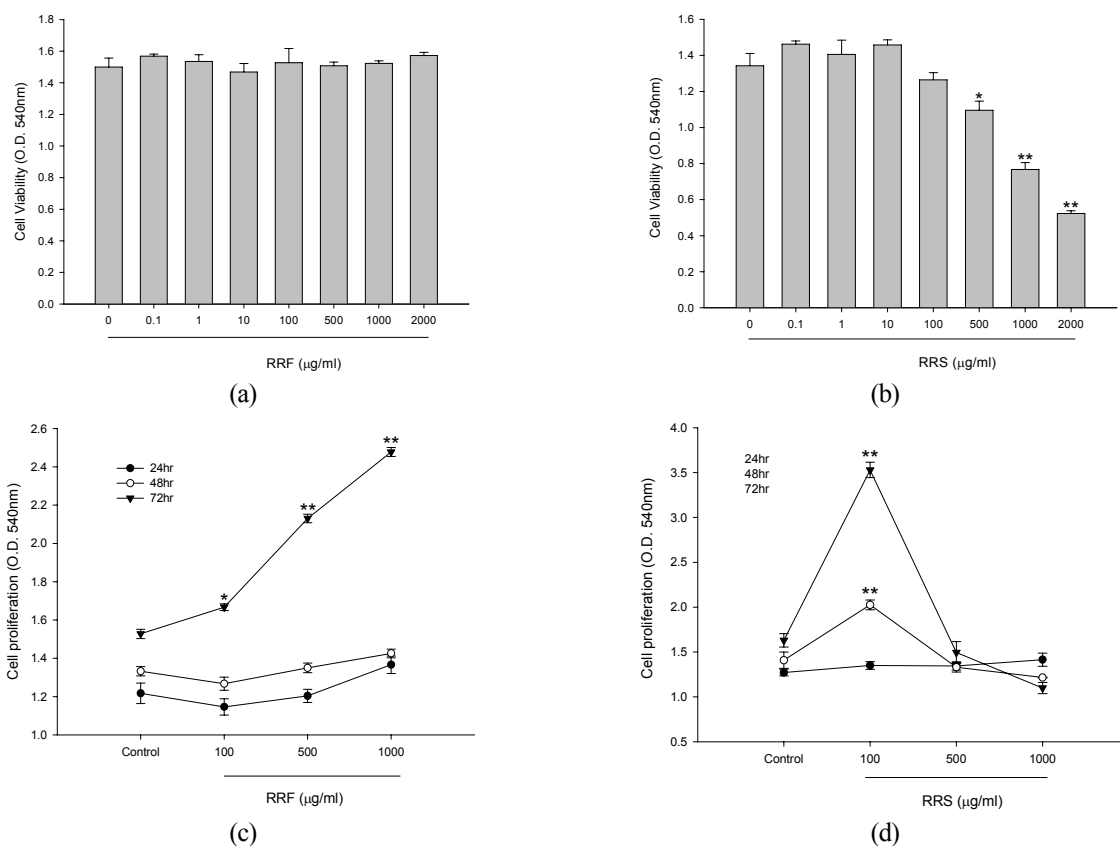


Fig. 1. (a) The effect of RRF on viability of Raw264.7 cells. (b) The effect of RRS on viability of Raw264.7 cells. Raw264.7 cells were treated with RRF and RRS for 24 hrs respectively. (c) The effect of RRF on proliferation of osteoblasts (MG63). (d) The effect of RRS on proliferation of osteoblasts (MG63). MG63 cells were treated with RRF and RRS for 24 hrs, 48hrs, 72hrs respectively. The viability of Raw264.7 and the proliferation of MG63 cells by RRF and RRS was assessed by MTT assay. Cell density was measured at 540 nm. The results are mean \pm S.E. of quintuplicates from a representative experiment. (*p<0.05, **p<0.01; significantly different from the control)

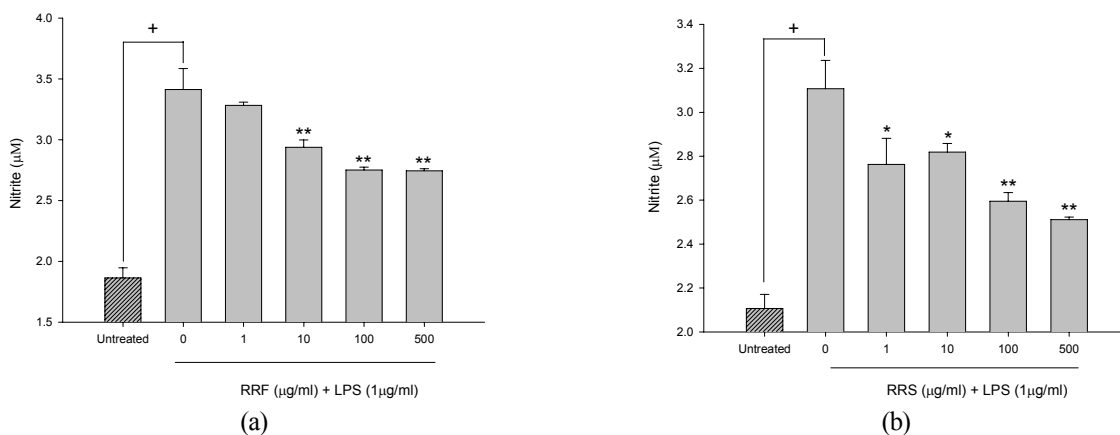


Fig. 2. (a) The effect of RRF on the production of NO by pre-osteoclasts (Raw264.7). (b) The effect of RRS on the production of NO by pre-osteoclasts (Raw264.7). After Raw264.7 cells were pre-treated with LPS for 1hr, it were treated with various doses of RRF and RRS respectively for 24 hrs. The 20 hrs-conditioned media were collected for NO₂- assay. The results are mean \pm S.E. of quintuplicates from a representative experiment. (+p<0.05; significantly different from the untreated group, *p<0.05, **p<0.01; significantly different from the LPS alone treated group)

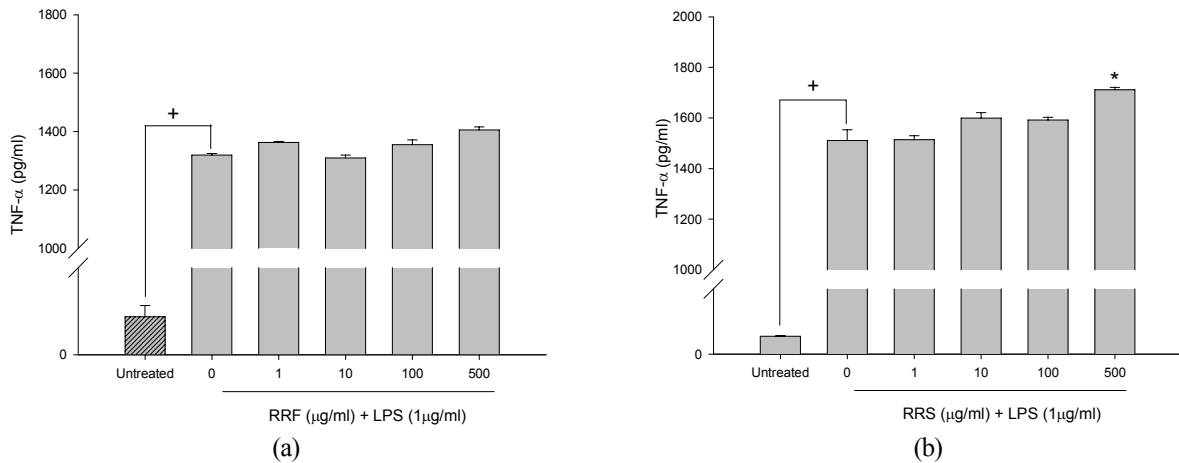


Fig. 3. (a) The effect of RRF on the production of TNF- α pre-osteoclasts (Raw264.7). (b) The effect of RRS on the production of TNF- α by pre-osteoclasts (Raw264.7). After Raw264.7 cells were pre-treated with LPS for 1hr, it were treated with various doses of RRF and RRS respectively for 24 hrs. The 20 hrs-conditioned media were collected for TNF- α ELISA assay. The results are mean \pm S.E. of quintuplicates from a representative experiment. (+ p <0.05; significantly different from the untreated group, * p <0.05; significantly different from the TNF- α alone treated group)

TNF- α 분비 억제조절 효과

Tumor necrosis factor- α (TNF- α)는 주로 LPS에 의해 자극된 pre-osteoclastic cells가 분비하는 염증성 cytokine으로 알려져 있으며 NO와 같이 osteoclasts의 활성을 촉진시키는 물질로 골염증 반응의 주된 원인으로 알려져 있다(Karen *et al.*, 2002).

LPS를 전처리한 pre-osteoclastic cells에서 과육(RRF)과 종자(RRS)에 의해 분비 조절되는 TNF- α 의 양을 측정 한 실험결과 과육(RRF)과 종자(RRS)는 모두 LPS에 의해 증가된 TNF- α 분비량을 억제하지 못했다(Fig. 3). 그런데 종자(RRS) 500 μ g/ml에서는 오히려 TNF- α 분비량을 증가시키는 결과를 보여주었다. 종자(RRS)는 500 μ g/ml의 처리군이 pre-osteoclastic cell에서 LPS에 의해 증가된 TNF- α 의 분비를 더욱 증가시키는 결과는 앞서 언급한 바와 같이 RRS가 500 μ g/ml 이상의 농도에서 pre-osteoclastic cell의 세포독성을 나타내는 것과 관련이 깊을 것으로 생각된다.

Mitogen에 의한 림프구(lymphocyte)의 세포증식효과

Resting lymphocyte는 외부 자극에 의하여 활성화되는 단계에서 proliferation이 일어난다. 이러한 활성화 정도는 mitogen-stimulated response에 의하여 쉽게 확인할 수 있으며, 이는 mitogen이 특이적으로 감작된 어떤 lymphocyte subpopulation에 결합하여 cell cycle을 G₀ phase에서 G₂

phase로 자극함으로써 mitosis를 일으켜 lymphocyte population을 유용하여 측정할 수 있게 하는 방법이다(Burleson *et al.*, 1995). 과육(RRF)과 종자(RRS)가 직접적으로 lymphocyte의 세포증식효과에 영향을 미치는지 알아보기 위하여 생쥐의 비장(spleen)으로부터 비장세포(splenocyte)를 분리하여 B세포의 mitogen LPS와 T세포의 mitogen ConA (concanavalin A)를 사용하여 세포증식능을 측정하였다. 또한, 과육(RRF)과 종자(RRS)가 노화된 상태에서의 림프구 증식에도 효과를 나타내는지 비교 분석하기 위하여 8주된 정상생쥐와 82주된 노화된 생쥐로부터 분리한 비장세포를 각각 실험군에 사용하였다. 정상생쥐와 노화생쥐로부터 분리한 비장세포는 LPS 처리에 의해 각각 183.55%, 1217.26%로 세포증식을 나타내었고, ConA 처리에 의해 149.49%, 103.41%로 세포증식이 일어남을 확인함으로써 LPS와 ConA가 본 실험에 mitogen으로써 적절히 활용되었음을 확인하였다(data not shown).

Fig. 4에 의하면 mitogen을 처리하지 않은 과육(RRF)과 종자(RRS)를 단독 처리한 정상 및 노화생쥐의 실험군 모두 1000 μ g/ml 농도에서 유의성이 높은 세포증식을 나타내었다. 또한, ConA를 처리한 T 림프구 증식에 있어서도 과육(RRF)과 종자(RRS)는 정상생쥐와 노화생쥐 모두 1000 μ g/ml 농도에서 유의성이 높은 세포증식을 나타내었다(Fig. 5). 그러나 LPS를 처리한 B 림프구의 증식은 과육(RRF)이 정상 및 노화생쥐에서 모두 유의적인 효과

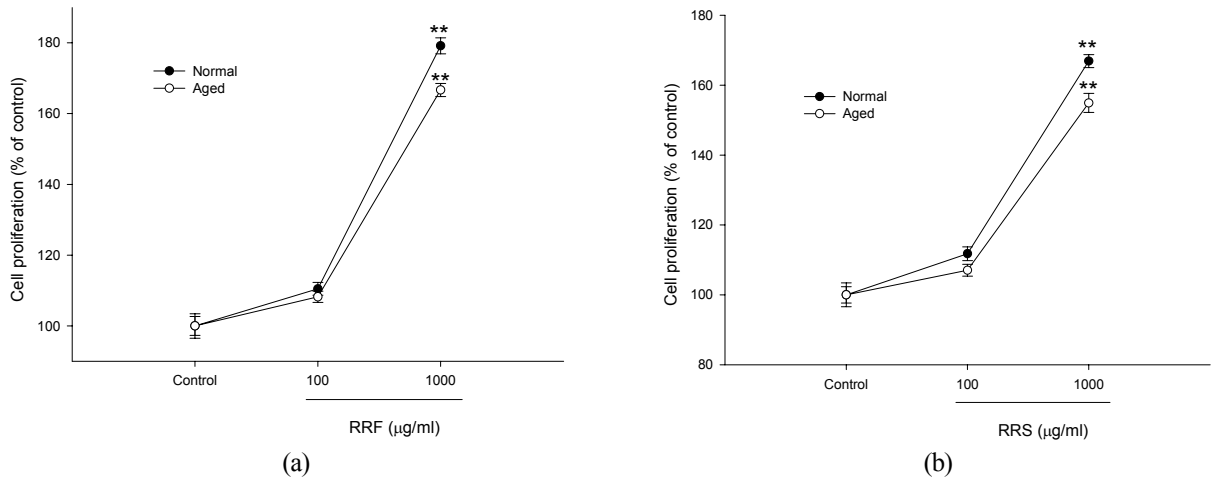


Fig. 4. (a) The effect of RRF on proliferation of splenocytes from young mice and old mice respectively. (b) The effect of RRS on proliferation of splenocytes from young mice and old mice respectively. Splenocytes from young mice and old mice were treated with RRF and RRS respectively for 48hrs. The proliferation of splenocytes by RRF and RRS was assessed by XTT assay. Cell density was measured at a test wavelength of 450 nm and a reference wavelength of 690 nm. Cell proliferations were represented by the percentage of control. The results are mean \pm S.E. of quintuplicates from a representative experiment. (** $p < 0.01$; significantly different from the control)

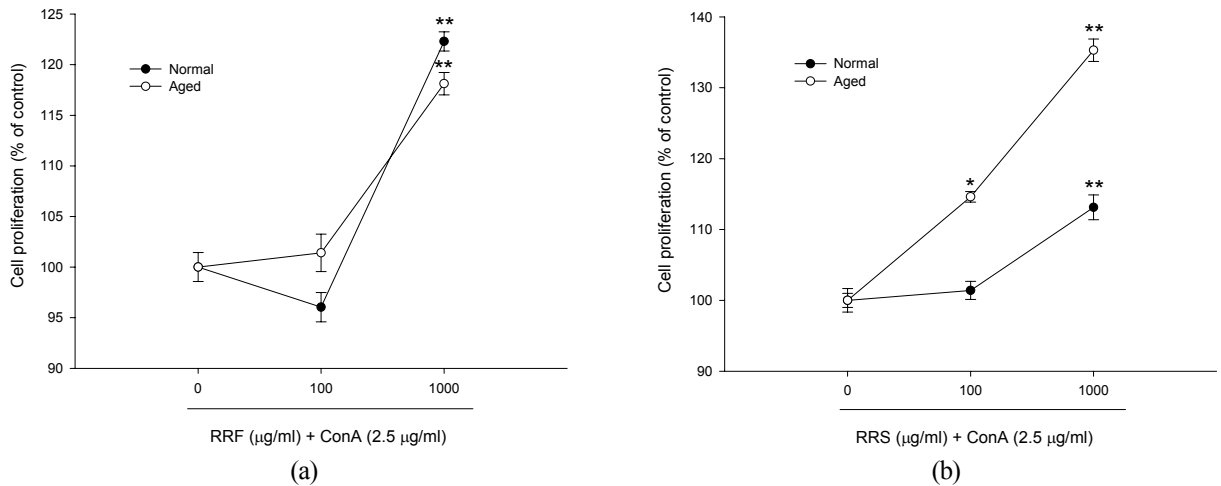


Fig. 5. (a) The effect of RRF on proliferation of ConA-treated splenocytes from young mice and old mice respectively. (b) The effect of RRS on proliferation of ConA-treated splenocytes from young mice and old mice respectively. Splenocytes from young mice and old mice were treated with ConA and co-treated with RRF and RRS respectively for 48hrs. The proliferation of ConA-treated splenocytes by RRF and RRS was assessed by XTT assay. Cell density was measured at a test wavelength of 450 nm and a reference wavelength of 690 nm. Cell proliferations were represented by the percentage of control. The results are mean \pm S.E. of quintuplicates from a representative experiment. (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$; significantly different from the ConA alone treated group)

를 나타내지 않았으며, 종자(RRS) 처리군에서는 정상생쥐와 노화생쥐 모두 1000 $\mu\text{g/ml}$ 농도에서 오히려 세포증식 효과를 크게 감소시켰다(Fig. 6). Mitogen에 의한 림프구의 세포 증식에 대하여 해당화 추출물 과육(RRF)과 종자(RRS)는 T 림프구의 증식에 매우 민감한 반응을 보이는 반

면, B 림프구 증식에는 효과를 보이지 않고 있으며, 종자(RRS)의 경우 오히려 감소효과를 나타내는 것으로 나타났다. 이를 종합해 볼 때, 종자(RRS)는 LPS에 의한 B림프구 증식 감소효과에 대한 연구가 구체적으로 이루어짐으로써 그 임상 적용이 가능할 것으로 보인다. 과육(RRF)은 B세

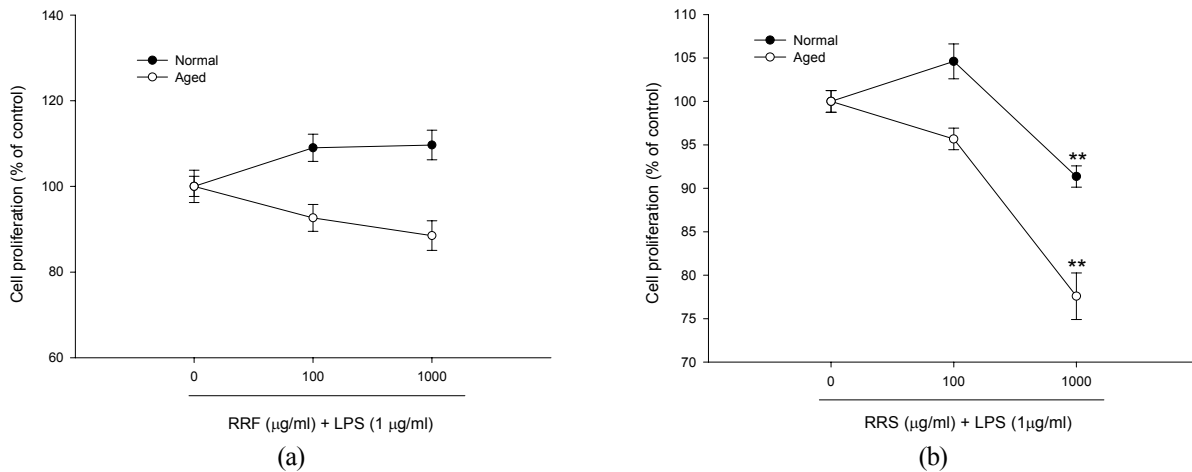


Fig. 6. (a) The effect of RRF on proliferation of LPS-treated splenocytes from young mice and old mice respectively. (b) The effect of RRS on proliferation of LPS-treated splenocytes from young mice and old mice respectively. Splenocytes from young mice and old mice were treated with LPS and co-treated with RRF and RRS respectively for 48hrs. The proliferation of LPS-treated splenocytes by RRF and RRS was assessed by MTT assay. Cell density was measured at a test wavelength of 450 nm and a reference wavelength of 690 nm. Cell proliferations were represented by the percentage of control. The results are mean \pm S.E. of quintuplicates from a representative experiment. (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$; significantly different from the LPS alone treated group)

포에는 효과는 없으나 T세포의 증식에 매우 유의성이 높은데, 이와 같은 T 림프구의 증식효과는 특히, 노화된 상태에서 나타나는 흉선(thymus)의 위축에 대한 T세포의 분화 및 성숙에 대한 면역억제효과를 보완할 수 있다는 장점을 기대할 수 있어 매우 긍정적으로 평가된다(Taub *et al.*, 2005).

적 요

본 연구에서는 해당화의 과육(RRF)과 종자(RRS) 부위의 추출물이 골다공증 및 골질화에 미치는 영향을 연구하기 위하여 각각 조골세포의 세포 증식능과 LPS로 유도된 염증상태에서 전구-파골세포가 염증유발 물질로 분비하는 NO와 TNF- α 분비 억제 조절능을 측정하였다. 또한, 과육(RRF)과 종자(RRS)가 골다공증 및 골질화가 빈번하게 발생하는 노화된 상태에서도 적용할 수 있는지 확인하기 위하여 정상생쥐와 노화생쥐로부터 분리한 비장세포에서 B 림프구와 T 림프구의 세포 증식능을 측정하였다. 연구 결과에서 과육(RRF)과 종자(RRS)는 그 효능과 농도에서 차이를 나타내었으나, 모두에서 조골세포의 세포 증식효과와 LPS에 의한 NO 분비 억제효과를 보였으며, TNF- α 조절에는 영향을 나타내지 않았다. 그러나 종자(RRS)는 500 $\mu\text{g/ml}$ 에서 pre-osteoclastic cell에 세포 독성을 보였으며, LPS

에 의해 유도 증가된 TNF- α 의 분비도 오히려 증가시켰다. 따라서 과육(RRF)이 종자(RRS)보다 안전하고 효능성 있게 사용할 수 있음을 나타내었다. 정상 및 노화생쥐의 비장세포에 대한 림프구 증식효과에서도 과육(RRF)과 종자(RRS)는 모두 비장세포 증식을 나타내었고, ConA 처리에 의한 T세포 증식에도 효과를 나타내었다. 그러나 LPS에 의한 B림프구의 세포증식효과에서 과육(RRF)의 경우에는 효과를 나타내지 않았으나, 종자(RRS) 1000 $\mu\text{g/ml}$ 에서는 LPS 처리에 의한 B림프구의 증식을 오히려 감소시킴으로써 B 림프구의 면역을 억제할 수 있음을 나타내었다. 과육(RRF)과 종자(RRS)는 정상 및 노화생쥐에서 같은 양상을 보임으로써 노화된 상태에서 특별히 다른 효과를 보이지는 않았으나, 종자(RRS)가 LPS에 의한 B세포의 증식에 오히려 감소효과를 나타낸 점을 고려할 때, 종자(RRS)에 대해서는 처리 농도와 효능에 대한 연구가 더욱 이루어져야 할 것으로 생각되며, 과육(RRF)이 노화 및 정상상태에서의 골다공증 및 골질화에 좀 더 안전하고 효능성 있게 사용될 수 있을 것으로 사료된다.

인용문헌

Altiner, D.H. and Kiliçgün. 2008. The antioxidant effect of

- Rosa rugosa. Drug Metabol Drug Interact. 23(3-4):323-327.
- Beatrice, B.Y., Zhang, Y., Sara, E.K, Verónica, G.P., Allison, C.S., Yanan, L., Mone, Z., Chuanyue, W. and Harry, C.B. 2005. NO-dependent osteoclast motility: reliance on cGMP-dependent protein kinase I and VASP. Journal of Cell Science. 118:5479-5487.
- Burleson, G.R., Dean, J.H. and Munson, A.E., 1995. Methods in immunotoxicology. Wiley-Liss, New York, USA. Vol 1. 197-210.
- Hashidoko, Y. 1996. The phytochemistry of Rosa rugosa, Phytochemistry 43(3):535-549.
- Hibbs, J.B., Taintor, R.R., Vavrin, I. and Rachlin, E.M. 1998. Nitric oxide: A cytotoxic activated macrophage effector molecule. Biochem. Biophys. Res. commun. 157:87-92.
- Ilich, J.Z. and Kerstetter. J.E. 2000. Nutrition in bone health revisited: a story beyond calcium. Journal of the American College of Nutrition. 19:715-737.
- Jeon, J.H., Kwon, S.C., Park, D., Shin, S., Jeong, J.H., Park, S.Y., Hwang, S.Y., Kim, Y.B. and Joo, S.S. 2009. Anti-allergic effects of white rose petal extract and anti-atopic properties of its hexane fraction. Arch. Pharm. Res. 32(6):823-830.
- Jung, H.J., Nam, J., Choi, K.T. and Park, H.J. 2005. 19a-hydroxyursane-type triterpenoids: Antiinocceptive anti-inflammatory principles of the roots of Rosa rugosa. Biological and Pharmaceutical Bulletin 28:101-104.
- Kamijo, M.T., Kanazawa, M., Funaki, M., Nishizawa, T. and Yamagishi. 2008. Effects of Rosa rugosa petal on intestinal bacteria. Biosci. Biotechnol. Biochem. 72:773-777.
- Karen, F., Murphy C., Kirstein B., Simon W.F. and Timothy J.C. 2002. TNF Potently Activates Osteoclasts, through a Direct Action Independent of and Strongly Synergistic with RANKL. Endocrinology 143(3):1108-1118.
- Karsenty G. 2003. The complexities of skeletal biology. Nature 423:316-318.
- Lee, Y.S. 2001. Effect of isoflavones on proliferation and oxidative stress of MC3T3-E1 osteoblast-like cells. Korea soybean Digest. 18:35-42.
- Manglagas, S.C. 2000. Birth and death of bone cells: basic regulatory mechanisms and implications for the pathogenesis and treatment of osteoporosis. Endocrine reviews. 21:115-137
- Muncie, H.L. Jr. 2010. Recommended age for testing for osteoporosis in women. Am. Fam. Physician. 81(3):252.
- Nagai, T., Kawashima, T., Suzuki, N., Tanoue, Y., Kai, N. and Nagashima, T. 2007. Tea beverages made from Romanas rose (Rosa rugosa Thunb.) leaves possess strongly antioxidative activity by high contents of total phenols and vitamin C. J. Food Agri. & Envi. 5(3&4): 137-141.
- Ng, T.B., He, J.S., Niu, S.M., Zhao, L., Pi, Z.F., Shao, W. and Liu, F. 2004. A gallic acid derivative and polysaccharides with antioxidative activity from rose (Rosa rugosa) flowers, The Journal of Pharmacy and Pharmacology 56:537-545.
- Park, D., Jeon, J.H., Kwon, S.C., Shin, S., Jang, J.Y, Jeong, H.S, Lee, D.I., Kim, Y.B. and Joo, S.S. 2009. Antioxidative activities of white rose flower extract and pharmaceutical advantages of its hexane fraction via free radical scavenging effects. Biochem. Cell Biol. 87(6):943-952.
- Park, J.C., Kim, S.C., Choi, M.R., Song, S.H., Yoo, E.J., Kim, S.H., Miyashiro, H. and Hattori, M. 2005. Anti-HIV protease activity from rosa family plant extracts and rosamultin from Rosa rugosa. Journal of Medicinal Food 8:107-109.
- Seibel, M.J. 2005. Biochemical markers of bone turnover:part I:biochemistry and variability. The clinical biochemist. 26: 97-122.
- Shen, B., Hagiwara, M., Yao, Y.Y., Chao, L. and Chao, J. 2008. Salutary effect of kallistatin in saltinduced renal injury, inflammation, and fibrosis via antioxidative stress. Hypertension. 51(5):1358-1365.
- Son, E., Do, H., Joo, H.M. and Pyo, S. 2007. Induction of alkaline phosphatase activity by L-ascorbic acid in human osteoblastic cells: a potential role for CK2 and Ikaros. Nutrition. 23(10):745-753.
- Taub, D.D. and Longo, D.L. 2005. Insights into thymic aging and regeneration. Immunol Rev 205:72-93.

(접수일 2010.2.24; 수락일 2010.4.16)