

연산오계의 성별과 부위별 항염증 및 면역 활성 비교 연구

도영민¹ · 김동희*

대전대학교 한의과대학 병리학교실, 1 : 배독생기한의원

Comparative Study of Anti-inflammatory and Immunological Activities by Different Gender and Parts of Yeonsan Ogye

Young Min Do¹, Dong Hee Kim*

Department of Pathology, College of Korean Medicine, Daejeon University, 1 : Baedok saengki Korean Medicine

The aim of this study is to compare the anti-inflammatory and immunological activity of different parts (bone, meat, and rind) of Yeonsan Ogye (YO). In order to evaluate cytotoxicity, MTT assay was performed. We investigated the production of nitric oxide (NO) and pro-inflammatory cytokines, such as IL-1 β , IL-6, and TNF- α , in LPS-induced RAW264.7 cells. All parts of the YO showed no toxicity at concentrations of 1, 10, and 100 μ g/mL. Rooster's bone, hen's bone, and rind decreased the production of NO. And rooster's bone, meat, and hen's bone also attenuated TNF- α production in LPS-induced RAW 264.7 cells. In addition, all parts of the YO decreased IL-1 β and IL-6 production in LPS-induced RAW264.7 cells, whereas they all increased IL-1 β , IL-6 and TNF- α production in normal RAW264.7 cells. Rooster exhibited higher immune activation and inhibitory activity on inflammation than a hen, and among different parts of the YO, bone showed the highest activity. Our results demonstrated and compared the anti-inflammatory and immunological activity of different parts of the YO. These results suggest that YO may be developed as a raw material for new health supplement food and medicine to attenuate various symptoms related to inflammation and immunity.

keywords : Anti-Inflammatory, Cytokine, Health food, Immune activation, Yeonsan Ogye

서론

면역계는 다양한 세포들과 분자들의 유기적인 정보망을 통해 외부로부터 유입된 물질들을 인지하여 제거하는 역할을 한다. 이러한 면역계는 크게 선천면역계와 적응면역계로 구분되며, 면역에서 중요한 역할을 하는 대식세포는 체내의 모든 조직에 분포하면서 포식작용을 통해 이물질을 제거하는 역할을 하고, 활성화되면 nitric oxide (NO)와 다양한 사이토카인과 같은 화학물질을 분비하여 체내의 면역을 조절시키는 중요한 매개체로 작용한다^{1,2)}.

최근 삶의 질이 향상되어 건강에 대한 인식이 높아짐에 따라 음식이 건강에 미치는 영향에 대한 관심이 높아지고 있으며 이에 연관되어 여러 형태의 건강기능 식품의 수요가 증가하고, 다양한 원료로 개발된 제품들이 출시되고 있다³⁾.

천연기념물 제265호에 지정되어 연산 화악리의 오계(連山 花岳里의 烏鷄, 이하 연산오계)는 외형뿐 아니라 뼈까지 검은색을 띠는 우리나라의 재래닭으로 털은 희고 뼈는 검은 오골계와는 차이가 있으며⁴⁾, 《東醫寶鑑 湯液編》⁵⁾에서 烏鷄는 수탉인 烏雄鷄肉과 암탉

인 烏雌鷄肉으로 구분하였으며, 烏雄鷄肉은 性微溫, 無毒. 主心病 肚病, 除心腹惡氣, 及風濕癱瘓. 補虛羸, 安胎. 治折傷, 并癰疽.라고 기재되어 있고 烏雌鷄肉은 性溫, 味甘[一云酸], 無毒, 主風寒濕痺. 療反胃, 安胎, 補產後虛羸. 治癰疽, 排膿, 補新血, 除邪辟惡氣.라고 기재되어 있어, 수탉과 암탉의 효능이 구별되어 있다⁴⁾.

현재까지 오계의 면역 효능에 대한 연구로는 채 등⁶⁾의 오골계와 십전대보탕의 증탕액이 흰쥐의 혈중 호르몬, cytokine 및 특이 항체에 미치는 영향과 김 등⁴⁾의 동의보감에 수재된 오계에 대한 생리활성 연구, 최 등⁷⁾의 동의보감에 수재된 오계의 선천면역반응 억제에 관한 연구 등이 있으나, 암수별 효능 차이에 대한 연구는 진행된 바가 없다.

이에 본 연구에서는 《東醫寶鑑》⁵⁾에 기재된 烏雄鷄肉과 烏雌鷄肉의 효능과 김 등⁴⁾, 최 등⁷⁾의 연구결과에서 연산오계의 부위별 추출물의 생리활성에 대한 유의적인 결과를 도출한 점에 착안하여 연산오계 3년산 수탉과 암탉을 부위별로 나누어 시료를 선정하였다. 아울러 고서에서 오계의 효능이 주로 몸을 보하는 補益의 효능과 오늘날 다양한 염증성 질환에 해당되는 증상에 활용되었다는 점⁸⁾에

* Corresponding author

Dong-Hee Kim, Department of pathology, college of oriental Medicine, Daejeon University, Daejeon 300-716, Republic of Korea

E-mail : dhkim@dju.kr · Tel : +82-42-280-2623

Received : 2018/01/08 · Revised : 2018/02/07 · Accepted : 2018/02/26

© The Society of Pathology in Korean Medicine, The Physiological Society of Korean Medicine

pISSN 1738-7698 eISSN 2288-2529 http://dx.doi.org/10.15188/kjopp.2018.04.32.2.99

Available online at https://kmpath.jams.or.kr

서 항염증 및 면역 활성화에 대한 연구를 통해 이에 대한 효능을 과학적으로 입증하고, 다양한 활용 방안에 대한 기초적인 자료를 제공하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 재료

본 연구에 사용된 連山烏鷄(Yeonsan Ogye 이하 YO)는 지산농원(Chungnam, Korea)에서 3년산 수탉과 암탉을 구입하였고, 대전대학교 TBRC-RIC에서 정선 후 사용하였다.

2. 시약 및 기기

사용된 시약은 Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM : Gibco BRL Co., U.S.A.), 우태아혈청 (fetal bovine serum : FBS, Invitrogen Co., U.S.A.), Phosphate buffered saline (PBS, Welgene, Korea), lipopolysaccharide (LPS : Sigma Co., U.S.A.), cell viability assay kit (Daeillab sevice, Korea), penicillin (Hyclone, Co., U.S.A.), nitric oxide detection kit (Intron Biotechnology, Korea), mouse cytokine milliplex map immunoassay kit (Millipore Co., U.S.A.)을 사용하였으며, 기기는 rotary vacuum evaporator (Büchi B-480 Co., Switzerland), freeze dryer (IIShinBioBase, Korea), deep freezer (Sanyo Co., Japan), incubator (Sanyo Co., Japan), ELISA reader (Molecular Devices Co., U.S.A.), Luminex (Millipore Co., U.S.A.) 등을 사용하였다.

3. 시료 추출

YO를 뼈, 육질 및 껍질로 분리하였으며, 각각 30 g에 증류수 500 mL을 넣어 3시간 동안 환류 추출한 후 여과액을 얻었다. 여과액은 rotary vacuum evaporator에서 감압농축 하였다. 농축된 용액을 freeze dryer로 동결 건조하여 수탉은 뼈 2.9 g, 육질 2.2 g, 껍질 1.8 g의 분말을 획득하였고, 암탉은 뼈 4.2 g, 육질 0.4 g, 껍질 3.2 g의 분말을 얻었으며, 얻어진 분말은 deep freezer에 보관하면서 실험에 따라 필요한 농도로 증류수에 희석하여 사용하였다.

4. 세포배양

실험에 사용된 RAW 264.7 세포는 한국 세포주 은행에서 구입하였다. 동결된 RAW 264.7 세포를 해동시킨 후 50 mL 튜브에 옮기고, PBS 9 mL을 넣어 세포를 부유시킨 뒤 1,200 rpm에서 5분간 원심분리 하여 상등액을 제거하였다. 세포가 있는 튜브에 10% fetal bovine serum (FBS)와 1% penicillin/streptomycin (P/S)로 조성된 DMEM 배지 1 mL을 넣어 부유시켜 세포배양기 (37°C, 5% CO₂)에서 배양하였으며, 계대배양 횟수는 5회 이상으로 하였다.

5. 세포독성 측정

RAW 264.7 세포를 96 well plate에 2×10⁴ cells/well씩 분주하여 24시간 동안 배양하였다. 새로운 배지로 교체한 후 시료 6종을 각각 1, 10, 100 µg/mL의 농도가 되게 처리하여 다시 24시간

동안 배양하였다. 배양 후 10 µL의 MTT solution을 첨가하여 30분간 반응시킨 후 ELISA reader를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 측정값은 백분율로 나타내었다.

6. Nitric oxide (NO) 생성량 측정

RAW 264.7 세포를 96 well plate에 2×10⁴ cells/well로 분주하여 24시간 동안 배양하였다. 새로운 배지로 교체한 후 시료 6종을 각각 1, 10, 100 µg/mL의 농도와 LPS를 1 µg/mL의 농도로 처리하여 다시 24시간 동안 배양하였다. N1 buffer를 각 well에 50 µL씩 처리하여 10분간 빛이 차단된 상온에서 반응 한 후, N2 buffer를 각 well에 50 µL씩 처리하고 다시 10분간 빛이 차단된 상온에서 반응하였다. 반응 후 ELISA reader를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. Nitrite standard의 농도별 표준곡선을 이용하여 배양액의 NO 농도를 결정하였으며, 대조군에 대한 백분율로 나타내었다.

7. 사이토카인 측정

RAW 264.7 세포를 12 well plate에 2×10⁵ cells/well로 분주하여 24시간 동안 배양하였다. 염증 역제를 측정하기 위한 실험은 시료 6종을 각각 1, 10, 100 µg/mL의 농도에 LPS를 1 µg/mL의 농도로 처리하였으며, 면역 활성을 측정하기 위한 실험은 시료 6종을 각각 1, 10, 100 µg/mL의 농도가 되게 처리하였고, 대조군에만 LPS를 1 µg/mL의 농도로 처리하여 활성도를 비교하였다. 처리 후 24시간 동안 배양하였으며 원심분리 하여 상등액을 수집하였다. Magnetic 96 well plate에 standard와 상등액을 각각 25 µL씩 넣고, bead 및 assay buffer를 각각 25 µL씩 넣은 후 2시간 동안 반응시켰다. 2회 세척한 후 detection antibody를 25 µL 넣고 다시 1시간 동안 반응시켰다. Streptavidin-phycoerythrin을 25 µL 넣고 30분 동안 반응한 뒤 2회 세척하였다. 이후, PBS를 150 µL 넣고 Luminex를 이용하여 IL-1β, IL-6, TNF-α를 측정하였다. 측정값은 대조군에 대한 백분율로 나타내었다.

8. 통계처리

본 연구에서 얻어진 결과는 3회 이상의 실험을 통해 얻어진 평균±표준편차로 나타내었으며, 평균값 사이에 대한 유의성은 SPSS 11.0의 unpaired student's t-test를 사용하여 p<0.05, p<0.01 및 p<0.001의 신뢰수준에서 유의성을 검증하였다.

결 과

1. 세포 생존율에 미치는 영향

YO 시료 6종의 세포 생존율을 측정한 결과, 암탉 뼈 1, 10 µg/mL의 농도를 제외한 수탉과 암탉의 모든 부위 추출물은 세포를 증식시키는 것으로 나타났다(Fig. 1A, B, C).

2. Nitric oxide (NO)의 생성에 미치는 영향

YO 시료 6종의 NO 생성량을 측정한 결과, 수탉은 뼈 추출물 100 µg/mL 농도에서, 암탉은 뼈 및 껍질 추출물 100 µg/mL 농도에

서 대조군에 비해 유의성 있는 감소가 나타났다(Fig. 2A, B, C).

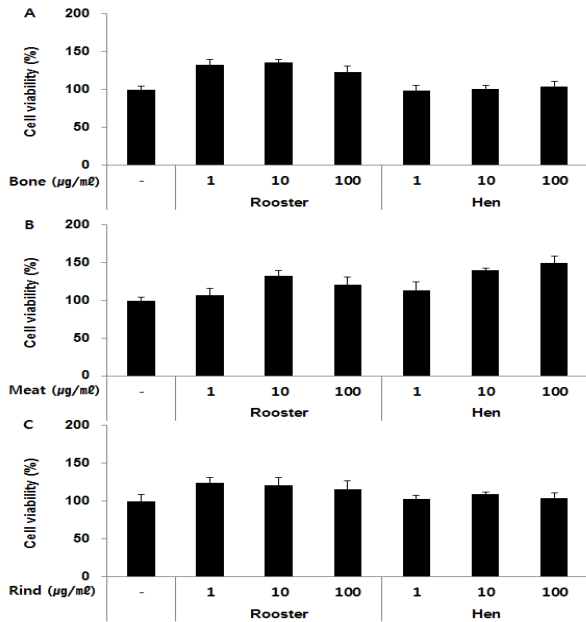


Fig. 1. Effect of bone, meat, and rind from YO-parts on the cell viability of RAW 264.7 cells. The results were expressed as mean±S.D. from three independent experiments. A; bone, B; meat, and C; rind.

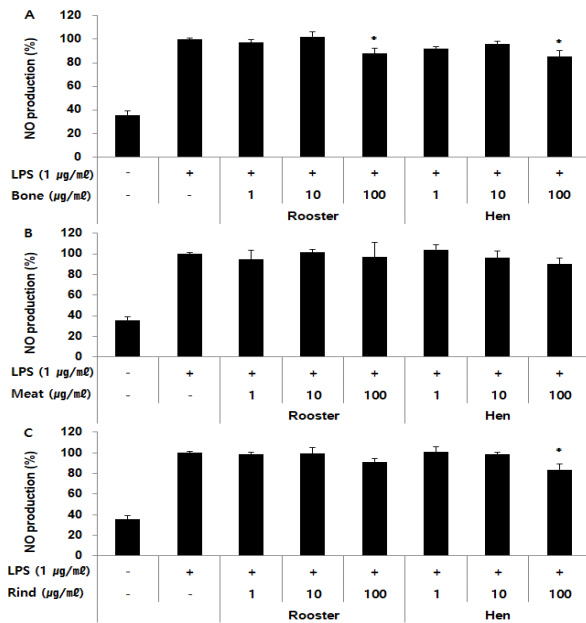


Fig. 2. Effect of bone, meat, and rind from YO-parts on the NO production in LPS-induced RAW 264.7 cells. The results were expressed as mean±S.D. from three independent experiments (Significance of results, * : p<0.05 compared to control). A; bone, B; meat, and C; rind.

3. 염증반응에서 사이토카인 생성에 미치는 영향

1) IL-1β

염증반응에서 YO 시료 6종의 IL-1β 생성량을 측정한 결과, 수탉은 껍질 추출물 100 µg/ml 농도에서, 암탉은 뼈 및 껍질 추출물 10, 100 µg/ml 농도에서 대조군에 비해 유의성 있는 감소가 나타났다(Fig. 3A, B, C).

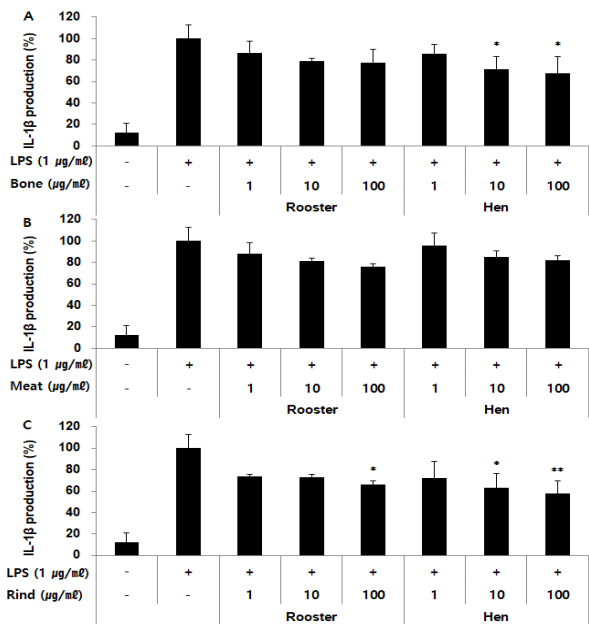


Fig. 3. Effect of bone, meat, and rind from YO-parts on the IL-1β production in LPS-induced RAW 264.7 cells. The results were expressed as mean±S.D. from three independent experiments (Significance of results, * : p<0.05, ** : p<0.01 compared to control). A; bone, B; meat, and C; rind

2) IL-6

염증반응에서 YO 시료 6종의 IL-6 생성량을 측정한 결과, 수탉은 뼈 추출물 100 µg/ml, 육질 및 껍질 추출물의 모든 농도에서, 암탉은 육질 추출물 10, 100 µg/ml, 껍질 추출물의 모든 농도에서 대조군에 비해 유의성 있는 감소가 나타났다(Fig. 4A, B, C).

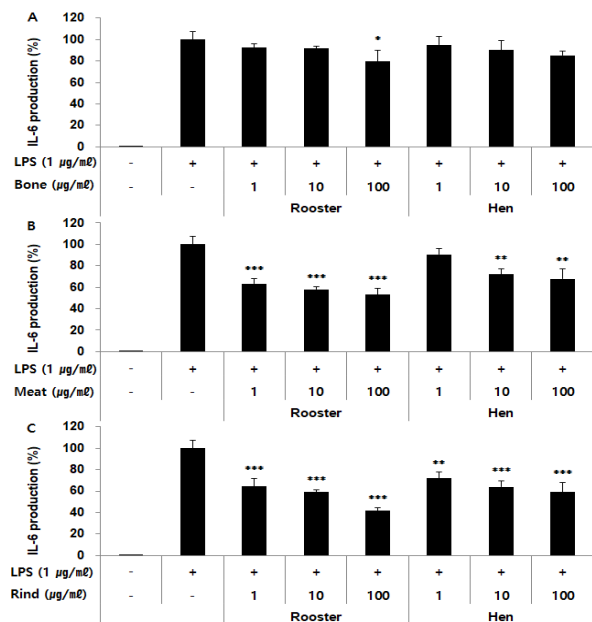


Fig. 4. Effect of bone, meat, and rind from YO-parts on the IL-6 production in LPS-induced RAW 264.7 cells. The results were expressed as mean±S.D. from three independent experiments (Significance of results, * : p<0.05, ** : p<0.01, *** : p<0.001 compared to control). A; bone, B; meat, and C; rind.

3) TNF- α

염증반응에서 YO 시료 6종의 TNF- α 생성량을 측정된 결과, 수탉 추출물 3종은 대조군에 비해 유의성 있는 감소가 나타나지 않은 반면, 암탉은 뼈 추출물 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서 유의성 있는 감소가 나타났다(Fig. 5A, B, C).

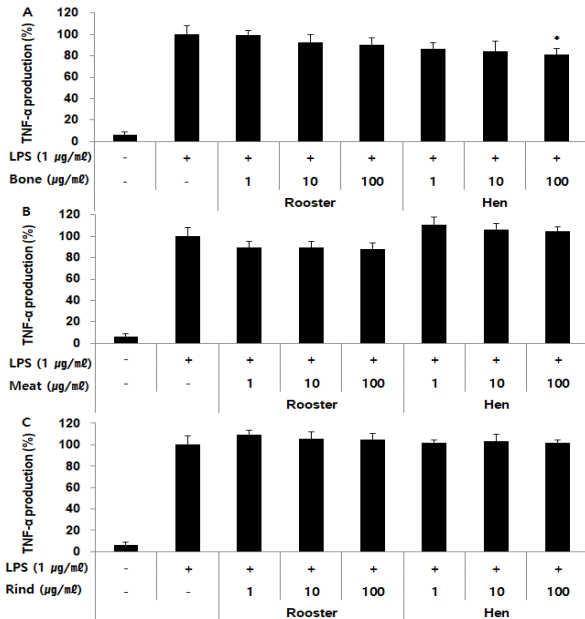


Fig. 5. Effect of bone, meat, and rind from YO-parts on the TNF- α production in LPS-induced RAW 264.7 cells. The results were expressed as mean \pm S.D. from three independent experiments (Significance of results, * : $p < 0.05$ compared to control). A; bone, B; meat, and C; rind.

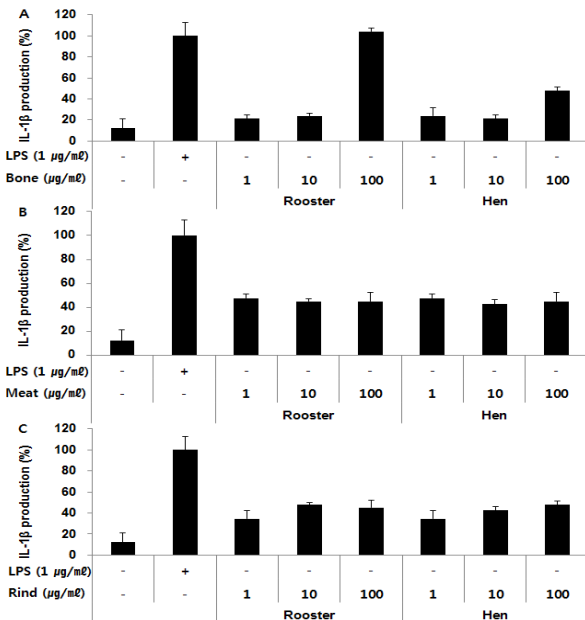


Fig. 6. Effect of bone, meat, and rind from YO-parts on the IL-1 β production in not-induced RAW 264.7 cells. The results were expressed as mean \pm S.D. from three independent experiments. A; bone, B; meat, and C; rind.

4. 면역 활성화 반응에서 사이토카인 생성에 미치는 영향

1) IL-1 β

면역 활성화 반응에서 YO 시료 6종의 IL-1 β 생성량을 측정된 결과, 수탉과 암탉의 모든 부위 추출물은 염증반응을 유도하지 않은 정상군에 비해 증가가 나타났으나 유의성은 없었으며, 수탉 뼈 추출물 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서 염증반응을 유도한 대조군과 유사한 증가가 나타나 추후 연구를 통해 밝혀내야 할 부분으로 남아있다 (Fig. 6A, B, C).

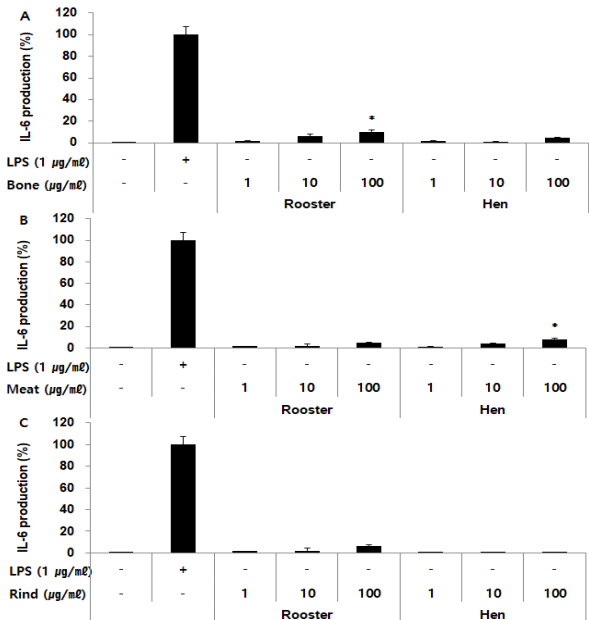


Fig. 7. Effect of bone, meat, and rind from YO-parts on the IL-6 production in not-induced RAW 264.7 cells. The results were expressed as mean \pm S.D. from three independent experiments (Significance of results, * $p < 0.05$ compared to normal). A; bone, B; meat, and C; rind.

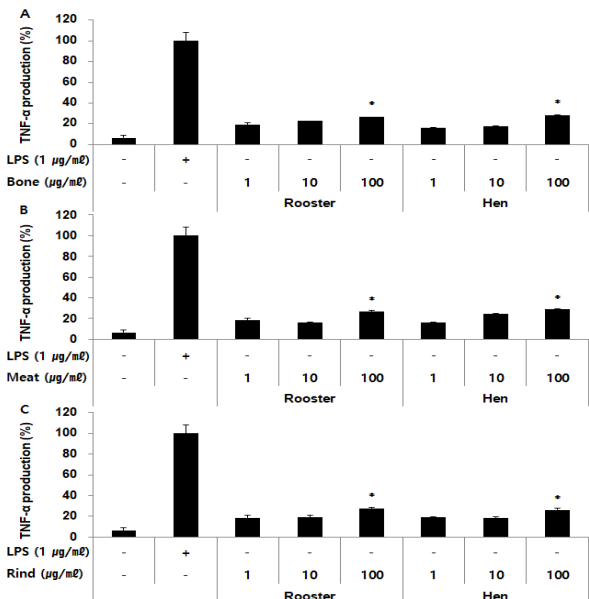


Fig. 8. Effect of bone, meat, and rind from YO-parts on the TNF- α production in not-induced RAW 264.7 cells. The results were expressed as mean \pm S.D. from three independent experiments (Significance of results, * $p < 0.05$ compared to normal). A; bone, B; meat, and C; rind.

2) IL-6

면역 활성화 반응에서 YO 시료 6종의 IL-6 생성량을 측정된 결과, 수탉과 암탉의 모든 부위 추출물은 염증반응을 유도하지 않은 정상군에 비해 증가가 나타났으나, 암탉의 껍질 추출물은 생성량에 변화가 나타나지 않았다(Fig. 7A, B, C).

3) TNF- α

면역 활성화 반응에서 YO 시료 6종의 TNF- α 생성량을 측정된 결과, 수탉과 암탉의 모든 부위 추출물의 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서 유의성 있는 증가가 나타났다(Fig. 8A, B, C).

고 찰

면역계는 선천적으로 체내에 존재하여 비특이적으로 반응하는 선천면역계와 특이적인 이물질을 인지하고 선택적으로 제거하는 적응면역계로 구분되며, 선천면역계는 대식세포나 백혈구 등이 포함되며, 감염에 대하여 신속하게 활성화되어 초기 방어선 역할을 수행한다. 또한 적응면역계는 B 림프구와 T 림프구로 구성되며, 감염에 대하여 특이적으로 인지하여 체내를 보호한다. 이 두가지의 면역은 독립적으로 작용하지 않고 상호작용을 통해 항상성을 유지하여 체내를 보호하게 된다^{1,2)}.

RAW 264.7 세포는 마우스 대식세포로서, 체내에서 세포에 신호를 보내어 새로운 인자를 합성하거나 새로운 형태로 분화하도록 신호 전달하는 역할을 수행하는 NO, 사이토카인 등의 다양한 활성 인자를 생산하여 면역기능을 활성화시키는 역할을 한다^{10,11)}. 이러한 활성인자들은 조직의 복구와 보호에 필수적인 요소이지만¹²⁾, 생성량이 급격히 증가하게 되면 정상조직에 염증 반응을 일으키게 된다^{13,14)}. 병원균들이 생성하는 내독소 (endotoxin)인 LPS는 대식세포를 자극시켜 NO뿐 아니라 IL-1 β , IL-6 및 TNF- α 와 같은 여러 사이토카인과 다양한 활성인자를 생성하는 것으로 알려져 있다¹⁵⁻¹⁸⁾. NO는 세포의 항상성 유지에 중요한 역할을 하는 물질로 정상적으로는 세균을 죽이거나 종양을 제거하고 혈압 조절, 신경전달을 매개 및 면역조절의 역할을 하지만^{19,20)}, 활성화가 이루어져 과량 생산된 NO는 염증을 일으켜 세포의 파괴, 조직의 손상, 유전자 변이 등을 일으킨다^{21,22)}. 본 연구에서 NO 생성량을 확인한 결과, 수탉과 암탉의 뼈 추출물과 암탉 껍질 추출물에서 유의성 있는 감소가 나타나 염증반응 시 수탉과 암탉 모두 뼈 추출물을 통해 과 생성된 NO를 효과적으로 억제 시키는 것이 확인되었다. 또한, 암탉은 뼈 추출물뿐만이 아닌 껍질 추출물 역시도 효능이 나타나 상대적으로 암탉의 활용 부위가 많은 것으로 검증되었다.

면역반응의 조절에 있어서 중요한 지표인 IL-1 β , IL-6, TNF- α 등은 염증성 사이토카인으로 이들의 증가는 다양한 면역세포 및 조절인자들의 생성과 연관되어 있어 중요한 역할을 한다^{22,23)}. 또한 IL-1 β , IL-6, TNF- α 는 서로 간에 상호작용을 하여 인체 내의 면역반응을 조절하는 것으로 알려져 있다²⁴⁾.

IL-1 β 는 다양한 자극요인에 의해 세포의 증식, 분화 및 세포사멸 등 세포 활동에 관여하지만, 과 염증 상태에서는 면역세포의 침윤을 야기하여 염증반응의 중요한 중개 인자 역할을 하고 T세포의 활성을 증가시켜 면역 활성화에 중요한 사이토카인의 생성을 증가시

킨다²⁵⁻²⁷⁾. 염증 억제 측면에서 수탉과 암탉의 모든 부위는 IL-1 β 생성의 감소가 나타났으며, 수탉보다 암탉 추출물에서 높은 효능이 나타났다. 면역 활성화 측면에서 수탉과 암탉의 모든 부위에서 IL-1 β 활성화의 증가를 나타내었으며, 수탉보다 암탉에서 높은 효능을 나타내었으며, 부위별로는 살에서 높은 효능을 나타내었다. 수탉 뼈 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서 LPS 처리와 유사한 생성량을 나타내어 면역 활성화보다 염증반응을 유도하는데 영향을 미칠 것으로 판단되었다²⁸⁾. 결과를 종합해 볼 때, 수탉과 암탉의 살, 껍질에서는 염증 억제와 면역 활성화의 경계에서 IL-1 β 의 생성을 조절할 수 있을 것으로 사료되며, 유의적인 결과에 따르면 수탉보다 비교적 암탉의 조절 효능이 높은 것으로 판단된다.

IL-6는 선천면역 및 적응면역에 모두 관여하는 사이토카인이며¹⁵⁾, 호중구의 생산을 유도하고, B 림프구의 분화와 성장을 조절하는 인자인 동시에 알레르기성 질환에서는 만성단계로 발달시킬 수 있는 인자로 작용하지만²⁹⁾, 염증 반응 중에 증가된 IL-6는 크론병 (Crohn's disease), 건선, 류마티스 관절염 (rheumatoid arthritis), 골다공증 등의 질환에 부정적인 영향을 미치고 B 림프구를 활성화시켜 특이적인 이물질에 대한 항체를 생산함으로써 체내 면역반응을 증가시킨다²⁹⁻³¹⁾. 염증억제 측면에서 수탉과 암탉의 모든 부위에서 IL-6 생성을 농도 의존적으로 감소시켰으며, 수탉과 암탉 모두 비교적 껍질에서 높은 감소 효능을 나타내었다. 면역 활성화 측면에서는 수탉은 모든 부위에서, 암탉은 뼈와 육질에서 농도 의존적인 IL-6의 활성을 나타내었다. 유의적인 결과로 수탉과 암탉의 모든 부위에서 IL-6의 증감을 체내의 조건에 따라 조절하는 효능이 높을 것으로 사료되며, 비교적 수탉에서 조절 효능이 높은 것으로 판단된다.

TNF- α 는 섬유아세포의 성장을 촉진, 각 조직의 수복, 항바이러스 활성화 등의 역할을 하지만^{32,33)}, 세포사멸과정 중 괴사에 영향을 미치기도 하며^{34,35)}, 염증반응과 면역기능을 변화시키는 IL-1 β 및 IL-6와 같은 다양한 유전자 발현을 유도한다^{33,36)}. 또한 Th1 세포를 활성화시켜 암세포의 성장을 억제시키고 면역반응을 활성화시키는 역할을 한다³⁷⁾. 염증억제 측면에서 수탉은 뼈와 살에서, 암탉은 뼈에서 TNF- α 생성을 농도 의존적으로 감소시켰으며, 그 외의 부위에서는 유의한 증감을 나타내지 않았다. 면역 활성화 측면에서는 모든 부위에서 농도 의존적인 활성을 나타내었다. 결과에 따르면, 비교적 수탉이 TNF- α 의 증감에 더 영향을 미치는 것으로 판단된다.

염증 억제 측면에서 사이토카인의 감소결과는 NO 감소결과와 경향이 유사하지 않았는데, 이는 연산오계가 염증 억제 뿐만 아니라 면역 활성화에도 영향을 미치기 때문에 경향성의 차이가 있는 것으로 판단된다. 또한, 연산오계는 수탉에서 염증 억제 효능이 암탉에 비하여 우세할 것으로 사료되며, 부위별로는 살, 뼈, 껍질 순으로 염증 억제 효능을 나타낸다고 판단된다. 면역 활성화에서는 수탉이 비교적 암탉보다 면역 활성화 정도가 높은 것으로 사료되며, 부위별로는 뼈, 껍질, 육질 순으로 면역 활성이 높다고 판단된다. 이를 종합해보면, LPS로 염증을 유도한 NO 및 사이토카인 생성량 등의 억제는 수탉 추출물 보다는 암탉 추출물이 상대적으로 많은 부위를 통해 효과적인 것이 나타났으며, 면역 활성화에 대한 효능은 수탉 추출물이 암탉 추출물보다 높게 나타났다. 이와 같은 결과는 연산오

게를 통해 식·의약 소재로 개발할 경우 염증 억제와 면역 활성이라는 각기 다른 측면으로 수탉과 암탉을 고려하여 활용할 수 있는 과학적 근거를 제시하였다.

결 론

본 연구에서는 連山烏鷄가 생리활성 인자에 미치는 영향을 객관적으로 평가하기 위한 실험적 연구로써 수탉과 암탉으로 구분하여 뼈, 육질 및 껍질을 추출하였고, 마우스 대식세포인 RAW 264.7 세포를 통한 NO 및 사이토카인 등의 변화를 측정하여 염증 억제 및 면역 활성에 대해 다음과 같은 결과를 얻었다. 연산오계 추출물 중 수탉과 암탉의 뼈에서 NO, TNF- α 생성의 감소가 다른 부위에 비하여 비교적 높게 나타났으며, 수탉과 암탉의 모든 부위에서 IL-1 β , IL-6 생성의 감소 및 IL-1 β , IL-6, TNF- α 활성의 증가를 나타내었다. 염증 억제와 면역 활성을 조절의 효능은 수탉이 암탉보다 비교적 높은 것으로 나타났으며, 부위별로는 뼈에서 살과 껍질에 비해 면역조절 효능이 높은 것으로 확인되었다. 현재 일본에서는 오골계를 이용한 많은 식품이 개발되고 있으나, 천연기념물 제265호에 지정되어 한국의 연산 오계는 상대적으로 음식 혹은 건강기능식품으로 활용도가 낮아 본 연구결과는 향후 식·의약품 소재로 활용될 수 있는 기초적 자료로 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

감사의 글

본 연구는 산업통상자원부 지정 대전대학교 난치성 면역질환의 동서생명과학연구 지역혁신센터의 지원에 의한 것입니다.

References

- Hibbs JB, Taintor RR, Vavrin Z, Rachlin EM. Nitric oxide: a cytotoxic activated macrophage effector molecule. *Biochemical and biophysical research communications*. 1988;157(1):87-94.
- Nathan CF. Secretory products of macrophages. *Journal of Clinical Investigation*. 1987 Feb;79(2):319.
- Kim HY, Hwang IG, Kim TM, Park DS, Kim JH, et al. Antioxidant and angiotensin converting enzyme I inhibitory activity on different parts of germinated rough rice. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*. 2011;40(6).
- Kim JW, Sim BY, Choi HJ, Lee HJ, Kim DH. The Study on Biological Activities of Yeonsan Ogye listed on Dong-ui-bo-gam. *The Korea Journal of Herbology*. 2015;30(5):23-8.
- Heo, J. DongEuiBoGam. *DongEuiBoGamBooks*. 2006:2025-6.
- Chae HS, Ahn CN, Yoo YM, Ham JS, Lee JM et al. The Effects of the High Pressure Boiled Extracts (HPBE) of the Ogol Chicken with Herbs on the Hormones, Cytokine, Specific Antibody of Serum in the Rat. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*. 2004;24(3):283-92.
- Choi HJ, Sim BY, Joo IH, Yoo SK, Kim DH. Study of Innate Immunity Suppression of Yeonsan Ogye listed on Dong-eui-bo-gam. *Journal of Physiology & Pathology in Korean Medicine*. 2015;30(4):236-41.
- Kim JH, Shin HK. Analysis of Biological Experiment on Immunoactivity of Sipjeondabo-tang. *Journal of Physiology & Pathology in Korean Medicine*. 2012;26(5):641-9.
- Boscá L, Zeini M, Través PG, Hortelano S. Nitric oxide and cell viability in inflammatory cells: a role for NO in macrophage function and fate. *Toxicology*. 2005;208(2):249-58.
- Nathan C. Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells. *The FASEB journal*. 1992;6(12):3051-64.
- Turini ME, DuBois RN. Cyclooxygenase-2: a therapeutic target. *Annual review of medicine*. 2002;53(1):35-57.
- Nathan C. Natural resistance and nitric oxide. *Cell*. 1995;82(6):873-6.
- Fenton MJ, Golenbock DT. LPS-binding proteins and receptors. *Journal of leukocyte biology*. 1998;64(1):25-32.
- Glauser MP. The inflammatory cytokines. *Drugs*. 1996;52(2):9-17.
- Kim JB, Kyung HS, Kang H. Anti-inflammatory Effect of Euphorbiae kansui Radix Extract in Lipopolysaccharide-stimulated Mouse Peritoneal Macrophages. *Journal of Physiology & Pathology in Korean Medicine*. 2014;28(6):593-600.
- Grahames CB, Michel AD, Chessell IP, Humphrey PP. Pharmacological characterization of ATP⁻and LPS-induced IL-1 β release in human monocytes. *British journal of pharmacology*. 1999;127(8):1915-21.
- Van Snick J. Interleukin-6: an overview. *Annual review of immunology*. 1990;8(1):253-78.
- Wink DA, Mitchell JB. Chemical biology of nitric oxide: insights into regulatory, cytotoxic, and cytoprotective mechanisms of nitric oxide. *Free Radical Biology and Medicine*. 1998;25(4):434-56.
- Kubes P. Inducible nitric oxide synthase: a little bit of good in all of us. *Gut*. 2000;47(1):6-9.
- Nakagawa T, Yokozawa T. Direct scavenging of nitric oxide and superoxide by green tea. *Food and Chemical Toxicology*. 2002;40(12):1745-50.

21. McCartney-Francis N, Allen JB, Mizel DE, Albina JE, Xie QW, et al. Suppression of arthritis by an inhibitor of nitric oxide synthase. *Journal of Experimental Medicine*. 1993;178(2):749-54.
22. Moncada SR, Palmer RM, Higgs E. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacological reviews*. 1991;43(2):109-42.
23. Kim DH, Park SJ, Jung JY, Kim SC, Byun SH. Anti-inflammatory Effects of the Aqueous Extract of Hwangnyeonhaedok-tang in LPS-activated Macrophage Cells. *The Korea Journal of Herbology*. 2009;24(4):39-47.
24. Wang MT, Honn KV, Nie D. Cyclooxygenases, prostanooids, and tumor progression. *Cancer and Metastasis Reviews*. 2007;26(3-4):525.
25. Delgado AV, McManus AT, Chambers JP. Production of tumor necrosis factor-alpha, interleukin 1-beta, interleukin 2, and interleukin 6 by rat leukocyte subpopulations after exposure to substance P. *Neuropeptides*. 2003;37(6):355-61.
26. Masters SL, Simon A, Aksentijevich I, Kastner DL. *Horror autoinflammaticus*: the molecular pathophysiology of autoinflammatory disease. *Annual review of immunology*. 2009;27:621-68.
27. Cha JH, Kim YS, Lee EM. Effects of *Prunellae Spica* water extract on immune response in macrophage cells. *The Journal of Korean Obstetrics and Gynecology*. 2010;23(3):91-100.
28. Li L, Li H, Qian J, He Y, Zheng J, et al. Structural and immunological activity characterization of a polysaccharide isolated from *Meretrix meretrix* Linnaeus. *Marine drugs*. 2015 Dec 29;14(1):6.
29. Singh VK, Mehrotra S, Agarwal SS. The paradigm of Th1 and Th2 cytokines. *Immunologic research*. 1999;20(3):147-61.
30. Church MK, Levi-Schaffer F. The human mast cell. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 1997;99(2):155-60.
31. Serhan CN, Chiang N, Van Dyke TE. Resolving inflammation: dual anti-inflammatory and pro-resolution lipid mediators. *Nature Reviews Immunology*. 2008;8(5):349-61.
32. Lee JY, Lee YJ, Park WS. Anti-inflammatory effects of fermented *Houttuyniae herba* water extract on LPS-induced mouse macrophage. *The Korea Journal of Herbology*. 2010;25(3):27-34.
33. Zhang Y, Ramos BF, Jakschik BA. *from Mast Cells in Immune Complex Peritonitis*. *Science*. 1992;258:1957.
34. Nickoloff BJ, Karabin GD, Barker JN, Griffiths CE, Sarma V, Mitra RS, Elder JT, Kunkel SL, Dixit VM. Cellular localization of interleukin-8 and its inducer, tumor necrosis factor-alpha in psoriasis. *The American journal of pathology*. 1991;138(1):129.
35. Walsh LJ, Trinchieri G, Waldorf HA, Whitaker D, Murphy GF. Human dermal mast cells contain and release tumor necrosis factor alpha, which induces endothelial leukocyte adhesion molecule 1. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1991;88(10):4220-4.
36. Abbas AK, Lichtman AH. *Cellular and Molecular Immunology*. Bum Moon Sa. Korea. 2004. p. 180-6, 243-74.
37. Jeong HJ, Chung HS, An HJ, Kim JB, Lee EM, et al. Immune-enhancement effect of the herbal combination *Allergina*. *Clinica chimica acta*. 2003;337(1):77-84.