

쑥갓(*Chrysanthemum coronarium* L.) PDRN(Polydeoxyribonucleotide)의 항염증 효능 분석

송미희*, 최문혁**, 정진형***, 이상식****, 정우영*****

Analysis of Anti-inflammatory Efficacy of *Chrysanthemum coronarium* PDRN (Polydeoxyribonucleotide)

Mi-Hee Song*, Moon-Hyeok Choi**, Jin-Hyoung Jeong***, Sang-Sik Lee****,

Woo-Young Jeong*****

요 약 쑥갓(*Chrysanthemum coronarium* L.)에는 베타카로틴을 비롯한 비타민 A,C, 폴리페놀 성분 등 여러 항산화 물질들이 포함되어 있고 항염증 효능을 보유한다고 알려져 있다. 추출물에 포함되는 PDRN이 항염증 반응을 매개할 수 있다는 가정하에, 마우스 대식세포인 RAW264.7 세포를 Lipopolysaccharides(LPS)로 자극하여 염증세포로의 전환을 유도한 다음, 쑥갓에서 추출한 PDRN의 첨가가 염증 억제 효능이 있는지를 분석하였다. 항염증의 지표로는 IL-1 β , TNF- α 의 유전자 발현을 사용하였으며, RT-PCR로 각 유전자의 상대적인 발현량을 확인하였다. 분석 결과, RT-PCR에서는 IL-1 β , TNF- α 두 유전자에서 PDRN에 의한 염증 억제의 효과를 확인하였다. 따라서, 본 연구를 토대로 염증 질환의 치료제로 개발될 수 있는 선행자료라 사료되며, 염증억제 기전을 개선할 수 있는 치료제의 연구개발에 도움이 될 것이다.

Abstract *Chrysanthemum coronarium* L. contains various antioxidants such as beta-carotene, vitamins A and C, and polyphenols, and is known to have anti-inflammatory effects. Under the assumption that the PDRN contained in the extract can mediate the anti-inflammatory response, the mouse macrophages, RAW264.7 cells, were stimulated with LPS to induce the conversion to inflammatory cells, and then the addition of PDRN extracted from the extract was effective in inhibiting inflammation. It was analyzed whether there was The gene expression of IL-1 β and TNF- α was used as an anti-inflammatory index, and the relative expression levels of each gene were confirmed by RT-PCR. As a result, RT-PCR confirmed the effect of PDRN-induced inhibition of inflammation in both IL-1 β and TNF- α genes. Therefore, based on this study, it is considered to be a precedent data that can be developed as a treatment for inflammatory diseases, and it will be helpful in research and development of a treatment that can improve the anti-inflammatory mechanism.

Key Words : IL-1 β , RAW264.7, RT-PCR, TNF- α , PDRN,

1. 서론

염증반응은 외부적 요인으로부터 피부 조직의 손상

으로 인해 생체를 방어하기 위하여 필수적인 신체의 반응을 말하며, 외상으로 인한 염증은 시각적으로도 확인할 수 있는 면역반응이다. 보통 외부적 요인으로

This work was supported by the Technology development Program(S3085249)funded by the Ministry of SMEs and Startups(MSS,Korea)

*Hyundaemedtech CO.Ltd

**Department of Electronic and Communication Engineering

***Department of Biomedical IT

****Corresponding Author : Department of Biomedical Engineering, Catholic Kwandong University(lsskyj@cku.ac.kr)

*****Corresponding Author : Department of Biomedical Science, Catholic Kwandong University(wyjeong@cku.ac.kr)

Received October 05, 2022

Revised October 21 2022

Accepted October 24, 2022

인한 조직손상이나 감염이 발생하게 되면 우리 몸은 그 감염을 인지하고 방어 작용을 통해 자극받은 순간부터 완화하거나, 외부적 요인으로 인한 세균을 제거하거나, 감염되어 손상된 조직을 회복하려고 하는데 이를 염증반응이라 한다[1]. 염증반응의 진행에서 면역반응의 특성을 조절하고 면역 기관의 세포들을 제어, 활성화, 성장 기능을 가진 단백질들인 다양한 사이토카인과 케모카인들이 개입하며, 이들은 혈관 확장의 개시와 혈장을 주변 조직으로 유출해 부종을 유발하고, 발열 및 발적을 유도하는 것을 매개한다 [2]. 대부분의 염증반응은 국소반응으로 한시적으로 진행되다가 면역세포들에 의해 해소되지만, 지속적인 염증반응이 발생하게 되면 자가면역 질환이나 조직의 파괴, 기능장애, 암, 당뇨병 등으로 이어질 수 있다[3].

과도한 만성적 염증반응으로 인해 발생하는 질환의 치료를 위해 다양한 항염증 치료제 및 면역억제제 등이 개발되고 있으며 대표적인 염증 매개 사이토카인들의 기능을 방해하는 항체에 기반한 치료제들이 류마티즘 관절염의 염증반응에 치료에 사용되고 있다[4]. 의학적으로 염증반응 연구에 세포 수준의 실험 모델은 RAW264.7, WR19m.1, U937 등이며, 백혈병 Virus에 감염된 Mouse로부터 얻어진 세포인 RAW264.7 세포주가 가장 많이 사용되고, 염증의 조절과 진행 및 해소의 모델로 사용되고 있다. 이들은 Lipopolysaccharides(LPS) 자극에 매우 신속하게 반응하여 염증반응의 매개체인 사이토카인을 합성 분비하는 등 염증 조절 연구에 가장 많이 사용되고 있고[5], 본 연구에서도 RAW264.7모형을 사용하여 실험을 진행하였다.

본 연구에서 사용되는 Lipopolysaccharides(LPS)는 대식세포의 표면 수용체를 자극하여 염증성 사이토카인들의 발현을 급격하게 증가시킨다[6]. 특히, IL-1 α , TNF- α 와 같은 염증성 사이토카인은 질병과 감염이 발생 시점으로 빠른 속도로 발현이 증가하게 되어 조직의 감염을 억제하는 중요한 역할을 한다[7]. 하지만, 지속적인 감염상태가 유지된다면 TNF- α 의 발현 또한 지속되어 손상을 증가시키는 부작용이 일어날 수 있어, TNF- α 의 작용을 방해하는 항체를 투여하면 과도한 염증 질환의 증상 완화가 확인되어 치료제로도 개발되고 있다[8].

문제는 이러한 사이토카인들이 과도한 또는 만성 염증 작용에서만 이용되는 것이 아닌 정상적인 인체의 질병에 대한 방어에서 필수불가결한 성분이므로 약제에 의한 사이토카인 기능억제는 면역력의 전반적인 저하로 인한 기회감염의 증가나 암 발생 빈도의 증가 같은 부작용을 수반할 수밖에 없다[9]. 따라서, 국소 부위에서의 염증 억제 또는 전신성 면역억제 기능이 낮은 약제를 활용한 보다 안전하고 효과적인 치료제의 발굴이 지속해서 진행되어야 한다.

PDRN (polydeoxyribonucleotide)이란 생명체의 유전물질인 핵산의 주성분인 DNA를 작은 분자량의 조각으로 분해한 DNA 단편(절편)의 혼합물을 말하며, 이 성분에 포함된 주요 뉴클레오타이드인 아데노신(adenosine)은 감염이나 상처와 같은 여러 종류의 스트레스에 반응하여 세포의 손상과 파괴가 진행될 때 세포 밖으로 방출된 다음 주변 조직의 세포막에 존재하는 아데노신 A1, A2A, A2B, A3 수용체와 상호작용하면서 염증을 조절하는 것으로 보고되었다[10]. 현재, PDRN은 다양한 종류의 어류, 포유류, 조류와 식물 등으로부터 얻을 수 있으며 조직 재생, 항염증, 항혈혈, 상처 치유 등 약리학적 활용성이 광범위한 것으로 알려져 있다[11, 12, 13]. 현재까지 in vitro 시험, 동물 시험 또는 인간에서의 임상 시험에서 사용되어 온 PDRN은 주로 어류인 송어, 연어 등의 정자로부터 회수한 DNA를 주 원료로 사용하여 왔다[14] 특히, Bitto 등은 염증 환경에서 PDRN이 염증 사이토카인들의 발현을 조절하는 항염증 효능의 가능성을 보고한 바 있다[15]. 이러한 상황에서, 본 연구는 PDRN의 공급원으로 동물자원에 포함될 수 있는 인수 공통 감염성 바이러스를 함유하지 않고, 자원이 실내 재배로 인해 환경오염원을 배제할 수 있고, 상시 대량 수확이 가능한 다양한 식물 중 중에서 섬유질이 비교적 낮고 DNA 수율 (DNA recovery)이 높은 쑥갓을 PDRN 공급원으로 활용 가능성을 확인하고자 하였다.

쑥갓은 흔히 접할 수 있고, 식용으로 재배가 되는 식물 중 하나이며, 비타민A와 B1, B2, flavonoid, 를 포함하여 칼륨, 칼슘, 철분 등의 물질들이 다른 식물에 비해 비교적 많은 것이 특징이다. 쑥갓은 거친 피부에 윤기를 더해주며 혈압을 떨어뜨리고 신경안정에 도움

이 되며, 쑥갓의 향은 일반적인 식물의 향기가 아닌 독특한 향을 가지고 있고, 쑥갓이 포함하는 성분들은 우리 몸의 위를 보온시켜 식욕을 증진한다[16]. 또한, 쑥갓은 골밀도를 향상 시켜 골다공증 치료에도 효과적인 것으로 알려져 있다[17]. 이에 더해, 쑥갓은 세포 독성 활성, 황산화 및 항균 특성을 포함한 다양한 생물학적 활성을 나타냈으며, 염증 효과에도 효능이 있다고 알려져 있다[18]. 하지만 우리가 흔히 접하는 식물을 처리하여 식물의 화학성분만으로 염증반응 실험을 한 사례는 많이 있었지만, 식물에서 얻어지는 PDRN의 고유 치료 특성을 고려하여 염증반응 실험에 관한 연구는 미비하였다. 따라서, 본 연구에서는 쑥갓의 DNA 추출을 통해 얻은 PDRN을 사용하여 마우스 RAW264.7세포에서 LPS와 쑥갓 PDRN을 처리하였을 시 염증성 사이토카인인 IL-1 β , TNF- α 의 발현량을 알아보았다.

2. 실험 방법

2.1 세포 배양

RAW264.7은 Abelson murine leukemia virus에 의해 유도된 종양으로부터 establish된 cell line이다. DMEM-Low Glucose(Dulbecco's Modified Eagle's medium, WELGENE, Gyeongsan, Korea), 10% Fetal Bovine Serum(FBS, T&I, Seoul, Korea), 1% Penicilin/Streptomycin Gibco(Gibco, Grand Island, NY, USA)를 기본배지로 하여 37 $^{\circ}$ C, CO $_2$ 5% 조건에서 배양을 진행하였다. cell confluence가 80% 됐을 때 Scraper로 긁어 세포들을 부유시켜 새로운 Plate에 Seeding 해주었다.

2.2 쑥갓 DNA의 제조

쑥갓 PDRN 제조를 위해 쑥갓 1g당 CTAB buffer를 1.5mL씩 투입하여 믹서기로 분쇄하였다. 분쇄물은 50mL tube에 20mL만큼의 용량으로 소분하여 옮겨 주었다. 100mg/mL의 RNase A Solutin 1mL 당 0.2 μ L 만큼 첨가하였다. 그 다음 37 $^{\circ}$ C에서 1시간 배양하여 RNA 분해를 진행하였다. 그 후, 10mg/ml의 Proteinase K를 1mL당 1 μ L만큼 첨가하고 15분 주

기로 vortex를 실시하면서 65 $^{\circ}$ C에서 2시간 배양하였다. 반응이 끝난 후 상온에서 10분, 얼음으로 추가 5분 정도 식혀주었다. 상기한 식물 분쇄액에 Chloroform/ Isoamyl alcohol (24:1) 용액을 동일 용량 첨가한 후 강하게 혼합한 다음, 12,000xg에서 15분간 고속 원심분리하였다. 원심분리 결과물에서 수용성 상층액을 회수하여 새로운 tube로 옮기고 상층액의 절반 용량의 5M NaCl을 첨가하고 얼음에서 15분간 방치한 다음, 총용량의 1/10 용량의 3M Sodium acetate와 2/3 용량의 냉장 Isopropanol을 첨가하여 강하게 혼합한 다음 -20 $^{\circ}$ C 냉동고에서 최소 1시간 이상 방치하여 DNA 침전을 유도하였다. 시간 경과 후 12,000xg, 5분간 고속 원심분리를 통해 DNA를 제외한 상층액은 조심스럽게 제거한 다음 침전물에 냉동보관한 70% 에탄올을 10ml 만큼 첨가해주고 12,000xg에서 5분간 고속원심분리를 진행하였다.

회수한 tube에서 용액을 제외한 다음 침전물을 상온에서 건조한 다음 Tris-EDTA 용액 (pH 8.0) 5mL에 충분히 녹인 다음 정제수 5mL를 추가한 다음 37 $^{\circ}$ C에서 16시간 이상 교반하여 용해하였다.

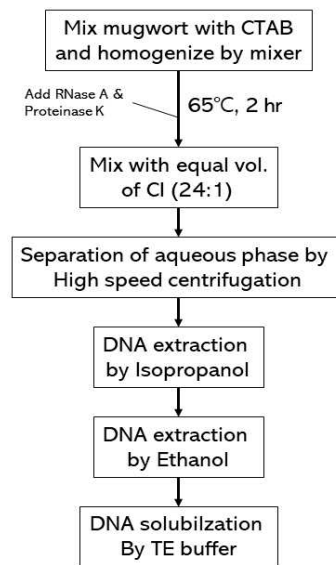


그림 1. 쑥갓 DNA 정제 공정
Fig. 1. DNA preparation from mugwort (*hrysanthemum coronarium* L)

2.3 PDRN generation from DNA by Sonication

쑥갓 DNA의 추출 후 Sonication을 사용하여 DNA 분쇄를 진행하였다. 시료 분쇄 시간은 처리하지 않은 대조군과 각 1분, 3분, 5분, 7분, 9분 처리하여 진행하였다.

Sonication은 VCX-130 (Sonics, Newtown, CT, USA)를 이용하였으며, 90% Amplitude, 9분간 59 초 가동, 1초 휴식의 조건으로 설정하여 초음파 분쇄를 진행하였다. 이 과정은 많은 열이 발생하므로 Ice에 tube를 넣어 열을 낮추어 주며 진행하였다.

2.4 mRNA Extraction & cDNA Synthesis

항염증 효능을 확인하기 위해 RAW264.7세포의 mRNA를 추출을 위하여 LPS (100 ng/ml, Sigma Chem., St. Louis, MO, USA)와 PDRN를 3시간 처리한 다음 세포를 회수하고 RNA를 AccPrep® Universal RNA Extraction Kit(BIONEER, Daejeon, South Korea)를 이용하여 추출하였다. 추출한 RNA는 Nanodrop-1000 (Thermo-Fischer, Wilmington, DE, USA)를 이용하여 농도를 측정한다 다음 PCR 기계(T100™ Thermal Cycler, Bio-RAD, Pleasanton, CA, USA)와 MG cDNA Synthesis Kit(MGmed, seoul, Korea)를 이용하였으며 (그림 2), 제조사에서 추천하는 공정을 준수하여 회수한 RNA 1 µl, 10X RT Buffer 2 µl, dNTPs 2 µl, Oligo dT 1 µl, MMLV 1 µl, RNase inhibitor 0.5 µl을 혼합한 다음 42°C에서 40분 합성을 진행한 다음 cDNA 보관 적정온도인 4°C에서 종결하고 후속단계를 진행하였다.

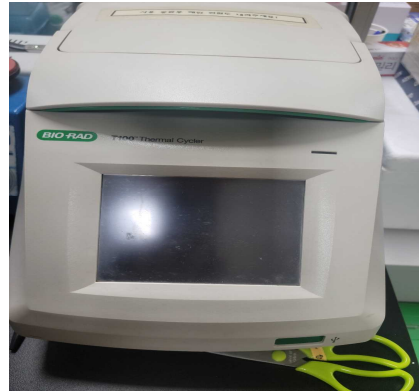


그림 2. cDNA를 합성한 RT-PCR 기계

Fig. 2. RT-PCR machine to synthesize cDNA

2.5 RT-PCR 및 전기영동

본 연구진은 합성된 유전자의 정상 유무 확인을 위하여 GAPDH의 발현량을 확인하기 위하여 합성된 cDNA 1 µl 에 10X RT Buffer 2 µl, dNTP 2 µl, forward primer (F) 및 reverse primer (R) 각각 1 µl, Taq polymerase 0.2 µl, DW 12.8 µl,를 혼합하여 PCR tube에 넣고, 그림 2와 같이 DNA의 합성을 위하여 PCR 3단계를 진행하였다. 첫 번째로 DNA 변성을 위해 95°C로 3분 동안 가열하여 이중나선 DNA를 단일 가닥 주형으로 분리했다. 이후 95°C에서 20초 (DNA 변성), 55°C에서 40초 (primer 결합), 72°C 50초 (DNA 합성)의 3단계를 총 25회 반복하여 PCR (중합 연쇄반응)을 실시하고 마지막은 72°C에서 5분간 유지하여 중합반응을 완결하고, 4°C로 냉각시켜 반응을 종결하였다(그림 3). 아래 표 1은 유전자 발현량을 비교하기 위하여 사용한 Primer set이다.

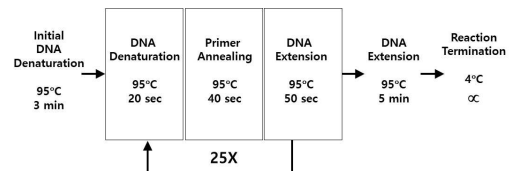


그림 3. PCR 사용 조건

Fig. 3. PCR Protocol

표 1. 실험에 사용된 RT-PCR용 Primer 서열
Table 1. Primer sequence for RT-PCR used in the experiment

| Primer | Sequence |
|---------------|---|
| GAPDH | F:5'-ACC CAG AAG ACT GTG GTA GG-3' |
| | R:5'-ACA CAT TGG GGG TAG GAA CA-3' |
| TNF- α | F:5'-GGC AGG TCT ACT TTG GAG TCA TTG-3' |
| | R:5'-ACA TTC GAG GCT CCA GTG AAT TTC GG-3' |
| IL-1 β | F:5'-CTA AAG CAG CTA TGG CAA CT-3' |
| | R:5'-ACA GGA CAG GTA TAG ATTC-3' |

그 후 PCR 결과물을 1% Agarose gel에서 Mupid-2 plus (Takara, Tokyo, Japan)을 이용하여 전기영동을 실시하여 확인하였다(그림 4). 전기영동은 염색 시약 loading star와 100bp DNA Ladder (Dyne Bio, Seongnam, Korea)를 사용하여 30분간 100V에서 실시한 다음 Chemi-Doc (Uvitec, Cambridge, United Kingdom)을 사용하여 UV 광 조사로 나타나는 DNA 밴드의 이미지를 촬영하고 (그림 5) Image J 프로그램을 사용하여 농도별 밴드의 면적 및 강도를 수치화하여 그래프로 나타내었다.



그림 4. 전기영동에 사용된 Mupid-2plus
Fig. 4. Mupid-2plus used for electrophoresis



그림 5. Chemi Doc를 이용한 Band 촬영
Fig. 5. Band shooting with Chemi Doc

3. 실험 결과 및 고찰

3.1 DNA Sonication 확인

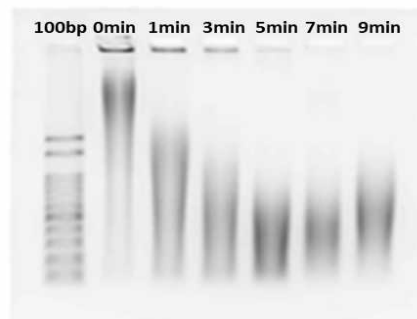


그림 6. Sonication 처리 결과
Fig. 6. Sonication processing result

그림 6은 썩갠 DNA의 단편화를 위하여 간단하고 빠르게 처리할 수 있는 Sonication 처리 후 전기영동을 진행한 결과이다. 초음파를 처리하지 않은 0분과 초음파 처리를 1분, 3분, 5분, 7분, 9분간 처리한 결과, 초음파 적용 시간을 5분 이상으로 할 때 DNA의 분쇄가 최대 수준에 도달함을 알 수 있다. 크기가 100bp~1000bp 수준의 DNA 조각은 PDRN이라고 하는데 본 연구 Sonication 결과 5분, 7분, 9분의 결과 큰 차이가 없어 9분으로 분쇄한 DNA로 진행하였다.

3.2 PDRN와 LPS 처리된 RAW264.7세포에서의 GAPDH 발현 확인 분석

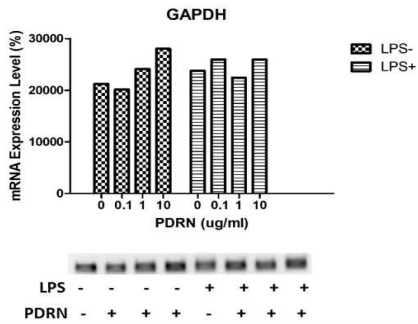


그림 7. 유전자 발현을 확인하기 위한 GAPDH 수행
Fig. 7. Perform GAPDH to check gene expression

염증 유도인자인 세균 추출물 LPS와 염증억제 효능의 확인을 위해 첨가하는 PDRN을 마우스 대식세포주인 RAW264.7세포에 처리한 다음 염증성 사이토유전자 발현을 분석하기에 앞서 대식세포가 발현하는 유전자의 상대적 발현량의 정규화(normalization)를 위해 모든 건강한 세포들이 항상 비슷한 수준으로 발현하는 house-keeping gene에 해당하는 GAPDH 발현을 RT-PCR로 확인한 결과 각 조건마다 큰 편차 없이 비슷한 수준의 GAPDH mRNA가 존재함을 확인하였다(그림 7).

3.1 PDRN와 LPS 처리된 RAW264.7세포에서의 염증 사이토카인 IL-1 β 발현 조절

LPS는 대식세포를 자극해 IL-1 β 같은 염증성 사이토카인(inflammatory cytokines)의 발현을 급격하게 증가시킨다. 본 연구 결과 LPS가 처리된 대식세포에 PDRN을 3시간 처리한 다음 회수한 세포의 RNA로 RT-PCR 수행 결과 LPS를 처리한 세포에서 염증의 주요 매개체인 IL-1 β 발현양이 급증한 것을 확인하였다(그림 8). 여기에 저농도의 PDRN(0.1 μ g/ml) 처리군에서는 IL-1 β 발현은 감소하지 않았으나, PDRN(1 μ g/ml)부터 IL-1 β 발현에 명확한 감소가 확인되었으며 PDRN(10 μ g/ml)함량에서는 IL-1 β

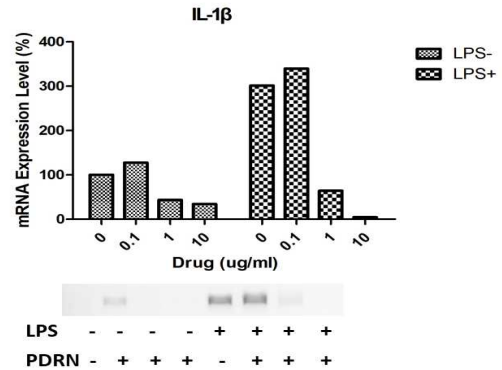


그림 8. PDRN에 의한 염증사이토카인 IL-1 β 발현 조절의 확인
Fig. 8. Confirmation of PDRN-modulated anti-inflammatory cytokine IL-1 β expression

발현이 대조군 수준 (LPS 미처리군)으로 억제됨을 확인할 수 있었다.

3.2 PDRN와 LPS 처리된 RAW264.7세포에서의 염증 사이토카인 TNF- α 발현 조절

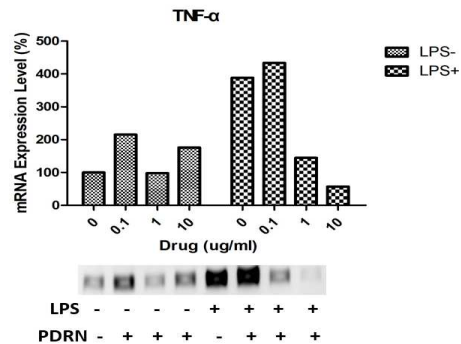


그림 9. TNF- α 의 염증발현 확인
Fig. 9. Confirmation of inflammatory expression of TNF- α

TNF- α 또한 LPS의 자극으로 인해 발현이 증가하는 대표적인 염증성 사이토카인이다. 그림 8과 같이, LPS만 처리한 경우 TNF- α 발현이 급격하게 증가하는 것으로 보이며 PDRN(0.1 μ g/ml)의 처리에서 TNF- α 의 발현은 감소하지 않았다. 그러나, PDRN(1 μ g/ml)함

량부터 이 염증성 사이토카인의 발현은 효과적으로 뚜렷하게 감소하는 것으로 확인되었으며, PDRN(10 μ g/ml)의 처리군에서는 TNF- α 발현양이 대조군 수준으로 발현이 억제됨이 확인되었다 (그림 9).

4. 결론

PDRN이 갖는 조직재생, 항염증 등의 생리활성은 정형외과 성형외과 및 재생의학 분야에서 많은 관심을 갖고 임상적 활용을 위한 노력이 진행되고 있다. 현재까지 대부분의 연구와 실용화는 연어와 같은 어류의 정자, 정소에서 대량으로 확보 가능한 DNA를 이용하고 있으나, 환경오염에 의한 근원조직의 오염문제, 동물성 바이러스 유래의 DNA 혼재에 의한 감염성 질환이나 염증 유발 등의 우려, 회귀성 어류의 생활사에 의한 자원 확보 및 해양환경 오염에 의한 어족 고갈의 가능성 등이 새로운 안전한 PDRN의 공급원을 요구하고 있다. 본 연구에서는 주변에 매우 흔하고, 식물공장을 이용한 상시, 무균 대량 재배가 가능한 식물 중에서 항염증 효능이 알려져 있는 쑥갓의 DNA로부터 sonication을 처리하여 PDRN을 추출하는 공정을 제공하고 있다. DNA를 5분 이상의 sonication을 처리하면 100~800 염기쌍 (base pair, bp) 수준의 DNA 절편인 PDRN으로 전환시키는 것이 가능하며 이는 bp당 분자량 65-dalton을 적용하면 65 ~ 520 kDa 수준에 해당하여 전형적인 PDRN의 규격임을 입증하였다.

염증(inflammation)은 감염이나 손상 등의 외부 자극으로부터 신체를 보호하기 위한 면역반응의 초기 단계로 조직 손상을 억제하고 신체의 항상성을 유지하는 매우 필수적인 방어체계이지만, 지속적이고 과도한 염증은 IL-1 β 과 TNF- α 와 같은 염증성 사이토카인을 활용하여 조직을 파괴하는 염증세포들의 조직 침윤을 높여 관절염, 퇴행성 신경계 질환, 심혈관 질환, 암 등 각종 만성질환의 원인이 되기도 한다[19]. 만성질환의 예방 및 치료에 있어 과도한 염증반응이나 염증 매개 사이토카인의 기능 제어가 매우 중요하며, 이를 위한 식물, 동물 유래 물질이나 합성 신약 및 재조합 단백질과 항체치료제 등 항염증 효능을 가진 다양한 생물자원에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다.

LPS는 그람 음성 세균의 세포벽에 대량으로 존재하며 체내 침투한 세균이 대식세포를 자극하고 염증성 사이토카인 IL-1 β 과 TNF- α 의 분비를 유도하여 염증반응을 개시하는 주요 원인물질이다. 본 연구에서는 쑥갓의 PDRN이 LPS에 의해 자극받은 마우스 대식세포 RAW264.7로부터 분비되는 염증 매개 사이토카인의 발현을 감소시키는 항염증 효능을 보유하는지 분석하였다. 실험결과, LPS에 활성화된 염증반응 세포인 RAW264.7세포에 PDRN은 1 μ g/ml 이상의 농도에서 농도-의존적 항염증 활성을 보유하는 것으로 확인되었다. 이러한 연구 결과는 동물성 PDRN들이 보유한 TNF- α 발현억제 등 항염증 효능 결과와 일치하는 것이다[20].

쑥갓 PDRN은 IL-1 β 과 TNF- α 의 발현에서 LPS 처리 대조군과 비교하였을 때 유의적인 발현 억제 차이를 보였으며, 1 μ g/ml의 농도에서 이미 LPS 미처리군과 유사한 수준으로 이들 염증성 사이토카인의 발현을 억제하는 것을 확인할 수 있었다. 이번 연구를 통해 쑥갓 PDRN이 어류PDRN과 동일한 항염증 효과를 나타내며, 투여량이 증가함에 따라 농도-의존적으로 두 염증성 사이토카인 발현을 신속하게 제어한다는 것을 확인할 수 있었다.

따라서, 본 연구 결과를 토대로 식물성 PDRN으로 인한 항염증 효능 연구를 통한 다양한 염증 질환에 대한 치료제를 개발할 수도 있으며, 쑥갓의 PDRN 효능은 상처를 치유할 수 있는 효능도 가지고 있다. 임상적으로 안전한 식물성 PDRN의 활용은 다양한 질환과 노화, 조직재생 등 연구의 바탕이 되는 연구자료로 사용될 수 있다.

REFERENCES

- [1] Ik-Han Ryu, Hae-Joong Cho, Mi-Hwa Song, Chang-Min Choi, " Effects of *Patrinia Scabiosaefolia* Aqueous Extract on Cytokine and NF- κ BActivation in LPS-induced RAW 264.7 Cells and Mouse", *The Journal of Oriental Obstetrics & Gynecology*. (2017):1-15
- [2] Larry C. Borish, John W. Steinke,2. "Cytokines and chemokines", *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, Volume 111, Issue 2,

- Supplement 2, 2003.
- [3] He MT, Park HS, Kim YS, Lee AY, Cho EJ. Protective Effect of Membrane-Free Stem Cells against Lipopolysaccharide and Interferon-Gamma-Stimulated Inflammatory Responses in RAW 264.7 Macrophages. *Int J Mol Sci.* 2021 Jun 27;22
- [4] Young-Il Seo, M.D., PhD. "New drugs for Rheumatoid arthritis", *Korean J Med*(2009)
- [5] Hartley JW, Evans LH, Green KY, Naghashfar Z, Macias AR, Zerfas PM, Ward JM. Expression of infectious murine leukemia viruses by RAW264.7 cells, a potential complication for studies with a widely used mouse macrophage cell line. *Retrovirology.* 2008 Jan 4;5:1
- [6] Evans, R., Fong, M., Fuller, J., Kamdar, S., Meyerhardt, J. and Strassmann, G. (1992), Tumor cell IL-6 gene expression is regulated by IL-1 α/β and TNF α : proposed feedback mechanisms induced by the interaction of tumor cells and macrophages. *J Leukoc Biol*, 52: 463-468.
- [7] Burrell R. Human responses to bacterial endotoxin. *Circ.Shock* 1994: 43: 137-153
- [8] Shankar S, Handa R. Biological agents in rheumatoid arthritis. *J Postgrad Med* 2004;50:293-9
- [9] Monaco C, Nanchahal J, Taylor P, Feldmann M. Anti-TNF therapy: past, present and future. *Int Immunol.* 2015 Jan;27(1):55-62. doi: 10.1093/intimm/dxu102. Epub 2014 Nov 19. PMID: 25411043; PMCID: PMC4279876.
- [10] Cronstein BN. Adenosine, an endogenous anti-inflammatory agent. *J Appl Physiol* (1985). 1994Jan;76(1):5-13.
- [11] Yo Han Kim, M.D.1, Jong Hoon Lee, M.D.1, Kyung Hee Min, M.D.1, Sung Hee Hong, M.D.1, Won Mi Lee, M.D.2, Jin Hyun Jun, Ph.D.3 "The Wound Healing Effect of PDRN(polydeoxyribonucleotide) Material on Full Thickness Skin Defect in the Mouse" *J Korean Soc Plast Reconstr Surg* Vol. 37, No. 3, 220 - 226, 2010
- [12] Polito F, Bitto A, Galeano M, Irrera N, Marini H, Calò M, Squadrito F, Altavilla D. Polydeoxyribonucleotide restores blood flow in an experimental model of ischemic skin flaps. *J Vasc Surg.* 2012 Feb;55(2):479-88. doi: 10.1016/j.jvs.2011.07.083. Epub 2011 Nov 3. PMID: 22051873.
- [13] Kim JY, Pak CS, Park JH, Jeong JH, Heo CY. 2014; Effects of polydeoxyribonucleotide in the treatment of pressure ulcers. *J Korean Med Sci.* 29(Suppl 3):S222-7).
- [14] Altavilla D, Bitto A, Polito F, Marini H, Minutoli L, Di Stefano V, et al. 2009; Polydeoxyribonucleotide (PDRN): a safe approach to induce therapeutic angiogenesis in peripheral artery occlusive disease and in diabetic foot ulcers. *Cardiovasc Hematol Agents Med Chem.* 7:313-21.
- [15] Bitto A, Polito F, Irrera N, D'Ascola A, Avenoso A, Nastasi G, et al. 2011; Polydeoxyribonucleotide reduces cytokine production and the severity of collagen-induced arthritis by stimulation of adenosine A(2A) receptor. *Arthritis Rheum.* 63:3364-71.
- [16] Eun-Jeong Choi, Seung-Min Lee. "Quality Characteristics of Sulgidduk with Added Ssukgat (*Chrysanthemum coronarium* L. var. spatiosum) Powder", *J East Asian Soc Dietary Life* (2010) 509:515
- [17] So Ah Kim, Ae Sin Lee, Haeng Jeong Hur, Sang Hee Lee, and Mi Jeong Sung. "Preventive Effects of *Chrysanthemum coronarium* L. Extract on Bone Metabolism In Vitro and In Vivo", *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine* (2020)1:12
- [18] Chunpeng Wan, Shanshan Li, Lin Liu, Chuying, and Shuying Fan. "Caffeoylquinic Acids from the Aerial Parts of *Chrysanthemum coronarium* L.", *Plants*(2017):
- [19] Ferrero-Miliani L, Nielsen OH, Andersen PS, Girardin SE. Chronic inflammation: importance of NOD2 and NALP3 in interleukin-1 β generation. *Clin Exp Immunol* 2007;147(2):227-235.
- [20] Colangelo MT, Galli C, Guizzardi S. Polydeoxyribonucleotide regulation of inflammation. *Adv Wound Care (New Rochelle).* 2020; 9(10): 576-589

저자약력

송 미 희 (Mi-Hee Song)

[정회원]



- 1984 안산대학교 물리치료학 졸업
- 2004 중앙대 약학대학원 수료
- 2019 가톨릭관동대학교 의료공학과 졸업(공학석사)
- 2020 가톨릭관동대학교 전자통신공학과 박사수료

<관심분야> 의료공학, 생명공학, 의료 시스템, u-Health

최 문 혁 (Moon-Hyeok Choi)

[정회원]



- 2019년 2월: 가톨릭관동대학교 의료공학과 졸업(학사)
- 2021년 2월: 가톨릭관동대학교 의료공학과 졸업(공학석사)
- 2021년 3월 ~ 현재: 가톨릭관동대학교 전자통신공학과 박사과정

<관심분야> 의료공학, 생명공학, 의료 시스템, u-Health

정 진 형 (Jin-Hyoung Jeong)

[정회원]



- 2012년 02월: 가톨릭관동대학교 의료공학과 졸업(학사)
- 2014년 02월: 가톨릭관동대학교 일반대학원 졸업(공학석사)
- 2017년 08월: 가톨릭관동대학교 일반대학원 졸업(공학박사)
- 2021년 03월: 가톨릭관동대학교 의료IT학과 조교수

<관심분야> 의료 시스템, 데이터 분석, 통신, 인공지능

이 상 식 (Sang-Sik Lee)

[중신회원]



- 1993-2000년 LG전선(주)
- 1996-2000년 성균관대학교 박사
- 2001-2004년 ㈜미도테크
- 2004-2010년 성균관대학교 연구교수.
- 2011년- 현재 가톨릭관동대학교 의료공학과 교수

<관심분야> 의용메카트로닉스, 생체역학, 의용전기전자, u-Health

정 우 영 (Woo-Young Jeong)

[비회원]



- 2010년 02월: 동국대학교 생명과학과 졸업(학사)
- 2014년 02월: 서울대학교 농생명공학부 졸업(석박사 통합)
- 2018년 03월: 가톨릭관동대학교 의생명과학과 조교수

<관심분야> 의생명과학, 생리활성물질분석, 종양학