

RAW 264.7 세포에서 Lycopene의 MAPK/Nrf2/HO-1 신호 전달 체계를 통한 항산화 효과

박충무^{1,4} · 안 현^{2,4} · 윤현서^{3,4}

¹동의대학교 임상병리학과 교수, ²동의대학교 방사선학과 교수, ³동의대학교 치위생학과 교수,
⁴동의대학교 기능성소재연구소

Anti-oxidative Activity of Lycopene Via the Induction of HO-1 Expression by MAPK/Nrf2 Signaling Pathway in RAW 264.7 Cells

Chung-Mu Park, Ph.D^{1,4} · Hyun An, Ph.D^{2,4} · Hyun-Seo Yoon, Ph.D^{3,4}

¹Dept. of Clinical Laboratory Science, Dong-Eui University, Professor

²Dept. of Radiological Science, Dong-Eui University, Professor

³Dept. of Dental Hygiene, Dong-Eui University, Professor

⁴The Research Institute for Functional Health Materials, Dong-Eui University

Abstract

Purpose: Lycopene is abundantly contained in Tomatoes and is known for diverse biological activities such as antioxidant, anti-inflammatory, and anticancer effects. In this study, the antioxidative potential of lycopene was investigated through the induction of hemeoxygenase (HO)-1 by nuclear factor-erythroid 2 p45-related factor2 (Nrf2) and upstream signaling molecules, mitogen-activated protein kinase (MAPK) and phosphoinositide 3-kinase (PI3K)/Aktin RAW 264.7 cells.

Methods: The antioxidative potential of lycopene against oxidative stress and its molecular mechanisms were determined by the cell viability assay, intracellular reactive oxygen species (ROS) formation assay, and Western blot analysis in RAW 264.7 cells.

Results: Lycopene treatment significantly attenuated tert-butyl hydroperoxide (t-BHP) induced intracellular ROS formation in a dose-dependent manner without any cytotoxicity. In addition, 50 μ M of lycopene for 6 h treatment induced potent HO-1 expression and its transcription factor, Nrf2. MAPK and PI3K/Akt were also analyzed due to their critical roles in the regulation of cellular redox homeostasis against oxidative damage. As a result, phosphorylation of extracellular regulated kinase (ERK) was significantly induced by lycopene treatment while the activated status of c-Jun NH2-terminal kinase (JNK), p38, and Akt, were not given any effect. To confirm the antioxidative mechanism of HO-1 mediated by ERK activation, each selective inhibitor was employed in a protection assay, in which oxidative damage occurred by t-BHP. Lycopene, SnPP, and CoPP treatments reflected accelerated HO-1 expression could be a protective role against oxidative damage-initiated cell death. A selective inhibitor for ERK significantly inhibited the lycopene-induced cytoprotective effect but selective inhibitors for other signaling molecules did not attenuate the rate of t-BHP-induced cell death.

Conclusion: In conclusion, lycopene potently scavenged intracellular ROS formation and enhanced the HO-1 mediated antioxidative potential through the modulation of Nrf2, MAPK signaling pathway in RAW 264.7 cells.

Key Words : heme oxygenase-1, lycopene, mitogen-activated protein kinases, nuclear factor-erythroid 2 p45-related factor 2, phosphoinositide 3-kinase

†교신저자 : 윤현서, yoonhs@deu.ac.kr

제출일 : 2023년 10월 31일 | 수정일 : 2024년 1월 5일 | 게재승인일 : 2024년 1월 12일

I. 서론

1. 연구의 배경 및 필요성

신체의 건강을 위해 산화-환원 항상성의 유지는 필수적인 것으로, 세포내외부의 자극으로 인해 과잉 생산되는 reactive oxygen species(ROS)는 세포의 지질, 단백질, 및 DNA를 손상시켜 암, 노화, 죽상동맥경화증 등 다양한 질병 발생의 원인이 될 수 있다(Sies, 1997).

세포는 ROS의 생성을 방지하거나 해독하기 위한 여러가지 기전을 진화시켜왔고, 그 중 제독효소인 제2상 효소의 발현을 유도함으로써 이러한 세포손상을 유발하는 산화 스트레스를 완화할 수 있는 것으로 보고되었다(Ma, 2013). 이러한 제2상 효소에는 NAD(P)H quinone oxidoreductase(NQO1), glutathione S-transferase(GST), heme oxygenase-1(HO-1) 등이 있고 이 중 HO-1은 항염증, 항산화능을 가지고 있고, heme의 생합성 및 분해 경로에서 중요한 역할을 하는 효소로써 전사인자인 nuclear factor-erythroid 2 p45-related factor (Nrf)-2에 의해 조절된다(Keum, 2012).

산화 스트레스가 없는 상태에서 Nrf2는 액틴 결합 단백질인 Kelch-like ECH-associated protein 1(Keap1)과 결합된 비활성의 형태로 세포질에 존재하고, 산화 스트레스를 받으면 Nrf2는 Keap1에서 방출되어 핵으로 이동 후 promoter region인 antioxidative response element (ARE)와 결합함으로써 제2상 효소중 하나인 HO-1의 발현을 유도한다. 특히 Nrf2는 mitogen activated protein kinase(MAPK)와 phosphoinositide 3-kinase(PI3K)와 같은 상위 신호 전달물질에 의해 활성화되는 것으로 보고되고 있다(Farombi & Surh, 2006).

MAPK의 구성은 extracellular regulated kinase(ERK), c-Jun NH2-terminal kinase(JNK), p38 MAPK이고, 항산화 물질이나 세포내외부로부터 발생하는 산화 스트레스에 노출되면 MAPK나 PI3K/Akt 신호 전달물질이 활성화되어 Nrf2가 작용하게 되면 항산화 기전이 작동하기 시작한다(Johnson & Lapadat, 2002). 자연계에 존재하는 다양한 phytochemical이 ROS를 소거할 수 있는 항산화 활성을 가지고 있는 것으로 보고되었고, 이들은 과도한 산화 스트레스에 의해 발생할 수 있는 다양한 질환의 진행을

조절할 수 있는 치료제의 후보로써 그 가능성을 인정받고 있다(Khan 등, 2021). 그중 토마토에 풍부하게 함유된 lycopene은 hydrogen peroxide, hydroxyradicals, nitrogen dioxide 등의 다양한 활성 산소를 소거할 수 있고 또한 세포 내 항산화 효소인 superoxide dismutase, catalase, peroxidase 및 항산화제인 vitamin E, vitamin C의 상태를 개선함으로써 항산화 효과를 보이는 것으로 보고되었다(Durairajanayagam 등, 2014). 또한 lycopene은 항암, 항염증 효과, 심혈관계에 미치는 영향 등 다양한 생리활성이 보고되었으나 세포 내 제2상 효소인 HO-1의 유도를 통한 항산화 활성화에 대한 보고는 아직 이루어지지 않았다.

이에 본 연구에서는 RAW 264.7 세포에서 세포 외부로부터 발생하는 산화 스트레스에 대한 lycopene의 항산화 효과를 HO-1의 발현 유도를 통해 분석하고 그 분자적 기전에 대해 확인해보고자 하였다.

2. 연구의 목적

본 연구에서는 lycopene의 항산화 활성을 RAW 264.7 세포에서 제2상 효소중 하나인 HO-1의 발현과 관련된 전사인자인 Nrf2, 그리고 그 상위 신호전달물질인 MAPK, PI3K/Akt의 활성 유도를 통해 확인하고자 하였다.

II. 연구방법

1. 세포배양 및 시약

생쥐 대식세포주인 RAW 264.7 세포(한국세포주은행, No. 40017, KCLB, Korea)는 10 % fetal bovine serum(FBS, Cytiva, USA), 100 unit/ml penicillin, 100 µg/ml streptomycin (Cytiva)이 포함된 Dulbecco's modified eagle medium(DMEM, Cytiva)에 배양하였다. lycopene(Sigma-Aldrich, USA)은 dimethyl sulfoxide(DMSO)에 용해하여 사용하였다. 1차 항체인 HO-1, Nrf2, phospho-ERK, ERK, phospho-JNK, JNK, phospho-p38, p38, phospho-Akt, Akt, actin과 2차 항체인 horseradish peroxidase(HRP)-conjugated anti-rabbit IgG 항체는 cell signaling technology(USA)에서 구입하여 분석에 이용하였다.

2. 세포독성 분석

RAW 264.7 세포에 대한 lycopene의 독성은 EZ-Cytox cell viability assay kit(Daeil Lab. Service, Korea)를 이용하여 분석하였다. 24-well plate에 RAW 264.7 세포를 seeding하고 시료를 농도별로 처리한 후 2시간이 지난 다음 1 $\mu\text{g/ml}$ 의 LPS를 처리하고 20시간 배양하였다. 각 well에 EZ-Cytox 시약 10 μl 를 첨가한 후 1시간 동안 배양하여 생성된 formazan을 흡광도 파장 480 nm에서 측정하였다(BioTek Instruments Inc., USA).

3. 세포 내 활성산소종 분석

lycopene의 ROS 소거능을 분석하기 위하여 RAW 264.7 세포를 50 μM 의 DCFH-DA로 2시간 동안 염색 후 2시간 동안 시료를 처리한 후 30분 동안 t-BHP(100 μM)로 배양하여 ROS 생성을 유도하였다(Park, 2018). ROS 소거능은 각각 485 nm 및 530 nm의 excitation과 emission 파장에서 측정하였다(BioTek Instruments Inc, USA).

4. western blot analysis

lycopene에 의해 조절되는 제2상 효소의 발현을 분석하기 위하여 RAW 264.7 세포를 100-mm dish에 seeding하고 시료를 농도별로 처리한 다음 20시간 동안 배양하였다. 그리고 전사인자와 상위 신호전달물질을 분석하기 위하여 100-mm dish에 파종된 RAW 264.7 세포에 다양한 농도의 시료를 처리한 후 4시간 동안 배양하였다. 단백질을 protein extraction buffer(PRO-PREP, Intron Biotechnology, Korea)를 이용하여 추출 후 농도는 bradford법으로 결정하였다. 단백질 시료는 LDS sample buffer(Thermo Fisher Scientific, USA)와 혼합하고 10 % SDS-polyacrylamide gel에 전기영동을 진행하였다. 그리고 polyvinylidene fluoride(PVDF, Bio-Rad Laboratories, USA)membrane으로 전기영동된 단백질을 이동시킨 후 5 % non-fat dry milk에 실온에서 1시간 동안 blocking 단계를 실시하였다. 이후 각각의 비율로 희석된 1차 항체에 4 $^{\circ}\text{C}$ 를 유지하며 24시간 동안 반응시킨 후 실온에서 2시간 동안 2차 항체와 반응을 진행하였다. 발현 측정을 위

하여 기질인 enhanced chemiluminescence solution(ECL, Santa Cruz Biotechnology)를 이용하여 Chemi Doc XRS+system(Bio-Rad Laboratories)으로 측정하였고, Gel Doc EQ system(Bio-Rad Laboratories)을 이용하여 정량분석을 진행하였다.

5. 통계적 방법

모든 실험 결과는 3회 반복하여 시행 후 SPSS 프로그램(version 26.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 평균 \pm 표준편차(mean \pm SD)로 표현하였다. 실험군 간의 유의성 검증은 일원배치분산분석(one-way ANOVA)을 실시하고 사후분석은 Duncan's multiple range test를 사용하였다.

III. 결 과

1. lycopene의 ROS 소거능과 HO-1 발현 유도 효과

RAW 264.7 세포에 대한 lycopene의 세포 내 항산화 활성을 확인하기 위해 lycopene에 의해 유발될 수 있는 세포독성을 확인한 결과 Fig 1에서 보는 것과 같이 50 μM 농도로 24시간 처리에도 세포독성은 유발되지 않았다. 그리고 lycopene의 항산화 활성을 분석하기 위하여 DCF-DA로 세포를 염색한 후 100 μM 의 t-BHP를 처리하여 산화 스트레스를 유발하였다. 그리고 lycopene을 농도별로 처리한 후 세포 내에서 발생하는 형광을 측정하였다. 그 결과 Fig 2에서 보는 것과 같이 t-BHP의 처리로 형광은 강하게 나타났고, lycopene의 처리는 RAW 264.7 세포에서 농도 의존적으로 ROS 생성이 억제되는 것을 확인하였다. 그리고 lycopene이 제2상 효소 중 하나인 HO-1의 발현유도에 미치는 효과를 western blot으로 분석한 결과 Fig 3, 4와 같이 lycopene은 50 μM 의 농도로 6시간 동안 처리하였을 때 가장 강하게 HO-1을 유도하는 것을 확인할 수 있었다. 이 결과를 통해 lycopene은 세포독성 없이 산화스트레스를 강하게 억제하고 그것은 제2상 효소 중 하나인 HO-1의 발현 유도로 인한 것임을 알 수 있었다.

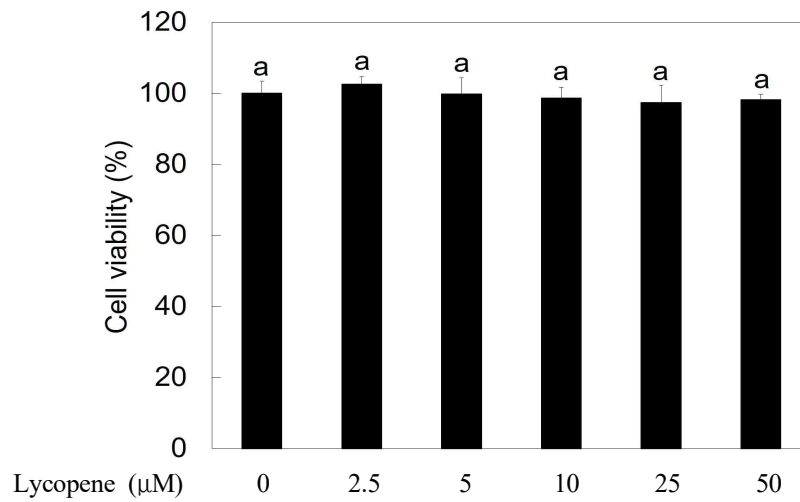


Fig 1. Cytotoxic effect of lycopene treatment in RAW 264.7 cells

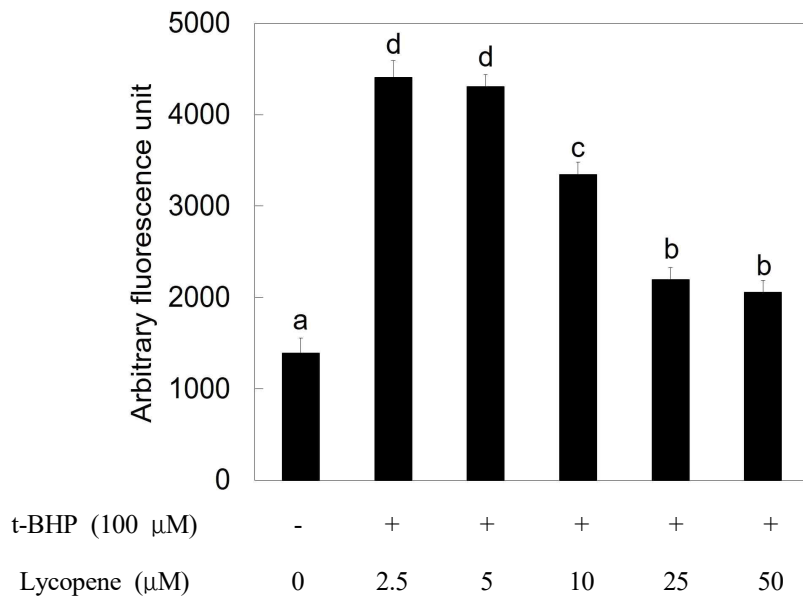


Fig 2. Inhibition of t-BHP induced intracellular ROS formation by lycopene treatment in RAW 264.7 cells

2. lycopene의 Nrf2, MAPK 및 PI3K/Akt 인산화 조절 효과

제2상 효소의 전사인자인 Nrf2는 RAW 264.7 세포에서 항산화 물질에 노출시 HO-1의 과발현을 유도하는 것으로 알려져 있다. 세포질 내에서 비활성형으로 존재하는 이 전사인자는 항산화 물질에 의해 활성화되고, 활성화된 Nrf2는 핵막을 통과하여 제2상 효소의 전사를 조절

하는 promoter region인 ARE에 결합함으로써 제2상 효소의 발현을 위한 전사를 유도한다. 그리고 이 Nrf2의 활성을 조절하는 것으로 알려진 상위 신호전달 물질로는 MAPK와 PI3K/Akt가 있고, 이들 신호전달물질은 인산화를 통해 활성화되는 것으로 알려져 있다. 본 연구에서는 lycopene의 처리에 의해 전사인자인 Nrf2의 발현은 유의적으로 증가하였고(Fig 5), 또한 Fig 6에서 보는 것과 같

이 lycopene의 처리는 JNK, p38, Akt의 인산화에는 큰 영향을 미치지 못하는 반면 ERK의 인산화는 유의적으로 유도하는 것으로 나타났다. 이 결과를 통해 lycopene은

전사인자인 Nrf2의 활성화와 MAPK 중 ERK의 인산화를 유도함으로써 제2상 효소 중 하나인 HO-1의 발현을 유도함으로써 항산화 효과를 나타내는 것을 알 수 있었다.

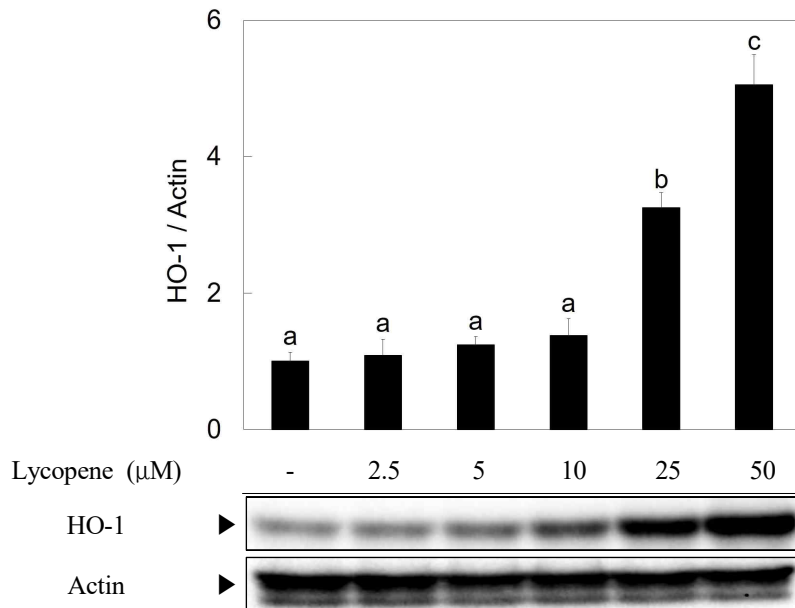


Fig 3. HO-1 induction by lycopene concentration in RAW 264.7 cells

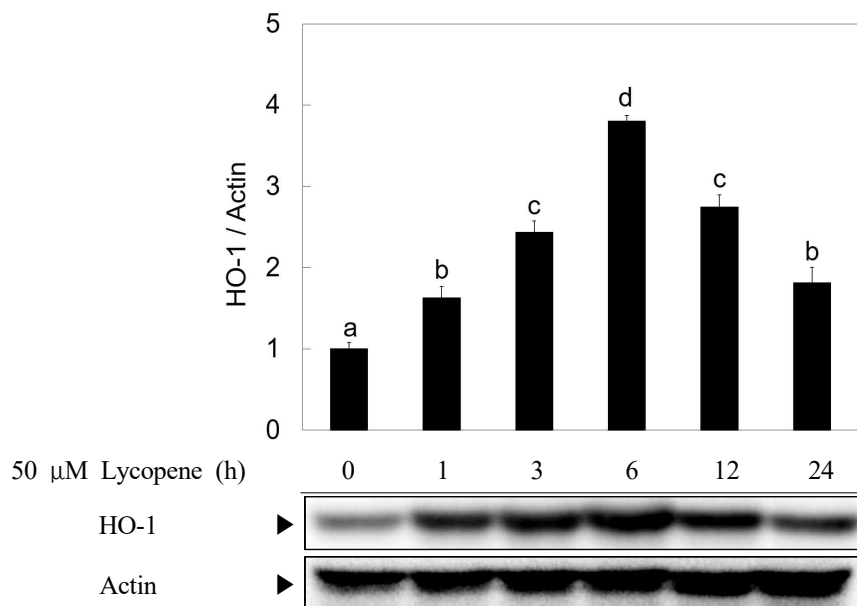


Fig 4. Enhanced HO-1 expression by exposure time of 50 μM lycopene in RAW 264.7 cells

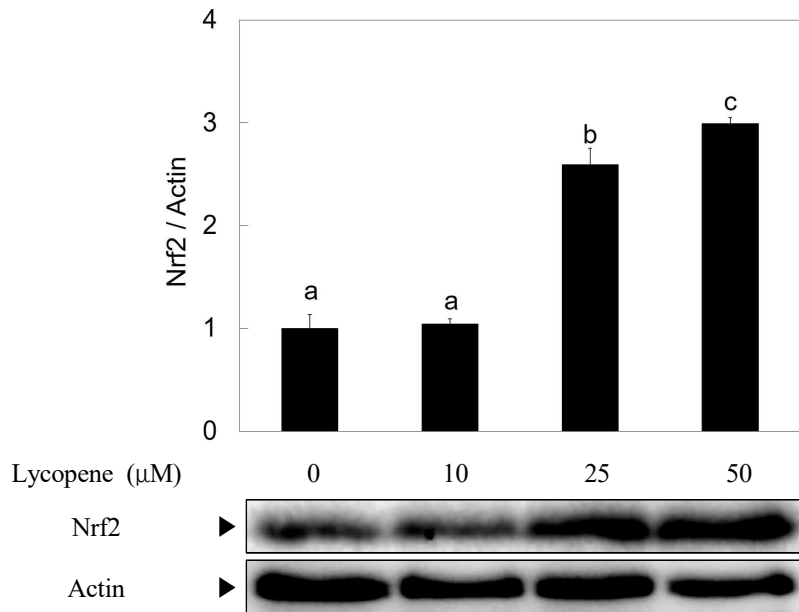


Fig 5. Nrf2 activation by lycopene treatment in RAW 264.7 cells

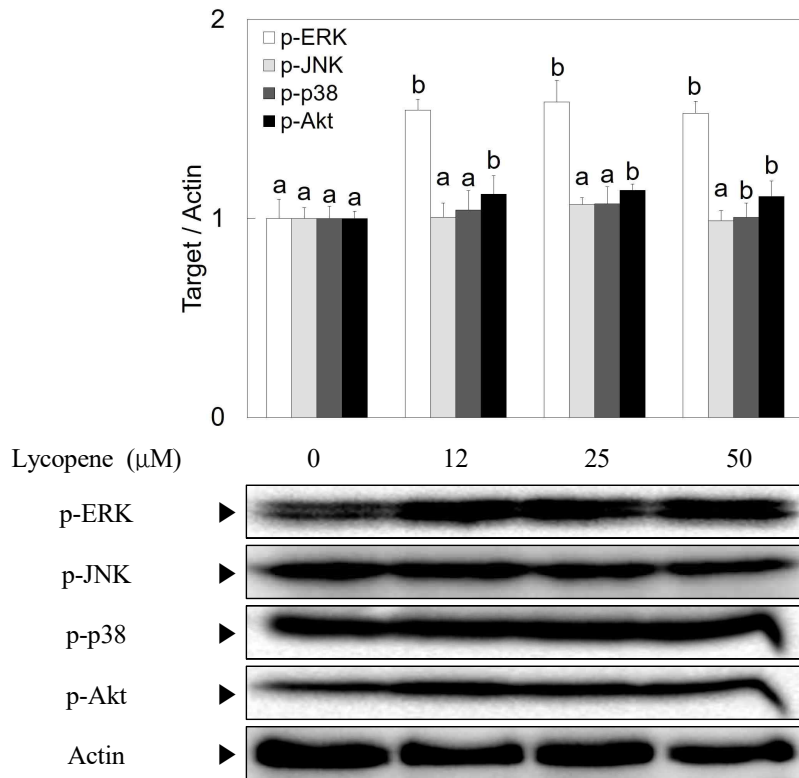


Fig 6. Phosphorylated status of MAPK and PI3K/Akt by lycopene treatment in RAW 264.7 cells

3. 산화 스트레스에 의한 세포사멸에 대한 lycopene의 세포 보호 효과

과도한 ROS에 노출된 세포는 세포내 지질, 단백질, DNA가 심각하게 손상됨으로써 세포사멸까지 유도될 수 있다. 본 연구에서는 유기과산화수소 중 하나인 t-BHP를 이용하여 RAW 264.7 세포에 세포사멸을 유도할 수 있는 농도의 산화적 스트레스를 가함으로써 lycopene의 항산화 효과를 확인하고자 하였다. 그 결과 Fig 7에서 보는 것과 같이 t-BHP에 의한 지질과산화로 세포독성이 급격하게 증가하였고, 이는 lycopene의 처리로 인해 유의적으로 완화되는 결과를 확인할 수 있었다. 그리고 이 결과는 MAPK 신호전달물질 중 ERK의 선택적 저해제인 U0126, JNK의 선택적 저해제인 SP600125, p38의 선택적 저해제인 SB202190과 PI3K의 선택적 저해제인 LY294002 뿐만 아니라 HO-1의 선택적 유도제인 CoPP,

HO-1의 선택적 저해제인 SnPP까지 RAW 264.7 세포에 처리함으로써 각각의 신호전달물질에 의한 항산화능 억제 효과와 HO-1에 의한 항산화 효과를 확인하고자 하였다. 그 결과 lycopene은 t-BHP에 의해 유도되는 세포사멸을 유의적으로 억제하였고, SnPP와 CoPP의 결과로 보아 HO-1에 의한 항산화 효과 또한 존재하는 것을 확인할 수 있었다. 그리고 선택적 저해제 중 ERK 억제제에 의하여 lycopene에 의한 세포사멸 억제 효과가 완화된 것으로 보아 ERK에 의해 HO-1의 발현이 유도되고, 이로 인해 항산화 효과가 나타난다는 것을 알 수 있었다. 결론적으로, lycopene은 Nrf2와 ERK의 활성을 통하여 HO-1 과발현을 유도하고, 이는 t-BHP에 의해 유발된 산화적 스트레스를 효율적으로 소거함으로써 세포의 항산화능을 강화한다는 것을 시사한다.

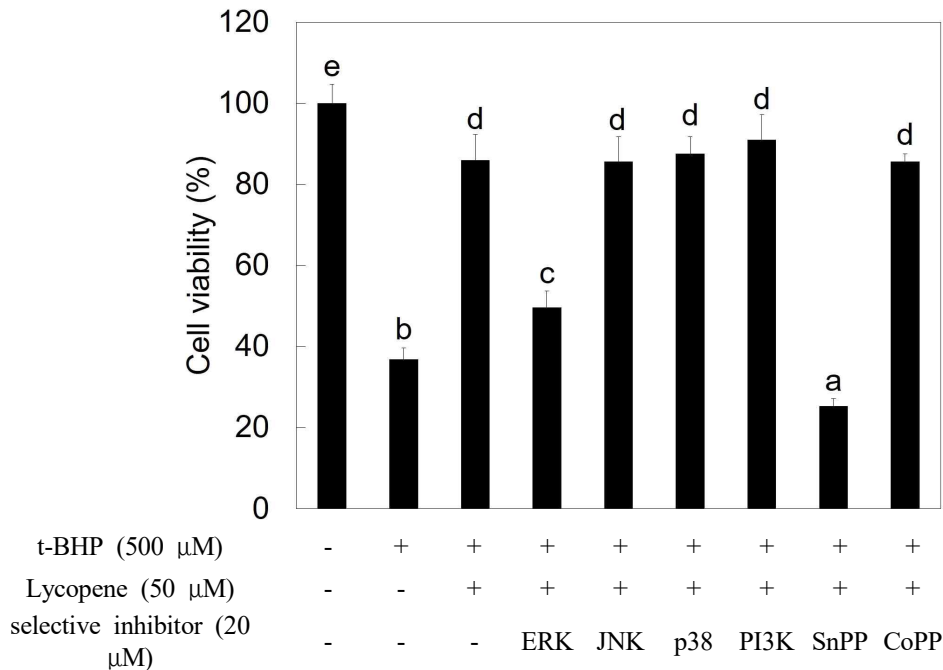


Fig 7. Enhanced antioxidative potential by lycopene against the t-BHP-induced oxidative damage in RAW 264.7 cells

IV. 고 찰

본 연구에서는 lycopene의 항산화 효과를 확인하기 위하여 RAW 264.7 세포에 t-BHP를 처리하여 산화 스트레스를 유발한 후 ROS 소거능을 분석하고, 제2상 효소 중 하나인 HO-1의 발현도와 HO-1 발현에 의한 항산화 효과 또한 분석하였다. 그리고 HO-1의 발현을 조절하는 전사인자인 Nrf2와 세포 내 신호전달 물질인 PI3K/Akt와 MAPK의 활성화 또한 western blot으로 분석하였다.

lycopene은 카로티노이드 중 일중항 산소를 소거하는 능력을 가졌고, 이는 β-carotene보다 2배, α-tocopherol보다 10배 더 강한 것으로 보고되었다(Wu 등, 2023). 본 연구의 결과에서도 t-BHP에 의해 생성된 intracellular ROS가 lycopene의 처리에 의해 농도 의존적으로 감소하는 것을 볼 수 있었고, 이는 앞서 언급한 것과 같이 lycopene의 뛰어난 활성 산소의 소거능에 의한 것으로 생각할 수 있다. 그리고 세포독성 평가를 위해 WST-1 assay를 실시한 결과 lycopene은 가장 높은 농도인 50 μM에서도 세포독성을 나타내지 않았다. 그리고 산화 스트레스로부터 세포를 보호하는 항산화 물질의 특성은 제2상 효소의 발현 유도에서 기인하는 것으로 보고되고 있다(Takahashi 등, 2004). 그 중 HO-1을 통한 세포보호 작용은 세포내외부로부터 발생하는 산화 스트레스를 제거하기 위한 세포의 주요한 방어 기전 중 하나로 HO-1은 heme을 biliverdin, free iron 및 carbon monoxide로 분해하고, HO-1에 의해 생성된 대사물질들은 강력한 항산화 활성을 나타낸다(Chau, 2015). 본 연구에서는 항산화 활성을 나타내는 HO-1과 그 전사인자인 Nrf2의 단백질 발현 정도를 알아보기 위하여 western blot을 진행하였고 그 결과 RAW 264.7 세포는 50 μM의 lycopene에 6시간 동안 노출되었을 때 강하게 HO-1의 발현이 유도되는 것을 확인할 수 있었고, Nrf2 또한 농도 의존적으로 발현이 강해지는 것을 확인할 수 있었다.

Nrf2는 정상 상태에서 Keap1과 복합체를 이루어 세포질내에서 낮은 농도로 존재하지만 산화적 스트레스나 lipopolysaccharide(LPS)와 같은 외부의 자극을 받게되면 Keap1과 분리되어 활성화되며 핵내로 전위되어 Nrf2의 promoter region인 ARE에 결합함으로써 ARE에 의해 발

현이 조절되는 다양한 유전자의 전사에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다(Lin 등, 2023). 이러한 결과는 UV에 노출한 human dermal fibroblast에 lycopene과 lycopene을 비롯한 토마토에 포함된 항산화 물질을 섞은 시료의 효과를 분석한 Fernández-García(2014)의 연구와 tomato powder를 처리한 동물에서 Nrf2/HO-1의 발현이 조절된 연구 결과와 같은 경향을 보여주는 것이었다(Fernández-García, 2014; Tuzcu 등, 2012). 항산화 효소의 활성화와 관련된 또다른 기전은 MAPK, PI3K/Akt와 같은 kinase로서 이들은 RAW 264.7 세포에서 HO-1의 발현과 Nrf2의 활성화에 의해 매개되는 전사와 관련된 것으로 보고되고 있다(Kim 등, 2010). 본 연구에서 ERK, JNK, p38 MAPK와 Akt의 인산화 정도를 western blot으로 분석한 결과 lycopene의 농도가 높아짐에 따라 JNK, p38, Akt의 인산화에는 변화가 없는 반면 ERK는 유의적으로 활성이 높아진 것을 확인할 수 있었으며 lycopene의 농도에 따른 농도 의존도는 나타나지 않았다. 그리고 HO-1 유도에 의한 산화 스트레스 억제 효과를 분석한 결과 CoPP(HO-1 유도제)의 처리로 t-BHP에 의한 세포사멸이 억제된 반면 SnPP(HO-1 억제제)에 의해 높은 세포사멸이 나타난 것으로 보아 HO-1이 산화적 스트레스를 효과적으로 억제할 수 있음을 보였다. 특히, MAPK의 활성화에 의한 HO-1의 발현 유도가 신호전달물질에 의해 결정되는지를 각 MAPK와 PI3K의 선택적 저해제를 이용하여 실험을 진행하였다. 그 결과 JNK, p38, Akt의 저해제를 처리한 RAW 264.7 세포는 t-BHP에 의한 세포사멸이 lycopene의 처리로 억제되어 이들은 HO-1의 발현에 영향을 미치지 못하는 것을 확인하였다. 그리고 ERK 저해제를 처리한 RAW 264.7 세포는 t-BHP에 의한 세포사멸의 정도가 대조군보다는 낮으나 유의적으로 억제된 것으로 보아 HO-1 발현이 유의적으로 억제되었고, 그로 인한 세포사멸 억제효과가 나타나지 않은 것으로 생각할 수 있었다. 이는 quercetin이 ERK를 통해서, sanguinarine이 p38을 통해서, luteolin과 luteolin-7-O-glucoside가 Akt를 통해서 HO-1의 활성을 유도하는 것으로 보고된 그간의 다른 연구에서와 같이 MAPK와 PI3K가 HO-1의 발현 조절에 중요한 역할을 하는 것을 알 수 있는 결과로 생각된다(Song & Park, 2014; Vrba 등, 2011).

RAW 264.7 세포에서 항산화 효소로 알려진 HO-1의

유도를 통해 산화 스트레스를 방어하는 연구가 보고되어 있어 본 연구에서는 lycopene이 항산화 효과를 발휘하는 기전을 분석하고자 하였다. 그 결과 lycopene의 처리에 의하여 농도 의존적으로 강한 HO-1의 발현이 유도되었고, 이는 Nrf2와 MAPK 중 ERK의 인산화를 통해 이루어진다는 것을 알 수 있었다. 이러한 연구 결과를 통해 lycopene은 산화 스트레스로부터 발생할 수 있는 다양한 질환을 억제할 수 있는 항산화 소재의 후보가 될 수 있음을 확인하였다.

V. 결 론

본 연구에서는 RAW 264.7 세포에 lycopene의 처리로 유도되는 HO-1의 발현에 의한 항산화 효과와 그 기전을 분석하였다. 실험 결과 lycopene은 t-BHP에 의해 생성된 ROS를 유의적으로 소거하였고, HO-1의 발현을 강하게 유도하였다. 그리고 전사인자인 Nrf2와 신호전달물질인 MAPK 중 ERK의 인산화를 유의적으로 활성화함으로써 HO-1을 유도하는 것으로 나타났다. MAPK 신호 전달 체계의 확인을 위하여 선택적 저해제를 이용한 세포 보호 효과 실험을 통해서도 HO-1이 t-BHP에 의해 유도되는 세포사를 효과적으로 억제하는 것을 확인하였을 뿐만 아니라 ERK 저해제를 처리한 RAW 264.7 세포에서는 lycopene에 의한 세포사 보호 효과가 나타나지 않았다. 이상의 결과를 통해 lycopene에 의해 유도된 HO-1의 과발현으로 나타나는 항산화 효과는 Nrf2와 ERK를 통하여 신호 전달이 이루어지는 것을 확인할 수 있었고, 이는 lycopene이 신체내외부에서 발생하는 산화 스트레스를 조절할 수 있는 활성이 있음을 나타낸다. 따라서 본 논문의 결과를 바탕으로 향후 lycopene의 항산화 효과에서 기인한 세포 보호 효과의 in vivo 동물 실험이 이루어지면 lycopene의 천연 항산화제로서의 가치를 충분히 입증할 수 있을 것으로 사료된다.

참고문헌

- Chau LY(2015). Heme oxygenase-1: emerging target of cancer therapy. *J Biomed Sci*, 22(1), Printed Online. <https://doi.org/10.1186/s12929-015-0128-0>.
- Durairajanayagam D, Agarwal A, Ong C, et al(2014). Lycopene and male infertility. *Asian J Androl*, 16(3), 420-425. <https://doi.org/10.4103/1008-682X.126384>.
- Farombi EO, Surh YJ(2006). Heme oxygenase-1 as a potential therapeutic target for hepatoprotection. *J Biochem Mol Biol*, 39(5), 479-491. <https://doi.org/10.5483/bmbrep.2006.39.5.479>.
- Fernández-García E(2014). Photoprotection of human dermal fibroblasts against ultraviolet light by antioxidant combinations present in tomato. *Food Funct*, 5(2), 285-290. <https://doi.org/10.1039/c3fo60471c>.
- Johnson GL, Lapadat R(2002). Mitogen-activated protein kinase pathways mediated by ERK, JNK, and p38 protein kinases. *Science*, 298(5600), 1911-1912. <https://doi.org/10.1126/science.1072682>.
- Keum YS(2012). Regulation of Nrf2-mediated phase II detoxification and anti-oxidant genes. *Biomol Ther (Seoul)*, 20(2), 144-151. <https://doi.org/10.4062/biomolther.2012.20.2.144>.
- Khan UM, Sevindik M, Zarrabi A, et al(2021). Lycopene: food sources, biological activities, and human health benefits. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, Printed Online. <https://doi.org/10.1155/2021/2713511>.
- Kim J, Cha YN, Surh YJ(2010). A protective role of nuclear factor-erythroid 2-related factor-2 (Nrf2) in inflammatory disorders. *Mutat Res*, 690(1-2), 12-23. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2009.09.007>.
- Lin L, Wu Q, Lu F, et al(2023). Nrf2 signaling pathway: current status and potential therapeutic targetable role in human cancers. *Front Oncol*. 13, Printed Online. <https://doi.org/10.3389/fonc.2023.1184079>.
- Ma Q(2013). Role of nrf2 in oxidative stress and toxicity. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 53, 401-426.

- <https://doi.org/10.1146/annurev-pharmtox-011112-140320>.
- Park CM(2018). Fortified antioxidative potential by chrysoeriol through the regulation of the Nrf2/MAPK-mediated HO-1 signaling pathway in RAW 264.7 cells. *J Life Sci*, 28(1), 43-49. <https://doi.org/10.5352/JLS.2018.28.1.43>
- Sies H(1997). Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Exp Physiol*, 82(2), 291-295. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.1997.sp004024>.
- Song YS, Park CM(2014). Luteolin and luteolin-7-O-glucoside strengthen antioxidative potential through the modulation of Nrf2/MAPK mediated HO-1 signaling cascade in RAW 264.7 cells. *Food Chem Toxicol*, 65, 70-75. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.12.017>.
- Takahashi T, Morita K, Akagi R, et al(2004). Heme oxygenase-1: a novel therapeutic target in oxidative tissue injuries. *Curr Med Chem*, 11(12), 1545-1561. <https://doi.org/10.2174/0929867043365080>.
- Vrba J, Orolinova E, Ulrichova J(2012). Induction of heme oxygenase-1 by *Macleaya cordata* extract and its constituent sanguinarine in RAW264.7 cells. *Fitoterapia*, 83(2), 329-335. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2011.11.022>.
- Wu H, Wu Y, Cui Z, et al(2023). Nutraceutical delivery systems to improve the bioaccessibility and bioavailability of lycopene: a review. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 19, 1-19. <https://doi.org/10.1080/10408398.2023.2168249>.