

Review

혈관 내피 기능과 노화: 식이와 건강기능식품의 역할

권유리 · 박희정^{1*}

(주)뉴트리 건강식품연구소, ¹상명대학교 식품영양학과

Association of Vascular Endothelial Cell with Aging: The Role of Dietary Pattern and Health Functional Food

Yuri Kwon and Hee-Jung Park^{1*}

Health Food Research and Development, NEWTREE Co., Ltd

¹Department of Foodservice Management and Nutrition, Sangmyung University

Abstract

The endothelium, a continuous monolayer of cells that surrounds blood vessels, has a variety of physiological roles. Chronic exposure to psychological and physical stress, oxidative stress, and inflammation activates the endothelial signaling cascade, resulting in vascular dysfunction such as vasospasm, thrombosis, and abnormal vascular proliferation. Aging is also a significant factor in vascular dysfunction, mainly developing structural and functional changes in the endothelium. The molecules involved in endothelial dysfunction are typically angiopoietin-1 (Ang-1), Tie2, and tight junction proteins. Ang-1, an oligomeric-secreted glycoprotein, is required for the correct organization and maturation of newly-formed vessels. Ang-1 binding to tyrosine kinase receptors Tie-2 leads to the phosphorylation and activation of multiple signaling pathways related to vascular permeability. Endothelial junctions are another vital target of Tie-2 activation. Nutrition and food are closely connected with vascular dysfunction and permeability. The caloric restriction prevents age-related declines in endothelial function. Dietary patterns that prioritize moderate intake of fruits and vegetables, whole grains, low-fat dairy products, and lean meats improve endothelial function in the elderly. Natural products such as *Centella asiatica*, *Pueraria montana*, and *Piper retrofractum* have also been shown to help inhibit endothelial dysfunction. This review provides an update on aging-related vascular dysfunction and the role of food and nutrition.

Keywords: vascular dysfunction, aging, dietary pattern, functional health food

서 론

혈관은 외막, 중막, 내막의 3개 층으로 구성되어 있고, 내막은 혈관의 내부 표면에 위치한 단일 층의 내피세포(endothelium cell)와 내피층을 둘러싸는 기저막으로 구성된다(Bonetti et al., 2003; Widlansky et al., 2003; Hildebrandt & Chao, 2020). 혈관 내피세포는 혈관의 최안쪽 단층의 세포층으로 이루고 있으며, 혈류의 흐름에 의해 자극을 받고 혈액 내의 다양한 활성 인자 및 면역 세포 등과 상호작용을 하는 세포이다. 혈관 내피는 내피 장벽의 기능을 가지고 있으며(Bonetti et al., 2003; Rho et al., 2017) 내피 및 주변 혈관 평활근 세포 내에서 작용하는 다양한 혈관

활성 분자(angiotensin, bradykinin, histamine, nitric oxide 등)를 합성하고 자가분비(autocrine) 또는 측분비(paracrine) 방식으로 혈행 기능 및 혈관 항상성 조절에 관여한다(Lüscher & Barton, 1997; Cines et al., 1998). 혈행 기능 및 혈관 항상성에는 혈관의 수축과 이완 기능을 포함하고, 혈액의 흐름, 혈액 공급을 통한 체내 산소와 영양분의 제공 기능까지 모두 포함된다. 혈관 내피세포에 의해 혈관 기능이 일정하게 유지되지만, 외부 요인에 의해 장기간 혹은 비정상적인 염증반응 및 산화적 스트레스 상태가 유지될 경우에는 혈관 기능 이상 및 심혈관계 질환을 유도하기 때문에 혈관 내피세포 기능 조절은 매우 중요하다.

동맥과 정맥, 그리고 동맥과 정맥 시스템을 연결하는 모세혈관에 존재하는 혈관 내피세포는 혈장액, 단백질 및 세포의 혈액 조직 교환을 위한 반투과성 장벽을 형성하고, 내피 투과성 조절은 혈류의 순환 항상성과 체내 생리적 기능을 유지하는 데 필수적이다. 혈관 내피세포에서 분비되는 혈관 확장 및 수축 물질의 불균형 시 혈관벽 손상 및 혈관 투과성의 유도로 인해 혈관 내벽 두께를 증가시키게

*Corresponding author: Hee-Jung Park, Department of Foodservice Management and Nutrition, Sangmyung University, 20, Hongjimun 2-gil, Jongno-gu, Seoul 03016, Korea
Tel: +82-2-2287-6163; Fax: +82-2-2287-0104
E-mail: heejp2020@smu.ac.kr
Received September 29, 2022; revised October 18, 2022; accepted October 18, 2022

된다. 이는 주로 동맥에서 발생하는 심혈관계 질환의 기전으로 설명된다. 정맥의 경우는 산화적 스트레스 및 염증반응 시 혈관 투과의 유도가 증가되는 부위로 알려져 있다 (Majno et al., 1961). 혈관 직경은 동맥보다 크지만 혈관벽의 두께는 훨씬 얇기 때문에(Nathaniel et al., 2009), 혈관 내피세포 기능이 더욱 중요하다 할 수 있다. 혈관 내피세포의 조절 기능 이상 발생 시 모세혈관에서는 조직 간질 세포로의 과도한 누출이 발생할 수 있으며, 이는 혈관성 부종 상황을 유발하여 조직 손상을 유발할 수 있다(Oakely & Tharakan, 2014; Claesson-Welsh, 2015). 혈관 내피 기능의 조절 이상은 미세 혈관에서 발생할 가능성이 더 높으며(Oakely & Tharakan, 2014), 이로 인해 발생하는 미세혈관 질환은 혈류 및 혈관 긴장도의 조절 장애로 인해 조직으로의 산소 전달 장애, 산화 스트레스 증가, 모세혈관의 직경이 감소되는 등의 증상이 보고되었다(Behroozian & Beckman, 2020).

혈관 내피세포 기능 장애에 관여하는 인자는 다양하게 존재하며, 노화 및 이로 인해 발생하는 염증, 산화적 스트레스, 질병 상태에 따라 기능 이상이 발생함이 보고되고 있다. 혈관 내피세포 기능 장애 발생 시 운동을 통해 회복이 가능하다는 연구 논문(Hurley et al., 2019)이 일부 있으나, 식이패턴이나 건강기능식품과 혈관 내피세포 기능 장애에 대한 연관성을 살펴본 연구는 아직 부족한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 혈관 내피세포 기능에 관여하는 여러 인자와 노화와의 연관성을 살펴보고, 식이패턴이나 건강기능식품이 기능 장애를 조절할 수 있는지에 대해 조사 검토하고자 한다.

혈관 내피 기능 조절 인자

혈관의 내피 기능은 내피세포를 직접적으로 구성하게 되는 내피 전구 세포(endothelial progenitor cell, EPC)와 내피세포에서 분비되는 산화질소(nitric oxide, NO), 내피세포와 세포 사이를 연결하는 세포접착 분자 등에 의해 조절되며, 이들에 의한 세포 내 신호전달에 영향을 미치게 된다.

EPC는 혈액 순환에 유입되어 증식 및 여러 세포 유형으로 분화할 수 있는 세포이다(Arjmand et al., 2021). Khakoo & Finkel (2005)의 연구에 따르면 EPC 수와 기능은 내피세포 손상 및 기능 장애와 밀접하게 관련되어 있기 때문에 혈관 투과성에 영향을 미치게 되고 임상에서 혈관 기능 및 심혈관계 질환에 위험을 높이는 것으로 보고되었다.

내피세포는 NO를 생성하는 내피 산화질소 합성효소(endothelial nitric oxide synthase, eNOS)를 발현시키며, eNOS에 의해 생성되는 NO에 의해 혈관 내피 기능이 주로 조절된다(Seals et al., 2011). NO는 혈관 평활근 이완, 혈소판 활성화의 억제 및 내피 표면에 대한 부착(Loscalzo, 2001), 사이토카인 및 세포 부착 분자의 합성 및 발현

(Hossain et al., 2012), EPC 기능 보존 등에도 관여하게 된다.

혈관 내피 기능과 밀접한 관련이 있는 내피세포 접합부는 밀착 접합부와 유착 접합부로 구성된다(Reglero-Real et al., 2016). 세포 접합부는 상피 조직의 지지 상태를 유지하고 세포 간의 신호 전달을 조절하는 세포 간 접착 부위이다(Knights et al., 2012). 밀착 연결은 상피 세포막의 선단 부 영역 내에 존재하며, 세포 사이에는 claudin과 occlusion이 존재하며 이를 지지하고 있는 zonular occludens (ZO)와 액틴은 세포 내부에 위치한다(Knights et al., 2012). 혈관 내피세포의 경우 주된 밀착 연결 단백질은 occludin과 claudin-5이며, 단층 세포층의 투과도에 영향을 미치게 된다(Saker et al., 2014). 유착 접합부에서는 E-cadherin (epithelial cadherin)은 세포 간 접착 접합의 주요 구성 요소이며(Vila Cuenca et al., 2019), VE-cadherin (vascular endothelial cadherin)은 내피세포에서 주로 발견된다. 세포 내부에는 α - 및 β -catenin을 포함하는 복합체가 존재하며, 내피세포 접착 분자 및 VE-cadherin은 말초 미세혈관 내피 기능을 조절하는 데 중요한 역할을 한다(Childs et al., 2007; Childs et al., 2008; Kumar et al., 2009).

Angiopoietin 1-4 (Ang1-4)는 혈관 특이적 성장 인자이며, 티로신 키나제 수용체인 Tie-1 및 Tie-2를 통해 활성이 매개된다(Davis et al., 1996). Ang1과 Ang2는 혈관주변세포(pericytes)와 내피세포에 의해 각각 생성되며(Davis et al., 1996), Ang1-Tie2 결합은 인산화(Gaengel et al., 2009)를 혈관 신생을 유도하고 혈관 내피 기능을 조절하는 다중 신호 전달 경로의 활성화를 유도한다(Brindle et al., 2006; Augustin et al., 2009). Ang-1에 의한 Tie-2 수용체의 자극은 세포 신호전달 경로인 Akt를 통해 eNOS 활성을 유도한다고 Augustin et al. (2009)과 Babaei et al. (2003)이 보고하였으며, Alfieri et al. (2014)은 eNOS와 VE-cadherin 조절이 통해 eNOS 활성화 및 미세혈관 내피 기능을 조절함을 보고하였다.

미세입자(microparticle, MP)는 다양한 유형의 세포(내피세포, 혈소판 및 백혈구)들의 세포 사멸, 염증 활성화 및 세포 스트레스 상태에서 분해되어 나온 인자이다(Boulanger et al., 2006). 내피 미세입자(endothelial microparticle, EMP)는 0.1 μm 에서 1 μm 크기의 세포막에서 파생된 소포로서 혈관 평활근 세포, 단핵구, 내피 전구 세포 및 기타 내피세포와 같은 표적 세포와 직접적으로 상호 작용하며(Carmona et al., 2017; Favretto et al., 2019; Ryu et al., 2019), 표적 세포 내 신호전달 경로를 직접적으로 활성화시키는 역할을 한다(Ryu et al., 2019).

최근 연구에서는 세포 신호 전달 경로 중 caspase-3 활성이 말초 미세혈관 과투과성을 유발하는 주요 기전으로 보고되고 있으며(Childs et al., 2008; Tharakan et al., 2008; Tharakan et al., 2012), 이는 세포접착 분자와 연관

되는 것으로 보고되고 있다(Steinhusen et al., 2000; Wu et al., 2014). Caspase-3 활성화는 내피세포에서 세포-세포 접착의 핵심 역할을 하는 VE-cadherin- β -catenin 복합체를 파괴하고(Childs et al., 2007). VE-cadherin- β -catenin 복합체의 손상은 미세혈관 과투과성을 유발하게 된다(Steinhusen et al., 2000; Tharakan et al., 2012).

또 다른 신호전달 경로 중 Sirtuin-1 (SIRT-1)은 에너지 보존 및 스트레스 저항 경로를 활성화하는 경로 중 하나이다. 세포질에서 SIRT-1은 eNOS를 직접 탈아세틸화하여 NO 합성을 증가시키는 역할을 하며(Mattagajasingh et al., 2007), SIRT-1 저해 시 동맥에서 NO 매개 혈관 확장을 감소시키는 것으로 나타났다(Mattagajasingh et al., 2007; Donato et al., 2011). 핵에서 SIRT-1의 활성화는 NO 합성 유지 및 NO 분해 억제 단백질의 유전자 발현을 조절함으로써 간접적으로 NO 생체 이용률을 증가시킨다(Olmos et al., 2013; Xia et al., 2013).

혈관 내피 기능과 노화

내피 전구 세포의 노화는 혈관 노화 과정과 밀접한 연관성을 가진다(Table 1). 건강한 개인의 EPC 수는 나이가 들면서 감소한다(Thum et al., 2007). 이는 손상된 혈관벽의 회복을 어렵게 하며, 만성 염증 상태를 유발하며 이는 다시 EPC 기능을 손상시키게 되는 악순환 구조를 만든다(Csiszar et al., 2003). Thum et al. (2007)은 인체시험을 통해 노인에서의 EPC 수가 감소하고 EPC 기능(EPC 생존율, 분화 정도 등)이 저해하는 것을 확인하였다. 더불어, 노화된 동물모델에서도 성장인자(성장호르몬 혹은 인슐린 유사 성장인자) 투여 시 EPC 기능이 향상됨을 확인하였고, eNOS 발현 역시 노화 시 발현이 억제되었으나, 성장인자 투여 시 정상 대조군과 유사한 수준으로 회복시키는 것으로 보고하였다. 또 다른 동물시험 연구에서도 노화에 따라 EPC 기능 저하와 eNOS 활성이 저해되는 것으로 나타났다(Zhu et al., 2009). 인체적용시험 연구에서도 노화와 EPC 연관성에 대한 여러 보고들이 있다. Keymel et al. (2008)의 연구에서는 노화에 따라 intima-media thickness (IMT) 두께는 증가하고, EPC migration은 저해됨을 보고하였다. Heiss et al. (2005)의 연구에서도 노화에 따라 EPC 수에는 영향이 없었으나 EPC 기능 저해를 보고하였고, flow-mediated dilation (FMD)는 EPC migration과 분화 정도와 밀접한 연관성이 있었다. 따라서 노화에 따라 EPC 기능이 감소되는 것은 NO 생성능에 영향을 미치고, 심혈관계 질환 위험도를 높이는 것으로 판단된다.

NO 생체 이용률은 NO 분해 가속 및 내피에 의한 NO 합성 감소의 결과로 노화에 따라 내피세포에서의 생성이 감소한다(Csiszar et al., 2003; Seals et al., 2011). 이는 혈관 내피 기능 변화로 연결된다(Irani, 2000; Seals et al.,

2011). HUVEC (Human umbilical vein endothelial cell) 세포에 노화를 유도하여 확인한 결과, 자가분비 또는 측분비에 관여하는 내피 기능 관련 물질이 저해됨이 보고되었고(FAN et al., 2022) Yoon et al. (2010)의 보고에서 HUVEC에서 NO 생산은 세포 노화에 따라 크게 감소하였으며, 세포 노화에 따라 eNOS 단백질 수준이 낮은 것으로 확인되었다. Ser-1177(활성)에서의 eNOS 인산화는 세포 doubling이 진전될수록 점진적으로 감소하였고, Thr-495(비활성)에서의 eNOS 인산화는 노화된 세포에서 증가하였다. 노화에 따른 산화적 스트레스 또한 NO 생성 감소의 기전으로 알려져 있다(Seals et al., 2011). 과산화물의 공급은 NO와 빠르게 반응하여 2차 자유 라디칼인 과산화아질산염(ONOO-)을 형성하여 NO의 생체 이용률을 감소시키고 산화 스트레스에 더욱 기여하게 된다. 과산화아질산염에 노출된 eNOS는 eNOS dimer를 불안정화 시킴으로써 용량 의존적으로 eNOS의 활성이 저해되는 것으로 확인되었다(Chen et al., 2010).

혈관 내 SIRT-1 활성화는 일반적으로 노화와 함께 감소하고 eNOS 활성 감소 및 내피세포 노화 증가를 통해 혈관 기능 장애에 기여한다(Donato et al., 2011; Bai et al., 2014). HUVEC를 이용한 세포실험에서 노화에 따라 SIRT-1 활성이 감소함이 보고되었고(He et al., 2015), Donato et al. (2011) 연구에서는 아세틸화된 eNOS의 축적은 노화위의 혈관에서 주로 발생하며 eNOS 활성화의 핵심 마커인 eNOS 인산화 감소 및 NO 생체 이용률 감소에 영향을 미친다고 보고하였다. 동물실험뿐만 아니라 인체에서도 SIRT-1의 발현은 젊고 건강한 성인에 비해 노인의 내피세포에서 더 낮은 것으로 보고되어(Donato et al., 2011) 종합적으로, 노화에 따른 혈관 내피 기능은 eNOS 발현과 NO 생성에 밀접하게 연관이 있으며 SIRT-1 발현 및 활성의 감소가 노화에 따른 혈관 내피 기능 장애에서 중요한 역할을 하고 있다는 것을 의미한다.

Krouwer et al. (2012)은 세포 노화에 따라 부착 접합부에 영향을 미치고 특히 밀착 접합부에 영향을 미치면서 내피 장벽의 보존성을 손상시키는 것으로 보고하였다. 노화 세포로 구성된 단층의 장벽 기능은 손상되고, 접합 단백질 분포의 변화 및 occludin 및 claudin-5 발현의 감소가 동시에 확인되었다(Krouwer et al., 2012). 노화 시 인체조직에서 Ang1/Tie-2의 비율이 감소하였으며(Figueiredo et al., 2011), 동물실험에서도 Ang2의 발현은 6개월 된 쥐와 비교했을 때 12개월째에 유의한 감소가 관찰되었다(Cordeiro et al., 2010). 산화적 스트레스 상태에 노출한 HaCaT 세포에서 노출 시간에 따라 CLDN1의 불안정성을 유도하여 밀접 접합부 장벽의 파괴가 유도되고, 이는 세포 과투과성으로 확인되었다(Kobayashi et al., 2020). 이는 내피세포 노화가 세포접합단백질에 영향을 미치며, 내피세포 투과성에 영향을 미치는 것을 시사한다.

Table 1. Endothelial cell dysfunction and aging

Object of study	Biomarker	Results with aging	Reference
Aged HUVECs Cell	- Nitrite level - eNOS expression - eNOS regulatory protein (Caveolin-1, pAkt, Hsp90)	- Nitrite level ↓ - eNOS expression ↓ - Caveolin-1 ↑ - pAkt ↓ - Hsp90 ↓	Yoon et al., 2010
UV-exposure HaCaT cell	- NOS - Claudin-1 expression - TER	- NOS level ↓ - Claudin-1 expression ↓ - TER ↑	Kobayash et al., 2020
Old and young mice	- eNOS - peNOS - SIRT-1 Expression - Ac-eNOS	- eNOS (NS) - peNOS ↓ - SIRT-1 ↓ - Ac-eNOS ↑	Donato et al., 2011
Older and young healthy humans	- ACh-induced forearm EDD - SIRT-1 expression	- ACh-induced forearm EDD ↓ - SIRT-1 expression ↓	Donato et al., 2011
Senescent and non-senescent HUVECs	- VE-Cadherin - ZO-1 - Occludin - Claudin-5	- VE-Cadherin (NS) - ZO-1 ↑ - Occludin ↓ - Claudin-5 ↓	Krouwer et al., 2012
Rat during aging	- Ang1/Tie-2 - Ang2/Tie-2	- Ang1/Tie-2 (NS) - Ang2/Tie-2 ↓	Cordeiro et al., 2010
Mouse aortas	- eNOS expression - NO dependent dilation	- eNOS expression ↓ - NO dependent dilation ↓	Rippe et al., 2010
Middle-aged and elderly subjects (male)	- EPC number - EPC function - eNOS expression	- EPC number ↓ - EPC function ↓ - eNOS expression ↓	Thum et al., 2007
Old and young healthy individuals	- EPC number - EPC function - FMD	- EPC number (NS) - EPC function ↓ - FMD ↓	Heiss et al., 2005
Old and young healthy individuals	- IMT - EPC number - EPC migration	- IMT ↓ - EPC number (NS) - EPC migration ↓	Keymel et al., 2008
Young and aged rats	- EPC migration - EPC proliferation - EPC differentiation - eNOS activity	- EPC migration ↓ - EPC proliferation ↓ - EPC differentiation ↓ - eNOS activity ↓	Zhu et al., 2009
Wildtype mice during aging	- Cleavage caspase 3 - Vascular permeability	- Cleavage caspase 3 ↑ - Vascular permeability ↑	Piekarz et al., 2020
Young (3 months) and aged (24 months) mice	- Blood pressure - Intracerebral hemorrhage - MMP activation	- Blood pressure ↑ - Intracerebral hemorrhage ↑ - MMP activation ↑	Toth et al., 2015
Young and aged healthy individuals (ex vivo)	- Ang1/Tie-2 ratio - Ang2, VEGF expression	- Ang1/Tie-2 ratio ↓ - Ang2 ↑, VEGF ↑ expression	Figueiredo et al., 2011
Healthy subjects (22-75 years)	- Endothelial function (FMD) - Blood pressure - PWV - EMP	- Endothelial function (FMD) ↓ - Blood pressure ↑ - PWV ↓ - EMP ↑	Hoeffken et al., 2017

TER: Transepidermal electrical resistance; peNOS:eNOS phosphorylated at serine 1177; EPC: endothelial progenitor cell; FMD: flow-mediated dilation; IMT: intima-media thickness; MMP: Matrix metalloproteinases; PWV: pulse wave velocity; EMP: endothelial microparticle; NS: non-significant

내피세포 노화는 내피세포 사멸이 증가와 연관이 있으며, 이는 내피세포 노화의 회복 능력 감소시키고, 이는 심혈관질환의 위험도 증가시키게 된다(d'Alessio, 2004; Brandes et al., 2005). 심혈관 위험 인자가 있는 환자 및

심혈관계 질환 진단을 받은 환자에서 세포 사멸로 인한 EMP 농도가 증가되는 것이 알려져 있으며(Baron et al., 2012), EMP가 주로 죽상동맥경화증, 다발성경화증, 패혈증 등의 염증성 혈관 기능 장애 시 발견되기 때문에 혈관

Table 2. Endothelial cell dysfunction and nutrition

Nutrition	Object of study	Dietary intervention	Mechanisms	Reference
Caloric restriction	Male mice	Calorie restriction: 3 or 12 months	- eNOS ↑ - SIRT-1 ↑	Nisoli et al., 2005
Caloric restriction	Wild-type mice eNOS-deficient mice Adiponectin-deficient mice	65% CR: 4 weeks	- eNOS phosphorylation ↑	Kondo et al., 2009
Caloric restriction	B6D2F1 mice (30-31 months)	40% CR	- Blood pressure ↓ - PWV ↓ - EDD ↓ - NO ↑ - eNOS ↑ - SOD ↑ - Catalase ↑ - SIRT-1 ↑	Donato et al., 2013
Caloric restriction	Overweight or obese (25≤BMI<40 kg/m ²) nondiabetic subjects (21-69 years)	33% CR: 12 weeks	- FMD ↑ - NO ↑	Pierce et al., 2008
Caloric restriction	Primary human coronary artery endothelial cells	40% CR	- GSH content ↑ - SIRT-1 expression ↑ - Apoptotic cell ↓ - Caspase3/7 activity ↓	Csiszar et al., 2009
Caloric restriction	Mouse aortas	CR in aging: 8 weeks	- SIRT-1 ↑ - eNOS ↑	Rippe et al., 2010
MedDiet	Human umbilical endothelial cells from healthy elderly subjects	SFA diet CHO-ALA diet MedDiet	- ROS ↓ - Cellular apoptosis ↓	Marin et al., 2012
MedDiet	Human umbilical endothelial cells from healthy elderly subjects	SFA diet CHO-ALA diet MedDiet	- Total MP ↓ - Apoptotic EMP ↓ - EPC % ↑	Marin et al., 2011
High fat diet	Newborn suckling mice	Basic diet: C:P:F=82%:6%:2% High fat diet: C:P:F=21%:18%:60%	- MDA ↑ - ROS ↑ - Claudin-5 ↓	de Aquino et al., 2019
High fat diet	Adult male Wistar rats (8 weeks old)	45% of energy supplied by fat: 8 or 16 weeks	- Ang1 expression ↓ - Ang2 expression ↑ - Tie-2 expression ↑	Tomada et al., 2011

MedDiet: mediterranean diet; CR: calorie restriction; BMI: body mass index; SFA: saturated fatty acids; CHO-ALA diet: carbohydrate alanine diet; C:P:F: carbohydrate:protein:fat; PWV: pulse wave velocity; EDD: endothelium-dependent dilation; FMD: flow-mediated dilation; MP: microparticle; EPC: endothelial progenitor cell; MDA: malondialdehyde

내피세포의 손상 바이오마커로서 활용되고 있다(Deng et al., 2017; Shantsila, 2009). 일반적으로 세포 사멸 및 Caspase-3 등의 활성은 노화 유도 모델 세포에서 증가된다(Chen & Goligorsky, 2006). 동물모델에서도 노화에 따라 척수에서의 caspase-3의 발현도가 유의적으로 높았으며, 혈관의 투과성도 높은 것으로 나타났다(Piekarz et al., 2020). 결과적으로 노화에 따른 세포사멸사 및 caspase-3 활성화는 내피 손상 및 사멸을 가속화시키게 된다.

혈관 기능 장애 및 식이 영향

여러 연구 결과에 따르면 식이 패턴은 내피세포 손상 및

내피 기능 장애 감소와 연관이 있다(Zuchi et al., 2010; Klonizakis et al., 2013; Ungvari et al., 2018, Table 2).

열량 제한은 동물의 노화모델(Nisoli et al., 2005; Kondo et al., 2009) 및 노인(Pierce et al., 2008)에서 eNOS를 상향 조절하고 활성화함으로써 혈관 기능 저해를 지연시키는 것으로 나타났다. 혈압, 동맥벽두께, pulse wave velocity가 감소되며, NO 합성을 증가시키며 동시에 항산화 시스템을 활성화시키고, SIRT-1 등 다양한 기전을 통해 내피 기능 노화를 방지하는 것으로 나타났다. Donato et al. (2013)의 연구에서는 40%의 열량 제한을 실시한 시험동물에서는 NO 생체 이용률을 유지하여 설치류의 동맥에서 내피 기능의 노화를 방지하며, 동맥 산화 스트레스 및 염증 개선

(Csiszar et al., 2009; Donato et al., 2013)에 도움을 주는 것으로 나타났다. 특히 열량 제한은 노화 동물모델의 동맥 내 eNOS 단백질 발현을 어린 대조군 수준으로 증가시키는 것으로 보고되었다(Donato et al., 2013). 열량 제한이 eNOS 활성을 증가시키고, SIRT-1 발현을 증가시키는 것은 여러 연구를 통해 보고되고 있고(Nisoli et al., 2005; Kondo et al., 2009), Rippe et al. (2010)의 연구에서도 8주간의 열량 제한으로 SIRT-1이 활성화되고 설치류 대동맥에서 eNOS 단백질 발현이 증가함을 보고했다. 인체적용시험에서는 12주 동안 열량의 33%를 식이 제한한 결과, FMD가 증가하고 NO 생성량이 증가하는 것을 확인하였다(Pierce et al., 2008). 따라서 열량 제한은 에너지 감지 신호 경로 중 하나인 SIRT-1 경로 및 NO 합성에 영향을 주어 혈관 내피 기능에 관여하는 것으로 파악된다.

지중해식 식단은 생선, 야채, 과일, 통곡물, 콩류, 올리브 오일을 풍부하게 포함하는 식이 패턴이다. 노인을 대상으로 한 연구에 따르면 지중해식 식단을 섭취 시 포화지방산이 풍부한 식단이, 고탄수화물 식단에 비해 NO 생체 이용률이 증가하여 결과적으로 내피세포 기능이 개선되었다(Marin et al., 2011; Marin et al., 2012). 특히 지중해식단은 증재 기간 후 환자의 혈청과 함께 HUVEC를 배양한 결과 세포 내 ROS 생성이 낮고 세포 자멸사 수준이 저하되었으며, apoptotic EMP의 수준은 감소하고, EPC 비율은 증가하였다. 이는 지중해식 식단이 포화지방산 혹은 고탄수화물 식이에 비해 내피세포를 보호한다는 것을 의미하고, 활성산소종과 관련이 있는 것으로 파악된다.

동물모델을 이용하여 일반식이와 고지방식이의 비교에서 고지방식을 섭취한 실험군에서는 지질과산화물의 생성이 증가하고 활성산소종의 수준이 높아졌다. 더불어 세포 간 claudin-5 발현도가 감소하는 것으로 나타났다(de Aquino et al., 2019). Tomada et al. (2012)의 연구에서는 고지방식이(열량의 45%)로 Ang1 발현이 감소되었으나 Ang2 발현도는 증가하였으며, Tie-2 발현은 증가하는 경향을 보였다.

혈관 기능 장애 및 건강기능성 소재

혈관 기능 장애에 건강기능성 소재가 미치는 영향에 대해서는 다양한 소재들에 대해 연구되어 왔다(Table 3). 단삼(*Salvia miltiorrhiza* Bunge)은 중국에서 “Danshen”으로도 알려져 있으며 중국과 일본에 분포한다. 단삼의 뿌리, 뿌리 줄기, 줄기 및 잎은 중국 전통 의학에서 다양한 질병, 특히 심혈관계 질환을 치료하는 데 사용되어 왔다(Su et al., 2015). 단삼은 혈관 확장제 및 항염증 활성 및 혈관 신생 조절 능력으로 인해 내피세포를 보호함으로써 미세 순환에 유익한 역할을 한다. 내피의 보호 역할과 관련하여 산화적 스트레스 뿐만 아니라 TNF- α 에 의해 유발되는 내피 과투과성을 단삼추출물이 저해하였으며, 특히 VE-cadherin의

발현을 증진시키는 것과 연관이 있는 것으로 확인되었다(Ding et al., 2005). 고지방 식단을 먹인 난소 절제된 쥐 모델에서 단삼의 보충은 eNOS 발현을 상향 조절하고 NO 분비를 증가시켰다(Li et al., 2013). 단삼 중 대표적 기능 성분인 salvianolic acid B의 경우는 EPC 분화를 촉진하고, eNOS 및 VE-cadherin의 발현을 촉진하며, caspase-3 발현을 저해하여 혈관 내피세포 기능 유지에 도움을 준다(Tang et al., 2014).

Puerarin은 주로 *Radix puerariae* (갈근)에서 발견되는 이소플라본 중 하나로 LPS 유도 혈관 내피세포 과투과성으로부터 보호한다. TNF- α 및 IL-1 β 와 같은 전염증성 사이토카인의 증가가 VE-cadherin의 발현을 저해시켰으나, puerarin이 이를 다시 회복시키는 세포실험 결과가 제시되었으며, LPS로 유도된 단세포층의 투과성이 puerarin에 의해 억제되는 것으로 나타났다(Deng et al., 2019).

포도(*Vitis vinifera* L.)는 미세혈관 질환을 예방하는 것으로 알려져 있다(Agarwal et al., 2004; Lin et al., 2016), 구체적으로는 NO 합성을 증가시켜 내피 의존성 혈관 이완을 강화하며(Carrizo et al., 2013), 여러 동물 모델에서 포도추출물이 NF- κ B 경로를 억제하여 NO 생성을 증진시키고, 항산화 시스템을 강화시키는 것으로 보고되었다(Zolfaghari et al., 2015). 쥐 대동맥 및 소 대동맥 내피세포(BAEC)에서 세포의 노화 및 활성산소종 생산을 저해하였고, 동물실험에서 resveratrol은 고지방식으로 유도된 활성산소종의 생성을 저해함을 확인하고, 그 기전으로는 SIRT1/NADPH 산화효소 경로를 제시하였다(Tang et al., 2012). 또한 포도추출물의 주요 생리활성 화합물인 resveratrol을 6주 동안 보충한 경우, FMD가 23% 증가한 결과가 인체적용시험에서 보고되었다(Wong et al., 2011).

내피 보호 활성과 관련하여 은행(*Ginkgo biloba* L.)은 내피세포에서 eNOS의 발현을 농도 의존적으로 증가시킨다. 또한 활성 산소종의 생성을 저해하여 내피세포에서 oxLDL로 유도된 산화 스트레스를 저해하고, 세포사멸 경로, 특히 caspase-3 활성을 억제하였다(Ou et al., 2009). 동물모델에서의 난소 혈관의 투과성을 저해하는 것까지 확인이 되었으며, 인체적용시험에서는 건강한 성인의 말초혈액을 분리하여 EPC의 정도를 살펴본 결과, 은행잎추출물을 처리한 경우 telomerase 활성을 증가시켜 EPC의 노화를 감소시키는 것이 보고되었다(Dong et al., 2007).

병풀(*Centella asiatica*)에서 분리된 triterpenoid saponin인 madecassoside는 산화 스트레스로부터 내피세포를 보호한다(Bian et al., 2012). Madecassoside는 내피세포의 항산화 효소 수준을 증가시키고, H₂O₂로 유도된 지질과산화물의 수준을 감소시킨다. 더불어 세포자멸사를 억제시켜 caspase-3의 활성화를 저해하고, HUVEC를 보호할 수 있음을 시사하였다. 병풀과 포도복합추출물을 이용한 Seo et al. (2021)의 연구에서는 vascular permeability model에서 염증을 저

Table 3. Endothelial cell dysfunction and herbal extracts

Herbal extract	Object of study	Intervention status	Mechanisms	Reference
<i>Salvia miltiorrhiza</i>	HMEC-1 cell	High concentration of glucose	- ROS ↓ - Catalase, SOD ↑ - eNOS ↑ - VEGF ↓	Qian et al., 2011
<i>Salvia miltiorrhiza</i>	HUVECs	TNF-α induced cell	- Monolayer permeability ↓ - VE-cadherin ↑	Ding et al., 2005
<i>Salvia miltiorrhiza</i>	Sprague-Dawley rats (female, ovariectomized rat)	High fat diet	- Nitrate ↑ - eNOS ↑	Li et al., 2013
<i>Salvia miltiorrhiza</i>	Human BM-EPCs from healthy volunteers	H ₂ O ₂ -induced cell damage.	- VE-cadherin ↑ - eNOS ↑ - EPC proliferation ↑ - Cleaved caspase 3 ↓	Tang et al., 2014
<i>Centella asiatica</i>	HUVEC	H ₂ O ₂ treated cell	- Caspase 3 activity ↓ - Apoptotic cell death ↓ - MDA ↑ - GSH ↑	Bian et al., 2012
<i>Centella asiatica</i> + <i>Vitis vinifera</i> leaf	Rat (carrageenan-induced paw edema model)	CE-VVE mixture (400 mg/kg)	- Edema ↓ - Permeability of peritoneal or ear veins ↓	Seo et al., 2021
<i>Centella asiatica</i>	Human study Diabetic microangiopathy	120 mg/day: 6 months	- Microcirculation ↓ - Capillary permeability ↓	de Sanctis et al., 2001
<i>Ginko biloba</i>	Ovarian hyperstimulation syndrome rat model	Intraperitoneal injection	- Ovarian mass index ↓ - Vascular permeability ↓	Zhang et al., 2022
<i>Ginko biloba</i>	HUVECs	24% ginkgo flavone glycoside+6% terpenlactones	- eNOS ↑ - ROS production ↓ - Apoptotic cell death ↓ - Caspase 3 activity ↓	Ou et al., 2009
<i>Ginko biloba</i>	PBMC from healthy human volunteers	Extract 10-50 mg/L	- EPC number ↑ - Telomerase Activity ↑ - PI3K/Akt Cascade ↑	Dong et al., 2007
<i>Vitis vinifera</i>	Adult male Wistar rats	150 or 300 mg/kg/day 4 weeks	- Mean arterial ↑ - SBP and DBP ↓ - MDA ↓ - Nitrite ↑ - SOD ↑	Zolfaghari et al., 2015
Mucopolysaccharide polysulfate	Rat (VEGF-induced vascular permeability)	VEGF (50 ng/site) + MPS (2.5, 5, 10, or 20 μg/site)	- Ang1 ↑ - Claudin5 ↑ - p-Tie-2 ↑ - Vascular permeability ↓	Fujiwara-suniyashy et al., 2021
Piperine	Male Wistar rats (hyperlipidemic rats)	High fat diet + 40 mg/kg body weight piperine	- Aortic NO ↑ - Plasma NO ↑ - SOD, catalase, GSH ↑	Vijayakumar & Nalini, 2006
Piperine	Male Sprague-Dawley rats (Streptozotocin-induced diabetic cardiomyopathy)	Piperine (10, 20, 40 mg/kg): 28 days	- Bax/Bcl2 ratio ↓ - Caspase 3 activity ↓	Wang et al., 2020
Puerarin	HUVECs	LPS + puerarin (25, 50, 100 μM)	- Monolayer permeability ↓ - TNF-α, IL-1β ↓ - VE-cadherin ↑	Deng et al., 2019
Resveratrol	Overweight/obese (BMI 25-35 kg/m ²) men or post-menopausal women with hypertension	Resveratrol (30, 90 and 270 mg) * 6 capsule	- FMD ↑	Wong et al., 2011
Resveratrol	Patients with hypertension and dyslipidemia	Acetylcholine Ach+Res	- peNOS ↑	Carrizzo et al., 2013
Resveratrol	Adult male Wistar rats	High fat/sucrose diet + treat	- SIRT ↑ - ROS production ↓	Tang et al., 2012

EPC: endothelial progenitor cell; MDA: malondialdehyde; peNOS:eNOS phosphorylated at serine 1177

해하고 부종을 약화시키는 효과를 나타내었으며, 세포 투과성을 유의적으로 감소시키는 것으로 나타났다. 인체적용시험에서는 6개월 동안의 병풀추출물 섭취 시 미세순환을 증진시키고 혈관 내피 기능을 감소시키는 것이 보고되었다(de Sanctis et al., 2001).

자바후추(*Piper retrofractum*)는 인도 및 태국 전통 의학에서 다양한 질병의 치료제로 사용되었으며, 항산화활성 및 항균활성이 강하고, 항고지혈제, 항고혈압제로서의 효과를 가지는 것으로 알려져 있다(Duangjai et al., 2011; Neamsuvan et al., 2018) 자바후추 열매의 주된 기능성분인 piperine을 이용하여 동물실험을 진행한 연구에서는 L-NAME를 투여하여 eNOS 발현을 억제한 모델을 사용하였으며, eNOS 발현이 억제된 모델에서 piperine을 4주간 보충했을 경우 eNOS 발현이 증가되고, 감소되었던 NO 생성이 정상적으로 회복됨을 보고하였다(Vijayakumar & Nalini, 2006). 또 다른 동물모델에서 당뇨유발 동물모델을 이용하여 미세혈관이상 상태를 유도한 후 세포자멸사 경로를 분석한 결과, piperine의 경우는 Bax/Bcl2 ratio를 저해하고 caspase-3 활성을 억제하여 자바후추 열매의 경우 세포 사멸 이전에 관여하여 내피세포 기능에 이바지하는 것으로 보고되었다(Wang et al., 2020).

요 약

본 연구에서는 노화를 통해 야기될 수 있는 혈관 투과성 및 내피세포 기능 장애에 식이패턴 및 건강기능성 소재가 활용될 수 있는지 살펴보고자 하였다. 내피 기능 장애는 혈관 투과성에 영향을 미치고, 이는 혈관 및 미세혈관 질환을 야기하게 된다. 혈관 내피 기능에는 eNOS, NO, EPC, occludin, cludin-5, apoptotic pathway, SIRT1, Ang1/Tie-2 등의 다양한 인자가 영향을 미친다. 노화는 산화적 스트레스와 만성 염증상태가 점진적으로 발생하는 과정이며, 이로 인해 혈관 내피 기능 관련인자들 역시 일련의 과정으로 기능이상이 발생하게 된다. 그러나 열량 제한, 지중해식 식단, 저지방 식단과 같은 식이패턴의 변화는 노화로 인한 혈관 내피 기능 변화를 회복시킬 수 있으며, 병풀, 자바후추, 단삼, 포도, 은행잎 등의 추출물 혹은 함유된 기능성분 역시 eNOS 활성, NO 생성, 항산화 시스템 강화, VE-cadherin 등의 투과성 관련인자를 조절하여 내피세포 투과성에 영향을 미치게 된다. 다만, 식이패턴이나 각 건강기능성 소재들의 연구가 주로 세포 실험 및 동물실험에 국한되는 경우가 많아 추후 인체적용시험 등을 통해 과학적 기능 검증을 추가적으로 진행할 필요가 있다. 현재 혈관 내피 기능 개선에 관한 제품 개발은 아직 미비한 상태이다. 그러나 내피세포 기능 이상과 혈관 투과성 장애는 노화로 인해 자연스럽게 발생할 수 있기 때문에 식이 혹은 식품을 활용하여 예방할 필요성이 있다. 혈관 내피 기능 개선에

대한 제품 개발을 진행한다면, 노화로 인한 혈관건강을 예방을 도모할 수 있을 것으로 생각되며, 건강기능식품의 새로운 분야로 성장할 수 있을 것으로 사료된다.

감사의 글

본 결과물은 (주)뉴트리의 재원으로 기술개발사업 지원을 받아 연구되었음.

References

- Agarwal C, Singh RP, Dhanalakshmi S, Agarwal R. 2004. Anti-angiogenic efficacy of grape seed extract in endothelial cells. *Oncol. Rep.* 11: 681-685.
- Alfieri A, Ong AC, Kammerer RA, Solanky T, Bate S, Tasab M, Brown NJ, Brookes ZL. 2014. Angiotensin-1 regulates microvascular reactivity and protects the microcirculation during acute endothelial dysfunction: role of eNOS and VE-cadherin. *Pharmacol. Res.* 80: 43-51.
- Arjmand B, Abedi M, Arabi M, Alavi-Moghadam S, Rezaei-Tavirani M, Hadavandkhani M, Tayanloo-Beik A, Kordi R, Roudsari PP, Larjani B. 2021. Regenerative medicine for the treatment of ischemic heart disease; status and future perspectives. *Front. Cell Dev. Biol.* 9: 704903.
- Augustin HG, Koh GY, Thurston G, Alitalo K. 2009. Control of vascular morphogenesis and homeostasis through the angiotensin-Tie system. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 10: 165-177.
- Babaei S, Teichert-Kuliszewska K, Zhang Q, Jones N, Dumont DJ, Stewart DJ. 2003. Angiogenic actions of angiotensin-1 require endothelium-derived nitric oxide. *Am. J. Pathol.* 162: 1927-1936.
- Bai B, Vanhoutte PM, Wang Y. 2014. Loss-of-SIRT1 function during vascular ageing: hyperphosphorylation mediated by cyclin-dependent kinase 5. *Trends Cardiovasc. Med.* 24: 81-84.
- Baron M, Boulanger CM, Staels B, Tailleux A. 2012. Cell-derived microparticles in atherosclerosis: biomarkers and targets for pharmacological modulation? *J. Cell Mol. Med.* 16: 1365-1376.
- Behroozian A, Beckman JA. 2020. Microvascular disease increases amputation in patients with peripheral artery disease. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 40: 534-540.
- Bian D, Liu M, Li Y, Xia Y, Gong Z, Dai Y. 2012. Madecassoside, a triterpenoid saponin isolated from *Centella asiatica* herbs, protects endothelial cells against oxidative stress. *J. Biochem. Mol. Toxicol.* 26: 399-406.
- Bonetti PO, Lerman LO, Lerman A. 2003. Endothelial dysfunction: a marker of atherosclerotic risk. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 23: 168-175.
- Boulanger CM, Amabile N, Tedgui A. 2006. Circulating microparticles: a potential prognostic marker for atherosclerotic vascular disease. *Hypertension.* 48: 180-186.
- Brandes RP, Fleming I, Busse R. 2005. Endothelial aging. *Cardiovasc. Res.* 66: 286-294.
- Brindle NP, Saharinen P, Alitalo K. 2006. Signaling and functions of angiotensin-1 in vascular protection. *Circ. Res.* 98: 1014-1023.
- Carmona A, Guerrero F, Buendia P, Obrero T, Aljama P, Car-

- racedo J. 2017. Microvesicles derived from indoxyl sulfate treated endothelial cells induce endothelial progenitor cells dysfunction. *Front. Physiol.* 8: 666.
- Carrizzo A, Puca A, Damato A, Marino M, Franco E, Pompeo F, Traficante A, Civitillo F, Santini L, Trimarco V, Vecchione C. 2013. Resveratrol improves vascular function in patients with hypertension and dyslipidemia by modulating NO metabolism. *Hypertension.* 62: 359-366.
- Chen W, Druhan LJ, Chen CA, Hemann C, Chen YR, Berka V, Tsai AL, Zweier JL. 2010. Peroxynitrite induces destruction of the tetrahydrobiopterin and heme in endothelial nitric oxide synthase: transition from reversible to irreversible enzyme inhibition. *Biochemistry.* 49: 3129-3137.
- Chen J, Goligorsky MS. 2006. Premature senescence of endothelial cells: Methuselah's dilemma. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 290: H1729-H1739.
- Childs EW, Tharakan B, Byrge N, Tinsley JH, Hunter FA, Smythe WR. 2008. Angiotensin-1 inhibits intrinsic apoptotic signaling and vascular hyperpermeability following hemorrhagic shock. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 294: H2285-H2295.
- Childs EW, Tharakan B, Hunter FA, Tinsley JH, Cao X. 2007. Apoptotic signaling induces hyperpermeability following hemorrhagic shock. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 292: H3179-H3189.
- Cines DB, Pollak ES, Buck CA, Loscalzo J, Zimmerman GA, McEver RP, Pober JS, Wick TM, Konkle BA, Schwartz BS, Barnathan ES, McCrae KR, Hug BA, Schmidt AM, Stern DM. 1998. Endothelial cells in physiology and in the pathophysiology of vascular disorders. *Blood.* 91: 3527-3561.
- Cordeiro AL, Figueiredo A, Tomada I, de Almeida H, Neves D. 2010. Characterization of the expression of Ang1, Ang2, and Tie-2 in the Corpus Caverosum of the rat during aging. *Microsc. Microanal.* 16: 699-709.
- Csiszar A, Labinsky N, Jimenez R, Pinto JT, Ballabh P, Losonczy G, Pearson KJ, de Cabo R, Ungvari Z. 2009. Anti-oxidative and anti-inflammatory vasoprotective effects of caloric restriction in aging: role of circulating factors and SIRT1. *Mech. Ageing Dev.* 130: 518-527.
- Csiszar A, Ungvari Z, Koller A, Edwards JG, Kaley G. 2003. Aging-induced proinflammatory shift in cytokine expression profile in coronary arteries. *FASEB J.* 17: 1183-1185.
- d'Alessio P. 2004. Aging and the endothelium. *Exp. Gerontol.* 39: 165-171.
- Davis S, Aldrich TH, Jones PF, Acheson A, Compton DL, Jain V, Ryan TE, Bruno J, Radziejewski C, Maisonpierre PC, Yancopoulos GD. 1996. Isolation of angiopoietin-1, a ligand for the Tie-2 receptor, by secretion-trap expression cloning. *Cell.* 87: 1161-1169.
- de Aquino CC, Leitão RA, Oliveira Alves LA, Coelho-Santos V, Guerrant RL, Ribeiro CF, Malva JO, Silva AP, Oriá RB. 2019. Effect of hypoproteic and high-fat diets on hippocampal blood-brain barrier permeability and oxidative stress. *Front. Nutr.* 5: 131.
- de Sanctis MT, Cesarone MR, Incandela L, Belcaro G, Ricci A, Griffin M. 2001. Four-week treatment with Essaven gel in diabetic microangiopathy-a placebo-controlled, randomized study. *Angiology.* 52: S49-S55.
- Deng HF, Wang S, Wang XL, Li L, Xie F, Zeng ZW, Zhang WX. 2019. Puerarin protects against LPS-induced vascular endothelial cell hyperpermeability via preventing downregulation of endothelial cadherin. *Inflammation.* 42: 1504-1510.
- Deng F, Wang S, Zhang L. 2017. Endothelial microparticles act as novel diagnostic and therapeutic biomarkers of circulatory hypoxia-related diseases: a literature review. *J. Cell. Mol. Med.* 21: 1698-1710.
- Donato AJ, Magerko KA, Lawson BR, Durrant JR, Lesniewski LA, Seals DR. 2011. SIRT-1 and vascular endothelial dysfunction with ageing in mice and humans. *J. Physiol.* 589: 4545-4554.
- Donato AJ, Walker AE, Magerko KA, Bramwell RC, Black AD, Henson GD, Lawson BR, Lesniewski LA, Seals DR. 2013. Life-long caloric restriction reduces oxidative stress and preserves nitric oxide bioavailability and function in arteries of old mice. *Ageing Cell.* 12: 772-783.
- Dong XX, Hui ZJ, Xiang WX, Rong ZF, Jian S, Zhu CJ. 2007. Ginkgo biloba extract reduces endothelial progenitor-cell senescence through augmentation of telomerase activity. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 49: 111-115.
- Duangjai A, Ingkaninan K, Limpeanchob N. 2011. Potential mechanisms of hypocholesterolaemic effect of Thai spices/dietary extracts. *Nat. Prod. Res.* 25: 341-352.
- Fan T, Du Y, Zhang M, Zhu AR, Zhang J. 2022. Senolytic cocktail dasatinib and quercetin alleviate human umbilical vein endothelial cell senescence via the TRAF6-MAPK-NF-κB axis in a YTHDF2-dependent manner. *Gerontology.* 68: 920-934.
- Favretto G, Cunha RSD, Dalboni MA, Oliveira RB, Barreto FC, Massy ZA, Stinghen AEM. 2019. Endothelial microparticles in Uremia: biomarkers and potential therapeutic targets. *Toxins (Basel).* 11: 267.
- Figueiredo A, Cordeiro AL, Tomada N, Tomada I, Rodrigues A, Gouveia A, Neves D. 2011. Real-time PCR study of Ang1, Ang2, Tie-2, VEGF, and KDR expression in human erectile tissue during aging. *J. Sex Med.* 8: 1341-1351.
- Fujiwara-Sumiyoshi S, Ueda Y, Fujikawa M, Osaki M, Yamanaka N, Matsumoto T. 2021. Mucopolysaccharide polysulfate promotes microvascular stabilization and barrier integrity of dermal microvascular endothelial cells via activation of the angiopoietin-1/Tie-2 pathway. *J Dermatol Sci.* 103: 25-32.
- Gaengel K, Genové G, Armulik A, Betsholtz C. 2009. Endothelial-mural cell signaling in vascular development and angiogenesis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 29: 630-638.
- He W, Zhang J, Gan TY, Xu GJ, Tang BP. 2015. Advanced glycation end products induce endothelial-to-mesenchymal transition via downregulating Sirt 1 and upregulating TGF-β in human endothelial cells. *Biomed. Res. Int.* 2015: 684242.
- Heiss C, Keymel S, Niesler U, Ziemann J, Kelm M and Kalka C. 2005. Impaired progenitor cell activity in age-related endothelial dysfunction. *J. Am. Coll. Cardiol.* 45: 1441-1448.
- Hildebrandt GC, Chao N. 2020. Endothelial cell function and endothelial-related disorders following haematopoietic cell transplantation. *Br. J. Haematol.* 190: 508-519.
- Hoefken P, Sansone R, Rodriguez-Mateos A, Horn P, Westenfeld R, Kelm M, Heiss C. 2017. Age-dependent increase in endothelial microparticles in healthy subjects: impact of cocoa flavanol. *Innov. Aging.* 1: 695.
- Hossain M, Qadri SM, Liu L. 2012. Inhibition of nitric oxide

- synthesis enhances leukocyte rolling and adhesion in human microvasculature. *J. Inflamm (Lond)*. 9: 28.
- Hurley DM, Williams ER, Cross JM, Riedinger BR, Meyer RA, Abela GS, Slade JM. 2019. Aerobic exercise improves microvascular function in older adults. *Med. Sci. Sports Exerc*. 51: 773-781.
- Irani K. 2000. Oxidant signaling in vascular cell growth, death, and survival : a review of the roles of reactive oxygen species in smooth muscle and endothelial cell mitogenic and apoptotic signaling. *Circ. Res*. 87: 179-183.
- Keymel S, Kalka C, Rassaf T, Yeghiazarians Y, Kelm M, Heiss C. 2008. Impaired endothelial progenitor cell function predicts age-dependent carotid intimal thickening. *Basic Res. Cardiol*. 103: 582-586.
- Khakoo AY, Finkel T. 2005. Endothelial progenitor cells. *Annu. Rev. Med*. 56: 79-101.
- Klonizakis M, Alkhatib A, Middleton G, Smith MF. 2013. Mediterranean diet- and exercise-induced improvement in age-dependent vascular activity. *Clin. Sci (Lond)*. 124: 579-587.
- Knights AJ, Funnell AP, Crossley M, Pearson RC. 2012. Holding tight: cell junctions and cancer spread. *trends Cancer Res*. 8: 61-69.
- Kobayashi M, Shu S, Marunaka K, Matsunaga T, Ikari A. 2020. Weak ultraviolet B enhances the mislocalization of claudin-1 mediated by nitric oxide and peroxynitrite production in human keratinocyte-derived HaCaT cells. *Int. J. Mol. Sci*. 21: 7138.
- Kondo M, Shibata R, Miura R, Shimano M, Kondo K, Li P, Ohashi T, Kihara S, Maeda N, Walsh K, Ouchi N, Murohara T. 2009. Caloric restriction stimulates revascularization in response to ischemia via adiponectin-mediated activation of endothelial nitric-oxide synthase. *J. Biol. Chem*. 284: 1718-1724.
- Krouwer VJ, Hekking LH, Langelaar-Makkinje M, Regan-Klapisz E, Post JA. 2012. Endothelial cell senescence is associated with disrupted cell-cell junctions and increased monolayer permeability. *Vasc. Cell*. 4: 12.
- Kumar P, Shen Q, Pivetti CD, Lee ES, Wu MH, Yuan SY. 2009. Molecular mechanisms of endothelial hyperpermeability: implications in inflammation. *Expert. Rev. Mol. Med*. 11: e19.
- Li CM, Dong XL, Fan XD, Wu JH, Wang QH, Tian XL, Guo DJ, Wong MS, Qiu TQ, Chan SW. 2013. Aqueous extract of danshen (*Salvia miltiorrhiza* Bunge) protects ovariectomized rats fed with high-fat diet from endothelial dysfunction. *Menopause*. 20: 100-109.
- Lin LX, Wang P, Wang YT, Huang Y, Jiang L, Wang XM. 2016. Aloe vera and *Vitis vinifera* improve wound healing in an in vivo rat burn wound model. *Mol. Med. Rep*. 13: 1070-1076.
- Loscalzo J. 2001. Nitric oxide insufficiency, platelet activation, and arterial thrombosis. *Circ. Res*. 88: 756-762.
- Lüscher TF, Barton M. 1997. Biology of the endothelium. *Clin. Cardiol*. 20: II-10.
- Matgajasingh I, Kim CS, Naqvi A, Yamamori T, Hoffman TA, Jung SB, DeRiccio J, Kasuno K, Irani K. 2007. SIRT1 promotes endothelium-dependent vascular relaxation by activating endothelial nitric oxide synthase. *P. Natl. Acad. Sci. USA*. 104: 14855-14860.
- Marin C, Delgado-Lista J, Ramirez R, Carracedo J, Caballero J, Perez-Martinez P, Gutierrez-Mariscal FM, Garcia-Rios A, Delgado-Casado N, Cruz-Teno C, Yubero-Serrano EM, Tinahones F, Malagon Mdel M, Perez-Jimenez F, Lopez-Miranda J. 2012. Mediterranean diet reduces senescence-associated stress in endothelial cells. *Age (Dordr)*. 34: 1309-1316.
- Marin C, Ramirez R, Delgado-Lista J, Yubero-Serrano EM, Perez-Martinez P, Carracedo J, Garcia-Rios A, Rodriguez F, Gutierrez-Mariscal FM, Gomez P, Perez-Jimenez F, Lopez-Miranda J. 2011. Mediterranean diet reduces endothelial damage and improves the regenerative capacity of endothelium. *Am. J. Clin. Nutr*. 93: 267-274.
- Neamsuvan O, Komonhiran P, Boonming K. 2018. Medicinal plants used for hypertension treatment by folk healers in Songkhla province, Thailand. *J. Ethnopharmacol*. 214: 58-70.
- Nisoli E, Tonello C, Cardile A, Cozzi V, Bracale R, Tedesco L, Falcone S, Valerio A, Cantoni O, Clementi E, Moncada S, Carruba MO. 2005. Calorie restriction promotes mitochondrial biogenesis by inducing the expression of eNOS. *Science*. 310: 314-317.
- Oakely R, Tharakan B. 2014. Vascular hyperpermeability and aging. *Aging Dis*. 5: 114-125.
- Olmos Y, Sánchez-Gómez FJ, Wild B, García-Quintans N, Cabezudo S, Lamas S, Monsalve M. 2013. Sirt1 regulation of antioxidant genes is dependent on the formation of a FoxO3a/PGC-1 α complex. *Antioxid. Redox. Signal*. 19: 1507-1521.
- Ou HC, Lee WJ, Lee IT, Chiu TH, Tsai KL, Lin CY, Sheu WH. 2009. Ginkgo biloba extract attenuates oxLDL-induced oxidative functional damages in endothelial cells. *J. Appl. Physiol (1985)*. 106: 1674-1685.
- Pierce GL, Beske SD, Lawson BR, Southall KL, Benay FJ, Donato AJ and Seals DR. 2008. Weight loss alone improves conduit and resistance artery endothelial function in young and older overweight/obese adults. *Hypertension*. 52: 72-79.
- Piekarz KM, Bhaskaran S, Sataranatarajan K, Street K, Premkumar P, Saunders D, Zalles M, Gulej R, Khademi S, Laurin J, Peelor R, Miller BF, Towner R, Van Remmen H. 2020. Molecular changes associated with spinal cord aging. *Geroscience*. 42: 765-784.
- Qian S, Huo D, Wang S, Qian Q. 2011. Inhibition of glucose-induced vascular endothelial growth factor expression by *Salvia miltiorrhiza* hydrophilic extract in human microvascular endothelial cells: evidence for mitochondrial oxidative stress. *J. Ethnopharmacol*. 137: 985- 991.
- Reglero-Real N, Colom B, Bodkin JV, Nourshargh S. 2016. Endothelial cell junctional adhesion molecules: role and regulation of expression in inflammation. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol*. 36: 2048-2057.
- Rho SS, Ando K, Fukuhara S. 2017. Dynamic regulation of vascular permeability by vascular endothelial cadherin-mediated endothelial cell-cell junctions. *J. Nippon Med. Sch*. 84: 148-159.
- Rippe C, Lesniewski L, Connell M, LaRocca T, Donato A, Seals D. 2010. Short-term calorie restriction reverses vascular endothelial dysfunction in old mice by increasing nitric oxide and reducing oxidative stress. *Aging Cell*. 9: 304-312.
- Ryu JH, Jeon EY, Kim SJ. 2019. Indoxyl sulfate-induced extracellular vesicles released from endothelial cells stimulate vascular smooth muscle cell proliferation by inducing transforming growth factor-beta production. *J. Vasc. Res*. 56: 129-138.
- Saker S, Stewart EA, Browning AC, Allen CL, Amoaku WM. 2014. The effect of hyperglycaemia on permeability and the

- expression of junctional complex molecules in human retinal and choroidal endothelial cells. *Exp. Eye. Res.* 121: 161-167.
- Seals DR, Jablonski KL, Donato AJ. 2011. Aging and vascular endothelial function in humans. *Clin. Sci (Lond)*. 120: 357-375.
- Seo MG, Jo MJ, Hong NI, Kim MJ, Shim KS, Shin E, Lee JJ, Park SJ. 2021. Anti-inflammatory and anti-vascular leakage effects by combination of centella asiatica and vitis vinifera L. leaf extracts. *Evid. Based Complement Alternat. Med.* 2021: 7381620.
- Shantsila E. 2009. Endothelial microparticles: a universal marker of vascular health? *J. Hum. Hypertens.* 23: 359-361.
- Steinhusen U, Badock V, Bauer A, Behrens J, Wittman-Liebold B, Dörken B, Bommert K. 2000. Apoptosis-induced cleavage of beta-catenin by caspase-3 results in proteolytic fragments with reduced transactivation potential. *J. Biol. Chem.* 275: 16345-16353.
- Su CY, Ming QL, Rahman K, Han T, Qin LP. 2015. Salvia miltiorrhiza: traditional medicinal uses, chemistry, and pharmacology. *Chin. J. Nat. Med.* 13: 163-182.
- Tang Y, Jacobi A, Vater C, Zou X, Stiehler M. 2014. Salvianolic acid B protects human endothelial progenitor cells against oxidative stress-mediated dysfunction by modulating Akt/mTOR/4EBP1, p38 MAPK/ATF2, and ERK1/2 signaling pathways. *Biochem. Pharmacol.* 90: 34-49.
- Tang Y, Xu J, Qu W, Peng X, Xin P, Yang X, Ying C, Sun X, Hao L. 2012. Resveratrol reduces vascular cell senescence through attenuation of oxidative stress by SIRT1/NADPH oxidase-dependent mechanisms. *J. Nutr. Biochem.* 23: 1410-1416.
- Tharakan B, Hellman J, Sawant DA, Tinsley JH, Parrish AR, Hunter FA, Smythe WR, Childs EW. 2012. β -Catenin dynamics in the regulation of microvascular endothelial cell hyperpermeability. *Shock.* 37: 306-311.
- Tharakan B, Hunter FA, Smythe WR, Childs EW. 2008. Alpha-lipoic acid attenuates hemorrhagic shock-induced apoptotic signaling and vascular hyperpermeability. *Shock.* 30: 571-577.
- Tomada I, Tomada N, Almeida H, Neves D. 2012. Energy restriction and exercise modulate angiopoietins and vascular endothelial growth factor expression in the cavernous tissue of high-fat diet-fed rats. *Asian J. Androl.* 14: 635-642.
- Toth P, Tarantini S, Springo Z, Tucsek Z, Gautam T, Giles CB, Wren JD, Koller A, Sonntag WE, Csiszar A, Ungvari Z. 2015. Aging exacerbates hypertension-induced cerebral microhemorrhages in mice: role of resveratrol treatment in vasoprotection. *Aging Cell.* 14: 400-408.
- Thum T, Hoerber S, Froese S, Klink I, Stichtenoth DO, Galuppo P, Jakob M, Tsikas D, Anker SD, Poole-Wilson PA, Borlak J, Ertl G, Bauersachs J. 2007. Age-dependent impairment of endothelial progenitor cells is corrected by growth-hormone-mediated increase of insulin-like growth-factor-1. *Circ. Res.* 100: 434-443.
- Ungvari Z, Tarantini S, Donato AJ, Galvan V, Csiszar A. 2018. Mechanisms of vascular aging. *Circ. Res.* 123: 849-867.
- Vijayakumar RS, Nalini N. 2006. Efficacy of piperine, an alkaloidal constituent from Piper nigrum on erythrocyte antioxidant status in high fat diet and antithyroid drug induced hyperlipidemic rats. *Cell Biochem. Funct.* 24: 491-498.
- Vila Cuenca M, van Bezu J, Beelen RHJ, Vervloet MG, Hordijk PL. 2019. Stabilization of cell-cell junctions by active vitamin D ameliorates uraemia-induced loss of human endothelial barrier function. *Nephrol. Dial. Transplant.* 34: 252-264.
- Wang Y, Sun H, Zhang J, Xia Z, Chen W. 2020. Streptozotocin-induced diabetic cardiomyopathy in rats: ameliorative effect of piperine via Bcl2, Bax/Bcl2, and caspase-3 pathways. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 84: 2533-2544.
- Widlansky ME, Gokce N, Keaney JF Jr, Vita JA. 2003. The clinical implications of endothelial dysfunction. *J. Am. Coll. Cardiol.* 42: 1149-1160.
- Wong RH, Howe PR, Buckley JD, Coates AM, Kunz I, Berry NM. 2011. Acute resveratrol supplementation improves flow-mediated dilatation in overweight/obese individuals with mildly elevated blood pressure. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* 21: 851-856.
- Wu X, Deng G, Hao X, Li Y, Zeng J, Ma C, He Y, Liu X, Wang Y. 2014. A caspase-dependent pathway is involved in Wnt/beta-catenin signaling promoted apoptosis in Bacillus Calmette-Guerin infected RAW264.7 macrophages. *Int. J. Mol. Sci.* 15: 5045-5062.
- Xia N, Strand S, Schlufte F, Siuda D, Reifenberg G, Kleinert H, Förstermann U, Li H. 2013. Role of SIRT1 and FOXO factors in eNOS transcriptional activation by resveratrol. *Nitric Oxide.* 32: 29-35.
- Yoon HJ, Cho SW, Ahn BW, Yang SY. 2010. Alterations in the activity and expression of endothelial NO synthase in aged human endothelial cells. *Mech. Ageing Dev.* 131: 119-123.
- Zhang J, Huang J, He X, Li N, Miao Y, Li B, Shao X, Wang N. 2022. Ginkgo biloba extract 761 reduces vascular permeability of the ovary and improves the symptom of ovarian hyperstimulation syndrome in a rat model. *Gynecol. Endocrinol.* 38: 318-323.
- Zhu G, Song M, Wang H, Zhao G, Yu Z, Yin Y, Zhao X, Huang L. 2009. Young environment reverses the declined activity of aged rat-derived endothelial progenitor cells: involvement of the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt signaling pathway. *Ann. Vasc. Surg.* 23: 519-534.
- Zolfaghari B, Kazemi M, Nematbakhsh M. 2015. The effects of unripe grape extract on systemic blood pressure and serum levels of superoxide dismutase, malondialdehyde and nitric oxide in rat. *Adv. Biomed. Res.* 4: 109.
- Zuchi C, Ambrosio G, Lüscher TF, Landmesser U. 2010. Nutraceuticals in cardiovascular prevention: lessons from studies on endothelial function. *Cardiovasc. Ther.* 28: 187-201.

Author information

권유리: (주)뉴트리 건강식품연구소
박희정: 상명대학교 식품영양학과