

연구노트

식용식물 열수 추출물에 의한 지연형 알레르기 반응의 억제효과

최은미 · 이봉기* · 구성자

경희대학교 식품영양학과, *연세대학교 의대 미생물학교실

Inhibitory Effect on Delayed-type Hypersensitivity by the Hot Water Extracts from Medicinal Herbs

Eun-Mi Choi, Bong-Ki Lee* and Sung-Ja Koo

Department of Food & Nutrition, Kyunghee University

*Department of Medical Microbiology, Yonsei University

In order to investigate the inhibitory effects on the type IV allergy reaction of the hot water extracts (10 mg/20 g body weight) from medicinal herbs (*Flos magnoliae*, *Poncirus trifoliata*, *Bupleurum falcatum*, *Scutellaria baicalensis*, *Schisandra chinensis*), delayed type hypersensitivity by 2,4-dinitro-1-fluorobenzene (DNFB) was measured. *Scutellaria baicalensis*, *Schisandra chinensis* and *Poncirus trifoliata* showed inhibitory effects on the delayed type hypersensitivity by DNFB in the 1'st and 2'nd sensitized mice, but *Flos magnoliae* showed valuable changes only in the 2'nd sensitized mice. Inhibitory effect of *Bupleurum falcatum* had no statistical significance ($p>0.05$). According to above results, *Scutellaria baicalensis*, *Schisandra chinensis* and *Poncirus trifoliata* are supposed to be effective as anti-delayed type allergic regimen.

Key words : delayed-type hypersensitivity, medicinal herbs

서 론

현대 사회의 산업화에 따른 환경오염 등으로 인해 알레르기성 질환은 해마다 증가하고 있으며 그로 인해 국내외에서도 심각한 문제로 대두되어 있고 우리나라에서도 인구의 약 12~20% 정도가 각종 알레르기성 질환에 반응을 보이고 있는 실정이다⁽¹⁾.

Coombs와 Gell⁽²⁾에 의하면 접촉성 피부염은 제 IV형 지연형 과민반응으로, T-림프구가 주된 역할을 하는 세포성 면역 과민증이다. 항원에 한번 자극되어 이루어진 memory T cell 들은 다시 그 항원을 만났을 때 blast형이 되어 증식하게 되며, 이러한 제 IV형 과민증은 hapten으로도 유발될 수 있다. 접촉성 과민반응은 afferent phase(initial sensitising phase)와 efferent phase(elicitation phase)로 구성된다. Efferent phase는 피부가 이전에 노출된 적이 있는 특정 항원을 만났을 때 발생한다. 이 때, 설치류는 국부 부종이, 사람은 피부 습진이 유발되며, 이 반응의 주된 차이는 쥐의 경우 혈청과 세포에 의해, 사람의 경우는 단지 세포만에 의해 감각이 수동적으로

전인된다는 점이다. 제IV형 과민반응은 발생하는데 12시간 이상이 걸리며 체액성 면역반응이라기보다는 세포 매개성 면역반응으로 이루어진다. 제IV형 과민반응은 3가지로 분류되는데, 접촉성 과민반응과 tuberculin형 과민반응은 모두 항원 노출후 72시간 이내에 발생하며 granulomatous hypersensitivity 반응은 21~28일이 지나야 나타난다. 동물에서 반응의 정도는 대개 피부의 두께를 측정하여 알 수 있고 이런 국소반응은 여러 전신성 면역반응에도 나타날 수 있다.

Hapten으로 작용을 하는 2,4-dinitro-1-fluorobenzene(DNFB)을 사람이나 동물의 피부에 바르고 1~2주 후에 다시 같은 장소에 바르면 24시간 이내에 발적(erythma), 종창(induration)이 생긴다. 여러 가지 종류의 화학약품(화장품), picryl chloride, chromates, p-phenylene diamine(머리 염색제), neomycin(고약), nickel염(장식품) 등이 DNFB와 같은 hapten으로 작용함이 알려져 있다⁽²⁾. 이와 같은 hapten이 피부에 접촉되면, 골수 stem cell로부터 유도되어 항원제공에 중요한 기능을 하는 Langerhans' cells이 세포표면 분자가 화학적으로 변형되고, 다시 근처의 림프절로 이동하여 hapten에 대한 1차 반응을 개시한다. 두 번째로 hapten을 피부에 바르면 피부의 Langerhans' cells 표면을 다시 변형시키고 self-class II MHC 분자와 결합한 채로 hapten을 제공하여 접촉된 피부에 항원특이적 T cell (CD4+)을 모이게 하여 활성화시킨다. 이 활성화된 T cells은 여러 cytokines을 분비하여 알레르기성 접촉성 피부염을 일으킨다. 이렇게 모여든 세포의 1~2%만이 특이적

Corresponding author : Sung-Ja Koo, Dept. of Food and Nutrition, Collage of Home Economic Science, Kyunghee University, 1, Hoikidong, Dongdaemoon-gu, Seoul 130-701, Korea
Tel : 82-2-961-0264
Fax : 82-2-961-0260
E-mail : koo-sj@hanmail.net

로 감작된 것이고 나머지는 비특이적으로 모인 것이다.

현재, 이러한 알레르기 질환의 치료약으로 disodium cromoglycate, tranilast, ketotifen, azelastine, ciclosporin 등이 사용되고 있으며⁽³⁻⁵⁾ 여러 가지 새로운 약재의 개발이 시도되고 있다. 특히 식물 유래의 민간약 및 천연물을 이용한 항알레르기 물질의 탐색과 개발에 많은 연구가 진행되고 있으며 일부 생약과 한방재를 이용하여 제 I형 알레르기 반응에 미치는 영향을 *in vitro*에서 실험한 결과 지실, 시호, 오미자, 황금, 대추 등에서 유의성 있는 억제효과를 보고한 바 있다⁽⁶⁾. 이 시료들은 methanol로 추출한 것으로 하였으나 일반 시중에서는 천연물을 열탕으로 처리한 액을 사용하는 경향이 더 큰 것 같다. 이에 본 연구에서는 앞서 *in vitro* 항알레르기 효과가 있었다고 보고된 식용식물들의 열수 추출물이 *in vivo*에서 제IV형 알레르기 반응(지연형 과민반응)에 미치는 영향을 조사하고자 DNFB로 유도된 쥐의 접촉성 피부과민반응에 대한 억제효과를 측정하였다.

재료 및 방법

실험 동물

체중 20 g 전후(6주령)의 웅성 BALB/C mouse를 고형사료(삼양유지(주) 소형동물용)와 물을 충분히 공급하면서 실험실 환경에 2주간 적응시킨 후 사용하였다.

시료의 조제

실험에 사용한 신이(*Flos magnoliae*), 지실(*Poncirus trifoliata*), 시호(*Bupleurum falcatum*), 황금(*Scutellaria baicalensis*), 오미자(*Schisandra chinensis*)는 시중에서 구입하였고 5 배량의 증류수를 가하여 80°C에서 6 시간동안 가열하여 추출한 후 온시 여과한 여액을 동결 건조하여 열수 추출물을 얻었다.

DNFB에 의한 접촉성 피부과민반응

항원: Hapten으로 작용하는 2,4-dinitro-1-fluorobenzene (DNFB)를 사용하였다. 즉, 감작원으로는 0.5% DNFB(acetone : olive oil = 4 : 1) 용액을, 유발원으로는 0.2% DNFB(acetone : olive oil = 4 : 1) 용액을 각각 사용하였다.

DNFB에 의한 접촉성 피부염 측정: 생쥐 1군을 6마리로 하여 Asherson과 Ptak의 방법⁽⁷⁾에 준하였다. 생쥐 복부의 털을 제거하고 0.5% DNFB 25 µL를 도포하여 감작시키고, 6일 후 귀 양쪽의 표면에 각각 0.2% DNFB 10 µL씩 도포하여 피부과민증을 유발시키고 24시간 후의 귀 두께를 thickness dial gauge(No.010048, Mitutoyo Corp. Japan)를 사용하여 측정하였으며, 유발 전 귀 두께와의 차이를 부중도로 하였다. 또한 2차 감작 실험에서는 측정 2일 후 같은 방법으로 감작시키고 다시 6일 후에 유발을 시켰다. 시료는 10 mg/20 g 농도로 하여, 1차 감작 실험에서는 항원 감작 후 5일간 복강 투여하였고 2차 감작 실험에서는 감작 후 14시간 지나서 투여하였다. 대조약물로 사용한 ciclosporin은 0.005 mg/20 g 농도로 투여하였다.

통계 처리: 각 군의 통계는 분산분석법에 의한 분산비(F-value)를 통하여 각 군 사이의 평균치 차이에 대한 유의성 검

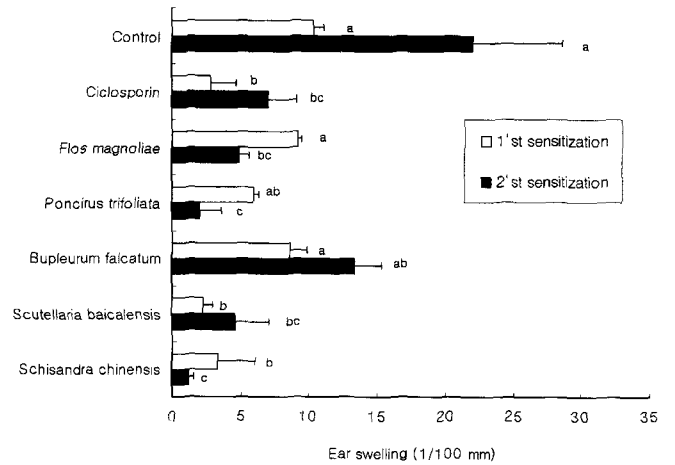


Fig. 1. Effects of samples on delayed-type hypersensitivity response to DNFB

Data shown are mean ± SEM (n=6).

Concentration: ciclosporin(0.005 mg/20 g B.W), samples(10 mg/20 g B.W.)

*Means with the same letter are not significantly different at α=0.05 level.

Sensitization: the epicutaneous application of 10 µL of 0.2% DNFB solution onto the shaved abdomens

정(p값 결정) 후 α = 0.05 수준에서 Duncan test에 의하여 개별 비교를 하였다.

결과 및 고찰

*In vitro*에서 항알레르기 효과가 있다고 알려진 5가지 식물(신이, 지실, 시호, 황금 및 오미자)의 열수 추출물이 *in vivo*에서 제IV형 알레르기 반응에 어떤 영향을 미치는지 관찰하기 위하여 이 실험을 시도하였다.

항원으로서 hapten으로 알려진 DNFB의 도포에 따른 피부 염증반응에 대한 귀 두께 측정은 1차 감작(induction phase)의 결과는 Fig. 1과 같다. 대조 약물 군으로 사용한 ciclosporin은 72.1%의 유의적인 억제효과를 나타내었고, 황금(78.0%), 오미자(69.7%), 지실(43.3%) 군도 대조 군에 비하여 유의한 억제 효과를 나타내었다. 시호(17.0%)와 신이(12.1%) 군은 대조 군에 비해 감소하는 경향을 보였으나 유의한 차이는 없었다(p<0.05). 억제 효과는 황금>오미자>지실>시호>신이의 순으로서 황금 군의 활성이 가장 높았으며 황금, 오미자는 대조약물인 ciclosporin과 비교할 때 유의적 차이는 없었지만 억제효과가 다소 컸다. 2차 감작(effector phase)에서는 오미자(94.5%), 지실(90.7%), 황금(79.0%), 신이(77.6%) 군이 대조 군에 비하여 유의한 감소를 나타냈고, 시호(39.4%) 군은 대조 군에 비해 유의한 차이는 없었다. 억제 효과는 오미자>지실>황금>신이>시호의 순으로서 오미자 군이 가장 높은 값을 보였다.

2차 감작에서 시호를 제외한 모든 시료는 대조약물인 ciclosporin과 유의적인 차이는 없었지만 오미자와 지실은 억제 효과가 더 컸다. 또한 시료들은 1차보다 2차 감작시 더 큰 억제 효과를 나타내었는데 이는 1차 감작에 노출된 경험이 있었으므로 2차 감작에서는 시료 1회 투여에도 불구하고

더 높은 억제효과를 나타낸 것으로 보아 제IV형 알레르기 반응으로 세포매개성 면역반응으로 사료된다. 1차 감작실험의 결과 황금, 오미자, 지실이 지연형 과민반응에서 induction phase에 효과를 나타낸 것으로 보아 T 림프구의 유도를 억제함을 알 수 있었고, 2차 감작에서는 오미자, 지실, 황금, 신이가 effector phase에 효과를 나타낸 것으로 보아 cytotoxic T 림프구로 인한 반응들을 억제함을 알 수 있었으며, 대체로 시료들은 T 림프구 유도보다는 그로 인한 반응 억제에 더 크게 기여함을 알 수 있었다⁶⁾. 이러한 식용 식물들에는 flavonoid가 풍부하여 강한 항산화 작용이 있다고 보고된 것으로 볼 때⁹⁾ 황금, 오미자 등은 함유되어 있는 polyphenol성 물질이 강한 항산화 작용을 함으로써 알레르기성 과민반응으로 인한 염증에 효과가 있는 것으로 사료되었다. 또한 본 실험은 단기적인 효과를 보기 위하여 복강투여 한 결과이지만 장기적인 경구 투여로 식이 섭취에 의한 영향을 살펴본다면 더 의미 있을 것으로 생각되었다.

요 약

5가지 식용식물인 신이(*Flos magnoliae*), 지실(*Poncirus trifoliata*), 시호(*Bupleurum falcatum*), 황금(*Scutellaria baicalensis*), 및 오미자(*Schisandra chinensis*)의 열수 추출물(10 mg/20 g B.W.)이 제IV형 알레르기 반응에 미치는 억제효과를 관찰하기 위하여 DNFB로 감작된 6주령의 웅성 BALB/C mouse에 1, 2차 시료를 투여한 후, 유도된 접촉성 피부염에 의한 부종도를 측정하였으며 대조 약물로는 cyclosporin(0.005 mg/20 g B.W.)을 사용하였다.

DNFB의 피부염증반응에 대한 귀 두께 측정은 1차 감작에서 황금, 오미자, 지실 군이 대조 군에 비하여 유의한 감소를 나타냈고($p < 0.05$), 약물 대조군인 cyclosporin과 같은 억제효과를 보였다. 시호, 신이 군은 대조 군에 비해 감소하는 경

향을 보였으나 유의한 차이는 없었다. 억제 효과는 황금>오미자>지실>시호>신이의 순으로서 황금 군의 활성이 가장 높았다.

2차 감작에서는 오미자, 지실, 황금, 신이 군이 대조 군에 비하여 유의한 감소를 나타냈고 오미자와 지실은 약물 대조군인 cyclosporin과는 유의적인 차이는 없었지만 억제 효과가 더 컸다. 시호 군은 대조 군과 유의적인 차이가 없었으며 오미자>지실>황금>신이>시호의 순으로서 오미자 군이 가장 높은 억제효과를 나타냈다.

문 헌

1. Jung, T.H. Immunology lecture, Kyungbuk Univ. pp. 256-302 (1993)
2. Roitt, I., Brostoff, J., and Male, D. Immunology, 4th edition, Mosby, England, chapter 25 (1996)
3. Tasaka, K. Antiallergic drugs. *Drugs of Today* 22: 101-133 (1986)
4. Sakamoto, K., Nagai, H. and Koda, A. Role of hyaluronidase in immediate hypersensitivity reaction. *Immunopharmacology* 2: 139-146 (1980)
5. Kakegawa, H., Matsumoto, H. and Satoh, H. Activation of hyaluronidase by metallic salts and compound 48/80, and inhibitory effect of anti-allergic agents on hyaluronidase. *Chem. Pharm. Bull.* 33: 642-646 (1985)
6. Kim, Y.R. Anti-allergic action of some crude drugs. PhD. Thesis, Chonnam National Univ. Korea (1992)
7. Asherson, G.L. and Ptak, W. Contact and delayed hypersensitivity in the mouse. I. Active sensitization and passive transfer. *Immunology* 15: 405-407 (1968)
8. Sugiyama, K. Anti-allergic effects of tea. *Food Science and Industry* 28(4):43-45 (1995)
9. Gabrielska, J., Oszmianski, J., Zylka, R. and Komorowska, M. Antioxidant activity of flavones from *Scutellaria baicalensis* in lecithin liposomes. *Z Naturforsch* 52(11-12): 817-23 (1997)

(2000년 9월 4일 접수)