

# DSS로 유도된 염증성 장 질환 동물 모델에서 황금 열수 추출물이 면역 조절 기능에 미치는 영향\*

이순희<sup>1)</sup> · 임병우<sup>3)</sup> · 조여원<sup>1)2)§</sup>

경희대학교 동서의학대학원 의학영양학과,<sup>1)</sup> 임상영양연구소,<sup>2)</sup>  
건국대학교 자연과학대학 생명과학부 응용생화학전공<sup>3)</sup>

## Immunoregulatory Effects of Water Extracts of *Scutellariae Radix* in DSS-Induced Inflammatory Bowel Disease Animal Model\*

Lee, Sun Hee<sup>1)</sup> · Lim, Beong Ou<sup>3)</sup> · Choue, Ryo Won<sup>1)2)§</sup>

Department of Medical Nutrition,<sup>1)</sup> Graduate School of East-West Medical Science,  
Research Institute of Clinical Nutrition,<sup>2)</sup> Kyung Hee University, Seoul 130-701, Korea  
College of Natural Science Konkuk University Chungju Campus,<sup>3)</sup> Chungju 380-701, Korea

### ABSTRACT

*Scutellariae Radix* (*Scu.*), one of the immune-regulatory substances, is recognized to play the role in the metabolic process of inflammation, allergy and immunity. It has been traditionally used in the Oriental medicine to treat inflammatory bowel diseases (IBD). The purpose of this study was to evaluate the effects of water extracts of *Scutellariae Radix* on the spleen lymphocyte immune function in the Balb/c female mice treated with dextran sodium sulfate (DSS) to induce colitis. Water extract of *Scutellariae Radix* (100 mg/kg) and sulfasalazine (50 mg/kg) were administrated orally for 2 weeks of experimental period. Mice were divided into three experimental groups randomly: DSS group (5% DSS was ad libitum for 5 days) as control group, DSS + *Scu.* (water extracts of *Scutellariae Radix* for 2 weeks after 5% DSS was ad libitum for 5 days) as experimental group, and DSS + Sulfasalazine group (Sulfasalazine for 2 weeks after 5% DSS was ad libitum for 5 days) as positive control group. Levels of Ig A, Ig E, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, TNF- $\alpha$  and other cytokines were measured. Treatment of DSS for 5 days induced bowel inflammation and the treatment with *Scu.* water extract and sulfasalazine significantly recovered the damage. The length of intestine of DSS group was significantly shorter than that of other groups. The serum and fecal concentration of Ig A of SS + *Scu.* group was higher than those of DSS group. The contents of CD4<sup>+</sup> T cells was higher in the DSS + *Scu.* group than the other groups and CD8<sup>+</sup> T cells was the lowest in DSS + Sulfasalazine group. The Ig A level of cultured supernatant of spleen lymphocyte was the highest, while the Ig E level was the lowest in SS + *Scu.* group. The concentration of TNF- $\alpha$ , cytokine secreted from the Th1 cell in the supernatant spleen lymphocyte, was the highest in the DSS group and the lowest in the DSS + *Scu.* group. The concentration of IFN- $\gamma$  and IL-12 was lower in the DSS + *Scu.* group than those of the other groups. The concentration of IL-4 in the supernatant of spleen lymphocyte was the lowest in the DSS + *Scu.* group but IL-10 was not significantly different. Based on these findings, water extract of *Scutellariae Radix* exhibited the inhibitory effect via IL-4 production thereby inhibited the production of Ig E and strengthened immune system, and alleviated injury in DSS-induced colitis mice model. (*Korean J Nutrition* 37(6): 431~439, 2004)

KEY WORDS : inflammatory bowel disease, *Scutellariae Radix*, DSS, Ig A, Ig E, TNF- $\alpha$ , cytokine.

### 서론

염증성 장 질환 (Inflammatory bowel disease, IBD)은

위장관내에 만성적인 염증을 유발하는 질환으로 흔히, 궤양성 대장염 (ulcerative colitis, UC)과 크론병 (Crohn's disease, CD) 두 가지 형태로 분류된다. 염증성 장 질환의 발병 원인 및 치료와 관련하여 면역학적 요인으로 선천적 면역성, cytokine의 생성, CD4<sup>+</sup> T cell의 활성화 등이 있으며, 특히 최근에는 cytokine의 염증 및 면역반응 조절기능에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다. 염증성 장 질환에서 tumor necrosis factor (TNF- $\alpha$ ), interleukin (IL)-

접수일 : 2004년 4월 30일

채택일 : 2004년 7월 19일

\*This work was supported by the grant of BK 21.

§To whom correspondence should be addressed.

1, IL-6, IL-8의 생성이 증가하는 것으로 보고된 바 있으며,<sup>1,2)</sup> IFN- $\gamma$ , IL-2, IL-4, IL-10 등도 염증에 관여하는 중요한 cytokine으로 주목받고 있다.<sup>3-8)</sup>

염증성 장 질환에서 면역기능을 조절하는데 있어 T cell의 균형을 유지하는 것은 매우 중요하다. T-helper cell은 cytokine 생성에 따라 조절기능이 다르게 분류되는데 Th 1 cell은 IFN- $\gamma$ , IL-2, TNF- $\alpha$ 를 생성하고, Th 2 cell은 IL-4와 IL-10을 생성한다. Th 1 cell의 기능이 항진되어 IFN- $\gamma$ , IL-2와 같은 cytokine의 생성이 증가하면 제 1형 당뇨병, 만성 류마티즘, multiple sclerosis, 크론병과 같은 질병이 유발되어 장기의 손상이 야기된다. 한편, Th 2 cell의 기능이 항진되어 IL-4 및 IL-10과 같은 cytokine의 생성이 증가하면 Ig E의 생성과 호산구 증대 및 활성화로 인하여 allergy, 천식, 아토피성피부염, 궤양성대장염 등과 같은 질환을 유발하게 된다. 즉, 궤양성 대장염의 장 점막에서 생성되는 cytokine은 대부분 Th 2 cell의 특징을 나타내고, 크론병의 경우에는 Th 1 cell과 관련된 질병으로 분류될 수 있다. 이와 같이 면역학적 요인은 염증성 장 질환의 발병뿐만 아니라 치료에도 중요한 역할을 한다.

염증성 장 질환 동물 모델을 유발하는 방법에는 dextran sodium sulfate (DSS)<sup>9-11)</sup>나 trinitrobenzenesulfonic acid<sup>12)</sup> 등의 화학약품을 사용하는 방법과 IL-2, IL-10, T cell receptor-deficient mice를 만드는 방법 등 여러 가지가 있으나 5% dextran sodium sulfate (DSS)로 궤양성 대장염을 유발한 동물 모델이 가장 좋은 모델임이 보고되었다.<sup>13-16)</sup> 또한, DSS로 대장염을 유발시킨 동물 모델은 사람의 궤양성 대장염 증상과 유사한 증상을 나타내는 것으로 보고된 바 있다.<sup>17)</sup> DSS에 의한 대장염의 정확한 발병 기전은 밝혀지지 않았으나 장 점막의 상피세포에 유해한 영향을 미쳐 점막의 투과성이 증가하여 장벽 기능의 손상을 가져와 장관내 세균과 그들의 산물의 흡수가 증가되어 염증을 유발하는 것으로 보고된 바 있다.<sup>18)</sup>

현재, 궤양성 대장염의 치료제로 주로 glucocorticoid와 sulfasalazine 등이 사용되고 있으나 이들은 심각한 부작용을 야기하는 것으로 보고되고 있다.<sup>19,20)</sup> 면역 조절 기능성 성분으로 연구되고 있는 한약재 황금은 꿀풀과에 속한 다년생 초본인 *Scutellaria baicalensis Georgi*의 주피를 벗긴 뿌리를 건조한 것으로 독성이 적고 주성분은 flavonoid계 화합물로서 30여종이 분리되어 있다.<sup>21)</sup> 황금의 약리작용으로는 담배배설촉진작용,<sup>22)</sup> 항균작용,<sup>23)</sup> 소염작용,<sup>24)</sup> 항알러지작용,<sup>25)</sup> 진정작용,<sup>26)</sup> 항산화작용<sup>27)</sup> 및 지질대사개선작용<sup>28)</sup> 등이 이미 보고된 바 있다.

황금 성분의 하나인 baicalein은 다른 flavonoid 성분에 비해 DSS에 의해 유도된 대장염 동물모델에서 염증 증상을 가장 많이 완화시켰고, baicalein (20 mg/kg)의 항염증 효과는 sulfasalazine (50 mg/kg)의 효과와 유사한 것으로 보고되었다.<sup>29)</sup> 이와 같이 황금의 성분 중 baicalein이 현재 사용되고 있는 염증성 장 질환 치료제인 sulfasalazine과 유사한 치료 효과를 나타낸다는 점과 황금을 임상에 적용할 경우, 단일 활성성분이 아닌 황금 열수 추출물로 처방된다는 점 등을 고려하여 염증성 장질환의 치료 대체제로써 황금의 열수 추출물을 본 실험에 사용하였다.

본 연구에서는 염증성 장 질환 동물 모델을 확립하여, 직장 임파구 T 세포 집단을 분리한 후 황금 열수 추출물이 cytokine과 immunoglobulin 농도에 미치는 영향을 조사함으로써 황금의 항 염증성 기능을 규명하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 시료의 구입

본 실험에 사용된 시약 중 dextran sodium sulfate (DSS)와 concanavalin A (Con A)는 Sigma (St. Louis, MO, U.S.A)에서 구입하였다. 단일항체와 cytokine은 ID Labs Inc. (Ontario, Canada)에서 구입하였다. Ig A와 관련된 항체는 Zymed Laboratory Inc. (San Francisco, CA, U.S.A)에서 구입하였으며, Ig E와 관련된 항체들은 Bio-source International (Comarillo, CA, U.S.A)에서 구입하였다. 기타 시약은 Sigma (St. Louis, MO, U.S.A)에서 구입하였다.

### 2. 황금의 열수 추출

황금은 전라남도 영암에 위치한 천수당 한약방에서 여수산 황금을 구입하였다. 황금 뿌리 100 g을 절편하여 round flask에 넣고 20배 (2 L)의 증류수를 가한 후 120°C에서 2시간동안 진탕기 (Misung Scientific Co, Korea)로 열수 추출한 후 이 과정을 2회 반복하여 rotary vacuum evaporator (Eyela, Japan)를 사용하여 감압농축 하였다. 이 농축액을 동결 건조하여 재료로 사용하였다.

### 3. 실험 방법 및 염증성 장 질환 동물모델의 확립

4주령의 Balb/c female을 Samtaco Bio Korea (Osan, Korea)로부터 구입하여, 1주일간 일반 배합사료와 물을 충분히 공급하면서 이상적인 항온항습 환경 (22 ± 2°C, 55 ± 5%)으로 유지하고 12시간씩 밤과 낮을 자동 조절하여 적용시켰다. 실험기간 동안 식이는 AIN-93G 식이<sup>30)</sup>를 섭취시켰고 (Table 1), 식수는 자유공급 시켰다.

**Table 1.** Composition of experimental diets

Ingredient	g/kg	Calorie (%)
Casein	200.0	19.0
Corn starch	397.5	38.1
Dyetrose	132.0	13.3
Sucrose	100.0	10.6
Cellulose	50.0	
Soybean oil	70.0	16.8
t-Butylhydroquinone	0.014	
Salt mix <sup>1)</sup>	35.0	
Vitamin mix <sup>2)</sup>	10.0	
L-Cystine	3.0	
Choline bitartrate	2.5	

AIN-93G diet purified rodent diet #110700 (Dyets Inc., Bethlehem, PA, USA)

1) Salt Mix composition: AIN-93G salt mix #210025 (Dyets Inc., Bethlehem, PA, USA): Calcium Carbonate 357 g/kg, Potassium Phosphate (monobasic) 196 g/kg, Potassium Citrate H<sub>2</sub>O 70.78 g/kg, Sodium Chloride 74 g/kg, Potassium Sulfate 46.6 g/kg, Magnesium Oxide 24 g/kg, Ferric Citrate U.S.P 6.06 g/kg, Zinc Carbonate 1.65 g/kg, Manganous Carbonate 0.63 g/kg, Cupric Carbonate 0.3 g/kg, Potassium Iodate 0.01 g/kg, Sodium Selenate 0.01025 g/kg, Ammonium Paramolybdate 4H<sub>2</sub>O 0.00795 g/kg, Sodium Metasilicate 9H<sub>2</sub>O 1.45 g/kg, Chromium Potassium Sulfate 12H<sub>2</sub>O 0.275 g/kg Lithium Chloride 0.0174 g/kg, Boric Acid 0.0815 g/kg, Sodium Fluoride 0.0635 g/kg, Nickel Carbonate 0.0318 g/kg, Ammonium Vanadate 0.066 g/kg, Sucrose finely powdered 221.026 g/kg

2) Vitamin Mix composition: AIN-93G Vitamin Mix #310025 (Dyets Inc., Bethlehem, PA, USA): Niacin 3 g/kg, Calcium Pantothenate 1.6 g/kg, Pyridoxine HCl .07 g/kg, Thiamine HCl 0.6 g/kg, Riboflavin 0.6 g/kg, Folic Acid 0.2 g/kg, Biotin 0.2 g/kg, Vitamine E Acetate (500 IU/g) 15 g/kg, Vitamine B12 (0.1%) 2.5 g/kg, Vitamine A Palmitate (500,000 IU/g) 0.8 g/kg, Vitamine D3 (400,000 IU/g) 0.25 g/kg, Vitamine K1/Dextrose Mix (10 mg/g) 7.5 g/kg, Sucrose 967.23 g/kg

실험군은 난괴법에 의해 모두 6마리씩 3군 (DSS군, DSS + *Scu*군, DSS + Sulfasalazine군)으로 나누어 실험하였다. 일주일간 예비사육한 후 모든 동물에게 증류수에 DSS (5%, W/V)를 첨가하여 5일간 식수대용으로 자유공급 시켜<sup>31)</sup> 급성 대장염을 유발시킨 후 DSS군은 치료제를 투여하지 않았고, DSS + *Scu*군은 황금 열수 추출물 (100 mg/kgBW)을 2주간 경구투여 하였다. DSS + Sulfasalazine군은 양성 대조군 (positive control group)으로 치료제 sulfasalazine (50 mg/kgBW)을 2주간 경구투여 하였다. 염증성 장 질환 동물모델을 확인하기 위하여 실험동물을 경추탈골로 희생시켜 유문 괄약근 (pyloric sphincter)부터 회맹판 (ileocecal valve)까지의 부위를 절단하여 장 길이를 측정하고 모양, 두께 등의 상태를 육안으로 확인하였다. 또한 비장과 장관 임파절 (mesenteric lymph node, MLN)을 적출한 후 IFN- $\gamma$ , IL-2, IL-4, TNF- $\alpha$ 의 mRNA 발현을 조사하였다.

### 1) Reverse transcriptase (RT)

실험동물에서 분리한 비장과 장관 임파절에 Trizol reagent (Gibco 15596 - 026)를 첨가하여 RNA를 분리하고 spectrophotometer를 이용하여 정량하였다. 분리된 총 RNA로부터 cDNA 합성을 위해 total RNA 3  $\mu$ l를 70°C에서 10분간 가열한 후, 4°C에서 10분 동안 방치하고 여기에 1  $\mu$ l oligo (dT)<sub>15</sub> primer (0.5  $\mu$ g/l), 1  $\mu$ l M-MLV RT (10 unit/ $\mu$ l; promega, USA), 1  $\mu$ l RNase inhibitor (20~40 unit/ $\mu$ l; promega, USA), 10  $\mu$ l 5X RT buffer (250 mM Tris-HCl, pH8.3, 375 mM KCl, 15 mM MgCl<sub>2</sub>), 5  $\mu$ l 2.5 mmol/L dNTP mixture를 첨가한 후, diethylpyrocarbonate (DEPC) 증류수를 혼합하여 넣고, 42°C water bath에서 1시간 동안 가열하여 cDNA를 합성하였다.

### 2) Polymerase chain reaction (PCR)

PCR은 3  $\mu$ l cDNA, primer는 IFN- $\gamma$ , IL-2, IL-4, TNF- $\alpha$ 를 사용하였고, sense primer (10 pmole/ $\mu$ l), antisense primer (10 pmole/ $\mu$ l)를 각각 1  $\mu$ l 가하고, 다시 1  $\mu$ l 2.5 mmol/L dNTP, 3  $\mu$ l 10X PCR buffer (100 mM Tris-HCl, pH 8.3, 500 mM KCl, 15 mM MgCl<sub>2</sub>), 6  $\mu$ l 5X Qual-up<sup>TM</sup> 용액 및 0.3  $\mu$ l Tag polymerase (5unit/ $\mu$ l; nerurotics inc)를 첨가한 다음 최종 부피가 30  $\mu$ l가 되도록 증류수를 가하고, denaturation은 94°C에서 30초, annealing은 62°C에서 1분, extension은 72°C에서 1분 동안 35 cycle로 진행하였다. 실험에 사용한 murine IFN- $\gamma$ , IL-2, IL-4, TNF- $\alpha$  primer는 IFN- $\gamma$ 의 경우, 5' primer: 5' -TGC ATC TTG GCT TTG CAG CTC TTC CTC ATG GC-3'; 3' primer: 5' -TGC ACC TGT GGG TTG TTG ACC TCA AAC TTG GC-3' 이고, fragment size는 365 bp였다. IL-2 primer는 5' primer: 5' -AAC AGC GCA CCC ACT TCA A-3'; 3' primer: 5' -TTG AGA TGA TGC TTT GAC A-3' 이고, fragment size는 391 bp였다. IL-4의 primer는 5' primer: 5' -GTC TGC TGT GGC ATA TTC TG-3'; 3' primer: 5' -GGC ATT TCT CAT TCA GAT TC-3' 이고 fragment size는 357 bp였다. TNF- $\alpha$ 의 primer는 5' primer: 5' -GGC AGG TCT ACT TGG AGT CAT TGC-3'; 3' primer: 5' -ACA TTC GAG GCT CCA GTG AAT TCG G-3' 이고, fragment size는 354 bp였다. PCR 생성물은 2.0% agarose gel에서 전기영동 하였고, gel은 ethidium bromide (EtBr)로 염색하여 PCR 생성물의 양을 imaging densitometer (model GS-

700, BIO-RAD, USA)를 사용하여 측정하였다.

#### 4. 혈청 및 분변 Ig A 농도 측정

실험 종료 시 각 군의 혈액 및 분변을 채취하여 분변은 분석 전 까지  $-80^{\circ}\text{C}$ 에 저장하였다. 혈액은 실험동물의 안와 동맥으로부터 채취하여  $3000 \times g$ ,  $4^{\circ}\text{C}$ 에서 30분간 원심분리한 후 얻어진 혈청을 sandwich ELISA 방법을 이용하여 Ig A 농도를 측정하였다. 분변은 Fukushima *et al.* 방법<sup>32)</sup>에 의해 각각을 microcentrifuge tube에 담고  $4^{\circ}\text{C}$ 에서 1시간 동안 방치한 protease inhibitor ( $0.1 \text{ g/ml}$ )에 부유시켰다. 부유시킨 분변 pellet은 vortex로 균질화 하여  $15,000 \times g$ 에서 10분간 원심분리한 후, 상층액을 채취하여 Ig A 항체를 이용하여 측정하였다.

#### 5. 임파구의 분리

실험동물을 경추탈골로 희생시켜 비장을 적출하고 임파구는 RPMI 1640 medium (Invitrogen Corporation, Grand island N.Y.) 내에서 분리하였다. 임파구 세포에 RPMI 1640 medium을 첨가하여  $300 \times g$ ,  $4^{\circ}\text{C}$ 에서 5분씩 3번 원심 분리하였다.

##### 1) $\text{CD4}^+/\text{CD8}^+$ 의 측정

10% FBS를 함유한 PBS 100 ml당  $2 \times 10^6$  cell이 부유된 비장 임파구에  $\text{CD4-FITC}$ 나  $\text{CD8-PE}$  monoclonal antibody  $5 \mu\text{l}$ 를 첨가하고,  $4^{\circ}\text{C}$ 에서 30분간 배양한 후 10% FBS가 함유된 PBS를 첨가하여  $300 \times g$ 에서 5분씩 3번 원심분리 하였다. 염색된 임파구는 2% paraformaldehyde로 고정시켰으며, Epics Altra™ flow cytometry (Beckman Counter)로 측정하였다.

#### 6. 임파구의 배양 (Primary culture)

분리한 임파구는 10% FBS (Invitrogen Corporation, Grand island N.Y.)가 함유된 RPMI 1640 medium에 부유시켜 24 well plate에  $2 \times 10^6$  cell/well의 농도로 분주하고, 임파구의 증식을 촉진시키기 위하여  $125 \mu\text{g/ml}$ 의 농도로 PBS에 용해시킨 Con A를 10% 첨가 한 후 5%  $\text{CO}_2$ ,  $37^{\circ}\text{C}$  incubator에서 48시간 배양하였다.

##### 1) 비장 임파구 배양액의 Ig A, Ig E 농도 측정

배양한 임파구 상층액의 Ig A와 Ig E 함량은 sandwich ELISA 방법을 이용하여 측정하였다.<sup>1,33-37)</sup> 총 항체 양의 측정으로는 항체의 F (ab)<sup>2</sup>단편을, 항원 특이적 정량법으로 항원을 ELISA plate에 고정한 다음 배양상층 (supernatant)을 반응시켰다. 항체는 ELISA plate 표면에 비특이적으로 결합하는 경향이 있기 때문에, 고정항체로 고정시킨

후 고정항체에 결합한 항체에 표식항체를 결합시켜 발색시켰다. Ig A는 직접법으로 쉽게 정량 할 수 있었으나, Ig E는 검출감도가 낮아 avidin-biotin 방법을 사용하여 ELISA 방법으로 검출하였다. 이 방법은 biotin 표식항체에 avidin 표식항체를 결합시키는 방법이므로 검출감도를 높일 수 있었다.

##### 2) 비장 임파구 배양액의 $\text{TNF-}\alpha$ , $\text{IFN-}\gamma$ , $\text{IL-12}$ , $\text{IL-4}$ , $\text{IL-10}$ 농도 측정

Anti-mouse cytokine의 항체를 coating한 96 well plate에 임파구의 배양상층을  $50 \mu\text{l}$ 씩을 첨가하여, 2차 항체를 biotin화시킨 anti-cytokine의 항체를 반응시켰다. 1시간 동안  $37^{\circ}\text{C}$ 에 방치한 후 기질용액을  $100 \mu\text{l}$ 첨가하고 다시 1시간 실온에 방치하였다. 각 단계마다 PBS에 0.05% Tween 20이 함유된 PBST로 세척하였으며 마지막으로, 1.5% oxalic acid를 첨가하여 반응을 정지시켰다. 동일한 과정을 통하여 purified cytokine을 표준으로 하여 비교 정량하였다.<sup>4,33,34)</sup>

#### 7. 통계분석

모든 실험 결과는 Statistics Analysis System (SAS, Ver 8.0) program을 이용하여 분석하였으며, 그 결과는 평균 (mean)  $\pm$  표준오차 (standard error, SE)로 표시하였다. 각 실험군의 평균의 차이는 one-way ANOVA를 사용하여  $p < 0.05$  수준에서 유의성을 검증하였다.

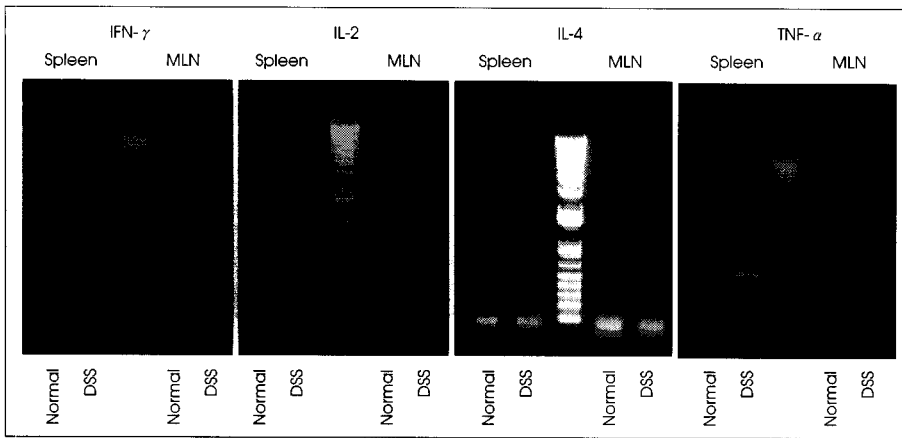
## 결과 및 고찰

### 1. 염증성 장 질환 동물모델 확립

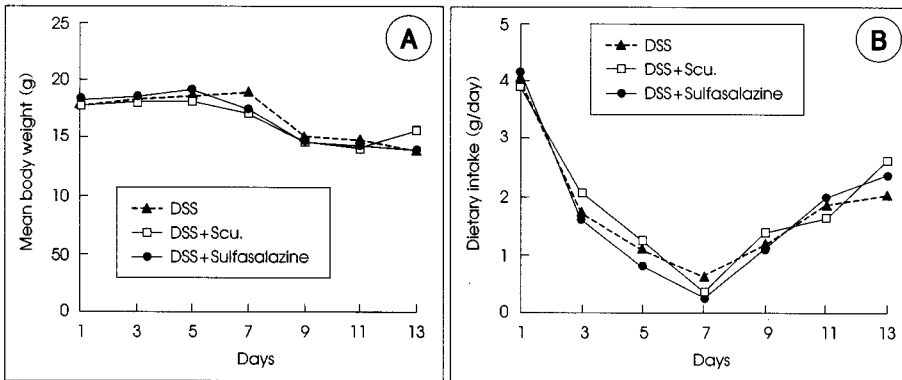
실험동물의 장 상태와 길이를 조사한 결과 DSS를 섭취시킨 mice의 경우, DSS를 섭취시키지 않은 mice에 비해 소장 및 대장의 모양이 흐트러져 있었으며, 장의 두께도 일정하지 않고, 윤기가 없는 것을 육안으로 확인 할 수 있었다. 또한 장의 길이도 DSS를 섭취시킨 군이 DSS를 섭취시키지 않은 군보다 짧게 나타났으며, 염증으로 인한 협착 및 누공이 발생하여 장 전체가 붉게 부풀어 있었다 (Fig. 1). 한편, 비장 및 장관 임파절에서  $\text{IL-4}$  및  $\text{TNF-}\alpha$ 와 같은



Fig. 1. Normal intestine and DSS-treated intestine. DSS-treated: 5% dextran sodium sulfate was ad libitum for 5 days.



**Fig. 2.** RT-PCR analysis for cytokine mRNA expression of Control and DSS groups. DSS: 5% dextran sodium sulfate was ad libitum for 5 days.



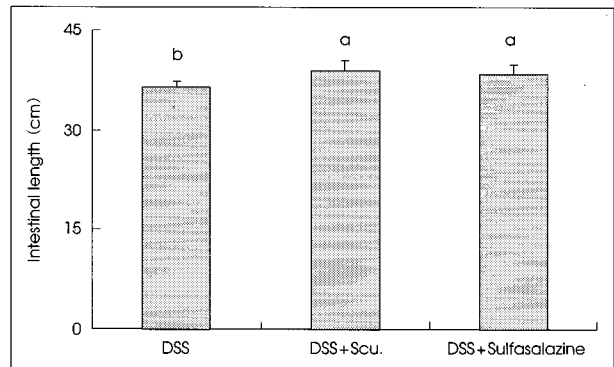
**Fig. 3.** Mean body weight (A) and dietary intake (B) of 3 experimental groups. DSS: 5% DSS was ad libitum for 5 days to induce colitis. DSS + *Scu.*: water extracts of *Scutellariae Radix* (100 mg/kg) was administrated orally for 2 weeks after 5 days of 5% DSS administration. DSS + Sulfasalazine: Sulfasalazine (50 mg/kg) was administrated orally for 2 weeks after 5 days of 5% DSS administration.

염증관련 cytokine의 발현을 측정된 결과 DSS를 섭취시킨 군에서 섭취시키지 않은 군보다 높게 나타났다 (Fig. 2). 이와 같은 결과를 통하여 5일간 5% DSS (W/V)의 섭취는 소장 및 대장의 염증을 유발시킬 뿐만 아니라 장의 길이도 감소시켰으며, 염증관련 cytokine의 생성을 증가시켜 염증성 장 질환 동물모델을 확립하는데 유효함을 확인할 수 있었다.

## 2. 황금 열수 추출물이 체중, 식이 섭취량 및 장 길이에 미치는 영향

각 실험군의 평균 체중은 DSS 섭취 7일 후부터 감소하였으며, 식이 섭취량은 염증을 유발시킨 후 7일째 까지 모든 군에서 감소하였고 그 이후부터 점차 증가하였다. 그러나 식이 섭취량이 감소하는 기간동안에도 체중의 변화는 나타나지 않았다. 대조군인 DSS군 역시 식이 섭취량이 다시 증가하는 점을 볼 때 5일간의 DSS 섭취 중단 후 병변 부위가 자가 치유됨으로 인해 식이 섭취량의 증가한 것으로 사료된다. 또한 황금 열수 추출물 및 치료제 sulfasalazine의 효과는 식이 섭취량에 영향을 미치지 못하는 것으로 사료된다 (Fig. 3).

Fig. 4에 각 실험 군의 소장 및 대장의 길이를 측정하여



**Fig. 4.** Intestinal length of 3 experimental groups. The length of intestine was measured from pyloric sphincter to ileocecal valve. Each value is the mean  $\pm$  SE of 6 mice. <sup>a,b</sup>Values with the different superscripts are significantly different at  $p < 0.05$ . DSS: 5% dextran sodium sulfate was ad libitum for 5 days to induce colitis. DSS + *Scu.*: water extracts of *Scutellariae Radix* (100 mg/kg) was administrated orally for 2 weeks, after 5 days of 5% DSS administration. DSS + Sulfasalazine: Sulfasalazine (50 mg/kg) was administrated orally for 2 weeks after 5 days of 5% DSS administration.

나타내었다. DSS군의 장 길이는  $36.6 \pm 0.8$  cm, DSS + *Scu.*군은  $39.0 \pm 1.6$  cm, DSS + Sulfasalazine군은  $38.5 \pm 1.4$  cm로 황금열수 추출물을 섭취한 DSS + *Scu.*군과 염증치료 약물 sulfasalazine을 섭취한 군에서 DSS만을 섭

취한 군보다 유의적으로 장 길이가 길었다. 이는 DSS 섭취로 유발된 염증으로 인한 장 상태가 황금 열수 추출물과 치료제 sulfasalazine에 의해 호전된 결과로 사료된다.

Gaudio E. 등<sup>38)</sup>과 Axelsson L. 등<sup>39)</sup>의 연구에서 5~8% DSS를 섭취시켜 대장염을 유발한 동물의 조직학적, 초미세구조적 양상을 관찰하였을 경우, DSS 섭취로 장의 길이가 유의적으로 감소하였음을 보고하였으며, 2.5% DSS 섭취 후 sulfasalazine을 섭취시킨 결과 장 길이가 유의적으로 증가하여 본 연구 결과와 유사한 경향을 보였다.<sup>39)</sup>

### 3. 황금 열수 추출물이 혈청과 분변 Ig A 농도에 미치는 영향

혈청과 분변 Ig A 농도를 측정한 결과는 Table 2와 같이 나타났다. 혈중 Ig A 농도는 DSS군, DSS + *Scu.*군, DSS + Sulfasalazine군에서 각각  $21.7 \pm 0.6$ ,  $28.3 \pm 1.5$ ,  $30.1 \pm 1.3$   $\mu\text{g/ml}$ 로 DSS + *Scu.*군, DSS + Sulfasalazine군에서 유의적으로 높게 나타났다. 또한, 분변중의 Ig A 농도 역시 DSS군, DSS + *Scu.*군, DSS + Sulfasalazine군에서 각각  $325 \pm 24.1$ ,  $480 \pm 26.5$ ,  $556 \pm 23.3$   $\text{ng/ml}$ 로 DSS + *Scu.*군, DSS + Sulfasalazine군에서 유의적으로 높게 나타났다.

DSS + *Scu.*군 및 DSS + Sulfasalazine군의 혈중 Ig A 농도는 Lee 등<sup>40)</sup>의 연구에서 정상동물의 혈중 Ig A 농도 ( $31.9 \pm 2.1$ )를 측정한 결과와 유사한 것을 확인할 수 있다. 한편 장관 내에 들어오는 세균과 각종 바이러스의 침입을 억제시키는 분변 Ig A의 농도는 염증반응이 일어나고 있을 때 낮아지게 되는데<sup>41)</sup> 황금 열수 추출물과 치료제 sulfasalazine을 섭취시킨 군에서 분변 Ig A 함량이 높은 수준을 유지하는 것으로 보아 황금은 장내 염증 반응의 진행과 세균 및 바이러스의 침입으로부터 방어할 수 있는 기능이 치료제인 sulfasalazine의 효과와 유사한 것으로 사료된다.

### 4. 황금 열수 추출물이 비장 임파구의 T세포 집단에 미치는 영향

황금 열수 추출물이 비장 임파구의 T세포 집단에 미치

**Table 2.** Ig A concentration in serum and feces

	Serum Ig A ( $\mu\text{g/ml}$ )	Fecal Ig A (ng/ml)
DSS	$21.7 \pm 0.6^b$	$325 \pm 24.1^b$
DSS + <i>Scu.</i>	$28.3 \pm 1.5^a$	$480 \pm 26.5^a$
DSS + Sulfasalazine	$30.1 \pm 1.3^a$	$556 \pm 23.3^a$

Each value is the mean  $\pm$  SE of 6 mice. <sup>a,b</sup>Values with the different superscript letters in the same column are significantly different at  $p < 0.05$

DSS: 5% dextran sodium sulfate was ad libitum for 5 days to induce colitis. DSS + *Scu.*: water extracts of *Scutellariae Radix* (100 mg/kg) was administrated orally for 2 weeks, after 5 days of 5% DSS administration. DSS + Sulfasalazine: Sulfasalazine (50 mg/kg) was administrated orally for 2 weeks after 5 days of 5% DSS administration

는 영향을 측정해 본 결과 DSS군의  $\text{CD4}^+$  T cell의 함량이  $33.1 \pm 0.8\%$ , DSS + *Scu.*군이  $34.7 \pm 0.4\%$ , DSS + Sulfasalazine군이  $31.2 \pm 0.5\%$ 로 DSS + *Scu.*군에서 가장 높게 나타났다 ( $p < 0.05$ ). 반면,  $\text{CD8}^+$  T cell의 함량은 DSS군과 DSS + *Scu.*군이 각각  $17.1 \pm 0.2\%$ ,  $17.3 \pm 0.3\%$ 로 유의적인 차이를 나타내지 않았으나 DSS + Sulfasalazine군에서는  $15.3 \pm 0.2\%$ 로 유의적으로 낮게 나타났다. 그러나  $\text{CD4}^+/\text{CD8}^+$ 의 비율은 DSS군과 DSS + *Scu.*군, DSS + Sulfasalazine군이 각각  $1.9 \pm 0.1$ ,  $2.0 \pm 0.1$ ,  $2.0 \pm 0.1$ 로 유의한 차이가 관찰되지 않았다 (Table 3).

T 세포는 보조 T 림프구와 세포독성 T 림프구로 구성된다. 대부분의 보조 T 림프구는 림프구 집단을 구별하기 위한 표현형 표식자의 하나인  $\text{CD4}$ 라는 표면 단백질을 발현하며, 세포독성 T 림프구는  $\text{CD8}$ 이라 불리는 다른 표면 단백질을 발현한다. 일반적으로  $\text{CD4}^+$  T cell은 cytokine을 생성하여 면역 기능과 숙주 방어를 향진시키는 기억세포를 조절하는 중심적 역할을 하며 염증 반응을 조절한다.  $\text{CD8}^+$  T cell은  $\text{CD4}^+$  T cell의 발달을 조절하고, Th 2 cell의 발달을 억제한다.

황금 열수 추출물을 섭취시킨 군에서  $\text{CD4}^+$  T cell의 활성화 및  $\text{CD8}^+$  T cell에 의한 Th 2 cell 우위의 면역기능이 저하되어 염증성 장질환의 증상이 개선될 것으로 사료된다. 이는 Lim 등<sup>35)</sup>의 장관 면역 기능에 대한 연구에서 식이펙틴이 비장 임파구의 T 세포 집단에 미치는 영향과 유사한 결과를 나타내었다.

### 5. 황금 열수 추출물이 비장 임파구 배양액의 Ig A, Ig E 농도에 미치는 영향

비장 primary culture 배양액의 Ig A 농도는 DSS군, DSS + *Scu.*군, DSS + Sulfasalazine군에서 각각  $47.1 \pm 2.2$ ,  $64.3 \pm 1.7$ ,  $49.3 \pm 1.8$   $\text{ng/ml}$ 로 DSS + *Scu.*군에서 유의적으로 높게 나타났다. 한편, 배양액의 Ig E의 농도는

**Table 3.** Spleen T lymphocyte populations in experimental groups

	$\text{CD4}^+$ (%)	$\text{CD8}^+$ (%)	$\text{CD4}^+/\text{CD8}^+$
DSS	$33.1 \pm 0.8^b$	$17.1 \pm 0.2^a$	$1.9 \pm 0.1^a$
DSS + <i>Scu.</i>	$34.7 \pm 0.4^a$	$17.3 \pm 0.3^a$	$2.0 \pm 0.1^a$
DSS + Sulfasalazine	$31.2 \pm 0.5^c$	$15.3 \pm 0.2^b$	$2.0 \pm 0.1^a$

The spleen T lymphocyte populations of each primary culture supernatant were measured by EPICS Altra™ flow cytometry. Each value is the mean  $\pm$  SE of 6 mice. <sup>a,c</sup>Values with different superscripts in the same column are significantly different at  $p < 0.05$ . DSS: 5% dextran sodium sulfate was ad libitum for 5 days to induce colitis. DSS + *Scu.*: water extracts of *Scutellariae Radix* (100 mg/kg) was administrated orally for 2 weeks, after 5 days of 5% DSS administration. DSS + Sulfasalazine: Sulfasalazine (50 mg/kg) was administrated orally for 2 weeks after 5 days of 5% DSS administration

DSS군이 3.8 ± 0.2 ng/ml, DSS + *Scu.*군이 2.2 ± 0.1 ng/ml, DSS + Sulfasalazine군이 3.2 ± 0.2 ng/ml로 DSS 군에서 가장 높게 나타난 반면, DSS + *Scu.*군에서 가장 낮게 나타났다 (Table 4).

질환 동물 모델에 있어서 Ig A 농도의 증가는 장 점막 보호를 조절하는 항체로서 작용하며, allergen의 흡수를 방해하여 알러지 반응 예방에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 혈액과 임파구 배양액에서 Ig A 농도를 종합해 보면, DSS + *Scu.*군이 DSS군에 비해 혈액 및 임파구 배양액 모두에서 Ig A 농도가 높게 나타났는데 이와 같은 결과는 황금이 DSS로 유발시킨 대장염 동물 모델에서 혈중 Ig A 농도와 비장 임파구 배양 상층의 Ig A 농도를 증가 시킴으로 항염증 기전에 작용한 것으로 사료된다. 그러나 이러한 황금의 항염증 효과는 치료제로 널리 쓰이는 sulfasalazine 항염증 기전과는 상이한 것으로 사료된다.

Lim 등<sup>41)</sup>의 연구에서 DSS로 염증을 유발시킨 후, 황금을 섭취시킨 결과 histamine과 eicosanoid 등의 생성을 증가시켜 allergy를 유발하는 항체로 잘 알려져 있는 Ig E의 농도를 유의적으로 감소시키는 것으로 보고하였다. 이는

**Table 4.** IgA and IgE concentration in supernatant of spleen lymphocytes isolated from experimental groups

	Ig A (ng/ml)	Ig E (ng/ml)
DSS	47.1 ± 2.2 <sup>b</sup>	3.8 ± 0.2 <sup>a</sup>
DSS + <i>Scu.</i>	64.3 ± 1.7 <sup>a</sup>	2.2 ± 0.1 <sup>c</sup>
DSS + Sulfasalazine	49.3 ± 1.8 <sup>b</sup>	3.2 ± 0.2 <sup>b</sup>

Spleen lymphocytes isolated from mice fed on different experimental diet (2 × 10<sup>6</sup> cells/ml) were cultured for 48 hr in the absence of 125 μg/ml concanavalin A (Con A). The immunoglobulin contents of each culture supernatant were measured by ELISA

Each value is the mean ± SE of 6 mice. <sup>a-c</sup>Values with the different superscripts in the same column are significantly different at p < 0.05

DSS: 5% dextran sodium sulfate was ad libitum for 5 days to induce colitis. DSS + *Scu.*: water extracts of *Scutellariae Radix* (100 mg/kg) was administrated orally for 2 weeks, after 5 days of 5% DSS administration. DSS + Sulfasalazine: Sulfasalazine (50 mg/kg) was administrated orally for 2 weeks after 5 days of 5% DSS administration

**Table 5.** Th 1 and Th 2 cytokines secretion of spleen lymphocytes supernatant in experimental groups

	Th1			Th2	
	TNF-α (pg/ml)	IFN-γ (pg/ml)	IL-12 (pg/ml)	IL-4 (pg/ml)	IL-10 (pg/ml)
DSS	526.7 ± 10.2 <sup>a</sup>	295.0 ± 7.6 <sup>a</sup>	405.0 ± 37.1 <sup>ab</sup>	333.3 ± 11.2 <sup>a</sup>	725.0 ± 54.9 <sup>a</sup>
DSS + <i>Scu.</i>	425.0 ± 4.3 <sup>c</sup>	236.7 ± 7.2 <sup>b</sup>	363.3 ± 30.8 <sup>b</sup>	235.0 ± 5.6 <sup>c</sup>	696.7 ± 44.7 <sup>a</sup>
DSS + Sulfasalazine	458.3 ± 5.4 <sup>b</sup>	293.3 ± 24.7 <sup>a</sup>	506.7 ± 26.7 <sup>a</sup>	258.3 ± 6.0 <sup>b</sup>	676.7 ± 42.3 <sup>a</sup>

Spleen lymphocytes isolated from mice fed on different experimental diet (2 × 10<sup>6</sup> cells/ml) were cultured for 48 hr in the absence of 125 μg/ml concanavalin A (ConA). The cytokine contents of each culture supernatant were measured by ELISA

Each value is the mean ± SE of 6 mice. <sup>a-c</sup>Values with the different superscripts are significantly different at p < 0.05.

DSS: 5% dextran sodium sulfate was ad libitum for 5 days to induce colitis. DSS + *Scu.*: water extracts of *Scutellariae Radix* (100 mg/kg) was administrated orally for 2 weeks, after 5 days of 5% DSS administration. DSS + Sulfasalazine: Sulfasalazine (50 mg/kg) was administrated orally for 2 weeks after 5 days of 5% DSS administration

대장염 동물 모델에서 비장 임파구 배양액에서 항체 농도의 차이를 통해 황금 열수추출물이 장 조직 손상의 회복에 효과가 있음을 나타내는 것으로 사료된다.

### 6. 황금 열수 추출물이 비장 임파구 배양액의 cytokine 농도에 미치는 영향

Cytokine은 장내 염증 정도를 평가하는 지표이며, 종류에 따라 항체 생성을 특이적으로 조절하는 역할을 한다. Th 1과 Th 2 cell에서 분비되는 cytokine을 측정된 결과는 다음과 같다 (Table 5). 전염증 cytokine의 하나로 염증반응에 관여하는 TNF-α의 농도는 DSS군이 526.7 ± 10.2 (pg/ml), DSS + *Scu.*군이 425.0 ± 4.3 (pg/ml), DSS + Sulfasalazine군이 458.3 ± 5.4 (pg/ml)로 DSS 군에서 가장 높게 나타났고, DSS + *Scu.*군에서 유의적으로 낮게 나타났다. 반면, Th 1 cell의 분화와 IL-4 생성 억제에 관여하는 IFN-γ의 경우 DSS군, DSS + *Scu.*군, DSS + Sulfasalazine군에서 각각 295.0 ± 7.6, 236.7 ± 7.2, 293.3 ± 24.7 pg/ml로 DSS + *Scu.*군에서 IFN-γ의 농도가 유의적으로 낮았다. 장관 내 감염과 관련된 cytokine인 IL-12의 경우, DSS군이 405.0 ± 37.1 pg/ml, DSS + *Scu.*군이 363.3 ± 30.8 pg/ml, DSS + Sulfasalazine군이 506.7 ± 26.7 pg/ml로 DSS + *Scu.*군이 DSS군에 비해 유의적으로 낮게 나타났다.

DSS로 유발시킨 대장염은 T cell, mast cell, basophil에서 분비되어 Th 2 cell 분화와 allergy, 면역 억제 반응에 관여하는 IL-4와 monocyte, macrophage에서 생성되어 항염증 활성화와 면역 억제 반응에 관여하는 IL-10의 농도 변화에 의해 염증의 유무를 확인할 수 있다. IL-4의 농도는 DSS군 333.3 ± 11.2 pg/ml, DSS + *Scu.*군 235.0 ± 5.6 pg/ml, DSS + Sulfasalazine군 258.3 ± 6.0 pg/ml로 DSS군에서 유의적으로 높게 나타났고, DSS + *Scu.*군에서 낮게 나타났으나, IL-10의 농도는 모든 실험 군에서 차이가 관찰되지 않았다.

Cytokine 생성과 관련하여 Lee 등<sup>40)</sup>의 연구에서 IL-4

생성을 유도하는 유전자의 전사 활동을 도와주는 전사 신호 변환자와 활성화자 6 (signal transducer, activator of transcription, STAT6)을 측정된 결과 황금 열수 추출물을 섭취시킨 군에서 STAT 6의 발현이 감소하였다. 이는 황금 열수 추출물을 섭취시킨 군은 세포내 단백질 수준에서의 STAT 6의 전사활동을 저해함으로써 세포외로 분비되는 IL-4 생성을 저해하여 알러지 증상을 유발시키는 Ig E의 생성을 억제한 것으로 추정할 수 있다. 따라서 황금 열수 추출물은 IL-10의 농도에는 영향을 미치지 못하였으나 IL-4 농도를 낮춤으로써 Th 2 cell의 기능이 향진되어 IL-4 생성량의 증가로 인해 유발된 염증성 장 질환의 증상을 개선시키는 기전에 관여하는 것으로 사료된다.

## 요약 및 결론

동양에서는 염증성 장 질환 환자에게 독성이 적고 식품 성분의 주원료로 사용 가능하며 소염, 항알러지 작용, 항산화 작용 및 진정 작용 등을 지닌 황금을 처방하고 있으나 황금이 면역 기전에 미치는 영향에 대한 연구는 매우 미비한 실정이다. 본 연구에서는 면역실험에서 주로 이용되는 4주령의 Balb/c female mice를 사용하여 5% DSS를 5일간 섭취시켜 급성 대장염을 유발시킨 후 2주간 황금 열수 추출물 (100 mg/kg)과 sulfasalazine (50 mg/kg)을 경구 투여한 후 면역조절 기능에 미치는 영향을 조사하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

- 1) DSS를 섭취시킨 결과 장내 염증으로 인한 협착, 누공 등이 유발하여 장 길이가 감소하였고, DSS + *Scu*.군과 DSS + Sulfasalazine군에서는 증상과 장 길이가 회복되었다.
- 2) 혈청과 분변 Ig A 농도는 DSS + *Scu*.군이 DSS군에 비해 높게 나타났다.
- 3) 비장 임파구 T 세포 집단을 분리한 결과, DSS + *Scu*.군에서 CD4<sup>+</sup> T cell의 함량이 유의적으로 높았고, CD8<sup>+</sup> T cell은 DSS + Sulfasalazine군에서 낮게 나타났다.
- 4) 임파구의 배양액에서 Ig A 농도는 DSS 군에서 유의적으로 낮았고, DSS + *Scu*.군에서 높게 나타났다. Ig E의 농도는 DSS군에서 높게 나타나고 DSS + *Scu*.군에서 낮게 나타났다.
- 5) 임파구의 배양액에서 TNF- $\alpha$ 와 IFN- $\gamma$ 의 농도가 DSS + *Scu*.군에서 유의적으로 낮게 나타났으며, IL-12의 농도는 DSS + *Scu*.군에서 DSS + Sulfasalazine군에 비해 낮게 나타났으나 DSS군과의 차이는 없었다. IL-4의 농도는 DSS + *Scu*.군에서 유의적으로 낮게 나타났으나 IL-10의 농도는 군간에 유의적인 차이가 없었다.

이상의 결과를 종합하면, 황금 열수 추출물은 비장 임파구에서 Ig A와 Ig E 생성을 조절함으로써 T helper cell에 의해 유발된 면역반응을 조절하고 DSS로 유발된 대장염의 과민반응을 완화시킬 수 있었다. 즉, Ig A 생성을 촉진하고 염증관련 cytokine인 IL-4 생성을 저해함으로써 Ig E 생성을 억제하여 면역시스템을 강화시키고, 손상된 염증을 완화시키는 것으로 사료된다.

## Literature cited

- 1) Sartor RB. Cytokines in intestinal inflammation: pathophysiological and clinical considerations. *Gastroenterology* 106: 533-539, 1994
- 2) Cher DJ, Mossman TR. Two type of murine helper T cell clone. II. Delayed-type hypersensitivity is mediated by Th1 clones. *J Immunol* 138: 3688-3694, 1987
- 3) Lin CC, Shieh DE. The anti-inflammatory activity of *Scutellaria rivularis* extracts and its active components, baicalin, baicalein and wogonin. *Am J Chin Med* 24: 31-36, 1996
- 4) Kojouharoff G, Hans W, Obermeier F, Mannel DN, Andus T, Scholmerich J, Gross V, Falk W. Neutralization of tumor necrosis factor (TNF) but not of IL-1 reduce inflammation in chronic dextran sulfate sodium-induced colitis in mice. *Clin Exp Immunol* 107: 353-358, 1997
- 5) Obermeier F, Kojouharoff G, Hans W, Scholmerich J, Gross V, Falk W. Interferon-gamma (IFN- $\gamma$ ) and tumor necrosis factor (TNF)-induced nitric oxide as toxic effector molecule in chronic dextran sulfate sodium (DSS)-induced colitis in mice. *Clin Exp Immunol* 116: 238-245, 1999
- 6) Neurath MF, Fuss I, Kelsall BL, Strober W. Antibodies to interleukin-12 abrogate established experimental colitis in mice. *J Exp Med* 182: 1281-1290, 1995
- 7) Schreiber S, Heing T, Thiele H-G, Raedler A. Immunoregulatory role of interleukin 10 in patient with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 108: 1434-1444, 1995
- 8) Seder RA, Gazzinelli R, Sher A, Paul WE. Interleukin-12 acts directly on CD4<sup>+</sup> T cell to enhance priming for interferon  $\gamma$  production and diminishes interleukin-4 inhibition of such priming. *Proc Natl Acad Sci USA* 90: 10188-10192, 1993
- 9) Okayasu I, Hatakeyama S, Yamada M, Ohkusa T, Inagaki Y, Nakaya R. A novel method in the induction of reliable experimental acute and chronic ulcerative colitis in mice. *Gastroenterology* 98(3): 694-702, 1990
- 10) Ohkusa T. Production of experimental ulcerative colitis in hamsters by dextran sulfate sodium and changes in intestinal microflora. *Jpn J Gastroenterol* 82: 1327, 1985
- 11) Dieleman LA, Ridwan BU, Tennyson GS, Beagley KW, Bucy RP, Elson CO. Dextran sulfate sodium-induced colitis occurs in severe combined immunodeficient mice. *Gastroenterology* 107(6): 1643, 1994
- 12) Morris GP, Beck PL, Herridge MS, Depew WT, Szewczuk MR, Wallace JL. Hapten-induced model of chronic inflammation and



- ulceration in the rat colon. *Gastroenterology* 96(3) : 795-803, 1989
- 13) Kimura I, Nagahama S, Kawasaki M, Kataoka M, Sato M. Study on the experimental ulcerative colitis model induced by dextran sulfate sodium in rat. *Nippon Yakurigaku Zasshi* 108(5) : 259-266, 1996
  - 14) Kuhn R, Lohler J, Rennick D, Rajewsky K, Muller W. Interleukin-10 deficient mice develop chronic enterocolitis. *Cell* 75: 263-274, 1993
  - 15) Mombaerts P, Mizoguchi E, Grusby MJ, Glimcher LH, Bhan AK, Tonegawa S. Spontaneous development of inflammatory bowel disease in T cell receptor mutant mice. *Cell* 75: 274-282, 1993
  - 16) Elson CO, Sartor RB, Tennyson GS, Riddell RH. Experimental models of inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 109: 1344, 1995
  - 17) Egger B, Bajaj-Elliott M, MacDonald TT, Inglin R, Eysselein VE, Buchler MW. Characterisation of acute murine dextran sodium sulfate colitis: cytokine profile and dose dependency. *Digestion* 62: 240-248, 2000
  - 18) Kitajima S, Takuma S, Morimoto M. Changes in colonic mucosal permeability in mouse colitis induced with dextran sodium sulfate. *Exp Anim* 48(3) : 137-143, 1999
  - 19) Msiewicz JJ, Lennard-Jones JE, Connell AM. Controlled trial of sulfasalazine in maintenance therapy for ulcerative colitis. *Lancet* 1: 185-188, 1965
  - 20) Boumpas DT, Chrousos GP, Wilder RL. Glucocorticoid therapy for immune-mediated diseases: Basic and clinical correlates. *Ann Intern Med* 119: 1198-1208, 1993
  - 21) Kim HC. Textbook of herbal pharmacology. Jipmundang, pp.129-133, 2001
  - 22) Abe K, Inoue O, Yumioka E. Biliary excretion of metabolites of baicalin and baicalein in rats. *Chem Pharm Bull* 38: 208-211, 1990
  - 23) Moon YH, Lee YH, Min BS, Bae KH. Antibacterial Constituents from *Scutellariae Radix* against *Streptococcus mutans* OMZ176. *Kor J Pharmacogn* 28(3) : 99-103, 1997
  - 24) Kubo M, Matusuda H, Kimura Y, Okuda H, Higashino M, Tani T, Namba K, Arichi S. Studies on *Scutellariae Radix*. VII. Anti-arthritis and anti-inflammatory action of methanolic extract and flavonoid components from *Scutellariae Radix*. *Chem Pharm Bull* 33: 2411-2415, 1984
  - 25) Kubo M, Matusuda H, Kimura Y, Okuda H, Arichi S. *Scutellariae Radix*. X. Inhibitory effects of various flavonoids on histamine release peritoneal mast cell in vitro. *Chem Pharm Bull* 32: 2724-2729, 1984
  - 26) Jung JW, Ahn NY, Park SH, Oh JK, Oh HR, Lee BK, Om AS, Kim BS, Kim DH, Ryu JH. The anxiolytic-like effects of *Scutellaria baicalensis* using elevated plus-maze in rats. *Kor J Pharmacogn* 35(1) : 22-27, 2004
  - 27) Okawa M, Kinjo J, Nohara T, Ono M. DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical scavenging activity of flavonoids obtained from some medical plants. *Biol Pharm Bull* 24(10) : 1202-1205, 2001
  - 28) Kimura Y, Okuda H, Tani T, Arichi S. Studies on *Scutellariae Radix*. IV. Effects of various flavonone compounds on lipid peroxidation in rat liver. *Chem Pharm Bull* 30: 1792-1795, 1982
  - 29) Tie Hong, Guang-Bi Jin, Shigefumi Cho, Jong-Chol Cyong. Evaluation of the anti-inflammatory effect of baicalein on dextran sulfate sodium-induced colitis in mice. *Planta Med* 68: 266-268, 2002
  - 30) Finegold SM, Flora DJ, Atterbery HR, Sutter VL. Effects of diet on human fecal flora: Comparison of Japanese and American diets. *Am J Clin Nutr* 27: 1456-1469, 1974
  - 31) Rao AV. Effects of dietary fiber on intestinal microflora and health. In: Dietary fiber in Health and Disease, Kritchevsky D. & Bonefield C. eds. *Egan Press St Paul MN*, pp.257-266, 1995
  - 32) Rombeau JL, Rolandelli RH, Settle RG. Effect of liquid formula diets supplemented with citrus pectin on intestinal structure and function. *J Gastroenterol* 27(suppl) : 27-30, 1989
  - 33) Blumberg RS, Saubermann LJ, Strober W. Animal models of mucosal inflammation and their relation to human inflammatory bowel disease. *Curr Opin Immunol* 11: 648-656, 1999
  - 34) Murthy SNS, Cooper HS, Shim H, Shah RS, Inrahim SA, Seidergran DJ. Treatment of dextran sulfate sodium-induced murine colitis by intracolonic cyclosporin. *Dig Dis Sci* 38: 1722-1734, 1993
  - 35) Lim BO, Yamada K, Nonaka M, Kuramoto Y, Pham H, Sugano M. Dietary fibers modulate intestinal immune indices in rats. *J Nutr* 127: 663-667, 1997
  - 36) Yamada K, Tokunaga Y, Ikeda A, Ohkura K, Maniya S, Kaku S, Sugano M, Tachibana H. Dietary effect of guar gum and its partially hydrolyzed product on the lipid metabolism and immune function of Sprague-Dawley rats. *Biosci Biotechnol Biochem* 63: 2163-2167, 1999
  - 37) Lim BO, Choue RW, Park DK, Kim HC, Kim SY, Yamada K, Sugano M. Effect of dietary level of pectin on immunoglobulin and cytokine production by mesenteric lymph node lymphocyte and interleukin-2 receptor in rat. *Food Sci Technol Res* 8: 14-16, 2002
  - 38) Gaudio E, Taddei G, Vetuschi A, Sferra R, Frieri G, Ricciardi G, Caprilli R. Dextran sulfate sodium (DSS) colitis in rat: clinical, structural, and ultrastructural aspects. *Dig Dis Sci* 44(7) : 1458-1475, 1999
  - 39) Axelsson L-G, Landström E, Lundberg C, Bylund-Fellenius A-C. The degree of sulfate content and the molecular weight of dextran sulfate and carrageenan are important for the induction of colitis in mice. *Gastroenterology* 110(4) : A858, 1996
  - 40) Lee SH. Studies on immunoregulatory activity of *Scutellariae Radix* in inflammatory bowel disease animal model. *Kyung Hee University Master's Thesis*, 2004
  - 41) Lim BO, Lee SH, Choue RW. Effect of dietary pectin on the production of immunoglobulins and cytokines by mesenteric lymph node lymphocytes in mouse colitis induced with dextran sulfate sodium. *Biosci Biotechnol Biochem* 67(8) : 1706-1712, 2003