

桑白皮가 항알러지 및 항염증반응에 미치는 영향

조형준, 이진용, 김덕곤

경희대학교 한의과대학 소아과학교실

In vitro and *in vivo* anti-inflammatory and anti-allergic responses caused by water extract of *Mori Cortex*

Cho Hyung Jun, Lee Jin Yong, Kim Deog Gon

Department of Pediatrics, College of Oriental Medicine, KyungHee University

Objective: This experimental study was performed to examine the *in vitro* and *in vivo* anti-inflammatory and anti-allergic effects of *Mori Cortex*.

Methods: Water extract of *Mori Cortex* was studied to its ability to stimulate or inhibit macrophage 264.7 cells to produce inflammatory and allergic mediators. Cytokines such as IL-1 β , IL-6, IL-10 and TNF- α were measured by immunochemical assay. *In vitro*, the macrophages 264.7 were classified into four groups. One group was a normal group. The other group was a (-) control group stimulated with LPS. And the third group was a (+) control group pretreated for 1 hour with hydrocortisone. And the fourth group was a sample group pretreated for 1 hour with *Mori Cortex*. After pretreatment, macrophage were incubated with lipopolysaccharide(LPS) 100 ng/ml for 12 hour and media collected and IL-1 β , IL-6, IL-10 and TNF- α concentrations in supernatants were measured each by Enzyme linked immuno-soubent assay. *Mori Cortex* were used 50 μ g/ml, 100 μ g/ml, 250 μ g/ml, 500 μ g/ml and 1,000 μ g/ml. Hydrocortisones were used 10⁻⁸M, 10⁻⁷M, 10⁻⁶M, 10⁻⁵M and 10⁻⁴M. *In vivo*, the SD rats were classified into three groups. One group was a normal group injected with normal saline into the abdominal cavity. The other was a control group prescribed to compound 48/80 after normal saline injection. And the third was a sample group prescribed to compound 40/80 after *Mori Cortex* injection. Then, the release of histamine, IL-6 and TNF- α were measured.

Results : *In vitro*, *Mori Cortex* significantly increased the release of IL-1 β and TNF- α by LPS-stimulated macrophage 264.7 cells. And it significantly decreased the release of IL-10. In IL-6, *Mori Cortex* of low concentration significantly decreased the release of IL-6, but that of high concentration acted in reverse. *In vivo*, *Mori Cortex* didn't show significant inhibitory effects on the release of histamine and IL-6 in comparison with that of the control group. But it significantly increased the release of TNF- α in comparison with that of the control group.

Key words : *Mori Cortex*, allergic inflammation, IL-1 β , IL-6, IL-10, TNF- α , histamine

접 수 : 2005년 11월 15일, 채택일자: 2005년 12월 17일
교신저자 : 조형준. 서울시 동대문구 회기동 1번지 경희의료원 한방병원 소아과
(Tel: 02-958-9172, Fax: 02-958-9171, Email: aokop@hanmail.net)

I. 서 론

염증은 각종 유해한 손상에 대한 초기반응으로서, 세포 상해를 유발하는 다양한 자극에 대해 생체 조직이 보이는 복합적인 반응이다¹⁾. 일반적으로 염증은 정도의 조직 손상을 동반하지만 과도한 염증은 영구적인 조직 손상을 초래하기도 한다. 이러한 염증반응에 의한 조직 손상의 기전은 염증매개 cytokine에 의해 나타나는 것으로 알려져 있다^{2,3)}.

알리지는 염증성 질환의 한 종류로서, 지난 십여 년 동안 알리지성 염증반응에 관계되는 세포와 매개물질에 대한 연구가 비약적으로 이루어졌다⁴⁾. 이러한 알리지성 염증반응에 있어서도 여러 가지 cytokine에 의해 다양한 조직 손상이 나타나게 된다.

생체 내의 cytokine 반응은 복잡하게 복수의 cytokine이 조합된 것으로, 어떤 cytokine은 촉진적으로 작용하고 어떤 cytokine은 억제적으로 작용한다. 하지만 알리지 질환에서는 그 균형이 무너져 알리지에 촉진적으로 작용하는 cytokine이 우위가 되어 있다는 것이

알려져 있다⁵⁾. 따라서 어떤 약물이 항알리지 항염증반응에 어떠한 영향을 미치는가를 규명하기 위해서 이러한 cytokine의 발현에 미치는 영향을 관찰하는 것이 의미가 있을 것으로 사료된다.

상백피(*Mori Cortex*)는 桑科(뽕나무과; *Moraceae*)에 속한 낙엽교목인 뽕나무 *Morus alba* L. 및 동속 근연식물의 근피를 건조한 것으로, 性은 寒無毒하고, 味는 甘하여 肺經으로 들어가 瀉肺平喘하고 行水消腫하는 효능이 있어 肺熱로 인한 咳喘을 치료하는데 다용하고, 水腫으로 小便이 不利하고 喘滿이 있는 證을 치료하는데 자주 사용하는 약물이다⁶⁾.

상백피에 관한 국내의 많은 연구들 중 알리지반응이나 염증반응과 관련된 논문들을 살펴보면, 소 등⁷⁾과 김 등⁸⁾이 상백피가 compound 48/80에 의해 유발된 비만세포의 탈과립을 억제하는 중요한 성분을 함유하고 있다고 보고한 뒤로, 이 등⁹⁾은 상백피가 흰쥐 복강 및 장간막 비만세포의 탈과립을 억제하고 histamine의 분비를 감소시킨다고 보고하였고, 강 등¹⁰⁾과 채 등^{11,12)}은 각각 상백피가 세포내로의 칼슘 유입

의 증가를 억제함으로써 비만세포의 탈과립 및 히스타민 유리를 억제한다고 보고하였으며, 윤 등¹³⁾은 상백피가 대식세포로부터 nitric oxide, TNF- α 및 IL-1 등의 염증매개인자의 분비를 차단하여 항염증효과를 나타낸다고 보고하였다. 이 등¹⁴⁾은 상백피가 비만세포의 탈과립으로 인한 조기 천식 반응을 억제하며 기관지내로의 호산구 및 호중구의 이동을 억제함으로써 후기 천식 반응을 억제하는 작용이 있다고 보고하였고, 이 등¹⁵⁾은 상백피 추출물에서 항알러지 활성을 나타내는 성분이 lignin-carbohydrate complex라고 보고하였다. 국외에서는 상백피의 혈압강하 효과¹⁶⁾, 항균작용¹⁷⁾, 혈당강하 작용^{18,19)} 등에 대한 연구가 진행되었으나 항알러지나 항염증반응에 대한 연구는 미흡한 실정이다.

그동안 진행되었던 상백피 관련 연구를 보면, 상백피의 항염증 및 항알러지 작용에 대해 많은 관심을 보이고 있음을 알 수 있다. 그러나, 상백피가 IL-1 β , IL-6, IL-10, TNF- α 및 histamine의 분비에 어떠한 영향을 미치는가에 대해 *in vitro*와 *in vivo*로 나누어 실행한 연구는 아직까지 없었다.

이에 저자는 임상에서 염증성 알러지 질환의 치료에 자주 사용되는 상백피가 항알러지 및 항염증반응에 어떠한 영향을 미치는지를 규명하기 위해 *in vitro*에서는 macrophage 264.7 cells에서 LPS 유발에 의한 IL-1 β , IL-6, IL-10 및 TNF- α 의 발현에 미치는 영향을 관찰하고, *in vivo*에서는 compound 48/80에 의해 유도된 anaphylactic shock에서의 혈중 histamine, IL-6 및 TNF- α 농도를 관찰하여 그 결과를 보고하는 바이다.

II. 실험

1. *In vitro*

1) 재료

(1) 검액의 제조

약재는 경희대학교 한의과대학 부속한방병원에서 구입하였다. 상백피 250 g을 3 L 등근 플라스크에 넣고 2,500 ml 증류수를 가하여 냉각기가 부착된 전탕기에서 2시간 동안 가열한 후 여과지로 여과하였다. 이렇게 얻은 여과액을 감압농축한 후 동결 건조하여 물 추출물 28 g을 얻었다.

(2) 시약

본 실험에 사용한 시약인 lipopolysaccharide (LPS)와 hydrocortisone은 Sigma社(St. Louis, MO, U.S.A)의 제품을 구입하였다.

(3) 세포의 배양

Macrophage 264.7 cell은 Dulbecco's minimum Eagle's medium (DMEM, 10% Fetal bovine serum (FBS), penicillin:100 U/ml, streptomycin:100 U/ml) 배지를 사용하였으며, macrophage 264.7 cell은 24 well plate에 2×10^5 을 분주하고 5% CO₂, 37°C에서 배양하였다.

2) 방법

(1) 실험군의 분류

Macrophage 264.7 cell만을 배양한 정상군 (Normal 군), LPS (100 ng/ml)로 stimulation한 (-)대조군 (Control 군), hydrocortisone으로 전처리 후 LPS로 stimulation한 (+)대조군 (HCS 군), 그리고 상백피로 전처리한 후 LPS

로 stimulation한 실험군 (*Mori Cortex*)으로 분류하였다. 상백피의 농도는 50, 100, 250, 500, 및 1,000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로, hydrocortisone의 농도는 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} , 및 10^{-4} M로 하였다.

(2) Cytokine의 측정

Macrophage 264.7 cell 2×10^5 을 24 well plate에 분주하여 overnight incubation한 후, medium을 갈아주었다. 그 후 상백피 및 hydrocortisone을 농도별로 처리하였다. 약물처리 1시간 후 LPS (100 ng/ml)로 stimulation하였다. 12시간 후 medium을 건어낸 후 2000 rpm, 4°C 에서 10분간 원심 분리하여 상층액만을 분리해 수거하였다.

IL-1 β , IL-6, IL-10 및 TNF- α 의 정량은 ELISA (enzyme-linked immuno-sorbent assay) 방법을 사용하였다. Plate (Nunc Maxi-sorp)에 capture antibody를 25°C 에서 overnight coating한 후, plate를 washing buffer로 washing하였다. 1% BSA, 5% sucrose, 0.05% $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$ 를 포함하고 있는 phosphate buffered saline (PBS)로 실온에서 blocking한 후, sample을 두 시간 동안 실온에서 배양하였다 (sample은 0.1% BSA, 0.05% Tween 20을 포함하고 있는 PBS로 희석하였다). Plate를 다시 washing한 후 detection Ab로 실온에서 두 시간 배양하고 plate를 washing, streptavidin-horseradish peroxidase로 20분간 실온 배양 후 다시 washing하였다. Tetramethylbenzidine (TMB) substrate를 첨가하고 실온에서 20분간 반응시킨 후 stop solution (2N H_2SO_4)으로 반응을 정지시킨 다음 450 nm에서 O.D값을 측정하였다.

(3) 통계처리

실험결과는 통계프로그램 SPSS[®] for win-

dows (version 10.0, SPSS, Inc., Chicago, U.S.A.)를 사용하여 약물의 농도에 따른 cytokine 발현수치를 비교할 경우 Oneway ANOVA를 실시하였으며, Oneway ANOVA에서 유의수준 P value < 0.05인 경우 post hoc test로서 Scheffe's test를 시행하였다.

2. In vivo

1) 재료

(1) 동물

실험동물은 샘타코에서 구입한 체중 250 g 전후의 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐를 사용하였다. 물과 사료는 자유롭게 먹도록 하였으며, 사육실의 온도는 $21-23^\circ\text{C}$, 습도는 40-60%로 유지하였으며, 낮과 밤의 주기는 각각 12시간으로 하였다.

(2) 검액의 제조

상백피 250 g을 3 L 둥근 플라스크에 넣고 2,500 ml 증류수를 가하여 냉각기가 부착된 전탕기에서 2시간 동안 가열한 후 여과지로 여과하였다. 이렇게 얻은 여과액을 감압농축한 후 동결 건조하여 물 추출물 28 g을 얻었다. 약물의 투여는 실험동물의 체중 100 g당 0.75 mg을 1 ml의 식염수에 녹여 멸균 filter한 후 복강 주사하였다.

2) 방법

(1) 실험군의 분류

Sprague-Dawley계 흰쥐에서 histamine 유리 측정을 위한 실험군의 분류는 다음과 같다. 정상군 (Normal 군)은 생리식염수 (0.5 ml/100 g)를 희생 24시간, 12시간, 1시간 및 15분전에 각각 1회 복강내로 주입하였다. 대조군 (Control 군)은 생리식염수 (0.5 ml/100 g)를 희생

24시간, 12시간, 1시간 전에 각각 1회 복강 주사한 다음 희생 15분전에 compound 48/80 0.5 mg/100 g을 복강 주사하였으며, 실험군 (*Mori Cortex*)은 생리식염수 대신 상백피 0.75 mg/100 g을 대조군과 같은 방법으로 복강 주사하였다. 실험동물은 모든 군에서 각각 6마리로 하였다.

(2) Histamine, TNF- α 및 IL-6 분석

상백피가 histamine 분비와 TNF- α 그리고 IL-6에 미치는 효과를 알아보기 위해, 심장에서 채혈한 혈액을 EDTA tube에 담아 4°C에서 1,800 rpm, 10분간 원심 분리하여 혈장만을 분리한 후 사용하였다. Histamine의 정량은 ELISA kit (BECKMAN culture company)를, IL-6 와 TNF- α 농도는 ELISA kit (Bio-source)를 사용하여 측정하였다.

(3) 통계처리

실험결과의 분석은 상백피를 투여한 실험군과 대조군에 대해 'Student's *t*-test'를 시행하여 $P < 0.05$ 일 경우 유의성이 있다고 평가하였다.

III. 결 과

1. *In vitro*

1) IL-1 β 의 분비에 미치는 영향

LPS로 stimulation한 control 군의 IL-1 β 농도는 4.07 ± 0.21 pg/ml로 정상세포군의 1.91 ± 0.11 pg/ml에 비해 현저히 증가되었음을 보였다. Hydrocortisone으로 전처리 후 LPS로

Table 1. Effects of *Mori Cortex* on LPS-induced IL-1 β Concentration in Macrophage 264.7 Cells

| Treatment of cells | IL-1 β (pg/ml) |
|------------------------------------|------------------------|
| Normal | 1.91 ± 0.11^a |
| Control | 4.07 ± 0.21 |
| HCS 10^{-8} M | $3.31 \pm 0.09^{**}$ |
| HCS 10^{-7} M | $2.27 \pm 0.19^{**}$ |
| HCS 10^{-6} M | $1.98 \pm 0.15^{**}$ |
| HCS 10^{-5} M | $2.09 \pm 0.04^{**}$ |
| HCS 10^{-4} M | $1.63 \pm 0.10^{**}$ |
| <i>Mori Cortex</i> 50 μ g/ml | 4.42 ± 0.15 |
| <i>Mori Cortex</i> 100 μ g/ml | $4.79 \pm 0.12^{\#}$ |
| <i>Mori Cortex</i> 250 μ g/ml | $6.64 \pm 0.24^{\#\#}$ |
| <i>Mori Cortex</i> 500 μ g/ml | $5.74 \pm 0.16^{\#\#}$ |
| <i>Mori Cortex</i> 1000 μ g/ml | $5.18 \pm 0.15^{\#\#}$ |

a) Mean \pm S.E.M. (n = 9)

Macrophage RAW 264.7 cells were pre-treated with *Mori Cortex* (50, 100, 250, 500 and 1,000 μ g/ml) for 1 hr, and stimulated for 12 hr with LPS (100 ng/ml). Also, hydrocortisone (HCS) were pre-treated macrophage RAW 264.7 cells as 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} and 10^{-4} M, respectively. Cytokines concentrations in supernatants were measured by Enzyme linked immuno-sorbent assay. $\# P < 0.05$ and $^{**}, \#\# P < 0.01$, compared with the control group (LPS stimulated control group).

stimulation한 (+)대조군에서는 hydrocortisone의 농도가 증가함에 따라 농도 의존적으로 LPS에 의해 유발된 높은 IL-1 β 의 발현을 억제하는 것으로 나타났으며, 모든 농도에서 통계적으로 유의한 (모두 $P < 0.01$) IL-1 β 의 분비억제 효과를 나타내었다. 그러나 상백피로 전처리한 후 LPS로 stimulation한 실험군에서는 모든 농도에서 IL-1 β 농도를 억제하는 효과가 없었으며, 100 $\mu\text{g/ml}$ 이상의 농도에서는 통계적으로 유의한 (100 $\mu\text{g/ml}$ 는 $P < 0.05$, 250, 500 및 1,000 $\mu\text{g/ml}$ 는 $P < 0.01$) IL-1 β 발현의 증가를 나타내었다 (Table I, Fig. 1).

2) IL-6의 분비에 미치는 영향

LPS로 stimulation한 control 군의 IL-6 농도는 97.16 ± 2.09 pg/ml로 정상세포군의 8.14 ± 1.45 pg/ml에 비해 현저히 증가되었음을 보였다. Hydrocortisone으로 전처리 후 LPS로 stimulation한 (+)대조군에서는 hydrocortisone의 농도가 일정 농도 이상인 조건에서 농도가 증가함에 따라 IL-6의 발현을 억제하는 것으로 나타났는데, 10^{-6} , 10^{-5} 및 10^{-4} M의 농도에서 통계적으로 유의한 ($P < 0.01$) IL-6의 분비억제 효과를 나타내었다. 그러나 상백피로 전처리한 후 LPS로 stimulation한 실험군에서는 IL-6에 대해서 저농도에서는 분비억제 효과를 보이고, 고농도에서는 분비증가 효과를 나타내

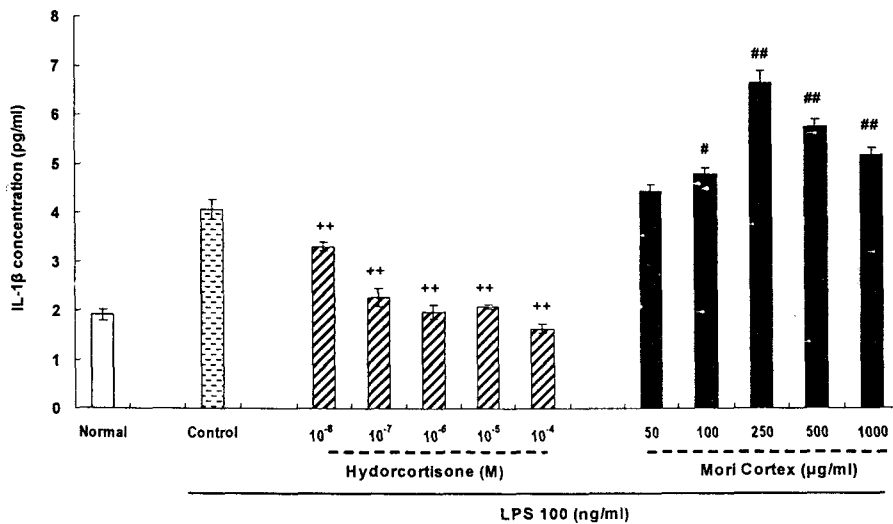


Fig. 1. Effect of *Mori Cortex* on IL-1 β concentration. Macrophage RAW 264.7 cells were pre-treated with *Mori Cortex* (50, 100, 250, 500 and 1,000 $\mu\text{g/ml}$) for 1 hr, and stimulated for 12 hr with LPS (100 ng/ml). Also, hydrocortisone (HCS) were pre-treated macrophage RAW 264.7 cells as 10^{-8} , 10^{-7} , 10^{-6} , 10^{-5} and 10^{-4} M, respectively. Cytokines concentrations in supernatants were measured by Enzyme linked immuno-sorbent assay. Values are mean \pm S.E.M. (n = 9). # $P < 0.05$ and **, ## $P < 0.01$, compared with the control group (LPS stimulated control group).

Table II. Effects of *Mori Cortex* on LPS-induced IL-6 Concentration in Macrophage 264.7 Cells

| Treatment of cells | IL-6 (pg/ml) |
|-------------------------------|-----------------------------|
| Normal | 8.14 ± 1.45 ^{a1} |
| Control | 97.16 ± 2.09 |
| HCS 10 ⁻⁸ M | 113.73 ± 2.48 |
| HCS 10 ⁻⁷ M | 90.77 ± 3.25 |
| HCS 10 ⁻⁶ M | 74.88 ± 0.47 ^{**} |
| HCS 10 ⁻⁵ M | 81.34 ± 2.23 ^{**} |
| HCS 10 ⁻⁴ M | 40.34 ± 1.53 ^{**} |
| <i>Mori Cortex</i> 50 µg/ml | 69.34 ± 1.63 ^{##} |
| <i>Mori Cortex</i> 100 µg/ml | 72.85 ± 1.43 ^{##} |
| <i>Mori Cortex</i> 250 µg/ml | 127.38 ± 4.31 ^{##} |
| <i>Mori Cortex</i> 500 µg/ml | 93.86 ± 4.98 |
| <i>Mori Cortex</i> 1000 µg/ml | 119.48 ± 2.10 ^{##} |

a) Mean ± S.E.M. (n = 9)

Macrophage RAW 264.7 cells were pre-treated with *Mori Cortex* (50, 100, 250, 500 and 1,000 µg/ml) for 1 hr, and stimulated for 12 hr with LPS (100 ng/ml). Also, hydrocortisone (HCS) were pre-treated macrophage RAW 264.7 cells as 10⁻⁸, 10⁻⁷, 10⁻⁶, 10⁻⁵ and 10⁻⁴ M, respectively. Cytokines concentrations in supernatants were measured by Enzyme linked immuno-sorbent assay. **, ## P < 0.01, compared with the control group (LPS stimulated control group).

었는데, 50 및 100 µg/ml의 농도에서는 통계적으로 유의한 (P < 0.01) IL-6의 분비억제 효과를 나타내었고, 250 및 1,000 µg/ml의 농도에서는 통계적으로 유의하게 (P < 0.01) IL-6의 분비를 증가시켰다 (Table II, Fig. 2).

3) IL-10의 분비에 미치는 영향

LPS로 stimulation한 control 군의 IL-10 농도는 902.27 ± 64.36 pg/ml로 정상세포군의 339.87 ± 13.43 pg/ml에 비해 현저히 증가되었음을 보였다. Hydrocortisone으로 전처리 후 LPS로 stimulation한 (+)대조군에서는 hydro-

cortisone의 농도가 증가함에 따라 농도 의존적으로 LPS에 의해 유발된 높은 IL-10의 발현을 억제하는 것으로 나타났으며, 특히 10⁻⁷, 10⁻⁶, 10⁻⁵ 및 10⁻⁴ M의 농도에서 통계적으로 유의한 (모두 P < 0.01) IL-10의 분비억제 효과를 나타내었다. 상백피로 전처리한 후 LPS로 stimulation한 실험군에서도 IL-10의 발현을 억제하는 것으로 나타났으며, 50, 100, 500 및 1,000 µg/ml의 농도에서는 통계적으로 유의한 (50 및 1,000 µg/ml는 P < 0.01, 100 및 500 µg/ml는 P < 0.05) IL-10의 분비억제 효과를 나타내었다 (Table III, Fig. 3).

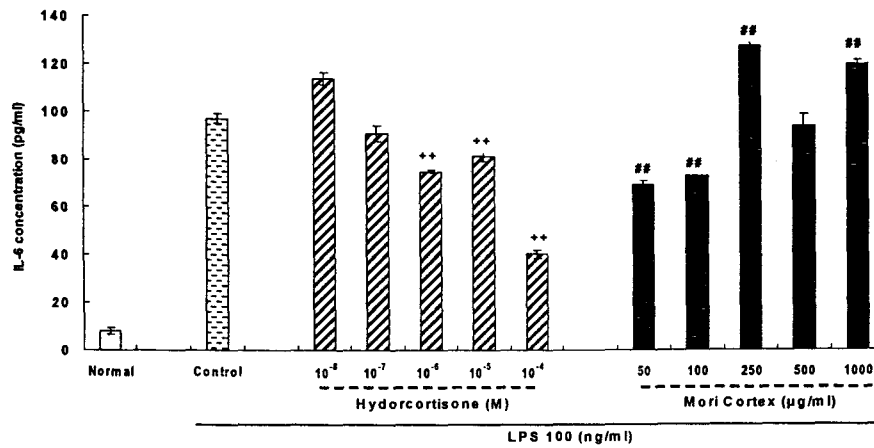


Fig. 2. Effect of *Mori Cortex* on IL-6 concentration. Macrophage RAW 264.7 cells were pre-treated with *Mori Cortex* (50, 100, 250, 500 and 1,000 µg/ml) for 1 hr, and stimulated for 12 hr with LPS (100 ng/ml). Also, hydrocortisone (HCS) were pre-treated macrophage RAW 264.7 cells as 10⁻⁸, 10⁻⁷, 10⁻⁶, 10⁻⁵ and 10⁻⁴ M, respectively. Cytokines concentrations in supernatants were measured by Enzyme linked immuno-sorbent assay. Values are mean ± S.E.M. (n = 9). **, ## P < 0.01, compared with the control group (LPS stimulated control group).

Table III. Effects of *Mori Cortex* on LPS-induced IL-10 Concentration in Macrophage 264.7 Cells

| Treatment of cells | IL-10 (pg/ml) |
|-------------------------------|------------------------------|
| Normal | 339.87 ± 13.43 ^{a)} |
| Control | 902.27 ± 64.36 |
| HCS 10 ⁻⁸ M | 797.43 ± 46.94 |
| HCS 10 ⁻⁷ M | 591.37 ± 18.31 ^{**} |
| HCS 10 ⁻⁶ M | 471.45 ± 8.16 ^{**} |
| HCS 10 ⁻⁵ M | 546.62 ± 12.66 ^{**} |
| HCS 10 ⁻⁴ M | 370.83 ± 3.85 ^{**} |
| <i>Mori Cortex</i> 50 µg/ml | 649.90 ± 21.61 ^{##} |
| <i>Mori Cortex</i> 100 µg/ml | 699.25 ± 51.33 [#] |
| <i>Mori Cortex</i> 250 µg/ml | 897.25 ± 22.79 |
| <i>Mori Cortex</i> 500 µg/ml | 718.63 ± 15.94 [#] |
| <i>Mori Cortex</i> 1000 µg/ml | 634.87 ± 28.21 ^{##} |

a) Mean ± S.E.M. (n = 9)

Macrophage RAW 264.7 cells were pre-treated with *Mori Cortex* (50, 100, 250, 500 and 1,000 µg/ml) for 1 hr, and stimulated for 12 hr with LPS (100 ng/ml). Also, hydrocortisone (HCS) were pre-treated macrophage RAW 264.7 cells as 10⁻⁸, 10⁻⁷, 10⁻⁶, 10⁻⁵ and 10⁻⁴ M, respectively. Cytokines concentrations in supernatants were measured by Enzyme linked immuno-sorbent assay. # P < 0.05 and **, ## P < 0.01, compared with the control group (LPS stimulated control group).

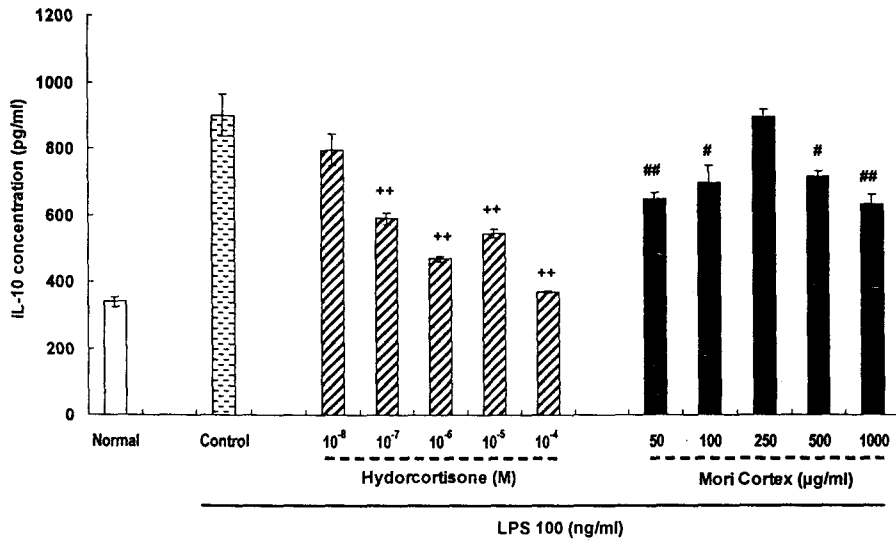


Fig. 3. Effect of *Mori Cortex* on IL-10 concentration. Macrophage RAW 264.7 cells were pre-treated with *Mori Cortex* (50, 100, 250, 500 and 1,000 µg/ml) for 1 hr, and stimulated for 12 hr with LPS (100 ng/ml). Also, hydrocortisone (HCS) were pre-treated macrophage RAW 264.7 cells as 10⁻⁸, 10⁻⁷, 10⁻⁶, 10⁻⁵ and 10⁻⁴ M, respectively. Cytokines concentrations in supernatants were measured by Enzyme linked immuno-sorbent assay. Values are mean ± S.E.M. (n = 9). # P < 0.05 and **, ## P < 0.01, compared with the control group (LPS stimulated control group).

4) TNF-α의 분비에 미치는 영향

LPS로 stimulation한 control 군의 TNF-α 농도는 2278.33 ± 52.47 pg/ml로 정상세포군의 272.05 ± 5.72 pg/ml에 비해 현저히 증가되었음을 보였다. Hydrocortisone으로 전처리 후 LPS로 stimulation한 (+)대조군에서는 hydrocortisone의 농도가 증가함에 따라 농도 의존적으로 LPS에 의해 유발된 높은 TNF-α의 발현을 억제하는 것으로 나타났으며, 특히 10⁻⁷, 10⁻⁶, 10⁻⁵ 및 10⁻⁴ M의 농도에서 통계적으로 유의한 (모두 P < 0.01) TNF-α의 분비억제 효과를 나타내었다. 그러나 상백피로 전처리한 후 LPS로 stimulation한 실험군에서는 모든 농

도에서 TNF-α 농도를 억제하는 효과가 없었으며, 일부 농도 (250 및 1,000 µg/ml)에서는 통계적으로 유의한 (P < 0.01) TNF-α 발현의 증가를 나타내었다 (Table IV, Fig. 4).

Table IV. Effects of Mori Cortex on LPS-induced TNF- α Concentration in Macrophage 264.7 Cells

| Treatment of cells | TNF- α (pg/ml) |
|------------------------------------|------------------------------------|
| Normal | 272.05 \pm 5.72 ^{a)} |
| Control | 2278.33 \pm 52.47 |
| HCS 10 ⁻⁸ M | 2208.00 \pm 114.24 |
| HCS 10 ⁻⁷ M | 1763.00 \pm 106.67 ^{**} |
| HCS 10 ⁻⁶ M | 1559.33 \pm 84.99 ^{**} |
| HCS 10 ⁻⁵ M | 1616.33 \pm 55.03 ^{**} |
| HCS 10 ⁻⁴ M | 1269.50 \pm 101.43 ^{**} |
| <i>Mori Cortex</i> 50 μ g/ml | 2210.33 \pm 43.76 |
| <i>Mori Cortex</i> 100 μ g/ml | 2359.83 \pm 42.34 |
| <i>Mori Cortex</i> 250 μ g/ml | 2797.67 \pm 73.14 ^{##} |
| <i>Mori Cortex</i> 500 μ g/ml | 2368.60 \pm 131.01 |
| <i>Mori Cortex</i> 1000 μ g/ml | 3164.33 \pm 68.74 ^{##} |

a) Mean \pm S.E.M. (n = 9)

Macrophage RAW 264.7 cells were pre-treated with *Mori Cortex* (50, 100, 250, 500 and 1,000 μ g/ml) for 1 hr, and stimulated for 12 hr with LPS (100 ng/ml). Also, hydrocortisone (HCS) were pre-treated macrophage RAW 264.7 cells as 10⁻⁸, 10⁻⁷, 10⁻⁶, 10⁻⁵ and 10⁻⁴ M, respectively. Cytokines concentrations in supernatants were measured by Enzyme linked immuno-sorbent assay. **, ## P < 0.01, compared with the control group (LPS stimulated control group).

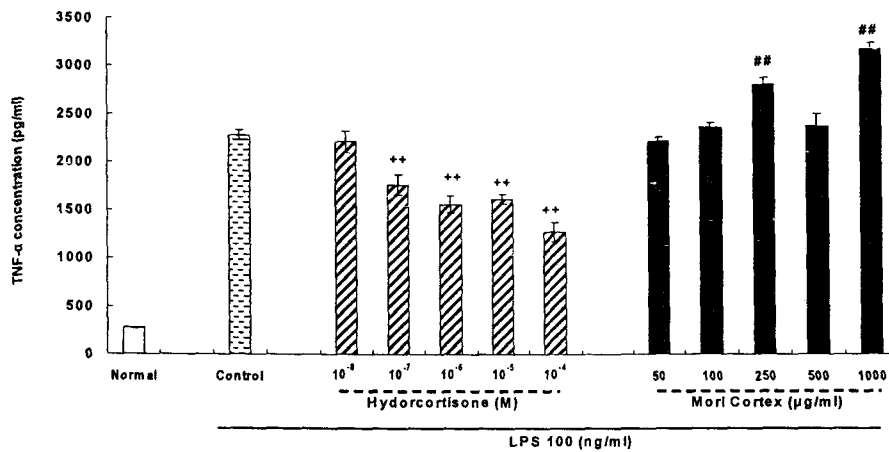


Fig. 4. Effect of *Mori Cortex* on IL-6 concentration. Macrophage RAW 264.7 cells were pre-treated with *Mori Cortex* (50, 100, 250, 500 and 1,000 μ g/ml) for 1 hr, and stimulated for 12 hr with LPS (100 ng/ml). Also, hydrocortisone (HCS) were pre-treated macrophage RAW 264.7 cells as 10⁻⁸, 10⁻⁷, 10⁻⁶, 10⁻⁵ and 10⁻⁴ M, respectively. Cytokines concentrations in supernatants were measured by Enzyme linked immuno-sorbent assay. Values are mean \pm S.E.M. (n = 9). **, ## P < 0.01, compared with the control group (LPS stimulated control group).

2. *In vivo*

1) Histamine의 분비에 미치는 영향

생리식염수를 복강주사한 뒤 compound 48/80을 복강주사한 control 군의 histamine 분비량은 356.92 ± 29.53 nM로 생리식염수만 복강주사한 정상군의 26.19 ± 4.73 nM에 비해 현

저하게 증가되었다. 그리고 생리식염수 대신 상백피를 복강주사한 뒤 compound 48/80을 복강주사한 실험군의 histamine 분비량은 301.10 ± 23.29 nM로 control 군과 비교해서 약간 감소하는 경향은 있었으나 통계적으로 유의한 차이를 나타내지는 못하였다 (Table V, Fig. 5).

Table V. Effects of *Mori Cortex* on the Histamine Release Induced by Compound 48/80 in Rats

| Group | Histamine (nM) |
|--------------------|--------------------|
| Normal | 26.19 ± 4.73 |
| Control | 356.92 ± 29.53 |
| <i>Mori Cortex</i> | 301.10 ± 23.29 |

Normal: No treated group

Control: Compound 48/80 treated (0.5 mg/100 g, i.p.) group

Mori Cortex: *Mori Cortex* pre-treated (0.75 mg/100 g, i.p. at 24, 12 and 1 hr before compound 48/80 i.p. injection) group.

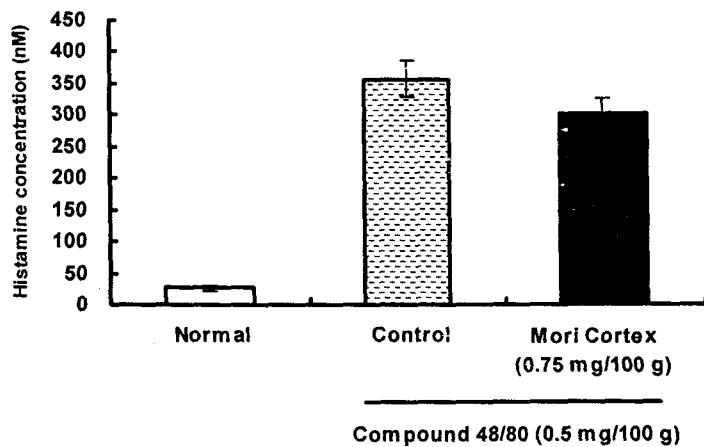


Fig. 5. Effects of *Mori Cortex* on the histamine release from SD rat mast cell induced by compound 48/80. Error bars indicate standard error of the mean. Normal: No treated group, Control: Compound 48/80 treated (0.5 mg/100 g, i.p.) group, *Mori Cortex*: *Mori Cortex* pre-treated (0.75 mg/100 g, i.p. at 24, 12 and 1 hr before compound 48/80 i.p. injection) group.

2) IL-6의 분비에 미치는 영향
 생리식염수를 복강주사한 뒤 compound 48/80을 복강주사한 control 군의 IL-6 분비량은 30.29 ± 4.10 pg/ml로 생리식염수만 복강주사한 정상군의 23.86 ± 2.03 pg/ml에 비해 약간 증가되었다. 그리고 생리식염수 대신 상백피를 복강주사한 뒤 compound 48/80을 복강주사한

실험군의 IL-6 분비량은 42.08 ± 4.70 pg/ml로 control 군과 비교해서 증가하는 경향은 있었으나 통계적으로 유의한 차이를 나타내지는 못하였다 (Table VI, Fig. 6).

Table VI. Effects of Mori Cortex on the IL-6 Release Induced by Compound 48/80 in Rats

| Group | IL-6 (pg/ml) |
|-------------|------------------|
| Normal | 23.86 ± 2.03 |
| Control | 30.29 ± 4.10 |
| Mori Cortex | 42.08 ± 4.70 |

Normal; No treated group

Control; Compound 48/80 treated (0.5 mg/100 g, i.p.) group

Mori Cortex; Mori Cortex pre-treated (0.75 mg/100 g, i.p. at 24, 12 and 1 hr before compound 48/80 i.p. injection) group.

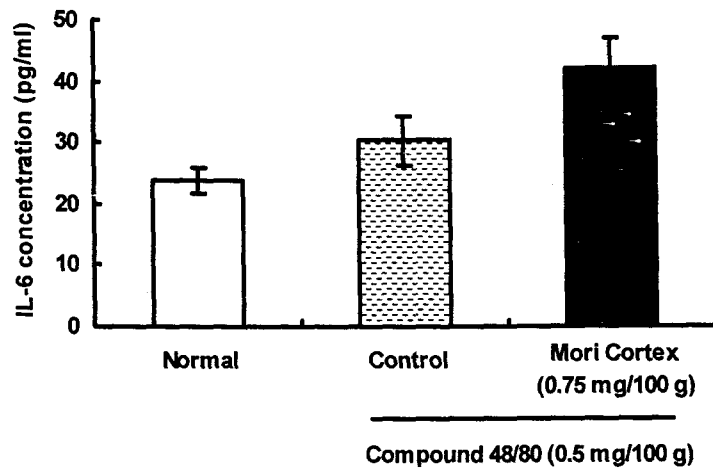


Fig. 6. Effects of Mori Cortex on Compound 48/80 induced IL-6 in SD Rat.

Error bars indicate standard error of the mean. Normal; No treated group, Control; Compound 48/80 treated (0.5 mg/100 g, i.p.) group, Mori Cortex; Mori Cortex pre-treated (0.75 mg/100 g, i.p. at 24, 12 and 1 hr before compound 48/80 i.p. injection) group.

3) TNF- α 의 분비에 미치는 영향

생리식염수를 복강주사한 뒤 compound 48/80을 복강주사한 control 군의 TNF- α 분비량은 19.01 ± 3.55 pg/ml로 생리식염수만 복강주사한 정상군의 12.74 ± 1.90 pg/ml에 비해 약간 증가되었다. 그러나 생리식염수 대신 상백피를 복강주사한 뒤 compound 48/80을 복강주

사한 실험군의 TNF- α 분비량은 46.23 ± 0.75 pg/ml로 control 군과 비교해서 통계적으로 유의하게 ($P < 0.01$) TNF- α 의 분비를 증가시켰다 (Table VII, Fig. 7).

Table VII. Effects of *Mori Cortex* on the TNF- α Release Induced by Compound 48/80 in Rats

| Group | TNF- α (pg/ml) |
|--------------------|-----------------------|
| Normal | 12.74 ± 1.90 |
| Control | 19.01 ± 3.55 |
| <i>Mori Cortex</i> | $46.23 \pm 0.75^{##}$ |

Normal; No treated group

Control; Compound 48/80 treated (0.5 mg/100 g, i.p.) group

Mori Cortex; *Mori Cortex* pre-treated(0.75 mg/100 g, i.p. at 24, 12 and 1 hr before compound 48/80 i.p. injection) group.

^{##} $P < 0.01$, compared with the control group.

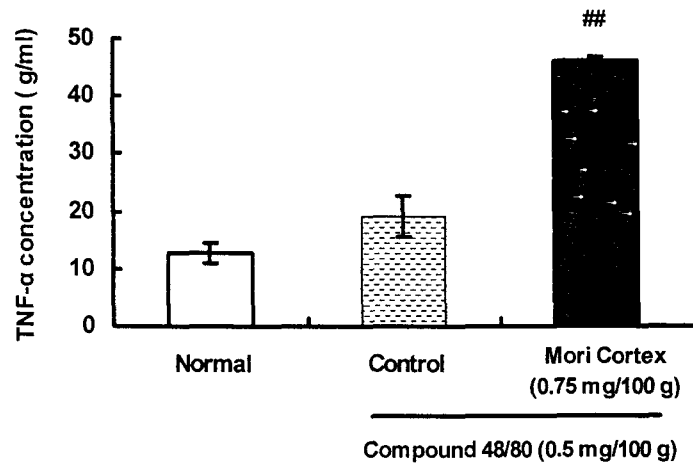


Fig. 7. Effects of *Mori Cortex* on Compound 48/80 induced TNF- α in SD Rat. Error bars indicate standard error of the mean. Normal; No treated group, Control; Compound 48/80 treated (0.5 mg/100 g, i.p.) group, *Mori Cortex*; *Mori Cortex* pre-treated (0.75 mg/100 g, i.p. at 24, 12 and 1 hr before compound 48/80 i.p. injection) group. ^{##} $P < 0.01$, compared with the control group.

IV. 고 찰

천식, 알러지성 비염, 아토피 피부염 및 알러지 결막염 등으로 대표되는 알러지 질환은 계속 증가하는 추세에 있으며, 이제는 세계 인구의 약 20-30%가 이환되어 있다고 한다⁵⁾. 그 증가의 원인으로써 각종 환경인자들을 비롯하여 여러 가지가 제시되고 있지만 아직까지 확정된 것은 없다.

알러지(allergy)라는 용어는 1906년 von Pirquet가 주위 환경에서 흔히 접하는 항원에 환자가 정상적이지 못한 변형된 반응을 나타내는 경우를 일컬어 사용하기 시작하였다. 그 후 면역학적 연구가 활발히 진행되고 질병의 면역학적 해석이 보편화되면서 알러지 질환은 과민성 면역 반응으로 표적 기관에 염증이 형성되어 발생하는 질환으로 정의하게 되었다²⁰⁾.

알러지 반응은 조직 손상의 기전을 쉽게 이해할 수 있도록 Gell과 Coombs에 의해서 I-IV형으로 분류되어 사용되고 있다. I, II, III형은 항체가 관여하는 체액성 면역 반응이고, 이 중 I형과 II형은 세포 표면에서 반응이 일어나고 III형은 세포 외액에서 일어난다. 면역 반응에 관여하는 세포와 매개물질의 종류에 따라 수 분 내에 증상이 나타나는 즉시형 반응과 몇 시간 후에 나타나는 지연형 반응이 있다. IV형은 주로 T세포와 대식세포가 관여하는 세포 매개 면역 반응으로 증상이 대체로 수 일 후에 나타나는 지연형 반응의 형태로 나타난다²¹⁾.

최근 면역학적 연구가 활발히 진행되면서 알러지 질환에 있어서 염증 반응이 가장 중요한 기전으로 이해되고 있다²²⁾. 이에 따라 지난 십여 년 동안 알러지성 염증반응에 관계되는 세포와 매개물질에 대한 연구가 비약적으로 이

루어졌으며⁴⁾, 특히 cytokine이 알러지(소위 I형)의 병태 형성에 깊이 관여하고 있다는 것이 밝혀져 오고 있다²³⁾.

염증반응은 신체에 외부로부터 물리적, 화학적 또는 생물학적 물질이 침입했을 경우 대처하는 정상적인 현상으로서 혈관팽창, selectin, integrin, immunoglobulin superfamily와 같은 adhesion molecule에 의해 대식세포 및 호중구와 같은 백혈구의 반응을 촉진하기 위한 삼출, cytotoxin 분비, 손상된 세포를 대처하기 위한 주위 세포의 증식, 항체 생성 등으로 표현되는 일련의 면역반응이다¹³⁾.

염증반응 과정에서 분비되는 주요 물질은 크게 두 가지로 나눌 수 있는데, 하나는 ROS (reactive oxygen species)와 RNS(reactive nitrogen species)와 같은 cytotoxin이고 또 하나는 주로 대식세포에서 분비되는 cytokine이다²⁴⁾. 염증 반응에서 나타나는 특징적인 증후는 발적, 발열, 종창, 동통 및 기능상실로 정리할 수 있으며, 염증 반응시에 생산된 cytotoxin과 cytokine의 작용에 의해 다양한 전신 증상이 일어나게 된다²⁵⁾.

Cytokine은 알러지 질환과 알러지성 염증반응에 있어서 병인학적으로 중심적인 역할을 담당하고 있다. 따라서 cytokine의 조절 기전과 그 기능을 이해하는 것은 매우 중요하며 알러지 질환을 치료함에 있어서 더욱 효과적인 방법을 제공해줄 것으로 기대된다²⁶⁾. 좁은 의미에서의 cytokine은 면역학 분야에서 연구되어 온 lymphokine이나 monokine 등의 interleukin類, chemokine類와 혈액학자가 연구해 온 colony stimulating factor 등의 조혈인자류 및 염증의 분야나 항 바이러스 인자로서 연구되어 온 종양괴사인자와 interferon類를 말하며, 넓은 의미에서는 혈소판유래 증식인자나 상피증식인자 등과 같이 종래부터 증식인자

로서 연구되어 온 인자도 포함한다⁵⁾. 이러한 cytokine들 중 IL-1 β , IL-6, IL-10 및 TNF- α 는 염증반응을 일으키는 데 있어서 중요한 역할을 담당한다.

IL-1은 TNF- α 와 더불어 활성화된 대식세포로부터 생산되는 대표적인 염증 매개성 cytokine으로서 TNF- α 와 많은 부분에서 비슷한 생물학적 작용을 갖는 것으로 알려져 있다²⁷⁻²⁹⁾. IL-1에는 IL-1 α 와 IL-1 β 의 두 가지 형이 있는데, 적은 양에서는 CD4+ T cell과 B cell을 활성화하며, 염증세포를 자극할 수 있다. 그러나 IL-1이 과량 만들어지면 호르몬으로 작용하여, 발열 및 급성기 반응 등이 나타난다.^{27,30)} IL-1 β 는 특히 천식이나 만성 폐쇄성 폐질환 환자들에게 있어서 그 분비가 증가되어 있는 것이 관찰되고 있는데, IL-10과 더불어 이러한 호흡기 질환의 염증 반응에 중요한 역할을 하는 것으로 생각되어지고 있다^{31,32)}. 본 연구 중 *in vitro* 실험에서 hydrocortisone으로 전처리한 (+)대조군이 모든 농도에서 IL-1 β 에 대해 유의성 있는 억제효과를 나타내는 것과는 상대적으로, 상백피로 전처리한 실험군에서는 오히려 IL-1 β 의 분비가 유의성 있게 증가되었다. 이처럼 본 실험에서는 상백피의 농도가 높을 수록 IL-1 β 의 분비를 증가시키는 경향이 나타났지만, 실제 임상에서 상백피는 해수와 천식 등의 폐질환을 치료하는데 효과가 있는 것으로 보아 상백피를 사용하는 농도에 중요한 의미가 있다는 것을 추측해 볼 수 있다. 또한 상백피를 타 약물과 병행해서 사용했을 때 IL-1 β 의 분비에 어떠한 영향을 미치는가에 대한 연구도 추후에 진행되어야 할 것으로 생각된다.

IL-6는 숙주 방어에 중심적인 역할을 하는 다기능 cytokine으로서 림프계세포와 골수성 림프계세포에서 생성되며 면역반응과 세포손상

에 대한 숙주의 반응을 조절한다. 그리고 감염이나 손상 등에 의한 급성 반응을 보이며, 면역 반응에 관여하는 세포의 성장과 분화에 관여한다.³³⁾ 또한 IL-6는 IL-1, PDGF 및 TNF- α 등 성장인자의 자극이나 박테리아, 바이러스 감염에 의하여 생성되기도 한다.³⁴⁾ IL-6는 다른 성장인자들과 마찬가지로 정상 B세포, 각질세포 등과 같은 정상세포와 신장암, 방광암 등의 종양세포의 성장을 촉진할 뿐만 아니라 그 외에도 난소암, 골수종 등의 암세포에서 분비되며 여러 가지 고형성 암에서도 발현한다고 보고되었다^{35,36)}. 이번 연구에서는 상백피가 IL-6에 미치는 영향을 관찰하기 위해 *in vitro*와 *in vivo*로 실험을 진행하였다. *In vitro* 실험에서는 10⁻⁶~10⁻⁴ M의 hydrocortisone으로 전처리한 (+)대조군이 IL-6에 대해 유의성 있는 억제효과를 나타내는 것과는 다르게, 상백피로 전처리한 실험군에서는 상백피의 농도가 50 μ g/ml 및 100 μ g/ml일 경우에만 유의성 있는 IL-6의 분비 억제 효과를 보였고, 상백피의 농도가 250 μ g/ml 및 1,000 μ g/ml의 고농도일 때는 오히려 IL-6의 분비를 유의성 있게 증가시켰다. *In vivo* 실험에서는 IL-6의 분비를 정량한 결과 대조군과 비교할 때 IL-6의 분비가 증가하는 경향은 있었으나 통계적으로 유의한 차이는 나타내지 않았다. *In vitro*와 *in vivo* 실험을 종합하여 볼 때, 상백피는 농도에 따라 염증성 cytokine인 IL-6에 대해서 분비를 억제할 수도 있고 분비를 증가시킬 수도 있다는 것을 알 수 있었다. 따라서 앞으로는 상백피의 농도변화를 다양하게 적용하여 IL-6의 발현에 대해 어떠한 영향을 미치는가를 좀 더 연구해 볼 필요가 있을 것이다.

IL-10은 36kDa의 동일이합체 구조의 cytokine으로 Th1 cytokine 분비를 억제하는 능력 때문에 cytokine 합성 억제 요소로 불리며³⁷⁾,

최근에는 IL-10 therapy라고 하여 IL-10의 항염증성 작용을 이용해서 악성종양이나 자가면역질환 등을 치료하려는 노력도 행해지고 있다³⁸⁾. 그러나, Katsiksi 등³⁹⁾은 IL-10이 Th2세포와 Th1세포 모두에서 생성됨을 밝혀내기도 했다. IL-10은 T세포, B세포, 대식세포에서 생성되며 주로 인간 B세포를 자극하여 인체 주요 조직항원복합체(MHC) class II 항원 발현의 증가를 유도하기도 하고⁴⁰⁾, 단핵구 표면에서 MHC class II 항원 발현을 억제하여 T세포의 활성능을 억제하기도 한다⁴¹⁾. 또한 IL-10은 단핵구와 대식구에서의 IL-1, TNF- α , IL-6, IL-8과 IL-12의 분비를 억제하고⁴¹⁾, T세포에서의 INF- γ 와 IL-2의 분비를 억제한다⁴²⁾. 따라서 IL-10의 생산량은 면역 조절과 염증 반응 사이의 균형을 조절하는데 중요하다. 아토피피부염 환자에서는 피부병변⁴³⁾과 말초혈액 단핵구⁴⁴⁾에서 IL-10의 증가가 관찰되었고, IL-10 mRNA의 발현도 아토피피부염 환자의 피부 병변⁴³⁾과 말초혈액 단핵구⁴³⁻⁴⁵⁾에서 모두 증가되어 있음이 알려져 있다. 아토피피부염 환자에서는 IL-10의 증가로 체액성 면역 반응이 증진되고 Th1 반응이 감소되어 IL-10과 아토피피부염 발생과의 관련 가능성이 있음을 추측해 볼 수 있다⁴³⁾. 본 연구 중의 *in vitro* 실험에서는 LPS로 stimulation한 control 군에서 IL-10의 분비가 현저하게 증가되었고, hydrocortisone과 상백피에 의해 LPS로 유발된 높은 IL-10의 분비를 억제할 수 있었다. 일반적으로 IL-10은 염증성 cytokine의 분비를 억제하는 작용이 있기 때문에 항염증성 cytokine으로 알려져 있다. 하지만, 아토피피부염 환자에게서 IL-10의 분비가 증가되어 있고, IL-10의 증가가 아토피피부염을 유발시킬 수 있다는 연구보고를 참고하여 본다면, 상백피를 이용하여 IL-10의 분비를 억제함으로써 아토피피부염의

치료에 도움을 줄 수도 있을 것으로 생각된다.

TNF- α 는 면역반응의 초기에 분비되는 전염증기 cytokine으로 천식이나 류마티스 관절염 등 여러 가지 질환에서의 염증반응 조절에 관여하는 것으로 알려져 있다⁴⁶⁾. TNF- α 는 주로 활성화된 단구와 대식세포에서 합성되며 Th2세포와 Th0세포에서도 생산된다는 것이 증명되었다⁴⁷⁾. TNF- α 는 생체내에서 단독으로 또는 다른 cytokine들과 협력 작용하여 몇몇 종양의 혈관을 손상시킴으로써 종양 괴사를 유발시키거나 말라리아 또는 레지오넬라에 의한 감염, 몇몇 바이러스 혹은 기생충에 의한 감염에 대하여 숙주의 저항성을 유도시키기도 하지만, TNF- α 는 중요한 염증 매개인자 중 하나로서, 어떤 환경에서는 생체에 매우 해로운 영향을 미칠 수 있다. 이러한 유해 작용 중 특히 중요한 것은 내피세포와 호중구에 작용하는 것으로 내피세포에는 항응고성을 상실케하여 fibrin 침착을 증가시킴으로써 혈관내 응고 현상을 유발시킬 수 있으며 내피세포에 ICAM-1을 발현시켜 염증세포의 부착력을 증대시켜 염증세포가 염증부위를 빠져나가는 것을 촉진시킨다. 이로 인하여 TNF- α 는 순환장애 및 광범위한 조직 괴사를 유발할 수 있는 주요 매개인자로 간주되고 있으며 만성 염증성 질병 상태에서 지방세포의 lipoprotein lipase의 활성을 억제시켜 cachexia를 유발시키기도 한다^{27,28)}. 이번 연구에서는 상백피가 TNF- α 에 미치는 영향을 관찰하기 위해 *in vitro*와 *in vivo*로 나누어 실험을 진행하였다. *In vitro* 실험에서는 hydrocortisone으로 전처리한 (+)대조군이 TNF- α 에 대해 농도 의존성으로 유의성 있는 억제효과를 나타내는 것과는 달리 상백피로 전처리한 실험군에서는 모든 농도에서 억제 효과를 나타내지 못하였고, 250 $\mu\text{g/ml}$ 및 1,000 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서는 오히려 TNF- α 의 분비를 유의성 있게 증

가시키는 결과를 보였다. *In vivo* 실험에서도 TNF- α 의 분비를 정량한 결과 대조군과 비교할 때 오히려 TNF- α 의 분비를 유의성 있게 증가시키는 결과를 보여주었다. *In vitro* 및 *in vivo* 실험의 결과를 종합하여 볼 때, 상백피는 TNF- α 의 분비에 대해 억제효과를 갖지 못하고 특정 농도에서는 오히려 분비를 증가시킨다는 것을 알 수 있다.

본 논문의 IL-1 β 와 TNF- α 에 대한 실험 결과는 이전에 윤 등¹³⁾이 *in vitro*의 실험을 통해 상백피가 IL-1와 TNF- α 의 생산을 억제시킨다고 보고한 결과와 다르게 나타났다. 실험 결과가 다르게 나타난 이유에 대해서는 단정하여 설명할 수는 없겠지만, 실험 방법 및 실험 조건의 차이에서 비롯된 것으로 추정된다. 이 실험에서는 상백피로 1시간 동안 전처리한 뒤 LPS로 stimulation하였으나 윤 등¹³⁾은 상백피와 LPS를 동시에 배지에 첨가하는 실험방식을 택하였으며, 사용한 LPS의 농도도 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 이번 실험의 100 ng/ml 와 큰 차이가 있었다. 또한 TNF- α 와 IL-1의 측정에 있어서도 이 논문과는 달리 L929 fibroblast의 증식반응을 이용하여 측정하였다. 이 두 연구의 상반된 결과를 놓고 볼 때, 상백피가 TNF- α 와 IL-1 β 의 발현에 미치는 영향에 대해서는 상백피의 여러 가지 농도를 비롯해서 좀 더 다양한 조건으로 연구를 진행해 볼 필요가 있다고 생각된다.

Histamine은 비만세포와 호염구의 세포내 과립에 존재하는 물질로서 항원과 결합된 IgE, 또는 다른 생리적 매개체 및 직접적으로 이들 세포를 탈과립시키는 자극 등에 의해 이들 세포로부터 분비되어 여러 기관에 작용을 한다고 알려져 있다⁴⁶⁾. Histamine은 즉시형 과민반응과 소양감을 유발하는 주요한 매개체로서 작용하고, 두드러기, 천식, 알러지성 비염 등의 알러지 질환에서 중요한 역할을 하며 실제로 이

들 환자의 혈액 또는 조직에서 histamine 농도 증가를 관찰할 수 있다⁴⁹⁾. 본 연구 중의 *in vivo* 실험에서 histamine의 분비를 정량한 결과 대조군과 비교할 때 histamine의 분비를 약간 감소시키는 경향을 보여주었는데, 이는 소 등⁷⁾, 김 등⁸⁾, 이 등⁹⁾, 강 등¹⁰⁾ 및 채 등^{11,12)}의 연구 결과와 유사하다고 볼 수 있다.

이상에서 *In vitro* 및 *in vivo* 실험의 결과를 모두 종합하여 볼 때, 상백피는 IL-10의 분비를 억제하였고, 일정 농도 이하에서 IL-6의 분비를 억제하였으며, histamine의 분비를 약간 감소시키는 경향을 보여주었다. 그러나 IL-1 β 와 TNF- α 에 대해서는 모두 유의성 있게 분비를 증가시켰고, 일정 농도 이상에서는 IL-6의 분비도 증가시키는 것으로 나타났다. 이번 연구를 통해 상백피는 항알러지 및 항염증 반응에 대해서 주어진 조건에 따라 억제적으로도 작용할 수 있고 촉진적으로도 작용할 수 있음을 알 수 있었는데, 이러한 결과는 상백피를 알러지 질환의 치료에 응용할 때 그 농도의 결정이 중요하다는 것을 의미하는 것이다.

V. 결 론

상백피가 항알러지 염증반응에 미치는 영향을 알아보기 위하여 *in vitro*와 *in vivo*에서 실험하였다. *In vitro*에서 macrophage 264.7 cells에서 LPS 유발에 의한 TNF- α , IL-1 β , IL-6 및 IL-10의 발현에 미치는 영향을 관찰하고, *in vivo*에서 compound 48/80에 의해 유도된 anaphylactic shock에서의 혈중 histamine, IL-6 및 TNF- α 농도를 관찰한 결과 다음의 결론을 얻었다.

1. *In vitro*에서는 상백피가 IL-1 β 및 TNF- α 의 분비를 유의하게 증가시켰고, IL-10의 분비는 유의하게 감소시켰다. IL-6에 대해서 높은 농도에서는 분비를 유의하게 증가시켰고, 낮은 농도에서는 분비를 유의하게 감소시켰다.
2. *In vivo*에서는 상백피가 histamine의 분비를 감소시켰고, IL-6의 분비를 증가시켰으나 둘 다 유의성은 없었다. 그러나 TNF- α 의 분비는 유의하게 증가시켰다.
3. 백서 복강 비만세포에 미치는 영향에 관한 세포형태학적 연구. 전북의대 논문집. 1986;10(3):221-230.
4. 김정수, 전병득. 상백피가 백서 장간막 비만세포에 미치는 영향. 전북의대 논문집. 1986;10(3):231-239.
5. 이무삼, 전병득, 최병상, 고병문, 송창호, 조의식. 상백피의 비만세포 탈과립 및 histamine 유리 억제효과. 대한해부학회지. 1991;24(3):285-296.
6. 강경진, 전병득, 채옥희, 이무삼. 상백피가 흰쥐 복강 비만세포의 히스타민 유리 및 Calcium Uptake에 미치는 영향. 대한면역학회지. 1993;15(1):91-99.
7. 채옥희, 배형운, 이무삼, 이종인, 송창호. 상백피가 사람정장에 의한 흰쥐 복강 비만세포의 활성화에 미치는 영향. 천식 및 알레르기 1999;19(5):666-676.
8. 채옥희, 이종인, 이무삼. 상백피의 colchicine 유도 비만세포 활성화 억제효과. 대한해부학회지. 1999;32(5):735-748.
9. 윤창용, 신동환, 홍충만, 이원규, 장동덕, 조재천, 안재규, 안덕균, 이무삼. 대식세포의 NO, TNF- α 및 IL-1 생산에 미치는 상백피의 억제 효과. 한국수의공중보건학회지. 1998;22(3):281-292.
10. 이무삼, 강경진, 채옥희, 김봉천, 정순용, 이양근. 기니픽의 후기 천식반응에 미치는 상백피의 억제 효과. Korean J. Immunol. 1994;16:375-385.
11. 이은주, 채옥희, 이무삼, 이현구, 허훈. 상백피 추출물 중의 항알러지 활성 성분의 분리. 약학회지. 1998;42(4):395-402.
12. Nomura T, Fukai T. Kuwanon G, A new flavone derivatives form the root barks of the cultivated mulberry tree

참고문헌

1. 대한병리학회 대구경북지부학회. 간추린 병리학. 서울, 정문각. 1998:56-58.
2. Murry JF, Nadel JA. Textbook of Respiratory Medicine. 2nd ed. W.B. Saunders Company. 1994:478-483.
3. 박계영, 이승희, 황보빈, 임재준, 이춘택, 김영환, 한성구, 심영수, 유철규. 폐 상피세포에서 NF- κ B/I κ B 경로에 의한 염증매개 사이토카인의 발현. 결핵 및 호흡기 질환. 2000;49(3):332-342.
4. Venge P. Monitoring the allergic inflammation. Allergy 2004;59:26-32.
5. 히라노토시오. 사이토카인 분자생물학. 서울, 도서출판 월드사이언스. 2002:1-3, 73-74, 117-118.
6. 강병수, 고운채, 김선희, 노승현, 송호준, 신민교, 안덕균, 이상인, 이영중, 이철휘, 주영승. 본초학. 서울, 도서출판 영림사. 1992:484-485.
7. 소순남, 김정수, 전병득, 이무삼. 상백피가

- (*Morus alba* L.). *Chem Pharm Bull.* 1980;28:2548.
17. Dai SJ, Mi ZM, Ma ZB, Li S, Chen RY, Yu DQ. Bioactive diels-alder type adducts from the stem bark of *Morus macroura*. *Planta Med.* 2004;70(8):758-763.
 18. Chen F, Nakashima N, Kimura I. Hypoglycemic activity & mechanisms of extracts from Mulberry Leaves & Cortex Mori radices in Streptozotocin-induced Diabetic mice. *Yakugaku Zasshi.* 1995;115(6):476-482.
 19. Hikino H, Oshima Y. Isolation and Hypoglycemic activity of Moran A, a glycoprotein of *Morus Alba* Root Bark. *Planta Medica.* 1985:159-160.
 20. 안효섭. 홍창의 소아과학, 제8판. 서울, 대한교과서. 2004:1166-1168.
 21. 홍창의. 소아과학, 제6판. 서울, 대한교과서. 2003:1122-1128.
 22. 편복양. 알레르기성 염증반응의 기전. 소아알레르기 및 호흡기학회지. 1997;7(S): 95-97.
 23. Jirapongsananuruk O, Leung DY. Clinical application of cytokines : new directions in the therapy of atopic disease. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 1997;79(1):5-20.
 24. Cavaillon JM. Cytokines and macrophages. *Biomed Pharmacother.* 1994;48 (10):445-453.
 25. 이중달. 그림으로 설명한 병리학. 서울, 고려의학. 1991:29.
 26. Kuna P. Cytokines in allergic inflammation. *Pol Merkuriusz Lek.* 2003;14 (84); 497-499.
 27. Roit IM, Brostoff J, Male DK, Livingstone C. *Immunology.* Gower Medical Publishing, 2nd edition. 1989:9.6-9.13.
 28. Paul WE. *Fundamental immunology.* Raven Press, 2nd edition. 1989:640-647.
 29. Shen H, Kennedy JL, Ou DW. Inhibition of cytokine release by cocaine. *Int J Immunopharmac.* 1994;16:295-300.
 30. 정경연, 김갑성, 윤중화. 우황, 응담, 사향 복합제제 약침자극이 LPS 유발 관절염의 면역반응에 미치는 영향. 대한침구학회지. 2001;18(1):113-128.
 31. Hang LW, Hsia TC, Chen WC, Chen HY, Tsai JJ, Tsai FJ. Interleukin-10 gene -627 allele variants, not interleukin-1beta gene and receptor antagonist gene polymorphisms, are associated with atopic bronchial asthma. *J Clin Lab Anal.* 2003;17(5):168-173.
 32. Lappalainen U, Whitsett JA, Wert SE, Tichelaar JW, Bry K. Interleukin-1beta causes pulmonary inflammation, emphysema, and airway remodeling in the adult murine lung. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2005;32(4):311-318.
 33. Kishimoto T, Akira S, Taga T. Interleukin-6 and its receptor: a paradigm for cytokines. *Science.* 1992;258 (5082):593-597.
 34. Zhang YH, Lin JX, Vilcek J. Interleukin-6 induction by tumor necrosis factor and interleukin-1 in human fibroblasts involves activation of a nuclear factor binding to a kappa B-like

- sequence. *Mol Cell Biol.* 1990;10(7):3818-1823.
35. Okamoto M, Hattori K, Oyasu R. Interleukin-6 functions as an autocrine growth factor in human bladder carcinoma cell lines in vitro. *Int J Cancer.* 1997;72(1):149-154.
36. Kawano M, Hirano T, Matsuda T. Autocrine generation and requirement of BSF-2/IL-6 for human multiple myeloma. *Nature.* 1988;332(6159):83-85.
37. Fiorentino DF, Bond MW, Mosmann TR. Two types of mouse T helper cell - Th2 clones secrete a factor that inhibits cytokine production by Th1 clones. *J Exp Med.* 1989;170(6):2081-2095.
38. Asadullah K, Sterry W, Volk HD. Interleukin-10 therapy - review of a new approach. *Pharmacol Rev.* 2003;55(2):241-269.
39. Katsikis PD, Cohen SBA, Londei M, Feldmann M. Are CD4+ Th1 cells pro-inflammatory or anti-inflammatory? The ratio of IL-10 to IFN- γ or IL-2 determines their function. *International Immunol.* 1995;7(8):1287-1294.
40. Go NF, Castle BE, Barrett R, Kastelein R, Dang W, Mossmann TR, et al. Interleukin 10, a novel B cell stimulatory factor: unresponsiveness of chromosome-linked immunodeficiency B cells. *J Exp Med* 1990;172(6):1625-1631.
41. de Waal Malefyt R, Abrams J, Bennett B, Figdor CG, De Vries JE. IL-10 inhibits cytokine synthesis by human monocytes: an autoregulatory role of IL-10 produced by monocytes. *J Exp Med.* 1991;174(5):1209-1220.
42. Sher A, Fiorentino D, Caspar P, Pearce E, Mossmann TR. Production of IL-10 by CD4+ T lymphocytes correlates with down-regulation of Th1 cytokine synthesis in helminth infection. *J Immunol.* 1991;147(8):2713-2716.
43. Ohmen JD, Hanifin JM, Nickoloff BJ, Thomas HR, Wyzikowski R, Kim J, et al. Overexpression of IL-10 in atopic dermatitis. *J Immunol.* 1995;154(4):1956-1963.
44. Esnault S, Benbernou N, Lavaud F, Shin HC, Porton G, Guenounou M. Differential spontaneous expression of mRNA for IL-4, IL-10, IL-13, IL-2 and INF- γ in peripheral blood mononuclear cells from atopic patients. *Clin Exp Immunol.* 1996;103(1):111-118.
45. Lee HJ, Lee HP, Ha SJ, Byun G, Kim JW. Spontaneous expression of mRNA for IL-10, GM-CSF, TGF- β , TNF- α and IL-6 in peripheral blood mononuclear cells from atopic dermatitis. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2000;84(5):553-558.
46. Babu KS, Davies DE, Holgate ST. Role of tumor necrosis factor alpha in asthma. *Immunol Allergy Clin North Am.* 2004;24(4):583-597.
47. 박종갑, 이현정, 이호표, 김진우. 아토피 피부염 말초혈액 단핵구에서의 IL-10, GM-CSF 및 TNF- α mRNA의 자발적

- 발현. 천식 및 알레르기. 1999;19(6):912-919.
48. White MV. The role of histamine in allergic disease. *J Allergy Clin Immunol.* 1990;86(4 pt 2):599-605.
49. Wasserman SI. Mediators of immediate hypersensitivity. *J Allergy Clin Immunol.* 1983;72(2):101-115.