

산 · 학 · 연 논문

양파추출물이 DNCB로 유발된 알레르기성 접촉피부염과 산화적 손상에 미치는 영향

손 미 예

경상대학교 식품영양학과

Effect of Onion (*Allium cepa* L.) Extracts on Allergic Contact Dermatitis and Oxidative Damage Induced by Repeat Elicitation of DNCB

Mi-Yae Shon

Dept. of Food and Nutrition, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea

서 론

양파(*Allium cepa* L.)는 백합과에 속하는 다년생 식물로 성분 중에는 항산화 작용을 나타내는 quercetin, quercitrin, rutin 등의 flavonoid계 물질과 체내 지방 수준 저하에 효과적인 allyl disulfide 및 diallyl disulfide 등이 함유되어 있는 것으로 알려져 있다(1-3). 또한 식품의 향신 조미료 외에 마늘과 함께 약재로 널리 애용되어 해열, 구충, 해독, 장염 및 종양 치료에 사용되어 왔다(4). 양파에 대한 연구로는 중금속 해독능(5), 항균효과(6), 혈당 저하 효과(7), 심혈관계 질환 예방효과(8), 항산화작용(9) 및 항암효과(10)에 대한 기능이 밝혀져 민간요법의 효능이 재확인되고 있으며, 식생활 수준의 향상 및 각종 성인병 예방을 위한 기능성 식품에 대한 요구의 증가로 인하여 양파에 대한 관심도 증가되고 있다. 생리활성 성분으로는 conjugated double bond, phenol구조, -SH기를 갖는 화합물, alkaloid 및 유기산 등과 같은 물질들이 알려져 있고, 고등식물의 천연 생리활성 물질 중 비교적 많은 부분을 차지하고 있는 것이 phenol성 화합물인 flavonoid이다. 양파 중에는 quercetin, quercetin aglycone 및 kaempferol monoglycoside 등의 glucose유도체(11)인 flavonoid류가 함유되어 있으며, 이중 80%가 quercetin aglycone으로 구성되어 있다(12).

환경의 오염, 식생활의 변화, 복잡한 사회구조로 인한 스트레스의 증가 등은 새로운 질병의 원인을 제공하게 되므로 과거와는 달리 당뇨병, 고혈압, 알레르기, 만성 스트레스 등과 연관되는 질병들이 현대인에게 가장 빈번히 발생하고 있다(13). 특히 알레르기성 질환으로는 기관지 천

식, 비염, 아토피성 피부염 그리고 알레르기성 결막염 등이 있는데, 산업의 발달로 인공화학 합성물의 범람과 환경오염이 가속화되면서 각종 면역과민성 질환을 유발시키는 allergen이 급증하는 추세이다(14). 그리고 알레르기 유발 물질들은 주로 소화기, 피부 및 중추 신경계 등으로 나타나며, 특히 피부과 질환 중에서 가장 많이 볼 수 있는 것으로 화학물질, 약물, 식물 및 기타 자극물에 의해 피부의 알레르기성 반응으로 유발되는 접촉성 피부염이다(15). 알레르기성 피부염의 치료제로 부신피질 호르몬제 및 항히스타민제가 사용되고 있으나 이러한 치료제를 장기간 투여할 경우 여러 가지 부작용이 보고되고 있어 이에 대한 새로운 치료제의 개발이 필요한 실정이며, 특히 항알레르기제의 개발과 관련된 재료로서 천연재료인 약용 식물이 우선적으로 선택되고 있다(16).

활성산소종(ROS)은 생체대사의 한 부분이나 과도하게 생성되었을 경우에는 조직 손상, 지질 과산화, DNA 손상 그리고 효소 불활성화를 유발하며 만성, 급만성 스트레스와 충격, 염증 등의 복잡한 조건들과 연관되어 있다(17,18).

본 연구에서는 이런 점을 고려하여 식품으로 많이 섭취되는 국산 양파를 이용하여 DNCB로 알레르기성 접촉 피부염이 유발된 생쥐에 투여시킨 후 나타나는 항염증작용과 산화반응 물질들을 측정하였다.

재료 및 방법

실험재료

실험에 사용된 양파는 시장에서 구입하여 실험실로 운

반한 후 수세, 탈피 및 탈수과정을 거쳐 동결 건조한 후 분쇄하여 사용하였으며, 실험에 사용하는 동안에는  $-20^{\circ}\text{C}$ 에서 보관하였다.

#### 양파시료 및 DNCB 조제

양파 시료 및 지연형 과민반응의 항원으로 DNCB (2,4-dinitro-chlorobenzene)액을 조제하였다. 1차 감작과 2차 감작반응 실험에 사용할 DNCB는 acetone과 olive oil 혼합용액으로 0.5%와 1%의 농도로 용해한 후 사용하였으며, 복강 주사용의 양파시료는 0.1% saline 용액으로 360, 1,000 mg/10 mL 농도로 조제하여 200  $\mu\text{L}$ 씩을 투여하였다.

#### 실험동물

실험동물은 4주령 된 Balb/c mice(초기 체중 18~20 g) 암컷을 효창 SCIENCE에서 분양 받아 실험동물 사육실에서 2주간 적응시킨 뒤 실험에 사용하였다. 실험 기간 중 물은 자유로이 섭취시켰으며, 사육실 온도( $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ )와 상대습도( $60\pm 5\%$ )를 알맞게 유지하고, 명암(06:00 AM~18:00 PM)은 12시간 주기로 조절하였다.

#### 실험계획 및 시료투여

실험동물은 총 63마리를 사용하였으며, 7마리를 한 실험군으로 분리하여 실험하였다. 알레르기 유발 및 억제 실험을 위하여 대조군 그룹(자유로운 식이; 1차와 2차 알레르기 반응을 실시하지 않음), 음성 대조군(DNCB) 그룹(자유로운 식이; DNCB에 의한 알레르기 발현을 실시함), 시료(양파 추출물 투여) 그룹(자유로운 식이; DNCB에 의한 알레르기 발현과 시료를 복강 투여함; 360, 1,000 mg/kg)으로 나누어 실시하였다. 시료의 농도는 예비실험에서 100, 360, 1,000 mg/kg을 복강 투여하여 효과가 측정되었던 360, 1,000 mg/kg을 본 실험에 사용하였다. 실험 진행은 5일 동안 0.5% DNCB로 알레르기 감작을 시켰으며 5일간 적응을 시킨 후 연이어서 3일 동안 1% DNCB로 2차 알레르기 감작과 동시에 시료를 복강에 투여하였다. 2차 감작 후, 염증 발현 정도를 24, 48 및 72 시간에 측정하였으며, 3일 후에 실험동물의 몸무게를 측정하였다. 또한 장기 무게 변화와 생화학적 분석을 위하여 실험동물들을 ether 마취하여 심장 채혈로 혈액을 수집하고, 중요 장기들을 적출하였다. 채취한 혈액은 4시간 동안 냉장고에 두어 응고시킨 후, 원심분리(3,000 rpm)하여 혈청을 얻었으며, 혈청과 적출한 장기는 일산화질소(NO), 과산화지질(MDA, malondialdehyde) 등을 측정하기 위하여 냉동보관( $-80^{\circ}\text{C}$ )하였다.

#### 알레르기 유발과 조직변화 측정

1차 감작으로 대조군을 제외한 나머지 실험군들의 털을

제거한 mice의 상복부에 0.5% DNCB 50  $\mu\text{L}$ 를 지름 0.8 cm 크기로 5일간 도포하였으며, 5일 후 1% DNCB 용액 25  $\mu\text{L}$ 를 3일간 오른쪽 귀에 도포하여 2차 감작을 시키면서, 동시에 두층 추출물을 복강에 3일간 계속 투여하였다(17). 2차 감작과 시료 투여한 후, 24, 48 및 72시간에 오른쪽 귀의 두께를 vernier calipers (Mitutoyo, Japan)로 측정하였다.

#### 혈청과 조직의 MDA 측정

MDA(malondialdehyde)의 함량은 thiobarbituric acid (TBA)를 사용하여 측정하였다(19). 즉, 증류수 1 mL와 acetic acid로 녹인 29 mM TBA 1 mL에 혈청과 조직의 시료에 50  $\mu\text{L}$  첨가하여  $95^{\circ}\text{C}$ 에서 1시간 반응한 후에, 식힌 다음 5 mM HCl을 25  $\mu\text{L}$  첨가하였다. 여기에 3.5 mL의 n-butanol을 첨가하여 추출하고 butanol 층은  $1,500\times g$ 에서 5분 동안 원심분리하여 모은 후에 532 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 표준곡선은 1,1,3,3-tetraethoxypropane을 이용하여 작성하였으며, MDA의 농도는  $\mu\text{M/g}$ , wet tissue로 환산하여 나타내었다.

#### 혈청과 조직의 일산화질소 측정

일산화질소(NO, nitric oxide) 함량은 안정된 NO 산화물인  $\text{NO}_2^-$ (nitrite)를 Griess 반응을 이용하여 측정하였다(20). EDTA가 들어 있는 50 mM potassium phosphate buffer로 조직을 마쇄한 후에  $4^{\circ}\text{C}$ ,  $10,000\times g$ 에서 15분 동안 원심분리하여 조직의 상층액과 혈청 100  $\mu\text{L}$  각각을 96 well plate에 넣고, 여기에 Griess 시약(0.1% N-1-naphthyl-ethylenediamine/  $\text{H}_2\text{O}$  : 1% sulfanilamide/ 5%  $\text{H}_3\text{PO}_4=1:1$ )을 동량 첨가하여 10분간 반응시킨 후, microplate reader로 570 nm에서 흡광도를 측정하였다. Nitrite의 농도는 sodium nitrite를 이용하여 얻은 표준곡선과 비교하여 표현하였다.

#### 통계처리

모든 실험은 독립적으로 3회 이상 반복으로 이루어졌으며, 실험결과는 평균치 $\pm$ 표준편차로 나타내었으며, SPSS 12.0 program을 이용하여 ANOVA test를 행한 후, 각 실험군간에 신뢰수준  $p<0.05$ 에서 Duncan's multiple range test를 실시하여 통계적 유의차를 평가하였다.

## 결과 및 고찰

#### 알레르기 관련 기관들의 무게 변화

알레르기 반응은 면역 글로불린이 항원과 반응하여 방출하는 화학전달 물질이나 T 임파구에 의한 각종 화합물

에 의해 혈관의 확장, 모세혈관의 투과성 항진, 점액의 증가 및 점막의 부종과 염증등을 유발시킨다(21). 일반적으로 알레르기 반응은 일으키는 기전에 따라 4가지 유형으로 분류되는데, 제 IV형은 항원과 임파구의 반응에 의한 조직상해를 일으키는 것으로 보고되어 있다(22,23). 제 IV형의 병리기전은 비교적 잘 밝혀져 있으므로 양파 추출물에 의한 효능 관찰은 적절하다고 사료된다. 양파 추출물의 알레르기 억제 반응을 측정하기 위하여 DNCB 처리로 알레르기 피부염을 유발한 후에 알레르기를 유발하지 않은 대조군과 양파 추출물을 투여한 군과의 비교실험을 수행하였다. DNCB는 알레르겐으로 Balb/c mice에서 림프절과 B세포 지역이 알레르겐 투여에 의해서 증가된다고 보고되어 있다(24). 면역에 관계하는 기관들로는 일차 림프기관과 이차 림프기관으로 구별될 수 있으며, 흉선(thymus)은 일차 림프기관으로 이곳에서 림프구의 성숙이 일어나며, 림프절(lymph node)과 비장(spleen)은 이차 림프기관으로 이곳에서 항원이 수집되고 성숙한 림프구가 그 항원과 작용한다. 흉선은 T세포 발생과 성숙 장소이며 감염에서 몸을 보호할 T세포를 생성하고 선택한다. 림프절은 항원에 대한 면역반응이 유발되는 장소이며 B세포가 발생하는 장소이다. 비장은 혈류속의 항원에 대한 면역반응을 유발시키는데 중요한 역할을 수행하는 곳으로 전신성 감염에 반응하는 곳이다(25-27).

DNCB에 대한 mice의 면역 반응 결과를 조사하기 위하여 면역에 관계하는 기관들을 대조군, DNCB 대조군 및 양파 투여군과 비교하여 무게 변화를 측정하였으며 (Table 1), DNCB와 양파 투여군에서 몸무게의 변화는 나타나지 않았다(data 미표시). 흉선, 비장 및 림프절의 각각 무게는 대조군과 비교하여 DNCB 대조군과 양파 투여군에서 모두 높게 나타났으나, 양파 투여군과 DNCB 대조군과의 비교에서는 양파 투여군이 낮게 측정되었다. 이러한

결과는 DNCB를 투여할 때 면역에 관계하는 기관들이 활발하게 항원을 수집하고 T세포와 B세포를 발생시키며 그에 따른 면역반응을 발생시켜 흉선, 비장 및 림프절의 각각 무게가 증가하였는데, 양파추출물에 의해서 이와 같은 알레르겐 반응을 유의적으로 감소되는 것으로 측정되었다( $p < 0.05$ ). 양파 추출물을 처리한 시험군에서 복강의 mast cell의 함량이 감소하였으며 DNCB 처리군과 양파 추출물 처리군 모두에서 대조군과 비교하여 유의적인 무게 함량 변화가 관찰되었다. Mast cell은 히스타민과 함께 다양한 약리적 활성 물질을 포함하는 세포질 과립을 많이 가지고 있으며 알레르기 발생에 중요한 역할을 한다. 알레르겐에 대한 간세포의 염증 정도를 측정하고자 대조군, DNCB 처리군 그리고 양파 추출물 처리군에서 간의 무게를 측정된 결과 대조군보다는 다소 높았으며 그 결과를 Table 1에 나타내었다. 이러한 결과는 양파 추출물 처리군에서 대조군과 비슷한 상태로 회복하는 것을 관찰하였다. 이와 같은 결과는 알레르겐에 의해서 간 조직의 염증 발생에 의한 무게변화가 발생하였으며, 실제로 간의 MDA 함량도 DNCB 처리군에서 높게 측정되었고 양파 추출물 처리에 의하여 회복되는 결과를 나타내었다.

#### 귀의 무게와 두께 변화

알레르겐(DNCB)로서 1차, 2차 감각반응을 일으켜 mouse의 귀를 swelling 시킨 후에 양파추출물을 360, 1,000 mg/kg의 농도로 투여하여 귀의 무게와 귀의 두께에 발생한 swelling의 감소효과를 조사한 결과는 Table 2, 3 및 4와 같다. 양파 추출물을 처리한 군에서 귀의 무게 변화 (Table 2)는 총 7.7~13.0 mg으로 측정되었으며 1% DNCB 대조군은 13.8 mg으로 측정되었다. 따라서 양파 투여군에서 감소하는 경향을 보였으며, DNCB 대조군과 비교하여 유의적인 무게 함량의 변화를 나타내었다. 즉

**Table 1. Changes of organ weight in spleen, thymus, lymph and mast cell node following treatment of mice with YOE, ROE and WOE (g/kg)**

| Treatment          | Concentration (mg/kg) | Spleen                   | Thymus                 | Lymph node             | Mast cell              | Liver                    |
|--------------------|-----------------------|--------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|--------------------------|
|                    | Control               | 7.59±0.47 <sup>a2)</sup> | 3.6±0.13 <sup>a</sup>  | 0.35±0.03 <sup>a</sup> | 6.2±0.10 <sup>d</sup>  | 67.16±2.71 <sup>a</sup>  |
| DNCB <sup>1)</sup> | 0.5%                  | 11.20±0.17 <sup>f</sup>  | 10.1±0.04 <sup>d</sup> | 0.41±0.01 <sup>b</sup> | 2.7±0.04 <sup>b</sup>  | 110.72±0.69 <sup>f</sup> |
|                    | 1%                    | 12.71±0.83 <sup>g</sup>  | 13.0±0.04 <sup>e</sup> | 0.45±0.03 <sup>b</sup> | 4.4±0.02 <sup>c</sup>  | 117.35±3.06 <sup>f</sup> |
| YOE                | 360                   | 10.34±0.68 <sup>ef</sup> | 8.4±0.06 <sup>c</sup>  | 0.41±0.02 <sup>b</sup> | 1.6±0.02 <sup>ab</sup> | 82.40±5.96 <sup>de</sup> |
|                    | 1,000                 | 8.68±0.05 <sup>bc</sup>  | 5.8±0.04 <sup>b</sup>  | 0.36±0.01 <sup>a</sup> | 1.1±0.02 <sup>a</sup>  | 78.01±2.22 <sup>ce</sup> |
| ROE                | 360                   | 9.38±0.13 <sup>cd</sup>  | 8.1±0.06 <sup>b</sup>  | 0.41±0.01 <sup>b</sup> | 2.7±0.04 <sup>b</sup>  | 85.38±6.12 <sup>e</sup>  |
|                    | 1,000                 | 8.14±0.11 <sup>ab</sup>  | 5.0±0.05 <sup>ad</sup> | 0.36±0.01 <sup>a</sup> | 1.3±0.05 <sup>a</sup>  | 73.75±2.23 <sup>ac</sup> |
| WOE                | 360                   | 9.81±0.85 <sup>de</sup>  | 7.1±0.03 <sup>c</sup>  | 0.41±0.00 <sup>b</sup> | 1.9±0.02 <sup>ab</sup> | 75.19±0.30 <sup>bd</sup> |
|                    | 1,000                 | 8.18±0.10 <sup>ab</sup>  | 5.1±0.01 <sup>b</sup>  | 0.35±0.01 <sup>a</sup> | 1.2±0.03 <sup>a</sup>  | 68.78±0.54 <sup>ab</sup> |

<sup>1)</sup>DNCB: 2,4-dinitro-chlorobenzene, YOE: yellow onion extract, ROE: red onion extract, WOE: white onion extract.

<sup>2)</sup>Data represent mean±SD (n=7). Values with different superscripts within the same column are significantly different at  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test.

**Table 2. Changes of ear weight following treatment of mice with YOE, ROE and WOE (mg)**

| Treatment          | Concentration (mg/kg) | Left                    | Right                  | Total                  |
|--------------------|-----------------------|-------------------------|------------------------|------------------------|
| Control            |                       | 3.3±0.01 <sup>a2)</sup> | 3.3±0.01 <sup>a</sup>  | 6.6±0.02 <sup>a</sup>  |
| DNCB <sup>1)</sup> | 0.5%                  | 4.9±0.01 <sup>cd</sup>  | 5.6±0.01 <sup>d</sup>  | 10.5±0.01 <sup>d</sup> |
|                    | 1%                    | 6.7±0.02 <sup>e</sup>   | 7.1±0.01 <sup>e</sup>  | 13.8±0.02 <sup>e</sup> |
| YOE                | 360                   | 6.1±0.06 <sup>e</sup>   | 6.9±0.02 <sup>e</sup>  | 13.0±0.08 <sup>e</sup> |
|                    | 1,000                 | 5.1±0.06 <sup>d</sup>   | 4.7±0.09 <sup>bc</sup> | 9.8±0.15 <sup>d</sup>  |
| ROE                | 360                   | 5.0±0.02 <sup>cd</sup>  | 4.5±0.00 <sup>bc</sup> | 9.5±0.02 <sup>d</sup>  |
|                    | 1,000                 | 4.3±0.01 <sup>bc</sup>  | 4.0±0.01 <sup>ab</sup> | 8.3±0.02 <sup>c</sup>  |
| WOE                | 360                   | 4.4±0.04 <sup>bd</sup>  | 4.9±0.04 <sup>cd</sup> | 9.3±0.08 <sup>b</sup>  |
|                    | 1,000                 | 3.7±0.01 <sup>ab</sup>  | 4.0±0.03 <sup>ab</sup> | 7.7±0.04 <sup>ab</sup> |

<sup>1)</sup>Refer footnote to Table 1.

<sup>2)</sup>Data represent mean±SD (n=7). Values with different superscripts within the same column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

양파추출물을 360 mg/kg 투여하였을 때에는 대조군에 비하여 귀의 무게가 왼쪽과 오른쪽 모두 높았으나, 1,000

mg/kg의 농도로 처리하였을 때에는 귀의 무게가 상당히 감소하여 거의 대조군과 유사한 수준까지 낮아졌다.

한편 양파추출물을 각 농도별로 투여하여 귀에 발생한 swelling의 감소효과를 조사하기 위하여 귀의 두께를 측정된 결과(Table 3과 4), 양파추출물을 투여한 군에서 시간이 경과할수록 귀의 두께는 얇아져서 알레르겐에 의한 알레르기 반응이 소멸되는 것을 알 수 있었다. 이와 같은 결과는 DNCB로 유발된 알레르기성 접촉피부염은 항원이 되는 물질이 피부를 통해 침투하여 운반단백질과 결합한 후 감각작용을 거치게 되고 감각된 생체가 재차 알레르겐에 접촉하면 피부에 염증을 일으킨 결과로 나타난다(28). 피부 염증 반응은 48시간에 최대에 이르고 점차 시간이 지날수록 감소되는 결과가 나타났다. 이것은 양파추출물이 가지고 있는 항산화물질에 의한 소거효과로 고려된다.

**일산화질소 생성 변화**

면역학적인 관점에서 nitric oxide(NO) 합성효소의 발현은 NO의 생성을 증가시키며 병리학적인 조직 손상을

**Table 3. Changes of left ear thickness in ear following treatment of mice with YOE, ROE and WOE**

| Treatment          | Concentration (mg/kg) | Ear thickness (mm)          |                           |                           |
|--------------------|-----------------------|-----------------------------|---------------------------|---------------------------|
|                    |                       | 24 hr                       | 48 hr                     | 72 hr                     |
| Control            |                       | 0.018±0.002 <sup>ad2)</sup> | 0.013±0.002 <sup>ab</sup> | 0.009±0.001 <sup>a</sup>  |
| DNCB <sup>1)</sup> | 0.5%                  | 0.062±0.014 <sup>il</sup>   | 0.058±0.004 <sup>hl</sup> | 0.048±0.004 <sup>fk</sup> |
|                    | 1%                    | 0.083±0.003 <sup>im</sup>   | 0.071±0.001 <sup>km</sup> | 0.075±0.001 <sup>lm</sup> |
| YOE                | 360                   | 0.061±0.007 <sup>fg</sup>   | 0.045±0.007 <sup>df</sup> | 0.060±0.021 <sup>fg</sup> |
|                    | 1,000                 | 0.028±0.004 <sup>ad</sup>   | 0.048±0.004 <sup>ef</sup> | 0.025±0.007 <sup>ac</sup> |
| ROE                | 360                   | 0.033±0.018 <sup>be</sup>   | 0.033±0.004 <sup>bc</sup> | 0.020±0.007 <sup>ac</sup> |
|                    | 1,000                 | 0.025±0.007 <sup>ac</sup>   | 0.020±0.001 <sup>ac</sup> | 0.018±0.004 <sup>ac</sup> |
| WOE                | 360                   | 0.023±0.004 <sup>ac</sup>   | 0.023±0.004 <sup>ac</sup> | 0.021±0.007 <sup>ac</sup> |
|                    | 1,000                 | 0.021±0.001 <sup>ac</sup>   | 0.020±0.007 <sup>ac</sup> | 0.035±0.021 <sup>ce</sup> |

<sup>1)</sup>Refer footnote to Table 1.

<sup>2)</sup>Data represent mean±SD (n=7). Values with different superscripts within the same column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

**Table 4. Changes of right ear thickness in ear following treatment of mice with YOE, ROE and WOE**

| Treatment          | Concentration (mg/kg) | Ear thickness (mm)          |                           |                           |
|--------------------|-----------------------|-----------------------------|---------------------------|---------------------------|
|                    |                       | 24 hr                       | 48 hr                     | 72 hr                     |
| Control            |                       | 0.018±0.002 <sup>ab2)</sup> | 0.013±0.002 <sup>ab</sup> | 0.009±0.001 <sup>a</sup>  |
| DNCB <sup>1)</sup> | 0.5%                  | 0.051±0.007 <sup>hi</sup>   | 0.051±0.001 <sup>jk</sup> | 0.045±0.001 <sup>fi</sup> |
|                    | 1%                    | 0.083±0.004 <sup>k</sup>    | 0.072±0.001 <sup>jk</sup> | 0.071±0.014 <sup>ik</sup> |
| YOE                | 360                   | 0.043±0.004 <sup>ei</sup>   | 0.041±0.007 <sup>dh</sup> | 0.051±0.009 <sup>ji</sup> |
|                    | 1,000                 | 0.028±0.004 <sup>be</sup>   | 0.045±0.014 <sup>fi</sup> | 0.023±0.011 <sup>ac</sup> |
| ROE                | 360                   | 0.035±0.021 <sup>cg</sup>   | 0.041±0.007 <sup>dh</sup> | 0.020±0.007 <sup>ac</sup> |
|                    | 1,000                 | 0.021±0.002 <sup>ac</sup>   | 0.020±0.001 <sup>ac</sup> | 0.018±0.004 <sup>ac</sup> |
| WOE                | 360                   | 0.017±0.004 <sup>ac</sup>   | 0.025±0.007 <sup>ad</sup> | 0.015±0.004 <sup>ac</sup> |
|                    | 1,000                 | 0.018±0.003 <sup>ac</sup>   | 0.018±0.004 <sup>ac</sup> | 0.033±0.018 <sup>bf</sup> |

<sup>1)</sup>Refer footnote to Table 1.

<sup>2)</sup>Data represent mean±SD (n=7). Values with different superscripts within the same column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

Table 5. Change of NO levels following treatment of mice with YOE, ROE and WOE

| Treatment          | Concentration (mg/kg) | NO Production ( $\mu\text{M/g}$ ) |                               |                               |
|--------------------|-----------------------|-----------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
|                    |                       | Serum                             | Liver                         | Ear                           |
|                    | Control               | ND <sup>a2)</sup>                 | 4.23 $\pm$ 0.018 <sup>a</sup> | 0.08 $\pm$ 0.047 <sup>a</sup> |
| DNCB <sup>1)</sup> | 0.5%                  | 1.71 $\pm$ 0.234 <sup>d3)</sup>   | 5.33 $\pm$ 0.044 <sup>b</sup> | 2.71 $\pm$ 0.073 <sup>c</sup> |
|                    | 1%                    | 0.92 $\pm$ 0.182 <sup>c</sup>     | 6.08 $\pm$ 0.034 <sup>c</sup> | 4.08 $\pm$ 0.024 <sup>f</sup> |
| YOE                | 360                   | ND <sup>a</sup>                   | 4.32 $\pm$ 0.019 <sup>a</sup> | 0.69 $\pm$ 0.124 <sup>c</sup> |
|                    | 1,000                 | ND <sup>a</sup>                   | 4.08 $\pm$ 0.005 <sup>a</sup> | 0.40 $\pm$ 0.015 <sup>b</sup> |
| ROE                | 360                   | ND <sup>a</sup>                   | 4.07 $\pm$ 0.009 <sup>a</sup> | 0.12 $\pm$ 0.015 <sup>a</sup> |
|                    | 1,000                 | ND <sup>a</sup>                   | 4.28 $\pm$ 0.032 <sup>a</sup> | ND <sup>a</sup>               |
| WOE                | 360                   | 0.708 $\pm$ 0.092 <sup>ab</sup>   | 5.05 $\pm$ 0.042 <sup>b</sup> | 0.91 $\pm$ 0.721 <sup>d</sup> |
|                    | 1,000                 | 0.673 $\pm$ 0.064 <sup>a</sup>    | 4.45 $\pm$ 0.013 <sup>a</sup> | 0.87 $\pm$ 0.640 <sup>d</sup> |

<sup>1)</sup>Refer footnote to Table 1. <sup>2)</sup>ND: not detected

<sup>3)</sup>Data represent mean $\pm$ SD (n=7). Values with different superscripts within the same column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

나타내는 부위에는 NO의 함량이 증가되는 것으로 알려져 있다. 또한 진피 세포내의 NO의 증가는 지질과산화물 유발하는 ROS(reactive oxygen species)의 증가를 촉진시킨다(29,30). NO는 알레르기 및 천식과 같은 염증질환에 있어서 다량이 발현되어 염증을 유발시키는 인자이며 NO가 발현하는 기능의 다양성은 농도 및 표적세포의 활성화 여부 등에 따라 달라진다고 알려져 있다(31). 혈청, 간 그리고 귀 조직에서의 NO 함량 변화는 양파투여군 및 1% DNCB 대조군과 비교하여 유의적인 차이가 관찰되었으며, 그 결과는 Table 5에 나타내었다. 즉 NO 함량은 1% DNCB 대조군에서 가장 높게 측정되었으며, 양파 그룹에서 염증이 억제됨과 더불어 NO 함량도 감소되는 것으로 측정되었으며 특히 염증 발현 정도가 컸던 귀 조직에서의 NO 발생 억제 효과는 모든 종류의 양파 추출물에서 측정되었다. 이것은 양파의 풍부한 항산화물질이 NO 합성 효소의 발현을 억제시킨 결과로 판단된다.

#### MDA 생성 변화

알레르겐의 투여로 인하여 NO 발생을 유도하게 되면 NO와 주변의 활성산소에 의하여 세포의 지질 과산화를 유도하여 MDA와 같은 산화반응 물질을 생산한다(32). Malondialdehyde(MDA)는 산화반응에 의한 다가불포화 지방산의 산화물로서 조직세포의 산화적인 손상(염증)의 증거로 알려져 있다. 따라서 이 실험에서는 피부 조직 손상의 정도를 MDA 함량을 측정하여 평가하였다(Table 6). 간과 귀 조직에서의 MDA 함량 변화는 DNCB에 의해서 1% NO와 활성산소의 증가를 의미하며 활성산소는 병리학적인 조직 손상을 유발한다. 그러나 간 조직에서의 MDA 함량 변화는 양파 투여군 및 DNCB 대조군과 비교하여 유의적인 차이가 측정되었으며, 귀 조직에서도 MDA 함량은 양파 투여군 및 DNCB 대조군과 비교하여 유의적인

Table 6. Change of MDA levels following treatment of mice with YOE, ROE and WOE

| Treatment          | Concentration (mg/kg) | MDA production ( $\mu\text{M/g}$ ) |                               |
|--------------------|-----------------------|------------------------------------|-------------------------------|
|                    |                       | Liver                              | Ear                           |
|                    | Control               | 2.21 $\pm$ 0.13 <sup>a2)</sup>     | 2.71 $\pm$ 0.16 <sup>ab</sup> |
| DNCB <sup>1)</sup> | 0.5%                  | 2.97 $\pm$ 0.19 <sup>d</sup>       | 2.93 $\pm$ 0.55 <sup>b</sup>  |
|                    | 1%                    | 3.31 $\pm$ 0.15 <sup>d</sup>       | 2.98 $\pm$ 0.21 <sup>b</sup>  |
| YOE                | 360                   | 2.76 $\pm$ 0.05 <sup>c</sup>       | 2.60 $\pm$ 0.11 <sup>ab</sup> |
|                    | 1,000                 | 2.42 $\pm$ 0.09 <sup>b</sup>       | 2.10 $\pm$ 0.12 <sup>a</sup>  |
| ROE                | 360                   | 2.56 $\pm$ 0.05 <sup>c</sup>       | 2.51 $\pm$ 0.42 <sup>ab</sup> |
|                    | 1,000                 | 2.16 $\pm$ 0.07 <sup>a</sup>       | 2.12 $\pm$ 0.37 <sup>a</sup>  |
| WOE                | 360                   | 2.64 $\pm$ 0.26 <sup>c</sup>       | 2.18 $\pm$ 0.27 <sup>a</sup>  |
|                    | 1,000                 | 2.14 $\pm$ 0.11 <sup>a</sup>       | 2.56 $\pm$ 0.29 <sup>ab</sup> |

<sup>1)</sup>Refer footnote to Table 1.

<sup>2)</sup>Data represent mean $\pm$ SD (n=7). Values with different superscripts within the same column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

차이가 관찰되었다. 이와 같은 결과는 부종과 염증 반응을 보인 귀조직의 병리학적인 세포 반응에 의한 MDA 함량이 증가되었으며 양파추출물에 의하여 세포의 지질 과산화를 억제하였음을 나타낸다. 또한 붉은 양파 추출물의 높은 농도에서 MDA 생성억제 효과가 높게 관찰되었다.

#### 요 약

양파(노란색, 붉은색, 흰색)의 열수 추출물이 DNCB로 감작된 4주령 BALB/c mouse 암컷에 유도된 접촉성 피부염의 억제효과를 조사하였다. 림프절, 비장 및 흉선의 무게는 양파 투여군이 DNCB 대조군보다는 낮게 나타났다. 양파 추출물을 투여한 군에서 귀의 무게는 양파 추출물의 농도가 높을수록 감소하는 경향을 보였으며, 대조군과 비교하여 무게에 함량 변화가 있었다. 양파추출물을 1,000 mg/kg 농도로 투여하면 귀의 무게는 대조군과 유사한 수

준까지 낮아졌으며, 귀의 두께는 양파추출물을 투여한 군에서 시간이 경과할수록 두께가 감소하는 경향을 나타내었다. MDA 함량은 DNCB대조군과 양파 투여군을 비교하였을 경우에, 간 조직에서 차이가 나타나지 않았으나, 염증이 발생한 귀 조직에서는 차이가 나타났으며, NO 함량은 모든 양파그룹에서 염증이 억제되어 대조군에 유사하게 측정되었다.

### 감사의 글

본 연구는 2006년 산청군 약초 신활력 사업비 지원에 의해 수행된 연구결과의 일부로 이에 감사드립니다.

### 참고문헌

- Park PS, Lee BR, Lee MY. 1991. Effects of onion diet on carbon tetrachloride toxicity of rats. *J Korean Soc Food Nutr* 20: 121-125.
- Lee CY, Park YK. 1996. Identification of isorhamnetin-4'-glucoside in onions. *J Agric Food Chem* 44: 34-36.
- Lee YK, Lee HS. 1990. Effect of onion and fatty acid composition of mackerel during frozen storage. *J Korean Soc Food Nutr* 19: 321-329.
- Sheo HJ, Jung DL. 1993. Effects of onion juice on toxicity of lead in rat. *J Korean Soc Food Nutr* 22: 138-143.
- Rhim JS. 1993. *Onion and Health*. International Culture Publishing Co., Seoul, Korea. p 35-45.
- Kim JH. 1997. Antibacterial action of onion (*Allium cepa* L.) extract against oral pathogenic bacteria. *PhD Dissertation*. Japan University, Japan.
- Sheela CG, Kumud K, Augusti KT. 1995. Antidiabetic effects of onion and garlic sulfoxide amino acids in rats. *Planta Med* 61: 356-357.
- Sheo HJ, Jung DL. 1997. The effects of onion juice on serum lipid levels in rats. *J Korean Soc Food Nutr* 25: 1164-1172.
- Park PS, Lee BR, Lee MY. 1994. Effects of onion juice on ethanol-induced hepatic lipid peroxidation in rats. *J Korean Soc Food Nutr* 23: 750-756.
- Bilyk A, Cooper PI, Sapers GM. 1984. Varietal differences in distribution of quercetin and kaempferol in onion (*Allium cepa* L.) tissue. *J Agric Food Chem* 32: 274-280.
- Rhodes MJC, Price KR. 1996. Analytical problems in the study of flavonoid compounds in onion. *Food Chem* 57: 113-117.
- Leighton T, Ginther C, Fluss L, Harter WK, Cansado J, Nortario V. 1992. Molecular characterization of quercetin and quercetin glycosides in allium vegetables, phenolic compounds in food and their effects on health. ACS, Washington, DC. p 221-229.
- Kim MH, Kim MC, Park JS, Kim JW, Lee JO. 2001. The antioxidative effects of the water-soluble extracts of plants used as tea materials. *Korean J Food Sci Technol* 33: 12-18.
- Kang SY, Hue SH, Kim SI. 1978. Immunologic aspects of hypersensitivity disease in Korea. *Seoul J Medicine* 19: 45-53.
- Chio KU, Paek DM. 1995. Asthma and air pollution in Korea. *Korean J Epidemiology* 17: 64-75.
- Tasaka K. 1986. Antiallergic drugs. *Drugs of Today* 22: 101-133.
- Dal-Pizzol F, Klamt F, Vianna M, Schroder N, Quevedo J, Benfato MS, Moreira JC, Walz R. 2000. Lipid peroxidation in hippocampus early and late after status epilepticus induced by pilocarpine or kainic acid in Wistar rats. *Neurosci Letter* 291: 179-182.
- Klamt F, Dal-Pizzol F, Frota MLC, Walz R, Andrades ME, Silva EG, Brentani R, Izquierdo I, Moreira JCF. 2001. Imbalance of antioxidant defence in mice lacking cellular prion protein. *Free Radic Biol Med* 30: 1137-1144.
- Uchiyama M, Mihara M. 1978. Determination of malondialdehyde precursor in tissue by TBA test. *Anal Biochem* 86: 271-278.
- Chi YS, Cheon BS, Kim HP. 2001. Effect of wogonin, a plant flavone from *Scutellaria radix*, on the suppression of cyclooxygenase-2 and the induction of inducible nitric oxide synthase in lipopolysaccharide-treated RAW264.7 cell. *Biochemical Pharmacology* 61: 1195-1203.
- Ishizaka K. 1984. Regulation of IgE synthesis. *Annu Rev Immunol* 2: 159-162.
- Chi YS, Cheon BS, Kim HP. 2001. Effect of wogonin, a plant flavone from *Scutellaria radix*, on the suppression of cyclooxygenase-2 and the induction of inducible nitric oxide synthase in lipopolysaccharide-treated RAW264.7 cell. *Biochemical Pharmacology* 61: 1195-1203.
- Coombs RRA, Gell PGH, Lachman PJ. 1975. *Clinical Aspects of Immunology*. Blackwell Scientific Publications, Oxford. p 761-766.
- Arts JHE, Droge SCM, Bloksma N, Kuper CF. 1996. Local lymph node activation in rats after dermal application of the sensitizers 2,4-dinitrochlorobenzene and trimellitic anhydride. *Food Chem Toxicology* 34: 55-62.
- Gerberick GF, Cruse LW, Ryan CA. 1999. Local lymph node assay: differentiating allergic and irritant responses using flow cytometry. *Eur J Med Res* 19: 48-55.
- Sikorski EE, Gerberick GF, Ryan CA, Miller CM, Ridder GM. 1996. Phenotypic analysis of lymphocyte subpopulations in lymph nodes draining the ear following exposure to contact allergens and irritants. *Fundamental Applied Toxicology* 34: 25-35.
- Suda A, Yamashita M, Tabei M, Taguchi K, Vohr HW, Tsutsui N, Suzuki R, Kikuchi K, Sakaguchi K, Mochizuki K, Nakamura K. 2002. Local lymph node assay with non-radioisotope alternative endpoints. *J Toxicol Sci* 27:

- 204-218.
28. Holliday MR, Dearman RJ, Kimber I, Coleman JW. 1992. Sensitization of mice to chemical allergens modulates the responsiveness of isolated mast cell to IgE-dependent activation. *Immunology* 78: 508-510.
29. Dedon PC, Tannenbaum SR. 2004. Reactive nitrogen species in the chemical biology of inflammation. *Arch Biochem Biophys* 423: 12-22.
30. Fleming I, Busse R. 2004. The physiology of nitric oxide: Control and consequences. *Curr Med Chem Anti-Allergy Agents* 3: 189-205.
31. Hogg N, Kalyanaraman B, Darley-Usmar V. 1995. *The oxygen paradox: Oxidant and antioxidant effects of nitric oxide and superoxide in the vasculature*. Cleup University Press, Paradona, Italy.
32. Choe SI, Lee YM, Heo TL. 2003. Screening of hyaluronidase inhibitory and free radical scavenging activity in vitro of traditional herbal medicine extracts. *Korean J Biotechnol Bioeng* 18: 282-288.