

사염화탄소로 간 손상이 유발된 흰쥐에서 황금(黃芩) 열수 추출물이 면역작용에 미치는 효과

안치선 · 김해란 · 전윤희 · 임병우[†]

건국대학교 의료생명대학 생명과학부

The Protective Effects of *Scutellaria baicalensis* Georgi Water Extracts on the Immunomodulatory Effects on Liver Damage Induced by Carbon Tetrachloride in Rats

Chi Sun An, Hai Lan Jin, Yun Hui Jeon, and Beong Ou Lim[†]

College of Biomedical & Health Science, Department of Life Science, Konkuk University, Chungju 380-701, Korea.

ABSTRACT : GATA-binding protein-3 (GATA-3) and T-box expressed in T-cells (T-bet) are now considered as master transcription factors involving Th cell differentiation, but the roles of these factors are still uncertain in vivo. This study was conducted to investigate the expression of these transcription factors in the liver damage induced by carbon tetrachloride (CCl₄) in rats. In this study, liver damage were induced with *Scutellaria baicalensis* Georgi water extracts (SBW) and followed for 4 weeks. The expression of GATA-3 and T-bet protein in liver damage induced by CCl₄ and the serum levels of immunoglobulin A (IgA), IgE were studied after 4 weeks of treatment. We found that effect of SBW on IFN- γ , STAT1, pSTAT1 and T-bet was decreased in vivo. Several genes were demonstrated to be IL-4 inducible prior to the discovery of STAT6. CCl₄+SBW group was significantly lower than CCl₄ group in IL-4, STAT6, pSTAT6 and GATA-3. Our data indicate that cytokine protein production were increased in CCl₄ group and CCl₄+SBW group. From these results, water extracts obtained from *Scutellaria baicalensis* Georgi may have an immunoregulatory effect in the liver induced by CCl₄ of rats.

Key Words : *Scutellaria baicalensis* Georgi, CCl₄, GATA-3, T-bet

서 언

최근 20여 년간 고지혈증, 순화기계 질환, 지방간, 비만 및 당뇨 등 서구화된 식생활에 의한 질환의 발병률 및 사망률이 꾸준히 증가하고 있는 가운데 다양한 급·만성 질환의 치료를 위한 대체 보완 요법이 관심의 대상이 되고 있다 (Seef *et al.*, 2001). 인체는 간장에서 독작용을 일으키는 활성 대사체로 전환될 수 있는 수많은 환경오염물질과 화학물질 그리고 식품 첨가제 및 의약품 등에 노출되고 있다 (Glende and Pushpendran, 1986). 또한 인체는 독성 물질에 노출 되었을 때 이에 적응하여 생존할 수 있도록 방어기전을 가지고 있고, 이러한 방어기전은 주로 간의 해독작용과 면역력에 의존한다 (Ha and Lee, 2006).

사염화탄소 (carbon tetrachloride, CCl₄)는 지방성 퇴행 (fatty degeneration), 섬유증 (fibrosis), 간세포 사멸 및 발암 등을 유발시키며, 독성물질이 간세포에 미치는 영향과 그 대

사과정을 규명하는데 대표물질로써 주로 사용되어 왔다 (Weddle *et al.*, 1976). 사염화탄소는 cytochrom p450에 의해 활성화되어 CCl₃를 만들며 CCl₃는 산소와 반응하여 CCl₃OO를 형성한다 (Monks *et al.*, 1984; Hur *et al.*, 2007). 이 두 물질은 지방대사 과정에 관여하여 lipid peroxidation chain reaction을 일으키기도 하고 미토콘드리아나 DNA, 세포막과 같은 세포구조물에 영향을 미쳐 세포를 손상시키거나 죽인다 (Tomasi *et al.*, 1987; Haouzi *et al.*, 2000).

CD4+ T림프구가 그 아형으로 분화되는 것이 면역학적 질환에서 매우 중요하다는 것이 밝혀진 것은 이미 잘 알려진 사실이다. Th1 림프구로의 분화는 T-box expressed in T-cells (T-bet), signal transducer and activator of transcription 1 (STAT1), STAT4 등의 전사인자와 함께 IFN- γ , IL-12, IL-23, IL-27 등의 사이토카인에 의해 조절되며, Th2 림프구로의 분화는 c-maf, STAT6, GATA-binding protein-3 (GATA-3), nuclear factor of activated T cell (NFAT) 등의 전사인자와

[†]Corresponding author: (Phone) +82-43-840-3570 (E-mail) beongou@kku.ac.kr
Received 2009 June 7 / Revised 2009 July 28 / Accepted 2009 August 5

함께 IL-4 등의 사이토카인에 의해 조절된다 (Agnello *et al.*, 2003). 그 중에서도 GATA-3 및 T-bet 전사인자는 T 림프구가 분화될 때 그 타임을 결정하는 핵심적인 전사인자 (master transcriptional factors)로서, GATA-3는 Th2 림프구로의 분화를 촉진하고, T-bet은 Th1 림프구로의 분화를 촉진한다 (Szabo *et al.*, 2000; Szabo *et al.*, 2002; Ting *et al.*, 1996; Zheng and Flavell RA, 1997). 즉 GATA-3의 경우 Th2 사이토카인들이 있는 유전자 부위의 크로마틴 구조를 열어주어 활성화된 여러 가지 다른 전사인자들에 의해 IL-4, IL-5, IL-13 등의 전사가 일어날 수 있도록 하며, T-bet의 경우는 반대로 Th1 사이토카인이 있는 유전자 부위를 열어주어 IFN- γ 의 전사가 일어날 수 있는 토대를 마련해 주게 되는 것이다 (Nakamura *et al.*, 1999). GATA-3와 T-bet은 다른 전사인자와는 달리 신호전달 과정에서 상위에 위치하는 전사인자로서 전체적인 T 림프구의 분화를 조절하는 핵심적인 전사인자가 되는 것이다 (Ji *et al.*, 2004).

면역 조절 기능성 성분으로 연구되고 있는 한약재 황금은 꿀풀과에 속한 다년생 초본인 *Scutellaria baicalensis* Georgi의 주피를 벗긴 뿌리를 건조한 것으로 독성이 적고 주성분은 flavonoid계 화합물로서 30여종이 분리되어 있다 (Kim, 2001; Lim *et al.*, 2007a). 황금의 뿌리는 염증과 발열에 쓰이는 약초이다. 그리고 간 해독 작용에 효과가 있으며, ether 추출물은 항암제의 상승 작용을 하는 것으로 알려져 있고, 황금 추출물은 항암제의 부작용을 감소시키며 약재의 내성을 극복 또는 예방할 수 있는 항암제의 상승효과가 있다 (Seo *et al.*, 1993; Hulst and Tramper, 1989). 또한 황금에 관한 연구로는 황금으로부터 항산화 활성 성분의 분리 (Kim *et al.*, 2006), 황금 및 생강 복합 수용성겔 제제의 항산화 활성 및 피부염 치료효과 (Yang *et al.*, 2006), 알레르기 반응 억제효과 (Choi *et al.*, 2001) 등 다양한 기능성 연구가 보고된 바 있으나 식품의 원료로 사용이 가능한 황금 추출물 자체에 대한 연구는 아직까지 미약하다.

따라서 본 연구에서는 사염화탄소 투여로 유발된 흰쥐의 간 손상에 어떠한 면역조절 효과를 나타내는지 확인하고자 흰쥐에 황금 추출물을 투여하여 급성 장기 손상에서 단백질 발현을 확인함과 동시에 면역학적 변화를 관찰하였다.

재료 및 방법

1. 시약의 구입

CCl₄ (carbon tetrachloride), con oil은 Sigma (Louis, MO, USA)에서 구입하였다. Lysis buffer (T-PER® Tissue Protein Extraction Reagent)는 Thermo scientific에서 구입하였다. 항체 TNF- α , STAT1, pSTAT1, STAT6, pSTAT6는 Cell Signaling Technology에서 IL-4, IFN- γ , GATA-3, T-bet은

Santa Cruz Biotechnology Inc. (California, USA)에서 iNOS는 upstate biotechnology에서 구입하여 사용하였고, 그 외 일반 시약은 Sigma에서 구입하였다.

2. 황금의 열수 추출

전라남도 영암에 위치한 천수당 한약방에서 여수산 황금을 구입하였다. 황금 뿌리 100 g을 절편하여 round flask에 넣고 1 L의 증류수를 가한 후 80°C에서 3시간 동안 환류냉각기로 열수 추출하였다. 이 과정을 3회 반복하여 rotary evaporator (Eyela, Japan)를 사용하여 감압농축 하였고, 이 농축액을 -20°C로 동결 건조하여 재료로 사용하였다.

3. 동물 및 식이

평균체중 120 ± 10 g의 4주령 Sprague-Dawley (SD)계 rat을 (주) Orient로부터 구입하여, 1주일간 식이와 식수는 자유롭게 섭취하도록 하였다. 이상적인 항온항습 환경 (22 ± 2°C, 55 ± 5%)으로 유지하고, 12시간씩 밤과 낮을 자동 조절하여 적용시켰다. 실험군은 난피법에 의해 모두 6마리씩 3군 (control군, CCl₄군, CCl₄+황금추출물 (SBW)군)으로 나누어 실험하였다. 1주일간 예비사육한 후 control군을 제외한 2군에 대해 간 섬유화 유발을 위해 사염화탄소 (0.5 ml/kg 체중)를 con oil과 50:50의 비율로 희석하여 주 3회 피하주사 하였다. 황금추출물은 체중 당 (kg) 200 mg 비율로 주 5회 경구 투여하였다. 총 4주에 걸쳐 실험을 진행하였고, 그 후 12시간 절식 후 rat을 ether로 마취시킨 후 희생을 통하여 혈액을 채취하였으며 간은 적출하여 생리식염수로 세척한 뒤 -70°C에 보관하며 분석에 사용하였다.

4. Nitric Oxide (NO) 측정

CCl₄에 의해 손상된 간과 면역기관으로부터 생성된 nitrite를 측정하기 위하여 griess 반응을 이용하였다. 이 방법은 griess 시약의 diaz오기가 nitrite를 만나면 분홍색으로 변하게 되는 색의 반응을 이용한 것이다. 조직을 100 mM Tris-HCl buffer에 넣어 분쇄한 후, 원심분리하여 상층액을 얻었다. 조직의 상층액을 96well plate에 취하고, 동량의 griess 시약 (1% sulfanilamide + 2% phosphoric acid, 0.1% naphthylethylene diamide dihydrochloride)을 첨가해 실온에서 10분간 반응시킨 후, ELISA reader로 450 nm에서 흡광도를 측정하였다. NO₂⁻의 농도는 sodium nitrite (NaNO₂)를 사용하여 흡광도를 측정 한 후 얻은 표준곡선과 비교하여 산출하였다.

5. Immuno blot에 의한 cytokines 측정

조직 100 mg을 잘라 lysis buffer를 넣어서 4°C, 14000 rpm, 10분간 원심 분리하여 상층액을 취하였다. 상층액은 bovine serum albumin (BSA)으로 작성한 standard curve에 OD값을

Table 1. Changes of body weight of the experimental groups.

	Body weight (g)	
	Initial	Final
A	334.7±9.0	421.2±17.6 ^a
B	309.0±24.3	360.8±36.6 ^b
C	294.0±16.6	377.0±31.4 ^{ab}

(A) Normal group
 (B) CCl₄-treated group
 (C) CCl₄-treated group+*Scutellaria baicalensis* Georgi water extract (n = 6 for each group), values not sharing a common superscript letter are significantly different (p < 0.05).

대입시켜서 protein량을 보정하였다. 그 후에 bio rad protein assay방법으로 단백질을 정량하여 100 ug의 단백질을 취했다. western blot법 (Burnette WN, 1981)을 이용하여 측정하였다.

6. ELISA을 이용한 IgA, IgE 생성량 측정

Sandwich ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay)법 (Lim *et al.*, 2000)을 이용하여 측정하였다. 측정 방법은 50 mM carbonate-bicarbonate buffer와 IgA, IgE 일차항체를 96 well plate의 각 well에 분주한 후 37°C에서 2시간 incubation한다. 3회 washing 완충용액으로 세척한 후 blocking buffer를 넣어 37°C, 1시간 incubation한다. 각 well을 3회 washing 완충용액으로 세척한 후, sample을 분주하고 37°C, 1시간 incubation한다. 3회 washing 완충용액으로 세척한 후, TMB를 분주하였다. 10~15분간 incubation 후 ELISA reader로 450 nm에서 측정하였으며, 생성량은 표준물질의 반응으로부터 얻어진 표준곡선을 이용하여 환산하였다.

7. 통계처리

본 연구의 실험결과는 mean ± SE으로 나타내었으며, 각 group간의 통계적 유의성 검증은 SPSS program (ver. 14.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 사용하여 p < 0.05 수준에서 Duncan의 다중비교법을 이용하여 결정하였다.

결 과

1. 체중증가량 및 장기무게

실험동물의 하루 평균 체중증가량 및 장기 무게 변화를 Table 1, 2에 나타내었다. 체중증가량은 정상군과 대조군, 실험식이 섭취군의 실험 시작 평균체중이 334.7 ± 9.0, 309.0 ± 24.3, 294.0 ± 16.6 g이었다. 그러나 실험 종료 평균체중이 421.2 ± 17.6, 360.8 ± 36.6, 377.0 ± 31.4 g으로 모든 군에서 실험기간이 지남에 따라 증가하는 것을 나타내었고, 실험식이 섭취군이 대조군에 비해 약간의 증가를 보였다. 사염화탄소 투여에 대한 황금 추출물 섭취가 장기무게에 미치는 효과를 알아보기 위하여 간과 비장의 무게를 측정하였다. 간의 무게는

Table 2. Relative organ weight of liver and spleen of CCl₄-treated rats.

	Organs weight (g)	
	Liver	Spleen
A	8.4 ± 1.1 ^a	0.5 ± 0.1
B	9.1 ± 1.9 ^a	0.4 ± 0.1
C	10.6 ± 1.5 ^b	0.5 ± 0.1

(A) Normal group
 (B) CCl₄-treated group
 (C) CCl₄-treated group+*Scutellaria baicalensis* Georgi water extract (n = 6 for each group), values not sharing a common superscript letter are significantly different (p < 0.05).

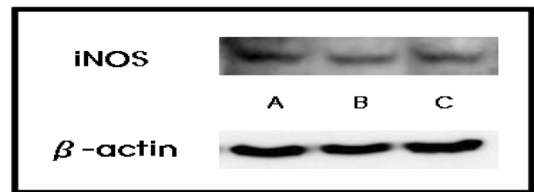
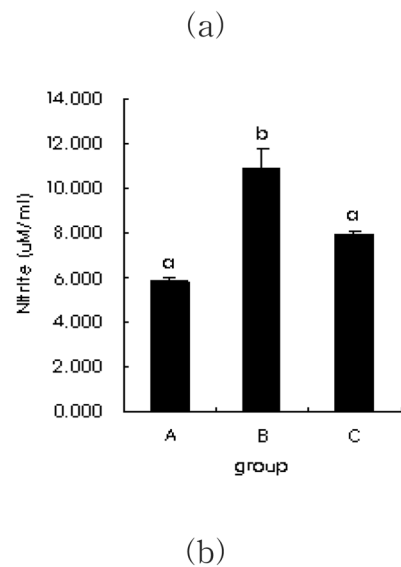


Fig. 1. Effect of *Scutellaria baicalensis* Georgi on the NO production and iNOS expression in Liver. (a) NO production from liver was determined in culture supernatant by griess reagent. (b) Expression of iNOS protein was determined by western blotting. specific anti iNOS antibodies. Actin was used as an internal control. (n = 6 for each group), values not sharing a common superscript letter are significantly different (p < 0.05).

(A) Normal group
 (B) CCl₄-treated group
 (C) CCl₄-treated group+*Scutellaria baicalensis* Georgi water extract

각각 8.4 ± 1.1, 9.1 ± 1.9, 10.6 ± 1.5 g으로 사염화탄소를 투여한 대조군이 정상군에 비해 높았으며, 실험식이 섭취군이 정상군과 대조군보다 높았다. 비장의 무게는 각각 0.5 ± 0.1,

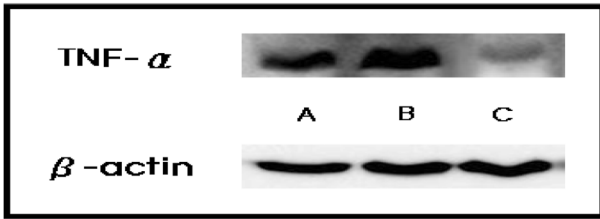


Fig. 2. Effect of *Scutellaria baicalensis* Georgi on the TNF- α expression in Liver. Expression of TNF- α protein was determined by western blotting, specific anti TNF- α antibodies. Actin was used as an internal control. (n = 6 for each group)
 (A) Normal group
 (B) CCl₄-treated group
 (C) CCl₄-treated group + *Scutellaria baicalensis* Georgi water extract

0.4 ± 0.1, 0.5 ± 0.1 g으로 실험군간의 차이는 크게 나타나지 않았다.

2. Nitric oxide(NO) 생산량 및 iNOS 단백질 측정

사염화탄소로 간 손상이 유발된 흰쥐의 조직 중 liver에서 생성된 nitrite의 양을 griess 시약을 사용하여 NO 생성저해와 iNOS 단백질 발현량을 확인한 결과를 Fig. 1에 나타내었다. 염증 유발에 중요한 역할을 하는 것으로 알려진 NO 생성을 알아본 결과 각각 5.583 ± 0.14, 10.92 ± 0.86, 7.95 ± 0.17 uM/ml 로 대조군인 CCl₄군에 비해 실험식이 섭취군에서 NO 생성 억제력을 관찰할 수 있었다. NO 생성 억제기작에 관한 iNOS 단백질의 관련성을 조사하기 위하여 immunoblot analysis를 이용하여 iNOS 단백질의 발현을 조사한 결과, 사염화탄소로 유도된 대조군과 실험식이 섭취군에서 iNOS 단백질이 감소되었고 반대로 정상군에서 늘어난 것을 확인하였다. 즉, iNOS에서 NO를 경유하는 기작에서 iNOS는 미세한 염증 반응을 나타내었고 NO의 생성능에서는 확실한 염증 억제 반응을 확인하였다.

3. Immunoblot을 이용한 cytokines 측정

Cytokines의 발현을 확인하기 위해 사염화탄소로 유도된 흰쥐의 liver에서 황금 추출물의 영향을 알아보기 위해 실험한 결과를 Fig. 2, 3에 나타내었다. 염증단계에 중추적 역할을 하고 있는 cytokine인 TNF- α 발현량은 정상군보다 사염화탄소로 유도한 대조군에서 높은 발현을 보였고, 실험식이 섭취군에서 발현량이 감소하는 것을 나타내었다. Th1 임파구로의 분화를 촉진시키는 전사인자인 IFN- γ 와 STAT1 그리고 T-bet의 발현은 대조군이 정상군에 비해 높은 발현을 나타내었고, 실험식이 섭취군에서의 발현량이 낮게 나타났으나 pSTAT1의 발현은 반대로 대조군에서 높게 나타났다. Th2 임파구로의 분화를 촉진시키는 전사인자인 IL-4와 pSTAT6 그리고 GATA-3의 발현량은 정상군에 비해 대조군에서 높은 발현을 나타냈고, 실

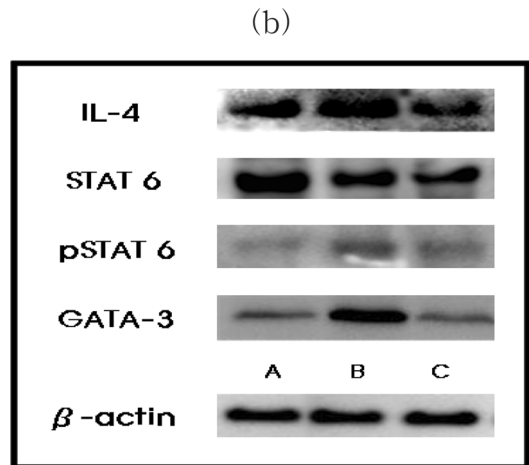
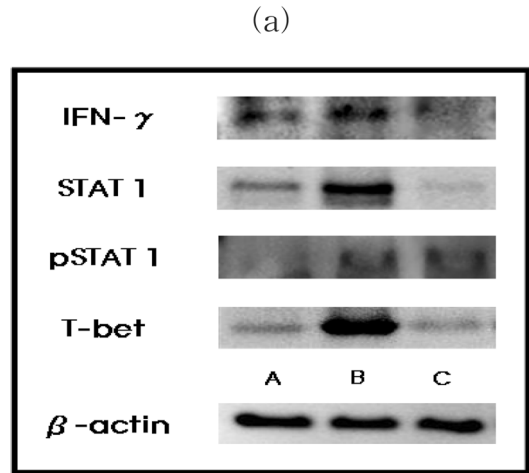


Fig. 3. Effect of *Scutellaria baicalensis* Georgi on the IFN- γ , STAT1, pSTAT1 and T-bet expression in Liver. (a) Expression of IFN- γ , STAT1, pSTAT1 and T-bet protein was determined by western blotting, specific anti IFN- γ , STAT1, pSTAT1 and T-bet antibodies. Actin was used as an internal control. (b) Expression of IL-4, STAT6, pSTAT6 and GATA-3 protein was determined by western blotting, specific anti IL-4, STAT6, pSTAT6 and GATA-3 antibodies. Actin was used as an internal control. (n = 6 for each group).
 (A) Normal group
 (B) CCl₄-treated group
 (C) CCl₄-treated group + *Scutellaria baicalensis* Georgi water extract

험식이 섭취군에서 발현량이 줄어드는 것을 볼 수 있었다. 하지만 STAT6에서는 정상군에서 대조군과 실험식이 섭취군보다 높은 발현을 나타내었다.

4. ELISA을 이용한 IgA, IgE항체 측정

혈청에서의 immunoglobulin A와 E의 농도를 측정된 결과는 Table 3과 같다. 혈청 IgA 농도는 정상군, 대조군, 실험식이 섭취군에서 각각 116.593 ± 0.048, 131.148 ± 0.053, 115.852 ± 0.045 ng/ml 로 측정되었으며, 사염화탄소로 유도된 군이 다

Table 3. Serum immunoglobulin A and E concentration.

	IgA (ng/ml)	IgE (ng/ml)
A	116.593±0.048 ^a	2.694±0.004 ^a
B	131.148±0.053 ^b	2.906±0.007 ^b
C	115.852±0.045 ^a	2.024±0.005 ^c

(A) Normal group
 (B) CCl₄-treated group
 (C) CCl₄-treated group+*Scutellaria baicalensis* Georgi water extract (n = 6 for each group), values not sharing a common superscript letter are significantly different (p < 0.05).

른 군에 비해 생성량이 높았다. 혈청 IgE 농도는 정상군, 대조군, 실험식이 섭취군에서 각각 2.694 ± 0.004, 2.906 ± 0.007, 2.024 ± 0.005 ng/ml로 사염화탄소를 유도한 군에서 다른 군보다 높았으며, 황금 추출물을 섭취한 실험식이 섭취군에서 낮았다.

고 찰

본 연구는 흰쥐에 황금 추출물을 4주간 투여하여 사염화탄소로 유발된 흰쥐에서의 면역 조절 효과를 확인하기 위해 수행되었으며, 간의 면역력을 증강시키는 물질을 찾기 위해 조직 중 liver에서의 면역학적인 효과를 보았다.

염증은 조직의 손상을 비롯한 외부로부터의 자극 등 다양한 감염원에 대한 생체 내 방어 중 하나로서 (Mariathasan and Monack, 2007; Zedler and Faist, 2006), 국소혈관과 다양한 면역세포가 유기적인 상호작용을 하게 된다. 이 과정에서 대식세포와 같은 염증세포들이 활성화 되면서 nitric oxide (NO) 와 interleukin-1 beta (IL-1β), tumor necrosis factor-alpha (TNF-α) 등 다량의 염증 매개 인자를 분비하게 된다 (Guha and Mackman, 2001; Nathan, 1992). 이러한 염증 반응이 지속적으로 또는 과도하게 일어나면 과민성 알러지 질환이나 만성 염증 질환, 순환기 장애, 암 등과 같은 다양한 질환의 원인을 제공하게 된다 (Gracie et al., 1999; Kinne et al., 2000).

NO는 포유동물의 세포에서 생성되는 매우 작은 분자량의 물질로서 혈관확장, 신경 전달기능, 항균작용 등의 다양한 생물학적 활성을 지니고 있는 것으로 알려져 있다. 지금까지 알려진 NO 생성 효소 중 Macrophages 및 hepatocytes 등에 존재하는 iNOS에 의해 다량으로 생성되는 NO는 세포 괴사, 조직 손상 및 염증 등을 유발시키는 것으로 알려져 있다 (Kuo et al., 1996; Geller et al., 1993). 천연물로부터 NO 생성 저해를 알아보기 위해 griess 시약을 이용해 실험한 결과, 정상군에 대해 사염화탄소 투여군에서 NO 생성량이 증가한 것을 볼 수 있었고, 실험식이 섭취군에서는 생성량이 감소하는 것을 볼 수 있었다. 이는 황금 추출물이 사염화탄소 투

여로 인해 생성된 NO를 억제시킴으로서 항염증 효과를 나타낼 것으로 생각된다.

염증반응에서 중요한 활성인자로서 연구가 활발하게 이루어진 TNF-α는 활성화된 대식세포에 의하여 주로 생성되며, 세균감염이나 악성 종양 발생 시 숙주의 반응에 있어서 중요한 역할을 한다 (Tracey and Cerami, 1990; Beutler and Grau, 1993). 염증 부위에 축적된 백혈구는 각종 cytokine을 지속적으로 분비하여 미생물과 종양세포에 대한 독성을 유지하기도 하며, 한편으로 염증반응을 유발시켜 조직을 손상시키기도 한다 (Boumpas et al., 1993; Tracy et al., 1987). Immuno blot을 이용한 실험결과를 보았을 때, 사염화탄소에 의해 높게 생성된 대조군의 TNF-α 발현을 황금 추출물 섭취로 TNF-α 발현량을 감소시켜, TNF-α 분비억제 효과를 나타내었다.

사이토카인의 분비와 T 림프구의 분화에 관여하는 전사인자에 대한 관심이 많아지고 많은 연구가 이루어지고 있다 (Agnello et al., 2003). Th1 세포는 IL-2와 IFN-γ를 생성하여 세포매개성 면역반응에 관여하고, Th2 세포는 IL-4, IL-5 그리고 IL-10을 생성하며 체액성 면역반응을 조절한다 (Grogan and Locksley, 2002; Lim et al., 2007b). Th1 사이토카인인 IFN-γ는 Th2 반응을 억제한다 (Kay, 2000). Th2 사이토카인인 IL-4, IL-10은 Th1 반응을 억제하며, IgE의 생성을 증가시키고, 비만세포의 증식 그리고 호산구의 침윤에 관여한다 (Park et al., 1987). 특히 GATA-3와 T-bet은 신호전달과정에서 유전자의 전사를 조절하는 상위에 위치하는 전사인자이므로 Th1 및 Th2의 분화에 있어 가장 중요한 전사인자라 할 수 있다. T 림프구가 분화되는 과정에서 GATA-3와 T-bet은 서로 길항적인 작용을 하기 때문에 질환에서 이들 전사인자의 발현이 갖는 의미를 분석하려면 GATA-3, c-maf 등만이 아닌 Th1 림프구의 분화촉진 및 Th2 림프구의 분화 억제 작용을 가진 T-bet의 발현도 함께 관찰하고 분석하여야 한다 (Ji et al., 2004).

IFN-γ는 결핵균에 대한 살균능을 증가시키는 등 숙주 방어에 중요한 역할을 하나, 과다 생성시 오히려 국소적인 염증과 조직의 파괴를 초래하기도 하므로 (Maggi et al., 1992; Flynn et al., 1993), 지나친 염증반응을 억제하기 위한 항염증성 사이토카인들이 또한 생성된다. 세포 내 전사인자인 STAT1 등을 활성화시켜 면역반응에 필요한 여러 유전자의 발현을 증가시켜 그 기능을 나타내는 것으로 알려져 있다 (Celada et al., 1985). 이에 IFN-γ, STAT1, pSTAT1 그리고 T-bet의 발현량을 보았을 때 정상군에 대해 사염화탄소 유발군에서 높은 발현을 보였고, 황금 추출물 섭취군에서는 발현량이 줄어드는 것을 확인할 수 있었다. IL-4는 비만세포와 결합하여 비만세포가 자극 받았을 때, 여러 가지 염증 증상과 관련된 인자들을 배출시키는데 중요한 역할을 한다. STAT6는 IL-4등의 분비에 관여하는 Th2 림프구의 분화에 영향을 미치고 IgE를 생

성하는 B세포의 분화에 관여하는 전사인자로 알려져 있다 (Simoda *et al.*, 1996; Balzar *et al.*, 2007). 본 실험에서 IL-4, STAT6, pSTAT6 그리고 GATA-3의 발현 정도를 보면 대조군인 사염화탄소 유발군이 정상군보다 높게 발현되었고, 황금 추출물 섭취군이 대조군에 대해 발현량이 줄어든 것을 확인할 수 있었다. 위와 같은 실험결과는 지속적인 사염화탄소와 황금 추출물의 투여로 인해서 면역반응이 일어났음을 알 수 있었다.

면역글로불린은 타액, 내장, 폐포 세척액, 소변, 눈물, 기타 점막액에 존재하면서 점액성 표면에서 면역기능을 수행하는 분비성 면역글로불린 (Ogra *et al.*, 1994)과 세포성 면역지표인 혈청 면역글로불린 등으로 구분된다 (Buyukyazi, 2004). 체액성 면역반응물질인 면역글로불린은 전체 혈청 단백질의 15~20%를 구성하고 있고 항체활성을 가진 당단백질 (glycoproteins)이다. 황금 추출물 투여군이 혈청에서 antiallergic factor로 작용하는 IgA와 염증에 관여하는 IgE의 생산량의 감소로 면역저하의 예방뿐만 아니라 알러지 반응도 예방이 가능할 것으로 보인다.

이상의 결과를 종합하면 흰쥐에서 사염화탄소의 유도가 immunoglobulin의 생성과 여러 cytokine들의 발현량을 증가시키는 것을 확인할 수 있었으며 황금 추출물에는 사염화탄소로 유발된 간독성에 대하여 항염증에 효과가 있는 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 건국대학교 의료생명대학 일반대학원 응용생명과학과 두뇌한국사업팀, 지식경제부지원 지역혁신센터사업 (건국대학교 바이오 식·의약 연구센터)의 지원에 의해 수행된 것으로 이에 감사드립니다.

LITERATURE CITED

Agnello D, Lankford CS, Bream J, Morinobu A, Gadina M, O'shea JJ and Frucht DM. (2003). Cytokines and transcription factors that regulate T helper cell differentiation: new players and new insights. *Journal of Clinical Immunology*. 23:147-161.

Balzar S, Strand M, Rhodes D and Wenzel SE. (2007). IgE expression pattern in lung: Relation to systemic IgE and asthma phenotypes. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 119:855-862.

Beutle r B and Grau GE. (1993). Tumor necrosis factor in the pathogenesis of infectious diseases. *Critical Care Medicine*. 21:423-435.

Boumpas DT, Chrousos GP, Wilder RL, Cupps TR and Balow JE. (1993). Glucocorticoid therapy of immune-mediated diseases: basic and clinical correlates. *Annals of Internal*

Medicine. 119:1198-1208.

Burnette WN. (1981). "Western blotting" : electrophoretic transfer of proteins from sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gels to unmodified nitrocellulose and radiographic detection with allti-body and radioiodinated protein A. *Analytical Biochemistry*. 112:195-203

Buyukyazi G, Kutukculer N, Kutlu N, Genel F, Karadeniz G and Ozkutuk N. (2004). Differences in the cellular and humoral immune system between middle-aged men with different intensity and duration of physically training. *Journal of Sports Medicine and Physical Fitness*. 44:207-214.

Celada A, Allen R, Esparza I, Gray PW and Schreiber RD. (1985). Demonstration and partial characterization of the interferon-gamma receptor on human monoclonal phagocytes. *Journal of Clinical Investigation*. 76:2196-2205.

Choi EM, Lee BK and Koo SJ. (2001). Inhibitory effect on delayed-type hypersensitivity by the hot water extracts from medicinal herbs. *Korean Journal of Food Science and Technology*. 33:146-148.

Flynn JL, Chan J, Triebold KJ, Dalton DK, Stewart TA and Bloom BR. (1993). An essential role of interferon in resistance to *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Journal of Experimental Medicine*. 178:2249-2254.

Geller DA, Silvio MD, Nussler AK, Wang SC, Shapiro RA, Simmons RL and Billiar TR. (1993). Nitric oxide synthase expression is induced in hepatocytes in vivo during hepatic inflammation. *Journal of Surgical Research*. 55:427-432.

Glende EA and Pushpendran CK. (1986). Activation of phospholipase A2 by carbon tetrachloride in isolated rat hapatocytes. *Biochemical Pharmacology*. 35:3301.

Gracie JA, Forsey RJ, Chan WL, Gilmour A, Leung BP, Greer MR, Kennedy K, Carter R, Wei XQ, Xu D, Field M, Foulis A, Liew FY and McInnes IB. (1999). A proinflammatory role for IL-18 in rheumatoid arthritis. *The Journal of Clinical Investigation*. 104:1393-1401.

Grogan JL and Locksley RN. (2002). T helper cell differentiation: on again, off again. *Current Opinion in Immunology*. 14:366-372.

Guha M and Mackman N. (2001). LPS induction of gene expression in human monocytes. *Cell Signalling*. 13:85-94.

Ha BJ and Lee SH. (2006). The Protective Effects of *Salicornia herbacea* L. against liver toxicity. *Journal of Life Science*. 16:95-100.

Haouzi D, Lekéhal M, Moreau A, Moulis C, Feldmann G, Robin MA, Lettéron P, Fau D and Pessayre D. (2000). Cytochrome P450-generated reactive metabolites cause mitochondrial permeability transition, caspase activation, and apoptosis in rat hepatocytes. *Hepatology*. 32:303-311.

Hulst AC and Tramper J. (1989). Immobilized Plant Cells; a literature survey. *Enzyme and Microbial Technology*. 11:546-558.

Hur JM, Kim HO and Park JC. (2007). Hepatoprotective effect of catechin isolated from the root of *Rosa rugosa* Thunb. *Korean Journal of Medicinal Crop Science*. 15:21-25.

Ji YG, Kim YS, Park JS and Lee GY. (2004). Expression of mRNA of GATA-3 and T-bet in the peripheral blood mononuclear cells of atopic asthmatics. *Korean Journal of*

- Internal Medicine. 66:67-74.
- Kay AB.** (2000). Overview of allergy and allergic disease : with a view to the future. *British Medical Bulletin*. 56:843-864.
- Kim HC.** (2001). Textbook of herbal pharmacology. Jipmundang. pp. 129-133.
- Kim SC, Ahn KS, Park CK, Jeon BS, Lee JT and Park WJ.** (2006). Isolation of antioxidative compound from *Scutellaria baicalensis* G. *Korean Journal of Medicinal Crop Science*. 14:212-216.
- Kinne RW, Bruer R, Stuhlmiller B, Palombo-Kinne E and Burmester GR.** (2000). Macrophages in rheumatoid arthritis. *Arthritis Research*. 2:189-202.
- Kuo ML, Chau YP, Wang JH and Shiah SG.** (1996). Inhibitors of poly (ADP-ribose) polymerase block nitric oxide-induced apoptosis but not differentiation in human leukemia HL-60 cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 219:502-508.
- Lim BO, Choi SY, Choi DK, Park PJ, Choi WS, Kim JD and Shin HM.** (2007). Inhibitory effect of *Scutellaria baicalensis* root extract on chemical mediator release and immune response. *Korean Journal of Medicinal Crop Science*. 15:132-137. a)
- Lim BO, Jeong YJ, Park MH, Kim JD, Hwang SJ and Yu BP.** (2007b). Immunoregulatory effects of Saengshik on DSS-induced Inflammatory Bowel Disease in mouse model system. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*. 36:32-42.
- Lim Bo, Jolly CA, Zaman K, Fernardes G.** (2000). Dietary (n-6) and (n-3) fatty acids and energy restriction modulate mesenteric lymph node lymphocyte function in autoimmune-prone (NZB × NZW) F1 mice. *Journal of Nutrition*. 130:1657-1664.
- Maggi E, Parronchi P, Manetti R, Simonelli C, Piccini MP, Ruggi FS, De Carli M, Ricci M and Romagnani S.** (1992). Reciprocal regulatory effects of IFN- γ and IL-4 on the in vitro development of human Th1 and Th2 clones. *Journal of Immunology*. 6:720-727.
- Mariathasan S and Monack DM.** (2007). Inflammasome adaptors and sensors: intracellular regulators of infection and inflammation. *Nature Reviews Immunology*. 7:31-40.
- Monks TJ, Lan SS, Pohl LR and Gillette JR.** (1984). The mechanism of formation of o-bromophenol from bromobenzene. *Drug Metabolism and Disposition*. 12:193-198.
- Nakamura Y, Ghaffar O, Olivenstein R, Taha R, Soussi-Gounni A, Zhang DH, Ray A and Hamid Q.** (1999). Gene expression of the GATA-3 transcription factor is increased in atopic asthma. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 103:215-222.
- Nathan C.** (1992). Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells. *The Federation of American Societies for Experimental Biology*. 6:3051-3064.
- Ogra PL, Mestecky J, Lamm ME, Strober W, McGhee JR and Bienenstock J.** (1994). Handbook of mucosal immunology. New York: Academic Press.
- Park LS, Friend D, Grabstein K and Urdal DL.** (1987). Characterization of the high-affinity cell-surface receptor for murine B-cell-stimulating factor 1. *Proceedings of the National Academy Sciences of USA*. 84:1669-1673.
- Seef LB, Lindsay KL, Bacon BR, Kresina TF and Hoofnagle JH.** (2001). Complementary and alternative medicine in chronic liver disease. *Hepatology*. 34:595-603.
- Seo WT, Park YH and Choe TB.** (1993). Identification and production of flavonoids in a cell suspension culture of *Scutellaria baicalensis* G. *Plant Cell Reports*. 12:414-417.
- Shimoda K, Van Deursen J, Sangster MY, Sarawar SR, Carson RT, Tripp RA, Chu C, Quelle FW, Nosaka T, Vignali DA, Doherty PC, Grosveld G, Paul WE and Ihle JN.** (1996). Lack of IL-4-induced Th2 response and IgE class switching in mice with disrupted State6 gene. *Nature*. 380:620-633.
- Szabo SJ, Kim ST, Costa GL, Zhang X, Fathman CG and Glimcher LH.** (2000). A novel transcription factor, T-bet, directs Th1 lineage commitment. *Cell*. 100:655-669.
- Szabo SJ, Sullivan BM, Stemmann C, Satoskar AR, Sleckman BP and Glimcher LH.** (2002). Distinct effects of T-bet in Th1 lineage commitment and IFN- γ production in CD4 and CD8 T-cells. *Science*. 295:338-342.
- Ting CN, Olson MC, Barton KP and Leiden JM.** (1996). Transcription factor GATA-3 is required for development of the T-cell lineage. *Nature*. 384:474-478.
- Tomasi A, Albano E, Banni S, Botti B, Corongiu F, Dessi MA, Iannone A, Vannini V and Dianzani MU.** (1987). Free-radical metabolism of carbon tetrachloride in rat liver mitochondria. *Biochemical Journal*. 246:313-317.
- Tracey KJ and Cerami A.** (1990). Metabolic responses to cachectin/ TNF. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 587:325-331.
- Tracy KJ, Fong Y, Hesse DG, Manogue KR, Lee AT and Kuo GC.** (1987). Anti-cachectin/TNF monoclonal antibodies prevent septic shock during lethal bacteraemia. *Nature*. 330:662-664.
- Weddle CC, Hornbrook KR and McCay PB.** (1976). Lipid peroxidation and alteration of membrane lipids in isolated hepatocytes exposed to carbon tetrachloride. *Journal of Biological Chemistry*. 251:4973-4978.
- Yang JH, Kim DK, Yun MY and Ahn JK.** (2006). Antioxidative activity and therapeutic effect of the hydrogel preparations of *Scutellariae radix* and *Zingiberis rhizoma* on dermatitis. *Journal of Korean Pharmaceutical Sciences*. 36:253-262.
- Zedler S and Faist E.** (2006). The impact of endogenous triggers on trauma-associated inflammation. *Current Opinion in Critical Care*. 12:595-601.
- Zheng W and Flavell RA.** (1997). The transcription factor GATA-3 is necessary and sufficient for Th2 cytokine gene expression in CD4 T cells. *Cell*. 89:587-596.