

## 북강활(北羌活) 물추출물의 항알레르기 효능에 대한 연구

정진기<sup>1</sup>, 정혜미<sup>2</sup>, 서운교<sup>2</sup>, 박용기<sup>1,\*</sup>

1 : 동국대학교 한의과대학 본초학교실, 2 : 동국대학교 한의과대학 내과학교실

### Anti-allergic effect of *Osterici Radix* water extract in human mast cells

Jin-Ki Jung<sup>1</sup>, Hye-Mi Jung<sup>2</sup>, Woon-Gyo Seo<sup>2</sup>, Yong-Ki Park<sup>1,\*</sup>

1 : Department of Herbology, College of Oriental Medicine, Dongguk University

2 : Department of Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Dongguk University

#### ABSTRACT

**Objectives** : Allergy is an immune dysfunction caused by degranulation from mast cells in the early phase of allergic disease including allergic rhinitis (AR). The purpose of this study was to investigate the effects of *Osterici Radix*, roots of *Ostericum koreanum* Maximowicz in human mast cells and experimental allergic animal models.

**Methods** : The anti-allergic effect of *Osterici Radix* water extract (NK-W) was investigated in human mast cell line, HMC-1 cells, and compound 48/80-induced systemic anaphylactic response in rats and ovalbumin (OVA)-induced AR in mice. Animals were orally administrated with NK-W (10 and 50 mg/kg) or anti-histamine drug, dosodium cromoglycate (50 mg/kg), and then intraperitoneally injected with compound 48/80 (8 mg/kg) or sensitized with 0.1% OVA into nasal. Animals were observed plasma histamine and histological changes of nasal mucosa. Also, mast cell degranulation and histamine production were determined in compound 48/80-stimulated HMC-1 cells.

**Results** : NK-W inhibited compound 48/80-induced degranulation of mast cells and histamine releasing in HMC-1 cells. NK-W decreased mortality and serum histamine releasing in compound 48/80-induced anaphylactic rats in a dose-dependently manner. NK-W also inhibited serum histamine levels in OVA-induced AR mice and improved abnormal histological changes such as expansion of grandular cells and hypertrophy of epithelium in the nasal mucosa. These results indicate that *Osterici Radix* water extract suppress allergic response through downregulation of mast cell activation.

**Conclusions** : This study suggests that a therapeutic potential of *Osterici Radix* as a source of anti-allergic agents for use in a number of allergic diseases.

**Key words** : *Ostericum koreanum* Maximowicz, *Osterici Radix*, anti-allergy, allergic rhinitis, mast cell, histamine, anaphylactic shock, ovalbumin

## 서 론

최근 사회가 산업화되면서 환경오염과 생활환경의 변화로 천식, 아토피, 알레르기 비염 등 알레르기 질환의 발생이 더욱 증가하고 있는 추세이다. 알레르기 비염의 경우 유병율이 2005년 8.3%에서 2008년 12%로 4년 만에 44.6% 증가하였으며, 사회경제적 비용이 연간 2조원을 넘어 질병 부담이 자궁정부암과 비슷한 수준에 이르고 있다<sup>1,2)</sup>.

알레르기 비염은 코 안의 염증질환으로 면역글로불린

E(IgE)를 매개로 하는 비강점막내의 과민성 면역반응으로 인한 연속적인 발작성 재채기, 가려움, 계속 흘러내리는 맑은 콧물(수양성 비루), 비점막의 종창에 의한 코막힘(鼻閉塞) 등의 증상을 동반하는 알레르기 질환이며, 장기화될 경우 만성 비염, 부비동염과 같은 만성 염증질환으로 발전하게 된다<sup>2,3)</sup>.

비만세포는 세포질 내 과립을 풍부하게 가지고 있는 면역세포로서 주로 결체조직과 점막에 존재하며, 세포 표면에 존재하는 Fcε RI와 IgE의 결합(allergen-IgE-Fcε RI complex)을 통해 과립 내 화학매개체와 사이토카인 등을 분비하면서 알레르기

\*교신저자 : 박용기, 경북 경주시 석장동 707번지 동국대학교 한의과대학.  
· Tel : 054-770-2661, · E-mail : yongki@dongguk.ac.kr  
· 접수 : 2010년 8월 6일 · 수정 : 2010년 8월 31일 · 채택 : 2010년 9월 13일

초기반응과 후기반응을 일으키고 만성적으로 염증을 지속시키는데 중요한 역할을 한다<sup>4,5)</sup>. 따라서 비만세포로부터 분비되는 다양한 화학매개물질의 분비를 차단하거나 비만세포의 활성화를 조절하는 것은 알레르기 비염의 발병과 만성질환으로의 진행을 막아줄 수 있는 매우 유효한 치료 접근방법이 될 수 있으며, 최근 이와 관련하여 많은 연구들이 진행되고 있다<sup>6,7)</sup>.

강활(羌活; 本經, *Osterici Radix*, *Ostericum koreanum* Maximowicz)은 미나리과(繖形科; Umbelliferae)에 속한 多年生 本草로서 根을 基源으로 한다<sup>8)</sup>. 강활은 『神農本草經』 上品의 獨活項目에 一名羌活이라 하여 獨活의 異名으로 '風寒所擊 金瘡 止痛 奔豚 癰 瘰 女子疝瘕'를 치료한다고 처음으로 기재되었으며<sup>9)</sup>, 唐代의 『藥性本草』에서 강활과 독활을 구분하였고, 우리나라 『東醫寶鑑』에서 독활은 맛두릅의 뿌리, 강활은 강호리로 구분하고 있다<sup>10)</sup>.

강활은 性味가 辛, 苦, 溫 하며, 散表寒 祛風濕 理關節 등의 효능으로 風으로 인한 感冒나 關節질환, 中風과 頭痛 등의 혈관성 질환에 주로 사용되고 있으며<sup>9)</sup>, 한국 강활의 기원인 *Ostericum koreana* Kitagawa의 뿌리와 중국 강활의 기원인 *Notopterygium incisum* Ting과 寬葉羌活인 *N. forbesii* Boiss의 뿌리가 사용되고 있다<sup>10,11)</sup>.

강활은 우리나라의 경북 북부지역인 봉화, 영양 등이 주산지이며, 농가에서 북강활과 남강활로 구분하여 재배되고 있는데 아직 품종으로 등록된 것이 없어서 분류나 근연관계는 미정립 상태이다. 또한 추대율이 높은 남강활의 재배방법은 일부 확립되어 있으나, 북강활에 대한 번식, 재배, 수확, 저장 등에 관한 기술은 정립되어 있지 않다<sup>12)</sup>. 강활에 대한 실험연구로는 항염증 효과<sup>13-15)</sup>, 알레르기 천식 생쥐에서의 면역조절 효과<sup>16)</sup>에 관한 연구 등이 보고되었으며, 북강활에 대한 실험연구로 비만세포에서의 염증반응 억제효과<sup>17)</sup>가 보고되었다. 이에 본 연구에서는 북강활의 알레르기 질환의 개선 효과를 확인하고자 사람의 비만세포와 전신성 즉시형 알레르기 면역반응 및 난알부민 유도 알레르기 비염 동물을 이용하여 항알레르기 효과를 조사하였다.

## 방 법

### 1. 재료

#### 1) 약재

본 실험에 사용된 강활(*Ostericum koreanum* Maximowicz)은 경북 북부지역의 봉화고냉지역초시험장에서 재배된 1년생 북강활로 2009년 10월 하순에 뿌리를 수확하여 물로 세척하고 열풍건조기로 40℃에서 건조한 시료를 제공받아 동국대학교 한의과대학 본초학교실에서 정선한 후 사용하였다.

#### 2) 동물

실험동물은 Sprague-Dawley(SD)계 수컷 흰쥐(rat, 180~210 g)와 Balb/c계 수컷 생쥐(mouse, 20~25 g)를 (주)코아텍(경기도, 한국)으로부터 구입하다. 모든 실험동물은 고형사료와 물을 제한 없이 공급하였으며, 일정한 온도(23±3℃)와 습도(50±10%) 및 12시간 낮과 밤의 주기를 유지하여 사육하였다.

### 3) 시약 및 기기

실험에 사용되어진 시약은 dimethyl sulfoxide(DMSO, Sigma-Aldrich, St. Louise, CA, USA), compound 48/80(Sigma-Aldrich), fetal bovine serum(FBS, Thermo HyClone, Seoulin Biosciences Co., Seoul, South Korea), Iscove's Modified Dulbecco's Medium(IMDM, Seoulin Biosciences Co.), ovalbumin(chicken egg albumin, grade V, Sigma-Aldrich), 3-4,5-dimethylthazol-2-yl-2,5-tetrazolium bromide(MTT, Sigma-Aldrich), n-trityl-1,3-propanediamine acetate(Sigma-Aldrich), Al(OH)<sub>3</sub> gel(Sigma-Aldrich), histamine release assay kit(Cayman Chemical, Michigan, USA), Thermo H&E stain kit(Seoulin Biosciences Co., Seoul, South Korea) 등이다.

실험에 사용되어진 기기는 rotary evaporator(Eyela, Tokyo, Japan), freeze-dryer(Daeil BioTech, Gyeonggi-do, South Korea), microplate reader(Asys, Sunnyvale, CA, USA), microscope(OLYMPUS, Center Valley, PA, USA) 등이다.

## 방 법

### 1) 북강활 물추출물의 제조

북강활(North Kangwhal, NK) 200 g을 세말하여 증류수 2L와 함께 히팅맨틀(Heating mantle)에 넣고 3시간 동안 열추출한 후 3겹 거즈와 와트만여과지(Wathman No. 1)로 여과하였다. 그 여과액을 진공회전증발농축기(rotary vacuum evaporator)에서 감압 농축한 다음 동결 건조하였다. 북강활 물추출물의 총 회수량은 85.5 g이었으며, 수율(yield)은 42.75%였다. 북강활 물추출물(NK-W)은 냉장 보관하면서 실험 전에 멸균된 인산완충액(phosphate buffered saline, PBS) 또는 생리식염수에 완전히 용해한 후 membrane filter(0.45 μm)로 여과하여 사용하였다.

### 2) 세포배양

사람의 비만세포인 HMC-1 세포는 세명대학교 한의과대학 본초학교실로부터 분양받았으며 10% fetal bovine serum (FBS)과 1% penicillin/streptomycin이 함유된 Iscove's Modified Dulbecco's Media(IMEM)를 배양액으로 하여 37℃와 5% CO<sub>2</sub> 조건으로 배양하였다.

### 3) 세포독성검정

HMC-1 세포에 대한 북강활 물추출물의 독성정도를 평가하기 위해서 MTT assay를 수행하였다. 즉, HMC-1 세포(5 × 10<sup>4</sup> cells/well)를 96-well culture plate에 100 μl IMEM 배지와 함께 하룻밤 37℃, 5% CO<sub>2</sub> 조건으로 배양한 다음, 여러 농도의 북강활 물추출물을 처리하여 24시간 배양하였다. 각 well에 5 mg/ml 농도의 MTT 용액을 50 μl 씩 넣어 4시간 동안 배양하면서 환원반응을 유도한 후 반응액을 제거하고 100 μl의 DMSO 용액 첨가하여 보라색의 formazan 결정을 완전히 용해하였다. 발색정도를 microplate reader를 이용하여 570 nm에서 흡광도를 측정

하였으며, 세포독성정도는 세포만 배양한 대조군의 100% 생존도를 기준으로 상대적인 세포생존도(cell viability; %)를 계산하였다.

#### 4) 비만세포의 탈과립 관찰

비만세포에서의 탈과립(degranulation)을 관찰하기 위하여 HMC-1 세포( $2 \times 10^5$  cells/ml)를 6-well culture plate에 하룻밤 배양하고, 여러 농도의 북강활 물추출물을 처리한 후 1시간 동안 배양하였다. 여기에 compound 48/80( $10 \mu\text{g}/\text{ml}$ )을 처리하여 30분 동안 배양함으로써 탈과립을 유도하였으며, 탈과립화 정도를 광학현미경으로 관찰하였다.

#### 5) 비만세포에서의 히스타민 분비 측정

비만세포로부터 분비되는 히스타민의 농도를 측정하기 위해 HMC-1 세포( $1 \times 10^5$  cells/ml)를 24-well plate에 하룻밤 배양한 후 여러 농도의 북강활 물추출물을 처리하여 1시간 동안 배양하였다. 여기에 compound 48/80( $10 \mu\text{g}/\text{ml}$ )을 처리하여 20분 동안 배양한 다음 세포배양액을 수거하였다. 세포배양액 내 히스타민의 농도를 효소반응법(histamine enzyme assay kit)으로 측정하였으며, 히스타민의 농도는 표준용액의 정량곡선을 기준으로 계산하였다.

#### 6) 전신성 아나필락틱 쇼크 동물모델 제작

비만세포 매개 전신성 아나필락틱 쇼크(Anaphylactic Shock) 동물모델을 제작하기 위해 비만세포 탈과립 유도제인 compound 48/80을 8 mg/kg 농도로 흰쥐의 복강 내 단회 투여하였다<sup>18)</sup>.

동물군은 compound 48/80 대신 생리식염수를 투여한 정상군(n=6), compound 48/80을 투여한 대조군(n=6), 대조군에 북강활 물추출물을 compound 48/80 투여 1시간 전에 10 mg/kg(n=6)와 50 mg/kg(n=6) 용량으로 투여한 실험군 및 대조약물로 항히스타민제인 disodium cromoglycate(DSCG)를 50 mg/kg 용량으로 투여한 양성대조군(n=6)으로 나누었다.

#### 7) 전신성 아나필락틱 쇼크 동물에서의 치사율 측정

전신성 아나필락틱 쇼크(anaphylactic shock)에 의한 치사율(mortality, %)은 compound 48/80에 의해 아나필락시를 유발시킨 후 5분 간격으로 30분 동안 관찰하였으며, 총 실험 동물 수에 대한 죽은 동물의 수의 비율로 계산하였다. 치사율의 관찰이 끝난 직후 동물의 심장에서부터 혈액을 수집하였으며 혈청을 분리하여 히스타민 농도를 측정하였다.

#### 8) 난알부민 유도 알레르기 비염 동물모델 제작

알레르기 비염 동물모델(OVA-induced allergic rhinitis mouse model)을 제작하기 위해 난알부민(ovalbumin, chicken egg albumin; OVA) 1 mg을 PBS와 수산화알루미늄 겔( $\text{Al}(\text{OH})_3$  gel)을 1:1로 혼합한 용액 1 ml에 녹인 후 난알부민 용액을 실험 시작 1일, 8일, 15일 3회에 걸쳐 생쥐의 복강 내 주사함으로써 알레르기 면역반응을 유도하였다. 마지막 복강 주사 7일 후 생쥐를  $50 \times 15 \times 50$  cm 크기의 아크릴 상자 안에 넣고 0.1% OVA 용액 2 ml를 3회 분사함으로써 비강 내 감각을 통해

알레르기 비염을 유발하였다.

동물군은 난알부민 용액 대신 생리식염수를 투여한 정상군(n=6), 난알부민 감각으로 알레르기 비염이 유발된 대조군(n=6), 대조군에 난알부민 감각 후 7일 동안 매일 1회 북강활 물추출물을 10 mg/kg(n=6)와 50 mg/kg(n=6) 용량으로 투여한 실험군 및 disodium cromoglycate(DSCG)를 50 mg/kg 용량으로 투여한 양성대조군(n=6)으로 나누었다.

난알부민의 비강 내 감각 후 동물의 심장에서부터 혈액을 수집하였으며 혈청을 분리하여 히스타민 농도를 측정하였다. 또한 비점막 조직(nasal mucosa)의 변화를 관찰하기 위해 동물의 머리를 분리하여 비강을 둘러싸고 있는 골을 포함한 조직을 채취하였다.

#### 9) 난알부민 유도 알레르기 비염 동물의 비점막 조직 표본 제작

각 군의 동물로부터 분리한 비강조직 중 경구개의 절치유 두 부위를 절단한 다음 4% formaldehyde 용액으로 48시간 고정한 다음 비중격 부위(nasal septum)를 노출시켜 13% formic acid 용액에서 72시간 탈회하였다. 이를 다시 파라핀으로 포매하여 블록을 만든 후 절편제작기(microtome)을 이용하여 비강 내의 전정부위를 중심으로 5  $\mu\text{m}$  두께의 절편을 얻었다.

조직절편의 형태학적 변화를 관찰하기 위하여 Hematoxylin & Eosin(H&E) 염색을 수행하였으며, 광학현미경 하에서 상피세포층(epidermal sheet)의 손상정도, 점막하 조직의 부종, 충혈, 선세포(glandular cell)의 확장 등의 형태학적 변화를 관찰하였다.

#### 10) 통계학적 검정

결과는 3회 반복실험에 대한 평균과 표준편차(mean  $\pm$  SD)로 나타내었으며, 통계학적 유의성 검증은 GraphPad Prism 5.0 분석프로그램의 one-way ANOVA, Tukey's test를 이용하였고, p값이 0.05 이하인 경우 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

## 결 과

### 1. 비만세포에 대한 효과

#### 1) 세포독성검정

사람의 비만세포인 HMC-1 세포에서의 북강활 물추출물의 독성정도를 평가하기 위해 MTT assay를 수행하였다. 그림 1에서와 세포생존율(cell viability, %)은 세포만 배양한 경우  $99.80 \pm 2.46\%$ , 북강활 물추출물을 0.1, 0.2, 0.5, 1, 2 mg/ml 농도로 처리하였을 때 각각  $97.30 \pm 3.68\%$ ,  $97.12 \pm 0.87\%$ ,  $94.26 \pm 0.81\%$ ,  $73.36 \pm 3.95\%$ ,  $44.92 \pm 5.33\%$ 로 측정됨으로써 0.5 mg/ml 농도까지 독성이 나타나지 않았다. 따라서 비만세포에서의 탈과립과 히스타민 분비에 대한 효과는 독성이 없는 0.1~0.5 mg/ml 농도에서 조사하였다.

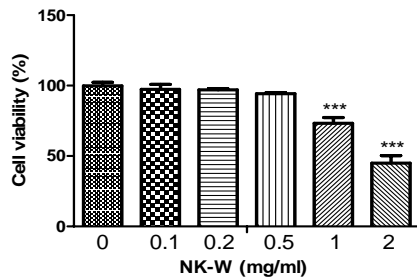


Fig. 1. Cytotoxicity of Osterici Radix water extract in HMC-1 cells. After cells ( $5 \times 10^4$  cells/well) were cultured with different concentrations of Osterici Radix water extract (NK-W), cell viability was measured by MTT assay. The results show mean value of three independent experiments (SD = bars). \*\*\* $p < 0.001$  vs. cells only.

2) 탈과립에 대한 효과

비만세포는 히스타민을 포함하여 다양한 화학매개물질이 함유된 과립으로 채워져 있는데 외부자극에 의해 탈과립화하여 유리됨으로써 알레르기 반응을 유도하게 된다. 따라서 비만세포의 탈과립에 대한 북강활 물추출물의 억제효과를 확인하기 위해서 HMC-1 세포에서의 compound 48/80에 의한 탈과립 현상을 관찰하였다.

그림 2에서와 같이 탈과립 유도제인 compound 48/80(C48/80)을 처리한 HMC-1 세포에서는 핵의 위치가 한쪽으로 치우치거나 세포윤곽이 불분명하고 세포질 내 과립이 세포표면으로 표출되어 흩어지는 탈과립 현상을 관찰할 수 있었으며, 이는 북강활 물추출물(0.1, 0.5 mg/ml)의 처리에 의해 억제됨으로써 세포가 원형 또는 난형 형태를 유지하면서 세포질 내 과립들이 채워진 안정화된 형태를 유지하는 것을 관찰하였다. 특히 북강활 물추출물을 0.5 mg/ml 농도로 처리하였을 때 비만세포의 형태가 정상세포와 유사하게 안정화됨으로써 탈과립이 효과적으로 억제됨을 확인하였다.

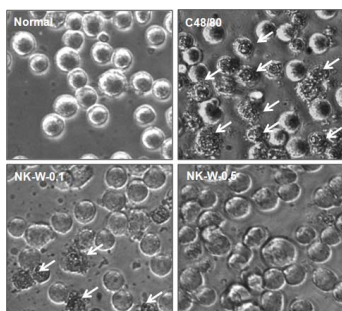


Fig. 2. Effects of Osterici Radix water extract on compound 48/80-induced degranulation of HMC-1 cells. Cells ( $2 \times 10^5$  cells/ml) were pretreated with Osterici Radix water extract (NK-W) for 1 h and then stimulated with compound 48/80 (10  $\mu$ g/ml) for 30 min. Mast cell degranulation (arrow) was observed by microscope ( $\times 200$ ). Normal, cells only; C48/80, compound 48/80-treated cells; NK-W0.1, NK-W 0.1 mg/ml-treated cells; and NK-W0.5, NK-W 0.5 mg/ml-treated cells.

3) 히스타민 분비에 대한 효과

비만세포의 탈과립으로부터 유리되는 히스타민에 대한 북강활 물추출물의 억제효과를 확인하기 위해서 세포배양액으로부터 히스타민의 농도를 측정하였다.

그림 3에서와 같이 HMC-1 세포에 compound 48/80(10  $\mu$ g/ml)의 처리는 히스타민의 분비를 증가시켰으며, 이는 북강

활 물추출물(NK-W) 처리에 의해 농도 의존적이고 유의적으로 감소되었다. 이러한 결과는 북강활 물추출물의 compound 48/80에 의한 비만세포에서의 히스타민 유리 억제가 탈과립화 차단에 의한 것임을 의미한다.

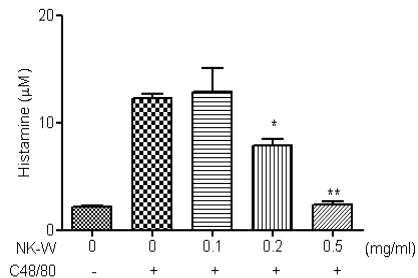


Fig. 3. Effect of Osterici Radix water extract on compound 48/80-induced histamine releasing in HMC-1 cells. Cells ( $2 \times 10^5$  cells/ml) were incubated with different concentrations of Osterici Radix water extract (NK-W) in the presence or absence of compound 48/80 (10  $\mu$ g/ml) for 20 min. Histamine concentration was determined in culture supernatant by enzyme-immuno assay. Three independent experiments were performed, and the data shown indicate the mean  $\pm$  SD. \* $p < 0.05$  and \*\* $p < 0.01$  vs. compound 48/80-treated cells.

2. 전신성 아나필락시 반응에 대한 효과

1) 치사율에 대한 효과

전신 즉시형 과민반응에 대한 북강활 물추출물의 효과를 조사하기 위하여 compound 48/80에 의해 유도되는 아나필락시 모델을 사용하였다. 치사율은 compound 48/80(8 mg/kg)을 주사한 후 30분 동안 관찰하여 결정하였다.

표 1에서와 같이 생리식염수를 투여한 군(n=6)에서는 생존율 100% 이었고, compound 48/80만을 투여한 군(n=6)에서는 치사율이 100% 이었다. 반면 북강활 물추출물(NK-W)을 10 mg/kg(NK-W10)와 50 mg/kg(NK-W50) 농도로 투여한 대조군에서는 각각 치사율이 33%, 17%로 현저히 감소하였다. 또한 대조약물인 disodium cromoglycate를 50 mg/kg(DSCG) 농도로 투여한 경우는 치사율이 33%로 북강활 물추출물 50 mg/kg 투여군에 비해 높은 것으로 나타났다. 이러한 결과는 전신적인 북강활 물추출물 투여에 의해서 즉시형 아나필락시 반응이 조절될 수 있음을 의미한다.

Table 1. Effect of Osterici Radix water extract on mortality in compound 48/80-induced systemic anaphylactic rats.

Treatment	Dose (mg/kg/bw)	Compound 48/80 (8mg/kg/bw)	Mortality (%)
Normal (saline)	-	-	0
C48/80 (saline)	-	+	100
NK-W10	10	+	33
NK-W50	50	+	17
DSCG	50	+	33

Groups of rats (n=6 per group) were orally administrated with saline, Osterici Radix water extract (NK-W, 10 and 50 mg/kg) or disodium cromoglycate(DSCG, 50 mg/kg), and then intraperitoneally injected with compound 48/80(8 mg/kg). Mortality(%) was observed for 30 min at an interval of 5 min following compound 48/80 injection.

2) 히스타민 분비에 대한 효과

전신 즉시형 과민반응에서 히스타민 분비에 대한 북강활 물추출물의 효과를 조사하기 위하여 혈청 내 히스타민의 농도를 측정하였다.

그림 4에서와 같이 정상군(normal)에서는 히스타민의 농도가 낮게 측정되었으며, 대조군(C48/80)에서는 현저히 증가되었다. 또한 북강활 물추출물을 투여한 실험군에서는 치사율과 유사한 양상으로 투여 농도(NK-W10, NK-W50) 모두에서 히스타민의 농도가 유의적으로( $p < 0.001$ ) 감소하였다. 한편 대조약물인 disodium cromoglycate 투여군(DSCG)에서도 히스타민 농도가 유의적으로 감소하였다. 이러한 결과는 북강활 물추출물에 의한 compound 48/80에 의해 유도된 전신성 아나필락시반응의 억제가 북강활 물추출물의 비만세포로부터 히스타민 등 화학적 매개물질의 유리 억제에 의한 것임을 의미한다.

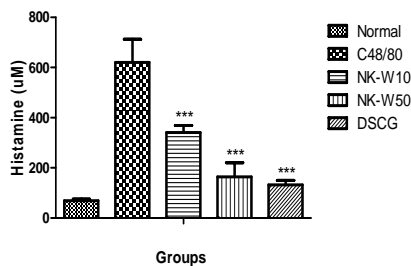


Fig. 4. Effect of Osterici Radix water extract on serum histamine levels in compound 48/80-induced anaphylactic rats. Groups of rats(n=6 per group) were orally administrated with saline, Osterici Radix water extract (NK-W, 10 and 50 mg/kg) or disodium cromoglycate (DSCG, 50 mg/kg) and then intraperitoneally injected with compound 48/80 (8 mg/kg). The concentration of serum histamine was measured by enzyme-immuno assay. \*\*\* $P < 0.001$  vs. C48/80-treated group.

### 3. 난알부민 유도 알레르기 비염에 대한 효과

#### 1) 히스타민 분비에 대한 효과

난알부민 유도 알레르기 비염 동물에서 히스타민 분비에 대한 북강활 물추출물의 억제 효과를 조사하기 위하여 혈청 내 히스타민의 농도를 측정하였다.

그림 5에서와 같이 정상군(normal)에서는 히스타민의 농도가 낮게 측정된 반면 대조군(OVA-C)에서는 증가되었고, 북강활 물추출물을 투여한 실험군에서는 투여 농도(NK-W10, NK-W50) 모두에서 유의적으로( $p < 0.001$ ) 감소하였다. 한편 대조약물인 disodium cromoglycate 투여군(DSCG)에서도 유의적으로 히스타민 농도가 감소하였으며 이는 북강활 물추출물 50 mg/kg 처리군과 유사한 것으로 나타났다. 이러한 결과는 북강활 물추출물이 전신성 급성 아나필락시스 반응에서 뿐만 아니라 난알부민 유도 지연성 알레르기 반응에 대해서도 히스타민의 분비를 유의하게 억제할 수 있음을 의미한다.

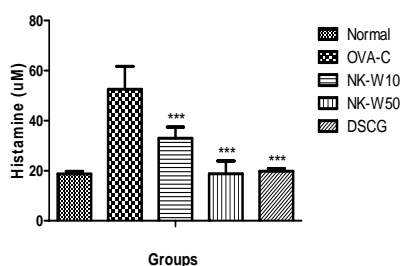


Fig. 5. Effect of Osterici Radix water extract on serum histamine levels in OVA-induced allergic rhinitis mice. Groups of rats(n=6 per group) were orally administrated with saline, Osterici Radix water extract (NK-W, 10 and 50 mg/kg) or disodium cromoglycate (DSCG, 50 mg/kg) and then intraperitoneally injected with compound 48/80 (8 mg/kg). The concentration of serum histamine was measured by enzyme-immuno assay. \*\*\* $P < 0.001$  vs. OVA-treated group.

#### 2) 비점막 구조변화에 대한 효과

난알부민 유도 알레르기 비염 동물의 비강조직의 구조변화에 대한 북강활 물추출물의 개선 효과를 조사하기 위하여 비강조직 절편을 제작하여 H&E 염색한 후 비강점막 형태변화를 관찰하였다.

그림 6에서와 같이 난알부민 감작으로 알레르기 비염이 유발된 대조군(OVA-C)의 비강점막에서는 후각 상피세포층이 거의 손상되어 치밀도가 떨어지며 혈관이 확장되었고 술잔세포(goblet cell)가 발달하는 것을 관찰하였다. 그러나 북강활 물추출물(NK-W)을 10 mg/kg(NK-W10)과 50 mg/kg(NK-W50) 투여한 실험군에서는 모두 후각 상피세포층이 대조군에 비해 잘 보존되었으며, 혈관확장이나 술잔세포의 발달이 감소되는 것으로 관찰되었고, 50 mg/kg 처리군에서 후각 상피세포층이 더욱 잘 보존된 것으로 관찰되었다. 한편, DSCG 투여군의 경우에도 후각 상피세포층 손상과 술잔세포의 발달이 대조군에 비해 감소하였다.

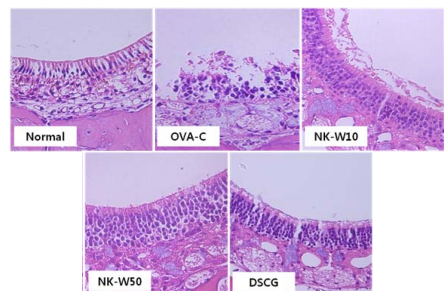


Fig. 6. Effect of Osterici Radix water extract on histological changes of nasal mucosa in OVA-induced allergic rhinitis mice. Groups of mice(n=6 per group) were induced allergic rhinitis by OVA sensitization and then orally treated with saline, Osterici Radix water extract (NK-W, 10 and 50 mg/kg) or disodium cromoglycate (DSCG, 50 mg/kg). The nasal mucosa were stained with H&E stain kit and observed by microscope ( $\times 200$ ).

## 고찰

알레르기는 변화된 반응(changed reactivity)으로 외부로부터 들어온 항원을 체내에서 면역반응에 의해 제거되는 과정에서 정상적인 반응과는 달리 인체에 오히려 해로운 영향을 미치게 될 때를 의미한다<sup>1)</sup>. 현재 전 세계 인구의 15~20%가 알레르기 질환을 보유하고 있는 것으로 추정되고 있으며<sup>19)</sup>, 알레르기 발병 자체가 복잡한 기전으로 인해 전 세계적으로 알레르기에 대한 연구는 여전히 미흡한 상태이다<sup>20)</sup>.

알레르기 비염은 코 점막이 집먼지진드기, 꽃가루, 동물의 털 등의 알레르겐의 자극에 예민하게 반응하여 발생하는 대표적인 알레르기 질환이며, 오래될수록 천식이나 아토피 피부염과 같은 다른 질환의 증상으로 발전하게 되고, 중이염, 인두염, 부비동염과 같은 합병증을 동반하기도 한다. 현재 알레르

기 비염의 약물요법으로는 자율신경계 작용약( $\beta$  2 항진제), 항히스타민제, 항알레르기제, 항염증제(비만세포 안정화제, 부신피질 호르몬제), 화학매체에 대한 길항제(류코트리엔 수용체 길항제) 등 다양하게 사용하고 있으나 양호한 치료성과 그 편의성에도 불구하고 완치를 기대할 수 있는 근본적이 치료법이 아니라는 한계를 아직 극복하지 못하고 있다<sup>2,3,20</sup>.

한의학에서 알레르기 비염은 鼻鼽, 鼻淵, 鼻塞, 鼻涕에 해당되며 鼻塞不利, 鼻流清涕, 鼻中因痒爲嚏이며 기타 鼻衄, 塞甚則濁涕, 鼻塞不聞香臭, 不得息의 증상을 나타내는 질환으로 보고 있다<sup>21,22</sup>. 한방에서의 계절성 알레르기 비염의 발생은 원기부족에 의한 肺의 기능이 저하된 肺寒증에서 발생하는 것으로 보아 脾胃의 正氣와 陽氣를 도와주고 면역력을 강화하는데 중점을 두어 扶正祛邪의 방법을 쓰고 있으며, 麗澤通氣湯, 溫肺湯, 溫衛湯, 玉屏風散, 小青龍湯, 荊防敗毒散, 蒼耳子散, 葛根湯 등을 활용하고 있는데<sup>23-28</sup>, 흥미롭게도 이들 처방에 공통적으로 강활을 사용하고 있다. 또한 補氣養血과 益氣固表에 기본을 두고 온열과 발산시키는 약재를 처방하여 비강 내 약효가 침투하여 항염 작용을 나타내게 하며, 알레르기로 인해 축적된 독소를 중화시켜 이노시키고 피부의 모공을 열게 하여 독소를 발산시키도록 하고 있다.

강활은 散表寒, 祛風濕, 理關節 등의 효능으로 風으로 인한 感冒나 관절질환, 中風과 頭痛 등의 혈관성 질환에 주로 사용되고 있다<sup>3,9</sup>. 본 연구에서는 북강활 물추출물의 알레르기 비염에 대한 개선 효과를 사람의 비만세포와 compound 48/80에 의한 전신성 즉시형 아나필락시 반응 및 난알부민에 의한 알레르기 비염 동물에서 확인하였다.

비만세포는 알레르기 반응의 주요 원인이 되는 면역세포로 동물의 결합조직과 점막조직에 널리 분포하며 세포질 안에 히스타민, 세로토닌, 프로스타글란딘, 질소화합물, 혈소판활성화 물질(PAF), 류코트리엔, 사이토카인 등의 혈관투과성, 혈관수축, 염증반응 등에 관여하는 다양한 화학매개물질들이 커다란 과립형태로 저장되어 있다<sup>3-5</sup>. 이런 화학매개물질들은 외부 자극에 의한 비만세포의 탈과립으로부터 유리됨으로써 알레르기 비염을 만성화시키는 원인이 된다. 비만세포에서 탈과립은 비만세포 표면에 존재하는 Fcε RI에 항원이 결합된 IgE 항체가 붙어 이루어지는 면역학적 자극과 compound 48/80, substance P, lectin, anaphylatoxin 등에 의한 비면역학적 자극에 의해 유도될 수 있으며<sup>29</sup>, 히스타민이 비만세포의 탈과립에 의해 가장 빠르게 유리되어 염증초기 말초혈관의 투과성 증가, 혈관 확장, 기관지 평활근에 대한 수축 및 점막표면 선세포의 분비 증가 등의 작용을 통해 즉시형 과민반응과 만성적 염증반응을 유발시키게 된다.

히스타민은 체내에서 히스티딘 탈탄산효소가 아미노산인 히스티딘에 작용해 생성되며 주로 비만세포 내에 커다란 과립 형태로 저장되는데 아직까지 히스타민의 생리학적 특성이 완전히 밝혀지지 않았으나 비만세포의 탈과립으로부터 유리되어 모세혈관의 이완과 투과성 증가, 내장에 분포하는 근육의 수축, 위산분비 촉진, 심장박동 수 증가, 이물질에 의한 상처나 외부감염에 대한 신체 방어반응인 염증, 알레르기, 아나필락시스 반응 등의 알레르기 면역반응을 나타내는데 매우 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다<sup>4,30</sup>. 본 연구에서는 북강활 물추출물은 비만세포에서 compound 48/80에 의해 유도되는 탈과립을 막아 히스타민 분비를 억제시켰으며 이는

compound 48/80에 의한 아나필락시 반응과 난알부민 유도 알레르기 비염 동물에서도 동일한 효과를 나타내었다. 이는 북강활 물추출물이 비만세포의 세포막 안정화에 직접 작용함으로써 탈과립을 막을 수 있음을 의미하며, 알레르기 반응 초기 히스타민 분비를 효과적으로 억제함으로써 만성 염증질환으로의 이행을 막을 수 있음을 의미한다. 일반적으로 비만세포의 탈과립 억제는 비만세포의 안정화에서 기인하며 이는 세포 내 cAMP의 양을 증가시키거나 세포내로의 칼슘이온의 유입을 억제하여 일어난다고 할 수 있다<sup>31</sup>. 그러나 이에 대한 북강활 물추출물의 기전을 규명하기 위해서는 세포 내 cAMP의 수준, 칼슘이온의 세포 내로의 유입 양 및 히스타민 합성을 유도하는 L-histidine decarboxylase의 변화 등에 대한 연구가 좀 더 필요할 것으로 사료된다.

한편, 알레르기 비염에서 비점막 조직은 주로 호산구(eosinophil)가 침윤되어 심한 점막하 부종의 소견을 보이게 되며 비점막 상피층이 손상되게 되는데 특히 술잔세포 증가, 섬모세포 손실, 선세포 비후, 비만세포와 호산구 등의 증가, 혈관 투과성 증가 등의 변화가 나타나게 된다<sup>32</sup>. 즉, 알레르기 비염이 만성화되면서 점막하 부위 고유층이 섬유화되면서 점차 점막 자체에 비가역적인 비후가 일어나게 된다. 본 연구에서 북강활 물추출물은 난알부민 유도 알레르기 비염 동물의 비강조직에서 후각세포와 섬모세포의 손상을 줄이고 술잔세포의 발달을 막아줌으로써 후각 상피세포층을 잘 보존하는 것으로 나타났다. 이는 북강활 물추출물이 알레르기 비염에서 나타나는 비강조직의 비정상적인 손상을 막음으로써 알레르기 비염을 개선시킬 수 있음을 의미한다.

## 결론

본 연구에서는 북강활 물추출물의 항알레르기 효과를 비만세포와 전신성 급성 아나필락시 반응 및 난알부민 유도 알레르기 비염 동물에서 확인하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 북강활 물추출물은 사람의 비만세포인 HMC-1 세포에서 0.5 mg/ml 농도까지 독성을 나타내지 않았으며, compound 48/80에 의한 탈과립과 히스타민 분비를 억제하였다.
2. 북강활 물추출물은 compound 48/80 투여에 의해 유도된 전신성 급성 아나필락시 반응 흰쥐에서 치사율과 혈청 히스타민의 분비를 감소시켰다.
3. 북강활 물추출물은 난알부민 감작에 의해 유도된 알레르기 비염 생쥐에서 혈청 히스타민의 분비를 감소시켰으며, 비점막 조직의 손상을 막아주었다.

따라서 북강활 물추출물은 비만세포에 의해 매개되는 알레르기 면역반응을 효과적으로 막아줌으로써 알레르기 비염을 개선시킬 수 있는 것으로 나타났다.

## 참고문헌

1. 김윤범. 분체, 비류청제, 비색증 등을 수반한 환자에 대한

- 임상적 고찰. 대한한의학회지 1993;14(2):162-167.
2. Kim HH. Allergic rhinitis, sinusitis and asthma: evidence for respiratory system integration. Kor J Pediatrics. 2007;50(4):335-9.
  3. Schwartz LB, Huff TF. Biology of mast cells. In : Middleton E, editor. Allergy : Principles and practice. 5th ed. Mosby: St. Louis. 1998:261-276.
  4. Ahn K. Role of mast cells in allergic inflammation and innate immunity. Kor J Pediatrics. 2004;47(11):1137-1141.
  5. Church MK, Bradding P, Walls AF, Okayama Y. Human mast cells and basophils. In Allergy and allergic diseases. 1st ed. MA : Blackwell Science. 1997:149-170.
  6. Minardi T, Kapoor S, Bielory L. Complementary and alternative medicine: Herbs, phytochemicals and vitamins and their immunologic effects. J Allergy Clin Immunol. 2009;123:283-94.
  7. Xue CC, Li CG, Hügel HM, Story DF. Does acupuncture or Chinese herbal medicine have a role in the treatment of allergic rhinitis?. Curr Opin Allergy Clin Immunol. 2006;6(3):175-9.
  8. 全國韓醫科大學 共同教材編輯委員會 編著. 本草學. 서울:永林社. 2007;159-61.
  9. 馬繼興. 神農本草經輯注. 北京:人民衛生出版社. 1995:64-5.
  10. 한국약학대학협의회 약전분과회. 대한약전 제8개정 의약품각 조. 서울:신일상사. 2004;1059.
  11. 國家約典委員會. 中華人民共和國約典(一部). 北京:化學工業出版社. 2005:127.
  12. Hur BK, Kim CY, Son SG, Ph OJ. Soil properties and plant yield in the cultivation area of *Ostericum koreanum* kit. Kor J Medicinal Crop Sci. 2007;15(1):12-6.
  13. Lee DY, Choi GY, Yoon TS, Cheon MS, Kim SJ, Yasukawa K, Yu SY, Kim HK. Synergistic Effect of *Notopterygium incisum* and *Saposhnikovia divaricata* in the Anti-inflammatory Activity. Kor J Herbology. 2008;23(4):39-43.
  14. Park HJ, Bae GS, Kim DY, Seo SW, Park KB, Kim BJ, Song JM, Lee KY, Na C, Shin BC, Park SJ, Song HJ, Hwang SY. Inhibitory Effect of Extract from *Ostericum koreanum* on LPS-induced Proinflammatory Cytokines Production in RAW264.7 Cells. Kor J Herbology. 2008;23(34):127-134.
  15. Kim CM, Park YK. The Effects of Different Extracts of *Ostericum koreanum* on the Production of Inflammatory Mediators in LPS-stimulated RAW264.7 Cells. Kor J Herbology. 2009;24(1):169-178.
  16. Bae JH, Yoo JH, Kil GJ. Effects of NR on Production Levels of Cytokines and Distribution of BAL Cells in Allergic Asthma. Kor J Herbology. 2010;25(1):33-38.
  17. Seo UK, Lee JI, Park JH, Park YK. The ethylacetate extract of North Kangwhal (*Ostericum koreanum*) attenuates the inflammatory responses in PMA/A23187-stimulated mast cells. Kor J Herbology. 2008;23(4):81-89
  18. A. M. Rothschild. Mechanisms of histamine release by compound 48/80. Br J Pharmacol. 1970;38(1):253-262.
  19. 박용준. 알레르기 치료제 개발 현황. 기술브리프. 한국과학기술정보연구원. 2007.
  20. Jeon SY. Controversies in Management of Allergic Rhinitis: Immunotherapy vs. Medical Therapy. J Clinical Otolaryngol. 2000;11:23-26.
  21. 김희정. 알러지성 비염 병태모델에 대한 방풍통성산의 항알러지 효과. 대한한방이비인후과학회지. 2006;19(1):21-30.
  22. 강병수. 한방임상 알레르기. 서울:성보사. 1988;23-34, 189-210.
  23. 김경준. 비염에 응용되는 보중익기탕 가감방의 치험례. 대한외관과학회지. 2001;14(2):1-8.
  24. 양태규, 김운범, 채병윤. 갈근탕과 가미갈근탕의 항알레르기 및 소염, 해열, 진통작용에 대한 실험적 연구. 대한안이비인후피부과학회지. 2002;15(1):76~76.
  25. 정동욱, 채병윤. 보중익기탕과 그 가미방이 항알레르기와 항균작용에 미치는 영향. 경희대학교 논문집. 1991;20:441~461.
  26. 박재현, 채병윤. 온폐탕과 온폐탕거총백의 항알레르기 효과 및 진통, 해열작용에 대한 실험적 연구. 동의학회지. 2001;14(2):154~172.
  27. 송생엽, 심성용, 김경준.小青龍湯이 알레르기 비염 유발 백서의 과립구 및 조직학적 변화에 미치는 효과. 대한안이비인후피부과학회지. 2004;17(1):75-81.
  28. 김종성, 심성용, 엄유식. 補中益氣湯이 알레르기 비염 유발 백서의 과립구 및 조직학적 변화에 미치는 효과. 대한안이비인후 피부과학회지. 2004;17(1):66-74.
  29. Hu ZQ, Zhao WH, Shimamura T. Regulation of mast cell development by inflammatory factors. Curr Med Chem. 2007;14(28):3044-50.
  30. Brown JM, Wilson TM, Metcalfe DD. The mast cell and allergic diseases: role in pathogenesis and implications for therapy. Clin Exp Allergy. 2008;38(1):4-18.
  31. Rosenwasser LJ, O'Brien T, Weyne J. Mast cell stabilization and anti-histamine effects of olopatadine ophthalmic solution: a review of pre-clinical and clinical research. Curr Med Res Opin. 2005;21(9):1377-87.
  32. Uller L, Emanuelsson CA, Andersson M, Erjefält JS, Greiff L, Persson CG. Early phase resolution of mucosal eosinophilic inflammation in allergic rhinitis. Respir Res. 2010;11(1):54.