大韓本草學會誌 제26권 제1호(2011년 3월)
Kor. J. Herbology 2011 ; 26(1) : 53-58

黃芩 물추출물이 마우스 대식세포의 hydrogen peroxide 생성에 미치는 영향

박완수*

경원대학교 한의과대학

Effect of Scutellariae Radix Water Extract on Hydrogen Peroxide Production in RAW 264.7 Mouse Macrophages

Wansu Park*

College of Oriental Medicine, Kyungwon University

ABSTRCT

Objectives : The purpose of this study is to investigate effects of Scutellariae Radix Water Extract on hydrogen peroxide production in RAW 264.7 mouse macrophages.

Methods : Scutellariae Radix produced from South Korea (SK) and Scutellariae Radix produced from China (SC) were extracted by hot water. Effects of SK and SC on hydrogen peroxide production in RAW 264.7 were measured by dihydrorhodamine 123 assay after 2, 4, 20, 24, 28, 44, and 48 h incubation at the concentrations of 10, 25, 50, and 100 ug/mL.

Results : SK significantly increase hydrogen peroxide production in RAW 264.7 cells for 2, 4, 20, 24, 28, 44, and 48 h incubation at the concentrations of 10, 25, 50, and 100 ug/mL ($P < 0.05$). SC also significantly increase hydrogen peroxide production in RAW 264.7 cells for 4, 20, 24, 28, and 48 h incubation at the concentrations of 10, 25, 50, and 100 ug/mL ($P < 0.05$). For 2 h incubation, SC significantly increase hydrogen peroxide production in RAW 264.7 cells at the concentrations of 10, 25, and 100 ug/mL ($P < 0.05$). For 44 h incubation, SC significantly increase hydrogen peroxide production in RAW 264.7 cells at the concentrations of 10, 25, and 50 ug/mL ($P < 0.05$).

Conclusions : These results suggest that Scutellariae Radix has the immune - enhancing property related with its increasement of hydrogen peroxide production in macrophages.

Key words : Scutellariae Radix, Macrophage, Hydrogen peroxide, Dihydrorhodamine assay, Immunity

서 론

黃芩(황금)은 꿀풀과(Labiatae)에 속한 황금(*Scutellaria baicalensis* Georgi)의 뿌리를 건조한 한약재로서 가을에 채취하여 실뿌리를 제거하고 쇄건(晒乾)하여 사용되는 데 주요한 성분으로는 flavonoid 계통의 baicalein, baicalin, wogonin, wogonoside 등이 있다. 한의학(韓醫學)에서 黃芩은 청열조습(淸熱燥濕)의 효능을 가진 약물로 분류되어 폐열해수(肺熱咳嗽), 습열사리(濕熱瀉利), 황달(黃疸), 열림(熱淋), 토뉵(吐衄), 붕루(崩漏), 태동불안(胎動不安), 옹종(癰腫), 정창(疔瘡), 목적종통(目赤腫痛), 장열번갈(壯熱煩渴) 등을 치료하여 급만성 호흡기질환, 폐렴, 비염, 인후염, 감모 등에 응용될 수 있는 것으로 알려져 있다.[1-4]

마크로파지(macrophage)는 대식세포(大食細胞) 혹은 탐식세포(貪食細胞)라고도 불리우는 면역체계에서 중요한 역할을 하는 세포로서 외부로부터 인체에 침입하는 세균, 바이러스, 진균, 프로토조아 등의 병원체를 포획하여 제거하는 기능과 인체내부의 노후화되거나 불필요한 세포잔해물 등을 분해처리하는 기능을 담당하고 있다. 이러한 기능들을 발휘하기 위하여 대식세포는 다양한 자극체에 반응하여 cytokine, chemokine, 일산화질소, 하이드로겐 퍼록사이드 등 다양한 면역염증매개물질들을 생성, 배출한다.[5-8]

대식세포의 산화폭발(oxidative burst)과정에서 많이 발생하는 하이드로겐 퍼록사이드(hydrogen peroxide ; H_2O_2 ; 과산화수소)는 활성산소종(reactive oxygen species)의 일종으로서 대식세포가 인체에 침입하는 다양한 감염성 병원체,

*교신저자 : 박완수. 경기도 성남시 수정구 복정동 경원대학교 한의과대학 병리학교실.
· Tel/Fax : 031-750-8821. · E-mail : hangl98@naver.com.
· 접수 : 2011년 2월 22일 · 수정 : 2011년 3월 4일 · 채택 : 2011년 3월 10일

예를 들면 RNA형 바이러스(virus), DNA형 바이러스, 그람음성 세균(Gram-negative bacteria), 그람양성 세균(Gram-positive bacteria), 진균(fungus), 원생동물(protozoa), 마이크로플라즈마(microplasma) 등의 각종 병원체를 제거하는 데 있어서 중요한 역할을 한다.[9-11]

본 연구에서는 한국산 黃芩(SK)과 중국산 黃芩(SC)을 물추출하여 얻은 시료를 대상으로 마우스 대식세포 RAW 264.7의 hydrogen peroxide 생성에 미치는 영향을 알아보기 위하여 in vitro 실험을 수행하고 유의한 결과를 얻었기에 이에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 재료

1) 시약 및 기기

본 실험에 사용된 시약 중 Dulbecco's Modified Eagle's Medium(DMEM), heat-inactivated fetal bovine serum(FBS), penicillin and streptomycin, phosphate-buffered saline(PBS, pH 7.4)은 Gibco BRL사(Grand Island, NY, USA)에서, cell viability 측정을 위한 MTT assay, NO 생성측정을 위한 Griess reagent와 hydrogen peroxide 생성측정을 위한 dihydrorhodamine 123 (DHR) 등은 Sigma-Aldrich사(St. Louis, MO, USA)로부터 구입하여 사용하였다. 각 시약의 품질은 분석용 등급 이상의 것으로 하여 사용하였으며 본 실험에 사용된 기기는 CO_2 incubator(NUAIRE, USA), clean bench(Jeiothec, Korea), rotary vacuum evaporator(Eyela, Japan), research microscope(Becton dickinson, USA), centrifuge(Gyrozen, Korea), water bath(Sae Han, Korea), vortex mixer(Vision Scientific Co, Korea), freeze dryer(Eyela), deep freezer(Gudero, Ilshin Lab, Korea), TRIAD LT spectrofluorometer(Dynex, Chantilly, VA, USA) 등이다.[12-14]

2) 약재

본 실험에 사용된 한국산 黃芩과 중국산 黃芩은 모두 옴니허브주식회사(대구, 한국)로부터 구입한 후 검정하였으며 검정된 약재들(한국산 黃芩 : No. 20100703 ; 중국산 黃芩 : No. 20100704)은 경원대학교 한의과대학 병리학교실에 보관되었다.

2. 방법

1) 시료의 제조

시료의 제조는 이미 보고한 선행연구[12-14]의 방법에 따라 다음과 같이 시행하였다. 한국산 黃芩과 중국산 黃芩 각 50 g을 전기약탕기에 1차 증류수 1,000 mL와 함께 넣은 뒤 150분 동안 가열, 추출하였다. 추출이 끝난 뒤 추출액을 filter paper(Advantec No.2, Japan)로 감압 여과한 뒤, 여과액을 rotary vacuum evaporator를 이용하여 농축하였다. 이 농축액을 동결건조기를 이용하여 동결건조하여 한국산 黃芩물추출물(SK)와 중국산 黃芩물추출물(SC)을 제조한 후 실험에 사용하였다.

2) Cell line

실험에 사용된 대식세포는 mouse macrophage(RAW 264.7 cell line)이며, 한국세포주은행(KCLB, Korea)에서 구입하였다.

3) 세포 배양

세포의 배양은 이미 보고된 선행연구[12-14]의 방법에 따라 다음과 같이 시행되었다. RAW 264.7 cells은 37℃, 5% CO_2 조건에서 10% FBS, penicillin(100 U/mL), streptomycin(100 ug/mL)이 첨가된 DMEM 배지로 75 cm^2 flask (Falcon, USA)에서 배양되었다. 배양 3일 간격으로 배양세포 표면을 phosphate buffered saline(Sigma, USA) 용액으로 씻어주며 충분히 증식되면, 50 mL flask 당 1 mL의 0.25% trypsin-EDTA용액을 넣고 실온에서 1분간 처리한 다음 trypsin용액을 버리고 37℃에서 5분간 보관하고 세포를 탈착하여 계대 배양하였다. 탈착된 세포는 10% FBS가 첨가된 DMEM 배양액 10 mL에 부유시킨 다음, 새로운 배양용기에 옮겨 1 : 2의 split ratio로 CO_2 배양기(37℃, 5% CO_2)에서 배양하였다.

4) Hydrogen peroxide 생성에 대한 조사

시료가 RAW 264.7의 hydrogen peroxide(H_2O_2) 생성증가에 미치는 영향에 대해 알아보기 위하여 이미 보고[12-17]된 방법을 응용, dihydrorhodamine 123(DHR) assay를 실시하여 측정하였다. DHR은 비형광이지만 세포 내에서 세포 내 H_2O_2에 의하여 산화되어 녹색의 형광을 발현하는 물질인 rhodamine 123로 바뀌게 된다. 그러므로 여러 가지 산화적 반응을 일으키는 물질들로 인해 세포내 에서 발생하는 hydrogen peroxide의 수준을 DHR assay를 이용하여 측정할 수 있다. 96 well plate에 1×10^4 cells/well의 농도로 분주되도록 1×10^5 cells/mL의 cell을 100 ㎕씩 넣고 37℃, 5% CO_2 incubator에서 24시간 동안 배양한 후 배지를 버리고 배양세포 표면을 phosphate buffered saline(PBS) 용액으로 씻어주었다. 시료를 처리하기 전에 우선 DHR(10 uM)이 담긴 배지를 30분간 각 well에 처리한 뒤 배지를 제거하였다. 그리고 다양한 농도의 시료들을 배지에 담아 각 well에 처리하고 2, 4, 20, 24, 28, 44, 48 시간 동안 37℃, 5% CO_2 incubator에서 배양한 후 spectrofluorometer(TRIAD LT ; excitation filter 485 nm and emission filter 535 nm)를 이용하여 세포내 hydrogen peroxide 생성량을 측정, 비교하였다.

3. 통계처리

실험성적은 평균치 ± 표준편차 (Mean ± SD)로 나타내었으며, 대조군과 각 실험군과의 평균 차이는 Student t-test로 분석하여 $P < 0.05$일 때 통계적으로 유의한 것으로 판정하였다.

결 과

1. SK와 SC의 2시간 배양이 RAW 264.7의 hydrogen peroxide 생성에 미치는 영향

SK와 SC로 2시간 동안 배양한 후 RAW 264.7의 hydrogen peroxide 생성을 측정한 결과 SK는 10, 25, 50, 100 ug/mL의 농도에서 각각 105.97 ± 3.53%, 109.43 ± 3.24%, 111.59 ± 4.34%, 111.52 ± 3.53%로 유의한($P < 0.05$) 증가를 나타내었으며 SC는 10, 25, 100 ug/mL의 농도에서 각각 109.9 ± 6.08%, 107.84 ± 4.62%, 103.98 ± 1.99%로 유의한($P < 0.05$) 증가를 나타내었다(Fig. 1).

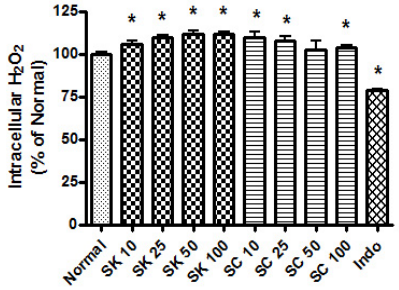

Fig. 1. Effects of SK and SC on the intracellular hydrogen peroxide production of RAW 264.7 for 2 h incubation. Cells were incubated with SK or SC for 2 h. Results are represented as mean ± SD. SK (Water extract of Scutellariae Radix produced from South Korea) was treated with RAW 264.7 at the concentrations of 10 (SK 10), 25 (SK 25), 50 (SK 50), and 100 (SK 100) ug/mL. SC (Water extract of Scutellariae Radix produced from China) was treated with RAW 264.7 at the concentrations of 10 (SC 10), 25 (SC 25), 50 (SC 50), and 100 (SC 100) ug/mL. Normal : Treated with medium only. Indo : Treated with Indomethacin (0.5 uM) only. * represents $P < 0.05$ compared to the Normal.

2. SK와 SC의 4시간 배양이 RAW 264.7의 hydrogen peroxide 생성에 미치는 영향

SK와 SC로 4시간 동안 배양한 후 RAW 264.7의 hydrogen peroxide 생성을 측정한 결과 SK는 10, 25, 50, 100 ug/mL의 농도에서 각각 111.34 ± 2.83%, 112.95 ± 4.82%, 115.78 ± 1.94%, 115.85 ± 4.37%로 유의한($P < 0.05$) 증가를 나타내었으며 SC는 10, 25, 50, 100 ug/mL의 농도에서 각각 114.09 ± 5.06%, 110.97 ± 6.31%, 110.13 ± 7.57%, 108.42 ± 2.83%로 유의한($P < 0.05$) 증가를 나타내었다(Fig. 2).

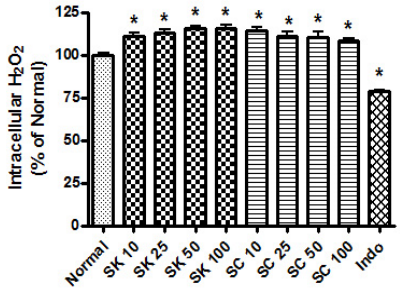

Fig. 2. Effects of SK and SC on the intracellular hydrogen peroxide production of RAW 264.7 for 4 h incubation. Cells were incubated with SK or SC for 4 h. Results are represented as mean ± SD. SK (Water extract of Scutellariae Radix produced from South Korea) was treated with RAW 264.7 at the concentrations of 10 (SK 10), 25 (SK 25), 50 (SK 50), and 100 (SK 100) ug/mL. SC (Water extract of Scutellariae Radix produced from China) was treated with RAW 264.7 at the concentrations of 10 (SC 10), 25 (SC 25), 50 (SC 50), and 100 (SC 100) ug/mL. Normal : Treated with medium only. Indo : Treated with Indomethacin (0.5 uM) only. * represents $P < 0.05$ compared to the Normal.

3. SK와 SC의 20시간 배양이 RAW 264.7의 hydrogen peroxide 생성에 미치는 영향

SK와 SC로 20시간 동안 배양한 후 RAW 264.7의 hydrogen peroxide 생성을 측정한 결과 SK는 10, 25, 50, 100 ug/mL의 농도에서 각각 113.23 ± 2.84%, 117.19 ± 3.87%, 119.81 ± 1.82%, 117.37 ± 3.17%로 유의한($P < 0.05$) 증가를 나타내었으며 SC는 10, 25, 50, 100 ug/mL의 농도에서 각각 112.45 ± 4.63%, 111.21 ± 5.07%, 108.81 ± 8.24%, 109.79 ± 2.21%로 유의한($P < 0.05$) 증가를 나타내었다(Fig. 3).

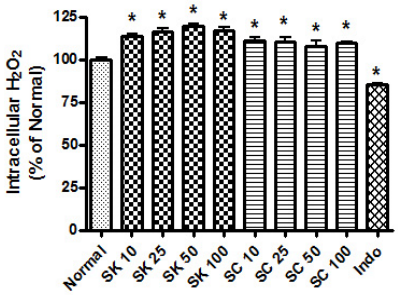

Fig. 3. Effects of SK and SC on the intracellular hydrogen peroxide production of RAW 264.7 for 20 h incubation. Cells were incubated with SK or SC for 20 h. Results are represented as mean ± SD. SK (Water extract of Scutellariae Radix produced from South Korea) was treated with RAW 264.7 at the concentrations of 10 (SK 10), 25 (SK 25), 50 (SK 50), and 100 (SK 100) ug/mL. SC (Water extract of Scutellariae Radix produced from China) was treated with RAW 264.7 at the concentrations of 10 (SC 10), 25 (SC 25), 50 (SC 50), and 100 (SC 100) ug/mL. Normal : Treated with medium only. Indo : Treated with Indomethacin (0.5 uM) only. * represents $P < 0.05$ compared to the Normal.

4. SK와 SC의 24시간 배양이 RAW 264.7의 hydrogen peroxide 생성에 미치는 영향

SK와 SC로 24시간 동안 배양한 후 RAW 264.7의 hydrogen peroxide 생성을 측정한 결과 SK는 10, 25, 50, 100 ug/mL의 농도에서 각각 113.72 ± 2.69%, 118.62 ± 4.11%, 119.08 ± 2.08%, 116.28 ± 3.66%로 유의한($P < 0.05$) 증가를 나타내었으며 SC는 10, 25, 50, 100 ug/mL의 농도에서 각각 112.98 ± 4.08%, 112.17 ± 5.94%, 109.66 ± 8.64%, 109.95 ± 2.02%로 유의한($P < 0.05$) 증가를 나타내었다(Fig. 4).

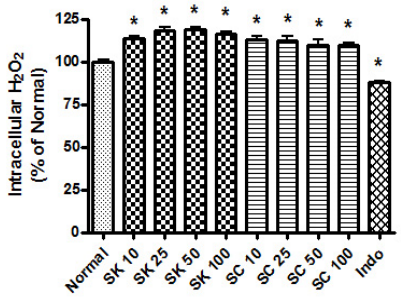

Fig. 4. Effects of SK and SC on the intracellular hydrogen peroxide production of RAW 264.7 for 24 h incubation. Cells were incubated with SK or SC for 24 h. Results are represented as mean ± SD. SK (Water extract of Scutellariae Radix produced from South Korea) was treated with RAW 264.7 at the concentrations of 10 (SK 10), 25 (SK 25), 50 (SK 50), and 100 (SK 100) ug/mL. SC (Water extract of Scutellariae Radix produced from China) was treated with RAW 264.7 at the concentrations of 10 (SC 10), 25 (SC 25), 50 (SC 50), and 100 (SC 100) ug/mL. Normal : Treated with medium only. Indo : Treated with Indomethacin (0.5 uM) only. * represents $P < 0.05$ compared to the Normal.

5. SK와 SC의 28시간 배양이 RAW 264.7의 hydrogen peroxide 생성에 미치는 영향

SK와 SC로 28시간 동안 배양한 후 RAW 264.7의 hydrogen peroxide 생성을 측정한 결과 SK는 10, 25, 50, 100 ug/mL의 농도에서 각각 115.14 ± 2.25%, 120.41 ± 4.28%, 120.19 ± 2.35%, 116.21 ± 3.25%로 유의한($P < 0.05$) 증가를 나타내었으며 SC는 10, 25, 50, 100 ug/mL의 농도에서 각각 114.76 ± 4.33%, 113.49 ± 5.5%, 111.77 ± 8.51%, 110.21 ± 1.89%로 유의한($P < 0.05$) 증가를 나타내었다(Fig. 5).

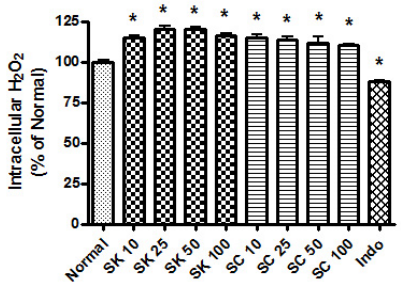

Fig. 5. Effects of SK and SC on the intracellular hydrogen peroxide production of RAW 264.7 for 28 h incubation. Cells were incubated with SK or SC for 28 h. Results are represented as mean ± SD. SK (Water extract of Scutellariae Radix produced from South Korea) was treated with RAW 264.7 at the concentrations of 10 (SK 10), 25 (SK 25), 50 (SK 50), and 100 (SK 100) ug/mL. SC (Water extract of Scutellariae Radix produced from China) was treated with RAW 264.7 at the concentrations of 10 (SC 10), 25 (SC 25), 50 (SC 50), and 100 (SC 100) ug/mL. Normal : Treated with medium only. Indo : Treated with Indomethacin (0.5 uM) only. * represents $P < 0.05$ compared to the Normal.

6. SK와 SC의 44시간 배양이 RAW 264.7의 hydrogen peroxide 생성에 미치는 영향

SK와 SC로 44시간 동안 배양한 후 RAW 264.7의 hydrogen peroxide 생성을 측정한 결과 SK는 10, 25, 50, 100 ug/mL의 농도에서 각각 105.73 ± 1.09%, 113.1 ± 2.39%, 108.93 ± 0.91%, 115.16 ± 2.33%로 유의한($P < 0.05$) 증가를 나타내었으며 SC는 10, 25, 50 ug/mL의 농도에서 각각 107.17 ± 4.18%, 109.9 ± 1.49%, 111.08 ± 7.47%로 유의한($P < 0.05$) 증가를 나타내었다(Fig. 6).

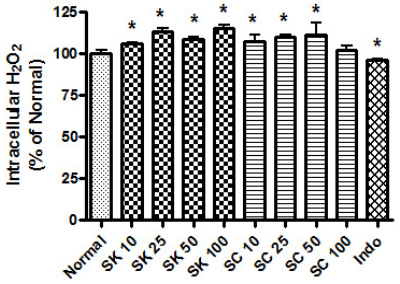

Fig. 6. Effects of SK and SC on the intracellular hydrogen peroxide production of RAW 264.7 for 44 h incubation. Cells were incubated with SK or SC for 44 h. Results are represented as mean ± SD. SK (Water extract of Scutellariae Radix produced from South Korea) was treated with RAW 264.7 at the concentrations of 10 (SK 10), 25 (SK 25), 50 (SK 50), and 100 (SK 100) ug/mL. SC (Water extract of Scutellariae Radix produced from China) was treated with RAW 264.7 at the concentrations of 10 (SC 10), 25 (SC 25), 50 (SC 50), and 100 (SC 100) ug/mL. Normal : Treated with medium only. Indo : Treated with Indomethacin (0.5 uM) only. * represents $P < 0.05$ compared to the Normal.

7. SK와 SC의 48시간 배양이 RAW 264.7의 hydrogen peroxide 생성에 미치는 영향

SK와 SC로 48시간 동안 배양한 후 RAW 264.7의 hydrogen peroxide 생성을 측정한 결과 SK는 10, 25, 50, 100 ug/mL의 농도에서 각각 106.99 ± 3.18%, 113.68 ± 3.18%, 109.71 ± 5.06%, 114.86 ± 3.26%로 유의한($P < 0.05$) 증가를 나타내었으며 SC는 10, 25, 50, 100 ug/mL의 농도에서 각각 109.41 ± 4.47%, 113.30 ± 3.36%, 113.21 ± 6.22%, 102.39 ± 4.75%로 유의한($P < 0.05$) 증가를 나타내었다(Fig. 7).

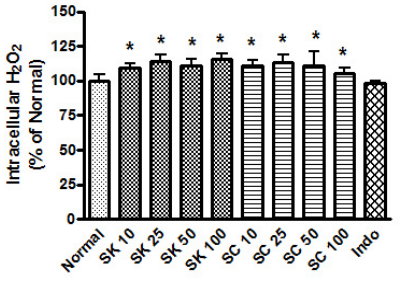

Fig. 7. Effects of SK and SC on the intracellular hydrogen peroxide production of RAW 264.7 for 48 h incubation. Cells were incubated with SK or SC for 48 h. Results are represented as mean ± SD. SK (Water extract of Scutellariae Radix produced from South Korea) was treated with RAW 264.7 at the concentrations of 10 (SK 10), 25 (SK 25), 50 (SK 50), and 100 (SK 100) ug/mL. SC (Water extract of Scutellariae Radix produced from China) was treated with RAW 264.7 at the concentrations of 10 (SC 10), 25 (SC 25), 50 (SC 50), and 100 (SC 100) ug/mL. Normal : Treated with medium only. Indo : Treated with Indomethacin (0.5 uM) only. * represents $P < 0.05$ compared to the Normal.

고 찰

대식세포(大食細胞)라고도 불리우는 마크로파지(macrophage)는 인체면역염증체계(human immuno-inflammatory system)에서 중요한 역할을 하는 세포로서 인체내부의 노후화된 세포나 종양과 같은 비정상적 세포들을 제거하는 기능뿐만 아니라 인체외부로부터 침입하는 각종의 병원체, 예를 들면, 세균(bacteria), 바이러스(virus), 진균(眞菌 ; fungus), 프로토조아(protozoa) 등의 병원체를 인지하고 포획, 제거하는 기능도 담당하고 있다. 이러한 기능들을 발휘하기 위하여 대식세포는 다양한 자극체에 반응하여 사이토카인(cytokine), 케모카인(chemokine), 성장인자(growth factor), 일산화질소(nitric oxide), 하이드로겐 퍼록사이드 등 다양한 면역염증매개물질들을 생성, 배출한다.[5-8)]

면역염증반응 중에 대식세포에 의해서 생성되는 하이드로겐 퍼록사이드는 활성산소종의 일종으로서 대식세포가 인체에 침입하는 바이러스, 세균, 진균, 원생동물 등의 다양한 감염성 병원체를 공격하는 데 있어 중요한 역할을 담당하게 되며, 이와 같은 대식세포의 하이드로겐 퍼록사이드 생성에 문제가 생기면 육아종(granuloma)과 같은 면역관련 질환과 감염성 질환 등에 쉽게 이환될 수 있다. 그러므로 대식세포의 하이드로겐 퍼록사이드 생성은 인체 항병능력의 중요한 기전으로 이해되고 있다.[9-11)]

꿀풀과(Labiatae)에 속한 황금(*Scutellaria baicalensis* Georgi)의 뿌리를 건조한 한약재인 黃芩(황금)은 주요한 성분이 baicalein, baicalin, wogonin, wogonoside 등이며, 한의학(韓醫學)에서 전통적으로 청열조습약(淸熱燥濕藥)으로 분류하여 폐열해수(肺熱咳嗽), 습열사리(濕熱瀉利), 황달(黃疸), 열림(熱淋), 토뉵(吐衄), 붕루(崩漏), 태동불안(胎動不安), 옹종(癰腫), 정창(疔瘡), 목적종통(目赤腫痛), 장열번갈(壯熱煩渴) 등의 증(證)에 적용된다.[1-4)] 최근 Yoon 등[13)]에 의해서 내독소(lipopolysaccharide)로 유발된 대식세포의 염증반응을 黃芩물추출물이 유의하게 조절함이 보고된 바 있으며, 이 등[18)]은 黃芩의 주요 flavonoid 성분인 baicalein이 신장세뇨관 상피세포에서 산화제에 의한 apoptosis를 완화하는 효능이 있음을 보고한 바 있다.

그러나 아직까지 黃芩 물추출물이 대식세포의 세포내 하이드로겐 퍼록사이드 생성에 미치는 영향에 대한 자세한 보고는 이루어지지 않았다. 그러므로 본 연구에서는 한국산 黃芩(SK)과 중국산 黃芩(SC)을 물추출하여 얻은 시료를 대상으로 마우스 대식세포 RAW 264.7의 하이드로겐 퍼록사이드 생성에 미치는 영향을 알아보기 위하여 in vitro 실험을 수행하여 다음과 같은 결과를 얻었다. SK를 RAW 264.7에 2, 4, 20, 24, 28, 44, 48시간동안 처리한 결과 세포내 하이드로겐 퍼록사이드 생성을 10, 25, 50, 100 ug/mL의 농도에서 모두 유의($P < 0.05$)하게 증가시켰으며, SC를 RAW 264.7에 4, 20, 24, 28, 48시간동안 처리한 결과에서도 세포내 하이드로겐 퍼록사이드 생성을 10, 25, 50, 100 ug/mL의 농도에서 유의($P < 0.05$)하게 증가시켰다. SC를 RAW 264.7에 2시간동안 처리한 결과에서는 세포내 하이드로겐 퍼록사이드 생성을 10, 25, 100 ug/mL의 농도에서 유의($P < 0.05$)하게 증가시켰으며, SC를 RAW 264.7에 44시간동안 처리한 결과에서는 세포내 하이드로겐 퍼록사이드 생성을 10, 25, 50 ug/mL의 농도에서 유의($P < 0.05$)하게 증가시켰다.

이상의 실험결과는 黃芩 물추출물이 대식세포의 세포내 하이드로겐 퍼록사이드 생성을 증가시킴으로써 대식세포가 외부로부터 침입하는 병원체를 제거하는 기능을 향상시킬 수 있음을 나타내는 것이다.

결 론

본 연구에서는 한국산 黃芩(SK)과 중국산 黃芩(SC)을 물추출하여 얻은 시료를 대상으로 마우스 대식세포 RAW 264.7의 hydrogen peroxide 생성에 미치는 영향을 알아보기 위하여 in vitro 실험을 수행한 결과 다음을 알 수 있었다.

1. SK를 RAW 264.7에 2, 4, 20, 24, 28, 44, 48시간동안 처리한 결과 세포내 하이드로겐 퍼록사이드 생성을 10, 25, 50, 100 ug/mL의 농도에서 유의($P < 0.05$)하게 증가시켰다.

2. SC를 RAW 264.7에 4, 20, 24, 28, 48시간동안 처리한 결과 세포내 하이드로겐 퍼록사이드 생성을 10, 25, 50, 100 ug/mL의 농도에서 유의($P < 0.05$)하게 증가시켰다.

3. SC를 RAW 264.7에 2시간동안 처리한 결과에서는 세포내 하이드로겐 퍼록사이드 생성을 10, 25, 100 ug/mL의 농도에서 유의($P < 0.05$)하게 증가시켰다.

4. SC를 RAW 264.7에 44시간동안 처리한 결과에서는 세포내 하이드로겐 퍼록사이드 생성을 10, 25, 50 ug/mL의 농도에서 유의($P < 0.05$)하게 증가시켰다.

이상의 실험결과는 黃芩 물추출물이 대식세포의 세포내 하이드로겐 퍼록사이드 생성을 증가시킴으로써 대식세포가 외부로부터 침입하는 병원체를 제거하는 기능을 향상시킬 수 있음을 나타내는 것이며, 앞으로 黃芩 물추출물의 면역강화작용에 대한 보다 깊은 연구가 필요한 것으로 생각되는 바이다.

감사의 글

본 논문은 2010년도 교육과학기술부의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 『기초연구사업(2010-0022919)』 및 『2011년도 경원대학교 연구비지원』에 의하여 수행된 연구결과입니다.

참고문헌

1. 전국한의과대학 공동교재편찬위원회. 본초학. 서울 : 영림사. 1991 : 178-9.
2. 吳普 等述, 孫星衍, 孫馮翼 輯. 神農本草經. 北京 : 科學技術文獻出版社. 1996 : 64.
3. 國家中醫藥管理局≪中華本草≫編委會. 中華本草. 上海 : 上

海科學技術出版社. 1999 : (7)200-10.
4. Park WS. The Effect of Bacillus-Fermented Scutellariae Radix Acupuncture Solution on Interleukin Production in Mouse Macrophage Stimulated by Lipopolysaccharide. 경락경혈학회지. 2010 ; 27(2) : 95-105.
5. Guiñazú N, Carrera-Silva EA, Becerra MC, Pellegrini A, Albesa I, Gea S. Induction of NADPH oxidase activity and reactive oxygen species production by a single Trypanosoma cruzi antigen. Int J Parasitol. 2010 ; 40(13) : 1531-8.
6. Newman SL. Macrophages in host defense against Histoplasma capsulatum. Trends Microbiol. 1999 ; 7(2) : 67-71.
7. Jantsch J, Chikkaballi D, Hensel M. Cellular aspects of immunity to intracellular Salmonella enterica. Immunol Rev. 2011 ; 240(1) : 185-95.
8. Steevels TA, Meyaard L. Immune inhibitory receptors : Essential regulators of phagocyte function. Eur J Immunol. 2011 ; 41(3) : 575-87.
9. He H, Genovese KJ, Kogut MH. Modulation of chicken macrophage effector function by T(H)1/T(H)2 cytokines. Cytokine. 2011 ; 53(3) : 363-9.
10. Romero A, Dios S, Bremont M, Figueras A, Novoa B. Interaction of the attenuated recombinant rIHNV-Gvhsv GFP virus with macrophages from rainbow trout (Oncorhynchus mykiss). Vet Immunol Immunopathol. 2011 ; 140(1-2) : 119-29.
11. Omori A, Chiba T, Kashiwakura I. Relationship between radiosensitivity of human neonatal hematopoietic stem/progenitor cells and individual maternal/neonatal obstetric factors. J Radiat Res (Tokyo). 2010 ; 51(6) : 755-63.
12. 박완수. 白蔘과 紅蔘이 포함된 理中湯의 마우스 대식세포 내 hydrogen peroxide 생성에 미치는 영향. 동의생리병리학회지. 2011 ; 25(1) : 78-83.
13. Yoon SB, Lee YJ, Park SK, Kim HC, Bae H, Kim HM, Ko SG, Choi HY, Oh MS, Park W. Anti-inflammatory effects of Scutellaria baicalensis water extract on LPS-activated RAW 264.7 macrophages. J Ethnopharmacol. 2009 ; 125(2) : 286-90.
14. Park WS. The Effect of Bacillus-Fermented Scutellariae Radix Acupuncture Solution on Interleukin Production in Mouse Macrophage Stimulated by Lipopolysaccharide. 경락경혈학회지. 2010 ; 27(2) : 95-105.
15. Jirapongsananuruk O, Malech HL, Kuhns DB, Niemela JE, Brown MR, Anderson-Cohen M, Fleisher TA. Diagnostic paradigm for evaluation of male patients with chronic granulomatous disease, based on the dihydrorhodamine 123 assay. J Allergy Clin Immunol. 2003 ; 111(2) : 374-9.
16. Richardson MP, Ayliffe MJ, Helbert M, Davies EG. A simple flow cytometry assay using dihydrorhodamine for the measurement of the neutrophil respiratory burst in whole blood : comparison with the quantitative nitrobluetetrazolium test. J Immunol Methods. 1998 ; 219(1-2) : 187-93.
17. Crow JP. Dichlorodihydrofluorescein and dihydrorhodamine 123 are sensitive indicators of peroxynitrite in vitro : implications for intracellular measurement of reactive nitrogen and oxygen species. Nitric Oxide. 1997 ; 1(2) : 145-57.
18. 이동준, 윤철호. Renal epithelial cells에서 oxidant에 의한 apoptosis에 미치는 황금(黃芩)의 영향. 대한한방내과학회지. 2004 ; 25(4) : 75-85.