

OMC-2010 구성약재가 마우스의 비장세포 cytokine 생성에 미치는 영향

배기상^{1#}, 김현식^{2#}, 박경철³, 최선복³, 조일주³, 이창혁⁴, 서상완⁴, 김종진⁴, 신용국⁴, 김민선²,
박규환², 송호준³, 박성주^{1,3*}

1 : 원광대학교 한방체액조절연구센터, 2 : 한국기초과학지원연구원 질량분석연구부
3 : 원광대학교 한의과대학 본초학교실, 4 : 충북테크노파크 전통의약산업센터

Effects of OMC-2010 constituents on cytokine productions in mouse spleen cells

Gi-Sang Bae^{1#}, Hyun Sik Kim^{2#}, Kyoung-Chel Park³, Sun-Bok Choi³, Il-Joo Jo³,
Chang-Hyuk Lee⁴, Sang-Wan Seo⁴, Jong-Jin Kim⁴, Yong-Kook Shin⁴, Min Sun Kim²,
Kyu Hwan Park², Ho-Joon Song³, Sung-Joo Park^{1,3*}

1 : Hanbang Body-fluid Research Center, Wonkwang University
2 : Division of Mass Spectrometry Research, Korea Basic Science Institute
3 : Dept. of Herbology, College of oriental Medicine, Wonkwang University
4 : ChungBuk Oriental Medicine Center, ChungBuk Techno Park,

ABSTRACT

Objective : We recently reported that OMC-2010 has an immuno-modulatory effects via inhibiting tumor necrosis factor (TNF)- α and interleukin (IL)-5. However, we did not find out which constituents play an important role in immuno-modulatory effect of OMC-2010. Thus, this study was performed to estimate the effects of constituents of OMC-2010 on cytokine production in mouse spleen cells, then ultimately reach to find out effective constituents regulating splenic cytokine production.

Methods : Mouse spleen cells were pre-treated with water and ethanol extract of constituents of OMC-2010 such as *Rehmannia glutinosa* (RG), *Pinellia ternata* (PT), *Citrus unshiu Markovich* (CUM), *Glycyrrhiza uralensis* (GU), *Platycodon grandiflorum* (PG), *Schisandra chinensis* (SC). After 1 h, the cells were stimulated with lipopolysaccharide (LPS, 1 μ g/ml) for 48 h. Then the cells were harvested for real-time reverse transcription polymerase chain reaction to detect cytokine productions.

Results : The water extract of RG extract significantly inhibited the LPS-induced inTNF- α and IL-5 mRNA expressions, but the water extract of PT, CUM, GU, PG, and SC did not. The ethanol extract of RG, PT, and SC significantly inhibited the LPS-induced TNF- α , and IL-5 mRNA expressions, but the ethanol extract of CUM, GU, and PG did not.

Conclusions : Theses results could suggest that the water extract of RG and the ethanol extract of RG, PT, and SC inhibited the expression of TNF- α and IL-5, which means that the possible candidate of OMC-2010 water extract' s action might be RG, and ethanol extract' s action might be RG, PR, and SC.

Key words : OMC-2010, lipopolysaccharide (LPS), splenocyte, inflammation, *Rehmannia glutinosa* (RG)

112

*교신저자 : 박성주, 전북 익산시 신용동 344-2 원광대학교 한의과대학 본초학교실
· Tel : 063-850-6450 · E-mail : parksj08@wku.ac.kr
#제1저자: 배기상, 전북 익산시 신용동 344-2 원광대학교 한방체액연구조절센터
· Tel : 063-850-6837 · E-mail : baegs888@wku.ac.kr
제1저자: 김현식, 한국기초과학지원연구원 질량분석연구부
· Tel : 043-240-5120 · E-mail : fticr@kbsi.re.kr
· 접수 : 2012년 10월 12일 · 수정 : 2012년 11월 3일 · 채택 : 2012년 11월 5일

서론

비장 (spleen)은 백혈구 (white blood cell)을 만들고, 면역 기능에서 중요한 역할을 한다¹⁾. 백혈구 중 일부는 비장에 남아있고, 나머지는 인체를 순환한다²⁾. 비장에 문제가 생기게 되면 백혈구 수치가 감소하면서 면역력이 저하되고, 그에 따라서 질병에 대하여 아주 민감해지기 때문에 비장의 역할은 아주 중요하다³⁾. 태아가 생성되는 과정에서, 비장은 백혈구와 적혈구를 생성한다. 출생 후에는 골수에서 그것을 위임받고, 비장에서는 lymphocyte, 대식세포와 같은 세포를 생성하게 된다¹⁾. 각각의 비장세포는 비장의 기능을 보조하고, 면역력을 증진시킨다. 또한 비장은 간과 신장처럼 필터와 같은 작용을 한다^{4,5)}. 혈액이 비장을 지나면 오래된 혈액은 재활용되어 그들의 삶을 이어간다. 그리고 외부 항원 침입 시, 그것을 확인하여 파괴한다. 그렇기 때문에 비장 및 비장 세포는 감염에 있어서 인체 방어 도구라고 할 수 있다^{6,7)}.

金水六君煎을 기본으로 하여 변형한 처방인 OMC-2010은 熟地黄(*Rehmannia glutinosa*, RG), 半夏(*Pinellia ternata*, PT), 陳皮(*Citrus unshiu Markovich*, CUM), 甘草(*Glycyrrhiza uralensis*, GU)를 주성분으로 포함하고, 桔梗(*Platycodon grandiflorum*, PG) 및 五味子(*Schisandra chinensis*, SC)가 가미된 처방이다. 최근 본 연구팀이 보고한 바에 따르면, OMC-2010 물 추출물과 에탄올 추출물은 비장세포에서 tumor necrosis factor (TNF)- α 와 interleukin (IL)-5의 생성을 억제함을 증명하였다⁸⁾. 이를 통하여 OMC-2010 추출물이 면역 질환 및 천식 등에 유효할 것으로 추정할 수 있었다. 하지만 이전 연구에서 전체 추출물에서 실제로 사이토카인 억제 역할을 하는 약재가 무엇인지 밝혀지지 않았다.

본 연구에서는, OMC-2010 구성약재의 면역조절효과를 조사하기 위해, 비장세포를 분리하여 기존에 효과를 보였던 TNF- α 와 IL-5의 발현을 조사하였다. OMC-2010 구성물인 숙지황 (RG), 반하 (PT), 진피 (CUM), 감초 (GU), 길경 (PG), 오미자 (SC)을 물과 에탄올을 통해 추출한 다음, 비장 세포에 처리하여, 전염증성 사이토카인인 TNF- α 를 조사하고, Th2 사이토카인인 IL-5의 발현을 관찰하였다.

재료 및 방법

1. 실험 재료

1) 실험동물

모든 실험은 원광대학교에서 정해놓은 동물 관리 규정에 따라 수행되었다. 본 실험에 사용한 C57BL/6 Mouse (체중 15-20g, female)는 오리엔트 바이오 (성남, 경기도, 대한민국)에서 구입하였다. 실험동물은 원광대학교 한의과대학 동물사육실에서 일정한 조건(온도: $21 \pm 2^\circ\text{C}$, 습도: 50~60%, 명암: 12시간 주기하에서 일반 고형사료(오리엔트 바이오, 성남)와 물을 충분히 공급하면서 환경 적응을 위해 일주일 동안 적응시킨 후 실험하였다.

2) 약재

실험 약재인 숙지황 (RG), 반하 (PT), 진피 (CUM), 감초

(GU), 길경 (PG), 오미자 (SC)는 Omniherb(영천, 대한민국)에서 구입, 정선한 후 실험약재로 사용하였다. 충북테크노파크 전통의약산업센터에서 확인한 후 약재를 사용하였으며, 일부는 보관하였다.

2. 방법

1) 약물 추출

(1) 에탄올 추출

숙지황 (RG), 반하 (PT), 진피 (CUM), 감초 (GU), 길경 (PG), 오미자 (SC) 10 g을 300 ml의 70% 에탄올 용액을 가하여 37°C 항온수조에서 24시간 동안 추출하였다. 추출 후 에탄올층(상등액)을 회전감압농축기(EYELA, RikakikiCo., Tokyo, Japan)로 농축한 후, 생리식염수에 녹여 stock solution을 제조하였다. 제조된 stock solution은 -20°C 에 보관하면서 분석방법에 적합하도록 희석하여 사용하였다.

(2) 물 추출

숙지황 (RG), 반하 (PT), 진피 (CUM), 감초 (GU), 길경 (PG), 오미자 (SC) 10 g을 300 ml의 물에 약탕기(대웅, 한국)로 3 시간 가열 추출한 다음 여과한 후, 동결 건조하여 각각 건조분말을 얻었으며, 실험을 위하여 4°C 에 보관했다. 생리식염수 녹여 stock solution을 제조하였다. 제조된 stock solution은 -20°C 에 보관하면서 분석방법에 적합하도록 희석하여 사용하였다.

2) Mouse splenocytes 준비

C57BL/6 마우스로부터 spleen을 분리하여 micro slide glass로 잘게 으갠 뒤, $0.4 \mu\text{m}$ nylon cell strainer로 여과하였다. 1200rpm에서 10분간 원심분리 한 후 증류수를 이용하여 적혈구를 파괴하였다. Splenocyte를 세척하여 RPMI-1640으로 부유한 후 cell수를 측정하였다.

3) 세포 독성 분석

Spleen cell의 생존율은 밀집세포의 미토콘드리아 탈수소효소에 의해 자줏빛 formazan 생성물로 변하는 MTT환원을 바탕으로 MTT분석법으로 측정했다. 간단히 설명하면 지수성장을 하는 세포들은 RPMI-1640배지에서 동일한 밀도로 현탁하였고, 여러 가지 농도로 OMC-2010을 처리하였다. 48시간 동안 배양한 뒤 5 mg/ml의 농도로 배양하기 위해서 MTT용액을 첨가하고 다시 30분 동안 배양하였다. MTT-formazan 생성물은 DMSO를 첨가함으로써 용해했다. formazan의 양은 용해액을 96-well plate에 loading한 후, 540 nm에 흡수되는 양을 측정함으로써 결정했다.

4) mRNA 발현 측정

세포에 TriZol 1ml를 넣은 후 Chloroform 200 μl 를 넣고 vortexing한 후 12,000 rpm, 4°C 에서 15분 동안 원심분리 한 후 상층액을 분리하여, -20°C 에 보관된 isopropanol 500 μl 를 넣은 뒤 상온에서 30분 동안 놓아두었다. 이를 12,000 rpm, 4°C 에서 10분 동안 원심 분리하여 용액을 버리고 80% ethanol 1ml을 넣은 후 7,500 rpm, 4°C 에서 5분 동안 원심 분리하였다. ethanol을 버리고, DEPC treated water에 녹인 후 fluorometer를 이용하여 정량하였다. 동량의 mRNA를

cDNA로 합성 하였다. cDNA를 가지고 Taqman 방식으로 염증성 활성 물질을 측정 하였다. 각 primer와 probe는 Applied Bio systems (CA, USA)에서 구입하였다.

5) 통계 처리

실험 결과는 Mean ± SE로 표시하였고, 대조군과 실험군의 차이를 검정할 때에는 one way ANOVA로 검정하여 P값이 0.05 미만일 때 통계적으로 유의한 차이가 있는 것으로 판정하였다.

결 과

1. OMC-2010 구성약재가 세포 독성에 미치는 영향

OMC-2010 구성약재가 마우스 비장 세포의 대사 및 독성에 영향을 미쳐서 사이토카인 조절에 관여할 수 있음을 배제하기 위하여, 비장 세포에서 OMC-2010 구성약재인 숙지황(RG), 반하 (PT), 진피 (CUM), 감초 (GU), 길경 (PG), 오미자 (SC)를 48시간 동안 처리하여 세포 생존률을 관찰하였다. 그 결과, 아래 Fig. 1과 같이 OMC-2010 구성약재의 물추출과 에탄올 추출물은 마우스 비장세포에서 유의성 있는 세포 독성을 보이지 않았다 (Fig. 1).

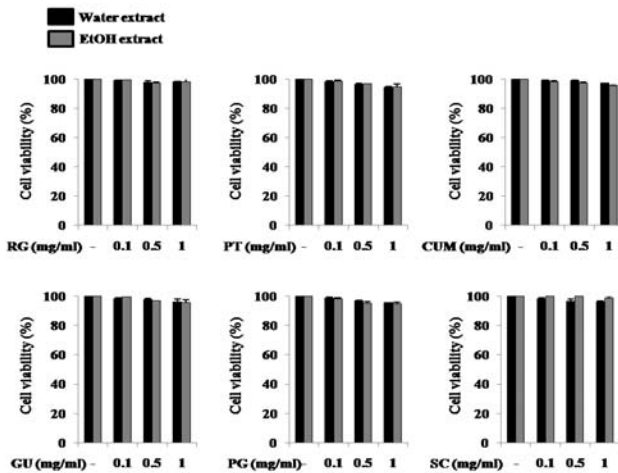


Fig. 1. The cytotoxicity of constituents of OMC-2010. The spleen cells were incubated with RG, PT, CUM, GU, PG, and SC as indicated doses for 48 h. The cell viability was measured by MTT assay. The results were similar in 3 additional experiments.

2. OMC-2010 구성약재 물 추출물이 TNF-α

분비에 미치는 영향

OMC-2010 구성약재 물 추출물이 마우스 비장세포에서 LPS로 유도한 TNF-α 발현에 미치는 영향을 조사하기 위해, 숙지황 (RG), 반하 (PT), 진피 (CUM), 감초 (GU), 길경 (PG), 오미자 (SC) 물 추출물을 마우스 비장세포에 1시간 동안 전처리한 후, LPS (1 μg/ml)를 48시간 동안 처리하여 비장 세포의 활성화 및 사이토카인 분비를 촉진시켰다. 그 결과, 숙지황 (RG) 물 추출물은 TNF-α 발현을 유의성 있게 억제하였으나, 반하 (PT), 진피 (CUM), 감초 (GU), 길경 (PG), 오미자 (SC)은 억제하지 못하였다 (Fig. 2).

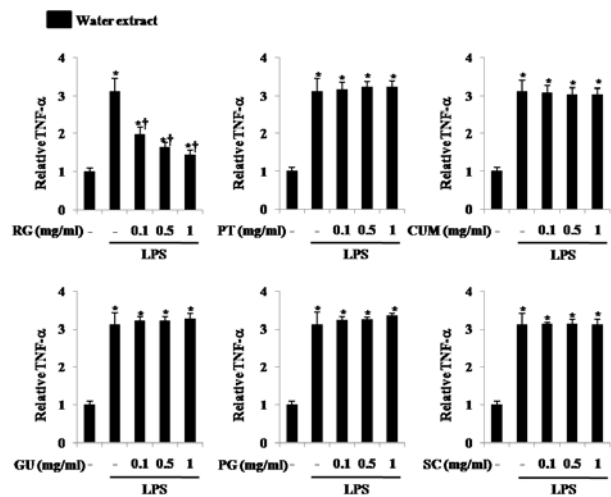


Fig. 2. Effect of water extract of constituents of OMC-2010 on the mRNA expression of TNF-α. The cells were pre-treated RG, PT, CUM, GU, PG, and SC water extract as indicated concentrations for 1 h, and then incubated with or without 1 μg/ml LPS for 48 h. Detail methods were described Materials and Methods. *P < 0.05 : significant as compared to saline, †P < 0.05 : significant as compared to LPS alone. The similar results were obtained from three additional experiments.

3. OMC-2010 구성약재 에탄올 추출물이 TNF-α

분비에 미치는 영향

OMC-2010 구성약재 에탄올 추출물이 마우스 비장세포에서 LPS로 유도한 TNF-α 발현에 미치는 영향을 조사하기 위해, 숙지황 (RG), 반하 (PT), 진피 (CUM), 감초 (GU), 길경 (PG), 오미자 (SC) 에탄올 추출물을 마우스 비장세포에 1시간 동안 전처리한 후, LPS (1 μg/ml)를 48시간 동안 처리하여 비장 세포의 활성화 및 사이토카인 분비를 촉진시켰다. 그 결과, 숙지황 (RG), 반하 (PT), 오미자 (SC) 에탄올 추출물은 TNF-α 발현을 유의성 있게 억제하였으나, 진피 (CUM), 감초 (GU), 길경 (PG)은 억제하지 못하였다 (Fig. 3).

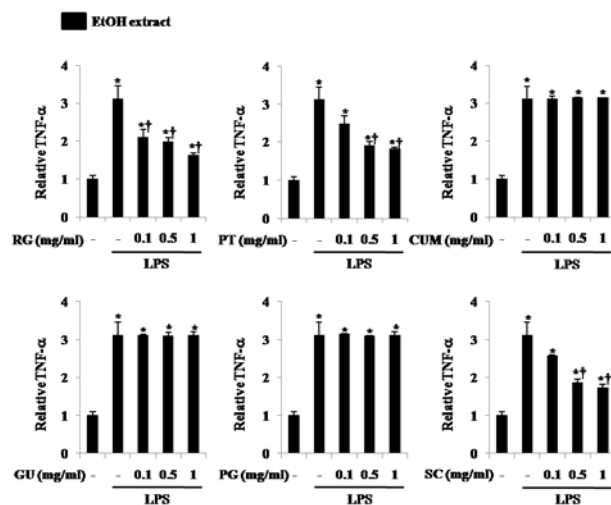


Fig. 3. Effect of ethanol extract of constituents of OMC-2010 on the mRNA expression of TNF-α. The cells were pre-treated RG, PT, CUM, GU, PG, and SC ethanol extract as indicated concentrations for 1 h, and then incubated with or without 1 μg/ml LPS for 48 h. Detail methods were described Materials and Methods. *P < 0.05 : significant as compared to saline, †P < 0.05 : significant as compared to LPS alone. The similar results were obtained from three additional experiments.

/ml LPS for 48 h. Detail methods were described Materials and Methods. *P < 0.05 : significant as compared to saline, †P < 0.05 : significant as compared to LPS alone. The similar results were obtained from three additional experiments.

4. OMC-2010 구성약재 물 추출물이 IL-5 분비에 미치는 영향

OMC-2010 구성약재 물 추출물이 마우스 비장세포에서 LPS로 유도한 IL-5 발현에 미치는 영향을 조사하기 위해, 숙지황 (RG), 반하 (PT), 진피 (CUM), 감초 (GU), 길경 (PG), 오미자 (SC) 물 추출물을 마우스 비장세포에 1시간 동안 전처리한 후, LPS (1 µg/ml)를 48시간 동안 처리하여 비장 세포의 활성화 및 사이토카인 분비를 촉진시켰다. 그 결과, 숙지황 (RG) 물 추출물은 IL-5 발현을 유의성 있게 억제하였으나, 반하 (PT), 진피 (CUM), 감초 (GU), 길경 (PG), 오미자 (SC)은 억제하지 못하였다 (Fig. 4).

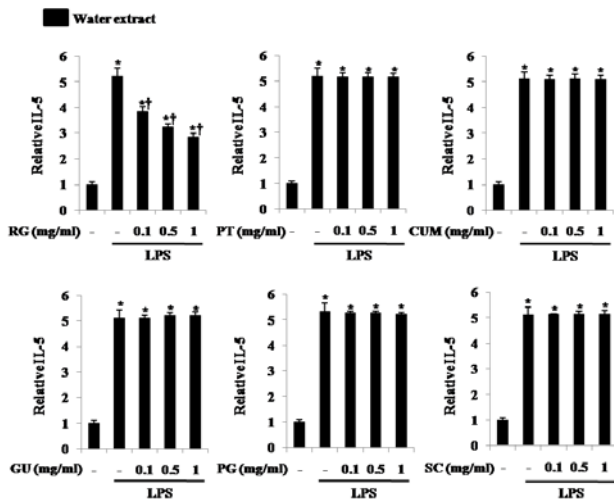


Fig. 4. Effect of water extract of constituents of OMC-2010 on the mRNA expression of IL-5. The cells were pre-treated RG, PT, CUM, GU, PG, and SC water extract as indicated concentrations for 1 h, and then incubated with or without 1 µg/ml LPS for 48 h. Detail methods were described Materials and Methods. *P < 0.05 : significant as compared to saline, †P < 0.05 : significant as compared to LPS alone. The similar results were obtained from three additional experiments.

5. OMC-2010 구성약재 에탄올 추출물이 IL-5 분비에 미치는 영향

OMC-2010 구성약재 에탄올 추출물이 마우스 비장세포에서 LPS로 유도한 IL-5 발현에 미치는 영향을 조사하기 위해, 숙지황 (RG), 반하 (PT), 진피 (CUM), 감초 (GU), 길경 (PG), 오미자 (SC) 에탄올 추출물을 마우스 비장세포에 1시간 동안 전처리한 후, LPS (1 µg/ml)를 48시간 동안 처리하여 비장 세포의 활성화 및 사이토카인 분비를 촉진시켰다. 그 결과, 숙지황 (RG), 반하 (PT), 오미자 (SC) 에탄올 추출물은 IL-5 발현을 유의성 있게 억제하였으나, 진피 (CUM), 감초 (GU), 길경 (PG)은 억제하지 못하였다 (Fig. 5).

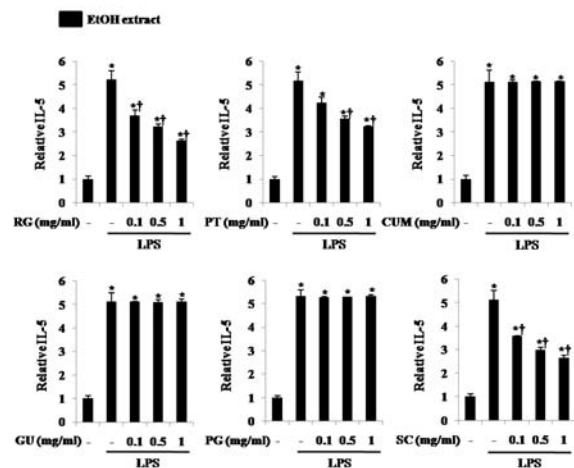


Fig. 5. Effect of ethanol extract of constituents of OMC-2010 on the mRNA expression of IL-5. The cells were pre-treated RG, PT, CUM, GU, PG, and SC ethanol extract as indicated concentrations for 1 h, and then incubated with or without 1 µg/ml LPS for 48 h. Detail methods were described Materials and Methods. *P < 0.05 : significant as compared to saline, †P < 0.05 : significant as compared to LPS alone. The similar results were obtained from three additional experiments.

고찰

본 연구에서는 OMC-2010가 보여준 면역 조절에 관여하는 전염증성 사이토카인인 TNF-α의 mRNA 발현 및 천식에 관여하는 Th2 사이토카인인 IL-5의 mRNA 발현을 조사하였다. 숙지황 에탄올 추출물과 숙지황, 반하, 오미자 물 추출은 TNF-α와 IL-5의 발현을 유의성 있게 억제함으로써 면역 조절 및 천식에 있어서 가능성을 보여주었다. 숙지황은 에탄올 및 물 추출물에서 동시에 TNF-α와 IL-5 억제함으로써, 숙지황 추출이 OMC-2010의 사이토카인 조절 효과의 주요 약재임을 나타내었고, 에탄올 추출물에 물 추출보다 더 유의한 성분이 있음을 직간접적으로 보여주었다.

숙지황 (*Rehmannia glutinosa*, RG)은 기존 보고에서도 아주 뛰어난 항염 효과로 유명한 약재이다⁹⁻¹². 구체적으로 숙지황 물 추출물은 마우스 뇌성상세포에서 TNF-α를 억제함으로써 염증을 억제하고⁹, 아토피성 피부염을 개선했다는 보고가 있다¹⁰. 또한 기억력 개선, 유래 성분의 대식세포 염증 억제 효과 등 그 효과 및 연구는 활발하다^{11,12}. 국내에서는 주로 숙지황의 補陰 효과에 초점을 맞추어 폐경 개선 효과, 남성 생식세포 항산화 효과 등이 연구되어 있다^{13,14}. 하지만 숙지황에 대한 국내의 연구는 아직 초기 단계이고, 비장세포를 통한 면역 조절 연구는 미비하다. 이 연구에서는 숙지황 물 추출 및 에탄올 추출물이 비장세포 염증 발생시, TNF-α와 IL-5의 발현을 억제하였고, 이는 숙지황이 기존에 보여주었던 피부염 개선 및 in vivo 상의 항염증 효과 등이 숙지황의 이러한 효과와 연관이 있지 않을까 사료된다.

반하와 오미자의 경우 물 추출과 에탄올 추출에 대한 천식 억제 효과와 항암 효과 등이 보고되어 있으나^{15,16}, 에탄올 추출물에 대한 효과는 아직 연구가 많이 이루어지지 않고 있다. 실제로 반하의 물 추출물의 경우, 천식 억제뿐만 아니라 T세포를 조절함이 알려져 있지만¹⁵, 실제로 본 연구에서는 반하 에탄올 추출물만이 사이토카인 분비를 억제하였고, 반하 물

추출물이 사이토카인의 분비를 억제하지 못하였다. 이는 in vivo와 in vitro실험상에서 약물 흡수 정도에 차이가 있을 수도 있고, in vivo와 in vitro간의 실험농도 차이에서 오는 차이가 있을 것으로 사료된다. 하지만 적어도 이 연구에서 반하물 추출물은 비장세포 염증을 억제하지 못하였고, 비장세포 염증에는 에탄올 추출물이 더 효과적이라고 생각할 수 있다.

본 연구에서는 OMC-2010의 구성약재를 물과 에탄올로 추출하여, TNF- α 와 IL-5의 발현을 분석하고, 그 효과를 비교하였다. 숙지황을 제외한 구성약재들은 추출 용매에 따라 약효가 크게 달랐으며, 숙지황은 물 추출과 에탄올 추출 모두에서 TNF- α 와 IL-5의 발현을 억제하였다. 다만 반하, 오미자 에탄올 추출물은 물 추출과 다르게 TNF- α 와 IL-5의 발현을 억제하는 효과를 보여주었는데, 이는 반하, 오미자 에탄올 추출물에 비장세포 염증을 억제하는 유효성분이 다수 포함된 걸로 추측할 수 있다. TNF- α 와 IL-5의 발현 억제에서는 구성약재들의 에탄올 추출물이 물 추출물에 비하여 유효한 약재들이 월등하게 많이 존재하기에, 에탄올 추출물이 효과가 월등할 것 같지만, 전 연구에서⁸⁾ 효능은 물 추출물이 탁월했기에, 혼합추출에 따른 성분 변화 및 유효 성분 추가로 생각이 된다. 단일 추출과, 혼합 추출에 따른 성분 분석에 대하여 추가적인 실험이 이루어져야 할 것으로 생각된다.

결론

OMC-2010 구성약재 (숙지황 (RG), 반하 (PT), 진피 (CUM), 감초 (GU), 길경 (PG), 오미자 (SC)) 추출물의 면역 조절 능력을 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 숙지황 (RG), 반하 (PT), 진피 (CUM), 감초 (GU), 길경 (PG), 오미자 (SC) 물 추출물 및 에탄올 추출물은 비장 세포에서 세포 독성을 보이지 않았다.
2. 숙지황 물 추출물과 숙지황, 반하, 오미자 에탄올 추출물은 TNF- α 의 발현을 유의성 있게 억제하였다.
3. 숙지황 물 추출물과 숙지황, 반하, 오미자 에탄올 추출물은 IL-5의 발현을 유의성 있게 억제하였다.

이상의 결과, 숙지황 물 추출물과 숙지황, 반하, 오미자 에탄올 추출물은 비장세포에서 TNF- α 와 IL-5의 생성을 유의성 있게 억제하였으며, OMC-2010 물 추출에서는 숙지황, OMC-2010 에탄올 추출에서는 숙지황, 반하, 오미자가 주로 작용할 것으로 추측된다. 하지만 단일 추출과 혼합 추출에 따른 변화가 가능하므로 추가 연구가 필요할 것으로 사료된다.

감사의 글

이 연구는 충청북도 바이오국제공동연구사업[OMC-2010 기관지 천식치료제 개발]의 지원에 의하여 이루어졌습니다.

참고문헌

1. Lichtor T, Glick RP. Immunogene therapy. *Adv Exp*

Med Biol, 2012 ; 746 : 151-65.

2. Del Portillo HA, Ferrer M, Brugat T, Martin-Jaular L, Langhorne J, Lacerda MV. The role of the spleen in malaria. *Cell Microbiol*, 2012 ; 14(3) : 343-55.

3. Tan JK, O'Neill HC. In vitro haematopoiesis of a novel dendritic-like cell present in murine spleen. *Curr Stem Cell Res Ther*, 2010 ; 5(4) : 367-71.

4. Van den Eertwegh AJ, Boersma WJ, Claassen E. Immunological functions and in vivo cell-cell interactions of T cells in the spleen. *Crit Rev Immunol*, 1992 ; 11(6) : 337-80.

5. De Sousa M. T lymphocytes and iron overload: novel correlations of possible significance to the biology of the immunological system. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 1992 ; 87 Suppl 5 : 23-9.

6. Chaplin DD. Regulation of spleen white pulp structure and function by lymphotoxin. *Adv Exp Med Biol*, 2002 ; 512 : 49-56.

7. Adorini L, Penna G, Giarratana N, Uskokovic M. Tolerogenic dendritic cells induced by vitamin D receptor ligands enhance regulatory T cells inhibiting allograft rejection and autoimmune diseases. *J Cell Biochem*, 2003 ; 88(2) : 227-33.

8. Bae GS, Park KC, Choi SB, Jo IJ, Seo SW, Kim JJ, Shin YK, Kim MS, Park KH, Kim HS, Song HJ, Park SJ. Effects of OMC-2010 extracts on cytokine productions in mouse spleen cells. *Korean J Herbol*, 2012 ; 27(5) : 21-5.

9. Kim HM, An CS, Jung KY, Choo YK, Park JK, Nam SY. *Rehmannia glutinosa* inhibits tumour necrosis factor- α and interleukin-1 secretion from mouse astrocytes. *Pharmacol Res*, 1999 ; 40(2) : 171-6.

10. Sung YY, Yoon T, Jang JY, Park SJ, Kim HK. Topical application of *Rehmannia glutinosa* extract inhibits mite allergen-induced atopic dermatitis in NC/Nga mice. *J Ethnopharmacol*, 2011 ; 134(1) : 37-44.

11. Lee B, Shim I, Lee H, Hahm DH. *Rehmannia glutinosa* ameliorates scopolamine-induced learning and memory impairment in rats. *J Microbiol Biotechnol*, 2011 ; 21(8) : 874-83.

12. Han Y, Jung HW, Lee JY, Kim JS, Kang SS, Kim YS, Park YK. 2,5-dihydroxyacetophenone isolated from *Rehmanniae Radix Preparata* inhibits inflammatory responses in lipopolysaccharide-stimulated RAW264.7 macrophages. *J Med Food*, 2012 ; 15(6) : 505-10.

13. Chang MS, Yang WM, Yu TW, Kim DR, Park EH, Ko EB, Choi MJ, Kim HY, Oh JH, Shim KJ, Yoon J, Park SK. Antioxidant effects of *Rehmanniae radix preparat* in GC-1 Cells. *Korean J Herbol*, 2007 ; 22(4) : 81-6.

14. Cho SI, Effects of Rehmanniae Radix Preparat on Ovariectomized Rats, Korean J Herbol, 2005 ; 20(4) : 61-7.
15. Lee YC, A Therapeutic Effect of Pinellia Ternata via the Increase of CD4+CD25+ Regulatory T Cells and the Suppression of CD3+CCR3+ Cellular Infiltration During Allergic Airway Inflammation, Korean J Herbol, 2009 ; 24(1) : 73-8.
16. Moon JM, Seok GH, Cho SI, Antiproliferative effect of Schisandrae Fructus extract on PC-3 human prostate cancer cells, Korean J Herbol, 2012 ; 27(4) : 17-23.