

Schizandrin에 의한 호염구와 비만세포의 Th2 관련 사이토카인 발현 억제

정화현 · 윤수정 · 표명운*
숙명여자대학교 약학대학

Suppression of Th2-associated Cytokines Expression by Schizandrin in Basophils and Mast Cells

Hwa-hyun Jeong, Soo-jeong Yoon and Myoung-yun Pyo*

College of Pharmacy, Sookmyung Women's University, Seoul 140-742, Korea

Abstract – Schizandrin (SZ), was isolated from the fruit of *Schizandra chinensis*, has been reported to have many biological properties, including anti-inflammatory and antitumor activities. However, its anti-allergic effects are not completely elucidated. We focused on the anti-allergic effects of SZ in PMA/ionomycin (PI)-induced rat basophilic leukemia (RBL-2H3) cells and P815 mast cells. Cytokines (IL-4, IL-13), synthesized by basophils and mast cells, are implicated in pathological conditions such as asthma and allergy. The production of IL-4 and IL-13 was quantified by ELISA and the mRNA expression was detected by using RT-PCR assay. In this study, we found that SZ did not show cytotoxic effect at up to 100 μ M on RBL-2H3 cells and mast cells. In addition, SZ inhibited the production of IL-4 and IL-13 and also decreased the level of mRNA in PI-induced RBL-2H3 cells and mast cells in a dose-dependent manner. Thus, we suggest that SZ may have the effect on preventing allergic disorders by inhibiting IL-4 and IL-13 cytokines.

Key words – Schizandrin, Anti-allergy, Basophile, Mast cell, IL-4, IL-13

즉시과민 반응은 알러지 혹은 아토피라고도 하며, 천식, 아토피 질환, 알러지성 비염 등을 포함하는 가장 흔한 면역계통의 질환으로 전 인구의 약 20%가 갖고 있는 것으로 추산된다. 알러지 반응에 관여하는 주된 세포는 비만세포로, 알러지 반응이 일어나는 순서는 항원에 대한 반응으로 IgE 항체가 생산되고, 생산된 IgE는 비만세포의 표면에 존재하는 Fc수용체와 결합한다. 그리고 결합된 IgE가 항원에 의해 비만세포를 활성화하여 세포의 과립 내에 저장되어 있던 히스타민, 류코트리엔류 대사물질 및 염증반응을 일으키는 사이토카인을 분비한다.¹⁾ 이 과정에서 항원에 의해 생산되는 IgE는 Type-2 helper T cell (Th2)의 활성화에 의해 생산되는데, Th2가 분비하는 두 종류의 사이토카인, 인터루킨-4 (Interleukin-4, IL-4)와 IL-13이 B림프구를 자극하여 IgE를 생산하는 형질세포로 전환시킨다.²⁻⁴⁾ IL-4는 B세포의 성장 인자로서 면역글로불린의 Ig 중쇄를 IgE 동형으로 전환하도록 자극한다. B세포에서 생산된 알러지 항원에 특이적인

IgE는 순환계로 이동해 비만세포에서 발견되는 Fc 수용체에 결합하며 비만세포를 감작시킨다.⁵⁾ 반면 IL-13은 기관지 상피세포나 기관지 평활근 세포를 자극하여 이오탁신(eotaxin)의 분비를 증가시키고, 호산구 화학주성을 유발하는 강력한 인자로 알려져 있다. IL-13은 IL-4와 수용체를 공유하여 IL-4와 유사 작용을 나타낸다.⁶⁾ 현재까지 여러 연구에 의해 Th2 세포에서 생성되는 IL-4와 IL-13이 직접, 간접적으로 알러지 반응에 밀접한 관계가 있다고 보고되어 있다. 유전자 변형된 IL-4단백질과 IL-4 수용체 길항제를 마우스의 유전자에 삽입한 후 알러지원을 감작시켰을 때, IL-4와 IL-13에 의해 유도된 마우스의 기도 과민반응과 호산구 증가증이 감소되었고, 아토피 피부염 환자에게서 B세포와 T세포를 감소시켰을 때 피부염 증상이 개선되었으며 IL-13역시 감소하였다.^{7,8)} 또한 최근 연구에 따르면 IL-4와 IL-13이 염증 유발 단백질인 periostin의 생성을 자극해 만성 알러지성 염증을 유발한다고 보고되었다.⁹⁾ 알러지 반응의 유발에서 가장 핵심적인 역할을 하는 세포는 비만세포와 호염구이며, 특히 RBL-2H3 세포는 세포 표면의 IgE 수용체의 발현과 Th2 면

*교신저자(E-mail): mypyo@sookmyung.ac.kr
(Tel): +82-2-710-9573

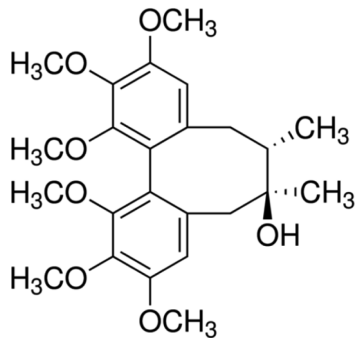


Fig. 1. Structure of Schizandrin Isolated from *Schizandrachinensis*

역반응을 유발하는 사이토카인의 발현, 히스타민의 분비 등 비만세포와 유사한 특징들을 나타낸다. 따라서 RBL-2H3 세포는 비만세포와 함께 IL-4 및 IL-13 사이토카인 분비에 관여하는 약물의 효과를 연구하는데 좋은 실험모델로 알려져 있다.¹⁰⁻¹²⁾

오미자(*Schizandra chinensis* Baillon)는 예로부터 한국, 중국, 일본 등에서 약용작물로 사용되고 있으며, 오미자에서 추출된 유효성분인 schizandrin (SZ, Fig. 1)은 간기능 강화,¹³⁾ 항염증작용,¹⁴⁾ 항암작용,^{15,16)} 건망증 예방,¹⁷⁾ 항산화작용,¹⁸⁾ 고혈압 예방¹⁹⁾ 등의 생리적 기능을 가진다. 항알러지 작용에 대한 기존의 연구들에서 SZ가 OVA로 감작된 mice의 혈청 IgE의 농도를 낮추고, DNCB (1-chloro-2,4-dinitrobenzene)로 유도된 NC/Nga mice의 아토피 피부염을 억제하였으며, compound 48/80으로 활성화된 비만세포와 IgE로 활성화된 RBL-2H3세포에서 TNF- α 와 IL-4의 발현을 억제해 항알러지의 효과를 가진다는 보고가 있으나, 이에 대한 세포 분자적 기전에 대한 연구는 아직 완전히 밝혀지지 않은 상태이다.²⁰⁻²²⁾

따라서 본 연구자는 PMA/ionomycin (PI)으로 자극된 호염구와 비만세포를 타겟세포로 하여 SZ를 가하여 알러지 유발 매개물질인 IL-4와 IL-13의 변화를 관찰하고 이들의 mRNA의 발현 정도를 살펴 SZ의 항알러지 작용을 세포 분자적 수준에서 이해함으로써 알러지 질환의 예방을 위한 기능성 소재 개발로의 가능성을 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

실험재료 - SZ는 Wako (197-13551, Wako Pure Industries, Ltd. Osaka, Japan) 에서 구매하였으며, DMSO에 희석한 후 세포에 처리하기 위해 0.20 μ m 필터로 여과하여 -20°C에 보관하였다.

RBL-2H3세포와 P815 비만세포의 세포주 - RBL-2H3 세포주는 American Type Culture Collection (ATCC, Rockville, MD)에서 구매하였으며, Antibiotic-Antimycotic을

함유한 15% FBS-EMEM을 첨가하여 37°C, 5% CO₂에서 배양하였다.

P815 비만세포의 세포주는 American Type Culture Collection (ATCC, Rockville, MD)에서 구매하였으며, Antibiotic-Antimycotic을 함유한 10% FBS-DMEM을 첨가하여 37°C, 5% CO₂에서 배양하였다.

Cell Viability - SZ의 세포독성을 알아보기 위하여 MTT assay를 수행하였다. RBL-2H3 세포와 P815 비만세포(7×10^5 cells/ml)를 96 well plate에 100 μ l/well로 분주하여 16 시간 부착시킨 후 1.57, 3.13, 6.25, 12.5, 25, 50, 100 μ M의 SZ를 처리하여 37°C, 5% CO₂에서 24시간 배양하였다. 이 후 50 μ l의 MTT 시약(3 mg/ml)을 넣고 37°C에서 4시간 동안 배양하여 crystal violet을 형성하게 하였고, 배양이 끝난 후에 배지를 제거한 후 50 μ l의 DMSO를 넣고 formazan을 용해시킨 뒤 ELISA microplate reader를 이용하여 540 nm의 파장에서 흡광도를 측정하였다.

Cytokine Assay - RBL-2H3 세포(3×10^5 cells/ml)를 48 well plate에 250 μ l/well로 분주하여 4시간 부착시킨 후 1 μ M의 Cyclosporin A (CsA)와 7.5, 15, 30 μ M의 SZ를 처리하고 1시간 뒤 PMA (50 ng/ml)와 ionomycin (0.5 μ M)을 가하여 37°C, 5% CO₂에서 16시간 배양하였다. 이 후 상등액을 취해 상등액 중의 사이토카인(IL-4, IL-13)을 ELISA kit (BD Science, Invitrogen)를 이용하여 그 농도를 측정하였다.

P815 비만세포 (5×10^5 cells/ml)를 48 well plate에 250 μ l/well로 분주하여 4시간 부착시킨 후 1 μ M의 CsA와 7.5, 15, 30 μ M의 SZ를 처리하고 1시간 뒤 PMA (10 ng/ml)와 ionomycin (0.25 μ M)을 가하여 37°C, 5% CO₂에서 16시간 배양하였다. 이 후 상등액을 취해 상등액 중의 사이토카인(IL-4, IL-13)을 ELISA kit를 이용하여 그 농도를 측정하였다.

RT-PCR - RBL-2H3 세포(3×10^5 cells/ml)를 6 well plate에 2 ml/well로 분주하여 16시간 부착시킨 후 1 μ M의 CsA와 7.5, 15, 30 μ M의 SZ를 처리하고 1시간 뒤 PMA (50 ng/ml)와 ionomycin (0.5 μ M)을 가하여 37°C, 5% CO₂에서 6시간 배양하였다. 배양액을 제거하고 500 μ l의 TRIzol 시약 (Invitrogen)을 가하여 세포를 용해 시키고 200 μ l의 CHCl₃를 가한 뒤 원심분리 후 수층 200 μ l를 취하고 동량의 isopropanol을 가하였다. 원심분리 후 미색침전으로 얻어진 RNA에 가한 후 45°C에서 1시간, 95°C에서 5분 간 반응시켜 cDNA로 전환하였다. 얻어진 cDNA 3 μ l와 primer (Table I), polymerase (enzymomix)를 반응시켜 PCR thermal cycler에서 DNA를 증폭하였다(β -actin, IL-4 : 95°C-30초, 57°C-45초, 72°C-30초 32cycles, IL-13 : 95°C-30초, 52°C-40초, 72°C-30초 40cycles). 증폭된 DNA의 특정 band를 확인하기 위해 1% agarose gel (0.01% rthidium bromide 포함)에 전개시켜 DNA image로 특정 band를 확인함으로써 mRNA

Table I. Sequences of primer used for RT-PCR.

Gene	Primer	Sequence
Rat IL-4	Sense	5'-ATGGGTCTCAACCCCCAGC-3'
	Antisense	5'-GCTCTTTACGCTTTCCAGGAAGTC-3'
Rat IL-13	Sense	5'-GGAGCTGAGCAACATCACACA-3'
	Antisense	5'-GGTCCTGTAGATGGTGGCATTGCA-3'
Rat β -actin	Sense	5'-ACCGTGAAAAGATGACCCAG-3'
	Antisense	5'-TGTCAGCTGTGGTGGTGAAG-3'
Mouse IL-4	Sense	5'-ACCTTGCTGTCACCCTGTTC-3'
	Antisense	5'-TTGTGAGCGTGGACTCATTC-3'
Mouse IL-13	Sense	5'-GACCCAGAGGATATTGCATG-3'
	Antisense	5'-CCAGCAAAGTCTGATGTGAG-3'
Mouse β -actin	Sense	5'-TAACCAACTGGGACGATATG-3'
	Antisense	5'-ATACAGGGACAGCACAGCCT-3'

발현정도를 측정하였다.

P815 비만세포(5×10^5 cells/ml)를 6 well plate에 2 ml/well로 분주하여 16시간 부착시킨 후 1 μ M의 CsA와 7.5, 15, 30 μ M의 SZ을 처리하고 1시간 뒤 PMA (10 ng/ml)와 ionomycin (0.25 μ M)을 가하여 37°C, 5% CO₂에서 6시간 배양하였다. 배양액을 제거하고 500 μ l의 TRIzol 시약을 가하여 세포를 용해 시키고 200 μ l의 CHCl₃를 가한 뒤 원심 분리 후 수층 200 μ l를 취하고 동량의 iso-propanol을 가하였다. 원심분리 후 미색침전으로 얻어진 RNA에 가한 후 45°C에서 1시간, 95°C에서 5분 간 반응시켜 cDNA로 전환하였다. 얻어진 cDNA 3 μ l와 primer (Table I), polymerase (enzymomix)를 가한 후 PCR thermal cycler에서 DNA를 증폭하였다(β -actin, IL-4 : 95°C-30초, 57°C-30초, 72°C-30초 32cycles, IL-13 : 95°C-30초, 52°C-45초, 72°C-30초 40cycles). 증폭된 DNA의 특정 band를 확인하기 위해 1% agarose gel (0.01% rthidium bromide 포함)에 전개시켜 DNA image로 특정 band를 확인함으로써 mRNA 발현 정도를 측정하였다.

통계처리 - 본 실험에서 얻은 실험결과는 mean \pm S.D. 값으로 표시하였고, 실험군 간의 데이터는 student's *t*-test로 분석하여 유의성을 검정하였으며, *p*값이 0.05 이하인 것만을 통계적으로 유의성이 있는 것으로 간주하였다.

결 과

Schizandrin이 RBL-2H3 세포와 P815 비만세포 생존율에 미치는 영향 - Schizandrin (SZ)을 다양한 농도로 RBL-2H3 세포와 P815 비만세포에 24시간 처리하고 MTT assay를 실시해 세포 생존율을 살펴보았다. 무처리군을 대조군으로 하여 100%로 나타냈을 때, schizandrin 1.56~100 μ M 농

Table II. Effect of Schizandrin on cell viability of RBL-2H3 cells and P815 mast cells

Concentration (μ M)	Cell viability (%)	
	RBL-2H3 cell	P815 mast cell
0	100 \pm 3.11	100 \pm 2.7
1.56	124.8 \pm 2.1***	107.3 \pm 1.3*
3.13	116.9 \pm 0.9*	106.2 \pm 1.0*
6.25	126.4 \pm 4.5*	106.2 \pm 0.8*
12.5	101.7 \pm 1.1	106.0 \pm 1.2*
25	123.5 \pm 3.6***	106.8 \pm 0.9*
50	150.5 \pm 9.0*	103.7 \pm 1.8
100	135.9 \pm 5.3**	105.4 \pm 3.0

RBL-2H3 cells and P815 mast cells were treated with various concentration of schizandrin for 24 hr, and then cell viability was measured by MTT assay. Relative cell viability was calculated by comparing with the schizandrin non-treated group. Values are expressed as means \pm SD from three-independent experiments. *: *p*<0.05, **: *p*<0.01, ***: *p*<0.001

도 사이에서 세포 생존율에 큰 영향을 미치지 않았다(Table II).

Schizandrin이 PI로 유도된 RBL-2H3 세포의 IL-4와 IL-13 생성에 미치는 영향 - SZ가 RBL-2H3 세포에서 PI의 유도에 의한 IL-4와 IL-13 생성에 미치는 영향에 대해 알아보기 위하여, RBL-2H3 세포에 CsA, SZ를 1시간 동안 전처리 한 다음, PI를 처리하여 16시간 활성화시킨 후에 상등액에 분비된 IL-4와 IL-13을 ELISA 방법으로 측정하였다. 그 결과, 정상 세포에 비해 PI만 처리한 세포의 IL-4와 IL-13 생성량이 각각 4383.9 pg/ml와 2431.9 pg/ml로 크게 증가하였고, 따라서 PI가 RBL-2H3 세포의 반응을 증가시켰음을

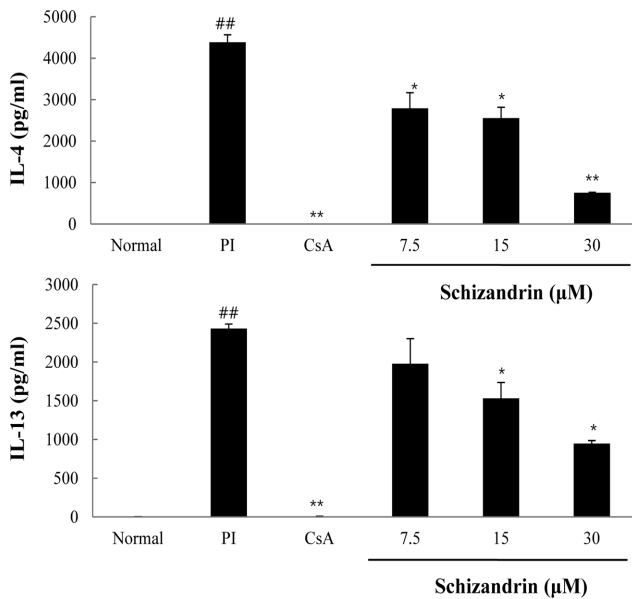


Fig. 2. Suppressive effects of schizandrin on IL-4 and IL-13 cytokine production in RBL-2H3 cells. The cells were pre-treated with schizandrin, 1 μM of CsA for 1 hr, and then stimulated with 50 ng/ml of PMA and 0.5 μM of ionomycin for 16 hr. The levels of IL-4 and IL-13 in RBL-2H3 cells were determined by ELISA. Values are expressed as means±SD from three independent experiments. ^{##}p <0.01, vs. normal group. ^{*}p <0.05; ^{**}p <0.01; vs. PI-treated group.

확인할 수 있었다. PI와 CsA를 함께 처리한 세포의 IL-4와 IL-13 생성량은 각각 1.6 pg/ml와 4.9 pg/ml로 PI에 의해 유도된 IL-4와 IL-3의 생성을 CsA가 감소시켰다. SZ 처리군에서 IL-4와 IL-13 생성이 농도 의존적으로 억제 되었으며 PI에 의해 증가한 IL-4, IL-13 수치와 비교했을 때, SZ 30 μM 처리군에서 IL-4와 IL-13의 생성이 755.32 pg/ml와 948.12 pg/ml로 각각 약 83%와 61% 감소시켰으므로 SZ의 IL-4와 IL-13의 억제 효과가 매우 큰 것을 알 수 있었다(Fig. 2).

Schizandrin이 PI로 유도된 P815 비만 세포의 IL-4와 IL-13 생성에 미치는 영향 - SZ가 P815 비만세포에서 PI의 유도에 의한 IL-4와 IL-13 생성에 미치는 영향에 대해 알아보기 위하여, P815 비만세포에 CsA, SZ을 1시간 동안 전처리 한 다음, PI을 처리하여 16시간 활성화시킨 후에 상등액에 분비된 IL-4와 IL-13을 ELISA 방법으로 측정하였다. 그 결과, 정상 세포에 비해 PI만 처리한 세포의 IL-4와 IL-13 생성량이 각각 2546.7 pg/ml와 788.3 pg/ml로 증가하였고, 따라서 PI가 P815 비만세포의 반응을 증가시켰음을 확인할 수 있었다. PI와 CsA를 함께 처리한 세포의 IL-4와 IL-13 생성량은 각각 328.1 pg/ml와 473.2 pg/ml로 PI에 의해 유도된 IL-4와 IL-3의 생성을 감소시켰다. SZ 처리군에서 IL-4와 IL-13 생성이 농도 의존적으로 억제 되었으며 PI에 의해

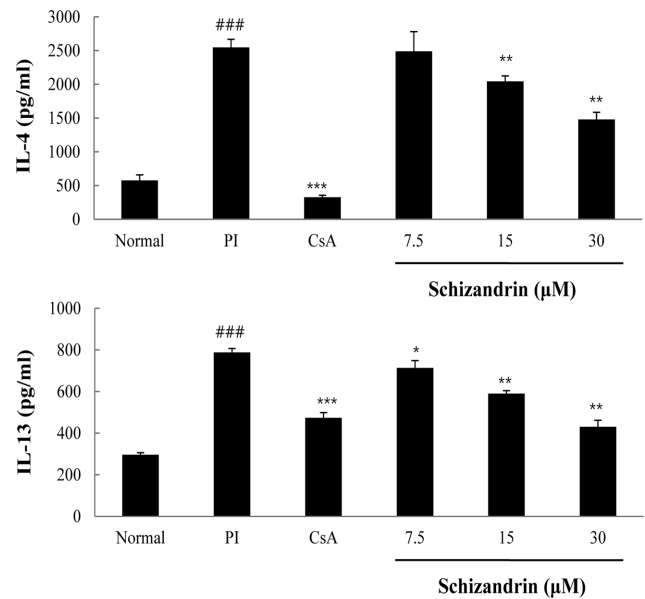


Fig. 3. Suppressive effects of schizandrin on IL-4 and IL-13 cytokine production in P815 mast cells. The cells were pre-treated with schizandrin, 1 μM of CsA for 1 hr, and then stimulated with 10ng/ml of PMA and 0.25 μM of ionomycin for 16 hr. The levels of IL-4 and IL-13 in P815 cells were determined by ELISA. Values are expressed as means±SD from three independent experiments. ^{###}p <0.001 vs. normal group. ^{*}p <0.05; ^{**}p <0.01; ^{***}p <0.001; vs. PI-treated group.

증가한 IL-4, IL-13 수치와 비교했을 때, SZ 30 μM 처리군에서 IL-4와 IL-13의 생성이 1480.17 pg/ml와 430.49 pg/ml로 각각 42%와 45% 감소시켰으므로 SZ는 PI로 유도된 IL-4와 IL-13의 생성을 억제하는 작용을 보였다(Fig. 3).

Schizandrin이 PI로 유도된 RBL-2H3 세포의 IL-4와 IL-13 유전자 발현에 미치는 영향 - SZ가 RBL-2H3 세포에서 PI의 유도에 의한 IL-4와 IL-13 유전자 발현에 미치는 영향에 대해 알아보기 위하여, RBL-2H3 세포에 CsA, SZ을 1시간 동안 전처리 한 다음, PI을 처리하여 6시간 활성화한 후, 세포를 얻어 RNA를 분리하고 cDNA를 제조하여 RT-PCR 방법으로 mRNA 발현 정도를 측정하였다. 그 결과, 정상 세포에 비해 PI만 처리한 세포에서 그 발현량이 크게 증가하였고, SZ 처리군에서 농도 의존적으로 IL-4와 IL-13의 mRNA의 발현이 억제되었다(Fig. 4).

Schizandrin (SZ)이 PI로 유도된 P815 비만세포의 IL-4와 IL-13 유전자 발현에 미치는 영향 - SZ가 P815 비만세포에서 PI의 유도에 의한 IL-4와 IL-13 유전자 발현에 미치는 영향에 대해 알아보기 위하여, P815 비만세포에 CsA, SZ을 1시간 동안 전처리 한 다음, PI을 처리하여 6시간 활성화한 후, 세포를 얻어 RNA를 분리하고 cDNA를 제조하여 RT-PCR 방법으로 mRNA 발현 정도를 측정하였다. 그 결과, 정상 세포에 비해 PI만 처리한 세포에서 그 발현량이

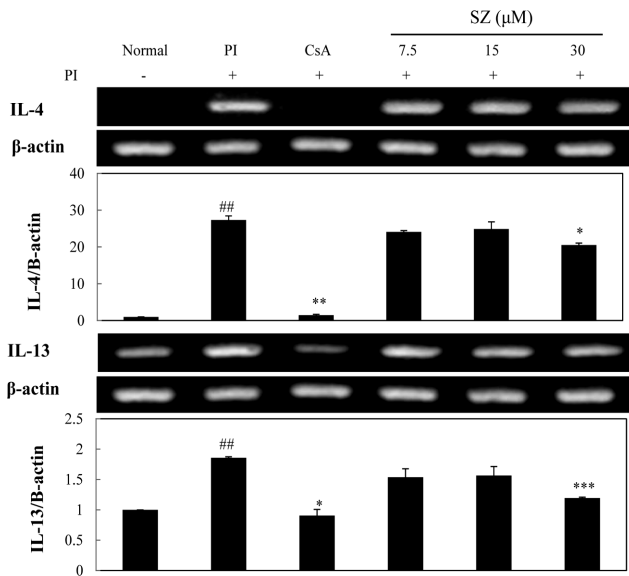


Fig. 4. Inhibitory effects of schizandrin on cytokine mRNA expression in RBL-2H3 cells. RBL-2H3 cells were pre-treated with various concentrations of schizandrin, 1 μ M of CsA for 1 hr, and then stimulated with 50ng/ml of PMA and 0.5 μ M of ionomycin for 6 hr. Cellular RNA from each treatment was extracted and the mRNA expression for cytokine in RBL-2H3 cells was analyzed by RT-PCR. ^{##}p <0.01 vs. normal group. *p <0.05; **p <0.01; ***p <0.001; vs. PI-treated group.

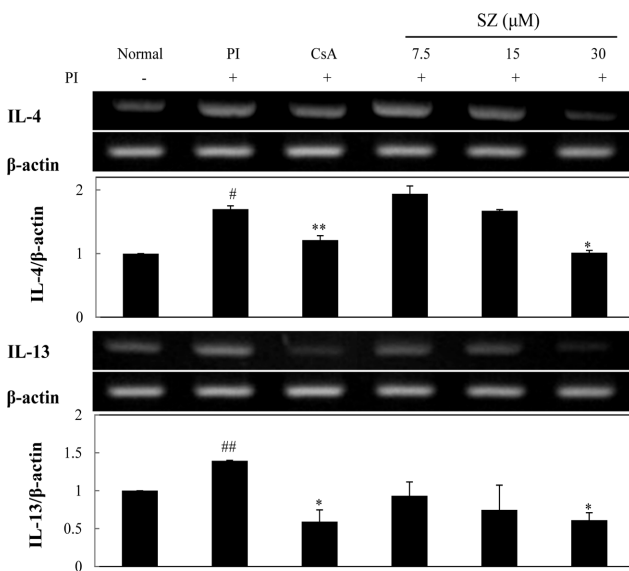


Fig. 5. Inhibitory effects of schizandrin on cytokine mRNA expression in P815 mast cells. P815 mast cells were pre-treated with various concentrations of schizandrin, 1 μ M of CsA for 1 hr, and then stimulated with 10ng/ml of PMA and 0.25 μ M of ionomycin for 6 hr. Cellular RNA from each treatment was extracted and the mRNA expression for cytokine in P815 mast cells was analyzed by RT-PCR. ^{##}p <0.01 vs. normal group. *p <0.05; **p <0.01; vs. PI-treated group.

증가하였고, SZ 30 μ M 처리군에서 IL-4의 mRNA의 발현이 억제됨을 알 수 있었고, 반면 농도의존적으로 IL-13의 mRNA의 발현이 억제되었다(Fig. 5).

고찰

최근 천연물을 이용해 선천면역계의 조절을 통해 알러지 질병을 치료하려는 연구가 활발하게 이루어지고 있다. 현재 알러지에 대한 치료제로 항히스타민제, 스테로이드제, 면역억제제인 tacrolimus, cyclosporin 등이 사용되고 있으나, 그 효과가 일시적이고 제한적이어서 근본적인 치료가 미흡하고 장기적으로 사용할 경우 성장지연, 백내장, 고혈압, 신기능 장애 등 부작용이 문제되고 있기 때문이다.²³⁾ 따라서 인체에 대한 안전성이 보장되어 있고, 주위에서 흔하게 접할 수 있는 천연물을 대상으로 알러지 질환을 예방할 수 있는 유효 물질을 찾아내는 것이 중요하다.

본 연구에서 저자는 오미자의 추출물인 SZ를 이용하여 SZ가 호염구와 비만세포에서 Th2 사이토카인의 발현을 억제하는 효과를 보여 SZ의 항알러지 물질로의 가능성을 확인하였다. PI로 활성화 된 호염구와 비만세포에서 분비된 Th2 면역반응을 유발하는 사이토카인인 IL-4와 IL-13의 발현이 SZ에 의해 억제되었는데, PMA 및 ionomycine 은 비만세포를 자극하여 세포내 Ca²⁺ 유입과 증가를 유도하는데 증가된 Ca²⁺은 비만세포를 활성화시키는 필수적인 매개인자로 여겨지고 있다.²⁴⁾ SZ에 의한 IL-4의 억제는 IgE가 유도된 RBL-2H3 세포를 이용한 실험과 OVA로 감작된 mice 모델의 기관지 세포를 이용한 실험 등에서 얻은 결과와 일치한다.^{20,22)} 알러지성 천식, 아토피 피부염이 유도된 동물 시험에서도 SZ에 의해 IL-4를 비롯한 Th2 사이토카인과 혈청 IgE 발현이 억제되었고, 알러지 증상이 완화되었음이 보고되었다.^{20,21)}

반면 SZ에 의한 IL-13의 억제는 아직까지 보고된 바가 없으나, 오미자의 물 추출물을 IgE로 유도된 RBL-2H3 세포에 처리하였을 때 IL-13의 발현이 억제되었음을 확인하였다.²⁵⁾ 또한 마우스에 IL-13을 투여하였을 때 폐에서 천식과 유사한 기관지 과민성이 관찰되었고, IL-13을 제거하였을 때 호산구 침착, 기관지 과민성, 점액 과분비 등이 억제된다는 연구 결과를 통해 IL-13을 억제하는 작용이 알러지 질환을 완화시킬 수 있음을 예상할 수 있다.²⁶⁾ 본 연구 결과에서 SZ가 IL-4 및 IL-13의 생성과 발현을 하향 조절할 수 있음을 확인하였다. Chung 등²⁵⁾과 Chae 등²⁷⁾에 따르면 RBL-2H3 세포와 골수유래 비만세포에 각각 오미자의 물 추출물과 오미자의 다른 유효성분인 Gomisin N을 처리했을 때, 세포의 탈과립을 나타내는 지표인 β -hexosaminidase의 분비를 억제한다는 결과가 있다. 이를 바탕으로 SZ도 β -hexosaminidase의 분비를 억제할 것으로 사료된다.

결 론

Schizandrin (SZ)의 Th2관련 사이토카인의 발현 억제 작용을 알아보기 위해 PI로 자극된 RBL-2H3 세포와 P815 비만세포의 IL-4와 IL-13의 생성 정도를 실험한 결과, 뚜렷한 IL-4와 IL-13의 생성 억제 효과를 확인하였다. 또한 IL-4와 IL-13유전자의 발현 정도를 실험한 결과, SZ 처리시간, 처리농도에 따라 발현 억제 정도는 달랐으나 RBL-2H3 세포와 P815 비만세포의 SZ 30 μ M 처리군에서 IL-4와 IL-13유전자의 발현이 뚜렷이 억제되었다. 이러한 결과로 SZ이 Th2 면역반응을 유발하는 사이토카인의 발현을 억제함으로써 알러지 예방과 치료에 효과적으로 작용할 것으로 기대되어, 이에 대한 기전 연구가 추후 필요하다고 생각된다.

사 사

본 연구는 숙명여자대학교 2011 학년도 교내연구비 지원에 의해 수행되었음.

인용문헌

1. ABBAS, A.K. (2009) Basic Immunology(3rd ed). W. B. Saunders Company, USA.
2. 오재원 (2000) 알레르기반응에서 Th2 세포의 역할. 소아알레르기 및 호흡기 **10**: 199-206.
3. Bradding, P., Walls, A. F. and Holgate, S. T. (2006) The role of the mast cell in the pathophysiology of asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.* **117**: 1277-1284.
4. Maggi, E. (1997) The TH1/TH2 paradigm in allergy. *Immunotechnology* **3**: 233-244.
5. Metcalfe, D. D., Baram, D. and Mekori, Y.A. (1997) Mast cells. *Physiol. Rev.* **77**: 1033-1079.
6. Schmid-Grendelmeier, P., Altnauer, F., Fischer, B., Bizer, C., Straumann, A., Menz, G., Blaser, K., Wuthrich, B. and Simon, H.U. (2002) Eosinophils express functional IL-13 in eosinophilic inflammatory diseases. *J. Immunol.* **169**: 1021-1027.
7. Zavorotinskaya, T., Tomkinson, A. and Murphy, J. E. (2003) Treatment of experimental asthma by long-term gene therapy directed against IL-4 and IL-13. *Mol. Ther.* **7**: 155-162.
8. Simon, D. and Simon, H. U. (2012) New drug targets in atopic dermatitis. *Chem. Immunol. Allergy* **96**: 126-131.
9. Masuoka, M., Shiraishi, H., Ohta, S., Suzuki, S., Arima, K., Aoki, S., Toda, S., Inagaki, N., Kurihara, Y., Hayashida, S., Takeuchi, S., Koike, K., Ono, J., Noshiro, H., Furue, M., Conway, S. J., Narisawa, Y. and Izuhara, K. (2012) Periostin promotes chronic allergic inflammation in response to Th2 cytokines. *J. Clin. Invest.* **122**(7): 2590-2600.
10. 장석창 송춘호 (2008) 우방자약침의 항알러지 효과에 대한 연구. *경락경혈학회지* **25**: 197-211.
11. Prussin, C. and Metcalfe, D. D. (2003) 4. IgE, mast cells, basophils, and eosinophils. *J. Allergy Clin. Immunol.* **111**: S486-494.
12. Falcone, F. H., Zillikens, D. and Gibbs, B. F. (2006) The 21st century renaissance of the basophil? Current insights into its role in allergic responses and innate immunity. *Exp. Dermatol.* **15**: 855-864.
13. Stacchiotti, A., Li, Volti, G., Lavazza, A., Rezzani, R. and Rodella, L. F. (2009) Schisandrin B stimulates a cytoprotective response in rat liver exposed to mercuric chloride. *Food Chem. Toxicol.* **47**: 2834-2840.
14. Oh, S. Y., Kim, Y. H., Bae, D. S., Um, B. H., Pan, C. H., Kim, C. Y., Lee, H. J. and Lee, J. K. (2010) Anti-inflammatory effects of gomisins N, gomisins J, and schisandrin C isolated from the fruit of *Schisandra chinensis*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **74**: 285-291.
15. Hwang, D., Shin, S. Y., Lee, Y., Hyun, J., Yong, Y., Park, J. C., Lee, Y. H. and Lim, Y. (2011) A compound isolated from *Schisandra chinensis* induces apoptosis. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **21**: 6054-6057.
16. Yim, S. Y., Lee, Y. J., Lee, Y. K., Jung, S. E., Kim, J. H., Kim, H. J., Son, B. G., Park, Y. H., Lee, Y. G., Choi, Y. W. and Hwang, D. Y. (2009) Gomisin N isolated from *Schisandra chinensis* significantly induces anti-proliferative and pro-apoptotic effects in hepatic carcinoma. *Mol. Med. Report* **2**: 725-732.
17. Kim, D. H., Hung, T. M., Bae, K. H., Jung, J. W., Lee, S., Yoon, B. H., Cheong, J. H., Ko, K. H. and Ryu, J. H. (2006) Gomisin A improves scopolamine-induced memory impairment in mice. *Eur. J. Pharmacol.* **542**: 129-135.
18. Ko, S. H., Choi, S. W., Ye, S. K., Yoo, S., Kim, H. S. and Chung, M. H. (2008) Comparison of anti-oxidant activities of seventy herbs that have been used in Korean traditional medicine. *Nutr. Res. Pract.* **2**: 143-151.
19. Park, J. Y., Yun, J. W., Choi, Y. W., Bae, J. W., Seo, K. W., Lee, S. J., Park, S. Y., Hong, K. W. and Kim C. D. (2012) Antihypertensive effect of gomisin A from *Schisandra chinensis* on angiotensin II-induced hypertension via preservation of nitric oxide bioavailability. *Hypertens Res.* **35**(9): 928-934.
20. Lee, M. Y., Seo, C. S., Lee, N. H., Ha, H., Lee, J. A., Lee, H., Lee, K. Y. and Shin, H. K. (2010) Anti-asthmatic effect of schizandrin on OVA-induced airway inflammation in a murine asthma model. *Int. Immunopharmacol.* **10**: 1374-1379.
21. Kang, Y. H. and Shin, H. M. (2012) Inhibitory effects of *Schisandra chinensis* extract on atopic dermatitis in NC/Nga mice. *Immunopharmacol. Immunotoxicol.* **34**: 292-298.
22. Lee, B., Bae, E. A., Trinh, H. T., Shin, Y. W., Phuong, T. T., Bae, K. H. and Kim, D. H. (2007) Inhibitory effect of schizandrin on passive cutaneous anaphylaxis reaction and scratching behaviors in mice. *Biol. Pharm. Bull.* **30**: 1153-1156.
23. Jin, M., Park, S. and Pyo, M. Y. (2009) Suppressive effects of

- T-412, a flavone on interleukin-4 production in T cells. *Biol. Pharm. Bull.* **32**: 1875-1879.
24. Nugroho, A. E., Ikawati, Z., Sardjiman, and Maeyama, K. (2009) Effects of benzylidenecyclopentanone analogues of curcumin on histamine release from mast cells. *Biol. Pharm. Bull.* **32**: 842-849.
25. Chung, M. J., Kim, J. M., Lee, S., Kim, T., Kim, D., Baek, J., Lee, J., Kim, K., Yoon, J. A. and Choe, M. (2012) Suppressive effects of *Schizandra chinensis* Baillon water extract on allergy-related cytokine generation and degranulation in IgE-antigen complex-stimulated RBL-2H3 cells. *Nutr. Res. Pract.* **6**: 97-105.
26. Monticelli, S., Solymar, D. C. and Rao, A. (2004) Role of NFAT proteins in IL13 gene transcription in mast cells. *J. Biol. Chem.* **279**: 36210-36218.
27. Chae, H. S., Kang, O. H., Oh, Y. C., Choi, J. G., Keum, J. H., Kim, S. B., Kim, Y. S., Mun, S. H., Shin, D. W., Han, S. H. and Kwon, D. Y. (2011) Gomisins N has anti-allergic effect and inhibits inflammatory cytokine expression in mouse bone marrow-derived mast cells. *Immunopharmacol. Immunotoxicol.* **33**: 709-713.
- (2012. 7. 5 접수; 2012. 8. 10 심사; 2012. 8. 20 게재확정)