



Original Article / 원저

黃連 추출물이 대식세포의 면역단백질 생성에 미치는 영향

김복기¹ · 한효상² · 이영종^{1*}

¹가천대학교 한의과대학 본초학교실 · ²중부대학교 보건행정학과

Effect of Coptidis Rhizoma Extract on Cytokine Production of Mouse Macrophages

Bok-Kee Kim¹ · Hyo-Sang Han² · Young-Jong Lee^{1*}

¹Department of Herbology, College of Oriental Medicine, Gachon University
Seongnam 461-701, Korea

²Department of Health Administration, College of Social Sciences, Joongbu
University Geumsan 312-702, Korea

ABSTRACT

Objectives : The purpose of this study is to observe the effect of Coptidis Rhizoma (CCE-extract of *C. chinensis* Rhizome) in induction of immune protein on mouse macrophages.

Methods : To analyze cytokines interleukin(IL)-1 α , IL-3, IL-9, IL-12p40, IL-13, IL-17, Monocyte Chemoattractant Protein(MCP)-1 induced by macrophages, mouse macrophages were incubated with CCE and was measured.

Results : IL-1 α measurement, CCE showed significant inhibition only at concentration level of 200 μ g/mL. IL-3, MCP-1 measurement, CCE showed significant inhibition only at concentration level of 100, 200 μ g/mL. IL-9 measurement, CCE showed significant inhibition only at concentration level of 50 μ g/mL. IL-13 measurement, CCE showed significant inhibition only at concentration level of 50, 100, 200 μ g/mL. The IL-12p40, IL-17 levels indicated no changes at 25, 50, 100, 200 μ g/mL on mouse macrophages.

Conclusions : CCE did not significantly increased inflammatory cytokines IL-1 α , IL-3, IL-9, IL-12p40, IL-13, IL-17, Monocyte Chemoattractant Protein(MCP)-1 on mouse macrophages. It was verified CCE does not trigger cytokine related hypersensitivity reaction of organism or exacerbation of acute/chronic inflammatory disease.

Keyword : Coptidis Rhizoma, Macrophage, Cytokine, Interleukin-1 α , Interleukin-17

I. 서 론

黃連은 미나리아재비과(Ranunculaceae)에 속한 多年生 草本인 황련 *Coptis japonica* Makino, 중국황련(中國黃連) *Coptis chinensis* Franchet, 삼각엽황련(三角葉黃連) *Coptis deltoidea* C. Y. Cheng et Hsiao 또는 운련(雲連) *Coptis teeta* Wallich의 뿌리 줄기로서¹⁾, 가을에 채취하여 鬚根과 泥沙를 제거하고 건조한다²⁾.

黃連은 『神農本草經』³⁾에 “黃連, 味苦寒, 主熱氣, 目痛, 眦傷, 泣出, 明目, 腸澼, 腹痛, 下痢, 婦人陰中腫痛. 久服, 令人不忘, 一名王蓮, 生川谷.” 이라고 처음 기록된 이래 한의학 임상에서 清熱瀉火, 燥濕, 解毒의 효능⁴⁾으로 상용되고 있다.

황련의 주성분으로는 알칼로이드인 berberine이 7~9%를 차지하고⁵⁾, palmatine, coptisine, jateorrhizine, worenine, magnoflorine 등을 함유하며 산성물질로 ferulic acid가 함유되어있다⁶⁾.

약리작용으로는 항염작용⁷⁾, 항균작용⁸⁾, 항바이러스작용⁹⁾, 항위궤양¹⁰⁾, 항암작용¹¹⁾ 등이 보고되었다.

대식세포는 사이토카인(cytokine) 등의 면역단백질을 생성이용하여 외부로부터 침입한 항원을 직접 공격하거나, 혹은 T세포 활성화 등에 필요한 정보를 제시하기도 하며, 인체 내의 불필요한 세포들을 제거하는 등의 기능을 통하여 선천성 면역반응과 염증반응에 있어서 중요한 역할을 한다^{12,13)}. 그러나 과도하거나 조절되지 못한 염증성 면역단백질들(inflammatory cytokines)의 생성은 미세순환장애, 조직손상, 패혈증 등의 심각한 전신적 부작용을 유발하며 때로는 생

명을 위협할 수도 있다^{14,15)}.

黃連의 항염 작용에 관한 선행논문으로는 이 등¹⁶⁾은 황련추출물의 항염효과를 보고 하였고, 정 등¹⁷⁾과 조 등¹⁸⁾은 LPS에 의해 유발된 황련 열수추출물의 염증 면역 활성효과를 보고하였다.

이처럼 黃連은 清熱瀉火, 燥濕, 解毒⁴⁾의 효능과 관련된 항염증활성에 관한 보고가 많이 되었는데, 본 논문에서는 黃連 열수추출물이 마우스 대식세포가 생성한 사이토카인(cytokine)과 케모카인(chemokine)들의 생성량의 변화를 조사하여 黃連의 항염효과를 알아보고자 하였다.

이에 저자는 黃連을 열수추출하여 얻은 시료 CCE (Extract of *C. chinensis* Rhizome)와 함께 마우스 대식세포를 배양한 후 마우스 대식세포가 생성, 배출하는 interleukin(IL)-1 α , IL-3, IL-9, IL-12p40, IL-13, IL-17, monocyte chemoattractant protein (MCP)-1 등의 사이토카인의 양을 측정하여, 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 재료 및 방법

1. 재 료

1) 약재

실험에 사용된 黃連(Coptidis Rhizoma)은 중국산 중국황련(中國黃連, Rhizome of *C. chinensis* Franchet)을 2008년 2월에 구입하여 약재의 기원 약전의 성상항에 따라 경원대학교 한의과대학 본초학교실에서 감정하였으며(NO. 2008-02 -0012), 모든 약재는 사용 전에 초음파 세척기 (Branson, USA)를 이용하여 불순물을 제거하였다.

2) Cell line

*교신저자 : Y. Lee, College of Oriental Medicine, Gachon University, Seongnam.

· Tel : 031-750-5415

· Email : garak@gachon.ac.kr

· 접수 2013/10/28 · 수정 2013/11/09 · 채택 2013/11/15



실험에 사용된 대식세포는 마우스 복강 대식세포 (mouse macrophage line)인 Raw 264.7 세포로서 한국세포주은행(KCLB, Korea)으로부터 구입하여 사용하였다.

3) 시약 및 기기

본 실험을 위해서 ethyl alcohol(Samchun Chemical, Korea), methyl alcohol(Samchun Chemical, Korea), DMSO(Sigma, USA), DMEM(Sigma, USA), 1×PBS (Sigma, USA), dihydrorhodamine 123(Sigma, USA), EDTA(Sigma, USA), acetic acid(Sigma, USA), iso-propanol(Sigma, USA), Trypsin-EDTA(Sigma, USA), sulfanilamide(Sigma, USA), H₂SO₄(Sigma, USA), potassium phosphate(Sigma, USA), NO assay kit (Oxford Biomedical Research, USA), Bio-Plex cytokine assay kit(Panomics, USA) 등이 사용되었다. 각 시약의 품질은 분석용 등급 이상의 것으로 하여 사용하였다. 본 실험에 사용된 기기는 CO₂ incubator (NUAIRE, USA), pulverizer(Rong tsong, Taiwan), rotary vacuum evaporator(Eyela, Japan), air compressor(Tamiya, Japan), homogenizer(Omni, USA), research microscope(Becton dickinson, USA), centrifuge(Hanil, Korea), fume hood(Hanil, Korea), clean bench(Jeio thec, Korea), ultrasonic cleaner (Branson, USA), microplate reader (Bio-Rad, USA), thermo aluminum bath(Fine PCR, USA), vortex mixer(Vision Scientific Co, Korea), water bath(iNtRON biotech., Korea), ice-maker(Vision Scientific Co, Korea) 등이다.

2. 방법

1) 시료의 제조

黃連 50 g을 정확하게 중량을 측정한 뒤 환류추출기에 1 차 증류수 2,000 mL와 함께 넣은 뒤 탱액이 끓는 시점으로부터 2 시간 동안 가열하여 추출한 다음 추출액을 filter paper (Advantec No.2, Japan)로 감압 여과한 여과액을 rotary vacuum evaporator를 이용하여 농축액을 얻었다. 이 농축액을 동결건조기를 이용하여 건조한 분말(CCE)을 시료로 사용하였다. 동결건조 추출물은 12.6 g을 얻었으며, 수율은 25.2%

이었다.

2) 세포 배양

Raw 264.7 세포는 37°C, 5% CO₂ 조건에서 10% FBS, penicillin(100 U/mL), streptomycin(100 µg/mL)이 첨가된 DMEM 배지로 배양되었다. Raw 264.7 세포를 75 cm² flask (Falcon, USA)에서 충분히 증식된 후 배양 3 일 간격으로 배양세포 표면을 phosphate buffered saline(PBS) 용액으로 씻어준 후 50 mL flask 당 1 mL의 0.25% trypsin-EDTA용액을 넣고 실온에서 1 분간 처리한 다음 trypsin 용액을 버리고 37°C에서 5 분간 보관하여 세포를 탈착하여 계대 배양하였다. 탈착된 세포는 10% FBS가 첨가된 DMEM 배양액 10 mL에 부유시킨 다음 새로운 배양용기(50 mL culture flask)에 옮겨 1 : 2 의 split ratio로 CO₂ 배양기(37°C, 5% CO₂)에서 배양하였다.

3) 사이토카인(cytokine) 분비 측정

사이토카인 분비와 관련된 시료의 영향을 알아보기 위해 Politch 등¹⁹⁾의 방법을 응용하여 Bio-Plex Cytokine Assay를 다음과 같이 시행하였다. 96 well plate에 1×10⁵ cells/mL의 세포를 100 µl씩 넣고 37°C, 5% CO₂ incubator에서 24 시간 동안 배양한 후 배지를 버리고 배양세포 표면을 1×PBS 용액으로 씻어준 뒤 각 well에 다양한 농도의 시료(25, 50, 100, 200 µg/mL)와 함께 배지에 담아 처리하고 24 시간 동안 배양하였다. 배양이 끝나면 상등액을 채취하여 Bio-Plex Suspension Array System을 이용, Quantitative Multiplexed Cytokine/Chemokine Assay²⁰⁾를 실시하여 각종의 싸이토카인류(IL-1α, IL-3, IL-9, IL-12p40, IL-13, IL-17, MCP-1)의 발현에 대한 시료의 영향을 계산, 비교하였다.

3. 통계처리

본 실험에서 얻은 결과에 대해서는 mean ± SEM로 나타내었으며, 대조군과 각 실험군과의 평균의 차이는 Student's t-test로 분석하여 p-value 값이 0.05 미만일 때 통계적으로 유의한 차이가 있는 것으로 판정하였다.

Ⅲ. 결 과

1. IL-1 α 생성에 대한 효과

CCE가 마우스 대식세포 Raw264.7 cells의 IL-1 α 의 생성에 미치는 영향을 조사하였다. CCE를 24 시간동안 25, 50, 100, 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도로 처리한 결과 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서 유의한 감소가 나타났고, 나머지 농도에서는 유의한 변화가 나타나지 않았다 (Fig. 1).

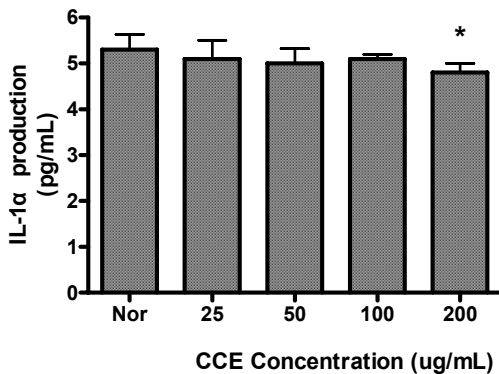


Figure 1. Effect of CCE on IL-1 α production of Raw 264.7 cells. Cells were incubated for 24 hrs. Results are represented as mean \pm SEM of the three independent experiments. CCE : Water extract of Coptis Rhizome. Normal : Not treated with CCE. * represents P < 0.05 compared to the normal.

2. IL-3 생성에 대한 효과

CCE가 마우스 대식세포 Raw264.7 cells의 IL-3의 생성에 미치는 영향을 조사하였다. CCE를 24 시간동안 25, 50, 100, 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도로 처리한 결과 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서 유의한 감소가 나타났고, 나머지 농도에서는 유의한 변화가 나타나지 않았다(Fig. 2).

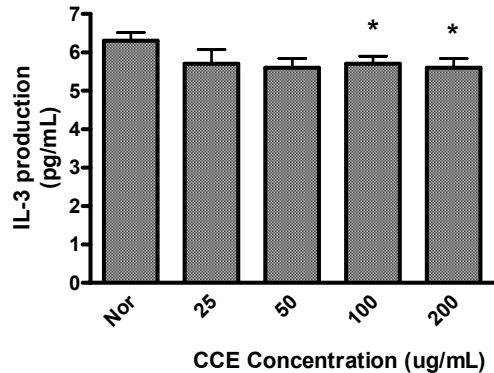


Figure 2. Effect of CCE on IL-3 production of Raw 264.7 cells. Cells were incubated for 24 hrs. Results are represented as mean \pm SEM of the three independent experiments. CCE : Water extract of Coptis Rhizome. Normal : Not treated with CCE. * represents P < 0.05 compared to the normal.

3. IL-9 생성에 대한 효과

CCE가 마우스 대식세포 Raw264.7 cells의 IL-9의 생성에 미치는 영향을 조사하였다. CCE를 24 시간동안 25, 50, 100, 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도로 처리한 결과 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서 유의한 감소가 나타났고, 나머지 농도에서는 유의한 변화가 나타나지 않았다(Fig. 3).

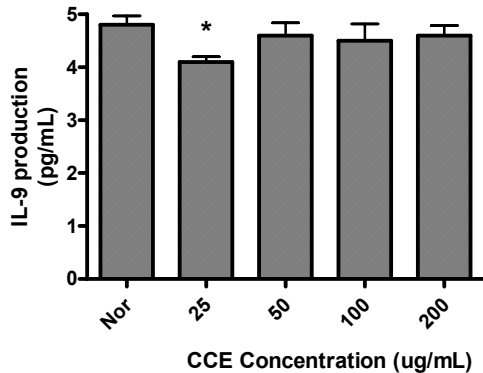


Figure 3. Effect of CCE on IL-9 production of Raw 264.7 cells. Cells were incubated for 24 hrs. Results are represented as mean \pm SEM of the three independent experiments. CCE : Water extract of Coptis Rhizome. Normal : Not treated with CCE. * represents P < 0.05 compared to the normal.

4. IL-12p40 생성에 대한 효과

CCE가 마우스 대식세포 Raw264.7 cells의 IL-12p40의 생성에 미치는 영향을 조사하였다. CCE를 24 시간 동안 25, 50, 100, 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도로 처리한 결과 모든 농도에서 유의한 감소가 나타나지 않았다(Fig. 4).

5. IL-13 생성에 대한 효과

CCE가 마우스 대식세포 Raw264.7 cells의 IL-13의

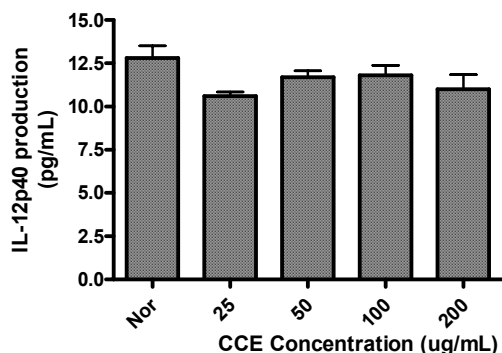


Figure 4. Effect of CCE on IL-12p40 production of Raw 264.7 cells. Cells were incubated for 24 hrs. Results are represented as mean \pm SEM of the three independent experiments. CCE : Water extract of Coptis Rhizome. Normal : Not treated with CCE.

생성에 미치는 영향을 조사하였다. CCE를 24 시간동안 25, 50, 100, 200 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도로 처리한 결과 50 $\mu\text{g/mL}$, 100 $\mu\text{g/mL}$, 200 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 유의한 감소가 나타났고, 25 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서는 유의한 변화가 나타나지 않았다(Fig. 5).

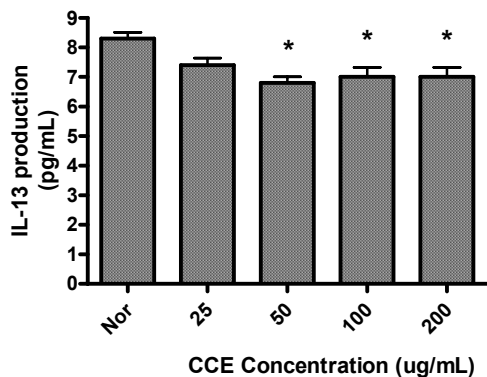


Figure 5. Effect of CCE on IL-13 production of Raw 264.7 cells. Cells were incubated for 24 hrs. Results are represented as mean \pm SEM of the three independent experiments. CCE : Water extract of Coptis Rhizome. Normal : Not treated with CCE. * represents $P < 0.05$ compared to the normal.

6. IL-17 생성에 대한 효과

CCE가 마우스 대식세포 Raw264.7 cells의 IL-17의 생성에 미치는 영향을 조사하였다. CCE를 24 시간 동안 25, 50, 100, 200 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도로 처리한 결과 모든 농도에서 유의한 변화가 나타나지 않았다(Fig. 6).

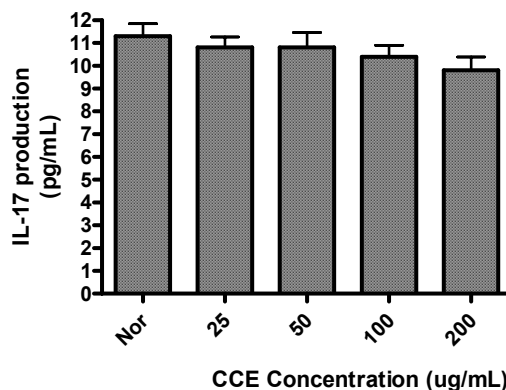


Figure 6. Effect of CCE on IL-17 production of Raw 264.7 cells. Cells were incubated for 24 hrs. Results are represented as mean \pm SEM of the three independent experiments. CCE : Water extract of Coptis Rhizome. Normal : Not treated with CCE.

7. MCP-1 생성에 대한 효과

CCE가 마우스 대식세포 Raw264.7 cells의 MCP-1의 생성에 미치는 영향을 조사하였다. CCE를 24 시간 동안 25, 50, 100, 200 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도로 처리한 결과 100 $\mu\text{g/mL}$, 200 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 유의한 감소가 나타났고, 나머지 농도에서는 유의한 변화가 나타나지 않았다(Fig. 7).

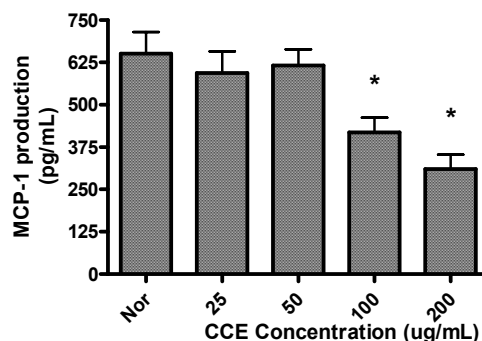


Figure 7. Effect of CCE on MCP-1 production of Raw 264.7 cells. Cells were incubated for 24 hrs. Results are represented as mean \pm SEM of the three independent experiments. CCE : Water extract of Coptis Rhizome. Normal : Not treated with CCE. * represents $P < 0.05$ compared to the normal.

IV. 고 찰

黃連은 『本草圖經』²¹⁾에 “生巫陽川谷及蜀郡泰山, 今江, 湖, 荊, 夔州郡亦有, 而以宜城者爲勝, 施, 黔者次之. 苗高一尺已來, 葉似甘菊, 四月開花黃色, 六月結實似芹子, 色亦黃. 二月, 八月采根用.” 이라 하였으며 『名醫別錄』²²⁾에 “主五臟冷熱, 久下泄澀膿血, 止消渴, 大驚, 除水利骨, 調胃厚腸, 益膽, 療口瘡.” 이라하였다. 黃連의 性은 寒하고, 味는 苦하며²⁾, 淸熱瀉火, 燥濕, 解毒의 효능이 있어 熱病이 心經에 들어와 생기는 高熱, 煩躁, 譫妄, 또는 熱이 盛하여 迫血妄行으로 인한 吐衄, 心火亢盛으로 인한 心煩失眠, 胃熱로 인한 嘔吐 또는 消穀善飢, 肝火로 인한 目赤腫痛, 그리고 濕熱胸痞, 泄瀉, 痢疾, 熱毒瘡瘍, 疔毒走黃, 牙齦腫痛, 口舌生瘡, 聾耳, 陰腫, 痔血, 濕疹, 湯火傷 등⁴⁾의 증상을 치료하는데 상용되고 있다.

성분으로 황련(*C. japonica* Makino)의 뿌리줄기에는 berberine, coptisine, epiberberine, berberrubine, palmatine, columbamine, jaterrhizine, worenine, magnoflorine, ferulic acid, obakunone, obakulactone 등이 함유되어 있고²⁾, 삼각엽황련(*C. deltoidea* C. Y. Cheng et Hsiao)의 뿌리줄기에는 piberberine, berberine, coptisine, palmatine, worenine, jaterrhizine, magnoflorine 등이 함유되어 있으며²⁾, 운련(*C. teeta* Wallich)의 뿌리줄기에는 epiberberine, berberine, coptisine, palmatine, worenine, jaterrhizine 등이 함유되어 있다²⁾. 이밖에 Min²³⁾은 benzoic acid methyl ester, oxyberberine, epiberberine 성분을 분리하였다.

황련의 약리작용으로는 항염작용⁷⁾, 항균작용⁸⁾, 항바이러스작용⁹⁾, 항위궤양¹⁰⁾, 항암작용¹¹⁾ 등이 보고되었다. 특히 황련 추출물의 항염증 효과에 대한 최근 연구로는 Kim 등²⁴⁾의 췌장세포의 세포사멸억제, Enk 등²⁵⁾의 각질형성세포(Keratinocytes)에서 TNF- α 생성억제 등이 보고되었다.

이러한 과도한 염증성 면역단백질들을 부작용 없이 차단하는 효과적인 항염 약물의 개발이 꾸준히 요구되었고, 특히 황련의 항염 작용에 대한 여러 연구가 보고되는 가운데⁷⁾, 저자는 새로운 항염 약물을 개발하기 위한 기초연구의 일환으로 황련 열수추출물이 마우스 대식세포가 생성한 사이토카인 등에 미치는 영향을 연구하고자 하였다.

본 연구에서는 한국 세포주 은행(KCLB, Korea)으

로부터 분양받은 마우스 대식세포인 Raw 264.7 세포에 黃連을 열수추출하여 얻은 시료 CCE를 25, 50, 100, 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도로 처리하고 24 시간 동안 37°C에서 배양한 후, 세포배양 상등액을 채취하여 마우스 대식세포가 생성한 IL-1 α , IL-3, IL-9, IL-12p40, IL-13, IL-17, MCP-1의 양을 측정하였다. 본 연구는 CCE가 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도까지 마우스 대식세포에 대하여 세포독성을 나타내지 않음을 확인하고 다음 실험을 진행하였다.

사이토카인은 한 세포에서 생산되어 다른 세포의 형태에 영향을 미치는 단백질로 림프구에서 생산되는 사이토카인을 림포카인(lymphokine) 또는 인터루킨(interleukin, IL)이라고 하며 사이토카인은 표적세포의 특이 수용체와 결합한다²⁶⁾.

IL-1 α 는 대식세포, 림프구와 같은 염증세포에 대한 강력한 자극인자이며 IL-1 α 의 mRNA 발현이 방사선 조사후 염증과 섬유화 진행에 따라서 증가한다는 보고가 있다²⁷⁾. CCE가 마우스 대식세포 Raw264.7 cells의 IL-1 α 의 생성에 미치는 영향을 조사하였는데 24 시간 처리한 결과 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서 유의한 감소가 나타났고, 나머지 농도에서는 유의한 변화가 나타나지 않았다.

IL-3는 혈구형성과정 중 분화초기에 관여하여 다양한 군체(colony)형성을 자극하며 다기능적 조혈모세포(pluripotent hematopoietic stem cells)의 분화를 유도하여 대식세포, 과립세포, 거핵세포, 적혈구, 호산구와 비만세포 등의 다양한 형태의 혈구세포를 생성하게 하는 중요한 조혈성 사이토카인이다²⁸⁾. CCE가 마우스 대식세포 Raw264.7 cells의 IL-3의 생성에 미치는 영향을 조사하였는데 24 시간 처리한 결과 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서 유의한 감소가 나타났고, 나머지 농도에서는 유의한 변화가 나타나지 않았다.

IL-9은 일부 T세포 라인 및 골수-유래 비만세포 전구세포의 성장을 도와주는 사이토카인이다²⁹⁾. CCE가 마우스 대식세포 Raw264.7 cells의 IL-9의 생성에 미치는 영향을 조사하였는데 24 시간 처리한 결과 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서 유의한 감소가 나타났고, 나머지 농도에서는 유의한 변화가 나타나지 않았다.

IL-12는 IFN- γ 의 생성에 중요한 유도인자 중 하

나로 활성화된 대식세포와 항원전달세포에서 생성되어 NK세포와 T림프구에 작용하는 것으로 알려졌다³⁰⁾. CCE가 마우스 대식세포 Raw264.7 cells의 IL-12p40의 생성에 미치는 영향을 조사하였는데 24 시간 처리한 결과 모든 농도에서 유의한 감소가 나타나지 않았다.

IL-13은 P600이라는 이름으로 1989년 생쥐의 Th2 세포주에서 최초로 발견되었으며, 대부분 Th2-타입으로 분화된 CD4+ T세포에서 생산되는 면역 조절성 사이토카인이다³¹⁾. CCE가 마우스 대식세포 Raw264.7 cells의 IL-13의 생성에 미치는 영향을 조사하였는데 24 시간 처리한 결과 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서 유의한 감소가 나타났고, 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 농도에서는 유의한 변화가 나타나지 않았다.

IL-17은 활성화된 CD4+CD45RO+ memory T세포에 의해 주로 발현된다³²⁾. CCE가 마우스 대식세포 Raw264.7 cells의 IL-17의 생성에 미치는 영향을 조사하였는데 24 시간 처리한 결과 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 모든 농도에서 유의한 변화가 나타나지 않았다.

MCP-1은 지질다당체(Lipopolysaccharide; LPS)에 의해 활성화된 대식세포, 단핵구(monocyte), 비만세포(mast cell), 중성구(neutrophil), 성상세포(astrocyte), 섬유아세포(fibroblast) 등의 많은 면역세포에서 분비되는 사이토카인으로 세포성 면역반응이나 세포 성장, 분화 등에 관련되어 있다³³⁾. CCE가 마우스 대식세포 Raw264.7 cells의 MCP-1의 생성에 미치는 영향을 조사하였는데 24 시간 처리한 결과 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서 유의한 감소가 나타났고, 나머지 농도에서는 유의한 변화가 나타나지 않았다.

이상의 실험 결과, CCE가 대식세포의 사이토카인 생성증가를 촉발하지 않으며, 이는 곧 대식세포의 사이토카인 생성증가와 관련된 생체 과민반응 및 급만성 염증질환의 악화를 유발하지 않는다는 것으로 해석될 수 있다. 앞으로 黃連 추출물을 이용한 대식세포와 관련된 염증질환 치료제로의 개발을 위하여 더욱 많은 연구가 필요할 것으로 사료된다.

V. 결 론

黃連을 열수추출하여 얻은 시료 CCE를 25, 50, 100, 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도로 마우스 대식세포 Raw 264.7 세포에 24 시간 동안 처리한 후 마우스 대식세포가 생성한 IL-1 α , IL-3, IL-9, IL-12p40, IL-13, IL-17, MCP-1의 양을 측정하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. CCE는 마우스 대식세포의 IL-1 α 생성을 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서 유의하게 억제시켰으나, 다른 농도에서는 유의한 변화가 나타나지 않았다.
2. CCE는 마우스 대식세포의 IL-3, MCP-1 생성을 100, 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서만 유의하게 억제시켰다.
3. CCE는 마우스 대식세포의 IL-9 생성을 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서 유의하게 억제시켰으나, 다른 농도에서는 유의한 변화가 나타나지 않았다.
4. CCE는 마우스 대식세포의 IL-13 생성을 50, 100, 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서 유의하게 억제시켰으나, 다른 농도에서는 유의한 변화가 나타나지 않았다.
5. CCE는 마우스 대식세포의 IL-12p40, IL-17의 생성에 대하여 25, 50, 100, 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 모든 농도에서 유의한 변화를 일으키지 않았다.

이러한 결과는 CCE가 대식세포의 사이토카인 생성증가를 촉발하지 않으며, 이는 곧 대식세포의 사이토카인 생성증가와 관련된 생체 과민반응 및 급만성 염증질환의 악화를 유발하지 않는다는 것을 의미한다.

참 고 문 헌

1. Korea Food and Drug Administration, The Korean Pharmacopoeia Tenth Edition, Seoul:Korea Food and Drug Administration, 2012:130-2.
2. Kim IR, Kim HC, Kuk YB, Park SJ, Park YK, Park JH, Seo BI, Seo YB, Shin MK, Lee YJ, LeeYC, Lee JH, Leem KH, Cho SI, Chung JK, Joo YS, Choi HY, Boncho-Hak, Seoul:Young-Lim Press, 2004:218-21.

3. Wu B. Shennongbencaojing. Beijing:Kexuejishu-wenxian publisher, 1999:24.
4. State Administration of Traditional Chinese medicine of the People's Republic of China. Zhonghuabencao. Vol. 3, Shanghai:Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1999:213-23.
5. Kim HC. Hanyakyakri-Hak. Seoul:Jipmoondang, 2001:134-7.
6. Kim DH, Kim HM, Ryu JH, Um JY, Kim SC, Yang JH, Cho MK, Lim JP, Hong SH. Hanbanyakri-Hak. Seoul:Sinilbooks, 2006:354-7.
7. Otsuka H, Fujimura H, Sawada T, Goto M. Studies on anti-inflammatory agents. II. Anti-inflammatory constituents from Rhizome of *Coptis japonica* Makino (author's transl). *Yakugku Zasshi*, 1981;101(10):883-90.
8. Ahn YJ, Park SJ, Lee SG, Shin SC, Choi DH. Cordycepin: selective growth inhibitor derived from liquid culture of *Cordyceps militaris* against *Clostridium* spp. *J Agric Food Chem*, 2000;48(7): 2744-8.
9. Song MK, Lee AH, Kim YH, Lee JJ, Sung YC. Inhibition of HIV-1 replication by extract of *Coptis chinensis*. *Kor J Appl Pharm*, 1995;3(2):111-5.
10. Li B, Shang JC, Zhou QX. Study of total alkaloids from Rhizoma *Coptis Chinensis* on experimental gastric ulcers. *Chin J Integr Med*, 2005;11(3):217-21.
11. Kettmann V, Kosfalova D, Jantova S, Cernakova M, Drimal J. In vitro cytotoxicity of berberine against HeLa and L1210 cancer cell lines. *Pharmazine*, 2004;59(7):548-51.
12. Ferret PJ, Soum E, Negre O, Fradelizi D. Auto-protective redox buffering systems in stimulated macrophages. *BMC Immunol*, 2002;3:3.
13. Stoy N. Macrophage biology and pathobiology in the evolution of immune responses: a functional analysis. *Pathobiology*, 2001;69(4):179-211.
14. Morrison DC, Ryan JL. Endotoxins and disease mechanisms. *Annu Rev Med*, 1987;38:417-32.
15. Tracey KJ, Fong Y, Hesse DG, Manogue KR, Lee AT, Kuo GC, Lowry SF, Cerami A. Anti-cachectin/TNF monoclonal antibodies prevent septic shock during lethal bacteraemia. *Nature*, 1987;330(6149):662-4.
16. Lee YA, Hong SJ, Lee SH, Park EK, Kim KS, Han CS, Yoo MC, Yang HI. Anti-inflammatory Effects of the *Coptis chinensis* Extract. *J Kyung Hee Univ Med Cent*, 2007;23(1):21-9.
17. Jung HW, Park YK. Inhibitory effects of *Coptidis Rhizoma* on the LPS-induced production of nitric oxide and TNF- α in mouse macrophage cells. *Kor J Herbology*, 2006;21(2):165-73.
18. Cho EH, Lee TH. Effects of *Coptidis Rhizoma* and *Aconiti Lateralis Preparata Radix* on the Change of Plasma Corticosterone Level and Rectal Temperature Induced by LPS. *Kor J Herbology*, 2006;21(2):77-85.
19. Politch JA, Tucker L, Bowman FP, Anderson DJ. Concentrations and significance of cytokines and other immunologic factors in semen of healthy fertile men. *Hum Reprod*, 2007;22(11):2928-35.
20. Lee KS, Chung JH, Lee KH, Shin MJ, Oh BH, Hong CH. Bioplex analysis of plasma cytokines in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Immunol Lett*, 2008;121(2):105-9.
21. Hu S. Bencaotujing. Hefei:Anhuikexuejishu publisher, 1994:125-6.
22. Tao HJ. Mingyibielu. Beijing:Renminweisheng publisher, 1986:116.
23. Min YD. Cytotoxic and MDR reversal active constituents from *Coptis japonica*, *Phellodendron amurense* and *Sinomenium acutum*. Sungkyunkwan University, 2004.
24. Kim EK, Kwon KB, Han MJ, Song MY, Lee JH, Lv N, Ka SO, Yeom SR, Kwon YD, Ryu DG, Kim KS, Park JW, Park R, Park BH. *Coptidis rhizoma* extract protects against cytokine-induced death of pancreatic beta-cells through suppression of NK-kappaB activation. *Exp Mol Med*, 2007;39(2):149-59.
25. Enk R, Eehalt R, Graham JE, Bierhaus A, Remppis A, Greten HJ. Differential effect of *Rhizoma coptidis* and its main alkaloid compound berberine on TNF-alpha induced NFkappaB translocation in



- human keratinocytes. *J Ethnopharmacol.* 2007;109(1):170-5.
26. Parham P. *Myeonyeok-Hak*. Seoul:Life Science, 2006:454.
27. Aggarwal BB, Pocsik E. Cytokines: From clone to clinic. *Arch Biochem Biophys.* 1992;292(2):335-59.
28. Koike VC. Stem cell factor and hematopoiesis. *Blood.* 1997;90(4):1345-64.
29. Abbas AK, Lichtman AH. *SepobunjaMyeonyeok-Hak*. Seoul:Beopmoonsa, 2004:243-74, 494-5.
30. Stern AS, Gubler U, Presky DH, Nagram J. Structural and functional aspects of the IL-12 receptor complex. In *Chemical Immunology.* 1997;68:23-37.
31. McKenzin AN, Culpepper JA, de Waal Malefyt R, Briere F, Punnonen J, Aversa G, Sato A, Dang W, Cocks BG, Menon S, et al. Interleukin 13, a T-cell-derived cytokine that regulates human monocyte and B-cell function. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1993;90(8):3735-9.
32. Yao Z, Fanslow WC, Seldin MF. Herpesvirus Saimiri encodes a new cytokine, IL-17, which binds to a novel cytokine receptor. *Immunity.* 1995;3(6):811-21.
33. Conti P, Boucher W, Letourneau R, Feliciani C, Reale M, Barbacane RC, Vlagopoulos P, Bruneau G, Thibault J, Theoharides TC. Monocyte chemotactic protein-1 provokes mast cell aggregation and [3H]5HT release. *Immunology.* 1995;86(3):434-40.