

# 龍眼肉 물추출물이 대식세포의 염증반응과 Cytokine에 미치는 영향

가천대학교 한의과대학 한방부인과학교실  
김미림, 임은미

## ABSTRACT

### Effects of *Longanae Arillus* Water Extract on Inflammatory Response and Cytokines in Mouse Macrophage Cells

Mi-Rim Kim, Eun-Mee Lim

Dept. of Gynecology, College of Oriental Medicine, Ga-Chon University

**Objecives:** The purpose of this study was to investigate the effects of *Longanae Arillus* water extract (LA) on the production of inflammatory mediators in RAW 264.7 cell. LA is used for forgetfulness, insomnia, palpitation symptoms in korean medicine.

**Methods:** In order to evaluate cytotoxicity of LA, cell viability was measured. To investigate anti-inflammatory effects of LA in the lipopolysaccharide (LPS)-induced RAW 264.7 cell, the concentration of nitric oxide (NO) and cytokines were measured. And when p-value is below 0.05, it is judged to have the significant difference statistically.

#### Results:

1. LA showed no cytotoxicity.
2. LA inhibited significantly the production on NO at the concentration of 50 and 200 µg/ml.
3. LA inhibited significantly the production on interleukin (IL)-1 $\beta$  at the concentration of 25, 50, 100 and 200 µg/ml.
4. LA inhibited significantly the production on tumor necrosis factor (TNF)- $\alpha$  at the concentration of 50, 100 and 200 µg/ml.
5. LA inhibited significantly the production on lipopolysaccharide-induced chemokine (LIX) at the concentration of 25, 100 and 200 µg/ml.
6. LA inhibited significantly the production on regulated on activation normal T cell expressed and secreted (RANTES) at the concentration of 200 µg/ml.

**Conclusions:** These results suggest that LA has anti-inflammatory effect.

**Key Words:** *Longanae Arillus*, Anti-inflammation, Macrophage, NO, Cytokine

## I. 서론

염증반응이란 손상이나 피사가 일어난 조직과 미생물 등을 제거하는 생명체의 생존에 필수적인 기능으로 최근에는 염증반응이 신경계 퇴행의 진행 초기부터 관여할 수 있으며 병리현상의 완급을 조절하고 신경세포의 생존과 사멸 조절에 적극적으로 관여한다고 알려졌다<sup>1-3)</sup>.

이러한 염증 질환의 치료를 위하여 현재 다양한 항염증제 개발에 대한 연구가 이루어지고 있고 이와 더불어 한약재로부터 유발되는 생리활성물질이나 단일 추출물 및 한약복합화합물이 주목을 받고 있다<sup>4-7)</sup>.

용안육(龍眼肉, *Longanae Arillus*)은 용안나무(龍眼樹, *Euphoria lingan Steud.*, *Dimocarpus longan Lour.*)의 假種皮로, 性味가 甘溫質潤하여 心, 脾 二經에 들어가 補益하고 營血을 滋養하므로서 양호한 安神作用을 가지고 있어 心脾血虛의 병증을 치료하는 효과가 있다고 알려져 있다<sup>8)</sup>.

용안육 추출물의 항산화 기능 및 면역 조절 기능<sup>9)</sup>, 항염증 효능<sup>10,11)</sup> 등이 이미 보고된 바 있으나 염증 기전에 관계된 cytokine에 대한 연구는 미비한 것으로 조사되었기에 마우스 RAW 264.7 cell을 이용하여 용안육의 염증 기전에 미치는 영향과 한의학적으로 益神志하는 효능과의 관련성을 찾아보고 이러한 용안육의 효능이 향후 뇌신경질환에 응용될 수 있는지를 알아보고자 하였다.

이에 저자는 용안육을 열수추출하여 RAW 264.7 cell의 cell viability와 lipopolysaccharide (LPS)로 유발된 염증반응에서 nitric oxide (NO) 생성, cytokine 생성을 측정하여 유

의한 항염 활성 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 재 료

#### 1) 약 재

실험에 사용된 용안육은 한국 대구의 옴니허브 주식회사로부터 2012년 10월에 구입(NO: 20121013)하였으며, 모든 약재는 초음파 세척기를 이용하여 불순물을 제거하고 사용하였다.

#### 2) 세포주

실험에 사용된 세포는 mouse macrophage RAW 264.7 cell line으로 한국 세포주 은행(KCLB, Korea)에서 구입하였다.

#### 3) 시약 및 기기

##### (1) 시 약

본 실험을 위해서 FBS(Sigma, USA), ethyl alcohol(Samchun Chemical, Korea), penicillin(Sigma, USA), streptomycin(Sigma, USA), DMEM(Sigma, USA), methyl alcohol(Samchun Chemical, Korea), DMSO(Sigma, USA), 1×PBS(Sigma, USA), EDTA(Sigma, USA), trypsin-EDTA(Sigma, USA), MTT assay kit(Sigma, USA), NO assay kit(Sigma, USA), Bio-Plex cytokine assay kit(Panomics, USA) 등이 사용되었다.

##### (2) 기 기

본 실험에 사용된 기기는 centrifuge(Hanil, Korea), CO<sub>2</sub> incubator(NUAIRE, USA), rotary vacuum evaporator(Eyela, Japan), air compressor(Tamiya, Japan), homogenizer(O-mni, USA), research microscope(Olympus, Japan), fume hood(Hanil, Korea), clean bench(Jeio thec, Korea), ultrasonic cleaner

(Branson, USA), deep freezer(Ilshin Lab Co, Korea), microplate reader(Bio-Rad, USA), thermo aluminum bath(Fine PCR, USA), vortex mixer(Vision Scientific Co, Korea), water bath(In-Tron biotech., Korea), ice-maker(Vision Scientific Co, Korea), Bio-Plex 200(Bio-Rad, USA) 등이다.

## 2. 방 법

### 1) 龍眼肉 열수추출물 제조

龍眼肉 30 g 중량을 정확하게 측정된 뒤, 환류추출기에 1차 증류수 2,000 ml와 함께 넣고 탱액이 끓는 시점으로부터 2 시간 동안 가열하여 추출한 액을 filter paper로 감압 여과한 후 rotary vacuum evaporator를 이용하여 농축시켰다. 이 농축액을 동결건조기를 이용하여 건조시켜 얻은 분말을 시료로 사용하였다. 건조분말은 16.79 g을 얻었으며, 수율은 55.6%였다.

### 2) 세포 배양

RAW 264.7 cell은 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 조건에서 10% FBS, penicillin(100 U/ml), streptomycin(100 µg/ml)이 첨가된 DMEM 배지에서 배양되었다. 세포를 75 cm<sup>2</sup> flask에서 충분히 증식시키고 배양 3일 간격으로 배양 세포 표면을 PBS 용액으로 씻어준 후 50 ml flask 당 1 ml의 0.25% trypsin-EDTA 용액을 넣고 실온에서 1분간 처리한 다음 trypsin용액을 버리고 37°C에서 5분간 보관하여 세포를 탈착하여 계대 배양하였다. 탈착된 세포는 10% FBS가 첨가된 DMEM 배양액 10 ml에 부유시킨 다음 새로운 배양용기(50 ml culture flask)에 옮겨 1:2의 split ratio로 37°C, 5%의 CO<sub>2</sub> incubator에서 배양하였다.

### 3) 세포 생존율 측정

용안육 물추출물이 RAW 264.7 cell의

세포 생존율에 미치는 효과를 알아보기 위하여 MTT assay를 다음과 같이 실시하였다. 96 well plate에 1×10<sup>5</sup> cells/well의 cell을 100 µl씩 넣고 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 24 시간동안 배양한 후 배지를 버리고 배양세포 표면을 1×PBS 용액으로 씻어주었다. 같은 양의 배지와 PBS에 녹인 다양한 농도의 용안육 물추출물을 각 well에 처리하고 24시간 동안 배양하였다. 배양이 끝난 후 PBS에 녹인 1 mg/ml MTT를 100 µl씩 각 well에 처리하여 알루미늄 호일로 차광시킨 후 2시간 동안 같은 조건에서 배양하였다. 배양액을 모두 제거한 후 DMSO를 100 µl 처리하고 37°C에서 2시간 방치한 뒤 microplate reader를 이용하여 490 nm에서 흡광도를 측정하고 cell viability를 비교하였다.

### 4) NO 생성 측정

NO의 기질인 L-arginine은 L-citrulline과 NO로 변하는데, 이는 빠르게 안정된 NO<sub>2</sub>, nitrite, nitrate로 변환한다. 그리스 시약(griess reagent: 0.5%의 sulfanilamide, 2.5%의 phosphoric acid 및 0.5%의 naphthylethyleneamine)은 nitrite와 화학 반응하여 보라색의 아조염을 형성하고 이것은 NO의 농도와 일치하기 때문에, 아조염의 농도로부터 nitrite의 농도를 추정하기 위해 microplate reader를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하여 NO의 생성 정도를 비교하였다. 이를 위해 다음과 같이 실험하였다. LPS를 단독 혹은 다양한 농도의 용안육 물추출물과 함께 배지에 담아 각 well에 처리하고 24시간 동안 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 배양한 후 세포 배양 상등액 100 µl을 채취하여 여기에 그리스 시약 100 µl을 혼합하여 15분 동안 반응시킨 후 microplate reader를 이용하여 540

nm에서 흡광도를 측정하고 NO의 생성을 비교하였다.

5) Cytokine 생성 측정

Cytokine과 관련된 용안육 물추출물의 영향을 알아보기 위해 Park<sup>12)</sup>과 Politch 등<sup>13)</sup>의 선행보고에 따라 다음과 같이 실험을 시행하였다. 96 well plate에  $1 \times 10^5$  cells/ml의 cell을 100  $\mu$ l씩 넣고 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 24시간동안 배양한 후 배지를 버리고 배양세포 표면을 1×PBS 용액으로 씻어준 뒤 각 well에 LPS를 단독 혹은 다양한 농도의 용안육 물추출물과 함께 배지에 담아 처리하고 24시간 동안 배양하였다. 배양이 끝나면 상등액을 채취하여 filter plate에 미리 준비되어 있던 antibody-conjugated capture beads와 결합시켰다. 결합된 capture beads가 담긴 filter plate의 각 well을 150  $\mu$ l의 wash buffer로 세척하였다. 세척이 끝난 뒤 각 well에 detection antibody를 추가한 후 30분간 배양하였다. 배양이 끝나면 wash buffer로 3회 세척한 뒤 각 well에 streptavidin-PE를 분주하고 상온에서 300~500 rpm의 조건으로 30분간 진동배양 한다. 배양이 끝나면 wash buffer로 3회 세척한 뒤 각 well에 120  $\mu$ l의 reading buffer를 분주하고 상온에서 300~500 rpm의 조건으로 5분간 진동배양 한 후 Bio-Plex array reader를 이용, 측정하고자 하는 cytokine의 양을 조사, 비교하였다.

3. 통계처리

본 실험에서 얻은 결과에 대해서는 평균치±표준오차(mean±SEM)로 나타내었으며, 대조군과 각 실험군과의 평균값의 차이는 Student's t-test와 Moses test로 분석하여 p-value값이 0.05 미만일 때 통계적으로 유의한 차이가 있는 것으로 판

정하였다.

III. 결 과

1. 세포 생존율

용안육 물추출물을 처리한 결과 모든 농도 군에서 세포 생존이 증가되어 세포 독성을 나타내지 않았다(Fig. 1).

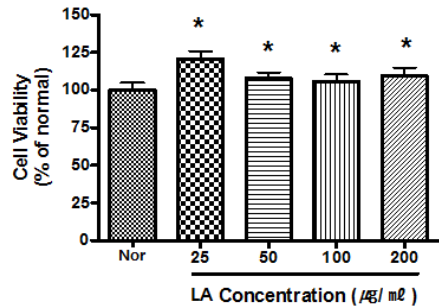


Fig. 1. Effect of LA on Cell Viability in RAW 264.7 Cell.

LA : *Longanae Arillus* water extract  
 Nor : Normal. Treated with media only  
 Cells were incubated with LA at the concentration of 25, 50, 100, 200  $\mu$ g/ml for 24 hr.  
 Results are represented as mean±SEM of three independent experiments.  
 \* : Represents  $p < 0.05$  compared to the normal

2. 용안육 물추출물의 NO 생성에 대한 영향

용안육 물추출물은 50, 200  $\mu$ g/ml 농도에서 LPS에 의해 증가된 NO 생성을 유의하게 억제하였다(Fig. 2).

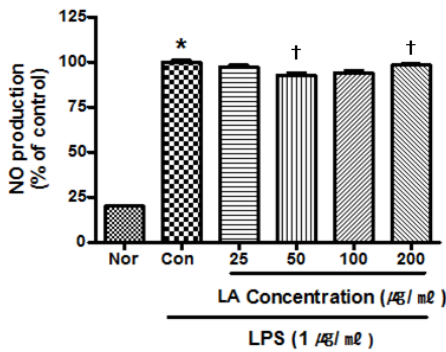


Fig. 2. Effect of LA on NO Production of RAW 264.7 Cell Treated with LPS. LA : *Longanae Arillus* water extract  
 Nor : Normal, Treated with media only  
 Con : Control, Treated with LPS (1 µg/ml) only  
 LPS-induced cells were incubated with LA at the concentration of 25, 50, 100, 200 µg/ml for 24 hr.  
 Results are represented as mean±SEM of three independent experiments.  
 \* : Represents p<0.05 compared to the normal  
 † : Represents p<0.05 compared to the control

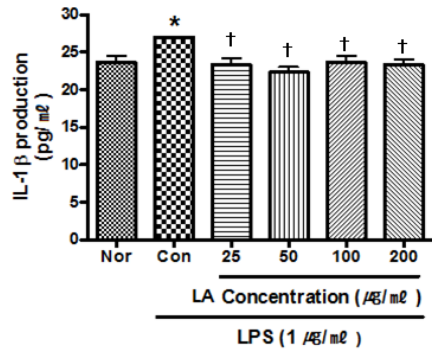


Fig. 3. Effect of LA on IL-1β Production of RAW 264.7 Cell Treated with LPS. LA : *Longanae Arillus* water extract  
 Nor : Normal, Treated with media only  
 Con : Control, Treated with LPS (1 µg/ml) only  
 LPS-induced cells were incubated with LA at the concentration of 25, 50, 100, 200 µg/ml for 24 hr.  
 Results are represented as mean±SEM of three independent experiments.  
 \* : Represents p<0.05 compared to the normal  
 † : Represents p<0.05 compared to the control

### 3. 용안육 물추출물의 cytokine 생성에 대한 영향

#### 1) IL-1β 생성에 대한 영향

용안육 물추출물은 25 µg/ml 이상의 모든 농도에서 LPS에 의해 증가된 IL-1β 생성을 유의하게 억제하였다(Fig. 3).

#### 2) TNF-α 생성에 대한 영향

용안육 물추출물은 50 µg/ml 이상의 농도에서 LPS에 의해 증가된 TNF-α 생성을 유의하게 억제하였다(Fig. 4).

#### 3) LIX 생성에 대한 영향

용안육 물추출물은 25, 100, 200 µg/ml의 농도에서 LPS에 의해 증가된 LIX 생성을 유의하게 억제하였다(Fig. 5).

#### 4) RANTES 생성에 대한 영향

용안육 물추출물은 200 µg/ml의 농도에서 LPS에 의해 증가된 RANTES 생성을 유의하게 억제하였다(Fig. 6).

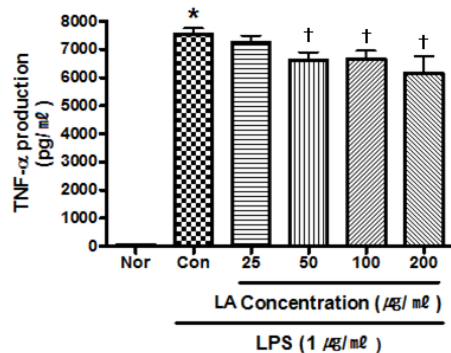


Fig. 4. Effect of LA on TNF-α Production of RAW 264.7 Cell Treated with LPS. LA : *Longanae Arillus* water extract  
 Nor : Normal, Treated with media only  
 Con : Control, Treated with LPS (1 µg/ml) only  
 LPS-induced cells were incubated with LA at the concentration of 25, 50, 100, 200 µg/ml for 24 hr.  
 Results are represented as mean±SEM of three independent experiments.  
 \* : Represents p<0.05 compared to the normal  
 † : Represents p<0.05 compared to the control

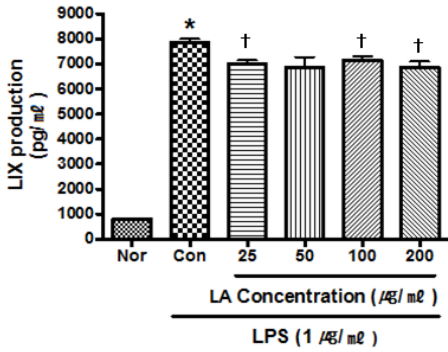


Fig. 5. Effect of LA on LIX Production of RAW 264.7 Cell Treated with LPS  
 LA : *Longanae Arillus* water extract  
 Nor : Normal, Treated with media only  
 Con : Control, Treated with LPS (1 µg/ml) only  
 LPS-induced cells were incubated with LA at the concentration of 25, 50, 100, 200 µg/ml for 24 hr.  
 Results are represented as mean±SEM of three independent experiments.

\* : Represents  $p < 0.05$  compared to the normal  
 † : Represents  $p < 0.05$  compared to the control

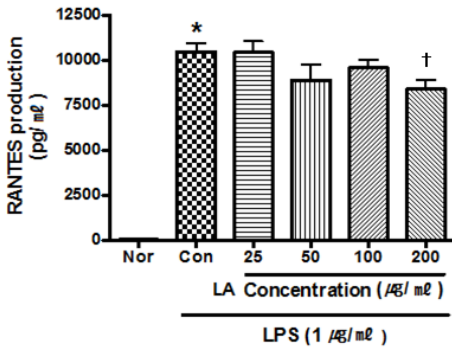


Fig. 6. Effect of LA on RANTES Production of RAW 264.7 Cell Treated with LPS.  
 LA : *Longanae Arillus* water extract  
 Nor : Normal, Treated with media only  
 Con : Control, Treated with LPS (1 µg/ml) only  
 LPS-induced cells were incubated with LA at the concentration of 25, 50, 100, 200 µg/ml for 24 hr.  
 Results are represented as mean±SEM of three independent experiments.

\* : Represents  $p < 0.05$  compared to the normal  
 † : Represents  $p < 0.05$  compared to the control

## IV. 고 찰

염증반응이란 대식세포를 포함한 면역 세포들이 항원의 침입이나 조직손상과 같은 자극에 의해 손상 부위로 이동하여 항원을 제거하고, 손상의 결과로 생성된 물질을 제거하는 것을 말한다<sup>1,14)</sup>.

대식세포는 감염초기에 생체방어에 중요한 역할을 하는 세포로, NO, cytokine 등과 같은 염증매개물질을 생산하여 염증반응에 관여하게 되는데, 염증매개물질이 과량 생산되면 염증성 질환을 유발함으로써 숙주에 치명적인 결과를 초래할 수 있다<sup>15-18)</sup>.

중추신경계 신경세포인 microglia는 전체 뇌 세포의 5-10%를 차지하는 대식세포(resident macrophages)로서 활성화되면 염증반응을 통해 뇌졸중이나 알츠하이머병, 파킨슨병과 같은 퇴행성 뇌질환의 발병 및 진전에 기여하는 것으로 보고되었다<sup>19-21)</sup>.

염증반응의 억제는 염증 질환을 치료하는데 있어 중요한 목표가 되는데, 기존 항염제에 비해 한약물을 이용한 항염제의 경우 부작용이 적고 안전성이 높아, 현재 한약물 제제를 통해 염증성 매개물질로 알려진 NO와 염증유발 cytokine 등을 억제시킬 수 있는 물질을 찾기 위한 연구가 활발히 진행되고 있다<sup>22-27)</sup>.

한의학적으로 용안육은 《神農本草經》<sup>28)</sup>에서 “主五臟邪氣, 安志, 厭食, 久服強魂魄, 聰明”라 하였고, 《開寶本草》에는 “歸脾而能益智”라 하였고, 《日用本草》에는 “益智寧心”한다 하였고, 《滇南本草》에는 “養血安神, 長智斂汗, 開胃益脾”라 하였으며, 또한 《得配本草》에는 “益脾胃, 補

心血, 潤五臟, 治怔忡”라 수록된 바, 補血 益氣, 補心益智 및 安神的 효능이 있어 虛勞羸弱, 失眠, 健忘症, 驚悸, 怔忡 등을 주치한다<sup>8,28,29</sup>.

이전 연구들에서 龍眼肉으로부터 초음파 추출한 다당류 성분이 항산화 기능과 더불어 지연성 과민반응, 대식세포의 포식작용, 비장세포의 증식 등을 억제하여 면역조절 기능을 가지는 것으로 보고<sup>9</sup>된 바 있고, 龍眼肉추출물이 RAW 264.7 cell에서 LPS로 유도된 NO 및 PGE2의 생성을 억제하는 항염증 효능이 보고<sup>10</sup>된 바 있으며, 또한 龍眼肉 열수추출물이 마우스의 대뇌 피질 및 해마 조직의 아세틸콜린 신경계를 강화시키고, 대표적인 염증매개물질인 TNF- $\alpha$  및 IL-1 $\beta$  등의 cytokine 생성을 억제하여 항염증 효능을 나타내었다는 보고<sup>11</sup>가 있었다.

본 연구에서는 뇌신경 손상으로 인한 질환을 치료하는데 염증매개물질의 조절이 유효하다는 점을 바탕으로 益智寧心, 長智, 安神과 같은 효능이 있는 용안육이 염증 기전에 미치는 영향을 자세히 알아보고자 용안육 열수추출물을 대상으로 cell viability와 LPS로 유발된 NO 및 IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , LIX, RANTES과 같은 cytokine의 변화를 측정하였다. RAW 264.7 cell에 처리된 LPS는 그람음성 박테리아에서 유래하는 내독소의 일종으로, 면역세포 중에서도 특히 대식세포로 하여금 염증 촉발 물질인 NO, IL-1 $\beta$  및 TNF- $\alpha$  등의 급격한 생성 증가를 유발한다<sup>30,31</sup>.

먼저 용안육 물추출물의 세포 독성 여부를 확인한 결과 모든 농도에서 세포 독성을 나타내지 않았으며 세포 생존율을 증가시키는 것으로 확인되었다.

NO는 free radical로서 심혈관계, 신경

계 및 면역계의 전달물질이며, 세포 내 항상성의 유지, 신경전달 물질의 운반, 항암작용 등 다양한 역할을 하는데, 생체 내 과도한 NO의 생성은 오히려 세포를 파괴하고 shock에 의한 혈관확장과 염증반응을 촉진하여 조직에 독성으로 작용하여 손상을 유발하는 요인이 되며, 특히 중추신경계에서 염증반응을 매개하여 퇴행성 뇌질환의 발병에 관여하게 된다<sup>2,32,33</sup>. 또한 NO는 활성화된 대식세포에서 pseudopodia의 형성을 억제하여 탐식능을 감소시킨다고 알려져 있다<sup>34</sup>. 이번 연구에서 용안육 물추출물은 50 및 200  $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 NO의 생성을 유의하게 억제하여, Ho 등<sup>10</sup>의 연구 결과와 일치하는 것으로 나타났다.

IL-1 $\beta$ 는 대식세포의 탐식작용을 도와주는 등 각종 면역반응을 조절하는 것으로 알려져 있는 중요한 염증매개인자로, 대식세포, 호중구, 상피세포, 내피세포에 의해 생산되고, LPS와 같은 박테리아 산물이나 TNF- $\alpha$ 와 같은 다른 cytokine에 의해서 유도되며, 과잉 또는 장기적인 생성이 일어나게 되면 생체 침습 작용으로 발열, 염증, 조직파괴, 쇼크 등을 일으킬 수 있다<sup>35-38</sup>. 이번 연구에서 용안육 물추출물은 25, 50, 100 및 200  $\mu\text{g/ml}$ 의 모든 농도에서 IL-1 $\beta$ 의 생성을 유의하게 억제하였다.

TNF- $\alpha$ 는 대식세포와 비만세포 등에서 분비되며, 많은 자가면역질환에서 염증의 개시 및 유지에 핵심적 역할을 하는 것으로 알려져 있고, 종양 세포에서는 세포 독작용을, 염증세포에서는 IL-1과 유사한 염증 유발 작용을 하여 세포의 증식과 분화를 조절한다<sup>39-41</sup>. 또한 뇌졸중이나 파킨슨병, 알츠하이머병 환자의 혈청 및 뇌조직에서 TNF- $\alpha$ 의 농도가 증가되어 있는

것으로 알려져 있어, 뇌신경 세포 사멸 등의 병인기전에 중요한 역할을 하는 cytokine 으로 인식되고 있다<sup>42)</sup>. 이번 연구에서 용안육 물추출물은 50, 100 및 200 µg/ml의 농도에서 TNF-α의 생성을 유의하게 억제하였다.

화학주화성 cytokine인 chemokine은 기질세포, 수지상세포, 대식세포, T 세포, B 세포 그리고 백혈구에서 생성되고, 중성구, 단핵구, 수지상세포, T 림프구, B 림프수와 호산구에 작용하며, 선천 및 획득 면역계에서 중요한 역할을 한다<sup>43)</sup>. 이전 연구에서는 말초 혈관이나 조직에서 백혈구나 림프구를 이동시키는 염증의 매개체로만 알려졌으나, 최근 연구에서는 악성 종양의 진행에도 관련되어 있는 것으로 나타났다<sup>44)</sup>.

LIX는 염증성 cytokine인 IL-1 또는 TNF-α의 세포 자극반응에 따라 생성되는데, 대개 결장의 상피세포에서 만들어지고, 호중구의 세포 이동 및 세포 활성화와 관련이 있으며, 최근 여러 연구들에서 인간의 암종의 성장에 관여되는 것으로 보고되었다<sup>44-46)</sup>. 이번 연구에서 용안육 물추출물은 25, 100 및 200 µg/ml의 농도에서 LIX의 생성을 유의하게 억제하였다.

RANTES는 단핵구와 대식세포를 손상된 조직으로 이동시키고 증식시키는 강력한 chemokine으로, 피부 섬유질과 아토피 환자에서 많이 분비되어 알러지성 질환의 발현과 진행에 있어 중요한 표적물질로 알려져 있으며, 죽상동맥경화증과 혈관의 구조적 변형에 영향을 미치는 염증매개물질 중 하나로 알려져 있다<sup>47-50)</sup>. 이번 연구에서 용안육 물추출물은 200 µg/ml의 농도에서 RANTES의 생성을 유의하게 억제하였다.

한방 부인과에서는 여성 평균 수명 증가에 따라 여성 갱년기의 신경정신과적 증상 및 폐경기 이후의 퇴행성 질환에 대한 관심도가 높아지고 있는 실정이다. 본 논문에서는 용안육 물추출물이 세포 독성을 나타내지 않으면서 LPS로 유발된 각종 염증매개물질들의 생성 증가를 유의하게 억제시키는 것으로 나타나, 용안육이 염증매개물질의 과다배출로 인하여 발생하는 알츠하이머, 파킨슨 병 등과 같은 퇴행성 뇌신경질환의 완화에 영향을 미칠 수 있는 것으로 볼 수 있으며, 향후 이러한 항염증작용에 의하여 뇌신경 손상 치료뿐만 아니라 예방 등에 응용될 수 있을 것으로 사료된다.

## V. 결 론

龍眼肉 열수추출물을 대상으로 마우스 대식세포인 RAW 264.7 cell의 세포 독성, LPS로 유발된 NO 생성과 IL-1β, TNF-α, LIX, RANTES 등의 cytokine 생성 변화를 측정하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 용안육 물추출물은 모든 농도에서 세포 독성을 유발하지 않았다.
2. 용안육 물추출물은 LPS에 의해 증가된 대식세포의 NO 생성을 50, 200 µg/ml의 농도에서 유의하게 억제시켰다.
3. 용안육 물추출물은 LPS에 의해 증가된 대식세포의 IL-1β의 생성을 25, 50, 100, 200 µg/ml 농도에서 모두 유의하게 억제시켰다.
4. 용안육 물추출물은 LPS에 의해 증가된 대식세포의 TNF-α의 생성을 50, 100, 200 µg/ml의 농도에서 유의하게 억제시켰다.



5. 용안육 물추출물은 LPS에 의해 증가된 대식세포의 LIX 생성을 25, 100, 200 µg/ml의 농도에서 유의하게 억제시켰다.
6. 용안육 물추출물은 LPS에 의해 증가된 대식세포의 RANTES 생성을 200 µg/ml 농도에서 유의하게 억제시켰다.

이상의 결과, 용안육 물추출물이 대식세포의 염증매개인자의 생성을 억제함으로써 과잉염증반응을 조절할 수 있는 항염증 효과가 있음을 의미한다. 향후 이러한 용안육의 항염증 작용이 뇌신경 손상의 예방 및 치료에 응용될 수 있을 것으로 기대되며, 이와 관련된 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

- 투 고 일 : 2014년 4월 15일
- 심 사 일 : 2014년 4월 28일
- 게재확정일 : 2014년 5월 8일

## 참고문헌

1. 대한병리학회. 병리학 I. 제 7판. 서울: 고문사. 2010:68-121.
2. McGeer PL, McGeer EG. Glial reactions in Parkinson's disease. *Mov Disord.* 2008;23(4):474-83.
3. Skaper SD. The brain as a target for inflammatory processes and neuroprotective strategies. *Ann NY Acad Sci.* 2007; 1122:23-34.
4. 민지영, 박용기. 續斷의 RAW 264.7 세포에서 LPS에 의해 유도되는 염증반응에 대한 효과. *대한본초학회지.* 2009;24(4):189-95.
5. 홍유진 등. 항염증 효능을 가진 단미 한약의 2001년 이후 실험 연구 결과에 대한 고찰. *한방안이비인후피부과학회지.* 2012;25(4):12-34.
6. 임동욱 등. 한약복합물 HT008이 흰쥐 관절염 모델에 미치는 효과. *대한본초학회지.* 2009;24(4):197-204.
7. 이동현 등. 한약복합추출물 HT008의 제조방법에 따른 항염증 효능 및 성분 함량 비교연구. *대한본초학회지.* 2013; 28(4):71-6.
8. 전국한의학대학 공동교재편찬위원회. *본초학.* 서울:영림사. 2004:641-2.
9. Zhong K, et al. Evaluation of radicals scavenging, immunity-modulatory and antitumor activities of longan polysaccharides with ultrasonic extraction on in S180 tumor mice models. *Int. J. Biol. Macromol.* 2010;47:356-60.
10. Ho SC, et al. Suppressive effect of a proanthocyanidin-rich extract from longan (*Dimocarpus longan* Lour.) flowers on nitric oxide production in LPS-stimulated macrophage cells. *J. Agric. Food Chem.* 2007;55:10664-70.
11. 정태영, 이희웅, 박종현. 스코폴라민으로 유도된 기억 손상 모델에서 용안육의 보호 효과 연구. *동의생리병리학회지.* 2011;25(3):406-16.
12. Park W. Effects of red ginseng-*ejung-tang* water extract on cytokine production in LPS-induced mouse macrophages. *J Korean Oriental Medicine.* 2012;33(4):42-9.
13. Politch JA, et al. Concentrations and significance of cytokines and other immunologic factors in semen of healthy fertile men. *Hum Reprod.* 2007;22(11):2928-35.

14. Lundberg IE. The role of cytokines, chemokines and adhesion molecules in the pathogenesis of idiopathic inflammatory myopathies. *Current Rheumatology Report*. 2000;2:216-24.
15. Lee YS, et al. IL-6 mRNA expression in mouse peritoneal macrophages and NIH3T3 fibroblasts in response to candida albicans. *J Microbiol Biotechnol*. 2000;10:8-15.
16. Higuchi M, et al. Cytolytic mechanism of activated macrophages. Tumor necrosis factor and L-arginine-dependent mechanism acts as synergistically as the major cytolytic mechanism of activated macrophages. *J Immunol*. 1990;144:1425-31.
17. McDaniel ML, et al. Cytokines and nitric oxides in islet inflammation and diabetes. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1996; 211:24-32.
18. Rocca B, FitzGerald GA. Cyclooxygenases and prostaglandins : shaping up the immune response. *Int Immunopharmacol*. 2002;2(5):603-30.
19. Cross AK, Woodroffe MN. Immunoregulation of microglial functional properties. *Microsc. Res. Tech*. 2001;54:10-7.
20. McGeer PL, Yasojima K, McGeer EG. Inflammation in Parkinson's disease. *Adv. Neurol*. 2001;86:83-93.
21. 서운교, 정효원, 박용기. 생강 클로로포름 분획의 활성화된 뇌신경교세포에서 염증반응 억제효과. *대한본초학회지*. 2008;23(2):73-83.
22. 김민선 등. LPS로 유도한 대식세포의 염증반응에서 우슬의 항염증 효과. *대한본초학회지*. 2011;26(2):51-7.
23. 김시나 등. 차조기추출물에 의한 염증성 cytokine 생성억제 및 진통작용에 관한 연구. *동의생리병리학회지*. 2006;20(2):414-9.
24. 박성주, 김수곤. 사간 물 추출물의 항염증 효과. *동의생리병리학회지*. 2010; 24(3):410-5.
25. 김민선 등. LPS로 유도한 대식세포의 염증반응에서 우슬의 항염증 효과. *대한본초학회지*. 2011;26(2):51-7.
26. 조일주 등. 마우스 대식세포주인 RAW 264.7 세포에서 蜈蚣의 항염증 효과. *대한본초학회지*. 2011;26(3):23-9.
27. 류한우, 김윤상, 임은미. 모과(木瓜) 물 추출물의 항염증 효능에 관한 실험적 연구. *대한한방부인과학회지*. 2012;25(3):1-15.
28. 鄒澍. 本經疏證 下. 서울:대성의학사. 2001:662-3.
29. 김창민 등. 完譯 中藥大辭典. 정담:서울. 1997:3194-6.
30. Cohen J. The immunopathogenesis of sepsis. *Nature*. 2002;420(6917):885-91.
31. Cho HY, et al. Anti-oxidative and anti-inflammatory effects of genistein in BALB/c mice injected with LPS. *J Kor Soc Food Sci Nutr*. 2008;37(9):1126-35.
32. Lowenstein CJ, Snyder SH. Nitric oxide, a novel biologic messenger. *Cell*. 1992; 70:705-7.
33. Mason RP, Cockcroft JR. Targeting nitric oxide with drug therapy. *J Clin Hypertens*. 2006;8(12 Suppl 4):40-52.
34. Jun CD, et al. Nitric oxide inhibits macrophage pseudopodia formation

- in the activated macrophages. *Kor. J. Immunol.*, 1996;18:635-44.
35. Kishimoto T, Akira S, Taga T. Interleukin-6 and its receptor a paradigm for cytokines. *Science*. 1992;258(5082):593-7.
  36. 강재성 등. 세포분자면역학. 제 4판. 서울:법문사. 2002:4-5, 240-53, 276-9.
  37. 서울대학교 의과대학. 면역학. 서울: 서울대학교출판부. 1997:123-6.
  38. 김윤희. 사이토카인의 종류와 기능에 관한 연구. *전주기전여자대학논문집*. 2000;20:271-85.
  39. Pierce BT, et al. The effect of fetal acidemia on fetal-placental vascular tone and production of inflammatory cytokines interleukin-6 and tumor necrosis factor- $\alpha$ . *AJOG*. 2002;187(4):894-7.
  40. Lee AK, et al. Inhibition of lipopolysaccharide-inducible nitric oxide synthase, TNF- $\alpha$  and COX-2 expression by sauchinone effects on I- $\kappa$ B $\alpha$  phosphorylation, C/EBP and AP-1 activation. *British Journal of Pharmacology*. 2003;139:11-20.
  41. Delgado AV, McManus AT, Chambers JP. Production of tumor necrosis factor- $\alpha$ , interleukin 1-beta, interleukin 2, and interleukin 6 by rat leukocyte subpopulations after exposure to substance P. *Neuropeptides*. 2003;37(6):355-61.
  42. Wilms H, et al. Inflammation in Parkinson's disease and other neurodegenerative diseases : cause and therapeutic implications. *Curr Pharm Des*. 2007;13(18):1925-8.
  43. Huayang Pana et al. Effect of IFN- $\alpha$  on KC and LIX expression: role of STAT1 and its effect on neutrophil recruitment to the spleen after lipopolysaccharide stimulation. *Molecular Immunology*. 2013;56:12-22.
  44. Mikio Kawamura et al. CXCL5, a promoter of cell proliferation, migration and invasion, is a novel serum prognostic marker in patients with colorectal cancer. *European journal of cancer*. 2012;48:2244-51.
  45. Chang MS, et al. Cloning and characterization of the human neutrophil-activating peptide (ENA-78) gene. *J. Biol. Chem*. 1994;269(41):25277-82.
  46. Choong ML, et al. LIX: a chemokine with a role in hematopoietic stem cells maintenance. *Cytokine*. 2004;25(6):239-45.
  47. 한원호, 서진순, 조병수. 소아 IgA 신병증 환자에서 임상병리 양상과 CCL-2 및 CCL-5 유전자 다형성의 연관성 연구. *대한소아신장학회지*. 2010;14(1):51-61.
  48. Taha RA, et al. Evidence for increased expression of eotaxin and monocyte chemoattractant protein-4 in atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol*. 2000;105(5):1002-7.
  49. Vestergaard C, et al. A TH2 chemokine, TARC, produced by keratinocytes may recruit CLA + CCR4 + lymphocytes into lesional atopic dermatitis skin. *J Invest Dermatol*. 2000;115(4):640-6.
  50. 김정혜. 고혈압 쥐의 혈관 평활근세포에서 Angiotensin II에 의해 유도된 고혈압 조절인자에 대한 RANTES/CCL5의 효과. *영남대학교 대학원 석사학위논문*. 2009.