

길경(桔梗)발효 추출물의 알레르기성 소양행동 억제효과연구

하미애[#], 김진우, 이신우, 전현식, 조영손, 신용욱^{*}

경남과학기술대학교 농학·한약자원학부

Anti-pruritic Effect of Ethanol Extracts from *Platycodon grandiflorum* and its fermented production in Scratching Behavior Mouse Models

Mi-Ae Ha[#], Jin-Woo Kim, Shin-Woo Lee, Hyun-Sik Chun, Young-son Cho, Yong-Wook Shin^{*}

Department of Agronomy & Medicinal Plant Resources, Gyeongnam National University of Science and Technology, Jinju 660-758, Republic of Korea

ABSTRACT

Objectives : Platycodon Root is frequently used in traditional medicine to treat inflammatory diseases of the throat. The purpose of this study was to characterize the effect of the EtOH extract of fermented *Platycodon grandiflorum* on the ameliorative effects on the Antipruritic Effect of atopic dermatitis mouse model induced by compound 48/80 and ovalbumin (OVA)-induced allergic responses in mice.

Methods : In the present study, we examined the anti allergic effect of *Platycodon grandiflorum* (PR) and its fermented production (FPR) in several mouse model. We measured acute ear edema in a mouse model caused by TPA and consecutively histological change of Ear tissue was observed by hematoxylin and eosin (H&E) staining, and also Scratching behaviors by compound 48/80 was investigated. The levels of allergic mediators such as immunoglobulin (Ig) E, and anti-oxidant markers such as SOD and MDA in the sera of OVA induced allergic mice were measured by enzyme-linked immunosorbent assay.

Results : FPR inhibited compound 48/80-induced scratching behavior in mice, as well as acetic acid-induced writhing in mice. The anti-scratching behavioral effect of FPR was more potent than PR. FPR extract significantly decreased the serum levels of IgE and MDA compared with those of OVA control group.

Conclusions : These results indicate that Anti allergic effect of *Platycodon grandiflorum* is enhanced by fermentation with *Saccharomyces cerevisiae* and FPR may be useful for protection from the itching reactions, which are IgE-mediated representative skin allergic diseases.

Key words : *Platycodon grandiflorum*, fermentation, allergic response, compound 48/80, anti-oxidant

서 론

길경(桔梗, *Platycodi Radix*)은 초롱꽃과(桔梗科: Campanulaceae)에 속하는 도라지(*Platycodon grandiflorum* a. (Jacq) DC.)의 뿌리¹⁾로 특히 중국 및 일본과 함께 우리나라에서만 유일하게 자생하는 식물로 예로부터 식용 및 약용으로 사용²⁾되어져 왔으며 특히 1~2년근과는 달

리 3년근 이상은 약용으로 중요시되어 왔다³⁾. <동의보감>에도 "治肺氣喘促 下一切氣 療咽喉痛及胸脇諸痛 下蟲毒"에서 언급⁴⁾한바와 같이 길경은 宣肺利咽, 祛痰排膿 등의 효능으로 咳嗽痰多, 胸悶不暢, 咽喉音啞, 肺癰吐膿, 瘡瘍膿成不潰 등의 치료에 이용되어지고 있다⁵⁾. 이러한 길경의 호흡기계 질환개선 효과는 최근에 와서 항알레르기 효능으로 검증되어지고 있어서 길경추출물의 NC/Nga계 마우스에 DNCB로 유도한 알레르기

*Corresponding author : Yong-Wook Shin, Department of Agronomy & Medicinal Plant Resources, Gyeongnam National University of Science and Technology

· Tel : +82-55-751-3226 · FAX : +82-55-751-3229 · E-mail : ywsynn@gntech.ac.kr

#First author : Mi-Ae Ha, Department of Agronomy & Medicinal Plant Resources, Gyeongnam National University of Science and Technology

· Tel : +82-55-751-3226 · FAX : +82-55-751-3229 · E-mail : miae0717@hanmail.net

· Received : 11 October 2014 · Revised : 5 November 2014 · Accepted : 5 November 2014

피부염 모델에서 억제효과⁶⁾ 비만세포에서의 IL-6, PGD2, LTC4 억제효과⁷⁾ 길경사포닌의 비만세포의 IgE 매개의 아나필라시스 억제효과⁸⁾, Ova 알부민으로 유도한 알레르기성 천식 모델에서 도라지 물추출물의 대식세포의 침윤억제효과⁹⁾, 길경의 물추출물과 platycodin D, deapi-platycodin 이 기관지 점액의 과다분비를 조절하여 기관지염증을 억제¹⁰⁾가 보고된 바 있으며 특히 길경의 주요성분으로 알려진 Platycodin D의 경우 platycodin D 대식세포내에서 PGE2의 발현을 억제¹¹⁾ 이외에 아토피 피부염의 주요한 증상인 가려움증을 개선 할 수 있는 소염작용^{12,13)}, 진통작용^{14,15)} 이 보고되어져 왔다. 유산균발효 길경의 Th2 면역반응 억제로 아토피 증상을 완화¹⁶⁾시키는 것으로 보고되어 지는 등 제1형 과민반응에 대한 억제효과가 있음을 시사하는 결과가 다수의 연구진에 의해서 증명되어지고 있다.

아토피는 면역학적인 측면에서 살펴보면, 급성병변의 경우 Th2세포 반응에 의한 IL-4, 5, 10의 증가, Th-1세포에서 분비되는 interferon(IFN- γ)의 감소, 비만세포의 증가 등이 병의 발생과 상관있으며, 이후 IL-12에 의해 Th-1세포 반응이 활성화되어 병변의 만성화가 진행 된다¹⁷⁾. 아토피피부염에서 IFN- γ 와 IL-2를 투여하였을 때 피부염이 호전되었다는 보고는 Th-1/Th-2 불균형이 아토피피부염의 병인에 중요함을 제시해준다^{18,19)}. 아토피피부염의 다른 기전으로 산화적 손상(oxidative damage)을 고려할 수 있다. 급성으로 악화된 아토피피부염 환자에서 정상인에 비해 산화 표지자 등이 증가되어 있음이 밝혀졌고, 이는 치료에 반응하여 감소하는 양상을 보였다^{20,21)}. 또한 중증의 아토피피부염에서 각질층의 산화적 단백질 손상(oxidative protein damage)에 의한 카르보닐 성분(carbonyl moiety)의 증가 및 불포화 지방산 산화에 의한 알데하이드의 생성은 산화작용이 표피 장벽의 손상과 수분 손실을 유발하여 아토피피부염을 악화시킬 수 있다는 것을 보여 준다²²⁾. 반면에 아토피피부염환자에서 병변이 발생하지 않은 곳은 α -tocopherol이 증가하여 산화적 손상을 억제하였고²³⁾, 이를 복용하였을 때 투여량에 비례하여 병변부위의 아토피 피부염의 임상증상이 호전되었다는 보고도 있다²⁴⁾.

이에 길경을 식용미생물인 효모균으로 발효시켜서 항산화 작용을 증강시킨 발효 길경의 80% 에탄올 추출물을 이용하여 다수의 아토피성 피부염 동물모델에 적용하여 알레르기 증상의 조절 효과를 확인하고자 실험을 수행하였으며, 유의한 결과를 얻었기에 이에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 재료

1) 약재

본 실험에 사용된 길경은 경상남도 사천에서 3년간 재배된 것을 2012년 2월에 채취하여 선별 후 깨끗이 세정하여 물기를 제거한 건조하여 사용하였으며 발효길경은 Kim 등²⁵⁾의 방법에 따라 제조하였다. 즉, 건조 후 발효균주로서 효모(*Saccharomyces cerevisiae* C-2)를 중량 대비 5%로 접종하여 온도 37°C, 습도 75%를 유지하며 48시간 배양하였다. 발효의 확인은 48시간 배양한 시료에서 총균수를 측정하여 발

효를 확인한 후 분석에 사용 하였다. 발효길경을 얻은 후, 길경과 발효길경을 각각 80%에탄올을 가하여 2시간씩 2회 가열 추출하였다. 추출이 완료된 다음 Whatman (No. 1) filter paper로 감압여과하고, 이를 Rotary evaporator로 감압 농축하여 얻은 점조상의 추출물을 동결 건조기에서 건조하여 시료를 제조하였다. 이때 수득율은 길경, 발효길경이 각각 18.2%, 16.7% 였으며 모두 밀폐하여 4°C 에 보관하면서 실험에 사용하였다.

2) 동물

실험동물은 수컷의 ICR mouse 5주령과 암컷 BALB/c mouse 6주령 을 주식회사 코아텍 (경기도, 한국)에서 공급받아 사용하였다. 실험동물은 동물실에서 7일간 적응시킨 후 사용하였다. 실험동물은 온도 23 \pm 3°C, 습도 50 \pm 10% 내외, 명암주기 12시간 주기로 일정하게 유지된 사육실에서 다섯 마리씩 polycarbonate mice cage에 수용하여 사육하였으며 적응 기간 동안 사료와 물을 제한 없이 공급하였다. 행동 관찰 실험은 실험동물 개체수를 5마리로 나머지 실험은 개체수를 6마리로 실험하였다.

3) 시약 및 기기

실험에 사용되어진 시약으로 compound 48/80, Evans Blue, ovalbumin (OVA)과 ketotifen, H&E 염색 시약은 Sigma-Aldrich사(St Louice, CA, USA)로부터 구입하였으며, Al(OH)₃ gel(InvivoGen, San Diego, USA), Superoxide Dismutase(SOD) assay kit(Cayman, michigan, USA), Mouse IgE ELISA kit(BD, San Diego, USA), Malondialdehyde (MDA) 는 ELISA kit(UscnLife, Germany)를 사용하였다. 또한 실험기기로는 Rotary Evaporator (Eyela, Japan), 동결 건조기(FD 5508, llshin Lab, Korea), Digimatic Micrometer (Mitsutoyo Co., Tokyo, Japan), nebulizer(Clenly 2 Aerosol, Medel, Italy), microplatereader(Anthos2020, Asys Hitech GmbH, Austria), Microtome RM2145, Microscope (LEICA, Germany) 등을 사용하였다.

2. 방법

1) Compound 48/80 으로 유도한 소양행동 빈도 관찰실험

소양행동 실험은 Sugimoto 등의 실험방법을 따랐다²⁶⁾. 즉, 시료를 경구 투여한 1시간 후에 체중 20g 전후의 BALB/c 마우스를 각각 아크릴 관찰 상자(22 \times 22 \times 24cm) 에 10분간 두어 환경에 순화시킨 뒤 목뒤의 등 털을 제거하고 1mg/mL의 농도로 식염수에 용해한 compound 48/80 50 μ L를 29 gauge needle 로 피하주사한 뒤 즉시 관찰상자에 넣고 1시간 동안 무인조건에서 소양행동을 비디오카메라로 녹화하여 관찰한다. 소양행동은 생쥐의 뒷발로 목뒤를 긁는 행동을 1회로 간주하며 연속적인 긁는 행위를 할 때에는 1초를 넘기면 1회 추가 한 것으로 간주하며, 귀나 머리를 긁거나 앞발을 핥는 등의 행동은 소양행위로 간주하지 아니하였다.

2) 초산 신전반응 관찰실험

진통효과를 측정하기 위해 Siegmund 등의 방법²⁷⁾에 준하여 초산으로 유도한 마우스의 신전반응을 관찰하였다. 즉, 시료를 마우스의 경구로 투여한 1시간 후에 0.7% 초산을 0.1mL / 10g body 의 용량으로 복강에 주사 하고 10분에서 20분 사이에 마우스의 신전행동(writhing syndrome) 의 횟수를 측정하였으며 대조약물로 Aminopyrine을 사용하였다.

3) TPA 로 유도한 귀부종억제 효과 검색

TPA 로 유도된 피부염 억제작용을 측정하기 위해 Park²⁸⁾ 등의 방법에 준하여 5주령 웅성 ICR 마우스 귀에 아세트에 녹인 TPA(0.15 μ g/ μ l)를 20 μ l 도포하였다. 30분 후 용매에 녹인 길경과 발효길경 추출물 0.2% 및 0.5% 20 μ l를 각각 도포한다. 처음 TPA 도포한 4시간 후 경추탈골 시킨 뒤 Digimatic Micrometer (Mitsutoyo Co., Tokyo, Japan) 를 이용하여 귀의 두께를 측정하고, 조직을 적출하여 조직염색을 수행하였다.

4) 귀 부종 조직의 Hematoxylin & Eosin 염색

각 군으로부터 수집한 귀 조직을 4% formaldehyde 용액으로 7일간 고정된 후 파라핀으로 포매하여 블록을 제작하고 microtome을 이용하여 귀 조직을 5 μ m 두께의 절편을 제작하였다. xylene으로 탈파라핀 시키고 100%, 95%, 80%, 75% 알코올 순서대로 함수시켰다. 이를 hematoxylin과 eosin으로 염색한 후 Permount 로 봉입하였다. H&E 염색된 귀조직 슬라이드에서 귀 조직의 비후도와 염증세포 침윤 등을 광학현미경(Leica Co., German)으로 관찰하였다.

5) OVA로 유도한 알레르기 동물모델 제작

Gong²⁹⁾ 등의 방법에 준하여서 난알부민(OVA)으로 알레르기 면역반응이 유도된 동물모델을 Fig.1. 과 같이 제작하였다. 먼저 난알부민 (ovalbumin, chicken egg albumin; OVA) 1 mg을 PBS와 수산화알루미늄 겔(Al(OH)3gel)을 1:1 로 혼합한 용액 100 μ l 를 실험 시작일과 14일째 마우스의 복강내 주사하였다. 마지막 복강 주사 7일 후 즉, 실험시작 21일째 마우스를 15 \times 18 \times 20 cm 크기의 아크릴 상자 안에 넣고 5% 농도의 OVA 용액을 nebulizer (0.25ml/min)를 이용하여 매일 1일 1회, 1회 30분간 3일 동안 분무함으로써 호흡을 경유한 알레르기성 면역반응을 유도하였다. 실험군으로, 생리식염수만을 투여한 정상군(Normal), 난알부민(OVA) 감작을 시킨 대조군(Control), 면역반응이 유발된 대조군에 길경 80% 에탄을 추출물(PR)을 500 mg/kg과 발효길경 80% 에탄을 추출물(FPR) 500 mg/kg 용량으로 투여한 실험군(PR 500, FPR 500) 및 대조약물로서 항히스타민제인 케토티펜(Ketotifen)을 10 mg/kg복강 투여한 양성대조군(Ketotifen 10)으로 나누었으며, 각 군당 6마리의 마우스를 사용하였다. 길경 및 길경발효추출물과 케토티펜은 OVA 분무전에 투여 하였다. 실험 23일째 약물투여 및 OVA 분무 후에 동물을 마취시킨 뒤 심장 채혈로 혈액을 수집하였으며, 수집된 혈액은 3,000 rpm에서 15분간 원심 분리함으로써 혈청을 분리한 뒤 -80 $^{\circ}$ C로 보관한 뒤 혈청 분석에 이용하였다.

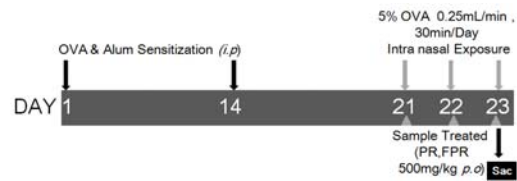


Fig.1. Experimental protocol for induction of airway inflammation, using a mouse model. Mice were sensitized via intraperitoneal injection of 1mg OVA emulsified in aluminum hydroxide (1:1) in 100 μ L PBS buffer (pH 7.4) on days 1 and 14. Each mouse was challenged through the airway with OVA (5%, w/v, in PBS) for 20 min, using an ultrasonic nebulizer, on days 21, 22, and 23 after initial sensitization. Mice were given 500 mg/kg/day of PR, FPR orally, on each of days 21 to 23. Animals were sacrificed after the last challenge.

6) 혈청 IgE 분석

OVA 처치한 생쥐에서 분리한 혈청에서 IgE를 측정하기 위하여 ELISA kit(Mouse IgE ELISA Set BD)을 사용하여 생산량을 측정하였다. 즉, Capture 항체를 coating 완충용액에 희석하여 microwell에 coating한 후 4 $^{\circ}$ C에서 overnight 하였다. 각 well을 3회 washing 완충용액으로 세척한 후 혈청을 100 μ L씩 분주하였다. 2시간 동안 실온에서 방치한 후 5회 washing 완충용액으로 세척한 다음 antibody Avidin-HRP conjugated 100 μ L를 처리하고, 1시간 실온에서 방치한 후 다시 세척하였다. 여기에 TMB 기질을 100 μ L씩 분주하고 암소에서 30분간 방치한 후 50 μ L의 stop 용액을 처리한 후 ELISA reader 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

7) 혈청 SOD 분석

혈중 SOD농도는 Superoxide Dismutase assay kit(706002, Cayman)를 이용하여 분석하였다. 96-wellplate에 Radical Detector 200 μ l 씩 넣고 standard 와 Sample 희석액을 10 μ l 넣은 후, Xanthine oxidase를 20 μ l를 넣고 잘 혼합한 후, 실온의 shaker위에 20분간 둔다. Spectrophotometer plate reader를 이용하여 450nm에서 흡광도를 측정하였다. Standard 와 Sample을 주어진 공식에 대입하여 혈중 SOD농도를 계산하였다.

8) 혈청 MDA 분석

혈중 Malondialdehyde(MDA)는 Enzyme-linked Immunosorbent assay kit(E90597Ge, UscnLife)를 이용하여 분석 하였다. 96-wellplate 에 Sample과 Standard 희석액 50 μ l에 Detection Reagent A 용액 50 μ l를 넣고 37 $^{\circ}$ C에서 1시간 반응 시켰다. Wash buffer 로 3회 세척 한 후, Detection Reagent B 용액을 100 μ l 씩 넣고 37 $^{\circ}$ C에서 30분간 반응 시킨다. Wash buffer로 5회 세척 한 후, 90 μ l의 Substrate Soluton을 각각 넣고 빛을 차단하여 37 $^{\circ}$ C에서 20분간 반응 시킨다. 마지막으로 50 μ l의 Stop solution으로 반응을 중지하고, Spectrophotometer plate reader를 이용하여 450nm에서 흡광도를 측정한다. Sample의 혈중 MDA농도는 Standard curve에 준하여 계산하였다.

9) 통계처리

실험결과는 mean \pm SD로 표시하였다. Control 값과 시료

처치군과의 유의성은 Student-Newman-Keuls test 와 ANOVA를 적용하여 *p* 값이 0.05 미만일때 통계적으로 유의성이 있다고 판정하였다.

결 과

1. Compound 48/80 으로 유도한 소양행동 억제효과

비만세포 탈과립을 유도하여 생쥐로 하여금 가려움증을 유발하게 하는 compound 48/80 으로 유도한 소양행동에 대한 길경과 발효길경 추출물의 억제효과를 Fig.2에 제시하였다. 대조군은 시간당 230.3 회의 소양행동이 관찰된 데에 비해 길경 에탄올 80% 추출물 200mg/kg 투여군(PR 200)에서는 185.5 회가 관찰되어 19.5%의 저해효과를 나타낸 것에 비해서 양성대조군인 Azelastine 10mg/kg (i,p) 투여군에서는 대조군의 소양행동을 82.6% 를 저해 하였으며 발효길경 에탄올 80% 추출물 200mg/kg 투여군(FPR 200)에서는 135.7 회가 관찰되어 41.1%의 소양행동 저해효과를 나타내었다.

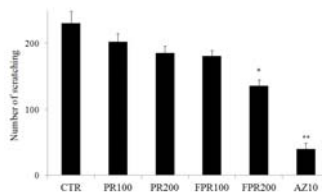


Fig. 2. Effect of 80% EtOH ext. of *Platycodon grandiflorum* (PR) and its fermented production(FPR) on scratching behavior in BALB/c mice. Compound 48/80 at a dose of 50µg/kg was injected intradermally into the shaved back skin of mice. Scratching behavior was observed for 60 min. Results are expressed as the mean±SD (n = 5). **P*(0.05 and ***P*(0.01 vs. control group

2. 초산 신전반응 억제효과

길경 및 발효 길경의 소양행동 억제효과가 면역조절로 인한 반응인지 아니면 단순한 진통효과에 의한 억제작용인지를 평가하기 위해 초산으로 진통을 유발하는 초산신전반응을 관찰한 결과를 Fig.3 에 제시하였다. 대조군에서는 10분당 32회의 신전반응을 나타낸 것에 비해 양성대조군인 Aminopyrine 10mg/kg (i,p) 투여군에서는 대조군의 신전반응을 72.1% 를 저해 하였으며 길경과 발효 길경 투여 전체 군에서 모두 진통효과를 나타내었다. 길경의 경우 투여용량이 증가할수록 오히려 통증반응이 증가된 것에 비해 발효 길경의 경우 투여용량에 비례하게 통증이 감소됨을 나타낸다.

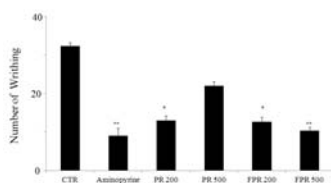


Fig.3. Analgesic effect of 80% EtOH ext. of *Platycodon grandiflorum* (PR)and its fermented production(FPG) on the writhing syndrome induced by 0.7% acetic acid in ICR mice Results are expressed as the mean±SD (n = 5). **P*(0.05 and ***P*(0.01 vs. control group

3. TPA 로 유도한 귀부종 억제 효과

도포를 통해 비교적 단시간 내에 각질세포를 증식시켜 아토피성 피부염의 병변과 유사한 결과를 나타내는 12-O-Tetradecanoylphorbol 13-acetate (TPA)를 생쥐 귀에 도포하여 염증을 유발 시킨 뒤 길경과 발효길경 추출물을 도포하여 귀의 염증 억제효과를 귀 두께를 측정하여 Fig. 4 에 제시하였고 귀조직 을 염색한 결과를 Fig. 5 에 제시하였다. 대조군의 귀부종 증가 억제율 을 비교하면 양성대조군인 Betamethasone 0.05% 를 도포한 군에서는 대조군의 귀부종을 69% 억제한 것으로 나타났다. 길경 에탄올 80% 추출물 0.2% 투여군 (PR 0.2)에서는 27.86% 를 억제하였고 발효 길경 에탄올 80% 추출물 0.2% 투여군 (FPR 0.2)에서는 35.47% 억제한 것으로 관찰되었다. Fig.5 에서는 실험 종료 후 각 군의 평균치의 귀 두께를 나타내는 개체의 귀 피부를 박리한 후 H&E 염색법을 이용하여 피부 조직을 분석한 결과, TPA 로 피부염이 유발된 Control 군(B)은 사진에서 보는 바와 같이 귀 두께가 증가 하여 발진이 진행된 것을 확인할 수 있었고 백혈구의 침윤도 관찰되는 등 현저한 피부손상이 나타난 것으로 확인되었다. 이에 비해 양성대조군은 귀부종이 현저히 감소된 것을 확인할 수 있었다. 한편, TPA 으로 피부염을 유발한 후 FPR 0.2 의 저용량을 처리한 군(F)은 Control군(B)에 비해 epidermis의 두께도 현저히 줄었고, 부종이 많이 사라진 것을 관찰할 수 있었다.

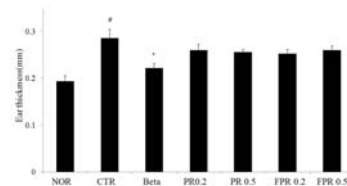


Fig.4. The effects 80% EtOH ext. of *Platycodon grandiflorum* (PR) and its fermented production(FPR) on the ear thickness of mice induced by TPA. NOR, normal group; CTR, TPA alone treated control; Beta, 0.05% Betamethasone; PR 0.2, 0.2%; PR 0.5, 0.5% PR; ; FPR 0.2, 0.2%; FPR 0.5, 0.5% FPR. TPA (3µg in 20µL acetone) was applied to the inner and outer surfaces of a mouse ear. Then, 20µL of test agents (dissolved in acetone: olive oil = 4:1) were topically applied to the same site at 30min after TPA treatment. Normal group received the vehicle alone. Control group received the vehicle alone. The ear thickness, measured as an index of ear skin inflammation, was measured using a Digimatic Micrometer 4 h after the first application of TPA. Each group contained 6 mice(20±2g). Results are expressed as the mean±SD (n = 6). #*P*(0.05 vs. normal or **P*(0.05 vs. control group

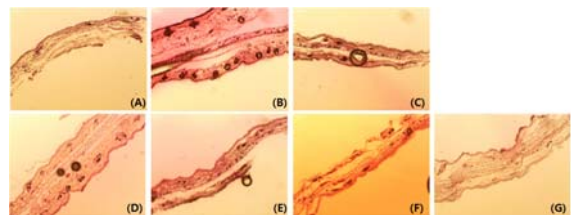


Fig.5. Histopathological pictures of ICR mouse ears after application of TPA with or without *Platycodon grandiflorum* (PR) and its fermented production (FPR). (A), normal group; (B), TPA alone treated control; (C), 0.05% Betamethasone; (D), 0.2% PR; (E), 0.5% PR; (F) FPR 0.2; (G), 0.5% FPR. Mouse ears were excised 4hr after the last application of TPA and fixed in 10%-buffered formalin solution, embedded in paraffin by standard method, cut into 5-µm sections, stained with hematoxylin eosin, and then assessed under light microscopy.

4. OVA로 유도한 혈청 IgE 에 대한 영향

난알부민으로 알레르기 면역반응이 유도된 마우스에서 길경 및 발효길경 에탄올추출물의 IgE 항체 생성에 대한 억제 효과를 비교하기 위해 혈청 내 IgE의 농도를 효소면역반응법으로 측정하였다. 그 결과, Fig. 6 에서와 같이 혈청 내 IgE의 농도는 정상군(Normal)에 비해 난알부민 감작으로 알레르기 면역반응이 유발된 대조군 (Control)에서 현저히 증가되었다. 대조약물인 ketotifen을 10 mg/kg 투여한 군(Ketotifen 10)에서는 대조군에 비해 IgE의 농도가 32.7% 현저히 감소된 것을 확인할 수 있었다. 길경 에탄올 80% 추출물 500mg/kg 투여군 (PR 500)과 발효 길경 에탄올 80% 추출물 500mg/kg 투여군 (FPR 500) 에서는 각각 18.7% 와 27.3%를 억제하는 것으로 나타났다.

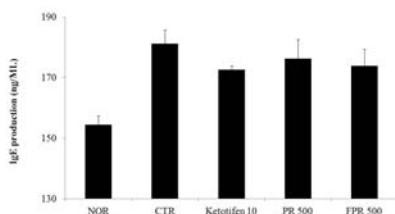


Fig. 6. Effect of *Platycodon grandiflorum* (PR) and its fermented production(FPR) on the Mouse Serum IgE level induced by Ovalbumin. PR and FPR extract was administrated orally at doses of 500 mg/kg body weight in OVA-induced asthma mice. IgE levels were measured in the sera of OVA-induced asthma mice by ELISA. Results are expressed as the mean±SD (n = 6).

5. OVA로 유도한 혈청 SOD 에 대한 영향

난알부민으로 알레르기 면역반응이 유도된 마우스에서 길경 및 발효 길경 에탄올추출물의 체내 항산화계에 미치는 영향을 비교하기 위해 혈청 내 SOD 를 측정하였다. Fig.7 에 제시한 바와 같이 혈청 내 SOD의 농도는 정상군(Normal)보다 난알부민 감작으로 알레르기 면역반응이 유도된 대조군 (Control)에서 현저히 감소하였다. 반면, 길경추출물을 500 mg/kg 투여한 군(PR 500)과 발효길경 500 mg/kg 투여한 군 (FPR 500) 모두에서 대조군에 비해 증가하였으나 PR 500mg/kg 투여한 군보다 FPR 500 mg/kg 투여한 군에서 SOD 농도가 더 유의적으로 증가 하였다.

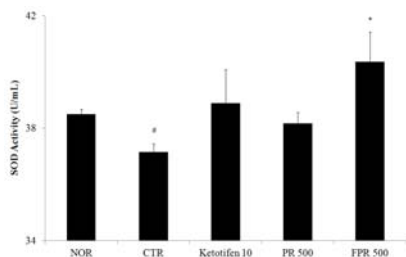


Fig. 7. Effect of *Platycodon grandiflorum* (PR) and its fermented production(FPR) on the Mouse Serum SOD level induced by Ovalbumin. PR and FPR extract was administrated orally at doses of 500 mg/kg body weight in OVA-induced asthma mice. SOD activities were measured in the sera of OVA-induced asthma mice by ELISA. Results are expressed as the mean±SD (n = 6). #P<0,05 vs. normal or *P<0,05 vs. control group

6. OVA로 유도한 혈청 MDA 에 대한 영향

난알부민으로 알레르기 면역반응이 유도된 마우스에서 길경 및 발효 길경 에탄올추출물의 체내 항산화계에 미치는 영향을 비교하기 위해 혈청 내 MDA 를 측정하였다. Fig.8 에 제시한 바와 같이 혈청 내 MDA의 농도는 정상군(Normal)보다 난알부민 감작으로 알레르기 면역반응이 유도된 대조군 (Control)에서 현저히 증가하였다. 반면, 길경추출물을 500 mg/kg 투여한 군(PR 500)과 발효길경 500 mg/kg 투여한 군 (FPR 500) 모두에서 대조군에 비해 감소하였으나 PR 500mg/kg 투여한 군보다 FPR 500 mg/kg 투여한 군에서 MDA 농도가 더 유의적으로 감소하여서 양성대조군인 Ketotifen 10mg/kg 투여군이 대조군에 비해 86.1%를 저해한 효과와 유사한 74.0% 저해효과를 나타내고 있다.

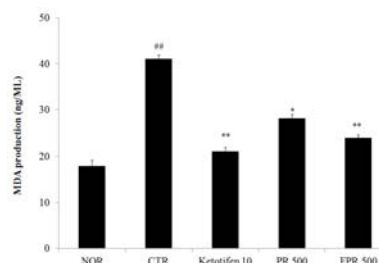


Fig. 8. Inhibitory Effect of PR and FPR on Serum MDA levels in Ovalbumin induced asthmatic model mouse. PR and FPR extract was administrated orally at doses of 500 mg/kg body weight in OVA-induced asthma mice. MDA productions were measured in the sera of OVA-induced asthma mice by ELISA. Results are expressed as the mean±SD (n = 6). ##P<0,01 vs. normal or *P<0,05 and **P<0,01 vs. control group

고찰

항원들이 체내로 들어오면 인체에서는 이들로부터 보호하기 위한 면역반응이 일어나는데, 이러한 면역반응이 지나치면 이를 면역과민반응 또는 알레르기 면역반응이라 한다³⁰⁾. 알레르기증 임상에서 아토피 또는 알레르기 비염에 해당하는 제 I형 과민반응은 비만세포에 부착된 비만세포가 탈과립을 일으키면 histamine 등 일차 화학매체가 유리되어 발생하고, 이때 세포막이 활성화되면 류코트리엔(leukotriene), 프로스타글란딘, 혈소판활성화인자(PAF) 등의 이차화학매체가 분비되며, 다시 비만세포로부터 IL-3, IL-4, IL-5 등의 사이토카인이 분비되어 호산구 등의 염증 세포가 모여들어서 알레르기 염증반응이 지속된다³¹⁾. 이러한 증상을 억제하기 위해서 호염기구와 비만세포 매개체의 분비를 억제하는 H1-수용체 길항제로서의 Azelastine 을, 광범위한 피부질환에 사용하는 스테로이드제로서의 Betamethasone 등이 임상적으로 사용되고 있으나 알레르기 증상을 원천적으로 차단하지 못하거나 신장 및 신경독성의 부작용³²⁾이 있어서 약물의 내성 문제 때문에 근본적 치료 방법이 되지 못하고 있는 실정으므로 천연물 특히 한약재로서 알레르기를 치료하기 위한 노력이 계속 진행되고 있다.

한의학에서 알레르기란 용어는 없으나 두드러기 및 접촉성 피부염은 內癩, 蕁麻疹, 癩疹, 癩, 등으로 이해할 수 있다³³⁾.

길경 및 길경사포닌의 약리효능으로는 진해, 거담작용 및

진통, 해열, 항염증작용 등이 보고되어 있으며^{34,35)}, 최근 들어 도라지 Platycodin D가 IL-3의 유전자 발현을 억제함으로써 탈과립현상을 억제하여 알레르기를 억제한다³⁶⁾고 보고 있다. 먼저 길경 및 발효길경의 비만세포 탈과립 억제효과를 살펴보기 위해서 비만세포의 활성화시키는 화합물중 하나인 Compound 48/80을 이용하여 아토피의 대표적인 임상양상인 소양행동을 유발시켰다. Compound 48/80은 혼합 다당체 성분으로 비만세포막 수용체에 작용하여 세포외의 칼슘을 세포내로 유입시킴으로써 세포내 자유칼슘의 양을 증가시켜 비만세포의 탈과립 및 히스타민 유리를 강력하게 일으키며 세포내 cAMP-phosphodiesterase의 파괴를 억제하여 세포내 cAMP양을 감소시킨다고 알려져 있다^{37,38)}. 가려움증으로 인한 소양행동과 그로 인한 피부장벽의 기능장애는 아토피피부염의 중추적인 임상양상이자 주요한 치료의 대상으로 여겨지고 있다. 그 중에서도 가려움증은 아토피 피부염의 주요한 임상양상³⁹⁾으로서 아토피피부염 환자에서 병변 피부의 표피에서의 경피 신경 섬유는 고밀도로 확장되어 있으며 이는 피부의 표면에까지 이르는 것으로 알려져 있다^{40,41)}. 따라서 생쥐의 소양행동억제효과가 단순히 통증을 저해함에 기인한 것인지를 확인하기 위해서 초산으로 유도한 진통효과를 확인하였다. 진통실험 결과를 통하여 길경의 고농도 추출물에서 통증이 생쥐의 소양행동에 영향을 미치는 것으로 나타나 그 결과는 제시하지 않았다. 다음으로 길경 및 발효길경이 아토피 증상으로 각질이 두꺼워지는 것을 저해하는지 유무를 확인하기 위해서 TPA를 생쥐 피부에 도포하여 염증을 유도하여 보았다. TPA는 급성 접촉성 피부염을 유발하여 피부를 자극하며 국소염증의 임상양상으로 표피의 각질세포가 증식되어 피부의 두께가 두꺼워지는 것이 두드러진 특징이다. 또한 혈관투과성이 증가시켜 진피에 부종이 유발되고 염증세포의 침윤이 증가⁴²⁾된다고 알려져 있다. 본 실험에서도 짧은 시간내에 생쥐의 귀 두께의 현저한 증가를 가져온 것으로 관찰되었다. 아토피 환자의 대표 증상으로서 혈청 IgE가 높는데, 이는 아토피 환자의 Th-1/Th-2 불균형으로 인해 IgE의 과다분비에 의한 것임⁴³⁾이 보고되고 있으며 항원 자극에 의해 생산된 IgE는 비만세포 또는 호염기구 표면에 있는 Fc receptor와 결합하게 되며, 다시 항원이 들어오게 되면 특이 항체 IgE와 결합함으로써 이들 세포에 탈과립을 일으켜 histamine, leukotriene 등을 방출되어 혈관투과성이 증가되고, 국소 부종 등의 알레르기 반응⁴⁴⁾이 나타나는 것이다. 이에 동물모델에서 발효길경의 IgE 저해효과를 확인하기 위해서 OVA로 천식을 유도하였다. 즉, 한의학에서 알레르기 반응은 鼻鼈, 鼻塞, 喘息, 咳嗽, 急喉痺, 癩疹, 搔癢, 癩疹 등으로 모두 鼻, 肺, 皮膚와 관련되므로 肺系統의 질환으로 보고 있다^{45,46)} 폐와 관련된 알레르기 유발물질로 대표적인 난알부민(ovalbumin, OVA)은 B세포의 활성화에 의한 혈청 내 IgE 농도의 증가와 더불어 T세포 매개에 의한 염증성 사이토카인들은 물론, 화학주성의 원인인 케모카인(chemokine)의 생산을 증가⁴⁷⁾시키며 OVA로 염증사이토카인이 증가하고 염증세포의 침투가 증가하여 염증부위에서는 활성산소가 생성되어 천식과 같은 다양한 질환이 유발된다⁴⁸⁾고 알려져 있다. 본 실험에서는 염증부위로 인한 혈류내의 SOD 변화 유무를 확인하였다. Superoxide dismutase(SOD)는 체내의 항산화 체제의 중추적인 역할을 하는 효소로서 산화적 스트레스가 발생

할 때 생기는 Superoxide를 제거하는데 중요한 역할을 담당한다. 알레르기와 관련해서는 호산구성 비염환자의 상피점막에서 SOD가 현저히 낮게 발현된다⁴⁹⁾고 보고되고 있으며 이는 SOD가 수지상세포의 성숙을 저해하고 T림프구의 증식을 조절하여 Th2 세포와 Th17 세포로의 분화를 조절⁵⁰⁾하여 OVA로 유도한 알레르기성 기도염증을 완화하는 것으로 알려져 있다. 또한 활성산소로 생기는 지질과산화물도 정량하였다. Malondialdehyde (MDA),는 대표적인 지질과산화 산물로서 막지질의 손상지표⁵¹⁾로 알려져 있다. 특히 아토피환자, 그중에서도 어린이의 경우 혈청내의 MDA 수치가 일반인에 비해 높게 나타나는 것으로 보고⁵²⁾되어 지질과산화로 인한 아토피성 피부염 악화정도를 평가할 수 있는 지표로 사용할 수 있었다.

한편 길경과 그 사포닌인 platycodin은 그간 다수 알려진 약리학적 효능에도 불구하고 특이한 아린 맛과 쓴 맛을 가지고 있어서 장복 또는 상용화에 한계가 있어왔다. 따라서 특유의 고미를 개선하고 길경 내의 배당체를 미생물을 이용하여 전환을 통하여 약리작용과 안전성을 증진시킬 방법을 찾는 것은 필요한 일이다. 그동안에 길경의 발효에 대한 연구가 다수 진행되어 발효를 통해 관능치를 가진 특이적으로 변형된 형태의 platycodin을 산출한다고 보고^{53,54)}된 바 있으므로 본 실험에서는 길경 포제의 개념으로 비교적 상용화에 용이한 효모 균주를 이용한 생물전환을 통하여 길경의 항산화를 증진시키고 알레르기로 인한 증상을 완화시킬 수 있다고 여겨지므로 앞으로 알레르기를 완화하는 기전이 추가로 연구되어야 할 필요가 있다고 생각된다.

결론

본 연구는 알레르기로 인한 소양행동이 증가된 마우스와 난알부민 감작으로 알레르기 면역반응이 유도된 마우스에서 발효길경 80% 에탄올추출물의 알레르기 조절효과를 확인하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 길경발효 추출물은 비만세포 탈과립으로 인한 생쥐의 소양행동을 억제시켰으며 이는 진통효과도 일부 작용한 것으로 여겨진다.
2. 길경과 길경발효 추출물은 TPA로 귀부종이 유도된 아토피 피부염 동물모델에서 귀 조직의 상피층 손상을 막고, 염증세포 침윤을 억제시킴으로써 부종과 같은 피부염 증상을 완화했지만 유의성은 발견되지 않았다.
3. 길경발효 추출물은 난알부민 유도 알레르기 면역반응이 유도된 마우스에서 감소된 혈청 내 SOD를 유의적으로 증가시켰다.
4. 길경과 길경발효 추출물은 난알부민 유도 알레르기 면역반응이 유도된 마우스에서 증가된 혈청내의 MDA를 감소시켰으며 특히, 길경발효추출물 투여군에서는 유의성이 발견되었다.

본 연구결과로부터 발효 길경의 80% 에탄올추출물은 알레르기 면역반응 유도 매개물질들의 분비를 감소시키고, 체내의 항산화계를 회복시킴으로써 알레르기로 인한 피부질환 치료에 효과적일 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 공동연구사업(과제번호: PJ008801)의 지원에 의하여 이루어진 것이므로 이에 사의를 표합니다.

References

- Shin JH, Shin YW. Illustrated book of Medicinal herbs from Hyangyakjipsungbang. Daegu : KMU press, 2006 : 154.
- Lee SW, Son YW, Shin YW, Cho YS. The Current Status in Korea and Future Perspectives of Balloon Flower (*Platycodon grandiflorum*) in Gyeongsangnam -Do. Korean J Int Agric. 2014 ; 26(1) : 68-72.
- Lee BJ, Shin YW, Lee SW, Chun HS, Cho YS. Effects of Storage Methods and Periods on Root Hardness and Content of Saponin in *Platycodon grandiflorum* Radix. Korean J Crop Sci. 2014 ; 59(2) : 134-8.
- Shin YW, Shin JH. Illustrated book of Medicinal herbs from Donguibogam. Daegu : Baek cho publishing co. 2013 : 112.
- The National wide college of Oriental medicine joint textbook publish commission compilation. Herbalogy. seoul : younglimsa. 2007 : 496-7.
- Park SJ, Lee HA, Kim JW, Lee BS, Kim EJ. *Platycodon grandiflorus* alleviates DNCB-induced atopy-like dermatitis in NC/Nga mice. Indian J Pharmacol. 2012 ; 44(4) : 469-74.
- Oh YC, Kang OH, Choi JG, Lee YS, Brice OO, Jung HJ, Hong SH, Lee YM, Shin DW, Kim YS, Kwon DY. Anti-allergic activity of a platycodon root ethanol extract. Int J Mol Sci. 2010 ; 11(7) : 2746-58.
- Han EH, Park JH, Kim JY, Chung YC, Jeong HG. Inhibitory mechanism of saponins derived from roots of *Platycodon grandiflorum* on anaphylactic reaction and IgE-mediated allergic response in mast cells. Food Chem Toxicol. 2009 ; 47 : 1069-75.
- Choi JH, Hwang YP, Lee HS, Jeong HG. Inhibitory effect of Platycodi Radix on ovalbumin-induced airway inflammation in a murine model of asthma. Food Chem Toxicol. 2009 ; 47(6) : 1272-9.
- Ryu J, Lee HJ, Park SH, Kim J, Lee D, Lee SK, Kim YS, Hong JH, Seok JH, Lee CJ. Effects of the root of *Platycodon grandiflorum* on airway mucin hypersecretion in vivo and platycodin D(3) and deapi-platycodin on production and secretion of airway mucin *in vitro*. Phytomedicine. 2014 ; 21(4) : 529-33.
- Kim YP, Lee EB, Kim SY, Li D, Ban HS, Lim SS, Shin KH, Ohuchi K. Inhibition of prostaglandin E2 production by platycodin D isolated from the root of *Platycodon grandiflorum*. Planta Med. 2001 ; 67(4) : 362-4.
- Chung JW, Noh EJ, Zhao HL, Sim JS, Ha YW, Shin EM, Lee EB, Cheong CS, Kim YS. Antiinflammatory activity of prosapogenin methyl ester of platycodin D via nuclear factor-kappaB pathway inhibition. Biol Pharm Bull. 2008 ; 31(11) : 2114-20.
- Hong J, Shin KH, Lim SS, Kwak JH, Zee O, Ishihara K, Hirasawa N, Seyama T, Ohuchi K. Lead compounds for anti-inflammatory drugs isolated from the plants of the traditional oriental medicine in Korea. Inflamm, Allergy Drug Targets. 2008 ; 7(3) : 195-202.
- Choi S.S., Han E.J., Lee T.H., Lee J.K., Han K.J., Lee H.K., Suh H.W. Antinociceptive mechanisms of platycodin D administered intracerebroventricularly in the mouse. Planta Med. 2002 ; 68(9) : 794-8.
- Choi SS, Han EJ, Lee TH, Han KJ, Lee HK, Suh HW. Antinociceptive profiles of platycodin D in the mouse. Am J Chin Med. 2004 ; 32(2) : 257-68.
- Kim MS, Kim WG, Chung HS, Park BW, Ahn KS, Kim JJ, Bae H. Improvement of atopic dermatitis-like skin lesions by *Platycodon grandiflorum* fermented by *Lactobacillus plantarum* in NC/Nga mice. Biol Pharm Bull. 2012; 35(8) : 1222-9.
- Jang IG, Yang JK, Lee HJ, Yi JY, Kim HO, Kim CW. Clinical improvement and immunohistochemical findings in severe atopic dermatitis treated with interferon gamma. J Am Acad Dermatol. 2000 ; 42(6) : 1033-40.
- Chien CH, Hsieh KH. Interleukin-2 immunotherapy in children. Pediatrics. 1990 ; 86(6) : 937-43.
- Omata N, Tsukahara H, Ito S, Ohshima Y, Yasutomi M, Yamada A, Jiang M, Hiraoka M, Nambu M, Deguchi Y, Mayumi M. Increased oxidative stress in childhood atopic dermatitis. Life Sci. 2001 ; 69(2) : 223-8.
- Tsukahara H, Shibata R, Ohshima Y, Todoroki Y, Sato S, Ohta N, Hiraoka M, Yoshida A, Nishim S, Mayumi M. Oxidative stress and altered antioxidant defenses in children with acute exacerbation of atopic dermatitis. Life Sci. 2003 ; 72(22) : 2509-16.
- Niwa Y, Sumi H, Kawahira K, Terashima T, Nakamura T, Akamatsu H. Protein oxidativedamage in the stratum corneum: Evidence for a link between environmental oxidants and the changing prevalence

- and nature of atopic dermatitis in Japan. *Br J Dermatol*. 2003 ; 149(2) : 248–54.
22. Antille C, Sorg O, Lubbe J, Saurat JH. Decreased oxidative state in non-lesional skin of atopic dermatitis. *Dermatology*. 2002 ; 204(1) : 69–71.
 23. Tsourei-Nikita E, Hercogova J, Lotti T, Menchini G. Evaluation of dietary intake of vitamin E in the treatment of atopic dermatitis: a study of the clinical course and evaluation of the immunoglobulin E serum levels. *Int J Dermatol*. 2002 ; 41(3) : 146–50.
 24. Leung DY, Boguniewicz M, Howell MD, Nomura I, Hamid QA. New insights into atopic dermatitis. *J Clin Invest*. 2004 ; 113(5) : 651–7.
 25. Kim TY, Shin YW. The Effect of Femented *Platycodon grandiflorum* on the Memory Impairment of Mice. *Kor J Herbology*. 2013 ; 28(2) : 25–31.
 26. Sugimoto Y, Umakoshi K, Nojiri N, Kamei C. Effect of histamine H1 receptor antagonists on compound 48/80-induced scratching behavior in mice. *Eur J Pharmacol*. 1998 ; 351(1) : 1–5.
 27. Siegmund E, Cadmus R, Lu G. A method for evaluating both non-narcotic and narcotic analgesics. *Proc Soc Exp Bio Med*. 1957 ; 95(4) : 729–31.
 28. Park BK, Heo MY, Park H, Kim HP. Inhibition of TPA-induced cyclooxygenase-2 expression and skin inflammation in mice by wogonin, a plant flavone from *Scutellaria radix*. *Eur J Pharmacol*. 2001 ; 425(2) : 153–7.
 29. Gong JH, Shin D, Han SY, Kim JL, Kang YH. Kaempferol suppresses eosinophil infiltration and airway inflammation in airway epithelial cells and in mice with allergic asthma. *J Nutr*. 2012 ; 142(1) : 47–56.
 30. Holgate, ST, Polosa, R. Treatment strategies for allergy and asthma. *Nat Rev Immunol*. 2008 ; 8(3) : 218–30.
 31. Kim HM. *Immunology & Allergy*. Seoul : Shinilbooks. 1998 : 234–41.
 32. Bielory L. Complementary and alternative interventions in asthma, allergy, and immunology. *Ann. Allergy Asthma Immunol*. 2004 ; 93(2 Suppl. 1) : 45–54.
 33. Lee JE, Park SH, Kang KH, Lee YT. Study on Anti-allergic Effect and Safety of Bangpung-galgeun-tang. *Korean J Orient Physiol Pathol*. 2007 ; 21(5) : 1118–26.
 34. Kim YP, Lee EB, Kim SY, Li D, Ban HS, Lim SS, Shin KH, Ohuchi K. Inhibition of prostaglandin E2 production by platycodin D isolated from the root of *Platycodon grandiflorum*. *Planta Med*. 2001 ; 67(4) : 362–4.
 35. Shin CY, Lee WJ, Lee EB, Choi EY, Ko KH. Platycodin D and D3 increase airway mucin release in vivo and in vitro in rats and hamsters. *Planta Med*. 2002 ; 68(3) : 221–5.
 36. Park SJ, Kim JW, Park SJ, Kim TJ. Effects of *Platycodon Grandiflorum* Including Platycodin D in IgE/Ag-Induced Type I Hypersensitivity. *J Life Sci*. 2012 ; 22(5) : 595–9.
 37. Kang KJ, Jun BD, Chai OH, Lee MS. Inhibitory Effects of Mori Cortex on Compound 48/80-induced Histamine Release and Calcium Uptake of Rat Peritoneal Mast Cells. *Korean J Immunol*. 1993 ; 15(1) : 91–9.
 38. Kang KJ, Chai OH, Choi MH, Shin IH, Lee MS, Jun BD. Inhibitory Effects of Mori Cortex on Compound 48/80-induced Histamine Release and cAMP of Rat Peritoneal Mast Cells. *The Korean Journal of biological response modifiers*. 1994 ; 4(1) : 111–22.
 39. Wahlgren CF. Itch and atopic dermatitis: clinical and experimental studies. *Acta Derm Venereol Suppl. (Stockh)* 1991 ; 165(1) : 1–53.
 40. Tominaga M, Ozawa S, Ogawa H, Takamori K. A hypothetical mechanism of intraepidermal neurite formation in NC/Nga mice with atopic dermatitis. *J Dermatol Sci* 2007 ; 46(3) : 199–210.
 41. Sugiura H, Omoto M, Hirota Y, Danno K, Uehara M. Density and fine structure of peripheral nerves in various skin lesions of atopic dermatitis. *Arch Dermatol Res*. 1997 ; 289(3) : 125–31.
 42. Lee DY, Choi GY, Yoon TS, Cheon MS, Choo BK, Kim HK. Anti-inflammatory activity of *Chrysanthemum indicum* extract in acute and chronic cutaneous inflammation. *J Ethnopharmacol*. 2009 ; 123(1) : 149–54.
 43. Beltrani VS. Suggestions regarding a more appropriate understanding of atopic dermatitis. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2005 ; 5(5) : 413–8.
 44. Niers LE, Timmerman HM, Rijkers GT, Bleek GM, Uden NO, Knol EF, Kapsenberg ML, Kimpen JL, Hoekstra MO. Identification of strong interleukin-10 inducing lactic acid bacteria which downregulate T helper type 2 cytokines. *Clin Exp Allergy*. 2005 ; 35(11) : 1481–9.
 45. Choi KJ. Effect of *Saururus chinensis* (Lour.) Baill Aquacupuncture on Allergy in Mice. Dongeui university. 2004.
 46. Kang SY, Jung JK, Lee SK, Lee SH, Park YK. Effects of the ethanol extract of *Codonopsis Pilosulae Radix* on ovalbumin-induced allergic responses in mice. *Kor J Herbology*. 2013 ; 28(2) : 9–15.
 47. Reiss Y, Proudfoot AE, Power CA, Campbell JJ, Butcher EC. CC chemokine receptor (CCR)4 and the CCR10 ligand cutaneous T cell-attracting chemokine (CTACK) in lymphocyte trafficking to inflamed

- skin, *J Exp Med*, 2001 ; 194(10) : 1541-7.
48. Conner EM, Grisham MB. Inflammation, free radicals, and antioxidants. *Nutrition* 1996 ; 12(4) : 274-7.
49. Ono N, Kusunoki T, Miwa M, Hirotsu M, Shiozawa A, Ikeda K. Reduction in superoxide dismutase expression in the epithelial mucosa of eosinophilic chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *Int Arch Allergy Immunol*. 2013 ; 162(2) : 173-80.
50. Kwon MJ, Jeon YJ, Lee KY, Kim TY. Superoxide dismutase 3 controls adaptive immune responses and contributes to the inhibition of ovalbumin-induced allergic airway inflammation in mice. *Antioxid Redox Signal*. 2012 ; 17(10) : 1376-92.
51. Tiwari M, Dwivedi UN, Kakkar P. *Tinospora cordifolia* extract modulates COX-2, iNOS, ICAM-1, pro-inflammatory cytokines and redox status in murine model of asthma. *J Ethnopharmacol*. 2014 ; 153(2) : 326-37.
52. Tsukahara H, Shibata R, Ohshima Y, Todoroki Y, Sato S, Ohta N, Hiraoka M, Yoshida A, Nishima S, Mayumi M. Oxidative stress and altered antioxidant defenses in children with acute exacerbation of atopic dermatitis. *Life Sci*. 2003 ; 72(22) : 2509-16.
53. Kang JH. Transformation of saponin Platycodin Radix(Platycodin) by *Aspergillus niger* and bioactivity evaluation of the transformed metabolites. Seoul National Univ. 2007.
54. Park S, Yoo J, Kim H, Choi Y, Choi H, Song J. The physicochemical characteristics and anti-oxidant activity of extracts of *Platycodon grandiflorus* (Jacquin) A. De Candolle. *Planta Med* 2013 ; 79 PN81, Book of Abstracts, 61st International Congress and Annual Meeting of the Society for Medicinal Plant and Natural Product Research