

# 황금이 천식모델 생쥐의 혈청 사이토카인에 미치는 영향

나도균 · 박양춘\*

대전대학교 한의과대학 폐계내과학교실

## Effect of *Scutellariae Radix* Extract on Serum Cytokines in OVA-induced Asthmatic Mice

Do Gyun Na, Yang Chun Park\*

Division of Respiratory System, Department of Internal Medicine College of Oriental Medicine, Daejeon University

The purpose of this research is to examine the effects of *Scutellariae Radix*(SR) extract on cytokines in ovalbumin (OVA)-induced asthmatic mice. In vivo, C57BL/6 mice were sensitized and handicapped by OVA for 12 weeks. During this experiment, the one group was then treated with SR extract for the later 8 weeks (3 times per week) and analyzed by ELISA. There were significant decreases in IL-4(p<0.05), IL-5(p<0.05), IL-13(p<0.01), histamine(p<0.05) in serum of SR group. IgE also decreased, but was not significant compared with that of control group. The results of this study support a role for SR as an effective treatment for asthma in its experimental success in significantly decreasing inflammation and asthma reactions.

Key words : *Scutellariae Radix*, asthma, cytokine.

### 서 론

기관지천식(이하 천식)은 한의학에서 효천증의 범주에 속하는 질환으로 가역적인 기도폐쇄 증상을 보이면서, 기도과민반응을 나타내고, 기도의 염증소견이 관찰되는 염증성 기도질환이다<sup>1)</sup>. 병리학적으로는 항원, 비만세포 및 IgE가 관여하여 분비되는 화학매체의 직접적인 약리작용에 의하거나, 화학매체, 사이토카인 및 유착분자가 관여하여 기관지로 모여온 염증세포에 의하여 발생하는 기도의 만성 알레르기 염증성 질환으로 이해되고 있으며<sup>2,3)</sup>, 최근의 천식에 대한 연구는 관련 사이토카인을 중심으로 하는 분자생물학적 연구방법이 많이 시행되고 있다<sup>4-7)</sup>.

황금(*Scutellariae Radix*)은 性은 寒無毒하고 味는 苦하며 瀉實火, 除濕熱, 止血, 安胎하여 壯熱煩渴, 肺熱咳嗽, 濕熱瀉痢, 黃疸 등을 치료하는 효능이 있다<sup>8)</sup>. 황금에 대한 기존의 연구로는 전<sup>9)</sup>의 알레르기성 접촉성피부염에 대한 연구, 허<sup>10)</sup>와 김<sup>11)</sup>의 oxidant에 의한 세포손상에 미치는 영향, 김<sup>12)</sup>의 gastrin 및 uropepsin의 분비에 미치는 영향에 대한 연구와 같은 다양한 연구들이 있었

으나 천식모델을 대상으로 하는 연구는 없었다.

이에 저자는 황금이 사이토카인에 미치는 영향을 규명하고자 in vivo 실험으로 혈청내 IL-4, IL-5, IL-13, IgE, histamine의 분비를 측정하여 유의한 결과를 얻어 보고하는 바이다.

### 재료 및 방법

#### 1. 재료

##### 1) 동물

동물은 체중 18~25g의 C57BL/6(한국화학연구소) 생쥐를 사료와 물을 충분히 공급하고, 2주일간 실험실 환경에 적응시킨 후 체중 변화가 일정하고 건강한 동물만을 선별하여 실험에 사용하였다.

##### 2) 약재

황금(*Scutellariae Radix*)은 대전대학교부속한방병원에서 구입 정선하여 사용하였다.

#### 2. 실험방법

##### 1) 기관지 천식 생쥐 모델<sup>13)</sup>

500 µg/ml의 난알부민(OVA, chicken egg ovalbumin;

\* 교신저자 : 박양춘, 청주시상당구용담동 대전대부속 청주한방병원 1내과

· E-mail : omdpyc@dju.ac.kr, · Tel : 043-229-3705

· 접수 : 2005/05/20 · 수정 : 2005/06/22 · 채택 : 2005/07/26

Grade IV)과 10 % (w/v) aluminum potassium sulfate (Alum)를 PBS로 용해한 후 혼합하여 얻은 혼합물에 10N NaOH를 첨가하여 pH가 6.5가 되게 조정하고, 상온에서 1시간 동안 방치한 후 750 × g에서 5분 동안 원심분리하였다. 분리한 OVA/Alum 침전물(pellet)에 증류수를 가하여 원래의 양으로 용해한 후 100 µg OVA를 0.2 ml로 조정하여 복강내로 주사하여 전신감작을 시켰다. 이후 4주째에 생쥐를 마취한 후 난알부민(500 µg/ml) 100 µl를 기관으로 직접 투여(I.T. : intra trachea)하였다. 5~12주간 분무기를 이용하여 2.5 mg/ml 난알부민 용액을 하루에 30분씩 일주일에 3회씩 8주 동안 비강 및 기도내로 흡입시켰다.

2) 황금 추출물 경구 투여

OVA/Alum로 전신감작 시킨 후 5주째부터 황금 추출물(220 mg/kg)을 일주일에 3회 경구로 투여하였다. 대조군은 동량의 증류수를 경구로 8주간 투여하였다.

3) ELISA analysis

생쥐에서 분리한 혈청에서 IL-4, IL-5, IL-13, IgE, histamine의 양을 측정하기 위하여 enzyme-linked immuno-sorbent assay(ELISA)를 실시하였다.

4) 통계처리

실험 결과의 통계처리는 unpaired Student's t-test를 사용하였고, P<0.05, P<0.01 또는 P<0.001 수준에서 유의성을 검정하였다.

결 과

1. IL-4 분비에 미치는 영향

혈청내의 IL-4 분비를 측정된 결과, 정상군은 3.2±0.07(pg/ml)로, 대조군은 43.2±5.2(pg/ml), SR 투여군은 25.6±5(pg/ml)으로 유의성 있게(p<0.05) 감소하였다(Fig. 1).

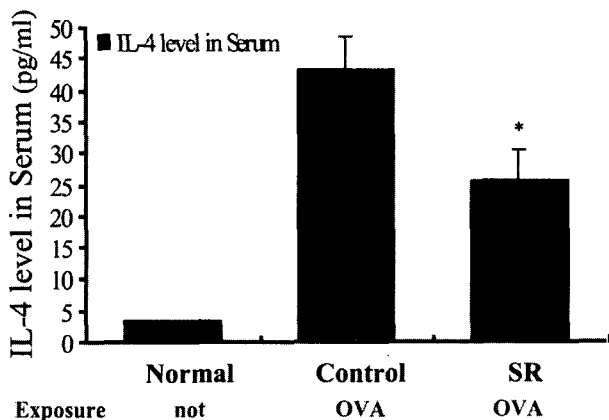


Fig. 1. Effect of SR extract drug on IL-4 level in murine OVA-induced asthma of serum. C57BL/6 mice were injected, inhaled and sprayed with OVA for 12 weeks (3 times a week) for asthma induction. Two experimental groups were treated with different concentrations of SR extract for the later 8 weeks. At the end of the experiment, serum was obtained from each group of mice and IL-4 level was calculated. The results are expressed the mean±S.E (N=10). Statistically significant value compared with control group data by T test (\*p<0.05). Normal, normal C57BL/6 mice; OVA-control, OVA inhalation; OVA- SR, OVA inhalation and SR treatment.

2. IL-5 분비에 미치는 영향

IL-5 분비를 측정된 결과, 정상군은 11.3±2.6(pg/ml), 대조군은 180.5±19.1(pg/ml), SR 투여군은 96.4±17.3(pg/ml)으로 유의성 있게(P<0.05) 감소하였다(Fig. 2).

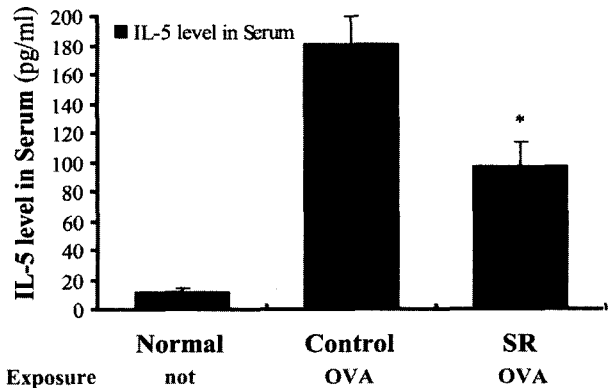


Fig. 2. Effect of SR extract drug on IL-5 level in murine OVA-induced asthma of serum. C57BL/6 mice were injected, inhaled and sprayed with OVA for 12 weeks (3 times a week) for asthma induction. Two experimental groups were treated with different concentrations of SR extract for the later 8 weeks. At the end of the experiment, serum was obtained from each group of mice and IL-5 level was calculated. The results are expressed the mean±S.E (N=10). Statistically significant value compared with control group data by T test (\*p<0.05). Normal, normal C57BL/6 mice; OVA-control, OVA inhalation; OVA- SR, OVA inhalation and SR treatment.

3. IL-13 분비에 미치는 효과

IL-13 분비를 측정된 결과, 정상군은 12.4±3.2(pg/ml), 대조군은 489.0±28.1(pg/ml), SR 투여군은 275.3±21.2(pg/ml)로 유의성(P<0.01) 있게 감소하였다(Fig. 3).

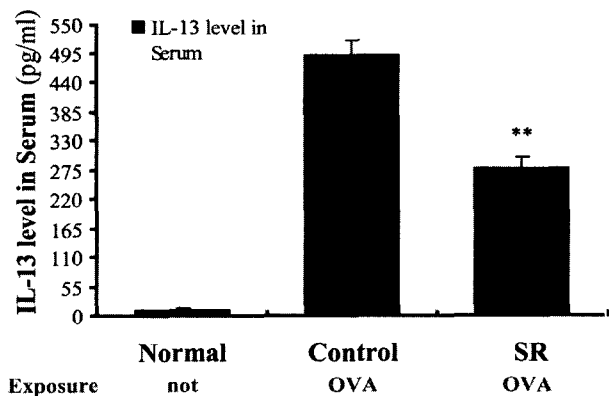
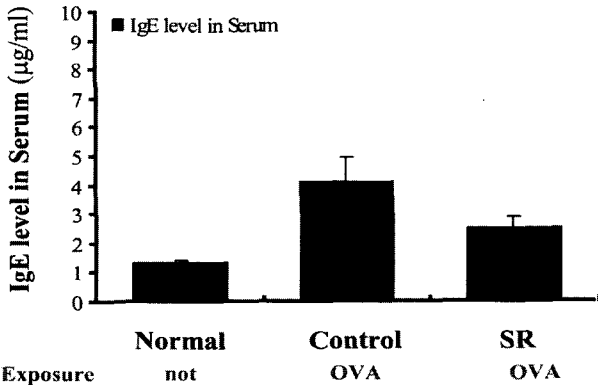


Fig. 3. Effect of SR extract drug on IL-13 level in murine OVA-induced asthma of serum. C57BL/6 mice were injected, inhaled and sprayed with OVA for 12 weeks (3 times a week) for asthma induction. Two experimental groups were treated with different concentrations of SR extract for the later 8 weeks. At the end of the experiment, serum was obtained from each group of mice and IL-13 level was calculated. The results are expressed the mean±S.E (N=10). Statistically significant value compared with control group data by T test (\*\*p<0.01). Normal, normal C57BL/6 mice; OVA-control, OVA inhalation; OVA- SR, OVA inhalation and SR treatment.

4. IgE 분비에 미치는 효과

IgE 분비를 측정된 결과, 정상군은 1.37±0.07(pg/ml), 대조

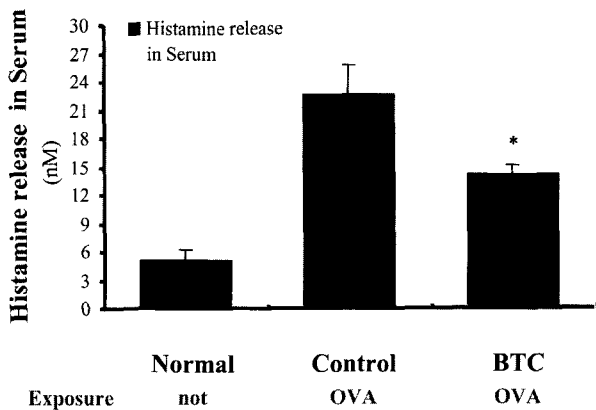
군은  $4.09 \pm 0.86$  (pg/ml), SR 투여군은  $2.5 \pm 0.41$  (pg/ml)로 감소하였다(Fig. 4).



**Fig. 4. Effect of SR extract drug on IgE level in murine OVA-induced asthma of serum.** C57BL/6 mice were injected, inhaled and sprayed with OVA for 12 weeks (3 times a week) for asthma induction. Two experimental groups were treated with different concentrations of SR extract for the later 8 weeks. At the end of the experiment, serum was obtained from each group of mice and IgE level was calculated. The results are expressed the mean±S.E (N=10). Statistically significant value compared with control group data by T test. Normal, normal C57BL/6 mice; OVA-control, OVA inhalation; OVA- SR, OVA inhalation and SR treatment.

#### 5. Histamine 방출에 미치는 영향

Histamine을 측정 한 결과, 정상군은  $5.1 \pm 1.1$  (nM), 대조군은  $22.6 \pm 3.1$  (nM), SR 투여군은  $14.2 \pm 0.84$  (nM)로 유의성 있게 ( $P < 0.05$ ) 감소하였다(Fig. 5).



**Fig. 5. Effect of SR extract drug on histamine level in murine OVA-induced asthma of plasma.** C57BL/6 mice were injected, inhaled and sprayed with OVA for 12 weeks (3 times a week) for asthma induction. Two experimental groups were treated with different concentrations of SR extract for the later 8 weeks. At the end of the experiment, serum was obtained from each group of mice and histamine level was calculated. The results are expressed the mean±S.E (N=10). Statistically significant value compared with control group data by T test (\* $p < 0.05$ ). Normal, normal C57BL/6 mice; OVA-control, OVA inhalation; OVA- SR, OVA inhalation and SR treatment.

## 고찰

기관지천식(이하 천식)은 호산구와 림프구의 침윤이 뚜렷하고, 중증도에 따라서 기도 염증 반응이 심해지며, 기도 상피세포

의 탈락, 상피세포 기저막하 콜라겐 침착, 기도평활근 및 점액선 증식 등의 병리조직학적 소견을 보이는 질환으로 기존의 가역적인 기도폐색과 기관지 과민성 이외에 기도의 만성염증성질환이라는 개념으로 인식되고 있다<sup>4)</sup>.

천식의 병인에 중요하게 관여하는 보조 T세포(T helper 세포: 이하 Th세포)는 서로 길항작용을 나타내는 Th1세포와 Th2세포로 나뉘는데 Th1세포는 주로 IFN- $\gamma$ , TNF- $\beta$ , IL-2를 생산하며 바이러스 같은 세포내 병원체를 공격하고, 지연형 과민반응을 일으키고, 종양에 대한 숙주반응에 관여하는데 Th1 경로가 지나치게 활성화되면 류마티스 관절염, 다발성 경화증, 1형 당뇨병과 같은 자가면역질환을 발생시킨다. Th2세포는 IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 등을 생산하며 기생충감염에 대한 방어작용에 관여하는데 Th2 경로는 기관지천식과 같은 알레르기성 질환의 기초가 되어 천식환자의 기관지 폐포세척액에서 Th2세포 기능의 활성화가 관찰되고 있다<sup>19)</sup>. 즉 항원에 의한 IgE 생성에 필수적인 요소인 IL-4를 분비하는 Th2세포는 naive CD4<sup>+</sup> T세포가 IL-4의 영향으로 항원과 반응시 분화되고 이때 IgE 생성을 방해하는 IFN- $\gamma$ 를 분비하는 Th1 세포는 그 발달이 저해된다. 따라서 항진된 Th2 형의 면역 반응을 억제하는 것이 천식의 치료에 있어 중요하게 생각되고 있다<sup>20)</sup>.

천식은 韓醫學에서 呼吸急促, 喉中有聲하는 哮喘證의 範疇에 해당하는데, 그 原因에 대하여는 寒冷說, 心因說, 痰因說, 素因說, 感染說, 過敏性反應 등으로 정리하고 있다<sup>3)</sup>. 哮喘證의 치료에 있어 實證은 外感風寒, 痰濕內盛으로 나누어 宣肺定喘, 化痰定喘하는 처방을 사용하고, 虛證은 肺虛, 心腎虛損, 上實下虛로 나누어 養肺定喘, 補益心腎 納氣定喘, 瀉肺化痰 補益腎元하는 처방을 사용한다<sup>3)</sup>.

황금(*Scutellaria Radix*)은 꿀풀과(Labiatae)에 속한 다년생 초본인 황금(*Scutellaria baicalensis* GEORGI)의 근을 건조한 것으로, 性은 寒無毒하고 味는 苦하며 瀉實火, 除濕熱, 止血, 安胎하여 壯熱煩渴, 肺熱咳嗽, 濕熱瀉痢, 黃疸 등을 치료하는 효능이 있다<sup>8)</sup>. 황금에 대한 기존의 연구로는 전<sup>9)</sup>의 알레르기성 접촉성 피부염에 대한 연구, 허<sup>10)</sup>와 김<sup>11)</sup>의 oxidant에 의한 세포손상에 미치는 영향, 김<sup>12)</sup>의 gastrin 및 uropepsin의 분비에 미치는 영향에 대한 연구와 같은 다양한 연구들이 있었으나 천식모델을 대상으로 하는 연구는 없었다.

이에 저자는 황금이 천식유발 면역세포 및 사이토카인에 미치는 영향을 규명하고자 in vivo 실험으로 기관지천식 모델 생쥐의 혈청에서 관련 사이토카인의 분비에 미치는 영향을 측정하였다.

ELISA 분석결과를 살펴보면, 혈청내에서 IL-4, IL-5, IL-13, histamine은 대조군에서 정상군에 비해 분비량이 증가하였고 황금을 투여한 실험군에서 대조군에 비하여 유의성( $P < 0.01 \sim 0.05$ ) 있게 감소하였다(Fig. 1~3). 혈청 IgE는 대조군에서 정상군에 비해 분비량이 증가하였고 실험군에서 대조군에 비하여 감소하였으나 유의성은 없었다(Fig. 4). 혈청 histamine은 대조군에서 정상군에 비해 분비량이 증가하였고 실험군에서 대조군에 비하여 유의성( $P < 0.05$ ) 있게 감소하였다(Fig. 5).

IL-4는 B 세포가 성장하고 분화하는데 작용하여 IgE 분비를 향진시키고 vascular cell adhesion molecule(VCAM)의 발현에

작용하여 내피세포를 통한 호산구의 유입을 증가시킨다<sup>14)</sup>. IL-5는 IL-4의 B 세포 분화 및 성장작용을 상승시키고, 호산구가 분화, 활성화, 생존 연장함에 있어 중요한 역할을 한다<sup>15)</sup>. IL-13은 B 세포와 단핵구의 작용을 조절하는 Th2 림프구에 의해 주로 생산되는 사이토카인으로서 IL-4와 25%의 구조적 동질성이 있다. IL-13의 기능은 B 세포의 증식, 세포표면의 integrin, MHC class II항원 및 CD23의 증가, IL-6의 분비증가, 항체의 class switching으로 IgE와 IgG<sub>4</sub>의 생산작용이 있다. 또한 IL-13은 혈관 내피세포의 VCAM-1 발현을 선택적으로 유도시킬 수 있다<sup>16)</sup>. IgE 항체는 제1형 과민반응의 중심역할을 한다. 항원에 노출되어 생산된 IgE 항체는 비만세포 표면에 결합하게 되고 같은 항원에 재노출하게 되면 비만세포 표면에서 부착된 IgE 항체와 항원이 결합하여 비만세포로부터 여러 화학매체들을 분비하게 된다<sup>17)</sup>. Histamine은 비만세포와 호염기구에서 유래하는 화학매체로 혈관투과성 증가, 기관지수축, 점액분비의 증가, 혈관확장 등을 일으켜 천식발작에서 중요한 역할을 한다<sup>18)</sup>.

따라서 황금이 천식의 주요 면역반응 경로인 Th2 경로의 항진에 관여하는 사이토카인인 IL-4, IL-5, IL-13의 분비를 억제하고 IgE의 분비량을 감소시켜 histamine의 분비량을 감소시킴으로써 천식의 염증반응에 효과를 나타낼 수 있을 것으로 생각된다.

## 결 론

황금이 알레르기 천식 모델 생쥐의 혈청내 사이토카인에 미치는 효과를 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다. 혈청내의 IL-4 분비를 측정된 결과, 실험군에서 대조군에 비하여 유의성 있게( $p < 0.05$ ) 감소하였다. 혈청내의 IL-5 분비를 측정된 결과, 실험군에서 대조군에 비하여 유의성 있게( $P < 0.05$ ) 감소하였다. 혈청내의 IL-13 분비를 측정된 결과, 실험군에서 대조군에 비하여 유의성 ( $P < 0.01$ ) 있게 감소하였다. 혈청내의 IgE 분비를 측정된 결과, 실험군에서 대조군에 비하여 감소하였다. 혈청내의 histamine을 측정된 결과, 실험군에서 대조군에 비하여 유의성 있게( $P < 0.05$ ) 감소하였다.

## 참고문헌

1. 최병휘. 천식의 병인, 대한결핵 및 호흡기학회, 호흡기학. 군자출판사, 서울, pp 317-347, 2004.
2. 홍천수, 김규언. 기관지천식-병인 및 역학, 대한 천식 및 알레르기학회, 천식과 알레르기 질환. 군자출판사, 서울, pp 244-245, 2002.
3. 전국한의학대학교내과학교실. 동의폐계내과학. 한문회사, 서울, pp 329-331, 2002.

4. 염종훈, 정희재, 정승기, 이형구. 定喘湯과 定喘湯加減方이 알레르기 천식모델 흰쥐의 BALF내 면역세포 및 혈청 IgE에 미치는 영향. 대한한의학회지, 24(1):169-180, 2003.
5. 조영민, 정희재, 정승기, 이형구. 加味清金降火湯 및 加味六味地黃湯이 Allergy 천식 모델 흰쥐의 BALF내 면역세포 및 혈청 IgE에 미치는 영향. 대한한의학회지, 24(3):1-10, 2003.
6. 한영주, 박양춘. 감초(Glycyrrhiza uralensis Fisch, GLU)가 천식모델 생쥐의 BALF내 면역세포 및 Cytokine에 미치는 영향. 대한한방내과학회지, 25(3):408-417, 2004.
7. Ko, E., Rho, S., Cho, C., Choi, H., Ko, S., Lee, Y. et al. So-Cheong-Ryong-Tang, traditional Korean medicine, suppresses Th2 lineage development. Biol Pharm Bull. 27(5):739-743, 2004.
8. 全韓國醫科大學本草學教授 공편. 本草學. pp.178-179, 永林社, 서울, pp 178-179, 1991.
9. 전재홍, 강윤호. 황금(黃耆) 추출물이 DNCB로 유도된 생쥐의 Allergy성 접촉피부염에 미치는 영향. 한의학연구소논문집, 7(1):119-133, 1998.
10. 허경미, 송춘호. 황금약침액이 신장조직에서 Oxidant에 의한 세포손상에 미치는 영향. 대한침구학회지, 18(2):101-110, 2001.
11. 김성대, 정지천. 황금추출물이 사람의 glioma세포에서 oxidant에 의한 세포손상에 미치는 효과. 대한한방내과학회지. 22(2):183-191, 2001.
12. 김병우, 김성욱. 황련 황금 황백이 백서의 GASTRIN 및 UROPEPSIN분비에 미치는 영향. 대한한방내과학회지. 22(4):703-707, 2001.
13. Dohi, M., Tsukamoto, S., Nagahori, T., Shinagawa, K., Saitoh, K., Tanaka, Y. et al. Noninvasive system for evaluating the allergen-specific airway response in a murine model of asthma. Lab Invest. 79(12):1559-1571, 1999.
14. Steinke, J.W., Borish, L. Th2 cytokines and asthma. Interleukin-4: its role in the pathogenesis of asthma, and targeting it for asthma treatment with interleukin-4 receptor antagonists. Respir Res. 2(2):66-70, 2001.
15. Mattes, J., Foster, P.S. Regulation of eosinophil migration and Th2 cell function by IL-5 and eotaxin. Curr Drug Targets Inflamm Allergy. 2(2):169-174, 2003.
16. 이광훈. 알레르기 염증반응에서 유착분자, 대한 천식 및 알레르기학회, 천식과 알레르기 질환. 서울: 군자출판사, pp 59-60, 2002.
17. Platts-Mills, T.A. The role of immunoglobulin E in allergy and asthma. Am J Respir Crit Care Med. 164(8 Pt 2):S1-5, 2001.
18. 김세종. 면역학, 서울, 고려의학, pp 31-33, 150-153, 263-265, 1994.