

Poncirin의 dextran sulfate sodium 유도 마우스 궤양성 대장염 증세 감소 효과

김종빈¹, 조웅¹, 한아름², 서은경², 이경태*¹

¹경희대학교 약학대학 약품생화학교실, ²이화여자대학교 약학대학 천연물화학 연구실

Poncirin alleviates the symptoms of dextran sulfate sodium – induced colitic mice

Jong-Bin Kim¹, Woong Cho¹, Ar-Reum Han², Eun-kyung Seo², Kyung-Tae Lee*¹

¹Department of Pharmaceutical Biochemistry, College of Pharmacy, Kyung-Hee University, Seoul 130–701, South Korea

²College of Pharmacy and Center for Cell Signaling & Drug Discovery Research, Ewha Womans University, Seoul 120–750, Korea

Abstract – We previously reported that anti-inflammatory properties of poncirin, isolated from fruit of *Poncirus trifoliata*, might be the result from the inhibition of inducible nitric oxide synthase (iNOS), cyclooxygenase-2 (COX-2), tumor necrosis factor- α (TNF- α) and interleukin-6 (IL-6) expression *via* the down-regulation of NF- κ B binding activity. In this study, we investigated whether poncirin has an inhibitory effect on the production of pro-inflammatory mediators *ex vivo* and whether poncirin could relieve the symptoms of dextran sulfate sodium (DSS)-induced colitis in mice model of inflammatory bowel disease. Poncirin significantly inhibited the productions of NO, IL-6 and TNF- α in lipopolysaccharide (LPS)-induced mouse peritoneal macrophage. In addition, poncirin-treated mice when compared to control mice not receiving treatment recovered better from the weight loss caused by DSS-induced colitis. Changes in disease activity index (DAI) of poncirin-treated mice were also more favorable than for control mice and were comparable with mice treated with a typical anti-inflammatory-drug, 5-aminosalicylic acid (5-ASA). In addition, suppression of plasma NO and IL-6 productions of poncirin-treated mice was also observed in DSS-induced colitis. These results suggest that poncirin has potentially useful anti-inflammatory effects mediated by suppression of inflammatory mediator productions.

Key words – Poncirin, Anti-inflammation, Peritoneal macrophage, DSS, Colitis

궤양성 대장염 (Ulcerative colitis, UC)이나 크론병 (Crohn' disease, CD) 등의 염증성 대장질환 (inflammatory bowel disease, IBD)은 특정한 병인이 없이 소화기계에 반복적으로 재발되는 염증과 관련이 있으며, 장강(腸腔)의 항체에 의한 세포벽의 장애나 대장 상피세포의 병원체 및 장내 세균총의 비정상적인 면역반응 등에 의해 촉진되어 소화기계에 염증이 발생하는 것을 의미한다.¹⁻² 임상에서 흔히 복통, 설사 및 농혈성 점액변이 주요한 증상이며, 병변은 주로 점막이나 점막 하층에서 나타난다.³

정상적인 대장 조직은 점막, 점막하조직, 근육층, 장막의 4층으로 나뉘어져 있으며, 궤양성 대장염의 발생에 따라 점막과 점막하조직에서 병리학적인 변화가 나타난다. 궤양이

형성됨에 따라 인접한 층에 염증이 발생한 세포들의 침투가 발생하고 농양돌기 (crypt abscess)와 주변 혈관에 염증의 발생 및 호중구, 호산구와 같은 각종 염증세포가 나타나는 비특이적인 변화가 관찰된다.⁴

궤양성 대장염은 미국이나 유럽과 같은 육식을 주로 하는 지역에서 발병률이 높으며 미국의 경우에는 매년 백만 명 정도의 환자가 발생하는 것으로 보고 되었으며 우리나라 역시 식습관의 서구화로 인하여 지속적으로 환자의 발생이 증가하고 있는 추세이다.⁵⁻⁶ 임상적인 연구에서 일반적인 대장암의 발생률과 비교해 보았을 때 이병을 지닌 환자의 경우, 2-8배 가량 그 발생률이 높았다.⁷

흰쥐, 마우스 및 햄스터에서 dextran sulfate sodium (DSS)로 유발시킨 궤양성 대장염 동물모델의 경우, 초기에는 혈변, 체중감소, 대장의 축소 및 점막 궤양 등이 생긴다. 또한 조직학적으로 대장 상피세포에 손상을 유발해 상피층의 장

*교신저자(E-mail): ktlee@khu.ac.kr
(FAX): 02-966-3885

샘이 염증 없이 떨어져 가는 것이 특징이다. 급성기에는 면역 매개반응이 일어나지 않다가 만성으로 발전할 경우에는 점막내에 여러 면역물질의 양이 증가해서 장관의 염증을 유발하는 것으로 보인다.⁸⁾ 이러한 양상은 사람의 궤양성 대장염과 흡사한 부분이 많아 DSS는 실험동물 모델을 만드는 데 널리 쓰이고 있다.⁹⁻¹⁰⁾

한약재로 널리 쓰이는 지실은 항알러지 효과,¹¹⁻¹²⁾ 고콜레스테롤혈증 억제 효과,¹³⁾ 헬리코박터 균 억제 효과,¹⁴⁾ 항혈소판 효과¹⁵⁾ 및 항염증 효과¹⁸⁾가 보고되었다. 이 지실에서 분리된 플라보노이드 성분인 poncirin (Fig. 1)은 Raw 264.7 세포에서 lipopolysaccharide (LPS)에 의하여 유도된 각종 염증 발현 단백질과 cytokine들의 억제를 본연구진은 보고하였다.¹⁶⁻¹⁷⁾

본 연구에서는 마우스에서 직접 추출한 복강대식세포와 DSS로 유발 시킨 급성 대장염

동물모델을 이용하여 *in situ*상에서 효과가 입증된 poncirin의 효과에 대하여 살펴보고자 하였다.

재료 및 방법

재료 - 이번 연구에서 사용된 poncirin은 지실에서 분리되었으며 HPLC에 의하여 95%이상의 순도를 확인하였다.¹⁸⁾ Dulbecco's modified Eagle's minimum essential medium (DMEM), penicillin, streptomycin은 Life Technologies Inc. (Grand Island, NY, USA)에서, fetal bovine serum (FBS)은 Hyclone laboratories Inc. (Logan, UT, USA)에서 각각 구입하였다. Dimethyl sulfoxide (DMSO), L-N⁶-1-iminoethyl)lysine (L-NIL), *Escherichia coli* lipopolysaccharide (LPS), 5-amino salicylic acid (5-ASA), Tris-base, HEPES, sodium bicarbonate, carboxymethyl cellulose는 Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA)에서 구입하였으며, thioglycollate는 BD Biosciences (Franklin Lakes, NJ, USA)에서 구입하였고, dextran sulfate sodium (DSS)는 MP Biomedicals (Solon, OH, USA)에서 구입하였다. TNF- α , IL-6 EIA kit는 R&D Systems (Minneapolis, MN, USA)에서 구입하였다.

복강 대식세포의 분리 - 실험동물은 C57BL/6 자성 마우스 (18~20 g)로 8주령을 대한바이오링크 (충북 음성군)에서

구입하였고 20±2°C의 온도와 40~60%의 습도를 유지하였으며 12시간 간격으로 명암이 조절되는 상태로 2주 이상 유지하였고 충분한 사료와 물을 제공하였다. Thioglycollate를 3차 증류수에 녹여 만든 5% thioglycollate 용액을 대식세포의 유도를 위하여 C57BL/6 마우스의 복강에 2 ml 주입하였다. 복강주사를 하고 3일 후에 실험동물을 경추탈골을 통하여 희생시킨 후, DMEM배지 10 ml을 복강에 주입한 뒤에 배지와 함께 세포들을 모아 염증 유발인자 측정 실험을 위하여 10% FBS함유 DMEM배지로 바뀌준 뒤에 다시 5×10⁵ cells/ml의 양으로 동일하게 24 well plate에 분주하여 배양하였다.

궤양성 대장염의 유도 - 실험동물은 ICR 옹성 마우스 (20~25 g)로 6주령을 대한바이오링크 (충북 음성군)에서 구입하였고 복강대식세포 분리 실험과 동일한 환경에서 진행하였으며 실험하기 24시간 전에 실험동물에게는 오직 물만 주었다. 낮 시간 동안의 효소활성의 변화를 고려하여 실험 동물은 모두 일정한 시간 (10:00 A.M. - 12:00 A.M.)에 희생되었다. 모든 과정은 국립보건원의 “실험동물 사용 및 관리 -사용자를 위한 안내서-” 따라 진행되었으며 DSS를 이용하여 대장염을 유발하였다.¹⁰⁾ 1주일간의 적응기간을 가진 뒤, 무게를 측정하고 임의로 각군 당 6마리씩 나누어서 총 5군을 나누었다. 즉, 정상대조군, 궤양 유발군, poncirin 저용량군 (100 mg/kg), poncirin 고용량군 (200 mg/kg) 및 5-ASA 양성대조군 (150 mg/kg)으로 나누었다. Poncirin 및 5-ASA은 2.5% carboxymethyl cellulose로 용해시킨 후, 5% DSS 섭취 3일전부터 하루에 한번씩 경구투여를 10일간 하였으며, 정상 대조군과 궤양 유발군은 2.5% carboxymethyl cellulose를 경구투여 하였다.¹⁹⁾ 궤양 유발군과 poncirin 투여군은 5% DSS를 1주일간 자유롭게 섭취하였으며 정상 대조군은 물을 자유롭게 섭취하였다. 5% DSS는 사용하기 전에 증류수를 이용하여 만들어 사용하였다.

대장 염증의 평가 - 마우스의 체중변화, 변의 형태 변화와 변에 피가 섞인 정도에 따라 질환 활성 지표(Disease activity index, DAI)로 평가하였으며 정상상태의 변을 0으로 하여 무른 변만 보일 경우는 1이며, 무른 변과 잠혈이 보이면 2이고, 설사와 잠혈이 모두 관찰되면 3, 설사와 직장 주위에 피가 나며 허는 경우를 4로 하여 측정하였다.

표본채취 - 실험동물은 경추탈골을 통하여 희생되었다. 희생된 실험동물은 개복을 하여 대장 및 비장을 채취하고 각 장기의 전체 길이와 무게를 측정하였다.

Nitric oxide (NO)양의 측정 - NO의 양은 Griess 시약을 이용하여 세포 배양액 및 혈장에 존재하는 NO₂의 형태로서 측정하였다. 즉 세포배양 상등액 100 μ l와 Griess시약 [1% (w/v) sulfanilamide in 5% (v/v) phosphoric acid 와 0.1% (w/v) naphthylethylenediamine-HCl] 100 μ l를 혼합하여 96 well plate에서 10분 동안 반응시킨 후 540 nm에서 흡광

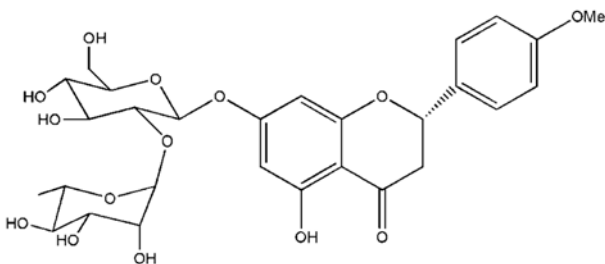


Fig. 1. Chemical structure of poncirin.

도를 측정하였다.

IL-6 및 TNF- α 의 측정 - IL-6, TNF- α 의 생성 정도는 EIA kit의 사용법에 따라 정량 하였다.

통계분석 - 모든 측정결과는 실험결과의 평균 \pm 표준편차로 나타내었으며 통계적 유의성은 Student-Newman-keuls 법을 이용하여 검정하였다. *p*-values 0.05이하의 수치를 유의성이 있는 것으로 보았으며 각 군간의 차이는 one-way ANOVA법으로 검정하였다.

결 과

Poncirin의 복강 대식세포에서 NO 및 염증 유발 cytokine 들에 대한 억제 효과 - C57BL/6 마우스에서 추출한 복강 대식세포에 DMSO (최종 DMSO농도는 0.1%이하)로 용해시킨 poncirin을 처리한 뒤 1시간 후에 LPS (1 μ g/ml)를 처리하고 24시간 배양하였다. 24시간 배양 후, 세포배양 상등액을 취합하여 Griess 반응에 따라 NO 생성량을 측정 하였다. LPS 처리에 의하여 NO는 약 9 μ M까지 증가하였으며 poncirin (25, 50, 100 μ M) 처리에 의해 농도 의존적으로 유의성 있는 저해 효과를 확인하였다 (Fig. 2A). 양성 대조군으로는 L-arginene과의 기질경쟁에 의하여 iNOS 저해제로 알려진 L-NIL (10 μ M)을 사용하였다. 또한 세포 상등액으로 EIA kit을 이용하여 TNF- α 및 IL-6 염증 유발 cytokine 들을 측정하였다. LPS 단독 처리에 의해 TNF- α (Fig. 2B)와 IL-6 (Fig. 2C) 모두 확연히 증가하였으며, poncirin (25, 50, 100 μ M)의 처리로 유의성 있게 감소되는 것을 확인 하였다.

Poncirin의 궤양성 대장염으로 인한 체중 및 증상 개선 효과 - 7일간 5% DSS 섭취에 의한 궤양성 대장염 유발군의 체중을 시간별로 관찰한 결과 5% DSS 단독 섭취군은 4 일째까지 체중이 증가하였으나 5일째부터 염증이 유도되어 체중이 감소되기 시작하여 마지막 7일째 DSS 섭취한 날에는 처음과 비슷한 체중으로 정상군에 비해 유의성 있는 체중 감소를 보였다 (Table. I). Poncirin (200 mg/kg, *p.o.*) 및 5-ASA (150 mg/kg, *p.o.*) 투여군에서의 체중 변화는 궤양성 대장염 유발군과 비슷한 양상의 변화를 보였으나, 염증의 발생에 따른 체중의 변화에서는 대조군에는 미치지 못하나 DSS 단독 처리군에 비해 유의성 있는 체중 증가가 관찰되었 으며 (Table. I) 식이 섭취량은 모든 군에서 유의적인 차이가 보이지 않았다. 궤양성 대장염 유발군의 실험동물에서 모두 혈변 및 묽은 변이 나타났으며, 2마리의 경우는 직장 주위에서 출혈이 발생하였다. Poncirin (100 mg/kg, *p.o.*) 및 양성 대조군으로 이용한 5-ASA (150 mg/kg, *p.o.*)을 10일간 투여한 군에서는 묽은 변이 보였으며 2마리는 혈변이 나타났다. 그리고 poncirin (200 mg/kg, *p.o.*)을 투여한 군에서는, 2마리가 묽은 변을 보였으며 그 중 1마리는 잠혈이 보였다 (Table. I).

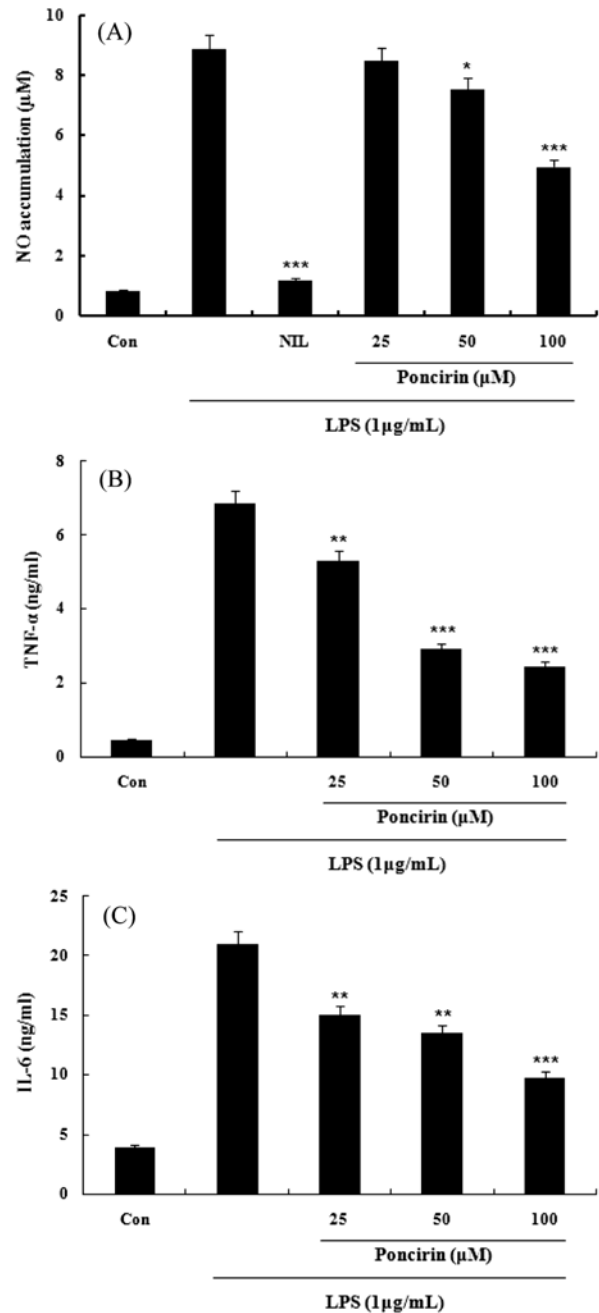


Fig. 2. Effects of poncirin on LPS-induced NO, TNF- α , IL-6 productions in mouse peritoneal macrophages. (A) Cells were pretreated with different concentrations (25, 50, 100 μ M) of poncirin for 1 h, LPS (1 μ g/ml) was then added, and cells were incubated for 24 h. Control (Con) values were obtained in the absence of LPS and of poncirin. L-N6-(1-iminoethyl) lysine (L-NIL) was used as a positive control at 10 μ M. (B, C) Poncirin was treated as described above. Values shown are means \pm S.D. of three independent experiments. **p*<0.05, ***p*<0.01, ****p*<0.001 vs the LPS only treated group.

Poncirin의 궤양성 대장염으로 인한 대장 및 비장의 변화 개선 효과 - Poncirin의 항염증 효과를 알아보기 위하여

Table I. Effect of poncirin on body weight gain and DAI of 5% DSS-induced colitis in mice^{a)}

Treatment	Dose (mg/kg)	Body weight gain (g/7day)	DAI
Vehicle+water		3.42±0.64 ^{b)}	0.00±0.00
Vehicle+DSS	-	0.27±1.41 [#]	2.50±1.00 [#]
5-ASA+DSS	150	1.78±1.39*	1.30±0.48**
Poncirin+DSS	100	1.48±1.28	1.50±0.76*
	200	1.97±1.03*	1.00±0.53**

^{a)}Experimental colitis in mice was induced by a 5 % DSS dissolved in the drinking water for 7 days. Poncirin was administered orally at doses of 100 or 200 mg/kg once a day for 10 days prior to 5 % DSS supplement. 5-ASA (150 mg/kg) was used as positive control.

^{b)}Values shown are means±S.D. of 6 animals. *p<0.05, **p<0.01 vs the 5% DSS treated group.

Table II. Effect of poncirin on colon length, spleen length and spleen weight of 5% DSS-induced colitis in mice^{a)}

Treatment	Dose (mg/kg)	Colon Length (cm)	Spleen Length (cm)	Spleen Weight (mg)
Vehicle+water		10.02±0.67 ^{b)}	2.05±0.12	165.00±16.43
Vehicle+DSS	-	6.38±0.35 [#]	2.53±0.15 [#]	296.67±49.67 [#]
5-ASA+DSS	150	7.08±0.42	2.25±0.19*	220.00±45.61**
Poncirin+DSS	100	7.02±0.69	2.23±0.10*	218.33±71.39*
	200	7.43±1.13	2.10±0.28**	203.33±32.04**

^{a)}Experimental colitis in mice was induced by a 5 % DSS dissolved in the drinking water for 7 days. Poncirin was administered orally at doses of 100 or 200 mg/kg once a day for 10 days prior to 5 % DSS supplement. 5-ASA (150 mg/kg) was used as positive control.

^{b)}Values shown are means±S.D. of 6 animals. *p<0.05, **p<0.01 vs the 5% DSS treated group.

DSS를 이용하여 궤양성 대장염을 유발하여 대장과 비장을 적출하여 그 길이와 무게를 측정 함으로서 염증으로 인한 장기의 변화를 관찰하였다. 정상 대조군의 경우 (10.02±0.67 cm)와 비교하였을 때, 궤양성 대장염 유발군은 전체 길이에서 약 40%의 감소가 관찰 되었으며, 평균적으로 6 cm의 대장길이를 보임으로서 염증성 대장염의 유도를 확인하였다. Poncirin과 5-ASA를 처리한 군은 궤양성 대장염 유발군과 비교하였을 때, 약 1 cm 정도 길이의 증가가 관찰되었다 (Table. II). 정상 대조군과 비교하였을 때 궤양성 대장염 유발군의 경우 비장의 길이는 약 25% 그리고 무게는 약 50% 증가가 관찰되었다. DSS에 의해 증가된 비장의 길이와 무게는 poncirin의 경구 투여에 의하여 정상 대조군의 수치와 비슷한 수준으로 농도 의존적으로 유의성 있게 감소됨으로서 DSS유도에 의한 대장염 보호효과를 관찰하였다 (Table. II).

Poncirin의 DSS에 의한 혈중 NO 및 IL-6의 생성 억제 효과 - DSS로 궤양성 대장염을 유발한 모델에서 poncirin의 염증반응에 따른 염증 유발인자의 억제 효과를 보기 위하여 마우스의 혈장에서 NO 및 IL-6의 생성 정도를 측정하였다. DSS에 의한 대장염 유발에 따라 정상 대조군에 비하여 궤양성 대장염 유발군의 NO 생성량은 유의적으로 증가 하였으며, 이는 양성대조군인 5-ASA 및 poncirin의 경구 투여로 확연히 감소하였다 (Fig. 3A). IL-6 역시 염증의 발생에 따라 유의적으로 궤양성 대장염 유발군에서 증가였으며

poncirin의 처리에 의해 용량 의존적으로 유의성 있는 감소를 확인 하였다 (Fig.3B).

고 찰

궤양성 대장염은 염증성 장 질환 (inflammatory bowel disease, IBD)의 일종으로 자연적으로 소화기계의 상태에 따라서 증상이 경감되기도 하며 재발되기도 한다. 비록 이런 염증성 대장염의 병적인 진행과정에 대해서는 어느 정도 밝혀졌으나 질환의 원인에 대해서는 정확히 밝혀지지 않았다. 그러나 소화기계에 일상적인 자극에 대하여 비정상적으로 병적인 면역 반응이 일어나는 것과 관련이 있을 것으로 추정된다.²⁰⁾ 이런 병적인 면역반응에 의하여 활성산소, NO, 에이코사노이드(eicosanoid) 및 혈소판활성화인자 (platelet-activating factor, PAF)와 같은 다양한 염증 유발 인자들의 합성이 촉진된다.²¹⁾ 이 인자들의 활성화는 소화기계에서의 염증반응의 시작 및 병의 진행단계에 관여한다. 궤양성 대장염에 대하여 특별한 치료법이 존재하는 것은 아니며 일반적으로 사용되는 방법은 염증 활동을 억제하거나 면역력을 조절하여 치료를 한다.²²⁾ 흔히 사용되는 약물은 아스피린이나 스테로이드제제 및 면역억제제로서 이들 약물들의 치료효과는 좋으나 50% 정도의 재발률을 지니며 부작용 역시 지니고 있어 사용에 제한을 받는다.²⁶⁾ 이에 따라 새로운 대장염 치료 약물 개발이 필요하며 실험동물 모델은 약제

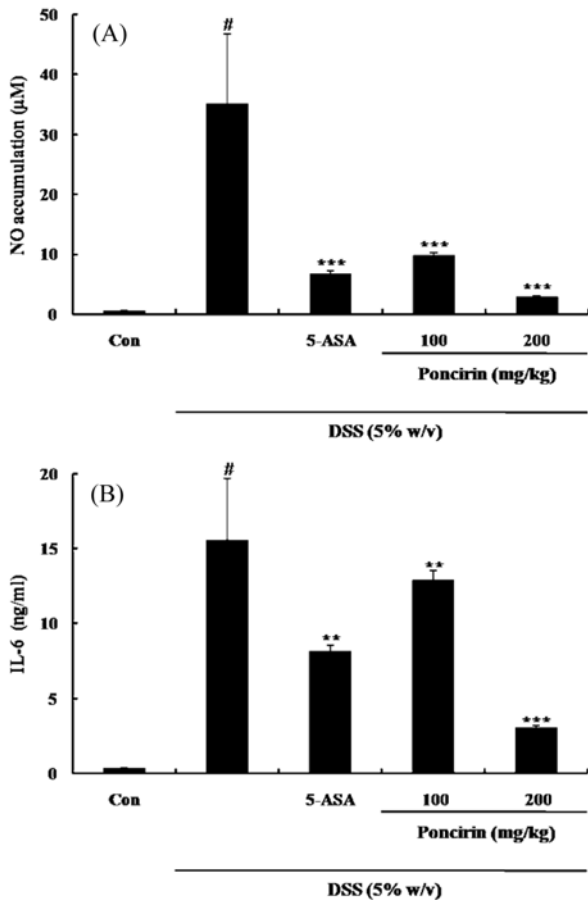


Fig. 3. Effects of poncirin on the productions of NO and IL-6 in DSS-treated mouse. Experimental colitis in mice was induced by a 5% DSS dissolved in the drinking water for 7 days. Poncirin was administered orally at doses of 100 or 200 mg/kg once a day for 10 days prior to 5% DSS supplement. 5-ASA (150 mg/kg) was used as positive control. (A), (B) NO production was measured based on the Griess reaction. IL-6 levels were quantified by EIA kits. Values shown are means±S.D. of three independent experiments. ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ vs the LPS only treated group.

유발 모델 및 면역 조절 모델로 크게 나뉘고 각각의 세부 실험동물 모델들이 있으나 모델을 만드는 과정이나 비용 면에서 유리한 약제 유발 모델이 널리 사용되고 있다. 약제 유발 모델 중 하나인 DSS로 인한 대장염의 유도 모델은 정확히 어떤 기전을 통하여 이루어지는 지는 불분명하나 DSS를 이용한 마우스의 궤양성 대장염 모델은 약물의 염증 치료효과를 확인하기 위하여 널리 사용되는 모델이다.¹⁰⁻¹²⁾ DSS의 주입으로 인하여 혈변, 체중 감소, 대장의 축소 및 점막 궤양 등의 발생하는 증상이 사람의 궤양성 대장염의 증상과 비슷하고 유도시간이 짧으며 재현성이 좋은 장점 때문에 본 연구에서도 이 방법을 적용하여 실험하였다.

지실은 한의학에서 알러지성 염증을 치료하는데 널리 사용된다.²³⁾ 게다가 지실은 제1형 과민성 IgE의 생성이나 IgE에 의한 국소 아나필락시스 반응을 억제하는 효과가 보고되었다.²⁴⁻²⁵⁾ 최근 지실에서 분리한 플라본 류의 경우 아나필락시스 반응을 억제하는 효과를 보고하였으며 특히, naringenin, hesperetin, 및 poncirtin의 경우는 비만세포의 비과립화나 활성화를 억제하였다.¹¹⁾ 그리고 본 연구진은 이전 연구를 통하여 Raw 264.7 대식세포에서 LPS에 의하여 유도된 각종 염증 반응에서 poncirtin은 I κ B- α 의 인산화 및 분해를 저해하여 nuclear factor- κ B (NF- κ B)의 핵내로의 이동 및 DNA와의 결합을 억제함으로써 염증유발인자들인 iNOS, COX-2, TNF- α 및 IL-6등의 생성 억제등을 보고하였다.¹⁸⁾

마우스의 복강대식세포를 이용하여 이전 실험에서 Raw 264.7세포주를 이용한 항염증 억제 작용을 확인하고 또한 실험동물 모델을 이용하여 항염증 효과를 확인하기 위하여 본 실험을 진행하였다. 마우스의 복강에서 대식세포를 분리하여 LPS에 의해 유발되는 NO와 IL-6 및 TNF- α 의 변화를 확인하였다. Poncirtin를 처리한 결과 복강대식세포에서 LPS에 의하여 유의적으로 증가한 NO와 IL-6 및 TNF- α 의 생성량을 농도의존적으로 감소시켰다. 본 결과들은 poncirtin의 *in vitro*에서의 항염증 효과가 실험동물에서도 있을 것을 제시 하였으며 DSS로 유발한 마우스의 궤양성 대장염 모델에서 poncirtin의 항염증 효과를 검색하였다.

DSS에 의하여 대장염이 유도되어 혈변, 대장의 축소 및 염증 유발인자들의 활성화 등이 나타났으며 poncirtin을 투여함으로써 이러한 염증 유발인자들의 억제를 확인 하였다. Poncirtin을 투여한 군의 경우, 성장 중인 마우스의 상태를 비교해 볼 때 정상 대조군에는 미치지 못하나 DSS 단독 처리군에 비해 유의적인 체중의 증가를 보였다. 또한 질병 활성 지표 (DAI) 역시 DSS 궤양 유발군과 비교했을 때 유의적으로 감소되었고 대장염의 발생에 따른 짧아진 대장의 길이는 poncirtin의 투여용량이 증가함에 따라 유의성 있게 증가되었다. 또한 염증이 발생함에 따라 비장의 기능이 항진되어 그 크기와 무게가 증가되었는데,²⁶⁾ 증가된 비장의 크기와 무게 또한 poncirtin처리에 의해 유의성 있게 감소되었다. 염증이 유발됨에 따라 마우스의 혈장에서 NO와 IL-6의 염증 유발인자들의 생성량이 증가되었으며 이들 역시 poncirtin처리에 의해 용량의존적으로 감소되었다. 위의 결과들을 종합하여 볼 때, poncirtin은 대장조직에서 염증 유발인자들의 억제를 통하여 항염증 효과를 나타내며 그 기전은 본연구진이 이전 보고에서 밝힌 I κ B- α 의 인산화를 NF- κ B의 불활성화에 의한 것으로 추정된다. 이에 따라 poncirtin은 생약추출물로서 부작용이 없으며 좋은 항염증 효과를 지니므로 새로운 염증 치료 약물로서의 개발 가능성을 보여준다.

인용문헌

1. Podolsky, D. K. (2002) Inflammatory bowel disease. *N. Eng. J. Med.*, **347**: 417-429.
2. Adachi, M., Kurotani, R., Morimura, K., Shah, Y., Sanford, M., Madison, B. B., Gumucio, D. L., Marin, H. E., Peters, J. M., Young, H. A. and Gonzalez, F. J. (2006) Peroxisome proliferator activated receptor gamma in colonic epithelial cells protects against experimental inflammatory bowel disease. *Gut*, **55**: 1104-1113.
3. Porter, S. N., Howarth, G. S. and Butler, R. N. (1998) An orally administered growth factor extract derived from bovine whey suppresses breath ethane in colitic rats. *Scand. J. Gastroenterol.*, **33**: 967-974.
4. Fan, H., Qiu, M. Y., Mei, J. J., Shen, G. X., Liu, S. L. and Chen, R. (2005) Effects of four regulating-intestine prescriptions on pathology and ultrastructure of colon tissue in rats with ulcerative colitis. *World. J. Gastroenterol.*, **11**: 4800-4806.
5. Eaden, J. A., Abrams, K. R. and Mayberry, J. F. (2001) The risk of colorectal cancer in ulcerative colitis: a meta-analysis. *Gut*, **48**: 526-535.
6. Chang, D. K., Kim, Y. H., Byeon, J. S., Yang, S. K., Chung, Y. W., Han, D. S., Kim, S. G., Kim, T. I., Kim, W. H., Jeon, Y. T., Eun, C. S., Choi, H., Choi, K. Y. and Song, I. S. (2005) The current status of ulcerative colitis-associated colorectal cancer in Korea: a KASID study. *Korean J Gastroenterol.*, **46**: 276-282.
7. Hardy, R. G., Meltzer, S. J. and Jankowski, J. A. (2000) ABC of colorectal cancer. Molecular basis for risk factors. *BMJ.*, **321**: 886-889.
8. Han, D. S. 대장질환의 실험동물모델. (2002) *대한소화기학회 세미나*, 125-136.
9. Ishioka, T., Kuwabara, N., Oohashi, Y. and Wakabayashi, K. (1987) Induction of colorectal tumors in rats by sulfated polysaccharides. *Crit. Rev. Toxicol.*, **17**: 215-244.
10. Frank, K., Helmut, M., Marianne, A., Volker, G., Tina, B., Jürgen, S. and Josef, R. (2001) Clinical and histopathological features of dextran sulfate sodium induced acute and chronic colitis associated with dysplasia in rats. *Int. J. Colorectal. Dis.*, **16**: 238-246.
11. Park, S. H., Park, E. K. and Kim, D. H. (2005) Passive cutaneous anaphylaxis-inhibitory activity of flavanones from Citrus unshiu and Poncirus trifoliata. *Planta Med.*, **71**: 24-27.
12. Kim, H. M., Kim, H. J. and Park, S. T. (1999) Inhibition of immunoglobulin E production by Poncirus trifoliata fruit extract. *J. Ethnopharmacol.*, **66**: 283-288.
13. Liu, J. C., Chan, P., Hsu, F. L., Chen, Y. J., Hsieh, M. H., Lo, M. Y. and Lin, J. Y. (2002) The in vitro inhibitory effects of crude extracts of traditional Chinese herbs on 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase on Vero cells. *Am. J. Chinese. Med.*, **30**: 629-636.
14. Kim, D. H., Bae, E. A. and Han, M. J. (1999) Anti-Helicobacter pylori activity of the metabolites of poncirin from Poncirus trifoliata by human intestinal bacteria. *Biol. Pharm. Bull.*, **22**: 422-424.
15. Teng, C. M., Li, H. L., Wu, T. S., Huang, S. C. and Huang, T. F. (1992) Antiplatelet actions of some coumarin compounds isolated from plant sources. *Thromb. Res.*, **66**: 549-557.
16. Shin, T. Y., Oh, J. M., Choi, B. J., Park, W. H., Kim, C. H., Jun, C. D. and Kim, S. H. (2006) Anti-inflammatory effect of Poncirus trifoliata fruit through inhibition of NF-kappaB activation in mast cells. *Toxicol. In Vitro.*, **20**: 1071-1076.
17. Han, A. R., Kim, J. B., Lee, J., Nam, J. W., Lee, I. S., Shim, C. K., Lee, K. T. and Seo, E. K. (2007) A new flavanone glycoside from the dried immature fruits of Poncirus trifoliata. *Chem. Pharm. Bull (Tokyo)*, **55**: 1270-1273.
18. Kim, J. B., Han, A. R., Park, E. Y., Kim, J. Y., Cho, W., Lee, J., Seo, E. K. and Lee, K. T. (2007) Inhibition of LPS-induced iNOS, COX-2 and cytokines expression by poncirin through the NF-kappaB inactivation in RAW 264.7 macrophage cells. *Biol. Pharm. Bull.*, **30**: 2345-2351.
19. Jućkiewicz, J. and Zduńczyk, Z. (2004) Effects of cellulose, carboxymethylcellulose and inulin fed to rats as single supplements or in combinations on their caecal parameters. *Comp. Biochem. Physiol. A. Mol. Integr. Physiol.*, **139**: 513-9.
20. Fiocchi, C. (1998) Inflammatory bowel disease: aetiology and pathogenesis. *Gastroenterology*, **115**: 182-205.
21. Sarto, R. B. (1997) Pathogenesis and immune mechanisms of chronic inflammatory bowel diseases. *Am. J. Gastroenterol.*, **92**: 5S-11S.
22. Fiocchi, C. (2004) Inflammatory bowel disease: new insights into mechanisms of inflammation and increasingly customized approaches to diagnosis and therapy. *Curr. Opin. Gastroenterol.*, **20**: 309-310.
23. Chun, Y. T. and Sankawa, U. (1989) Screening of antiallergic effect in traditional medicinal drugs and active constituents of aurantii fructus imaturus. *Shoyakugaku Zasshi*, **43**: 314-323.
24. Lee, Y. M., Kim, C. Y., Kim, Y. C. and Kim, H. M. (1997) Effects of Poncirus trifoliata on type I hypersensitivity reaction. *Am. J. Chin. Med.*, **25**: 51-56.
25. Lee, Y. M., Kim, D. K., Kim, S. H., Shin, T. Y. and Kim, H. M. (1996) Antianaphylactic activity of Poncirus trifoliata fruit extract. *J. Ethnopharmacol.*, **54**: 77-84.
26. Yuan, H. D., Jhee, O. H., Kim, S. H., Kim, H. J., Om, A. S., Lee, Y. S., Baik, S. S., Kim, J. W. and Kang, J. S. (2006) The effect of curcumin on the Dextran Sulfate Sodium-induced Colitis in the Rat. *Cancer. Prevention. Res.*, **11**: 137-143.
27. Ramakers, J. D., Verstege, M. I., Thuijls, G., Te Velde, A. A., Mensink, R. P. and Plat J. (2007) The PPAR-γ agonist rosiglitazone impairs colonic inflammation in mice with experimental colitis. *J. Clin. Immunol.*, **27**: 275-283.

(2008년 4월 26일 접수)