

난알부민 유도 알레르기 면역반응에 대한 길경(桔梗)에탄올추출물의 효능 연구

정진기^{1#}, 강석용¹, 김진웅², 이상국³, 박용기^{1*}

1 : 동국대학교 한의과대학 본초학교실, 2 : 서울대학교 약학대학 생약학교실,
3 : 서울대학교 약학대학 천연물과학연구소

Effects of Platycodi Radix ethanol extract on ovalbumin-induced allergic responses in mice

Jin Ki Jung^{1#}, Seok Yong Kang¹, Jinwoong Kim², Sang Kook Lee³, Yong-Ki Park^{1*}

1 : Dept. of Herbology, College of Oriental Medicine, Dongguk University
2 : College of Pharmacy and Research Institute of Pharmaceutical Science, Seoul National University
3 : College of Pharmacy, Natural Products Research Institute, Seoul National University

ABSTRACT

Objectives : Allergy has been described as an inflammatory with hypersensitivity resulting from seasonal or perennial responses to specific allergens. The root of *Platycodon grandiflorum* (Jacq.) A. DC. (*Platycodi Radix*; Campanulaceae) has been traditionally used to treat chronic diseases such as bronchitis, asthma, pulmonary tuberculosis, inflammation and hyperlipidemia. In this study, we examined the effect of 70% ethanol extract of *Platycodi Radix* (PR-E) on ovalbumin (OVA)-induced airway inflammation in mice.

Methods : Mice were sensitized and challenged by OVA inhalation to induced chronic airway inflammation, and then were intragastrically administered PR-E extract at doses of 50 and 200 mg/kg/day from days 21 to 30 consecutively. The levels of allergic mediators such as histamine, OVA-specific immunoglobulin (Ig) E, and cytokines such as IL-4 and IFN- γ were measured in the sera of mice by ELISA. The histological change of lung tissue was observed by hematoxylin and eosin (H&E) staining.

Results : PR-E extract significantly decreased the serum levels of histamine, OVA-specific IgE, and Th2 cytokine, IL-4 compared with those in the OVA-induced group. PE-E extract significantly increased the serum level of Th1 cytokine, IFN- γ . Based on lung histopathological studies, inflammatory cell infiltration and mucus hypersecretion were inhibited by PE-E extract administration compared to that in the OVA-induced group.

Conclusions : These findings indicate that PE-E extract may be useful as an adjuvant therapy for the treatment of bronchial asthma.

Key words : *Platycodi Radix*, Bronchial asthma, Airway inflammation, ovalbumin

서론

기관지 천식(Bronchial asthma)은 기관지가 좁아져서 공기의 흐름이 원활하지 않아 숨이 차고 심한 기침과 함께 호흡곤란, 가슴 답답함, 천명의 증상을 동반하는 호흡기 질환으로 기관지의 만성 염증으로 인해 기관지 과민반응에 의한 가역적인 기도 폐쇄 증상이 나타나는 만성 염증성 질환이라 할 수 있다¹⁾. 기관지 천

식의 원인과 병태생리에 대해서는 완전히 이해되고 있지는 않지만 기도 과민반응에 의한 것으로 보며 이전에는 기도 근육 수축에 따른 단순 기도 폐쇄성 질환으로 생각하였으나 최근에는 기도 내의 알레르기 염증 반응에 의한 기도 폐쇄를 이차적 현상으로 이해함으로써 기도 내의 염증반응에 의한 기도 과민성을 주요 발병 원인으로 보고 있다²⁾. 또한 세균이나 바이러스에 의한 단순 기관지염과 달리 기관지 천식은 알레르기성 염증 질환으로 다양

*교신저자 : 박용기, 경북 경주시 석장동 707번지 동국대학교 한의과대학 본초학교실
· Tel : 054-770-2661 · E-mail : yongki@dongguk.ac.kr
#제1저자 : 정진기, 경북 경주시 석장동 707번지 동국대학교 한의과대학 본초학교실
· Tel : 054-770-2646 · E-mail : jjk@dongguk.ac.kr
· 접수 : 2012년 10월 17일 · 수정 : 2012년 11월 3일 · 채택 : 2012년 11월 6일

한 염증세포 중 특히 호산구(eosinophil)가 기관지 벽에 지속적으로 다량 존재하고 있기 때문에 증상의 재발이 나타나게 되므로 호산구에 의한 만성 기관지 염증으로 보고 있다³⁾. 한편 기관지 천식의 만성화는 기도벽의 섬유화, 기도 근육과 점액 분비선의 비후를 통해 난치성 천식으로 진행하게 되며 폐렴, 기흉, 호흡부전 등 합병증으로 이어지기도 한다. 현재 기관지 천식의 치료는 약물 치료요법이 일반적이며, 작용기전에 따라 좁아진 기관지를 넓혀 주는 기관지 확장제와 기관지 염증을 억제하여 천식 발작을 막는 항염증제를 사용하고 있다⁴⁾. 기관지 확장제로는 교감신경 항진제, 항콜린성 약제, 테오필린과 아미노필린이 있으며, 항염제로는 부신피질 호르몬제인 스테로이드 제제를 사용하고 있다. 그러나 이러한 약물들은 장기 사용 시 심장기능 장애, 심부전, 만성 간질환, 불면증, 체중 변화, 골다공증, 당뇨병, 고혈압 등 다양한 부작용이 나타나게 되어 여전히 새로운 치료제 개발에 대한 필요성이 대두되고 있다⁵⁻⁷⁾. 최근 기관지 천식의 병태 생리가 더욱 구체적으로 밝혀지면서 이에 대한 새로운 치료제들이 개발되고 있음에도 불구하고 천식으로 인한 사망률을 계속 증가하고 있으며, 유전자 면역요법이나 생물학 제제, 천연물 제제에 대한 연구도 활발하게 진행되고 있다⁸⁻¹⁰⁾.

한의학에서 알레르기는 鼻鼈, 鼻塞, 喘息, 咳嗽, 急喉痺, 癢疹, 搔癢, 癩疹 등으로 모두 鼻, 肺, 皮膚와 관련되므로 《素問》〈陰陽應象大論篇〉의 “其在天爲燥 在地爲金 在體爲皮毛 在臟爲肺……在變動爲咳 在竅爲鼻……熱傷皮毛……辛傷皮毛”에서 언급된 바와 같이 알레르기 증상은 肺系統의 질환으로 보고 있다^{11,12)}. 길경(桔梗, *Platycodi Radix*)은 초롱꽃과(桔梗科: Campanulaceae)에 속하는 多年生 本草인 도라지(*Platycodon grandiflorum* a. (Jacq) DC.)의 뿌리로 우리나라 각지에 분포하며 재배되고 있으며, 性味가 平, 苦, 辛 하며, 宣肺利咽, 祛痰排膿 등의 효능으로 咳嗽痰多, 胸悶不暢, 咽痛音啞, 肺癰吐膿, 瘡瘍膿成不潰 등을 치료한다. 특히 外部의 犯肺로 인하여 咳嗽痰多하고 胸膈이 痞悶하며 咽痛失音 등 증에 寒熱을 막론하고 응용하여 치료한다. 또한 肺氣를 開泄하고 祛痰시키는 효능이 있어 肺中の 痰濁膿血을 체외로 배출케 하므로 肺癰의 咳吐膿血의 증에 상용하여 치료한다¹³⁾. 길경에 대한 실험 연구로는 알레르기 천식에 대한 개선효과¹⁴⁾, 알레르기 저감화 효과¹⁵⁾, 면역조절¹⁶⁾ 및 길경 약침에 의한 천식억제 및 면역조절효과¹⁷⁾가 보고되었다.

본 연구에서는 길경의 70% 에탄올추출물을 제조하여 난알부민으로 기관지 천식이 유발된 마우스에서의 알레르기 면역 반응 조절에 대한 효과를 확인하고자 수행하였으며, 유의한 결과를 얻었기에 이에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 재료

1) 약재

본 실험에 사용된 길경(*Platycodon grandiflorum* A. (Jacq) DC., *Platycodi Radix*; PR)은 도라지의 뿌리로서 동국대학교 한의과대학 본초학교실의 이재현 교수로부터 감별, 제공(Voucher No. 12B1001-A01BXX1112A)받았다.

2) 실험동물

실험동물은 6주령 BALB/c계 수컷 생쥐(mouse, 20 ± 2 g)를 (주)샘타코(경기도, 한국)로부터 구입하였으며, 고형사료와 물을 제한 없이 공급하면서 온도(23 ± 2 °C)와 습도(55 ± 5 %)를 일정하게 유지되고, 12시간 낮과 밤의 주기를 유지하는 환경에서 사육하였다. 모든 실험동물은 동물보호법 13조 및 동국대학교 동물실험 윤리위원회 규정에 따라 관리하였다.

3) 시약 및 기기

실험에 사용되어진 시약으로 ovalbumin (OVA)과 Ketotifen은 Sigma-Aldrich사(St Louice, CA, USA)로부터 구입하였으며, Al(OH)₃ gel은 Thermo사(Thermo Fisher Scientific Inc., MA, USA), H&E 염색시약(Seoulin Biosciences Co., Seoul, South Korea)과 Histamine enzyme immunoassay kit(Cayman Chemical, MG, USA), Sandwich ELISA using OptEIA Set mouse OVA-specific IgE Kit (BD Biosciences, San Diego, CA, USA) 및 DuoSet mouse IFN- γ /IL-4 ELISA Kits(R&D Systems Inc., Minneapolis, MN, USA)를 구입하여 사용하였다. 또한 실험에 nebulizer(Devilbiss, PA, USA), microplate reader(Asys, Eugendorf, Austria), microscope(LEICA, Wetzlar, Germany) 등의 기기를 사용하였다.

2. 방법

1) 동물모델 제작

마우스 천식 모델(airway inflammation mouse model)을 제작하기 위해 먼저 난알부민(ovalbumin, chicken egg albumin; OVA) 1 mg을 PBS와 수산화알루미늄 겔(Al(OH)₃ gel)을 1:1로 혼합한 용액 1 ml을 난알부민 용액을 실험 시작일로부터 7일 간격으로 하루에 1번 3주간(1일, 8일, 15일) 마우스의 복강 내 주사하였다. 마지막 복강 주사 7일 후 마우스를 50×15×50 cm 크기의 아크릴 상자 안에 넣고 2 mg/ml OVA 용액을 nebulizer 기기를 이용하여 격일 간격으로 1일 3회 5일 동안 분사함으로써 호흡을 통한 알레르기성 천식을 유도하였다. 실험군으로 생리식염수를 투여한 정상군(Normal), 난알부민(OVA) 감작에 의해 천식이 유발된 대조군(OVA-Control), 천식이 유발된 마우스에 길경 70% 에탄올 추출물(PR-E)을 50 mg/kg과 200 mg/kg 용량으로 투여한 실험군(OVA+PR-E 50, OVA+PR-E 200) 및 대조약물로 항히스타민제인 케토티펜(Ketotifen)을 10 mg/kg 투여한 양성 대조군(OVA+Keto 10)으로 나누었으며, 각 군 당 6마리의 마우스를 사용하였다. 또한 길경 추출물과 케토티펜은 아크릴 상자 안에서 airway inflammation을 유도하는 동안 매일 1회 일정 시간에 일정 투여량(0.3 ml)으로 경구 투여하였다.

실험 최종일에 모든 동물을 희생시키고 심장으로 부터 혈액을 수집하였으며, 수집된 혈액은 6,000 rpm에서 5분간 2회 원심분리함으로써 혈청을 분리하였다. 또한 폐(lung)의 조직학적 변화를 관찰하기 위해 각 군으로부터 폐 조직을 수집하였다.

2) Hematoxylin & Eosin 염색

각 군으로부터 수집한 폐 조직을 4% formaldehyde 용액으로 7일간 고정된 후 파라핀으로 포매하여 블록을 제작하고 microtome을 이용하여 폐 조직을 5 μ m 두께의 절편을 제작하

었다. 폐 조직의 구조적 변화를 관찰하기 위해서 폐 조직 슬라이드를 60°C에서 30분 동안 가열한 다음 xylene으로 15~20분간 탈파라핀 시키고 100%, 95%, 75% 알코올 순서대로 함수시켰다. 이를 hematoxylin과 eosin으로 염색색한 후 Permount로 커버 슬립하였다. H&E 염색된 폐 조직 슬라이드에서 기관지 상피세포층의 손상정도, 기관지와 폐포 주위 염증세포 침윤 등을 광학현미경(Leica Co., German)으로 관찰하였다.

3) 혈청 내 히스타민 농도 측정

혈청 내 히스타민의 농도는 Histamine enzyme immunoassay kit(Cayman Chemical)를 이용하여 측정하였다. 먼저, 혈청 200 μ l와 유도체화 완충용액 50 μ l를 잘 섞어 반응시킨 다음 유도체화 시약 20 μ l를 넣어 혼합시킴으로써 혈청 내 히스타민 유도체화를 유도하였다. 유도체화 된 혈청을 히스타민에 대한 항체가 붙어있는 96-well plate에 100 μ l씩 넣은 후 Enzyme Conjugate 100 μ l를 첨가하여 4°C에서 overnight로 반응시켰다. 다음날 plate를 5회 washing buffer로 세척한 다음 색소기질(chromogenic substrate) 200 μ l를 넣고 암실상태에서 60~90분 동안 상온에서 반응시켰다. 반응이 끝난 후 발색 정도를 microplate reader의 405nm에서 흡광도를 측정하였으며, 혈청 내 히스타민의 농도는 표준용액의 정량곡선을 기준으로 계산하였다.

4) 혈청 내 난알부민 특이 IgE 농도 측정

혈청 내 난알부민 특이 IgE 항체의 농도는 IgE ELISA kit(BD Biosciences)를 이용하여 측정하였다. 즉, 96-well flat-bottom ELISA plate에 0.1 M sodium carbonate 용액으로 희석한 capture antibody(1:250)를 100 μ l씩 넣은 후 4°C에서 overnight으로 반응시킨 후 washing buffer로 3회 세척하였다. 각 well에 10% bovine serum albumin(BSA)이 함유된 1 \times PBS를 넣고 실온에서 1시간 동안 정치함으로써 blocking한 후 혈청을 100 μ l씩 넣어 실온에서 2시간 반응시켰다. 이를 다시 5회 washing buffer로 세척한 다음 peroxidase가 결합된 HRP-conjugated goat anti-mouse IgG 항체를 넣고 실온에서 1시간 반응시켰다. 다시 plate를 5회 세척한 다음 각 well에 기질용액인 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine (TMB) substrate를 넣어 10분 동안 암실상태에서 반응시킴으로써 발색을 유도하였다. 반응이 끝난 후 각 well에 정지액(stop solution)을 50 μ l씩 넣어 효소반응을 정지시킨 후 microplate reader의 450nm에서 흡광도를 측정하였으며, 혈청 내 IgE의 농도는 표준용액의 정량곡선을 기준으로 계산하였다.

5) 혈청 내 사이토카인 농도 측정

혈청 내 IL-4와 IFN- γ 의 농도는 각 사이토카인에 대한 ELISA kit(R&D Systems)를 이용하여 측정하였다. 즉, 96-well flat-bottom ELISA plate에 0.1 M sodium carbonate 용액으로 희석한 capture antibody(1:250)를 100 μ l씩 넣은 후 4°C에서 overnight으로 반응시킨 후 washing buffer로 3회 세척하였다. 각 well에 10% bovine serum albumin(BSA)이 함유된 1 \times PBS를 넣고 실온에서 1시간 동안 정치함으로써 blocking한 후 혈청을 100 μ l씩 넣어 실온에서 2시간 반응시켰다. 이를 다시 5회 washing buffer로 세척

한 다음 peroxidase가 결합된 HRP-conjugated goat anti-mouse IgG 항체를 넣고 실온에서 1시간 반응시켰다. 다시 plate를 5회 세척한 다음 각 well에 기질용액인 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine(TMB) substrate를 넣어 10분 동안 암실상태에서 반응시킴으로써 발색을 유도하였다. 반응이 끝난 후 각 well에 정지액(stop solution)을 50 μ l씩 넣어 효소반응을 정지시킨 후 microplate reader의 450nm에서 흡광도를 측정하였으며, 혈청 내 IL-4와 IFN- γ 의 농도는 표준용액의 정량곡선을 기준으로 계산하였다.

6) 통계학적 검정

모든 실험결과는 3회 반복실험에 대한 평균과 표준편차(mean \pm SD)로 나타내었으며, 통계학적 유의성 검증은 GraphPad Prism 5.0 분석프로그램을 이용하여 one-way ANOVA와 Tukey's test를 이용하였고, p값이 0.05 이하인 경우 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

결 과

1. 폐 조직의 구조적 변화에 대한 효과

난알부민 유도 천식 마우스에서 길경 에탄올추출물(PR-E)의 폐 조직 손상에 대한 억제 효과를 확인하기 위해 폐 조직을 H&E 염색하였다.

그 결과, 그림 1에서와 같이 난알부민 감작으로 천식이 유발된 대조군(OVA-Control)의 폐 조직에서는 세기관지 상피세포층 손상과 더불어 기관지 및 폐포 주위로 염증세포의 침윤이 발달하는 것을 관찰하였다. 반면 길경 에탄올추출물을 50 mg/kg 투여한 군(OVA+PR-E 50)에서는 대조군과 동일하게 폐 조직 손상과 염증 침윤이 개선되지 않았으나, 200 mg/kg 투여한 군(OVA+PR-E 200)에서는 기관지 상피세포층의 보존과 더불어 염증세포의 침윤이 대조군에 비해 감소하였다. 또한 대조약물인 케토티펜 10 mg/kg 투여군(OVA+Keto 10)에서는 기관지 상피세포층은 대조군에 비해 보존되었으나 염증세포의 침윤은 감소하지 않는 것으로 나타났다.

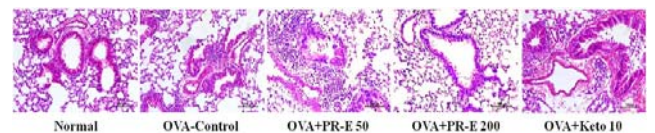


Fig 1. Effect of Platycodi Radix extract on OVA-induced histopathological changes in lung tissue. Lung tissues were collected and fixed with 10% formaldehyde. Thin sections (5 μ m) were cut and stained with H&E. Lung tissues were obtained from PBS-inhaled mice (Normal), OVA-inhaled mice (OVA-Control), OVA-inhaled mice administrated PR-E extract 50 mg/kg (OVA+PR-E 50), PR-E extract 200 mg/kg (OVA+PR-E 200) or Ketotifen 10 mg/kg (OVA+Keto 10), respectively. Magnification 200x.

2. 혈청 내 히스타민 분비에 대한 효과

난알부민 유도 천식 마우스에서 길경 에탄올추출물(PR-E)의 알레르기 매개 물질 생성에 대한 억제 효과를 확인하기 위해 혈청 내 히스타민의 농도를 EIA 방법으로 측정하였다.

그 결과, 그림 2에서와 같이 혈청 내 히스타민의 농도는 정

상군(Normal)에서는 $12.78 \pm 4.73 \mu\text{M}$, 난알부민 감각으로 천식이 유발된 대조군(OVA-Control)에서는 $316.40 \pm 47.65 \mu\text{M}$ 로 천식 유발에 따라 혈청 히스타민의 농도가 현저히 증가되었다. 반면, 길경 에탄올추출물을 50 mg/kg 투여한 군(OVA+PR-E 50)에서는 $172.68 \pm 45.69 \mu\text{M}$, 길경 에탄올추출물을 200 mg/kg 투여한 군(OVA+PR-E 200)에서는 $101.94 \pm 60.72 \mu\text{M}$ 로 투여 용량에 의존적으로 대조군에 비해 유의적인 감소를 나타내었다. 또한 항히스타민제인 케토티펜 10 mg/kg 투여군(OVA+Keto 10)에서도 $61.05 \pm 4.94 \mu\text{M}$ 로 측정되어 대조군에 비해 히스타민의 농도가 유의적인 감소를 나타내었다.

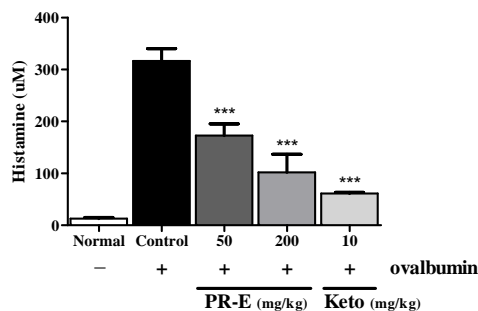


Fig 2. Effect of Platycodi Radix extract on OVA-induced release of histamine in serum. Serum was collected from OVA-induced mice treated with or without 50 and 200 mg/kg of PR-E extract between the sensitization and inhalation period. The control group was sensitized and challenged with PBS without drug administration. The histamine levels in serum was analyzed by EIA as described in the Materials and methods. Results are expressed as the mean \pm SD. of three independent experiments. PR-E, PR-E extract-administrated group and Keto, Ketotifen-administrated group. *** $P < 0.001$, significantly different from the OVA-inhaled group.

3. 혈청 내 난알부민 특이 IgE 분비에 대한 효과

난알부민 유도 천식 마우스에서 길경 에탄올추출물(PR-E)의 알레르기 매개 물질 생성에 대한 억제 효과를 확인하기 위해 혈청 내 난 알부민 특이 IgE의 농도를 ELISA 방법으로 측정하였다.

그 결과, 그림 3에서와 같이 혈청 내 난 알부민 특이 IgE의 농도는 정상군(Normal)에서는 $13.58 \pm 1.76 \text{ ng/ml}$, 난알부민 감각으로 천식이 유발된 대조군(OVA-Control)에서는 $154.20 \pm 27.30 \text{ ng/ml}$ 로 천식 유발에 따라 IgE의 농도가 현저히 증가되었다. 반면, 길경 에탄올추출물을 50 mg/kg 투여한 군(OVA+PR-E 50)에서는 $102.57 \pm 39.53 \text{ ng/ml}$, 길경 에탄올추출물을 200 mg/kg 투여한 군(OVA+PR-E 200)에서는 $102.13 \pm 11.21 \text{ ng/ml}$ 로 대조군에 비해 감소하였으나 유의적이지 않았으며, 투여 농도 간 차이는 나타나지 않았다. 또한 항히스타민제인 케토티펜 10 mg/kg 투여군(OVA+Keto 10)에서는 $65.32 \pm 19.53 \text{ ng/ml}$ 로 측정되어 대조군에 비해 IgE의 농도가 유의적으로 감소하였다.

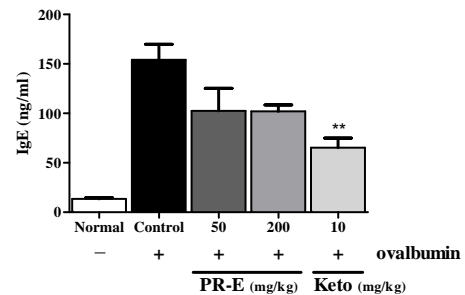


Fig 3. Effect of Platycodi Radix extract on OVA-induced release of IgE in serum. Serum was collected from OVA-induced mice treated with or without 50 and 200 mg/kg of PR-E extract between the sensitization and inhalation period. The control group was sensitized and challenged with PBS without drug administration. The OVA-specific IgE levels in serum was analyzed by EIA as described in the Materials and methods. Results are expressed as the mean \pm SD. of three independent experiments. PR-E, PR-E extract-administrated group and Keto, Ketotifen-administrated group. ** $P < 0.01$, significantly different from the OVA-inhaled group.

4. 혈청 내 면역조절 사이토카인 분비에 대한 효과

난알부민 유도 천식 마우스에서 길경 에탄올추출물(PR-E)의 알레르기 면역반응에 대한 조절 효과를 확인하기 위해 혈청 내 Th1 사이토카인인 IFN- γ 와 Th2 사이토카인인 IL-4의 농도를 ELISA 방법으로 측정하였다.

그 결과, 그림 4에서와 같이 혈청 내 IFN- γ 의 농도는 정상군(Normal)에서는 $4.79 \pm 0.56 \text{ pg/ml}$, 난알부민 감각으로 천식이 유발된 대조군(OVA-Control)에서는 $0.99 \pm 0.36 \text{ pg/ml}$ 로 천식 유발에 따라 IFN- γ 의 농도가 감소하였다. 반면, 길경 에탄올추출물을 50 mg/kg 투여한 군(OVA+PR-E 50)에서는 $2.39 \pm 0.19 \text{ pg/ml}$, 길경 에탄올추출물을 200 mg/kg 투여한 군(OVA+PR-E 200)에서는 $2.85 \pm 0.57 \text{ pg/ml}$ 로 대조군에 비해 유의적으로 증가하였다. 또한 항히스타민제인 케토티펜 10 mg/kg 투여군(OVA+Keto 10)에서도 $2.11 \pm 0.13 \text{ ng/ml}$ 로 측정되어 대조군에 비해 IFN- γ 의 농도가 유의적으로 증가하였다.

또한 그림 5에서와 같이 혈청 내 IL-4의 농도는 정상군(Normal)에서는 $9.97 \pm 1.77 \text{ pg/ml}$, 난알부민 감각으로 천식이 유발된 대조군(OVA-Control)에서는 $43.68 \pm 4.12 \text{ pg/ml}$ 로 천식 유발에 따라 IL-4의 농도가 증가하였다. 반면, 길경 에탄올추출물을 50 mg/kg 투여한 군(OVA+PR-E 50)에서는 $37.73 \pm 4.11 \text{ pg/ml}$, 길경 에탄올추출물을 200 mg/kg 투여한 군(OVA+PR-E 200)에서는 $30.00 \pm 9.02 \text{ pg/ml}$ 로 대조군에 비해 감소하였으나 유의적이지 않았다. 또한 항히스타민제인 케토티펜 10 mg/kg 투여군(OVA+Keto 10)에서는 $24.95 \pm 4.36 \text{ pg/ml}$ 로 측정되어 대조군에 비해 IL-4의 농도가 유의적으로 감소하였다.

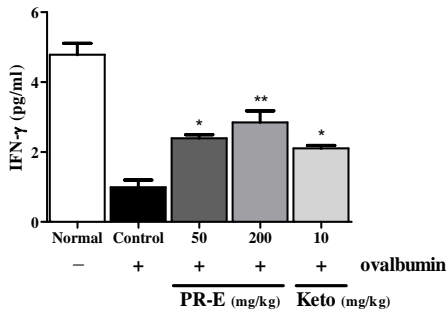


Fig 4. Effect of Platycodi Radix extract on OVA-induced release of IFN- γ in serum. Serum was collected from OVA-induced mice treated with or without 50 and 200 mg/kg of PR-E extract between the sensitization and inhalation period. The control group was sensitized and challenged with PBS without drug administration. The IFN- γ levels in serum was analyzed by EIA as described in the Materials and methods. Results are expressed as the mean \pm SD, of three independent experiments. PR-E, PR-E extract-administrated group and Keto, Ketotifen-administrated group. * $P < 0.05$ and ** $P < 0.01$, significantly different from the OVA-inhaled group.

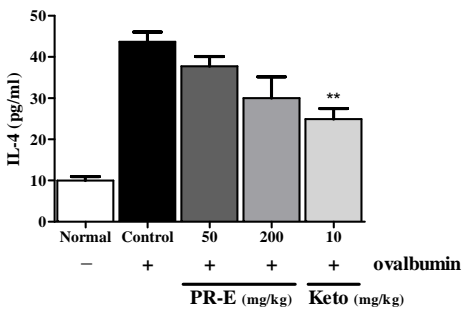


Fig. 5. Effect of Platycodi Radix extract on OVA-induced release of IL-4 in serum. Serum was collected from OVA-induced mice treated with or without 50 and 200 mg/kg of PR-E extract between the sensitization and inhalation period. The control group was sensitized and challenged with PBS without drug administration. The IL-4 levels in serum was analyzed by EIA as described in the Materials and methods. Results are expressed as the mean \pm SD, of three independent experiments. PR-E, PR-E extract-administrated group and Keto, Ketotifen-administrated group. * $P < 0.05$, significantly different from the OVA-inhaled group.

고찰

한의학에서 알레르기 과민반응은 鼻飢, 鼻塞, 喘息, 咳嗽, 急喉痺, 癩疹, 搔癢, 癩疹 등으로 모두 鼻, 肺, 皮膚와 관련되어 해석하고 있으며, 《素問》〈五藏生成論篇〉의 “咳嗽上氣厥在胸中 過在手陽明太陰”, 《素問》〈刺熱論篇〉의 “肺熱病者 先淅然厥起毫毛 惡風寒 舌上黃 身熱 熱爭則喘咳 痛走胸膺背”, 《東醫寶鑑》〈內景篇〉의 “邪在肺則病 皮膚痛 寒熱上氣 喘汗出 咳動肩背” “肺氣虛則 鼻息不利小氣 實則 喘喝胸憑仰息” 에서 나타난 바와 같이 肺經에 邪氣가 침범하거나 肺臟의 寒熱虛實 변화로 인해 호흡기와 피부의 病變이 초래되므로, 五臟六腑의 正氣와 六淫의 邪氣가 모두 알레르기와 무관하지 않으나 특히 알레르기와 가장 직접적으로 관련이 있는 것은 五臟六腑 중 肺臟의 變동이라 할 수 있다. 治療는 《東醫寶鑑》〈內景篇〉의 “肺苦氣上逆 急食苦以泄之, 肺欲收 急食酸以收之, 用散補之 辛瀉之” 와 같이 苦味 辛味 酸味로 肺氣

運을 조절한다고 하였다^{11,12,18}. 반면, 현대 의학에서는 알레르기 과민반응에 따른 증상을 치료하기 위해 항히스타민제, 비충혈제거제, 비만세포 안정제, 스테로이드제 등 약물요법을 사용하고 있으며 이는 주로 호산구나 비만세포와 같은 알레르기 매개 세포들로부터 분비되는 화학매개물질들이나 염증물질을 조절하기 위한 것으로 즉각적인 증상개선 효과를 얻을 수 있으며 양호한 치료효과에도 불구하고 일시적일 뿐 완치를 기대할 수는 없는 근본적인 치료방법이 아니라는 것과 장기 사용 시 여전히 부작용이 문제가 되고 있다^{5,6,7,19}. 또한 기관지 천식은 매우 복잡하고 다양한 형태로 나타나는 만성 기도 염증성 질환으로 천식 환자 중 약 80%가 알레르기 천식이며, 생리학적인 면에서는 메타콜린이나 히스타민에 대한 비특이적 기관지 과민성이 중요한 소견이고 IgE의 생성이 천식 발생에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 최근 후천적 면역(adaptive immunity)에 관여하는 세포 및 매개체에 대한 연구가 활발하게 이루어지고 있으며 이들 근거로 새로운 치료제들이 연구 개발되고 있지만 anti-IgE를 제외하고 아직까지 임상에서 효과를 나타내는 약물은 없으며, 천식의 다양한 기전으로 인해 아직까지도 치료제 개발이 실망스러운 단계이다.

최근에는 한약재와 같은 천연물 소재를 이용하여 알레르기 과민반응을 조절하고 알레르기성 천식을 치료하려는 연구가 활발히 이루어지고 있으며, 다양한 한약과 한약재에 대한 항알레르기 효과가 보고되고 있다. 본 연구에서는 마우스 기관지 천식 모델에서 길경의 70% 에탄올 추출물이 혈청 내 난알부민 특이 IgE 항체와 히스타민 감소 및 면역조절 사이토카인인 IL-4의 감소와 IFN- γ 의 증가, 폐 조직의 염증성 변화의 감소를 통해 길경 추출물이 기관지 천식 치료에 이용될 수 있음을 보여주었다.

기관지 천식은 기도 염증과 과민성을 주요 특징으로 하는 만성 염증질환으로 호산구(eosinophil), 림프구, 비만세포(mast cell) 등 다양한 염증세포들의 기도 내 침윤을 나타낸다¹. 특히 기도 내 침윤된 호산구의 활성화는 호산구양이온 단백질(eosinophil cationic protein)을 포함하여 히스타민 등의 과립형 단백질과 아라키돈산 대사산물인 프로스타글란딘(prostaglandin) 등의 분비를 통해 기도 평활근 수축, 기도 상피세포 탈락, 점액분비 증가 및 염증반응 유도를 통해 기관지 천식의 병태생리에 기여하는 것으로 알려져 있다²⁰. 호산구는 골수에서 만들어져 기도 내로 이동하면서 활성화되는데 이 과정에서 T helper(Th) 세포, 특히 Th2세포에서 분비되는 IL-4, IL-5, IL-13은 B 세포로부터 항원 특이 IgE 생산을 자극하여 알레르기성 기관지 천식의 병인 기전에 중요한 역할을 한다²¹. 한편, IFN- γ 는 Th1 세포에서 분비되는 대표적인 사이토카인으로 Th2 세포의 증식을 억제하고 알레르기 염증반응을 감소시키는 것으로 알려져 있다²². 따라서 IL-4 분비의 억제와 IFN- γ 의 증가는 기관지 천식의 치료에 중요한 표적이 되고 있다. 사람을 대상으로 한 연구에서 IFN- γ 의 흡입 치료 후에 기관지폐포세척액 내 호산구의 수가 감소되었으며, 마우스 실험에서 기도 내 CD4⁺ T 세포의 유입을 감소시킴으로써 호산구 침윤을 억제하고 난알부민 특이 IgE의 감소와 IgG2a의 증가, 난알부민에 대한 피부반응도 감소 및 기도 과민성 감소 등이 관찰됨으로써 기관지 천식이 개선되었다²³. 본 연구에서 길경의 70% 에탄올 추출물은 알레르기성 천식 마우스의 혈청 내 난알부민 특이 IgE 항체

와 히스타민의 분비를 감소시켰을 뿐 아니라, Th2 사이토카인인 IL-4를 감소시키고 Th1 사이토카인인 IFN- γ 를 증가시킴으로써 기관지 천식에서의 알레르기 과민성 반응을 조절할 수 있는 것으로 나타났다.

알레르기성 천식에서 폐 조직은 주로 기관지 상피층의 손상과 더불어 호산구와 호중구(neutrophil)의 침윤 등 병리학적인 변화를 동반하게 된다. 본 연구에서 길경의 70% 에탄올 추출물은 알레르기성 천식 마우스의 폐 조직에서 기관지 상피세포의 손상을 줄였으며, 림프구, 호중구, 호산구, 비만세포 등 알레르기 염증세포들의 침윤을 감소시킴으로써 폐 조직에서의 염증반응을 억제하였다. 이는 길경 추출물이 알레르기 매개 물질들의 생성을 막고 면역조절 사이토카인들의 항상성을 유지시킴으로써 알레르기성 과민반응으로부터 폐 조직을 보호함을 의미한다. 길경의 효능에 대해서는 알레르기성 질환에 대해서 아토피 피부염에 대한 개선효과²⁴⁾, 기관지 천식에서의 염증개선효과²⁵⁾, 에탄올 추출물의 비만세포에서의 항알레르기 효과²⁶⁾, 2,4-dinitrofluorobenzene 유도 아토피성 피부염에서의 Th1과 Th2 면역반응에 대한 조절효과²⁷⁾가 보고되었다.

결론

본 연구는 알레르기성 기관지 천식 마우스에서 길경의 70% 에탄올추출물의 개선 효과를 확인하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 길경의 70% 에탄올추출물은 난알부민 유도 알레르기성 기관지 천식 마우스의 폐 조직에서 기관지 상피층의 손상을 막고 염증세포 침윤을 억제시킴으로써 폐 조직을 보호하였다.
2. 길경의 70% 에탄올추출물은 난알부민 유도 알레르기성 기관지 천식 마우스에서 혈청 내 알레르기 매개물질인 히스타민과 난알부민 특이 IgE의 분비를 감소시켰다.
3. 길경의 70% 에탄올추출물은 난알부민 유도 알레르기성 기관지 천식 마우스에서 혈청 내 Th1 사이토카인인 IFN- γ 의 분비를 증가시키고, Th1 사이토카인인 IL-4의 분비를 감소시킴으로써 알레르기성 면역반응을 조절하였다.

본 연구결과로부터 길경의 70% 에탄올추출물은 알레르기성 기관지 천식에서의 알레르기 매개물질 감소와 과민반응 조절을 통해 기관지 천식을 개선시킬 수 있는 것으로 나타났다.

감사의 글

본 연구는 식품의약품안전청의 한약재 평가기술 과학화 연구사업(2012년)의 연구비 지원을 받아 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Lee CM, Chang JH, Moon DO, Choi YH, Choi IW, Park YM, Kim GY. Lycopene suppresses

ovalbumin-induced airway inflammation in a murine model of asthma. *Biochem Biophys Res Commun*. 2008 ; 374 : 248-52.

2. Roh SS, Kim SH, Lee YC, Seo YB. Effects of radix adenophorae and cyclosporine A on an OVA-induced murine model of asthma by suppressing to T cells activity, eosinophilia, and bronchial hyper-responsiveness. *Mediat Inflamm*. 2008 ; 781425 : 1-11.
3. Nakajima H, Takatsu K. Role of cytokines in allergic airway inflammation. *Int Arch Allergy Immunol*. 2007 ; 142 : 265-73.
4. Min YK, Choi JW, Kim LS. Otorhinolaryngology for primary care. seoul : Iljokac. 2002 : 60-2.
5. KIAT. 2003 technology & marketing information : life environment. seoul : KIAT. 2003 : 87-112.
6. Poole JA, Rosenwasser LJ. The role of immunoglobulin E and immune inflammation: implications in allergic rhinitis. *Curr Allergy Asthma Rep*. 2005 ; 5(3) : 252-8.
7. Kim YJ, Park SJ, Kim TJ. Anti-Allergic Effects of Nodakenin in IgE/Ag-Induced Type I Hypersensitivity. *J Life Sci*. 2011 ; 21 : 1721-5.
8. Li XM, Brown L. Efficacy and mechanisms of action of traditional Chinese medicines for treating asthma and allergy. *J Allergy Clin Immunol*. 2009 ; 123(2) : 297-306.
9. Yoo JH, Bae JH, Doh ES, Chang JP, Seong NS, Kil KJ. The Experimental study on the Immuno-regulatory effect of Notopterygii Rhizoma Extract on OVA-induced asthma in mice. *Korean J Herbol*. 2011 ; 26(4) : 83-8.
10. Cha JT, Lee JC, Lee YC. Comparitive study on anti-asthmatic activities of *Patrinia scabiosaefolia* Fischer ex Link and *Patrinia villosa* Jussieu in a mouse model of asthma. *Korean J Herbol*. 2012 ; 27(3) : 75-82.
11. Choi KJ. Effect of *Saururus chinensis* (Lour.) Baill Aquacupuncture on Allergy in Mice. *Donggeui university*. 2004 : 1-23.
12. Hong WS. *JungkyoHuangjenaegyongsomun*. seoul : Dongyang medicine Institute publisher. 1981 : 24, 39, 119.
13. The whole country a college of Oriental medicine The joint textbook publish commission compilation. *Herbology*. seoul : younglimsa. 2007 : 496-7.
14. Kim SS, Lee SC, Shin HD, Shin MK, Kim JH, Song HJ. Studies on the allergy asthma effect of radix platycodi. *Korean J Herbol*. 2004 ; 19(2) : 61-70.
15. Bae MJ, Park MH, Chol C. Effect of components seperated from platycodi radix on anti-allergic action. *Life Resources and Industry*. 1996 ; 1 :

- 14-9.
16. Bae MJ, Park MH, Son GM. Studies on Immunomodulating Function of Components Separated from Platycodi Radix. *Korean J Food Nut*, 1996 ; 9(1) : 69-75.
 17. Park CY, Kim YI, Hong KE. The Experimental Study on the Suppression Effect of Asthma and Immune Response Improvement of Platycodi Radix Herbal-acupuncture. *J Korean Acu Mox Soc*, 2005 ; 22(6) : 61-74.
 18. Dongeuibogam translate into korean committee, Dongeuibogam, seoul : namsandang, 1987 : 145, 252-3, 284-5.
 19. Jeon SY. Controversies in Management of Allergic Rhinitis: Immunotherapy vs Medical Therapy. *J Clinical Otolaryngol*, 2000 ; 11 : 23-6.
 20. Yuk JE, Woo JS, Yun CY, Lee JS, Kim JH, Song GY, Yang EJ, Hur IK, Kim IS. Effects of lactose-beta-sitosterol and beta-sitosterol on ovalbumin-induced lung inflammation in actively sensitized mice. *Int Immunopharmacol*, 2007 ; 7 : 1517-27.
 21. Robinson DS, Hamid Q, Ying S, Tsicopoulos A, Barkans J, Bentley AM, Corrigan C, Durham SR, Kay AB. Predominant Th2-like bronchoalveolar T-lymphocyte population in atopic asthma. *N Engl J Med*, 1992 ; 326 : 298-304.
 22. Mosmann TR, Coffman RL. Th1 and Th2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. *Annu Rev Immunol*, 1989 ; 7 : 145-73.
 23. Hofstra CL, Van Ark I, Hofman G, Nijkamp FP, Jardieu PM, Van Oosterhout AJM. Differential effects of endogenous and exogenous interferon-gamma on immunoglobulin E, cellular infiltration, and airway responsiveness in a murine model of allergic asthma. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 1998 ; 19 : 826-35.
 24. Choi JH, Han EH, Park BH, Kim HG, Hwang YP, Chung YC, Lee YC, Jeong HG. Platycodi Radix suppresses development of atopic dermatitis-like skin lesions. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2012 ; 33(3) : 446-52.
 25. 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.
 26. 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.
 27. Kim MS, Hur YG, Kim WG, Park BW, Ahn KS, Kim JJ, Bae H. Inhibitory effect of Platycodon grandiflorum on T(H)1 and T(H)2 immune responses in a murine model of 2,4-dinitrofluorobenzene-induced atopic dermatitis-like skin lesions. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 2011 ; 106(1) : 54-61.