

방풍(防風)의 난알부민 유도 알레르기 비염 마우스에서의 항알레르기 효능 연구

정진기, 박용기*

동국대학교 한의과대학 본초학교실

Effects of Saposhnikoviae Radix on allergic responses in OVA-induced Allergic rhinitis mice

Jin Ki Jung, Yong-Ki Park*

Dept. of Herbology, College of Oriental Medicine, Dongguk University

ABSTRACT

Objectives : In this study, we investigated the effect of Saposhnikoviae Radix on allergic responses in ovalbumin(OVA)-induced Allergic rhinitis(AR) mice.

Methods : BALB/c mice were orally administrated with Saposhnikoviae Radix water extract (SRW, 50 mg/kg) or anti-histamine drug, Ketotifen (10 mg/kg) as a reference drug, followed by sensitization and challenge of OVA. Mice were measured clinical symptoms and the serum levels of histamine, IgE, IL-4, and IFN- γ , and observed histopathological changes of nasal mucosa H&E staining.

Results : SRW significantly decreased rubs and the serum levels of histamine, IgE, and IL-4, and then increased the serum levels of IFN- γ in OVA-induced AR mice, and inhibited histopathological changes of nasal mucosa with inflammation and the eosinophils infiltration.

Conclusions : These data suggest that SRW has anti-allergic effect through the inhibitory property of Saposhnikoviae Radix against allergic responses in allergic rhinitis.

Key words : Saposhnikoviae Radix, anti-allergic effect, Allergic rhinitis, ovalbumin, ketotifen

서론

알레르기(allergy)는 비정상적으로 일어나는 면역학적 기전에 의하여 발생하는 과민반응의 일종으로 만성염증 질환이다. 외부 자극 즉 항원(allergen)으로부터 반복적인 노출에 따른 변화된 상태 또는 이상반응이라는 광범위한 의미로부터 자극적이거나 해로운 작용을 일으키는 면역반응으로 해석되고 있다¹⁾. 대표적인 질환으로 두드러기, 비염, 천식, 아토피 등이 있으며, 보통 면역글로불린 E(IgE) 매개의 과민반응과 같은 의미로 사용되고 있다^{2,3)}. 항원(allergen)에는 유전적 요인이나 연령, 성별, 기후변화와 생활환경과 같은 소인적인 측면뿐만 아니라 집먼지진드기, 꽃가루, 동물의 털, 기타 약물 등과 같은 외인성 알레르겐 등을 들 수 있으며 산업의 발전으로 인한 대기오염의 증가와 흡연이나 바이러

스성 상기도 감염 등의 유발 인자 증가 등도 알레르기 반응 증가 요인으로 작용할 수 있다⁴⁾. 현재 사회가 점차 산업화발전 에 따라 알레르기 질환의 발생이 더욱 증가하고 있는 추세이며 특히 알레르기 비염의 경우 유병율이 급증하였다^{5,6)}.

알레르기 비염은 IgE를 매개로 하는 비강 내에서 발생하는 만성염증질환으로 주요 증상으로는 재채기, 가려움, 비루, 코막힘 등이며, 알레르기 비염이 장기적으로 지속되면 부비동염과 같은 만성 염증질환으로 발전하게 되고 더욱 나아가 천식으로 진행되는 것으로 보고되고 있다⁷⁻⁹⁾.

알레르기 질환은 단시일에 치료되지 않는 만성적인 질환으로 서양 의학에서는 항원의 침입을 피하는 회피요법과 항히스타민제 등의 약물요법으로 치료하고 있지만 현재까지의 치료제 대부분은 근본적인 원인을 없애기 보다는 알레르기 증상을

*교신저자 : 박용기, 경북 경주시 석장동 707번지 동국대학교 한의과대학

· Tel : 054-770-2661 · E-mail : yongki@dongguk.ac.kr

· 접수 : 2012년 08월 13일 · 수정 : 2012년 09월 03일 · 채택 : 2012년 09월 05일

완화시키는 화학합성약물이며 이를 장기사용 시 부작용이 발생함으로 환자의 건강상태와 체질을 고려한 지속적인 관리와 치료가 요구됨으로 보다 안전하고 효과적인 치료제 개발이 시급한 실정이다^{10,11}. 최근에는 한의학을 활용하여 다양한 알레르기 질환의 예방 및 개선을 위한 한약제제 즉 천연약물 개발에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다^{12,13}.

방풍(防風, *Saposhnikovia Radix*)은 미나리과(繖形科, Umbelliferae)에 속하는 多年生 本草인 방풍(*Saposhnikovia divaricata* Schischkin)의 뿌리와 뿌리줄기를 사용한다. 우리나라 각지에서 재배되고 있고, 중국에서는 西北 및 河北, 內蒙古, 陝西省과 山西省 등의 지역에 분포하며, 주로 東北과 內蒙古의 東北에서 생산된다. 性味가 溫, 辛, 甘 하며, 解表祛風, 勝濕, 止癢 등의 효능으로 感冒痺痛, 骨節酸痛 등을 치료한다. 특히 外感表證의 常用藥으로 祛風解表하는 효능이 뛰어나 外感表證에 寒熱虛實을 막론하고 사용되어 惡寒發熱, 頭痛身痛 등의 風寒證과 風熱에 의한 目赤咽痛 등 證을 치료한다. 風寒의 邪를 祛하여 解表하고 또한 風濕을 祛하여 止痛케 하므로 風寒의 表證과 風濕으로 인한 痺痛을 치료하는데 常用되어 風寒濕痺, 關節疼痛, 四肢攣急 등 證에 사용된다¹⁴. 방풍에 대한 실험연구로는 항염증 상승효과¹⁵있으며, 복합처방으로 청상방풍탕의 항균효과¹⁶, 가미방풍통성산의 체지방구성 및 항산화능¹⁷, 방풍갈근탕의 항알레르기 효과¹⁸ 등이 보고되어 있지만, 단미처방으로는 많은 연구가 진행되지 않았고, 항알레르기 효과에 대한 보고가 되어있지 않았다.

본 연구에서는 방풍의 알레르기 반응에 대한 조절효과를 확인하고자 난알부민 유도 알레르기 비염 동물을 이용하여 항알레르기 효과를 조사하였다.

재료 및 방법

1. 재료

1) 약재

본 실험에 사용된 방풍(*Saposhnikovia divaricata* Schischkin, *Saposhnikovia Radix*; SR: 중국)은 방풍의 뿌리와 뿌리줄기를 (주)광명당제약(울산, 한국)으로부터 구입하여 동국대학교 한의과대학 본초학교실에서 정선한 후 사용하였다.

2) 실험동물

실험동물은 6주령 BALB/c계 수컷 생쥐(mouse, 20±2 g)를 (주)샘타코(경기도, 한국)로부터 구입하였으며, 고형사료와 물을 제한 없이 공급하면서 일정한 온도(25±2 °C)와 습도(50±10 %) 및 12시간 낮과 밤의 주기를 유지하여 사육하였다.

3) 시약 및 기기

실험에 사용되어진 시약으로 ovalbumin (OVA), AL(OH)₃ gel, Ketotifen은 모두 Sigma-Aldrich사(St Louice, CA, USA)로부터 구입하여 사용하였으며, 기타 histamine enzyme immunoassay kit(Cayman Chemical, MG, USA), IgE ELISA kit(BD Pharmingen, Franklin Lakes, NJ, USA), IFN-γ, IL-4(R&D systems Inc., MN, USA), H&E stain kit(Seoulin Biosciences Co., Seoul, South Korea) 등을 사용하였다.

실험에 사용되어진 기기는 rotary evaporator(Eyela, Tokyo, Japan), freeze-dryer(Daeil BioTech, Gyeonggido, South Korea), microplate reader(Asys, Eugendorf, Austria), microscope(LEICA, Wetzlar, Germany) 등이다.

2. 방법

1) 약물 제조

방풍 200 g에 1 L와 함께 3시간 동안 2회 추출하여 와트만여과지(Wathman No. 1)로 여과한 후 감압 농축하였다. 이를 동결건조하여 방풍의 물추출물을 제조하였으며, 이 때 수득율은 8.34 % 였다. 방풍물추출물(SRW)은 냉장 보관하면서 실험직전 생리식염수에 완전히 용해한 후 실험약물로 사용하였다.

2) 난알부민 유도 알레르기 비염 동물모델 제작

알레르기 비염 동물모델(allergic rhinitis mouse model)을 제작하기 위해 난알부민(ovalbumin, chicken egg albumin; OVA) 1 mg을 PBS와 수산화알루미늄 겔(Al(OH)₃ gel)을 1:1로 혼합한 용액 1 ml을 난알부민 용액을 투여시작 1일, 8일, 15일에 마우스의 복강 내 주사함으로써 알레르기 면역반응을 유도하였다. 마지막 복강 주사 7일 후 마우스를 50×15×50 cm 크기의 아크릴 상자 안에 넣고 2 mg/ml OVA용액을 에어졸을 이용하여 격일로 1일 3회씩 3일 분사함으로써 비강 내 감각을 통한 알레르기 비염을 유도하였다. 그리고 마지막 비강 내 감각 직후 15분 동안 비강 과민반응을 이중맹검으로 측정하였다.

난알부민의 비강 내 감각 후 모든 동물의 심장으로부터 혈액을 수집하였으며, 수집된 혈액은 6,000 rpm에서 5분간 2회 원심 분리하여 혈청을 분리하여 혈액학적 검사에 사용하였다. 또한 비점막 조직(nasal mucosa)의 조직학적 변화를 관찰하기 위해 동물의 머리를 분리하여 비강을 둘러싸고 있는 골을 포함한 조직을 채취하였다. 동물군은 각 군 당 6마리를 사용하였으며, 생리식염수를 투여한 정상군(Normal), 난알부민(OVA) 감각에 의한 알레르기 비염이 유발된 대조군(OVA-Control), SRW을 50 mg/kg 투여한 실험군(OVA+SRW 50) 및 대조약물로 H₁ 항히스타민제인 Ketotifen 10 mg/kg를 투여한 양성대조군(OVA+Ketotifen 10)으로 나누었다. 모든 약물은 아크릴 상자 안 비강 내 감각을 하는 7일 동안 매일 1회 일정 시간에 일정 투여량(0.3 ml)을 경구투여하였다.

3) 혈청 히스타민 측정

실험동물로부터 수집한 혈액에서 분리한 혈청 내 히스타민 농도는 histamine enzyme immunoassay kit(Cayman Chemical)를 사용하여 제조회사에서 제공한 방법에 의해 측정하였다. 즉, 혈청 200 μl를 튜브에 넣고 50 μl의 유도체화 원충용액을 넣어 반응시킨 후 20 μl의 유도체화 시약을 넣어 혼합시킨 후 유도체화된 혈청 100 μl를 히스타민 항체가 붙어있는 96-well plate에 넣고 enzyme conjugate 100 μl를 첨가하여 4°C에서 24시간 정치하였다. 이를 5회 세척액으로 세척하고 색소기질(chromogenic substrate) 200 μl를 넣어 60분에서 90분간 어두운 상온에서 반응시켰다. 반응 종료 시킨 후 microplate reader의 405nm에서 흡광도를 측정하였다

다. 혈청 내 존재하는 히스타민의 농도는 표준용액의 정량곡선을 기준으로 계산하였다.

4) 혈청 IgE 측정

혈청 내 IgE 항체의 농도는 IgE enzyme-linked immunoassay (ELISA) kit(BD Pharmingen)를 사용하여 제조회사에서 제공한 방법에 의해 측정하였다. 즉, 96-well flat-bottom ELISA plate에 0.1 M NaHCO₃ 완충액(pH 8.3)에 녹인 OVA(20 µg/ml) 용액 100 µl를 넣어 4℃에서 하룻밤 코팅한 후 1% bovine serum albumin이 함유된 1× PBS로 실온에서 1시간 blocking 하였다. 여기에 혈청을 희석하여 넣은 후 실온에서 2시간 반응시키고, 5회 세척한 다음 anti-mouse IgE 항체를 넣어 2시간 반응시켰다. 이를 5회 세척 한 후 peroxidase가 결합된 HRP-conjugated goat anti-rat IgG 항체와 함께 실온에서 1시간 반응시키고, 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine(TMB) substrate로 30분간 어두운 상온에서 발색시켰다. 반응액에 정지액(stop solution)을 각각 50 µl씩 넣어 효소반응을 정지시킨 후 microplate reader의 450nm에서 흡광도를 측정하였다. 혈청 내 존재하는 IgE의 농도는 표준용액의 정량곡선을 기준으로 계산하였다.

5) 혈청 IL-4 측정

실험동물로부터 수집한 혈액에서 분리한 혈청 내 IL-4 농도는 IL-4 enzyme immunoassay kit(R&D systems)를 사용하여 제조회사에서 제공한 방법에 의해 측정하였다. 즉, 혈청 50 µl를 IL-4 항체가 붙어있는 96-well plate에 넣고 상온에서 2시간 반응 시키고, 5회 세척한 다음 enzyme conjugate 100 µl를 첨가하여 상온에서 2시간 반응시켰다. 이를 5회 세척액으로 세척하고 색소기질(chromogenic substrate) 100µl를 넣어 30분간 어두운 상온에서 반응시켰다. 반응액에 정지액(stop solution)을 각각 100 µl씩 넣어 효소반응을 정지시킨 후 microplate reader의 450nm에서 흡광도를 측정하였다. 혈청 내 존재하는 IL-4의 농도는 표준용액의 정량곡선을 기준으로 계산하였다.

6) 혈청 IFN-γ 측정

실험동물로부터 수집한 혈액에서 분리한 혈청 내 IFN-γ 농도는 IFN-γ enzyme immunoassay kit(R&D systems)를 사용하여 제조회사에서 제공한 방법에 의해 측정하였다. 즉, 혈청 50 µl를 IFN-γ 항체가 붙어있는 96-well plate에 넣고 상온에서 2시간 반응 시키고, 5회 세척한 다음 enzyme conjugate 100 µl를 첨가하여 상온에서 2시간 반응시켰다. 이를 5회 세척액으로 세척하고 색소기질(chromogenic substrate) 100µl를 넣어 30분간 어두운 상온에서 반응시켰다. 반응액에 정지액(stop solution)을 각각 100 µl씩 넣어 효소반응을 정지시킨 후 microplate reader의 450nm에서 흡광도를 측정하였다. 혈청 내 존재하는 IFN-γ 의 농도는 표준용액의 정량곡선을 기준으로 계산하였다.

7) 비점막의 H&E 염색

채취한 비강조직 중 경구개의 절치유두 부위 4% formaldehyde 용액으로 24시간 고정된 다음 비중격 부위

(nasal septum)를 노출시켜 10% ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) 용액으로 7일간 탈회하였다. 이를 다시 파라핀으로 포매하여 블록을 만든 후 microtome을 이용하여 비강 내의 전정부위를 중심으로 5 µm 두께의 절편을 제작하였다. 조직절편의 구조적 변화를 관찰하기 위하여 Hematoxylin & Eosin(H&E) 염색시약으로 염색한 후 염색된 조직절편을 광학현미경 하에서 상피세포층(epidermal sheet) 손상정도, 점막하 조직의 부종과 부종으로 인한 비후정도 등의 관찰을 통해 구조적 변화를 확인하였다.

8) 통계학적 검정

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

결 과

1. 과민반응에 대한 효과

과민반응에 대한 방풍(SRW)의 효과를 확인하기 위해 ovalbumin으로 비강 내 감각된 마우스에서 마지막 비강 내 감각 직후 15분간 가려움, 재채기 등의 임상적 증상(Clinical symptoms)을 측정하였다.

그 결과, 그림 1에서와 같이 생리식염수를 투여한 정상군(Normal)은 비강 내 감각을 하지 않았으므로 과민반응 수가 0으로 나타났고 난알부민(OVA) 감각에 의한 알레르기 비염이 유발된 대조군(OVA-Control)은 난알부민에 의해 가려움, 재채기 등의 임상적 증상이 127.5±14.85 로 현저히 증가 하였다. 반면, SRW(OVA+SRW 50)를 투여하였을 때 66.0±5.7 로 대조군에 비해 유의적으로 감소되었다. 한편 대조약물인 Ketotifen을 투여한 군(OVA+Ketotifen 10)에서도 72.0±9.0 로 SRW투여군과 유사하게 과민반응을 감소시킨 것으로 나타났다.

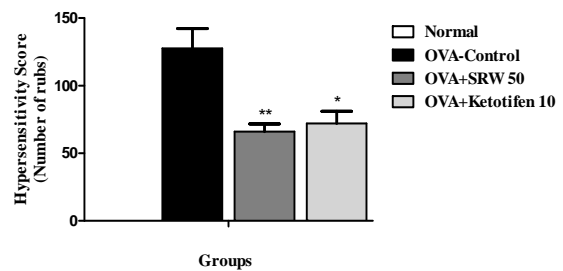


Fig 1. Effect of Saposhnikoviae Radix water extract on clinical symptoms in OVA-induced allergic rhinitis mice. Mice(n=6 per group) were orally administrated with saline, Saposhnikoviae Radix water extract (SRW, 50 mg/kg) or ketotifen (10 mg/kg). The number of rubs that occurred 15 min after the OVA intranasal provocation. Data represent mean±SD of three independent experiments. *P<0.05 and **P<0.01 vs. OVA-Control group.

2. 히스타민 분비에 대한 효과

난알부민 유도 알레르기 비염 마우스에서 방기물추출물 (SRW)의 알레르기 면역반응 조절 효과를 확인하기 위해 혈청 내 히스타민의 농도를 효소면역반응법으로 측정하였다.

그 결과, 그림 2에서와 같이 혈청 내 히스타민의 농도는 정상군(Normal)에서는 $14.06 \pm 4.86 \mu\text{M}$, 알레르기 비염이 유발된 대조군(OVA-Control)은 $298.70 \pm 38.93 \mu\text{M}$ 로 비염 유발 시 증가되었으며, SRW 투여군(OVA+SRW 50)에서는 $164.47 \pm 51.94 \mu\text{M}$ 로 대조군에 비해 유의적으로 감소하였다. 한편 대조약물인 Ketotifen 투여군(OVA+Ketotifen 10)에서도 $62.61 \pm 4.68 \mu\text{M}$ 로 대조군에 비해 히스타민의 농도가 유의적으로 감소되었다.

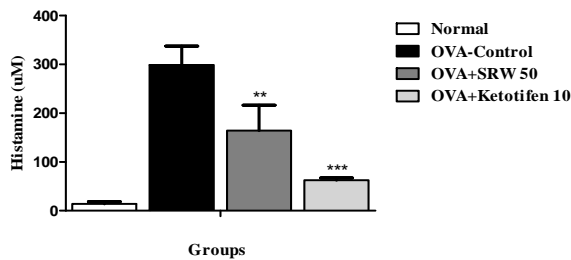


Fig 2. Effect of Saposhnikoviae Radix extract on serum histamine levels in OVA-induced allergic rhinitis mice. Mice(n=6 per group) were orally administrated with saline, Saposhnikoviae Radix water extract (SRW, 50 mg/kg) or Ketotifen (10 mg/kg). The concentration of serum histamine was measured by enzyme immunoassay. Data represent mean \pm SD of three independent experiments. ** P <0.01 and *** P <0.001 vs. OVA-Control group.

3. IgE 에 대한 효과

난알부민 유도 알레르기 비염 동물에서 방기물추출물 (SRW)의 알레르기 면역반응 조절 효과를 확인하기 위해 혈청 내 IgE의 농도를 ELISA 방법으로 측정하였다.

그 결과, 그림 3에서와 같이 혈청 내 IgE의 농도는 정상군(Normal)에서는 $7.07 \pm 1.30 \text{ ng/ml}$, 대조군(OVA-Control)은 $60.87 \pm 8.89 \text{ ng/ml}$ 로 알레르기 반응 유도 후 증가하였으며, SRW(OVA+SRW 50) 투여 후 $39.09 \pm 6.13 \text{ ng/ml}$ 로 유의적으로 감소하였다. 또한, 양성대조약물인 Ketotifen 투여군(OVA+Ketotifen 10)에서도 $25.36 \pm 10.60 \text{ ng/ml}$ 로 유의적으로 IgE 농도가 감소하였다.

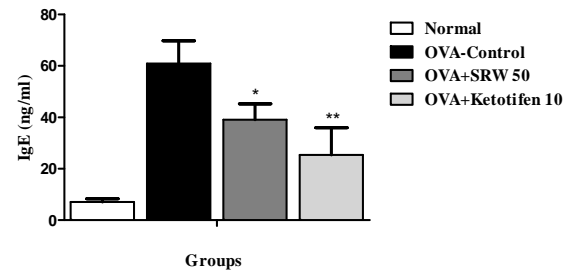


Fig. 3. Effect of Saposhnikoviae Radix extract on serum IgE levels in OVA-induced allergic rhinitis mice. Mice(n=6 per group) were orally administrated with saline, Saposhnikoviae Radix water extract (SRW, 50 mg/kg) or Ketotifen (10 mg/kg). The concentration of serum OVA-specific IgE was measured by ELISA. Data represent mean \pm SD of three independent experiments. * P <0.05 and ** P <0.01 vs. OVA-Control group.

4. IL-4 에 대한 효과

난알부민 유도 알레르기 비염 동물에서 방기물추출물 (SRW)의 알레르기 면역반응 조절 효과를 확인하기 위해 혈청 내 IL-4의 농도를 ELISA 방법으로 측정하였다.

그 결과, 그림 4에서와 같이 혈청 내 IL-4의 농도는 정상군(Normal)에서는 $9.67 \pm 1.98 \text{ pg/ml}$, 대조군(OVA-Control)은 $56.18 \pm 5.63 \text{ pg/ml}$ 로 알레르기 반응 유도 후 증가하였으며, SRW(OVA+SRW 50) 투여 후 $28.34 \pm 1.29 \text{ pg/ml}$ 로 유의적으로 감소하였다. 또한, 양성대조약물인 Ketotifen 투여군(OVA+Ketotifen 10)에서도 $23.10 \pm 7.45 \text{ pg/ml}$ 로 유의적으로 IL-4 농도가 감소하였다.

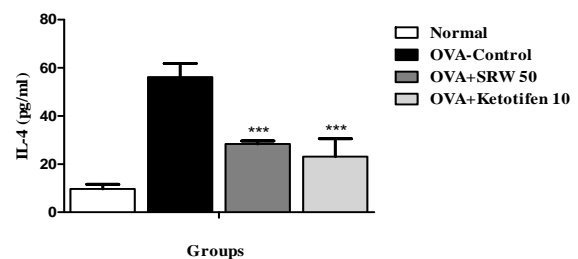


Fig. 4. Effect of Saposhnikoviae Radix extract on serum IL-4 levels in OVA-induced allergic rhinitis mice. Mice(n=6 per group) were orally administrated with saline, Saposhnikoviae Radix water extract (SRW, 50 mg/kg) or Ketotifen (10 mg/kg). The concentration of serum IL-4 was measured by ELISA. Data represent mean \pm SD of three independent experiments. *** P <0.001 vs. OVA-Control group.

5. IFN- γ 에 대한 효과

난알부민 유도 알레르기 비염 동물에서 방기물추출물 (SRW)의 알레르기 면역반응 조절 효과를 확인하기 위해 혈청 내 IFN- γ 의 농도를 ELISA 방법으로 측정하였다.

그 결과, 그림 5에서와 같이 혈청 내 IFN- γ 의 농도는 정상군(Normal)에서는 $4.72 \pm 0.70 \text{ pg/ml}$, 대조군(OVA-Control)은 $0.93 \pm 0.32 \text{ pg/ml}$ 로 알레르기 반응 유도 후 감소하였으며, SRW(OVA+SRW 50) 투여 후 $2.44 \pm 0.51 \text{ pg/ml}$ 로 유의적으로 증가하였다. 또한, 양성대조약물인

Ketotifen 투여군(OVA+Ketotifen 10)에서도 2.46±0.48 ng/ml로 유의적으로 IFN- γ 농도가 증가하였다.

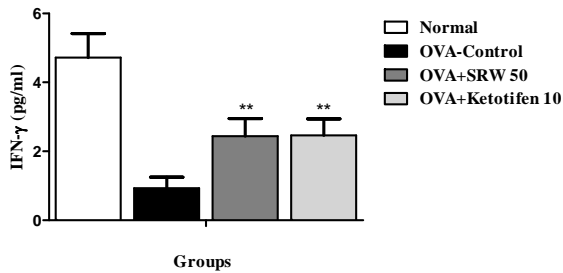


Fig. 5. Effect of Saposhnikoviae Radix extract on serum IFN- γ levels in OVA-induced allergic rhinitis mice. Mice(n=6 per group) were orally administrated with saline, Saposhnikoviae Radix water extract (SRW, 50 mg/kg) or Ketotifen (10 mg/kg). The concentration of serum IFN- γ was measured by ELISA. Data represent mean±SD of three independent experiments. ***P*<0.01 vs. OVA-Control group.

6. 비점막 구조변화에 대한 효과

난알부민 유도 알레르기 비염 동물에서 방풍 물추출물 (SRW)의 알레르기 비염에 따른 비강 조직 손상에 대한 억제 효과를 확인하기 위해 비강조직을 H&E 염색하였다.

그 결과, 그림 6에서와 같이 난알부민 감작으로 알레르기 비염이 유발된 대조군의 비강 점막에서는 후각 상피세포층이 손상되고, 후각신경구가 비후되었으며, 술잔세포(goblet cell)가 발달하는 것을 관찰하였다. 반면 SRW 투여군(OVA+SRW 50)에서는 후각 상피세포층이 대조군에 비해 잘 보존되었으며, 후각신경구나 술잔세포의 발달이 감소되는 것으로 나타났다. 한편, Ketotifen 투여군(OVA+Ketotifen 10)의 경우 후각신경구의 발달이 감소되었으나 후각 상피세포층은 SRW 투여군에 비해 잘 보존되지 못하였다. 또한 각 투여군의 비후된 비강 점막의 두께를 측정하여 나타내었다.

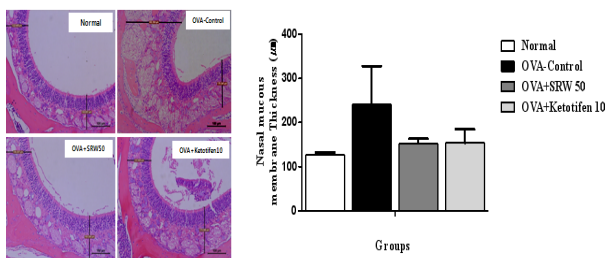


Fig 6. Effect of Saposhnikoviae Radix extract on histological changes of nasal mucosa in OVA-induced allergic rhinitis mice. Groups of mice(n=6 per group) were induced allergic rhinitis by OVA sensitization/challenge, and then orally administrated with saline, SRW (50 mg/kg) or Ketotifen (10 mg/kg) for 7 days. The histological changes of nasal mucosa were observed using H&E staining(\times 200).

고찰

알레르기 반응의 항원(allergen)에는 유전적 요인, 생활환경과 같은 소인적인 측면, 집먼지진드기, 곰팡이 등의 외인성 요인 등을 유발하는 요인으로 들 수 있으며, 현대사회의 산업화로 인한 환경오염 증가나 식습관의 변화 및 흡연, 바이러스

성 상기도 감염 등의 증가는 알레르기 질환 증가로 이어진다. 전 세계 인구의 15~20 % 정도가 비정상적으로 일어나는 면역학적 기전에 의해 발생하는 과민반응의 일종인 천식, 알레르기 비염, 아토피 피부염 등의 알레르기 질환으로 고생하고 있다^{4,19)}.

한의학에서 알레르기 비염은 鼻飧, 鼻涕, 鼻塞 등의 범위에 속하며, 鼻塞不利, 鼻涕淋漓, 鼻中因痒爲嚏을 주요 증상으로 기타 鼻衄, 塞甚則濁涕, 不聞香臭, 不得息의 증상을 수반하기도 하며, 원인으로 肺脾腎의 허손과 風寒邪氣의 鼻竅侵襲으로 風寒化火와 火熱內伏 등의 병리학적 변화가 나타나며 유발인자로는 계절적 요인, 七情, 六淫, 음식, 勞役, 일광 등으로 해석되고 있다²⁰⁾.

반면, 현대 의학에서는 알레르기 비염을 치료하기 위해 주로 비만세포로부터 히스타민 유리를 억제하기 위한 비만세포 조절과 관련된 약물들을 사용하고 있으며, Ketotifen이 대표적인 항히스타민제이다. 기타 비만세포로 분비되는 알레르기 매개물질 및 염증물질에 대한 길항제 등을 다양하게 사용하고 있다. 그러나 이러한 약물들에 의한 양호한 치료효과에도 불구하고 여전히 완치를 기대할 수 있는 근본적이 치료법이 아니라는 한계가 있다^{10,11,21)}.

최근에는 한약 및 천연물을 이용하여 면역기능을 조절하는 효능에 대한 연구가 많이 이루어지고 있으며, 알레르기 비염에서도 북강활¹²⁾과 KOB와 황기¹³⁾ 등의 항알레르기 효과에 대한연구가 보고되었다. 본 연구에서는 현재 복합처방의 구성의 하나로 항염증 및 항알레르기 효과가 보고된 방풍의 알레르기 비염에 대한 개선 효과를 확인하기 위하여 지연형 알레르기 비염 동물모델인 난알부민 감작 알레르기 비염 마우스에서 항알레르기 효능을 평가하였다.

히스타민은 여러 화학매개물질들 중 비만세포의 탈과립으로부터 가장 빠르게 유리되어 염증초기 말초혈관의 투과성 증가, 혈관 확장, 기관지 평활근 수축 등을 유도한다. 또한 히스타민은 염증물질의 합성과 분비를 촉진함으로써 알레르기 비염을 만성적 염증질환으로 진행시키는데 기여하게 되어 전반적인 알레르기 면역반응에 매우 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다^{22,23)}. 본 연구에서 방풍 물추출물은 난알부민 유도 알레르기 비염 마우스에서 혈청 내 히스타민과 IgE의 농도를 유의적으로 감소를 유도하였다. 이는 지연형 알레르기 반응에 대해서 비만세포막 안정화에 기여할 뿐 아니라 B 세포로부터 생성되는 IgE의 항체 생산을 감소시킴으로써 면역 조절을 통해 알레르기 비염을 개선시킬 수 있음을 의미한다.

Mast cell은 TNF- α , IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-13 등의 cytokine을 만들어내는데, 이들 cytokine들은 궁극적으로 neutrophil과 eosinophil을 모으는 역할을 하며 염증반응을 일으키는 데 중요한 역할을 한다. 특히 IL-4는 NK cell, mast cell, neutrophil과 eosinophil에서 분비되는 cytokine으로 알레르기 반응의 유발, B세포의 분화와 증식, IgE의 생성 등에 관여하여 cytokine으로 알레르기 비염의 발생에 중요한 역할을 한다. 반면에 IFN- γ 는 IL-4에 대한 길항작용을 통해 IgE항체 생성 억제에 의한 알레르기 반응을 억제시킨다²⁴⁾. 알레르기 질환은 IL-4를 분비하는 Th₂ cell의 지배적인 질환이며 그 병인은 아직 제대로 밝혀지지 않았으나, IFN- γ 의 Th1 cell과 IL-4의 Th₂ cell 사이의 불균형으로 인해 알레르기 비염으로 발전된다²⁵⁾. 본 연구에서 방풍 물추

출물은 난알부민 유도 알레르기 비염 마우스에서 혈청 내 IL-4 농도를 유의적으로 감소시키고, IFN- γ 의 농도를 유의적으로 증가시켰으며, 이는 Th1/Th2 면역조절 반응 통해 IgE의 항체 생산을 감소시키고 비만세포의 성장을 억제시켜 알레르기 비염을 개선시킬 수 있음을 의미한다.

알레르기 비염에서 비강 점막 조직은 주로 호산구(eosinophil)의 침윤과 더불어 심한 점막 하 부종을 유발하고 비점막 상피층의 손상, 특히 섬모세포의 손실과 후각신경구의 비후, 비만세포와 호산구 수의 증가, 점액을 분비하는 술잔세포(goblet cell)의 증가 및 혈관 투과성 증대 등의 병리학 적 변화가 나타나게 된다²⁶⁾. 본 연구에서 방풍 물추출물은 난알부민 유도 알레르기 비염 동물의 비강조직에서 섬모세포의 손상을 줄였으며, 후각신경구의 비후를 감소시켰다. 또한, 비만세포, 호산구 등 알레르기 반응 핵심 세포들과 술잔세포를 감소시킴으로써 비염에 따른 비강조직 손상을 막고 혈관투과성 감소를 통해 후각 상피세포층을 잘 보존하는 것으로 나타났다. 이는 방풍이 항원에 의해 손상된 비강조직을 보호함으로써 알레르기 비염을 개선시킬 수 있음을 의미한다.

결론

본 연구에서는 방풍의 알레르기 반응에 대한 조절효과를 난알부민 유도 알레르기 비염 마우스에서 확인하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 방풍 물추출물은 난알부민 감작으로 유도된 알레르기 비염 마우스에서 혈청 내 히스타민과 난알부민 특이 IgE의 분비를 감소시켰다.
2. 방풍 물추출물은 난알부민 감작으로 유도된 알레르기 비염 마우스에서 혈청 내 IL-4 농도를 감소시키고 IFN- γ 농도를 증가시켰다.
3. 방풍 물추출물은 난알부민 감작으로 유도된 알레르기 비염 마우스에서 비강 내 비강 점막 조직의 구조적 손상을 개선시켰다.

따라서 방풍은 난알부민 감작으로 유도된 알레르기 비염 마우스에서 알레르기 반응을 억제시켜주고 면역반응을 증가시켜줌으로써 효과적으로 알레르기 비염을 개선시킬 수 있는 것으로 나타났으며, 이는 방풍이 알레르기 비염 치료제로 개발될 수 있음을 시사한다.

감사의 글

본 연구는 보건복지부의 한의약산업육성 제품화지원 연구개발사업의 연구비(F090002) 지원을 받아 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Korean Journal of Asthma, Allergy and Clinical Immunology. Asthma and Allergy disease. Seoul :

- koonja publisher, 2002 ; 66 : 431-3.
2. Lee JB , Yang HM, Min YK, Seok HS. Role of Chemokine in a in vivo Model of Food Allergy. J Kor Soc Living Environ Sys, 2009 ; 16(6) : 675-82.
3. Seoul National University College of Medicine, Immunology. Seoul : Seoul National University publisher, 1987 : 188-97.
4. Min YK, Choi JW, Kim LS. Otorhinolaryngology for primary care. seoul : iljokac, 2002 : 60-2.
5. Kim YB, Chae BY. A Clinical study on the Sneezing, Nasal discharge, Nasal obstruction. Kor J Ori Med Soc, 1993 ; 14(2) : 162-7.
6. Kim HH, Allergic rhinitis, sinusitis and asthma: evidence for respiratory system integration, Kor J Pediatrics, 2007 ; 50(4) : 335-9.
7. Schwartz LB, Huff TF. Biology of mast cells. In : Middleton E, editor. Allergy : Principles and practice, 5th ed, Mosby : St. Louis, 1998 : 261-76.
8. Spector SL. Overview of comorbid associations of allergic rhinitis. J Allergy Clin Immunol, 1997 ; 99(2) : S773-80.
9. Borish L, Allergic rhinitis: systemic inflammation and implications for management, J Allergy Clin Immunol, 2003 ; 112(6) : 1021-31.
10. 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.
11. Kim YJ, Park SJ, Kim TJ. Anti-Allergic Effects of Nodakenin in IgE/Ag-Induced Type I Hypersensitivity. Journal of Science 2011 ; 21(12) : 1721-5.
12. Jung JK, Jung HM, Seo WG, Park YK. Anti-allergic effect of Osterici Radix water extract in human mast cells. Kor J Herbology, 2010 ; 25(3) : 35-41.
13. Kang SY, Hong SU, Park YK. Effects of KOB, a polyherbal medicine for allergic rhinitis and its main herb, Astragali Radix on allergic responses in OVA-induced Allergic rhinitis mice. Kor J Herbology, 2012 ; 27(4) : 1-7.
14. The whole country a college of Oriental medicine The joint textbook publish commission compilation. Herbology. seoul : younglimsa, 2007 : 163-4.
15. Lee DY, Choi GY, Yoon TS, Cheon MS, Kim SJ, Yasukawa K, Yu SY, Kim HK. Synergistic Effect of Notopterygium incisum and Saposhnikovia divaricata in the Anti-inflammatory Activity. Kor J Herbology, 2008 ; 23(4) : 39-44.
16. Jo HC, Oh EY, Jee SY, Seo BI. The Antimicrobial Activity of Cheongsangbangpungtang and its

- composition oriental medicines against Staphylococcus aureus, Kor J Herbology, 2003 ; 18(2) : 37-47.
17. Lee JC, Effects of Gamibangpungdongseungsan on Lipid composition and antioxidant in rat fed high fat, Kor J Herbology, 2005 ; 20(2) : 69-75.
 18. Lee JE, Study on anti-allergic effect and safety of Bangpung-galgen-tang, Dongeui University, 2007
 19. Park YJ, Allergy drug developments, KISTI, seoul : KISTI, 2006 : 1-5.
 20. Kim KJ, Treatment for allergic rhinitis reported of gyejitanggamibang, J Ori Med Surgery, Ophthalmology and Otolaryngology, 1989 ; 10(1) : 99-106.
 21. Jeon SY, Controversies in Management of Allergic Rhinitis: Immunotherapy vs. Medical Therapy, J Clinical Otolaryngol, 2000 ; 11(1) : 23-6.
 22. Ahn KM, Role of mast cell in allergic inflammation and innate immunity, Kor J Pediatrics, 2004 ; 47(11) : 1137-41.
 23. Brown JM, Wilson TM, Metcalfe DD. The mast cell and allergic disease : role in pathogenesis and implications for therapy. Clin Exp Allergy, 2008 ; 38(1) : 4-18.
 24. Jung HY, Molecular biology of cytokines, worldscience publishing company, 2002 : 117-24.
 25. Xu G, Mou Z, Jiang H, Cheng L, Shi J, Xu R, Oh Y, Li H. A possible role of CD4+CD25+ T cells as well as transcription factor Foxp3 in the dysregulation of allergic rhinitis, Laryngoscope, 2007 ; 117(5) : 876-80.
 26. Rosenwasser LJ, O'Brien T, Weyne J. Mast cell stabilization and anti-histamine effects of olopatadine ophthalmic solution: a review of pre-clinical and clinical research, Surr Med Res Opin, 2005 ; 21(9) : 1377-87.