

양파껍질 열수추출물의 *in vitro* 및 *in vivo* 항염증 효과

강보경¹, 김꽃봉우리², 안나경¹, 최연욱¹, 김민지², 박시우¹, 박원민¹, 김보람¹, 박지혜¹, 배난영¹, 안동현^{1*}

Anti-inflammatory Effect of Onion (*Allium cepa*) Peel Hot Water Extract *in vitro* and *in vivo*

Bo-Kyeong Kang¹, Koth-Bong-Woo-Ri Kim², Na-Kyung Ahn¹, Yeon-Uk Choi¹, Min-ji Kim², Si-Woo Bark¹, Won-Min Pak¹, Bo-Ram Kim¹, Ji-Hye Park¹, Nan-Young Bae¹, and Dong-Hyun Ahn^{1*}

Received: 24 November 2014 / Revised: 30 March 2015 / Accepted: 2 April 2015

© 2015 The Korean Society for Biotechnology and Bioengineering

Abstract: Onion (*Allium cepa*) is one of the flavonoids-rich materials in human diet and onion peel, which is the onion by-products, contains over 20 times more quercetin than the flesh. In this study, to examine the anti-inflammatory effects of onion peel hot water extract (OPHWE), the cell viability, nitric oxide (NO), pro-inflammatory cytokines, such as interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor- α (TNF- α), and IL-1 β , were measured using the murine macrophage cell line RAW 264.7 cells. The Balb/c mice were used for an *in vivo* acute toxicity test and ICR mice were used for measurement of inhibition effects of croton oil-induced mouse ear edema. As a result, NO levels decreased in a dose-dependent manner. The production of IL-6, TNF- α , and IL-1 β was suppressed by 38%, 41%, and 34% respectively, compared with that of the LPS only group, without any cytotoxicity. The edema formation in the ICR mouse ear was also reduced compared to that in control. Moreover, there were no mortalities occurred in mice administered 5,000 mg/kg body weight of OPHWE. These results suggest that OPHWE has considerable anti-inflammatory activities and

can be regarded as a potent candidate material to treat inflammatory diseases.

Keywords: Onion peel hot water extract, Anti-inflammatory effect, Cytokine, Mouse ear edema

1. INTRODUCTION

염증 반응이란 외부로부터의 침입이나 조직 손상 시 생체를 방어하기 위해 일어나는 필수적인 방어기전으로, 작용 및 발생 기간에 따라 급성염증 반응과 만성염증 반응으로 나눌 수 있다 [1]. 급성염증 반응은 항원에 의해 대식세포 (macrophage)가 활성화됨에 따라 cytokine, nitric oxide (NO)를 비롯한 여러 염증 매개인자가 분비되어 이물질을 제거한 후 조직 재생의 과정을 통해 종료되는 것으로 [2], 증상으로는 발열, 종창, 동통 등이 알려져 있다 [3]. 이러한 염증 반응에서 대식세포는 숙주의 방어와 항상성 유지에 관여하는 세포로, 그람 음성균의 세포벽 성분인 lipopolysaccharide (LPS)에 의해 활성화되어 여러 염증성 매개 인자를 발현한다 [4]. 대식세포는 염증 반응 시 표면의 수용체인 toll like-receptor 4 (TLR4)를 통해 자극을 수용하고, 전사인자인 nuclear factor-kappa B (NF- κ B) 및 mitogen activated protein kinase (MAPK)의 활성화를 거쳐 염증성 cytokine인 interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor- α (TNF- α) 및 IL-1 β 의 생산을 증가시키며, 염증성 효소인 inducible nitric oxide synthase (iNOS) 및 cyclooxygenase-2 (COX-2)를 발현시켜 박테리아를 죽이거나, 종양을 제거하는 역할을 하여 생체 방어 기능을 한다 [5-9]. 그러나

¹부경대학교 식품공학과/식품연구소

¹Department of Food Science & Technology/Institute of Food Science, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea
Tel: +82-51-629-5831, Fax: +82-51-629-5824
e-mail: dhahn@pknu.ac.kr

²부경대학교 수산과학연구소

²Institute of Fisheries Sciences, Pukyong National University, Busan 619-911, Korea

이러한 cytokine 및 NO가 병리적으로 과도하게 생성될 시 유전자 변이나 조직 및 신경 손상을 유발하여 숙주에 치명적인 결과를 초래할 수 있는 것으로 보고되고 있다 [10]. 최근 환경오염이나 스트레스의 증가와 같은 외부적 요인에 의해 염증 매개인자가 과도하게 발생됨으로써 급성 패혈성 쇼크를 비롯한 만성 염증 및 면역과민반응으로 발전하여 류마티스 관절염, 암, 염증성 장 질환과 같은 여러 질병의 발병률이 증가 추세에 있다 [1,11]. 따라서 염증 반응의 조절은 생체 유지에 매우 중요한 것으로 여겨지고 있으며, 염증 반응으로부터 생성되는 NO, cytokine과 같은 매개물질의 생성 억제효과를 통해 항염증 효과를 확인할 수 있다 [12].

양파 (*Allium cepa*)는 백합과에 속하는 2년생 초본으로, 전세계적으로 식품의 향신 조미료 외에 약재로도 널리 애용되어, 예로부터 해열, 구충, 해독 및 중양 치료에 사용되어 왔다 [13]. 양파의 다양한 생리 활성을 나타내는 주요 성분인 flavonoid계 성분에는 quercetin, quercitrin, rutin 등이 있는데, 특히 국내에서 재배되는 yellow onion은 quercetin의 함량이 매우 높은 것으로 알려져 있다 [14]. 양파의 quercetin은 유방암 억제, LDL 산화 억제 등의 생리활성을 가지는 것으로 알려져 있으며, 이러한 quercetin은 양파의 중심부 보다는 껍질 부분으로 갈수록 함량이 높아져, 양파 과육 및 양파즙에는 0.01%의 함량을 보이는 반면, 양파 껍질에서는 6.5%을 차지하는 것으로 보고된 바 있으며, 또한 껍질 부위에는 식이섬유도 가식부인 과육 (0.4~0.5%)에 비해 약 25~32%로 매우 높은 함량을 가지는 것으로 나타났다 [15].

양파는 국내 생산량의 약 10%가 가공품으로 이용되고 있으며, 최근 단체급식의 위생화 및 소비자의 신선식품 선호 등의 추세로 인해, 껍질과 뿌리를 제거한 1차 가공품의 상태로 유통되는 경우가 증가하고 있어 가공 시 발생하는 껍질과 뿌리가 증가하고 있으나 이는 사료로 이용되거나 폐기되고 있는 실정이다 [16]. 따라서 양파 가공부산물인 양파껍질의 생리활성 기능을 탐색하여 새로운 기능성 식품 소재로서의 활용이 가능해질 것으로 사료되며, 이는 폐자원을 이용한다는 면에서 의미가 있다. 한편 현재까지 진행된 연구로는 양파 과육 및 양파즙에 대한 연구가 대부분이었으며, 껍질에 대한 생리활성 연구로는 항산화 [17], xanthine oxidase 저해활성 [18], 혈행개선 [19] 등에 대한 연구만이 이루어져 있어, 양파 껍질이 가지는 항염증 효과에 대한 연구는 전무한 실정이다. 본 연구에서는 유기용매 추출이 아닌 열수추출법을 이용하여 양파껍질의 추출물을 제조하였는데, 이는 추출시에 제거되는 잔류용매의 독성 문제를 벗어나고, 아울러 향후 기능성 차 또는 건강기능성 식품소재로 개발 시 경제적인 이점이 있을 것으로 사료되기 때문이다 [20].

따라서 본 연구에서는 양파 부산물의 유효 활용을 위한 일련의 연구로써, 양파껍질 열수추출 (OPHWE)의 항염증 효과를 탐색하고 그 이용 가능성을 제시하기 위하여 활성화된 대식세포주 RAW 264.7 cell을 이용한 *in vitro* type 실험 및 마우스를 이용한 *in vivo* type의 실험을 진행하였다.

2. MATERIALS AND METHOD

2.1. 재료 및 추출

본 실험에 사용한 양파 (*Allium cepa*)의 껍질은 경상북도 영천 농가에서 구입하였으며, 껍질을 분리하여 담수로 깨끗이 수세하고 동결건조 및 분말화 후, 진공 포장하여 -20°C에서 저장하며 사용하였다. 건조된 양파껍질 분말에 10배의 증류수를 가하고 100°C에서 증탕하여 2시간 동안 열수 추출하였다. 추출액은 여과한 후 37°C에서 감압농축기 (RE200, Yamoto Co., Tokyo, Japan)로 농축하였으며, 농축하여 건조된 시료는 -20°C에서 보관하며 실험에 이용하였다. 양파껍질 열수추출의 수율은 약 19.7%이었다.

2.2. 실험 동물

생후 8주령의 수컷 ICR 마우스를 오리엔트바이오 (Orient Co., Seongnam, Korea)로부터 구입하여 귀부종 및 조직 관찰 실험에 사용하였으며, 생후 10주령의 암컷 Balb/c 마우스를 단기 독성 평가 실험에 이용하였다. 마우스는 온도 20±2°C, 습도 50±10%, 12시간 명암주기가 유지되는 동물사육실에서 1주일간 예비 사육한 후 실험에 사용하였다. 동물실험은 부경대학교 동물실험 윤리위원회의 승인을 받아 시행되었으며, 부경대학교 동물실험 윤리지침을 준수하였다.

2.3. 세포배양

마우스 대식세포주인 RAW 264.7 세포는 한국세포주은행 (KCLB 40071, Seoul, Korea)에서 분양 받아 사용하였으며, DMEM (GIBCO, Grand Island, NY, USA)에 10% inactivated fetal bovine serum (FBS) (GE healthcare, Waukesha, WI, USA)와 1% penicillin-streptomycin을 첨가한 배지를 배양액으로 37°C, 5% CO₂ 조건에서 배양하였다.

2.4. 세포 생존율 측정

Park 등 [21]의 방법을 변형하여 시료의 세포 생존도를 MTT assay를 통해 살펴보았다. RAW 264.7 세포를 1×10⁶ cells/mL의 농도로 96-well plate에 분주하고, 20시간 동안 전 배양 후 추출물을 농도별(0.1, 1, 10, 50, 100 µg/mL)로 첨가하여 37°C, 5% CO₂ incubator (MCO-15AC, Sanyo, Osaka, Japan)에서 22시간 배양하였다. 배양 후, 5 mg/mL 농도의 MTT 시약을 첨가하여 2시간 재 배양하고 이를 4°C, 2,000 rpm에서 10분간 원심분리 (UNION 32R, Hanil Co., Incheon, Korea)하여 상층액을 제거하였다. 그 후, 각 well에 DMSO를 첨가하고 이를 microplate reader (Model 550, Bio-rad, Richmond, CA, USA)를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 세포 생존율을 다음 식에 의해 계산하였다.

$$\text{Cell viability (\%)} = \frac{\text{sample 흡광도}}{\text{control 흡광도}} \times 100$$

2.5. Nitric Oxide 생성량 측정

세포로부터 생성된 NO의 양은 Griess 반응 [22]을 이용하여

배양액 중에 존재하는 NO₂의 형태로 측정하였다. RAW 264.7 세포를 2.5×10⁵ cells/mL의 농도로 24-well plate에 접종하고, 5% CO₂ incubator에서 20시간 전 배양하였다. 세포에 1 µg/mL의 LPS와 추출물을 농도별 (0.1, 1, 10, 50, 100 µg/mL)로 처리하여 24시간 재 배양하였다. 배양액의 상층액을 얻은 후, 상층액과 griess 시약 (1% sulfanilamide+0.1% naphthylendiamine dihydrochloride, 1:1)을 1:1의 비율로 실온에서 10분간 반응시키고, microplate reader를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 세포 배양액 내 NO의 농도는 sodium nitrite (NaNO₂)의 농도별 표준곡선과 비교하여 산출하였다.

2.6. Pro-inflammatory cytokine 분비량 측정

Pro-inflammatory cytokine 분비 억제 효능을 알아보기 위하여, RAW 264.7 세포를 2.5×10⁵ cells/mL로 24-well plate에 접종하고 18시간 동안 전 배양하였다. 세포에 1 µg/mL의 LPS와 추출물을 처리하여 12시간 재 배양하였다. 배양액 내의 IL-6, TNF-α 및 IL-1β cytokine의 분비량을 ELISA kit (Mouse ELISA set, BD Bioscience, San Diego, USA)를 이용하여 측정하였다. 이를 위해 ELISA microplate에 capture antibody로 anti-mouse IL-6, TNF-α 및 IL-1β를 분주하여 4°C에서 하룻밤 동안 coating하였으며, 이를 0.05% Tween 20을 포함하는 PBST (phosphate buffered saline tween-20)으로 세척하고 10%의 FBS가 포함된 phosphate buffered saline (PBS) 용액으로 blocking 하였다. PBST로 세척 후, 각 배양 상층액을 분주하고 실온에서 2시간 반응시켰다. 다시 PBST로 세척한 후 biotinylated anti-mouse IL-6, TNF-α detection antibody와 streptavidin-horseradish peroxidase conjugate를 첨가하여 실온에서 1시간 반응시켰다. IL-1β의 경우, biotinylated anti-mouse IL-1β detection antibody를 첨가하고 1시간 반응 후, streptavidin-horseradish peroxidase conjugate를 첨가하여 30분 반응시켰다. 그 후, 이를 다시 PBST로 세척한 다음, OPD (σ-phenylenediamine) 용액을 첨가하여 실온에서 30분 암반응시켰다. 2 N H₂SO₄로 반응을 종료시킨 후 microplate reader를 이용하여 490 nm에서 흡광도를 측정하였다.

2.7. 귀 부종 측정 및 조직 관찰

In vivo 모델을 이용하여 시료의 항염증 효과를 검증하기 위하여 귀 부종 억제율을 측정하고 조직 관찰을 진행하였다. 각 군당 5마리의 ICR 마우스에 추출물을 10, 50 및 250 mg/kg body weight으로, prednisolone을 10, 50 mg/kg body weight으로 200 µL씩 경구투여하고, 1시간 후, 오른쪽 귀에 2.5% croton oil을 20 µL/ear 농도로 도포하였다. Croton oil을 처리하고 5시간 후에 귀 두께를 측정하였으며, croton oil을 처리한 후 두께의 증가를 부종의 형성으로 간주하였다. 조직 관찰은 각 군당 2마리의 ICR 마우스 오른쪽 귀에, 시료 처리구의 경우 추출물을 100 mg/mL 농도로, prednisolone 처리구의 경우 prednisolone을 0.08 mg/ear가 되도록 20 µL씩 도포하였고, 15분 뒤, 5% croton oil을 20 µL씩 도포하였다. 6시간 뒤, diethylether로 마취사 시키고, 귀 조직을 절제하여 10% formal-

dehyde에 72시간 고정하였다. 고정 후 파라핀 블록을 만들어 박편을 제조하고 hematoxylin-eosin (H&E) 및 toluidine-blue (TB) 염색을 하여 조직을 관찰하였다.

2.8. 단기 독성 평가

본 연구에서 OPHWE의 안전성 평가의 일환으로, 식품의약품안전처 고시 제 2014-136호 (2014년 7월 30일 개정) 의약품등의 독성시험기준 [23]에 의거하여 OPHWE의 단기 투여에 의한 급성경구독성 평가를 진행하였다. 각 군당 5마리의 Balb/c 마우스를 실험 시작 전 4-6시간 정도 절식시킨 후에 추출물을 300, 2,000 및 5,000 mg/kg body weight 농도로 경구 투여 하였으며, 이후 6시간 동안 비정상적인 행동 등의 경과를 관찰하였고 2주까지 사망 여부를 지속적으로 관찰하였다.

2.9. 통계처리

모든 실험 결과에 대한 유의차 검정은 SAS software (SAS Institute, Inc., Cary, NC, USA)에서 평균값을 분산분석 한 후, Duncan's multiple range test 법에 따라 $p < 0.05$ 수준에서 검정하였다.

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1. 양파껍질 열수추출물의 세포 생존율

MTT assay를 통하여 OPHWE의 처리에 따른 RAW 264.7 cell의 세포 생존율을 측정하였다. 그 결과 (Fig. 1), OPHWE의 처리 농도 의존적으로 세포증식능이 증가하여 세포독성을 가지지 않는 것을 확인하였다. 특히 100 µg/mL의 농도로 처리 시, 무처리구에 비해 약 1.4배의 증식률을 보임을 확인하였다. Yoon 등 [24]의 황금 추출물 및 Lee와 Lim [25]의 여정실의 항염증 연구에서, 추출물에 의해 세포 생존율이 증가하였으며, 이에 세포 독성을 가지지 않는다고 보고하였다. 따라

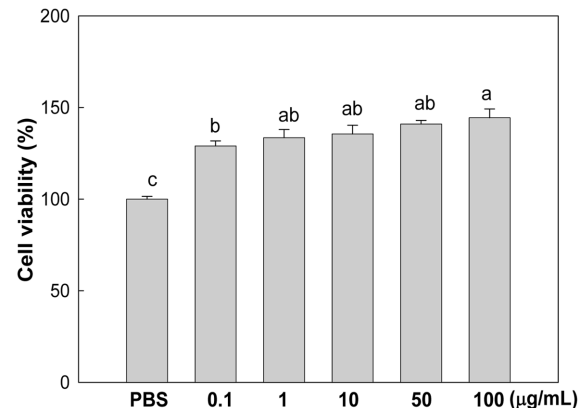


Fig. 1. Effect of onion peel hot water extract on cell viability of RAW 264.7 cells. ^{a-c}Means with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

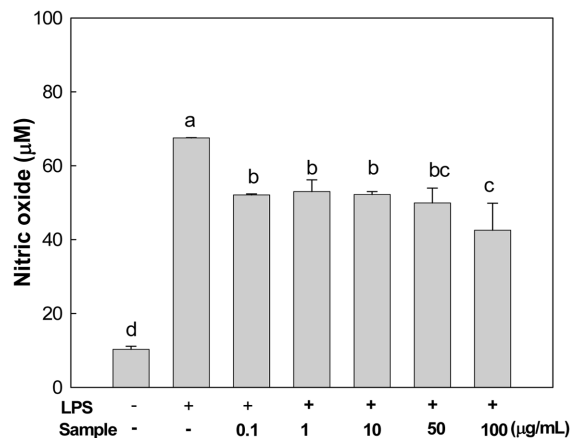


Fig. 2. Inhibitory effect of onion peel hot water extract on the production of nitric oxide in RAW 264.7 cells. ^{a-c}Means with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

서 OPHWE가 100 µg/mL의 농도까지 세포독성을 가지지 않음을 확인하여 본 연구에서 사용된 OPHWE의 최고 농도는 RAW 264.7 cell에 독성을 나타내지 않는 100 µg/mL로 사용하였다.

3.2. RAW 264.7 세포의 NO 분비량 측정

그람 음성세균의 내독소 (endotoxin)로 알려진 LPS를 대식세포에 처리하면, NO, 염증성 cytokine과 같은 물질들이 생성되어 염증 반응을 조절하는 병리학적 반응이 일어난다. 염증 반응에서 NO는 inducible nitric oxide synthase (iNOS)에 의해 생성되는 것으로, 정상 상태에서는 방어작용과 신경전달 및 혈관 조절의 기능을 하지만, 고농도의 NO 생성은 peroxynitrite, nitrogen dioxide와 같은 유해물질을 생성하여 염증 자극제로서 활성화된 대식세포에서 NF-κB의 DNA-binding 활성이 상향조절되거나 [26], DNA를 손상시키고 세포내 유해산화물질의 축적, DNA 손상으로 만성염증 및 자가면역질환을 초래한다 [7]. 또한 mitochondria로부터 cytochrome C, apoptosis inducing factor를 방출시켜 세포 자연사를 일으키기도 한다 [10]. 따라서 본 연구에서는 OPHWE의 항염증 효과를 검토하고자, RAW 264.7 cell에 염증 유발물질인 LPS와 함께 OPHWE를 다양한 농도로 첨가하여 NO의 생성 억제 효과를 관찰하였다. 그 결과 Fig. 2와 같이, OPHWE는 LPS에 의한 NO 생성을 유의수준으로 억제하였으나, 농도에 따른 유의적인 차이는 보이지 않았다 ($p < 0.05$). 또한, OPHWE를 100 µg/mL의 농도로 처리 시 약 37%의 억제 효과를 보여 IC₅₀ 값이 약 135.17 µg/mL로 나타났으며, 이는 민들레 열수 추출물의 NO에 대한 IC₅₀ 값이 157.6 µg/mL인 것에 비해 우수한 효과를 보였다 [27].

3.3. RAW 264.7 세포의 pro-inflammatory cytokine 분비량 측정

OPHWE의 항염증 효능을 분석하기 위해 RAW 264.7 cell에

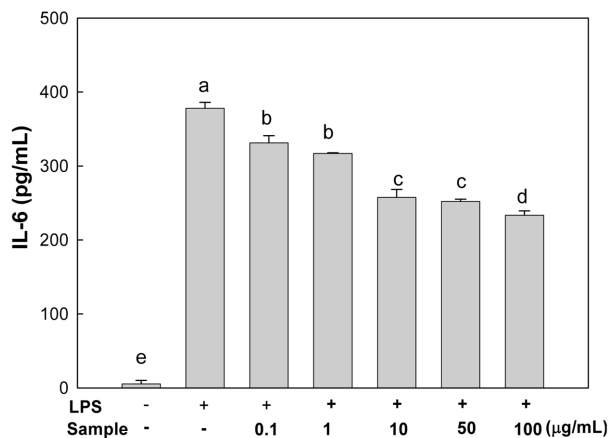


Fig. 3. Inhibitory effect of onion peel hot water extract on the production of IL-6 in RAW 264.7 cells. ^{a-c}Means with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

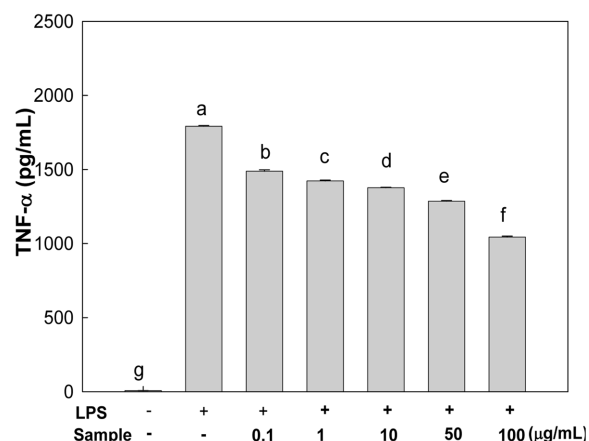


Fig. 4. Inhibitory effect of onion peel hot water extract on the production of TNF-α in RAW 264.7 cells. ^{a-g}Means with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

LPS로 염증을 유도한 후 시료를 농도별 (0.1~100 µg/mL)로 처리하여 염증성 cytokine의 분비량을 ELISA kit를 이용하여 측정하였다 (Fig. 3~5). 마우스 대식세포주인 RAW 264.7 cell에 LPS를 처리하면, 대식세포의 표면의 수용체인 toll-like receptor 4 (TLR4)가 이를 인식하고 활성화되어 염증 매개물질을 발현시키는데, 이때 발생하는 pro-inflammatory cytokine에는 IL-6, TNF-α 및 IL-1β가 있다 [6,8,9,12]. 본 연구 결과, OPHWE의 첨가에 따라 각 cytokine의 분비량이 농도 의존적인 감소를 보였으며, IL-6, TNF-α 및 IL-1β는 LPS 단독 처리한 대조군에서 각각 378.20±7.80, 1792.15±4.83, 67.30±8.67 pg/mL의 분비를 보였으나, OPHWE를 100 µg/mL의 농도로 처리하였을 때 233.50±5.85, 1043.82±6.76, 44.01±0.00 pg/mL의 분비를 보여, 대조군 대비 각각 38%, 41%, 34%의 억제 효과를 보였다 ($p < 0.05$). 이러한 cytokine들 중 먼저 IL-6는 B 세

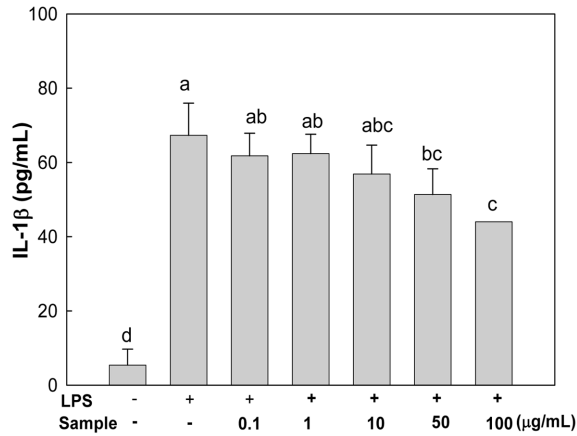


Fig. 5. Inhibitory effect of onion peel hot water extract on the production of IL-1 β in RAW 264.7 cells. ^{a-d}Means with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

포가 형질세포로 분화되는 단계에 작용하여 급성염증 반응과 만성염증 반응의 연결 고리로 작용하는 주요 전염증성 cytokine이다 [12]. 다음으로 TNF- α 는 활성화된 대식세포나 비만세포에서 분비되는 것으로, 대식세포의 TNF- α 수용체에 결합하여 염증 매개 전사인자인 NF- κ B를 활성화시켜 IL-6, TNF- α , iNOS 및 COX-2를 발현시키는 기작을 통해 염증 반응을 주도하며, 국소적 발열, 발열, 부종, 발적, 통증 등의 일반적 염증 반응의 증상을 유발하나, 전신적인 증가 시 모세혈관의 누출 및 혈전 발생 등을 통해 심각한 조직 손상을 유발하며, 패혈증, 염증성 장 질환과 같은 자가면역질환, 헬리코박터 위장염, 요로 감염 등을 유발하는 것으로 알려져 있다 [12,28]. 또한 IL-1 β 는 활성화된 단핵구, 대식세포, 수지상세포 및 B 세포에서 발현되는 것으로, 염증반응 초기에 나타나 발열을 비롯한 급성기 반응을 나타내고, 말초의 호중구 증가에 관여하는 내인성 발열 인자이다 [29]. 본 연구 결과 OPHWE가 이러한 세가지 cytokine 모두에 대하여 억제 효과를 가지고 있는 것을 확인하였다. 파, 마늘, 양파와 함께 *Allium*속의 일종인 삼채 (*Allium hookeri*)의 항염증 효과에 대한 보고 [10]에 따르면, 삼채 뿌리 추출물을 300 μ g/mL로 처리 시, IL-6에 대하여 약 30%의 감소효과를 보였으며, 이를 통해 OPHWE가 더욱 우수한 항염증 효과를 가짐을 확인하였다. 자연으로부터 얻어지는 식물성 flavonoid는 다양한 연구에서 그 생리활성 효과가 입증되어 왔으며, Perez-Vizcaino와 Duarte [29]의 연구에 따르면 28가지 채소와 9가지 과일 중 양파에 quercetin의 양이 가장 많은 것으로 밝혀졌다. 양파 껍질은 양파에 비하여 약 10~100배의 flavonoid를 함유하고 있으며, 주요 flavonoid는 quercetin으로, 주로 당과 결합한 quercetin glucoside 형태로 많이 존재하는데 quercetin-4-glucoside와 quercetin-2,4-diglucoside가 그 80%를 차지할 정도로 대표적인 형태이다 [29]. Lee 등 [30]은 양파껍질 열수 추출물의 혈중 지질 개선효과에 대한 연구에서 양파껍질 열수 추출물에 quercetin이 다량 함유되어 있는 것으로 보고하였으

며, Cho 등 [31]은 quercetin이 LPS로 유도한 RAW 264.7 cell의 염증 반응에서 NF- κ B 및 MAP kinase를 억제하여 항염 효과를 가진다고 보고하였다. 따라서 본 연구에서 나타난 OPHWE의 항염증 효과는 OPHWE에 다량 함유된 quercetin에 의한 효과로 사료된다.

3.4. 귀 부종 억제 효과 및 조직 관찰

위에서 살펴 본 OPHWE의 *in vitro* type 실험에서의 나타난 항염증 효과를 *in vivo* type으로 평가하기 위해 croton oil 유도 귀부종 실험을 진행하였다. 일반적으로 급성염증 질환 시 다양한 면역인자들의 활성화와 함께 혈관의 확장, 혈관투과성인자 및 호중성백혈구의 활성화, 비만세포의 조직 침윤 등이 나타나며, 그에 따라 혈류량의 증가와 함께 통증, 발열, 부종 등의 증상이 유발된다. 따라서 특정 약리물질의 항염 효과를 알아보기 위하여 인위적으로 급성 염증을 유도하여 염증 반응에 대한 시료의 효과를 측정하는 연구가 많이 이루어지고 있다 [32]. Croton oil에 의한 귀부종 실험은 급성염증에 대한 시료의 항염 효과를 살펴보기 위한 대표적인 실험 모델이며, 본 연구에서 positive control로 사용된 prednisolone은 croton oil 유도 염증 반응을 효과적으로 억제하는 것으로 알려진 corticosteroid 합성 항염증제이다 [33]. 본 연구에서는 OPHWE의 항염 효과를 살펴보기 위하여 OPHWE를 10, 50, 250 mg/kg body weight의 농도로 경구투여한 후 croton oil을 적용하여 급성부종을 일으켜, 국소적 염증세포의 침윤과 피부조직의 부종에 대한 OPHWE의 억제 효과를 prednisolone과 비교 관찰하고자 하였다. 그 결과 (Fig. 6), control구와 비교하여 OPHWE의 모든 처리 농도에서 유의적으로 귀 두께가 감소함을 확인하였으며, 특히 250 mg/kg body weight의 농도에서 positive control인 prednisolone 50 mg/kg body weight와 동일한 수준의 효과를 가짐을 확인하였다. 이는 조직관찰 결과에서도 나타났는데, OPHWE를 100 mg/mL 농도로 도포한 후 croton oil을 도포하였을 때, prednisolone 0.8 mg/ear 처리구와 유사한 정도로, 귀 조직의 경피 및 진피 두

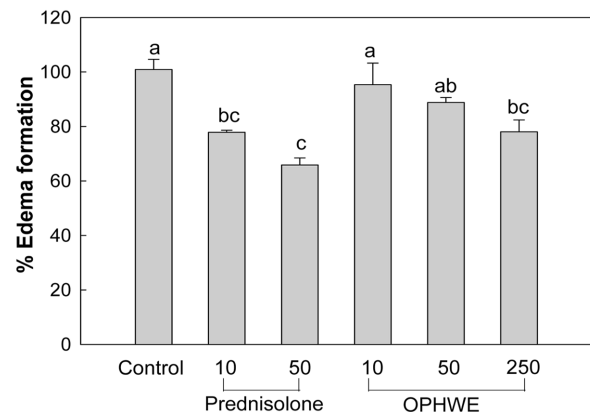


Fig. 6. Inhibition of onion peel hot water extract against croton oil-induced mouse ear edema ($n=5$). ^{a-c}Means with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

REFERENCES

1. Ferero-Miliani, L., O. H. Nielsen, P. S. Andersen, and S. E. Girardin (2007) Chronic inflammation: importance of NOD2 and NALP3 in interleukin-1beta generation. *Clin. Exp. Immunol.* 147: 227-235.
2. Medzhitov, R (2008) Origin and physiological roles of inflammation. *Nature* 454: 428-435.
3. Davies, P., P. J. Bailey, M. M. Goldenberg, and A. W. Ford-Hutchinson (1984) The role of arachidonic acid oxygenation products in pain and inflammation. *Annu. Rev. Immunol.* 2: 335-357.
4. Pestka, J. and H. R. Zhou. (2006) Toll-like receptor priming sensitizes macrophages to proinflammatory cytokine gene induction by deoxynivalenol and other toxicants. *Toxicol. Sci.* 92: 445-455.
5. Baldwin, A. S. Jr. (1996) The NF-kappa B and I kappa B proteins: new discoveries and insights. *Annu. Rev. Immunol.* 14: 649-683.
6. Giuliani, C., G. Napolitano, I. Bucci, V. Montani, and F. Monaco (2001) NF-kB transcription factor: role in the pathogenesis of inflammatory, autoimmune, and neoplastic diseases and therapy implications. *Clin. Ter.* 152: 249-253.
7. Ding, X., Y. Hiraku, N. Ma, T. Kato, K. Saito, M. Nagahama, R. Semba, K. Kuribayashi, and S. Kawanishi (2005) Inducible nitric oxide synthase-dependent DNA damage in mouse model of inflammatory bowel disease. *Cancer Sci.* 96: 157-163.
8. Majdalawieh, A and H. S. Ro (2010) Regulation of IκBα function and NF-κB signaling: AEBP1 is a novel proinflammatory mediator in macrophages. *Mediators Inflamm.* 2010: 1-27.
9. Tak, P. P and G. S. Firestein (2001) NF-κB: A key role in inflammatory diseases. *J. Clin. Invest.* 107: 7-11.
10. Hippeli, S and E. F. Elastner (1999) Inhibition of biochemical model reactions for inflammatory processes by plant extracts; a review on recent developments. *Free Radic. Res.* 31: 81-87.
11. Iwalewa, E. O., L. J. McGaw, V. Naidoo, and J. N. Eloff (2007) Inflammation: the foundation of diseases and disorders. A review of phytochemicals of south African origin used to treat pain and inflammatory conditions. *Afr. J. Biotechnol.* 6: 2868-2885.
12. Yoon, Y. I., M. Y. Chung, J. S. Hwang, T. W. Goo, M. Y. Ahn, Y. B. Lee, M. S. Han, and E. Y. Yun (2014) Anti-inflammatory effect of *Oxya chinensis sinuosa* ethanol extract in LPS-induced RAW 264.7 cells. *J. Life Sci.* 24: 370-376.
13. Sheo, H. J. and D. L. Jung (1993) Effects of onion juice on toxicity of lead in rat. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 22: 138-143.
14. Lakhonpal, P. and D. K. Rai (2007) Quercetin: a versatile flavonoid. *I. J. M. U.* 2: 22-37.
15. Bang, H. A. and J. S. Cho (1998) Antioxidant effects on various solvent extracts from onion peel and onion flesh. *J. Korean Diet. Assoc.* 4: 14-19.
16. Jeon, S. Y., J. H. Baek, Jeong, E. J. and Y. J. Cha (2012) Potential of onion peel extract as a functional ingredient for functional foods. *J. Life Sci.* 22: 1207-1213.
17. Son, J. Y., H. S. Son, and W. D. Cho (1998) Antioxidant effect of onion skin extract. *Korean J. Food Cookery Sci.* 14: 16-20.
18. Ra, K. S., S. H. Chung, H. J. Suh, J. Y. Son, and H. K. Lee (1998) Inhibitor of xanthine oxidase from onion skin. *Korean J. Food Sci. Technol.* 30: 697-701.
19. Lee, H. J., K. H. Lee, Y. J. Cha, E. Park, and M. J. Shin (2010) Effects of onion peel extracts on blood circulation in male smokers. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 39: 1790-1799.
20. Eloff, J. N. (1998) Which extractant should be used for the screening and isolation of antimicrobial components from plants? *J. Ethnopharmacol.* 60: 1-8.
21. Park, Y. M., J. H. Won, K. J. Yun, J. H. Ryu, Y. N. Han, S. K. Choi, and K. T. Lee (2006) Preventive effect of *Ginkgo biloba* extract (GBB) on the lipopolysaccharide-induced expressions of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 via suppression nuclear factor-κB in RAW 264.7 cells. *Biol. Pharm. Bull.* 29: 985-990.
22. Lee, S. T., Y. R. Jeong, M. H. Ha, S. H. Kim, and M. W. Byun (2000) Induction of nitric oxide and TNF-α by herbal plant extract in mouse macrophage. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 29: 342-348.
23. Ministry of Food and Drug Safety. <http://www.mfds.go.kr/index.do?x=15&searchkey=title:contents&mid=1161&searchword=μ¹⁰/₂&y=1&pageNo=1&seq=6218&cmd=v> (2012).
24. Yoon, S. B., H. S. Han, and Y. J. Lee (2011) Effect of *Scutellariae radix* extract on the proinflammatory mediators in RAW 264.7 cells induced by LPS. *Korean J. Herbol.* 26: 75-81.
25. Lee, Y. H. and E. M. Lim (2013) Anti-inflammatory effect of *Ligustrum lucidum fructus* water extract in RAW 264.7 cells by LPS. *J. Korean Obstet. Gynecol.* 26: 66-81.
26. Ippouchi, K., H. Itou, K. Azuma, and H. Higashio (2002) Effect of naturally occurring organosulfur compounds on nitric oxide production in lipopolysaccharide-activated macrophages. *Life Sci.* 71: 411-419.
27. Park, C. M., J. Y. Park, K. H. Noh, J. H. Shin, and Y. S. Song (2011) *Taraxacum officinale* Weber extracts inhibit LPS-induced oxidative stress and nitric oxide production via the NF-κB modulation in RAW 264.7 cells. *J. Ethnopharmacol.* 133: 834-842.
28. Lee, A. K., S. H. Sung, Y. C. Kim, and S. G. Kim (2003) Inhibition of lipopolysaccharide-inducible nitric oxide synthase, TNF-α and COX-2 expression by sauchinone effects on I-κBα phosphorylation, C/EBP and AP-1 activation. *Br. J. Pharmacol.* 139: 11-20.
29. Perez-Vizcaino, F. and J. Duarte (2010) Flavonols and cardiovascular disease. *Mol. Aspects Med.* 31:478-494.
30. Lee, H. A., S. J. Han, S. H. Hong, and O. J. Kim (2014) Effects of onion peel water extract on the blood lipid profiles in mice fed a high-fat diet. *Korean J. Med. Crop. Sci.* 22: 203-209.
31. Cho, S. Y., S. J. Park, M. J. Kwon, T. S. Jeong, S. H. Bok, W. Y. Choi, W. I. Jeong, S. Y. Ryu, S. H. Do, C. S. Lee, J. C. Song, and K. S. Jeong (2003) Quercetin suppresses proinflammatory cytokines production through MAP kinases and NF-κB pathway in lipopolysaccharide-stimulated macrophage. *Mol. Cell Biochem.* 243: 153-160.
32. Anandakumar, S., J. A. Joseph, B. Bethapudi, A. Agarwal, and E. B. Jeong (2014) Anti-inflammatory effects of turmeric (*Curcuma longa* L.) extract on acute and chronic inflammation models. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 43: 612-617.
33. Towbin, H., W. Pignat, and I. Wiesenberg (1995) Time-dependent cytokine production in the croton oil-induced mouse ear oedema and inhibition by prednisolone. *Inflamm. Res.* 44: 160-161.
34. Kim, J. H., Y. J. Park, N. S. Jo, D. K. Kim, S. H. Kim, and T. Y. Shin (2014) Acute oral toxicity of the bark of *Diospyros kaki* in mice. *Korean J. Pharmacogn.* 45: 181-185.
35. Organization for economic cooperation and development (OECD) (2001) OECD guideline for the testing of chemicals revised draft guideline 420.