

# 사향추출물이 생쥐 대식세포의 염증 유발 사이토카인 유전자 발현에 미치는 영향

林錫麟\*

## Abstract

### Effects of *Moschus moschiferus* Extracts on the Inflammatory Cytokines Gene Expression of Murine Macrophages

Lim Seok-lin

Daejeon University Hyehwa Hospital

To investigate the capacity of anti-inflammatory cytokines and biological response modifiers (BRMs) to induce IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  gene overexpression from mouse macrophages, we isolated the resident peritoneal macrophages from BALB/c mouse (8 week old) and incubated for 6 h with lipopolysaccharide (LPS) and *Moschus moschiferus* (MOMS) extracts. Analysis of inflammatory cytokines gene expression was carried out by RT-PCR amplification. Amplified PCR products were electrophoresed on 1.2% agarose gel, and the analysis (Ht) was used to 1D-density program.

1. LPS and MOMS extract treatments resulted in a significant decrease in IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  mRNA expression level compared with the LPS treatment.
2. Among four sample of MOMS, Inhibitory effects of MOMS-A and MOMS-D for inflammatory cytokines gene expression were to be fine compared with the MOMS-B and MOMS-C.

According to the above data, Because the anti- tumoral and anti-inflammatory response activities of macrophage are known to be dependent on the production of inflammatory cytokines (IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ ) by macrophages, we suggest that evaluations of BRM for the reduction of inflammatory cytokines production by macrophages are important for clinical application.

## I. 緒 論

麝香은 사슴(鹿)과 Cervidae에 속하는 脊椎動物

인 사향노루(原麝) *Moschus moschiferus*, 林麝 *Moschus berezovskii* Fleov, 馬麝 *Moschus sifanicus*의 成熟한 雄獸下腹의 麝囊에서 分泌物을 건조한 것이다<sup>1-6)</sup>. <神農本草經>에서 “麝香”이라는 이름으로 처음 기재되어 있으며<sup>7-10)</sup> <雷公炮炙論>에는 「當門子」 「臍香」으로 <本草綱目>에

\* 大田大學校 惠和病院 藥劑科

는 「麝香」이라는 別名이 있다<sup>11-14</sup>. <神農本草經><sup>15</sup>에 「主辟惡氣, 殺鬼精物, 溫瘧蟲毒, 癩疾, 去三蟲」라고 효능이 처음으로 기록된 이후 여러 본초서에서 언급되어 왔는데 주로 味는辛하고 性은溫하며 心, 脾經에 들어가 開竅醒神, 活血散結, 消腫止痛, 催產下胎 등의 功能이 있다. 麝香의 성분은 muscon, normuscon, muscopyridane, sterol, 5-β-adresterone, 精油 등을 함유하고 그 중에서도 강하고 특이한 향기가 있는 muscon이 主成分이다.<sup>16-22</sup> 藥理的 作用으로는 各腺體의 分泌를 왕성하게 하여 發汗과 利尿를 촉진하고 中樞神經系를 흥분시키는 작용이 있는데, 특히 呼吸中樞와 心臟의 中樞神經을 흥분시켜 呼吸과 心臟의 動悸를 亢進시키므로 昏迷한 患者를 소생시키는 것들 돕는 작용이 있으며, 염증의 초기에서 중기에 걸쳐 抗炎症, 抗菌作用이 있으며, 혈액순환계통에 대한 작용, 子宮興奮作用, 항암작용 등이 있는 것으로 알려져 있다<sup>23-28</sup>. 그리하여 현대 臨床에서 각종 熱病神昏, 中風神昏, 精神不安, 心腹暴痛, 月經困難, 月經痛, 死胎不下 등의 병증에 多用되고 있다<sup>29,30</sup>. 이와 같이 麝香은 역대의 文獻을 통해 볼 때 임상에 널리 응용되어 왔으며 현대에까지 다방면에서 연구가 계속되고 있다. 지난 수년간 염증질환의 원인과 발생기작을 밝히기 위한 일련의 연구들이 주요 염증질환 유발인자인 interleukin-1β (IL-1β), tumor necrosis factor-α (TNF-α), interleukin-6 (IL-6), interleukin-18 (IL-18)등에 초점이 맞추어졌고, 그 결과 염증반응의 발생에 있어 중요한 분자생물학적 기전과 억제제들이 밝혀지게 되었다<sup>34</sup>. 이러한 염증반응 사이토카인들의 과잉생산은 자가 면역질환인 류마티드 관절염 (rheumatoid arthritis), 다발성 골수종 (multiple myeloma), 형질세포종 (plasmacytoma), 구체신염 (glomerulonephritis), 심장 점액종 (cardiac myxoma), renal cell carcinoma, Castleman 병, Kawasaki 질환, 뿐만아니라 퇴행성 뇌질환 (파킨슨병, 알츠하이머병, 다발성경화증 후천성 면역결핍증후성 치매)등의 질병과 염증반응 사이토카인은 밀접한 관계가 있으리라는 가설에 많은 관심이 집중되고 있다<sup>35</sup>.

최근의 임상질환 연구에서 염증유발 사이토카인의 과잉생산을 억제하는 생체활성 물질 (biological response modifier; BRM) 연구가 많이 보고되고 있어<sup>36</sup>, 본 연구에서는 생쥐의 복강대식세포를 priming시킬 수 물질로써 lipopolysaccharide (LPS)를 사용하여 염증유발 사이토카인의 과잉생산을 유도하였고, 사향추출물을 이용하여 생쥐의 복강대식세포에서 염증유발 사이토카인의 과잉생산을 억제하는 연구를 하여 흥미 있는 결과를 얻었기에 이를 보고하고자 한다.

## II. 實 驗

### 1. 약재 및 시약

#### 1) 약재

본 실험에 사용한 4종류의 사향은 대전대학교 부속 한방병원에서 사용되는 것을 정선하여 사용하였다.

Table I. List of Korean traditional medicine used in this study

韓 藥 名	藥 學 名	略 語
		MOMS-A
사향	<i>Moschus moschiferus</i> (MOMS)	MOMS-B MOMS-C MOMS-D

#### 2) 시약 및 기기

Diethyl pyrocarbonate (DEPC), dimethyl sulfoxide (DMSO), chloroform, RPMI-1640 배양액, isopropanol, ethidium bromide (EtBr), dulbecco's phosphate buffered saline (D-PBS), lipopolysaccharide (LPS), magnesium chloride (MgCl<sub>2</sub>)은 Sigma사(USA) 제품을 사용하였으며, Taq polymerase와 deoxy-nucleotide triphosphate (dNTP)는 TaKaRa사 (Japan) 제품을, 역전사효소 (moleoy Murine Leukemia Virus Reverse Transcriptase; M-MLV RT)와 RNase inhibitor는 Promega사(Madison, USA) 제품을, RNAzol<sup>B</sup>는 Tel-Test사 (USA) 제품을, 우태

아혈청 (fetal bovine serum, FBS, Logan, USA) 은 Hyclone사 (Logan, USA 제품, 그리고 agarose (FMC, USA)등을 사용하였고, 기타 일반 시약은 특급 시약을 사용하였다.

본 연구에 사용된 기기는 bright microscope (Nikon, Japan), inverted microscope(Nikon, Japen), spectrophotometer(shimadzu, Japan), CO<sub>2</sub> incubator (napco, Germay), imager II photo-system (Bioneer, Korea), 원심분리기 (centrikon, sigma), bio-freezer (Sanyo, Japan), Primus 96 thermocycler system (MWG Biotech., Germany), ice-maker (vision과 학) 등의 것을 사용하였다.

## 2. 동물

실험동물은 한국화학연구소에서 구입한 BALB/c 8주령 숫컷 생쥐를 분양 받아 실험에 앞서 2주간 실험실 환경에 적응시킨 후 사용하였다. 동물사육실의 조건은 conventional system으로 22±2℃, 1일중 12시간은 200-300 Lux로 조명하고 12시간은 모든 빛을 차단하였다. 사료는 고품사료(조단백질 22.1%, 조지방 8.0%, 조섬유 5.0%, 조회분 8.0%, 칼슘 0.6%, 인 0.4%, 삼양사, 항생제 무첨가)와 물을 충분히 공급하였다.

## 3. 방법

### 1) 사향추출물의 준비

4종류의 사향을 각각 조말한 후 DMSO에서 1시간 이상 녹인 후 우태아혈청 결핍 RPMI1640 배양액에 희석하였다. 이렇게 얻어진 사향추출물을 실험에 사용하기 전 0.45 µm filter (Millipore, USA)로 멸균하였다.

### 2) 복강 대식세포의 분리 및 배양

생후 8주된 BALB/c 생쥐의 복강에 ice-cold D-PBS 10 ml로 씻어낸 다음 세포를 모은 후 우태아혈청 결핍 RPMI1640 배양액에서 2시간 배양하였다. 배양용기에 부착되지 않은 세포들은 D-PBS로 제거하고 부착된 세포들은 24 well plate에 1×10<sup>6</sup> cell/well로 분주한 후 penicillin (50 U/ml)과 streptomycin (250ng/ml)이 포함된 우태아혈청

결핍 RPMI1640 배양액에서 배양하였다.

### 3) 사향추출물 처리

#### ① 생쥐 복강대식세포 자극 및 처리

배양된 생쥐 대식세포에 사향추출물 (200 µg/ml, 100 µg/ml, 10 µg/ml, 1 µg/ml)등을 처리였고, 약물처리 1시간 후 LPS (10 µg/ml)를 동시 배양하여 5시간 후 배양 상등액을 버리고 PBS로 2회 세척하였다.

### 4) 역전사-중합효소 연쇄반응 (RT-PCR)

#### ① RNA 추출

배양종료 후 상층액을 제거한 후 RNAzol<sup>B</sup>를 이용하여 생쥐 대식세포막을 터트린 후 RNA를 추출하는 방법을 택하였다. RNAzol<sup>B</sup>를 1/10 양으로 CHCl<sub>3</sub> (chloroform) (40 µl/400 µl RNAzol<sup>B</sup>)을 넣은 후 15 초간 Vortex로 혼합하고 얼음 (ice)에서 15분간 방치하였다. 고속원심분리기 (4℃)로 15,000 rpm에서 15분간 원심분리한 후 상층액을 취하여 동량의 iso-propanol과 혼합하고 천천히 흔들어 주었다. 그리고 고속원심분리기 (4℃)로 15,000 rpm에서 15분간 원심분리한 후 상층액을 제거하고, 1 ml의 80% EtOH/DEPC D.W를 넣고 살짝 vortex후 15,000 rpm에서 15분간 원심분리하고 상층액을 다시 제거한 speed-vac으로 건조시켰다. DEPC/D.W (0.05%)추출한 total RNA는 diethyl pyrocarbonate (DEPC)를 처리한 20 µl의 증류수에 녹여 RT-PCR에 사용하였다.

#### ② 역전사-중합효소 연쇄반응 (RT-PCR)

역전사 (reverse transcription) 반응은 준비된 total RNA 3 µg을 75℃에서 5분 동안 변성 (denaturation)시키고, 이에 2.5 µl 10 mM dNTPs mix, 1 µl random sequence hexanucleotides (25 pmole/ 25 µl), RNA inhibitor로서 1 µl RNase inhibitor (20 U/µl), 1 µl 100 mM DTT, 4.5 µl 5 ×RT buffer (250 mM Tris-HCl, pH 8.3, 375 mM KCl, 15 mM MgCl<sub>2</sub>)를 가한 후, 1 µl의 M-MLV RT (200 U/µl)를 다시 가하고 DEPC 처리된 증류수로서 최종 부피가 20 µl가 되도록 하였다. 이 20 µl의 반응 혼합액을 잘 섞은 뒤 2,000 rpm에서 5초간 원심침강하여 37℃ 항온 수조에서 60분 동안 반응시켜 first-strand cDNA를 합성한다.

다음, 95°C에서 5분 동안 방치하여 M- $\mu$ V RT를 불활성화 시킨 후 합성이 완료된 cDNA를 polymerase chain reaction (PCR)에 사용하였다.

### ③ cDNA PCR

PCR은 Primus 96 Legal PCR system (with high pressure lid, MWG in Germany)를 이용하여 역전사-중합효소 연쇄반응을 수행하였다. 반응은 이미 합성된 3  $\mu$ l의 cDNA를 주형으로 사용하고, 주형에 대한 primer는  $\beta$ -actin, interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )를 증폭하기 위하여 sense primer (20 pmole/ $\mu$ l)와 antisense primer (20 pmole/ $\mu$ l)를 혼합하여 1  $\mu$ l를 가하고, 다시 3  $\mu$ l 2.5 mM dNTPs, 3  $\mu$ l 10 $\times$  PCR buffer (100 mM Tris-HCl, pH 8.3, 500 mM KCl, 15 mM MgCl<sub>2</sub>), 그리고 0.18  $\mu$ l Taq polymerase (5 U/ $\mu$ l)를 첨가한 다음 최종 부피가 30  $\mu$ l 되도록 멸균증류수를 가하고 predenaturation ; 95°C, 5분, denaturation ; 95°C, annealing ; 55°C, 1분, elongation ; 72°C, 1분을 25cycles한 뒤 postelongation을 72°C에서 3분 동안의 조건으로 PCR을 수행하였다. 각 PCR products는 20  $\mu$ l씩 1.2% agarose gel에 loading하여 120V 조건에서 20분간 전기영동을 통하여 분석하였다.

Oligonucleotide의 염기배열은 다음과 같다;

IL-1 $\beta$ 는, sense oligonucleotide, 5'-CCTCTTCTTGAGCTTGCAAC-3'; antisense oligonucleotide 5'-AGCCCATGA GTTCATTCAC-3'. IL-6는, sense oligonucleotide, 5'-CCGTCGATAGTGGCA TCCATGAAAC-3'; antisense oligonucleotide 5'-GGACCAATACCTGCTATAGGG-3'. TNF- $\alpha$ 는, sense oligonucleotide, 5'-AACCCTTACTGAACT CAGATTGTTAG-3'; antisense oligonucleotide 5'-TAAGTCAGTTTAAATGCTTAGGG-3'.  $\beta$ -actin는, sense oligonucleotide, 5'-TGGAATCCTG ATCCATGAAC-3'; antisense oligonucleotide 5'-TAAAACGCAGCTCAGTAGTCCG-3'.

PCR product의 양은 Windows 1D main program (AAB, USA)을 이용하여 최고값 (height, Ht)으로 측정하였다.

## III. 成 績

### 1. 사향추출물의 염증유발 사이토카인 유전자 발현 억제 효과

#### 1) 사향-A 와 사향-B의 효과

생쥐의 복강대식세포에 사향추출물을 100  $\mu$ g/ml, 10  $\mu$ g/ml, 1  $\mu$ g/ml로 처리한 후 lipopolysaccharide (LPS)로 자극하여 염증유발 사이토카인의 과잉생산을 유도하여, 사향추출물에 의한 염증유발 사이토카인의 과잉생산을 억제 효과를 관찰하고자 하였다. 그 결과 사향성분에 의한 염증유발 사이토카인중 IL-1 $\beta$ 의 유전자 발현은 Table 1.에서처럼 대조군 (Control)의 최고값 (Ht)이 225이었고, 사향-A 처리군은 100, 10, 1 농도( $\mu$ g/ml)에서 각각 14, 16, 187로 현저한 억제효과가 나타내었다. 또한 IL-6와 TNF- $\alpha$  유전자 발현에서도 대조군 (211, 220)에 비하여 100, 10, 1 농도( $\mu$ g/ml)의 농도에서 거의 유전자 발현을 억제하였다. 그리고 사향-B는 IL-1 $\beta$ 와 TNF- $\alpha$  유전자 발현은 100  $\mu$ g/ml에서 현저한 유전자 발현 억제효과를 나타내었고, IL-6 유전자 발현은 100  $\mu$ g/ml와 10  $\mu$ g/ml에서 유전자 발현 억제효과를 관찰할 수 있었다 (Fig.1).

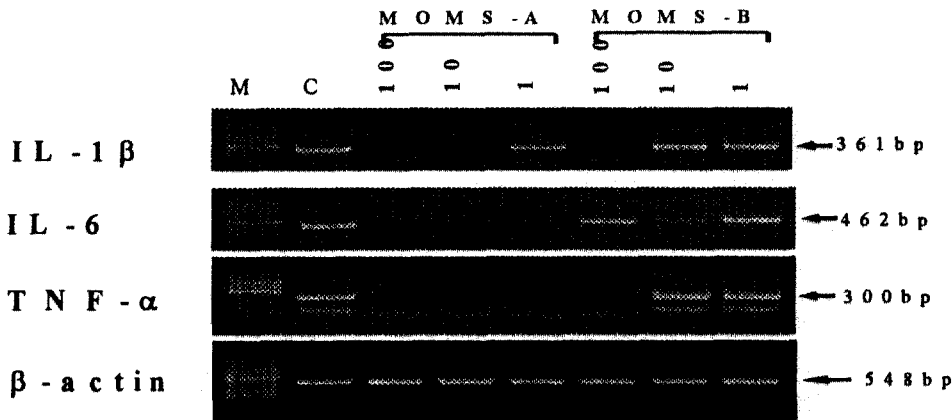
#### 2) 사향-C 와 사향-D의 효과

Table 2는 생쥐의 복강대식세포에 사향추출물을 200  $\mu$ g/ml, 100  $\mu$ g/ml, 10  $\mu$ g/ml, 1  $\mu$ g/ml로 처리한 후 lipopolysaccharide (LPS)로 자극 하였다. 그 결과 IL-1 $\beta$ 와 IL-6의 유전자 발현은 사향-C 처리군이 200, 100, 10, 1 농도( $\mu$ g/ml)에서 억제효과가 없었다. 또한 TNF- $\alpha$  유전자 발현에서도 대조군에 비하여 100, 10, 1 농도( $\mu$ g/ml)의 농도에서 거의 유전자 발현을 억제효과가 없었고, 200  $\mu$ g/ml에서 만이 대조군에 비하여 50%의 억제효과를 나타내었다. 사향-D 처리군에서 IL-1 $\beta$  유전자 발현은 200  $\mu$ g/ml에서 유전자 발현 억제효과를 나타내었고, IL-6와 TNF- $\alpha$  유전자 발현은 200  $\mu$ g/ml에서 유전자 발현을 관찰할 수 없었고, 100  $\mu$ g/ml와 10  $\mu$ g/ml에서도 현저한 유전자 발현 억제효과를 관찰할 수 있었다 (Fig.2).

**Table 1. Inhibitory effects of *Moschus moschiferus* - A and B (M O M S-A and B) on proinflammatory cytokines m-RNA expression level in mouse macrophage following treatment with LPS**

Group	LPS ( $\mu\text{g/ml}$ )	Cytokines m-RNA expression (Ht)			
		$\beta$ -actin	IL-1 $\beta$	IL-6	TNF- $\alpha$
Control	10	214	225	211	220
Moschus - A extract ( $\mu\text{g/ml}$ )	100	215	14	12	13
	10	213	16	16	16
	1	215	187	15	17
Moschus - B extract ( $\mu\text{g/ml}$ )	100	214	12	89	18
	10	218	174	42	201
	1	217	208	199	211

Mouse macrophages were pretreated with various concentration M O M S-A and M O M S-B extract (100  $\mu\text{g/ml}$ , 10  $\mu\text{g/ml}$ , 1  $\mu\text{g/ml}$ ) in the presence 10  $\mu\text{g/ml}$  LPS for 6 h. LPS and M O M S extract treatments resulted in a significant decrease in IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  mRNA expression level compared with the LPS treatment. Amplified PCR products were electrophoresed on 1.2% agarose gel, and the analysis (Ht) was used to 1D-density program. The other methods for assay were performed as described in *Materials and Methods*. The gene expression were observed IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  mRNA expression and internal control ( $\beta$ -actin) in mouse macrophages.



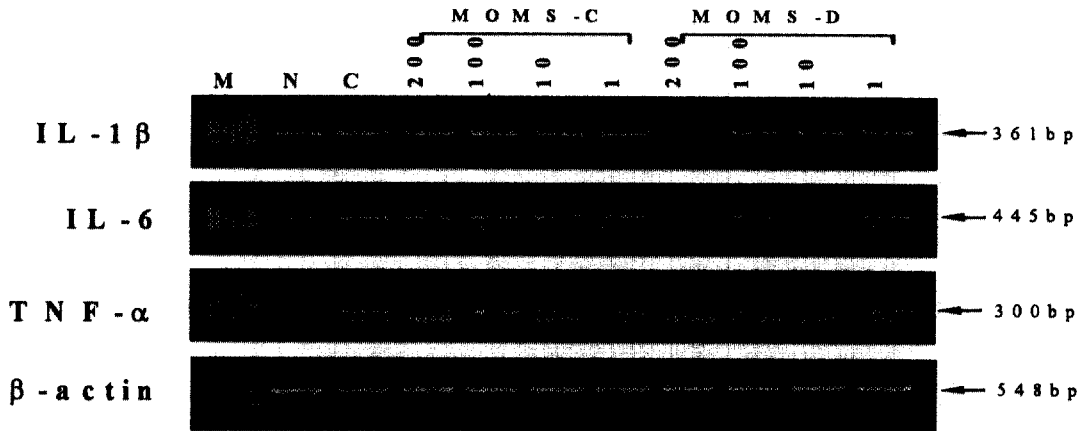
**Fig. 1. Inhibitory effects of M O M S-A and B on proinflammatory cytokines m-RNA expression level in mouse macrophage following treatment with LPS**

Mouse macrophages were pretreated with various concentration M O M S-A and M O M S-B extract (100  $\mu\text{g/ml}$ , 10  $\mu\text{g/ml}$ , 1  $\mu\text{g/ml}$ ) in the presence 10  $\mu\text{g/ml}$  LPS for 6 h. LPS and M O M S extract treatments resulted in a significant decrease in IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  mRNA expression level compared with the LPS treatment. Amplified PCR products were electrophoresed on 1.2% agarose gel, and the analysis (Ht) was used to 1D-density program. The other methods for assay were performed as described in *Materials and Methods*. The gene expression were observed IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  mRNA expression and internal control ( $\beta$ -actin) in mouse macrophages.

**Table 2. Inhibitory effects of *Moschus moschiferus* - C and D (M O M S - C and D) on proinflammatory cytokines m - RNA expression level in mouse macrophage following treatment with LPS**

Group	LPS ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	Cytokines m - RNA expression (Ht)				
		$\beta$ - actin	IL - 1 $\beta$	IL - 6	TNF - $\alpha$	
Not treated	0	201	120	122	138	
Control	10	202	169	146	148	
Moschus - C extract ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	200	10	201	145	126	70
	100		203	152	134	121
	10		205	158	136	102
	1		204	161	144	130
Moschus - D extract ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	200	10	201	65	19	15
	100		202	148	101	75
	10		205	136	78	60
	1		200	133	145	124

Mouse macrophages were pretreated with various concentration M O M S - C and M O M S - D extract (200  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 10  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 1  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) in the presence 10  $\mu\text{g}/\text{ml}$  LPS for 6 h. LPS and M O M S extract treatments resulted in a significant decrease in IL - 1 $\beta$ , IL - 6, TNF -  $\alpha$  mRNA expression level compared with the LPS treatment. Amplified PCR products were electrophoresed on 1.2% agarose gel, and the analysis (Ht) was used to 1D - density program. The other methods for assay were performed as described in *Materials and Methods*. The gene expression were observed IL - 1 $\beta$ , IL - 6, TNF -  $\alpha$  mRNA expression and internal control ( $\beta$  - actin) in mouse macrophages.



**Fig. 2. Inhibitory effects of M O M S - C and D on proinflammatory cytokines m - RNA expression level in mouse macrophage following treatment with LPS**

Mouse macrophages were pretreated with various concentration M O M S - C and M O M S - D extract (200  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 10  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 1  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) in the presence 10  $\mu\text{g}/\text{ml}$  LPS for 6 h. LPS and M O M S extract treatments resulted in a significant decrease in IL - 1 $\beta$ , IL - 6, TNF -  $\alpha$  mRNA expression level compared with the LPS treatment. Amplified PCR products were electrophoresed on 1.2% agarose gel, and the analysis (Ht) was used to 1D - density program. The other methods for assay were performed as described in *Materials and Methods*. The gene expression were observed IL - 1 $\beta$ , IL - 6, TNF -  $\alpha$  mRNA expression and internal control ( $\beta$  - actin) in mouse macrophages.

#### IV. 考 察

麝香은 主辟惡氣 殺鬼精物 溫瘡蠱毒이라는 효능으로 <神農本草經><sup>31)</sup>에서 “麝香”이라는 이름으로 처음 소개되었다. 그 후 <雷公炮炙論>에는 “當文子”, “臍香”으로 <本草綱目>에는 “麝臍香”이라는 등의 別名이 있다<sup>14,17)</sup>. 麝香은 山地동물이므로 <神農本草經>에서도 中臺及益州, 雍州山中에 산다고 기재되어 있으며, 産地는 여러나라의 수림 속에 고루 분포되어 있으나 특히 중국 各地에 널리 분포하고 있다. 또한 麝香의 交配期가 11월부터 시작하여 다음해 1월까지이며 이 交配期중에는 수컷의 사향낭 속의 분비물이 평상시보다 많아지고 향이 강해져서 암컷을 유인한다고 하여 採取時期는 주로 겨울(11월~2월)에 採取한 것으로 사료된다. 麝香의 修治는 <雷公炮炙論>에서 “凡使麝香用當門子優妙, 微研用, 不必苦細也.”라고 하여<sup>13)</sup> 麝香을 採取하되 香囊을 쪼개어 囊殼을 제거한 顆粒狀인 當門子の 효능이 뛰어나며, 다른 약과 섞지 말고 불이나 햇빛에서 멀리하며 가열해서는 안되고, 磁器瓶속에 저장하였다가 研用하되 지나치게 곱게 갈 필요는 없다고 하였다. 麝香의 性味를 살펴보면 <神農本草經>에서 辛溫으로 기재된 이후 거의 대부분의 본초서에서 味는 辛하고 性은 溫한 것으로 인식하여 현재까지 사용하고 있었으며 다만, <藥性本草>에서 麝香의 藥味가 苦辛味를 지니고 있는 것으로 기재되어 있을 뿐이었다. 麝香의 歸經은 <得配本草>에서는 足太陰經으로 기재하였으며, <本草求真>, <東醫寶鑑>에서는 脾經으로 서술하였고, <本草再新>에서는 心·肝經으로 기재하고, <本草匯言>에서는 足太陰, 手少陰經으로 기재하고 있는 것으로 보아 역대 대부분의 본초서에서 거의 12經 모두에 入하는 것으로 인식되었으며, 다만 현대에 와서 <中藥大辭典>에서 心, 脾, 肝經으로 기재하거나 <中藥學>, <中藥藥理毒理與臨床>, <中國藥物大全>, <中華人民共和國藥典> 등의 현대 본초서적에서 心, 脾經으로 기술하고 있는 점으로 보아 中樞神經系를 흥분시키는 작용과 心血管의 혈액순환계통의 질환을 중심으로

더욱더 전문화된 치료약으로서의 역할을 강조하고 있는 것으로 사료된다. 麝香의 효능은 <神農本草經>에서 「主辟惡氣 殺鬼精物 溫瘡蠱毒, 癩疾, 去三蟲」라고 기재된 이후, <名醫別錄>에서는 心腹暴痛, 婦人難産, 目中膚翳를 治療한다고 하였으며, <日華子本草>에서는 殺臟腑蟲, 制蛇蠶咬, 沙蟲 등을 치료한다고 하였으며, <湯液本草>에서는 療鼻窒, 不聞香臭를 치료한다고 하였으며, <醫學入門>에서는 傷寒陰毒, 內傷積聚를 치료한다고 하였으며, <本草綱目>에서는 通諸駁, 開經絡, 透肌膚, 解酒毒, 消瓜果食積을 치료한다고 하였으며, <東醫寶鑑>에서는 鎮心安神, 癩疾을 치료한다고 하였으며, <本草正>에서는 一切의 惡瘡痔漏腫痛膿肉腐肉面黚斑疹을 치료한다고 하였으며, <本草備要>에서는 治耳聾, 目瞽, 陰冷한다고 하였으며, <本草從新>에서는 治卒中諸風諸氣諸血諸痛痰厥驚癇한다고 기재하고 있다. 그리고, 현대에 와서는 中樞神經系 흥분작용 혈액순환계통에 대한 작용, 子宮興奮作用, 抗炎症 抗菌作用, 항암작용등이 알려져서 각종 熱性病으로 인한 神昏(意識障礙), 痙厥, 中風痰厥, 氣厥, 精神不安, 心腹暴痛, 뇌출혈후유증, 협심증, 瘡瘍腫毒, 打撲傷, 류머티스증상 관절염, 月經停止, 痛經, 癥瘕, 血瘀로 인한 腹痛 및 痺痛, 胎盤不下, 腹中死胎, 난산, 예막동 여러 방면에 까지 응용범위가 넓혀져 多用되고 있으며 抗癌劑로도 활용되고 있다. 麝香의 服用量은 病勢와 用途에 따라 다소 차이가 있으나, 일반적으로 0.03~0.1g 정도를 가장 많이 사용하고 있는 것으로 알려져 있는데, 많아도 한 번 복용량이 1g을 넘지 않으며 보통 散이나 丸劑로 복용하고 煎劑로는 사용하지 않고, 外用으로도 사용되고 있다. 麝香의 服用에 있어 禁忌 및 慎用해야 할 경우에는 歷代 문헌상에서 우선 孕婦이며 持續的인 子宮痙攣을 일으키기 쉬우므로 특히 妊娠末期에는 禁할 것을 주장하였고, 또한 <本草備要>에서는 忌蒜 不可近鼻防蟲入腦<sup>32,33)</sup>라고 하였으며, 그의 현대의 <중약학>에서는 汗多者나 急性熱病初期와 急性炎症으로 因한 高熱者, 神經過度, 虛弱者는 사용을 금한다고 하여 氣虛, 血虛, 陰虛에는 모두 慎用해야 한다고 주장하였다.

자연면역 및 특이면역의 실행단계는 대부분 사이토카인(cytokines)이라고 하는 단백질 호르몬에 의해 매개된다. 자연면역에 작용하는 사이토카인은 주로 단핵식균세포(mononuclear phagocytes)에 의해 생산되므로 종종 모노카인(monokines)이라 불리기도 한다. 사이토카인들은 세포의 활성화, 증식 및 분화를 조절하므로써 정상인의 성장 및 발육에 관여 할 뿐만 아니라 여러 질병의 pathogenic mediator로서 작용하여 질병의 발생 및 치유에 관여함이 알려져 있다. IL-6는 cardiac myxoma, cervical cancer, bladder carcinoma, multiple myeloma 등에서 IL-6가 대량으로 분비되며 이들 tumor 세포의 자가성장인자(autocrine growth factor)로 작용한다고 보고되었다.<sup>37-39)</sup> 본 저자의 연구결과에서도 진폐증(silicosis)과 간경변증(liver cirrhosis)을 model로 한 연구에서는 IL-6가 만성 염증이나 조직손상 후에 오는 섬유화를 이끄는 주요 factor인 것으로 밝혀졌으며,<sup>40,41)</sup> 다발성 골수종에서 IL-6가 골수종세포에 자가분비 성장인자로 작용하는 것으로 나타났고 이 질환의 발생기전에 중요한 역할을 한다는 것을 입증하였다.<sup>42)</sup> 또한 그동안 만성염증에 관여하는 IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  등의 연구결과, 염증조직 주위의 단핵구/대식세포에서 과잉으로 IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ 가 분비되며 분비된 염증반응 사이토카인에 의하여 단핵구/대식세포와 호중구에서 염증유발 물질인 superoxide anion(O<sub>2</sub><sup>-</sup>)과 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>등 reactive oxygen species 와 lysozyme등이 생성되는 효과가 상승됨을 밝혀냈고, IL-4로 이들 염증세포를 처리할 경우 염증유발 물질들의 생성이 억제됨도 밝혀내었다.<sup>43)</sup> Gonzalez-Ramon 등<sup>44)</sup>은 1차 hepatocytes 세포 및 kuffer 세포를 배양한 후 LPS로 자극하여 acute-phase protein을 생산하여 염증반응 사이토카인의 분비를 증가시켰다<sup>45)</sup>. Qie 등<sup>46)</sup>은 생쥐 alveolar 대식세포에 LPS로 자극한 후 nitric oxide, IL-10, methylisothioarea (SMT) 그리고 S-nitroso-N-acetyl-[penicillamine]등을 처리하여 IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ 의 유전자 발현을 억제시켰다고 보고하였다<sup>47,48)</sup>. THP-1세포는 사람 monocyte세포주로 염증반응 사이토카인 발현을

lipopolysaccharide (LPS)의 자극으로 과잉으로 생산되고, microglia-like morphology로 되어 primary human microglia의 모델을 제공한다<sup>49)</sup>. 이에 Bianchi 등<sup>45)</sup>은 guanylylhydrazone를 처리하여 proinflammatory cytokines등을 억제시켰다고 보고하였다. Fiorentino 등<sup>50)</sup>은 생쥐 복강대식세포에 LPS로 자극한 후 IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ 의 생산을 분석한 결과 IL-10이 proinflammatory cytokines을 억제한다고 보고하였다. 본 연구에서 4종류의 사향이 대식세포에서 proinflammatory cytokines의 유전자 발현을 억제하였고, 여러종류의 사향중 그 활성성분이 다른 것으로 나타나 사향활성성분 함유량을 판단하는 기준으로 확립할 수 있을 것으로 사료된다.

## V. 結 論

생쥐의 복강대식세포를 순수 분리하여 사향추출물에 대한 염증반응 사이토카인 유전자 발현을 분석하였다. 이러한 사향추출물이 과잉으로 발현시킨 생쥐대식세포의 IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  유전자 발현을 억제하여 생체활성물질 (biological response modifier; BRM)로서의 효과를 관찰할 수 있었다.

1. 사향추출물은 생쥐의 대식세포를 LPS로 자극하여 과잉 생산된 염증유발 사이토카인 (IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ )의 유전자발현을 억제하였다.
2. 4 종류의 사향중 사향-A와 사향-D에서 더 높은 유전자발현 억제 활성도를 관찰할 수 있었다.

이상의 실험결과에서 대식세포가 보이는 항종양 및 항염증작용에 있어서 염증반응 사이토카인의 생산 억제와 비례함을 고려할 때 사향의 BRM으로서의 효과는 임상적 응용이 기대된다.



參 考 文 獻

1. 강병수, 김영관 : 임상배합본초학, 서울, 영림사, 1994, p. 337
2. 中華人民共和國衛生部藥典委員會 : 中國藥典中藥彩色圖集, 香港, 三聯書店有限公司, 1991, pp. 420-421
3. 毛文山, 馬興民 외 : 中藥眞偽鑑別, 西安, 陝西科學技術出版社, 1987, p. 621
4. 沈保安 : 中國藥材經驗鑑別辭典, 北京, 北京科學技術出版社, 1994, p. 323
5. 王浴生 : 中國藥理與應用, 北京, 人民衛生出版社, 1983, p. 1267
6. 中國藥物大全編委會編 : 中國藥物大全(中藥卷), 北京, 人民衛生出版社, 1991, p. 297
7. 新文豐出版公司編輯 : 新編中藥辭典第三冊, 臺北, 新文豐出版公司, 民國 71年, p. 2861
8. 難波恒雄 : 和漢藥百科圖鑑(Ⅱ), 大阪, 保育社, 平成6年, p. 273
9. 毛文山, 馬興民 외 : 前掲書, p. 621
10. 難波恒雄 : 前掲書, p. 273
11. <中醫大辭典> 編輯委員會編 : 中醫大辭典中藥分冊, 北京, 人民衛生出版社, 1982, p. 422
12. 李文瑞, 李秋貴 : 中藥別名辭典, 北京, 中國科學技術出版社, 1994, p. 1198
13. 新文豐出版公司編輯 : 前掲書, p. 2861
14. 江蘇新醫學院編 : 中藥大辭典, 上海科學技術出版社, 1972, p. 2740
15. 吳普 외 : 神農本草經, 北京, 人民衛生出版社, 1982, p. 45
16. 강병수, 김영관 : 前掲書, pp. 337-338
17. 難波恒雄 : 前掲書, p.275
18. 구순구 : 動物性東藥, 서울, 여강출판사, 1993, pp. 452-466
19. 王浴生 : 前掲書, p.1267
20. 常毅敏 : 抗癌本草, 서울, 도서출판 바람과물결, 1988, p. 482
21. 과학백과사전출판사 : 東藥法制, 서울, 여강출판사, 1993, p. 359
22. 韓大錫 : 生藥學, 서울, 東明社, 1992, p. 416
23. 高순구 : 前掲書, pp. 461-465
24. 지형준, 이상인 : 대한약전의 한약(생약) 규정집주해서, 서울, 한국메디칼인덱스사, 1988, p. 534
25. 難波恒雄 : 前掲書, p. 276
26. 江蘇新醫學院編 : 前掲書, p.2741
27. 王筠馱 : 中藥藥理學, 上海, 上海科學技術出版社, 1992, pp. 99-100
28. 常毅敏 : 前掲書, p. 483
29. 陸昌洙 : 韓國本草學, 서울, 癸丑文化社, 1981, p. 403
30. 신민교 : 원색임상본초학, 서울, 南山堂, 1986, p. 407
31. 吳普 외 : 前掲書, p. 45
32. 王昂 : 前掲書, p. 212
33. 成都, 陝西, 湖北中醫學院 : 前掲書, p. 152
34. Aarden LA, Brunner TK, Cerottini JC, Dayer JM, de Weck AL, Dimarello CA, et al: Revised nomenclature for antigen nonspecific T-cell proliferation and helper factors. J Immunol 123:2928, 1979
35. Caput D, Beutler B, Hartog K, Thayer R, Brown Shimer S, Cerami A: Identification of a common nucleotide sequence in the 3'-untranslated region of mRNA molecules specifying inflammatory mediators. Proc Natl Acad Sci USA 83:1670-74, 1986
36. Nicola NA: Why do hemopoietic growth factor receptors interact with each other. Immunology Today 8: 134-40, 1987
37. Kishimoto T, Hirano T: Molecular regulation of B lymphocyte response. Ann Rev Immunol 6:485-512, 1988
38. Hirano T, Tasukawa K, Harada H, et al: Complementary DNA for a novel human interleukin(BSF-2) that induces B lymphocytes to produce immunoglobulin. Nature 324: 73-76, 1986
39. Namen AE, Schmierer AE, March CJ, et

al: B cell precursor growth promoting activity: purification and characterization of a growth factor active on lymphocyte precursors. *J Exp Med* 167:988-1002, 1988

40. Choi IP, Kang HS, Yang Y, Pyun KH: IL-6 induces hepatic inflammation and collagen synthesis in vivo. *Clin Exp Immunol* 95:530-535, 1994

41. Kang HS, Choi IP, Lee JS, Pyun KH: The roles of Interleukin-6 in fibrosis. *Korean J Immunol* 14(2):193-202, 1992

42. Kang HS, Choi IP, Park CW, Kim CC, Pyun KH: IL-6 autocrine growth of human multiple myeloma cells. *Korean J BRM* 3(2):163-172, 1993

43. Zurawski G, Vries JE: Interleukin-13, an interleukin 4-like cytokine that acts on monocytes and B cells, but not on T cells. *Immunology Today* 15(1):19-26, 1994

44. Gonzalez-Ramon N, Hoebe K, Alava MA, Van Leengoed L, Pineiro M, Carmona S, Iturralde M, Lampreave F, Pineiro A. Eur. *Pig MAP/ITIH4 and haptoglobin are interleukin-6-dependent acute-phase plasma proteins in porcine primary cultured hepatocytes. J Biochem* 2000 Mar;267(6):1878-85 Related Articles, Books, LinkOut

45. Bianchi M, Bloom O, Raabe T, Cohen PS, Chesney J, Sherry B, Schmidtayerova H, Calandra T, Zhang X, Bukrinsky M, Ulrich P, Cerami A, Tracey KJ. Suppression of proinflammatory cytokines in monocytes by a tetravalent guanyldiazotane. *J Exp Med* 1996 Mar 1;183(3):927-36 Related Articles, Books, LinkOut

46. Qiu HB, Chen DC, Pan JQ, Liu DW, Ma S. Inhibitory effects of nitric oxide and interleukin-10 on production of tumor necrosis factor alpha, interleukin-1 beta, and interleukin-6 in mouse alveolar macrophages. *Chung Kuo Yao*

Li Hsueh Pao 1999 Mar;20 (3):271-5 Related Articles, Books

47. Wolf HM, Hauber I, Gulle H, Samstag A, Fischer MB, Ahmad RU, Eibl MM. Anti-inflammatory properties of human serum IgA: induction of IL-1 receptor antagonist and Fc alpha R (CD89)-mediated down-regulation of tumour necrosis factor-alpha (TNF-alpha) and IL-6 in human monocytes. *Clin. Exp. Immunol.* 1996;105: 537-543

48. Barton BE, Jakway JP, Smith SR, Siegel MI. Cytokine inhibition by a novel steroid, mometasone furoate. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 1991;13(3):251-61 Related Articles, Books

49. Feder LS, Laskin DL. Regulation of hepatic endothelial cell and macrophage proliferation and nitric oxide production by GM-CSF, M-CSF, and IL-1 beta following acute endotoxemia. *J Leukoc Biol* 1994 Apr;55 (4):507-13 Related Articles, Books

50. Fiorentino DF, Zlotnik A, Mosmann TR, Howard M, O'Garra A J. IL-10 inhibits cytokine production by activated macrophages. *Immunol* 1991 Dec 1;147(11):3815-22 Related Articles, Books, LinkOut