

생쥐에서 디젤배기가스 입자에 의한 기도염증과 기도 과민성에 미치는 홍삼 조사포닌의 영향

임흥빈*[†] · 김승형**

*충북대학교 농업생명환경대학 특용식물학과, **대전대학교 한의과대학 동서생명과학연구원

The Effect of Crude Saponins of Korean Red Ginseng against Airway Inflammation and Airway Hyperresponsiveness Induced by Diesel Exhaust Particles in Mice

Heung Bin Lim*[†] and Seung-Hyung Kim**

*Department of Industrial Crop Science & Technology, Chungbuk National University Cheongju, Chungbuk 361-763, Korea.

**Institute of Traditional Medicine & Bioscience, Daejeon University, Daejeon 300-716, Korea.

ABSTRACT : The objective of this study was to investigate the effect of crude ginseng total saponins (CGS) against airway inflammation (AI) and airway hyperresponsiveness (AH) induced by diesel exhaust particles (DEP) in mice. AI and AH were induced by the intratracheal instillation with 0.1 mg/ml of DEP suspension once a week for 10 weeks combined with ovalbumin (OVA) sensitization. Mice were also treated orally with 75 mg/ml of CGS, 5 days a week for 10 weeks. Oral CGS treatment decreased in the level of serum immunoglobulin (IgE) and histamine increased by DEP and OVA, and declined respiratory resistance. It also dropped an enhanced infiltration of eosinophils in the bronchoalveolar lavage fluid (BALF) of mice, and an increased T helper type 2 cell derived cytokine levels such as of interleukin (IL)-4, IL-13 and IL-5 in the BALF. However, it did not influence T helper type 1 cytokine such as interferon-gamma in the BALF. These results indicate that CGS may alleviate allergen-related AI and AH in mice and may play an important role in the modulation of asthmatic inflammation.

Key Words : Crude ginseng total saponins, Diesel exhaust particles, Ovalalbumin, Airway inflammation, Airway hyperresponsiveness

서 언

2008년 통계청 발표에 의하면 우리나라 사망원인 중의 1위는 암이며, 암중에서 폐암은 2000년부터 사망원인 1위가 되었고, 10년 전에 비해 사망률이 가장 많이 증가하였다고 한다. 폐암 외에도 천식, 만성기관지염 등 만성하기도 질환과 폐렴 등의 환자발생율과 사망률도 꾸준히 증가하고 있다고 한다.

한편, 대기오염원 중에서 특히 직경이 10 μm 이하인 미세먼지 (PM 10)는 코와 기도 점막에 잘 걸러지지 않고 폐포에 침착되어 인체에 미치는 영향은 가장 크다고 알려져 있으며, 미세먼지의 오염원, 크기, 함유성분 및 양에 따라서 다양한 질환을 유발한다고 보고되고 있다 (Cho *et al.*, 2008). 도시대기를 빈사 상태로 빠트리는 주범은 트럭과 버스, 근래엔 미니밴 등 'RV'라고 부르는 레저용 차량까지 디젤 엔진을 쓰는 경우차로서 경유차 매연에 포함된 미세먼지 (0.003~0.1 μm)는 black

carbon, hydrocarbons (C₁₄-C₃₅)과 그 유도체, heterocyclics, polycyclic aromatic hydrocarbons과 그 유도체, acids, alcohols, esters anhydrides, ketones, nitriles, quinones, sulfonates, organic halogens과 nitrates, inorganic sulfates와 nitrates 및 중금속 등을 함유하고 있으며 (Akiyama, 2007), 기도염증, 압이나 기관지 천식 등 알레르기성 만성호흡기 질환의 직접적인 원인이 된다고 보고되고 있다 (Inoue *et al.*, 2008; Wichmann, 2007).

특히, 장기간 디젤배기가스입자를 allergen과 함께 실험동물의 호흡기내로 투여했을 때 기도내 호산구성 염증과 함께 기관지 천식이 유발된다고 보고하였다 (Ris C, 2007; Sagai *et al.*, 1996). 또한 기도내 디젤배기가스입자의 투여는 B-세포에 의한 IgE 생산을 유도하고 (Liu *et al.*, 2008), lymphocytes, monocytes, macrophages, neutrophils은 물론 eosinophils와 같은 세포가 침윤하여, IL-4, IL-5, IL-13과 같은 T_H2 cytokine

[†]Corresponding author: (Phone) +82-43-261-2521 (E-mail) heungbin@chungbuk.ac.kr

Received February 6, 2009 / 1st Revised March 25, 2009; 2nd Revised April 6, 2009 / Accepted April 6, 2009

과 major basic protein (MBP), eosinophile cationic protein (ECP), eosinophile chemotactic factor of anaphylaxis (ECF-A), platelet activating factor (PAF)과 같은 pro-T_H2 chemokine 이 유리되는 것을 확인하고 있다 (Gowdy *et al.*, 2008; Li *et al.*, 2008; Finkelman *et al.*, 2004). 그리고 디젤배기가스 입자를 항원과 함께 생쥐에 투여했을 때 기관지천식의 증상인 세기관지가 광범위하게 좁아지는 현상이 나타내며, 발작성인 호흡곤란이 자연적으로 혹은 치료에 의해서 원 상태로 되돌아가는 가역성의 성질을 보이고, 작은 자극에 의해서도 예민하게 기도과민성이 항진되며, 점액성분이 과다 분비된다고 보고되고 있다 (Lim & Lee, 2002; Lim *et al.*, 1998 Sagai *et al.*, 1996).

예로부터 우리나라 인삼은 강장제로서 '체내의 오장을 보하며, 정신을 안정시키고, 장복하면 몸이 가벼워지게 되어 수명이 길어진다고 많은 고서에서 기술되어 있다. 또한 현대 의학에서도 인삼에 함유돼 있는 성분인 사포닌은 항 피로, 혈당치 강하, 용혈작용, 면역기능 증진 및 항암작용에 효과가 있다고 보고되고 있다 (Choi, 2008; Kang *et al.*, 2008; Lim, 2007). 따라서 현 연구에서는 10주동안 실험동물에 홍삼 조사포닌을 투여하면서 또한 디젤배기가스 입자를 알리지 항원과 함께 생쥐 기도내에 병행 투여하여 천식성 호산구성 기도염증과 기도과민성을 유발하고, 이에 대한 홍삼 조사포닌의 투여효과를 조사하였다.

재료 및 방법

1. 디젤배기가스 입자 (DEP)의 포집

디젤배기가스입자는 일본 국립환경연구소 대기영향평가팀 Sagai 박사님의 도움으로 구입하였다. 즉 일본 이쓰즈 자동차 주식회사 4JB1형 2740 cc 4기통직분사식 디젤엔진을 1500 rpm, 10 torque (10 kg/m)의 부하조건하에서 운전했을때 생기는 배기미립자 (DEP)를 glass fiber filter로 포집하고 -20°C로 보관하면서 실험에 사용하였다. DEP를 전자현미경으로 관찰했을 때 공 모양으로 평균 직경이 0.4 μm인 크기를 갖고 있다고 보고되고 있다 (Sagai *et al.*, 1993).

2. 실험동물 사육조건

본 연구에서 사용된 실험동물은 Daehan Biolink Co. (Eumsung, Korea)에서 구입한 Balb/c계 생쥐로 수컷만을 이용하였다. 생쥐를 정상군, OVA + DEP 처리군 및 OVA + DEP + 홍삼조사포닌 처리군 세 그룹으로 나누고 한 그룹당 16마리씩 사육하여 기도과민성 측정 등에 8마리씩 사용하였고, 혈액과 기도폐 세정액 채취 및 분석에 8마리씩 사용하였다. 동물 사육실의 조건은 conventional system으로 온도는 20 ± 2°C, 습도는 40-60%, 환기는 1시간당 12-15회로 하였으며, 1일중

12시간은 200-300 Lux로 조명하고, 12시간은 모든 빛을 차단하였다. 실험동물의 사료는 (주)삼양사 (Seoul, Korea) 제품의 고형사료 (조단백질 22.1% 이상, 조지방 8.0% 이하, 조섬유 5.0% 이하, 조회분 8.0% 이하, 칼슘 0.6% 이상, 인 0.4% 이상 배합사료)를 사용하였다. 그리고 cage는 polycarbonate재질로 만든 것을 사용하였으며 깔집은 (주)JRS (MK-2000 Corncob, Germany) 제품을 사용하였다. 실험동물의 사육과 모든 과정은 국제 동물이용관리 위원회 지침에 준하여 실시하였다.

3. 기도내 디젤배기 입자 투여 및 홍삼의 처리

가정분진 입자의 기도내 투여는 Lim 등의 방법 (1998)에 준하여 실시하였다. 즉 가정분진 입자를 0.05% Tween 80을 함유한 50 mM 인산완충 생리식염수 용액 (PBS pH 7.4)으로 1 mg/ml의 농도가 되도록 suspension을 만든 다음, -4°C로 유지하면서 초음파 세포분쇄기 (Tomy UD-201, Tokyo, Japan)로 50% 최대 출력하에 5분 동안 sonication하였다. 가정분진 투여군 생쥐를 10% chloral hydrate로 마취한 다음, 기도내 투여용 cannula을 이용하여 그 가정분진입자 suspension 1 mg/ml 용액 100 μl를 10주 동안 일주일에 1회 기도내로 투여하였고, OVA 처리는 0.05% Tween 80을 함유한 50 mM PBS 용액 (pH 7.4)만을 기도내로 투여하였다.

홍삼의 조사포닌은 KT&G 중앙연구원 인삼연구소에서 제조한 것을 구입하여 실험에 사용하였다. 홍삼의 조사포닌의 실험동물에 투여는 10주동안 1주일에 5일 75 mg/kg으로 식도내로 투여하였다.

4. OVA 감작화 및 흡입

실험동물에 Ovalbumin (OVA: Sigma St. Louis, MO) 감작화 및 흡입은 Hammad 등 (2004)의 방법에 따라 실시하였다. 즉 OVA/alum 용액은 먼저 50 mM PBS용액 (pH 7.4)으로 OVA 농도가 500 μg/ml 이 되도록 만들고, 10% (w/v) aluminum potassium sulfate (Sigma, USA) 용액과 동량 혼합한 후 실온에서 60분 동안 방치한 다음, 10 N NaOH를 사용하여 pH 6.5로 조정된 후 원심분리 (1000 rpm × 5분)하여 사용하였다. OVA + DEP 처리군 및 OVA + DEP + 홍삼조사포닌 처리군은 DEP를 기도내에 투여하기 14일과 7일전에 OVA/alum 용액 0.2 ml씩 생쥐 복강내로 2회 투여하였고, DEP를 기도내 투여하기 11일과 2일전에는 1% OVA용액 0.1 ml씩 생쥐 복강 내로 2회 투여하였다. 또한 250x300x250 mm의 polycarbonate재질 (DJ-435, Daejong Inc, Korea) chamber안에서 10주동안 일주일에 한번, 일일에 30분 Buxco Aerosol Delivery System (NE-CT10, Buxco Co. USA)를 이용하여 6주간은 1% OVA 용액, 그리고 마지막 4주간은 2.5% OVA 용액을 aerosol화하여 분무하였다.

5. 혈액과 기도폐세정액 채취

투여 절차가 끝난 생쥐는 10% chloral hydrate를 복강내에 투여한 후 혈액을 심장채혈법으로 포집하고, 원심분리 (3,000 rpm × 10분)하여 혈청을 얻었으며, 혈청은 -70°C에 보관하면서 실험에 사용하였다. 기도폐세정액 (BALF)은 37°C에서 주사기로 10% FBS DMEM 배양액을 기도에 주입하여 얻었으며, 이 과정을 3회 반복하였다. 이 폐세정액의 세포를 Cytospin centrifuge (Cellspin, Hanil, Korea)를 이용하여 슬라이드 글라스 위에 도말하고 Diff-Quik로 염색하여 호산구의 세포수를 조사하였다. 폐 세정액의 상층액은 -70°C에 보관하면서 실험에 사용하였다.

6. 기도과민성 측정

기도과민성의 측정은 whole body plethysmographs인 Biosystem XA (Buxco research system, Wilmington, NC, USA) 장비를 사용하여 Finotto등 (2001)의 방법에 따라 실시하였다. 기도저항 수치 Pehn 값은 Biosystem XA software (Buxco Research System, Wilmington, USA)를 이용하여 자동 계산되었다. 10주간 가정분진 입자의 기도내 투여와 마지막 2.5% OVA inhalation 24시간 후에, 농도별 methacholine (MCH)수용액을 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125 mg/ml의 농도로 aerosol하고, 각각의 농도에 대한 기도의 반응성은 10분 동안 연속적으로 검사하였다.

7. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

폐세정액에서 interleukin (IL)-4, IL-5, IL-13의 함량과 interferon (IFN)-gamma ELISA kit는 Biosource사 (Invitrogen, USA)것을 사용하였고, 혈액으로 유리한 히스타민 함량은 Beckman Coulter사 (Fullerton, USA) 제품과 혈액에서 immunoglobulin-E (IgE)의 함량은 Shibayagi사(Shibukawa, Japan) 제품의 monoclonal antibody-based mouse interleukin ELISA kit를 이용하여 측정하였다. 즉 각 well에 천식유발 생쥐의 혈청과 폐세정액 100 µl씩을 각각 분주하고, 1시간 동안 실온에서 방치한 후 2회 washing 완충 용액으로 세척한 다음 biotin-conjugated antibody를 넣고 30분간 방치하였다. 다시 2회 수세 후 완충 용액으로 세척한 다음 Avidin-HRP conjugated antibody 100 µl를 처리하고, 1시간 실온에서 방치한 후 다시 세척하였다. Tetramethylbenzidine 기질을 100 µl씩 분주하고 암소에서 30분간 방치한 후 100 µl의 stop 용액을 처리한 후 ELISA reader를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하고 그 함량을 계산하였다.

8. 통계처리

모든 데이터는 평균 ± 표준편차로 나타내었으며, 데이터 분석은 StatView version (4.0 Abacus Concepts, Inc. Berkeley,

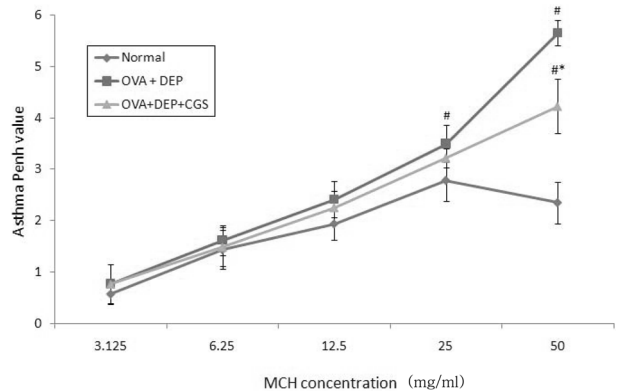


Fig. 1. Effect of CGS on airway hyperresponsiveness by MCH in diesel exhaust particles treated mice.

MCH : methacholine, OVA : ovalbumin, DEP : diesel exhaust particle, CGS : crude ginseng total saponin. Values recorded are the mean ± SD with 8 male Balb/c mice per each group.

Significantly different from normal group (p < 0.01)
* Significantly different from OVA + DEP group (p < 0.01)

CA)을 이용하였고, Fisher's protected least significant difference test 혹은 Scheffe's F test에 의해 두 처리군 사이에 p 값이 0.05보다 작은 값을 나타내었을 때 통계적으로 유의성이 있다고 판정하였다.

결과 및 고찰

1. 기도과민성

Fig. 1은 기도과민성을 측정하기 위하여 10주 동안 실험절차에 따라 처리한 정상군, OVA + DEP 처리군 및 OVA + DEP + 홍삼조사포닌 처리군 각각에 methacholine (MCH)을 농도별로 분무하고, asthma Pehn 값을 비교한 결과이다. 실험 동물에서 기도과민성 측정은 대부분 MCH, acetylcholine와 같은 기도수축제를 농도별로 흡입시켰을 때 기도수축제에 의한 기도저항 값이 50% 증가하는 농도로 나타내어 평가하거나 또는 기도수축제를 농도별로 흡입시켰을 때 기도가 수축하는 정도를 Pehn 값으로 측정하여 평가하고 있다 (Vig et al., 2006). 본 실험에서 정상군에 MCH 분무 농도를 3.125, 6.25, 12.5, 25.0과 50.0 mg/ml 증가시켰을 때 Pehn 값은 각각 0.58, 1.44, 1.94, 2.35과 2.78로 MCH 분무농도에 따라 기도과민성은 약간 증가하였다. 그러나 OVA + DEP 처리군에 정상군과 같은 농도의 MCH을 분무했을 때 Pehn 값은 0.78, 1.62, 2.42, 3.50, 5.66으로 정상군에 비해 기도과민성은 크게 증가하였다. 즉, OVA + DEP 처리군의 Pehn 값은 MCH 분무농도 12.5 mg/ml부터 정상군에 비해 크게 증가하였다 (p < 0.01). 그리고 OVA + DEP + 홍삼조사포닌 처리군에서의 Pehn 값은 각각 0.77, 1.49, 2.26, 3.22, 4.23으로 MCH 분무농도 25.0 mg/ml

Table 1. Change of lung weights, the number of total cells and eosinophils in bronchoalveolar lavage fluid.

	Normal	OVA + DEP	OVA + DEP + CGS
lung weights (g)	0.24 ± 0.03	0.40 ± 0.07#	0.31 ± 0.05
Total Cells (× 105 cells)	1.81 ± 0.23	4.80 ± 0.40#	3.15 ± 0.33#*
Eosinophils (× 400)	4.00 ± 1.00	98.5 ± 8.50#	64.5 ± 4.50#*

OVA : ovalbumin, DEP : diesel exhaust particle, CGS : crude ginseng total saponin. Values recorded are the mean ± SD with 8 male Balb/c mice per each group.

#Significantly different from normal group (p < 0.01)

* Significantly different from OVA + DEP group (p < 0.01)

부터 정상군에 비해서는 통계적으로 유의하게 높았으며 (p < 0.01), OVA + DEP 처리군에 비해서는 같은 MCH 분무농도에 비해 낮은 경향을 나타내었고, 50.0 mg/ml 농도에서는 통계적으로 유의하게 낮았다 (p < 0.01). 즉, 10주동안 실험절차에 따라 생쥐에 OVA 감작화와 함께 자동차배기가스 입자를 처리한 후 MCH를 분무하면 천식성 기도과민증은 크게 증가하였으나 여기에서 홍삼사포닌은 병행 처리하면 기도자극에 대한 기관지 천식의 기본 병태인 기도과민성의 증가를 어느 정도 완화시킬 수 있다는 것을 나타내는 결과라고 판단된다.

2. 폐세정액의 세포수

Table 1은 생쥐에 10주동안 OVA 감작화와 함께 기도내에 디젤배기가스 입자를 투여하고 식도내로 홍삼사포닌을 투여했을 때 폐의 무게변화와 폐세정액에서 총 세포수와 호산구수를 측정할 결과이다. 일반적으로 기도의 염증은 물리적, 화학적, 생물학적인 외적요인에 의해서 생기는 생체의 반응으로서 일반적인 특징은 염증세포의 침윤과 부종과 함께 기관지선의 비대, 그리고 배세포의 증가 등의 병리생태학적 변화가 생긴다고 한다 (Sagai *et al.*, 1993). 그러나 일반 급성염증에서는 염증부위에 혈액에서 백혈구 중 호중구가 침윤하고, 만성염증에서는 주로 림프구가 침윤하는데 반해 기관지 천식성 만성염증에서는 호산구가 침윤하여 기도상피를 손상시키는 특징이 있다 (Takizawa, 2003). 폐 무게의 경우 OVA + DEP 처리군이 정상군에 비해 매우 크게 증가하였으나 (p < 0.01), OVA + DEP + 홍삼사포닌 처리군은 증가하는 경향만을 나타내었다. 폐세정액에서 총세포수는 OVA + DEP 처리군이 정상군에 비해 약 2.6배 증가하였으나, OVA + DEP + 홍삼사포닌 처리군은 약 1.7배 증가하였다. 폐세정액에서 백혈구중 호산구의 수도 OVA + DEP 처리군은 정상군에 비해 약 24.6배 증가하였으나, OVA + DEP + 홍삼사포닌 처리군은 약 16.1배 증가하였다. 따라서 생쥐에게 장기간 디젤배기가스입자를 OVA 감작화와 함께 기도내로 투여했을 때 혈액에서 기도내로 침윤하는 세포수가 크게 증가하며 그 중에서도, 특히 호산구수가 급증하는 것으로 보아 OVA + DEP 처리군은 항원으로 인한 기관지 천식성 만성염증이 생쥐에 유발된 것을 알 수 있었다. 그러나 홍삼사포닌의 투여는 장기간 OVA 감작과 함께 기도내 DEP 투여에 의해 증가하는 폐의 무게를 완화시킬수 있는 경

향을 보이며, 혈액에서 기도내로 침윤하는 염증세포수도 크게 감소시키고, 또한 천식성 만성염증의 특징인 기도내 호산구의 침윤을 감소시키는 것을 확인하였다. 따라서 생쥐에 홍삼사포닌의 장기간 투여는 디젤배기가스입자에 의한 기관지 천식 발증의 기본 병태인 염증세포의 침윤과 부종과 함께 기관지선의 비대를 완화시킬 수 있는 가능성이 있다는 것을 나타내는 결과라고 생각된다.

3. 혈액에서 IgE와 히스타민 함량

일반적으로 알러지반응은 I형에서 IV형까지 분류되고 있지만 이 중에서 기관지 천식과 관련된 것은 I형 알러지반응으로 이 반응은 주체를 담당하는 것은 주로 immunoglobulin-E (IgE) 항체와 mast 세포이다 (Theohatides & Kalogeromitros, 2006). 이 반응은 알러지를 일으키는 항원이 침입하면, macrophage가 인식, helper T 세포에서 관련 cytokine이 유리, 그리고 B세포에서 IgE항체가 만들어져 mast세포에 부착시킨다. 그 다음 mast세포는 히스타민, ECF-A, prostaglandin, tromboxane, leucotriene C4, leucotriene D4, leucotriene E4 및 platelet activating factor를 생성하여 유리하는 특징을 갖고 있는데, 특히 히스타민의 유리는 혈액에서 기관지조직에 호산구를 침윤시켜 활성화하는 작용을 하여 알러지성 기관지 천식 발증에 중요한 역할을 한다고 알려지고 있다 (Pawankar *et al.*, 2007). 따라서 생쥐에 10주동안 OVA 감작화와 함께 기도내에 디젤배기가스 입자를 투여하고 식도내로 홍삼사포닌을 투여했을 때 채혈하여 혈장에서 알러지 반응의 주체인 히스타민 함량과 IgE의 함량을 측정하고 비교한 결과는 Table 2와 같다. 혈장에서 정상군 생쥐의 히스타민의 함량은 9.1 μM이었으나 OVA + DEP 처리군에서의 히스타민 함량은 144.2 μM로 약 15.8배 증가하였으나 OVA + DEP + 홍삼사포닌 처리군에서의 히스타민 함량은 83.4 μM로 약 9.2배 증가하였다. 또한 혈장에서 IgE 함량도 정상군에서 145.1 pg/ml이었으나 OVA + DEP 처리군에서는 343.2 pg/ml로 약 2.4배 증가하였으며, OVA + DEP + 홍삼사포닌 처리군은 231.1 pg/ml로 약 1.6배 증가하였다. 따라서 생쥐에게 장기간 디젤배기가스입자를 OVA 감작화와 함께 기도내에 투여했을 때 혈액중에서 IgE의 함량과 히스타민의 함량은 크게 증가하는데 여기에 홍삼사포닌을 장기간 투여하면 혈액에서 기관지 천식 발증에 중요한 지표로

Table 2. Change of histamine and IgE levels in serum.

	Normal	OVA + DEP	OVA + DEP + CGS
Histamine (uM)	9.1 ± 1.1	144.2 ± 2.1#	83.4 ± 4.2#*
IgE (× 10) (pg/ml)	145.1 ± 13.8	343.2 ± 31.5#	232.1 ± 52.0#*

OVA : ovalbumin, DEP : diesel exhaust particle, CGS : crude ginseng total saponin. Values recorded are the mean ± SD with 8 male Balb/c mice per each group.

#Significantly different from normal group (p < 0.01)

* Significantly different from OVA+DEP group (p < 0.01)

Table 3. Change of cytokine levels in bronchoalveolar lavage fluid.

Cytokine	Normal	OVA+DEP	OVA+DEP+CGS
IL-4 (pg/ml)	7.3 ± 1.8	62.1 ± 8.5#	42.8 ± 10.2#*
IL-5 (pg/ml)	10.9 ± 3.1	176.8 ± 21.2#	156.1 ± 15.9#
IL-13 (pg/ml)	19.0 ± 2.4	276.2 ± 20.8#	134.2 ± 39.1#*
IFN-gamma (pg/ml)	30.2 ± 2.2	32.0 ± 2.4	36.6 ± 4.2

OVA : ovalbumin, DEP : diesel exhaust particle, CGS : crude ginseng total saponin, Values recorded are the mean ± SD with 8 male Balb/c mice per each group.

#Significantly different from normal group (p < 0.01)

* Significantly different from OVA + DEP group (p < 0.01)

서 IgE와 히스타민이 증가하는 것을 막아주는 효과가 있다는 것을 보여주는 결과라고 생각된다.

4. 폐세정액에서 Cytokine 함량

Table 3은 10주동안 OVA 감작화와 함께 기도내에 디젤배기 가스 입자를 투여하고 식도내로 홍삼사포닌을 투여했을 때 폐 세정액에서 cytokine들의 함량을 측정된 결과이다. Interleukin-4 (IL-4)는 helper T2세포에서 유리되어 B 세포의 IgE 항체생성을 촉진하는 작용을 갖고 있다고 알려지고 있다 (Nakajima & Takatsu, 2007). 폐세정액에서 IL-4함량은 정상군의 경우 7.3 pg/ml이었으나 OVA + DEP 처리군에서는 62.1 pg/ml로 정상군에 비해 약 8.5배 증가하였고, OVA + DEP + 홍삼사포닌 처리군에서는 42.8 pg/ml로 정상군에 비해 약 5.9배 증가하였으나 대조군인 OVA + DEP군에 비해 크게 감소하였다 (p < 0.01). 그러나 interferon gamma (IFN-γ)는 helper T1세포에서 분비되며, influenza virus나 이종 핵산과 접했을 때 합성되는 단백질로서 표적세포를 항바이러스 상태로 유도하는 작용과 증식억제 및 항암작용을 갖고 있고, 특히 면역계 세포에 대한 면역조절 작용이 현저하다고 알려지고 있다 (Kumar *et al.*, 2006). 생쥐에 OVA 감작과 함께 디젤배기가스 입자를 투여하거나 홍삼사포닌을 투여하여도 폐세정액에서 IFN-γ의 함량은 정상군에 비해 유의한 변화를 보이지 않았다. 또한 IL-5는 macrophage에 의해 항원이라고 제시를 받는 helper T2 세포에서 유리되는 당단백질로서 eosinophil differentiation factor (EDF), B-cell growth factor II (BCGF II)이며, B-cell의 분화와 항체 생성을 자극하고, IgA 생산을 증가시키는 작용을 갖고 있고, 또한 호산구를 활성화하는 작용을 갖고 있어 기관지 천식의 특징인 기관지평활근수축, 점액분비증가, 혈관투과

성 항진작용에 중요한 역할을 담당하고 있다 (Nakajima and Takatsu, 2007). 폐 세정액에서 IL-5의 함량은 IL-4 함량과 같이 OVA + DEP 처리군은 정상군에 비해 16.1배 증가하였고 OVA + DEP + 홍삼사포닌 투여군은 14.3배 증가하여 대조군인 OVA + DEP군에 비해 통계적인 유의성은 보이지 않았지만 감소하는 경향을 나타내었다. 또한 helper T2 세포에서 유리된다고 알려진 IL-13의 함량도 OVA + DEP 처리군은 정상군에 비해 약 14.5배 증가하였고, OVA + DEP + 홍삼사포닌 투여군도 약 7.1배 증가하였으나 대조군인 OVA + DEP군에 비해 크게 감소하였다 (p < 0.01).

따라서 생쥐에게 장기간 디젤배기가스 입자를 OVA 감작화와 함께 기도내에 투여했을 때 면역계 세포에 대한 면역조절 작용이 현저하다고 알려진 IFN-γ과 같은 helper T1 세포형 cytokine 함량에는 영향을 미치지 않지만, B 세포의 IgE항체 생성을 촉진하는 작용을 갖는 IL-4와 B-cell의 분화와 항체 생성을 자극하고, IgA 생산을 증가시키는 작용을 갖고 있고, 또한 호산구를 활성화하는 작용을 갖는다고 알려진 IL-5와 IL-13과 같은 helper T2 세포형 cytokine은 크게 증가시키는 것을 확인하였다. 그러나 장기간 홍삼사포닌의 투여는 약간의 IFN-γ의 함량을 증가시키는 경향만을 나타내었으나, OVA 감작화와 함께 디젤배기가스 입자를 투여했을 때 증가하는 폐세정액의 IL-4, IL-5와 IL-13의 함량을 감소시킬 수 있는 가능성을 나타내었다.

실험동물을 대상으로 한 실험에서 기관지천식에 항산화제의 투여와 NO 합성효소 억제제의 투여는 그 증상을 완화시킨다고 보고하고 있다 (Sagai *et al.*, 1996; Takano *et al.*, 1999). 또한 기도과민성과 기관지 천식에 환약제를 투여하여 효능을 입증하는 연구가 많이 이루어지고 있다 (Yang *et al.*,

2008; Shen *et al.*, 2008; Singh *et al.*, 2007; Kim, 2006). 그러나 생쥐에서 디젤배기가스 입자로 유발된 기도과민성과 천식성 기도염증관련 생체 지표를 완화시키는 홍삼 사포닌의 효과에 대해서는 거의 보고된 바 없다. 이와 같은 효과가 장기간 홍삼사포닌 투여로 인하여 생체 면역능을 증가시키기 때문에 나타나는 효과 (Choi, 2008; Kang *et al.*, 2008)인지 아니면 홍삼이 간이나 폐에서 디젤배기가스 입자와 같은 이물질 을 제거하는 이물질 대사 능력을 향상시키기 때문에 나타나는 효과 (Seo *et al.*, 2008; Lim & Lee, 2006)인지 혹은 홍삼 이 항산화능력을 향상시키기 때문에 나타나는 효과 (Kang *et al.*, 2007; Lim *et al.*, 2007; Lim *et al.*, 2009a)인지 아니면 홍삼이 항상성 유지능력을 발휘하여 나타나는 효과 (Lim *et al.*, 2009b)인지 아니면 홍삼이 위 현상이 복합적으로 작용하여 나타나는 효과 (Hofseth & Wargovich, 2007)인지 그 메 카니즘에 관한 연구가 필요하리라 생각된다. 또한 홍삼조사포 닌 중에서 어느 성분이 위와 같은 효과를 나타내는데 중요하 게 작용하는지 더 세밀한 연구가 필요하리라 생각된다.

감사의 글

본 논문은 2008년도 충북대학교 학술연구지원사업의 연구 비 지원에 의하여 연구되었으며, 이에 감사한다.

LITERATURE CITED

- Akiyama K.** (2006). Gas chromatographic analysis and aerosol mass spectrometer measurement of diesel exhaust particles composition. *Talanta*. 70:178-181.
- Cho YS, Lee JT, Jung CH, Chun YS and Kim YS.** (2008). Relation between particulate matter measured by optical particle counter and mortality in Seoul, Korea, during 2001. *Journal of Environmental Health*. 71:37-43.
- Choi KT.** (2008). Botanical characteristics, pharmacological effects and medicinal components of Korean *Panax ginseng* CA Meyer. *Acta Pharmacologica Sinica*. 29:1109-1118.
- Finkelman FD, Yang M, Orekhova T, Clyne E, Nerbstein J, Whitekus M, Diaz-Sabchez D and Morris SC.** (2004). Diesel exhaust particles suppress in vivo IFN-gamma production by inhibiting cytokine effects on NK and NKT cells. *The Journal of Immunology*. 172:3808-3813.
- Finotto S, De Sanctis GT, Lehr HA, Herz U, Buerke M, Schipp M, Bartsch B, Atreya R, Schmitt E, Galle PR, Renz H and Neurath MF.** (2001). Treatment of allergic airway inflammation and hyperresponsiveness by antisense-induced local blockade of GATA-3 expression. *The Journal of Experimental Medicine*. 193:1247-1260.
- Gowdy K, Krantz QT, Daniels M, Linak WP, Jaspers I and Gilmour MI.** (2008). Modulation of pulmonary inflammatory responses and antimicrobial defenses in mice exposed to diesel exhaust. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 229:310-319.
- Hammond H, De Vries VC, Maldonado-Lopez R, Moser M, Maliszewski C, Hoogsteden HC and Lambrecht BN.** (2004). Differential capacity of CD8+ alpha or CD8- alpha dendritic cell subsets to prime for eosinophilic airway inflammation in the T-helper type 2-prone milieu of the lung. *Allergy*. 12:1834-1840.
- Hofseth LJ and Wargovich MJ.** (2007). Inflammation, cancer, and targets of ginseng. *Journal of Nutrition*. 137:183S-185S.
- Inoue KI, Koike E, Yanagisawa R and Takano H.** (2008). Effects of pulmonary exposure to diesel exhaust particles on extrathoracic CD4 polarization in ahmatic mice. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*. 28:1-6.
- Kang KA, Kang JH and Yang MP.** (2008). Ginseng total saponin enhances the phagocytic capacity of canine peripheral blood phagocytes in vitro. *The American Journal of Chinese Medicine*. 36:329-341.
- Kang KS, Yokozawa T, Yamabe N, Kim HY and Park JH.** (2007). ESR study on the structure and hydroxyl radical scavenging activity relationships of ginsenosides isolated from *Panax ginseng* C.A. Meyer. *Biological Pharmaceutical Bulletin*. 30:917-921.
- Kim YM.** (2006). Anti-allergic activity of oriental medicinal herbs. *Korean Journal of Medicinal Crop Science*. 14:282-288.
- Kumar RK, Webb DC, Herbert C and Foster PS.** (2006). Interferon- gamma as a possible target in chronic asthma. *Inflammation and Allergy - Drug Targets*. 5(4), 253-256
- Lim, BO, Park PJ, Park DK, Choi WS, Kim JD and Yu BP.** (2007). The influence of long-term also supplement on anti-oxidative defenses and cholesterol content in brain and kidney of aged rats. *Korean Journal of Medicinal Crop Science*. 15:352-356
- Lim HB.** (2007). Modulation of cytochrome P-450 induction by long-term supplementation with Korean red ginseng to rats. *Korean Journal of Medicinal Crop Science*. 15:437-443.
- Lim HB, Ichinose T, Miyabara Y, Takano H, Kumagai Y, Shimojyo N and Sagai M.** (1998). Involvement of superoxide and nitric oxide on airway inflammation and hyperresponsiveness induced by diesel exhaust particles in mice. *Free Radical Biology and Medicine*. 25:635-644.
- Lim HB and Lee DW.** (2002). Diesel exhaust particles and airway inflammation: effect of nitric oxide synthase inhibitors. *Journal of Korean Society for Atmospheric Environment*. 18:121-128.
- Lim HB and Lee DW.** (2006). The effect of Korean red ginseng water- extract on aging-related changes in the xenobiotic metabolizing enzyme system in the liver of rats. *Korean Journal of Medicinal Crop Science*. 14:329-335.
- Lim HB, Lee DW and Lee JS.** (2009a). Influence of long-term supplementation with Korean red ginseng on in vivo antioxidant capacities in rats. *Food Science and Biotechnology*. 18:234-238
- Lim S, Yoon JW, Choi SH, Cho BJ, Kim JT, Chang HS, Park HS, Park KS, Lee HK, Kim YB and Jang HC.** (2009b). Effect of ginsam, a vinegar extract from *Panax ginseng*, on body weight and glucose homeostasis in an obese insulin-resistant rat model. *Metabolism*. 58:8-15.
- Liu J, Ballaney M, Alalem U, Quan C, Jin X, Perera F, Chen LC and Miller RL.** (2008). Combined inhaled diesel exhaust particles and allergen exposure alter methylation of T healer

- genes and IgE production in vivo. *Toxicological Science*. 102:76-81.
- Li YJ, Takizawa H, Azuma A, Kohyama T, Yamauchi Y, Takahashi S, Yamamoto M, Kawada T, Kudoh S and Sugawara I.** (2008). Disruption of Nrf2 enhances susceptibility to airway inflammatory responses induced by low-dose diesel exhaust particles in mice. *Clinical Immunology*. 128:366-373.
- Nakajima H and Takatsu K.** (2007). Role of cytokines in allergic airway inflammation. *International Archives of Allergy and Immunology*. 142:265-273.
- Pawankar R, Lee KH, Nonaka N and Takizawa R.** (2007). Role of mast cells and basophils in chronic rhinosinusitis. *Clinical Allergy and Immunology*. 20:93-101.
- Ris C.** (2007). US EPA health assessment for diesel engine exhaust : a review. *Inhalation Toxicology*. 19:229-39.
- Sagai M, Saito H, Ichinose T, Kodama M and Mori Y.** (1993). Biological effects of diesel exhaust particles. I. *In vitro* production of superoxide and in vivo toxicity in mouse. *Free Radical Biology and Medicine*. 14:37-47.
- Sagai M, Furuyama A and Ichinose T.** (1996). Biological effects of diesel exhaust particles (DEP). III. Pathogenesis of asthma-like symptoms in mice. *Free Radical Biology and Medicine*. 21:199-209.
- Seo JJ, Lee JW, Lee WK, Hong JT, Lee MK and Oh KW.** (2008). Inhibitory effects of ginseng total saponin on up-regulation of cAMP pathway induced by repeated administration of morphine. *Archives of Pharmacological Research*. 31:167-170.
- Shen HH, Wang K, Li W, Ying YH, Gao GX, Li XB and Huang HQ.** (2008). Astragalus Membranaceus prevents airway hyperreactivity in mice related to Th2 response inhibition. *Journal of Ethnopharmacology*. 116:363-369.
- Shigh BB, Khorsan R, Vinjamury SP, Der-Martirosian C, Kizhakkeveetil A and Anderson TM.** (2007). Herbal treatments of asthma : a systematic review. *Journal of Asthma*. 44:685-698.
- Takano H, Lim HB, Miyabara Y, Ichinose T, Yoshikawa T and Sagai M.** (1999). Modulation of the L-arginine-nitric oxide pathway in airway inflammation induced by diesel exhaust particles in mice. *Toxicology*. 139:19-26
- Takizawa H.** (2003). Role of inflammatory cells in the development of airway inflammation. *Nippon Rinsho Journal*. 61:2107-2112.
- Theoharides TC and Kalogeromitros D.** (2006). The critical role of mast cells in allergy and inflammation. *Annals of New York Academy of Science*. 1088:78-99.
- Vig, RS, Forsythe P and Vliagoftis H.** (2006). The role of stress in asthma : insight from studies on the effect of acute and chronic stressors in models of airway inflammation. *Annals of New York Academy of Science*. 1088:65-77.
- Wichmann HE.** (2007). Diesel exhaust particles. *Inhalation Toxicology*. 19:241-244.
- Yang EJ, Lee JS, Yun CY, Kim JH, Kim JS, Kim DH and Kim IS.** (2008). Inhibitory effects of *Duchesnea chrysantha* extract on ovalbumin-induced lung inflammation in a mouse model of asthma. *Journal of Ethnopharmacology*. 118:102-107.