

# 고추 추출물의 경구 투여에 의한 피어스판 면역세포 활성화 작용

박민영 · 김동희 · 진미림\*

대전대학교 한의과대학 병리학교실

## Immunomodulatory Effects of Orally Administrated Capsicum Extract on Peyer's Patches

Minyoung Park, Dong Hee Kim, Mirim Jin\*

Laboratory of Pathology, College of Oriental Medicine, Daejeon University

We investigated whether oral administration with capsicum extract (*Capsicum annum* var. *cheongyang*) would affect the immune system by examining the immune cells of Peyer's patch (PP), a gut associated lymphoid tissue, *ex vivo*. The mice were orally administrated with capsicum extract (100 mg/kg/day), capsaicin (10 mg/Kg), and the vehicle for four consecutive days, and PPs were isolated from intestines 2 days later. When the PP cells were cultured in the presence of Concanavalin A for 72 hr, the levels of cytokines, including IL-2 and IFN- $\gamma$ , were dramatically increased, while the levels of IL-4 remained unchanged compared with the control. Data from the FACS analysis of PP cells indicated that capsicum extract significantly increased the number of CD3+ and CD4+ T cells as well as CD 19+ B cells compared with the control but not CD11b+ cells. Furthermore, the percentages of IL-2+ /CD4+ cells and IFN- $\gamma$ + /CD4+ were greatly increased. These data suggested that oraladministration with capsicum extract might activate the CD4+ T cells leading to cytokine production as well as CD19+ B cells in Peyer's patches. As such, capsicum extract might have potential as an immune modulating agent.

Key words : capsicum extract, Peyer's patch, cytokine, T cell, B cell

### 서 론

고추는 가지과의 한해살이풀에 속하는 고추 (*Capsicum annum* L.) 또는 그 변종의 열매로 원산지는 남미이다<sup>1)</sup>. 한의학 문헌에는 蕃椒, 苦椒, 秦椒, 辣椒, 등으로 불리고 있으며 氣는 熱하고 味는 辛이며 溫中散寒, 開胃, 消食의 효능이 있어 寒滯腹痛, 嘔吐, 瀉痢, 腫瘡 등을 치료한다고 하였다<sup>2)</sup>. 고추의 주요 생리 활성 성분으로는 매운맛 주성분인 캡산틴, 캡소루빈, 캡사이신 (trans-8-methyl-N-vanillyl-6-nonenanide) 과 같은 카로티노이드 색소, 당, 비타민, 유기산, 아미노산 등을 포함한 다양한 성분이 보고되었다<sup>3)</sup>.

고추는 일반적으로 식품으로 섭취하게 되며 생리 활성 성분들은 신체의 장관 면역 세포에 일차적으로 영향을 주게 된다. 피어스판 (Peyer's patch; PP) 은 신체의 장관에 존재하는 주요 면

역기관 (gut-associated lymphoid tissue; GALT) 으로 약 25% T 세포와 약 70%정도의 B 세포로 이루어져 있으며<sup>5)</sup> 약 1-3% 정도가 대식 세포인 것으로 여겨진다. 이중 T 세포는 중요 면역 조절 세포로서 보조 T 세포들은 IL-2, IFN- $\gamma$ , IL-4, IL-10 와 같은 다양한 사이토카인을 분비하여 면역반응을 일으키고 B 세포가 특이적인 항체를 생산하는 형질세포로 성숙하도록 유도한다. 다양한 자극에 반응하여 면역세포들은 림프소절의 종자 중심 (germinal center) 에서 분화하고 성숙하게 되며, 장으로부터 빠르게 이동하여 장관 림프절 (mesenteric lymph node, MLN) 을 거쳐 체내를 순환하게 된다<sup>4,6)</sup>. 고추 추출물을 경구 투여하였을 때 나타나는 면역계 조절작용에 대하여 OVA로 감작된 동물을 전 처리하였을 때 생체에서의 혈청 내 IgA 농도를 증가시켜 면역 증강 작용이 있다고 알려져 있다<sup>7)</sup>. 최근 연구에서는 고추 추출물과 캡사이신을 C57BL/6 생쥐에 경구투여 하면 T 세포 사이토카인 발현이 증가된다고 보고하였다<sup>5)</sup>. 그러나 피어스판 면역 세포군의 변화 및 활성 조절에 대하여는 자세히 보고된 바 없다.

본 연구에서는 고추 추출물을 경구 투여하였을 때 피어스판

\* 교신저자 : 진미림, 대전시 동구 용운동 96-3, 대전대학교 한의과대학

· E-mail : mirimj@dju.ac.kr, · Tel : 042-280-2679

· 접수 : 2010/05/25 · 수정 : 2010/06/05 · 채택 : 2010/06/14

에서 T, B 세포 및 대식세포군의 변화와 사이토카인 발현에 대하여 조사함으로써 고추 추출물의 장관 면역계 조절 작용을 세포 분자적 수준에서 이해하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 재료

#### 1) 동물

C57BL/6 생쥐 (male, 5주령) 는 대한바이오링크 (Korea) 에서 구입하였으며, 고형사료 (삼양사료 Co.) 와 물을 충분히 공급하고 실온  $22 \pm 2$  °C, 습도 50~70%, 조명시간 12시간 (08:00~20:00), 조도 150~300 Lux로 설정하여 1주일간 실험실 환경에 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 실험동물은 대전대학교 동물실험윤리위원의 승인 (DJUAR2009-031) 을 받아 실험하였다.

#### 2) 시약 및 기기

##### (1) 시약

본 실험에 사용된 시약으로 Capsaicin (Nature), concanavalin A, polyethylene glycol은 Sigma 사 (U.S.A) 제품을 사용하였으며, RPMI-1640 배양액, dulbecco's phosphate buffered saline (D-PBS), fetal bovine serum (FBS), penicillin and streptomycin은 Gibco사 제품을, mouse IL-2, IFN- $\gamma$ , IL-4 ELISA kit, BD Cytfix/Cytoperm Plus Fixation/Permeabilization Kit with BD Golgispot kit는 BD bioscience사 (U.S.A) 제품을, anti-CD3-PE, anti-CD4-FITC, anti-CD11b-FITC, anti-Interferon-gamma-PE는 BD pharmingen사 (U.S.A) 제품을 사용하였으며, anti-Interleukin-2-PE는 eBioscience사 (U.S.A) 제품을 사용하였고, 기타 시약은 특급 시약을 사용하였다.

##### (2) 기기

본 실험에 사용된 기기는 Microplate spectrophotometer (Molecular Devices, U.S.A), Flow cytometer (BD FACS Calibur, U.S.A), CO<sub>2</sub> incubator (Forma scientific Co., U.S.A), clean bench (Vision scientific Co., Korea), autoclave (Sanyo, Japan), micro-pipet (Gilson, France), water bath (Vision scientific Co., Korea), vortex mixer (Vision scientific Co., Korea), spectrophotometer (Shimadzu, Japan), centrifuge (Sigma, U.S.A) 등을 사용하였다.

### 2. 방법

#### 1) 시료 제조

전남대학교 친환경 농업단으로부터 제공받은 관행재배법에 의해 재배된 녹광 고추 (Capsicum annum var. cheongyang) 를 이용하여 약전의 추출법에 의거 하여 고추 추출물을 제조하였다. 삼각 플라스크에 고추 7 g에 80% 에탄올 150 ml을 가하고 밀봉한 다음 때때로 흔들면서 2일간 상온에서 침출하고 면포로 여과한 다음, 다시 잔류물에 80% 에탄올 150 ml을 가하여 흔들면서 상온에서 1일간 더 추출하였다. 모든 여액을 합하여 60-80°C에서 감압 농축하고 연조 엑스를 얻었으며 10 mg을 1 ml의 에탄올에 녹여 -20°C에 보관하였다. 캡사이신 (Sigma Co.) 과 고추 추출물은 폴리에틸렌글리콜 (Sigma Co.), 프레타놀 A (Duksan Co.), 3

차 증류수를 3 : 2 : 5 의 비율로 혼합한 용매에 넣었다. 혼합기로 잘 섞어 준 후 시험관에 분주하여 -20°C에 보관하였다.

#### 2) 시료 투여

C57BL/6 생쥐 5마리씩을 한 군으로 하여 용매만을 먹인 대조군 (용매 100  $\mu$ l), 캡사이신 (10 mg/kg/day) 을 먹인 양성 대조군, 고추 추출물 (100 mg/kg/day) 을 먹인 실험군으로 나누어 4 일 동안 매일 1회 각각 경구 투여하였다.

#### 3) 피어스판 면역세포 분리

시료를 4일 동안 투여한 후 이틀 후에 C57BL/6 마우스를 경추 탈구하여 치사시킨 후 소장벽에 부착되어 있는 피어스판을 잘라내어 dulbecco's phosphate buffered saline (D-PBS) 가 담겨져 있는 세포 배양용 페트리 접시에 옮기고, 나일론 체 (70 $\mu$ M) 위에서 피어스판의 조직을 갈아서 면역세포를 방출시켰다. 이 세포 현탁액을 PBS로 세척한 후 RPMI 1640-FBS (10% FBS 함유된 RPMI-1640) 배지를 이용하여 세포 농도를  $2.0 \times 10^6$  cells/ml 조정하여 세포용액을 조제하였다. 이를 12-well 플레이트에 1 ml 씩 분주한 후 5  $\mu$ g/ml Concanavalin A (Con A) 를 처리한 것과 안한 것으로 나누어 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 배양기에서 24시간 배양하였다.

#### 4) 사이토카인 측정

분리한 피어스판 세포들을 12-well plate에  $2.0 \times 10^6$  cells/ml 로 1 ml 씩 분주하고 Con A로 자극한 뒤 24시간 후에 상층액을 얻었다. 생쥐 IL-2, IFN- $\gamma$ , IL-4 ELISA kit (BD bioscience) 를 사용하여 제조사의 지시에 따라 코팅 항체를 마이크로웰에 100  $\mu$ l 씩 분주하고 4°C에서 16시간 두었다. 세포를 세척 용액으로 세척하고 Assay diluent를 200  $\mu$ l 씩 넣어서 1시간 동안 well을 막은 후 실온에서 배양하였다. 표준품을 희석하고 마이크로 플레이트를 세척하고 각 표준품과 상층액을 100  $\mu$ l 씩 넣었다. 2시간 동안 well을 막은 후 실온에서 배양하였다. 마이크로 플레이트를 세척하고 working detector를 만들어서 각 well에 100  $\mu$ l 씩 넣고 1시간 동안 well을 막은 후 실온에서 배양하였다. 마이크로 플레이트를 세척하고 기질 용액을 만들어서 각 well에 100  $\mu$ l 씩 넣고 30분 동안 어두운 곳에서 실온으로 배양하였다. Stop solution을 각 well에 50  $\mu$ l 씩 넣고 마이크로 스펙트로 포토미터 (Molecular Devices) 에서 흡광도 450 nm로 측정하였다.

#### 5) 세포내 사이토카인 염색 및 유세포 분석

분리한 피어스판 세포를 12-well plate에  $2.0 \times 10^6$  cells/ml 로 1 ml 씩 분주하고 Con A를 자극한 뒤 20시간 후에 골지스탑 (BD Pharmingen) 0.7  $\mu$ l 씩 각 well에 넣고 4시간 동안 배양했다. 플레이트를 염색 완충액 (SB) (D-PBS, 1% FBS, 0.09% sodium azide) 으로 세척한 후 원심분리 하여 튜브로 옮겼다. SB 50  $\mu$ l 에 anti-CD3-PE, anti-CD19-FITC, anti-CD4-FITC, anti-CD11b-FITC (BD pharmingen) 를 0.8  $\mu$ l 씩 넣고 4°C 어두운 곳에서 30분 동안 배양하였다. SB로 두 번 세척한 다음 원심분리 하여 상층액을 버린 뒤 고정/투과 용액 (BD pharmingen) 을 250  $\mu$ l 씩 넣고 4°C에서 20분 동안 배양하였다. 세척 완충액 (PB) 을 1 ml 씩 넣고 두 번 세척한 후 원심분리 하여 상층액을 버리고 PB 50  $\mu$ l 에 IL-2-PE (eBioscience), IFN- $\gamma$ -PE (BD pharmingen) 0.3  $\mu$ l 씩 넣고 4°C 어두운 곳에서 30분 동안 배양하였다. PB로 두 번

세척한 후 원심분리 하여 상층액을 버리고 SB로 섞어 주었다. 표면 염색과 세포내 염색을 한 피어스판 면역 세포들은 유세포 분석기 (BD FACS Calibur) 를 이용하여 총 20,000개의 세포를 분석하였다.

6) 통계 처리

각 실험군 결과 값은 unpaired student's T-test 통계프로그램을 사용하여 통계 처리하였으며, P<0.05 이하의 수준에서 유의성 검정을 실시하였다 (\*: p < 0.05, \*\*: p < 0.01, \*\*\*: p < 0.001).

결 과

1. 고추 추출물 경구 투여에 의한 피어스판 면역세포의 사이토카인 생성 유도 효과

고추 추출물의 경구투여가 피어스판 면역세포의 사이토카인 생성에 어떠한 영향을 주는지 알아보기 위해서 C57BL/6 생쥐에 고추 추출물을 100 mg/kg/day의 용량으로 4일 동안 경구 투여하였다. 대조군으로 용매 (100 µl) 를 투여하였으며, 캡사이신 (10 mg/kg/day) 은 양성 대조군으로 사용하였다. 2일 후 피어스판을 꺼내어 면역 세포들을 분리한 후, Con A (5 µg/ml) 로 자극을 주고 24시간 후 상등액에 분비된 사이토카인의 양을 ELISA 방법으로 측정하였다.

1) IL-2 생성에 미치는 효과

대조군의 피어스판에서 분리된 면역 세포들은 Con A의 자극에 상관없이 감지할 만한 IL-2를 생성할 수 없었으나 고추 추출물을 경구 투여한 생쥐에서 분리된 면역세포에서는 Con A로 인한 자극에 의해 IL-2 생성이 유의적으로 증가하였다. 고추 추출물을 투여한 군에서는 71.31 pg/ml, 캡사이신을 투여한 군에서는 21.86 pg/ml의 IL-2가 생산된 것을 확인하였다(Table 1).

2) IFN-γ 생성에 미치는 효과

대조군의 피어스판에서 분리된 면역 세포들은 Con A의 자극에 상관없이 감지할 만한 IFN-γ 를 생성할 수 없었으나 고추 추출물을 경구 투여한 생쥐에서 분리된 면역세포에서는 Con A로 인한 자극에 의해 IFN-γ 생성이 유의적으로 증가하였다. 고추 추출물을 투여한 군에서는 199.01 pg/ml, 캡사이신을 투여한 군에서는 57.92 pg/ml의 IFN-γ가 생산된 것을 확인하였다(Table 1).

3) IL-4 생성에 미치는 효과

모든 실험군에서 분리한 피어스판 면역 세포들은 Con A의 자극에 상관없이 감지할 만한 IL-4를 생성 할 수 없었다(Table 1).

Table 1. Effects of capsicum extract on various cytokine production in cultured PP cells *ex vivo*

Cytokine (pg/ml)	Group (Con A+)		
	Control	Capsaicin	Capsicum extract
IL-2	5.85 ± 0.35	57.92 ± 10.14*	199.00 ± 13.02*
IFN-γ	13.5 ± 0.59	21.86 ± 2.49	71.31 ± 0.51**
IL-4	-	-	-

Mice were orally treated with capsicum extract, capsaicin and vehicle (polyethylene glycol : prethanol A : distilled water = 3 : 2 : 5) once a day for 4 consecutive days. Following 2 days later peyer's patches were isolated from intestine. The PP cells were collected and cultured in the absence or presence of Con A for 24 hr. The levels of various cytokines in the culture supernatant were measured using ELISA kits. Values are expressed as the mean ±SD from three-independent experiments(\*: p <0.05, \*\*: p <0.01, \*\*\*: p <0.001).

2. 고추 추출물 경구 투여에 의한 피어스판 면역세포군에 미치는 효과

고추 추출물의 경구투여가 피어스판 면역세포군에 어떠한 영향을 주는지 알아보기 위해서 C57BL/6 생쥐에 고추 추출물과 캡사이신을 각각 100 mg/kg/day, 10 mg/kg/day의 용량으로 4일 동안 경구투여하고 2일 후 피어스판 세포들을 분리하여 Con A (5 µg/ml) 로 자극을 주고 24시간 후에 anti-CD3-PE 항체, anti-CD19-FITC 항체, anti-CD4-FITC 항체, anti-CD8-FITC 항체, anti-CD11b-FITC 항체로 염색하여 각각 CD3+ T세포, CD4+ T세포, CD8+ T세포, CD19+ B세포 및 대식 세포군의 변화를 유세포 분석기를 이용하여 조사하였다.

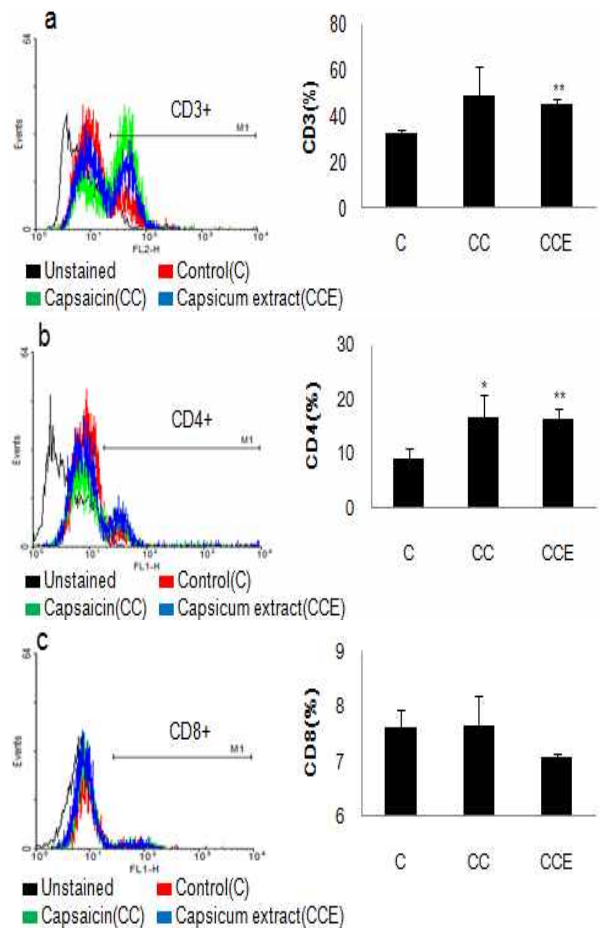


Fig. 1. Effects of capsicum extract on T cell populations in PP cells. Mice were orally treated with capsicum extract, capsaicin and vehicle (polyethylene glycol : prethanol A : distilled water = 3 : 2 : 5) once a day for 4 consecutive days. Following 2 days later Peyer's patches were isolated from intestine. The PP cells were collected and cultured in the presence of Con A for 24 hr. Panel A: The cells were stained with anti-CD3-PE antibody. Histograms are showing population of CD3+ cells, Panel B: The cells were stained with anti-CD4-FITC antibody. Histograms are showing population of CD4+ cells, Panel C: Cells were stained with anti-CD8-FITC antibody. Histograms are showing population of CD8+ cells. Values are expressed as the mean ±SD from three-independent experiments(\*: p <0.05, \*\*: p <0.01, \*\*\*: p <0.001).

1) T 세포군에 미치는 효과

고추 추출물을 투여한 생쥐의 피어스판 면역세포에서 CD3+ T세포군은 대조군에서 비하여 12.05%, 캡사이신을 투여한 군에

서는 15.86%가 증가하였다(Fig. 1a). CD4+ 보조 T 세포군은 고추 추출물을 투여한 경우에는 대조군에 비하여 7.34%, 캡사이신을 투여한 군에서는 약 7.57% 증가하였다(Fig. 1b). CD8+ 살해 T 세포군은 고추 추출물을 투여한 군과 캡사이신을 투여한 군 모두 대조군과 비슷한 정도로 유지되었다(Fig. 1c).

2) B 세포군에 미치는 효과

고추 추출물을 투여한 생쥐의 피어스판 면역세포에서 CD19+ B 세포군은 대조군에서 비하여 10.52%, 캡사이신을 투여한 군에서는 3.42%가 증가하였다(Fig. 2).

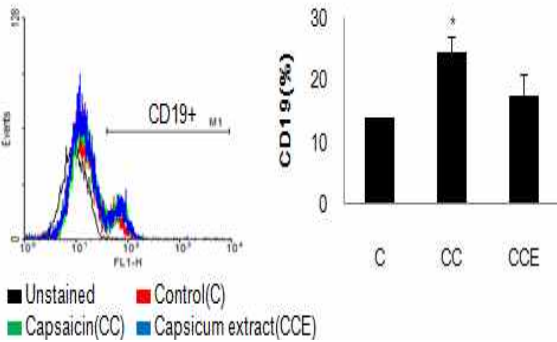


Fig. 2. Effects of capsicum extract, capsaicin and vehicle (polyethylene glycol : prethanol A : distilled water = 3 : 2 : 5) once a day for 4 consecutive days. Following 2 days later Peyer's patches were isolated from intestine. The PP cells were cultured in the presence of Con A for 24 hr. The cells were stained with anti-CD19-FITC antibody. Histograms are showing population of CD19+ cells. Values are expressed as the mean  $\pm$ SD from three-independent experiments(\*: p < 0.05, \*\*: p < 0.01, \*\*\*: p < 0.001).

3) 대식 세포군에 미치는 효과

고추 추출물 및 캡사이신을 투여한 생쥐에서 분리된 피어스판 면역세포에서 CD11b+ 대식세포군은 Con A로 인한 자극에 상관없이 모두 대조군과 비슷한 정도로 나타났었다(Fig. 3).

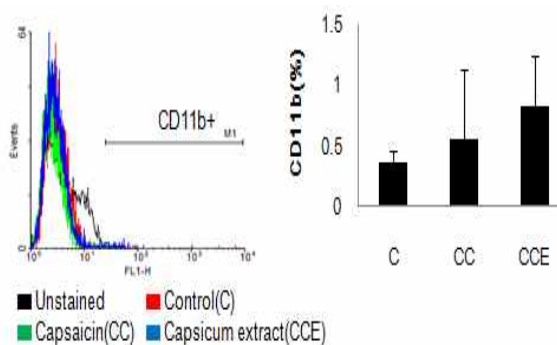


Fig. 3. Effects of capsicum extract on Macrophages in PP cells. Mice were orally treated with capsicum extract, capsaicin and vehicle (polyethylene glycol : prethanol A : distilled water = 3 : 2 : 5) once a day for 4 consecutive days. Following 2 days later Peyer's patches were isolated from intestine. The PP cells were collected and cultured in the presence of Con A for 24 hr. The cells were stained with anti-CD11b-FITC antibody. Histograms are showing population of Macrophage+ cells. Values are expressed as the mean  $\pm$ SD from three-independent experiments(\*: p < 0.05, \*\*: p < 0.01, \*\*\*: p < 0.001).

3. 사이토카인 생성 세포 규명

고추 추출물의 경구 투여에 의하여 피어스판에서 활성화되

어 사이토카인을 생성하는 세포를 규명하기 위하여 고유의 세포막 표지인자와 사이토카인 표지인자에 대한 이중 염색을 한 후 유세포 분석을 하여 조사하였다. T 세포 표지인자로는 CD3, 보조 T 세포와 세포 독성 T 세포 표지인자로는 각각 CD4와 CD8을 사용하였으며, 대식세포 표지인자로는 CD11b를 사용하였다. 고추 추출물 (100 mg/kg/day) 과 캡사이신 (10 mg/kg/day) 을 4일 동안 경구투여하고 2일 후 피어스판 면역 세포들을 분리하여 Con A (5  $\mu$ g/ml) 로 자극한 뒤 20시간 후에 사이토카인이 세포 밖으로 분비되는 것을 억제하기 위하여 골지스탑 (0.7  $\mu$ l) 을 각 well에 넣고 4시간 후에 anti-CD4-FITC 항체와 anti-IL-2-PE, anti-CD4-FITC 항체와 anti-IFN- $\gamma$ -PE 항체 또는 anti-CD11b-FITC항체와 anti-IL-2-PE, anti-CD11b-FITC 항체와 anti-IFN- $\gamma$ -PE 항체를 이용하여 이중 염색을 시행하고 유세포 분석기를 이용하여 조사하였다.

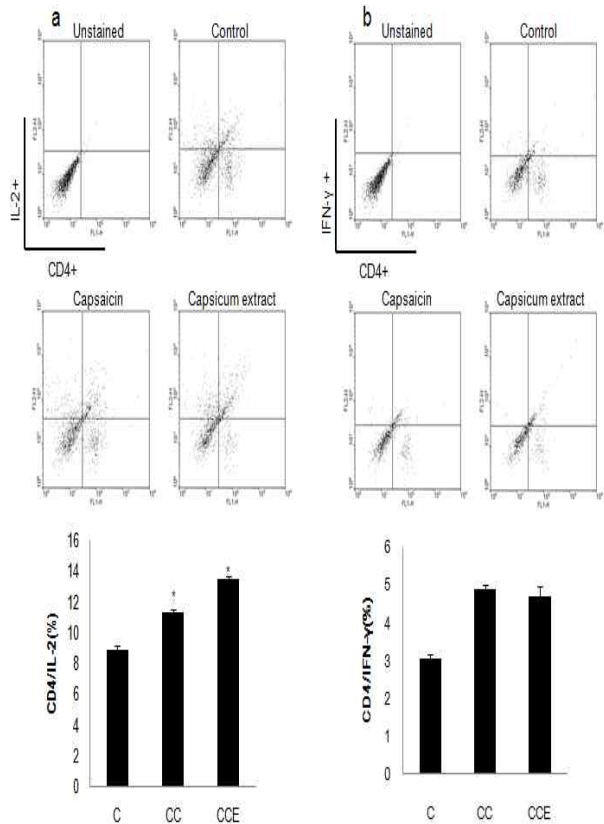


Fig. 4. Effects of capsicum extract on IL-2 and IFN- $\gamma$  production in the PP CD4+ cells. Mice were orally treated with capsicum extract, capsaicin and vehicle (polyethylene glycol : prethanol A : distilled water = 3 : 2 : 5) once a day for 4 consecutive days. Following 2 days later Peyer's patches were isolated from intestine. The PP cells were collected and cultured in the presence of Con A for 24 hr. Golgistop was treated for last 4h of incubation. The cells were stained with anti-CD4-FITC, fixed, permeabilized, and then the cells stained with anti-IL-2-PE or anti-IFN- $\gamma$ -PE. The dot plots show the co-expression of CD4, IL-2 or CD4, IFN- $\gamma$ . Numbers inside quadrants represent percentages of gated lymphocytes. Panel A: Percentages of co-expressed of CD4 and IL-2, panel B: Percentages of co-expressed of CD4 and IFN- $\gamma$ . Values are expressed as the mean  $\pm$ SD from three-independent experiments(\*: p < 0.05, \*\*: p < 0.01, \*\*\*: p < 0.001).

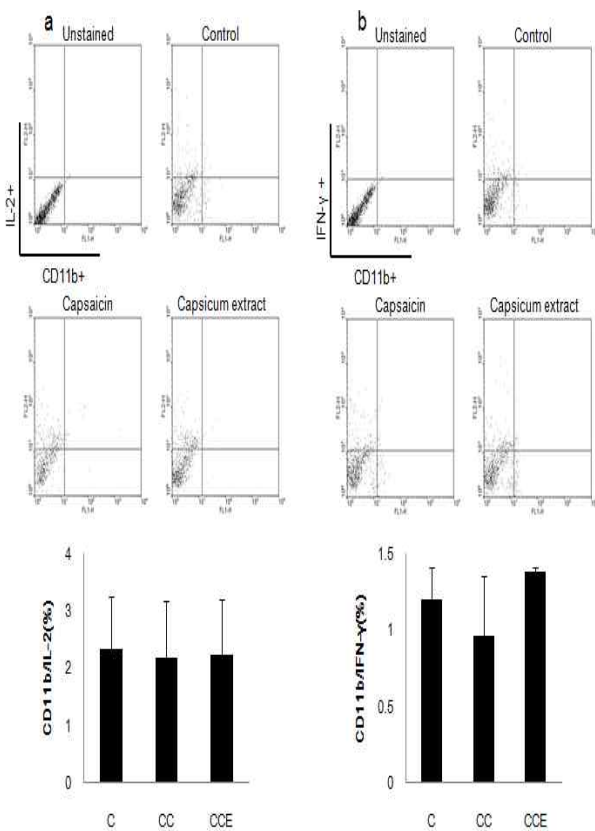
1) CD4+ T 세포의 사이토카인 생성에 미치는 효과

대조군의 생쥐에서 분리한 CD4+ T 세포 중 IL-2와 IFN- $\gamma$ 를

생성하는 세포군은 Con A의 자극과 상관없이 유세포 분석기에 의해 감지 할 수 없었다. 반면 고추 추출물과 캡사이신을 경구 투여한 생쥐에서 분리된 면역세포를 Con A로 자극하면 IL-2를 생산하는 CD4+ T 세포가 각각 4.57% 와 2.44% 증가하였으며 IFN- $\gamma$ 를 생성하는 CD4+ T세포는 각각 1.66% 와 1.83% 증가하였다(Fig. 4).

2) 대식세포의 사이토카인 생성에 미치는 효과

대조군의 생쥐에서 분리한 CD 11b+ 세포 중 IL-2와 IFN- $\gamma$ 를 생성하는 세포군은 Con A의 자극과 상관없이 유세포 분석기에 의해 감지 할 수 없었다. 고추 추출물과 캡사이신을 경구 투여한 생쥐에서 분리된 CD 11b+ 세포를 Con A로 자극하였을 때 IL-2나 IFN- $\gamma$ 를 생성하는 세포군이 증가하지 않았다(Fig. 5).



**Fig. 5. Effects of capsaicin extract on IL-2 and IFN- $\gamma$  production in the PP CD11b+ cells.** Mice were orally treated with capsaicin extract, capsaicin and vehicle (polyethylene glycol : prethanol A : distilled water = 3 : 2 : 5) once a day for 4 consecutive days. Following 2 days later Peyer's patches were isolated from intestine. The PP cells were collected and cultured in the presence of Con A for 24 hr. Golgistop was treated for last 4h of incubation. The cells were stained with anti-CD11b-FITC, fixed, permeabilized, and then the cells stained with anti-IL-2-PE or anti-IFN- $\gamma$ -PE. The dot plots show the co-expression of CD11b, IL-2 or CD11b, IFN- $\gamma$ . Numbers inside quadrants represent percentages of gated lymphocytes. Panel A: Percentages of co-expressed of CD11b and IL-2, panel B: Percentages of co-expressed of CD11b and IFN- $\gamma$ . Values are expressed as the mean  $\pm$ SD from three-independent experiments(\*: p <0.05, \*\*: p <0.01, \*\*\*: p <0.001).

고찰

한의학에서는 고추의 성질이 뜨겁고 맵기 때문에 평소 몸이

차서 소화 장애를 일으키는 사람에게는 매운 맛이 소화를 촉진시키고 침샘과 위샘을 자극해 위산 분비를 촉진시켜 소화장애를 치료하며 진통효과가 있기 때문에 신경통 치료에 쓰인다고 알려져 있다. 또한 점액을 묽게 하여 가래를 몸 밖으로 쉽게 배출해주는 거담작용이 있다고 알려져 있다<sup>2)</sup>. 한약학적 연구 결과들은 고추 추출물이 항염증, 항암, 항비만, 항산화 작용이 있다고 보고하였다<sup>8-10)</sup>.

최근에는 고추 추출물의 면역 조절 작용에 대하여도 연구되고 있다<sup>5,7)</sup>. 고추 추출물과 캡사이신을 T 세포에 처리하면 세포의 갈슘 유입 수용력을 조절하여 IL-2의 생산이 억제 된다고 알려졌으며, 피어스판 세포에 직접 처리했을 때 IL-2와 IFN- $\gamma$ 의 생산을 억제했다<sup>11,12)</sup>. 반면에 고추 추출물의 경구 투여를 통한 *ex vivo* 실험에서는 IL-2와 IFN- $\gamma$ 의 생산을 증가시킨다고 보고하였다<sup>9)</sup>.

본 연구는 이러한 상반된 결과에 대하여 고추 추출물의 면역역계의 조절 작용 연구를 생체 시스템을 대상으로 하여 좀 더 자세히 연구하기 위하여 수행되었다.

본 연구에서는 생쥐에 고추 추출물의 경구투여가 피어스판의 IL-2와 IFN- $\gamma$ 의 생산을 상당히 증가시키는 반면 IL-4의 생산을 증가시키지 못한 것을 확인하였다(Table 1). 또한 피어스판의 T 세포군중 CD3+, CD4+ 세포군과 B 세포군을 증가시켰으나 CD8+ 세포군과 CD11b+ 세포군에는 영향을 미치지 못했다(Fig. 1-3). 이 결과들을 기반으로 하여 피어스판의 CD4+ 세포군에서 IL-2와 IFN- $\gamma$ 의 생성군이 증가한 것을 확인하였으며 CD11b+ 세포군에서는 IL-2와 IFN- $\gamma$ 의 생성군에 영향을 미치지 못한 것을 확인하였다(Fig. 4-5). 이러한 결과들은 피어스판의 Th1 면역체계가 활성화될 가능성을 시사한다.

우리 신체 장관은 환경으로부터의 여러 가지 항원에 끊임없이 노출되며 식품을 섭취했을 때 직접적으로 작용할 수 있는 부위이다. 이중 피어스판은 전신의 림프절이나 비장과는 독립된 면역 조직계를 형성하고 있으며 장내세포에 존재하는 M 세포를 통해서 항원을 인지한다<sup>13)</sup>. 피어스판의 T 세포는 사이토카인을 분비하여 면역 활성을 조절 하는데 IL-2는 T 세포에 있는 IL-2 수용체와 결합하여 T 세포 자신을 활성화 하며 또한 B 세포, 자연 살해 세포 등을 활성화 시키고, IFN- $\gamma$ 는 세포독성 T 세포의 증식을 도와주고 자연 살해 세포의 활성을 도와주어 항바이러스나 항암작용을 나타낼 뿐 아니라 Th2 세포에 작용하여 IL-4의 생산을 억제하는 등 다른 세포의 기능을 증가 또는 억제하는 효과를 모두 가지고 있다<sup>14)</sup>. 피어스판에서 항원에 의한 자극을 받았을 때 IL-2와 IFN- $\gamma$ 의 생산이 CD4 T 세포에서 증가되었다는 것은 IL-2의 증가로 인한 미성숙 T 세포가 보조 T 세포로 성숙하는 것을 돕는 동시에 IFN- $\gamma$ 의 생산을 늘리고, 생산된 IFN- $\gamma$ 는 신체 내의 자연 살해 세포, B 세포, 세포독성 T 세포, 대식세포 등을 활성화시켜 면역시스템을 강화 할 수 있다는 것을 의미한다. 피어스판에서 항원에 의해 자극을 받은 B 세포는 림프소절의 종자 중심에서 IgM에서 IgA를 생산하는 B 세포로 성숙되며 이들은 점막으로 이동하여 형질세포로 분화한 후 IgA를 분비하여 항원과 반응한다<sup>4,6)</sup>. Nilsson G의 연구 결과 고추 추출물의 경구 투여가 IgA 생산 증가 작용을 나타낸다고 하였다<sup>7)</sup>.

본 연구에서는 고추 추출물을 투여한 생쥐의 피어스판에서는 B 세포군의 수가 증가한 것을 관찰한 바, 고추 추출물의 투여가 B 세포 증식 유도과 IL-2 생성 등을 통하여 항체 생산 증가에 기여하였을 것으로 추측되며 이에 대한 연구를 더욱 진행할 필요가 있다. 본 연구에서 캡사이신만을 투여한 생쥐보다 고추 추출물을 투여한 생쥐의 피어스판의 CD4+ T 세포에서 IL-2와 IFN- $\gamma$ 의 생산이 증가한 결과를 얻었다. 고추 추출물에 존재하는 베타 카로테노이드 ( $\beta$ -carotene) 와 같은 생리 활성 물질이 캡사이신과 유사하게 IL-2와 IFN- $\gamma$ 의 생산을 증가시킨다는<sup>9)</sup> 연구 결과를 고려하면, 고추 추출물에는 캡사이신 이외의 다양한 생리 활성 성분들이 면역 조절 작용을 나타낼 수 있음을 시사한다. 향후 이에 대한 연구가 진행되면 고추의 면역계 조절 작용을 더욱 자세히 이해하게 될 것이며 식품 유래의 면역 조절제의 유용한 원료로 사용 될 수 있을 것으로 생각된다.

## 결 론

고추 추출물을 경구 투여한 생쥐의 피어스판 면역세포에서 IL-2와 IFN- $\gamma$ 의 생산이 증가하였으나 IL-4의 생산에는 영향을 주지 않았다. 고추 추출물을 경구 투여한 생쥐의 피어스판 면역 세포군을 분석한 결과 대조군에 비하여 T 세포 (CD3+, CD4+ 세포) 와 B 세포 (CD19+ 세포) 의 증식이 유도 되었으나 대식세포 (CD11b+ 세포) 에는 영향을 주지 않았다. IL-2와 IFN- $\gamma$ 를 분비하는 면역 세포를 이중 염색에 의한 유세포 분석법을 이용하여 규명한 결과, 보조 T 세포 (CD4+) 에서 사이토카인의 생성이 증가하는 것을 확인하였다. 이상의 결과들은 고추 추출물이 경구로 투여 되었을 때 장관 면역계를 활성화하여 다양한 면역 조절 작용을 나타낼 가능성을 제시한다.

## 감사의 글

본 연구는 농림수산식품부 농림기술개발사업의 지원과 지식경제부 지정 대전대학교 난치성면역질환의 동서생명의학연구 지역혁신센터의 지원에 의한 것입니다.

## 참고문헌

1. 농촌진흥청 농업생명공학연구원. 유전자원 특성조사 및 관리요령 REP PEPPER 고추, 3, 2004.
2. 중앙대사전편찬위원회, 완역중앙대사전 2권. 서울, 정담, pp 668-670, 1997.
3. Chiang, G.H. HPLC analysis of capsaicins and simultaneous determination capsaicins and piperine by

- HPLC-ECD and UV. J. Food Sci, 51: 499, 1986.
4. Mowat, A.M. Anatomical basis of tolerance and immunity to intestinal antigens. Nat Rev Immunol, 3(4):331-341, 2003.
5. Takano, F., Yamaguchi, M., Takada, S., Shoda, S., Yahagi, N., Takahashi, T., Ohta, T. Capsicum ethanol extracts and capsaicin enhance interleukin-2 and interferon-gamma production in cultured murine Peyer's patch cells *ex vivo* Life Sci, 80(17):1553-1563, 2007.
6. Cerutti, A., Rescigno, M. The biology of intestinal immunoglobulin A responses. Immunity, 28(6):740-750, 2008.
7. Nilsson, G., Alving, K., Ahlstedt, S. Effects on immune responses in rats after neuromanipulation with capsaicin. Int J Immunopharmacol, 13(1):21-26, 1991.
8. Diepvens, K., Westerterp, K.R., Westerterp-Plantenga, M.S. Obesity and thermogenesis related to the consumption of caffeine, ephedrine, capsaicin, and green tea. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 292(1):77-85, 2007.
9. 박재승, 최두영, 하현주, 임선영, 하대유. Capsaicin이 Cytokines과 Nitric Oxide 생산, Salmonella 감염 및 NF- $\kappa$ B 활성화에 미치는 영향. Korean J. Immunol, 20(3):349-363, 1998.
10. Kim, J.D., Kim, J.M., Pyo, J.O., Kim, S.Y., Kim, B.S., Yu, R., Han, I.S. Capsaicin can alter the expression of tumor forming-related genes which might be followed by induction of apoptosis of a Korean stomach cancer cell line. SNU-1, Cancer Lett, 9, 120(2):235-241, 1997.
11. Gertsch, J., Güttinger, M., Sticher, O., Heilmann, J. Relative quantification of mRNA levels in Jurkat T cells with RT-real time-PCR (RT-rt-PCR): new possibilities for the screening of anti-inflammatory and cytotoxic compounds. Pharm Res, 19(8):1236-1243, 2002.
12. Fischer, B.S., Qin, D., Kim, K., McDonald, T.V. Capsaicin inhibits Jurkat T-cell activation by blocking calcium entry current I(CRAC). J Pharmacol Exp Ther, 299(1):238-246, 2001.
13. Yoshida, T., Hachimura, S., Ishimori, M., Kinugasa, F., Ise, W., Totsuka, M., Ametani, A., Kaminogawa, S. Antigen presentation by Peyer's patch cells can induce both Th1- and Th2-type responses depending on antigen dosage, but a different cytokine response pattern from that of spleen cells. Biosci Biotechnol Biochem, 66(5):963-969, 2002.
14. David, M., Jonathan, B., David, B.R., Ivan, R. Immunology seventh edition. USA, Mosby. p 157, 160, 197, 224, 235, 247, 267, 522, 523, 2006.