



Anti-inflammatory Effect of Quercetin on Picryl Chloride-induced Contact Dermatitis in BALB/c Mice

Hyeong-Jin Kim¹, Jin Kim¹, So-Jung Kim¹, Seung-Ho Lee¹, Young-Seok Park¹, Byung-Kwon Park¹,
Byeong-Soo Kim¹, Sang-Ki Kim¹, Sung-Dae Cho², Ji-Won Jung³, Jeong-Seok Nam⁴,
Changsun Choi⁵ and Ji-Youn Jung^{1*}

¹Department of Companion and Laboratory Animal Science, Kongju National University, Yesan, Korea

²Department of Oral Pathology, School of Dentistry, Chonbuk National University, Jeonju, Korea

³Division of Intractable diseases, Center for Biomedical Sciences, National Institute of Health, Seoul, Korea

⁴Laboratory of Tumor Suppressor, Lee Gil Ya Cancer and Diabetes Institute, Gachon University of Medicine and Science, Incheon, Korea

⁵Department of Food and Nutrition, College of Human Ecology, Chung-Ang University, Anseong, Korea

In this study, we investigated that anti-inflammatory effect of quercetin on picryl chloride(PCL)-induced contact dermatitis in BALB/c Mice. Experimental animals were divided into three groups and comprising five animals. All groups of oral administration was begun on the first day of PCL treatment and ceased on day 5. For the induction of contact dermatitis, BALB/c mice were sensitized with 40 μ L of 1.5% picryl chloride (PCL) to the left and right ear, respectively. Ear swelling responses were much weaker in high-dose group (100 mg/kg) than control group (0 mg/kg). Total serum IgE levels and histamine levels were measured by sandwich ELISA method using mouse IgE, histamine measuring Kit. Both total serum IgE and histamine levels were significantly decreased in high-dose group (100 mg/kg) than other groups. Degranulation of mast cells were also confirmed by Toluidine Blue (TB) staining method. In high-dose group (100 mg/kg), the number of mast cells were significantly decreased and there are many mast cells were shown degranulation in control group (0 mg/kg). All of these results demonstrate that the pharmacological actions of quercetin indicate their potential activity for allergic inflammatory diseases through the down-regulation of mast cell activation.

Key words: Quercetin, picryl chloride, contact dermatitis, IgE, histamine

(Received 8 October 2009; Revised version received 5 March 2010; Accepted 10 March 2010)

알러지성 접촉피부염은 최근 산업발달로 인하여 합성 물질의 범람과 환경오염의 급증으로 발병이 빈번하게 일어나는 질병으로(Kim *et al.*, 1998), 다양한 원인 물질에 대하여 인체가 과민한 반응을 보이면서 가벼운 가려움증에서부터 천식에 의한 심한 호흡곤란에 이르기까지 매우 다양한 형태의 증상을 나타내는데(Lee *et al.*, 2002), 유아기에 시작하여 성인기까지 지속되는 경우가 대부분이며 소아의 발병률은 성인보다 높아 소아의 만성병 중에서 가장 중요하고 유병률이 높은 질환중의 하나로 그 중요성이 커지고 있다(Park *et al.*, 1998).

알러지성 접촉 피부염은 특정 항원인 allergen에 재차 노출됨으로서 발병하게 된다. 이러한 알러지성 접촉피부염의 발병은 T 림프구와 대식세포 등에 의해서 발생되는 세포 매개형 과민반응으로, 항원과 접촉 시 수 시간에서 72시간 사이에 비교적 늦게 염증 반응이 시작되기 때문에 지연형 과민반응(delayed type hypersensitivity)이라고 부른다(Yin *et al.*, 2008). 알러지성 접촉피부염에 관여하는 중추적인 세포는 도움 T 림프구(helper T lymphocytes)로서, 이 세포의 활성화(activation)·증식(proliferation)에 의해 항원 특이적 세포 독성 T 림프구(antigen-specific cytotoxic T lymphocytes)의 생산과 다양한 특이성 작동기 전의 활성화 등 항원에 대한 특이반응이 일어난다. T 림프구 활성화와 증식에 필요한 피부항원을 전달하는 항원제공 세포(antigen presenting cell)는 표피내의 랑게르한스 세포(Langerhans cells)로서 피부를 통해 들어온 다양한 종류의 항원(대부분 분자량이 600 M.W. 이하인 hapten)은 상피

*Corresponding author: Ji-Youn Jung, Department of Companion and Laboratory Animal Science, Kongju National University, Yesan Chungnam, 340-702, Korea
Tel: +82-41-330-1526
Fax: +82-41-330-1529
E-mail: wangza@kongju.ac.kr

의 운반 단백질과 결합된 후 항원제공세포로 전달된다 (Boerrigter et al., 1988; Rees et al., 1990). 그리고 항원을 탑재한 항원제공세포는 림프관을 통해 국소 림프절로 이동하여 naive T 림프구에 항원을 전달하여 감작(sensitization)을 일으키며(Cumberbatch et al., 1990), 1차 감작된 T 림프구는 흉관(thoracic duct)을 통해 순환계로 들어가 recirculating lymphocyte pool로 합류하거나 특정 림프성 기관에 위치하게 된다. 항원에 감작된 후 항원 인식능력이 있는 채로 오랫동안 생존해 있는 기억 T 림프구(memory T lymphocytes)는 recirculating lymphocytes pool에서 postcapillary venules를 통해 조직 내로 이동하게 된다. 이때 기억 T 림프구가 원래 항원이 존재했던 특정 조직으로 유주하는 원리는 내피세포 복귀 수용체(endothelial homing receptors)의 선별적 선택에 의해 이뤄진다. 특정조직으로 유주한 감작 기억 T 림프구는 표피 혹은 진피에서 랑게르한스 세포나 진피 수지상세포(dermal dendritic cell)로부터 항원을 전달받아 빠르고 강력한 2차 면역반응을 유발하여 알러지성 접촉피부염을 일으키게 된다고 보고되고 있다.

알러지성 접촉피부염 유발 과정 중 림프절 내에서 일어나는 세포성 면역연쇄를 보면 외부항원을 인지한 항원제공세포는 외부항원의 내재화(internalization)를 거친 후 항원제공을 위해 항원노출 주변 림프절의 paracortex까지 이동(migration)하게 되며, 그 결과 제공된 항원은 림프절 내의 도움 T 림프구의 T cell receptor (TCR)에 의해 인식되어 autocrine interleukin 2 (IL-2)를 비롯한 cytokine 분비를 통한 면역 활성이 일어난다. cytokine분비에 의해 면역 활성화된 세포독성 T 림프구, 항원 특이성 기억 T 림프구(TCR⁺ CD4⁻ IL-2R⁻ DR⁻ T lymphocyte)는 혈관계를 통해 항원 노출지역으로 이동(homing)하여 세포성 면역반응을 일으킨다(Baadsgaard et al., 1991; Cooper et al., 1994; Li-weber et al., 2002; Acuto et al., 2003).

비만세포는 알러지 반응 중에 일어나는 다양한 생리학적, 면역학적, 병리학적 과정 즉 창상치유, 혈관생성, 기생충과 신생물에 대한 숙주의 반응, 급·만성 염증 및 immunoglobulin E (IgE) 매개 즉발성 과민 반응에 관여한다(Suh et al., 2004). 최근 연구에서 compound 48/80은 비만세포에서 O₂를 생성한다고 보고되고 있는데(Lee et al., 1992), 이런 결과들은 비만세포의 역할이 염증의 유도뿐 아니라 염증 조직에서 국소 순환 조절에 의한 면역 과정의 조절에도 중요한 역할을 하는 것을 알 수 있다(Peden and Dailey, 1995).

최근 알러지성 접촉피부염의 치료제로 부신피질 호르몬제 및 항히스타민제가 사용되고 있으나 이러한 치료제를 장기간 투여할 경우 여러 가지 부작용이 보고되고 있어 이에 대한 새로운 치료제의 개발이 필요한 실정이며, 특히 항 알러지제의 개발과 관련된 재료로서 천연재료인

약용식물이 우선적으로 선택되고 있다(Tasaka, 1986).

Quercetin은 flavonoid 물질의 하나로 flavanol 계통에 속하며, 과일이나 다류에 주로 들어 있는데, 특히 양파에 많이 들어있는 것으로 알려져 있다(Formica et al., 1995). 미국에서는 개인별 하루 평균 25 mg을 섭취하는 것으로 알려져 있는데(Lamson et al., 1991), 이렇듯 식물성 식품에 존재하는 quercetin의 섭취되는 양으로 보아 flavonoid의 대표적인 물질로 인정받고 있다(Park et al., 2006). Quercetin의 약리효과는 *in vivo* 및 *in vitro* model에서 다양하게 규명되어 왔으며, 과산화지질(Cavallini et al., 1978) 및 발암성 물질의 활성감소(Edenhader et al., 1996), 혈압강하, 모세혈관 강화작용(Daniel et al., 2003) 그리고 항균효과(Kimura et al., 1984) 등이 알려져 있다.

Flavonoid는 항염증 및 면역조절활성화 기능을 가지는 것으로 알려져 있는데(Middleton et al., 1993; Kim et al., 2004), 특정한 flavones/flavonoids들은 C-ring 2,3-double bond를 가지며 이것이 체내에서 mitogen-induced lymphoblastosis 중 특히 T-cell의 분화를 억제 시키는데, B-cell은 영향을 받지 않는다고 보고되었다(Mookerjee et al., 1986; Hirano et al., 1989; Namgoong et al., 1994).

본 연구에서는 quercetin이 접촉성 피부 알러지에 미치는 영향을 알아보기 위해 접촉성 피부염을 유발시키는 화학물질로 알려진 picryl chloride(PCL)을 female BALB/c mice의 귀에 격일로 총 세 번 감작시켜 유발시키는 을 유발시키고, PCL감작이 시작된 날부터 미리 설정한 농도 별로 quercetin을 매일 1회 5일간 5회 경구 투여하여 대조군과 비교함으로써 quercetin의 접촉성 피부 알러지 효능을 알아보았다.

재료 및 방법

실험동물

본 실험에 사용된 7주령의 암컷 BALB/c (30±5 g) 마우스는 오리엔트바이오(경기도 성남)로부터 구입하여 사용하였고, 실험에 앞서 일주일동안 공주대학교 특수동물학과 실험 동물실에서 순화기간을 거친 뒤 실험에 사용하였다. 모든 실험동물은 실험동물용 고품사료(샘타코바이오코리아, 경기도)와 여과된 정제수를 자유섭취 시켰고, 표준적인 사육조건으로써 온도 23±2°C, 상대습도 50±10%, 환기회수 10~12회/hr, 조명 시간 12시간(06:00AM~18:00PM), 조도 150-300 lux로 설정된 공주대학교 특수동물학과 실험동물실에서 실험을 실시하였다. 동물실험은 공주대학교 동물실험윤리위원회의 사전 심의를 받아 동물실험윤리위원회 규정에 따라 수행 되었다.

접촉성 피부염의 유발

Picryl chloride (PCL, Fluka, MO, USA)은 olive oil과

acetone을 1:4의 비율로 섞은 용매(OA)에 1.5%의 농도로 희석한 후 사용 하였으며, 접촉성 피부염을 유발시키기 위해 PCL을 BALB/c mice의 왼쪽과 오른쪽 귀의 내·외부 표피에 각각 40 μ L씩 격일로 총 세 번 감작시켜 알러지 반응을 유발시키고, PCL감작이 시작된 날부터 미리 설정한 농도별로 quercetin을 매일 1회 5일간 5회 경구 투여하여 대조군과 비교함으로써 quercetin의 접촉성 피부 알러지 효능을 알아보았다.

시료투여

실험동물은 총 30마리를 사용 하였으며, PCL 감작 후 시간대별 귀의 두께 변화를 측정하기 위한 그룹과 IgE 및 histamine의 농도가 가장 높은 시간대에 혈청 및 조직을 채취하기 위한 그룹으로 나누어 각각 군당 5마리씩 3개의 군으로 대조군(0 mg/kg), 저용량군(50 mg/kg), 고용량군(100 mg/kg)으로 설정하여 실험을 진행 하였다. 실험에 사용된 quercetin (Sigma, MO, USA)은 투여 농도별로 각각 5% 에탄올에 현탁시켜 대조군(0 mg/kg), 저용량군(50 mg/kg), 고용량군(100 mg/kg)의 농도로 투여 농도별로 0.2 mL/kg씩 일정한 시간에 경구투여를 실시하였다.

Ear swelling 측정

1.5% 농도의 PCL 40 μ L를 BALB/c mice의 왼쪽과 오른쪽 귀의 내·외부 표피에 감작시켜 접촉성 피부염을 유발하고 0, 3, 6, 9, 12, 18, 24시간 경과 시 각 시간대별로 버니어캘리퍼스(vernier calipers)를 이용하여 귀의 두께를 측정하여 두께의 변화를 확인 하였다. 귀의 두께는 PCL 감작 직전 귀의 두께와 감작 후 각 시간대별 귀의 두께 차이를 평가하여 판단하였다.

혈청채취

염증성 매개 물질의 농도가 최고치에 도달하는 시점에 혈청을 얻기 위해 PCL 감작 후 시간에 따른 귀의 두께 변화를 측정한 그룹에서 PCL 감작 후 3시간 경과 시 귀의 두께가 최고치에 도달하는 것을 확인 하였다. 따라서 PCL 감작 후 3시간대에 부검을 실시하였으며, 마취 상태에서 복대동맥으로부터 혈액을 채취하여 1시간 동안 상온에 두어 응고시킨 후, 원심분리(3,000 rpm, 15분, 26°C)하여 얻은 혈청을 냉동보관(-70°C)하였다.

IgE Level 측정

냉동보관(-70°C)중인 혈청을 측정 전 해동하여 사용하였으며, IgE ELISA Kit (SHIBAYAGI, Gunma, Japan)를 이용하여 IgE 농도를 측정 하였다. Antibody가 코팅된 well에 IgE standard solution과 sample을 각각 50 μ L씩 넣어 2시간 동안 반응시킨 후 biotin-conjugated anti-IgE antibody solution을 50 μ L씩 넣어 2시간 동안 실온에서 반응시키

고, HRP-avidin solution을 50 μ L씩 넣어 1시간 동안 반응시켰다. 마지막으로 chromogenic substrate (TMB) reagent를 50 μ L씩 넣어 20분 동안 반응시킨 후 reaction stopping solution를 50 μ L씩 넣어 반응을 종료하고 450 nm 파장으로 ELISA reader (Molecular Devices Emax, USA)을 이용해 흡광도를 측정하였다.

Histamine Level 측정

Quercetin의 경구투여에 따른 Histamine의 농도 변화를 측정하기 위해 냉동보관(-70°C)한 혈청을 해동하여 Histamine EIA kit (SPI-BIO, Bretonneux, France)으로 농도를 측정하였다. polypropylene tube에 standard와 혈청을 각각 200 μ L씩 넣고 derivatization buffer와 derivatization reagent를 50 μ L, 20 μ L씩 첨가하여 vortex mixing 하였다. Antibody가 코팅된 well에 standard와 serum을 100 μ L씩 넣고 histamine-AChE tracer를 100 μ L씩 넣어 4°C에서 24시간 동안 반응시켰다. 반응이 끝나면 Ellmans reagent를 200 μ L씩 넣고 빛을 차단한 후 상온에서 1시간 동안 반응하여 ELISA (Molecular Devices Emax, USA)를 이용해 405 nm 파장으로 흡광도를 측정하였다.

조직병리학적 검사

Quercetin의 경구 투여로 인한 mast cell 및 피부종창에 미치는 영향과 독성병리학적 검사를 위해 PCL 감작 후 귀의 두께가 최고치에 도달하는 3시간대에 부검을 실시하여 귀, 간 및 신장을 적출해 10% 포르말린에 7일간 고정하고 자동조직처리기(Shandon, Tokyo, Japan)에서 탈수 및 파라핀 침투과정을 거친 후, 파라핀 포매기(Shandon, Tokyo, Japan)로 포매 하였다. 5 μ m두께로 조직절편을 제작하였고, Hematoxylin & Eosin (H&E) 염색과 Toluidine blue (TB) 염색을 실시하여 피부 조직을 광학현미경으로 관찰하여 표피와 진피에서의 병변 및 비만세포의 탈 과립 유무를 확인하였다.

통계처리

본 연구의 모든 실험결과 수치는 Mean \pm SE로 표시하였고, one way ANOVA에 의해 $P < 0.05$ 수준에서 유의성 여부를 검증하였으며, 유의성이 나타날 경우 Duncan's multiple range test로 검증 하였다.

결과 및 고찰

Ear swelling 변화

PCL 감작에 따른 접촉성 피부 알러지 반응에 quercetin의 경구투여가 미치는 영향을 알아보기 위해 PCL 감작 후 quercetin을 기 설정한 농도별로 대조군(0 mg/kg), 저용량군(50 mg/kg), 고용량군(100 mg/kg)의 농도로 경구투여

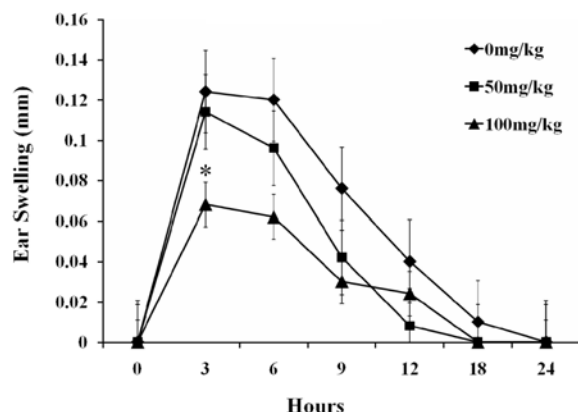


Figure 1. Ear swelling responses in BALB/c mice at 0, 3, 6, 9, 12, 18, 24 hr following the sensitization with PCL to the ear. Each value was expressed as Mean \pm SE of 5 BALB/c mice. *Significantly different from 0 mg/kg group at $P<0.05$.

한 후 귀 두께 변화를 측정하였다(Figure 1). 모든 군에서 PCL감작 3시간 경과 후 알러지의 유발 정도가 가장 심하게 나타났으며, 5일간 세 번에 걸친 반복적인 PCL감작에 따라 최종 PCL 감작 후에는 귀의 두께 증가폭이 눈에 띄게 증가하는 경향을 보였고, 홍반, 가피를 동반한 심한 부종 등 피부염의 전형적인 증상이 나타났다. Quercetin의 예방효능을 알아본 선행 실험에서 보다 상대적으로 PCL 감작 후 귀 두께가 두꺼워진 것을 확인할 수 있었는데, 이는 반복적인 PCL 감작이 접촉성 피부 알러지 반응을 강하게 증가시킨 것으로 판단된다. PCL 감작 3시간 경과 후 귀 두께는 점차 얇아져 24시간 후에는 모든 군에서 귀의 두께가 큰 폭으로 감소되었다. 5일間に 걸친 세 번의 PCL 감작 후 3시간 경과 시 귀의 두께는 대조군 0.124 mm, 저용량군 0.114 mm, 고용량군 0.068 mm으로 고용량군에서 가장 낮은 수준의 귀 두께를 보였다(Figure 1). PCL을 감작한 귀의 표면에서는 감작 후 3시간 경과 시 부종이 나타나기 시작하고, 6시간 경과 후 염증세포의 침윤이 관찰되며, 호중구의 침윤은 진피조직에서도 관찰된다고 보고되어 있다(Ikeda *et al.*, 2000; Jung *et al.*, 2004). 이번 실험에서 귀의 두께 변화를 관찰한 결과 PCL 감작 3시간 경과 시 모든 실험군의 귀 조직에서 강한 ear swelling 반응이 나타났으며, 각 군에서 ear swelling 반응이 가장 높게 나타나는 시간대의 귀 두께를 대조군과 비교해 봤을 때, 100 mg/kg 농도로 quercetin을 투여한 군에서 농도 유의적으로 ear swelling 반응을 억제시키는 것으로 확인 되었다. 따라서 접촉성 피부 알러지 증상의 완화에 quercetin의 섭취가 효과적일 것으로 판단된다.

IgE level 변화 측정

PCL 감작을 통해 접촉성 피부 알러지 유발기간 동안

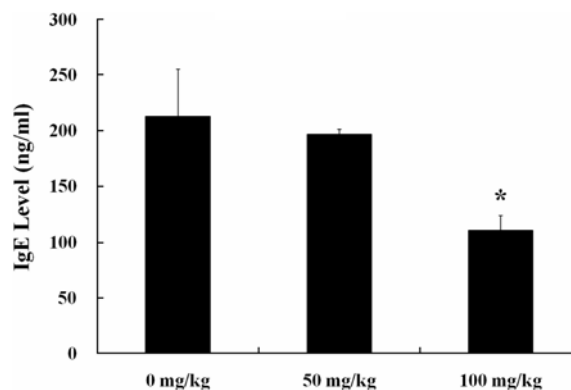


Figure 2. Total serum IgE levels in female BALB/c mice at 3 hr after application with PCL. Each value was expressed as Mean \pm SE of 5 BALB/c mice. *Significantly different from 0 mg/kg group at $P<0.05$.

quercetin을 매일 1회 5일간 5회에 걸쳐 5번 경구투여하고, 귀의 두께가 최고치에 이르는 시점에 혈청을 수거하여 혈청 내 IgE 농도를 측정한 결과(Figure 2), 혈청 내 IgE 수치는 대조군(0 mg/kg) 212.59 ng/mL, 저용량군(50 mg/kg) 196.70 ng/mL, 고용량군(100 mg/kg) 110.73 ng/mL으로 quercetin 고농도로 투여한 군에서 대조군과 비교하여 유의적으로 낮은 수준의 IgE 수치를 보였다.

IgE 특이항체의 농도 측정은 알러지 감작의 정확한 표식자이며 알러지 노출 정도 및 기간과 관련이 있고, 원인 항원의 회피로 IgE 특이항체의 농도의 감소를 가져온다고 보고되고 있다(Kim *et al.*, 2003). IgE는 Fc 수용체를 가진 비만세포를 자극하여 다양한 생리활성 물질의 분비를 유도함으로써 알러지 반응을 일으키며, IgE의 생산은 활성화한 Th2 세포가 IL-4를 생산하여 B림프구의 isotype switching을 유도함으로써 가능하게 되므로(Dekruyff *et al.*, 1989), 혈청내 IgE 농도는 알러지 증상을 나타내는 중요한 지표가 된다.

복분자 물 추출물의 기도 과민반응 및 염증의 억제 효과 실험에서는 투여군에서 IL-4 생산을 억제하여 Th2 세포 반응을 억제함으로써 IgE 농도가 대조군에 비해 유의하게 감소하고, 염증 반응이 억제되는 것이 확인 되었다(Park *et al.*, 2007; Park *et al.*, 2008). 또한 quercetin은 nuclear factor-KappaB와 같은 전사인자에 영향을 주어 염증에 관련된 cytokine을 조절한다(Mainardi *et al.*, 2009). 이러한 염증반응과 관련이 있는 cytokine의 조절은 위의 실험 결과에서 저용량군(50 mg/kg), 고용량군(100 mg/kg)의 IgE 수치가 대조군(0 mg/kg)에 비해 유의적으로 낮은 수준을 보이고 있는 것과 같은 결과이며 quercetin이 IgE의 생산을 억제하여 비만세포로부터 염증 반응과 관련이 있는 cytokine의 방출을 저해해 대효과가 나타난 것으로 사료된다.

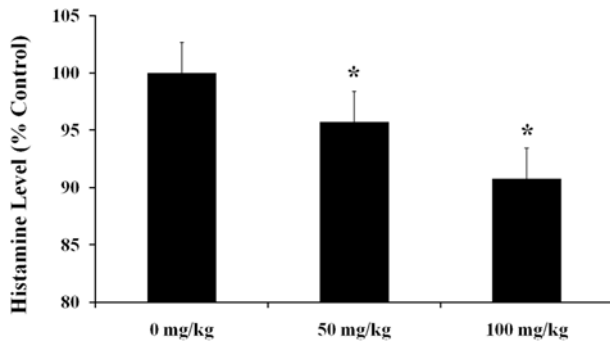


Figure 3. Total serum Histamine levels in female BALB/c mice at 3 hr after application with PCL. Each value was expressed as Mean \pm SE of 5 BALB/c mice. *Significantly different from 0 mg/kg group at $P<0.05$.

Histamine level 측정

PCL 감작을 통해 접촉성 피부 알러지를 유발한 후 quercetin을 5일간에 걸쳐 5번 경구투여하고, 귀의 두께가 최고치에 이르는 시간대에 수거한 혈청을 이용하여 혈청 내 histamine 농도를 측정하였다(Figure 3). 대조군의 Histamine 수치를 100%로 기준하여 quercetin을 50 mg/kg을 투여한 저용량군은 95.69%, 100 mg/kg투여한 고용량군은 90.77%의 수치를 나타냈다.

알러지 질환에서 호산구와 호염기구는 혈액 내의 중요

한 작동세포(effector cell)로써 각각 히스타민과 major basic protein과 같은 화학매체를 분비하여 알러지 염증을 유발한다(Kim et al., 2001). 복강 비만세포 부유액에 compound 48/80을 처리하였을 때 히스타민 유리율에 비해 PEM381을 전 처리한 경우에서 히스타민 유리율의 억제 가 보였고, 히스타민 유리를 억제함으로써 알러지 반응을 억제하는 것으로 나타났다(Choi et al., 2001).

이상의 결과로 보아 quercetin의 경구 투여시 알러지가 유발된 질환동물모델에서 IgE의 수치가 투여하지 않은 대조군에 비해 유의적인 감소를 보였고, 그 결과 비만세포의 활성을 저해하여, 알러지 유발 대조군과 비교시 상대적으로 histamine의 유리를 감소시켜 알러지 반응을 효과적으로 감소시키는데 quercetin이 중요한 역할을 하는 것으로 판단된다.

조직병리학적 결과

PCL 감작을 통해 접촉성 피부 알러지를 유발한 후 quercetin을 매일 1회 5일간 5회에 걸쳐 경구투여 하고, 귀의 두께가 최고치에 이르는 시점에 부검을 진행 하였다. H&E 염색과 TB 염색을 위해 귀, 간 및 신장을 적출하고 파라핀 블록을 만들어 광학현미경을 이용하여 200 배의 배율로 조직을 관찰한 결과(Figure 4) quercetin을 투여하지 않은 대조군의 귀 두께가 quercetin을 고용도로

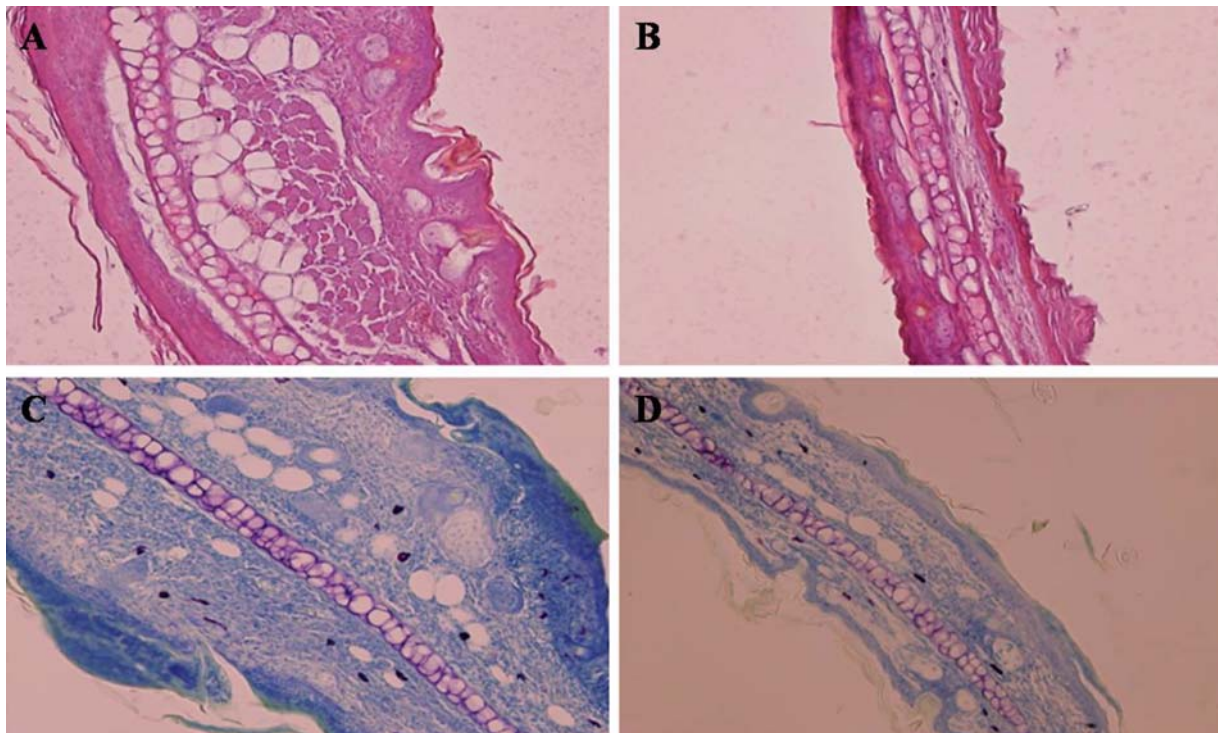


Figure 4. Ear skin of 0 mg/kg group (A, C) and 100 mg/kg quercetin group (B, D) in BALB/c mice at 3 hr after application with PCL. (A) Intradermal edema with prominent inflammatory cell infiltration. H&E, $\times 200$. (B) Less severe changes are seen compared with (A). H&E, $\times 200$. (C) There are many mast cells including those showing degranulation. TB $\times 200$. (D) Mast cells show less degranulation compared with (C). TB $\times 200$.

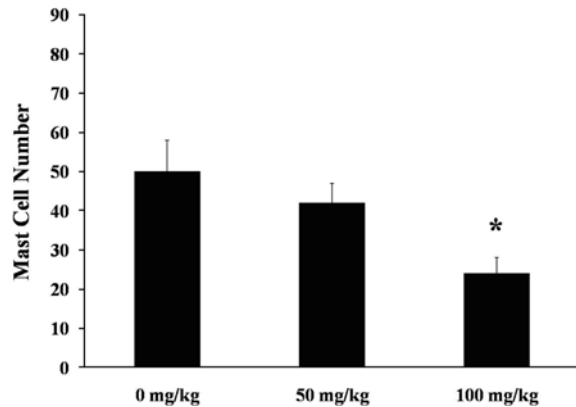


Figure 5. The number of mast cells in female BALB/c mice at 3 hr after application with PCL. Each value was expressed as Mean±SE of 5 BALB/c mice. *Significantly different from 0 mg/kg group at $P<0.05$.

투여한 군의 귀 두께보다 큰 폭으로 두꺼워진 것을 확인할 수 있었다. PCL을 감작한 귀 조직에서는 감작 3시간 경과 시에 염증세포의 침윤을 동반한 edema가 가장 심하게 나타나며 침윤세포는 호중구뿐만 아니라 비만세포, 단핵구, 호산구들로 구성된다(Park et al., 2008).

이번 실험 결과에서도 PCL을 감작한 대조군에서는 감작 3시간 경과 후 비만세포들이 다량으로 관찰되었으나, 100 mg/kg 농도의 quercetin을 투여한 고용량군에서는 대조군에 비해 적은 수의 비만세포들이 관찰 되었다(Figure 5).

비만세포는 오랫동안 알러지에 관여하는 것으로 알려져 왔으며(Kim, 2008), 항원이 신체에 들어오면 수지상세포, 대식세포, B 세포 등과 같은 항원제시세포가 항원을 포식하여 MHC-II와 함께 세포 표면에 노출하게 되는데, 특히 기생충이나 알러지 유발물질(allergen)이 항원으로 작용하면 B 세포가 활성화되어 항원 특이적 IgE가 생성되고, 이 IgE가 비만세포의 세포막에 있는 고친화성 IgE 수용체에 결합하게 된다. 이러한 반응을 비만세포의 감작(sensitization)이라고 부른다. 감작된 비만세포에 항원이 노출되게 되면 항원이 비만세포 막에 있는 IgE에 결합하여 IgE를 교차결합(Cross-link) 시키게 되고 이로 인해 비만세포의 과립이 엑소사이토시스(exocytosis) 되는 탈과립이 발생하여 여러 가지 매개물질들이 방출된다(Henz et al., 2001; Metz et al., 2007). 비만세포는 IgE 의존성 면역반응뿐만 아니라 IgE 비의존성 면역반응에도 관여하며, 수지상세포, B 세포, T 세포와 상호작용함으로써 선천성 면역에서 획득면역으로 변화된다(Nakae et al., 2006). 비만세포는 알러지 반응 중에 일어나는 다양한 생리학, 면역학적, 병리학 과정 즉, 창상 치유, 혈관 생성, 기생충과 신생물에 대한 숙주의 반응 급·만성 염증 및 IgE 매개 즉발성 과민 반응에 관여하는데 이런 비만세포의 수

가 적다는 것은 상대적으로 대조군에 비해 고용량군에서 알러지 반응이 적게 일어났다고 판단되고, quercetin이 알러지의 치료에 효과가 있는 것으로 판단된다. 한편 간과 신장에 미치는 영향을 알아보기 위한 육안적, 조직병리학적 관찰에서 quercetin을 투여한 실험군 모두 조직병리학적 이상 소견이 나타나지 않았다.

감사의 글

이 논문은 2008년 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국학술진흥재단의 지원을 받아 수행된 연구(KRF-2008-331-E00378)이며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

- Acuto, O. and Michel, F. (2003) CD28-mediated co-stimulation: a quantitative support for TCR signalling. *Nat. Rev. Immunol.* 3, 939-951.
- Baadsgaard, O. and Wang, T. (1991) Immune regulation in allergic and irritant skin reactions. *Int. J. Dermatol.* 30, 161-172.
- Boerrigter, G.H., Bril, H. and Scheper, R.J. (1988) Hapten-specific antibodies in allergic contact dermatitis in the guinea pig. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.* 85, 385-391.
- Cavallini, L., Bindoli, A. and Siliprandi, N. (1978) Comparative evaluation of antiperoxidative action of silymarin and other flavonoids. *Pharmacol. Res. Commun.* 10, 133-136.
- Choi, Y.G., Kim, S.H., Lim, J.P., Kim, D.K., Eom, D.O., Lee, K.B. and Kim, S.Y. (2001) Inhibitory effect of *Salvia plebeia* on compound 48/80-induced immediate hypersensitivity reaction. *Kor. J. Pharmacogn.* 32, 297-301.
- Cooper, K.D. (1994) Atopic dermatitis: recent trends in pathogenesis and therapy. *J. Invest. Dermatol.* 102, 128-137.
- Cumberbatch, M. and Kimber, I. (1990) Phenotypic characteristics of antigen-bearing cells in the draining lymph nodes of contact sensitized mice. *Immunology.* 71, 404-410.
- Daniel, R.S., Devi, K.S., Augusti, K.T. and Sudhakaran Nair, C.R. (2003) Mechanism of action of antiatherogenic and related effects of ficus bengalensis linn. flavonoids in experimental animals. *Indian. J. Exp. Biol.* 41(4), 296-303.
- DeKruyff, R.H., Turner, T., Abrams, J.S., Palladino, MA, Jr. and Umetsu, D.T. (1989) Induction of human IgE synthesis by CD4+ T cell clones. Requirement for interleukin 4 and low molecular weight B cell growth factor. *J. Exp. Med.* 170, 1477-1493.
- Edenharder, R. and Tang, X. (1997) Inhibition of the mutagenicity of 2-nitrofluorene, 3-nitrofluoranthene and 1-nitropyrene by vitamins, porphyrins and related compounds, and vegetable and fruit juices and solvent extracts. *Food. Chem. Toxicol.* 35(3), 373-378.
- Formica, J.V. and Regelson, W. (1995) Review of the biology of quercetin and related bioflavonoids. *Food. Chem. Toxicol.* 33, 1061-1080.
- Henz, B.M., Maurer, M., Lippert, U., Worm, M. and Babina, M. (2001) Mast cells as initiators of immunity and host defense. *Exp. Dermatol.* 10(1), 1-10.
- Hirano, T., Oka, K., Kawashima, E. and Akiba, M. (1989) Effects of synthetic and naturally-occurring flavonoids on mitogen-induced proliferation of human peripheral-blood lymphocytes. *Life. Sci.* 45, 1407-1411.
- Hwang, S.O. and Lee, K.L. (2005) Identification of calcium/calmodulin-dependent phosphatase as the dephosphorylating

- enzyme of IgE-dependent histamine-releasing factor in RBL-2H3. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* 33, 189-193.
- Ikeda, M., Kuroki, K., Suzuki, H., Nakayama, H., Saegusa, J. and Doi, K. (2000) Picryl chloride-induced allergic dermatitis in Iq/I^jic female mice. *Exp. Toxicol. Pathol.* 52(3), 235-240.
- Jung, J.Y., Saegusa, J., Nakayama, H. and Doi, K. (2004) Comparative study on picryl chloride (PCL)-induced contact dermatitis in female Iq/I^jic and BALB/c mice. *Exp. Anim.* 53, 89-96.
- Kim, B.S., Kim, J.H., Lee, S.Y. and Hong, S.J. (2003) Influence of conventional immunotherapy with D.f and D.p on eosinophil, specific IgE, skin test reactivity, and airway hyperreactivity in house dust mite sensitive asthmatic children. *Pediatr. Allergy. Respir. Dis.* 13(1), 8-16.
- Kim, H.P., Son, K.H., Chang, H.W. and Kang, S.S. (2004) Anti-inflammatory plant flavonoids and cellular action mechanisms. *J. Pharmacol. Sci.* 96, 229-245.
- Kim, J.T., Ahn, S.H., Park, I.S., Chung, J.M. and Kim, H.H. (1998) Immunohistochemical study on the activation of cell mediated immunity in murine lymph node on allergic contact dermatitis by DNCB. *DJIOM.* 7, 33-44.
- Kim, M.J., Choi, I.W., Ahn, S.C., Shin, Y.K., Yeom, S.R. and Park, Y.M. (2008) Quercetin regulates Th1/Th2 balance in a murine model of asthma. *Int. Immunopharmacol.* 9, 261-267.
- Kimura, M. and Yamada, H. (1984) Interaction in the antibacterial activity of flavonoids from sophora japonica L. to propionibacterium. *Yakugaku. Zasshi.* 104, 340-346.
- Kim, Y.H. (2008) The role of mast cells in innate and adaptive immunity. *J. Life Sci.* 18, 891-896.
- Lamson, D.W. and Brignall, M.S. (2000) Antioxidants and cancer, part 3: quercetin. *Altern. Med. Rev.* 5(3), 196-208.
- Lee, B.S., Yun, D.W. and Chung, H.T. (1992) Effects of various cytokines on the product ion of reactive oxygen intermediates murine macrophage. *Kor. J. Immunol.* 14(2), 213-219.
- Lee, S.H., Seon, N. H., Lee, S.S., Chul, A.H., Yoon, H.K., Soo, P.J. and Sik, P.C. (2002) Positive of specific-allergen antibody and its relation in patients with allergic disease. *J. Soonchunhyang. Med. Coll.* 8, 133-141.
- Li-weber, M., Giasi, M., Treiber, M.K. and Krammer, P.H. (2002) The anti-inflammatory sesquiterpene lactone parthenolide suppresses IL-4 gene expression in peripheral blood T cells. *Eur. J. Immunol.* 32, 3587-3597.
- Mainardi, T., Kapoor, S. and Bielory, L. (2009) Complementary and alternative medicine: herbs, phytochemicals and vitamins and their immunologic effects. *J. Allergy. Clin. Immunol.* 123, 283-294.
- Metz, M. and Maurer, M. (2007) Mast cells-key effector cells in immune responses. *Trends. Immunol.* 28, 234-241.
- Middleton, E., Mookerjee, B.K., Lee, T.P., Logue, G.P. and Lippes, H.A. (1986) The effects of flavonoids on human lymphocyte proliferative responses. In *Plant Flavonoids in Biology and Medicine: Biochemical, Pharmacological and Structure-activity Relationships.*, pp. 511-520, Alan R. Liss, New York.
- Nakae, S., Suto, H., Ikura, M., Kakurai, M., Sedgwick, J.D., Tsai, M. and Galli, S.J. (2006) Mast cells enhance T cell activation: Importance of mast cell costimulatory molecules and secreted TNF. *J. Immunol.* 176, 2238-2248.
- Namgoong, S.Y., Son, K.H., Chang, H.W., Kang, S.S. and Kim, H.P. (1994) Effects of naturally occurring flavonoids on mitogen-induced lymphocyte proliferation and mixed lymphocyte culture. *Life Sci.* 54, 313-320.
- Park, D.S., Kim, H.H. and Lee, J.S. (1998) The significance of family history, Immunoglobulin E, total eosinophils and eosinophil cationic protein as a predictor of allergic diseases. *J. Korean. Pediatr. Soc.* 41, 1273-1282.
- Park, H.H., Lee, S.Y., Son, H.Y., Park, S.B., Kim, M.S., Choi, E.J., Singh, T.S., Ha, J.H., Lee, M.G., Kim, J.E., Hyun, M.C., Kwon, T.K., Kim, Y.H. and Kim, S.H. (2008) Flavonoids inhibit histamine release and expression of proinflammatory cytokines in mast cells. *Arch. Pharm. Res.* 31, 1303-1311.
- Park, H.J., Lee, C.M., Jung, I.D., Lee, J.S., Jeong, Y.I., Chang, J.H., Chun, S.H., Kim, M.J., Kim, B.S., Park, I.S. and Pyun, B.Y. (2001) Comparative study for detection of specific IgE in allergic disease; skin prick test, RAST, and dipstick test. *Pediatr. Allergy. Respir. Dis.* 11, 233-239.
- Park, M.C., Kim, K.J., Lee, H.S., Jo, E.H. (2007) Attenuation of airway hyperreactivity (AHR) and inflammation by water extract of *Rubus coreanus* M₁₀ (WRCM). *Korean. Oriental. Medical. Ophthalmology & Otolaryngology & Dermatology.* 20(1), 177-194.
- Park, S., Jung, S.H. and An, E.N. (2006) The effect of exercise preconditioning and quercetin on animal model of ischemic brain damage. *Korean. J. Exercise. Nutrition.* 10(3), 315-321.
- Peden, D.B. and Dailey, L. (1995) Modulation of mast cell functions by *in vitro* ozone exposure. *Am. J. Physiol.* 4, 902-910.
- Rees, J.L., Friedmann, P.S. and Matthews, J.N. (1990) The influence of area of application on sensitization by dinitrochlorobenzene. *Br. J. Dermatol.* 122, 29-31.
- Suh, K.S., Kwon, M.S. and Cho, J.S. (2004) Anti-anaphylactic effects of natural extract compound(AllerQ) in the rats. *J. East. Asian. Soc. Dietary. Life.* 14(5), 425-437.
- Tasaka, K. (1986) Antiallergic drugs. *Drugs of Today.* 22, 101-133.
- Yin, Y., Gong, F.Y., Wu, X.X., Sun, Y., Li, Y.H., Chen, T. and Wu, Q. (2008) Anti-inflammatory and immunosuppressive effect of flavones isolated from *Artemisia vestita*. *J. Ethnopharmacol.* 120, 1-6.