

원저

肛腸療法에 의한 丹蔘抽出液의 알레르기반응 抑制效果

趙正衍\* · 文錫哉\* · 文九\* · 元秦喜\* · 金炯珉\*\*

ABSTRACT

Inhibitory Effects of Allergic Reaction of  
Aqueous Extract of Salviae Radix Root by Anal Therapy

Jung Youn-Cho\*, Seok Jae-Moon\*, Goo-Moon\*, Jin Hee-Won\*, Hyung Min-Kim\*\*

\*Dept. of Internal Medicine, College of Oriental Medicine Wonkwang University, Iksan, Korea.

\*\*College of Pharmacy Wonkwang University, Iksan, Korea.

Dansam, the root of *Salvia miltiorrhiza* BGE. (Labiatae), has a bitter and a slightly 'cold' property, and is nontoxic. It has been used for the treatment of diseases such as tumors, bruises, gynecologic diseases, menoxenia, anemia and so forth.

As an oriental medicine pathway, anal therapy has many kinds of treatments. Retention enema is one the most useful, advantageous methods of anal therapy.

This experiment was performed in order to study the effect of an aqueous extract of *Salviae radix* root(SRRAE) on Immediate type allergic reaction by Retention enema.

The results were obtained as follows.

1. SRRAE inhibited compound 48/80-induced Immediate type allergic reaction 100% with the dose of 0.1g/kg by anal treatment. However, SRRAE showed no significant inhibitory effect on the same reaction by oral treatment. When mice were pretreated with SRRAE at a concentration ranging from 0.001 to 1.0g/kg, by intra-anal treatment, the serum histamine levels were reduced in a dose-dependent manner.

2. SRRAE also inhibited by 79.8% local cutaneous allergic reaction activated by anti-dinitrophenyl (DNP) IgE.

3. SRRAE dose-dependently inhibited the histamine release from rat peritoneal mast cells(RPMC) by anti-DNP IgE., but SRRAE not inhibited compound 48/80-induced histamine release.

4. SRRAE dose-dependently inhibited tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) production from RPMC by anti-DNP IgE. Moreover, the level of cAMP in RPMC, when SRRAE was added, significantly increased compared with that of a normal control.

According to the above results, anal therapy(Retention enema) of SRRAE may be beneficial in the treatment of systemic and local Immediate type allergic reactions.

---

Key word : Anal Therapy, Retention enema, SRRAE, allergic reaction.

---

\* 원광대학교 한의과대학 비계내과학교실

\*\* 원광대학교 약학대학 한약학과

## 접수일: 99. 3. 31    연락처: 조정연 T. 062-670-6407

## I. 서 론

最近에 韓藥物의 投與方法을 多樣化하기 위한 여러 가지 方法들이 試圖되고 있는데, 이는 特定疾病에 대한 治療效果를 높이기 위한 것이다. 특히 肛腸療法중 가장 많이 活用되고 있는 保留灌腸은 使用이 簡便하고 副作用이 적으며 效果가 뛰어나서 그 活用도가 점점 增加하고 있다<sup>1-3)</sup>.

保留灌腸은 煎湯한 韓藥을 大腸에 灌入하여 疾病을 治療하는 方法으로 특히 小兒, 韓藥 服用을 꺼리는 사람, 消化器障得가 있는 사람, 嚥下困難이나 極甚한 嘔吐 등에 活用할 수 있다<sup>1-2)</sup>. 中國에서는 이미 難治病이나 慢性病 등에 使用하고 있는데, 이에 관한 臨床報告들<sup>11-14)</sup>과 많은 書籍들<sup>2,15-18)</sup>이 出版되었다.

丹蔘(*Salvia miltiorrhiza* BGE.)<sup>3-7)</sup>은 꿀풀과(脣形科, Labiatae)에 속한 多年生 草本인 丹蔘 및 同屬 近緣植物의 根으로, 《神農本草經》<sup>6)</sup>에 “味苦微寒 主心腹邪氣 腸鳴幽幽如走水 寒熱 積聚 破癥 除瘕 止煩滿 益氣.” 라고 氣味와 效能이 記錄된 후 臨床적으로 月經不調, 血滯經閉, 產後腹痛, 癥瘕積聚, 瘡癰腫痛, 心悸失眠 등의 治療에 活血祛瘀 및 養血安神 하는데 使用하고 있다<sup>3-8)</sup>.

丹蔘의 藥理作用은 心血管血流量增加<sup>21-22)</sup>, 微細循環改善<sup>21-23)</sup>, 肝纖維組織增殖抑制<sup>24)</sup>, 鎮痛鎮靜<sup>22,25-27)</sup>, 抗菌<sup>22,24,26)</sup>, 血壓降下<sup>21-23,25-28)</sup>, 造血<sup>29-30)</sup>, 抗癌<sup>21-22,31-32)</sup>, 그리고 最近에는 免疫增強效果<sup>21,33-34)</sup> 등이 報告되고 있다.

지금까지 肛腸療法(保留灌腸)에 대한 實驗研究로는 裴<sup>19)</sup>가 마취흰쥐에서 天麻鉤藤飲이 心血管作用에 미치는 影響을 報告하였고, 本格的인 研究로는 姜<sup>20)</sup>이 肛腸療法(保留灌腸)에 의한 小柴胡湯의 아나필락시 쇼크 抑制效果를 報告한 바 있다.

이에 著者는 現在까지 肛腸療法(保留灌腸)에 대한 實驗研究가 不足하고, 既存 保留灌腸에 관한 實驗이 韓藥物의 作用機轉을 밝히는데 未洽했으므로 免疫增強作用이 있는 丹蔘을 이용하여 肛腸療法(保留灌腸)에 의한

compound 48/80에 의해 誘導되는 全身性 即時型 알레르기 反應 및 抗 IgE 抗體에 의해 誘導되는 局所性 即時型 알레르기 反應, 그리고 腹腔 肥胖細胞에서 丹蔘 抽出液에 의한 腫瘍壞死因子 알파(TNF- $\alpha$ ) 生成 및 cAMP 수준에 미치는 效能을 알아보고, 또한 丹蔘 抽出液에 의한 保留灌腸과 口腔服用의 效果를 比較해 보고자 實驗을 實施하여 有意한 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

## II. 실험재료 및 방법

### 1. 材料

#### 1) 藥材

本 實驗에 使用한 丹蔘은 圓光大學校 光州 韓方病院에서 購入한 乾燥生藥을 精選하여 使用하였다.

#### 2) 試藥

Compound 48/80, anti-dinitrophenyl(DNP) IgE, DNP-human serum albumin(HSA)과 metrizamide는 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO, USA) 製品을 使用하였다. 再組合 腫瘍壞死因子 알파( $1 \times 10^5$  U/ml) 및 rabbit anti-murine 腫瘍壞死因子 알파는 Genzyme(Munche, Germany) 製品을 使用하였다. Phosphatase-labeled anti-rabbit IgG 는 Serotec(Oxford, England) 製品을 使用하였다.

#### 3) 動物

생쥐(ICR系)의 體重은 18~20g으로 大韓 實驗動物 센터(음성, 충북)에서 購入하여 2주일간 實驗室 環境에 適應시킨 후 實驗에 使用하였다.

### 2. 方法

#### 1) 檢液의 調製

藥湯器에 藥物 및 適量의 蒸溜水를 넣고 70°C에서 5時間동안 끓인 후 抽出하였다. 水浸液은 0.45 $\mu$ m 濾過紙를 利用하여 濾過한 다음 -80°C에서 冷凍하고, Freeze Dry에서 乾燥濃縮하였다. 乾燥한 藥物은 生理食鹽水 혹은 Tyrode buffer A(10mM HEPES, 130mM

NaCl, 5mM KCl, 1.4mM CaCl<sub>2</sub>, 1mM MgCl<sub>2</sub>, 5.6mM glucose, 0.1% bovine serum albumin)를 사용하여 實驗 前에 一定한 濃度로 溶解시켰다.

### 2) 試驗管内 實驗

#### (1) Compound 48/80에 의한 全身性 卽時型 알레르기 反應

丹蔘 抽出液을 compound 48/80(6mg/kg)의 腹腔內 投與하기 60분 前 및 5, 10, 20분 後에 口腔과 直腸으로 投與하였다. 藥物의 直腸內 投與는 Ketamine(6mg/g, 생쥐 腹腔內 注射)을 投與하여 痲醉시킨 후 stomach sonde 끝이 생쥐의 直腸內에 완전히 들어 가도록 한 다음 直腸內에 分布해 있는 毛細血管이 破壞되지 않도록 장갑을 끼고 sonde가 들어간 肛門의 上부분 皮膚를 지긋이 눌러준 다음 서서히 藥物을 投與하였다. 藥物投與 後에 卽時 肛門에 瞬間接着劑를 발라 주어 藥物이 새어나오는 것을 막았다. 致死率은 卽時型 알레르기 反應을 誘發시킨 後 60분 동안 觀察하여 決定하였다. 致死率의 觀察이 끝난 直後 생쥐의 心臟에서 血液을 採取해 血漿을 分離하여 histamine을 定量하였다.

#### (2) 抗 IgE 抗體에 의한 局所性 卽時型 알레르기 反應

IgE 依存性 皮膚反應인 局所性 卽時型 알레르기 反應 實驗은 皮膚에 anti-DNP IgE(10 μg)를 皮內注射한 48시간 後에 생쥐의 꼬리 靜脈에 DNP-HSA(0.1mg)와 4% Evans blue를 1 : 4로 注射하여 일으켰다. 30분 後에 생쥐를 痲醉시키고 皮內注射한 皮膚를 切開하여 染色된 部位의 Evans blue의 量을 測定하였다<sup>51)</sup>.

#### (3) Histamine 定量

血清 및 細胞培養 上層液중에 있는 histamine의 定量은 Shin 등<sup>52)</sup>의 方法으로 하였다. 간단히 說明하면 에펜돌프 튜브에 試料 500μl를 넣고 0.1 N-HCl 450 60% 과염소산 溶液 50μl를 넣고 混合한 後 遠心分離 (1,500 rpm, 20 min)하여 그 上層液 800μl를 5N-NaOH 용액 500μl, 蒸溜水 3ml, n-Butanol 10ml 및 NaCl 1.2g을 混合한 試驗

管에 넣고 振蕩 後 遠心分離(2,000 rpm, 10 min)하였다. Butanol층 8ml를 50ml 試驗管에 넣고 0.1N-HCl 용액 3ml, n-Heptane 10ml를 넣어 振蕩한 後에 遠心分離(2,000 rpm, 10 min)하였다. 여기에서 얻어진 수층 2ml에 1N-NaOH 溶液 400μl와 1% o-Phthaldialdehyde 溶液 100μl를 넣고 수욕상(37℃)에서 3분동안 反應시킨 다음, 3N-HCl 溶液 200μl를 넣고 混合하고 2분동안 放置하여 spectrofluorometer (λ<sub>ex</sub>=360 nm, λ<sub>em</sub>=440 nm)로 螢光度를 測定하였다.

Histamine 放出 抑制率(%)은 다음과 같이 計算하였다.

抑制率(%) = (藥物을 附加하지 않았을 때의 histamine 量 - 藥物을 附加하였을 때의 histamine 量) × 100 / 藥物을 附加하지 않았을 때의 histamine 量

#### (4) 腹腔內 肥胖細胞 分離

Kim 등<sup>49)</sup>의 方法에 準하여 腹腔 肥胖細胞를 分離하였다. 簡單히 說明하면 생쥐를 에테르로 痲醉시킨 後 0.1% gelatin을 含有한 Tyrode buffer B(NaCl, NaHCO<sub>3</sub>, KCl, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, glucose) 약 20ml를 腹腔內에 注入하고 30초간 腹壁를 가볍게 맞사지한 후 腹壁 中央線을 조심스럽게 切開하여 腹腔細胞를 含有한 洗滌液을 파스퇴르 피펫으로 採取하였다. 腹腔細胞를 150×g로 10분간 3회 反復하여 遠心分離시킨 후 上層의 浮游液을 버리고 同一한 Tyrode buffer B로 다시 浮游시켰다. 이 細胞浮游液중에 肥胖細胞는 22.5% w/v metrizamide를 利用하여 Yurt 등<sup>53)</sup>의 方法으로 分離 精製하였다.

#### (5) 腫瘍壞死因子 알파(TNF-α)의 定量

TNF-α의 定量은 Scuderi 등<sup>54)</sup>이 報告한 方法인 enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)로 施行하였다. 즉 anti-murine TNF-α capture mAb는 flat-bottomed 96-well plate(Corning, Rochester, NY)에 코팅 buffer(0.02% sodium azide를 含有한 PBS)를 利用하여 각 well당 最終濃度 6.25ng으로 處理한 後 4℃에서 12時間 코팅하였다. 그 다음 0.05% Tween 20을 含有한 인산 완충액

(PBS)인 wash buffer로 4회 洗滌한 다음 非特異的 結合을 防止하기 위하여 2% BSA를 含有한 PBS(blocking buffer)를 添加하여 37°C에서 2시간 동안 培養하였다. 다시 wash buffer로 4회 洗滌한 후 recombinant mouse TNF- $\alpha$  標準液과 각 sample의 培養上騰液을 각 well에 100 $\mu$ l씩 加하고 37°C에서 2시간 동안 培養하였다. 다시 wash buffer로 4회 洗滌한 後 rabbit anti-murine TNF- $\alpha$ 를 1% BSA를 含有한 PBS를 利用하여 7.8ng/ml 濃度로 稀釋한 後 well에 처리하여 37°C에서 2시간 동안 培養하였다. 다시 wash buffer로 7회 洗滌한 後 phosphatase가 結合된 goat anti-rabbit IgG(Sigma Co.)를 well당 10ng 농도로 처리한 다음 37°C에서 2시간 培養한 後 7회 洗滌하였다. 마지막 洗滌 後 0.05M NaHCO<sub>3</sub>와 0.05mM MgCl<sub>2</sub>로 조성된 substrate buffer에 溶解시킨 p-nitro phenyl phosphate (PNPP) 發色劑를 각 well에 100 $\mu$ l씩 넣어 10분간 發色을 誘導한 後 ELISA reader를 利用하여 405nm 波長에서 吸光度를 測定하였다.

#### (6) cAMP의 測定

細胞를 試藥으로 處理하기 前에 10% FBS가 들어있는 100 $\mu$ l의 RPMC(2 $\times$ 10<sup>5</sup> cells/ml)를 37°C에서 培養하였다. 蓄積된 cAMP를 測定하기 爲해 5분 後 4000 cpm의 [3H]cAMP가 들어있는 10% trichloroacetic acid를 1.5ml를 넣고 反應을 終了시켰다. 깨진 細胞와 沈澱된 蛋白質을 3000 $\times$ g에서 10分間 遠心分離하였다. Trichloroacetic acid를 물이 포화된 ether로 다섯번 연속 處理하여 試料로부터 除去하였다. 細胞의 cAMP 濃度는 2 $\times$ 10<sup>5</sup> 細胞當 pmol로 標示하였다.

#### 3) 統計學的 分析

모든 結果는 means  $\pm$  SE로 나타내었으며, 統計學的 分析은 student's t-test로 施行하였다. 有意性 檢證은 對照群(Saline 群)과 比較하여 決定하였다.

### III. 실험성적

#### 1. 丹蔘 抽出液의 全身性 即時型 알레르기 反應 抑制 效果

非免疫學的 刺戟劑인 compound 48/80을 腹腔內 注射하여 即時型 알레르기 反應을 誘發시켰다. 致死率은 compound 48/80을 腹腔內 注射한 다음 60분 동안 觀察하여 決定하였다. 對照群으로 40 $\mu$ l의 生理食鹽水를 생쥐의 肛門에 投與한 다음 compound 48/80(6mg/kg)을 注射하였는데 致命的인 即時型 알레르기 反應으로 100% 致死率을 나타내었다. 그러나 丹蔘 抽出液을 compound 48/80 注射 1시간 前에 0.001~1.0g/kg(volume: 40  $\mu$ l)의 濃度範圍에서 肛腸療法(保留灌腸)으로 前處理했을 때, compound 48/80에 의한 致死率은 用量依存的으로 減少하였다(n=10/group).

특히 丹蔘 抽出液 0.1g/kg의 濃度에서는 100% 生存하였다. 그러나 丹蔘 抽出液의 經口投與로는 顯著한 效果를 나타내지 않았다(Table 1).

Table 1.

Effect of SRRAE on compound 48/80-induced systemic Immediate type allergic reaction

SRRAE addition(g/kg)	Compound 48/80 (6mg/kg)	Mortality(%)	
		Oral	Anal
None(saline)	+	100	100
0.001	+	100	40 $\pm$ 10'
0.01	+	100'	40 $\pm$ 20'
0.1	+	90 $\pm$ 10	0'
1.0	+	90 $\pm$ 10	20 $\pm$ 10'
1.0	-	0	0

Mortality (%) within 1 hr following the compound 48/80 injection is presented as the No. of dead rats  $\times$  100/total No. of experimental rats. Data are presented as the means  $\pm$  SE of three independent experiments.

\* P < 0.01; significantly different from the saline value.

다음은 即時型 알레르기 反應을 일으킨 後 丹蔘 抽出液의 保留灌腸에 의한 抑制效果를 檢討하기 爲하여 丹蔘 抽出液(0.1g/kg)을 compound 48/80 投與 直後, 5分, 10分 및 20分 後에 投藥했을 때 生쥐의 致死率을 實驗하였다. Compound 48/80을 投與한 直後에서는 100% 生存하였고, 時間이 흐를수록 致死率은 增加됨을 알 수 있었다. 그러나 丹蔘 抽出液의 經口投與에서는 100% 致死率을 나타

내었다(Table 2).

丹蔘 抽出液(1.0g/kg) 投與에 의한 外見狀 生理的인 異常은 觀察되지 않았다.

Table 2.

Time-dependent effect of SRRAE on compound 48/80-induced systemic Immediate type allergic reaction

SRRAE addition(g/kg)	Time (min)	Compound 48/80 (6mg/kg)	Mortality(%)	
			Oral	Anal
None(saline)	0	+	100	100
0.1	0	+	90±10*	0*
	5	+	100	20±10*
	10	+	100	60±20*
	20	+	100	90±10

Mortality (%) within 1 hr following the compound 48/80 injection is presented as the No. of dead rats × 100/total No. of experimental rats. Data are presented as the means ± SE of three independent experiments.

\* P < 0.01; significantly different from the saline value.

## 2. 丹蔘 抽出液의 局所性 即時型 알레르기 反應 抑制 效果

IgE 依存的 皮膚反應인 局所 皮膚 即時型 알레르기 反應이 丹蔘 抽出液의 保留灌腸에 의한 抑制 效果를 實驗하기 위하여 典型的인 受動 皮膚 即時型 알레르기 反應(passive cutaneous anaphylaxis, PCA) 實驗動物 모델을 利用하였다. PCA는 肥胖細胞 表面에 存在하는 IgE 수용체에 결합하는 特異 IgE 抗體를 生體 局所에 受動的으로 投與한 다음 抗原을 注射하여 일으키는 皮膚反應이다<sup>51)</sup>. 對照群에는 生理食鹽水を 注射하였다.

抗體인 anti-DNP IgE(10μg)를 皮內注射 48時間 後 抗原인 DNP-HSA (0.1mg)와 4% Evans blue 色素를 1 : 4의 比率로 쥐의 꼬리 靜脈에 注射하여 30分 後에 생쥐를 痲醉시키고 皮內注射한 皮膚를 切開하여 Evans blue의 局所漏出量을 定量하여 比較하였다. 丹蔘 抽出液을 抗原으로 惹起하기 1時間 前에 肛門과 口腔에 投與하여 漏出된 色素를 定量한 結果, 肛門에 投與한 境遇는 丹蔘 抽出液 0.001~1.0g/kg에서 顯著的 抑制率을 나타냈다. 또한 經口投與보다 높은 抑制率을 보

였다.(P<0.01) (Table 3).

Table 3.

Effect of SRRAE on the 48-hr PCA in rats

SRRAE addition(g/kg)	Amount of dye(μg/site)		Inhibition(%)	
	Oral	Anal	Oral	Anal
None(saline)	41.85±2.24	44.26±4.56	-	-
0.001	38.64±1.55	36.31±3.66*	7.3	18.0
0.01	17.25±1.83*	15.40±2.87*	58.8	65.2
0.1	11.43±0.96*	8.92±5.24*	72.7	79.8
1.0	15.10±1.26*	12.38±2.23*	63.9	72.0

Data are presented as the means ± SE of three independent experiments.

\* P < 0.01; significantly different from the saline value.

## 3. 丹蔘 抽出液의 腹腔 肥胖細胞 histamine 遊離 抑制 效果

生體外 實驗으로 쥐의 腹腔 肥胖細胞(rat peritoneal mast cell, RPMC)를 分離하여 肥胖細胞의 刺戟物質인 compound 48/80과 anti-DNP IgE에 의한 histamine의 放出을 丹蔘 抽出液이 얼마나 抑制하는지를 實驗하였다. 腹腔 肥胖細胞에 丹蔘 抽出液을 處理하고 10分 後에 compound 48/80 및 anti-DNP IgE와 DNP-HSA를 處理하여 histamine의 放出量을 測定하였다. 對照群에는 生理食鹽水を 注射하였다.

丹蔘 抽出液(0.001~1.0μg/ml)은 濃度依存的으로 肥胖細胞로부터 IgE 媒介性 histamine 放出을 抑制하였다(Fig. 1). 그러나 丹蔘 抽出液은 腹腔 肥胖細胞로부터 compound 48/80 誘導性 histamine 放出에는 거의 效果를 나타내지 못하였다. 위의 모든 實驗에서 丹蔘 抽出液에 의한 細胞毒性은 거의 觀察할 수 없었다(Trypan blue uptake).

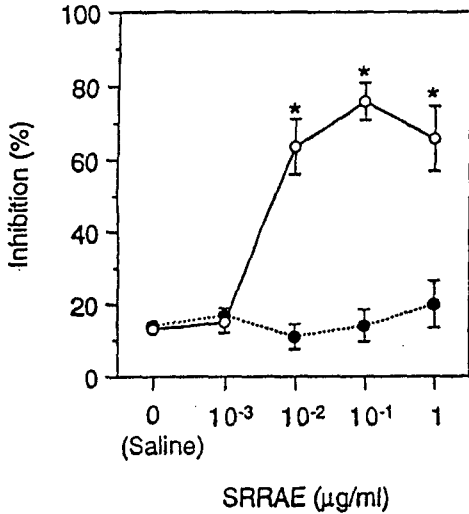


FIGURE 1.

Effect of SRRAE on IgE-mediated (○) or compound 48/80-induced (●) histamine release from RPMC. Data are presented as the means ± SE of four independent experiments.

\* P<0.05; significantly different from the saline value.

4. RPMC에서 丹蔘 抽出液의 TNF-α 生成 抑制 效果

丹蔘 抽出液이 腹腔 肥胖細胞로부터 炎症性 細胞活性物質로서 잘 알려진 腫瘍壞死因子 알파(tumor necrosis factor-α, TNF-α)의 生成에 미치는 影響을 分析하였다. 腹腔 肥胖細胞(2×10<sup>6</sup> cells/ml)를 anti-DNP IgE (1.0µg/ml)로 4시간동안 感作하고 DNP-HSA (0.1µg/ml)로 惹起 直前に 丹蔘 抽出液(0.1µg/ml)을 처리하였다. 丹蔘 抽出液은 IgE-依存性 腫瘍壞死因子 알파 生成을 顯著히 抑制하였다(Table 4).

Table 4.

Effect of SRRAE IgE-mediated TNF-α production from RPMC

SRRAE addition (µg/ml)	Anti-DNP IgE + DNP-HSA	TNF-α production (ng/ml)
None (Saline)	-	0.016±0.012
None (Saline)	+	0.078±0.019
0.1	+	0.035±0.013*

Data are presented as the means ± SE of five independent experiments.

\* P < 0.01; significantly different from the saline value.

5. RPMC에서 丹蔘 抽出液의 cAMP 수준 增加 效果

丹蔘 抽出液이 腹腔 肥胖細胞로부터 calcium 放出과 關聯이 있는 cAMP 含量에 미치는 影響을 分析하였다. 즉, cAMP 含量이 增加하면 calcium 貯藏庫에서 calcium 放出을 抑制하여 histamine 放出을 抑制한다. 따라서 丹蔘 抽出液에 의한 histamine 放出 抑制機轉을 糾明하기 위해 cAMP 含量을 分析하였다. 腹腔 肥胖細胞(2×10<sup>5</sup> cells/ml)를 丹蔘 抽出液 存在 및 非存在下에서 0, 2, 4, 6, 8, 10分 동안 培養하였다. 腹腔 肥胖細胞에 丹蔘 抽出液(0.1 µg/ml)을 處理하고 cAMP 含量을 測定한 結果 對照群보다 顯著히 增加하였다(Fig. 2). 丹蔘 抽出液을 넣고 6分 後에 cAMP 含量이 最高水準이었으며 약 10分 後에는 처음 수준으로 減少하였다.

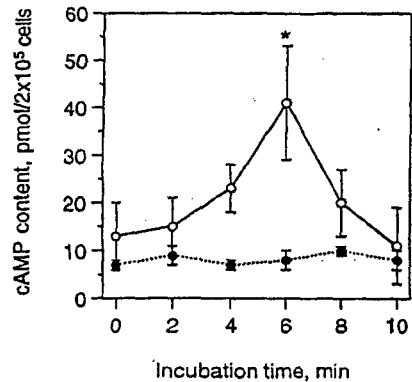


FIGURE 2.

Effect of SRRAE on cAMP content in RPMC. RPMC (2 × 10<sup>5</sup> cells/ml) were incubated with SRRAE (○) and without SRRAE (●) at 37°C. Data are presented as the means ± SE of three independent experiments.

\* P<0.05; significantly different from the saline value.

IV. 고 찰

最近에 特定疾病에 대한 治療效果을 높이 기 위하여 여러 가지 方法들이 試圖되고 있

는데, 특히 肛腸療法중 가장 많이 活用되고 있는 保留灌腸은 既存의 韓藥 投與經路로 使用되어져온 口腔投與에 비해 藥物의 有效成分을 保存하여 病所에 作用하게 하고, 藥物로 인한 副作用을 줄여 주며, 使用이 簡便하고 效果가 뛰어나서 그 活用도가 점점 增加하고 있다<sup>1-2)</sup>.

保留灌腸은 煎湯한 韓藥을 大腸에 注入한 後에 바로 排出시키지 않고 可能하면 藥液이 充分히 吸收되도록 體內에 오래 머물게 하여 疾病을 治療하는 方法으로, 後漢時代 張仲景의 《傷寒雜病論》<sup>35)</sup>에, “...此胃津液內竭 雖不可攻之... 宜蜜煎導而通之 若土瓜根及大猪膽汁 皆可爲導.” 라고 하여 最初로 灌腸療法을 使用한 이래로 歷代 醫家<sup>36-39)</sup>들이 이 方法을 活用하였으나 大便不通이나 關格 등 그 主要한 目的은 潤腸通便에 局限되어 있었다. 하지만 現在는 韓醫學의 有機的인 整體觀과 局所藥物作用에 根據하여 大腸이나 肛門의 局所疾患(潰瘍性大腸炎, 便秘, 泄瀉, 痢疾, 痔疾, 前立腺炎 등) 뿐만 아니라 全身疾患(腎不全, 急性腹痛, 子宮筋腫, 高熱, 中風, 痙攣 등)에도 活用되며, 內科, 外科, 小兒科, 婦人科 등 그 應用範圍가 擴大되고 있다. 특히 保留灌腸은 胃腸을 直接 經由하지 않기 때문에 韓藥服用을 꺼리는 사람, 消化器障礙가 있는 사람, 嚥下困難이나 極甚한 嘔吐, 意識이 없는 患者나 小兒 등에 活用할 수 있다<sup>1-2)</sup>.

丹蔘(Salvia miltiorrhiza BGE.)<sup>3-7)</sup>은 꿀풀과(脣形科, Labiatae)에 속한 多年生 草本인 丹蔘 및 同屬 近緣植物의 根으로, 赤蔘·山蔘·木羊乳·逐馬 등의 異名이 있다. 《神農本草經》<sup>6)</sup>에 처음 收錄된 이후 많은 本草書에 記載되었으며, 味는 苦, 性은 微寒無毒하여 血熱과 瘀血의 모든 病證에 活血祛瘀, 養血安神 등의 效果가 있어 臨床的으로 月經不調, 血滯經閉, 產後腹痛, 癥瘕積聚, 瘡癰腫痛, 心悸失眠 등의 治療에 使用하고 있다<sup>3-8)</sup>.

丹蔘의 主成分은 tanshinone, cryptotanshinone, hydroxytanshinone, methyltanshinonate, miltirone, tanshinol, salviol, scutellarin, vitamin A, vitamin E 등이 밝혀졌다<sup>3-5,7)</sup>.

丹蔘의 藥理作用은 血流量을 增加시켜 微細循環을 改善하고<sup>21-23)</sup>, 肝纖維組織의 增殖을 抑制하여 補肝作用을 하며<sup>24)</sup>, 消炎·鎮痛하고<sup>22,25-27)</sup>, 抗菌하며<sup>22,24,26)</sup>, 血壓을 降下시키고<sup>21-23,25-28)</sup>, 赤血球와 血色素를 增加시켜 造血을 하며<sup>29-30)</sup>, 抗癌<sup>21-22,31)</sup> 및 免疫增強作用<sup>21,33-34)</sup> 등이 있는 것으로 報告되고 있다.

이에 著者는 保留灌腸의 有效性을 立證하고 活用度を 높이고자 活血祛瘀, 養血生血하는 丹蔘이 現代醫學의 免疫作用과 關聯이 있다고 思料되어 本 實驗을 實施하게 되었다.

알레르기(allergy)는 抗原의 刺戟을 받은 生體가 다시 同一抗原에 感觸되면 特徵的인 免疫反應을 나타내는데, 이때 過剩組織障得를 同伴하는 生體反應을 말하며, 卽時型과 遲延型으로 分類된다<sup>9-10)</sup>. 本 實驗의 對象이 되는 卽時型 알레르기는 抗原의 投與 또는 吸入 後 數分에서 1時間內에 出現하는 알레르기反應으로 아나필락시스(anaphylaxis)와 아토피(atopy)를 包含한다<sup>9,36)</sup>. 또한 卽時型 알레르기는 短時間內에 全身性 反應 또는 局所性 反應을 일으킬 수 있다. 全身性 反應은 數分內에 shock상태에 빠지며 간혹 致死的이고, 局所性 反應은 抗原의 體內 進入口에 따라 局所的 皮膚腫脹, 鼻 또는 結膜의 滲出, 고초열, 氣管支喘息, 두드러기 등을 誘發한다<sup>36)</sup>.

肥胖細胞(Mast Cell)는 卽時型 알레르기反應에서 多樣한 生理的 變化를 일으키는 重要한 細胞로서 認識되고 있다<sup>41)</sup>. 肥胖細胞의 脫顆粒은 肥胖細胞의 表面膜에 作用하는 刺戟物質(抗原)에 의해 誘發된다<sup>42)</sup>. 가장 強力한 非免疫學的 刺戟物質로는 合成 compound 48/80이 있다<sup>43)</sup>. 이것은 肥胖細胞의 細胞質內로 calcium 流入을 增加시켜 脫顆粒을 誘導한다. 高濃度의 compound 48/80은 肥胖細胞의 細胞膜을 破壞하여 거의 90%까지 histamine의 放出을 誘導시키기 때문에 適量의 compound 48/80으로 아나필락시反應(anaphylactic reaction)의 機轉과 作用을 研究하는데 有用한 試藥이다<sup>44)</sup>. 또한 肥胖細胞로부터 媒介物質의 分泌反應은 免疫學的인 刺戟方法으로 IgE 抗體에 대한 表面 特異的

收容體에 IgE 抗體 結合 後 同一抗原의 刺戟에 의해서 誘導될 수 있다<sup>45-47</sup>. 이러한 抗 IgE 抗體는 알레르기 皮膚反應에 있어서 即時型 過敏反應에 대한 典型的인 生體內 모델로서 受動的 皮膚 아나필락시스(passive cutaneous anaphylaxis, PCA) 反應을 誘導한다<sup>48</sup>. 또한 抗 IgE 抗體의 刺戟에 의해 肥胖細胞는 腫瘍壞死因子 알파(tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )의 生成을 急激히 增加시킨다<sup>49</sup>. TNF- $\alpha$ 의 效果는 生成量에 따라 달라지는데,  $10^9$ M 이하의 低濃度에서는 炎症部位에 白血球를 모이도록 하여 炎症을 誘發하고, 生成量이 充分하면( $10^{-9}$ M~ $10^{-7}$ M) 痛症을 발생하고, 急性炎症을 일으키며, 骨髓細胞의 細胞分裂을 抑制하여 免疫缺乏症勢 등을 誘發시킨다<sup>50</sup>.

著者は 全身性 即時型 알레르기 反應에서 保留灌腸에 의한 丹蔘 抽出液의 效果를 實驗한 結果, 알레르기 反應을 濃度依存的으로 抑制하는 結果를 얻었다. 또한 丹蔘 抽出液이 局所性 即時型 알레르기 反應도 顯著하게 抑制하는 것을 確認하였다. 이러한 丹蔘 抽出液의 保留灌腸에 의한 全身性 및 局所性 即時型 알레르기 反應의 抑制 效果는 血清에서 histamine 수준을 減少시킬 뿐만 아니라 anti-DNP IgE로 刺戟된 腹腔 肥胖細胞로부터 放出되는 histamine 量의 減少에 起因하는 것을 暗示하고 있다. 이러한 結果는 丹蔘 抽出液이 保留灌腸에 의해 잘 吸收되어 肥胖細胞의 刺戟에 의한 即時型 脫顆粒 反應을 抑制하는 效果가 있다는 것을 意味한다. 특히, IgE 媒介性 局所性 即時型 알레르기 反應이 顯著히 抑制된 것은 丹蔘 抽出液으로 保留灌腸을 活用하여 各種 抗原에 의한 局所 皮膚 알레르기 反應을 治療할 수 있다는 것을 意味한다. 그러나 丹蔘 抽出液은 口腔投與에 의한 境遇와 compound 48/80 刺戟에 의한 腹腔 肥胖細胞로부터 脫顆粒은 抑制시키지 못하였다. 이러한 丹蔘 抽出液의 差等的 效果와 投與經路에 따른 吸收率의 差異에 대한 正確한 理由는 보다 많은 研究가 必要할 것으로 思料된다. 반면 Compound 48/80에 의해 肥胖

細胞로부터 histamine 放出을 誘導하는 信號 傳達過程의 活性化는 疑心의 餘地가 없다. 最近에 報告된 compound 48/80 및 이와 類似한 다른 化合物들이 거의 直接的으로 G-proteins를 活性化시키는 것이 밝혀졌기 때문이다<sup>56-57</sup>. 이 分子는 Gi-類似蛋白質이고 benzalkonium chloride에 의해 活性이 抑制된다<sup>58</sup>. 即時型 알레르기 反應性 疾患의 進行에는 여러 가지 다른 媒介物質의 重要性이 認定되고 있으나 histamine은 抗原 誘導性 皮膚反應의 가장 根本的인 媒介物質인 것으로 認識되고 있다<sup>59-60</sup>.

丹蔘 抽出液은 anti-DNP IgE로 活性化된 腹腔 肥胖細胞로부터 TNF- $\alpha$ 의 生成을 抑制하였다. 肥胖細胞로부터 TNF- $\alpha$ 의 生成은 炎症 및 免疫反應에 重要한 役割을 遂行할 것이 豫想되기 때문에 丹蔘 抽出液에 의한 TNF- $\alpha$  生成의 抑制 效果는 알레르기 反應의 進行을 豫防하기 위한 臨床的 應用에 參考가 될 것으로 생각된다.

이러한 丹蔘 抽出液의 效果 機轉을 糾明하기 위하여 細胞內 cAMP 수준을 分析하였다. cAMP 수준의 增加는 細胞內 calcium 貯藏庫에서 calcium 放出을 抑制하므로 histamine의 放出을 줄일 수 있다. 肥胖細胞에 丹蔘 抽出液을 處理했을 때 細胞內 cAMP 수준이 對照群에 비해 3배 이상 增加하였다. 이러한 結果는 肥胖細胞의 脫顆粒에서 丹蔘 抽出液의 抑制 效果가 細胞內 cAMP 수준의 增加에 따른 것을 意味한다.

이상에서 살펴본 바와 같이 保留灌腸에 의한 丹蔘 抽出液의 알레르기 反應 抑制 效果와 그 作用機轉이 實驗的으로 證明되었다. 하지만 이 實驗은 初步的인 段階에 不過하므로 西洋醫學과 東洋醫學의 知識을 結合하여 理論을 定立하고, 實驗研究와 臨床治療를 進行하여 그 作用機轉을 밝혀서 肛腸療法(保留灌腸)에 대한 系統的인 研究가 必要하리라 思料된다.



## V. 결 론

著者は 肛腸療法(保留灌腸)에 의한 丹蔘 抽出液의 效能을 實驗動物을 이용한 即時型 알레르기 反應 모델에서 實驗한 結果, 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 丹蔘 抽出液의 肛腸療法은 compound 48/80으로 誘導되는 全身性 即時型 알레르기

反應을 容量 依存的으로 抑制하는 效果를 나타냈다. 그러나 經口投與에 의해서는 顯著한 效果를 나타내지 못하였다.

2. 丹蔘 抽出液의 肛腸療法은 免疫學的 刺戟에 의한 局所性 即時型 알레르기 反應을 顯著히 抑制하였다 (P<0.01).

3. 丹蔘 抽出液은 anti-DNP IgE로 활성화시킨 腹腔 肥脾細胞로부터 histamine의 放出을 濃度 依存的으로 抑制했다. 그러나 丹蔘 抽出液은 compound 48/80으로 誘導되는 histamine 의 放出을 抑制하지 못하였다.

4. 丹蔘 抽出液은 anti-DNP IgE로 刺戟시킨 腹腔 肥脾細胞로부터 TNF- $\alpha$ 의 生成을 顯著히 抑制하였다.

5. 丹蔘 抽出液은 腹腔 肥脾細胞의 cAMP 수준을 顯著히 增加시켰다.

이상의 結果로 볼 때 丹蔘 抽出液의 肛腸療法으로 即時型 알레르기 反應을 分明하게 調節할 수 있음을 알 수 있으며, 丹蔘 抽出液의 肛腸療法이 經口投與보다 더욱 效果的인 結果는 肛腸療法의 有效性을 實驗的으로 立證한 것으로 思料된다.

## 참고문헌

1. 문석재, 문구, 원진희, 김재섭, 이형주 : 난치 병치료를 위한 肛腸療法, 익산, 圓光大學 校出版局, pp.11-34, 1998.
2. 高樹中 : 中醫肛腸療法大全, 濟南, 濟南出版社, pp.1-16, 1994.
3. 申佶求 : 申氏本草學, 서울, 壽文社, pp.519-521, 1982.
4. 辛民教 : 臨床本草學, 서울, 永林社,

- pp.519-521, 1997.
5. 李尙仁 : 本草學, 서울, 修書院, pp.428-429, 1981.
6. 神農氏 : 神農本草經, 臺北, 集文書局, 卷1, pp.29-30, 1979.
7. 李時珍 : 本草綱目(上), 北京, 人民衛生出版社, pp.758-760, 1982.
8. 黃官綉 : 本草求真, 서울, 醫聖堂, p.226, 1997.
9. 朴承成 : 醫學免疫學, 서울, 大學書林, pp.65-78, 1982.
10. 文希柱 : 基本免疫學, 서울, 大學書林, pp.133-137, 1992.
11. 李明道 : 麝香通腸湯 灌腸法으로 治療한 腸閉塞 및 腸痙攣 20例, 中國中西醫結合雜誌, 一中社, pp.84-85, 1993.
12. 金鍾翼 外 : 生大黃煎湯液 灌腸法으로 治療한 肝性腦症 16例, 中國中西醫結合雜誌, 一中社, pp.71-72, 1993.
13. 楊向東 : 肛門栓塞法으로 直腸疾病을 治療하는 方面의 進展, 中醫雜誌(한글판), 一中社, 7 : 85-88, 1993.
14. 趙戩谷 : 中藥直腸點滴法으로 重病을 治療한 經驗, 中醫雜誌(한글판), 一中社, 7 : 22-23, 1994.
15. 賈一江 外 : 當代中藥外治臨床大全, 北京, 中國中醫藥出版社, pp.16-19, 114, 126, 129-130, 135, 147, 150, 153, 171, 177, 186, 190, 194-195, 203, 218, 237, 245, 259, 306, 308, 367, 382, 1994.
16. 賈林山 外 : 中醫實用外治法精義, 北京, 科學技術文獻出版社, pp.20-21, 51, 56-57, 98, 181-182, 1996.
17. 王華 外 : 當代中醫外治精要, 北京, 中國中醫藥出版社, pp.493-495, 501-502, 517-518, 1996.
18. 黃宗勛 : 常見病中草藥外治療法, 福建, 福建科學技術出版社, pp.6, 17-18, 22, 30-31, 1996.
19. 裴南奎 : 마취흰쥐에서 天麻鉤藤飲이 心血管作用에 대한 研究, 圓光大碩士學位論文, 1997.
20. 姜泰熙 : 肛腸療法(保留灌腸)에 의한 小柴胡湯의 아나필락시 쇼크 抑制 效果, 圓光

- 大碩士學位論文, 1997.
21. 王浴生 : 中藥藥理學 應用, 北京, 人民衛生出版社, pp.223-227, 1983.
  22. 李儀奎 外 : 中藥藥理學, 北京, 中國中醫藥出版社, pp.135-137, 1992.
  23. 王繼香 外 : 丹蔘的作用與用途, 新中醫, 11 : 52-53, 1983.
  24. 戴雲 外 : 丹蔘對肝病 營養調理作用, 江蘇中醫藥, 4 : 39-42, 1990.
  25. 宋春浩 : 丹蔘水鍼이 鎮痛 및 血壓降下에 미치는 影響, 慶熙韓醫大論文集, 8 : 205-217, 1995.
  26. 周孜 : 丹蔘的藥理作用及臨床應用, 10(4) : 242-243, 1990.
  27. 王炳炎 : 丹蔘注射液을 郃上穴에 注射하여 治療한 急性乳腺炎 60例, 中國中西醫結合雜誌(한글판), 一社, pp.31-32, 1993.
  28. 孫錫銘 : 丹蔘素的新藥理作用, 中草藥, 22(1) : 1991.
  29. 林泰榮 : 丹蔘이 貧血家兔의 造血作用에 미치는 影響, 圓光大碩士學位論文, 1984.
  30. 金相熙 : 丹蔘과 四物湯水鍼이 CC14로 肝損傷된 白鼠의 血液에 미치는 影響, 圓光韓醫學, 5(1) : 264-275, 1995.
  31. 應榮多 : 活血化癥治則抗腫瘤實驗研究進展, 中西醫結合雜誌, 5(2) : 76, 1985.
  32. 서울大學校 醫科大學 : 免疫學, 서울, 서울大學校 出版部, pp.167, 229, 234-241, 1994.
  33. 駱和生著, 安德均譯 : 면역과 한방, 서울, 열린책들, pp.80-85, 1992.
  34. 星星 外 : 丹蔘等中草藥的體外免疫溶血抑制作用, 中草藥, 17(10) : 1986.
  35. 蔡仁植 : 傷寒論譯註, 서울, 高文社, p.174, 1985.
  36. 孫思邈 : 備急千金要方, 北京, 人民衛生出版社, pp.285~286, 1982.
  37. 李時珍 : 本草綱目(上, 下), 北京, 人民衛生出版社, pp.147, 239, 376, 427, 801, 1584, 1982.
  38. 鮑相璈 : 驗方新編, 北京, 人民衛生出版社, 149~152, 162~166, 1995.
  39. 吳尚先 : 理瀉駢文, 北京, 中國中醫藥出版社, pp.154~155, 263~265, 1997.
  40. 康秉秀 : 韓方臨床 알레르기, 서울, 성보사, p.71, 1988.
  41. Kim H. M., Lee E. H., Shin H. Y. and Moon Y. H. : Inhibitory effect of mast cell-mediated mast cell-dependent allergic reactions in rats by spirulina, Biochem. Pharmacol. 55 : 1071-1076, 1998.
  42. Lagunof D., Martin T. W. and Read G. : Agents that release histamine from mast cells, Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 23 : 331-351, 1983.
  43. Ennis M., Pearce F. L. and Weston P. M. : Some studies on the release of histamine from mast cells stimulated with polylysine, Br. J. Pharmacol. 70 : 329-334, 1980.
  44. Allansmith M. R., Baird R. S., Ross R. N., Barney N. P. and Bloch K. J. : Ocular anaphylaxis induced in the rat by topical application of compound 48/80. Dose response and time course study, Acta Ophthalmol. 67 : 145-153, 1989.
  45. Segal D. M., Taurog J. and Metzger H. : Dimeric immunoglobulin E serves as a unit signal for mast cell degranulation, Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 74 : 2993-2997, 1979.
  46. Metzger H., Alcaraz G., Hohman R., Kinet J. P., Pribluda V. and Quarto R. : The receptor with high affinity for immunoglobulin E. Annu. Rev. Immunol, 4 : 419-470, 1986.
  47. Alber G., Miller L., Jelsema C., Varin-Blank N. and Metzger H. : Structure/function relationships in the mast cell high-affinity receptor for IgE (FcεRI) : Role of cytoplasmic domains, J. Biol. Chem. 266 : 22613-22620, 1991.
  48. Saito H. and Nomura Y. : Screening methods for durg evaluation 3. In: Pharmaceutical Research and Development (Eds. Suzuki L., Tanaka H., Yajima H., Fukuda H., Sezaki H., Koga K., Hirobe M. and Nakajime T.), p.22. Hirokawa, Tokyo, 1989.

49. Kim H. M., Lee E. H., Shin H. Y. and Moon Y. H. : Inhibitory effect of mast cell-mediated mast cell-dependent allergic reactions in rats by spirulina, *Biochem. Pharmacol.* 55 : 1071-1076, 1998.
50. Lee DH and Choi : The comparative study of immunosuppressive drugs on the peridontal condition in renal transplant patients, *J. of Ker. Academ. of peridontol.*, 19(1) : 1-8, 1989.
51. Katayama S., Shionoya H. and Ohtake S. : A new method for extraction of extravasated dye in the skin and the influence of fasting stress on passive cutaneous anaphylaxis in guinea pigs and rats, *Microbiol. Immunol.* 22 : 89-101, 1978.
52. Shin B. K., Lee E. H., Kim H. M. : Suppression of L-histidine decarboxylase mRNA expression by methyleugenol, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 232 : 188-191, 1997.
53. Yurt R. W., Leid R. W. and Austen K. F. : Native heparin from rat peritoneal mast cells, *J. Biol. Chem.* 252 : 518-521, 1977.
54. Scuderi P., Sterling R. E., Lam K. S., Firiley P. R., Ryan K. J., Ray C. G., Petersen E., Slymen D. J. and Salmon S. E. : Raised serum levels of tumour necrosis factor in parasitic infections, *Lancet* 2 : 1364-1365, 1986.
55. Wershil B. K., Mekori Y. A., Murakami T. and Galli S. J. : <sup>125</sup>I-fibrin deposition in IgE-dependent immediate hypersensitivity reactions in mouse skin: demonstration of the role of mast cells using genetically mast cell-deficient mice locally reconstituted with cultured mast cells, *J. Immunol.* 139 : 2605-2614, 1987.
56. Mousli M. C., Bronner C., Bockaert J., Rouot B. and Landry Y. : Interaction of substance P, compound 48/80 and mastoparan with  $\alpha$ -subunit C-terminal of G protein, *Immunol. Lett.* 25 : 355-358, 1990.
57. Mousli M. C., Bronner C., Landry Y., Bockaert and Rouot B. : Direct activation of GTP-binding regulatory proteins (Gproteins) by substance P and compound 48/80, *FEBS Lett.* 259 : 260-262, 1990.
58. Bueb J. -L., Mousli M. C., Bronner C., Rouot B. and Landry Y. : Activation of Gi-like proteins, a receptor-independent effect of kinins in mast cells, *Mol. Pharmacol.* 38 : 816-822, 1990.
59. Inagaki N., Miura T., Daikoku M., Nagai H. and Koda A. : Inhibitory effects of  $\beta$ -adrenergic stimulants on increased vascular permeability caused by passive cutaneous anaphylaxis, allergic mediators and mediator releasers in rats, *Pharmacology* 39 : 19-27, 1989.
60. Inagaki N., Miura T., Ohira K., Nagai H., Xu, Q. and Koda A. : Effect of CV-3988, a specific antagonist against platelet activation factor, on homologous passive cutaneous anaphylaxis in the mouse ear, *J. Pharmacobiodyn.* 13 : 272-277, 1990.