

원 저

방기 전탕액의 비만세포 매개성 아나필락시반응 및 종양괴사인자알파 생성 억제효과

김동혁, 송봉근, 이언정, 김형균
원광대학교 한의과대학 신계내과학교실

Inhibitory Effect of Mast Cell-Mediated Anaphylactic Reactions and Tumor Necrosis Factor- α Production by Aqueous Extract of *Sinomenium acutum* stem

Dong-Hyuk Kim, Bong-Keun Song, Eon-Jeong Lee, Hyeong-Kyun Kim

Department of Oriental Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Wonkwang University

Objectives : The root and stem of *Sinomenium acutum* has been used for treatment of arthritis and neuralgia in oriental medicine. To find new substances of the anti-anaphylactic drugs, we studied *Sinomenium acutum*.

Methods : To investigate the effect of this plant, the effect on anaphylactic reaction, plasma histamine level, and tumor necrosis factor- α (TNF- α) production were measured after the aqueous extract of *Sinomenium acutum* stem (SSAE) was administrated to mice and rats.

Results : The SSAE (0.1 to 1000 mg/kg) dose-dependently inhibited systemic anaphylactic reaction induced by compound 48/80 in mice. Especially, SSAE reduced compound 48/80-induced anaphylactic reaction with 50% at the dose of 1000 mg/kg. SSAE (100 to 1000 mg/kg) also significantly inhibited local anaphylactic reaction activated by anti-dinitrophenyl (DNP) IgE. When mice were pretreated with SSAE at a concentration ranging from 0.1 to 1000 mg/kg, the plasma histamine levels were reduced in a dose-dependent manner. SSAE (1 to 1000 g/ml) dose-dependently inhibited histamine release from the rat peritoneal mast cells (RPMCs) activated by compound 48/80 or anti-DNP IgE. The level of cAMP in RPMCs, when SSAE was added, increased compared with that of a normal control. In addition, SSAE (0.1 g/ml) had a significant inhibitory effect on anti-DNP IgE-induced TNF- α production.

Conclusions : These results indicate that SSAE inhibits mast cell-mediated anaphylactic reactions and TNF- α production from mast cells. (*J Korean Oriental Med 2000;21(2):52-59*)

Key Words: *Sinomenium acutum*, Anaphylactic reactions, Histamine, Mast cells, Tumor necrosis factor- α

서 론

防己는 방기과 (세모래덩굴과)에 속하는 덩굴이덩굴

의 건조된 근경으로 利水消腫, 祛風止痛의 효능이 있어 水腫脚氣, 小便不利, 濕疹瘡毒, 風濕痺痛의 증상이나 고혈압의 치료에 사용되며, 항알레르기제, 항류마티스제 및 진통제 등으로 활용되고 있다. 최근에는 진통 및 소염작용과 비만세포의 탈과립과 칼슘 흡수를 억제하고 수동적 피부 아나필락시 반응 (passive cutaneous anaphylaxis, PCA)과 히스타민의 방출을 억제하는 항

· 접수 : 2000년 6월 22일 · 수정 : 8월 1일 · 채택 : 8월 4일
· 교신저자 : 송봉근, 광주광역시 남구 주월동 543-8 원광대학교
광주한방병원 (Tel. 062-670-6422, Fax. 062-670-6767, 653-2250, E mail: songbk@wonkwang.ac.kr)

과민작용" 등이 보고되고 있다.

즉시형 과민반응은 비만세포로부터 방출되는 화학적 매개물질에 의하여 유발된다. 비만세포의 탈과립에 의해 방출되는 히스타민은 아나필락시를 일으키는 가장 강력한 매개물질의 하나로 알려져 있다. 비만세포의 탈과립은 비만세포 표면의 막에 작용하는 자극물질에 의해 유발되며, 가장 잘 알려진 자극물질로는 합성 compound 48/80이 있다²⁾. 또한 비만세포로부터 화학적 매개물질의 분비반응은 IgE 항체에 대한 비만세포에 존재하는 표면 특이적 수용체에 IgE 항체가 결합한 후 동일 항원의 자극에 의해서 유도될 수 있다³⁾. 이러한 항 IgE 항체는 알레르기 피부반응에 있어서 즉시형 과민반응에 대한 전형적인 생체내 모델인 PCA 반응을 유도한다⁴⁾. 비만세포내 과립 속에는 자연상태에서 적은 양의 종양괴사인자 알파 (tumor necrosis factor- α , TNF- α)가 존재하지만 PCA 반응 시와 마찬가지로 특이항원에 의한 IgE 항체 수용체가 교차 연결되면 그 양이 극적으로 많이 증가한다⁵⁾.

최근 일부 한약^{6,7)}은 히스타민 방출을 억제하거나 IgE를 감소시켜 아나필락시반응을 억제한다고 보고되고 있으므로, 알레르기 질환 치료제의 개발 가능성을 탐색하고자 항알레르기제, 항류마티스제 및 진통제 등으로 활용되어온 방기전탕액을 쥐 모델에 투여하고 compound 48/80에 의해 유도되는 전신성 아나필락시반응 및 항 IgE 항체에 의해 유도되는 알레르기반응에 미치는 영향과 흰쥐 복강 비만세포에서 TNF- α 생성에 미치는 영향을 연구한 바 다음과 같은 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

실 험

1. 재료

防己(*Sinomenium acutum*)는 원광대학교 한의과대학 광주한방병원에서 구입하였다. Compound 48/80, anti-dinitrophenyl (DNP) IgE, DNP-human serum albumin (HSA)과 metrizamide는 Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA)에서 구입하였고, α -minimal essential medium (α -MEM)은 Flow Laboratories (Irvine, UK),

Fetal calf serum (FCS)은 Gibco Laboratories (Grand Island, NY, USA), recombinant tumor necrosis factor-(rTNF- α) (1×10^6 U/ml)와 rabbit anti-murine TNF- α antibody는 Genzyme (Munche, Germany), phosphatase-labeled anti-rabbit IgG는 Serotec (Oxford, England)에서 구입하였다. Balb/c계 생쥐와 Wistar계 흰쥐는 대한 실험동물센터(음성, 충북)에서 구입하여 실험에 이용하였다.

2. 방기 수침액의 조제

방기에 적량의 증류수를 넣고 70°C에서 5시간 동안 추출하여 얻은 수침액(수득률 약 9%)을 냉동건조한 extract를 생리식염수 혹은 Tyrode buffer A (10mM HEPES, 130 mM NaCl, 5 mM KCl, 1.4 mM CaCl₂, 1 mM MgCl₂, 5.6 mM glucose, 0.1% bovine serum albumin)에 용해시킨 다음, 0.45 μ m 여과지로 여과하여 실험에 사용하였다.

3. Compound 48/80에 의한 전신성 아나필락시

~ 방기를 compound 48/80 (8 mg/kg) 투여하기 60분전, 5분후 및 10분후에 암수 구분없이 생쥐의 복강내에 주사하였다. 치사율은 아나필락시를 유발시킨후 60분동안 관찰하여 결정하였다. 치사율의 관찰이 끝난 직후 생쥐의 심장 혈액에서 히스타민을 정량하였다.

4. 수동 피부 아나필락시 시험 (PCA)

피부에 anti-DNP IgE (100 g)를 피내 주사한 48 시간 후에 흰쥐의 꼬리 정맥에 DNP-HSA (1 mg)와 4% Evans blue (1:4)를 주사하여 PCA 반응을 일으키고 약 30분후에 흰쥐를 마취시킨후 피내주사한 피부를 절개하여 염색된 부위의 Evans blue 양을 측정하였다.

5. 히스타민 정량

에펜돌프 튜브에 시료 500 μ l를 넣고 0.1 N-HCl 450 μ l, 60% 과염소산 용액 50 μ l를 혼합한 후 원심분리하고 그 상층액 800 μ l를 5 N-NaOH, 증류수 3 ml, *n*-Butanol 10 ml 및 NaCl 1.2 g을 혼합한 시험관에 넣고 진탕 후 다시 원심분리 하였다. Butanol층 8 ml를 시험

관에 넣고 0.1 N-HCl 용액 3 ml와 *n*-Heptane 10 ml를 가하고 진탕 후 원심분리하여 얻어진 수층 2 ml에 1 N-NaOH 용액 400 μ l과 1% o-Phthaldialdehyde 용액 100 μ l를 넣고 수욕상 (37 $^{\circ}$ C) 에서 3분 동안 반응시킨 다음 3 N-HCl 용액 200 μ l를 넣고 혼합 후 2분 동안 방치하여 spectrofluorometer (λ_{ex} =360 nm, λ_{em} =440 nm)로 형광도를 측정하였다.

히스타민 유리 억제율(%)은 다음과 같이 계산하였다.

억제율 (%) = (약물을 부가하지 않았을 때의 히스타민양 - 약물을 부가하였을 때의 히스타민양) \times 100 / 약물을 부가하지 않았을 때의 히스타민 양

6. 복강 비만세포 분리

마취한 흰쥐에 0.1% gelatin을 함유한 Tyrode buffer B (NaCl, NaHCO₃, KCl, NaH₂PO₄, glucose) 약 20 ml를 복강 내에 주입하고 30 초간 복벽을 가볍게 맞사지한 후 복벽 중앙선을 절개하여 복강세포를 함유한 세척액을 채취하여 얻은 복강세포를 150 \times g로 10 분간씩 3회 반복하여 원심시킨 후 상층 부유액을 버리고 동일 Tyrode buffer B로 재부유시켰다. 이 세포부유액중 비만세포는 22.5% w/v metrizamide를 이용하여 분리 정제하였다.

7. cAMP 측정

분리한 흰쥐 복강 비만세포를 미리 37 $^{\circ}$ C에서 가온시킨 Tyrode buffer A에 부유한 다음 에펜돌프 튜브에 넣고 검액을 처리하여 0, 10, 30, 60, 180, 300초 간격으로 반응을 진행시키고, 짧고 강하게 vortex한 다음 산성화 에탄올 (86% ethanol/1 M HCl의 0.9 ml, 99:1)을 가하여 반응을 종료시켰고 액체질소로 순간 냉동시켰다. vortex한 다음 speed vacuum evaporator에서 건조시킨 샘플에 측정용 완충액 (150 - 200 μ l)을 넣고 냉동 보관하였으며 Amersham International Plc.의 kit를 이용하여 효소면역측정법으로 cAMP 수준을 측정하였다.

8. TNF- α 생성 정량

흰쥐 복강비만세포에 anti-DNP IgE (1 μ g/ml)로 감작

시킨 후 방기전당액을 투여하지 않거나 투여한 상태에서 6시간 동안 배양하였다. 이후 DNP-HSA (0.1 g/ml)를 투여하여 TNF- α 의 분비를 유도하였다. TNF- α 의 측정은 변형된 ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay)로 실시하였다. 즉 anti-murine TNF- α capture mAb는 flat-bottomed 96-well plate (Corning, Rochester, NY)에 coating buffer (0.02% sodium azide를 함유한 PBS, pH = 7.2)를 이용하여 각 well당 최종 농도 6.25 ng으로 처리한 후 4 $^{\circ}$ C에서 12시간동안 코팅하였다. 코팅 후 blocking buffer를 첨가하여 37 $^{\circ}$ C에서 2시간동안 blocking하고 다시 washing buffer로 세척 후 recombinant mouse TNF- α 표준액과 각 sample의 배양상등액을 37 $^{\circ}$ C에서 2시간동안 배양하였다. 이를 다시 세척하고 rabbit anti-murine TNF- α 를 1% BSA를 함유한 PBS를 이용하여 7.8 ng/ml 농도로 희석한 후 37 $^{\circ}$ C에서 2시간동안 배양하였다. 다시 washing buffer로 7회 세척 후 phosphatase가 결합된 goat anti-rabbit IgG (Sigma Co.)를 100 ng/ml 농도로 각 well에 처리한 다음 37 $^{\circ}$ C에서 2시간 배양한 후 세척하였다. 마지막 세척 후 0.05 M NaHCO₃와 0.05 mM MgCl₂로 조성된 buffer에 용해시킨 p-nitro phenyl phosphate (PNPP) 발색제를 100 μ 씩 각 well에 가하여 10분간 발색을 유도한 다음 ELISA reader를 이용하여 405 nm 파장에서 TNF- α 의 양을 측정하였다.

9. 통계학적 분석

모든 결과는 실험횟수에 대한 means \pm S.E.로 나타내었으며, 통계학적 분석은 Tukey's test에 의한 ANOVA 방법으로 행하였다. 유의성 검증은 P < 0.01로 하였다.

결 과

1. 전신적 아나필락시에 있어서 방기의 억제 효과

방기 (0.1-1000 mg/kg)를 compound 48/80 투여 1시간 전에 전처리 한 결과 치사율이 용량의존적으로 감소하였다 (n = 10/group). 특히 방기는 1000 mg/kg의 용량에서 치사율이 50%까지 감소하였다(Fig. 1).

2. 국소적 아나필락시에 있어서 방기의 억제 효과

항체 주사 48시간 후에 항원인 DNP-HSA 및 evans blue 색소를 꼬리 정맥에 주사하여 색소의 국소누출을 정량하여 비교한 결과 항원으로 야기하기 1시간 전에 방기를 투여한 실험군(100, 1000 mg/kg)에서는 현저한 억제율을 나타냈다(Fig. 2) ($P < 0.01$).

3. 혈장중 히스타민의 유리에 있어서 방기의 억제 효과
방기는 농도의존적으로 혈장내 히스타민의 방출을 억제시켰다(Fig. 3). 특히 방기 1-1000 mg/kg 체중에서는 그 효과가 현저하였다($P < 0.01$).

4. 흰쥐 복강 비만세포로부터 히스타민 유리에 있어서 방기의 억제 효과

방기 (1 - 1000 $\mu\text{g/ml}$)는 농도의존적으로 compound 48/80 유도성 및 IgE 매개성 히스타민 방출을 억제하였다(Fig. 4). 특히 방기 100, 1000 $\mu\text{g/ml}$ 농도에서 현저한 억제율을 나타냈다.

5. 흰쥐 복강 비만세포내 cAMP 수준에 있어서 방기의 효과

흰쥐 복강 비만세포를 방기와 함께 배양했을 때 세포

내 cAMP 함량이 증가하였다(Table 1). 특히 1000 $\mu\text{g/ml}$ 농도에서 현저한 증가를 나타냈다. 이때 방기에 의한 세포 독성은 거의 관찰되지 않았다(trypan blue uptake).

6. 활성화된 비만세포로부터 TNF- α 분비에 있어서 방기의 억제 효과

방기 (0.1 $\mu\text{g/ml}$)는 복강 비만세포로부터 IgE 매개성 TNF- α 분비를 현저히 억제시켰다(Table 2). 방기의 trypan blue 흡수실험에 의한 배양 비만세포에 대한 세포독성은 관찰되지 않았다.

고 찰

防己는 粉防己(*Stephania tetrandra*), 廣防己(*Aristolochia fangchi*), 木防己(맹태이덩굴, *Cocculus trilobus*), 漢中防己(異葉馬兜鈴, *Aristolochia heterophylla*), 青藤(青風藤, *Sinomenium acutum*), 새모래덩굴(*Menispermum dauricum*) 등의 건조된 根莖을 말한다¹⁰⁾. 이중 *Sinomenium acutum*은 青風藤 또는 漢防己로 불리워지며 우리나라에서는 남부지방의 해변과 홍도 등 남쪽 섬에서 자생한다¹¹⁾.

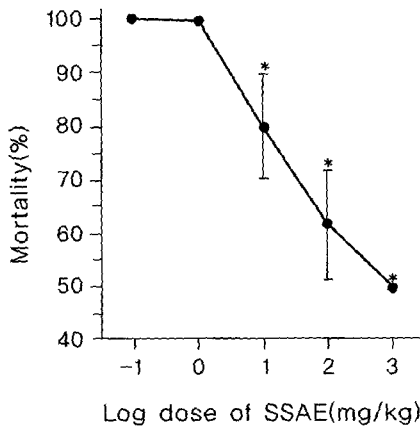


Fig. 1. Effect of SSAE (aqueous extract of *Sinomenium acutum*) on compound 48/80-induced systemic anaphylactic reaction in mice. * $P < 0.01$; significantly different from control value.

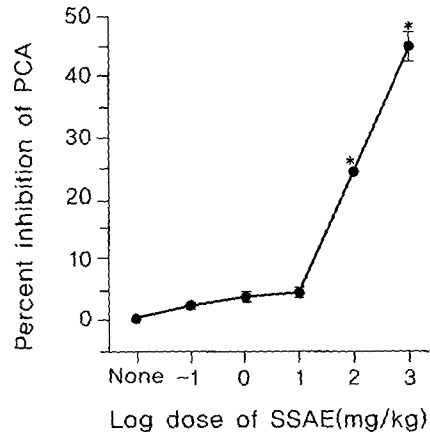


Fig. 2. Effect of SSAE on the 48-h PCA in rats.

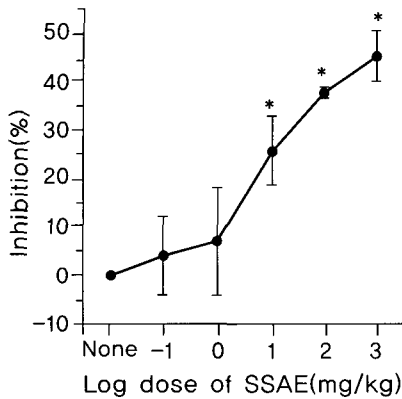


Fig. 3. Effect of SSAE on compound 48/80-induced plasma histamine release in mice.

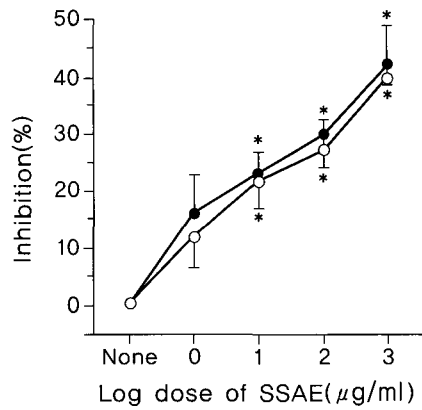


Fig. 4. Effect of SSAE on compound 48/80-induced (●) or IgE-mediated (○) histamine release in rat peritoneal mast cell (RPMC).

Table 1. Effect of SSAE on Compound 48/80-induced cAMP Content in RPMC

SSAE addition (μg/ml)	Compound 48/80 (5μg/ml)	cAMP (pmol/2 × 10 ⁵ cells)
None (Saline)	-	26 ± 9
None (Saline)	+	22 ± 2
1	-	26 ± 4
100	-	29 ± 10
1000	-	61 ± 14*
1000	+	43 ± 20*

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

Table 2. Effect of SSAE on IgE-mediated TNF-α Production

SSAE addition (μg/ml)	Anti-DNP IgE plus DNP-HSA addition	TNF-α production (ng/ml)
None (Saline)	-	0.48 ± 0.07
None (Saline)	+	1.23 ± 0.07
0.1	+	0.86 ± 0.08*

방기는 利水消腫 祛風止痛의 효능이 있어 水腫脚氣 小便不利 濕疹瘡毒 風濕痺痛과 血中濕熱 惡瘡癰腫의 치료에 활용된다¹²⁾.

방기의 주성분인 sionomenine은 *Sinomenium acutum*에만 함유되어 있으며 진통작용을 나타내는 활성성분으로 구조적으로 morphine과 유사하고 소염작용에 있어서는 아스피린보다 더 강력하며 항히스타민 작용을 나타낸다¹³⁾. 또 면역조절작용이 있으며, 농도의존적으로 thymine 병합을 촉진하고 IL-2 합성을 촉진하며 T 림파구를 자극한다¹⁴⁾. TNF-α와 iNOS(inducible nitric oxidase synthase)를 억제하며¹⁵⁾ adjuvant 관절염이나 항원유도관절염에 대한 치료작용도 보고되고 있다¹⁶⁾. 방기 추출액은 최근 진통작용과 소염 및 항과민작용, 혈압강하작용, 횡문근 이완작용, 항균, 항원충 및 항암작용과

최면작용 등을 가지는 것으로 보고되고 있다¹⁰⁾. 이 중 항과민작용은 광범위하여 비만세포의 탈과립과 세로토닌에 의한 혈관투과성 억제, 칼슘의 흡수를 억제하고 PCA 반응을 억제하며 히스타민의 방출을 억제하는 것으로 알려지고 있다¹⁾.

I형 알레르기 반응은 비만세포에 결합된 IgE에 항원이 교차 연계되어 매개인자 분비를 유도하는 IgE 매개 면역과민 반응이다. 즉 항원에 의해 면역된 생체는 IgE를 생산하고 생산된 IgE는 호염기구나 비만세포에 결합한다. 이후 항원이 체내에 다시 들어와 IgE와의 결합이 비만세포 표면에서 일어나면 비만세포의 탈과립을 유발시킨다. 비만세포의 탈과립을 유도하는 인자들 가운데 compound 48/80은 가장 많이 사용되는 약제로 비만세포의 세포질내로 Ca²⁺의 유입을 증가시켜 vasoactive amine을 유리한다. 고농도의 compound 48/80은 비만세포로부터 거의 90%까지 히스타민의 방출을 유도시키기 때문에 아나필락시의 기작을 연구하

는 데 유용하게 이용되고 있다⁶⁾.

전신성 아나필락시에 있어서 방기의 억제 효과를 관찰하기 위하여 compound 48/80을 투여하여 치사적 아나필락시를 유도하였다. 그 결과 생리식염수를 전처리한 대조군에서는 100%의 치사율을 보였다. 그러나 방기수침액을 compound 48/80 투여 1시간에 전처리한 실험군은 용량의존적으로 치사율이 감소하였다(Fig 1). 특히 방기는 1000 mg/kg의 용량에서는 치사율이 50%까지 감소하였다.

수동적 피부 아나필락시는 비만세포 표면에 존재하는 IgE 수용체에 결합하는 특이 IgE 항체를 생체 국소에 수동적으로 투여한 후 다시 항원을 주사하여 일으키는 피부반응이다⁸⁾.

국소적 아나필락시에 있어서 방기의 억제효과를 보기 위하여 수동적 피부아나필락시를 유도하고 방기를 항원으로 야기하기 1시간 전에 투여하여 색소의 누출량을 정량한 결과 100, 1000 mg/kg에서 현저한 억제율을 나타냈다(Fig 2). 이러한 결과는 방기가 각종 항원에 의한 국소 피부 알레르기 반응을 예방할 수 있다는 것을 의미한다.

또 compound 48/80 투여 1시간 전에 방기수침액을 복강내에 주사하고 혈장내 히스타민 농도를 측정된 결과 농도의존적으로 히스타민 방출이 억제되었으며 특히 1-1000 mg/kg에서는 그 효과가 현저하였다(Fig 3).

복강비만세포를 분리하고 비만세포 탈과립 물질인 compound 48/80과 IgE 수용체 응집에 의한 히스타민의 유리 실험을 위하여 분리한 복강 비만세포에 방기를 투여하고 10분 후에 compound 48/80 처리 및 IgE 항체 처리 후에 DNP-HSA로 야기하여 히스타민의 유리량을 측정된 결과 방기는 농도의존적으로 히스타민의 방출을 억제하였다(Fig 4). 특히 100, 1000 μ g/ml 농도에서 현저한 억제율을 나타냈다.

따라서 방기수침액의 히스타민 방출 억제 및 아나필락시 반응억제는 비만세포의 탈과립억제에 의한 것으로 생각된다.

알레르기성 질환의 진행에는 여러 가지 다른 매개물질의 중요성이 인정되고는 있으나 히스타민은 항원 유도성 피부 반응의 가장 근본적인 매개물질인 것으로

인식되고 있다. 화학적 매개물질의 피내 혹은 비강내 적용 및 화학적 매개물질 유도제의 투여에 의해서도 알레르기 모델과 유사한 양상으로 혈관 투과성이 증가한다^{19,20)}.

비만세포의 탈과립을 억제하는 물질 중 세포내 adenylylate cyclase의 활성화에 관련한 cAMP양의 증가는 비만세포로부터 탈과립 반응의 억제 기전으로 잘 알려져 있다²¹⁾. 비만세포로부터 히스타민의 방출을 억제하는 기전을 규명하기 위한 실험에서 방기수침액과 함께 흰쥐 복강 비만세포를 배양한 결과 세포내 cAMP 함량은 증가하였으며, 특히 1000 μ g/ml농도에서 현저한 증가를 나타냈다(Table 1). 이러한 결과는 비만세포의 탈과립에 있어서 방기의 억제 효과는 cAMP 수준의 증가를 통하여 매개되고 있는 것을 암시한다.

최근의 중요한 연구에 의하면 다양한 기능을 가진 여러 가지 세포활성물질들이 IgE-매개 비만세포 활성화의 결과로 유리됨이 밝혀졌다.

비만세포에서 발현하는 면역학적으로 중요한 세포활성물질 중에서 TNF- α 는 다양한 조직에서 염증, 조혈, 패혈증, 및 기생충 등에 대한 숙주저항 등을 매개하는 중요한 역할을 하는 것으로 잘 알려져 있다²²⁻²⁴⁾.

염증성 세포활성물질로 알려진 TNF- α 분비에 미치는 영향을 규명하기 위한 실험에서 방기는 복강비만세포로부터 IgE 매개성 TNF- α 의 분비를 현저히 억제하였다(Table 2). 또한 방기는 비만세포에 대한 세포독성을 나타내지 않았다. 이는 방기가 비교적 안전하다는 것을 의미한다고 볼 수 있다.

결과적으로 본 연구에서 저자는 방기가 면역학적 및 비면역학적 자극제에 의한 전신 및 국소 아나필락시를 현저히 억제하는 것을 발견하였다. 또한 방기는 혈장중 히스타민 수준을 감소시켰을 뿐 아니라 compound 48/80 혹은 anti-DNP IgE로 자극한 복강 비만세포로부터 분비되는 히스타민의 수준도 현저히 감소시켰다. 이러한 결과는 생체내·외에서 방기가 비만세포의 자극에 의한 급성 탈과립 반응을 억제하는 효과를 가지고 있는 것을 암시하고 있다. 또한 방기는 부분적으로 세포내 cAMP 함량의 증가를 통하여 비만세포의 탈과립을 억제하는 것으로 보여진다.

방기를 투여한 흰쥐에서 IgE 매개성 국소 아나필락시 반응도 현저히 억제되었다. 이러한 결과는 방기가 각종 항원에 의한 국소 피부 알레르기 반응을 예방 할 수 있다는 것을 의미한다. IgE 의존성 즉시형 알레르기 반응은 비만세포 및 호염기구 표면에 존재하는 IgE 수용체에 IgE 항체 및 다항원의 자극으로 수용체가 응집된 다음 고유의 신호전달 과정을 경유하여 일어난다. 그러므로 생체 내에서 알레르기 반응을 일으키는 표적세포에 결합할 수 있는 IgE 항체 생성 억제는 알레르기 질환의 예방 및 치료에 임상적 활용가치가 높다고 하겠다.

또한 본 연구에서 저자는 방기의 투여에 의해 복강 비만세포의 면역학적 자극에 의한 염증을 유발하는 세포활성물질로 알려진 TNF- α 의 분비가 억제되는 것을 증명하였다. 방기의 생체 내에서 염증 및 면역반응 중에 비만세포로부터 TNF- α 분비 억제 효과는 알레르기 질환의 병리학적 진행 과정을 차단하는 것을 의미하기 때문에 중요성이 매우 크다 하겠다.

이상의 결과를 종합하면 방기가 비만세포에 의해 매개되는 아나필락시 반응 및 염증반응을 억제하는 것으로 나타났다. 이는 방기가 한의학에서 大苦辛寒 入膀胱肺經하여 濕疹 瘡毒의 치료에 활용되고 특히 苦蔘, 白鮮皮, 金銀花, 土茯苓 등과 함께 사용되어 濕瘡濕疹을 치료한다²⁵⁾는 것에 대한 실험적 근거를 제공함은 물론 앞으로 알레르기 질환의 치료에 임상적 활용이 가능할 것으로 사료된다.

결론

임상적으로 알레르기 질환에 활용되고 있는 방기의 효능에 대한 실험적 근거 및 부분적인 작용 기전을 밝히기 위하여 방기수침액이 전신성 아나필락시반응 및 IgE 매개성 알레르기반응에 미치는 영향과 TNF- α 생성에 미치는 영향을 연구하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 방기는 compound 48/80으로 유도되는 전신적 아나필락시를 억제하였다.
2. 방기 (100, 1000 mg/kg) 는 국소적 피부 아나필락시를 현저히 억제하였다(P < 0.01).

3. 방기 (0.1-1000 mg/kg)는 compound 48/80으로 유도되는 혈장 중 히스타민의 방출을 용량의존적으로 억제하였다.
4. 방기 (1-1000 g/ml)는 compound 48/80 또는 anti-DNP IgE 로 활성화된 복강비만세포로 부터 히스타민의 방출을 용량의존적으로 억제하였다.
5. 방기는 비만세포내 cAMP 농도를 증가시켰다.
6. 방기는 활성화된 비만세포로 부터 주요한 염증성 세포활성물질인 TNF- α 의 분비를 억제하였다.

이상의 결과는 방기가 비만세포에 의해 매개되는 아나필락시 반응 및 염증반응을 억제하는 효능을 갖고 있는 것을 암시하며 임상적으로 알레르기 질환에 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

참고문헌

1. 黃泰康. 常用中藥成分與藥理手冊. 北京:中國醫藥科技出版社. 1994;898-903.
2. Ennis M, Pearce FL, Weston PM. Some studies on the release of histamine from mast cells stimulated with polylysine. *Br J Pharmacol.* 1990;70:329-334.
3. Metzger H, Alcaraz G, Hohman R, Kinet JP, Pribluda V, Quarto R. The receptor with high affinity for immunoglobulin E. *Annu Rev Immunol.* 1986;4:419-470.
4. Saito H, Nomura Y. Screening methods for drug 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.). Tokyo:Hirokawa. 1989;22.
5. Plaut M, Pierce JH, Watson CJ, Hanley-Hyde J, Nordon RP, Paul WE. Mast cell lines produce lymphokines in response to cross-linkage of Fc RI or to calcium ionophores. *Nature.* 1989;339:6467.
6. 황광호, 이언정, 송봉근, 김형균. 즉시형 알레르기 반응에 있어서 지질 물추출액의 억제 작용기전. *대한한의학회지.* 1997;18(1):316-325.
7. 김영학, 이언정, 송봉근, 김형균. 침향의 항알레르기 효과에 대한 연구. *대한한의학회지.* 1997;18(2):167-186.
8. 윤성찬, 송봉근, 이언정, 김형균. 황련해독탕가미방에

- 의한 면역글로불린(IgE) 매개성 아나필락시의 억제. 한방성인병학회지. 1997;3(1):66-77.
9. 오명진, 이언정, 송봉근, 김형균, 김동혁, 김성재. 유근피가 전신적 및 국소적 아나필락시에 미치는 효과. 대한한방내과학회지. 1998;19(2):249-260.
 10. 江蘇新醫學院. 中藥大辭典. 北京:人民衛生出版社. 1982;981-985.
 11. 이창복. 대한식물도감. 서울:향문사. 1993;372.
 12. 黃宮綉. 本草求真. 서울:의성당. 1991;143.
 13. Huang KC. The Pharmacology of Chinese Herbs. Fl:CRC Press Inc. 1993;166-167.
 14. Vieregge B, Redch K, Kaefer V. Synergistic effects of the alkaloid sinomenine in combination with the immunosuppressive drugs tacrolimus and mycophenolic acid. *Planta Med.* 1999;65(1):80-82.
 15. Candinas D, Mark W, Kaefer V, Miyatake T, Koyamada N, Hechenleitner P, Hancock WW. Immunomodulatory effects of the alkaloid sinomenine in the high responder ACI-to-Lewis cardiac allograft model. *Transplantation.* 1996;62(12):1855-1860.
 16. Liu L, Buchner E, Beitz D, Schmidt-Weber CB, Kaefer F, Emmrich F, Kinne RW. Amelioration of rat experimental arthritis by treatment with the alkaloid sinomenine. *Int J Immunopharmacol.* 1996;18(10):529-543.
 17. Baltzly R, Buck JS, De Beer EJ, Webb FS. A family of long acting depressors. *J Amer Chem Soc.* 1949;71:1301-1305.
 18. Wershil BK, Mekori YA, Murakami T, Galli SJ. 125I-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.* 1987;139:2605-2614.
 19. Inagaki N, Miura T, Daikoku M, Nagai H, Koda A. Inhibitory effects of α -adrenergic stimulants on increased vascular permeability caused by passive cutaneous anaphylaxis, allergic mediators and mediator releasers in rats. *Pharmacology.* 1989;39:1927.
 20. Inagaki N, Miura T, Ohira K, Nagai H, Xu Q, Koda A. Effect of CV-3988, a specific antagonist against platelet activation factor, on homologous passive cutaneous anaphylaxis in the mouse ear. *J Pharmacobiodyn.* 1990;13:272-277.
 21. Makino H, Saijo T, Ashida Y, Kuriki HH, Maki Y. Mechanism of action of an antiallergic agent, Amlexanox (AA-673), in inhibiting histamine release from mast cells. *Int Arch Allergy Immunol.* 1987;82:6671.
 22. Beuter B, Cerami A. Cachectin and tumor necrosis factor as two sides of the same biologic coin. *Nature.* 1986;320:584-588.
 23. Burd PR, Rogers HW, Gordon JR, Martin CA, Jayaraman S, Wilson SD, Dvorak AM, Galli SJ, Dorf ME. Interukin 3-dependent and independent mast cells stimulated with IgE and antigen express multiple cytokines. *J Exp Med.* 1989;170:245-257.
 24. Walsh LJ, Trinichieri G, Waldorf HA, Whitaker D, Murphy GF. Human dermal mast cells contain and release tumor necrosis factor a which induces endothelial leukocyte adhesion molecule 1. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1991;88:4220-4228.
 25. 北京中醫學院中藥方劑教研組. 藥性歌括四百味白話解. 北京:人民衛生出版社. 1962;55.