通竅湯의 卽刻型 알레르기 반응 억제 효과에 관한 실험적 연구

김영복 · 윤용갑*

원광대학교 한의과대학 방제학교실

Experimental Studies on the Inhibitory Effect of Immediate-Type Allergic Reaction of Tongku-tang

Young Bok Kim, Young Gab Yun*

Departments of prescription, in Oriental medicine Wonkwang University

This report describes an inhibitory effect of Tongku-tang(TKT) on mast cell-mediated immediate-type allergic reactions. TKT is an Oriental herbal prescription, which has been successfully applied for the treatment of allergic disorders, mainly skin anaphylactic diseases in eastern medicine. TKT has concentration-dependently inhibited the ear swelling response induced by intradermal injection of non-specific mast cell degranulator compound 48/80 in mice. TKT also inhibited mast cell-dependent passive cutaneous anaphylaxis activated by dinitrophenyl (DNP)-IgE antibody in rats. I studied the effect of TKT on the histamine and β-hexosaminase release from the rat peritoneal mast cells by compound 48/80. TKT did not inhibit significantly the histamine and β-hexosaminase release from the rat peritoneal mast cells by compound 48/80. However, TKT inhibited both TNF-α and IL-1β secretion induced by phorbol 12-myristate 13-acetate and A23187 respectively. These results provide evidence that TKT may be beneficial in the treatment of immediate-type allergic reaction.

Key words : Tongku-tang(通竅湯), mast cell immediate-type allergic reactions, TNF-α and IL-1β.

서 론

본 실험에 사용한 通竅湯은 許[2]의 東醫寶鑑에 수록된 처방으로 方劑 구성은 羌活, 防風, 藁本, 升麻, 葛根, 川芎, 蒼朮, 白芷, 麻黃, 川椒, 細辛, 甘草, 生薑, 葱白으로 되어 있으며, 風寒에 感觸되어 鼻塞聲重하고 流涕하며 不聞香臭 증상에 사용하여 왔으며, 여러 醫家[1-4]들이 風寒 및 肺氣虛寒으로 인한 鼻塞聲重, 流涕를 치료하는 처방으로 널리 사용 하였고, 최근에는 鼻炎과 알레르기성 鼻炎등에 임상적으로 다용하고 있다[5-10]. 알레르기성 鼻炎은 鼻閉塞과 水樣性 鼻漏의 일부를 포함하는 鼻鼽, 噴嚔등의 範疇에 속하며[11,12] 鼻鼽는 鼻流清涕, 噴, 鼻塞, 不聞香臭 등이 나타나는 疾患을 말하고, 噴嚔는 鼻腔內가 가려우면서 氣가 분출할 때 소리가 나는 것을 말하는 것으로 發作性 재채기의 형태이다[13,14]. 따라서 通竅湯이 알레르기성 鼻炎 치료에 깊은 연관성이 있을 것으로 생각되어 본 실험을 착수하게 되었다. 한편, 알레르기성 鼻炎은 鼻粘膜의 제 1型 알레르기 질환이다[7-9]. 제 1型 알레르기는 아나필락시 (anaphylaxis) 또는 卽刻型 알레르기라고도 하며, 알레르기성 鼻炎을 비롯하여 기관지천식, 알레르기성 결막염, 알레르기성 두드러기, 아토피성 피부염 등의 질환도 일으킨다[8,9]. 여기에서 아나필락시는 抗原 抗體 反應이 수 십분 내에 급격히 일어나는 반응이다[15,16]. 알레르기 疾患을 일으키는 주된 원인 세포인 肥滿細胞는 細胞膜에 있는 여러 가지 수용체를 통해서 活性化 된다. 肥滿細胞를 活性化시키는 매체로는 compound 48/80, IgE 항체, protein kinase C (PKC) activator인 phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA), calcium ionophore (A23187) 등이 있다[17]. 肥滿細胞에서 유리되는 化學媒體의 量은 histamine이 가장 많다. 따라서 알레르기反應에서 histamine에 의한 작용이 중요하며 血管 擴張, 浮腫 등에 의한 증상이 주로 나타난다[18-20]. 그러나 알레르기 반응의 새로운 개념인 알레르기성 炎症反應은 이들 化學媒體의 작용만으로는 설명하기 어렵다. 최근에 발표된 많은 病理所見에서 慢性 炎症性 反應이 알레르기 반응에서 공통적으로 발견되었고, 특히 6시간 前後에 나타나는 後期 반응의 기전이 炎症反應으로 이해되고 있기 때문에 肥滿細胞로부터 유리되는 化學媒體 외에 炎症性 사이토카인인 종양괴사인자 알파 (tumor necrosis factor, TNF-α), 인터루킨-1 (IL-1)과 인터루킨-6 (IL-6)가 이러한 알레르기성 炎症反應의 유도에 결정적인 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 따라서, 著者는 通竅湯이 卽刻型

* 교신저자 : 윤용갑, 전북 익산시 신용동 344-2, 원광대학교 한의과대학
E-mail : yunyg@wonkwang.ac.kr Tel : 063-850-6834
접수: 2001/11/20 · 수정: 2002/01/10 · 채택 : 2002/02/01

알레르기 반응 조절에 미치는 효과를 알아보기 위하여 생체내 실험으로 非免疫學的 刺戟劑인 compound 48/80에 의한 耳介浮腫 反應과 免疫學的 刺戟에 의한 受動 皮膚 알레르기 反應을 실시하였으며, 생체외 실험으로 compound 48/80 에 의해 유도되는 腹腔 肥滿細胞로부터 histamine 및 β-hexosaminidase 방출 조절 효과를 관찰하였다. 또한 알레르기성 炎症反應을 일으키는 사이토카인은 PKC 活性物質인 PMA와 A23187 등에 의해 자극된 비만세포로부터 분비되는바 TNF-α와 IL-1β의 분비에 미치는 영향을 관찰하여 유의성 있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 실험동물 및 시약

본 연구에서 사용한 실험동물은 다물사이언스 (대전, 충남)에서, compound 48/80, dinitrophenyl-human serum albumin (DNP-HSA), DNP-IgE, PMA, A23187, avidin peroxidase, 2, 2'-azino-bis (3-ethylbenzithiazoline-6-sulfonic acid) tablets substrate, o-phthaldialdehyde 및 metrizamide 등은 Sigma 회사 (St Louis, MO)로부터 구입하여 사용하였다. β-hexosaminase는 Calbiochem (Sandiego, CA)에서 구입했다. TNF-α와 IL-1 항체, 재조합 TNF-α와 IL-1, biotin이 결합된 2차 항체는 R&D systems (Minneapolis, MN)로부터 구입하였다.

2. 실험약재

본 실험에 사용한 실험약재는 許[2]의 <東醫寶鑑>에 준한 처방이며, 약재는 원광대학교 익산 한방병원에서 구입하여 엄선한 후 사용하였다. 처방내용 분량은 다음과 같고 증량은 一貼의 분량이다. 한약재 전탕 추출액을 여과하여 동결 건조시키고, 동결건조한 한약재는 4℃에서 보관하였고, 동결건조한 한약재를 멸균된 용매에 녹여 실험에 사용하였다.

Table 1. The Compositions of Tongku-ting extracts

韓藥名	生藥名	重量(g)
防風	Radix Ledebouriellae	3.75
羌活	Radix Osteric Koreani	3.75
藁本	Radix Ligustici Tenuissimae	3.75
升麻	Rhizoma Cimicifugae	3.75
葛根	Radix Puerariae	3.75
川芎	Rhizoma Cnidii	3.75
蒼朮	Rhizoma Atractylodis	3.75
白芷	Radix Angelicae Dahuricae	1.875
麻黃	Herba Ephedrae	1.875
川椒	Pericarpium Zanthoxyli	1.125
細辛	Radix Asari	1.125
甘草	Radix Glycyrrhizae	1.125
生薑	Rhizoma Zingiberis	3.75
蔥白	Bulbus Allii Fistulosi	2.00
	Total amount	39.125

3. 耳介浮腫 (ear swelling)반응 시험

이개부종은 실험동물에 경구로 복용시킨 후 compound 48/80을 귀볼에 피내 주입 (100 ug/site)한 후 micrometer를 이용하여 귀의 두께를 측정함으로써 결정하였다.

4. 수동 피부 아나필락시(passive cutaneous anaphylaxis, PCA) 반응

수동적인 피부 알레르기반응을 일으키기 위해 IgE 의존성 피부 반응은 anti-DNP IgE를 피내 주입하여 피부를 감작시킨 후 48시간 후에 DNP-HSA를 꼬리에 정맥주사 함으로써 일으켰다. DNP-HSA는 phosphate-buffered saline (PBS)으로 희석하여 흰쥐의 등에 anti-DNP IgE를 100 ng주입하고 48시간 후에 4 % evans blue와 DNP-HSA를 1:1섞은 용액을 쥐의 꼬리정맥에 주사하였다. 한약재는 항원 (DNP-HSA)을 투여하기 1시간 전에 경구투여 하였다. 흰쥐를 치사시킨 후 반응이 일어난 부위를 잘라 0.1 N KOH 500 μl를 넣은 다음 acetone과 phosphoric acid (5:13) 혼합용액을 4.5 ml씩 넣어 색소를 추출하였다. 추출물의 흡광도는 spetrophotometer 620 nm에서 측정하여 evans blue standard curve로 염색 양을 계산하였다.

5. 복강 비만세포 분리

흰쥐를 에테르로 마취시킨 후 0.1% gelatin을 함유한 Tyrode buffer B (NaCl, $NaHCO_3$, KCl, NaH_2PO_4, glucose) 약 20 ml를 복강내에 주입하고 30 초간 복벽을 가볍게 맛사지한 후 복벽 중앙선을 조심스럽게 절개하여 복강세포를 함유한 세척액을 파스퇴르 피펫으로 채취하였다. 복강세포를 150×g로 10 분간씩 3회 반복하여 원침시킨 후 상층 부유액을 버리고 동일 Tyrode buffer B로 재부유시켰다. 이 세포부유액중 비만세포는 22.5% (w/v) metrizamide를 이용하여 분리 정제하였다. 즉 Tyrode buffer B 1 ml에 현탁시킨 복강세포 ($6\text{-}9\times10^7$)에 22.5% (w/v) metrizamide (density, 1.120 g/ml)를 중첩시켜 400 × g에서 15분동안 상온에서 원심분리하였다. 완충액과 metrizamide 접촉면의 세포는 수집하여 버리고, 펠렛의 세포를 Tyrode buffer B 1 ml에 재부유시켰다. 99% 이상 순도의 복강 비만세포를 얻기 위해 이 과정을 반복하였다.

6. histamine 분석 정량

에펜돌프 튜브에 시료 500 μl를 넣고 0.1N-HCl 450 μl, 60% 과염소산 용액 50 μl를 넣고 혼합 후 원심분리 (1,500 rpm, 20 min)하여 그 상층액 800 μl를 5 N-NaOH 용액 500 μl, 증류수 3 ml, n-Butanol 10 ml 및 NaCl 1.2 g을 혼합한 시험관에 넣고 진탕 후 원심분리(2,000 rpm, 10 min)하였다. butanol층 8 ml를 50 ml 시험관에 넣고 0.1 N-HCl 용액 3 ml, n-heptane 10 ml를 가하여 진탕 후 원심분리 (2,000 rpm, 10 min)하였다. 여기에서 얻어진 수층 2 ml에 1 N-NaOH 용액 400 μl와 1% o-phthaldialdehyde 용액 100 μl를 넣고 혼합 후 2분 동안 방치하여 spectrofluormeter (λex = 360nm, λex = 440 nm)로 형광도를 측정하였다. histamine 유리 抑制率 (%)은 다음과 같이 계산하였다.

$$\text{抑制率 (\%)} = \{A - B) \times 100\} / A$$

A : 약물을 부가하지 않았을 때의 histamine양, B : 약물을 부가하였을 때의 histamine양

7. β-hexosaminidase assay

통규탕이 비만세포의 탈과립에 미치는 영향을 알아보기 위하여 복강비만세포를 compound 48/80으로 자극한 후 상층액으로부터 β-hexosaminidase assay를 실행하였다. 즉 각 샘플의 50 μl를 기질인 ρ-nitro-phenyl-N-acetyl-β-D-glucosaminide (Sigma) 와 함께 96-well microtiter plate에서 37℃에서 1시간동안 배양시킨 다음, 이 반응을 멈추기 위해 0.1 M carbonate buffer (pH 10.5) 200 μl/well를 첨가한 다음 enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) reader로 405 nm에서 발색반응 정도를 읽었다.

8. 세포배양

인간 비만세포주인 HMC-1 세포를 10% 우태아혈청 (fetal bovine serum, FBS)이 포함된 IMDM (Gibco BRL, USA)으로 배양하였다. HMC-1 세포(5×10^5 세포)를 6시간동안 PMA와 A23187로 자극했다. 방출된 TNF-α와 IL1-β는 4℃에서 5분간 400 x g로 원심분리해서 상층액으로 부터 분리했다.

9. ELISA

배양된 상층액 중의 TNF-α와 IL-1β 등의 단백질 양을 측정하기 위해 96 well plate에서 duplicate로 ELISA를 실시하였다. 각 단클론 항체를 PBS (pH 7.4)로 희석하여, 96 well plate에 100 μl씩 각각 코팅한 다음, 4℃에서 12시간 동안 방치하였다. 이 plate를 0.05% tween이 포함된 PBS로 씻어낸 다음 1% BSA, 5% sucrose, 0.05% NaN_3를 함유한 PBS로 1시간동안 blocking 하였다. 몇 번을 씻어 낸 다음, 원심분리하여 얻은 상층액과 표준 사이토카인을 첨가한 후 37℃에서 2시간 동안 방치하였다. 37℃에서 2시간 동안 방치한 후, 각 well을 다시 씻어내고 biotin이 결합된 2차 항체 사이토카인을 첨가하여 다시 37℃에서 2시간 동안 방치하였다. Well을 씻어낸 다음 avidin peroxidase를 첨가하고 37℃에서 30분동안 방치한 다음, well을 다시 씻은 다음에 기질인 ABTS 용액을 첨가하고, 발색반응을 ELISA reader를 사용하여 405 nm에서 측정하였다.

10. 통계학적 분석

모든 자료는 means±S.E.로 나타내었으며, 통계학적 분석은 student's t-test로 행하였다. 유의성 검증은 대조군과 비교하여 결정하였다.

실험성적

1. 통규탕이 compound 48/80에 의해 유도되는 비만세포 매개성 耳介浮腫 반응에 미치는 영향

compound 48/80 (100 μg/site)을 생쥐의 耳介에 주입하기 1시간 전에 냉동 건조하여 4℃ 에 보관한 통규탕 추출물을 생리식염수에 용해하여 경구로 투여하였다. Table 2에 나타낸 바와 같이 통규탕 추출물의 경구투여에 의해 耳介浮腫 반응이 억제되었다. 특히 통규탕은 실험 농도 0.1 g/kg에서 현저한 억제효과를 나타냈다(P <0.05). 그러나 통규탕 1 g/kg 농도에서는 오히려 그 효과가 감소하였다.

Table 2. Effect of Tongku-tang on compound 48/80-induced ear swelling reaction

TKT (g/kg)	Thickness difference (mm)
None (saline)	0.169 ± 0.033
0.01	0.142 ± 0.021
0.1	0.086 ± 0.014*
1	0.107 ± 0.018

Ten microliters of 100 ug/ml concentration of compound 48/80 were intradermally applied to both ears of mice. Saline or TKT was administered orally 1 hr prior to the compound 48/80 application. Ear swelling was measured 30 min after application of compound 48/80. Each datum represents the mean ± S.E. of 4 independent experiments. *P < 0.05 : significantly different from the control value.

2. 통규탕이 면역학적 자극에 의한 수동 피부 아나필락시 반응에 미치는 영향

Anti-DNP IgE의 국소 皮內注射 후에 抗原 (DNP-HSA)의 靜脈內 주사에 의해 야기되는 실험 모델인 수동 피부 아나필락시 반응이 있어서 통규탕의 효과를 실험하였다. 통규탕 (0.1, 1 g/kg)을 항원주사 1시간 전에 흰쥐에 경구 투여했을 때 수동 피부 알레르기 반응이 현저히 억제되었다(Table 3).

Table 3. Effect of Tongku-tang on passive cutaneous anaphylaxis reaction

TKT (g/kg)	Inhibition rate (%)	Amount of dye (μ g/site)
None (Saline)	-	14.19 ± 1.6
0.1	49.5	7.16 ± 1*
1	45.5	7.73 ± 2*

Saline or TKT was administered orally 1 hr prior to the challenge with antigen. Each amount of dye represents the mean ± S.E. of 3 independent experiments. *P < 0.05 : significantly different from the control value.

3. 통규탕이 비만세포의 탈과립에 미치는 영향

흰쥐의 복강으로부터 비만세포를 분리하여 compound 48/80으로 비만세포의 탈과립을 유도하기 전에 통규탕을 1시간 동안 전처리하여 비만세포로부터 histamine과 β-hexosaminidase의 방출 억제율을 측정하였다. 그 결과 통규탕은 비만세포의 탈과립 조절에는 유의성있는 억제 효과를 나타내지 못함을 관찰하였다(Table 4).

Table 4. Effect of Tongku-tang on degranulation of rat peritoneal mast cells

TKT (g/l)	Histamine inhibition (%)	β-hexosaminidase inhibition (%)
None (saline)	-	2.57 ± 1.8
0.01	-	7.84 ± 1.2
0.1	-	9.80 ± 2
1	12.1 ± 3	13.70 ± 1.7

Rat peritoneal mast cells (2×10^5 cells) were preincubated with various concentrations of TKT at 37℃ for 30 min prior to incubation with compound 48/80. Each datum represents the mean ± S.E. of 4 independent experiments.

4. 통규탕이 PMA와 A23187에 의해 자극된 비만세포로부터 TNF-α 분비에 미치는 영향

인간 肥滿細胞주 HMC-1 세포를 이용한 통규탕의 TNF-α 분비 조절에 미치는 영향을 분석하기 위하여 PKC activator인

PMA와 calcium ionophore인 A23187으로 세포를 자극하였다. 비만세포를 자극하기 전에 통규탕을 30분동안 전처리하고, HMC-1 세포를 6시간동안 PMA와 A23187로 자극하여 TNF-α의 분비를 유도하여 통규탕의 효과를 실험한 결과 통규탕은 0.01과 1 g/l 농도에서 A23187로 자극된 HMC-1로부터 TNF-α의 분비를 현저하게 억제한 반면, PMA 자극에 의한 억제 효과는 미약하였다. 또한 0.1 g/l 농도에서는 모두 현저한 억제효과를 나타내지 않았다(Fig. 1).

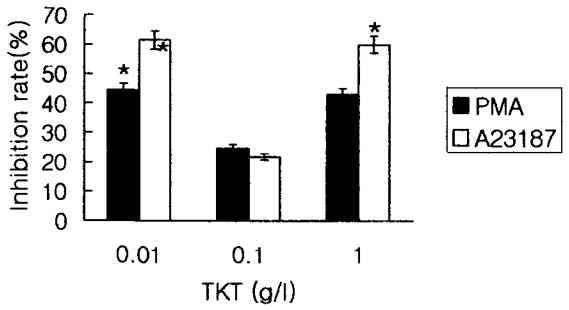

Fig. 1. Effect of Tongku-tang (TKT) on PMA or A23187-stimulated TNF-α secreation from mast cells. Compound 48/80-induced ear swelling reaction HMC-1 cell (5×10^5 cell/ml) were pretreated with TKT for 30min. After that they were incubated with PMA (10^{-7} M) and A23187 (10^{-6} M) for 6 hr. TNF-α levels in supernatant were measured using in ELISA. Each datum represents the mean ± S.E. of 5 independent experiments. *P<0.05 : significantly different from the control value.

5. 통규탕이 PMA와 A23187에 의한 자극된 비만세포로부터 IL-1β 분비에 미치는 영향

Fig. 2는 PMA와 A23187에 의한 자극된 HMC-1 비만세포에서 통규탕의 IL-1β방출조절 효과를 분석한 자료이다. HMC-1 세포에 PKC activator인 PMA와 calcium ionophore인 A23187으로 6시간 동안 자극하여 IL-1β를 유도했을 때 통규탕의 억제 효과를 실험하였다. 통규탕은 자극된 HMC-1로부터 분비되는 IL-1β를 각 실험농도에서 모두 현저하게 억제하였다. 특히 A23187로 자극했을 경우 농도 의존적 효과는 물론 탁월하게 현저한 억제 효과를 나타냈다.

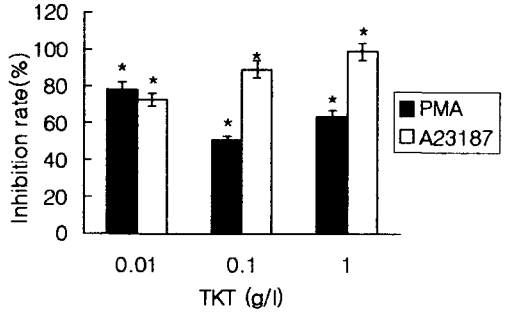

Fig. 2. Effect of Tongku-tang (TKT) on PMA or A23187-stimulated IL-1β secreation from mast cells. HMC-1 cell (5×10^5 cell/ml) were pretreated with TKT for 30 min. After that they were incubated with PMA (10^{-7}M) and A23187 (10^{-6} M) for 6 hr. IL-1β levels in supernatant were measured using in ELISA. Each datum represents the mean ± S.E. of 5 independent experiments. *P<0.05 : significantly different from the control value.

고 찰

通竅湯 각각 구성약물의 氣味는 대부분 辛溫하며 그 효능은 發散解表 祛風止痛하는 작용이[21,22] 있으며 藥理學的으로는 抗菌, 抗炎, 解熱, 鎭痛, 항알레르기 및 면역작용이 있는 것으로 알려져 있다[21,23,24]. 특히, 防風, 羌活, 麻黃, 細辛은 항알레르기 및 면역작용이 있고 防風, 羌活, 蒼朮, 白芷, 麻黃, 細辛, 甘草등은 항소염 作用이 있는 것으로 보고되고 있다[21,23,24]. 통규탕의 方劑學的 구성 특징을 보면 葛根, 升麻, 甘草, 生薑, 葱白은 升麻葛根湯의 일부로 볼 수 있는데 升麻葛根湯은 陽明經(顔面部)의 感冒症이나 溫病에 사용해 온 방제이며 羌活, 防風, 川芎, 白芷, 蒼朮, 細辛, 甘草는 九味羌活湯의 일부로 볼 수 있는데 九味羌活湯은 風寒邪에 感觸된 諸疾患에 사용되어온 방제이다. 川椒는 通竅 및 개규작용이 있으며, 麻黃은 發汗 解表 止咳 定喘하며, 藁本은 鎭痛作用이 있는 약물이다[21,22]. 따라서 이를 종합하면 통규탕은 升麻葛根湯과 九味羌活湯이 合方된 變方에서 白芍藥, 生地黃, 黃芩을 去하고 川椒, 麻黃, 藁本이 가미된 처방구성을 하고 있기 때문에 顔面部 陽明經에 風寒邪가 침입하여 생기는 여러 증상의 鼻病疾患을 치료할 수 있는 方劑로 생각할 수 있다. 그러므로 東醫寶鑑에도 통규탕이 鼻塞聲重, 流涕, 不聞香臭 등을 치료한다고[2] 기록하고 있다. 그 밖에 통규탕의 구성약물중에서 羌活, 防風, 藁本, 升麻, 葛根, 川芎, 蒼朮, 白芷, 麻黃, 川椒, 細辛, 甘草, 生薑, 蔥白 등이 수종씩 배합된 처방으로써, 鼻塞 및 不聞香臭症에 사용한 처방으로는 鼻不聞香臭方, 禦寒湯, 麗澤通氣湯, 溫胃湯, 溫肺湯, 芎藭散등이 있고, 鼻淵症에 사용한 것으로는 防風湯, 荊芥蓮翹湯, 蒼耳散, 등이 있으며 鼻齆에 사용한 처방은 細辛膏, 川椒散이 있으며, 鼻痔엔 辛夷膏, 瓜丁散이 사용된다고 東醫寶鑑에 기록되어 있다[2]. 알레르기증상은 生體內에서 抗原 抗體 反應의 과민현상이며 이러한 과민현상이 빠르게 나타나는 것과 늦게 나타나는 즉 發生時間에 따라서 卽刻型과 遲延型으로 구분된다[19]. 알레르기반응에는 外部에서 들어온 抗原에 대하여 몸 안에서 對抗하기 위하여 만들어진 IgE 抗體가 結合하여 반응하는 것과, 자기몸의 구성성분과 특이적으로 반응하는 항체에 의에서 불러일으켜지는 기능적 또는 기질적 장애에 기인하는 自記免疫反應으로 구분된다[19]. 조직내 肥滿細胞 및 이에 상응하는 순환계 내의 호염구가 IgE 抗體에 의한 자극을 받게 되면 면역계에서 가장 강력한 실행기작 중의 한 반응이 일어난다. 이러한 세포들에 부착되어 있는 IgE 抗體 分子에 항원이 결합하면, 이 세포들로부터 다양한 종류의 매개 물질이 빠르게 분비됨으로써 총체적으로 혈관투과성이 증가하며, 血管의 擴張과 氣管支 및 內臟 平滑筋의 收縮, 그리고 局部 炎症 등과 같은 반응이 일어난다. 이 반응은 항원의 공격이 있은 후, 수분 내에 급속하게 시작되기 때문에 이를 卽刻型 과민반응(immediate-type hypersensitivity)이라 부른다. Coombs와 Gell은 免疫反應이 과도하게 또는 부적당하게 일어나서 알레르기 反應에 의한 組織障碍를 야기하는 免疫學的 機轉을 아래와 같이 Ⅰ-Ⅳ의 4가지 型으로 分類[25]하고 있다.

Table 5. Type of Allergic Reaction.

구 분	내 용
Ⅰ형 (즉시형, 아나필락시형)	알레르겐이 침입하여 FcεRⅠ 수용체에 IgE가 교차 결합되면 肥滿細胞에서 탈과립 반응이 일어나 화학적 매개물질의 유리가 유도된다.
Ⅱ형 (세포독성)	IgG · IgM 항체가 표적세포 표면의 항원에 결합하면 K세포에 의하여 세포상해 작용이나 보체에 의한 세포 융해 작용이 초래된다.
Ⅲ형 (면역 복합체성)	면역 복합체가 순환하다가 대량으로 일정 조직에 침착되어 그 면역 복합체가 세망내피계에서 제거되지 않으면 보체가 활성화 되고 더욱이 호중구 등의 다형핵 백혈구의 침윤을 유도하여 조직 손상을 일으킨다.
Ⅳ형 (지연형)	항원감작 T세포는 동일 항원에 다시 접촉한 후에 림포카인을 분비한다. 림포카인은 염증을 유도하고 대식세포를 활성화하여 여러 가지 화학적 매개물질을 배출시킨다.

通竅湯이 compound 48/80에 의해 유도되는 耳介浮腫 반응에 미치는 영향은 <Table 2> 에 나타낸 바와 같이 통규탕 추출물은 耳介浮腫 反應을 억제 시켰다. 특히 통규탕은 실험 농도 0.1 g/l 에서 현저한 억제효과를 나타냈다. 또한, 통규탕이 면역학적 자극에 의한 수동 피부아나필락시 반응에 미치는 영향을 보면 〈Table 3〉 에 나타나는 바와 같이 통규탕 (0.1, 1 g/kg)을 항원 주사 1시간 전에 흰쥐에 경구 투여했을 때 수동 피부 알레르기 반응을 현저히 억제 시켰다. 이와 같은 실험 결과로 보아 耳介浮腫 반응과 수동 피부아나필락시 반응에서 통규탕이 卽刻型 알레르기반응조절에 대한 顯著한 억제를 나타내는 것을 알 수 있다. 한편 compound 48/80 은 비만세포의 세포질내로 Ca^{2+} 유입을 증가시켜 혈관 작동성 아민을 유리하는 물질이므로 耳介浮腫은 이러한 기전과 관계가 깊은 것으로 생각된다. 이러한 신호전달과정의 활성화 기작은 compound 48/80이 직접적으로 G-protein를 활성화한다는 이론[26]이 입증되고 있으므로 통규탕이 이러한 반응에 현저한 억제효과를 보임으로써 즉각형 알레르기 반응에 대한 중요한 임상적 의의를 갖는다고 볼 수 있다. 다음으로 통규탕이 비만세포의 탈과립에 미치는 영향을 살펴보면 〈Table 4〉 에서 보는 바와 같이 흰쥐의 복강으로부터 비반세포를 분리하여 compound 48/80으로 비만세포의 탈과립을 유도하기 전에 통규탕을 1시간 전처리하여 비반세포로부터 histamine과 β-hexosaminidase의 방출 억제율을 측정해본 결과 통규탕은 복강 비만세포의 탈과립 조절에는 유의성있는 억제 효과를 나타내지 못함을 관찰하였다. 이는 통규탕이 鼻塞 鼻淵 鼻流清涕등 鼻腔粘膜의 病症에 사용하는 處方이며 복부질환의 질병에 사용하는 예는 찾아보기 힘들다. 따라서 腹腔의 비만세포의 탈과립에는 영향을 미치지 못하는 것으로 생각할 수 있다. 이와 같은 측면에서 보면 통규탕의 임상치료 효과에 부합되는 실험결과를 나타낸 것으로 볼 수 있다.

한편 최근 알레르기 반응의 새로운 槪念인 炎症反應은 화학매체의 작용만으로는 설명하기 어렵다. 近者에 발표된 많은 병리소견에서 만성 염증성 반응이 알레르기 반응에서 공통적으로 발견되었고, 특히 6시간 전후에 나타나는 후기 반응의 기전이 염증반응으로 이해되고 있기 때문에 비만세포로부터 유리되는 화학매체 외에 염증성 사이토카인인 TNF-α, IL-6와 IL-1이 이러한 알레르기성 염증반응의 유도에 결정적인 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 따라서, 통규탕이 PMA와 A23187에 의해 자극된 비만세포로부터 TNF-α 분비에 미치는 영향과 IL-1β 분비에 미치는 영향에 대해서 실험을 시도하였다. 먼저, 비만세포를 자극하기 전에 통규탕을 30분동안 전처리하고 HMC-1 세포를 6시간동안 PMA와 A23187로 자극하여 TNF-α의 분비를 유도하여 통규탕의 효과를 실험한 결과 통규탕은 0.01, 1 g/l 농도에서 A23187로 자극된 HMC-1로부터 TNF-α의 분비를 현저하게 억제한 반면, PMA 자극에 의한 억제 효과는 미약하게 나타났다 <Fig. 1>.다음에, HMC-1 세포에 PKC activator인 PMA와 calcium ionophore인 A23187으로 6시간 동안 자극하여 IL-1β를 유도했을 때 통규탕의 효과를 실험하였다. 통규탕은 자극된 HMC-1로부터 분비되는 IL-1β를 억제하였다. 특히 A23187로 자극했을 경우에는 농도 의존적 효과는 물론 탁월한 억제 효과를 나타냈다 <Fig. 2>. 이는 통규탕이 알레르기성 炎症反應을 강하게 억제한다는 것으로 볼 수 있으며 그 작용 기전은 비만세포에서 유리된 TNF-α가 국소의 혈관내피세포에 작용하여, 백혈구의 혈관 유주를 유도하는 것으로써 특히 알레르기 국소의 염증반응에 중요한 역할을[25] 하고 있기 때문으로 생각된다. 통규탕의 A23187 자극에 의한 이들 사이토카인의 현저한 억제 효과는 1차적 탈과립반응에 관여하는 비만세포내 Ca^{2+} 수준 조절 효과인 것을 의미한다. 비만세포는 TNF-α를 생성하여 항 종양작용도 있는 것으로 추측되지만 여기에 대한 자세한 기전연구는 더욱 연구해야 할 과제로 생각된다. 또한 통규탕에 의한 TNF-α 분비 억제 효과가 농도 비의존적인 biphase(二相性)의 특징을 나타내는 이유에 대해서도 계속적인 연구가 필요하다.

이상의 실험결과를 종합하면 통규탕은 鼻腔에서 일어나는 卽刻型 알레르기 증상인 鼻腔浮腫과 鼻腔粘膜의 分泌過多에 의한 鼻塞聲重 流涕 不聞香臭 등에 활용 할 수 있을 뿐만 아니라 二次的으로 발생할 수 있는 알레르기성 鼻炎 症狀에도 활용 할 수 있다는 근거를 제시한 것으로 사료된다.

결 론

통규탕의 卽刻型 알레르기 반응 조절에 미치는 효과를 알아보기 위하여 생체내 및 생체외 실험으로 그 효과를 구명한 결과, 통규탕 추출물 (0.01 - 1 g/kg)은 경구투여에 의해 생쥐에서 耳介浮腫 反應을 억제 시켰다. 특히 통규탕은 실험 농도 0.1 g/l에서 현저한 억제효과를 나타냈다. 통규탕 추출물 (0.1, 1 g/kg)은 抗原注射 1시간 전에 흰쥐에 경구 투여했을 때 受動皮膚 알레르기 반응을 억제 시켰고, 通竅湯 抽出物 (0.01 - 1 g/kg)은 흰쥐 복강 비만세포로부터 histamine과 β-hexosaminidase의 放出에는 유의성있는 抑制率을 나타내지 않았다. 통규탕 추출물은 A23187에 의해 자극된 HMC-1 세포로부터 TNF-α의 분비를 현저히 억제하였다. 반면에 PMA 자극에 의한 억제 효과는 미약하였다. 通竅湯 抽出物 (0.01 - 1 g/kg)은 PMA와 A23187로 자극된 HMC-1 세포로부터 모두 IL-1β의 분비를 현저하게 억제하였다.

참고문헌

1. 龔 信 : 古今醫鑑, 江西, 江西科學技術 出版社, p.239, 1990.
2. 許 俊 : 東醫寶鑑, 서울, 南山當, pp.238-239, 1987.
3. 龔廷賢 : 增補萬病回春, 서울, 一中社, p.4, 1990.
4. 周命新 : 醫門寶鑑卷下, 대구, 東洋綜合通信教育院出版部, pp.287-288, 1977.
5. 김윤범 外 : 噴嚔, 鼻流淸涕, 鼻塞症 等을 隨伴한 患者에 대한 臨床的 觀察, 大韓韓醫學會誌, 14(2) : 162-167, 1993.
6. 祭炳充 : 韓方耳鼻咽喉科學, 서울 集文當, pp.245-249, 1991
7. 민양기 : 임상비과학, 서울, 일조각, pp.169, 171-173, 182-184, 216-217, 1997
8. 李文鎬 外 : 內科學, 醫林社, 서울, 卷下 pp.1554-1555, 2043-2059, 1986.
9. 巢元方 : 諸病源候論, 召人出版社, 臺中, pp.18-20, 1974.
10. 傅 方 : 中醫免疫思想急成就, 中醫雜誌社, 中國, 中醫雜誌, 25(11) : 56, 1984.
11. 何東燦 : 中醫耳鼻咽喉科學, 臺北, 正中書局, p.172, 1984.
12. 祭炳充 : Allergy성 鼻炎(噴嚔)에 대한 臨床的 硏究, 大韓韓醫學 會誌, 14(2) : 81-87, 1982.
13. 申京淑 外 : 荊芥連翹湯加味가 알레르기성 鼻炎에 미치는 效能대한 臨床報告, 大田韓醫學會誌, 1(3) : 185-196, 1994.
14. 祭炳充 : Allergy性 鼻炎(噴嚔)에 대한 臨床的 硏究, 大韓韓醫學會誌, 14(2) : pp.81-87, 1982
15. 吳國定 : 內經解剖生理學, 臺北, 國立中醫藥硏究所, pp.287-288, 1977.
16. 서울대학교의과대학 : 免疫學, 서울대학교출판부, pp.135-142, 167-169, 234-241, p.165, 185, 229, 1994.
17. Shore, P. A., Burkhalter, A., Cohn, V. H. : A method for fiuorometric assay of histamine in tissues. J. Pharmacol. Exp. Ther. 127, 182(1959)
18. 丁圭萬 : 알레르기와 韓方, 서울, 圖書出版 第一路, pp.15-26, 59-97, 1990.
19. 강병수 : 韓方臨床 알레르기, 서울, 成輔社, pp.57-58, 62-64, 83-110,133-145, 1988.
20. Allansmith MR, Baird RS, Ross RN, Barney NP, Bloch KJ. : Ocular anaphylaxis induced in the rat by topical application of compound 48/80. Dose response and time course study. Acta Ophthalmol, 192:145-153, 1989.
21. 李尙仁 外 : 漢藥臨床應用, 서울, 成輔社, pp.44-46, 50-58, 73-74, 76-77, 235-236, 245-246, 299-301, 361-364, 1982.
22. 辛民敎 : 原色臨床本草學, 서울, 南山當, pp.175-177, 249-250, 254-256, 271-272, 414-416, 504-508, 512-514, 516-517, 522-523, 525-526, 537-538, 540-541, 1986.
23. 苗明三 外 : 중약 약리와 임상, 西安, 세계도서출판공사, pp.138-143, 337-339, 491-493, 629-631, 799-801, 1106-1112, 1998.
24. 鄭虎占 外 : 중약현대연구와 응용, 북경, 학원출판사, pp.3005-3011, 3546-3056, 4206-4217, 4302-4321, 1998.
25. 김형민 : 면역과 알레르기, 서울, 도서출판 신일상사, pp. 167-168, 179-181, 1998.
26. Bo-Kyung Shin, Eun-Hee Lee,and Hyung-Min Kim : Suppression of L-Histidine Decarboxylase mRNA Expression by Methyleugenol. Biochemical and biophysical research communications. 232, 188-191, 1997.