

玄蔘清肺飲이 항염 및 항알러지 작용에 관한 연구

서정민 · 김진수¹ · 이광규¹ · 육상원*

우석대학교 한의과대학 원전외사학교실, 1: 병리학교실

Study on the Function of Hyunsamchungpye-eum on Anti-inflammatory and Anti-allergic Action

Jung Min Seo, Jin Su Kim¹, Kwang Gyu Lee¹, Sang Won Ryuk*

Departments of Classics, 1: Department of Oriental Pathology, College of Oriental Medicine, Woosuk University

The purpose of this research was to investigate effects of Hyunsamchungpye-eum(HSCPE) on the anti-inflammatory/anti-allergic reaction in vivo and in vitro. HSCPE reduced the acute hind paw edema induced by histamine, the permeability of evans blue into peritoneal cavity. HSCPE inhibited the passive cutaneous anaphylaxis reaction in rat, the lethal anaphylaxis and degranulation of peritoneal mast cells induced by compound 48/80 in mice, HSCPE did not affect the Arthus reaction, but decreased the delayed type hypersensitivity induced by SRBC, contact dermatitis induced by DNFB. These results suggest that HSCPE have an anti-inflammatory and anti-allergic action.

Key words : Hyunsamchungpye-eum(玄蔘清肺飲), anti-inflammatory/anti-allergic reaction.

서론

질병의 발생에 대해 한의학에서는 《素問·刺法論》¹⁾에 “正氣存內 邪不可干”이라하여 정상적인 장부기능을 바탕으로 하는 ‘正氣’와 각종 발병인자를 지칭하는 ‘邪氣’와의 싸움, 즉 正邪相爭관계로 보아²⁾ ‘正氣’가 약할 때는 補益을 위주로 하는 ‘扶正法’을 사용하고, ‘邪氣’가 강할 때는 清熱, 解毒, 涼血하는 ‘祛邪法’을 이용하여 왔다³⁾. 한의학의 ‘正氣’와 ‘邪氣’에 대한 개념을 서양의 학적으로 살펴보면 면역이라는 개념을 통해서 알 수 있다. 즉 면역이란 생체로부터 출현하는 각종 병원체 등의 공격으로부터 개체를 효과적으로 방어하는 생체방어체계⁴⁾이지만 여기에는 두 가지의 상반된 반응이 있다. 하나는 생체에 有害한 물질을 弱化시키거나 中化시키려는 “正”의 면역반응이고, 또 다른 하나는 개체에 해로운 과민 염증반응으로 나타나는 “負”의 알러지 반응이다. 이러한 생체내 반응을 동·서의학적으로 살펴보면 면역반응은 ‘正氣’에 해당하고, 알러지 반응은 ‘邪氣’의 작용에 해당되게 된다⁵⁾. 그리하여 한의학적으로 면역반응과 알러지 반응의 치료법을 살펴보면 면역의 경우는 ‘扶正(補氣, 補血, 補陰, 補陽 등)’을 위주로 해야하고, 알러지는 ‘祛邪(清熱解毒, 清熱涼血, 活血化痰 등)’을 위주로 하며, 특히 알러지의 발생원인이나 기전들을 근거로 할 때 清肺熱해야 한다고 주장하였다⁶⁻⁸⁾.

또한 알러지 반응에서 주로 볼 수 있는 염증은 백혈구와 체액의 축적이 나타남으로써 발생되는 복합적인 반응으로 발적, 발열, 종창, 동통, 신경장애와 함께 피로감과 식욕감퇴 등이 나타난다⁹⁾. 때문에 한의학에서는 염증을 치료할 때 病毒, 細菌, 真菌 등을 억제하는 동시에 해열, 항염, 抗腫痛작용이 있는 것으로 알려져져 있는 玄蔘, 銀柴胡, 地骨皮 등의 清熱藥物을 이용하고 있다^{10,11)}. 清熱藥物들은 임상에서 두드러기, 아토피성 피부염, 접촉성 피부염 그리고 비염 등 각종 염증성 알러지 질환에 응용되고 있고, 또한 연구결과도 활발히 보고되고 있다^{12,13)}. 그러나 각종의 염증이거나 알러지 질환에 응용되는 玄蔘, 銀柴胡, 地骨皮 등을 중심으로 한 처방의 연구결과는 아직까지 접할 수 없었다. 清熱藥物로 구성된 玄蔘清肺飲은 陳의 《外科正宗》¹⁴⁾에 “肺癰, 咳吐膿痰, 上氣喘急, 發熱者”에 사용된다고 최초로 수록된 처방으로 현대 의가들은 外感性으로 인해 나타나는 肺熱壅盛證에 활용할 수도 있다고 하였다¹⁵⁾. 이에 저자는 염증과 알러지를 다스리는 한의학적 治療法이 清熱解毒, 清熱涼血을 위주로 한 ‘祛邪法’에 있고, 또 肺熱을 다스리는 본 방이 각종 炎症과 알러지 질환에 사용될 수 있을 것으로 보고되고 있는 清熱藥物로 구성되어 있고, 또 알러지 질환은 肺熱과 관련 있다는 점에 착안하여 본 방이 염증과 알러지에 유효한 영향을 미칠 것으로 사려된다. 따라서 항염증 작용을 알아보기 위하여 histamine에 의한 즉적종창반응과 acetic acid에 의한 모세혈관 투과성 반응을 살펴보고, 항알러지 반응을 알아보기 위하여 PCA(passive cutaneous anaphylaxis)

* 교신저자 : 육상원, 전북 완주군 삼례읍 후정리 490, 우석대학교 한의과대학
E-mail : yuksw@core.woosuk.ac.kr Tel: 063-290-1565
접수: 2001/12/13 · 수정: 2002/01/25 · 채택 : 2002/02/09

반응과 Arthus 반응 등을 관찰한 결과 유의성을 얻었기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 실험동물

본 실험에 사용한 생쥐는 BALB/c계통 웅성(8주령, 20±2 g), 흰쥐는 SD계통의 웅성(8주령, 150±10 g)을 대한실험동물(주)에서 구입해서 사용했으며, 사육은 온도 22±2℃, 습도 55±5%, dark/light(12 시간)조건 하에서 고품질 pellet사료와 물을 자유 섭취하도록 하였다.

2. 시약 및 기구

실험에 사용한 시약은 RPMI1640 media, fetal bovine serum(FBS), Hank's balanced salt solution(HBSS), phosphate buffered saline(PBS), percoll, Ca²⁺-Locke solution, compound 48/80, egg albumin, propidium iodide(PI), ethidium bromide(EB), triton X-100, RNase A, proteinase K, sodium dodesyl sulfate(SDS), agarose, histamine, evans blue, trypane blue, o-toluidine blue, dinitrofluorobenzene(DNFB), concanavalin A(Con A), lipopolysaccharide (LPS), sodium salicylate, sulfanilamide, lucigenin, zymosan, 3,3'-dihexyloxycarbocyanine iodide(DiOC₆), carbamoylcyanide m-chlorophenylhydrazone (mCICCP), Guinea pig complement 등은 Sigma Co., thioglycolate(TG)는 Difco Co., PE(phycoerythrin) conjugated anti-CD4, FITC(fluorescein isothiocyanate) conjugated anti-CD8, PE-anti B220, FITC-anti Thy 1 antibody 등은 Caltag Co., 기타 시약은 특급시약 및 세포배양용 시약을 사용하였다. 사용기구로서는 culture flask(Nunc), 96well microtiter plate(Costar Co.), micrometer(Mitutoyo Co.), inverted microscope(Zeiss), ELISA reader(Dynatech, MR5000), luminometer(Berthold, 96LP), laser flow cytometer(Coulter, EPICS-XL), 그 외 centrifuge (VS-15000CF), CO₂ incubator, freeze dryer 등은 Vision Scientific Co.의 제품을 사용하였다.

3. 검액의 조제

Table 1. Prescription of Hyunsamchungpye-eum

韓藥名	生藥名	重量(g)
玄 參	Scrophulariae Radix	3.000
銀紫胡	Stellariae Radix	3.750
陳 皮	Citri Pericarpium	3.750
桔 梗	Platycodi Radix	3.750
茯 苓	Poria	3.750
地骨皮	Lycii Radicis Cortex	3.750
麥門冬	Liriopeis Tuber	3.750
薏苡仁	Coicis Semen	7.500
人 參	Ginseng Radix	1.875
甘 草	Glycyrrhizae Radix	1.875
檳 榔	Arecae Semen	1.125
生 薑	Zingiberis Rhizoma	1.125
總 量		39.000

본 실험에 사용한 玄蔘清肺飲의 구성은 「外科宗正」¹⁴⁾에 준하였으며, 사용한 약재들은 우석대학교 한방병원에서 정선해서 사용하였고, 처방 4첩분량(156g)을 증류수 2000 ml로 2회 가열 추출한 후, 여과해서 여액을 rotary evaporator로 농축한 다음, freeze dryer로 동결건조하여 분말 41g(수득율 26.28%)을 얻어(이하 HSCPE라 함), 동물실험시에는 생리식염수, 세포배양용에는 멸균 PBS에 용해시켜 사용하였다. 玄蔘清肺飲 1첩의 처방 구성내용은 Table 1과 같다.

4. Histamine에 의한 생쥐 足趾腫脹반응

생쥐 8마리를 1군으로 하여 Huh의 방법¹⁵⁾에 준하여 대조군에는 생리식염수만을, 실험군에는 HSCPE(500 mg/kg)를 각각 경구 투여하고 1시간 후에 좌측 후족척의 두께를 micrometer로 측정된 뒤에 기열물질로서 histamine-0.9%saline(30 µg/20 µl)을 족척외하(20 µl/hind paw)에 주사하였다. 주사 전, 주사 후 30분, 60분, 120분 및 180분에 족척의 두께를 측정하여 부종율을 산정하였다.

$$\text{浮腫率(\%)} = \frac{\text{實驗群의 hind paw의 두께} - \text{對照群의 hind paw의 두께}}{\text{對照群의 hind paw의 두께}} \times 100$$

5. Acetic acid에 의한 모세혈관 투과성반응

생쥐 8마리를 1군으로 하여 Whittle와 Shimomura의 방법¹⁷⁾에 준하여 대조군에는 생리식염수만을, 실험군에는 HSCPE(500 mg/kg)를 경구 투여하고, 약물 대조군에는 sodium salicylate 300 mg/kg을 경구 투여하였으며 투여 1시간 후 1% evans blue(EB) 5 ml/kg을 미정맥에 주사하였다. 주사 후 즉시 0.6% acetic acid 10 ml/kg을 복강 내에 주사하고 1시간 후에 생리식염수 10 ml로 복강액을 세척해서 회수한 다음, 3,000 rpm에서 5분간 원심분리하고 상층액을 620 nm에서 흡광도를 측정하여 미리 작성한 검량선(calibration curve)에 의해 복강으로 누출된 evans blue의 양을 비색·정량하였다.

$$\text{抑制率(\%)} = \frac{\text{對照群의 E.B.누출량} - \text{實驗群의 E.B.누출량}}{\text{對照群의 E.B.누출량}} \times 100$$

6. Passive cutaneous anaphylaxis(PCA)반응

항원으로서 사용할 egg albumin(1 mg/0.2 ml)을 aluminum gel에 현탁시킨 후, 생쥐의 복강에 1차 감작(1st sensitization)시키고 4주 후에 2차 감작(2nd sensitization)을 행한 다음 2 주가 경과한 뒤에 생쥐를 경추 탈구하여 채혈하고 혈청(IgE 항혈청)을 조제해서 실험에 사용할 때까지 -80℃에 동결 보존한다. 흰쥐 5마리를 1군으로 하여 등부위를 제모하고 상기의 IgE혈청을 희석(1:160, 1:80, 1:40)해서 0.1 ml를 피하주사(s.c)하여 감작시킨 후, 3시간 후에 HSCPE 500mg/kg body weight을 경구 투여하고 다시 1시간 후에 항원(1% egg albumin)과 1% Evans blue를 1:1로 혼합한 용액 0.5 ml를 정맥주사하여 PCA반응을 야기(challenge)시켰다. 30분 후에 흰쥐를 도살하고 침색으로 착색된 등부위의 피부를 박리하여 세절한 다음, 1N KOH용액 1 ml에 침적시켜 37℃에서 하룻밤 방치하였다. 0.6N H₃PO₄과 acetone혼합액(5:3) 9 ml를 첨가하여 원심분리 후 상층액을 620nm에서 흡광도를 측정하였다¹⁸⁾.

7. Compound 48/80에 의한 anaphylaxis 發現

생쥐 8마리를 1군으로 하여 대조군에는 생리식염수만을, 실험군에는 HSCPE (500 mg/kg body weight)를 경구 투여하고, 1시간 후에 compound 48/80(10 mg/kg)을 복강 내에 주사하고 생쥐의 치사율(mortality)을 1시간 동안 관찰하였다¹⁹⁾.

8. Compound 48/80에 의한 비만세포 脫顆粒 관찰

흰쥐를 ether로 마취하여 치사시킨 다음, Ca²⁺-Locke용액 (150 mM NaCl, 5 mM KCl, 2 mM CaCl₂, 1 mg/ml BSA, 0.1 mg heparin/1L, pH 7.4) 10 ml를 복강에 주입한 다음, 복벽을 3분간 맞사지한 후, 10 ml용 주사기로 복강액을 회수하였다. 4℃에서 1,500 rpm으로 5분간 원심 분리해서 세포를 세척(×2회), 수집한 다음 Ca²⁺-Locke용액 2 ml를 가하여 세포부유액을 조제하였다. 별도로 준비한 원심관에 isotonic percoll용액(10×Hank's solution 1 ml + percoll 9 ml) 3.5 ml를 주입하고 상기 조제한 세포부유액 0.75 ml를 관벽을 기울여 조심스럽게 중층한 다음, 여기에 Hank's solution 0.5 ml를 가하여 10분간 정지한 후, 1,500 rpm으로 5분간 원심해서 상층의 물층을 제거하고 buffy coat층(세포층)만을 pasteur pipet으로 취하여 수집한 다음 Ca²⁺-Locke 용액을 가하여 세포를 2회 세정하였다. 0.5 % toluidine blue로 염색해서 비만세포를 확인한 다음 1×10⁶세포/ml의 농도로 조정해서 그 중 100 μl를 chamber에 주입하고 실온에서 10분간 정지한 후, 대조군에는 Ca²⁺-Locke용액 100 μl를 가하고 실험군에는 HSCPE 5×10⁵g/ml 100 μl를 가하고 다시 10분 후에 compound 48/80 (50 μg/ml) 100 μl를 가한 후 현미경으로 비만세포의 탈과립 현상을 관찰하였다²⁰⁾.

9. Arthus 반응

생쥐 8마리를 1군으로 하여 Yoshikai의 방법²¹⁾에 따라 실험하였다. 항원으로 사용된 SRBC(면양적혈구: sheep red blood cell)는 전북 축산진흥연구소에서 사육중인 면양의 경동맥으로부터 채혈한 후 즉시 멸균된 Alsever's solution(dextrose 20.5 g/L, citric acid 8.0 g/L, NaCl 4.2 g/L-여과멸균)에 주입하여 4℃에서 보관하면서 1주일 이내에 사용하였다. SRBC 0.2 ml(4×10⁸cells)를 생쥐 복강 내에 투여해서 1차 감작시키고 2주 후에 동일한 방법으로 2차 감작을 시행하였다. 2차 감작 5일 후에 HSCPE(500 mg/kg)를 경구 투여하고 1시간 후에 2×10⁸개의 SRBC를 0.03 ml를 생쥐 우측 후족척 피하에 주사하여 반응을 야기시켰다. 야기 직후(T₀), 야기 3시간 후(T₃)에 족척의 두께를 micrometer(Mitutoyo engineers Co.)로 측정하고 다음, 족척종창의 지표를 구하였다.

$$\% \text{ increase} = (T_3 - T_0 / T_0) \times 100$$

10. SRBC에 의한 생쥐 足趾腫脹 반응(자연형과민반응 : DTH반응)

생쥐 8마리를 1군으로 하여 Yoshikai의 방법²¹⁾에 따라 HSCPE 500 mg/kg을 경구투여하고 2×10⁷개/0.025 ml의 SRBC를 생쥐의 좌측 후족척 피하에 주사해서 감작시키고 감작 4일 후에 다시 HSCPE 500 mg/kg을 경구 투여하고 1시간 후 우측 후족척 피하에 2×10⁸개의 SRBC 0.025 ml를 주사하여 반응을 야기시켰

다. 야기 직후(T₀), 야기 24시간 후(T₂₄) 및 야기 48시간 후(T₄₈)에 족척의 두께를 micrometer로 측정한 다음, 족척종창의 지표를 산정하였다.

$$\% \text{ increase} = (T_{24} \text{ or } T_{48} - T_0 / T_0) \times 100$$

11. DNFB에 의한 접촉성 피부과민반응

생쥐 8마리를 1군으로 하여 Ha의 방법²²⁾에 준하여 생쥐의 복부를 제모한 다음, 실험 제 1일 및 2 일째에 0.5% DNFB용액 (acetone:olive oil=4:1) 100 μl를 복부피부에 도포하여 감작시킨 다음, 5일 후에 HSCPE 500 mg/kg을 각각 경구 투여하고 1시간 후에 0.2% DNFB용액 10 μl씩 귀 內外면에 각각 도포하여 야기시켰다. 귀 종창증가의 정도는 micrometer를 사용하여 야기 직전(T₀), 야기 24시간 후(T₂₄) 및 48시간 후(T₄₈)에 귀의 두께를 측정하였으며, 종창증가의 정도는 다음공식에 따라서 % increase로 나타내었다.

$$\% \text{ increase} = (T_{24} \text{ or } T_{48} - T_0 / T_0) \times 100$$

12. 통계처리

통계처리는 student's t-test로 하였으며, p<0.05이하를 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

실험 결과

1. HSCPE이 histamine에 의한 생쥐 足趾腫脹 반응에 미치는 효과
 염증반응에 미치는 HSCPE의 효과를 살펴보기 위하여 histamine을 기염물질로 해서 생쥐의 족척종창반응을 시행하였다. Histamine 투여 직전의 hind paw의 두께는 1.69±0.02 mm였으며, 투여 후 30분, 60분, 120분 및 180분이 경과한 후의 대조군의 hind paw의 두께는 각각 2.24±0.07, 2.16±0.09, 2.01±0.1 및 1.91±0.09 mm이었다. Histamine 투여 1시간 전에 HSCPE (500 mg/kg)를 투여한 군에서는 각각 2.03±0.04, 1.96±0.03, 1.84±0.03 및 1.75±0.02 mm로 특히 투여 30분 및 60분 후에 대조군에 비하여 유의성있게 족척종창반응이 감소하였다(Table 2).

Table 2. Effect of HSCPE on the acute hind paw edema induced by histamine.

Samples	Hind paw thickness(mm)			
	30	60	120	180(min)
Control	2.24±0.07 (32.5)#	2.16±0.09 (27.8)	2.01±0.1 (18.9)	1.91±0.09 (13.0)
HSCPE	2.03±0.04* (20.1)	1.96±0.03* (16.0)	1.84±0.03 (14.8)	1.75±0.02 (3.6)

HSCPE(500 mg/kg) was administered p.o. 1 hour before histamine injection. Hind paw thickness was measured by micrometer. The data(footpad thickness(mm)) represents the mean±SE from 8 mice *. Significantly different from control group(*, p<0.05). #: % Increase of thickness. The hind paw thickness of normal mice was 1.69±0.02 mm

2. HSCPE이 acetic acid에 의한 모세혈관 투과성에 미치는 효과

HSCPE의 모세혈관 투과성에 미치는 효과는 대조군의 evans blue 누출량은 19.5±1.6 μg/ml이었으며 HSCPE 500 mg/kg 투여군은 11.3±0.7 μg/ml, 약물대조군으로 사용된 sodium salicylate 300 mg/kg 투여군은 8.8±0.6 μg/ml로 대조군에 비하여 각각 42.1% 및 54.9%의 모세혈관 투과성이 현저하게 억제되었다(Table 3).

Table 3. Effect of HSCPE on the permeability of Evans blue into peritoneal cavity.

Samples	Dose (mg/kg)	Leakage of evans blue (μg/ml)	Inhibition (%)
Control	-	19.5±1.6	-
HSCPE	500	11.3±0.7*	42.1
Sod. salicylate	300	8.8±0.6*	54.9

The data represents the mean±SE from 8 mice. *: Significantly different from control group(*: p<0.05).

3. HSCPE이 passive cutaneous anaphylaxis(PCA) 반응에 미치는 효과

생쥐에서 IgE 항혈청을 조제한 후, 제 I 형 즉시형 과민반응의 일종인 PCA반응에 미치는 HSCPE의 영향을 살펴본 결과, 대조군의 evans blue 누출량은 1 : 160, 1 : 80 및 1 : 40으로 희석했을 때 각각 15.2±1.2, 20.7±1.7 및 38.0±2.1 μg/ml이었으며, HSCPE 투여군에서 각각 11.5±1.1, 17.8±1.5 및 31.2±1.7 μg/ml으로 특히 1 : 40으로 희석했을 때 대조군에 비하여 유의성있게 PCA반응이 감소하였다(Table 4).

Table 4. Effect of HSCPE on the passive cutaneous anaphylaxis (PCA) reaction.

Samples (dilution of sera)	Leakage of Evans blue(μg/ml)	
	Control	HSCPE
1:160	15.2±1.2	11.5±1.1
1:80	20.7±1.7	17.8±1.5
1:40	38.0±2.1	31.2±1.7*

HSCPE(500 mg/kg) was administered p.o. 3 hours before anti-serum injection. The data represents the mean±SE from 8 mice. *: Significantly different from control group(*: p<0.05).

4. HSCPE이 compound 48/80에 의한 anaphylaxis 발현에 미치는 효과

HSCPE의 즉시형 anaphylaxis에 미치는 효과를 검토하기 위하여 compound 48/80을 투여해서 확인한 결과, 대조군(normal saline)을 투여하고 compound 48/80(10 mg/ml) 투여)에서는 생쥐 8마리 중 8 마리 모두가 사망(치사율 100%)하였으나, compound 48/80을 투여하기 1시간 전에 HSCPE를 투여한 군에서는 8 마리 중 3 마리가 사망하였다(치사율 37.5%). 이러한 결과는 HSCPE이 즉시형 anaphylaxis를 억제하는 효과가 있음을 시사하는 결과이다(Table 5).

Table 5. Effect of HSCPE on the immediate-type anaphylaxis by compound 48/80.

Samples	Number of Animal (Died/Used)	Lethality(%)
Control	8/8	100
HSCPE	3/8	37.5

HSCPE(500 mg/kg) was administered p.o. 1 hour before compound 48/80(10 mg/ml, i.p.) injection.

5. HSCPE이 compound 48/80에 의한 비만세포 脫顆粒에 미치는 효과

흰쥐의 복강 삼출세포중에서 isotonic percoll용액을 이용하여 비만세포를 수집한 다음 비만세포의 탈과립에 미치는 HSCPE의 효과를 관찰한 결과, Ca²⁺-Locke용액으로 부유시킨 정상 비만세포는 부유액내의 림프구나 다른 복강세포들보다 그 크기가 약

2 배 이상 커서 쉽게 구별할 수 있었으며 구형 또는 난원형의 형태를 가지고 있다. 세포질내에 광굴절률이 강한 과립들로 가득 차 있어서 핵이 분명하게 관찰되지 않는 정상 비만세포의 소견을 보여 주고 있지만 compound 48/80을 첨가해서 배양하면 세포들이 팽대하면서 세포의 변연부가 불규칙하게 변화하기 시작하고 세포질내 공포상구조와 더불어 광굴절률이 약해진 과립들이 세포외로 돌출되기 시작하는 탈과립 현상이 유발되었다. 비만세포 부유액에 HSCPE를 10분간 전처리한 후 compound 48/80 용액을 첨가해서 관찰한 결과 compound 48/80만을 처리한 대조군에 비해 탈과립 현상이 현저하게 억제되었다(Fig. 1).

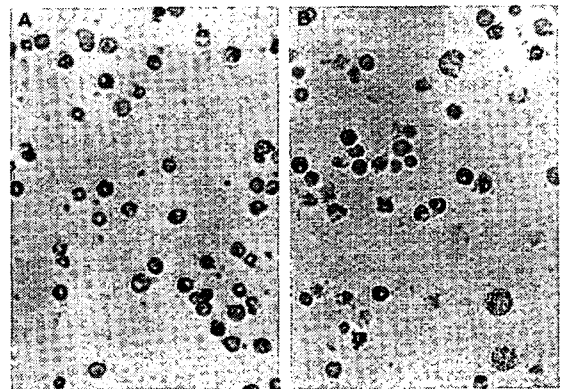


Fig. 1 Effect of HSCPE on the degranulation of rat peritoneal mast cells treated by compound 48/80. A(Control) : Compound 48/80-treated cells indicated swelling, disrupted boundary and degranulation. B(HSCPE treated) : Compound 48/80 and HSCPE(5×10⁵g/ml)treated cells indicated clear, smooth outline and inhibition of degranulation(magnification×400).

6. HSCPE이 Arthus 반응에 미치는 효과

생쥐를 SRBC로 면역하기 2주일 전에 1차 감작시키고 2주일 후에 2차 감작을 시행, 5일 후에 HSCPE(500 mg/kg)를 경구 투여하고 1시간 후에 SRBC(2×10⁸개/0.03ml)를 생쥐 우측 후족척 피하에 주사하여 반응을 야기시킨 다음, 야기 직후(T₀), 야기 3시간 후(T₃)에 족척의 두께를 측정해서 비교한 결과, 대조군(1.98→2.20 mm)에 비하여 HSCPE를 투여한 군에서 Arthus반응이 약간 감소(1.96→1.88 mm)하였으나 통계적인 유의성은 없었다(Table 6).

Table 6. Effect of HSCPE on the Arthus reaction.

Samples	Footpad thickness(mm)	
	T ₀	T ₃
Control	1.98±0.11	2.20±0.14
HSCPE	1.96±0.09	1.88±0.12

Mice were sensitized with SRBC(4×10⁸ cells/0.03 ml) on 0 day and challenged with same dose of SRBC on 14th day. HSCPE(500 mg/kg) was administered p.o. on the 5th day after 2nd SRBC sensitization. Footpad thickness was measured by micrometer just before challenge(T₀) and again at 3 hours(T₃) after challenge, and calculated as following formula: % increase = (T₃ - T₀ / T₀) × 100. The data(Footpad thickness(mm)) represent to the mean±SE from 8 mice.

7. HSCPE이 SRBC에 의한 생쥐 足腫腫脹반응(지연형 과민반응)에 미치는 효과

SRBC(2×10⁷개/0.025 ml)를 생쥐의 좌측 후족척 피하에 주사해서 감작시키고 감작 4일 후에 HSCPE(500 mg/kg)를 경구 투

여한 다음 1시간 후, 우측 후족척 피하에 SRBC(2×10^8 개/0.025 ml)를 주사하여 반응을 야기시키고 야기 직후(T_0), 야기 24시간 후(T_{24}) 및 야기 48시간 후(T_{48})에 족척의 두께를 측정된 결과, 대조군에서는 T_0 , T_{24} 및 T_{48} 이 각각 1.67 ± 0.08 , 1.85 ± 0.1 및 1.78 ± 0.03 mm이었으나, HSCPE 투여군에서는 각각 1.73 ± 0.08 , 1.71 ± 0.12 및 1.60 ± 0.04 mm로 HSCPE이 생쥐의 지연형 과민반응을 유의성 있게 억제시켰다(Table 7).

Table 7. Effect of HSCPE on the delayed type hypersensitivity(DTH) reaction.

Samples	Footpad thickness(mm)		
	T_0	T_{24}	T_{48}
Control	1.67 ± 0.08	1.85 ± 0.1	1.78 ± 0.03
HSCPE	1.73 ± 0.08	$1.71 \pm 0.12^*$	$1.60 \pm 0.04^*$

Mice were sensitized with SRBC(2×10^7 cells/0.02 ml) on 0 day and challenged with 0.03 ml of 2×10^8 cells SRBC on 4th day. HSCPE(500 mg/kg) was administered p.o. on the 1 indicated day of SRBC-sensitization. Footpad thickness was measured by micrometer just before challenge(T_0) and agains at 3 hours(T_3) after challenge, and calculated as following formula: % increase = $(T_{24}$ or $T_{48} - T_0 / T_0) \times 100$. The data(Footpad thickness (mm)) represents the mean \pm SE from 8 mice. *: Significantly different from control group (*: p<0.05).

8. HSCPE이 DNFB에 의한 접촉성 피부과민반응에 미치는 효과
HSCPE의 접촉성 피부과민반응에 미치는 효과를 관찰한 결과, DNFB를 도포하기 직전의 대조군의 귀 두께는 0.28 ± 0.01 mm이었으며, DNFB를 도포하고 24시간 및 48시간이 경과한 후의 귀의 두께는 각각 0.52 ± 0.02 및 0.55 ± 0.03 mm로 증가하였다. HSCPE(500 mg/kg)를 투여한 군에서는 DNFB를 도포하고 24시간 및 48시간 경과 후, 귀의 두께가 각각 0.35 ± 0.01 및 0.39 ± 0.02 mm로 대조군에 비하여 감소하였다(Table 8).

Table 8. Effect of HSCPE on the contact dermatitis reaction.

Samples	Footpad thickness(mm)			% Increase	
	T_0	T_{24}	T_{48}	T_{24}	T_{48}
Control	0.28 ± 0.01	0.52 ± 0.02	0.55 ± 0.03	85.7	96.4
HSCPE	0.28 ± 0.01	$0.35 \pm 0.01^{**}$	$0.39 \pm 0.02^{**}$	25.0	39.3

Mice were sensitized with 0.5% DNFB on 0 day and challenged with 0.2% DNFB on 5th day. HSCPE(500 mg/kg) was administered p.o. on the 5th day. Ear thickness was measured by micrometer just before challenge(T_0) and agains at 24 hours(T_{24}) and 48 hours(T_{48}) after challenge, and calculated as following formula: % increase = $(T_{24}$ or $T_{48} - T_0 / T_0) \times 100$. The data(Ear thickness(mm)) represents the mean \pm SE from 8 mice. *: Significantly different from control group(*: p<0.01)

고찰

염증은 세포상해를 유발하는 다양한 자극에 대해 살아있는 조직, 즉 혈관이 있는 조직의 복합적인 반응으로 이루어지며, 혈관 밖 조직으로 백혈구와 체액이 축적되는 것이 그 특징이다. 임상적으로 급성 염증이 발생하면 전신 증상으로는 발열, 피로, 식욕감퇴 및 쇠약 등의 증세가 나타나고, 국소 증상으로는 모세순 관계의 혈류증가에 의한 발적과 발열, 혈장 성분의 삼출로 인한 팽창, 종창에 의한 부분적 압력이 증가함에 따라 국소적인 감각 신경말단부위의 압박, 염증에 의한 화학 매개물의 직접적인 자극에 의한 동통, 조직의 파괴와 동통 또는 신경 장애로 인한 부분적 기능저하나 기능상실 등이 나타난다⁹⁾. 한의학에서는 염증을 특별히 명명하지는 않았지만 증상의 유사점으로 발열, 동통, 종창 등이 있고, 병명으로는 癰, 癤, 癰 등 매우 다양한 표현들로

설명하고 있다²⁹⁾. 이러한 증상과 병명들은 風溫, 溫疫之邪, 風寒之邪, 炙膊之物的 過服 등으로 인해 肺熱이 壅盛해 나타나는 肺熱壅盛證中的 痰熱壅肺證에 해당²⁴⁾되는 것으로 그 치료는 清熱化痰, 止咳平喘하는 약물들을 위주로 한 清熱藥物들을 사용한다²⁵⁾. 清熱藥物은 寒涼하여 清熱, 瀉火, 解毒, 燥濕, 涼血, 清虛熱 등의 효과가 있는데, 현대에는 이들의 효과가 각종 病毒, 細菌, 真菌, 原虫 등에 대한 억제작용과 함께 해열, 항염, 抗腫瘤 작용이 있는 것으로 보아¹⁰⁾ 두드러기, 아토피성 피부염, 乾癬, 접촉피부염, 비염 등 각종 염증과 관련된 알러지 질환 등에 이용되고 있다^{12,13)}. 알러지는 1963년 Gell과 Coombs가 처음 제안한 이래 현재는 세계인구의 약 20%정도가 각각각색의 알러지에 노출되어 있다고 할 정도로 매우 빈도 높은 질환으로 보고되고 있으며 이러한 알러지 환자의 증가는 환경오염의 증가와 함께 진드기 및 고지방식 등의 음식이 요인으로 작용한다고 알려져 있다²⁶⁾. 또한 알러지 반응은 생체가 동일한 항원에 반복적으로 접촉함으로써 그 항원에 대해 처음에는 인정되지 않았던 이상반응, 즉 과민반응이 나타나는 것²⁷⁾으로써 여기에는 4가지의 유형이 있다. 그 중 제 I형 과민반응은 anaphylaxis type 또는 의존형(IgE 의존형)이라 하고, 제 II형은 cytolytic(cytotoxic) type 또는 조직특이형이라 하며, 제 III형은 Arthus type 또는 면역복합체형이라 하고, 제 IV형은 tuberculin(cell mediated) type 또는 지연형이라 한다. 이들 중에서 제 I, II, III형은 체액성 항체 즉, 혈청의 면역글로불린에 의한 것으로 반응이 약 30분 이내에 시작하여 약 1~2시간 후에 소실되기 때문에 즉시형 알러지 반응이라 하고, 제 IV형은 세포성 항체에 의한 반응으로, 반응이 나타날 때까지 약 24~48시간이 소요되고, 지속기간도 수일~수주일 동안 계속되어 지연형 알러지 반응이라고 한다^{28,29)}. 알러지에 대한 한의학적 개념을 살펴보면 巢³⁰⁾는 《諸病源候論》에서 “漆有毒 人有稟性畏毒 但見漆便中毒 亦有性者耐者 終日燒者 境不爲害也”라 하여 漆에 대한 과민반응을 설명하였는데 이러한 견해는 알러지를 일으키는 원인과 병리과정이 유사함을 나타낸다. 또한 황⁸⁾은 알러지 비염을 치료할 때는 반드시 肺와 연관시켜 치료해야한다고 설명하여 각종 염증질환, 특히 알러지 질환을 한의학적으로 치료할 때는 가장 먼저 ‘肺主皮毛’, ‘肺關繫於鼻’의 이론에 바탕을 두어 肺熱을 다스리는 清肺熱시키는 약물이 사용되어야 한다고 생각되었다. 면역(Immunity)은 생체로부터 출현하는 각종 병원체 등의 공격으로부터 개체를 효과적으로 방어하는 생체방어체계로⁴⁾, 외부로부터 침입하는 미생물이나 同種의 조직 및 체내에서 발생된 불필요한 산물 등과 특이하게 반응하여 항체를 만들고, 이것을 배제하여 그 개체의 항상성을 유지하려는 현상을 말한다³⁰⁾. 면역의 종류에는 호중구와 대식세포, NK세포 등이 주된 임무를 담당하는 선천적 면역과 T림파구 및 B림파구 등이 작용하는 후천적 면역으로 대별되며, 이 중 후천적 면역은 T림파구 등의 면역세포가 반응을 담당하는 세포성 면역과 항체와 각종 세포의 신호전달물질인 cytokine 등의 면역분자들이 반응을 담당하는 체액성 면역으로 분류된다⁴⁾. 이러한 면역의 개념을 한의학에서 찾아보면 인체의 抗病能力과 유사한 것으로, 《素問·刺法論》¹⁾에서는 “正氣存內 邪不可干”으로, 《素問·評熱病論》¹⁾에서는

“邪氣所蕩 其氣必虛”라하여 정상적인 장부기능 및 물질적 기초를 바탕으로 하는 ‘正氣’와 각종의 발병인자를 말하는 ‘邪氣’와의 싸움, 다시 말해 인체내 正邪相爭관계로 설명하였다²⁾. 이와 같은 한의학의 正邪相爭관계를 서양의학의 면역과 염증을 동반한 알러지 반응으로 살펴보면 두 가지의 반응들이 모두 같은 기전에서 발생되지만 면역은 개체에 대한 有害性を 약화시키거나 中化시키려는 방어반응으로 ‘正氣’에 해당되고, 알러지 반응은 개체에 해로운 과민 염증반응으로 ‘邪氣’에 해당된다. 그리하여 면역과 알러지의 치료법을 ‘正氣’와 ‘邪氣’의 측면에서 보면 ‘正氣’는 면역계통의 결합과 효능을 개괄하고 면역 평형을 발휘하며 면역 안정의 작용을 증강시켜 주는 작용을 하기 때문에 면역 치료법은 면역력을 증강시킬 수 있는 ‘扶正(補氣, 補血, 補陰, 補陽 등)’을 위주로 해야하고, ‘邪氣’는 면역 기능을 파괴하고 면역 안정의 요인을 교란시키는 것으로서 알러지 치료법은 면역을 억제하는 ‘祛邪(清熱解毒, 清熱涼血, 活血化痰 등)’를 위주로 치료해야한다^{3,12)}. 이는 알러지를 치료할 때는 한의학적으로 清肺熱을 한다는 것과 일맥상통한다. 玄蓼清肺飲은 陳의 《外科正宗》¹⁴⁾에 “肺癰, 咳吐膿痰, 上氣喘急, 發熱者”에 사용된다고 최초로 수록되어 있고, 그 구성약물은 玄蓼, 銀柴胡, 陳皮, 桔梗, 茯苓, 地骨皮, 麥門冬, 薏苡仁, 人蔘, 甘草, 檳榔, 薑一片으로 되어 있으며, 현대 의가들은 본 방을 外感性으로 인해 나타나는 肺熱壅盛證에 응용하였다^{15,23-25)}. 玄蓼清肺飲의 구성약물에 대한 연구보고 중 항염증 연구는 陳³¹⁾ 등이 玄蓼를 이용하여 포도상 구균, 디프테리아 균, B형 용혈성 연쇄상 구균, 녹농균, 이질균, 대장균에 대한 억제 작용이 있다하면서 玄蓼葉의 경우는 根部에 비해 항균작용이 더욱 강하다고, 森澤成司³²⁾ 등은 地骨皮가 티푸스균, 이질균을 억제하는 작용이 있다고, 高木敬次郎³³⁾은 桔梗이 백서의 육아종에 대해 현저한 억제작용이 있는 동시에 관절염에도 효과가 있다고, 茯苓은 포도상구균, 대장균, 변형균을 억제하는 항균작용이 있고^{34,35)}, 麥門冬은 백색포도상구균, 고초균, 대장균 및 티푸스균에 효과적인 억제 작용이 있다고³⁶⁾, 陳皮는 염증성 부종에 소염 및 진통효과가 있다고³⁷⁾ 보고되었으며, 항 알러지 연구로는 甘草가 매개성 호산구 및 호중구의 유착에 미치는 길항능에 유효하다고³⁸⁾, 人蔘 水鍼도 알레르기에 유효하다³⁹⁾ 보고되었다. 이에 저자는 염증과 알러지를 다스리는 한의학적 治療法이 清熱解毒, 清熱涼血을 위주로 한 ‘祛邪法’에 있고, 肺熱(肺癰, 咳吐膿痰, 上氣喘急, 發熱)을 다스리는 본 방 역시 항 염과 항 알러지 작용이 있는 清熱藥物들로 구성되어 있기 때문에 본 방이 염증과 알러지에 유효한 영향을 미칠 것으로 생각되어 이에 대한 자료를 구하고자 하였으나 아직까지 그에 대한 연구보고는 접할 수가 없었다. 이에 본 방이 肺熱을 다스릴 수 있기 때문에 항염증 작용이 있을 것으로 기대되는 바 histamine에 의한 즉석종창반응과 acetic acid에 의한 모세혈관 투과성 반응을 살펴보았다. 그 결과 histamine에 의한 급성 즉부종에 미치는 본 방의 억제효과는 투여 30분부터 60분 사이에 나타났다. 이는 본 방이 항히스타민작용을 가지고 있다는 것을 제시해준다. 또한 acetic acid에 의한 모세혈관 투과성에 미치는 효과에서도 본 방은 약물대조군으로 사용한 sodium salicylate군의 억제율 54.9%에 비할 때 42.1%로서 모세혈관투과

성을 억제하는 것으로 나타났다. 그리하여 본 방은 각종 염증에 사용될 수 있을 것으로 생각된다. 그러나 그 중에서도 肺熱을 다스리는 본 방이 清熱處方중의 하나로 폐렴이나 비염 그리고 각종의 피부염 등과 관련된 알러지에도 유효하게 사용될 수 있을 것으로 생각되어 PCA 반응과 Arthus 반응 등을 관찰하였다. 그 결과 본 방은 각종 알러지 반응 - 즉시형 및 지연형 과민반응에 전반적으로 효과가 있었다. 수동피부 anaphylaxis(PCA)반응은 세포친화성 항체가 관여하는지의 여부를 확인하는 실험으로 이 결과의 판독은 항원과 항체가 반응하고 있는 곳에서 histamine 등의 생리활성물질이 유리되어 혈관벽의 투과성이 증가하고 혈장과 염색물질이 누출되어 피부에 청색반이 형성되는 것을 관찰하는데 있다¹⁶⁾. 이 청색반의 크기와 색소의 농도를 측정된 결과, 본방 투여군은 1 : 40으로 희석했을 때 대조군에 비하여 PCA반응을 유의하게 억제하였고, 비만세포 탈과립작용을 관찰하기 위한 실험에서도 본 방 투여시 compound 48/80에 의한 anaphylaxis 발현억제와 함께 in vitro상에서 compound 48/80에 의한 비만세포 탈과립반응이 억제되었다. 이는 본 방이 PCA에 의한 즉시형 과민반응에 억제효과가 있음을 시사해준다. 또한 세포성면역의 과민반응이 특징인 제 IV형 DTH반응에 효과가 있는지를 확인하고자 SRBC에 의한 즉석종창반응 및 DNFB에 의한 접촉성 피부과민반응을 관찰한 결과에서도 모두 본 방 투여로 유의성있게 억제되었다. 그러나 부종, 발적과 함께 혈류장애로 인해 고사가 진행되는 Arthus 반응²¹⁾을 관찰한 결과에서는 본 방이 Arthus 반응을 억제시키는 하였지만 유의성은 인정되지 않았다. 이상의 결과를 볼 때 본 방은 즉시형 알러지 및 지연형 알러지에 모두 효과가 있음을 나타내주었다.

이상과 같이 본 방을 이용하여 염증 및 알러지에 미치는 효과를 관찰하고, 그에 따른 작용기전을 면역조절기능 측면에서 알아본 결과 본 방이 갖는 항염 및 항 알러지 작용을 가지고 있는 것으로 나타났다. 따라서 玄蓼清肺飲은 항염 및 항 알러지 효과가 있는 것으로 생각되며, 玄蓼清肺飲의 약물구성으로 보아 더욱 다양한 효능이 있을 것으로 기대되는 바, 지속적으로 연구 검토할 필요가 있을 것이다.

결론

玄蓼清肺飲(HSCPE)을 생쥐 및 흰쥐에 투여하고 염증반응, 각종 알러지반응에 미치는 효과를 관찰한 결과는 다음과 같다: HSCPE는 histamine에 의한 생쥐의 즉석종창반응을 억제하였으며, acetic acid에 의한 모세혈관 투과성을 감소시켰다. 또한, HSCPE는 passive cutaneous anaphylaxis를 억제시켰고 compound 48/80에 의해 유발된 anaphylaxis 발현을 감소시켰으며 compound 48/80에 의한 비만세포 탈과립을 억제시켰다. HSCPE는 면역복합체형알러지인 Arthus 반응을 현저하게 억제시키지는 못하였지만 SRBC에 의한 지연형과민반응을 억제하였다. HSCPE는 DNFB에 의한 접촉성 피부과민반응을 감소시켰다. 이상의 실험 결과, 玄蓼清肺飲은 항염 및 항알레르기작용을 가지고 있다.

감사의 글

이 논문은 우석대학교 교내 학술연구비 지원으로 이루어졌습니다.

참고문헌

1. 素問研究集成刊行委員會: 素問研究集成, 익산,金星印刷社, 4권 p80, 9권 p319, 2001.
2. 대한동의생리학회, 대한동의병리학회; 東醫生理病理學會誌 15권5호 p739, 2001.
3. 廣東中醫學院: 中醫方藥學, 中國, 廣東人民出版社, P7, 1973.
4. Abbas, A.K., Lichtman, A.H. and Poper, J.S.: Cellular and molecular immunology. 2: 241-260, W.B. Saunders Co., U.S.A, 1994.
5. 낙화생지음, 안덕균옮김 : 면역과 한방, pp. 15-48, 서울, 열린책들, 1994.
6. 金璟濬, 金中鎬, 蔡炳允 : 回春涼膈散이 항알레르기 및 消炎鎮痛, 解熱效果에 미치는 影響, 大韓外官科學會誌 7(1) : 1-13, 1994.
7. 傳 方: 中醫免疫思想急成就, 中醫雜誌 25(11): 56, 1984.
8. 황경식: 알레르기비염에 대한 사상의학(四象醫學)적 치료, 대한한의학회지, 14(2), 93-10, 1994.
9. 대한병리학회 대구·경북지회: 간추린병리학, 정문각, p64, 2000.
10. 顏正華: 中藥學, 人民衛生出版社 pp111-112, 1989.
11. 王本祥: 現代 中醫藥理學, 天津科學技術出版社, pp198-200, 363, 1999.
12. 孫孝洪: 中醫治療學原理, 四川科學技術出版社, pp151-152, 160-163, 167-168, 1990.
13. 陳少英 等, 南京藥學院, 森澤成司 等, 周金黃·王筠默主編, 高木敬次郎, 조용복.
14. 陳實功: 外科正宗, 人民衛生出版社, p.132, 1983.
15. 李光揆: 臍腑症狀鑑別診斷, 醫聖堂, pp55-56, 1999.
16. Huh, I.H., Lee, S.J. and Kim, H.C.: Studies on the anti-inflammatory activity and its mechanism of Daidzein (I). Yakhak Hoeji, 31: 154, 1987.
17. Shimomura, K.: Japan J. Pharmacol., 24:837, 1972.
18. Garvey, J.S.: Antibody-mediated hypersensitivity. In : Methods in Immunology, pp.451-462, Addison-Wesley Pub. Co. 1987.
19. Cochrane, D.E. and Douglas, W.W.: Calcium-induced excrusion of secretory granules(exocytosis) in mast cells exposed to compound 48/80 or ionophores A-23187 and X537-A. Proc. Natl. Acad.Sci. USA, 71: 408, 1974.
20. Toda, K., Danno, K. and Tachibana, T.: Effect of 8-methoxypsoralen plus long wave ultraviolet(PUVA) radiation on mast cells. J.invest. Dermatol., 87:113, 1986.
21. Yoshikai, Y., Maike, S., Matsumoto, T., Nomoto, K. and Takeya, K.: Effects of stimulation and blockade of mononuclear phagocytic system on the delayed-type footpad reaction to SRBC in mice. Immunology, 38: 577, 1979.
22. Ha, D.Y., Kim, H.I. and Im, S.Y.: Effects of dexamethasone on different types of murine T suppressor cells. Korean J. Immunolgy, 9: 1-15, 1987.
23. 潘鴻鵠: 中醫學治療炎症學, 북경, 군사의학출판사, p3, 2000.
24. 전국한외과대학병리학교실: 한방병리학, 한의문화사, pp335-336, 2001.
25. 程紹恩: 中醫證候診斷治療學, 北京科學技術出版社, p614, 1993.
26. Gaddie, J., Skinner, C. and Palmer, K.N.V.: Hypo-sensitization with house dust mite in bronchial asthma. Brit. Med. J., 2; 581, 1976.
27. 康秉秀 : 漢方임상알레르기, pp. 22-23, 64-68, 서울, 成輔社.
28. 菊地浩吉著, 李淵台譯 : 最新免疫學(再版), pp. 33-34, 367-388, 서울, 集文堂, 1985. 鄭昇紀 : 알레르기 질환의 韓方療法, 大韓韓醫學會誌 11(2) : 11-15, 1990.
29. 서울대학교 의과대학편 : 면역학(전정판), pp. 1-3, 165-188, 서울, 서울대학교 출판부, 1993.
30. 巢元方: 諸病源候論, 召人出版社, 臺中, pp18-20, 1974.
31. 陳少英, 等. 玄蔘藥의 抗菌和毒性作用, 福建中醫藥 17(4):p.57, 1986.
32. 森澤成司, 等. 漢方方劑의 免疫調整作用. 國外醫學·中醫中藥分冊, 8:330, 1986.
33. 高木敬次郎, 他·桔梗의 藥理學研究(第2報), 粗制桔梗의 抗炎症作用. 藥學雜誌 92(8): 961, 1972.
34. 南京藥學院: 中藥藥學(中) 江蘇人民出版社 15, 1976.
35. 李國盛 : 茯苓의 抗菌力에 관한 研究, 동국대학교 대학원(석사), 1982.
36. 周金黃, 王筠默主編, 中藥藥理學, 第一版. 上海科學技術出版社 p.270, 1986.
37. 조용복 : 청피, 진피 추출물이 염증 부종 및 진통에 미치는 영향, 부경대학교 산업대학원(석사), 2001.
38. 김미경: 감초가 selectin - 매개성 호산구 및 호중구의 유착에 미치는 길항능, 대한알레르기학회지(천식 및 알레르기), Vol.18, No.1, p61-68, 1998.
39. 林夏燮 : 人蔘水鍼이 抗 알레르기에 미치는 影響, 경희대학교 대학원(석사), 1991.