

# 清燥救肺湯의 항알레르기 효과에 관한 연구

나현욱 · 정한솔 · 이광규\*

우석대학교 한의과대학 병리학교실

## Anti-allergic Property of Chungjokupye-tang

Hyun Uk Na, Han Sol Jeong, Kwang Gyu Lee\*

Department of Pathology, College of Oriental Medicine, Woosuk University

The purpose of this research was to investigate the effects of Chungjokupye-tang(CJKPT) on the anti-allergic property. CJKPT decreased the hyaluronidase activity in vitro, and inhibited the anaphylaxis induced by compound 48/80 and suppressed the degranulation of peritoneal mast cell. And CJKPT also decreased the passive cutaneous anaphylaxis, arthus reaction and contact dermatitis by DNFB. These results suggest that CJKPT have an anti-allergic property.

Key words : Chungjokupye-tang(清燥救肺湯), hemagglutination, anaphylaxis, arthus reaction

### 서론

질병의 발생은 《素問·刺法論》에 “정기가 내부에서 보존 되면 사기가 침범할 수 없으면서 그 독기도 물리친다.”라 하여<sup>1)</sup> 正氣 부족이 발병의 근본이고, 病邪가 발병의 조건이 된다. 正氣의 부족은 크게 물질적인 부족과 기능적인 쇠퇴로 구분할 수 있다. 물질적인 부족은 통칭 陰虛라고 하고 精虛, 血虛, 津液不足 등으로 세분할 수 있다<sup>2)</sup>. 正氣에 대해 林<sup>3)</sup>은 邪氣를 제거하고 陰陽을 조절하는 면역조절기능, 章<sup>4)</sup>은 면역기능의 저하, 趙<sup>5)</sup>는 비 특이적인 방어기능 및 모든 방어물질을 正氣의 개념으로 이해하였다.

清燥救肺湯은 喻昌의 《醫門法律·傷燥門》<sup>6)</sup>에 기재된 처방으로 溫燥邪가 傷肺시켜 肺의 氣와 陰이 함께 손상되어 발생되는 頭痛身熱, 乾咳無痰, 氣逆而喘, 咽喉乾燥, 胸滿脅痛, 心煩口渴, 舌乾無苔 등의 증후에 사용되는<sup>7,8)</sup>방제로서 清燥潤肺<sup>9,10)</sup>, 清宣肺氣, 潤燥止咳<sup>11)</sup>하는 효능을 가지고 있다. 清燥救肺湯의 구성 약물 중 石膏<sup>12)</sup>는 폐포대식세포의 탐식능력을 증강시키고, 桑葉<sup>13)</sup>은 기관지의 분비물과 경련을 감소시키며, 阿膠<sup>14)</sup>는 단핵세포의 탐식능과 NK세포의 활성도를 증가시키고, 麥門冬<sup>15)</sup>은 대식세포의 탐식능을 증가시키며, 人蔘<sup>16,17)</sup>은 세포성면역과 체액성면역에 광범위한 작용을 가지고 있기 때문에 면역기능에 작용할 것

으로 사려되었다.

이에 저자는 清燥救肺湯이 T, B림프구 등의 주요 면역세포 활성화와 즉시형, 지연형 allergy 반응에 미치는 효과를 관찰한 결과 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

### 재료 및 방법

#### 1. 재료

##### 1) 동물

본 실험에 사용한 마우스는 BALB/c계통 웅성(8 주령, 18±2 g)을, 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 물은 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, Ca<sup>2+</sup>-Locke solution, compound 48/80, histamine, evans blue, trypane blue, dinitrofluorobenzene (DNFB), DNP-HSA, Anti-DNP-IgE antibody, disodium cromoglycate (DSCG), guinea pig complement 등은 Sigma Co., anti-murine IFN-γ antibody, anti-murine IL-4 antibody (Pharmingen Co.), PE conjugated anti-mouse CD4, B220 antibody, FITC conjugated anti-mouse CD8, Thy-1

\* 교신저자 : 이광규, 전북 완주군 삼례읍 후정리 490 우석대학교 한의과대학  
· E-mail : kwangl@core.woosuk.ac.kr · Tel : 063-290-1562  
· 접수 : 2003/08/04 · 수정 : 2003/09/20 · 채택 : 2003/11/01

antibody(Caltag), sheep red blood cell(SRBC)은 전북 축산진흥 연구소에서 분양 받았으며, 기타 시약은 특급시약 및 세포배양 용 시약을 사용하였다. 사용기구로는 culture flask(Nunc), 96well microplate(Costar), micrometer (Mitutoyo), inverted microscope(Zeiss), ELISA reader(Dynatech, MR5000), laser flow cytometer (Coulter, EPICS-XL), centrifuge (VS-15000CF), CO<sub>2</sub> incubator, freeze dryer 등(Vision Scientific Co)을 사용하였다.

3) 검액의 조제

본 실험에 사용한 清燥救肺湯의 처방은 『醫門法律』<sup>6)</sup>에 준하였으며, 사용한 약재들은 우석대학교 한방병원에서 정선해서 사용하였고, 처방 2貼분량(87.75 g)을 증류수 360 ml로 2회 가열 추출한 후, 여과해서 여액을 rotary evaporator로 농축한 다음, freeze dryer로 동결 건조하여 분말 18 g(회수율 20.5%)을 얻어 동물실험시에는 생리식염수, 세포배양용에는 멸균 PBS에 용해시켜 사용하였다. 실험동물은 1군에 5마리를 배정하여 경구투여 (500 mg/kg)하였으며 1주일 동안 매일 정해진 시간에 한번씩 투여하였다. 清燥救肺湯 1貼의 처방구성내용은 table 1.과 같다.

Table 1. Contents of Chungjokupye-tang

韓藥名	生藥名	重量(g)
桑葉	Mori Folium	11.25
石膏	Gypsum Fibrosum	9.375
甘草	Glycyrrhizae Radix	3.75
人參	Ginseng Radix	2.625
胡麻仁	Sesami Semen Nigrum	3.75
眞阿膠	Asini Gelatinum	3.0
麥門冬	Liriois Tuber	4.5
杏仁	Armeniacae Amarum Semen	2.625
枇杷葉	Eriobotryae Folium	3.0
總量		43.875

2. 방법

1) Hyaluronidase activity 측정(in vitro)

각 시험관에 50 μl의 hyaluronidase액(1 unit/ml of acetate buffer)과 100 μl의 CJKPT(1, 10, 100 μg/ml)를 각각 주입하고 배양(37°C, 20분)한 후, 12.5 mM의 CaCl<sub>2</sub>용액(활성화제) 100 μl를 가한 다음 동일한 조건으로 재배양하였다. 여기에 기질인 hyaluronic acid-K(1.2 mg/ml)용액 250 μl를 가하여 배양(37°C, 40분)하고 다시 0.4N NaOH와 K<sub>2</sub>B<sub>4</sub>O<sub>7</sub>용액을 각각 100 μl씩 가해 비등수조에서 3분간 heating한 다음, 실온으로 방냉시키고 DMAB용액 3 ml를 가하여 다시 배양(37°C, 20분)한 후, 분광광도계를 이용해서 585 nm에서의 흡광도를 구하였다.

2) Compound 48/80에 의한 anaphylaxis 발현 측정

생쥐 10마리를 1군으로 하여 대조군에는 생리식염수만을, 실험군에는 CJKPT(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 관찰하였다<sup>18)</sup>.

3) Compound 48/80에 의한 비만세포 탈과립 관찰

흰쥐를 ether로 마취하여 치사시킨 다음, Ca<sup>2+</sup>-Locke용액 (150 mM NaCl, 5 mM KCl, 2 mM CaCl<sub>2</sub>, 1 mg/ml BSA, 0.1 mg heparin/1L, pH 7.4) 10 ml를 복강에 주입한 다음, 복벽을 3분간

맛사지한 후, 10 ml용 주사기로 복강액을 회수하였다. 4°C에서 1,500 rpm으로 5분간 원심 분리해서 세포를 세척(×2회), 수집한 다음 Ca<sup>2+</sup>-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 증층한 다음, 여기에 Hank's solution 0.5 ml를 가하여 10분간 정치한 후, 1,500 rpm으로 5분간 원심해서 상층의 물층을 제거하고 buffy coat층(세포층)만을 pasteur pipet으로 취하여 수집한 다음 Ca<sup>2+</sup>-Locke 용액을 가하여 세포를 2회 세정하였다. 0.5 % toluidine blue로 염색해서 비만세포를 확인한 다음 1×10<sup>6</sup>세포/ml의 농도로 조정해서 그 중 100 μl를 chamber에 주입하고 실온에서 10분간 정치한 후, 대조군에는 Ca<sup>2+</sup>-Locke용액 100 μl를 가하고 실험군에는 CJKPT 5×10<sup>-5</sup> g/ml 100 μl를 가하고 다시 10분 후에 compound 48/80 (50 μg/ml) 100 μl를 가한 후 현미경으로 비만세포의 탈과립현상을 관찰하였다<sup>19)</sup>.

4) Passive cutaneous anaphylaxis(PCA) 반응의 측정

항원으로 사용할 egg albumin(1 mg/0.2 ml)을 aluminum gel에 현탁시킨 후, 생쥐의 복강에 1차 감작시키고 4주 후에 2차 감작을 시행한 다음 2주 후에 생쥐를 경추 탈구하여 채혈하고 혈청(IgE 항혈청)을 조제해서 실험에 사용할 때까지 -80°C에 동결 보존한다. 흰쥐 5마리를 1군으로 하여 등부위를 제모하고 상기의 IgE혈청을 희석(1:160, 1:80, 1:40)해서 0.1 ml를 피하주사하여 감작시킨 후, 3시간 후에 CJKPT(500 mg/kg)을 경구 투여하고 다시 1시간 후에 항원(1% egg albumin)과 1% Evans blue를 1 : 1로 혼합한 용액 0.5 ml를 정맥주사하여 PCA반응을 야기시켰다. 30분 후에 흰쥐를 도살하고 청색으로 착색된 등부위의 피부를 박리하여 세절한 다음, 1N KOH용액 1 ml에 침적시켜 37°C에서 하룻밤 방치하였다. 0.6N H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>과 acetone혼합액(5:3) 9 ml를 첨가하여 원심분리한 후 상층액을 620nm에서 흡광도를 측정하였다<sup>20)</sup>.

5) Arthus 반응의 측정

생쥐 8마리를 1군으로 하여 Yoshikai의 방법<sup>21)</sup>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°C에서 보관하면서 1주일 이내에 사용하였다. SRBC 0.2 ml(4×10<sup>8</sup>cells)를 생쥐 복강 내에 투여해서 1차 감작시키고 2주 후에 동일한 방법으로 2차 감작을 시행하였다. 2차 감작 5일 후에 CJKPT(500 mg/kg)를 경구 투여하고 1시간 후에 2×10<sup>8</sup>개의 SRBC를 0.03 ml를 생쥐 우측 후족척 피하에 주사하여 반응을 야기시켰다. 야기 직후(T<sub>0</sub>), 야기 3시간 후(T<sub>3</sub>)에 족척의 두께를 micrometer (Mitutoyo engineers Co.)로 측정한 다음, 족척증창의 지표를 구하였다.

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

6) SRBC에 의한 지연형과민반응(DTH반응)의 측정

생쥐 8마리를 1군으로 하여 Yoshikai의 방법<sup>43)</sup>에 따라

CJKPT 500 mg/kg을 경구투여하고  $2 \times 10^7$ 개/0.025 ml의 SRBC를 생쥐의 좌측 후족척 피하에 주사해서 감각시키고 감각 4일 후에 다시 CJKPT 500 mg/kg을 경구 투여하고 1시간 후 우측 후족척 피하에  $2 \times 10^8$ 개의 SRBC 0.025 ml를 주사하여 반응을 야기시켰다. 야기 직후( $T_0$ ), 야기 24시간 후( $T_{24}$ ) 및 야기 48시간 후( $T_{48}$ )에 족척의 두께를 micrometer로 측정하 다음, 족척증창의 지표를 산정하였다.

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

7) DNFB에 의한 접촉성 피부과민반응의 측정

생쥐 8마리를 1군으로 하여 Ha의 방법<sup>22)</sup>에 준하여 생쥐의 복부를 제모한 다음, 실험 제 1일 및 2 일째에 0.5% DNFB용액 (acetone:olive oil=4:1) 100  $\mu$ l를 복부피부에 도포하여 감각시킨 다음, 5일 후에 CJKPT 500 mg/kg을 각각 경구 투여하고 1시간 후에 0.2% DNFB용액 10  $\mu$ l씩 귀 내외면에 각각 도포하여 야기 조치하였다. 귀 종창증가의 정도는 micrometer를 사용하여 야기 직전( $T_0$ ), 야기 24시간 후( $T_{24}$ ) 및 48시간 후( $T_{48}$ )에 귀의 두께를 측정하였으며, 종창증가의 정도는 다음 공식에 따라서 % increase로 나타내었다.

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

8) 통계처리

통계처리는 student's t-test로 하였으며,  $p < 0.05$ 이하를 유의성이 있는 것으로 판정하였다<sup>24)</sup>.

실험결과

1. Hyaluronidase 효소활성에 미치는 효과(in vitro)

CJKPT의 시험관내 hyaluronidase 활성을 관찰하였는데 이 효소는 제 I형 알레르기반응에서 모세혈관 투과성 향진에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있으며 본 실험 결과(Table 2), CJKPT는 1, 10 및 100 mg/ml에서 각각  $36.7 \pm 2.4\%$ ,  $67.3 \pm 4.5\%$  및  $82.4 \pm 6.5\%$ 의 hyaluronidase의 활성을 크게 저해시켰다(Table 2). 이는 CJKPT가 시험관내 반응에서 항알레르기 효과가 있음을 입증하는 결과라 할 수 있다.

Table 2. Effect of CJKPT on the hyaluronidase activity in vitro

Samples	Dose(mg/ml)	Inhibition(%)
CJKPT	1	$36.7 \pm 2.4^{**}$
CJKPT	10	$67.3 \pm 4.5^{**}$
CJKPT	100	$82.4 \pm 6.5^{**}$

Absorbance of each sample was measured at 585 nm by spectrophotometer. The data represents the mean  $\pm$  SE of 3 experiments. \*: Significantly different from control group (\*\*:  $p < 0.01$ ).

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{\text{Acontrol} - (\text{Asample} - \text{Ablank})}{\text{Acontrol}} \times 100$$

2) Compound 48/80에 의한 즉시형anaphylaxis 발현에 미치는 효과

즉시형 anaphylaxis에 미치는 효과를 검토하기 위하여 compound 48/80를 투여하여 실험한 결과(Table 3), 대조군 (normal saline을 투여하고 compound 48/80(10 mg/ml)을 투여)에서는 생쥐 10 마리 중 10 마리 모두가 사망(치사율 100%)하였으나, compound 48/80를 투여하기 1시간 전에 CJKPT를 투여한 군에서는 10 마리 중 4 마리가 사망하였다(치사율 40%). 이러한 결과는 CJKPT가 즉시형 anaphylaxis 를 억제하는 효과가 있음을 시사하는 결과이다.

Table 3. Effect of CJKPT on the immediate-type anaphylaxis by compound 48/80

Samples	Number of Animal (Died/Used)	Lethality(%)
Control	10/10	100
CJKPT	4/10	40

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

3) Compound 48/80에 의한 비만세포 탈과립에 미치는 효과

흰쥐의 복강 삼출세포중에서 isotonic percoll용액을 이용하여 비만세포를 수집한 다음 비만세포의 탈과립에 미치는 CJKPT의 효과를 관찰한 결과(Fig. 1), 비만세포에 compound 48/80를 첨가해서 배양하면 세포들이 팽대하면서 세포의 변연부가 불규칙하게 변화하기 시작하고 세포질내 공포상구조와 더불어 광굴절률이 약해진 과립들이 세포외로 돌출되기 시작하는 탈과립 현상이 유발(A)되었으나, 비만세포 부유액에 CJKPT를 10분간 전처리한 후 compound 48/80용액을 첨가해서 관찰한 결과 compound 48/80만을 처리한 대조군에 비해 탈과립현상이 현저하게 억제(B)되었다(Fig. 1). 이 결과는 CJKPT가 복강비만세포의 탈과립을 억제하여 항알레르기작용을 보유하고 있음을 나타낸다.

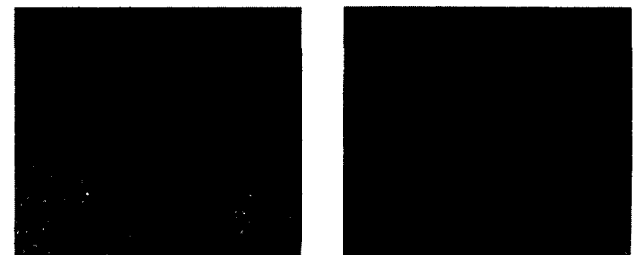


Fig. 1. Effect of CJKPT on the degranulation of rat peritoneal mast cells treated by compound 48/80. A(Control): Compound 48/80-treated cells indicated swelling, disrupted boundary and degranulation of mast cells. B(CJKPT-treated): Compound 48/80 and CJKPT( $5 \times 10^5$ g/ml) treated cells indicated clear, smooth outline and inhibition of degranulation of mast cells( $\times 400$ ).

4) Passive cutaneous anaphylaxis (PCA) 반응에 미치는 효과

생쥐에서 IgE 항혈청을 조제한 다음 제 I형 즉시형 과민반응의 하나인 PCA반응에 미치는 CJKPT의 영향을 살펴본 결과 (Table 4), 대조군의 evans blue 누출량은 1 : 160, 1 : 80 및 1 : 40으로 희석했을 때 각각  $15.2 \pm 1.2$ ,  $20.7 \pm 1.9$  및  $38.1 \pm 2.5 \mu$ g/ml이었으며, CJKPT 투여군에서는 각각  $11.9 \pm 1.2$ ,  $17.8 \pm 1.5$  및  $30.2 \pm 2.2 \mu$ g/ml으로서 희석배수를 1 : 40으로 했을 때 대조군에 비하여 유의성있게 PCA반응이 감소하였다(Table 4). 이러한 결

과는 CJKPT가 즉시형 과민반응을 억제시키고 있는 것을 나타낸다.

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

Samples (dilution of sera)	Leakage of Evans blue( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	
	Control	CJKPT
1:160	15.2 $\pm$ 1.2	11.9 $\pm$ 1.2
1: 80	20.7 $\pm$ 1.9	17.8 $\pm$ 1.5
1: 40	38.1 $\pm$ 2.5	30.2 $\pm$ 2.2*

CJKPT(500 mg/kg) was administered p.o. 3 hours before anti-serum injection. The data represents the mean $\pm$ SE from 5 rats. \*: Significantly different from control group(\*; p<0.05).

5) Arthus 반응에 미치는 효과

생쥐를 SRBC로 면역하기 2주일 전에 1차 감작시키고 2주일째에 2차 감작을 시행, 5일 후에 CJKPT(500 mg/kg)를 경구 투여하고 1시간 후에 SRBC( $2 \times 10^8$ 개/0.03 ml)를 생쥐 우측 후족척 피하에 주사하여 반응을 야기시킨 다음, 야기 직후( $T_0$ ), 야기 3시간 후( $T_3$ )에 족척의 두께를 측정해서 비교한 결과(Table 4), 대조군(1.78 $\rightarrow$ 2.17 mm)에 비하여 CJKPT를 투여한 군에서 Arthus반응이 감소(1.76 $\rightarrow$ 1.85 mm)하였는데 이는 CJKPT가 즉시형 과민반응에 효과가 있는 것을 나타낸다.

Table 5. Effect of CJKPT on the Arthus reaction

Samples	Footpad thickness(mm)		
	$T_0$	$T_3$	% Increase
Control	1.78 $\pm$ 0.12	2.17 $\pm$ 0.15	17.9
CJKPT	1.76 $\pm$ 0.13	1.85 $\pm$ 0.11*	5.1

Mice were sensitized with SRBC( $4 \times 10^8$  cells/0.03 ml) on 0 day and challenged with same dose of SRBC on 14th day. CJKPT(500 mg/kg) was administered p.o. on the 5th day after 2nd 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 = ( $T_3 - T_0 / T_0$ )  $\times$  100. The data[Footpad thickness(mm)] represents the mean $\pm$ SE from 8 mice. \*: Significantly different from control group(\*; p<0.05).

6) SRBC에 의한 즉적종창반응(지연형 과민반응)에 미치는 효과

SRBC( $2 \times 10^7$ 개/0.025 ml)를 생쥐의 좌측 후족척 피하에 주사해서 감작시키고 감작 4일 후에 CJKPT(500 mg/kg)를 경구 투여한 다음 1시간 후, 우측 후족척 피하에 SRBC( $2 \times 10^8$ 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 측정한 결과(Table 6), 대조군에서는  $T_0$ ,  $T_{24}$  및  $T_{48}$ 이 각각 1.67 $\pm$ 0.08, 1.85 $\pm$ 0.11 및 1.74 $\pm$ 0.08 mm이었으나, CJKPT 투여군에서는 각각 1.71 $\pm$ 0.09, 1.75 $\pm$ 0.12 및 1.63 $\pm$ 0.05 mm로 CJKPT가 생쥐의 지연형 과민반응을 억제시키는 경향이었으나 유의성은 인정되지 않았다.

Table 6. Effect of CJKPT on the delayed type hypersensitivity(DTH) reaction

Samples	Footpad thickness(mm)		
	$T_0$	$T_{24}$	$T_{48}$
Control	1.67 $\pm$ 0.08	1.85 $\pm$ 0.11	1.74 $\pm$ 0.08
CJKPT	1.71 $\pm$ 0.09	1.75 $\pm$ 0.12	1.63 $\pm$ 0.05

Mice were sensitized with SRBC( $2 \times 10^7$  cells/0.02 ml) on 0 day and challenged with 0.03 ml of  $2 \times 10^8$  cells SRBC on 4th day. CJKPT(500 mg/kg) was administered p.o. on the 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.

7) DNFB에 의한 접촉성 피부과민반응에 미치는 효과

CJKPT의 접촉성 피부과민반응에 미치는 효과를 관찰한 결과(Table 7), DNFB를 도포하기 직전의 대조군의 귀 두께는 0.28 $\pm$ 0.02 mm이었으며, DNFB를 도포하고 24시간 및 48시간이 경과한 후의 귀의 두께는 각각 0.51 $\pm$ 0.04 및 0.54 $\pm$ 0.06 mm로 증가하였다. CJKPT(500 mg/kg)를 투여한 군에서는 DNFB를 도포하고 24시간 및 48시간 경과 후, 귀의 두께가 각각 0.36 $\pm$ 0.03 mm 및 0.39 $\pm$ 0.04 mm로 대조군에 비하여 유의성있게 감소하였다(Table 7). 이 결과로 미루어보아 CJKPT는 지연형 과민반응도 일부 억제시키는 효과가 있는 것으로 사료된다.

Table 7. Effect of CJKPT on the contact dermatitis reaction

Samples	Ear thickness(mm)			% Increase	
	$T_0$	$T_{24}$	$T_{48}$	$T_{24}$	$T_{48}$
Control	0.28 $\pm$ 0.02	0.51 $\pm$ 0.04	0.54 $\pm$ 0.06	82.1	92.9
CJKPT	0.28 $\pm$ 0.02	0.36 $\pm$ 0.03*	0.39 $\pm$ 0.04*	28.6	39.3

Mice were sensitized with 0.5% DNFB on 0 day and challenged with 0.2% DNFB on 5th day. CJKPT(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<0.05).

고 찰

韓醫學에서는 건강에 대한 개념을 인체의 정기가 외계환경과 적응하여 인체내부가 평형을 이루는 것이라고 하였다. 반대로 일정한 원인과 조건하에서 손상을 당하게 되면 인체내외의 평형이 실조되어 異狀현상이나 異常반응을 나타내는 것을 질병이라고 하였다. 질병의 발생여부는 대체적으로 正氣와 邪氣간의 투쟁의 결과에 달려 있다고 보았다. 正氣란 인간의 精血津液등의 陰液性 물질뿐만 아니라 장부와 경락 등의 기능을 기초로 해서 형성되어 기후환경에 대한 적응능력, 六淫에 대한 항거능력, 체내 邪氣에 대한 제거능력, 자아조절능력, 이미 손상된 기능에 대한 회복능력, 파괴된 조직에 대한 재생능력 등을 의미하며<sup>24)</sup>, 서양의학의 관점에서 본다면 인체의 방어기능, 손상된 조직의 회복력이나 혹은 면역기능 등이 모두 正氣의 범주에 속한다<sup>25)</sup>고 하였다. 때문에 발병에 있어서 《素問·刺法論》에 “정기가 내부에서 보존되면 사기가 침범할 수 없으면서 그 독기도 물리치기 때문이다.”라<sup>1)</sup> 하여 正氣허손이 발병의 근본이고, 病邪가 발병의 조건임을 나타내주고 있다. 正氣의 허손은 크게 물질적인 부족과 기능적인 쇠퇴로 구분할 수 있다. 물질적인 부족은 통칭 陰虛라고 하며 이것은 다시 精虛 血虛 津液不足 등으로 세분할 수 있다<sup>2)</sup> 동시에 물질의 부족은 기능의 쇠퇴를 초래하기도 한다. 때문에 이 둘 사이에는 陰陽互根적 관계에 놓여 있다<sup>26)</sup>. 또 林<sup>3)</sup>에 의하면 正氣는 邪氣를 제거하고 음양을 조절하여 인체를 보호하는 작용을 하므로 인체에 면역조절기능이 있음을, 韋<sup>4)</sup>은 正氣가 허약한 환자의 경우 면역기능이 저하된다고, 趙<sup>5)</sup>는 한의학에서 말하는 正氣는 비특이적인 방어기능 및 이와 관련되는 모든 방어 물질을 다 말하는 것이라고 하여 正氣를 면역의 개념으로 이해하였다.

면역의 주된 기능으로는 방어기능, 항상성 유지기능, 감독기

능 등이 있는데 첫째, 방어기능은 외부로부터의 면역자극에 대한 반응을 나타내는 기능으로, 미생물의 자극에 대한 방어기능이 비정상적으로 과도하게 나타나면 알레르기 반응을 보이고, 반대로 비정상적으로 낮게 나타나는 경우에는 건강인에게는 전혀 문제가 되지 않는 미생물에 대해서도 감염되는 소위 “기회감염”을 일으키게 된다. 둘째, 항상성 유지기능은 생체의 내부환경을 항상 평형상태로 유지(homeostasis)시켜주는 기능으로, 어떤 면역 자극에 의해 이 기능이 지나치게 커지게 되면 면역계 고유의 기능인 “자기(self)”와 “비자기(nonsel)”를 판별할 능력을 잃게 되어 소위 “자기면역질환”을 일으키게 된다. 셋째, 감독기능이란 면역자극에 대한 기능이 저하됨으로써 변이를 일으킨 세포를 제거하도록 하는 기능으로서, 감독기능이 제대로 되지 못할 경우에는 변이된 세포를 제거하지 못하는 결과를 초래하여 악성종양을 일으킬 수 있다<sup>27)</sup>. 면역의 기능 중 방어기능이 비정상적으로 과도하게 반응하여 오히려 인체에 영향을 주는 반응을 알레르기반응이라고 하는데, 다시 말하면 외래 항원의 자극을 받아 면역학적으로 활성화가 일어난 개체에 동일한 항원이 재차 침입해 들어오면 면역반응이 야기된다. 그러나 항원이 과잉상태이거나 체내의 체액성 혹은 세포성 면역능이 고조되어 있을 경우에는 반응이 과잉으로 일어나 결국에는 조직손상과 같은 부(負)의 면역반응이 일어나는데 이를 과민반응 또는 allergy라 한다. 이러한 allergy의 분류는 1963년 Gell과 Coombs가 처음 제안한 분류체계를 많이 이용하고 있으며 제 I형~제 IV형의 4가지형이 확립되었다<sup>28)</sup>. 제 I형 과민반응은 항원(알레르겐)에 노출되고 일주일쯤 경과하면 민감한 사람의 면역계에서 IgE항체가 생성되고 항원이 점막을 통해 흡수되면 수지상세포와 B세포에 섭취된다. 두 세포는 항원을 토막내어 토막항원을 II형MHC항원에 결합한 후 세포막에 제시한다. 수지상세포는 임파조직으로 이동하여 토막항원과 친화력이 강한 CD4<sup>+</sup> T세포가 Th2세포로 활성화되어 토막항원을 제시한 B세포와 결합 한 후 B세포에 IL-4를 분비하여 IgE항체를 생산, 분비하는 형질세포로 활성화한다. 형질세포에서 분비한 IgE항체는 점막에 분포한 비만세포의 막(FcεR)에 결합한다. 이렇게 특정 알레르겐에 대한 IgE항체가 점막에 분포한 비만세포에 결합되면 감작되었다고 하는데 특정이란 알레르기항원의 종류를 의미하고 감작이란 재차 동일한 항원에 노출되었을 때 알레르기반응이 발생할 준비가 완료되었음을 의미한다. 이 시점의 감작된 점막은 외형상 감작이전의 점막과 차이가 없지만 감작된 후 동일 항원에 노출되어 항원이 점막에 흡수되면 수초 내지 수분 이내에 충혈, 부종, 분비증가, 평활근수축 등에 의한 알레르기반응의 임상증상을 보이는데 점막을 통해 흡수된 항원이 이미 비만세포에 결합한 IgE항체와 결합하고 결합신호에 의해 비만세포가 히스타민, 세로토닌 등의 혈관활성물질을 분비하기 때문이다. 기관지천식, 담마진, 소아알레르기 등이며 소아의 약 30%와 성인 중 10%정도가 이러한 알레르기에 노출되어 있다<sup>29)</sup>. 제 II형 과민반응은 세포 표면에 있는 알레르겐성분과 반응하는 항체에 의해 개시되는 반응으로서 세포상해성 반응이라 부른다. 항원이 적혈구나 혈소판 등의 세포에 부착되고, IgG 혹은 IgM항체인 경우에 보체를 활성화시켜 과민반응이 시작된다. 자

기면역성 용혈성빈혈, 혈소판 감소증 등이 있다. 제 III형 과민반응(면역복합체형: Arthus reaction)은 항원이 많은 상태에서 항원과 항체가 복합체를 형성하여, 보체계를 활성화시켜 세포독성 작용을 나타내는데, 항원-항체 복합체에 의한 사구체신염, 혈관염 등이 대표적인 예이다. 제 IV형 과민반응은 항원에 감작된 T 림프구에 의해 매개되는 반응으로서 지연형 혹은 튜베르쿨린형 과민반응이 고전적인 예이며 접촉성 피부염과 이식거부현상 등이 있다. 알레르기성 비염에 노출된 환자는 체내 임파구 중 특히 CD8<sup>+</sup>의 TC세포가 정상에 비하여 약 20%정도 감소되는 것은 정상면역능의 결여로 인한 IgE항체가 과잉으로 분비된 결과다.

폐포대식세포의 탐식능력을 증강시키는 石膏<sup>12)</sup>와 기관지의 분비물과 경련을 감소시키는 桑葉<sup>13)</sup>, 단핵세포의 탐식능과 NK세포의 활성도를 증가시키는 阿膠<sup>14)</sup>, 대식세포의 탐식능을 증가시키는 麥門冬<sup>15)</sup>, 세포성 면역와 체액성 면역에 광범위한 작용을 가지고 있는 人蔘<sup>16,17)</sup> 등으로 구성된 淸燥救肺湯은 清代 喻昌의 《醫門法律·傷燥門》<sup>6)</sup>에 기재된 처방으로 溫燥邪가 傷肺시켜 肺의 氣와 陰이 함께 손상되어 발생하는 頭痛身熱, 乾咳無痰, 氣逆而喘, 咽喉乾燥, 胸滿脅痛, 心煩口渴, 舌乾無苔 등의 證候에 사용되는 방제로서 淸燥潤肺<sup>9)10)</sup>, 淸宣肺氣, 潤燥止咳<sup>11)</sup>하는 효능을 가지고 있다.

이와 같이 淸燥救肺湯을 구성하고 있는 약물들은 주로 淸燥潤肺藥物로 免疫을 增強시키는 작용을 할 것으로 사려되어 알레르기 반응에 미치는 효과를 관찰하였다. 본 연구에서 항알레르기 효과를 관찰하기 위해 시험관 내 hyaluronidase 활성, compound 48/80에 의한 즉시형 anaphylaxis 발현과 비만세포 탈과립, PCA 반응과 Arthus 반응, SRBC에 의한 즉적종창반응 및 DNFB에 의한 접촉성 피부과민반응 등에 미치는 효과를 관찰하였다.

Hyaluronidase는 hyaluronic acid형의 mucopolysaccharide를 가수분해시키는 효소로서 결합조직에의 투과성을 항진시킴으로서 임상적으로 피하에 주입된 약물의 확산과 흡수를 촉진하는 것으로 알려져 있다. Hyaluronidase는 맨처음 미생물에서 단리되었지만<sup>30)</sup>, 현재는 포유류의 고환에서 추출하며 조직 중에 있는 이 효소는 lysosome으로부터 유래하는 것으로 추정된다<sup>30)</sup>. 항알레르기 작용을 검토하기 위하여 약물스크리닝에 hyaluronidase의 활성을 지표로 하였으며 효소의 기질인 hyaluronic acid는 비만세포에서는 histamine과 거의 같은 수준으로 유리되며 이 효소는 모세혈관 투과성항진에 관여하고 있다고 보고되었으며<sup>31)</sup> Kakekawa 등은 tannin류 등이 불활성의 hyaluronidase의 활성화를 억제하며 흰쥐의 장간막 비만세포의 탈과립을 강력하게 억제하는 항알레르기 작용을 보고하였다<sup>32)</sup>. 또한 Sakamoto 등은 hyaluronidase의 활성이 PCA반응이 야기될 때 증가되며 DSCG나 baicalein-6인산에 의해 모세혈관 투과성 항진과 hyaluronidase 활성증가도 억제된다고 보고하여 제 I형 알레르기 반응에서 모세혈관 투과성 항진에 이 효소가 중요한 역할을 하는 것으로 추정하였다<sup>33)</sup>. 본 실험에서도 淸燥救肺湯이 hyaluronidase의 활성을 억제하는 작용을 가지고 있음을 확인하였다. 수동피부 anaphylaxis(PCA)반응은 즉시형 과민반응으로서

국소 anaphylaxis로 잘 알려져 있고, 화학적 전달물질의 유리 억제를 연구하는 중요한 *in vivo* 실험<sup>34)</sup>이며, 이 반응의 원리는 항원을 생쥐 피내에 이입하면 세포친화성 항체는 세포와 결합하지만 세포와 결합하지 않은 항체는 소실될 때까지 방치한 다음 Evans blue 등의 색소를 혼합해서 미정맥에 주사하면 항원과 항체가 반응하고 있는 곳에서 histamine 등의 생리활성물질이 유리되어 혈관벽의 투과성이 증가하고 혈장과 염색물질이 누출해서 피부에 청색반이 형성된다. 이 청색반의 크기와 색소의 농도를 측정된 결과, 清燥救肺湯을 투여한 군에서 1 : 40으로 희석시 대조군에 비하여 PCA반응이 유의하게 억제되었다. 이 결과는 清燥救肺湯이 PCA에 의한 즉시형 과민반응에 억제효과가 있음을 의미한다. 또한 즉시형 아나필락시스반응에 미치는 효과를 관찰하기 위하여 비만세포 탈과립을 유도하는 약물로 사용되는 compound 48/80을 투여해서 실험한 결과, 清燥救肺湯 투여시 compound 48/80에 의한 anaphylaxis발현이 40%정도 억제되는 것을 확인하였다. 이는 清燥救肺湯이 모세혈관 투과성항진을 억제해서 나타난 결과라고 추정된다. 한편, 제III형 알레르기반응에 미치는 효과는 Arthus반응을 지표로 해서 관찰하였는데 이 반응은 가용성항원에 의해 과면역이 된 상태에서 침강성항체를 생성하는 개체에 동일항원을 재차 투여하면 항원-항체가 결합해서 모세혈관 내에서 침강성의 면역복합체가 형성되어 보체계를 활성화하고 복합체주변에서 혈소판의 응집이 일어나면서 부종, 발적 등이 일어나고 혈류장애로 인한 괴사가 진행되는데<sup>35)</sup>, 清燥救肺湯투여에 의해 Arthus반응이 억제되었다. 제IV형 지연형 알레르기(DTH반응)반응은 감작 T림프구와 식세포에 의해 주도되는 세포성면역의 과민반응인 것이 특징이다. 항원주사 후 24-48시간이 경과한 다음 홍반과 경결을 동반한 반응이 최대로 된다. SRBC에 의한 지연형 과민반응인 즉각중창반응은 유의성있는 결과는 아니지만 약간 억제하는 경향이였다.

알레르기반응에 대한 실험 결과에서 清燥救肺湯은 hyaluronidase 효소활성을 현저히 억제시켰고 compound 48/80에 의한 anaphylaxis 발현, 복강비만세포의 탈과립과 passive cutaneous anaphylaxis 반응을 감소시켰으며, 면역복합체형 반응인 Arthus반응과 DNFB에 의한 접촉성 피부과민반응을 유의성 있게 억제하였다.

이상의 실험결과를 종합하면, 清燥救肺湯은 즉시형 및 지연형알레르기 등의 부(-)의 면역반응에 대한 항알레르기작용을 보유하고 있는 것으로 추정된다.

## 감사의 글

본 논문은 우석대학교 학술연구비 지원에 의해 수행되었음

## 참고문헌

1. 金達鎬, 李鍾馨, 注解補注 黃帝內經素問, 下卷, 醫聖堂 p.746, 正氣存內 邪不可干 避其毒氣, 2001.
2. 李尙仁 外 1인, 韓方臨床處方學, 永林社, p.201, 1998.

3. 林通國 編著, 實用臨證中藥指南. 四川科學技術出版社, pp.180-182, 1990.
4. 章育正, 虛證和實證病人的免疫狀態. 上海中醫藥雜誌 6:44-45, 1984.
5. 趙鍾寬, 免疫에 관한 東洋醫學의 考察, 東洋醫學 12(1):19-23, 1986.
6. 中華醫書集成, 二十七冊 卷八, 中醫古籍出版社, p. 117, 1999.
7. 楊醫并 中醫學問答 上冊 p.677, 1985.
8. 이광규의 실용은병학 도서출판 정담 p.295, 2001.
9. 段苦寒, 中醫類方辭典, 天津大學出版社, p.461, 1995.
10. 孫世發, 名方配伍分析及應用, 人民衛生出版社, p.528, 2002.
11. 許澤群, 方劑學, 人民衛生出版社, p.460, 1997.
12. 孫本韜 等, 石膏對氣管支氣管肺樹的清解除禦機能的作用. 醫衛通信 6(1):10, 1978.
13. 《全國中草藥匯編》編寫組. 884, 紫蘇. 全國中草藥匯編, 上冊, 人民衛生出版社, p.835, 1976.
14. 路承彪 等, 中藥阿膠對正常小鼠細胞免疫功能的影响. 中藥藥理與臨床 2(4):25, 1991.
15. 余伯陽 等, 湖北麥冬與浙麥冬質量的研究: 免疫活性比較. 中國中藥雜誌 16(10):584-585, 1991.
16. Soldati, F., Immunological studies of ginseng, Proceedings of the 5th international ginseng symposium, Korea Ginseng and Tobacco Research Institute, Seoul, Korea, 108, 1988.
17. 楊貴貞 等, 人蔘對體內外免疫調整作用的初步研究, 白求恩醫科大學學報 9(3):388, 1983.
18. Cochrane, D.E., Douglas, W.W., Calcium-induced excruciation 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.
19. Toda, K., Danno, K., Tachibana, T., Effect of 8-methoxypsoralen plus long wave ultraviolet(PUVA) radiation on mast cells. J. Invest. Dermatol. 87:113, 1986.
20. Garvey, J.S., Antibody-mediated hypersensitivity. In : Methods in Immunology, pp.451-462, Addison-Wesley Pub. Co., 1987.
21. Yoshikai, Y., Maie, S., Matsumoto, T., Nomoto, K., 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., Im, S.Y., Effect of Dexamethasone on different types of murine T suppressor cells. Korean J. Immunology 9:1-15, 1987.
23. Dowdy, S, Weardon, S., Statistics for research. p. 262. Wiley, New York, 1983.
24. 成肇智, 中醫病機論, 中國醫藥科技出版社, p.16, 1997.
25. 대한병리학회, 병리학(4판) 고문사, p.127, 2001.
26. 中醫研究院, 中醫名詞術語選釋, 知識出版社, p3

27. Roitt, I., Brostoff, J., Male, D., Immunology. 4th Ed. 1.1-2.18, Mosby Publishing, U.K 1998.
28. Coombs, R.R.A., Gell, P.G.H., Classification of allergic reactions responsible for clinical hypersensitivity and disease. In : Clinical Aspects of Immunology, 3:761, Blackwell Scientific Co., Oxford, 1975.
29. Schulz, O., Sewell H.F., Shakib, F., Proteolytic cleavage of CD25, the alpha subunit of the human T cell interleukin 2 receptor, by Der p 1, a major mite allergen with cysteine protease activity. J. Exp. Med. 187(2):271-275, 1998.
30. Meyer, K., Dubos, R., Smith, E.M., The hydrolysis of the polysaccharide acids of vitreous humor of umbilical cord and of streptococcus by the autolytic enzyme of pneumococcus. J. Biol. Chem. 118:71, 1967.
31. Vaes, G., Hyaluronidase activity in lysosomes of bone tissue. J. Biochem. 103:802-804, 1967.
32. Kakegawa, H., Matsumoto, H., Endo, K., Satoh, T., Nonaka, G., Ishizaka, I., Inhibitory effects of tannins on hyaluronidase activation and on the degranulation from rat mesentery mast cells. Chem. Pharm. Bull., 33:5079-5082, 1985.
33. Sakamoto, K., Nagai, H., Koda, A., Role of hyaluronidase in immediate hypersensitivity reaction. Immunopharmacol. 2: 139-146, 1980.
34. Ovary, Z., Passive cutaneous anaphylaxis in immunological methods. ed. by Ackroyd. Oxford Bla. Sci. Pub., p.259, 1964.
35. 서울대학교 의과대학편, 면역학(전정판), pp. 1-3, 165-188, 서울, 서울대학교 출판부, 1993.