

黃芪內托散의 소염 작용에 관한 실험적 연구

홍성진 · 심성용 · 김경준

경원대학교 한의과대학 안이비인후부과학교실

Experimental Study of Hwangginaetak-san on Anti-inflammatory Effect

Sung-Jin Hong, Sung-yong Sim, Kyung-jun Kim

Objective : Chronic otitis media is an inflammation and infection of the middle ear which is persistent. Chronic otitis media occurs when the eustachian tube becomes blocked repeatedly, multiple infections, ear trauma, or swelling of the adenoids. A chronic ear may be the result of an acute ear infection that does not clear completely, or the result of recurrent ear infections. A chronic ear infection may be more destructive than an acute ear infection because its effects are prolonged, and it may cause permanent damage to the ear.

Methods : Experimental animals made use of 4-5 weeks age(weight 20~25g) ICR(male)mouse. In the breeding farm, the lighting time was controlled from 7:00 am until 7:00 pm, the temperature was controlled within $22\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ and water and food were not limited. The extracts which were extracted from Hwangginaetak-san divided low dose group(1.0g/kg-HN) and high dose group(3.0g/kg-HN), they were intragastrically administered to the mouse of sample A and sample B prior to LPS I.P injection. Compared with inflammation induced group which were induced by LPS, we measured the WBC count, IL-6 level in plasma and TNF- α level in plasma.

- Results** : 1. Hwangginaetak-san decreased WBC count in inflammatory reaction induced by LPS
2. Hwangginaetak-san decreased IL-6 level in inflammatory reaction induced by LPS.
3. Hwangginaetak-san didn't decreased TNF- α level in inflammatory reaction induced by LPS

Conclusion : According to above results, Hwangginaetak-san was improved its suppression effect to the inflammatory reaction through WBC count and IL-6 level. So Hwangginaetak-san is considered to be used for treatment of chronic otitis media by controlling the WBC count and IL-6 level in plasma.

Key words : Hwangginaetak-san, inflammatory reaction

서론

교신저자 : 김경준, 서울시 송파구 송파동 20-8 경원대학교
부속서울한방병원 안이비인후부과 과장
(Tel : 02-425-3456, E-mail : kkjo215@hanmail.net)

炎症반응은 세포상해를 유발하는 다양한 자극에 대한 혈관조직의 복합적인 반응으로서, 혈관 밖 조직으로 백혈구와 체액의 축적을 유도하는 것이 특징이며, 發赤, 發熱, 腫

脹, 疼痛 및 機能障礙의 다섯 가지 증상이 일반적으로 나타난다.

이 가운데 中耳炎은 이비인후과나 소아과를 찾는 환자 중 上氣道 感染 다음으로 높은 빈도를 차지하는 질환으로서¹⁾ 항생제의 사용 이후 急性 中耳炎으로 인한 합병증의 빈도는 감소되었으나 滲出性 中耳炎의 빈도는 오히려 높아졌으며 急性 中耳炎 환자의 약 10%는 慢性 中耳炎으로 이환된다.²⁾ 慢性 中耳炎은 耳漏가 나오고 합병증으로 眩氣症이나 顔面神經麻痺, 腦膿瘍등을 유발하기도 한다.

韓醫學의 中耳炎은 膿耳, 聾耳의 범주에 속하는 것으로 耳腫痛, 耳鳴, 耳出膿汁, 聽力減少, 發熱등의 증상이 수반되며, 治療에 있어서는 疏散風熱 解毒消腫 健脾滲濕 補托排膿 補腎培元 등의 처방을 응용하는데³⁾ 특히 慢性 中耳炎의 경우에는 益氣托毒 排膿의 처방이 요구된다.

黃芪內托散은 《醫宗金鑑》에³⁾ 수록된 처방으로 黃芪, 當歸, 川芎, 白朮, 金銀花, 皂角刺, 天花粉, 澤瀉, 甘草로 구성되어 慢性化된 膿耳 및 聾耳의 治療에 활용되어 왔다.

본 연구에서는 만성중이염에 처방되는 黃芪內托散(이하 HN)이 염증을 억제할 수 있을 것으로 기대되어 Lipopolysaccharide(이하LPS)로 염증을 유발한 흰쥐에 HN을 투여하여 WBC count와 Interleukin-6(이하IL-6), Tumor Necrosis Factor- α (이하 TNF- α)의 농도를 측정하는 실험을 통해 유의성 있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

실험대상 및 방법

1. 材料 및 動物

1) 材料

본 실험에 사용된 처방은 吳謙의 《醫宗金鑑》³⁾에 기재된 것에 준하였으며, 약재는 경원대학교 부속 서울한방병원 조제실에서 제공받아 사용하였다.

Contents of Hwangqinaetak-san

| 한약명 | 생약명 | 용량(g) |
|-----|------------------------------------|-------|
| 黃芪 | Astragali Radix | 7.5 |
| 當歸 | Angelicae Gigantis Radix | 7.5 |
| 川芎 | Cnidii Rhizoma | 7.5 |
| 白朮 | Atractylodis Macrocephalae Rhizoma | 3.75 |
| 金銀花 | Lonicerae Flos | 3.75 |
| 皂角刺 | Gleditsiae Spina | 3.75 |
| 天花粉 | Trichosanthis Rhizoma | 3.75 |
| 澤瀉 | Alismatis Rhizoma | 1.875 |
| 甘草 | Glycyrrhizae Radix | 1.875 |
| 총량 | | 41.25 |

2) 實驗 動物

실험동물은 명진 동물실험 센터에서 분양받은 4-5週齡(體重 20-25g)의 ICR계 수컷 mice를 사용하였으며 사료와 물은 자유로이 섭취할 수 있게 하였고, 12시간을 주기로 밤과 낮의 구분이 되도록 조명을 조정하였으며 실내온도는 22±0.5℃를 유지하였다.

3) 試藥 및 機器

본 실험에 사용된 시약중 LPS, NaCl, KCl, Na₂HPO₄, KH₂PO₄는 Sigma(USA)제품을 사용하였고, Tween 20은 BIO-RAD(USA) 제품을 사용하였다. WBC Count에는 Trypan Blue Solution 0.4%(Sigma Co. USA)을 사용하였고, Haemocytometer는 Superior(Germany)를 사용하였다. 약물추출액은 Rotary Evaporator (Eyela Co., Japan)를 사용해서 건조하였고, 혈액 채취시 사용된 tube는 heparinized capillary tubes(Chase Inc., USA)를 사용하였다. Cytolergy를 측정하기 위해서 DuoSet ELISA Development System(R&D, USA)kit 시약과 ELISA Reader(Merck Co., Germany)를 사용하였다.

2. 方法

1) 檢液 調製

약재를 총 용량 300g이 되게 취하여 정제수를 사용하여 300ml 등근 플라스크에서 냉각기를 부착한 상태로 추출하였다.

2) 實驗群 및 檢液 投與

mouse 6마리를 한 군(Group)으로 하여 정상군(Normal), 대조군(Control), 실험군(Sample)으로 구분하였고, 실험군은 다시 H.N. 1.0g/kg 투여군(Sample A), H.N. 3.0g/kg 투여군(Sample B) 군으로 다시 분류하여, 대조군에는 LPS 주입 3일 전부터 생리식염수를 투여하고, 실험군에는 각 농도의 약물을 생리식염수에 용해하여 LPS 주입 3일 전부터 매일 1일 1회 경구 투여하였다.

3) 採血

약물은 LPS 투여 1시간 전에 구강으로 강제 복용시키고 90분 후에 LPS를 복강에 투여하였다. LPS 투여 후 1시간 경과 후에 retro-orbital venous plexus에서 혈액을 채취하였다.

4) 혈액 중 IL-6, TNF- α 측정

채혈한 혈액을 4°C에서 4,000 r.p.m으로 원심 분리하여 혈청을 얻은 다음 -83°C의 deep freezer에 보관하였다가 24시간 후 IL-6와 TNF- α 의 양을 측정하였다. 측정하기 24시간 전에 Capture antibody를 PBS에 녹여서 96 well plate에 100ul씩 넣은 다음 plate를 paraffin film으로 봉한 후 4°C 냉장고에 보관하였다. 24시간 후에 각 well을 wash buffer로 3회 세척한 다음 300ul의 block buffer를 가하고 1시간 동안 실온에 방치한 후 다시 wash buffer로 3회 세척한다. 여기에 Standard와 Sample을 100ul씩 각 well에 가한 다음 실온에 2시간 동안 방치하였다. 2시간 후 Detection antibody를 reagent diluent에 희석하여 각 well에 100ul씩 가한 후 실온에서 다시 2시간 동안 방치한 후 wash buffer로 3회 세척하였다. 그 다음 streptavidin-HRP를 역시 reagent diluent로 희석하여 각 well에 100ul씩을 넣고 20분간 실온에 방치한다. 이를 다시 wash buffer로 3회 세척하고 substrate solution을 100ul씩 가하고 20분간 방치하였다. 20분 후 각 well에 stop solution을 50ul씩 가하고 plate를 가볍게 두드려서 섞은 다음 optical density를 ELISA Reader로 측정하였다.

3. 통계처리

성적은 Graphpad Prism(USA)으로 Student's t-test를 이용해 검정한 P값이 0.05 미만일 때 유의한 차이가 있는 것으로 판정하였다.

실험성적

1. 농도별 LPS 주입후 시간경과에 따른 WBC Count의 변화

1) 농도별 LPS 주입 1일 후 WBC count의 변화

LPS 투여 1일 후 정상군의 WBC count를 100%로 환산하여 LPS 농도가 증가할수록 WBC count는 증가하며 250ug/kg에서 176.95±13.446%(P<0.001)로 최고 수치를 보이다가 500ug/kg에서 167.9±24.811%(P<0.05)로 감소한다. (Fig. 1)

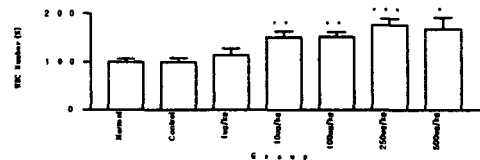


Fig 1. The change of WBC count(%) at Day 1 after LPS I.P. injection according to dose

Blood was collected from the retro-orbital venous plexus at Day 1 after LPS I.P. injection. Normal saline was administered intragastrically 1hr prior to LPS I.P. injection. Normal group was treated with no LPS and no normal saline. Control group was treated with no LPS and normal saline. Experimental groups were administered intragastrically LPS I.P injection in each dose. *,**,*** : statistically significant compared with the Control group(P<0.05, 0.01, 0.001)

2) 농도별 LPS 주입 2일 후 WBC count의 변화

LPS 투여 2일 후 LPS 농도가 증가할수록 WBC count는 증가하며 500ug/kg에서 202.52±16.5%(P<0.001)로 최고

수치를 보인다. (Fig. 2)

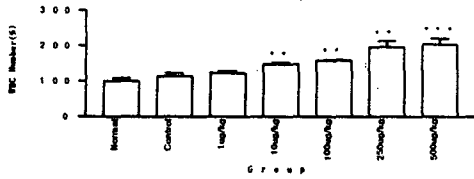


Fig 2. The change of WBC count(%) at Day 2 after LPS I.P. injection according to dose

Blood was collected from the retro-orbital venous plexus at Day 2 after LPS I.P. injection. Normal saline was administered intragastrically 1hr prior to LPS I.P. Injection. Normal group was treated with no LPS and no normal saline. Control group was treated with no LPS and normal saline. Experimental Groups were administered intragastrically LPS I.P injection in each dose. **,* : statistically significant compared with the Control group(P<0.01, 0.001)

3) 농도별 LPS 주입 3일 후 WBC count의 변화

LPS 투여 3일 후 LPS 농도가 증가할수록 WBC count는 증가하며 250ug/kg에서 202.71±7.071% (P<0.001)로 최고수치를 보이다가 500ug/kg에서 193.82±4.104% (P<0.001) 로 감소한다. (Fig. 3)

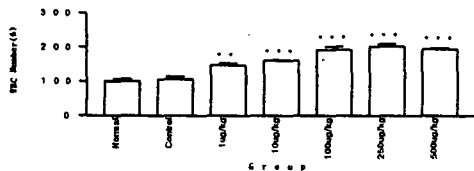


Fig 3. The change of WBC count(%) at Day 3 after LPS I.P. injection according to dose

Blood was collected from the retro-orbital venous plexus at Day 3 after LPS I.P. injection. Normal saline was administered intragastrically 1hr prior to LPS I.P. Injection. Normal group was treated no LPS and no normal saline. Control group was treated no LPS and normal saline. Experimental groups were administered intragastrically LPS I.P injection in each dose. **,* : statistically significant compared with the Control group(P<0.01, 0.001)

4) 농도별 LPS 주입 4일 후 WBC count의 변화

LPS 투여 4일 후 LPS 농도가 증가할수록 WBC count는 증가하며 250ug/kg에서 181.56±15.026% (P<0.001)로

최고 수치를 보이다가 500ug/kg에서 167.3±12.433% (P<0.001)로 감소한다. (Fig. 4)

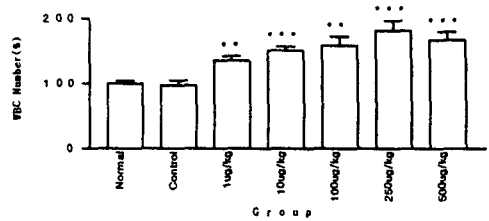


Fig. 4 The change of WBC count(%) at Day 4 after LPS I.P. injection according to dose

Blood was collected from the retro-orbital venous plexus at Day 4 after LPS I.P. injection. Normal saline was administered intragastrically 1hr prior to LPS I.P. injection. Normal group was treated with no LPS and no normal saline. Control group was treated with no LPS and normal saline. Experimental groups were administered intragastrically LPS I.P injection in each dose. **,* : statistically significant compared with the Control group(P<0.01, 0.001)

5) 농도별 LPS 주입 5일 후 WBC count의 변화

LPS 투여 5일 후 LPS 농도가 증가할수록 WBC count는 증가하며 250ug/kg에서 163.46±9.514%(P<0.001)로 최고 수치를 보이다가 500ug/kg에서 143.15±5.267%(P<0.001)로 감소한다. (Fig. 5)

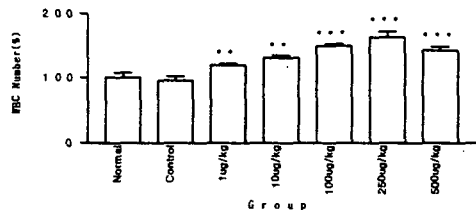


Fig 5. The change of WBC count(%) at Day 5 after LPS I.P. injection according to dose

Blood was collected from the retro-orbital venous plexus at Day 5 after LPS I.P. injection. Normal saline was administered intragastrically 1hr prior to LPS I.P. injection. Normal group was treated with no LPS and no normal saline. Control group was treated with no LPS and normal saline. Experimental Groups were administered intragastrically LPS I.P injection in each dose. **,* : statistically significant compared with the Control group(P<0.01, 0.001)

6) 농도별 LPS 주입 6일 후 WBC count의 변화

LPS 투여 6일 후 LPS 농도가 증가할수록 WBC count는 증가하며 250ug/kg에서 145.14±12.635%(P<0.01) 이고, 500ug/kg 에서는 145.14±12.892(P<0.01)로 증감이 없다. (Fig. 6)

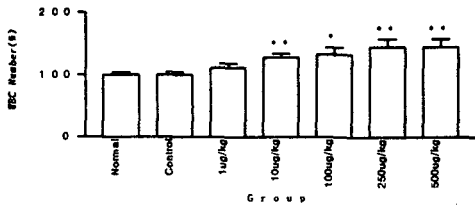


Fig 6. The change of WBC count(%) at Day 6 after LPS I.P. injection according to dose

Blood was collected from the retro-orbital venous plexus at Day 6 after LPS I.P. injection. Normal saline was administered intragastrically 1hr prior to LPS I.P. injection. Normal group was treated with no LPS and no normal saline. Control group was treated with no LPS and normal saline. Experimental groups were administered intragastrically LPS I.P injection in each dose.

*,** : statistically significant compared with the Control group(P<0.05, 0.01)

2. H.N. 투여후의 WBC count의 변화

H.N. 투여 4일째 LPS를 주입한 후, WBC count는 정상군을 100%로 환산하였을 때 대조군은 164.89±5.590%로 유의성 있는 증가를 보였다.

H.N. 1.0g/kg 투여군은 120.63±9.071%로 대조군에 비해 유의성 있는 감소(P<0.01)를 보였으며, H.N. 3.0g/kg 투여군은 123.47±5.921%로 역시 유의성 있는 감소(P<0.001)를 보였다. (Fig. 7)

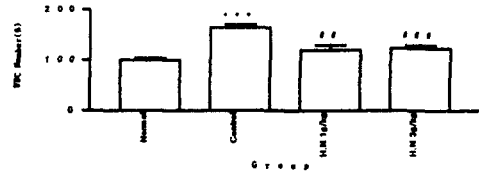


Fig 7. The effect of H.N.(1.0g/kg, 3.0g/kg) on the change of WBC count(%) at Day 3 after LPS I.P. injection

Normal Saline and H.N. was administered intragastrically 1hr prior to LPS I.P. injection. Blood was collected from the retro-orbital venous plexus.

Normal group was treated with no LPS and no Normal Saline. Control group was treated with LPS and Normal Saline. H.N. 1.0g/kg group was administered Hwangginaetak-San 1.0g/kg intragastrically 3days prior to LPS I.P injection. H.N. 3.0g/kg group was administered Hwangginaetak-San 3.0g/kg intragastrically 3days prior to LPS I.P injection.

*** : statistically significant compared with the Normal group(P<0.001)

###,#### : statistically significant compared with the Control group(P<0.01, 0.001)

3. 농도별 LPS 주입에 따른 IL-6 농도의 변화

정상군의 IL-6 농도는 29.55±3.825pg/ml이고, LPS 1ug/kg 주입군은 388.0±116.5 pg/ml로 유의성 있는 증가(P<0.05)가 보였으며, 10ug/kg 주입군은 3222±267.9pg/ml로 급격히 증가(P<0.001)하기 시작 하여, 100ug/kg 주입군은 3852±128.4pg/ml(P<0.001), 250ug/kg 주입군은 4061±155.7pg/ml (P<0.001), 500ug/kg 주입군은 4089±130.6pg/ml (P<0.001), 1000ug/kg 주입군은 4351±76.78pg/ml (P<0.001), 2000ug/kg에서는 4508±57.86pg/ml까지 증가 (P<0.001)하였다. (Fig. 8)

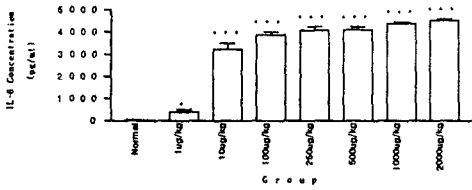


Fig 8. The change of IL-6 level in plasma after LPS I.P injection according to dose

Normal group was treated with no LPS and no saline. Experimental groups were administered intragastrically LPS I.P injection in each dose.

*: Statistically significant as compared with Normal group(P<0.05)

*** : Statistically significant as compared with Normal group(P<0.001)

4. LPS 1mg/kg 주입 후 시간경과에 따른 IL-6 농도의 변화

정상군은 IL-6의 농도가 29.29±2.438pg/ml이었다가 LPS 주입 후 15분이 경과하자 57.43±12.47pg/ml로 약간의 증가를 보였으나 유의성은 보이지 않았다. LPS 투여 후 30분이 경과하자 363.1±32.54pg/ml (P<0.001)로 유의성 있는 증가가 나타났고, 60분이 경과하자 3965±253.5pg/ml(P<0.001)로, 90분경과 후에는 5457±118.9pg/ml(P<0.001) 까지 증가하였다. 120분이 경과하자 4592±94.57pg/m l(P<0.001)로 약간의 감소 추세가 보였고, 180분경과 후에는 2907±208.8pg/ml (P<0.001), 240분경과 후에는 1220±122.0pg/ml (P<0.001)로 현격한 감소가 나타남을 볼 수 있었다. 8시간이 경과하자 141.5±17.32pg/ml (P<0.001)로 급격한 감소가 보였으며, 16시간 후에는 75.16±9.698pg/ml (P<0.001), 24시간 후에는 31.99±4.903pg/ml로 감소하였다. (Fig. 9)

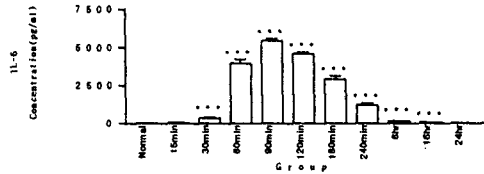


Fig 9. The change of IL-6 level in Plasma after LPS I.P injection according to time-course

Normal group was treated with no LPS and no saline. Experimental group were administered intragastrically 1mg/kg LPS I.P injection according to time course.

*** : Statistically significant as compared with Normal group(P<0.001)

5. H.N. 투여후 IL-6 농도의 변화

HN.을 각각 1.0g/kg와 3.0g/kg의 농도로 Saline에 녹여서 LPS 주입 1시간 전에 각 군에 강제 복용시켰다. 정상군의 혈중 IL-6 농도는 12.99±1.14pg/ml 이었는데 대조군은 IL-6의 농도가 960.8±54.05pg/ml로 증가(P<0.001)하여 유의성 있는 증가가 보였으며, 실험군은 HN. 1.0g/kg 투여군이 698.0±30.75pg/ml (P<0.01), HN. 3.0g/kg 투여군이 531.0±51.25pg/ml (P<0.001)로 유의성 있는 감소를 보였다. (Fig. 10)

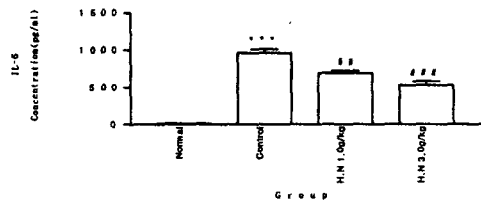


Fig. 10 The effect of H.N.(1.0g/kg, 3.0g/kg) on the change of IL-6 level at 90minutes after LPS I.P injection

Normal group was treated with no LPS and no saline.

Control group was treated with LPS I.P after 90 minutes and administered intragastrically normal saline 1hr prior to LPS I.P.(p.o.) H.N. 1.0g/kg group was administered intragastrically 1hr prior to LPS I.P injection. H.N. 3.0g/kg group was administered intragastrically 1hr prior to LPS I.P injection.

*** : Statistically significant as compared with Normal group(P<0.001)

: Statistically significant as compared with Control group(P<0.01)

: Statistically significant as compared with Control group(P<0.001)

6. 농도별 LPS 주입에 따른 TNF- α 농도의 변화

정상군의 TNF- α 의 농도는 $69.27 \pm 10.40 \text{ pg/ml}$ 이었는데 LPS $1 \mu\text{g/kg}$ 주입군은 $288.6 \pm 66.95 \text{ pg/ml}$ 로 농도의 증가가 나타났고, $10 \mu\text{g/kg}$ 주입군은 $1495 \pm 141.4 \text{ pg/ml}$ 로 TNF- α 농도의 급격한 증가가 나타나기 시작했다. $100 \mu\text{g/kg}$ 주입군은 $2072 \pm 93.40 \text{ pg/ml}$, $250 \mu\text{g/kg}$ 주입군은 $2154 \pm 380.1 \text{ pg/ml}$, $500 \mu\text{g/kg}$ 의 주입군은 $2769 \pm 71.70 \text{ pg/ml}$, $1000 \mu\text{g/kg}$ 의 주입군은 $3113 \pm 101.7 \text{ pg/ml}$, $2000 \mu\text{g/kg}$ 의 주입군은 $3260 \pm 83.87 \text{ pg/ml}$ 로 꾸준히 증가하며 각각 유의성 있는 증가를 보여주었다. (Fig 11)

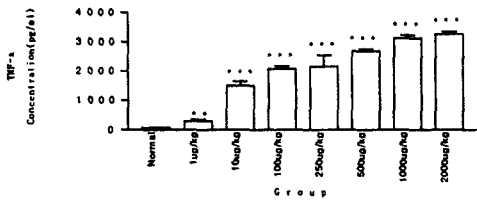


Fig 11. The change of TNF- α level in plasma after LPS injection according to dose

Normal group was treated with no LPS and no saline. Experimental groups were administered intragastrically LPS I.P injection in each dose.
 ** : Statistically significant as compared with Normal group ($p < 0.01$)
 *** : Statistically significant as compared with Normal group ($p < 0.001$)

7. LPS 1mg/kg 주입후 시간경과에 따른 TNF- α 농도의 변화

정상군의 혈중 TNF- α 는 $102.5 \pm 4.127 \text{ pg/ml}$ 이었는데 LPS 1 mg/kg 을 주입한 후 15분이 경과하자 $173.0 \pm 16.34 \text{ pg/ml}$ 으로 유의성 있는 증가가 나타났고, 30분이 경과하자 $2236 \pm 303.2 \text{ pg/ml}$ 로 급격한 증가를 보였다. 60분과 90분은 각각 $5450 \pm 201.5 \text{ pg/ml}$ 과 $6871 \pm 257.7 \text{ pg/ml}$ 까지 증가하여 최고 수준까지 증가하였다가, 120분에서는 $2196 \pm 180.8 \text{ pg/ml}$ 로 120분부터 감소의 경향이 나타나고, 180분에서는 $1307 \pm 100.5 \text{ pg/ml}$ 로 감소, 240분에서는 $635.1 \pm 72.85 \text{ pg/ml}$ 로 큰 폭으로 감소하였다. 8시간과 16시간, 24시간은 각각 $232.0 \pm 15.34 \text{ pg/ml}$, $147.9 \pm 8.321 \text{ pg/ml}$, $114.0 \pm 5.946 \text{ pg/ml}$ 로 감소하여 정상군의 수치에 가까워졌다. (Fig 12)

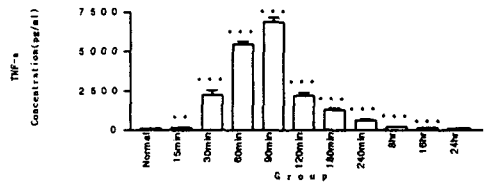


Fig 12. The change of TNF- α level in plasma after LPS I.P injection according to time-course

Normal group was treated with no LPS and no saline. Experimental groups were administered intragastrically 1 mg/kg LPS I.P injection according to time-course.
 ** : Statistically significant as compared with Normal group ($p < 0.01$)
 *** : Statistically significant as compared with Normal group ($p < 0.001$)

8. H.N. 투여후 TNF- α 농도의 변화

H.N.을 각각 1.0 g/kg 와 3.0 g/kg 의 농도로 saline에 녹여서 LPS 주입 1시간 전에 각 군에 강제복용 시켰다. 정상군의 혈중 TNF- α 의 농도는 $87.31 \pm 30.25 \text{ pg/ml}$ 이었는데 대조군은 $2081 \pm 313.6 \text{ pg/ml}$ 로 상당한 증가를 보였다. 실험군의 혈중 TNF- α 의 농도는 각각 $2142 \pm 201.1 \text{ pg/ml}$ 과 $1520 \pm 374.8 \text{ pg/ml}$ 로 H.N. 1.0 g/kg 의 투여군의 경우는 대조군보다 오히려 약간의 증가를 보이긴 했지만 유의성은 없었고, H.N. 3.0 g/kg 투여군의 경우도 대조군보다는 감소를 보이기는 했지만 유의성은 없었다. (Fig 13)

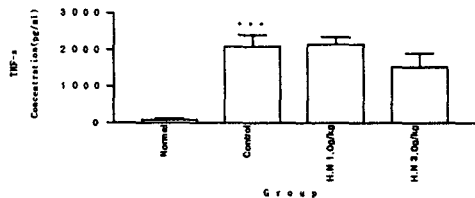


Fig 13. The effect of H.N.(1.0g/kg, 3.0g/kg) on the change of TNF- α level at 90minutes after LPS I.P injection (n=6)

Normal group was treated with no LPS and no saline. Control group was treated with LPS I.P after 90 minutes and administered intragastrically normal saline 1hr prior to LPS I.P injection. H.N. 1.0 g/kg group was administered intragastrically 1hr prior to LPS I.P injection. H.N. 3.0 g/kg group was administered intragastrically 1hr prior to LPS I.P injection.
 *** : Statistically significant as compared with Normal group ($p < 0.001$)

고찰

炎症은 生體組織이 損傷에 대해 반응하는 능동적인 과정으로, 生體의 세포나 조직이 어떤 원인에 의하여 損傷을 받으면 이에 대한 반응을 일으켜 損傷을 극소화시키고 손상된 부위를 복구시키려는 일련의 국소적 반응이다.³⁾

일반적으로 發赤, 發熱, 腫脹, 疼痛 및 機能障礙의 다섯 가지 症狀을 炎症의 5대 症狀이라고 하며, 發赤 및 發熱은 모세혈관의 擴張에 의한 것이며, 腫脹은 血管의 透過性 변동에 의한 體液성분과 白血球의 滲出에 의하고, 腫痛의 원인은 확실하지 않지만 말단신경에 대한 삼출물의 압박이나 유리된 화학물질의 직접자극에 의한 것으로 보고 있으며, 機能喪失은 동통에 의한 것으로 보고 있다.

염증의 하나로서 안이비인후과 영역에서 자주 보는 中耳炎은 中耳腔內에 일어나는 모든 炎症性 변화를 意味하는 것으로 急性 中耳炎(acute otitis media), 慢性 中耳炎(chronic otitis media), 滲出性 中耳炎(serous otitis media) 등으로 分類되며, 그 중간 형태의 中耳炎도 存在할 수 있다.

慢性 中耳炎은 中耳와 유양봉소에 3個月 以上の 持續的인 化膿性 炎症이 있는 狀態를 말한다. 臨床的 特徵은 難聽, 耳漏, 鼓膜穿孔의 3가지 증상이다. 또한 組織病理的으로 慢性 炎症細胞인 原形細胞의 粘膜炎 浸潤과 中耳腔의 非可逆的 組織 病變을 보이며, 鼓膜의 癒着, 鼓室硬化症, 鼓室無氣症 等の 後遺症을 남기기도 한다. 慢性 中耳炎은 急性 中耳炎에서 進行되는데, 그 要因으로 猩紅熱, 紅疫, 디프테리아, 인플루엔자, 大腸菌 등은 毒性이 강하여 壞疽性으로 나타나기 때문에 慢性화가 잘되고 先天的 또는 胎生期나 幼兒期의 中耳感炎으로 含氣蜂巢의 發育이 억제된 경우, 年少 및 老弱者에서의 全身 抵抗力이 減退되는 경우, 鼻·副鼻洞·咽頭·扁桃에 慢性的 疾患이 있을 때 그리고 眞珠腫이 형성되거나 結核

性 中耳炎, 上鼓室型 中耳炎에서 더욱 더 慢性화의 경향이 크다. 특히 최근에는 항생제나 화학치료제의 남용으로 저항성을 가진 균이 많으므로 慢性化되는 일이 많다.⁹⁾ 中耳粘膜炎이 充血, 浸潤, 肥厚化되고 肉芽 또는 茸腫이 발생되며 반대로 結締組織化되어서 癍痕이 생기고 耳小骨과 周圍 骨組織이 壞疽의 경과를 밟게 된다. 鼓膜의 穿孔은 必發의 症狀으로 化膿이 중지되면 癍痕으로 폐쇄되거나 穿孔된 상태로 나타내는데, 穿孔의 위치와 크기가 예후를 결정하는 중요한 인자이다.⁶⁾

韓醫學에서 中耳炎에 해당하는 병증을 역대 서적에서 살펴보면 귀에서膿이 흘러나오는 것은 膿耳,膿이 귀 속에서 굳어져 核을 형성한 것은 聾耳라고 구분하기도 하며, 耳痛, 耳瘡, 耳癰, 耳疔 등의 異名으로 표현하고 있다.⁹⁻¹²⁾ 최초로 귀에 관한 증상이 기재된 《素問 至真要大論》²²⁾에는 “少陽之勝 熱客于胃 煩心心痛 目赤欲嘔 嘔散善飢 耳痛溺赤.....少陽之勝 治以辛寒 佐以甘鹹 以甘瀉之”라 하여 “少陽之勝 熱客于胃”하게 되면 나타나는 여러 가지 증상들 중에 耳痛이 포함되어 있었으나, 隋代의巢 孫《諸病源候論》부터 “聾耳 耳疼痛”의 병명으로 언급하였으며 최근의 한의학 서적에는 慢性 中耳炎의 현대적 병명하에 辨證施治가 제시되어 있다.¹³⁻¹⁵⁾

韓醫學的 病因病機는 이와 關聯된 經絡 臟腑와 外感·內傷이 複合的으로 結合하여 發生하기 때문에 매우 多樣한데 그 內容을 살펴보면 六淫侵犯^{9-12,17-23)}이 있고, 耳內에 물이 들어간 경우^{16,18,19,22,24,25)}와 臟腑의 熱^{10-12,21,22,27,28)}이 中耳炎의 主要 原因이다. 그 외에도 脾胃의 氣血虛弱^{9,12,21,22,25,31)}, 小兒腎氣上衝^{18,32)} 등이 있다.

治法은 주로 熱證에는 清熱解毒利濕하며 虛證에는 健脾補腎, 滋陰養血하여 治療한다.^{19,22,25,34)}

본 연구에 사용된 黃芪內托散은 《醫宗金鑑》에 수록된 처방으로 黃芪, 當歸, 川芎, 白朮, 金銀花, 皂角刺, 天花粉, 澤瀉, 甘草로 구성되어 있어³⁷⁾, 慢性 中耳炎의 炎症억제에 활용할 수 있을 것으로 생각된다.

이에 본 연구자는 실험을 통하여 만성 중이염 치료에 사용되는 黃芪內托散의 염증치료에 관한 효과를 알아보려고 실험동물에 LPS로 염증을 유발한 뒤 WBC count와 IL-6의 농도 그리고 TNF- α 의 농도를 측정하는 연구를 수행하였다.

WBC count는 1mm³당 WBC의 개수이며, 정상치는 15,000-20,000개 정도이지만 염증 반응시에는 40,000개 이상 100,000개까지 늘어나기도 한다. IL-6는 인체의 면역계가 질병 및 감염에 맞서서 싸우도록 자극하는 단백질의 한 형태로서 WBC가 감염원이나 면역복합체 또는 독소나 신생물에 반응할 때 생성된다. 그리고 TNF- α 는 WBC에 의해 인체 내에서 생성되는 단백질로 IL-6와 마찬가지로의 경우에 생성된다. 따라서 WBC count와 IL-6의 농도 및 TNF- α 의 농도변화를 측정함으로써 염증 반응의 진행정도를 파악할 수 있다.³⁰⁾

농도별 LPS 주입에 따른 WBC count는 Day 3 의 250ug/kg 농도일 때 202.71 \pm 7.07%(P<0.001)로 유의성 있는 수치를 나타냈으며, LPS 주입 후 H.N. 1.0g/kg 투여군과 H.N. 3.0g/kg 투여군의 결과는 각각 120.63 \pm 9.07%(P<0.01), 123.47 \pm 5.92%(P<0.001)로 유의성 있는 감소 효과를 보였다.

농도별 LPS 주입에 따른 IL-6 농도의 변화는 LPS 1mg/kg일 때 4351 \pm 76.78pg/ml(P<0.001)로 유의성 있는 증가를 보였으며, LPS 주입 1.5시간 경과 후의 IL-6의 농도가 5457 \pm 118.9pg/ml(P<0.001)로 유의성 있는 가장 높은 변화를 보였다. 따라서 H.N. 투여 후 IL-6 농도의 변화를 알아보기 위하여 LPS 1mg/kg을 주입하고 1.5시간 경과 후에 혈액을 채취하였으며, 이때 H.N. 1.0g/kg 투여군이 698.0 \pm 30.75pg/ml(P<0.01), H.N. 3.0g/kg 투여군이 531.0 \pm 51.25pg/ml(P<0.001)로 유의성 있는 감소를 보였다.

농도별 LPS 주입에 따른 TNF- α 농도의 변화는 LPS 1mg/kg일 때 3113 \pm 101.7pg/ml(P<0.001)로 유의성 있는 증가를 보였으며, LPS 주입 1.5시간 경과 후의 TNF- α 의 농도가 6871 \pm 257.7pg/ml(P<0.001)로 유의성 있는 가장 높은 변화를 보였다. 따라서 H.N.

투여 후 TNF- α 농도의 변화를 알아보기 위하여 LPS 1mg/kg을 주입하고 1.5시간 경과 후에 혈액을 채취하였는데, H.N. 1.0g/kg 투여군은 2142 \pm 201.1 pg/ml로 오히려 증가했으며, H.N. 3.0g/kg 투여군은 1520 \pm 374.8 pg/ml로 대조군에 비하여 감소하였으나 유의성은 없었다.

中耳炎의 치료에는 대부분 항생제, 항히스타민제, 비강수축제, 비관통기법 등의 보존적 요법을 2주 내지 2개월간 시도해 보며, 호전되지 않거나 재발이 잦을 때는 鼓膜切開術과 中耳內 換氣管 挿入術을 시행하기도 하지만 최근 들어 中耳炎에서 항생제 내성을 보이는 균주들이 증가되었을 뿐 아니라 잦은 항생제 사용으로 抗菌력이 떨어져 오히려 재발성 中耳炎의 발생빈도를 높이고 있다. 이에 대한 예방적 치료로서 저용량의 항생제를 6個月 이상 투여하는 것이 소개되어 사용되고 있으나 역시 항생제 내성이 문제될 수 있다.³⁰⁾

따라서 黃芪內托散이 항생제 사용으로 인한 각종 부작용을 미연에 방지하고 炎症반응에 관여하는 細胞 活性 物質의 생성을 조절함으로써 中耳炎 치료 과정에서 효과를 나타낼 것으로 생각된다.

결론

黃芪內托散을 이용하여 LPS로 유발된 炎症세포에서 WBC의 수량과 IL-6와 TNF- α 의 농도변화에 미치는 영향에 대하여 실험한 결과 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 黃芪內托散이 WBC count에 미치는 영향을 관찰한 바 H.N. 1.0g/kg과 H.N. 3.0g/kg을 투여한 실험군이 대조군에 비하여 유의성 있는 감소효과를 보였다.

2. 黃芪內托散이 IL-6 농도에 미치는 영향을 관찰한 바 H.N. 1.0g/kg과 H.N. 3.0g/kg을 투여한 실험군이 대조군에 비하여 유의성 있는 감소효과를 보였다.

3. 黃芪內托散이 TNF- α 의 농도에 미치는 영향을 관찰한 바 H.N. 1.0g/kg과 H.N. 3.0g/kg을 투여한 실험군 모두가 대조군에 비하여 유의성 있는 감소효과를 얻지는 못했다.

이상의 결과로 미루어볼 때 黃芪內托散이 TNF- α 의 농도 감소에는 유의성 있는 효과를 나타내지는 못했지만 WBC count와 IL-6의 농도 감소에 유의성 있는 영향을 미치는 것으로 나타나 慢性 中耳炎 치료에 있어서 효과를 나타낼 것으로 생각된다.

참고문헌

1. 홍창의. 소아과 진료. 서울: 고려의학. 1994: 549-550
2. 민원식. 면역반응에 의한 삼출성 中耳炎의 발생기전에 관한 실험적 연구. 한이인지 33(6). 1990: 1065-1077
3. A.D.T.Govan, P.S.Macferlane, R.Callander. Pathology illustrated. 서울: 高麗醫學. 1992: 29-43
4. 대한 병리학회. 病理學. 서울: 고문사. 1991: 71-115
5. 盧石善. 原色眼耳鼻咽喉科學. 서울: 一中社. 1999: 80
6. 盧石善. 上揭書: 81
7. 巢元防. 諸病源候論校釋. 北京: 人民衛生出版社. 1983: 上冊 803, 下冊 1336
8. 孫思邈. 備急千金要方. 北京: 人民衛生出版社. 1992: 126-129
9. 李挺. 編註 醫學入門. 서울: 醫聖堂. 1994: 756-758
10. 樓英. 醫學綱目. 北京: 中國中醫藥出版社. 1996: 651-656
11. 張介賓. 景岳全書 上. 서울: 大成文化社. 1988: 599-572
12. 許浚. 東醫寶鑑. 서울: 大成文化社. 1988: 194-196
13. 楊錫強 等 編著. 中西醫診療方法叢書 兒科分冊. 北京: 科學技術文獻出版社. 1995: 469-470
14. 廖月紅. 淺談辨證與癩病相結合治療 小兒非化膿性 中耳炎. 新中醫. 제28卷. 1996: 55
15. 王旭輝. 複防黃連治療中耳炎100例. 四川中醫, 제15卷. 1997: 49
16. 王琦 外. 黃帝內經素問今釋. 서울: 成輔社. 1983: 27, 435
17. 李用粹. 證治彙報. 臺北: 旋風出版社. 1976: 241-242
18. 王肯堂. 六科證治準繩. 서울: 大成文化社. 17卷. 1993: 495-499
19. 孫一奎. 赤水玄珠. 北京: 中國中醫藥出版社. 1996: 49-51, 453-454
20. 王伯岳, 江育仁. 中醫兒科學. 서울: 圖書出版鼎談. 1994, 401-407
21. 陳無擇. 三因極一辨證方論. 서울: 一中社. 1992: 232-233
22. 陳貴廷 外. 實用中西醫結合診斷治療學. 北京: 中國醫藥科技出版社. 1991: 1887-1906
23. 錢松. 辨證奇門. 서울: 杏林書院. 1974: 76-77
24. 陳復正. 幼幼集成. 北京: 人民衛生出版社. 1988: 333-336
25. 會世榮. 活幼口議. 北京: 中醫古籍出版社. 1985: 63-64
26. 朱震亨. 丹溪心法(丹溪醫集中). 北京: 人民衛生出版社. 1995: 395-398
27. 羅天益. 衛生寶鑑. 서울: 金剛出版社. 1981: 143-144
28. 龔信. 古今醫鑑. 北京: 中國中醫藥出版社. 1997: 264-267
29. 趙獻可. 醫貫. 臺北: 人民衛生出版社. 1982: 74-77
30. 趙廷俊. 及幼方. 서울: 麗江出版社. 1993: 30: 58-59
31. 黃度淵. 醫宗損益. 上卷. 서울: 醫藥社. 1992: 232-233
32. 劉昉 撰. 幼幼新書. 北京: 人民衛生出版社. 1987: 1340-1346
33. 유준기. 전찬일. 小兒集方. 서울: 圖書出版鼎談. 1993: 227-228
34. 吳崑. 醫方考. 서울: 醫聖堂. 1993: 366-369
35. 李瑛鐘 外. 本草學. 서울: 永林社. 1995: 534,

- 578, 409, 536, 198, 440, 165, 305, 540
36. Dangan R, Leibovitz E, Cheletz G, Leiberman A, Porat N. Antibiotic treatment in acute Otitis Media promotes superinfection with resistant *Streptococcus pneumoniae* carried before initiation of treatment. *J Infect Dis.* 2001 Mar 15; 183(6): 880-886
37. 吳謙 醫宗金鑑 北京: 人民衛生出版社. 1981: 124
38. 대한임상병리학회. 임상병리학. 서울: 고려의학. 1996: 158, 324