

# 少陰人 芎歸香蘇散의 抗 알레르기 및 抗 염증에 미치는 실험적 연구

남상춘 · 강 희<sup>1</sup> · 심범상 · 김성훈<sup>2</sup> · 최승훈 · 안규석\*

경희대학교 한의과대학 병리학교실 · 한의학연구소, 1: BK21 경희대학교 한의과학사업단, 2: 암예방소재개발연구소

## Experimental Study on Anti-allergic and Anti-inflammatory Effects of Soeumin-Googwihyangso-san Methanol Extract in Vitro

Sang Choon Nam, Hee Kang<sup>1</sup>, Bumsang Shim, Sung Hoon Kim<sup>2</sup>, Seung Hoon Choi, Kyoo Seok Ahn\*

Department of Oriental Pathology, College of Oriental Medicine, Kyunghee University · Institute of Oriental Medicine.  
1: Brain Korea 21 Oriental Medical Science Center, 2: Cancer Preventive Material Development Research Center

Soeumin-Googwihyangso-san(SGGHSS) has been used for the prevention or treatment of Soeumin-allergic rhinitis. This study was performed to demonstrate anti-allergic and anti-inflammatory effects of SGGHSS methanol extract in HMC cell lines and activated mouse B cells and CD4+ T cells. SGGHSS inhibited the production of TNF- $\alpha$  in PMA plus A23187 activated HMC-1 cells but not that of IL-6, as measured by ELISA. SGGHSS inhibited the expression of CD23 and surface IgE in B cells as determined by flowcytometry. It also inhibited secretion of IFN- $\gamma$  and IgG1, the Th1 related IgG type, but increased that of IL-4 in anti-CD40 and IL-4 treated B cells as measured by ELISA. As for Th cell differentiation, SGGHSS did not much affect IL-4 or IFN- $\gamma$ . Taken together, our data showed that SGGHSS exerted an anti-inflammatory effect by inhibiting TNF- $\alpha$  in mast cells and has anti-allergic activity not via inhibition of CD4+ T cell, but via inhibition of B cells. These results suggest some evidence that SGGHSS can be applied to allergic disease.

Key words : SGGHSS, HMC-1, IL-4, B cell, Th cell

### 서 론

알러지성 鼻炎은 韓方에서 다루고 있는 鼻嚏 鼻飮 등과 유사한 개념이다<sup>1,2)</sup>. 알러지성 鼻炎은 즉시형 과민반응(anaphylaxis)의 대표적인 질환으로 체액성 면역 즉 혈청면역글로불린(IgE)의 이상반응에 의해서 발생한다. 알러지성 鼻炎은 코 점막에 분포되어 있는 비만세포(mast cell)의 표면에 부착되어 있는 IgE와 항원(antigen)이 반응하여 여러 종류의 cytokines 이 분비되면서 평활근의 수축, 점액의 증가 및 점막의 부종 등을 일으킴으로써 코막힘, 콧물, 재채기, 가려움 등의 증상을 유발하는 질환이다<sup>3)</sup>. 최근 급격한 대기오염과 식생활 패턴의 변화로 인하여 알러지성 鼻炎이 급격히 증가하고 있다<sup>4)</sup>.

韓醫學에서 질병을 일으키는 경로를 크게 3가지로 규정하고 있다. 첫째, 기후변화인 六淫이나 疫癘가 외부에서 침입하여 발

생하는 外感病. 둘째, 七情의 失調로 발생하는 七情傷, 過勞로 인한 勞傷, 음식물로 飲食傷 등 내부의 원인에 의해서 발생하는 內傷病. 셋째, 痰飲과 瘀血처럼 인체의 병리적 반응으로 痰飲과 瘀血이 발생하고 이들이 또 다른 질병을 유발한다. 이런 관점에서 본다면 알러지성 鼻炎은 邪氣가 인체의 외부에서 침입하여 발생하는 外感病에 가깝다<sup>5)</sup>.

알러지성 鼻炎에 대한 韓醫學의 연구도 활발히 일어나고 있다. 최근까지 臨床에서 鼻炎에 많이 활용되고 있는 防風通聖散의 실험적 연구<sup>6)</sup>, 鼻炎과 유사한 발병기전을 가진 喘息에 활용되고 있는 小青龍湯에 대한 임상적 연구도 보고되었고<sup>7)</sup>, 그 외에 실험적 연구로는 加味通竅湯<sup>8)</sup>, 補中益氣湯<sup>9)</sup>, 辛夷散<sup>10)</sup>, 麗澤通氣湯<sup>11)</sup> 三子養親湯<sup>12)</sup> 등 다양한 약물에 대한 抗 알레르기 연구가 있었다. 최근에는 알러지성 鼻炎에 대한 향기요법 연구<sup>13)</sup>도 진행되었다.

본 저자는 알러지성 鼻炎이 人體의 體表(膀胱經)가 아닌 呼吸器를 통하여 發病하며, 전염성은 없지만 환절기인 봄에 자주 발병하면서 비슷한 시기에 재발되며, 여러 사람이 서로 비슷한

\* 교신저자 : 안규석, 서울시 동대문구 회기동 1 경희대학교 한의과대학

· E-mail : ahnks@khu.ac.kr, · Tel : 02-961-0335

· 접수 : 2009/01/10 · 수정 : 2009/01/27 · 채택 : 2009/02/07

증상을 동반하는 특징에 着眼하여 알러지성 鼻炎을 溫病의 관점에서 접근해보기로 하였는데 알러지성 鼻炎을 溫病의 관점에서 연구한 자료는 드물었다<sup>14)</sup>. 韓方臨床에서 少陰人의 알러지성 鼻炎에 활용되는 少陰人 芎歸香蘇散은 李濟馬 先生의 東醫壽世保元 少陰人篇에 나온다. 芎歸香蘇散은 “香附子 二錢 蘇葉 川芎 當歸 蒼朮 陳皮 炙甘草 各一錢 蔥白五莖 薑三棗二”로 구성되어 있으며, 처방의 응용범위는 “太陽傷風 發熱惡寒而無汗者” 혹은 “運氣 不正之氣가 脾胃의 弱點을 타고 鬱結되는 모든 疾病”에 응용할 수 있다<sup>15,16)</sup>.

따라서 본 연구는 少陰人 芎歸香蘇散의 抗 알레르기 효능을 실험적으로 확인하고자 HMC-1과 생쥐의 B cell, CD4+ T cell을 대상으로 세포독성, 증식능을 MTT 방법을 이용하여 평가하고, 알레르기반응의 염증에 관련된 여러 cytokines 및 항체생산을 ELISA 방법을 이용하여 평가하였던 바 유의한 결과를 얻어 보고하는 바이다.

## 재료 및 방법

### 1. 재료

#### 1) 약재

少陰人 芎歸香蘇散(Soemin-Goongihyangso-san ; SGGHSS) 구성약물과 용량은 東醫壽世保元(辛丑本)에 따랐다<sup>14)</sup>. 이들 약물은 경희의료원 약제과에서 구입하였다.

Table 1. Composition and Dosage of Soemin-Goongwihyangso-san (少陰人 芎歸香蘇散: SGGHSS)

Chinese name	Herbal name	Dose(g)
香附子	<i>Cyperi rhizoma</i>	7.5
蘇葉	<i>Perilla folium</i>	3.75
川芎	<i>Cnidii rhizoma</i>	3.75
當歸	<i>Angelicae gigantis radix</i>	3.75
蒼朮	<i>Atractylodis rhizoma</i>	3.75
陳皮	<i>Citri pericarpium</i>	3.75
甘草(炙)	<i>Glycyrrhizae radix</i>	3.75
蔥白	<i>Allii radix</i>	3.75
生薑	<i>Zingiberis rhizoma</i>	3.75
大棗	<i>Jujubae fructus</i>	3.75
Total amount		41.25

#### 2) 동물

본 연구에 사용한 실험용 쥐는 생후 7주령의 BALB/c 수컷 마우스(오리엔트(주))를 사용하였으며, 항온 항습 상태에서 일주일간의 적응기간을 거친 후 실험에 이용하였다. 사료는 방사선 처리가 된 실험동물용 사료를 정도산업(주)에서 구입하였다. 음용수는 멸균 처리한 증류수를 사용하였다. 사료와 음용수는 제한 없이 제공하여 사육하였다.

#### 3) 세포

실험에 사용된 세포는 사람의 비만세포 계열인 human mast cell-1(HMC-1) 세포로써 10% Fetal bovine serum (FBS)와 1% antibiotic-antimycotic 가 함유된 Iscove's modified Dulbecco's media (IMDM) 배지를 사용하여 37℃, 5% CO<sub>2</sub> 배양기에서 배양

하였다.

#### 4) 배지 및 시약

FBS, antibiotic-antimycotic과 IMDM는 GIBCO에서 구입하였고 RPMI-1640는 WelGene에서 구입하였다. PMA, calcium ionophore A23187는 Sigma에서 구입하였다. MTS assay 용액(Celltiter 96 aqueous one solution reagent)은 Promega에서 구입하였으며 MACS mouse CD45R(B220) microbeads, MACS mouse CD4(L3T4) microbeads, MACS 세포분리 컬럼(LS column) 그리고 MACS Midi-separator는 Miltenyi Biotec에서 구입하였다. IL-2, IL-4, IFN- $\gamma$  측정용 Opt EIA set, anti mouse CD40 항체, anti-mouse CD3 $\epsilon$  항체, anti mouse CD28 항체, recombinant mouse interleukin-4(rmIL-4), rmIL-2, rmIL-12, anti-mouse IL-4 antibody (Ab), anti-IL-12 Ab, PE-anti-mouse CD23 Ab, Fluorescein isothiocyanate(FITC)-anti-mouse-CD45R/B220 Ab, FITC-anti-mouse IgE Ab 그리고 PE-anti-mouse CD45R/B220 Ab는 BD PharMingen에서 구입하였다. TNF- $\alpha$ 와 IL-6의 측정에 사용된 Duoset EIA kit는 R&D에서 구입하였다.

### 2. 방법

#### 1) 약재 추출물 제조

약재 추출은 두 첩 분량인 82.5 g의 SGGHSS 약재를 유리로 된 추출용기에 넣고 85% methanol을 충분히 잠기도록 넣고 하루 동안 상온에서 浸出한 후 sonicator(Elmasonic, Germany)를 사용, 50℃에서 1시간씩 2회 물리적 자극을 가하여 浸出을 촉진하여 시행하였다. 이 용액을 여과지로 여과한 후 rotary evaporator (Eyela, Japan)로 감압 증류 농축하여 얻은 농축액을 freezing dryer(Eyela, Japan)로 24시간 동결 건조하여 분말 상태에서 시료를 얻고 이것을 실험에 사용하였다(수율은 9.03%).

#### 2) HMC-1세포의 IL-6 와 TNF- $\alpha$ 측정

SGGHSS 메탄올 추출물의 항염증 효과를 보기 위하여 HHMC-1 세포를 24-well plate에 well 당  $5 \times 10^5$  개의 세포를 분주하여 24시간 배양한 후 PMA (20 nM)와 calcium ionophore A23187 (1  $\mu$ M)을 넣고 동시에 SGGHSS 메탄올 추출물을 각각 0, 1, 10, 100, 1000  $\mu$ g/ml의 농도로 처리한 후 8 시간 동안 37℃, 5% CO<sub>2</sub> 배양기에 배양하였다. 배양 종료된 배양액은 2000 rpm에서 5분간 원심분리 시행하여 세포를 제거하고 난 후 상등액을 회수하여 ELISA 측정에 사용하였다.

#### 3) 脾臟세포 부유액의 준비

脾臟을 BALB/c마우스에서 적출하여 10% FBS와 1% 항생제(antibiotic-antimycotic)가 함유된 RPMI-1640 배지로 세척한 후 micro slide glass의 거친 면을 이용하여 spleen을 잘게 으갠 뒤 0.40  $\mu$ m nylon cell strainer로 여과하여 脾臟세포를 분리하였다. 분리한 脾臟세포의 부유액은 300 g에서 10분간 원심분리한 후 그곳에서 발생한 세포 침전물에 함께 존재하는 적혈구를 제거하기 위하여 RBC lysis buffer를 처리하였다. 파괴된 적혈구를 비장 세포 부유액에서 완전히 제거하기 위하여 RPMI-1640 배지로 2회 세척하였다. 원심분리에 의해 최종적으로 얻은 비장 세포를 적당량의 RPMI-1640 배지에 현탁한 후 trypan blue exclusion

assay를 통해 생존을 확인과 함께 세포의 수량을 측정하였다.

4) B 세포(CD45R/B220) 또는 CD4 T cell의 분리

脾臟세포 중에서 B 세포를 분리하기 위하여 MACS mouse CD45R(B220) microbeads 또는 CD4(L3T4) microbeads를 사용하였다. 脾臟세포  $1 \times 10^7$ 개 당  $90 \mu\text{l}$ 의 완충용액(0.5% BSA-2 mM EDTA-PBS, pH 7.2)을 넣고 잘 현탁한 후  $1 \times 10^7$ cells/ $90 \mu\text{l}$  농도에  $10 \mu\text{l}$ 의 microbeads를 첨가하여  $4^\circ\text{C}$ 에서 15분간 반응시켰다. 반응 종료 후 반응액에 10~20배 부피의 완충용액을 넣고 300 g에서 10분간 원심분리한 후 상등액을 제거하여 얻은 침전물에  $500 \mu\text{l}$ 의 완충용액을 첨가하여 다시 현탁하였다. 세포 분리를 위해 MACS 세포분리 컬럼(LS column)을 MACS Midi-separator에 장착하여 준비한 뒤 앞서 준비된 세포 현탁액을 column 안으로 통과시켰다. 그 상태에서 3회 완충용액으로 컬럼을 세척하여 컬럼에 결합하지 않은 분획을 제거한 후 MACS 세포분리 컬럼(LS column)을 MACS Midi-separator로부터 분리시킨 뒤 컬럼 안에 남아있는 세포 분획은 피스톤을 사용하여 밖으로 밀어내어 분리하였다.

5) 배양 및 증식능(proliferation) 측정

세포의 증식능을 측정하기 위하여 96-well plate를 사용, 각 well 당  $4 \times 10^5$  개의 세포를 분주하고 SGGHSS 메탄올 추출물을  $50 \mu\text{g}/\text{ml}$ ,  $100 \mu\text{g}/\text{ml}$ ,  $200 \mu\text{g}/\text{ml}$ ,  $400 \mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 처리하였다. B 세포의 경우 약제 처리와 동시에 anti mouse CD40 항체 ( $3 \mu\text{g}/\text{ml}$ )와 rmlL-4 ( $10 \text{ ng}/\text{ml}$ )를 처리하여 72시간 배양하였고 CD4+ T 세포의 증식능을 측정하기 위하여 anti-mouse CD3e( $10 \mu\text{g}/\text{ml}$ )이 coating 된 96-well plate를 사용, 각 well 당  $4 \times 10^5$  개의 세포를 분주하고 SGGHSS 메탄올 추출물을 같은 농도로 처리하였다. 배양 후 MTS assay 용액을 well당  $20 \mu\text{l}$  씩 첨가하여  $37^\circ\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$  배양기에서 반응시키며 30분 간격으로 흡광도( $490\text{-}650 \text{ nm}$ )를 측정하였다. 반응시간은 총 4시간을 넘지 않도록 하여 종료하였다. 증식능은 SGGHSS 메탄올 추출물이 첨가되지 않은 대조군과 비교하여 백분율(%)로 환산하였다.

6) CD23과 surface IgE 발현분석

B 세포의 CD23 그리고 surface IgE의 발현을 분석하기 위하여 유세포형광분석방법(flow cytometry)을 사용하였다. 마우스의 비장으로부터 분리한 B 세포를 24 -well plate에 각 well 당  $1 \times 10^6$  개가 되도록 세포를 분주하고 SGGHSS 메탄올 추출물을  $50 \mu\text{g}/\text{ml}$ ,  $100 \mu\text{g}/\text{ml}$ ,  $200 \mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 처리하였다. 약제 처리와 동시에 anti mouse CD40 항체 ( $3 \mu\text{g}/\text{ml}$ )와 rmlL-4 ( $10 \text{ ng}/\text{ml}$ )를 처리하여 CD69의 경우 48시간, CD23과 membranous IgE의 경우 72 시간 동안  $37^\circ\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$  배양기에서 배양하였다. 유세포형광분석을 실시하기 위해서 배양한 B 세포를 완충액 (1% FBS-0.1% NaN<sub>3</sub>-PBS, pH 7.2)으로 2회 세척하고 각각 해당되는 형광물질로 염색하였다. CD23의 경우 PE-anti-mouse CD23과 FITC-anti-mouse-CD45R/B220으로 염색하였다. sIgE의 경우 FITC-anti-mouse IgE와 PE-anti-mouse CD45R/B220으로 염색하였다. 모든 염색 반응은 상온에서 30분간 시행하였다. 형광을 띠는 항체로 표시한 세포는 반응 종료 후 3회 이상 완충액으로 세척한 후 유세포형광분석기 (flow cytometer, Becton Dickinson,

U.S.A)로 측정하여 해당 세포에서의 membranous IgE, CD23(Fc e) 그리고 CD69의 발현을 분석하였다. 분석프로그램은 CellQuest 프로그램을 사용하였으며 결과는 CD23+/B220+, sIgE+/B220+의 백분율(%)로 산출하였다.

7) cytokine 및 IgG1 생산량 측정

B 세포가 분비하는 사이토카인과 IgG1을 측정하기 위해서 B 세포를 24 well plate에 각 well 당  $1 \times 10^6$ 개의 세포를 분주하였고, SGGHSS 메탄올 추출물을  $50 \mu\text{g}/\text{ml}$ ,  $100 \mu\text{g}/\text{ml}$ ,  $200 \mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 처리하였다. 약제 처리와 동시에 anti mouse CD40 항체 ( $3 \mu\text{g}/\text{ml}$ )와 rmlL-4( $10 \text{ ng}/\text{ml}$ )를 처리하여 IFN- $\gamma$ , IL-4, IgG1의 경우 72시간 배양, 배양이 종료된 배양액은 2000 rpm에서 5분간 원심분리 하여 세포를 제거하고 상등액을 회수하여 제조회사의 protocol에 따라 측정하였다.

8) In vitro Th1/Th2 polarization 및 IL-4, IFN- $\gamma$ , IL-2 생산량 측정

SGGHSS 메탄올 추출물이 in vitro 상에서 Th1/Th2 polarization에 미치는 영향을 보기 위하여 anti-mouse CD3e( $10 \mu\text{g}/\text{ml}$ )이 coating된 24-well plate에  $1.5 \times 10^6/\text{ml}$ 의 농도로 분주한 후 anti mouse CD28 항체( $2 \mu\text{g}/\text{ml}$ )와 rmlL-2( $5 \text{ ng}/\text{ml}$ )를 첨가하였다. Th1 polarization은 rmlL-12( $5 \text{ ng}/\text{ml}$ )과 anti mouse IL-4 ( $10 \mu\text{g}/\text{ml}$ )을 첨가하여 시행하였고 Th2 polarization은 rmlL-4 ( $5 \text{ ng}/\text{ml}$ )과 anti mouse IL-12 ( $10 \mu\text{g}/\text{ml}$ )을 첨가하여 시행하였다. 그리고 동시에 SGGHSS 메탄올 추출물을  $50 \mu\text{g}/\text{ml}$ ,  $100 \mu\text{g}/\text{ml}$ ,  $200 \mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 처리한 후  $37^\circ\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$  배양기에서 48시간 배양하였다. 배양 종료된 배양액은 2000 rpm에서 5분간 원심분리 하여 세포를 제거하고 상등액을 회수하여 Th1/Th2 세포로부터 생성된 IL-4, IFN- $\gamma$  및 IL-2의 정량을 위하여 ELISA 측정에서 사용하였다.

9) 통계분석

실험결과는 mean $\pm$ standard deviation 값으로 표시하였으며 통계적 유의성 검증은 Student's t-test를 이용하여 결정하였으며 유의확률(p-value) 값은 0.05미만인 경우에만 인정하였다.

## 결 과

1. SGGHSS 메탄올 추출물이 HMC-1의 IL-6 와 TNF- $\alpha$  생성에 미치는 영향

HMC-1 세포주가 분비하는 염증성 사이토카인을 측정하기 이전에 MTS solution으로 농도별로 처리하여 세포독성을 확인한 결과  $100 \mu\text{g}/\text{ml}$ 까지는 생존률에 변화가 없었다(data not shown). HMC-1세포에 PMA ( $20 \text{ nM}$ )와 calcium ionophore A23187 ( $1 \mu\text{M}$ )으로 염증 반응을 유도하고 동시에 SGGHSS 메탄올 추출물을 투여했을 때 항염증효과를 pro-inflammatory cytokines 인 IL-6와 TNF- $\alpha$ 의 양을 ELISA를 통해 비교함으로써 알아보았다. IL-6의 경우 SGGHSS의 모든 농도 범위에서 통계적으로 유의한 차이를 나타내지 않은 반면 TNF- $\alpha$ 의 경우 SGGHSS 메탄올 추출물을  $10 \mu\text{g}/\text{ml}$ 와  $100 \mu\text{g}/\text{ml}$ 으로 투여했을 때 통계적으로 유의한 차이를 보이며( $p=0.035$ 와  $p=0.008$ ) 감소하였다. 두

가지 pro-inflammatory cytokines의 ELISA 결과는 mean± SD 값으로 나타내어 Table 2에 정리하였다.

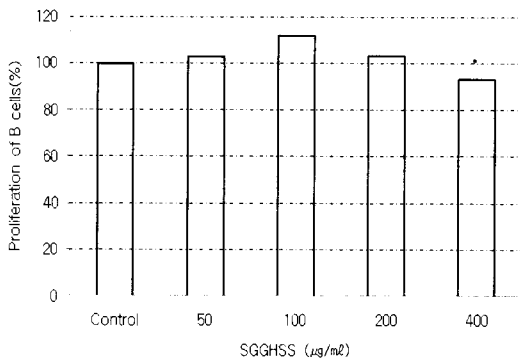
**Table 2. Effect of SGGHSS methanol extract on pro-inflammatory cytokines (IL-6 and TNF-α) secretion in HMC-1 cells**

SGGHSS (μg/ml)	IL-6 (pg/ml)	TNF-α (pg/ml)
0	959.31 ± 57.94	198.20 ± 7.92
1	920.42 ± 14.73	197.00 ± 2.83
10	910.69 ± 54.02	180.40 ± 1.41*
100	882.22 ± 11.79	177.00 ± 2.83*

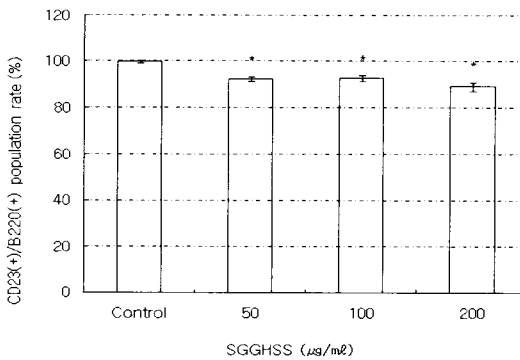
\*p < 0.05 compared with the control.

**2. 마우스 B cell의 SGGHSS 메탄올 추출물에 대한 증식능**

마우스 B 세포의 SGGHSS 메탄올 추출물에 대한 농도별 (0, 50, 100, 200, 400 μg/ml) 증식능(proliferation)을 측정한 결과 대조군에 비해 SGGHSS 메탄올 추출물 50, 100 μg/ml 농도까지 증가하는 경향을 나타내며 200 μg/ml 농도에서 증식능이 감소하여 400 μg/ml 농도에서는 대조군 수준으로 감소하였다(Fig. 1). 따라서 마우스 B 세포에 대한 면역실험에 있어서 SGGHSS 메탄올 추출물 적용 농도는 0, 50, 100, 200 μg/ml로 결정하였다.



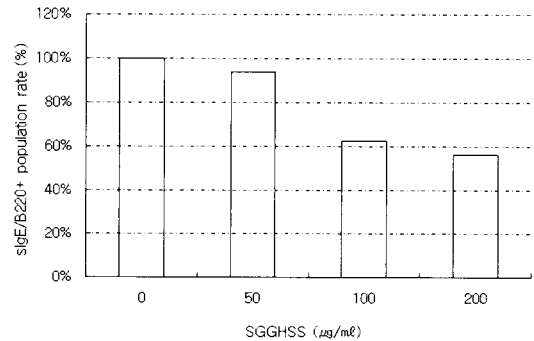
**Fig. 1. Effect of SGGHSS methanol extract on the cell proliferation in mouse splenic B cells.** Mouse splenic B cells ( $4 \times 10^5$  cells/well) were stimulated with anti mouse CD40 antibodies (3 μg/ml) and recombinant mouse IL-4 (10 ng/ml) with or without SGGHSS methanol extract for 72 hours as indicated concentrations. Proliferation was evaluated using the MTT assay. Statistically significant value compared to control data. (SD bars are too small to be seen.) (\*p < 0.05)



**Fig. 2. Percentage of CD23+ positive mouse splenic B cells.** Mouse splenic B cells ( $1 \times 10^5$  cells/well) were stimulated with anti mouse CD40 antibodies (3 μg/ml) and rIL-4 (10 ng/ml) with or without SGGHSS methanol extract for 72 hours as indicated concentrations. After incubation, the cells were harvested and assayed for CD23+/B220+ expression by flow cytometry. Statistically significant value compared to control data. (\*P<0.05)

**3. SGGHSS 메탄올 추출물이 마우스 B cell의 CD23과 surface IgE 발현에 미치는 영향**

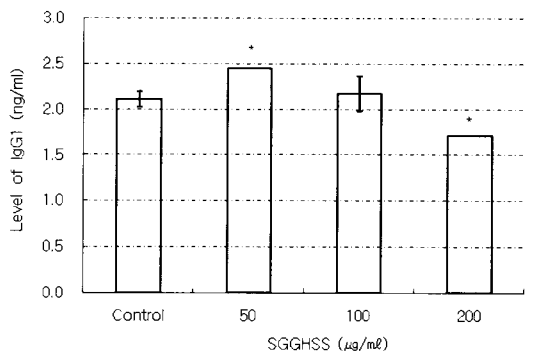
SGGHSS 메탄올 추출물이 마우스 B 세포의 CD23(low affinity IgE receptor) 그리고 surface IgE 발현에 미치는 영향을 유세포형광분석기를 사용하여 측정하였다. CD23은 약간 감소하였고 surface IgE는 농도의존적으로 감소하였으나 통계적인 유의성에 도달하지는 않았다(Fig. 2, 3).



**Fig. 3. Percentage of sIgE expression in mouse splenic B cells.** Mouse splenic B cells ( $1 \times 10^5$  cells/well) were stimulated with anti mouse CD40 antibodies (3 μg/ml) and rIL-4 (10 ng/ml) with or without SGGHSS methanol extract for 72 hours as indicated concentrations. After incubation, the cells were harvested and assayed for sIgE/B220+ expression by flow cytometry. One of three similar experiments is shown. (SD bars are too small to be seen.)

**4. SGGHSS 메탄올 추출물이 마우스 B cell의 IgG1, IL-4 및 IFN-γ 생성에 미치는 영향**

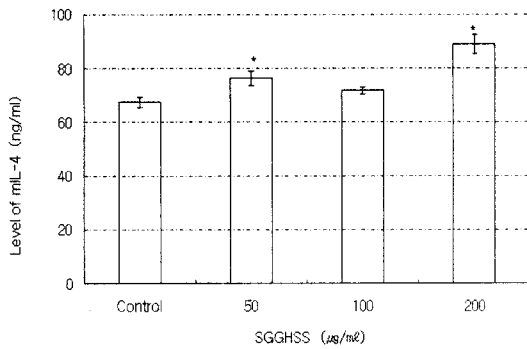
IgG1은 IgG subtype중 Th1 cytokine의 영향을 받는 항체이다. SGGHSS 메탄올 추출물이 마우스 B 세포의 IgG1 분비에 미치는 영향을 ELISA 기법으로 측정한 결과 대조군에 비해 50 μg/ml 농도에서 통계적으로 유의한 차이(p=0.0161)를 보이며 증가하였지만 100 μg/ml와 200 μg/ml 농도에서는 감소하는 경향을 나타내었다(Fig. 4).



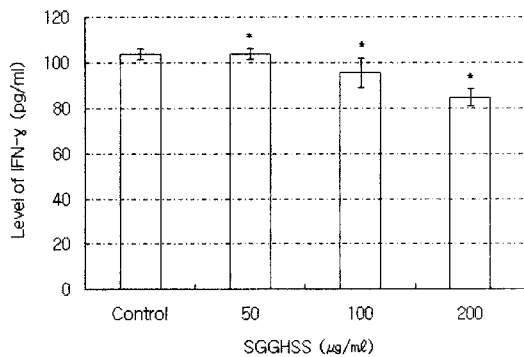
**Fig. 4. Effect of SGGHSS methanol extract on IgG1 secretion in mouse splenic B cells.** Mouse splenic B cells ( $1 \times 10^5$  cells/well) were stimulated with anti mouse CD40 antibodies (3 μg/ml) and rIL-4 (10 ng/ml) with or without SGGHSS methanol extract for 72 hours as indicated concentrations. IgG1 levels in cell culture supernatant were measured using the ELISA. Statistically significant value compared to control data. (\*P<0.05)

SGGHSS 메탄올 추출물이 마우스 B 세포가 분비하는 IL-4와 IFN-γ에 미치는 영향을 ELISA 기법으로 측정한 결과 IL-4의 경

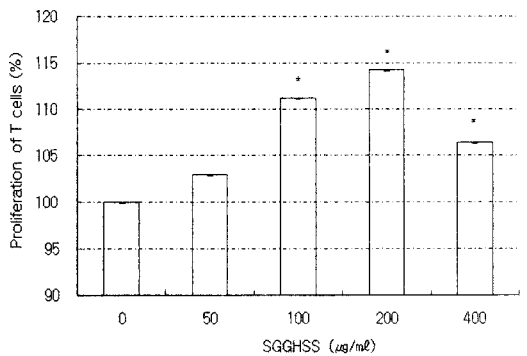
우 대조군에 비해 SGGHSS 메탄올 추출물 투여량이 증가할수록 통계적으로 유의한 차이를 보이며 증가하는 경향을 나타냈으며 IFN- $\gamma$ 의 경우 대조군에 비해 통계적으로 유의한 차이를 보이며 감소하는 경향을 나타내었다(Fig. 5, 6).



**Fig. 5. Effect of SGGHSS methanol extract on IL-4 secretion in mouse splenic B cells.** Mouse splenic B cells ( $1 \times 10^6$  cells/well) were stimulated with anti mouse CD40 antibodies ( $3 \mu\text{g/ml}$ ) and rIL-4 ( $10 \text{ ng/ml}$ ) with or without SGGHSS methanol extract for 72 hours as indicated concentrations. IL-4 levels in cell culture supernatant were measured using the ELISA. Statistically significant value compared to control data. (\*:  $P < 0.05$ )



**Fig. 6. Effect of SGGHSS methanol extract on IFN- $\gamma$  secretion in mouse splenic B cells.** Mouse splenic B cells ( $1 \times 10^6$  cells/well) were stimulated with anti mouse CD40 antibodies ( $3 \mu\text{g/ml}$ ) and rIL-4 ( $10 \text{ ng/ml}$ ) with or without SGGHSS methanol extract for 72 hours as indicated concentrations. IFN- $\gamma$  levels in cell culture supernatant were measured using the ELISA. Statistically significant value compared to control data. (\*:  $P < 0.05$ )



**Fig. 7. Effect of SGGHSS methanol extract on the cell proliferation in mouse splenic CD4+ T cells.** Mouse splenic CD4+ T cells ( $4 \times 10^5$  cells/well) were stimulated with plate-bound anti-mouse CD3 $\epsilon$  antibodies ( $10 \mu\text{g/ml}$ ) and anti-mouse CD28 antibodies ( $2 \mu\text{g/ml}$ ) with or without SGGHSS methanol extract for 48 hours as indicated concentrations. Proliferation was evaluated using the MTT assay. Statistically significant value compared to control data. (\*:  $p < 0.05$ )

5. CD4+ T cell의 SGGHSS 메탄올 추출물에 대한 증식능

마우스 CD4 T 세포를 분리하여 SGGHSS 메탄올 추출물을 농도별로 처리함과 동시에 anti-CD3와 anti-CD28로 48시간 자극하여 증식능을 측정된 결과 대조군에 비해 SGGHSS 메탄올 추출물 100, 200  $\mu\text{g/ml}$  농도에서 통계적으로 유의한 차이를 보이며 증가(각각  $p=0.0378$ 와  $p=0.0066$ )하고 400  $\mu\text{g/ml}$  농도에서 감소하는 경향을 나타내었다(Fig. 7).

6. Th1/Th2 분화 및 IL-4, IFN- $\gamma$ , IL-2 생성에 미치는 영향

CD4 T 세포를 Th1/Th2 polarization으로 분화하도록 만든 후 필요한 사이토카인과 항체를 처리한 후 동시에 SGGHSS 메탄올 추출물을 처리하였다. 72시간 후의 사이토카인을 ELISA를 통해 측정된 결과 Th1 세포에서는 IFN- $\gamma$ 의 분비량을 측정된 결과 SGGHSS 메탄올 추출물의 어떠한 농도 범위에서도 대조군에 비해 통계적으로 유의적인 차이를 나타내지 않았다(Table 2). Th2 세포에서는 대표적인 cytokine인 IL-4와 최근 Th2 분화에 영향을 주는 것으로 알려진 IL-2의 분비량을 측정하였다. Th2의 IL-4 분비량은 SGGHSS 메탄올 추출물 50, 100  $\mu\text{g/ml}$  농도에서 대조군과 차이를 보이지 않았으며 200  $\mu\text{g/ml}$  농도에서 약간의 감소를 보여주었다( $p=0.0262$ ). Th2의 IL-2 분비량은 SGGHSS 메탄올 추출물 50, 100  $\mu\text{g/ml}$  농도에서 통계적으로 유의한 차이를 보이며 증가(각각  $p=0.0184$ 와  $p=0.0150$ )하였으며 200  $\mu\text{g/ml}$  농도에서 대조군과 통계적으로 유의한 차이( $p=0.0001$ )를 보이며 급격히 감소하였다.

**Table 2. Effects of SGGHSS methanol extract on cytokine secretion in the differentiated Th1/Th 2 cells**

SGGHSS ( $\mu\text{g/ml}$ )	Th1 cell		Th2 cell	
	IFN- $\gamma$ (ng/ml)	IL-4(ng/ml)	IL-4(ng/ml)	IL-2(ng/ml)
0	457.87 $\pm$ 20.27	16.76 $\pm$ 0.26	28.00 $\pm$ 0.43	
50	474.03 $\pm$ 4.48	16.09 $\pm$ 0.32	29.54 $\pm$ 0.04*	
100	452.87 $\pm$ 6.60	16.52 $\pm$ 0.32	29.73 $\pm$ 0.08*	
200	454.53 $\pm$ 7.54	15.96 $\pm$ 0.06*	5.55 $\pm$ 0.16*	

\*:  $p < 0.05$  compared with the control.

고 찰

재채기, 水樣性 鼻漏, 鼻閉塞의 3가지를 알러지성 鼻炎의 3대 主症증상(triad)라 하며 이 중에서 2가지 이상의 증상을 가지고 있는 경우에도 알러지성 鼻炎을 의심할 수 있다. 그 외에도 비소양감, 후각감퇴, 두통 등이 있을 수 있다<sup>17)</sup>. 한의학에서 오래 전부터 사용하던 鼻嚏, 鼻嚏는 현재의 알러지성 鼻炎과 거의 흡사하다. 鼻嚏란 용어는 黃帝內經 靈樞에서 발견할 수 있을 정도로 오래전부터 사용된 개념이다. 黃帝內經 口問篇에서 “黃帝曰, 人之嚏者, 何氣 使然? 岐伯曰, 陽氣和利, 滿於心, 出於鼻, 故爲嚏. 補足太陽榮·眉本.”<sup>18)</sup> 알러지성 鼻炎에서 심하게 재채기를 하게 되는 기전까지도 자세하게 기술하고 있다. 또한 難經의 十六難에서 “假令得肺脈, 其外證, 面白, 善嚏, 悲愁不樂, 欲哭”<sup>19)</sup>이라고 하여 嚏는 肺病임을 밝히고 있다. 嚏嚏란 鼻孔內가 가려우면서 氣가 噴出할 때 소리를 내는 것을 말한다. 재채기는 알러지성 鼻炎이나 급성 鼻炎의 특징적인 증상이며 보통 水性鼻漏나 鼻閉塞

과 함께 온다.

鼻嚏, 鼻衄란 용어가 黃帝內經에 등장할 정도로 오래되었고 치료법 또한 다양하다. 鼻炎의 발생을 유발 병인과 장부의 기능을 연결시키면 크게 세가지 유형으로 구분된다. 첫째, 肺氣虛弱으로 感受風寒한 형이다. “肺主宣發 外合皮毛”함으로 肺와 皮毛의 생리기능이 風寒邪의 침습으로 병리변화가 일어나 鼻嚏와 같은 질환이 발생된다. 이때는 玉屏風散 合 蒼耳散을 응용한다. 둘째, 脾肺의 虛弱으로 肺의 肅降이 失調되고 脾의 運化가 失調되면 津液이 정체하여 寒濕이 鼻部에 응결되어 鼻炎이 발생한다. 이때는 小青龍湯, 補中益氣湯, 四君子湯을 응용한다. 셋째, 腎의 陽氣가 부족하면 寒水가 上泛하여 鼻流涕가 멈추지 않는다. 이때는 腎氣丸을 응용한다. 이외에도 임상에서 드물게 나타나지만 鼻衄의 병인을 火熱로 인식하는 경우도 있다. 素問 氣交變大論, 五常政大論, 六元正紀大論, 至真要大論과 金代 劉完素의 견해에 따르면 鼻衄의 병인 병리를 肺, 胃 二經의 火熱로 보고 있다. 즉 風熱에 感觸되거나 少陽, 少陰司天으로 大熱이 유행할 때, 胃內에 痰火와 積熱이 있을 때 鼻衄의 질환이 발생한다고 하였다<sup>20,21</sup>). 최근까지 鼻炎에 대한 韓方의 연구 성과들도 앞의 범주에 속하는 약물들에 대한 연구가 주로 이루어졌다. 하지만 鼻炎을 溫病의 관점에서 연구한 자료는 드물었다.

韓醫學에서는 인체 질병을 유발하는 병인을 크게 外因, 內因, 不內外因 세 가지로 분류 짓는 주지의 사실이다. 外感病은 외부의 기후변화에 해당하는 六氣인 風 寒 暑 濕 燥 火의 邪氣를 感受함으로써 질병이 유발된다. 하지만 外因에 의해서 질병이 유발되더라도 六氣의 특성에 따라 인체에서 일어나는 병리적인 반응은 陰陽처럼 확연히 구별된다. 風寒의 차가운 邪氣에 感受되면 인체의 陽氣를 傷하여 惡寒은 甚하지만 發熱은 미약한 傷寒病으로 나타난다. 하지만 燥火와 같은 溫熱의 邪氣는 인체의 陰氣를 傷하여 惡寒은 微弱하지만 發熱과 渴症이 발생하는 溫病으로 나타난다. 치료법도 또한 완연히 달라서 傷寒病에는 辛溫한 약물로 發汗하여 치료하고, 溫病에는 邪氣가 衛分에 머물러 있는 輕症에는 辛涼한 약물로 解表하고, 邪氣가 氣分에 머물러 있는 重症에는 養陰清熱하는 치료법을 사용한다<sup>9</sup>).

韓醫學에서 溫病이 傷寒病과 대등한 위치에 오르기까지 오랜 기간이 소요되었다. 溫病의 形成과정을 간략히 살펴보겠다. 溫病을 처음 기록한 春秋左氏傳에 의하면 “水旱癘疫之災, 于是乎禱之”라 하여 처음에는 溫病을 하늘에서 내린 벌로 생각하여 하늘에 제사를 지냈다. 秦漢시대에 등장한 黃帝內經에서는 여러 편에서 다양한 종류의 溫病에 대하여 언급하고 있다. 특히 溫病을 전파시키는 病原은 尸氣, 毒氣이며 이것은 지극히 강렬한 病邪로서 그 감염경로를 “天牝”을 따라 들어온다고 보았다. 天牝이란 鼻를 지칭하는 것으로 天氣를 鼻를 통하여 호흡함으로써 침입하여 溫病이 발생한다고 보았다. 傷寒論에서 주장하는 ‘邪氣가 肌膚로 入하는 것과는 매우 다르다. 이러한 內經의 근거는 明代의 吳又可와 清代의 葉天士가 주장한 溫病은 “口鼻而入”하여 발병한다는 주장의 근거가 되었다<sup>14</sup>). 金代의 劉完素는 素問 熱論에 근거하여 六經傳變이 모두 熱證이라 주장하고, 治療에는 表裏雙解, 養陰退熱法을 제창하고 防風通聖散, 黃連解毒湯을 상용하였다.

특히 解表의 방법으로 辛涼한 약물을 사용했다. 明代에 吳又可는 최초의 溫病 전문서적인 溫疫論을 저술하였다. 특히 雜氣論에서 雜氣는 인체의 口鼻로부터 入하여 發病하여 傳染性과 流行性이 있으며, 또한 特異性이 있으나 즉 ‘某種의 雜氣는 某種의 溫病을 發生시킨다’라고 주장하였다. 清代의 葉天士는 溫病의 이론체계 형성에 많은 공헌을 하였다. 그의 주장을 네 가지로 요약하면, 溫病은 인체의 상부인 肺를 먼저 침범한다. 衛氣營血의 辨證을 세웠고, 또한 舌診, 驗齒, 辨斑疹 등 溫病의 진단법을 발전시켰다. 溫病治療에서도 解表, 清氣, 涼血散血 등을 제시하였다. 이후에 吳鞠通은 溫病條辨을 저술하여 溫病에서 나타나는 諸證을 三焦로 分類하였고, 아울러 치료에서도 清絡, 清營, 育陰 등 三法을 제시하여 溫病治療의 大法를 완성하였다. 이로서 溫病의 病因, 病機, 診斷, 治療의 이론체계를 확립하였다<sup>14</sup>).

요약하면 溫病은 傷寒病과 구별되는 다음과 같은 병리적 특징이 있다. 첫째, 病因이 다르다. 風寒의 邪氣로 발생하는 傷寒病과 달리 溫病은 溫邪로서 발병한다. 또한 溫病은 一種의 外感病으로써 內傷病과 구별된다. 溫疫論에서는 “溫邪上受, 首先犯肺”라고 하여 溫病은 인체를 침입할 때 인체의 제일 상부인 肺를 먼저 침범한다. 둘째, 傳染性, 流行性이 있다. 대표적으로 급성전염병과 감염성열성질환이며 이는 일반적인 溫病과 달리 疫癘라고 한다. 王淑和의 표현대로 “天行之病, 大則流毒天下, 次則一方, 次則一鄉, 次則偏著一家” 광범위하게 신속히 전파된다. 셋째, 季節性, 地域性이 있다. 風溫은 다른 계절보다 봄에 많이 발생하고, 暑溫은 다른 계절보다 여름에 많이 발생하는 특징은 잘 알려져 있다. 지역적 특징을 가진 대표적인 예로 瘧癘이 광동성, 광서성과 같이 濕한 지역에서 많이 발생하고 건조한 지역에서는 드물다. 넷째, 傳變이 빠르다. 溫病은 발생도 빠르고 변화도 많다. 일반적으로 由表入裏하지만 裏熱이 먼저 나타나거나, 表裏同病이 발생하기도 한다. 다섯째, 독특한 병리변화가 나타난다. 즉 溫邪는 먼저 衛分이나 上焦로 침입하여 病程이 진행될수록 血分과 下焦로 진행하여 津液이 점점 마르고, 덩달아 陽氣도 亡하게 된다. 이런 독특한 병리변화로 인하여 衛氣營血辨證과 三焦辨證이 출현하는 계기가 되었다<sup>22,23</sup>). 서양의학에서는 알레르기 鼻炎의 유발 항원으로 꽃가루(pollen)나 집먼지 진드기의 분비물을 들고 있다. 이들 allergen을 공기를 통해서 호흡기로 흡입함으로써 상기도 점막을 자극하여 심한 재채기, 콧물, 가려운 증상이 나타난다. 이 외에도 심해지면 구개소양감, 코피, 두통, 권태감 및 눈의 가려운 증상 등 다양하다. 특히 사시사철 나타나는 통년성 알레르기 鼻炎은 주요 원인은 집먼지 진드기로 알려져 있고, 계절적으로 심해지는 알레르기 鼻炎의 제일 흔한 유발 원인은 꽃가루이다.

알레르기 鼻炎의 이런 특징을 유추해본다면, 韓醫學의 관점에서 알레르기 鼻炎은 內傷病이라기보다는 외부의 邪氣에 感受되어서 발생하는 일종의 外感病이다. 그 중에서도 傷寒病이라기보다는 溫病에 가깝다. 근거로 첫째, 傷寒病은 외부의 邪氣가 인체의 體表(膀胱經)를 통하여 인체로 침입하여 발병하지만, 溫病은 외부의 邪氣(allergen)를 호흡기로 흡입함으로써 발병한다. 둘째, 傷寒病은 風寒의 邪氣가 강해지는 추운 겨울에 많이 발생하지만, 溫病은 겨울철에 몸의 精氣를 갈무리하지 못한 상태에서

기온차가 심해지는 환절기인 봄철에 많이 발생하는 특징이 있다. 셋째, 꽃가루 알레르기처럼 매년 일정한 시기에 반복적으로 재발한다. 넷째, 알레르기 鼻炎에 이환된 환자들의 증상이 서로 비슷하여 콧물 재채기 코막힘 가려움 등 일정한 패턴을 가진다<sup>24,25</sup>. 또한 환경적 요인으로 최근 급격히 진행되고 있는 지구의 온난화는 기후변화인 六氣 중에서 風寒의 邪氣보다 溫熱의 邪氣로 인한 질병이 더 발생할 수 있음을 의미한다. 溫病 전문서적이랄 만한 溫病條辨의 저자인 清대의 의학자 吳鞠通은 “天下之病, 熱有多於溫病者乎?”라고 할 정도로 최근 溫病의 발생 빈도는 점점 증가하고 있다<sup>26</sup>.

芎歸香蘇散은 東醫壽世保元 少陰人篇에 등장하는데 危亦林 得效方의 香蘇散에 當歸 川芎을 가한 處方이다. 香蘇散의 구성을 살펴보면 “香附子 二錢 蘇葉 蒼朮 陳皮 灸甘草 一錢 蔥白 五莖 薑三棗二” 되어 있다. 危亦林은 四時不正之氣가 鬱結함으로써 이루어지는 溫疫을 치료할 目的으로 香蘇散을 만들었다. 傷寒은 自外之內 하지만 溫疫과 같은 久留之邪는 自內之外하므로 開內鬱而利肺下氣하는 길로 邪를 驅逐하려고 香附子 蘇葉 蒼朮 陳皮로써 內外開鬱하게 하였다. 여기에 當歸와 川芎을 가한 까닭은 少陰人은 脾火가 항상 不足하여 一身의 생명인 皮(血)가 항상 凝固하면서 모든 病을 이루는 疔病의 如何를 莫論하고 少陰人의 경우에는 皮의 生化作用에 도와야 하기 때문이다. 그래서 血中氣藥인 當歸와 川芎을 가하여 肝肺心의 化血, 行血作用을 도왔다. 그러므로 芎歸香蘇散은 溫疫에만 拘碍될 것이 아니라 運氣 不正之氣가 脾胃의 弱點을 타고 鬱結되는 모든 疾病에 응용할 수 있다<sup>16</sup>.

즉시형 과민반응(anaphylaxis)의 대표적인 질환인 鼻炎(Rhinitis)과 喘息(Asthma)은 알레르기를 유발하는 allergen을 호흡을 통하여 흡입함으로써 발생한다. 즉시형 과민반응의 전형적인 단계는 항원에 노출되면 항원에 특이 Th2 세포의 활성화가 이루어지고, 이어서 B cell에서 IgE를 생산, 비만세포의 FcεRI 수용체에 IgE 결합, 항원의 재차 노출에 의한 비만세포의 자극, 이 결과에 의한 비만세포의 매개자 방출을 하는데, 그 결과로 鼻炎에서 흔히 볼 수 있는 심한 소양감과 재채기 비강통로를 폐쇄할 정도의 국소적인 부종, 전형적인 호산구가 풍부한 콧물 그리고 히스타민 분비에 의한 코의 염증으로 나타난다<sup>27-30</sup>.

비만세포(Mast cell)는 골수에서 유래되며 신체 내부의 표면에 있는 점막과 상피조직에 다량 분포하고 있다. 항원에 의해 비만세포가 활성화 되면 백혈구의 혈관 외 유주를 유도하여 염증 반응을 일으키게 된다. 이 염증반응에 주로 관여하는 cytokines 이 TNF-α와 IL-6이다. 이 두 지표의 감소는 인체 내의 알레르기 반응을 유도하는 염증반응의 감소를 의미한다. HMC-1 세포주에 PMA 와 calcium ionophore A23187 로 염증 반응을 유도하고, 이때 SGGHSS 메탄을 추출물을 농도별로 투여하여 IL-6와 TNF-α의 양을 ELISA를 통해 측정하였다. IL-6의 경우 SGGHSS의 모든 농도 범위에서 통계적으로 유의한 차이를 나타내지 않은 반면, TNF-α의 경우 SGGHSS 메탄을 추출물을 10 μg/ml와 100 μg/ml로 투여했을 때 통계적으로 유의한 차이를 보이며 감소하였다.

IgE를 분비하여 체액성 면역을 담당하는 B cell의 활성화는

여러 과정을 거친다. CD23(Fcε)가 증가한다는 것은 IgE와 결합하기 위한 receptor를 가진 B cell의 증가를 의미한다. 즉 알레르기 반응을 유도하는 IgE의 생산을 증가시키기 위한 전단계에 와 있다는 의미이다. 그리고 surface IgE 또는 membranous IgE가 많다는 것은 surface IgE의 항원을 인식하여 IgE를 분비하는 B cell이 그만큼 활성화되었다는 의미이다. 이 지표들이 SGGHSS 추출물 투여로 감소하는 것이 抗 알레르기 효능을 확인하는 것이다<sup>29,30</sup>. SGGHSS 메탄을 추출물의 마우스 B 세포에 대한 증식능 실험에서는 100 μg/ml까지 증가하다가 200 μg/ml에서 감소하여 400 μg/ml에서는 대조군과 비슷하게 유지되어서 실험에 사용한 농도를 200 μg/ml까지로 제한하였다. 그리고 마우스 B 세포의 CD23, membranous IgE 발현에 미치는 영향을 flow cytometry로 측정한 결과 CD23에서는 모든 투여량에서 대조군에 비해서 통계적으로 유의하게 감소하였다. surface IgE의 발현도 50 μg/ml에서 감소하기 시작하여 100, 200 μg/ml농도에서는 40%정도 감소하였다.

B 세포가 분비하는 IgG1, IL-4 및 IFN-γ를 SGGHSS 메탄을 추출물을 용량을 달리하여 투여하고 ELISA 방법으로 분비량을 측정된 결과 IgG1는 50 μg/ml에서 약간 증가세를 보이다 100, 200 μg/ml에서는 감소하였다. IL-4의 경우 대조군에 비해 SGGHSS 메탄을 추출물 투여량이 증가할수록 유의한 차이를 보이며 증가하는 경향을 나타냈으며, IFN-γ의 경우 대조군에 비해 유의하게 감소하였다. IL-4는 IFN-γ의 큰포식세포 활성화 효과를 길항해서 세포매개 면역반응을 저해한다고 알려져 있다<sup>29</sup>. SGGHSS의 메탄을 추출물이 마우스 B 세포의 CD69, CD23, membranous IgE 발현을 유의하게 억제하였고, IgG1 분비도 고농도에서 완만하게 감소시켰지만, IL-4는 오히려 증가하는 경향을 보였다. 또한 IL-4와 서로 길항작용을 한다고 알려진 cytokine인 IFN-γ은 오히려 감소하는 경향을 보였다.

수지상세포에 의해 CD4+ T cell이 활성화가 되면 주변에 존재하는 cytokine 종류에 따라 Th1, Th2 cell 중 하나로 분화한다. 즉 IL-12가 주변에 많이 존재하면 Th1 cell로 분화하여 IFN-γ를 분비해서 세포성 면역반응을 담당하고, 주변에 IL-4가 많이 존재하면 Th2 cell로 분화해서 IL-4, IL-5, IL-9, IL-10, IL-13을 주로 분비하여 체액성 면역반응에 관여한다<sup>28,29</sup>. 鼻炎이나 喘息과 같은 즉시형 과민반응은 Th1 보다 Th2의 활성화에 의존적이다. 따라서 Th2 반응을 하향 조절하여 호산구의 증가, IgE의 생성을 억제하는 것이 약물의 抗 알레르기 효능을 검증하는 것이다. 또한 Th1 cell에서는 IFN-γ을 분비하고 Th2 cell에서는IL-4를 분비하는데 이들 cytokine 은 서로 길항해서 세포매개 면역반응을 하는 것으로 알려져 있다<sup>31-34</sup>. IL-2은 CD4+ T cell에서 생성되며 CD8+ T cell에서도 생성된다. IL-2의 생성은 일시적이며 분비는 자극 후 8-12시간에 최고조에 달한다. 최근에는 Th2 cell에도 영향을 주는 것으로 알려지고 있다.

SGGHSS 추출물을 anti-CD3 antibody와 anti-CD28 antibody로 활성화된 CD4+ T cell에 투여한 결과 100, 200 μg/ml 농도에서 유의한 증가를 보였다. 그러나 CD4+ T cell을 인위적으로 polarization 환경에 배양했을 때 Th1 cell에서 분비되는 IFN-

γ의 분비나 Th2 cell에서 분비되는 IL-4에는 별다른 영향을 보이지 않았으며 다만 고농도인 200 μg/ml에서 약한 감소를 보였다. 하지만 IL-2의 분비량은 50, 100 μg/ml 농도에서 약한 증가를 보이다 200 μg/ml 농도에서는 크게 감소하였다.

이러한 실험결과는 SGGHSS 추출물이 mouse의 비장세포의 B cell의 활성을 일부 유의하게 억제하는 사실은 알 수 있었지만, CD4+ T cell의 활성은 효과적으로 억제하지 못한다는 사실을 확인할 수 있었다. 韓方臨床에서 少陰人의 알레르기성 鼻炎에 일정한 효과가 있다고 인정되는 少陰人 芎歸香蘇散(SGGHSS)의 작용기전은 CD4+ T cell의 역할을 억제하기보다는 알레르기 반응과 직접적인 관련이 있는 비만세포와 B cell의 활성을 유의하게 억제함으로써 작용한다고 추측할 수 있다. 또한 최근 Th2 cell의 작용과 관련 있다고 알려진 IL-2의 분비량이 비교적 고농도인 200 μg/ml에서는 급격히 감소한 것은 추후 연구가 더 필요할 것이다.

## 결 론

少陰人 芎歸香蘇散(SGGHSS) 메탄을 추출물이 항 알레르기 및 항 염증에 미치는 영향을 실험적으로 입증하기 위하여 생쥐의 B cell, CD4+ T cell을 대상으로 세포독성, 증식능을 MTT 방법을 이용하여 평가하고, 알레르기반응의 염증에 관련된 여러 cytokines을 ELISA 방법을 이용하여 평가하였던 바 다음과 같은 결론을 얻었다.

少陰人 芎歸香蘇散의 메탄을 추출물은 PMA와 calcium ionophore A23187로 자극하여 HMC-1에서 분비되는 pro-inflammatory cytokines인 IL-6는 효과적으로 감소시키지 못하였지만, TNF-α는 10, 100 μg/ml 농도에서 10.7% 감소시켰다. 少陰人 芎歸香蘇散의 메탄을 추출물은 mouse의 B cell을 이용한 증식능 실험에서는 100 μg/ml 농도에서 B cell을 약 20% 정도 증가시켰다. 상기 추출물은 anti-CD40과 IL-4로 자극한 B cell의 CD23의 발현은 억제시켰지만 통계적으로 유의하지는 않았고, 다만 membranous IgE 발현은 효과적으로 억제하였다. 少陰人 芎歸香蘇散의 메탄을 추출물을 anti-CD40과 IL-4로 자극한 B cell에 투여한 후 IgG1, IL-4, IFN-γ의 분비량을 ELISA 분석을 통하여 측정된 결과, IgG1의 분비량은 50 μg/ml에서 조금 증가하였지만 이후 점차 감소하여 100 μg/ml에서 대조군과 비슷하게 유지되었고, 200 μg/ml에서는 대조군보다 19% 감소하였다. IL-4의 분비량은 추출물의 농도가 증가함에 따라 조금씩 증가하는 경향을 보이고, IL-4와 길항작용이 있다고 알려진 IFN-γ 분비량은 추출물의 농도가 증가함에 따라 조금씩 감소하는 경향을 보였다. 少陰人 芎歸香蘇散의 메탄을 추출물은 mouse의 CD4+ cell의 증식능을 MTT방법으로 측정해본 바 추출물의 농도가 증가할 수록 잘 증식되었다. 그리고 CD4+ cell의 Th1 cell로의 분화와 관련된 IFN-γ은 상기 추출물을 투여로 분비량은 거의 변동이 없었다. CD4+ T cell의 Th2 cell로의 분화와 관련된 IL-4는 추출물의 비교적 고농도인 200 μg/ml에서 조금 감소하였고, IL-2는 50, 100 μg/ml에서는 조금씩 증가하다가 고농도인 200 μg/ml에

서 대조군에 비해 80%정도 감소하였다.

이상의 결과로 臨床에서 알레르기 鼻炎에 多用하는 少陰人 芎歸香蘇散(SGGHSS)의 항 알레르기의 효능은 CD4+ T cell의 활성을 억제하기보다는, 직접적으로 비만세포와 B cell의 활성을 유의하게 억제함으로써 가능하다고 사료된다.

## 참고문헌

1. 蔡炳允. 韓方眼耳鼻咽喉科學. 서울, 集文堂, pp 245-251, 1991.
2. 서흥경. 實用中醫耳鼻咽喉科學. 人民衛生出版社, pp 194-198, 1986.
3. 정규만. 알레르기와 韓方. 서울, 제일로, pp 17-26, 1993.
4. 편복양. 알레르기疾患의 早期豫防. 서울, 알레르기, 14(1):3-9, 1993.
5. 전국한의과대학 병리학교실 編. 한방병리학. 서울, 一中社, pp 19-95, 423-427, 2004.
6. 김희정. 알러지성 비염 병태 모델에 대한 防風通聖散의 항알러지 효과. 경희대학교 대학원, 석사학위논문, 2006.
7. 황우석 외 5명. 小青龍湯으로 호전된 전식을 동반하는 만성 부비동염 2례. 대한한의학회지 24(1):207-212, 2003.
8. 정동욱, 채병윤. 加味通竅湯이 생쥐의 면역반응에 미치는 영향. 대한한의학회지 10(1):9-106, 1989.
9. 정동욱, 채병윤. 補中益氣湯과 그 加味方이 항알레르기 및 항균작용에 미치는 영향. 경희한의대논문집, 20: 441-461, 1999.
10. 정동욱, 채병윤. 辛夷散과 辛夷散加味方の 항알레르기 효과에 대한 실험적 연구. 동의학회지 3(1):31-47, 1999.
11. 박진구, 채병윤. 麗澤通氣湯과 麗澤通氣湯加味方の 항알레르기 효과에 대한 실험적 연구. 동의학회지 5(1):76-97, 2001.
12. 박중수 외 7인. 三子養親湯 물 抽出物이 Th1/Th2 분화 및 알레르기 염증 반응 조절에 미치는 영향. 동의생리병리학회지 20(3):548-556, 2006.
13. 구영희, 최인화. 桉葉油의 흡입이 알레르기성 비염 동물모델의 비염 치료에 미치는 영향. 대한한의학회지 25(1):40-48, 2004.
14. 崔三燮, 朴贊國 編著. 溫病學. 서울, 成輔社, pp 24-32, 1989.
15. 洪淳用, 李乙浩. 四象醫學原論. 서울, 杏林出版, pp 229-230, 1989.
16. 韓東錫. 東醫壽世保元註釋. 서울, 誠理會出版社, pp 187-188, 1967.
17. 민양기. 임상비과학. 서울, 일조각, pp 229-246, 2001.
18. 권건혁 편집. 編輯黃帝內經. 서울, 반룡, pp 346-348, 2005.
19. 吳損村 編著. 難經本義, 中華民國. 世一書局印行, pp 45-48, 1988.
20. 우수현, 김창환. 알레르기 비염의 韓方치료에 대한 고찰. 대한한의학회지 27(1):155-164, 2006.
21. 왕덕감 주편. 中醫耳鼻咽喉科學. 北京, 人民衛生出版社, pp 144-151, 1991.
22. 孟澍江 외 2인. 溫病學. 北京, 人民衛生出版社, pp 19-28, 1995.
23. 呂明進 編著. 溫病學. 臺北市, 正中書局印行, pp 3-9, 1987.
24. James B. Wyngaarden, Lloyd H. Smith, Jr. Cecil Textbook of medicine(17th). Philadelphia, pp 1867-1870. 1985.
25. 대한병리학회. 병리학(4th). 서울, 고문사, pp 134-138, 2000.



26. 정창현 역. 국역은병조변. 서울, 집문당, pp 35-38, 87-90, 2004.
27. 김선영 외 13명. 면역학. 서울, 라이프사이언스, pp 140-173, 323-324, 2006.
28. 盧寬澤 編著. 耳鼻咽喉科學. 서울, 일조각, pp 204-208, 1999.
29. 강재성 외 31명. 세포분자면역학. 서울, 범문사, pp 260-271, 432-452, 2005.
30. 김태규 외 10인 번역. 면역생물학. 서울, 라이프사이언스(5th), pp 493-509, 2002.
31. 하대유 외 25인. 그림으로 본 면역학. 서울, 고문사, pp 12-45, 1994.
32. Barnes, P.J., Lim, S. Inhibitory cytokines in asthma, *Mol Med Today* 4(10):452-458, 1988.
33. 신상우 외 6인. 보습약인 사삼 맥문동 석곡 옥죽 황정의 면역 조절 효과 비교. *동의생리병리학회지* 21(2):414-424, 2007.
34. Tae-young Shin 외 11명. Anti-allergic effects of *Lycopus lucidus* on mast cell-mediated allergy model. *Toxicology and Applied Pharmacology* 209: 255-262, 2005.