

清血地黃湯이 Phenylhydrazine으로 유발한 용혈성 빈혈 흰쥐에 미치는 영향

양형주, 우홍정

경희대학교 한의과대학 간계내과학교실

Effects of *Chunghyuljihwang-tang* on Phenylhydrazine-induced Hemolytic Anemia in Rats

Hyeong-ju Yang, Hong-jung Woo

Department of Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Kyung Hee University

Objectives: This study was performed in order to investigate the anti-hemolytic effect of *Chunghyuljihwang-tang* (CHJHT, *Qingxuedihuang-tang*) on phenylhydrazine-induced hemolytic anemia in Rats.

Materials and Methods: Hemolytic anemia model of rats were induced by phenylhydrazine(PHZ, 40mg/kg/day, i.p.) for 3days. Male Sprague-Dawley rats were divided into three groups for their treatment. Normal group was injected normal saline for 3 days with distilled water(d.w.) orally, control group was injected PHZ for 3 days with d.w. and CHJHT group was injected PHZ for 3 days with administration of CHJHT for 10 days. RBC(Red blood cell), Hb (hemoglobin), mean corpuscular volume, mean corpuscular hemoglobin, mean corpuscular hemoglobin concentration, reticulocyte were determined on day 0, 4, 7, 10. Body weight was investigated on day 0, 2, 4, 6, 8, 10 and the weight of spleen was measured on day 10.

Results: For CHJHT group, the levels of RBC and Hb were significantly higher than control group on day 4, and the concentration of hemoglobin on day 7 was increased more than control group. Moreover, reticulocyte was significantly decreased on day 10 more than control group. These results could be concluded that CHJHT suppressed the hemolytic anemia by PHZ and improved hematological values of anemia earlier.

Key Words : *Chunghyuljihwang-tang*, hemolytic anemia, phenylhydrazine

緒論

빈혈은 임상에서 빈번히 관찰되는 소견 중의 한 가지로서, 순환 혈액 내의 적혈구수(RBC), 혈색소량(hemoglobin), 혹은 적혈구용적률(hematocrit)이 정상 이하로 감소되어 조직 내 산소요구량을 충족시키지 못하여 여러 가지 증상을 야기하게 된다^{1,2)}. 용혈

성 빈혈은 적혈구가 말초혈액 내에서 약 120일 정도의 정상적 수명을 다하기 전에 파괴되어 일어나는 질환으로서³⁾, 골수의 생산능력이 적혈구 파괴 속도를 따라가지 못하여 빈혈이 발생하게 된다⁴⁾.

清血地黃湯은 涼血, 清血의 요약인 犀角地黃湯(『醫方集解』에서 犀角 대신 升麻를 가하고 止血작용이 있는 大蓟, 鬱金, 側柏葉과 上中焦之火를 瀉하

• Received : 8 December 2010 • Revised : 11 January 2011 • Accepted : 12 January 2011
• Correspondence to : 우홍정(Hong-Jung Woo)
서울시 동대문구 회기동 1번지 경희의료원 한방병원 간계내과학교실(130-702)
Tel : +82-2-958-9118, Fax : +82-2-958-9258, E-mail : hjwoo@khu.ac.kr

는 黃芩, 上焦之火를 瀉하는 黃連 및 引血歸經하는 當歸를 가한 처방으로 각종 출혈증에 광범하게 사용되는 처방이다. 용혈성 빈혈은 한의학적으로 脾氣虛弱과 氣血兩虛 陰虛血熱型으로 변증할 수 있는데, 淸血地黃湯은 陰虛血熱型에 사용되는 가장 대표적인 처방이다⁵⁾.

Phenylhydrazine(이하 PHZ)은 적혈구 막을 손상시켜 용혈성 빈혈을 유발하며⁶⁾, 과거에는 적혈구 증가증에서 사용되었을 만큼 강력한 적혈구 감소를 유발할 수 있다⁷⁻⁸⁾. PHZ으로 용혈성 빈혈을 유발한 후 빈혈의 회복에 대한 효과나 조혈작용에 대해 살펴본 다수의 보고가 있으나⁹⁻¹⁴⁾, 용혈성 빈혈 유발의 억제 효과를 함께 살펴본 보고는 거의 없으며, 淸血地黃湯의 효능에 관한 실험적 연구 또한 부족한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 淸血地黃湯의 용혈성 빈혈 유발 억제효과 및 빈혈 회복 효과를 살펴보기 위하여, 흰쥐에 PHZ를 이용한 용혈성 빈혈 모델을 적용하여, 혈액학적 소견과 체중, 비장의 변화를 살펴보았다.

方法

1. 재료

1) 동물 및 사육조건

실험 동물은 체중 300g(9주) 전후의 Sprague-

Dawley 수컷 흰쥐((주)샘타코)를 사용하였다. 실험 동물은 멸균한 polycarbonate cage에 방사선 멸균한 고형사료(대한실험동물센터)와 물을 충분히 공급하였으며, 1주일 동안 명암주기 12시간 간격, 실온 25±2℃, 습도 55%의 실험실 환경에 적응시킨 후 본 실험을 시작하였다. 실험기간동안 명암주기 12시간 간격, 온도 25±2℃, 습도 55%로 실험실 환경을 유지하였다. 동물실험은 경희의료원 실험동물 윤리위원회 of 승인(KHMC-IACUC 10-044)을 얻고 수행하였다.

2) 약재

본 실험에 사용한 淸血地黃湯(CHJHT)의 구성 약재는 경희대 부속 한방병원에서 구입하여 엄선한 것을 사용하였으며, 처방 1첩의 내용 및 용량은 Table 1과 같다(Table 1).

3) 淸血地黃湯 추출물 분리

淸血地黃湯 5첩 분량 305g을 Round flask에 넣고 1500ml의 3차 증류수를 더하여 관류냉각장치를 부착한 상태로 2시간 동안 가열 추출하여 얻은 추출액을 Watmann여과지로 여과한 후 감압증류장치(Rotary evaporator, Buchi RE121, SWISS)로 감압 농축하여 농축액을 얻었다. 농축액을 동결건조기

Table 1. Prescription of CHJHT(*Chunghyuljihwang-tang*)

| 韓藥名 | 學名 | 重量(g) |
|-------|---------------------------------|-------|
| 生地黃 | <i>Rehmanniae Radix</i> | 12 |
| 升麻 | <i>Cimicifugae Rhizoma</i> | 8 |
| 赤芍藥 | <i>Paeoniae Radix Rubera</i> | 8 |
| 大蓼 | <i>Cirsii Japonici Herba</i> | 6 |
| 鬱金 | <i>Curcuma Radix</i> | 4 |
| 側柏葉 | <i>Biotae Cacumen</i> | 4 |
| 牡丹皮 | <i>Moutan Cortex</i> | 4 |
| 當歸 | <i>Angelicae Gigantis Radix</i> | 4 |
| 黃芩 | <i>Scutellariae Radix</i> | 4 |
| 黃連 | <i>Coptidis Rhizoma</i> | 4 |
| 甘草 | <i>Glycyrrhizae Radix</i> | 3 |
| Total | | 61 |

(Freeze dryer, EYELA, Japan)로 건조하여, 34g(수율 11.1%)의 건조분말을 얻었다. 얻어진 동결건조 엑기스는 냉동보관하면서 0.1g/ml 농도로 증류수에 희석하여 사용하였다.

2. 방법

1) 용혈성 빈혈 유발 및 약제 투여

본 실험에서는 기존 논문의 방법을 참고하여^{9,14)} Phenylhydrazine(Sigma-Aldrich사, MO, USA)을 40 mg/kg 용량으로 3일간 복강 주사하는 방법을 활용하여 흰쥐에 용혈성 빈혈을 유발 하였다.

흰 쥐는 한 군에 5마리씩 균등하게 배치하였고, 정상군(Normal), PHZ 처치 대조군(이하 대조군, Control), PHZ 처치 淸血地黃湯 실험군(이하 淸血地黃湯군, CHJHT)의 3군으로 나누었다.

실험은 총 10일 동안 이루어졌으며, 정상군은 10 일 동안 지속적으로 증류수를 경구투여하면서, 1, 2, 3일째 날 식염수 복강주사를 시행하였다. 대조군은 10일 동안 증류수를 경구투여하면서, 1, 2, 3일째 날 PHZ를 복강주사 하였다. 淸血地黃湯군은 10일간 淸血地黃湯을 0.5 g/kg 용량으로 경구투여하면서, 1, 2, 3일째 날 PHZ를 복강주사 하였다.

2) 채혈 및 일반혈액검사(CBC),

망상적혈구(reticulocyte) 측정

채혈은 꼬리정맥과 심장천자를 통해 이루어졌으며, 용혈성 빈혈 유발하기 전날인 0일, PHZ으로 용혈성 빈혈을 3일간 유발한 다음날인 4일과 7일이 되는 날 꼬리정맥에서 각각 1.5cc씩 채혈하였다. 10일째 되는 날은 동물을 희생하고, 심장천자를 통해 2cc씩 채혈하였다. 혈액은 EDTA 처리되어 있는 vacutainer에 채취하여 적혈구수(red blood cell, RBC), 혈색소(hemoglobin, Hb), 평균적혈구용적(mean corpuscular volume, MCV), 평균적혈구혈색소량(mean corpuscular hemoglobin, MCH), 평균적혈구혈색소농도(mean corpuscular hemoglobin concentration, MCHC) 망상적혈구(reticulocyte)를 automated hematology analyzers; Sysmex XE-2100(Sysmex Corporation,

Kobe, Japan)을 사용하여 측정하였다.

3) 체중 측정

실험기간 동안 2일에 한 번씩 체중을 측정하였다.

4) 비장 무게 측정

10일째 되는 날, 동물을 희생시킨 후 비장 무게를 측정하였다.

5) 통계처리

통계처리는 SPSS 12.0K for Windows를 이용하여 Student's t-test로 군 간의 평균을 비교 분석하였으며 p<0.05에서 유의성을 인정하였다.

結果

1. 적혈구(RBC, red blood cell)

PHZ 투여에 의하여 유발된 용혈성 빈혈 흰쥐의 적혈구 수에 미치는 淸血地黃湯의 효과는 Table 2와 같다. 4일에 PHZ를 처치하지 않은 정상군의 적혈구 수는 $7.14 \pm 0.27 \times 10^6 / \mu l$ 였던데 비하여, PHZ 처치한 대조군은 $3.25 \pm 0.18 \times 10^6 / \mu l$, 淸血地黃湯군은 $3.71 \pm 0.36 \times 10^6 / \mu l$ 로, PHZ 처치를 시행한 군에서 정상군에 비하여 통계적으로 유의한(P<0.05) 차이로 용혈성 빈혈이 유발되었음을 알 수 있었고 대조군에 비해 淸血地黃湯군에서 유의하게 적혈구 수 감소가 억제되는 효과를 보였다. PHZ 40mg/kg을 3일간 투여한 후 정상군에 대한 대조군의 적혈구 수 감소 비율은 약 45.5% 였다. 7일의 대조군과 淸血地黃湯군의 수치는 각각 $3.52 \pm 0.48 \times 10^6 / \mu l$, $3.68 \pm 0.24 \times 10^6 / \mu l$ 로서 淸血地黃湯군에서 적혈구 수의 회복이 더욱 양호한 경향을 보였으나 통계적으로 유의한 차이는 없었다. 10일의 대조군과 淸血地黃湯군의 수치는 각각 $5.25 \pm 0.63 \times 10^6 / \mu l$, $5.40 \pm 0.31 \times 10^6 / \mu l$ 로서 淸血地黃湯군에서 적혈구 수의 회복이 더욱 양호한 경향을 보였으나 통계적으로 유의한 차이는 없었다(Fig. 1).

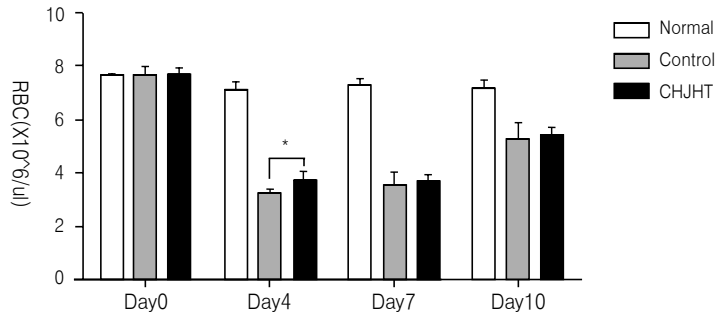


Fig. 1. Effect of CHJHT(*Chunghyuljihwang-tang*) on RBC in PHZ-induced Hemolytic Anemic Rats.

PHZ injection(40mg/kg, i.p.) was done for 3 days in the Control and in the CHJHT groups. Some amount of saline was injected in the Normal group. Three groups were treated with/without CHJHT(500mg/kg, p.o.) for 10 days. The level of RBC was higher in the CHJHT treated group and statistical significance was recognized in day 4($P<0.05$, Duncan's multiple range test).

2. 혈색소(Hb, Hemoglobin)

4일에 PHZ을 처치하지 않은 정상군의 혈색소는 $14.14 \pm 0.38 \text{g/dl}$ 였던데 비하여, PHZ 처치한 대조군은 $6.76 \pm 0.13 \text{g/dl}$, 淸血地黃湯 군은 $7.58 \pm 0.58 \text{g/dl}$ 로, PHZ 처치를 시행한 군에서 정상군에 비하여 통계적으로 유의한($P<0.05$) 차이로 용혈성 빈혈이 유발 되었다. PHZ 40mg/kg을 3일간 투여한 후 정상군에 비한 대조군의 혈색소 감소 비율은 약 47.8% 였다. 4일의 대조군과 淸血地黃湯군의 혈색소는 각각 $6.76 \pm 0.13 \text{g/dl}$, $7.58 \pm 0.58 \text{g/dl}$ 로서 대조군에 비해 淸血地黃湯 군에서 유의하게 혈색소 감소가 억제

되는 효과를 보였다. 7일의 대조군과 淸血地黃湯군의 혈색소는 각각 $9.34 \pm 0.59 \text{g/dl}$, $10.06 \pm 0.31 \text{g/dl}$ 로서 淸血地黃湯군에서 혈색소의 회복효과가 있었다. 10일의 대조군과 淸血地黃湯군의 혈색소는 각각 $12.64 \pm 0.96 \text{g/dl}$, $13.44 \pm 0.45 \text{g/dl}$ 로서 淸血地黃湯군에서 유의한 차이는 없었으나 혈색소의 회복이 더욱 양호한 경향을 보였다(Fig. 2).

3. 평균 적혈구 용적(MCV, mean corpuscular volume)

평균 적혈구 용적은 PHZ 처치한 대조군과, 淸血

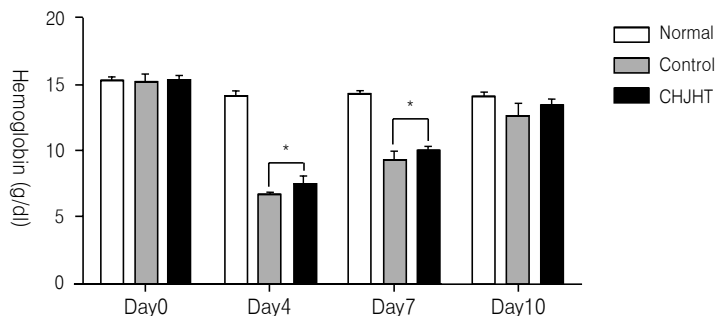


Fig. 2. Effect of CHJHT(*Chunghyuljihwang-tang*) on Hemoglobin in PHZ-induced Hemolytic Anemic Rats.

PHZ injection(40mg/kg, i.p.) was done for 3 days in the Control and in the CHJHT groups. Some amount of saline was injected in the Normal group. Three groups were treated with/without CHJHT(500mg/kg, p.o.) for 10 days. The level of hemoglobin was higher in the CHJHT treated group and statistical significance was recognized in day 4 and 7($P<0.05$, Duncan's multiple range test).

地黃湯군에서 PHZ 처치한 후인 4일, 7일, 10일에 정상군에 비해 유의하게 증가한 것을 확인할 수 있었다. 7일에 대조군과, 淸血地黃湯군의 평균 적혈구 용적은 각각 $114.04 \pm 7.01 \text{fL}$, $110.76 \pm 5.72 \text{fL}$ 로 가장 높은 수치를 보였으며, 10일에는 각각 $90.28 \pm 7.17 \text{fL}$, $86.14 \pm 4.97 \text{fL}$ 로 4일 보다는 크기가 증가하였으나 7일($114.04 \pm 7.01 \text{fL}$, $110.76 \pm 5.72 \text{fL}$) 보다는 평균적혈구 용적이 작아진 양상을 보였다. 각 검사일에서 淸血地黃湯 투여는 대조군에 비하여 MCV의 상승을 억제하는 경향은 관찰되었으나 두 군 간의 유의한 차이는 인정되지 않았다(Fig. 3).

4. 평균 적혈구 혈색소량(MCH, mean corpuscular hemoglobin)

평균 적혈구 혈색소량은 4일까지는 뚜렷한 변화는 보이지 않았으나 7일에는 정상군($19.78 \pm 0.41 \text{pg}$)에 비해 대조군($27.66 \pm 2.40 \text{pg}$)과 淸血地黃湯군($27.40 \pm 1.48 \text{pg}$)에서 유의하게 증가하는 소견을 보였으며, 10일에는 7일보다 감소하였으나 역시 정상군($19.80 \pm 0.32 \text{pg}$)에 비해 대조군($25.12 \pm 2.13 \text{pg}$)과 淸血地黃湯군(24.92 ± 1.29)에서 유의한 증가가 보였다. 각 검사일에서 대조군과 淸血地黃湯 군 간의 유의한 차이는 보이지 않았다(Fig. 4).

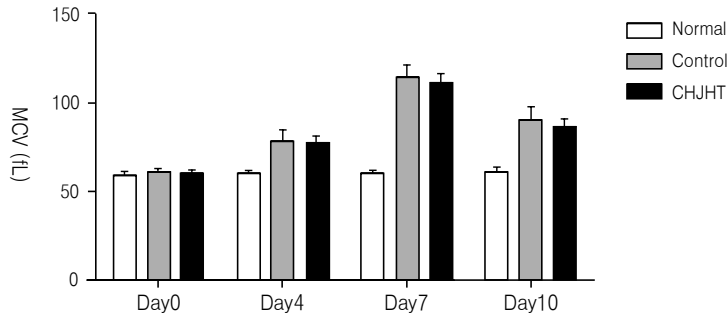


Fig. 3. Effect of CHJHT(*Chunghyuljihwang-tang*) on Mean Corpuscular Volume in PHZ-induced Hemolytic Anemic Rats. PHZ injection(40mg/kg, i.p.) was done for 3 days in the Control and in the CHJHT groups. Some amount of saline was injected in the Normal group. Three groups were treated with/without CHJHT(500mg/kg, p.o.) for 10 days. In the level of MCV, there was no significant difference between Control and CHJHT group in all the days of experiment($P < 0.05$, Duncan's Multiple range Test).

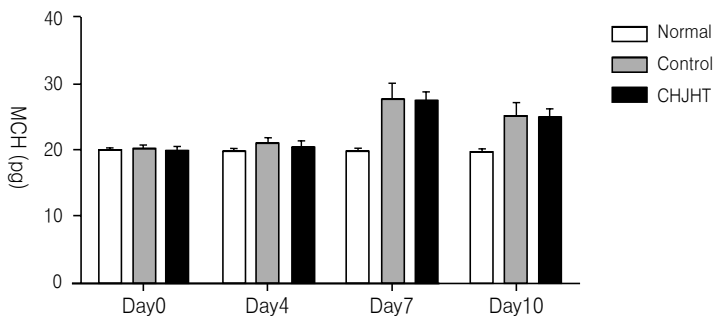


Fig. 4. Effect of CHJHT(*Chunghyuljihwang-tang*) on Mean Corpuscular Hemoglobin in PHZ-induced Hemolytic Anemic Rats. PHZ injection(40mg/kg, i.p.) was done for 3 days in the Control and in the CHJHT groups. Some amount of saline was injected in the Normal group. Three groups were treated with/without CHJHT(500mg/kg, p.o.) for 10 days. In the level of MCH, there was no significant difference between Control and CHJHT group in all the days of experiment($P < 0.05$, Duncan's Multiple range Test).

5. 평균 적혈구 혈색소 농도(MCHC, mean corpuscular hemoglobin concentration)

평균 적혈구 혈색소 농도는 4일, 7일, 10일 정상군에 비해 대조군과 淸血地黃湯군에서 수치가 유의성 있게 감소되었다. 대조군과 淸血地黃湯군에서 4일(26.92±1.61%, 26.82±1.34%)에서 7일(24.50±0.51%, 25.02±0.88%)까지는 더욱 감소되다가 10일(28.60±0.54%, 28.72±0.33%)에는 7일(24.50±0.51%, 25.02±0.88%)에 비하여 증가된 경향을 보였다. 각 검사일에서 대조군과 淸血地黃湯군 간의 유의한 차이는 인정되지 않았다(Fig. 5).

6. 망상적혈구(reticulocyte)

망상적혈구는 정상군에 비하여 PHZ 처치를 한 대조군과 淸血地黃湯군에서 4일, 7일, 10일 유의한 증가를 보였다. 4일에는 정상군은 6.74±0.40%인 것에 비하여, 대조군에서는 14.56±2.84% 로 증가하였고, 淸血地黃湯군에서도 15.92±4.58로 증가하였다. 7일에는 정상군은 7.64±1.18%인데 비하여 대조군은 32.54±3.06%. 淸血地黃湯군에서는 31.56±0.66%로 4일에 비해서 더욱 증가한 양상을 보였다. 10일에는 정상군의 수치는 10.08±0.98% 인데 비하여 대조군은 33.00±2.94%, 淸血地黃湯군은 25.36±5.25%로 정

상군에 비해서 대조군, 淸血地黃湯군의 망상적혈구가 많았으나, 대조군에 비해 淸血地黃湯군에서 망상적혈구가 유의하게 감소한 소견을 보였다. 대조군에서는 10일에 망상적혈구 수가 가장 많이 증가하였으며, 淸血地黃湯군에서는 7일에 망상적혈구가 가장 높은 수치를 보였고 그에 비해 10일에는 감소되는 양상을 보였다(Fig. 6).

7. 체중

정상군에서는 흰쥐의 체중은 실험기간 내내 서서히 증가하는 양상을 보였으며, 4일에 PHZ을 처치한 대조군(286.2±18.97g)과 淸血地黃湯군(286.0±5.73g)에서는 정상군(323.2±5.07)에 비해 유의한 차이로 체중이 감소하고, 이후부터는 다시 증가하는 양상을 보였다. 정상군에 비해 대조군과 淸血地黃湯군의 체중 차이는 실험기간 대부분에서 유의성 있는 차이는 없었다. 대조군과 淸血地黃湯 사이에도 뚜렷한 체중 차이는 보이지 않았다(Fig. 7).

8. 비장의 무게

희생하는 10일째 날 비장을 적출하여 비장의 무게를 측정하였다. 정상군의 비장 무게는 0.90±0.17g 였으며, 대조군의 비장 무게는 1.93±0.37g으로 약 2

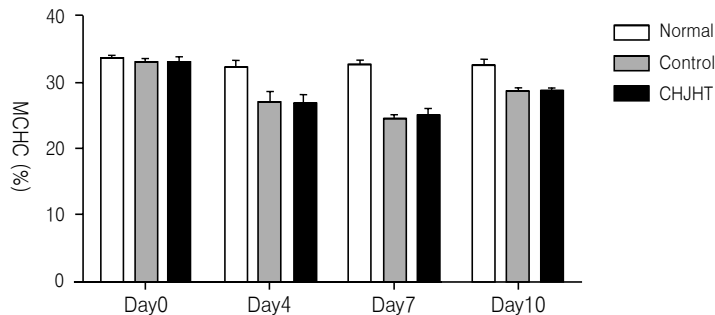


Fig. 5. Effect of CHJHT(*Chunghyuljihwang-tang*) on Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration in PHZ-induced Hemolytic Anemic Rats.

PHZ injection(40mg/kg, i.p.) was done for 3 days in the Control and in the CHJHT groups. Some amount of saline was injected in the Normal group. Three groups were treated with/without CHJHT(500mg/kg, p.o.) for 10 days. In the level of MCHC, there was no significant difference between Control and CHJHT group in all the days of experiment(P<0.05, Duncan's Multiple range Test).

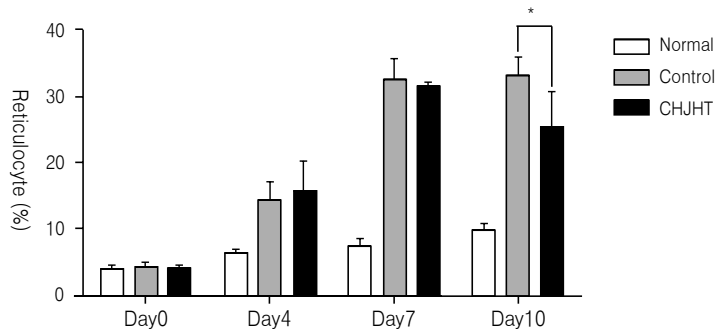


Fig. 6. Effect of CHJHT(*Chunghyuljihwang-tang*) on Reticulocyte in PHZ-induced Hemolytic Anemic Rats.

PHZ injection(40mg/kg, i.p.) was done for 3 days in the Control and in the CHJHT groups. Some amount of saline was injected in the Normal group. Three groups were treated with/without CHJHT(500mg/kg, p.o.) for 10 days. The reticulocyte count was lower than that of the control group and statistical significance was noticed on day 10(P<0.05, Duncan's multiple range test).

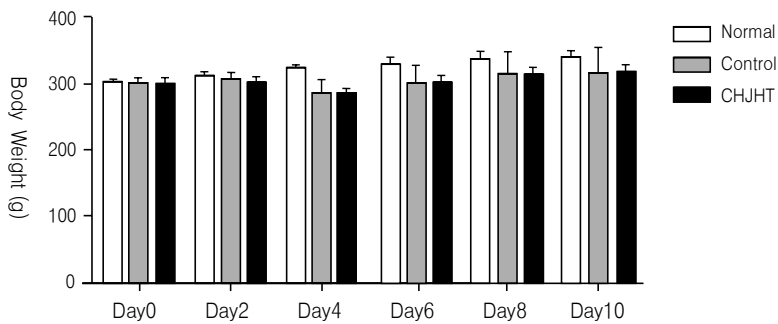


Fig. 7. Effect of CHJHT(*Chunghyuljihwang-tang*) on Body Weight in PHZ-induced Hemolytic Anemic Rats.

PHZ injection(40mg/kg, i.p.) was done for 3 days in the Control and in the CHJHT groups. Some amount of saline was injected in the Normal group. Three groups were treated with/without CHJHT(500mg/kg, p.o.) for 10 days. In body weight, there was no significant difference between Control and CHJHT group in all the days of experiment(P<0.05, Duncan's Multiple range Test).

배 이상 증가하였다. 淸血地黃湯군의 비장 무게는 1.68±0.15g으로 대조군에 비하여 비장 무게 증가가 완화된 경향을 보였으나 통계적으로 유의한 차이는 보이지 않았다(Fig. 8).

考 察

용혈성 빈혈은 적혈구가 말초혈액 내에서 정상적인 수명보다 빨리 파괴되어 순환혈액에서 제거되므로써 일어나는 빈혈이다. 용혈성 빈혈은 조기 파괴의 원인, 파괴장소, 증상발현 시기에 따라서 분류할

수 있다. 즉 적혈구 자체이상으로 적혈구 막, 효소 또는 혈색소 이상에 의한 것과, 적혈구 외 요인으로 자가항체, 물리적 요인 또는 혈장에 의한 것으로 나눌 수 있으며, 혈관 내와 혈관 외 용혈로 나눌 수도 있고, 선천 또는 유전과 후천 용혈로 나눌 수도 있다. 용혈성 빈혈은 원인도 매우 다양하며 상황에 따라 수혈 또는 부신피질 호르몬, 비장적출 등의 방법을 활용하여 접근하지만, 일반적으로 치료가 쉽지 않은 질환이다²⁾.

용혈성 빈혈 실험모델로는 PHZ을 활용하는 방법이 일반적으로 사용되고 있는데, PHZ은 benzene,

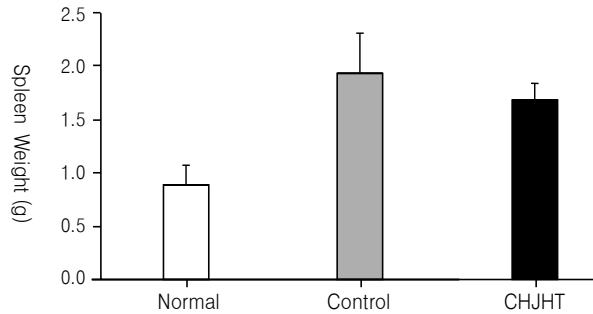


Fig. 8. Effect of CHJHT(*Chunghyuljihwang-tang*) on Spleen Weight in PHZ-induced Hemolytic Anemic Rats.

PHZ injection(40mg/kg, i.p.) was done for 3 days in the Control and in the CHJHT groups. Some amount of saline was injected in the Normal group. Three groups were treated with/without CHJHT(500mg/kg, p.o.) for 10 days. Weight of spleen was measured slightly lower in SCG group than Control group.

nitrogen, H₂O₂, superoxide anion, phenyl radical 등을 생성하여 적혈구 막의 지질과산화, 글루타치온과 ATP의 고갈, 이온 불균형, 적혈구변형능을 손상시키는 기전을 통하여 용혈성 빈혈을 유발시키는 작용을 한다^{6,15}.

본 연구에서는 각종 출혈 증상에 통용되는 淸血地黃湯의 용혈성 빈혈에 대한 효과를 알아보기 위해, PHZ으로 쥐에 용혈성 빈혈을 유발하고, 적혈구수(red blood cell, RBC), 혈색소(hemoglobin, Hb), 평균적혈구용적(mean corpuscular volume, MCV), 평균적혈구혈색소량(mean corpuscular hemoglobin, MCH), 평균적혈구혈색소농도(mean corpuscular hemoglobin concentration, MCHC), 망상적혈구(reticulocyte), 체중, 비장의 무게를 관찰하였다.

빈혈은 적혈구량(red cell mass)의 감소로 정의¹⁶⁾하므로 빈혈의 접근에 있어서 적혈구수(RBC count)의 변화를 살펴볼 필요가 있다. 淸血地黃湯이 적혈구수에 미치는 영향을 살펴본 결과, PHZ을 3일간 유발한 다음날인 4일에 淸血地黃湯군에서 대조군에 비해 적혈구수의 감소가 유의하게 적었던 것으로 나타났다. 이는 淸血地黃湯을 투여하지 않은 대조군에 비해 淸血地黃湯 투여군에서 PHZ에 의한 용혈유발이 억제되었을 가능성을 시사하는 결과이다. 또한 용혈성 빈혈에서 회복되는 단계인 7일과 10일의 수치도 淸血地黃湯군에서 대조군에 비해 증가된 경향

을 보였으며, 이를 통해 淸血地黃湯 군에서 빈혈의 회복이 더 양호했음을 추정해 볼 수 있다.

빈혈은 적혈구량의 감소로 정의하지만 실제 임상에서는 편의상 헤모글로빈농도의 감소로 진단하는 것이 일반적이며, 남자 성인의 경우 헤모글로빈농도가 13g/dl, 여자 성인의 경우 12g/dl 이하인 경우 빈혈로 진단한다¹⁶⁾. 따라서 헤모글로빈농도는 빈혈을 평가하는데 중요한 수치라고 볼 수 있다. 淸血地黃湯이 헤모글로빈(hemoglobin)에 미치는 영향을 살펴본 결과, 적혈구수의 변화에서 나타난 결과와 유사하게 4일에 淸血地黃湯군에서 대조군에 비하여 헤모글로빈 감소가 유의하게 적었던 것으로 나타났다. 이 또한 대조군보다 淸血地黃湯군에서 淸血地黃湯에 의해 용혈 유발이 억제되었을 가능성을 보여준다. 적혈구수에서 나타난 결과와 유사하게, 헤모글로빈농도에서는 7일에서 淸血地黃湯군이 대조군보다 유의하게 수치가 높은 것으로 나타나는데, 이는 淸血地黃湯군에서 빈혈의 회복이 조금 더 양호함을 나타내는 결과로 볼 수 있을 것으로 사료된다.

평균 적혈구 용적(MCV)은 적혈구의 크기와 관련된 수치로서 이 수치에 따라 빈혈을 소적혈구성, 정적혈구성, 대적혈구성으로 구분하여 볼 수 있다. 정상군의 MCV는 실험기간 내내 거의 비슷한 수치를 유지했으며, PHZ을 처치한 대조군과 淸血地黃湯군에서는 두 군간의 유의한 차이는 보이지 않았다.

PHZ 처치에 의해 날짜별로 MCV 수치가 조금씩 다른 양상을 보였는데, PHZ을 유발한 4일에는 MCV가 약간 증가하였으며, 7일에는 거의 2배에 가깝게 뚜렷하게 증가하였고, 10일에도 정상에 비하여 증가되었으나, 7일보다는 감소하였다. PHZ이 막 구조를 변형시켜 적혈구의 모양을 구상에 가깝도록 변형시킨다는 기존 논문을 참고하여 볼 때¹⁵⁾, 적혈구의 모양 변화로 인하여 MCV가 증가했을 가능성이 있다. 또한 일반 적혈구보다 크기가 큰 망상적혈구가 증가했다는 점에서, 망상적혈구가 MCV 수치에 영향을 미쳤을 가능성도 있을 것으로 보인다.

평균 적혈구 혈색소량(MCH)은 실험기간 내내 정상군에서는 수치의 변화가 거의 없었으며, 4일에도 정상군과 대조군 淸血地黃湯군에서 뚜렷한 변화를 확인할 수 없었다. 7일과 10일에는 정상군에 비해 대조군과 淸血地黃湯군에서 MCH가 증가한 양상을 보였으며, 이는 빈혈을 회복하는 과정에서 적혈구 한 개당 헤모글로빈 양이 증가하여 발생한 결과로 생각된다. MCH에서 대조군과 淸血地黃湯군의 유의성있는 차이는 보이지 않았다.

평균 적혈구 혈색소 농도(MCHC)는 정상군에서는 실험기간 내내 거의 변화가 없었으며, PHZ 처치를 시행한 후 대조군과 淸血地黃湯군에서 정상군에 비하여 수치가 유의하게 감소되는 결과를 보였다. 적혈구 한 개당 헤모글로빈 양을 의미하는 MCH가 증가하였음에도, 망상적혈구나 구형으로 변한 적혈구로 인하여 적혈구 용적이 증가하여 혈색소가 차지하는 비율은 오히려 감소된 것으로 보인다. MCHC에서도 대조군과 淸血地黃湯군의 차이는 보이지 않았다.

이상의 결과로 미루어 볼 때, 빈혈의 회복양상은 회복 초기에 대적혈구 형태로 적혈구수의 증가보다는 혈색소양이 증가하고 후기에 이르면 적혈구 크기가 정상화되면서 적혈구 수가 증가되어 혈색소 양이 정상적으로 회복되는 경과를 나타냄을 알 수 있다.

망상적혈구(reticulocyte)는 빈혈에 의한 저산소증으로 증가하는 erythropoietin이 골수내의 적혈구 전구세포를 자극하여 생산되는 신생적혈구로서, 빈혈

이 없는 정상인의 경우는 1~2%를 차지하며, 빈혈에 반응하여 골수에서 적혈구를 생산하는 능력을 나타내는 중요한 지표이다⁴⁾. PHZ 처치를 한 후인 4일, 대조군과 淸血地黃湯군에서 망상적혈구는 PHZ 투여 전에 비해 약 3배 이상 증가하였고, 7일에는 현저히 증가하여 30% 이상을 차지하고 있음을 볼 수 있다. 또한 대조군에서는 7일 및 10일에서 망상적혈구가 30% 이상 계속 증가하였으나, 淸血地黃湯군에서는 7일에 비해 10일에서 유의성있게 감소하였다. 이러한 결과는 淸血地黃湯군에서 망상적혈구가 7일~10일 사이에 대조군보다 먼저 다량 생성되고, 적혈구수의 회복이 더욱 조기에 일어났음을 시사하는 것이다.

체중의 변화는 PHZ 유발 다음날인 4일, 대조군과 淸血地黃湯군이 정상군에 비해서 유의하게 체중이 감소했다는 점 외에는 의미 있는 차이를 보이지 않았다.

비장은 적혈구가 파괴되는 장소¹⁷⁾로서 각종 빈혈과 관련이 많은 장기이다. 용혈성 빈혈은 용혈이 일어나는 장소에 따라 혈관 내 용혈과 혈관 외 용혈로 나눌 수 있는데¹⁸⁾ 혈관내 용혈은 순환하는 혈청 내에서 파괴되는 과정이며, 적혈구 막의 손상으로 인해 발생한다. 혈관의 용혈은 간과 비장에서 적혈구가 대식세포에 탐식되는 과정이다¹⁾.

PHZ에 의하여 손상된 적혈구는 대부분 비장에서 파괴된다고 보고되어 있으며 따라서 PHZ 유발 용혈성 빈혈에서 비장은 중요한 역할을 한다⁶⁾. 10일에 시행한 비장무게 측정결과 정상군에 비하여 대조군과 淸血地黃湯군에서 비장무게가 유의성 있게 증가한 것은 PHZ에 의해서 손상된 적혈구가 비장에서 파괴되었기 때문으로 보인다. 유의성은 없었으나 대조군에 비해 淸血地黃湯군에서 비장무게가 감소하는 경향을 보인 것은 淸血地黃湯군에서 적혈구 파괴가 더 적게 일어났을 가능성을 시사하는 것으로 생각된다.

이상의 연구를 통하여 淸血地黃湯이 용혈성 빈혈을 억제하는 효과가 있음을 확인할 수 있었다. 또한 빈혈의 회복에 있어서도 淸血地黃湯을 투여하지 않

은 대조군에 비하여 적혈구수와 헤모글로빈 수치를 증가시켰으며, 망상적혈구 수치도 대조군에 비하여 더욱 일찍 회복되었다. 빈혈 회복 효과에 있어서는 淸血地黃湯이 용혈성 빈혈 유발을 억제하여 기본적으로 높은 수치에서 회복이 이루어지기 시작했기 때문에 더욱 양호하게 회복되는 경향이 보였을 가능성을 배제할 수 없으므로 淸血地黃湯의 빈혈회복효과, 즉 조혈효과에 있어서는 추가적인 검토가 필요할 것으로 보인다. 이번 연구는 PHZ를 투여하여 용혈성 빈혈을 유발하는 실험이었지만, 중간 중간 혈액학적 검사를 위한 채혈(출혈)이 불가피하여 출혈에 의한 미미한 빈혈이 실험에 영향을 끼쳤을 가능성도 있다. 출혈을 빈혈모델로 활용하기도 한다는 점¹⁹⁾을 감안하면 향후 채혈의 효과를 최소화할 수 있는 ocular puncture방법²⁰⁾ 등을 활용하는 것도 더욱 정확한 결과를 얻는 데 도움이 될 것으로 보인다. 추후 淸血地黃湯의 빈혈 회복 효과와 실험구상의 보안을 위한 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

結 論

淸血地黃湯의 용혈성 빈혈에 대한 효과를 알아보기 위해, PHZ으로 쥐에 용혈성 빈혈을 유발하고, 적혈구수(red blood cell, RBC), 혈색소(hemoglobin, Hb), 평균적혈구용적(mean corpuscular volume, MCV), 평균적혈구혈색소량(mean corpuscular hemoglobin, MCH), 평균적혈구혈색소농도(mean corpuscular hemoglobin concentration, MCHC), 망상적혈구(reticulocyte)를 측정하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 淸血地黃湯은 PHZ에 의한 적혈구수와 혈색소 수치의 감소를 유의성 있게 억제하여, 용혈성 빈혈 억제 효과를 보였다.
2. 淸血地黃湯은 PHZ 처치 후 적혈구수와 혈색소 수치를 대조군에 비해 유의하게 회복시키는 것으로 나타났다.
3. 淸血地黃湯은 MCV, MCH, MCHC에서 대조군과 거의 동일한 소견을 보였다.

4. 淸血地黃湯에서 망상적혈구가 대조군에 비해 더 빠른 시기에 정상화되는 것으로 나타났다.
5. 체중에서는 대조군과 거의 동일한 소견을 나타냈다.
6. 비장무게는 淸血地黃湯군에서 대조군보다 감소하는 경향이 있었다.

이상에서 淸血地黃湯은 용혈성 빈혈을 억제하는 효과가 있는 것으로 나타났으며, 또한 망상적혈구가 대조군에 비해 더 조기에 정상화되면서 빈혈 회복효과도 대조군에 비해 양호한 경향을 보였다. 향후 淸血地黃湯의 빈혈 회복 효과와 실험구상의 보안을 위한 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

參考文獻

1. Bruner AB, Joffe E, Duggan AK, Casella JF, Brandt J. Randomized study of cognitive effects of iron supplementation in non-anemic iron deficient adolescent girls. *Lancet*. 1996;348:992-6.
2. Choi CW. Diagnosis and treatment of anemia. An out-patient approach. *J Korean Acad Fam Med*. 2003;24:303-11.
3. Dhaliwal G, Cornett PA, Tierney LM. Hemolytic anemia. *Am Fam Physician*. 2004;69(11):1599-606.
4. Hah JO. Hemolytic anemia in pediatrics. *Korean J Pediatr*. 2007;50(6):511-8.
5. 전국간계내과학 교수 공저. *간계내과학*. 서울:동양의학연구원출판부. 2001;169, 551.
6. Shelter MD, Hill HA. Reactions of hemoglobin with phenylhydrazine: A review of selected aspects. *Environ Health Perspect*. 1985 Dec;64:265-81.
7. Giffin HZ, Allen EV. The control and complete remission of polycythemia vera following the prolonged administration of phenylhydrazin hydrochlorid. *Am J Med*. 1933;185:1-13.
8. Barer A, Paul WD, Baldrige CW. Studies on the

- relationship between oxygen consumption and nitrogen metabolism. III In Polycythemia Vera. J Clin Invest. 1934;13(1):15-28.
9. Ryu JH, Yook CS. The effects of Sa-Mul-Tang, a traditional chinese medicine, on phenylhydrazine-induced anemic rats. J Appl Pharmacol. 2001; 9:1-6.
 10. Lee MR, Kim HH, Jo HH, Kang HJ, Gu LJ, Ly SY et al. Hemopoietic effect of extracts from four parts of deer antler on phenylhydrazine-induced hemolytic anemia in female rats. J Food Sci Nutr. 2009;38(12):1718-23.
 11. 임석린. 사물탕과 사물탕 구성약물이 혈구감소증에 미치는 영향에 관한 연구. 대전대학교 한의학연구원 논문집. 1999;8(1):837-51.
 12. Shin HS, Kim EH, Kim CJ. Anti-anemic effect of aqueous extracts of fructus schisandrae on phenylhydrazine-induced hemolytic anemia in female Sprague-Dawley rats. Korean Journal of Acupuncture. 2002;19(1):69-77.
 13. Kim HS. The effect of *Danggwibohyeoltang* and each constituent herb on haemolytic anemia. The Korean Journal of Oriental Medical Prescription. 1996;4(6):113-36.
 14. Diallo A, Gbeassor M, Vovor A, Eklugadegbeku K, Aklikokou K, Agbonon A et al. Effect of *tectona grandis* on phenylhydrazine-induced anaemia in rats. Fitoterapia. 2008;79: 332-6.
 15. Roque M, Anna CD, Gatti C, Veuthey T. Hematological and morphological analysis of the erythropoietic regenerative response in phenylhydrazine-induced hemolytic anemia in mice. Scand J Lab Anim. 2008;35(3):181-90.
 16. Park SY. Diagnosis of treatment of anemia. Korean J Med. 1997;53(2):S775-80.
 17. Mebius RE, Kraal G. Structure and function of the spleen. Nat Rev Immunol. 2005;5:606-16.
 18. Fauci AS, Braunwald E, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL et al. Harrison's Principles of Internal Medicine 17th edition. Seoul:The McGraw-Hill Korea, Inc. 2010;790.
 19. Criswell KA, Sulkanen AP, Hochbaum AF, Bleavins MR. Effects of phenylhydrazine or phlebotomy on peripheral blood, bone marrow and erythropoietin in wister rats. J Appl Toxicol. 2000;20:25-34.
 20. Akah PA, Okolo CE, Ezike AC. The haematinic activity of the methanol leaf extract of *Brillantasia nitens Lindau(Acanthaceae)* in rats. Africa J Biotech. 2009;8(10):2389-93.