

防風通聖散 煎湯液의 免疫 調節作用

李昌奎* · 宋正模*

Immunoregulative Action of Bangpoongtongsungsan

Lee Chang-kyu · Song Jeong-mo

The purpose of this research was to investigate effects of Bangpoongtongsungsan water extract(BTSE) on the immune reaction, anti-allergy action and anti-inflammatory action in BALB/c mice. The administration of BTSE (500mg/kg) enhanced the cell viability of thymocytes and the population of helper T cells in splenic T-lymphocytes. BTSE suppressed the production of nitric oxide, but enhanced the phagocytic activity in peritoneal macrophages. BTSE enhanced hemagglutination titer in mice. BTSE inhibited passive cutaneous anaphylaxis induced by egg albumin in rat, the lethal anaphylaxis induced by platelet activating factor and compound 48/80 in mice, and then inhibited the degranulation of peritoneal mast cells induced by compound 48/80. BTSE did not inhibit Arthus reaction, but inhibited the delayed type hypersensitivity induced by SRBC and contact dermatitis induced by DNFB. BTSE inhibited the acute hind paw edema induced by histamine after 30 minutes, the permeability of evans blue into peritoneal cavity induced by acetic acid and the writhing syndrome induced by acetic acid. These results suggest that BTSE has an immunopotentiative action, anti-allergy action and anti-inflammatory action via the inhibition of histamine release.

* 우석대학교 한의과대학 사상의학과

I. 緒 論

人體는 각종의 免疫學的 反應을 유발시킬 수 있는 물질, 즉 수많은 항원들로 충만되어 있는 환경에 노출되어 있으며, 이러한 각종 항원들과의 끊임없는 접촉은 生體內的 免疫機轉에 의해서 효과적으로 배제되어 생체를 방어할 뿐만 아니라 組織을 손상시킬 수 있는 自家免疫疾患이나 알레르기 등 負의 免疫反應이 야기되기도 한다¹⁾.

韓醫學에서 免疫의 概念은 「黃帝內經」²⁾에서부터 유래한다고 할 수 있는데, “眞氣從之하고 精神內守하면 病安從來리오”나 “正氣存內하면 邪不可干이라”고 하였듯이 正氣와 邪氣의 관계가 직접 疾病의 發生, 發展, 變化를 결정한다고 인식한 것이 기초적인 免疫의 개념과 일치한다고 할 수 있을 것이다.

現代醫學에서 면역계통은 防禦와 自己安定, 免疫監視 등의 3대 기능을 갖고 있다고 인식하는 데, 韓醫學에서 正氣가 邪氣를 방어하는 것은 각종 미생물의 감염에 저항하는 防禦의 의미와 같은 것이고, 內邪를 없애고 陰陽平衡을 유지하는 것은 자기신체의 抗原을 제거하는 自己安定의 의미와 같으며, 正氣가 臟腑, 經絡, 氣血 등과 협조하고 상호 의존하며 제약하는 기능을 통하여 痰積血瘀의 형성과 積聚의 발생을 방지하는 것은 免疫監視 기능과 같은 의미로 해석할 수 있을 것이다³⁾.

알레르기에 대한 韓方文獻上的 기록은 巢⁴⁾의 「諸病原候論」에 漆의 過敏反應과 體質과의 연관성에 대한 기술이 있어 알레르기反應에 대한 관찰이 오래 전부터 있어 왔음을 알 수 있다. 또한 역대 韓醫學에 수록된 哮喘, 鼻肌(肌嚏), 癩疹, 胎熱(奶癬) 등의 병증이 알레르기성 질환으로 추정된다. 韓醫學에서는 이들 病症의 原因을 현대의학에서처럼 항원-항체 반응으로 인식한 것이 아니고 風寒暑濕燥火의

六淫이 인체에 侵襲하여 正氣와 交爭하는 반응이거나 臟腑 經絡의 氣가 虛衰 또는 阻滯되어 발생하는 것으로 인식하여 辨證施治를 시행하였던 것을 알 수 있다.

최근 알레르기 및 免疫에 관한 韓藥處方의 效能을 관찰한 實驗⁵⁻²³⁾ 및 防風通聖散의 效能을 중심으로 연구한 실험 등²⁴⁻³¹⁾이 다수 보고되었다.

防風通聖散은 金元四大家의 한 사람인 劉³²⁾의 「宣明方論」에 처음 수록된 처방으로, 일체의 風熱과 表裏 및 三焦가 모두 實해서 오는 諸證을 치료하는 대표적인 처방으로 高血壓, 각종 中毒症, 알레르기성 疾患, 皮膚疾患, 眼耳鼻疾患 등의 實證에 다양하게 응용되고 있는 處方이다³³⁾. 그러나 아직 防風通聖散이 免疫調節에 미치는 影響이 정확히 밝혀져 있지는 않다.

이에 著者は 생체 免疫反應에 미치는 防風通聖散의 影響을 觀察하고자 홍선세포와 비장세포의 生存率 및 subpopulation, 복강 대식세포의 貪食能 및 nitric oxide 生成量を 測定하였으며, SRBC에 대한 적혈구 凝集素價를 측정하였다. 또한 防風通聖散이 알레르기반응 중 어느 型에 영향을 미치는 가를 觀察하고자 하였는데, 第 I 型에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 PCA(passive cutaneous anaphylaxis)反應, PAF(platelet activating factor)에 의한 anaphylaxis의 發現, compound 48/80에 의한 anaphylaxis의 發現 및 비만세포 탈과립 등을 實驗하였고, 第 III 型에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 Arthus 反應을 측정하였으며, 第 IV 型에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 SRBC에 의한 생쥐 즉척증창반응(DTH) 및 접촉성 피부과민반응을 측정하였다. 그리고 炎症反應에 대한 효과를 살펴 보기 위하여 histamine에 의한 생쥐 즉척증창반응, acetic acid에 의한 모세혈관투과성반응 및 鎮痛作

用 實驗을 실시하였던 바 有意한 結果가 있었기에 보고하는 바이다.

II. 實驗 材料 및 方法

1. 實驗 材料

1) 實驗 動物

本 實驗에 사용한 생쥐는 BALB/c系(20±2g) 수컷을, 흰쥐는 SD系(150±10g) 수컷을 대한실험동물(株)에서 구입하여 온도 22±3℃, 습도 55±5%, dark/light(12시간) 조건하에서 사육하면서 實驗하였다.

2) 試藥 및 器具

實驗에 使用한 試藥은 egg albumin, trinitrobenzene sulfonic acid(TNP), aluminum gel, platelet activating factor(PAF), compound 48/80, histamine, evans blue, o-toluidine blue, dinitrofluorobenzene(DNFB), HBSS, Ca²⁺-Locke solution, percoll solution, RPMI 1640 media, sulfanilamide, lucigenin, zymosan은 Sigma Co., FCS, thioglycollate는 Difco Co., PE conjugated anti-CD4, FITC conjugated anti-CD8 antibody는 Dainippon seiyaku Co.를, 기타 시약은 1급 시약 및 세포배양용 시약을 사용하였다. 使用機具는 culture flask(Nunc), multi-well plate(Costar Co.), microtitration plate(Costar Co.), micrometer(Mitutoyo Co.), centrifuge(VS-6000 CF), inverted microscope(Nikon Co.), freeze dry apparatus(Ilsin Co.), CO₂ incubator(Vision

scientific Co.), microplate reader(Dynatech, MR5000), luminometer(Berthold, 96LP), flow cytometer (Coulter, EPICS-XL) 등을 사용하였다.

3) 檢液의 調劑

本 實驗에 사용한 防風通聖散의 構成은 「方藥合編」³⁴⁾에 準하였으며, 사용한 藥材들은 又石大學校 附屬 韓方病院에서 정선하여 사용하였고, 處方 3貼分量(122.25g)을 증류수 1,500 ml로 2회 가열 추출한 후, 濾過하여 餘液을 rotary evaporator로 농축한 다음, freeze dryer로 동결건조하여 분말 29.5g(收得率 26.0%)을 얻어(以下 BTSE라 칭함), 동물실험시에는 생리식염수에 용해시켜 사용하였다. 防風通聖散 1貼의 處方構成 내용은 다음과 같다.

防風通聖散의 處方構成

韓藥名	生藥名	重量(g)
滑石	Talcum	6.37
甘草	Glycyrrhizae Radix	4.50
石膏	Gypsum Fibrosum	2.62
黃芩	Scutellariae Radix	2.62
桔梗	Platycodi Radix	2.62
防風	Ledebouriellae Radix	1.68
川芎	Cnidii Rhizoma	1.68
當歸	Angelicae Gigantis Radix	1.68
赤芍藥	Paeoniae Radix	1.68
大黃	Rhei Rhizoma	1.68
麻黃	Ephedrae Herba	1.68
薄荷	Menthae Herba	1.68
連翹	Forsythiae Fructus	1.68
芒硝	Sodii sulfas	1.68
荊芥	Schizonepetae Herba	1.31

白朮	Atractylodis Rhizoma Alba	1.31
梔子	Gardeniae Fructus	1.31
生薑	Zingiberis Rhizoma	4.38
total amount		40.85

2. 實驗 方法

1) 免疫反應에 대한 실험

(1) 흉선세포 및 비장세포의 生存率 측정

생쥐의 흉선세포 및 비장세포의 분리는 Wysocki³⁵⁾ 및 Mizel등³⁶⁾의 방법에 따라, 생쥐 5마리를 1군으로 하여 BTSE 500 mg/kg을 1일 1회씩 7일간 경구투여한 뒤, 경추탈골하여 屠殺시킨 후 적출한 흉선 및 비장을 DPBS-A를 넣은 petri dish에서 잘게 분쇄하고 멸균된 stainless mesh로 여과하여 2회 세척한 다음 10 ml 주사기로 세포부유액을 조심스럽게 취하여 1500 rpm에서 10 분간 원심분리하였다. 얻어진 세포를 DPBS-A에 재부유시켜 3회 반복 세척한 후 흉선세포 및 비장세포를 분리하였다.

흉선세포 및 비장세포의 생존을 측정은 Mosmann³⁷⁾이 개발하여 Kotnik³⁸⁾이 변형시킨 MTT 방법으로 측정하였다. 분리한 흉선세포 및 비장세포를 RPMI 1640 배지로 세포부유액을 조제한 후, 96-well plate의 각 well에 세포 부유액 100 μ l (2×10^5 cells/ml)를 접종하고 흉선세포에는 concanavalin A(Con A) 5 μ g/ml를 첨가하거나 또는 첨가하지 않은 조건으로, 비장세포에는 lipopolysaccharide(LPS) 10 μ g/ml를 첨가하거나 첨가하지 않은 조건으로 37°C의 CO₂ incubator에서 48시간 배양하였다. 배양 종료 4시간 전에 5 mg/ml 농도로 DPBS-A에 희석된 MTT용액 20 μ l를 각

well에 첨가하고, 0.1N HCl에 용해시킨 10% SDS 100 μ l를 각 well에 첨가하여 차광 상태에서 18시간 더 배양한 후 발색된 각 well의 흡광도를 microplate ELISA reader로 570 nm에서 측정하여 세포생존율을 산정하였다.

(2) 흉선세포 및 비장세포의 subpopulation 측정

분리한 흉선세포 및 비장세포를 eppendorf tube에 1×10^6 cells 씩 분주하고 흉선세포는 형광시약인 phycoerythrin(PE) 및 fluorescein isothiocyanate(FITC)로 conjugate 시킨 (PE) α -CD4, (FITC) α -CD8 monoclonal antibody로 이중염색 (1 : 160 dilution)하여 flow cytometer (excitation 488 nm, emission FITC 525 nm, PE 575 nm)로 subpopulation을 측정하였으며, 비장세포는 형광시약인 phycoerythrin(PE) 및 fluorescein isothiocyanate(FITC)로 conjugate 시킨 (PE) α -B220, (FITC) α -Thy1 monoclonal antibody로 이중염색하여 flow cytometer (excitation 488 nm, emission FITC 525 nm, PE 575 nm)로 sub-population을 측정하였다³⁹⁾.

(3) 복강 대식세포의 食食能 측정

생쥐 5마리를 1군으로 하여 BTSE 500 mg/kg을 1일 1회씩 7일간 경구투여하였다. 약물 투여 4일째 멸균한 3% thioglycollate 2ml를 복강에 투여하고, 약물투여 8 일째 생쥐를 경추탈골하여 도살시킨 후, 복강에 cold PBS 10 ml를 주입하여 복강세포를 수집한 뒤, 4°C에서 1,300 rpm으로 10분간 원심분리하였다. 분리한 세포를 RPMI 배지로 2회 세척한 후, 직경 120 mm petri dish에 분주하여 CO₂ incubator에서 배양한 다음, 2시간 후에 부착되지 않은 세포를 제거하고, 부착한 세포를 cell

scraper로 모아 대식세포로 사용하였다.

食食能은 lucigenin chemiluminescence 양으로 활성을 측정하였다. Lucigenin 용액의 제조는 10 ml의 DPBSA에 용해한 후 여과 멸균하여 -20℃에서 보관하면서 사용하였다(stock solution). Lucigenin stock solution은 사용하기 직전에 DME(without phenol red, 0.34g/L NaHCO³, 2.6g/L HEPES, pH 7.2) 배지에 1/10로 희석하여 사용하였다. Chemiluminescence 측정은 luminometer를 이용하여 37℃에서 측정하였다^{40,41}. 측정용 microplate (white)의 각 well에 준비된 대식세포 부유액 50 μl와 lucigenin 용액 50μl 및 zymosan 용액 30 μl를 첨가하여 최종 volume이 200 μl가 되도록한 후 넣고 37℃에서 15분간 전처리한 후 5분 간격으로 60분 동안 lucigenin chemiluminescence 양을 측정하였다.

(4) 복강 대식세포의 Nitric oxide의 측정

분리한 대식세포를 24 well plate에 well당 1 x 10⁶ cells을 분주한 후, 각 well에 LPS 1 μg/ml와 γ-IFN 25 units/ml를 첨가하지 않은 군과 첨가한 군으로 분류하여 37℃ CO²-incubator에서 24시간 배양한 후 생성된 nitric oxide(NO)양을 Griess 시약으로 측정하였다⁴². 즉 배지 100 μl와 Griess reagent(1% sulfanilamide+0.2% N-Naphthylethylenediamine 2HCl+2.5% H₃PO₄) 100 μl를 혼합하여 96 well plate에 넣고 570 nm에서 microplate reader로 흡광도를 측정하여 미리 작성한 NaNO₂의 검량선에 의해 NO 양을 측정하였다.

(5) SRBC에 대한 적혈구 凝集素價

생쥐 8마리를 1군으로 하여 Ha⁴³의 方法에 따라

1 x 10⁷개의 SRBC를 복강주사하여 면역조치하고 1일 1회씩 BTSE 500mg/kg을 7일간 경구투여한 다음, 8일째에 생쥐를 도살하여 채혈하고 혈청을 분리하여 56℃에서 30분간 처리하였다. U자형 microtitration tray의 각 well에 上記의 혈청을 인산완충액(pH 7.4)으로 20배 희석한 다음 2배씩 단계희석을 행한 50μl와 0.5% SRBC 부유액 50μl를 혼합하여 37℃, 5% CO₂ incubator에서 1시간 동안 배양한 후 적혈구 응집을 일으킨 혈청의 최고 희석 배수를 凝集素價로 판독하였다.

2) Allergy 反應에 대한 실험

(1) Passive Cutaneous Anaphylaxis(PCA) 反應

Aluminum gel에 현탁시킨 egg albumin (1mg/0.2 ml)을 생쥐 복강에 1차 感作하고 4주 후에 2차 感作을 시켜, 2 주 후에 마우스를 경추탈구하여 도살시킨 다음, 채혈하여 혈청을 분리하여 (IgE 抗血清) 사용시까지 -80℃에서 동결 보존시켰다.

흰쥐 5마리를 1군으로 하여 흰쥐의 등부위를 除毛하고 희석(1:160, 1:80, 1:40)한 IgE 항혈청 0.1 ml를 피하주사하여 감작시킨 뒤, 3 시간 후에 BTSE 500 mg/kg을 경구투여하고, 1 시간 후에 항원(1% egg albumin)과 1% Evans blue를 1 : 1로 혼합한 용액 0.5 ml를 정맥주사하여 PCA를 야기시켰다. 30분 후에 도살하여 청색으로 착색된 피부를 박리하여 細切한 다음 1N KOH 용액 1 ml에 沈積시켜 37℃에서 1일 동안 방치하였다. 0.6N H₃PO₄과 acetone 혼합액(5:3) 9 ml를 첨가하여 원심분리한 후 상층액을 620 nm에서 흡광도를 측정하였다⁴⁴.

(2) Platelet Activating Factor(PAF)에 의한 anaphylaxis 發現

Platelet activating factor(PAF)에 의한 anaphylaxis 發現은 하⁴⁵⁾의 方法에 의해 실시하였다. 즉, 생쥐 8 마리를 1군으로 하여 대조군에는 생리식염수만을, 실험군에는 BTSE 500 mg/kg을 경구투여하고, 1 시간 후에 생쥐 미정맥에 PAF(L- α -phosphatidyl choline, β -acetyl- γ -o-alkyl)용액 25 μ g/ml를 1회 주사한 후 전신성 아나필락시스에 의해 사망하는 생쥐의 수를 관찰하였다.

(3) Compound 48/80에 의한 anaphylaxis 發現

생쥐 8 마리를 1군으로 하여 대조군에는 생리식염수만을 실험군에는 BTSE 500 mg/kg을 경구투여하고, 1 시간 후에 Compound 48/80 10 mg/kg을 복강에 주사하고 사망하는 생쥐의 수를 관찰하였다⁴⁶⁾.

(4) Compound 48/80에 의한 비만세포 탈과립 측정
흰쥐를 ether로 마취하여 치사시킨 다음 Ca^{2+} -Locke용액 10ml를 복강에 주입한 다음 복벽을 2분간 맞사지한 후 10ml용 주사기를 이용해서 복강액을 회수하였다. 4°C에서 1500rpm으로 5분간 원심분리해서 세포를 세척, 수집한 다음 Ca^{2+} -Locke용액 2ml를 가하여 세포부유액을 조제하였다. 다음에 별도로 준비한 원심관에 isotonic percoll용액 (10xHank's sol. 1ml + percoll 9ml) 3.5ml를 가하고 上記의 세포부유액 0.75ml를 관벽을 기울여 조심스럽게 重層한 다음 Hank's sol. 0.5ml를注入하고 10분간 靜置한 후 1,500rpm으로 5분간 원심분리해서 상층의 물층을 제거하고 세포층만을 pasteur pipet으로 취해서 수집한 다음 Ca^{2+} -Locke용액을 가하여 세포를 2회 세정하였다. 0.5% toluidine blue로 염색해서 비만세포를 2×10^6 세

포/ml의 농도로 조정한 다음 그중 100 μ 를 chamber에 注入하고 실온에서 10분간 정치한 다음 대조군에는 Ca^{2+} -Locke용액 100 μ 를 가하고 실험군에는 BTSE 3×10^{-5} g/ml 100 μ 를 가한 다음 다시 10분후에 compound 48/80 (50 μ g/ml) 100 μ 를 가한 후 현미경으로 비만세포 탈과립현상을 관찰하였다⁴⁷⁾.

(5) Arthus 反應

생쥐 8 마리를 1군으로 하여 Yoshikai⁴⁸⁾의 方法에 따라 실험하였다. 항원으로 사용된 SRBC(sheep red blood cell)는 전북대학교 수의과대학에서 사육하고 있는 면양의 경동맥으로부터 채혈 후 Alsever's solution(Dextrose 20.5g/L, sodium citrate 8.0g/L, citric acid 0.55g/L, sodium chloride 4.2g/L)을 가하여 4°C에서 보관하면서 1주일 이내에 사용하였다. SRBC 0.2ml(4×10^8 cells)를 생쥐 복강내에 투여해서 1차 감각시키고 2주후에 동일한 방법으로 2차 감각을 실시하였다. 2차 감각 5일 후에 BTSE 500mg/kg을 경구투여하고 1 시간 후에 2×10^8 개의 SRBC 0.03ml(2×10^7 cells)를 우측 후족척 피하에 투여해서 반응을 야기하였다. 야기 직후(T_0) 및 3시간 후(T_3)에 족척의 두께를 micrometer로 측정한 다음 족척종창의 지표를 구하였다.

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

(6) SRBC에 의한 생쥐 족척종창반응

생쥐 8 마리를 1군으로 하여 Yoshikai⁴⁸⁾의 方法에 따라 BTSE 500mg/kg을 경구투여하고 2×10^7 개의 SRBC 0.03ml(2×10^7 cells)를 생쥐 좌측 후족척 피하에 주사해서 감각시키고 감각 4일후에 다

시 BTSE 500mg/kg을 경구투여하고 1시간 후 우측 후족척 피하에 SRBC 0.025ml(2×10^8 cells)를 투여하여 반응을 야기하였다. 야기직전(T_0) 및 야기 24시간 후(T_{24})에 족척의 두께를 micrometer (Mitutoyo engineers Co.)로 측정 한 다음 족척증상의 지표를 구하였다.

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

(7) DNFB에 의한 접촉성 피부과민반응

생쥐 8마리를 1군으로 하여 $H_a^{49)}$ 의 방법에 따라 생쥐의 복부를 除毛한 다음 실험 1일 및 2일에 0.5% DNFB용액(acetone:olive oil=4:1) 10 μ l를 복부피부에 도포하여 감작한 다음, 5일 후 BTSE 500mg/kg을 경구투여하고 1시간 후 0.2% DNFB용액 10 μ l씩 귀 내외면에 각각 도포하여 야기 조치하였다. 귀 증창증가의 정도는 micrometer를 사용하여 야기직전(T_0), 24시간 후(T_{24}) 및 48시간 후(T_{48})에 귀의 두께를 측정하였으며 증창증가의 정도는 다음 공식에 따라 %로 나타내었다.

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

3) 炎症 反應에 대한 실험

(1) Histamine에 의한 생쥐 족척증상반응

생쥐 8 마리를 1군으로 하여 허⁵⁰⁾의 방법에 따라 대조군에는 생리식염수만을, 실험군에는 BTSE 500mg/kg을 경구투여하고 1 시간 후에 좌측후족의 두께를 micrometer로 측정 한 뒤 기염물질로서 histamine-0.9% saline(30 μ g/20 μ l)을 족척피하에 20 μ l/hind paw를 주사하였다. 주사전, 주사후 30 분, 60 분, 120 분 및 180 분에 족의 두께를 측정하여 부종율을 산출하였다.

$$\text{부종율}(\%) = \frac{\text{실험군의 hind paw의 두께} - \text{대조군의 hind paw의 두께}}{\text{대조군의 hind paw의 두께}} \times 100$$

(2) Acetic acid에 의한 모세혈관투과성 실험

생쥐 8 마리를 1군으로 하여 Whittle⁵¹⁾ 및 Shimomura⁵²⁾의 방법에 따라 대조군에는 생리식염수만을, 실험군에는 BTSE 500 mg/kg을 각각 경구투여하고, 약물대조군에는 sodium salicylate 300 mg/kg을 경구투여하였으며, 1 시간 후에 1% evans blue 5 ml/kg을 꼬리 정맥에 주사하였다. 주사후 즉시 0.6% acetic acid 10 ml/kg을 복강 내에 주사하고 1 시간 후에 생리식염수 5 ml로 복강액을 세척하여 회수한 다음, 3,000 rpm에서 5 분간 원심분리하였다. 상층액을 620 nm에서 흡광도를 측정하여 미리 작성한 검량선에 의해 복강으로 누출된 evans blue의 양을 비색 정량하였다.

$$\text{억제율}(\%) = \frac{\text{대조군의 E.B. 누출량} - \text{실험군의 E.B. 누출량}}{\text{대조군의 E.B. 누출량}} \times 100$$

(3) Acetic acid에 의한 진통작용 실험

생쥐 8마리를 1군으로 하여 Whittle⁵¹⁾의 방법에 따라, 대조군에는 생리식염수만을, 실험군에는 BTSE 500mg/kg을, 약물대조군에는 aminopyrine 100 mg/kg을 각각 경구투여하고 1시간 후에 0.7% acetic acid 10 ml/kg을 복강내에 주사한 다음, 10 분 후부터 10 분간의 writhing syndrome의 횟수를 측정하였다.

4) 統計處理

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

Ⅲ. 實驗結果

1. 免疫反應에 미치는 효과

1) BTSE가 흉선세포 및 비장세포의 생존율에 미치는 효과

흉선세포에서 concanavalin A(Con A)를 첨가한 대조군의 흉선세포의 생존율을 100%로 하였을 때, Con A를 첨가하지 않은 대조군의 세포생존율은 $77.8 \pm 2.2\%$ 로 세포생존율이 감소되었으며, BTSE 투여군의 흉선세포에 Con A를 첨가하였을 때 세포생존율은 $113.1 \pm 1.3\%$ 로, Con A를 첨가하지 않았을 때는 $91.5 \pm 1.7\%$ 로 대조군에 비해 세포생존율이 증가하였다.

비장세포에서 lipopolysaccharide(LPS)를 첨가한 대조군의 비장세포의 생존율을 100%로 하였을 때, LPS를 첨가하지 않았을 때는 $82.3 \pm 1.7\%$ 로 세포생존율이 감소되었으며, BTSE 투여군의 비장세포에 LPS를 첨가하였을 때 세포생존율은 $105.3 \pm 1.3\%$ 로, LPS를 첨가하지 않았을 때는 $85.2 \pm 1.9\%$ 로 대조군과 별 차이가 없었다(Table I).

Table I. The cell viability of thymocytes and splenocytes in BTSE-administered mice.

Samples	Thymocytes(%)		Splenocytes(%)	
	Con A(+)	Con A(-)	LPS(+)	LPS(-)
Control	100.0 ± 1.1	77.8 ± 2.2	100.0 ± 1.2	82.3 ± 1.7
BTSE	$113.1 \pm 1.3^*$	$91.5 \pm 1.7^*$	105.3 ± 1.3	85.2 ± 1.9

BTSE(500mg/kg) was administered p.o. once a day for 7 days in BALB/c mice. The OD of

each well was measured at 570nm with a microplate reader.

The data represents the mean \pm SE of 5 mice.

* : Significantly different from control group($P < 0.01$).

Con A(+): Concanavalin A treated group.

Con A(-): Concanavalin A non-treated group.

LPS(+): Lipopoly- saccharide treated group.

LPS(-): Lipopolysaccharide non-treated group

2) BTSE가 흉선세포 및 비장세포의 subpopulation에 미치는 효과

대조군 흉선세포의 $CD4^+CD8^-$ single positive cell의 population은 $12.0 \pm 1.7\%$, BTSE 투여군의 $CD4^+CD8^-$ single positive cell의 population은 $12.9 \pm 0.4\%$ 로 대조군과 별 차이가 없었다. 흉선세포의 $CD4^-CD8^+$ single positive cell의 population은 대조군에서 $3.4 \pm 0.3\%$, BTSE 투여군의 $CD4^-CD8^+$ single positive cell의 population은 $3.5 \pm 0.2\%$ 로 대조군과 별 차이가 없었다. 대조군 비장세포의 $B220^+$ 세포의 population은 $25.8 \pm 1.6\%$, BTSE 투여군의 $B220^+$ 세포의 population은 $23.5 \pm 1.2\%$ 로 대조군과 별 차이가 없었으나, 대조군의 $Thy1^+$ 세포의 population은 $12.2 \pm 1.3\%$, BTSE 투여군의 $Thy1^+$ 세포의 population은 $17.0 \pm 1.1\%$ 로 대조군에 비해 증가하였다. 대조군 비장세포의 $CD4^+CD8^-$ single positive cell의 population은 $11.5 \pm 0.4\%$ 로, BSTE 투여군의 $CD4^+CD8^-$ single positive cell의 population은 $14.1 \pm 1.0\%$ 로 대조군에 비해 증가하였으며, 대조군의 $CD4^-CD8^+$ single positive cell의 population은 $3.4 \pm 0.2\%$ 로, BTSE 투여군의 $CD4^-CD8^+$ single positive cell의 population

Table II. The subpopulation of thymocytes and splenocytes in BTSE-administered mice.

Samples	Thymocytes(%)		Splenocytes(%)			
	CD4+CD8-	CD4-CD8+	B220+	Thy-1+	CD4+CD8-	CD4-CD8+
Control	12.0±1.7	3.4±0.3	25.8±1.6	12.2±1.3	11.5±0.4	3.4±0.2
BTSE	12.9±0.4	3.5±0.2	23.5±1.2	17.0±1.1*	14.1±1.0*	3.5±0.3

BTSE(500mg/kg) was administered p.o. once a day for 7 days, and then the cells were separated. The subpopulation was measured by a flow cytometry after staining with monoclonal antibody.

The data represents the mean±SE of 5 mice.

*: Significantly different from control group(P<0.05).

은 3.5±0.3%로 대조군과 별 차이가 없었다(Table II).

3) BTSE가 복강 대식세포의 貪食能에 미치는 효과

Chemiluminescence는 식작용이 진행되는 동안 생성되는 oxygen radical에 의해 발생되며, lucigenin에 의해 증가되는 것으로 알려져 있다⁴¹⁾. 대조군의 대식세포에서 생성된 lucigenin chemiluminescence 양보다 BTSE 투여군의 대식세포에서 생성된 lucigenin chemiluminescence 양이 증가하였다(Fig.1).

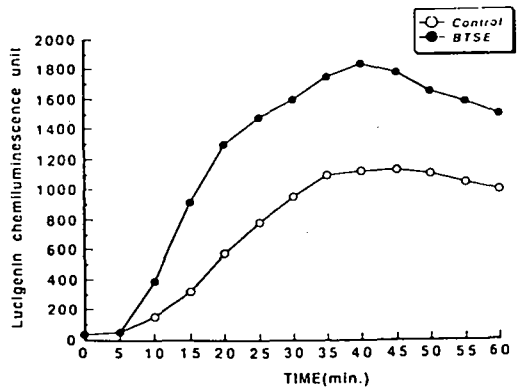


Fig. 1. Lucigenin chemiluminescence of peritoneal macrophages in BTSE-administered mice.

BTSE(500mg/kg) was administered p.o. once a day for 7 days, and peritoneal cells were collected. Macrophages obtained after 2 hrs. adherence period were cultured in RPM1640 medium mixed with opsonized zymosan. The chemiluminescence was measured at 5 min. Intervals for 60 minutes. Other procedures were described as detailed materials and method section.

The data represents the mean of 5 experiments

4) BTSE가 복강 대식세포의 nitric oxide 생성량에 미치는 효과

대조군의 대식세포에 LPS와 γ -IFN을 처리하지 않았을 때 nitric oxide 생성량은 $0.6 \pm 0.1 \mu\text{M}$ 이었으며, LPS와 γ -IFN을 처리하였을 때 NO 생성량은 $10.8 \pm 0.4 \mu\text{M}$ 로 증가하였으며, BTSE 투여군의 NO 생성량은 LPS와 γ -IFN을 처리하지 않았을 때 NO 생성량은 $0.4 \pm 0.1 \mu\text{M}$ 이었으며, LPS와 γ -IFN을 처리하였을 때 NO 생성량은 $4.4 \pm 0.2 \mu\text{M}$ 로 대조군에 비해 감소하였다(Table III).

Table III. The production of nitric oxide in BTSE-administered mice.

Samples	Nitric oxide (μM)	
	Non-treatment of LPS and γ -IFN	Treatment of LPS and γ -IFN
Control	0.6 ± 0.1	10.8 ± 0.4
BTSE	0.4 ± 0.1	$4.4 \pm 0.2^*$

BTSE(500mg/kg) was administered p.o. once a day for 7 days. Peritoneal macrophages obtained after 2 h. adherence period were cultured in RPMI1640 media in the presence or absence of LPS and γ -IFN. The production of nitric oxide was determined by using of Griess reagent.

The data represents the mean \pm SE of 5 mice.

*: Significantly different from control group ($p < 0.01$).

5) BTSE가 SRBC에 대한 적혈구 凝集素價에 미치는 효과

SRBC를 투여하여 형성된 항체가(log2)를 측정

결과 대조군의 항체가는 4.9 ± 0.2 이었으며, BTSE 500 mg/kg 투여군은 6.9 ± 0.2 로 대조군에 비해 유의성있게 증가하였다(Table IV).

Table IV. Hemagglutination(HA) titer in BTSE-administered mice

Samples	HA/titers(log 2)
Control	4.9 ± 0.2
BTSE	$6.9 \pm 0.2^*$

Hemagglutination(HA) titers were assayed at 7 days after SRBC sensitization.

BTSE(500 mg/kg) was administered p.o. for 7 days.

The data represents the mean \pm SE from 8 mice.

*: Significantly different from challenged control group ($P < 0.05$).

2. Allergy 反應에 미치는 효과

1) BTSE가 PCA에 미치는 효과

IgE 항혈청을 만들어 즉시형과민반응의 하나인 PCA반응에 미치는 BTSE의 효과를 살펴 본 결과, 대조군의 Evans blue 누출양은 1:160, 1:80 및 1:40 희석시 각각 13.3 ± 1.6 , 18.3 ± 1.9 및 $39.1 \pm 2.4 \mu\text{g/ml}$ 이었으며, BTSE 투여군에서는 11.6 ± 1.8 , 16.3 ± 1.0 및 $30.4 \pm 1.9 \mu\text{g/ml}$ 로써 1:40 희석시 대조군에 비해 유의성 있게 감소하였다(Table V).

Table V. Passive cutaneous anaphylaxis (PCA) in BTSE-administered mice.

Samples (Dilution of sera)	Leakage of evans blue ($\mu\text{g/ml}$)	
	Control	BTSE
1:160	13.3 \pm 1.6	11.6 \pm 1.8
1:80	18.3 \pm 1.9	16.3 \pm 1.0
1:40	39.1 \pm 2.4	30.4 \pm 1.9*

BTSE(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).

2) BTSE가 PAF에 의한 anaphylaxis 發現에 미치는 효과

PAF 투여시에 대조군은 생쥐 8 마리 중 8 마리 모두가 사망하였으며 사망시간은 21.1 \pm 2.1분 이었으나, BTSE 투여군은 8 마리중 3 마리만 사망하였고 사망시간도 28.3 \pm 1.8분으로 연장되었다(Table VI).

Table VI. Platelet Activating Factor(PAF) induced fatal anaphylaxis in BTSE-administered mice.

Samples	No. of animal (Died/used)	Time to death (min.)
Control	8/8	21.1 \pm 2.1
BTSE	3/8	28.3 \pm 1.3*

BTSE(500 mg/kg) was administered p.o. 1 hour before PAF(25 $\mu\text{g/ml}$ i.v.) injection.

#: The data represents the mean \pm SE from 8 mice.

*: Significantly different from control group(p<0.05).

3) BTSE가 compound 48/80에 의한 anaphylaxis 發現에 미치는 효과

Compound 48/80 투여시 대조군은 생쥐 8 마리 중 8 마리 모두가 사망하였으며, BTSE 투여군은 8 마리중 4 마리가 사망하였다(Table VII).

Table VII. Compound 48/80 induced lethal anaphylaxis in BTSE-administered mice.

Samples	No. of animal (Died/used)
Control	8/8
BTSE	4/8

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

4) BTSE가 compound 48/80에 의한 비만세포 탈과립에 미치는 효과

Isotonic percoll용액으로 순수분리한 복강비만세포의 탈과립작용을 관찰한 결과, Ca²⁺-Locke용액으로 부유시킨 정상비만세포에서는 세포막이 뚜렷하며 세포질에는 광굴절률이 강한 과립들로 들어차서 핵이 분명하게 관찰되지 않았으나, compound 48/80 용액을 첨가하면 세포가 팽대되어 세포의 변연부가 불규칙하게 변하였으며 세포질내 공포상구조와 더불어 광굴절률이 약해진 과립들이 세포표면으로 돌출되는 탈과립이 유발되었다. 비만세포부유액에 BTSE를 10분간 전처리한 후 compound 48/80용액을

첨가해서 관찰한 결과 compound 48/80을 처리한 대조군에 비하여 탈과립이 억제되었다(Fig.2).

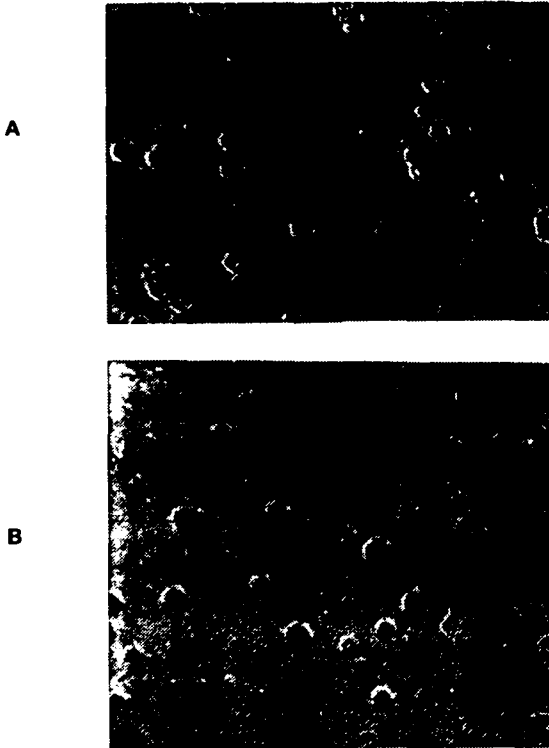


Fig. 2. Effect of BTSE on the degranulation of peritoneal mast cells treated by compound 48/80

A(Control group) : The cells treated by compound 48/80 shows swelling, disrupted boundary and degranulation. B(BTSE treated group) : The cells treated by compound 48/80 and BTSE(3×10^{-5} g/ml) shows clear smooth outline and the inhibition of degranulation(magnification $\times 400$).

5) BTSE가 Arthus 反應에 미치는 효과

SRBC 투여 전의 대조군의 hind paw 두께는

1.50 ± 0.03 mm 이었으며, SRBC 투여 3 시간 후 대조군의 hind paw 두께는 1.78 ± 0.02 mm로 18.7% 증가되었으며, BTSE 500 mg/kg 투여군은 1.56 ± 0.05 mm에서 1.77 ± 0.05 mm로 13.5% 증가되어 대조군에 비해 별 차이가 없었다(Table VIII).

Table VIII. Arthus reaction in BTSE-administered mice

Samples	Footpad thickness(mm)	
	T0	T3
Control	1.50 ± 0.03	1.78 ± 0.02
BTSE	1.56 ± 0.05	1.77 ± 0.05

Mice were sensitized with 4×10^8 SRBC on 0 day and challenged with 4×10^8 SRBC on 14 day.

BTSE(500 mg/kg) was administered p.o. on the 5 day after SRBC -sensitization.

Footpad thickness was measured just before challenge(T_0) and agains at 3 hr(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.

6) BTSE가 SRBC에 의한 족척종창반응에 미치는 효과

SRBC 투여 24 시간 경과 후 hind paw 두께는 대조군에서 1.48 ± 0.04 mm에서 1.68 ± 0.04 mm로 15.5% 증가되었으며, BTSE 500 mg/kg 투여군은 1.51 ± 0.04 mm에서 1.55 ± 0.03 mm로 2.6% 증가되어 대조군에 비하여 감소되었다(Table IX).

Table IX. SRBC induced delayed type hypersensitivity in BTSE-administered mice

Samples	Footpad thickness(mm)	
	T0	T24
Control	1.48±0.04	1.68±0.04
BTSE	1.51±0.04	1.55±0.03*

Mice were sensitized with 2 X 10⁷ SRBC on 0 day and challenged with 0.03 ml of 2 X 10⁸ SRBC on 4 day.

BTSE(500 mg/kg) was administered p.o. on the indicated day of SRBC-sensitization.

Footpad thickness was measured just before challenge(T₀) and agains at 24 hr(T₂₄) after challenge, and calculated as following formula: % Increase = (T₂₄ - T₀)/T₀ X 100.

The data(footpad thickness(mm)) represents the mean±SE from 8 mice.

*: Significantly different from control group (p<0.05).

7) BTSE가 DNFB에 의한 접촉성 피부 과민반응에 미치는 효과

DNFB 도포 직전의 대조군의 귀 두께는 0.31±0.01 mm 이었으며, 도포 24 및 48 시간 경과 후 귀 두께는 각각 0.56±0.02 및 0.63±0.01 mm로 증가하였다. BTSE 500 mg/kg 투여군은 DNFB 도포 24 및 48 시간 경과 후 귀 두께는 각각 0.51±0.02 및 0.55±0.02 mm로 대조군에 비해 감소하였다(Table X).

Table X. Contact dermatitis induced by DNFB in BTSE-administered mice

Samples	Ear thickness(mm)			% Increase	
	T0	T24	T48	T24	T48
	Control	0.31±0.01	0.56±0.02	0.63±0.01	80.7
BTSE	0.31±0.01	0.51±0.02*	0.55±0.02**	64.5	77.5

Mice were sensitized with 0.5% DNFB on 0 day and 1 day challenged with 0.2% DNFB on 5 day.

BTSE(500 mg/kg) was administered p.o. for 5 day.

Ear thickness was measured just before challenge(T₀) and agains at 24 hr(T₂₄) and 48 hr(T₄₈) after challenge, and calculated as following formula: % Increase = (T₂₄ or T₄₈ - T₀)/T₀ X 100.

#: The data(Ear thickness(mm)) represents the mean±SE from 8 mice.

: Significantly different from control group(: p<0.05, **: p<0.01).

3. 炎症反應에 미치는 효과

1) BTSE가 histamine에 의한 생쥐 족 척증창반응에 미치는 효과

Histamine 투여 직전의 대조군의 hind paw 두께는 1.73±0.04 mm 이었으며, 투여후 30 분, 60 분, 120 분 및 180 분 경과 후 대조군의 hind paw 두께는 각각 2.19±0.03, 2.13±0.04, 1.98±0.04 및 1.89±0.02 mm 이었다. BTSE 500 mg/kg 투여군은 각각 2.06±0.02, 2.08±0.04,

1.95±0.03 및 1.87±0.04 mm로 30 분에 대조군에 비해 유의성 있게 감소하였다.

Table XI. The acute hind paw edema induced by histamine in BTSE-administered mice.

Samples	Hind paw thickness(mm)			
	30	60	120	180(min.)
Control	2.19±0.03 (26.6)#	2.13±0.04 (23.1)	1.98±0.04 (14.5)	1.89±0.02 (9.2)
BTSE	2.06±0.02* (19.1)	2.08±0.04 (20.2)	1.95±0.03 (12.7)	1.87±0.04 (8.1)

BTSE(500 mg/kg) was administered p.o. 1 hour before histamine injection.

The data represents the mean±SE from 8 mice.

*: Significantly different from control group (P<0.05).

#: % Increase of thickness

The hind paw thickness of normal mice was 1.73±0.04mm

2) BTSE가 acetic acid에 의한 모세혈관투과성에 미치는 효과

대조군의 evans blue 누출량은 17.4±1.8 μg/ml인데 비해 BTSE 500 mg/kg 투여군은 10.6±0.9 μg/ml로, 약물대조군인 sodium salicylate 300 mg/kg 투여군은 7.3±0.6 μg/ml으로 대조군에 비해 39.0% 및 58.3% 모세혈관투과성이 억제되었다.

Table XII. The permeability of evans blue into peritoneal cavity by 0.6% acetic acid in BTSE-administered mice.

Samples	Dose (mg/kg)	Leakage of evans blue(μg/ml)	Inhibition (%)
Control	-	17.4±1.8#	-
BTSE	500	10.6±0.9*	39.0
Sod. salicylate	300	7.3±0.6**	58.3

#: The data represents the mean±SE from 8 mice.

: Significantly different from control group (:P<0.05, **:P<0.01).

3) BTSE가 acetic acid에 의한鎮痛作用에 미치는 효과

대조군의 writhing syndrome은 21.9±2.3회였으나, BTSE 투여군은 7.6±2.6회로, 약물대조군인 aminopyrine 투여군은 10.8±2.5회로 각각 65.3% 및 50.7%로 감소하였다(Table XIII).

Table XIII. Analgesic effect on acetic acid induced writhing syndrome in BTSE-administered mice.

Samples	Dose (mg/kg)	No. of Writhing syndrome	Inhibition (%)
Control	-	21.9±2.3#	-
BTSE	500	7.6±2.6**	65.3
Aminopyrine	100	10.8±2.5*	50.7

#: The data represents the mean±SE from 8 mice.

: Significantly different from control group (: P<0.01, **: P<0.001).

IV. 考 察

防風通聖散의 적응증을 역대 文獻에서 살펴보면, 劉⁵³⁾는 주로 風熱로 인한 癩疹이나 瘡疥, 혹은 熱毒이 內鬱하여 생긴 煩渴, 喘悶, 大小便不通 등의 症에 사용한다고 하였고, 張⁵⁴⁾은 溫病이나 傷寒의 裏證에 사용한다고 하였으며, 朱⁵⁵⁾는 內煩懊憹不得眠이나 臑膈積熱하여 目赤耳閉한 症에 사용한다 하였다. 또한 朱⁵⁶⁾는 破傷中風에, 李⁵⁷⁾는 打撲跌傷이나 外科癰疽瘡癤發斑에 사용한다고 하였으며, 龔⁵⁸⁾은 諸熱譫妄驚狂과 같이 대체로 鬱熱衝炎에서 發하는 諸般 疾患을 適應症으로 열거하고 있으며, 許⁵⁹⁾는 風, 熱, 火 등의 항목과 諸瘡門 등에서 이상의 諸症과 유사한 適應例를 제시하였다. 또한 陳⁶⁰⁾은 이 처방이 表裏鬱熱을 동시에 淸解하므로 類中風 實火에 대한 대표적인 처방이 된다고 하였다.

한편, 防風通聖散을 구성하고 있는 藥物의 효능에 대하여 汪⁶¹⁾과 李⁶²⁾는 輕浮升散하는 防風 荊芥 薄荷 麻黃 등은 解表散寒하므로 風熱之邪를 汗腺을 통하여 上部로 升散시키며, 破結通幽하는 大黃 芒硝와 降火利水하는 梔子 滑石을 함께 배합하여 通利大小便함으로써 울결된 風熱之邪를 排泄시키는 한편, 淸肺瀉胃하는 桔梗 石膏로 肺胃에 만연한 風熱을 淸解하며, 川芎 當歸 芍藥의 和血補肝하는 성능으로 肝木受邪를 치료하고, 黃芩으로 中上之火를 淸解하는 동시에 連翹로 氣聚血凝을 解散하며 甘草의 和中하는 성능으로 淸열한 藥性作用을 완해하고 白朮으로써 健脾燥濕시켜 上下를 分消하고 表裏를 交治한다고 하였다.

또한 康³³⁾은 防風通聖散의 方劑 構成에 대하여 益元散, 調胃承氣湯, 四物湯 등을 기본으로 하고 解熱, 瀉火, 消炎의 작용이 있는 石膏, 黃芩, 梔子, 大黃을 加하였으며, 外感風熱을 治하는 麻黃, 防風, 荊芥,

薄荷, 桔梗 등을 합하여 만든 처방으로, 益元散이 腸胃內를 解毒하고 利尿하는 효능과 承氣湯의 排便, 消炎, 解熱의 효능, 四物湯의 循環促進 효능 등을 이용하여 全身의 新陳代謝를 원활히 하고 老廢物을 배설하며 消炎 解毒의 效能을 더하였으므로 實熱證에 광범위한 治療效果를 올리도록 구성되었다고 하였다.

최근 들어 臨床에 활용되고 있는 것을 살펴 보면, 朴⁶³⁾은 楊梅瘡, 口舌生瘡, 癰疽, 瘡癤 등에 사용하였고, 蔡^{64,65)}는 禿瘡, 髮際瘡, 鼻淵 등의 炎症性疾患에 사용하였으며, 矢數⁶⁶⁾는 慢性腎炎, 頭瘡, 丹毒, 痔疾, 痔漏, 梅毒, 여러 皮膚病, 上顎洞炎, 糖尿病으로 인한 癰疽 등에 치료효과가 있음을 보고한 바 있다.

防風通聖散에 관한 實驗的 研究로는 金²⁴⁾의 家兔 血清 脂質含量에 미치는 影響, 孟²⁵⁾의 CCL4 中毒 白鼠의 血液像에 미치는 影響, 安²⁶⁾의 肥滿誘導白鼠의 體重 및 脂質代謝에 미치는 影響, 李²⁷⁾의 高血壓 高血脂에 미치는 影響, 成²⁹⁾의 鎮痛 消炎 解熱 및 抗菌作用에 관한 研究, 李³⁰⁾의 鎮痛, 抗痙攣, 鎮靜 및 腸管運動에 미치는 影響, 申³¹⁾의 白鼠의 肥滿症 및 肥滿細胞에 미치는 影響 등에 관한 것이 보고되어 있다.

이와같은 내용을 종합해 보면 防風通聖散은 제반 實熱을 수반하는 炎症性 疾患, 外感에서 오거나 中毒性으로 오는 風熱性 질환, 鬱熱이나 熱毒으로 인한 제반 질환과 熱極生風으로 인한 類中風 등에 다양하게 응용할 수 있는 處方으로 思料되며, 그 效能은 解熱, 解毒, 鎮痛, 消炎, 通便, 利尿 및 浮腫抑制, 涼血破瘀 등의 效能과 抗알레르기 作用이 있는 것으로 思料된다.

그러나 그 作用 機轉에 대하여는 잘 알려져 있지 않으므로 本 實驗에서는 防風通聖散이 면역세포, 알레르기 및 소염진통작용에 미치는 영향을 관찰함으

로써 그 作用 機轉과 效能을 관찰하고자 하였다.

韓醫學에서 免疫이라는 용어는 18세기에 저술된 「免疫類方」 중에서 보이는데, 이 때의 免疫의 概念은 現代醫學에서의 免疫의 概念과 기본적으로 일치하는 것으로 볼 수 있다³⁾. 그러나 넓은 의미에서 보자면, 疾病을 일으키는 邪氣에 대항하는 正氣의 개념이 免疫의 개념으로 이해될 수 있을 것이다.

「素問·上古天真論」²⁾에서 '眞氣從之 精神內守 病安從來'라 하였는데, 여기서 眞氣는 통상적으로 正氣라 하는 것으로 邪氣에 대칭되는 말이다. 正氣는 신체 내에서 일체의 疾病에 抵抗하는 시스템과 物質을 말하는 것으로 臟腑經絡 營衛氣血의 정상적인 生理機能을 포괄하고 있다. 邪氣는 일체의 疾病을 일으키는 原因要素를 총칭하는 것으로, 外界의 六淫之邪 뿐만 아니라 臟腑의 機能失調로 인한 內因, 또 그 결과로 생성되는 病理的 產物(瘀血, 痰飲 등)을 말한다. 「素問·刺法論」²⁾에는 '正氣存內 邪不可干'이라 하여 신체의 正氣가 충실하면 外邪와 內邪를 막론하고 모두 예방할 수 있다고 하였는 바 이러한 正氣와 邪氣의 투쟁과정인 '正邪相爭'을 免疫反應이라 할 수 있다. 다시 말하면 正氣는 免疫機能을 말하고 正邪相爭은 免疫反應을 말하는 것으로 이것은 韓醫學과 現代醫學의 理論이 免疫學 觀點에서 서로 유사함을 나타낸 것이다.

단편적으로 보이는 기록으로 巢⁴⁾의 「諸病源候論」에 '漆有毒 人有稟性畏漆 但見漆使中其毒 喜面癢 然後 胸膈脛膺 皆悉癢癢 …… 若火燒漆 其毒氣則厲 著人急重 亦有性自耐者 終日燒煮 竟不爲害也'라 하여 漆에 대한 알레르기反應이 기재된 것이 있다. 또한 「證治要訣」에 '有人一生 不可食鷄肉及獐魚等物 再食則 丹數發'이라 하여 飲食物에 대한 過敏反應이 언급되어 있다⁵⁾. 그러나 이러한 사실들만으로 韓醫學에서 過敏反應에 대한 기전을 알고 있었다고 보기는

어려울 것이다.

그럼에도 불구하고 각종의 알레르기 疾患을 韓醫學적으로 유용하게 治療할 수 있다는 점에서 韓藥의 抗알레르기 作用과 免疫調節 效能을 다각도로 觀察할 필요가 있으며, 알레르기의 機轉에 대하여 韓醫學의 面에서 재해석해 볼 필요가 있을 것이다. 알레르기反應은 現代醫學에서 보듯 단순한 抗原-抗體反應에 그치는 것이 아니고 그 이면에는 반드시 臟腑 機能의 陰陽虛實이나 經絡氣血의 阻滯와 같은 내부적 要因이 함께 작용하고 있을 것이기 때문이다.

免疫系는 태어날 때부터 보유하고 있으면서 自己에게 해로운 물질이나 細菌 등의 抗原이 체내로 침입하였을 경우, 주로 食細胞의 食食作用과 NK 細胞의 細胞 殺害作用 등이 작용하여 생체를 방어하는 先天性 自然免疫과 抗原인 異物質에 대해 T 淋巴球 및 抗體가 特異的인 反應을 일으켜서 방어하는 後天性 特異獲得免疫의 두가지로 분류된다. 또한 特異獲得免疫은 주로 T 淋巴球에 의한 細胞性免疫과 B 淋巴球가 생성하는 抗體에 의한 體液性免疫의 두가지 방어기전으로 분류된다⁶⁾.

본 연구에서는 생체 免疫反應에 미치는 防風通聖散의 影響을 觀察하고자 胸腺세포와 비장세포의 生存率 및 subpopulation, 복강 대식세포의 食食能 및 nitric oxide 生成量을 측정하였으며, SRBC에 대한 적혈구 凝集素價를 측정하였다.

최초의 抗原 刺戟을 받아 면역학적으로 활성화된 개체가 동일한 抗原과 재차 접촉하였을 때 2차 免疫反應이 야기된다. 그러나 항원이 과량으로 존재하거나 體液性 또는 細胞性 免疫이 고조되어 있을 경우에는 그 반응이 과잉으로 일어나서 組織損傷이 일어나는데, 이를 過敏反應 또는 알레르기라고 부르며, 만약에 이러한 反應이 臨床的으로 診療의 대상이 될 정도로 심각하면 이를 過敏性疾患으로 부른다. 알레

르기 환자의 증가 이유는 구체적으로 밝혀지지 않았지만, 심각한 大氣汚染이나, 家庭의 暖房보급으로 인한 집 먼지속의 진드기 증가, 고칼로리, 高脂肪食의 影響 등 여러 가지 要因⁶⁹⁾이 지적되고 있다.

알레르기는 Gell과 Coombs⁷⁰⁾에 의해 제창된 크게 네가지 型으로 分類되는데 이 중 第 I, II 및 III 型은 항원과 체액성 항체의 상호작용에 기인된 即時 型反應이라 부르며, 第 IV 型은 임파구 표면의 抗體樣 物質과 抗原의 反應으로서 遲延型反應이라 부른다. 食品은 주로 第 I 型에 관여하는 것으로 推定되며 II 型 및 III 型 알레르기에는 적게 관여하고 있으며⁷¹⁾ 皮膚科 영역의 研究에서는 제 I 型和 IV 型이 복합적으로 일어날 가능성이 提示되고 있다.

第 I 型은 아나필락시스형反應으로 항원이 細胞親和性 IgE 항체와 결합하면 架橋를 형성하여 IgE 항체의 수용체를 가진 조직 비만세포 또는 혈액 호염기구 內에서 一連의 活性化 反應이 일어나면서 비만세포/호염기구가 탈과립되어 histamine, serotonin 등의 1차성 및 leukotriene류, PAF 등 2차성의 혈관작용성 媒介物들이 방출되어 알레르기反應이 유발된다. 이 型의 疾患으로는 anaphylaxis shock, 기관지천식, 담마진, 枯草熱을 위시한 花粉症 및 알레르기성 비염 등이 있다.

第 II 型은 세포장해형 反應으로 세포표면 항원이 IgG 및 IgM 등의 항체와 결합하여 補體系를 活性化하고 세포막 손상 및 溶解가 야기되며 추가되는 反應으로서 항체에 피복된 세포들이 食作用에 대한 感受性이 높아지는 현상이다. 이 型의 疾患으로는 용혈성 빈혈, 재생불량성 빈혈, Rh 혈액형 부적합, 혈소판감소증 등이 있다.

第 III 型은 免疫複合體에 의한 反應으로 IgG 항체와 항원분자가 결합한 면역복합체가 조직에 축적하면 주변의 組織細胞가 傷害되는 現象이다. 이 型

의 疾患으로는 혈청병, 급·만성 신사구체염, 류마티스성 관절염 등의 자가면역질환이 알려져 있다. 또한 국소성면역복합체성 질환인 Arthus 反應은 급성면역복합체성 血管炎의 결과로 야기되는 국소성 조직괴사로서 보통 皮膚에 일어나는 反應이다.

第 IV 型은 遲延型過敏反應으로 부르며 세균, 바이러스, 진균에 대한 알레르기反應으로서 I~III 型의 항체가 反應의 주역이 되는 작용기전과는 달리 주로 감각 T 임파구에 의해 주도되는 반응이며 發赤과 硬結이 특징적으로 나타나는데, 특히 24-48 시간 후에 정점에 달하고 그 후에 점점 쇠퇴한다. 이 型의 대표적인 疾患으로는 접촉성 피부염, 이식조직의 拒否反應 등이 있다⁷²⁾.

본 실험에서는 防風通聖散이 알레르기 反應 중 어느 型에 영향을 미치는 가를 관찰하고자 실험하였다.

第 I 型에 미치는 영향을 관찰하고자 PCA(passive cutaneous anaphylaxis)반응, PAF(platelet activating factor)에 의한 anaphylaxis의 發現, compound 48/80에 의한 anaphylaxis의 發現 및 비만세포 탈과립, histamine에 의한 마우스 즉척종창반응, 모세혈관투과성실험 등을 실시하였다.

第 III 型에 미치는 영향을 관찰하고자 Arthus 反應을 측정하였다. 이 反應은 어떤 항원에 대한 순환항체들을 가지고 있는 免疫된 個體에 그 항원을 피내주사함으로써 實驗적으로 야기시킬 수 있는데 항체들은 과잉상태에 있기 때문에 항원이 혈관벽내로 침투하면 큰 免疫複合體들이 형성되어 이것들이 局所性으로 沈着해서 炎症을 유발하는 것을 지표로 하는 실험이다.

第 IV 型에 미치는 영향을 관찰하고자 SRBC에 의한 생쥐 즉척종창반응 및 접촉성 피부과민반응을 측정하였다.

한편, 炎症反應이란 생체 조직이 異物質의 침입에

의해 傷害되는 경우의 생체반응을 의미하는데, 특히 감염성 微生物이 침입하여 야기되는 조직상해에 대해 宿主는 炎症性反應을 일으키게 된다. 염증반응은 感染部位로부터 혈액공급량이 증가되면, 혈관내피세포의 반응에 의해 혈관투과성이 항진되고, 백혈구(특히 好中球)와 식세포가 모세혈관으로부터 조직중으로 移行하여 감염 부위로 이동하게 된다. 이때 histamine, bradykinin 등과 같은 물질들이 분비되어 炎症 및 痛症을 매개하는 것으로 알려져 있다⁷³⁾.

따라서 본 실험에서는 炎症反應에 대한 防風通聖散의 효과를 살펴 보기 위하여 histamine에 의한 생쥐 축적증상반응, acetic acid에 의한 모세혈관투과성 반응 및 鎮痛作用 실험을 실시하였다.

이상의 實驗結果를 토대로 考察해 보면 다음과 같다.

생체의 免疫系는 흉선으로부터 분화되는 T 세포와 骨髓에서 유래하는 B 세포 및 대식세포 등이 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다.

흉선세포는 흉선의 皮質 및 髓質에서 분화과정을 거쳐 helper T 임파구(CD4⁺) 및 cytotoxic T 임파구(CD8⁺)로 분화되며, 분화된 helper T 세포는 IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, γ -IFN 및 MAF 등의 cytokine을 분비하여 다른 T 세포, B 세포 및 대식세포의 增殖과 분화를 촉진하는 것으로 알려져 있고, Cytotoxic T 세포는 腫瘍細胞의 lysis를 일으키며 대식세포를 활성화시키는 것으로 알려져 있다⁷⁴⁾. 정상 마우스 胸腺에서 CD4⁺CD8⁻ 세포는 약 12%이며, CD4⁻CD8⁺ 세포는 약 3%로 보고되어 있으며, 본 실험에서도 대조군의 흉선세포 subpopulation은 비슷하였으나, BTSE는 이들 population에 변화를 주지 않았다. 이는 BTSE가 흉선세포가 미성숙 상태에서 성숙 T 임파구로 분화되는 과정에 영향을 주지

않음을 의미하는 것이다. 그러나 비장세포에서 성숙 T 세포 比率에는 영향을 미치고 있어, BTSE 투여군에서 대조군에 비해 Thy-1⁺ 세포가 증가하였으며, 특히 CD4⁺CD8⁻ single positive cell인 helper T 세포의 比率가 증가하였다. 이는 BTSE 투여에 의해 비장의 helper T 세포 작용이 증강될 수 있음을 示唆하는 것이다.

Nitric oxide는 T 임파구가 생성하는 cytokine을 조절하며, in vivo에서 T 임파구의 생명을 조절하는 因子 중 하나로 알려져 있다⁷⁵⁾. Nitric oxide는 L-arginine에 nitric oxide synthetase에 의해 생성되며, nitric oxide synthetase에는 constitutive nitric oxide synthetase(cNOS) 및 inducible nitric oxide synthetase(iNOS)가 있으며, cNOS는 血管內皮 및 腦에서, iNOS는 활성화된 대식세포에서 발견되었다⁷⁶⁾. BTSE 투여에 의해 복막 대식세포에서 생성되는 nitric oxide가 감소되었다는 것은 BTSE가 iNOS를 抑制하는 작용이 있음을 의미하는 것이다.

대식세포의 주요한 機能은 항원방어 기능과 食作用 기능이라 할 수 있다. 이전에는 食作用을 측정하는데 많은 세포를 필요로 하였으나, 최근에는 lucigenin을 이용하여 反應을 증강시킴으로써 96 well microplate를 이용하여 적은 수의 세포로도 phagocyte chemiluminescence를 luminometer로 측정하는 방법이 개발되었다. 이 방법의 원리는 대식세포가 입자를 食作用하는 동안 발생하는 酸素基를 측정하는 것으로 적은 수의 細胞로 간편하게 食食能을 측정할 수 있다는 장점이 있다⁷⁷⁾. BTSE는 in vivo계에서 lucigenin chemiluminescence를 증가시켰는데, 이는 BTSE가 대식세포의 食食能을 증가시키고 있음을 의미하는 것이다. Nitric oxide는 대식세포의 食食能을 抑制한다는 전 등⁷⁸⁾의

보고와 비교하였을 때, BTSE에 의해 증가된 食食能은 BTSE가 대식세포로부터 nitric oxide 생성을 감소시켰기 때문이라 추정되지만, 자세한 기전은 추후 研究되어야 할 것이다.

또한, 적혈구 凝集素價에 대한 BTSE의 효과를 검토하였는데 이 反應은 적혈구 表層 위의 항원-항체가 반응하여 적혈구가 응집을 일으키는 것을 지표로 하여 可溶性 항원에 대한 항체를 확인하기 위해 사용되는 실험으로, 본 研究에서는 BTSE 투여에 의해 적혈구 凝集素價가 有意性있게 증가하였다. 이것은 BTSE가 異種 赤血球에 대한 항체생성을 증가시켜, 항체가 주도하는 體液性 免疫反應을 항진시키는 효과가 있음을 示唆하는 것이다.

수동 피부 아나필락시스(PCA) 반응은 즉시형과 민반응에 세포친화성 항체가 관여하고 있는 것을 증명하는 生體內에서의 受身 移入의 技法으로서 항원을 생쥐 皮內에 주사하면 細胞親和性 항체는 세포와 결합하지만 세포와 결합하지 않은 항체는 소실될 때까지 방치한 다음 항원을 evans blue와 함께 혼합하여 정맥주사를 하면 항원이 세포와 결합한 항체와 반응하고 있는 곳에서는 histamine 등의 媒介物이 유리되어 血管壁의 透過性이 증가하고 혈장과 염색 물질이 누출해서 皮膚에 靑色斑으로 나타나므로 그 크기와 색소의 濃度를 측정하는 방법이다. 본 실험 결과 BTSE 투여시 1:40 희석시 대조군에 비해 PCA 反應이 억제되었다. 이는 BTSE가 PCA에 의한 즉시형과민반응을 억제하는 효과가 있음을 의미하는 것이다.

PAF는 Benveniste 등⁷⁹⁾ 의하여 IgE로 感作된 토끼의 호흡기에서 1980년에 처음으로 분리된 이후 第 I 型 과민반응 및 炎症反應의 강력한 媒介物임이 확인되었으며, 혈소판 뿐만 아니라 호중구, 호산구, 대식세포, 혈관내피세포 등 각종 세포에서 분비

되고 있음이 밝혀졌으며⁸⁰⁾, 이를 動物에 주사하면 IgE 介介性 아나필락시스와 같은 症狀이 발현됨이 증명되었다⁸¹⁾. 본 실험에서 대조군은 PAF 투여시 모든 동물이 사망하였으나, BTSE 투여시에는 8마리 중 3마리만 사망하였다. 이는 BTSE가 PAF에 의한 전신성 anaphylaxis를 抑制하는 作用을 가지고 있음을 示唆하는 것이라 할 수 있다.

少量으로 血壓低下, 피부조직으로부터 histamine 방출 및 비만세포로부터의 탈과립, histamine 방출 등을 特異적으로 촉진하는 作用을 가진 compound 48/80을 사용하여 실험한 결과, BTSE 투여시 compound 48/80에 의한 anaphylaxis의 발현이 抑制되었으며, in vitro 계에서도 compound 48/80에 의한 비만세포 탈과립을 억제하였다. 이러한 결과들은 BTSE가 第 I 型 알레르기에 효과가 있음을 시사하는 것이라 할 수 있다.

第 III 型 알레르기에 미치는 效果를 검토하기 위하여 Arthus反應을 指標로 하여 실험을 행하였다. 이 반응은 可溶性 항원에 의해 과면역이 된 상태에서 그 항원에 대한 沈降性의 항체를 생성하고 있는 동물에 이 可溶性 항원을 재차 피내투여했을 때 나타나는 과민반응으로서, 항원으로는 SRBC가 사용되며, 이때 항원-항체가 결합하여 모세혈관내에서 沈降性의 면역복합체가 만들어져서 補體系를 활성화한다. 보체 제 3 성분의 파편(C3a)은 細胞遊走性, anaphylatoxin의 作用을 가지고 있어서 면역복합체의 주변에 遊走細胞가 모이고 호중구 등의 다핵백혈구가 복합체를 食食한 다음 각종 리소좀 효소들이 방출되면서 부근의 조직손상이 일어난다. 또 복합체의 주위에서 혈소판의 凝集이 일어나면서 浮腫, 發赤이 발생하고 혈류장애로 인한 괴사가 진행되는 것이 특징이다⁸²⁾. 그러나 BTSE는 이러한 Arthus反應에는 직접적인 효과가 인정되지 않았다. 이 결과

는 BTSE가 제 III 형 알레르기에 효과가 없음을 示唆하는 것이다.

第 IV 형 알레르기反應은 지연형과민증(DTH)으로서 특히 DTH반응은 感作된 T 임파구와 식세포에 의해 전달되는 細胞媒介性反應이 특징이다. 접촉성 과민증이 혈청(항체)의 受身移入에 의해 정상동물에 전달되는 것이 아니고, 세포의 移入에 의해서 전달된다. 이 반응은 紅斑과 硬結이 특징적으로 나타나고 주사 후 24-48시간이 지나서 최대가 된다. 본 실험에서는 SRBC에 의한 즉척종창반응과 DNFB에 의한 접촉성 피부과민반응을 지표로 하여 검토하였는데 BTSE는 SRBC투여에 의한 즉척종창반응을 有意性있게 減少시켰으며, DNFB에 의한 접촉성 過敏反應도 억제하였다. 이 결과는 BTSE가 第 IV 형 알레르기에 효과가 있음을 示唆하는 것이다.

BTSE의 炎症反應에 대한 작용을 검토하고자, histamine 투여에 의한 마우스 즉척종창반응에 미치는 효과를 살펴 본 결과, BTSE가 histamine에 의한 急性 足浮腫 억제효과가 투여 30분 후에 나타났다. Histamine 투여 1 시간 전에 부종이 억제되면 anti-histamine 또는 anti-serotonin 작용이고 1 시간 후에 부종이 억제되면 steroid 작용일 可能性이 있다고 보고한 Oyanagui⁸³⁾의 결과와 比較하였을 때, BTSE가 anti-histamine 작용을 가지고 있으리라 추정할 수 있다.

Acetic acid에 의한 모세혈관 투과성실험에서 BTSE는 有意性있는 모세혈관 투과성 抑制效果를 나타내었다. BTSE 500mg/kg 투여시 억제율이 39%로 sod. salicylate 300mg/kg 투여시의 58.3% 보다 약하지만 대조군에 비하여는 有意性 있는 모세혈관 투과성 抑制作用이 있었다. 炎症의 媒介物인 histamine이 증가하면 모세혈관이 확장된다는 사실과 比較할 때, 이 결과도 BTSE가 anti-

histamine 작용이 있음을 示唆하는 것이라 할 수 있다.

한편 鎮痛作用을 관찰하기 위하여 acetic acid에 의한 writhing syndrome을 측정하였다. Writhing syndrome은 BTSE 500mg/kg 투여시 65.3%, aminopyrine 100mg/kg 투여시 50.7% 억제되었다. 이는 BTSE가 aminopyrine 보다 더 강력한 鎮痛作用이 있음을 의미하는 것이다.

이상의 實驗結果를 考察해 본 결과 防風通聖散은 免疫增強作用, 抗알레르기作用 및 抗炎作用, 그리고 강력한 鎮痛作用이 있는 것으로 보인다. 따라서 臨床에서 각종 알레르기性 疾患과 免疫低下로 야기되는 각종 炎症性 疾患에 폭넓게 應用될 수 있을 것으로 思料된다. 그리고 防風通聖散의 鎮痛效果에 대한 實驗的 研究와 臨床的 研究가 향후에 더 심도있게 進行되어 이에 대한 活用이 이루어진다면 防風通聖散의 臨床的 應用領域을 더 넓힐 수 있을 것으로 기대된다.

V. 結 論

防風通聖散(BTSE)을 생쥐에 投與時 免疫, 알레르기 및 炎症에 미치는 영향은 다음과 같다.

1. BTSE는 흉선세포의 生存率은 增加시켰으나, 비장세포의 生存率에는 영향을 주지 않았다.
2. BTSE는 흉선세포의 T_H 및 T_C 세포의 population에는 影響을 주지 않았으나, 비장세포의 Thy-1⁺ 세포 및 T_H 세포의 population은 增加시켰다.
3. BTSE는 복강 대식세포로부터 nitric oxide의 生成을 抑制하였다.
4. BTSE는 복강 대식세포의 食食作用을 增加시켰다.

5. BTSE는 SRBC에 의한 적혈구 凝集素價를 增加시켰다.
6. BTSE는 passive cutaneous anaphylaxis를 抑制하였다.
7. BTSE는 PAF 에 의한 anaphylaxis를 抑制하였다.
8. BTSE는 compound 48/80에 의한 anaphylaxis 및 비만세포의 탈과립을 抑制하였다.
9. BTSE는 Arthus反應을 抑制하지 못하였다.
10. BTSE는 SRBC에 의한 足趾腫脹反應을 抑制하였다.
11. BTSE는 DNFB에 의한 接觸性 皮膚過敏反應을 抑制하였다.
12. BTSE는 histamine에 의한 急性 足浮腫을 30분에 抑制하였다.
13. BTSE는 acetic acid에 의한 毛細血管 透過性을 抑制하였다.
14. BTSE는 acetic acid에 의한 writhing syndrome을 抑制하였다.

以上的 實驗結果, 防風通聖散은 生體에 投與時 免疫 增強作用이 있으며, 抗히스타민作用에 의한 抗알레르기作用과 抗炎作用 및 鎮痛作用이 있다고 思料된다.

參 考 文 獻

1. 中島 泉: 新免疫學入門, 서울, 南山堂, pp. 202-209 (1993).
2. 洪元植: 精校黃帝內經素問, 서울, 東洋醫學研究院, p.11, p.282 (1981).
3. 駱和生(安德均 옮김): 免疫과 韓方, 서울, 열린 책들, pp.15-21 (1994).
4. 巢元方: 諸病源候論, 臺中, 昭人出版社, 35: 19, 49:8 (1958).
5. 李在媛: 仙防敗毒湯이 抗알레르기作用에 미치는 影響, 慶熙大學校大學院 (1989).
6. 金英臺: 蘇子降氣湯 및 蘇子導痰降氣湯이 I型 및 IV型 알레르기反應과 肺血栓塞症에 미치는 影響에 관한 比較研究, 慶熙大學校大學院 (1988).
7. 崔錫鳳: 麥門冬湯 및 加味麥門冬湯의 效能에 관한 實驗的 研究, 慶熙大學校大學院 (1989).
8. 심문경, 박은정, 정규만: 淸肺散이 마우스의 免疫 및 過敏反應에 미치는 影響, 大韓韓方小兒科學會誌, 10(1):265 (1996).
9. 丁奎萬: 補兒湯이 免疫反應에 미치는 實驗的 研究, 大韓韓醫學會 小兒科學會誌, 1(1):13 (1986).
10. 金奉成: 人蔘養胃湯의 免疫增強效果에 관한 研究, 慶熙大學校大學院 (1987).
11. 金聖洙: 鹿補散의 呼吸器疾患 豫防效果에 관한 研究, 慶熙大學校大學院 (1989).
12. 裴廷燁: 小兒補血湯, 加味小兒補血湯 및 加減小兒補血湯이 생쥐의 免疫反應에 미치는 影響, 慶熙大學校大學院 (1989).
13. 崔栖燾: 生肝湯과 그 分割이 肝臟保護, 血小板凝集能 및 一般 免疫機能에 미치는 影響, 慶熙韓醫大論文集, 10:25 (1987).
14. 趙鍾寬: 淸肝湯이 肝臟保護와 微小循環 및 免疫機能에 미치는 影響, 慶熙韓醫大論文集, 10:59 (1987).
15. 宋昊坡: 黃蓮解毒湯이 緬羊赤血球에 對한 免疫反應에 미치는 影響, 圓光大學校大學院 (1982).
16. 金弼洙: 葛根解肌湯合平胃散加味方이 鎮痛, 消炎 및 알레르기反應에 對한 研究, 大田大學校大

- 學院 (1997).
17. 鄭連熙 : 加味補兒湯이 免疫機能 增進效果에 미치는 影響, 大田大學校大學院 (1998).
 18. 韓英柱 : 君苓湯이 장기간 알콜을 飲用한 생쥐의 細胞性 免疫에 미치는 影響, 東國大學校大學院 (1995).
 19. 劉鎮碩 : 六味地黃湯이 구속Stress환경의 抗Stress와 免疫反應에 미치는 影響, 慶熙大學校大學院 (1997).
 20. 李廷淑 : 加味清心連子飲 煎湯液이 抗Allergy 反應과 Mouse의 免疫細胞機能에 미치는 影響, 大田大學校大學院 (1993).
 21. 朴陽春 : 蘇子降氣湯과 加味蘇子降氣湯이 I型 및 IV型 알레르기反應과 肺損傷에 미치는 影響, 大田大學校大學院 (1994).
 22. 崔圭東 : 銀花甘草湯과 加味方이 抗알레르기, 解熱, 消炎, 鎮痛效果에 미치는 影響, 慶熙大學校大學院 (1993).
 23. 金京善 : 托裏消毒飲의 抗알레르기 效果에 關한 實驗的 研究, 慶熙大學校大學院 (1994).
 24. 金壽億 : 防風通聖散이 家兔 血清 脂質含量에 미치는 影響, 慶熙藥大論文集, 5:63-68 (1977).
 25. 孟貞均 : 防風通聖散이 CCL4 中毒白鼠의 血液像에 미치는 影響, 慶熙大學校大學院 (1985).
 26. 安貞美 : 防風通聖散이 肥滿誘導白鼠의 體重 및 脂質代謝에 미치는 影響, 慶熙大學校大學院 (1992).
 27. 李南勳 : 防風通聖散이 高血壓 高脂血에 미치는 影響, 慶熙大學校大學院 (1991).
 28. 李東炫 : 防風通聖散 및 防風通聖散 加味方이 抗 알레르기와 免疫反應에 미치는 影響, 慶熙大學校大學院(1990).
 29. 成賢濟 : 防風通聖散의 鎮痛 消炎 解熱 및 抗菌作用에 關한 實驗的 研究, 慶熙大學校大學院 (1984).
 30. 李永宇 : 防風通聖散 煎湯液이 鎮痛, 抗痙攣, 鎮靜 및 腸管運動에 미치는 影響, 圓光大學校大學院 (1987).
 31. 申秉澈 : 防風通聖散이 白鼠의 肥滿症 및 肥滿細胞에 미치는 影響, 圓光大學校大學院 (1996).
 32. 劉完素: 宣明方論(文淵閣西庫全書, 中醫學大系), 서울, 驪江出版社, 卷十二, p.76 (1988).
 33. 康舜洙 : 바른 方劑學, 서울, 大星文化社, p.262, 263 (1996).
 34. 黃度淵 : 方藥合編, 서울, 杏林出版社, p.96 (1977).
 35. Wysocki, L.J. and Sato, V.L. : Planning for lymphocytes: A method for cell selection. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 75:2844 (1978).
 36. Mizel, S.B., Openheim, J.J. and Rosensteich, D.L. : Characterization of lymphocyte-activating factor(LAF) produced by the macrophage cell line P388D1. J. Immunol. 120:1497 (1979).
 37. Mosmann, T. : Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival : application to proliferation and cytotoxic assays. J. Immunol. methods, 65:55 (1983).
 38. Kotnic, V. and Fleischmann, W.R.Jr. : A simple and rapid method to determine hematopoietic growth factor activity. J. Immunol. methods, 129:23 (1990).
 39. Nicoletti, I., Migliorati, G., Pagliacci, M.C., Grignani, F. and Riccardi, C.A. :

- Rapid and simple method for measuring thymocyte apoptosis by propidium iodide staining and flow cytometry. *J. Immunol. Methods*, 139:271-279 (1991).
40. Blair, A.L., Cree, I.A., Beck, J.S. and Hating, M.J.G. : Measurement of phagocyte chemiluminescence in a microtiter plate format. *J. Immunol. Methods*, 112:163 (1988).
41. Boudard, F., Vallot, N., Cabaner, C. and Bastide, M. : Chemiluminescence and nitrite determinations by the MALU macrophage cell line. *J. Immunol. Methods*, 174:259 (1994).
42. Rockett, K.A., Awburn, M.M., Cowden, W.B. and Clark, I.A. : Killing of *Plasmodium faciparum* in vitro by nitric oxide derivatives. *Infect. Immunity*, 59(9):3280 (1991).
43. Ha, D.Y., Park, Y.M., Choi, T.H. and Lee, J.H. : Modulation of immune response by Naloxone. *Korean J. Immunology*, 11:129-145 (1989).
44. Garvey, J.S. : Antibody-mediated hypersensitivity. In : *Methods in Immunology*, p.p.451-462, Addison-Wesley Pub. Co. (1987).
45. Ha, T.Y., Park, Y.M. and Rhew, H.Y. : Effect of platelet activating factor on fatal active systemic anaphylaxis. *Kor. J. Immunology*, 12(2):145-159 (1990).
46. Cochrane, D.E. and Douglas, W.W. : Calcium-induced excretion of secretory granules(exocytosis) in mast cells exposed to compound 48/80 or ionophores A-23187 and X-537A. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 71:408 (1974).
47. Toda, K., Danno, K. and Tachibana, T. : Effect of 8-methoxypsoralen plus long wave ultraviolet(PUVA) radiation on mast cells. II. In vitro PUVA inhibits degranulation of rat peritoneal mast cells by compound 48/80. *J. Invest. Dermatol.*, 87:113 (1986).
48. Yoshikai, Y., Maie, S., Matsumoto, T., Nomoto, K. and Takeya, K. : Effects of stimulation and blockade of mononuclear phagocyte system on the delayed-type footpad reaction to SRBC in mice. *Immunology*, 38:577 (1979).
49. Ha, D.Y., Kim, H.I. and Im, S.Y. : Effect of Dexamethasone on different types of murine T suppressor cells. *Korean J. Immunology*, 9:1-15 (1987).
50. Huh, I.H., Lee, S.J. and Kim, H.C. : Studies on the anti-inflammatory activity and its mechanism of Daidzein (I). *Yakhak Hoeji*, 31(3):154 (1987).
51. Whittle, B.A. : *Brit. J. Pharmacol.*, 22:246 (1964).
52. Shimomura, K. : *Japan J. Pharmacol.*, 24:837 (1972).
53. 劉完素 : 劉河間三六書, 서울, 成輔社, p.158 (1976).
54. 張從正 : 儒門事親, 臺灣, 旋風出版社, 卷4, p.6, 卷6, p.16, 卷11, pp.1-2, p.11, 卷12.

- pp.3-4 (1978).
55. 朱震亨 : 丹溪心法, 서울, 大星文化社, p.119, 381, 392 (1982).
56. 朱橚 : 普濟方, 서울, 翰成社, p.14, 613 (1981).
57. 李挺 : 醫學入門, 서울, 翰成社, p.27, 273, 309, 346, 449, 458, 472, 473, 474, 570 (1982).
58. 興廷賢 : 萬病回春, 서울, 杏林書院, 上卷, pp.55-56, 下卷, p.12 (1972).
59. 許浚 : 東醫寶鑑, 서울, 南山堂, p.367, 420, 426, 557, 569 (1971).
60. 陳念祖 : 南邪堂醫書全集, 서울, 행원사 p.75, 457 (1974).
61. 汪詡庵 : 醫方集解, 서울, 杏林出版社, p.98 (1959).
62. 李尙仁·康舜洙 : 方劑學, 서울, 癸丑文化社, pp.87-88 (1979).
63. 朴憲在, 杜鎬京 : 東醫腎系內科學, 서울, 成輔社, p.189, 231, 232 (1979).
64. 蔡炳允 : 韓方眼耳鼻咽喉科學, 서울, 集文堂, p.60, 104, 238, 240, 251, 255 (1982).
65. 蔡炳允, 宋孝貞 : 韓方外科學, 皮膚科學, 서울, 慶熙大學校 韓醫科大學, 外科, p.241, 253, 254, 皮膚科, p.57, 59, 66, 136 (1984).
66. 矢數道明 : 漢方醫學講座, 日本, 醫道日本社, pp.378-380 (1979).
67. 傅芳 : 中醫免疫思想成就, 中醫雜誌, 25(11), 55 (1984).
68. Abbas, A.K., Lichtman, A.H. and Poper, J.S. : Cellular and molecular immunology. 2:241-260, W.B. Saunders Co., U.S.A. (1994).
69. Gaddie, J., Skinner, C. and Palmer, K.N.V. : Hypo-sensitization with house dust mite in bronchial asthma. Brit. Med. J., 2:581 (1976).
70. Coombs, R.R.A. and 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).
71. IFT Expert Panel on Food Safety and Nutrition : Food Technol., 39(9):65 (1985).
72. Mackaness, G.B. : Delayed hypersensitivity and the mechanism of cellular resistance to infection. In : Progress in Immunology, edited by B. Amos, p.413, Academic press, New York (1971).
73. Roitt, I.A., Brostoff, J. and Male, D. : Immunology, 4th edition, pp.1.3-1.4, Mosby Co., London (1996).
74. Miceli, M.C., and Parnes, J.R. : The role of CD4 and CD8 in T cell activation and differentiation. Advances in Immunology, 53:59 (1993).
75. Blair, A.L., Cree, I.A., Beck, J.S. and Hating, M.J.G. : Measurement of phagocyte chemiluminescence in a micro-titer plate format. J. Immunol. Methods, 112:163 (1988).
76. Kolb, H. and Kolb-Bachofen, V. : Nitric oxide: a pathogenic factor in autoimmunity. Immunology Today, 13:157 (1992).

77. Holt, M.E., Ryall, M.E.T. and Campbell, A.K. : Albumin inhibits human polymorphonuclear leukocyte luminol-dependent chemiluminescence : evidence for oxygen radical scavenging. *Br. J. Exp. Pathol.*, 65:231 (1984).
78. Jun, C.D., Park, S.K., Kim, J.M., Kim, J.D. and Chung, H.T. : Nitric oxide inhibits macrophage pseudopodia formation in the activated macrophages. *Korean J. Immunol.* 18:635-644 (1996).
79. Benveniste, J., Henson, P.M. and Cochrane, C.G. : leukocyte-dependent histamine release from rabbit platelet. The role of IgE, basophil and a platelet-activating factor. *J. Exp. Med.*, 136:1356 (1972).
80. Fitzgerald, M.F., Moncada, S. and Parente, L. : The anaphylaxis release of platelet activating factor from perfused guinea-pig lungs. *Br. J. Pharmacol.*, 88:149 (1986).
81. Mandallaz, M.M., deWeck, A.L. and Dahinden, C.A. : *J. Arch. Allergy Appl. Immunol.*, 87:143 (1988).
82. Darius, H., Lefler, D.J. and Smith, J.B. : Role of platelet-activating factor in mediating guinea pig anaphylaxis. *Science*, 232:58 (1986).
83. Oyanagui, Y. : Steroid-like anti-inflammatory effect of superoxide dismutase in serotonin, histamine and kinin-induced edema of mice. *Biochem. Pharmacol.* 30:1791 (1981).