

## 龍膽瀉肝湯의 抗바이러스 活性 및 免疫反應에 對한 實驗的 考察

金南權\* · 金鍾翰\* · 林圭彦\* · 黃忠淵\*

### ABSTRACT

#### Experimental Study of *Yongdamsagantang* on the Anti-viral Activity and Immune Response to Mice

Kim Nam-kwen · Kim Jong-han · Lim Gyu-sang · Hwang Choong-yeon

During the last few years, nitric oxide(NO) as a potent macrophage-derived effector molecule against a variety of bacteria, parasites, and tumors has received increasing attention. More recent studies suggest that NO also has antiviral effects in both murine and human cells. The objective of the current study was to determine the effect of *Yongdamsagantang*(YST) on the production of NO. Stimulation of mouse peritoneal macrophages with YST after the treatment of recombinant interferon- $\gamma$ (rIFN- $\gamma$ ) resulted in the increased NO synthesis. YST had no effect on NO synthesis by itself. When YST was used in combination with rIFN- $\gamma$ , there was a marked cooperative induction of NO synthesis in a dose-dependent manner. The optimal effect of YST on NO synthesis was shown 6 hour after treatment with rIFN- $\gamma$ . This increase in NO synthesis was reflected as increased amount of inducible NO synthase(iNOS) protein. NO production was inhibited by  $N^G$ -monomethyl-L-arginine. The increased production of NO from rIFN- $\gamma$  plus YST-stimulated cells was decreased by the treatment with staurosporin. In addition, synergy between rIFN- $\gamma$  and YST was mainly dependent on YST-induced tumor necrosis factor- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ) secretion. These results suggest that the capacity of YST to increase NO production from rIFN- $\gamma$ -primed mouse peritoneal macrophages is the result of YST-induced TNF- $\alpha$  secretion.

---

\* 圓光大學 韓醫科大學 外官科學教室

## I. 緒 論

龍膽瀉肝湯은 金元代 李<sup>22)</sup>의 《東垣十書·蘭室秘藏》에 “治陰部時復熱痒及臊臭”라하여 처음 收載된 以後 많은 醫家들<sup>3,4,16-18,24,25,35)</sup>에 의해 肝膽實火로 인한 脇痛, 口苦, 目赤, 耳聾症과 肝膽濕熱로 인한 小便淋濁, 陰腫, 陰挺, 陰痒疔 등을 治療하는데 使用되었고, 또한 顧<sup>25,6,8,9,13,14,19,23,31,28,31,32,34,41)</sup>은 纏腰火丹의 治療에 使用하였다.

纏腰火丹은 群集性 水疱가 돌연히 발생하고 帶狀으로 배열하여 疼痛을 유발하는 症狀으로<sup>1,2,4,5,7,9,11,12,15,16,20,21,27,29-32,34)</sup>, 巢<sup>10)</sup>의 《巢氏諸病源候論·甌帶瘡候》에 “甌帶瘡者, 纏腰生, 狀如甌帶, 因以爲名”이라고 最初로 기록된 이래, 蜘蛛瘡, 蛇串瘡, 火帶瘡, 火丹瘡 등의 異名으로 기록되어 왔다. 纏腰火丹의 原因을 祁<sup>4,17)</sup>은 “心腎不交, 肝火熾盛, 流入膀胱, 而纏帶脈”하여 발생한다 하였고, 發病 樣相에 따라 顧<sup>2,61,22)</sup>은 乾燥型和 濕潤型으로 나누어 乾燥型은 肝心 二經이 風火에, 濕潤型은 脾肺 二經이 濕熱에 侵害당해 각각 發病한다고 하였으며, 近來 文獻<sup>5,7,9,15,19,20,29-32,34)</sup>에는 肝經火盛, 脾經濕熱, 氣滯血瘀 氣血虛弱 등의 內因과, 熱毒邪, 濕熱邪 등의 外因으로 分類하여 說明하였다.

帶狀疱疹(Herpes Zoster)은 韓醫學의 纏腰火丹과 類似的한 病症으로<sup>63)</sup>, 水痘의 初感染(primary infection) 때 知覺神經節(sensory ganglion)이 感染되고, 이후 潛伏 感染되어 있던 水痘-帶狀疱疹 바이러스(Varicella-zoster virus)가 再活性化되어 神經을 따라 내려가 皮膚에 感染을 일으켜서 知覺神經節이 支配하는 神經皮節(neurodermatome)에 一側性으로 群集된 水疱性 發疹과 함께 심한 疼痛을 나타낸다<sup>43,47,48,51,52,58,71,72,75,76)</sup>

纏腰火丹에 대한 文獻研究로 金<sup>61)</sup> 등은 異名, 症狀, 治療法에 對해, 洪<sup>61)</sup> 등은 東西醫學의 治療法의 比較에 對해 各各 考察하였다.

帶狀疱疹에 대한 實驗研究로는 金<sup>61)</sup>이 除濕胃苓湯의 帶狀疱疹에 대한 鎮痛效果를 報告하였고, 臨床研究로는 顧<sup>60,61)</sup>이 龍膽瀉肝湯을 利用한 帶狀疱疹患者의 治療例를, 崔<sup>68)</sup>이 患者 3例에 對한 內服藥과 레이저治療 效果를 각각 報告하였다.

龍膽瀉肝湯에 대한 研究로 金<sup>62,63)</sup>은 龍膽瀉肝湯이 白鼠의 肝損傷에 미치는 影響을, 徐<sup>64)</sup>는 抗알레르기에 關한 效果를, 宋<sup>65)</sup>은 抗炎症, 解熱, 鎮痛, 利尿 및 抗菌效果에 대해 각각 實驗 報告하였고, 姜<sup>30)</sup>은 婦人陰痒症에 使用된 龍膽瀉肝湯의 文獻研究 등을 報告한 바 있으나, 여러 醫書에서 適應症으로 밝힌 纏腰火丹의 治療 效果를 立證할 수 있는 抗바이러스 活性和 免疫力에 對한 具體的인 實驗 研究는 없었다.

이에 著者는 最近 Croen 등<sup>91,96(107,143)</sup>에 의해 바이러스의 複製를 抑制시키는 效果가 있다고 立證된 酸化窒素(NO : nitric oxide) 및 酸化窒素 合成酵素(iNOS : inducible nitric oxide synthase)의 生成에 對한 龍膽瀉肝湯의 效果를 알아보고자 本 實驗을 着手하였다.

龍膽瀉肝湯에 의한 NO와 iNOS의 生成能을 測定하기 위한 實驗으로 생쥐의 腹腔 大食細胞를 培養한 후 NO 生成量과 인터페론 감마(γ) 處理에 誘導되는 iNOS의 生成量 등을 測定하였고, NO 生成機轉을 알아보기 위한 實驗으로 iNOS의 경쟁적 抑制劑에 의한 NO 生成 抑制程度, STSN에 의한 NO 合成의 抑制程度, 인터페론 감마(γ)에 의해 誘導되는 腫瘍壞死因子 알파(TNF-α)의 分泌量 등을 觀察하여 有意性 있는 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

## II. 研究對象 및 方法

### 1. 實驗材料

1) 實驗動物

本 實驗에 使用한 小鼠(8-12주 사이의 BALB/c)는 대한실험동물센터(음성, 한국)에서 구입하였다.

2) 藥材

本 實驗에 使用한 處方은 黃<sup>30)</sup>의 《方藥合編》에 準하였으며, 藥材는 韓藥規格集<sup>42)</sup>에 依據하여 精選한 것을 圓光大學校 附屬韓方病院에서 購入하여 使用하였고 龍膽瀉肝湯의 處方 內容과 用量은 다음과 같다.

龍膽瀉肝湯 處方 構成

Prescription of Yongdamsagantang(YST)

韓藥名	生藥名	重量(g)
草龍膽	Radix Gentianae	3.75
柴胡	Radix Bupleuri	3.75
澤瀉	Rhizoma Alismatis	3.75
木通	Lignum Akebiae	1.87
車前子	Semen Plantaginis	1.87
赤茯苓	Poria	1.87
生地黄	Rhizoma Rehmanniae	1.87
當歸	Radix Angelicae Gigantis	1.87
山梔子	Fructus Gardeniae	1.87
黃芩	Scutellariae Radix	1.87
甘草	Radix Glycyrrhizae	1.87
Total amount		26.21

3) 試藥

本 研究에 使用한 재조합 小鼠 IFN- $\gamma$ 는 Genzyme (Munche, Germany)에서, RPMI 1640, L-arginine, arginase, N-(1-naphthyl)- ethylenediamine dihydrochloride, sodium nitrite, sulfanilamide는 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO, USA)에서 購入하였다.

N<sup>G</sup>-monomethyl-L- arginine(N<sup>G</sup>MMA)은 Calbiochem(San Diego, CA, USA)에서 購入하였다. Thioglycollate는 Difco laboratories(Detroit, MI)에서 購入하였다. 細胞培養用 plates 및 dishes는 Nunc(Naperville, MD)에서 購入하였다. 牛胎血清 및 다른 모든 培養用 試藥은 Life Technologies(Grand Island, NY)에서 購入하여 使用하였다.

2. 實驗方法

1) 檢液의 調製

龍膽瀉肝湯 水浸液은 上記 處方 1貼 分量(26.21g)을 蒸溜水에 넣고 100℃로 3時間 동안 重湯하여 濾過布로 濾過하였으며, 冷凍乾燥한 다음 4℃에 保管하여 實驗時 使用하였다.

2) 大食細胞의 培養

생쥐의 腹腔內에 4% thioglycollate 1ml를 注射하고 4日後에 腹腔을 RPMI 1640으로 洗滌하여 얻은 다음 低張液處理를 하여 赤血球를 除去하고 10% 우태혈청을 含有하는 RPMI 1640에 浮游시켜, 96-well plate의 한 well당 2×10<sup>5</sup>細胞 혹은 10cm<sup>2</sup> petridish당 5×10<sup>6</sup>細胞가 되도록 분주하여 CO<sub>2</sub> 培養器에서 培養하였다. 약 3時間 後에 培養液을 交換하여 培養容器 表面에 附着되지 않은 細胞는 除去하고, 附着된 大食細胞만을 實驗에 使用하였다.

3) NO 生成量 測定

大食細胞에서 發生된 NO의 量은 培紙에 蓄積된 NO의 酸化物인 nitrite를 Griess反應으로 定量하였다<sup>10)</sup>. 즉 0.1% naphthylethylene diaminedihydrochloride와 1% sulfanilamide를 同量 섞은 Griess reagent 50 $\mu$ l와 培養液 50 $\mu$ l를 섞은 다음 10분후에 ELISA reader(Bio-Tek Instruments Co.)를 이용하여 550nm에서의 吸光度를 測定하였다. Nitrite의 濃度계산은 sodium nitrite를 標準 物質로 使用하여 決定하였다.

4) 免疫 組織化學 染色

腹腔 大食細胞를 실리콘이 코팅된 커버슬립에 붙여서 乾燥한 다음 냉 아세톤으로 固定하였다. 커버슬립에 goat serum을 처리한 다음 抗-iNOS 抗血清(1 : 500희석)을 넣고 室溫에서 1時間 동안 培養하였다. PBS(phosphate- buffered saline)로 3회 洗滌한 다음 peroxidase가 라벨된 2차 抗體를 處理한 다음 diaminobenzidine-hydrogen peroxidase 용액(0.001% 3, 3'-diamino- benzidine, 0.01% hydrogen peroxidase)으로 發色시켰다. 發色된 커버슬립은 hematoxylin으로 對照染色하였다.

5) TNF- $\alpha$ 의 定量

TNF- $\alpha$ 의 定量은 Scuderi 등<sup>120)</sup>이 報告한 方法인 ELISA로 施行하였다. 즉 anti-murine 腫瘍壞死因子 알파 capture mAb는 코팅 buffer(0.02% sodium azide를 含有한 PBS)를 利用하여 각 well당 最終濃度 6.25ng 으로 處理한 後 4℃에서 12時間 코팅하였다. 그 後 0.05% Tween 20을 含有한 인산 완충액(PBS)인 wash buffer로 4회 洗滌한 다음 非 特異的 結合을 防止하기 위하여 2% BSA를 含有한 PBS(blocking buffer)를 添加하여 37℃에서 2時間 동안 培養하였다. 다시 wash buffer로 4회 洗滌 後 재조합 마우스 腫瘍壞死因子 알파 표준액과 각 sample의 培養上騰等液을 각 well에 100 $\mu$ l씩 加하고 37℃에서 2時間 동안 培養하였다. 다시 wash buffer로 4회 洗滌 後 rabbit anti-murine 腫瘍壞死因子 알파를 1% BSA를 含有한 PBS를 利用하여 7.8ng/ml 濃度로 稀釋한 後 well에 處理하여 37℃에서 2時間 동안 培養하였다. 다시 wash buffer로 7회 洗滌 後 phosphatase가 結合된 goat anti-rabbit IgG(Sigma Co.)를 well당 10ng 濃度로 處理한 다음 37℃에서 2時間 培養한 後 7회 洗滌하였다. 마지막 洗滌 後 0.05M NaHCO<sub>3</sub>와 0.05mM MgCl<sub>2</sub>로 組成된 substrate buffer에 溶解시킨 p-nitro phenyl phosphate 發色劑를 각 well에 100 $\mu$ l씩 加하여 10分間 發色을 誘導한 다음 ELISA reader를 利用하여 405nm

파장에서 吸光度를 測定하였다.

6) 統計學的 分析

모든 資料는 means  $\pm$  S.E.로 나타내었으며, 統計學的 分析은 student's t-test로 行하였다. 有意 水準은 P < 0.05로 하였다.

### III. 實驗成績

#### 1. 酸化窒素(Nitric Oxide : NO) 誘導能 測定

1) 時間에 따른 NO 誘導能 測定

생쥐 腹腔 大食細胞에서 龍膽瀉肝湯에 의해 NO 生成이 誘導되는 지를 觀察하기 위하여 龍膽瀉肝湯 단독, rIFN- $\gamma$  단독 및 rIFN- $\gamma$ 와 龍膽瀉肝湯 同時 處理에 의한 NO 生成量을 Griess法으로 測定하였다.

Saline만 處理한 對照群은 4.4 $\pm$ 0.7이었고, rIFN- $\gamma$ 만 處理한 群은 17.1  $\pm$  3.5로, YST만 處理한 群은 4.9 $\pm$ 2.2으로 각각 나타났다.

rIFN- $\gamma$ 가 含有된 培紙에서 培養한 생쥐 腹腔 大食細胞에 各各의 時間代에 YST를 處理한 後 NO 生成量을 測定한 結果, rIFN- $\gamma$ 와 YST를 同時 處理한 경우는 38.0 $\pm$ 7.2이었고, 6時間後 YST를 處理한 경우는 51.6 $\pm$ 6.5, 12時間後 處理한 경우는 32.7 $\pm$ 8.6로 各各 나타나 龍膽瀉肝湯에 의한 NO의 生成은 rIFN- $\gamma$  處理 6時間 後에 가장 상승적인 效果를 나타냈다.(Table I, Fig. 1)

Table I. Time dependent effect of Yongdamsagantang on rIFN- $\gamma$ -induced NO synthesis in mouse peritoneal macrophages.

Addition		Nitrite concentration( $\mu$ M)
rIFN- $\gamma$	YST	
None(Saline)	None(Saline)	4.4 $\pm$ 0.7
+	None(Saline)	17.1 $\pm$ 3.5
None(Saline)	+ ( 0hour )	4.9 $\pm$ 2.2
+	+ ( 0hour )	38.0 $\pm$ 7.2*
+	+ ( 6hour )	51.6 $\pm$ 6.5*
+	+ (12hour)	32.7 $\pm$ 8.6*

$P < 0.05$  ; significantly different from the control.

YST ; solid extract of Yongdamsagantang

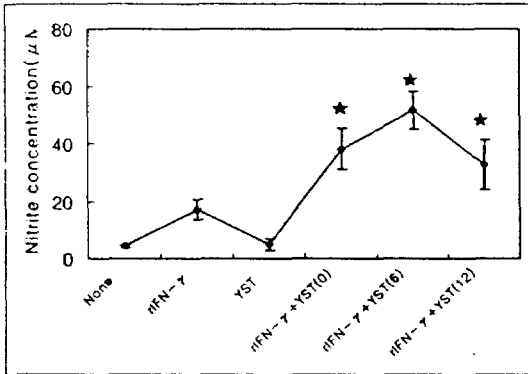


Fig. 1. Time dependent effect of Yongdamsagantang on rIFN- $\gamma$ -induced NO synthesis in mouse peritoneal macrophages. Cells( $2 \times 10^5$  cells/well) were stimulated with Yongdamsagantang( $10 \mu\text{g}/\text{ml}$ ) at various times after incubation. The amount of nitrite released by mouse peritoneal macrophages was measured after 48 hour of incubation by the Griess method. NO(nitrite) released into the medium is presented as the mean  $\pm$  S.E. of five independent experiments each run in duplicate.

\*  $P < 0.05$  ; significantly different from the control.

YST ; solid extract of Yongdamsagantang

2) 用量에 따른 NO 誘導能 測定

인터페론 감마의 存在下에서 龍膽瀉肝湯의 用量

에 따른 NO의 生成量을 測定한 結果, NO의 生成은 用量 依存的으로 上升하였으며, YST가  $10 \mu\text{g}/\text{ml}$ 의 濃度였을때 가장 좋았다. 그러나  $0.1 \mu\text{g}/\text{ml}$  以下の 濃度에서는 生成能이 弱하거나 없는 경우도 있었다.(Table II, Fig. 2)

Table II. Dose-dependent effect of Yongdamsagantang on NO synthesis in rIFN- $\gamma$ -treated mouse peritoneal macrophages.

Addition		Nitrite concentration( $\mu$ M)
rIFN- $\gamma$	YST( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	
+	0	5.0 $\pm$ 1.0
+	0.1	20.0 $\pm$ 1.0
+	1	38.0 $\pm$ 1.0*
+	10	50.0 $\pm$ 4.0*
+	100	47.0 $\pm$ 2.0*
+	1000	33.0 $\pm$ 5.0

\*  $P < 0.05$  ; significantly different from the control.

YST ; solid extract of Yongdamsagantang

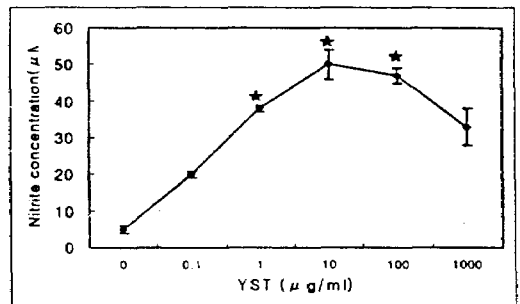


Fig. 2. Dose-dependent effect of Yongdamsagantang on NO synthesis in rIFN- $\gamma$ -treated mouse peritoneal macrophages. Mouse peritoneal macrophages( $2 \times 10^5$ ) were cultured with rIFN- $\gamma$ (5U/ml). The cells were then stimulated with various concentrations of Yongdamsagantang 6 hour after incubation. After 48 hour of culture, NO release was measured by the Griess method (nitrite). NO(nitrite) released into the medium is presented as the mean  $\pm$  S.E. of three independent experiments each run in duplicate.

\*  $P < 0.05$  ; significantly different from the control.

YST ; solid extract of Yongdamsagantang

## 2. 誘導性 酸化窒素 合成酵素 (inducible NO synthase : iNOS) 發顯能 測定

생쥐 腹腔 大食細胞에서 龍膽瀉肝湯에 의해 誘導性 iNOS의 生成이 誘導되는지를 觀察하기 위하여, 龍膽瀉肝湯 단독 및 rIFN- $\gamma$ 와 龍膽瀉肝湯 同時 處理에 의한 誘導性 iNOS의 蛋白質 發顯量을 誘導性 iNOS 抗體를 이용하여 免疫細胞化學分析法로 測定하였다. 龍膽瀉肝湯 단독으로는 誘導性 iNOS의 發顯을 誘導하지 못하였고, rIFN- $\gamma$ 로 6時間 동안 刺戟시킨 다음 龍膽瀉肝湯을 처리했을 때 가장 많은 量의 蛋白質이 發顯되었다. (Fig. 3)

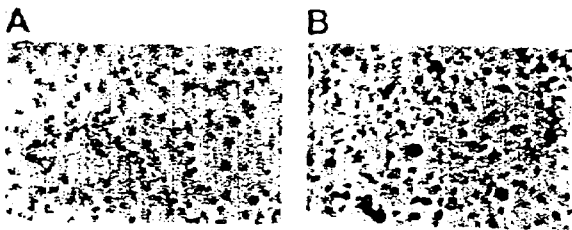


Fig. 3. Effect of Yongdamsagantang on the expression of the iNOS protein in rIFN- $\gamma$ -treated mouse peritoneal macrophages. The cells were plated at  $5 \times 10^6$  cells/100-mm diameter petri dishes and were cultured for 6 hour either in medium containing rIFN- $\gamma$ (5U/ml), or rIFN- $\gamma$  plus Yongdamsagantang(10 $\mu$ g/ml), and then analyzed for the expression of the iNOS protein by immunocytochemical analysis.

A ; Yongdamsagantang alone

B ; Yongdamsagantang 6 hour after rIFN- $\gamma$  treatment.

## 3. $N^G$ MMA에 의한 酸化窒素 生成의 抑制 程度 測定

생쥐 腹腔 大食細胞에서 龍膽瀉肝湯으로 誘導되는 NO 生成의 신호과정인 L-arginine 의존적 경로인지를 實驗하기 위해 iNOS의 경쟁적 억제제인  $N^G$ MMA에 의한 NO 生成의 抑制 程度를 測定하였다.

생쥐 腹腔 大食細胞를 rIFN- $\gamma$ 와  $N^G$ MMA 存在下에서 6 時間동안 培養한 다음 YST를 處理한 結果,  $N^G$ MMA의 濃度를 增加시킴에 따라 漸進적으로 NO의 生成을 抑制하였다. 특히  $N^G$ MMA 1mM, 10mM의 濃度에서 YST에 의해 유도되는 NO의 生成이 有意性있게 抑制되었다.(Table III, Fig. 4)

Table. III. Effect of NO synthase inhibitor on Yongdamsagantang- induced nitrite accumulation in the cultured medium of mouse peritoneal macrophages.

Treatment	$N^G$ MMA(mM)	Nitrite concentration( $\mu$ M)
rIFN- $\gamma$ + YST	0	50.0 $\pm$ 4.0
rIFN- $\gamma$ + YST	0.01	42.0 $\pm$ 7.0
rIFN- $\gamma$ + YST	0.1	37.0 $\pm$ 6.0
rIFN- $\gamma$ + YST	1	20.0 $\pm$ 3.0*
rIFN- $\gamma$ + YST	10	18.0 $\pm$ 4.0*

\*  $P < 0.05$  ; significantly different from the control. YST ; solid extract of Yongdamsagantang

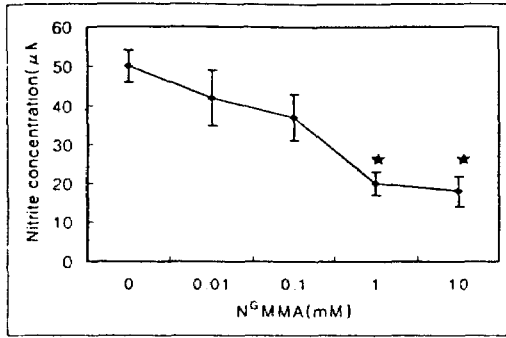


Fig. 4. Effect of NO synthase inhibitors on Yongdamsagatang-induced nitrite accumulation in the cultured medium of mouse peritoneal macrophages. Mouse peritoneal macrophages( $2 \times 10^5$ ) were incubated for 6 hour with rIFN- $\gamma$  plus various concentrations of  $N^G$ MMA. The cells were then treated with Yongdamsagatang( $10 \mu\text{g}/\text{ml}$ ) and cultured for 42 hour. NO release was measured by the Griess method(nitrite). NO(nitrite) released into the medium is presented as the mean  $\pm$  S.E. of three independent experiments each run in duplicate.

\*  $P < 0.05$  ; significantly different from the control.  
YST ; solid extract of Yongdamsagatang

#### 4. Staurosporin(STSN)에 의한 酸化窒素 合成의 抑制 程度 測定

NO 合成에 있어서 龍膽瀉肝湯의 上升의 效果 機轉을 규명하기 위하여 rIFN- $\gamma$ 와 龍膽瀉肝湯을 處理한 생쥐 腹腔 大食細胞에 protein kinase C(PKC)抑制劑인 STSN의 影響을 實驗하였다. rIFN- $\gamma$ 와 YST를 同時 處理한 後 NO의 生成量을 測定한 結果  $50.4 \pm 6.2$ 로 나타났고, rIFN- $\gamma$ 와 YST를 處理한 細胞에 STSN을 첨가한 結果  $23.4 \pm 2.6$ 으로 나타나 龍膽瀉肝湯으로 인해 上升된 NO 合成量을 減少시켰다.(Table IV, Fig. 5)

Table IV. Effect of STSN on the production of NO by rIFN- $\gamma$  plus Yongdamsagatang stimulated mouse peritoneal macrophages.

Treatment	STSN	Nitrite concentration( $\mu\text{M}$ )
rIFN- $\gamma$ + YST	-	$50.4 \pm 6.2$
rIFN- $\gamma$ + YST	+	$23.4 \pm 2.6^*$

\*  $P < 0.05$  ; significantly different from the control.  
YST ; solid extract of Yongdamsagatang

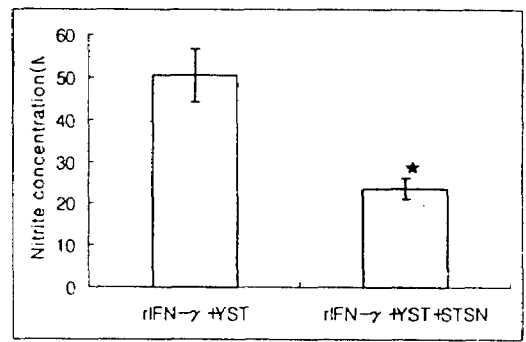


Fig. 5. Effect of STSN on the production of NO by rIFN- $\gamma$  plus Yongdamsagatang stimulated mouse peritoneal macrophages. Mouse peritoneal macrophages( $2 \times 10^5$  cells/well) were cultured with rIFN- $\gamma$ ( $50 \mu\text{g}/\text{ml}$ ) plus Yongdamsagatang( $10 \mu\text{g}/\text{ml}$ ). The cells were then treated with STSN( $20 \text{nM}$ ). The amount of nitrite released by mouse peritoneal macrophages was measured after 48 hour of incubation by the Griess method. NO(nitrite) released into the medium is presented as the mean  $\pm$  S.E. of three independent experiments each run in duplicate.

\*  $P < 0.05$  ; significantly different from the control.  
YST ; solid extract of Yongdamsagatang

#### 5. 腫瘍壞死因子 알파(tumor necrosis factor- $\alpha$ : TNF- $\alpha$ )의 分泌量 測定

rIFN- $\gamma$ 에 의해 활성화된 생쥐腹腔大食細胞에서 龍膽瀉肝湯이 TNF- $\alpha$  생성에 미치는 영향을觀察하기 위하여, 龍膽瀉肝湯 단독, rIFN- $\gamma$  단독 및 rIFN- $\gamma$ 와 龍膽瀉肝湯 同時處理에 의한 TNF- $\alpha$ 의 생성량을 ELISA로測定하였다.

Saline만處理한 對照群은  $0.18 \pm 0.02$ 인데 비하여 rIFN- $\gamma$ 만處理한 群은  $1.02 \pm 0.02$ 이었고, YST만處理한 群은  $1.34 \pm 0.09$ 로 나타나 生物學的으로 活性이 있는 TNF- $\alpha$ 의 생성에 거의 영향을 미치지 못하였다.

rIFN- $\gamma$ 를處理한 다음 6時間後 YST를處理하고 24時間 동안 培養한 培養上騰液에서 分泌된 生物學的으로 活性이 있는 TNF- $\alpha$ 의 分泌量은  $4.56 \pm 0.27$ 로 높은 수준으로 나타났고, rIFN- $\gamma$ 와 YST를處理한 後 STSN을處理한 群은  $1.76 \pm 0.27$ 로 나타나 STSN은 龍膽瀉肝湯에 의해 誘導되는 TNF- $\alpha$ 의 分泌를 현저히 抑制했다.(Table V, Fig. 6)

Table V. Effect of Yongdamsagantang on the secretion of TNF- $\alpha$  by rIFN- $\gamma$ , Yongdamsagantang, rIFN- $\gamma$  plus Yongdamsagantang or rIFN- $\gamma$  plus Yongdamsagantang plus STSN-stimulated mouse peritoneal macrophages.

Treatment	STSN	TNF- $\alpha$ Secretion (ng/ml)
None (Saline)	-	$0.18 \pm 0.02$
rIFN- $\gamma$	-	$1.02 \pm 0.02$
YS-Tang	-	$1.34 \pm 0.09$
rIFN- $\gamma$ + YS-Tang	-	$4.56 \pm 0.27^*$
rIFN- $\gamma$ + YS-Tang	+	$1.76 \pm 0.11$

\*  $P < 0.05$  ; significantly different from the control.  
YST ; solid extract of Yongdamsagantang

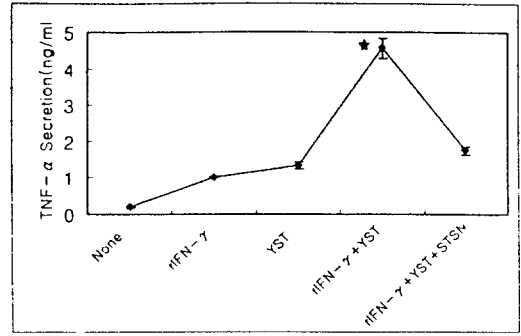


Fig. 6. Effect of Yongdamsagantang on the secretion of TNF- $\alpha$  by rIFN- $\gamma$ , Yongdamsagantang, rIFN- $\gamma$  plus Yongdamsagantang or rIFN- $\gamma$  plus Yongdamsagantang plus STSN-stimulated mouse peritoneal macrophages. Mouse peritoneal macrophages ( $2 \times 10^6$  cells/well) were cultured for 6hour either in medium alone or in medium that contained rIFN- $\gamma$ (5U/ml) in the absence or presence of STSN(20nM), and the the cells were stimulated with Yongdamsagantang(10 $\mu$ g/ml). The amount of TNF- $\alpha$  secreted by mouse peritoneal macrophages was measured after 24hour of incubation. TNF- $\alpha$  released into the medium is presented as the mean  $\pm$  S.E. of three independent experiments each run in duplicate.

\*  $P < 0.05$  ; significantly different from the control.  
YST ; solid extract of Yongdamsagantang

## 6. 抗腫瘍壞死因子 알파 中和抗體 (Anti-TNF- $\alpha$ neutralizing antibody)에 의한 酸化窒素 合成의 抑制程度測定

龍膽瀉肝湯에 의해 誘導되어 分泌되는 TNF- $\alpha$ 가 NO의 合成에 關與하는가를 알아보기 위하여 培紙단독, rIFN- $\gamma$  단독, rIFN- $\gamma$ 와 龍膽瀉肝湯 同時處理에 의한 NO 生成量을 對照群으로하고, 各各의 對照群에 抗腫瘍壞死因子 알파 中和抗體를處理한



後 NO의 生成量이 比較한 結果 生成量이 顯著히 抑制되었다.(Table VI, Fig. 7)

Table VI. Effect of anti-TNF- $\alpha$  neutralizing antibody on rIFN- $\gamma$  or rIFN- $\gamma$  plus Yongdamsagantang-induced NO synthesis in mouse peritoneal macrophages.

Treatment	Anti-TNF- $\alpha$ antibody	Nitrite concentration( $\mu$ M)
None (Saline)	-	4.4 $\pm$ 0.7
None (Saline)	+	3.5 $\pm$ 1.0
rIFN- $\gamma$	-	17.0 $\pm$ 3.5
rIFN- $\gamma$	+	15.0 $\pm$ 4.0
rIFN- $\gamma$ + YS-Tang	-	57.0 $\pm$ 6.5
rIFN- $\gamma$ + YS-Tang	+	24.0 $\pm$ 4.5

\*  $P < 0.05$  ; significantly different from the control.  
YST ; solid extract of Yongdamsagantang

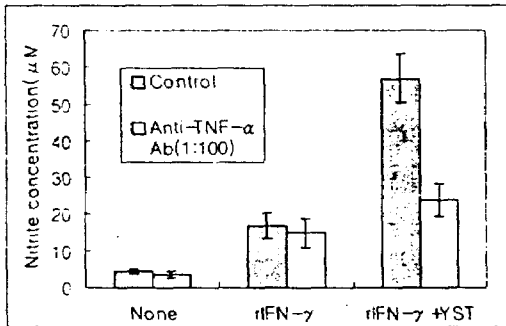


Fig. 7. Effect of anti-TNF- $\alpha$  neutralizing antibody on rIFN- $\gamma$  or rIFN- $\gamma$  plus Yongdamsagantang-induced NO synthesis in mouse peritoneal macrophages. Mouse peritoneal macrophages were stimulated with rIFN- $\gamma$ (5U/ml) or rIFN- $\gamma$  plus Yongdamsagantang(10 $\mu$ g/ml), the cells were then treated with anti-TNF- $\alpha$  antibody(dilution, 1:100). After 48 hour of culture, NO release was measured by the Griess method (nitrite). NO(nitrite) released into the medium is presented as the mean  $\pm$  S.E. of three independent experiments each run in duplicate.

\*  $P < 0.05$  ; significantly different from the control.  
YST ; solid extract of Yongdamsagantang

## IV. 考 察

緞腰火丹은 巢<sup>10)</sup>의 《諸病源候論》에 緞帶瘡者, 緞腰生, 狀如緞帶, 因以爲名”이라하여 症狀이 처음 記錄된 이래<sup>19)</sup>, 많은 醫家들<sup>2,4,5,7,9-11,15-17,19,20,29-34)</sup>에 의해 串腰瘡, 火帶瘡, 緞帶瘡, 蛇串瘡, 蜘蛛瘡, 蛇丹, 火丹 등의 異名으로 記錄되었다. 緞腰火丹<sup>2,7,9,11,15-17,19,20,29-32)</sup>은 皮疹이 腰部를 둘러싸며 發生한다 하여 命名된 것이고, 串腰瘡<sup>20,29,31,32)</sup>, 火帶瘡<sup>4,7,16)</sup>, 緞帶瘡<sup>10,19)</sup> 등의 異名은 發疹 部位에 따라, 蛇串瘡<sup>2,4,5,7,11,15,16,29,30)</sup>, 蜘蛛瘡<sup>7,9,15,19,30-33)</sup>, 蛇丹<sup>7,9)</sup> 火丹<sup>33)</sup> 등은 發疹 形態에 따라 各各 命名된 것으로 思料된다.

緞腰火丹의 原因으로, 巢<sup>10)</sup>는 風濕과 血氣가 相搏하여 緞帶瘡이 發生하며 瘡이 허리 주위를 감으면 死亡할 수 있다고 豫候에 對해서도 說明하였고, 士<sup>17)</sup>은 心腎不交하고 肝火內熾하여 流入膀胱하므로 緞於帶脈하여 發生한다 하였다. 陳은<sup>32)</sup>은 心火妄動하고 三焦가 風熱을 乘하여 皮膚에 緞腰火丹이 發病한다 하였는데, 發病 原因을 發疹 形態와 部位에 따라 各各 分類하여 發疹 形態中 乾者는 肝心二經의 風火로, 濕者는 脾肺二經의 濕熱로 因한다 하였고, 腰肋部에 發病하는 것은 肝火妄動과 관계가 있다고 하였다. 祁<sup>4)</sup>는 王<sup>17)</sup>의 設을 引用하였으며, 吳<sup>16)</sup>는 陳<sup>32)</sup>의 設을 引用하였으나 臟腑와 의 關係에서 보면 陳이 心, 三焦에 對해 言及한 반면, 吳는 主로 肝心脾肺의 風熱濕과 關聯이 있다고 하였다. 近來 文獻들<sup>5,7,9,15,19,20,27,29-32,34)</sup>은 肝經火盛, 脾經濕熱, 脾虛濕盛, 肝火妄動, 氣滯血瘀, 氣血虛弱, 濕盛, 濕熱, 熱毒 등의 病因으로 자세히 分類하였다.

以上の 病因病機를 綜合하면 內因으로는 肝經火盛, 肝經火盛, 心火妄動, 脾經濕熱, 氣滯血瘀, 氣血虛弱 등이, 外因으로는 熱毒, 濕熱, 風熱, 風濕, 熱邪, 濕邪 등이 各各 緞腰火丹을 誘發하는 것으로 思料된다.

治療方法是 內治法과, 軟膏劑나 粉末劑 등을 使用하는 外治法, 體鍼, 耳鍼, Laser鍼 등을 利用하는 鍼治療法으로 分類할 수 있다. 內治法은 肝經火盛에 瀉肝火 利濕熱 解毒止痛하는 龍膽瀉肝湯<sup>5,7,15,16,19,20-22</sup>과 化斑解毒湯<sup>211,33</sup>을, 脾經濕熱에 健脾利濕 活血解毒하는 除濕胃苓湯<sup>27,16,19,29-33</sup>을, 氣滯血瘀에 疏肝理氣 活血化瘀 行氣止痛 清解餘毒하는 柴胡清肝湯<sup>5,7,11,16</sup>, 逍遙散<sup>5,11,19,29</sup>, 活血散瘀湯<sup>30,31</sup>, 桂枝茯苓丸<sup>30</sup>, 桃紅四物湯<sup>29</sup> 등을 爲主로 加減하여 各各 使用하였다. 外治法은 水疱의 形態에 따라 水疱未波時는 散劑나 洗劑를, 水疱破壞後에는 膏劑를 使用한다 하였는데<sup>5,6,11</sup>, 側柏葉散<sup>2,6,16</sup>, 靑黛散<sup>5,6,11</sup>, 如意金黃散<sup>31</sup>, 三黃洗劑<sup>6,19,29</sup>, 解毒洗劑<sup>19,29</sup>, 玉露膏<sup>5,11,19,29</sup>, 靑黛膏<sup>5,6,11,15,29</sup>, 金黃膏<sup>5,7,11</sup>, 大靑膏<sup>7</sup> 등의 清熱解毒藥類로 構成된 處方이 主로 使用되었다. 體鍼治療法은 合谷 曲池 內關 등의 上肢穴과, 陽陵泉 足三里 太冲 등의 下肢穴, 太陽 頭維 睛明 下關 頰車 地倉 등의 頭面部 穴이 많이 使用되었는데<sup>2,6,16,19,29,32</sup>, 以上의 穴位는 西洋醫學에서 帶狀疱疹이 主로 侵犯하는 神經皮節의 領域과 類似한 것으로 思料된다. 耳鍼은 肝區, 肺區, 神門과 皮損相應部位의 穴位 등을 取穴한다 하였으며<sup>6,19,29,32</sup>, Laser鍼은 最近 崔 등<sup>60</sup>에 의해 臨床 報告되었는데 He-Ne Laser를 皮膚 病變部에 非接觸으로 照射하여 治療한다 하였다.

帶狀疱疹(Herpes Zoster)은 Varicella-zoster virus(VZV)에 의해 水痘의 初 감염된 後에 宿主의 免疫機能이 低下되면 感覺神經節에 潛伏性으로 內在되어 있던 VZV가 再活性化되어 脊髓 또는 頭蓋 感覺神經節(spinal or cranial sensory nerve ganglion)의 支配를 받는 神經皮節에 一側性 疼痛과 함께 群集性 水疱를 나타내는 急性 바이러스성 疾患으로, 매년 국내 皮膚科 外來疾患 중 약 0.38%-0.79%의 發病 頻도가 報告되고 있는 比較적 흔한 皮膚疾患 중의 하나이다<sup>21,45,46,48,51,52,59,71,72,76,78,94,99,116,124</sup>. 帶狀疱疹은 一般的으로 年齡이 높을수록 症狀도 甚해지며 發生頻도 높

게 나타나고, 림프종, Hodgkin病, 白血病 등의 惡性 腫瘍 患者와 放射線 照射 혹은 免疫抑制劑의 投與 後 免疫低下 狀態에 있는 患者에서 잘 發生하는 등 細胞免疫 機能의 障礙가 있는 경우 잘 發生한다고 하였다<sup>44,46,49,53,56,57,70,72,75,102,141,142</sup>. 帶狀疱疹의 症狀은 痛症, 瘙癢, 灼熱感이 있는 후 多樣한 크기의 皮膚 發疹이 VZV가 侵犯한 神經을 따라 띠모양으로 나타나는데, 처음에는 紅斑이 생기고 이어서 水疱가 群集으로 나타나며 2-3日 後에는 水疱가 化膿되어 膿疱로 變한다<sup>45,47</sup>. 發病部位는 胸部(20%), 頭頸部(20%), 腰部(15%), 手足(5%) 등의 順으로 好發하고, 그 외에 팔이나 다리, 性器部位에도 發病하며 두 군데 이상 서로 다른 神經皮節이 侵犯된 경우와 兩側性으로 侵犯된 경우도 있으며, 가장 흔히 侵犯되는 神經節은 第2頸椎神經과 第2腰椎神經이라 하였다<sup>45,63,77</sup>. 帶狀疱疹의 治療는 休息 및 安靜, 국소 열찜질, 아스피린, 코데인 등의 鎮痛劑나 甚한 痛症을 調節하기 위한 神經安靜劑의 使用, 二次細菌 感染의 治療를 위해 抗生劑의 投與 등이 있고 바이러스의 成長을 抑制하는 Acyclovir의 혈관주사 등이 있다<sup>45,46,50,51,54,77</sup>. 最近 西洋醫學의 帶狀疱疹에 關한 研究를 보면 Pollard 등<sup>92</sup>이 varicella zoster virus와 關係있는 치명적인 박테리아 感染에 對해 報告하였고, Bryden 등<sup>61,63-67,80</sup>은 多樣한 身體 部位의 herpes zoster virus 感染에 使用되는 polymerase 連鎖 反應 및 바이러스 隔離法 등의 診斷에 關한 研究와, Johnson 등<sup>62,68,90,91</sup>이 herpes zoster와 postherpetic neuralgia에 대한 acyclovir와 prednisolone 등의 治療例에 대해 報告하였으나, 아직 中樞神經系로부터 포진성 바이러스를 제거할 수 있는 抗바이러스 製劑는 없다 하였다<sup>45</sup>.

龍膽瀉肝湯은 金·元代 李<sup>22</sup>가 《東垣十書·齒室秘藏》에 草龍膽, 柴胡, 澤瀉, 車前子, 木通, 生地黄, 當歸의 方劑로 陰部에 때때로 反復해서 나타나는 熱痒과 臊臭를 治療한다고 처음 收錄하였다<sup>61</sup>.

歷代 醫書에 기록된 龍膽瀉肝湯의 處方 內容과

適應症을 살펴보면, 明代 甄<sup>317,241</sup>은 草龍膽, 澤瀉, 黃芩, 梔子, 車前子, 木通, 生地黄, 當歸, 甘草를 方劑하여 肝經濕熱로 인한 囊癰便毒, 下疳懸癰, 腫痛, 焮作, 小便澀滯, 婦人陰癢痒痛, 男子陽挺腫脹, 出膿水 등을 治療한다 하였으며, 張<sup>251</sup>은 《景岳全書》에 草龍膽, 人參, 天門冬, 麥門冬, 生甘草, 黃連, 梔子, 知母, 黃芩, 柴胡, 五味子 등의 藥物로 構成된 龍膽瀉肝湯과 柴胡稍, 澤瀉, 車前子, 木通, 龍膽草, 當歸稍, 生地黄 등으로 된 七味龍膽瀉肝湯을 肝經濕熱로 인한 小便赤澀, 脇脹, 口苦寒熱 등의 肝經有餘症과 肝火內炎症에 각각 使用한다 하였다. 許<sup>251</sup>는 甄<sup>317,241</sup>의 處方에 柴胡, 赤茯苓 등을 加味하여 肝臟濕熱로 인한 男子陰挺腫脹, 婦人陰挺瘡瘍, 陰莖濕痒出膿水 등의 症을 治療하는 處方과, 口苦 症을 治療한다고 한 張<sup>251</sup>의 處方을 前陰門과 口舌門에 각각 記錄하였다.

清代 吳<sup>2161</sup>은 甄<sup>317</sup>의 處方에 連翹, 黃連을 加하고 혹 便秘가 있으면 大黃을 加하여 纏腰火丹의 治療에 使用하였으며, 汪<sup>181</sup>은 《醫方集解》에서 甄<sup>317</sup>의 處方에 柴胡를 加하여 肝膽經實火濕熱, 脇痛耳聾, 膽溢口苦, 筋痿陰汗, 陰腫陰痛, 白濁溲血 등의 症을 治療한다고 記錄하였다.

近代 文獻들 中 中國 文獻<sup>2,9,14,15,19,26,31,32</sup>들에 記錄된 龍膽瀉肝湯은 汪<sup>181</sup>의 《醫方集解》에 手錄된 處方構成을 收錄하였으며, 韓國 文獻들<sup>5,6,13,23,28,36,41</sup>은 許<sup>251</sup>가 《東醫寶鑑·前陰門》에 記錄한 處方構成을 主로 引用하여 頑固性偏頭痛, 頭部濕疹, 急性肝炎, 帶狀疱疹, 尿道炎, 辜丸炎 등의 疾患을 治療한다고 하였다.

龍膽瀉肝湯의 個別 藥物의 效能을 살펴보면, 草龍膽은 肝膽實火와 下焦濕熱을 除去하고 殺蟲의 效能이 있어 癰腫疥瘡 및 陰痒作痛 등을 治療하고, 柴胡는 三焦 및 肝膽諸熱을 散하며 解熱, 鎮痛, 抗菌, 抗virus作用이 있어 發熱, 脇痛 등을 治療하고 influenza virus에 강한 抑制作用이 있으며, in vitro 實驗에서 結核菌의 生長을 抑制한다고 하였다. 澤

瀉는 利水, 滲濕, 泄熱하며 利尿, 抗脂肪肝, 血壓降下作用이 있어 小便不利, 脂肪肝, 高血壓 등을 治療하고 試驗管內에서 結核菌을 抑制한다고 하였으며, 木通은 降火利水, 通氣下乳하며 利尿, 抗菌, 抗真菌作用이 있어 Gram 陽性桿菌, 皮膚真菌 등을 抑制하는 效果와 함께 腫瘍細胞의 成長을 抑制한다고 하였다. 車前子는 利水通淋, 去痰止咳, 止瀉, 明目하며 利尿, 抗菌 등의 效果가 있어 尿素, 尿酸 등의 排泄을 增加시키고 赤痢菌, 皮膚真菌의 成長을 抑制한다고 하였으며, 赤茯苓은 分利濕熱, 行水하며 利尿, 滋養, 鎮靜作用이 있어 水腫, 食慾不振, 不眠, 口乾, 盜汗 등을 治療한다고 하였다. 生地黄은 清熱涼血, 生津止渴하며 血糖降下作用과 血液凝固를 促進시키는 止血作用이 있고 心筋에 作用하여 強心作用이 있다고 하였으며, 當歸는 補血活血, 調經止痛, 潤腸通便하고 巨食細胞와 單核細胞의 活性化를 促進시키며 抗菌作用이 있어 in vitro에서 赤痢菌, 티푸스菌, 大腸菌, 溶血性連鎖球菌, 디프테리아 菌에 抑制作用이 있다고 하였다. 山梔子는 瀉火除煩, 清熱利濕, 止血하며 發熱中樞를 抑制하는 解熱作用과 癌細胞 抑制作用 및 in vitro 實驗에서 黃色葡萄狀球菌, 赤痢菌, 溶血性連鎖狀球菌, 綠膿菌 등을 抑制하는 抗菌作用이 있다고 하였다. 黃芩은 清熱燥濕, 止血安神하고 in vitro에서 赤痢菌, typhus菌, 綠膿菌, 肺炎雙球菌 등에 강한 抗菌作用과 함께 A型 influenza virus PR<sub>8</sub>에 對한 抗 바이러스作用이 있다고 하였으며, 甘草는 補脾益氣, 清熱解毒, 調和諸藥하며 細菌性 toxin, 藥物, 代謝產物 中毒 등에 對한 解毒作用과 免疫增強, 抗菌作用이 있다고 하였다<sup>37-40,43</sup>. 以上을 綜合하여 보면 龍膽瀉肝湯은 抗炎症, 解熱, 鎮痛, 利尿, 潤腸通便, 強心, 止血安神 등의 效果가 있는 것으로 思料된다.

炎症(inflammation)은 흔히 볼 수 있는 病變으로 局所에 加해진 炎症誘發性 刺戟과 組織傷害에 對한 血管 및 綜合組織系의 自己防禦體系인 免疫過程의 一部分이다. 外部로부터 物理的, 化學的, 生物

學的 損傷을 復舊하는 生體의 反應에 의하여 組織의 損傷과 더불어 炎症反應 즉 浮腫, 發熱, 疼痛이 나타나게 된다. 炎症이 일어난 組織에서는 먼저 血管反應이 나타나서 毛細血管이 擴張되고 血流가 增加하며 이어서 血管壁의 透過性이 增加하여 血漿 成分과 蛋白質 成分이 血管壁을 통해 間質組織으로 滲出된다. 이때에 細菌이나 傷害된 局所組織에서 由來하는 化學因子의 誘導에 의해 好中球, 多型核 白血球와 單核球가 아메바 運動을 통해 間質組織으로 나오고 이들에게서 遊離된 大食細胞가 滲出되어서 炎症 刺戟物을 貪食하게 되며, 炎症이 오래되면 림프구 및 形質細胞도 많이 나타나게 된다. 이러한 過程은 自然免疫 및 特殊 免疫系 抗體-種에 의해서 크게 左右되며 炎症의 最終段階에는 傷害된 組織의 缺損을 修復하는 過程에서 局所의 纖維芽細胞 및 毛細血管이 增殖하여 肉芽組織이 形成되며, 組織에 따라서는 實質細胞로 再生되고 점차 癍痕을 남기며 炎症이 終熄된다<sup>55,79,83)</sup>.

炎症을 抑制하기 위해 使用되는 藥劑를 廣義의 抗炎症劑라 하며 嚴密히 細分하여 말한다면 浮腫에 對해 anti-inflammatory, 發熱에 對해 antipyretic, 疼痛에 對해 analgesic drug으로 表現되어진다. 炎症反應時 細胞性 및 體液性 免疫反應이 關與되는데 이때 關與되는 物質에 對해서는 많은 研究가 되어 왔으며 superoxide, prostaglandins(PGE<sub>2</sub>), interleukins(IL-1, β), collagenase 외에 histamin, bradykinin, plateletactivating factor, TNF 등이 關與하는 것으로 알려져 있다<sup>144-149)</sup>.

酸化窒素(NO : nitric oxide)는 L-arginine의 말단 guanidino nitrogen 원자가 酸化窒素 合成酵素((NOS : nitric oxide synthase)에 의하여 산화되어 生成되는 매우 불안정하고 反應性이 강한 物質로 生體內에서 抗바이러스, 抗微生物, 抗癌效果는 물론 血管擴張, 神經傳達, 細胞成長調節 및 宿主防禦 등 多様な 機能을 한다<sup>73,74,105,117-119,121,131,133)</sup>. NO의 合成酵素로는 크게 構成性 酵素(constitutive NO synthase : cNOS)

와 誘導性 酵素(inducible NO synthase : iNOS)가 있으며, 神經細胞와 內皮細胞에서는 Ca<sup>++</sup>이나 calmodulin을 活性化시키는 두가지의 서로 다른 cNOS가 있고, 大食세포에서는 이러한 共同因子(cofactor)들을 必要로 하지 않는 iNOS를 가지고 있다<sup>73,74,103)</sup>. 大食細胞에서의 NO의 生成은 最初의 感覺신호로서 인터페론 감마(γ)가 必要하고, LPS, phorbol ester 및 腫瘍壞死因子 알파(tumor necrosis factor-α : TNF-α)와 같은 2차 신호에 의해 지속적인 反應이 誘發되어 많은 量의 NO를 生成하는 것으로 알려져 있다<sup>101,104,106,113,115,130,132, 135,143)</sup>.

NO의 바이러스의 複製를 抑制하는 機轉은 먼저 宿主細胞에 影響을 미쳐서 抗 바이러스 效果를 나타내기도 하고, 細胞代謝에 多樣하게 影響을 줄 수도 있다. Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase<sup>93,97,110,115,138,140)</sup>, cis- aconitase<sup>128,134)</sup>, mitochondrial respiratory 효소<sup>95)</sup> 등은 Krebs cycle에 影響을 미칠 수 있다고 하였다<sup>136)</sup>. 또한, NO는 DNA에 損傷을 주기 때문에<sup>109,122,127, 137)</sup> 바이러스의 RNA에도 역시 損傷을 줄 可能性이 많고, ribonucleotide reductase를 抑制할 수 있는 能力이 있기 때문에 바이러스의 複製에 影響을 미칠 수 있으며<sup>111,112,130)</sup> NO는 複製에 必要한 바이러스 단백질에 있는 금속이온과 結合이 可能하므로, nitroso 化合物은 zinc finger motif를 含有하는 전사인자로 부터 zinc를 방출하여 에이즈 바이러스 感染力을 減少시킬 수 있다<sup>126)</sup>고 하였다.

最近 NO에 對한 實驗 報告들을 살펴보면, Tucker 등<sup>154)</sup>은 N18 neuroblastoma 細胞의 경우 바이러스 誘導性 細胞의 死滅로부터 生成된 NO는 免疫反應에 의해 바이러스의 複製가 調節을 받기 시작할 때까지 바이러스 感染에 對한 神經의 生存 能力을 增加시켜 뇌염의 豫防을 암시하는 證據를 提示했으며, Amaro 등<sup>91,123,125,129,139)</sup>은 건강한 對照群에 比較하여 慢性 肝疾患 患者의 血清內 TNF-α, IL-1, rIFN-γ의 水準은 增加된 反面 NO 水準은 顯著히 낮아

져 있으며, 특히 바이러스성 만성 肝炎 患者와 非 바이러스성 患者의 比較에 있어서 NO의 量이 더욱 낮게 검출되었다고 바이러스성 肝炎과 NO의 關係를 報告하였다. 또, Karupiah 등<sup>107)</sup>은 NO가 백신시아 바이러스(Vaccinia virus), 엑트로메리아 바이러스(ectromelia virus)의 複製를 抑制한다고 報告하였으며, Croen<sup>108)</sup>은 rIFN- $\gamma$ 와 LPS에 의한 大食細胞의 刺戟으로 生成된 NO에 의해 단순포진 바이러스 1型(herpes simplex virus-1)의 複製가 1000배 抑制되는 것을 證明하였고, Ito 등<sup>143)</sup>은 VZV에 感染된 fibroblast와 lymphocyte의 活性이 NK에 의해 抑制됨을 밝혀 VZV와 NO 分泌 因子의 關係를 報告하였다.

이에 著者는 韓醫學 文獻에서 帶狀疱疹의 治療에 사용한다고 한 龍膽瀉肝湯이 生體 NO의 生成에 미치는 影響을 觀察하여 抗 바이러스 活性 및 免疫反應 對한 效果를 알아보고자 本 實驗에 着手하였다.

抗 바이러스와 免疫力에 대한 實驗으로 NO의 生成과, rIFN- $\gamma$  處理에 의해 誘導되는 iNOS의 生成, rIFN- $\gamma$ 에 의해 誘導되는 TNF- $\alpha$ 의 生成에 미치는 影響을 測定하였으며, 龍膽瀉肝湯이 NO 生成 機轉에 어떻게 關係하는지 알아보고자 iNOS의 競爭的 抑制劑인 N<sup>G</sup>MMA에 의한 NO의 生成 抑制와, Protein kinase C 抑制劑인 staurosporin(STSN)에 의한 NO 生成의 抑制, 抗 腫瘤壞死因子 알파 中和抗體(Anti-TNF- $\alpha$  neutralizing antibody)의 使用으로 인한 NO 生成 抑制反應 등을 測定하였다.

생쥐의 腹腔 大食細胞로부터 NO 生成量 測定 實驗에서 Saline만 處理한 對照群은  $4.4 \pm 0.7$ 이었고, rIFN- $\gamma$ 만 處理한 群은  $17.1 \pm 3.5$ , YST만 處理한 群은  $4.9 \pm 2.2$ 로 各各 나타나 YST 單獨 處理만으로는 NO의 合成을 誘導하지 못하였다. rIFN- $\gamma$ 가 含有된 培紙에서 培養한 생쥐 腹腔 大食細胞에 各各의 時間代에 YST를 處理한 後 NO 生成量을 測定한 結果, rIFN- $\gamma$ 와 YST를 同時 處理한 경우는  $38.0 \pm 7.2$ 이었고, 6時間 後 YST를 處理한 경우는  $51.6 \pm 6.5$ ,

12時間 後 處理한 경우는  $32.7 \pm 8.6$ 으로 各各 나타나 YST와 rIFN- $\gamma$ 의 同時 處理에 의한 NO의 生成은 增加하였으며, rIFN- $\gamma$  處理 6時間 後에 가장 協同的인 效果를 나타냈다.(Table I, Fig. 1) 또, rIFN- $\gamma$ 의 存在下에서 YST 用量에 따른 NO의 生成能은 用量 依存的으로 上升하였으며 YST가  $10 \mu\text{g}/\text{ml}$ 의 濃度였을 때 가장 좋았다. 그러나  $0.1 \mu\text{g}/\text{ml}$  以下의 濃度에서는 生成能이 弱하거나 없는 경우도 있었다.(Table II, Fig. 2) 이같은 結果는 龍膽瀉肝湯에 의한 腹腔 大食細胞에서 NO의 生成은 rIFN- $\gamma$ 와의 調和에 의해 時間 및 用量 依存的으로 이루어지고 있는 것을 證明한 것으로 思料된다.

생쥐 腹腔 大食細胞에서 龍膽瀉肝湯에 의한 iNOS의 發顯能 測定은 免疫細胞化學分析法에 의해 YST 單獨處理한 경우와 rIFN- $\gamma$ 와 YST 同時 處理한 경우에 있어서 iNOS의 단백질 發顯量 測定한 結果, YST 單獨으로는 iNOS의 發現을 誘導하지 못하였고, rIFN- $\gamma$ 로 6時間 동안 刺戟시킨 다음 YST를 處理했을 때 가장 많은 量의 단백질이 發顯되었다.(Fig. 3) iNOS의 단백질 水準은 iNOS의 酵素活性과 일치하므로, 이는 龍膽瀉肝湯이 생쥐 腹腔 大食細胞에서 rIFN- $\gamma$ 에 의하여 이미 誘導된 iNOS의 上升的 誘導를 위한 2차 신호의 作用을 하는 것으로 思料된다.

龍膽瀉肝湯과 rIFN- $\gamma$ 의 同時 處理에 의해 NO와 iNOS의 生成量이 增加된 實驗 結果는, 處方中 柴胡, 黃芩의 抗 바이러스 效果 및 木通, 車前子, 赤茯苓, 生地黄, 當歸, 山梔子, 黃芩, 甘草의 抗 菌效果와 關聯이 있을 것으로 思料되며, 비록 龍膽瀉肝湯 單獨으로는 NO, iNOS의 生成量을 增加시키지는 못하였으나, rIFN- $\gamma$ 와 同時 處理에 의해 生成量을 促進시킴으로서 李<sup>54)</sup>가 Interferons에 對한 研究 方向으로 提示한 rIFN- $\gamma$ 의 生成誘發 및 效果를 增大시키기 위한 刺戟劑의 研究가 必要하다고 한 內容과 附合되는 結果로 思料된다.

iNOS의 경쟁적 억제제인 N<sup>G</sup>MMA에 의한 NO 生

成的抑制程度測定實驗에서는 생쥐腹腔大食細胞를  $\text{rIFN-}\gamma$ 와  $\text{N}^6\text{MMA}$  존재下에서 6時間동안培養한 다음 YST를處理하였고,  $\text{N}^6\text{MMA}$ 의濃度を增加시킴에 따라漸進的으로 NO의生成이抑制되었다. 특히  $\text{N}^6\text{MMA}$  1mM, 10mM의濃度에서 YST에 의해誘導되는 NO의生成이有意性있게抑制되었다.(Table III, Fig. 4) 이와같은實驗에서生成能이抑制된 것은生成 신호과정인 L-arginine 依存的經路에 의한 것으로 思料된다.

PKC 억제제인 STSN에 의한 NO 合成의抑制程度測定實驗에서는  $\text{rIFN-}\gamma$ 와 YST를同時處理한後 NO의生成量을測定한結果는  $50.4 \pm 6.2$ 이었고,  $\text{rIFN-}\gamma$ 와 YST를處理한細胞에 STSN을添加한結果는  $23.4 \pm 2.6$ 으로 나타나 YST로 인해上升된 NO 生成量이減少하였다.(Table IV, Fig. 5) 이같은結果는  $\text{rIFN-}\gamma$ 에 의해감작된 생쥐腹腔大食細胞로부터 NO의生成을增加시키는龍膽瀉肝湯의效果가 PKC에依存的인 것을證明한 것으로 思料된다.

TNF- $\alpha$ 의 이름은初期에그람음성세균의내독소刺戟에 의해動物血漿에生成된癌細胞壞死成分에서起因한 것으로細菌感染에對해가장重要的生體反應의 하나이다. 主된 TNF- $\alpha$  Source로는내독소에 의해刺戟받은單核細胞(Mononuclear phagocytes)로 T細胞에起因한 IFN- $\gamma$ 에 의해合成이促進된다. 이分子가合成時初期에는糖類가 붙지 않은 25KD 크기의細胞膜蛋白質로合成되나 그 후 카르복실기末端을包含한 17KD 크기의破片으로分離되어細胞外로分泌된다. 分泌後同한 17KD 分子 3개가 모여 매우安定한 51KD 크기로循環하게 된다. TNF- $\alpha$ 에 대한細胞反應은 이들 Trimer가 수용체(각 55, 75KD)에 붙으므로써출발하는데 이때親和度는相對的으로 매우 낮은 편(KD가  $1 \times 10^9\text{M}$ ,  $5 \times 10^9\text{M}$  각각)이나 많은 양이生成되므로 수용체가 곧飽和된다. TNF- $\alpha$ 의生理學的效果는 주로 NF- $\kappa\text{B}$ 나 AP-1이라는 transcription factor

의合成增加에 의한 다켓 Genes 發顯調節에起因한다. TNF- $\alpha$ 의效果는生成量에 따라서 달라지는데  $10^6\text{M}$  이하의低濃度에서는 첫째로血管의內皮細胞로 하여금 새로운 surface receptors (adhesion molecules)를發顯케하여炎症部位에 neutrophil, monocytes 및 lymphocyte와 같은白血球가炎症部位에모이도록 한다. 둘째로 neutrophil, eosinophils 및 monocytes가細菌을죽일수 있도록活性化시킨다. 셋째로 IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  자체 및 chemokines의生成을刺戟한다. 넷째로 virus로부터保護하는 IFN의生成을刺戟하고 Class I MHC의發顯을增大시켜 virus로感染된細胞를融解시키도록 도와준다.

TNF- $\alpha$ 의生成量이充分하면( $10^{-9}\text{M}$  -  $10^{-7}\text{M}$ ) 첫째로腦의視床下部調節部位의細胞에서 prostaglandin의合成을增加시켜痛症을誘發한다. 둘째로單核白血球의血管內皮細胞에作用하여 IL-1 및 IL-6와 같은 cytokines의分泌를刺戟한다. 셋째로 hepatocytes(肝細胞)에作用하여 amyloid A 蛋白質의合成을增加시켜 IL-1 및 IL-6와 더불어急性炎症反應을 일으킨다. 넷째로血管內皮細胞의血液凝集과抗凝集反應의均衡을霧散시킨다. 다섯째로骨髓細胞의細胞分裂를抑制하여免疫缺乏症勢를誘發시킨다. 여섯째로實驗動物에 TNF- $\alpha$ 를長期間投與할 때血管을循環하는脂質蛋白質로부터脂肪酸을放出하는데必要的 lipoprotein lipase의合成을抑制하여筋肉과脂肪細胞가消失되는 Cavchexia라는症勢를誘發시킨다. TNF- $\alpha$ 의生成量이 지나치면( $10^{-7}\text{M}$ ) 첫째로心臟의細胞에存在하는 NOS酵素를誘發시켜 arginine으로부터 citrulline과 NO의轉換을促進하여心臟의收縮을抑制시킨다. 둘째로心臟의平滑筋의律動을弛緩케하여血壓을내리고組織의 perfusion을減少시키는데, 이것은血管의內皮細胞와單核白血球의機能異常으로血液凝集이되기 때문이다. 마지막으로 TNF- $\alpha$ 는筋肉에 의한 glucose의過消費 및肝의 glucose轉換缺乏를招來하여血糖量減少와 같

은 심각한 代謝障礙를 誘發시킨다<sup>150-151)</sup>.

TNF- $\alpha$ 의 分泌量 測定實驗은 YST 單獨, rIFN- $\gamma$  單獨 및 rIFN- $\gamma$ 와 YST 同時 處理에 의한 TNF- $\alpha$ 의 生成量을 ELISA法으로 測定하였다. rIFN- $\gamma$ 나 YST를 單獨 處理한 群은 對照群에 비해 TNF- $\alpha$ 의 生成에 거의 影響을 미치지 못하였으며, rIFN- $\gamma$ 와 YST를 같이 處理한 群에서는 TNF- $\alpha$ 의 分泌量이 많이졌고, rIFN- $\gamma$ 와 YST를 處理한 後 PKC 抑制劑인 STSN을 處理한 群은 TNF- $\alpha$ 의 分泌量이 확실하게 抑制되었다(Table V, Fig. 6).

龍膽瀉肝湯과 rIFN- $\gamma$ 를 같이 處理한 群에서 TNF- $\alpha$ 의 分泌量이 增加된 것은 處方中 木通, 山梔子의 腫瘍細胞 抑制作用에 의한 것으로 思料되며, rIFN- $\gamma$ 와 龍膽瀉肝湯 STSN을 같이 處理한 群에서 TNF- $\alpha$ 의 分泌量이 抑制된 것은 TNF- $\alpha$ 의 分泌를 誘導하는 經路에 protein kinase C가 關與하는 것을 證明한 結果로 思料된다.

抗 腫瘍壞死因子 알파 中和抗體(Anti-TNF- $\alpha$  neutralizing antibody)에 의한 NO 合成의 抑制 程度 測定 實驗은, 龍膽瀉肝湯에 의해 誘導되어 分泌되는 TNF- $\alpha$ 가 NO의 合成에 關與하는가를 알아보기 위하여 培紙 單獨, rIFN- $\gamma$  單獨, rIFN- $\gamma$ 와 YST 同時 處理에 의한 NO 生成量을 對照群으로하고, 各各의 對照群에 抗 腫瘍壞死因子 알파 中和抗體를 處理한 後 NO의 生成量을 比較하였다. 그 結果, rIFN- $\gamma$ 와 YST를 同時 處理한 群에서 對照群에 비해 實驗群의 NO의 生成量이 顯著하게 抑制되었다(Table VI, Fig. 7) 이는 생쥐 腹腔 大食細胞로부터 龍膽瀉肝湯에 의해 誘導되는 TNF- $\alpha$ 가 NO 合成의 上升의 效果를 나타내는데 직접적으로 關與하고 있음을 의미한 것으로 思料된다.

以上の 結果, 龍膽瀉肝湯은 Nathan<sup>93,100,114,120,130,134)</sup> 등에 의해 抗 바이러스, 抗寄生蟲, 抗癌作用이 밝혀진 NO의 生成量을 PKC 活性化 經路를 經由한 TNF- $\alpha$ 의 分泌를 통해 顯著히 增加시켰으므로 纏腰火丹(帶狀疱疹)에서 VZV의 活性을 抑制할 수 있

는 效果가 立證되었으며 宋<sup>50)</sup>에 의해 抗炎症, 解熱, 鎮痛作用 등의 效能이 實驗 證明된 바 있으므로, 炎症의 初期 段階인 I, II 期에 나타나는 症狀들과 發疹 前에 나타나는 痛症, 瘙癢, 灼熱感 및 發疹 後의 postherpetic neuralgia 등을 輕減시키는 데도 應用할 수 있을 것으로 思料된다.

또한, 龍膽瀉肝湯은 本 論文에서 效果를 알아보고자 한 纏腰火丹(帶狀疱疹)뿐만 아니라 水痘, 紅痘 등의 바이러스 感染에 의한 皮膚疾患과, Amaro 등<sup>91,121,125,129,139)</sup>에 의해 NO와의 關係가 밝혀진 바이러스성 肝炎, 姜<sup>50)</sup>이 文獻 考察한 婦人陰痒症 中 淋菌性 尿道炎, 非淋菌性 尿道炎, 트리코모나스 등 細菌感染에 의한 泌尿生殖器 疾患 및 各種 腫瘍의 治療에도 應用될 수 있을 것으로 思料된다.

## V. 結 論

龍膽瀉肝湯의 抗 바이러스 活性과 免疫反應에 對한 效果를 알아보기 위해 생쥐 腹腔 大食細胞에서 分泌되는 NO 生成에 미치는 影響을 實驗 分析하여 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 龍膽瀉肝湯 단독으로는 생쥐 腹腔 大食細胞에서 NO를 生成시키지 못하였으나 rIFN- $\gamma$  處理 6 時間 後에 藥物을 處理하였을 때 NO의 生成量이 顯著히 增加하였다.
2. rIFN- $\gamma$ 와 龍膽瀉肝湯의 協同作用에 의한 NO의 生成은 iNOS의 發顯量의 增加에 起因하였다.
3. 龍膽瀉肝湯에 의한 NO의 生成은 NO를 生成하는 L-arginine 同族體인 N<sup>G</sup>MMA에 의해 抑制되었다.

4. 龍膽瀉肝湯에 의한 NO 生成 機轉에서 protein kinase C 抑制劑인 STSN을 이용하여 大食細胞內的 重要한 酵素인 protein kinase C가 參與하는 지를 實驗한 結果 직접적인 關聯성을 確認하였다.

5. 大食細胞에서 rIFN- $\gamma$ 와 龍膽瀉肝湯에 의한 NO 生成의 上升效果는 龍膽瀉肝湯으로 誘導된 TNF- $\alpha$ 의 分泌 依存的으로 나타났다.

以上의 結果 感染後 龍膽瀉肝湯의 投與에 의해 NO 生成量이 顯著히 增加하였으므로, 纏腰火丹(帶狀疱疹) 뿐만 아니라, 水痘, 紅痘, 바이러스性 肝炎, 淋菌性 尿道炎, 非淋菌性 尿道炎, 트리코모나스 등의 바이러스로 因한 疾患과 寄生蟲 感染, 各種 腫瘍 및 炎症의 初期段階인 I, II 期の 治療에도 應用할 수 있을 것으로 思料되며, 以外의 抗바이러스 活性과 精確한 免疫機轉을 밝히기 위해서는 계속적인 實驗 및 臨床研究가 要求된다.

## 參考文獻

1. 강명길 : 濟衆新編, 서울, 驪江出版社, p.302, 1992.
2. 顧鳴盛 : 外科大全, 臺北, 新文豐出版公司, pp.381- 382, 1977.
3. 龔廷賢 : 萬病回春, 서울, 杏林書院, p.197, 1975.
4. 郝 坤 : 外科大成, 台北, 文光圖書有限公司, p.128, 1979.
5. 동의학연구소 : 韓方外科學, 서울, 동의학연구소, pp.377-379, 626, 1994.
6. 閔仁植 : 古今醫方, 서울, 創美社, pp.163-164, 1978.
7. 尙德俊 主編 : 實用中醫外科學, 山東, 山東科學技術出版社, pp.516-518, 1986.
8. 上海中醫學院 : 方劑學, 傷害, 商務印書館香港分館, pp.46-48, 1975.
9. 上海中醫學院 : 中醫外科學, 上海, 商務印書館香港分館, pp.127-128, 1981.
10. 巢元方 : 諸病源候論校釋, 北京, 人民衛生出版社, p.984, 1982.
11. 손병권 의 : 동의외과학, 서울, 驪江出版社, pp.377-378, 1992.
12. 施 慧 : 施慧中醫皮膚病臨床經驗集, 北京, 中國醫藥科技出版社, pp.105-111, 1994.
13. 申載鏞 : 方藥合篇解說, 서울, 成輔社, p.266, 1988.
14. 楊蘊祥 : 古今名方, 河南, 河南科學技術出版社, pp.54-55, 1983.
15. 楊醫亞 主編 : 中醫學問答, 北京, 人民衛生出版社, pp.390-391, 1985.
16. 吳 謙 外 : 醫宗金鑑(中), 서울, 大星文化社, pp.82-83, 127, 1991.
17. 王肯堂 : 外科準繩, 臺北, 新文豐出版公司, pp.9-13, 1974.
18. 汪 昂 : 原本醫方集解, 서울, 大星文化社, pp.303-304, 1989.
19. 顧伯康 主編 : 中醫外科學, 北京, 人民衛生出版社, pp.249-252, 1992.
20. 柳志允 : 外科-皮膚科의 辨證論治, 서울, 書苑堂, pp.203-206, 1987.
21. 陸德銘 : 中醫外科診療圖譜, 上海, 上海中醫學院出版社, p.39, 1993.
22. 李東垣 外 : 東垣十種醫書, 서울, 大星文化社, pp.219-220, 1983.
23. 李麟宰 : 袖珍經驗神方, 서울, 癸丑文化社, p.47, 1990.
24. 李 梴 : 編註醫學入門 外集卷之三, 서울, 大星文化社, p.266, 1986.



25. 張景岳 : 景岳全書 卷下, 서울, 大星文化社, p.620, 1988.
26. 張恩勤 : 方劑學(中國傳統醫學叢書), 北京, 科學出版社, pp.123-126, 1992
27. 程國彭 : 醫學心悟, 香港, 友聯出版社, pp.112-113, 203-204, 267-268, 1961.
28. 周命新 編著 : 醫門寶鑑, 서울, 杏林書院, p.254, 1976.
29. 周文泉 外 : 新編中醫臨床手冊, 北京, 金盾出版社, pp.684-685, 1993.
30. 中島一 : 皮膚科의 韓方治療, 서울, 圖書出版 中社, pp.67-68, 1991.
31. 中醫研究院 主編 : 中醫症狀鑑別診斷學, 北京, 人民衛生出版社, pp. 498-499, 1987.
32. 陳貴廷 外 : 實用中西醫結合診斷治療學(下), 서울, 一中社, pp.1428-1430, 1992.
33. 陳實功 : 外科正宗, 北京, 人民衛生出版社, pp.252-253, 1983.
34. 蔡炳允 : 韓方外科, 서울, 高文社, pp.197-198, 384, 1989.
35. 許 俊 : 東醫寶鑑, 서울, 南山堂, p.241, 313, pp.573-574, 1987.
36. 黃度淵 : 增脈方藥合編, 서울, 南山堂, p.248, 1989.
37. 辛民教 : 原色臨床本草學, 서울, 南山堂, pp.175-177, 221-224, 250-254, 279-280, 297-298, 309-310, 313-315, 538-540, 584-586, 596-597, 1986.
38. 陸昌洙 外 : 漢藥의 藥理 成分·臨床應用, 서울, 癸丑文化社, pp.342-345, 377-379, 382, 384, 403-406, 411-415, 453-457, 458-459, 471-472, 479-481, 695-699, 738-742, 1982.
39. 陸昌洙 外 : 韓藥學Ⅱ, 서울, 光明醫學社, pp.74-79, 118-121, 137-143, 2 26-231, 239-250, 266-271, 404-409, 1992.
40. 李尙仁 : 本草學, 서울, 圖書出版 修書院, pp.58-60, 101-103, 106-110, 198-200, 261-263, 276-278, 281-286, 495-496, 505-506, 509-510, 1981.
41. 李尙仁 外 : 方劑學, 서울, 癸丑文化社, pp.199-200, 1979.
42. 李尙仁 外 : 韓方治療製의 標準化規格 統一 研究, 保健社會部, 1981.
43. 李尙仁 外 : 漢藥臨床應用, 서울, 圖書出版 成輔社, pp.62-65, 92-93, 105-106, 114-116, 119-120, 151-154, 163-165, 169-171, 323-327, 357-360, 1990.
44. 김상호 외 : 일반병리학, 서울, 高文社, pp.51-67, 1996.
45. 대한피부과학회 : 피부과학, 서울, 여문각, pp.275-290, 1994.
46. 文希柱 : 基本 免疫學, 서울, 圖書出版 大學 書林, pp.140-141, 1992.
47. 西山茂夫 : 圖解皮膚科學, 서울, 第一醫學社, p.250, 1991.-
48. 서울대학교병원 : 전공의진료편람 피부과, 서울, 의학출판사, pp.396-402, 1994.
49. 서울대학교의과대학 : 면역학, 서울, 서울대학교출판부, pp.121-134, 149-155, 281-287, 1994.
50. 서울대학교의과대학 : 약리학, 서울, 서울대학교출판부, pp.438-443, 448-449, 651-661, 1996.
51. 醫學教育研修院 : 家庭醫學, 서울, 서울대학교출판부, pp.741-743, 748-752, 1996.
52. 醫學教育研修院 : 臨床診斷學, 서울, 서울대학교출판부, pp.55-58, 1994.
53. 이기영 : 알레르기의 진료, 서울, 한국의학사, pp.36-40, 1992.
54. 이우주 : 약리학강의, 서울, 高文社, pp.567-575, 1987.
55. 이중달 : 그림으로 설명한 병리학, 서울, 고려 의학, pp.27-34, 67-78, 1990.
56. 鄭泰浩 : 면역학강의, 大邱, 慶北大學校出版 部, pp.228-235, 1993.
57. 鄭道천 : 신 면역학 입문, 서울, 지구문화사, pp.229-238, 1995.

58. 최병진 : 임상바이러스학, 서울, 도서출판 고려의학, pp.108-123, 1994.
59. 姜孝信 : 婦人陰痒症과 龍膽瀉肝湯에 對한 研究, 慶熙醫學, 12:1, pp.28-37, 1978.
60. 顧文華 : 治療帶狀疱疹介紹, 浙江中醫雜誌, 1, p.33, 1983.
61. 高永祥 : 龍膽瀉肝湯治療繼腰火丹, 黑龍江中醫藥, 1, p.45, 1983.
62. 金廣水 : 龍膽瀉肝湯 및 龍膽瀉肝湯加金銀花煎液이 四鹽化炭素에 依한 白鼠 肝損傷에 미치는 影響, 익산, 圓光大學校 大學院, 1982.
63. 金聖培 外 : 繼腰火丹에 관한 文獻的 考察, 大韓外官科學會誌, 7:1, pp.85-94, 1994.
64. 金賢鍾 : 除濕胃苓湯加蜈蚣이 帶狀疱疹에 미치는 影響, 大田大學校 大學院, 1995.
65. 文大煥 : 龍膽瀉肝湯 및 茵陳五苓散이 膽道結紮로 誘發된 白鼠의 損傷肝에 미치는 影響, 익산, 圓光大學校 大學院, 1993.
66. 徐晚瑄 : 龍膽瀉肝湯 및 龍膽瀉肝湯加味方의 抗알레르기에 關한 實驗的 效果, 익산, 圓光大學校 大學院, 1989.
67. 宋炳基 : 龍膽瀉肝湯과 銀花瀉肝湯의 抗炎症, 解熱, 鎮痛, 利尿 및 抗菌效果, 서울, 慶熙大學校 大學院, 1980.
68. 崔圭東 外 : 帶狀疱疹 患者의 治驗3例 報告, 大韓外官科學會誌, 10:1, pp.349-356, 1997.
69. 홍익표 外 : 帶狀疱疹에 關한 東西醫學的 比較, 大韓外官科學會誌, 3:1, pp.73-87, 1990.
70. 권태우 外 : Cadmium에 의한 대식세포 Nitric Oxide 발생 억제, 한국노화학회지, 5:2, pp.72-79, 1995.
71. 김영표 外 : 최근 10년 동안의 대상포진환자에 대한 임상적 연구, 대한피부과학회지, 18, pp.69-75, 1980.
72. 김진우 外 : 대상포진 및 수두의 임상적 연구, 대한피부과학회지, 20, pp.69-75, 1982.
73. 이은희 外 : 사람 용모 성선 자극 호르몬에 의한 복강 대식세포로부터 산화질소의 발생, 41:3, pp.365-369, 1997.
74. 李重烈 : 대식세포에서 inducible nitric oxide synthase의 발현에 미치는 protein kinase C의 역할, 圓光大學校 大學院, 1994.
75. 천인기 外 : 대상포진과 전신질환과의 관계에 관한 연구, 대한피부과학회, 26, pp.356-364, 1988.
76. 崔喜震 : 회상항원검사를 이용한 대상포진환자의 세포면역에 관한 연구, 翰林大學校 大學院, 1990.
77. 차창룡 등 : 대상포진, 항바이러스 약물의 적용. 의약정보, 5:1, pp.10-55, 1993.
78. 한을남 : 수두-대상포진바이러스 감염환자의 혈청내 Interferon의 정량에 관한 연구, 경희대학교 대학원, 1983.
79. 白充基 : 病理學, 서울, 高文社 p.23, 1988.
80. 李潤台 譯 : 最新면역학, 서울, 集文堂, pp.355-358, 1989.
81. Aizawa H., Suzutani T., Yahara O., Gotoh R., Morita K., Minami H., Sasaki N., Tobise K. : A cases of varicella zoster myelopathy. *Acta Neurologica Scandinavica*, 93:6, pp.470-472, 1996.
82. Bates CJ., Kudesia G., Mckendric MW. : Effects of acyclovir and prednisolone on the serological response in herpes zoster. *Journ of Medical Virology*, 50:3, pp.244-248, 1996.
83. Bryden AS. : Diagnosing varicella zoster virus infection. *Science*, 54:1 pp.72-73, 1997.
84. Dahl H., Marcoccia J., Linda A. : Antigen detection : the method of choice in comparison with virus isolation and serology for laboratory diagnosis of herpes zoster in human immunodeficiency virus-infected patients. *Journ of Clinical Microbiology*, 35:2, pp.347-349, 1997.

85. Flamhøle L. : Neurological complications in herpes zoster. *Scandinavian Journ of Infectious Diseases*, 100, pp.35-40, 1996.
86. Furuta Y., Takasu T., Suzuki S., Kukuda S., Inuyama Y., Nagashima K. : Detection of latent varicella zoster virus infection in human vestibular and spiral ganglia. *Journ of Medical Virology*, 51:3, pp.214-216, 1997.
87. Ikeda M., Hiroshige K., Abiko Y., Onoda K. : Impaired specific cellular immunity to the varicella zoster virus in patients with herpes zoster oīcus. *Journ of Laryngology & Otology*, 110:10, pp.918-921, 1996.
88. Johnson RW. : Herpes zoster and postherpetic neuraagia. Optimal treatment. *Drugs & Aging*, 10:2, pp.80-94, 1997.
89. Liesegang T.J. : The use of polymerase chain reaction techniques to detect varicella zoster virus in corneal transplant tissue, *Archives of Ophthalmology*, 115:5, pp.664-665, 1997.
90. Patel H., Macarthur C., Johnson D. : Recent corticosteroid use and the risk of complicated varicella in otherwise immunocompetent children. *Archives of Pediatrics & Adolescent Medicine*, 150:4, pp.409-414, 1996.
91. Pock RW., Crome P., Wood MJ., Mckendrick MW., Bannister B., Mandal BK., Crocks RJ. : Multiple dose netivudine, a potent anti-varicella zoster virus agent, in healthy elderly volunteers and patients with shingles. *J. Antimicrobial Chemotherapy*, 37:3, pp.583-597, 1996.
92. Pollard AJ., Isascs A., Hermione Lyall EG., Curtis N., Leck., Walters S., Levin M. : Potentially lethal bacterial infection associated with varicella zoster virus, *BMJ*, 313, pp.283-285, 1996.
93. Amaro, M.J., Bartolomé J., Pardo, M., Cotonat, T., López-Farré, A. and Carreñ, V. : Decreased nitric oxide production in chronic viral hepatitis B and C. *J. Med. Virol.*, 51, pp.326-331, 1997.
94. Bastian FO, Rabson AS, Yee CD and Trałka TS : Herpes virus varicellae isolated from human dorsal root ganglia. *Arch Pathol.*, 97, pp.331-333, 1974.
95. Bolanos, J.P., Peuchen, S., Heales, S.J., Land, J.M. and Clark, J.B. : Nitric oxide-mediated inhibition of the mitochondrial respiratory chain in cultured astrocytes. *J. Neurochem.*, 63, pp.910-916, 1994.
96. Bredt, D.S. and Synder, S.H. : Nitric oxide, a novel neuronal messenger. *Neuron*, 8, pp.3-11, 1992.
97. Brune, B. and Lapetina, E.G. : Activation of a cytosolic ADP-ribosyltransferase by nitric oxide-generating agents. *J. Biol. Chem.*, 264, pp.8455-8458, 1989.
98. Brune, B. and Lapetina, E.G. : Properties of a novel nitric oxide-stimulated ADP- ribosyltransferase. *Arch Bioche. Biophys.*, 279, pp.286-290, 1990.
99. Chang, T.W. : Recurrent viral infection(Reinfection). *N. Engl. J. Med.*, 284, p.765, 1971.
100. Croen, K.D. : Evidence for antiviral effect of nitric oxide. Inhibition of herpes simplex virus type I replication. *J. Clin. Invest.*, 91, pp. 2446-2452, 1993.
101. Esumi, H. and Tannenbaum, S.R. : U.S.-Japan Cooperative Cancer Research Program: seminar on nitric oxide synthase and carcinogenesis. *Cancer Res.*, 54, pp.297-301, 1994.
102. Gold, E. : Serologic and virus-isolation studies of patients with varicella or herpes-zoster infection, *N.Engl.J.Med.*, 274 p.181, 1966.
103. Green, L.C., Wagner, D.A., Glogowski, J., Skipper, P.L., Wishnok, J.S. and Tannenbaum, S.R. : Analysis of nitrate, nitrite, and [15N] nitrate in biologic fluids. *Anal. Biochem.*, 126, p.131, 1982.
104. Hibbs, J.B., Jr., Taintor, R.R. and Vavrin, Z. : Iron

- depletion, possible cause of tumor cell cytotoxicity induced by activated macrophages. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 123, pp.716-723, 1984.
105. Hibbs, J.B., Jr., Taintor, R.R. and Vavrin, Z. : Macrophage cytotoxicity, role for L-arginine deiminase and imino nitrogen oxidation to nitrite. *Science*, 235, pp.473-476, 1987.
106. Jun, C.D., Choi, B.M., Ryu, H., Um, J.Y., Kwak, H.J., Lee, B.S., Paik, S.G., Kim, H.M. and Chung, H.T. : Synergistic cooperation between phorbol ester and IFN- for induction of nitric oxide synthesis in murine peritoneal macrophages. *J. Immunol.*, 153, pp.3684-3690, 1994.
107. Karupiah, G., Xie, Q.W., Buller, R.M., Nathan, C., Duarte, C. and Mac-Micking, J.D. : Inhibition of viral replication by interferon-gamma-induced nitric oxide synthase. *Science*, 261, pp.1445-1448, 1993.
108. Kilbourn, R.G., Klostergaard, J. and Lopez-Berestein, G. : Activated macrophages secrete a soluble factor that inhibits mitochondrial respiration of tumor cells. *J. Immunol.*, 133, pp.2577-2581, 1984
109. Kim, H.M. and Moon, Y.H. : Human chorionic gonadotropin induces nitric oxide synthase mRNA in mouse peritoneal macrophages. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 229, pp.548-552, 1996.
110. Kots, A.Y., Skurat, A.V., Sergienko, E.A., Bulargina, T.V. and Severin, E.S. : Nitroprusside stimulates the cysteine-specific mono (ADP-ribosylation) of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase from human erythrocytes. *FEBS Lett.*, 300, pp.9-12, 1992.
111. Kwon, N.S., Stuehr, D.J. and Nathan, C.F. : Inhibition of tumor cell ribonucleotide reductase by macrophage derived nitric oxide. *J. Exp. Med.*, 174, pp.761-767, 1991.
112. Lepoivre, M., Fieschi, F., Coves, J., Thelander, L. and Fentecave, M. : Inactivation of ribonucleotide reductase by nitric oxide. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 179, pp.442-448, 1991.
113. Lowenstein, C.J., Alley, E.W., Raval, P., Snowman, A.M., Snyder, S.H., Russell, S.W. and Murphy, W.J. : Macrophage nitric oxide synthase gene, two upstream regions mediate induction by interferon gamma and lipopolysaccharide. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90, pp. 9730-9734, 1993.
114. Lowenstein, C.J., Hill, S.L., Lafond-Walker, A., Wu, J., Allen, G., Landavere, M., Rose N.R., and Herskowitz, A. : Nitric oxide inhibits viral replication in murine myocarditis. *J. Clin. Invest.*, 97, pp.1837- 1843, 1996.
115. Mateo, R.B., Reichner, J.S., Mastrofrancesco, B., Kraft-Stolar, D. and Albina, J.E. : Impact of nitric oxide on macrophage glucose metabolism and glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase activity. *Am. J. Phys.*, 268, pp.C669-C675, 1995.
116. McDonald, M.I., Durack, D.T. : Viral blisters. In *Dermatologic clinics*. W.B. Saunders Co., Philadelphia, pp.281-290, 1983.
117. Moncada, S., Palmer, R.M. and Higgs, E.A. : Nitric oxide Physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol. Rev.*, 43, pp.109-142, 1991.
118. Moncada, S. and Higgs, A. : The L-arginine-nitric oxide pathway. *N. Engl. J. Med.*, 329, pp.2002-2012, 1993.
119. Nathan, C. and Xie, Q.W. : Regulation of biosynthesis of nitric oxide. *J. Biol. Chem.*, 269, pp.13725-13728, 1994.
120. Nathan, C.F. and Hibbs, J.B., Jr. : Role of nitric oxide synthesis in macrophage antimicrobial activity. *Curr. Opinion Immunol.*, 3, pp.65-70, 1991.
121. Nathan, C. : Nitric oxide as a secretory product of

- mammalian cells. *FASEB J.*, 6, pp.3051-3064, 1992.
122. Nguyen, T., Brunson, D., Crespi, C.L., Penman, B.W., Wishnok, J.S. and Tannenbaum, S.R. : DNA damage and mutation in human cells exposed to nitric oxide in vitro. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 89, pp. 3030-3034, 1992.
123. Nusselr, A.K., Di Silvio, M., Billiar, T.R., Hoffman, R.A., Geller, D.A., Selby, R., Madariaga, J. and Simmons, R.L. : Stimulation of the nitric oxide synthase pathway in human hepatocytes by cytokines and endotoxin. *J. Exp. Med.* 176, pp.261-264, 1992.
124. Oxman MH : Varicella and Herpes Zoster. In *Dermatology in General Medicine.* Fitzpatric TB, Eisen AZ, Wolff K et al. (eds), 3rd ed, McGraw-Hill Book Co, New York. pp.2314-2340, 1987.
125. Quiroga, J.A., Martín, J., Pardo, M. and Carreño, V. : Serum levels of soluble immune factors and pathogenesis of chronic hepatitis C. and their relation to therapeutic response to interferon alpha. *Dig. Dis. Sci.*, 39, pp.2485-2496, 1994.
126. Rice, W.G., Schaeffer, C.A., Harten, B., Villinger, F., South, T.L. Summers, M.F., Henderson, L.E., Bess, J.W., Arthur, Jr.L.O., McDougal, J.S. : Inhibition of HIV-1 infectivity by zinc-ejecting aromatic C-nitroso compounds. *Nature*, 361, pp.473-475, 1993.
127. Russell, S.W., Doe, W.F., McIntosh, A.T. : Functional characterization of a stable, noncytolytic stage of macrophage activation in tumors. *J. Exp. Med.*, 146 pp.1511-1520, 1977.
128. Scuderi, P., Sterling, R.E., Lam, K.S., Firiley, P.R., Ryan, K.J., Ray, C.G., Petersen, E., Slymen, D.J. and Salmon, S.E. : Raised serum levels of tumour necrosis factor in parasitic infections. *Lancet*, 2, pp. 1364-1365, 1986.
129. Sheron, N., Lau, J., Daniels, H., Goka, J., Eddleston, A., Alexander, G.J. and Williams, R. : Increased production of tumor necrosis factor alpha in chronic hepatitis B virus infection. *J. Hepatol.*, 12, pp.241-245, 1991.
130. Stuehr, D.J., and Nathan, C.F. : Nitric oxide. A macrophage product responsible for cytostasis and respiratory inhibition in tumor target cells. *J. Exp. Med.*, 169, pp.1543-1555, 1989.
131. Stuehr, D.J., Gross, S.S., Sakuma, I., Levi, R. and Nathan, C.F. : Activated murine macrophages secrete a metabolite of arginine with the bioactivity of endothelium-derived relaxing factor and the chemical reactivity of nitric oxide. *J. Exp. Med.*, 169, pp.1011-1020, 1989.
132. Stuehr, D.J. and Marletta M.A. : Mammalian nitrate biosynthesis, Mouse macrophages produce nitrite and nitrate in response to Escherichia coli lipopolysaccharide. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 82, pp.7738-7742, 1985
133. Summersgill, J.T., Powell, L.A., Buster, B.L., Miller, R.D. and Ramirez, J.A. : Killing of Legionella pneumophila by nitric oxide in gamma-interferon activated macrophages. *J. Leukocyte Biol.*, 52, pp.625-629, 1992.
134. Tucker, P.C., Griffin, D.E., Choi, S., Bui, N. and Wesselingh, S. : Inhibition of nitric oxide synthesis increases mortality in Sindbis virus encephalitis. *J. Virol.*, 70, pp.3972-3977, 1996.
135. Wagner, D.A., Young V.R. and Tannenbaum, S.R. : Mammalian nitrate biosynthesis, Incorporation of  $^{15}\text{NH}_3$  into nitrate is enhanced by endotoxin treatment. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 78, pp.7764-7768, 1983.
136. Welsh, N., Eizirik, D.L., Bendtzen, K. and Sandler,

- S. : Interleukin-1 beta-induced nitric oxide production in isolated rat pancreatic islets requires gene transcription and may lead to inhibition of the Krebs cycle enzyme aconitase. *Endocrinology*, 129, pp.3167-3173, 1991.
137. Wink, D.A., Kasprzak, K.S., Maragos, C.M., Elespuru, R.K., Misra, M., Dunams, T.M., Cebula, T.A., Koch, W.H., Andrews, A.W., Allen, J.S. et al. : DNA deaminating ability and genotoxicity of nitric oxide and its progenitors. *Science*, 254, pp.1001-1003, 1991.
138. Xie, Q., Whisnant, R. and Nathan, C. : Promoter of the mouse gene encoding calcium-independent nitric oxide synthase confers inducibility by interferon- and bacterial lipopolysaccharide. *J. Exp. Med.*, 177, pp.1779-1784, 1993.
139. Yoshioka, K., Kakumu, S., Arao, M., Tsutsumi, Y. and Inoue, M. : Tumor necrosis factor alpha production by peripheral blood mononuclear cells of patients with chronic liver disease. *Hepatology*, 10, pp.769-773, 1989.
140. Zhang, J. and Snyder, S.H. : Purification of a nitric oxide-stimulated ADP-ribosylated protein using biotinylated beta-nicotinamide adenine dinucleotide. *Biochemistry*, 32, pp.2228-2233, 1993.
141. Hope-Simpson RE : The nature of herpes zoster. A long term study and a new hypothesis. *Proc R Soc Med.*, 58, pp.9-17, 1965.
142. Miller AE : Selective decline in cellular immune response to varicella-zoster in the elderly. *Neurology*, 30, pp.582-587, 1980.
143. Ito M., Watnaabe M., Kamiya H., Sakurai M. : Inhibition of natural killer(NK) cell activity against varicella-zoster virus(VZV)-infected fibroblasts and lymphocyte activation in response to VZV antigen by nitric oxide-releasing agents. *Clinical & Experimental Immunology*, 106:1, pp.40-44, 1996.
144. Socransky SS. and Haffajee AD. : Microbial mechanisms in the pathogenesis of destructive periodontal disease, a critical assessment. *J. Periodontol. Res.*, 26, pp.195-212, 1989.
145. Page RC. : Host response tests for diagnosing periodontal disease. *J. Periodontol.*, 63, p.356, 366, 1992.
146. Lamster IB. : The host response in gingival crevicular fluid : potential applications in periodontitis clinical trials. *J. Periodontol.*, 63, pp.1117-1123, 1992.
147. Polson AM. and Goodson JM. : Periodontal diagnosis current status and future needs. *J. Periodontol.*, 56:1, pp.25-34, 1985.
148. Gerritsen MJP, Rulo HFC, Arnold WP and Van De Kerkhof PCM : Response of the clinically uninvolved skin of psoriatic patients to repeated tape stripping during cyclosporin A treatment. *B. J. of Dermatol.*, 130, pp.181-188, 1994.
149. Marx J. : How the glucocorticoid suppress immunity. *Science*, 270, pp.222-233, 1995.
150. Lee DH and Choi : The comparative study of immunosuppressive drugs on the periodontal condition in renal transplant patients. *J. of Ker. Academ. of Periodontol.*, 19:1, pp.1-8, 1989.
151. Ting PC, kaminski JJ., Sherlock MH., Tom WC., Lee JF., Bryant RW., Watnick AS., Mcphail AT. : Substituted 1, 3-dihydro-2h-pyrrolo [2,3-b] pyridin-2- ones as potential antiinflammatory agents. *J. Med. Chem.*, 33, pp.2697-2706, 1990.