

원저

玉屏風散이 생쥐의 선천성 및 특이적 면역반응에 미치는 영향

宋峰根*, 田庸哲*

ABSTRACT

Effects of Okbyungpoongsan Administration on Innate and Specific Immune Response in the Mouse

Song Bong-Keun*, Jeon Yong-Cheol*

* Department of Internal Medicine, School of Oriental Medicine,
Wonkwang University, Iksan, Korea

Okbyungpoongsan(OBPS) has long been known to have anti-allergic effect. In order to evaluate the influence on innate and specific immune response, the effects of OBPS on vascular permeability, hypersensitivities and phagocytic functions were measured.

As the results, OBPS increased phagocytic activity of peritoneal macrophages *in vitro* and *in vivo*.

But OBPS depressed formation of reactive oxygen intermediates(ROI) *in vitro* and *in vivo*, while the drug enhanced generation of reactive nitrogen intermediates from murine peritoneal macrophages.

Foot pad swelling in the mouse and contact hypersensitivity against dinitrofluorobenzene were decreased. OBPS had no effect on NK cells.

But OBPS decreased vascular permeability induced by histamine without statistical significance.

These results demonstrate that OBPS suppresses hypersensitivity reactions without affecting phagocytic functions and formation of ROI from macrophages.

It also means that OBPS acts as a effective inducer to synthesis of nitric oxide which is effective for the infectious disease while it does damage to tissue less as it suppresses ROI, So we can conclude that OBPS could be used for the treatment of the disease related with immune function.

Key Word : Okbyungpoongsan, phagocytic activity, immune response, reactive oxygen intermediates, reactive nitrogen intermediates, hypersensitivity

* 원광대학교 한의과대학 신계내과학교실

접수: 99. 8. 30 최종수정: 99. 10. 16 연락처: 송봉근 T.062-670-6422

I. 서 론

玉屏風散은 <世醫得效方>에 처음 수재된 처방으로 黃芪·白朮·防風으로 구성되어 있고 주로 胃氣虛 및 表虛自汗 등의 질환의 치료에 응용되어 왔다. 益氣健脾 固表止汗의 효능을 가진 玉屏風散은 최근 면역력을 증가시키며, 유행성 독감 바이러스를 억제하는 약리작용¹⁾이 있는 것으로 알려지고 있고, 임상에서 알레르기성 비염, 과민성 피부염, 감기에 방, 상기도 감염 등 주로 면역능과 관련된 질환²⁻⁴⁾에 응용되고 있다.

특히 玉屏風散의 구성 약물 중 黃芪는 補氣升陽·固表止汗·托毒排膿·利水退腫하며, 白朮은 補脾益氣·燥濕利水·固表止汗·安胎하며, 防風은 祛風解表·勝濕止癢·止瀉止血하는 효능이 있다⁵⁾. 이러한 약물들에 대하여 戴⁶⁾는 補氣 補血 補陰 및 補陽하는 약물들은 대부분 면역증강 효과가 있다 하였다.

이로 미루어 보면 衛氣虛에 대한 益氣의 효능이 있는 玉屏風散은 전체적으로 면역증강 효과를 가질 것으로 사료된다. 특히 한약은 면역 기능 저하시 기능을 향상시키고 면역기능 저하시 항진된 기능을 억제하는 쌍방향 조절작용을 갖는 것으로 밝혀지고 있고 또 면역조절기능외에도 인체 장기에 영향을 미쳐 광범위한 비특이적인 면역반응을 발휘하는 것으로 알려지고 있다⁷⁾. 하지만 최근까지 일부 구성약물이 면역반응에 미치는 영향에 대하여는 보고가 있었으나 玉屏風散의 투여에 의한 효과에 대하여는 실험적 근거가 미흡한 실정이다. 이에 저자는 玉屏風散의 투여가 선천성 및 특이적 면역반응에 미치는 영향을 알아보고 감염성 질환의 치료와 예방 과정에 있어서 활용도를 규명하기 위하여 자연치사세포의 활성화도 측정, 대식세포에 의한 탐식능의 측정, 대식세포의 반응산소 및 반응질소 중간물질의 생성 및 집축성과민반응과 히스타민에 의한 혈관투과성에 미치는 영향 등에 대한 실험을 실시하여 다음과 같은 결과를 얻었기에 이를 보고하고자 한다.

II. 실험재료 및 방법

1. 실험재료

1) 동물

8-10주 사이의 BALB/C 생쥐 cage(18×20cm)당 6개체의 밀도를 유지하고, 2주일간 실온에서 물과 사료를 충분히 공급한 상태에서 본 실험에 사용하였다.

2) 약재

본 실험에서 사용한 약재는 원광대학교 광주한방병원에서 구입한 후 정선하여 사용하였다. 처방은 方藥合編에 준하였으며, 내용과 분량은 다음과 같다.

Drug Name	Scientific Name	Weight(g)
白朮	<i>Atractylis Rhizoma</i>	18.75
防風	<i>Ledebouriellae Radix</i>	9.0
黃芪	<i>Astragali Radix</i>	9.0

3) 항원⁸⁾

홍선 존재성 항원은 綿羊赤血球(Sheep Red Blood Cell:SRBC)를 사용하였으며, 면양의 경정맥으로 부터 채혈한 후 동량의 Alsever씨액(pH 6.1)을 가하여 4° C 에서 보관하였고 4주 이내에 사용하였다.

2. 방법

1) 검액의 조제

상기 처방 1첩 분량(36.75g)을 2000ml round flask에 넣고 증류수 620ml를 가하여 100° C 로 4시간 동안 증탕하여 여과포로 여과하였으며, 여과액을 1000rpm에서 20분간 원심분리하여 얻은 上清液을 다시 증탕하여 100ml(1×)씩으로 농축하여 검액으로 사용하였다.

2) 검액의 투여

① 생체내 실험

생쥐 1마리당 OBPS1군은 검액을 10배 희석하여(OBPS:DW=1:10), OBPS 2군은 검액을

그대로(OBPS ×1), OBPS3군은 검액을 10배 농축하여(OBPS ×10) 0.5ml씩 1일 1회씩 14일 동안 경구투여 하였으며, 대조군은 동량의 생리식염수(0.85% NaCl)를 동일한 방법으로 투여하였다.

② 생체의 실험

정상 마우스의 대식세포를 분리한 후 OBPS1군은 검액을 10배 희석하여(OBPS:DW =1:100), OBPS2군은 검액을 10배 희석하여(OBPS: DW=1:10), OBPS3군은 검액을 그대로(OBPS ×1) 분리된 대식세포에 처리한 후 6시간 배양하였다.

3) 대식세포의 탐식능 분석^{9,10)}

① 대식세포의 유도 및 분리

i) 생체내 실험

검액 투여 14일된 실험군 생쥐의 상피를 절개한 후에 복강에 멸균된 HBSS(Ca²⁺, Mg²⁺ -free)5ml를 주사하고 대식세포를 분리하여 HBSS로 세척한 후 탐식능을 분석하였다.

ii) 생체의 실험

멸균된 PBS(pH7.2)로 정상 마우스의 복강을 세척하고 peritoneal exudate cell(PEC)을 얻은 다음 OBPS액을 각각의 농도로 첨가하여 6시간 배양후에 세포를 수확하여 차가운 PBS로 400g에서 10분간 원심분리하고 세척한 후 대식세포 활성도 분석에 이용하였다.

② 대식세포의 탐식능 분석

대식세포의 탐식능 측정은 FITC로 라벨된 polystyrene latex particle (1.88 μm, Polysciences, Warrington)을 사용하여 유식세포분리분석기로 측정하였다. 대식세포의 탐식능 측정은 다음 공식에 따랐다.

$$\text{Phagocytic Activity}(\%) = \frac{\text{TE0} - \text{TE45}}{\text{TE0}} \times 100$$

TE0 = FITC로 라벨된 latex particle(5×10⁷)과 대식세포(1×10⁶)를 0시간 배양 후 latex particle의 수

TE45 = FITC로 라벨된 latex particle (5×10⁷)과 대식세포(1×10⁶)를 45분간 배양 후 latex particle의 수

4) 탐식세포의 반응산소중간물질(Reactive Oxygen Intermediate : ROI)생성능의 측정¹¹⁾

① 복강대식세포의 유도

i) 생체내 실험

실험군 마우스의 복강에서 PEC를 얻어 차가운 PBS로 400g에서 10분간 원심분리하고 세척한 후 veronal buffered saline (Ca²⁺, Mg²⁺, albumin, glucose 포함)에 적정한 후 chemiluminescence(CL)를 측정하였다.

ii) 생체의 실험

정상 마우스의 복강에서 PEC를 얻고 OBPS액을 각각의 농도로 첨가하여 6시간 배양후에 세포를 수확하고 차가운 PBS로 400g에서 10분간 원심분리하여 세척한 후 veronal buffered saline(Ca²⁺, Mg²⁺, albumin, glucose 포함)에 적정한 후 CL을 측정하였다.

② Lucigenin에 의해 유도된 CL의 측정

veronal buffered saline을 이용해 적정된 PEC 단세포 부유액을 Luminometer(LB 9509, Berthold)내에서 preincubation시킨 후 Lucigenin을 주입하고 안정화 시킨 다음 phorbol myristate acetate(PMA)를 주입하고 37° C 조건에서 약 60분간 CL을 측정했다.

③ Luminol에 의해 유도된 CL의 측정

veronal buffered saline을 이용해 적정된 PEC 단세포 부유액을 Luminometer(LB 9509.Berthold)내에서 preincubation시킨 후 luminol을 주입하고 안정화시킨 다음 PMA를 주입하고 37° C 조건에서 약 60분간 CL를 측정했다.

5) 배양중인 대식세포에서 반응질소중간물질(Reactive Nitrogen Intermediate : RNI¹²⁾ 생성능 측정

약물 투여 생쥐의 복강대식세포를 분리한 후, γ -IFN이나 LPS, 또는 RNI생성 저해제, OBPS액을 각각의 농도에 따라 배양세포에 첨가하고 48시간 동안 배양한 후에 Griss Reagent(1:1, v/v, N-1-naphthylethylendiamine 0.1% in H₂O, sulfanilamide 1% in 5% H₃PO₄)를 첨가하고 10분간 실온에 두었다가 TiterTek Multiscan MCC/340(Flow Lab)으로 540nm에서 흡광도를 측정하였다.

6) Sheep Red Blood Cell(SRBC)에 의한 지연형 즉부종반응¹³⁾

① 항원의 제조

감작항원과 유발항원으로는 SRBC를 HBSS

으로 선제한 후 적혈구수를 조정하여 사용하였다.

② SRBC에 의한 족부종 측정

실험군 생쥐에 SRBC를 꼬리정맥에 주사하여 감각 시킨 후 4일째 생쥐에 다시 SRBC를 좌측 족저에 피하주사하여 부종을 유발시켰다. 유발야기 전 및 24시간 후의 족저의 두께차를 dial thickness gauge를 사용하여 측정하였다.

7) 접촉성 과민반응의 측정¹⁴⁾

접촉성 과민반응contact hypersensitivity (CH)의 유발을 위하여 1.5% DNFB 용액 20 μl를 약물 투여 8일된 실험군 생쥐의 복부피부에 감각하고 감각후 4일에 0.2% DNFB 용액 5 μl을 귓바퀴 안쪽에 발라 야기하였다. 종창증가율은 Mitutoyo engineer's micrometer를 이용하여 야기직전과 야기후 24시간 뒤에 각각 측정하였으며, 억제율은 다음 공식에 의하여 계산하였다.

% Depression = $\frac{\text{Positive con.} - \text{Experiment}}{\text{Positive con.} - \text{Negative con.}} \times 100$

8) 자연치사세포(Natural Killer cell : NK cell)의 활성화 측정¹⁵⁾

① 표적세포 (Target cell)

생쥐의 자연치사세포에 감수성이 예민한 YAC-1세포를 NK cell활성도 측정에 사용하였다. YAC-1세포는 연속 부유배양법으로 유지하였으며, 배양액은 10% fetal bovine serum과 penicillin(100 μg/ml), streptomycin (100 μg/ml)및 gentamycin(100 μg/ml)이 첨가된 RPMI 1640을 사용하였다.

② 효과세포 (Effector cell)

약물이 투여된 실험군 생쥐로부터 비장 세포부유액을 얻어 400g로 원심분리 시켜서 단핵세포층을 얻은 다음 HBSS로 세척하고 Hemocytometer를 사용하여 적정한 후 자연치사세포 활성도를 측정하였다.

③ 자연치사세포 활성도 분석

C'FDA의 working solution에 YAC-1 세포를 부유배양시켜 표적세포를 표식하였으며, 배양후 HBSS로 세척한 후 자연치사세포 활성도 측정에 사용하였다. 표식된 YAC-1 세포는 20:1의 비율로 효과세포와 함께 원심분

리시킨 다음 incubater에서 3시간 배양하여 4 ° C 의 암냉상태에서 보관하였다. 또한 표식된 YAC-1 세포만을 200 RPMI 1640 medium에서 실험군과 동일한 시간으로 배양하여 대조군으로 사용하였다.

자연치사세포의 활성도는 다음 공식에 의하여 계산하였다.

NK Cell Activity(%) = $\frac{\text{TE0} - \text{TE3}}{\text{TE0} \times 100}$

TE0 = C'FDA로 라벨된 YAC-1 세포와 효과세포(1:20)를 혼합하여 배양직전(0시간)의 C'FDA로 라벨된 YAC-1 세포의 수

TE0 = C'FDA로 라벨된 YAC-1 세포와 효과세포(1:20)를 혼합하여 배양 3시간 후의 C'FDA로 라벨된 YAC-1 세포의 수

9) Histamine에 의한 혈관투과성 반응¹⁶⁾

검액 투여 14일 된 실험군 생쥐에 1% Evans blue 생리식염수용액 1ml를 꼬리정맥에 주사하고 즉시 털을 제거한 배부에 histamine 1 μg을 함유하는 생리식염수 0.1 μl을 피내주사 하였다. 30분 후에 동물을 防血致死시켜 피부를 박리하여 청염부의 직경을 측정하였다.

III. 실험성적

1. 대식세포의 탐식능에 미치는 영향

i) 생체내 실험

玉屏風散 투여후 대식세포의 탐식능은 실험군 모두에서 유의한 증가를 보였다(Fig 1).

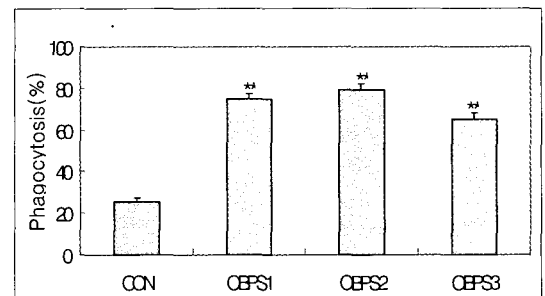


Fig. 1. In vivo effects of OBPS administrations on phagocytic activity.

The above data shows mean ± S.E. * P<0.05 **P<0.005 compared with the control group. The components of administered drug are as follows:

CON, Normal saline (0.5ml/day)

OBPS1, OBPS : DW = 1:10

OBPS2, OBPS×1 (0.5ml/day)

OBPS3, OBPS1×10 (0.5ml/day)

ii) 생체의 실험

생체의 실험에서 대식세포의 탐식능은 실험군 모두에서 유의하게 증가하였다(Fig 2).

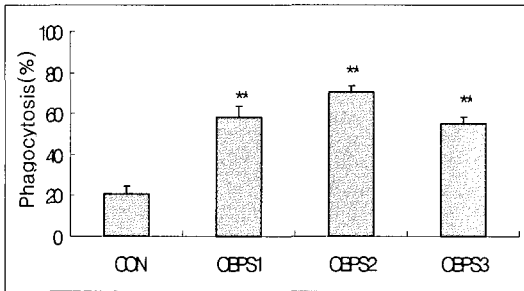


Fig. 2. In vitro effects of OBPS on phagocytic activity.

The above data shows mean ± S.E. **P<0.005 compared with the control group.

The components of administered drug are as follows:

OBPS1, 1×OBPS : DW=1:100

OBPS2, 1×OBPS : DW=1:10

OBPS3, 1×OBPS : DW=1

2. 탐식세포의 반응산소중간물질 (Reactive Oxygen Intermediates : ROIs) 생성능에 미치는 영향

i) 생체내 실험

lucigenin에 의해 유도된 대식세포의 활성화도는 실험군 모두 감소하는 경향을 보였고 특히 OBPS2에서 유의하게 감소하였다(Fig. 3).

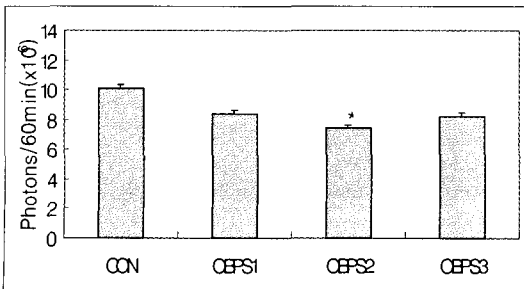


Fig. 3. In vivo effects of OBPS administrations on the

superoxide radical formation.

luminol에 의해 유도된 대식세포의 활성화도는 OBPS1에서는 유의하게 증가하였으나 다른 실험군에서는 감소하였고 OBPS3에서는 유의성을 나타냈다(Fig. 5).

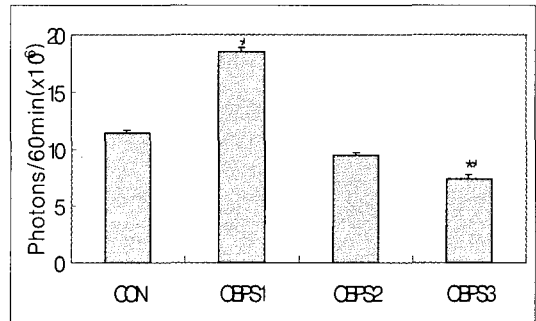


Fig. 5. In vivo effects of OBPS administrations on the hydrogen peroxide formation.

ii) 생체의 실험

lucigenin에 의해 유도된 대식세포의 활성화도는 OBPS1군과 OBPS2군은 감소하였으나 OBPS3군은 대조군과 거의 비슷한 수준을 나타냈다(Fig. 4).

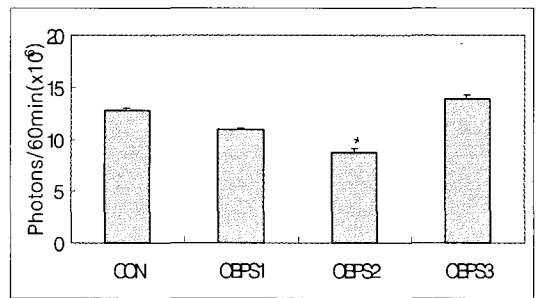


Fig. 4. In vitro effects of OBPS administrations on the superoxide radical formation.

luminol에 의해 유도된 대식세포의 활성화도는 OBPS1과 OBPS3에서는 별다른 차이를 보이지 않았으나 OBPS2에서는 유의하게 감소하였다(Fig. 6).

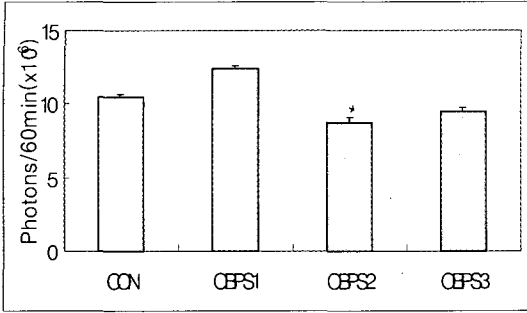


Fig. 6. In vitro effects of OBPS administrations on the hydrogen peroxide formation.

3. 탐식세포의 반응질소중간물질 (Reactive Nitrogen Intermediates : RNI) 생성능에 미치는 영향

玉屏風散 검액의 투여는 대조군(6<)에 비하여 RNI 생성능의 증가를 나타냈다(Tabel 1)

Treatment	Nitrate Concentration (μ M/L)
medium only	6>
γ -IFN	18 \pm 4
LPS	21 \pm 5
γ -IFN+LPS	79 \pm 7
OBPS1	36 \pm 4
OBPS2	40 \pm 4
OBPS3	37 \pm 4

Table 1. Effects of OBPS on the secretion of Nitrate in murine peritoneal macrophage

4. SRBC에 의한 지연형 족부종반응 측정
면양적혈구에 대한 족부종반응 실험에서 실험군은 모두 유의성 있는 큰 감소를 보였으며, 특히 OBPS2에서 가장 많이 감소하였다(Fig 7).

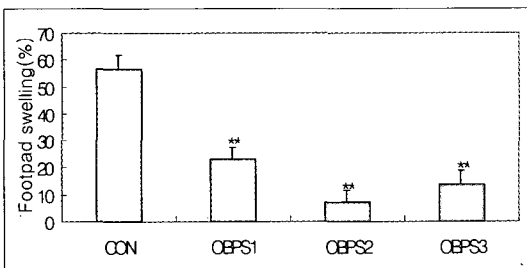


Fig. 7. Effects of OBPS administrations on foot-pad swelling responses in mice.

5. 접촉성 과민반응에 미치는 영향

DNFB 감각에 의한 접촉성 과민반응 실험에서 실험군은 모두 감소하였으며 OBPS2, OBPS3에서는 유의한 감소를 나타냈다(Fig 8).

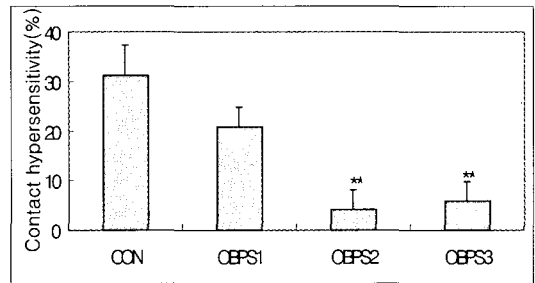


Fig. 8. Effects of OBPS administrations on contact hypersensitivity responses in mice.

6. NK 세포의 활성도에 미치는 영향

NK cell의 활성도는 실험군은 대조군에 비하여 유의한 영향을 나타내지 않았다(Fig 9).

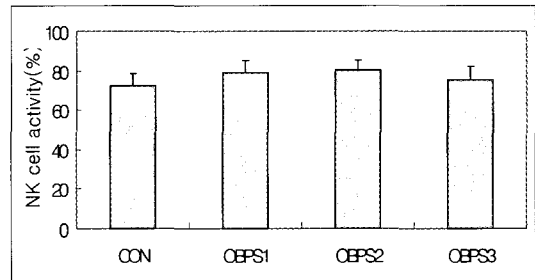


Fig. 9. Effects of OBPS administration on NK cell activity.

7. Histamin에 의한 혈관 투과성 반응

玉屏風散의 histamin에 대한 혈관 투과성을 조사한 결과 실험군은 약간 감소하는 경향을 보였으며 OBPS1과 OBPS3에서는 유의함을 나타냈다(Fig 10).

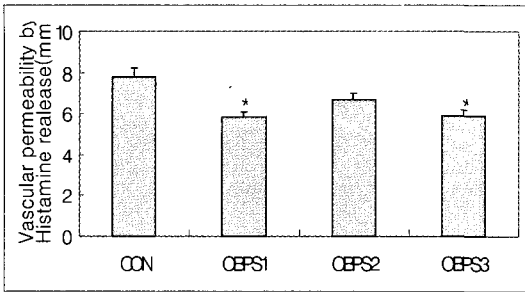


Fig. 10. Effects of OBPS administration on the vascular permeability by histamine in mice.

IV. 고 찰

玉屏風散은 益氣固表, 固衛陽, 補中氣, 益氣健脾하는 효능²⁾을 가지며, 表氣虛自汗, 衛氣虛而衛陽虛自汗, 風邪久留不散而自汗不止, 虛人感冒, 風痺 등의 주치¹⁾를 가진다. 최근 임상에서는 玉屏風散이 다한증, 알레르기성 비염, 만성 비염, 감기예방, 상기도 감염, 기관지염, 장염, 신염, 자반, 류마티스성 관절염, 매니에르 증후군, 편도선염, 담마진, 과민성 피부염의 치료에 응용되고 있다¹⁻⁴⁾.

玉屏風散의 구성 약물 중 黃芪는 補氣升陽, 益衛固表, 利水退腫, 托瘡生肌의 효능을 가져, 中氣虛弱, 表虛自汗 및 오래된 화농증에 사용되며, 백혈구와 다핵세포를 현저히 증가시키고, 망상내피계통의 기능을 증가시키며, 항체생성능력을 항진시켜 세포면역을 증강시키는 것으로 알려지고 있다. 또한 白朮은 益氣健脾, 燥濕止瀉, 固表止汗의 효능을 가지며 脾虛自汗, 脾陽虛로 인한 증상에 사용되고, 백혈구의 탐식능의 증가와 세포성 면역과 체액성 면역을 모두 증강시키는 것으로 보고되고 있다⁵⁾.

따라서 개별약제가 아닌 처방으로서 玉屏風散이 선천적 및 특이적 면역반응에 미치는 영향을 규명하고자 실시한 본 실험에서 玉屏風散은 생쥐 복강에서 얻은 대식세포의 탐식능을 증가시켰으며(Fig. 1, 2) 반응산소중간물질의 생성을 유의하게 감소시키면서 반응질소중간물질의 생성을 유의하게 증가시켰다.

(Fig. 3, 4, 5, 6, Table 1)

대식세포가 활성화 되면 lysosome내 여러 가지 가수분해 효소의 증가, NADH oxydase의 활성화에 의한 O₂나 H₂O₂ 등의 반응산소중간물질(ROI)의 생성¹⁷⁾, nitrogen oxidation metabolism의 결과로 생성되는 NO와 같은 반응질소중간물질(RNI)의 생성¹⁸⁾ 등의 抗微生物 작용이 항진되어¹²⁾ 탐식된 세포내 미생물을 결과적으로 사멸시키거나 번식을 저지할 수 있게 된다. RNI는 대식세포 특히 생쥐의 복강내 대식세포에서 γ -INF이나 LPS 또는 다른 미생물의 감염에 자극받아 L-arginine에 의존적으로 생성되며 이들이 특이적 또는 비특이적 면역반응에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. ROI는 탐식된 세포내 미생물을 사멸시키는 숙주의 방어기능을 담당하기도 하지만, 과다하게 생성된 ROI는 주위조직에 유리되어 염증반응시 관찰되는 조직파괴의 가장 중요한 원인이 되기도 한다¹⁹⁻²¹⁾. 또한 이러한 ROI는 염증반응시 뿐만 아니라 방사선 조사, 흡연, 심근경색 및 화학요법제의 투여 등에 수반되는 조직손상도 초래한다고 알려져 있다^{22,23)}.

따라서 본 실험에서 玉屏風散이 대식세포의 탐식능을 증가시키면서 ROI의 생성은 감소시키는 반면 RNI의 생성을 증가시킨 사실은 玉屏風散이 조직의 상해를 비교적 최소화하면서 면역력을 증가시킴을 나타낸다 하겠다. 또한 이러한 사실은 매우 획기적인 결과로 생각되는데 이는 대식세포의 항미생물 효과는 RNI에 의하여 최종적으로 수행되기 때문이다. 이러한 실험결과는 전 등²⁴⁾이 밝힌 바와 같이 RNI는 ROI의 생성에 억제적으로 작용한다는 사실과 부합되는 결과임을 알 수 있다 하겠다.

또한 玉屏風散은 마우스의 지연형 족부종 반응과 접촉성 과민반응을 억제시켰으며(Fig. 7,8) 지연치사세포의 종양세포 살해능에는 별 영향을 주지 않음을 확인하였다(Fig. 9). 역시 이 약제를 투여했을 경우에는 알레르기에 관여하는 히스타민에 대한 억제효과가 있음을 알 수 있었다(Fig. 10).

지연형 즉부종반응은 오래 전부터 세포성 면역반응을 측정하는 방법으로 지연형 즉부종반응의 저하는 helper T세포의 감소에 기인한다고 주장되기도 한다. 접촉성 과민반응 또한 지연형 과민반응으로 임상적으로는 습진반응을 특징으로 한다. 접촉성 과민반응은 T세포가 자극되어 림포카인을 생산하여 일련의 염증반응을 매개하는 것으로 세포성 면역반응과 관계가 깊다²⁵⁾. 따라서 본 실험 결과 玉屏風散이 지연형 즉부종반응과 접촉성 과민반응을 억제시켰음은 玉屏風散이 세포성 면역반응에도 관계함을 시사한다 하겠다.

또한 玉屏風散은 히스타민에 의한 혈관투과성을 감소시켰다. 비만세포의 탈과립에 의하여 분비되는 히스타민은 혈관확장 및 혈관투과성을 증가시키며 즉시형 과민반응시에 분비된다.

따라서 玉屏風散이 지연형 즉부종반응과 접촉성 과민반응을 억제하고 히스타민에 의한 혈관투과성을 억제시킨 결과는 玉屏風散이 세포성 면역반응에 관계하여 면역과민반응을 억제하므로써 담마진이나 과민성 피부염 또는 습진 등의 피부질환의 치료에 활용되는 데 대한 실험적 근거를 제공한다 하겠다.

NK세포는 자극을 받지 않아도 종양세포, 바이러스에 감염된 세포 또는 일부의 정상세포를 파괴한다²⁶⁾. 실험결과 玉屏風散은 자연치사세포의 종양세포 살해능에는 별 영향을 주지 않는 것으로 보아 항종양 효과는 없는 것으로 사료된다.

이와 같이 본 약제의 투여는 면역반응에 의한 조직의 손상을 최소화하면서 개체의 면역능을 향진시키며, 면역과민반응을 억제시키므로 임상에서 면역기능과 관련한 질환에 크게 활용할 수 있을 것으로 생각된다. 특히 黃芪만을 단독 투여하는 경우 ROI 생성능은 증가한다는 실험 결과가 있었으나²⁷⁾, 본 실험에서 ROI 생성능과 NK 세포 활성화도, 지연형 즉부종반응 및 접촉성과민반응과 히스타민에 의한 혈관투과성이 억제되면서 RNI 생성능과 대식세포의 탐식능이 증가한 결과는 黃芪의 단독 투여보다 조직의 상해는 최소화

하면서 면역기능은 향상시켜 외부로 부터의 감염을 효과적으로 방어할 수 있다는 점을 의미한다.

한의학에서는 正氣가 허약하면 邪氣가 침입한다고 하며 정기허약으로 인한 질병의 치료에는 扶正法을 사용한다²⁸⁾. 扶正은 益衛氣 補元氣 養血氣 益肺健脾 補腎을 포괄하며 면역반응을 촉진시킨다 하였다. 또한 정기가 허약한 환자에서는 면역기능이 저하되어 있다고 보고되고 있다²⁹⁾.

본 실험에 사용된 玉屏風散은 風邪가 久留하면서 不散하지 않아서 나타나는 自汗不止 증상에 사용된다. 일반적으로 風邪를 驅逐하기 위하여는 驅風劑를 사용한다. 그러나 驅風을 위하여 너무 많은 發散劑를 사용하게 되면 玄府가 閉하지 않게 되어 자한 증상이 호전되지 않는다. 따라서 이 경우에는 固表시켜 風邪가 안으로 들어오지 못하게 하는 치법이 필요하며 이 경우 玉屏風散을 투여하는 것으로 되어있다. 구성 약물중 防風은 治風의 대표적인 약이며, 黃芪는 衛氣를 補하여 腠理의 開闔작용을 증강시켜 賊風의 침입을 방지하며, 白朮은 建脾胃溫分肉하고 培土하여 守風한다. 따라서 玉屏風散은 防風으로 驅風하고 黃芪로 固表하여 밖에서 風邪를 막고 白朮로 固里하여 안에서 風邪가 침입하지 못하게 하므로 風邪가 한번 밖으로 驅逐되면 다시는 침입하지 못하게 되는 효과³⁰⁾를 가져온다고 할 수 있다. 따라서 이러한 효능은 正氣가 왕성해지므로 邪氣가 소멸되고 강해진 正氣로 인하여 邪氣가 다시 침입하지 못하는 효과로 풀이할 수 있을 것이다. 이러한 작용은 위 실험에서 나타난 조직의 상해를 최소화하면서 선천적 및 특이적 면역반응을 증강시키는 결과와 일치하는 효과로 해석할 수 있을 것이며, 玉屏風散이 正氣나 衛氣虛로 인한 질환의 치료에 생체활성조절물질로서 사용될 수 있는 가능성을 시사한다 하겠다.

V. 결 론

玉屏風散의 투여가 선천적 및 특이적 면역반응에 대한 효과를 알아보기 위한 실험에서 생쥐에 투여한 玉屏風散 추출액은 생체내 및 생체의 모두에서 대식세포에 의한 탐식능을 증가시켰으며, 반응산소중간물질 생성능을 유의하게 감소시키는 반면 반응질소중간물질 생성능은 크게 증가시켰다. 또한 玉屏風散은 지연형 즉부종 반응을 감소시키고, DNFB에 의한 접촉성 과민반응을 유의하게 억제하면서, 히스타민에 대한 억제효과를 나타냈다. 하지만 玉屏風散은 癌細胞株의 파괴능에 관여하는 NK세포의 활성도에는 크게 영향을 주지는 않았다.

이상의 실험결과로 玉屏風散은 외부 감염원에 의한 감염성 질환에 가장 효과적인 반응질소중간물질을 탐식세포로부터 생성케하는 효과적인 유도제로 작용하며, 반응산소중간물질의 생성을 억제시키는 이중적인 기능을 가져 조직 손상을 최소화하며 면역과민반응은 억제하는 기능을 가지는 것으로 생각된다. 따라서 玉屏風散이 正氣나 衛氣虛로 인한 질환의 치료에 생체활성조절물질로서 사용될 수 있을 것으로 사료된다.

참고문헌

1. 李向中 : 中醫方劑의藥理及臨床應用, 人民衛生出版社, 80-7, 1992.
2. 정진모 : 중의치방해설 임상응용, 서울, 계축문화사, 60, 1986.
3. 何 倫 : 實用處方綱目, 北京, 陝西科學技術出版社, 305-6, 1991.
4. 魏菊仙, 陸裕影, 余傳隆 : 中醫名方應用進展, 北京, 中國醫藥科技出版社, 335-41, 1991.
5. 신민교 : 원색임상본초학, 서울, 남산당, 169-71, 1986.
6. 戴新民 : 中醫免疫學, 台北, 啓業書局有限公司, 9,10, 1985.
7. 周金黃 : 中藥免疫藥理學, 北京, 人民軍醫出版社, 21-3, 1994.
8. Biozzi G, Stiffel C, Mouton D, Bouthiller Y and Decrusefound C : A kinetic study

- of antibody producing cells in the spleen of mice immunized intravenously with sheep erythrocytes, *Immunology*, 14:7, 1968.
9. Hume DA, Perry V and Gordon S : The mononuclear phagocyte system of the mouse defined by immunohistochemical localization of antigen F4/70. Macrophages of bone and associated connective tissue. *J. Cell. Sci.*, 66:189-94, 1984.
10. Winter M and Buschmann HG : Measuring phagocytic capacity in polymorphonuclear cell of the pig : A comparison between different assay, *J. Vet. Med.*, 834:504, 1987.
11. Babior BM, Kipnes RS, and Cumutte JT : Biological defense mechanisms, the production by leukocyte of superoxide, a potential bactericidal agent, *Clin Invest* 52:741, 1983.
12. Hibbs JB, Taintor R, Vavrin Z, and Rachlin C. : Nitric oxide on a cytotoxic activated macrophage effector molecule, *Biochem. Biophys. res. commun.*, 161:420, 1989.
13. Claman HN, Chaperon EA and Triplrtt RF: Thymusmarrow cell combination synergism in antibody production, *Soc. Exp. Biol. Med. Proc.* 59:83-7, 1966.
14. Mitsuoka A et al : Delayed hypersensitivity in mice induced by intravenous sensitization with sheep erythrocytes : Evidence for tuberculin type delayed hypersensitivity of the reaction, *Immunology*, 34:363, 1987.
15. McGrinnes KM, Chopman G, Marks R and Penny R : A fluorescence NK assay using flow cytometry. *J. Immunol., Meth.*, 86:7-15, 1986.
16. Avrames L, Bach JF and Pfeud homme JL : Antiboby Formation at the Cellular Level in *Immunology*, John wiley & Sons In C., New York, 508-13, 1982.
17. Drapier JC, Wietzerbin J and Hibbs JB : γ -Interferon and tumor necrosis factor induce the L-arginine-dependent cytotoxic effector mechanism in murine macrophage,

- Eur. J. Immunol., 141:2407, 1988.
18. Iyrngar RD, Stuther DJ and Marletta MA : Macrophage synthesis of nitrite, nitrite and N-nitrosamines : Precursors and role of the respiratory burst., Proc. Natl. Aca. Sci. U.S.A., 84:6369, 1987.
 19. Grever MR, Thompson VN, Balcerzak SD and Sagone AL Jr. : The effect of oxidant stress on human lymphocyte cytotoxicity., Blood., 56:284, 1980.
 20. Carroll EC, Basrry H, Edward TB, William AP, Bruce NA, Robert LS, Joe MM and Denham H : Oxygen radicals and human disease., Ann, Intern. Med., 107:526, 1987.
 21. Schalkwijk J, Vandenberg WB, Vandeputte LBA and Loosten LBA : An experimental model for hydrogen peroxide induced tissue damage : Effect on cartilage and other articular tissues, Int. J. Tiss. React. XI(1):39, 1987.
 22. Misra HP and Fridovich I : Superoxide dismutase and the oxygen enhancement of radiation lethality, Arch. Biochem. Biophys., 176:577, 1976.
 23. Myers CE, McGuire WP, Liss RH, Infirm I, Grotzinger K and Young RC : Adriamycin : the role of lipid peroxidation in cardiac toxicity and tumor response, Science, 197:165, 1977.
 24. Jun CD, Yoon HJ, Park YC, Lee SY, Kang SS, Kim HM, Chung HT : Synergistic cooperation between thapsigargin and phorbol ester for induction of nitric oxide synthesis in murine peritoneal macrophages, Free Radic Biol Med. 20(6):769-76, 1996.
 25. Roitt : 필수면역학, 서울, 고문사, 235, 1991.
 26. 대한병리학회 : 병리학, 서울, 고문사, 185, 190, 191, 1990.
 27. 송봉근, 이언정, 김형균, 진선두, 김성재, 김동혁 : 황기가 면역세포의 기능에 미치는 영향, 대한본초학회지 13(2):115-28, 1998.
 28. 정우열 : 한방병리학, 총론 15-7, 94-5, 전주, 삼진사, 1988.
 29. 章育正 : 虛證和實證病因의免疫狀態, 上海中醫藥雜誌, 6:44-5, 1984.
 30. 羅美 : 古今名醫方論, 北京, 江蘇科學技術出版社, 154, 1983.