

肛腸療法에 의한 丁香의 卽刻型 過敏反應 抑制效果

裴成燦* · 文九* · 元秦喜*

ABSTRACT

Inhibitory Effect of Immediate-Type Hypersensitivity of *Syzygium aromaticum* extract by Anal Therapy

Bae Seong-hyeok · Moon goo · Won Jin-hee

Cloves are the dried flower buds of *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. et Perry (Myrtaceae). They have been successfully used for the management of various allergic disorders by oral administration in Korea. In this study, the author investigated the effect of an aqueous extract of *Syzygium aromaticum* on immediate-type hypersensitivity by anal administration. Anal administration of *Syzygium aromaticum* showed a marked inhibition rate in systemic hypersensitivity with a dose of 1 mg/kg 1 hr before intraperitoneal injection of compound 48/80. Anal administration of *Syzygium aromaticum* significantly reduced plasma histamine contents induced by compound 48/80. Anal administration of *Syzygium aromaticum* (1 mg/kg) also inhibited to 61.4% ($P<0.01$) local allergic reaction activated by anti-dinitrophenyl (DNP) IgE. In addition, *Syzygium aromaticum* dose-dependently inhibited the histamine release from the peritoneal mast cells by compound 48/80 or anti-DNP IgE. When *Syzygium aromaticum* was added, the level of cAMP in peritoneal mast cells transiently and significantly increased about 47-fold at 10 second compared with that of basal cells. These results provide evidence that anal therapy of *Syzygium aromaticum* may be beneficial in the treatment of systemic and local immediate-type hypersensitivity by inhibition of histamine release from mast

* 圓光大學校 韓醫科大學 脾系內科學教室

cells *in vivo* and *in vitro*.

I. 緒 論

近來에 韓藥物의 投與方法을 多樣化하기 위한 여러 가지 方法들이 試圖되고 있는데, 이는 特定疾病에 대한 治療效果를 높이기 위한 것이다. 특히 肛腸療法中 保留灌腸은 使用이 簡便하고 副作用이 적어서 그 活用도가 漸次 增加하고 있다.¹⁾

지금까지 肛腸療法을 이용한 實驗報文으로는 過敏反應의 抑制效果에 小柴胡湯²⁾, 小青龍湯³⁾, 丹蔘⁴⁾을 이용하여 有效한 效果가 있음을 입증한 바 있다.

본 실험에 사용된 丁香(*Syzygium aromaticum*)은 본래 暖胃健脾, 理氣消食, 止呃 등의 效能이 있고⁵⁾, 최근 in vitro에서 디프테리아菌, 炭疽桿菌, 黃色葡萄球菌, 장티프스菌, 赤痢菌, 콜레라菌, 아메바菌, 페스트菌, 結核菌 등을 억제하는 작용이 있고, 皮膚真菌에 대해 抗菌作用이 있음⁶⁻⁹⁾에 着眼하여 過敏反應의 治療와 豫防에 適切히 活用될 수 있을 것으로 보아 本 實驗을 실시하게 되었다.

과민반응은 즉각형과 지연형으로 구분되며¹⁰⁾, 즉각형 과민반응을 일으키는 필수 세포는 비만세포이고¹¹⁻¹²⁾, 이로부터 분비되는 히스타민은 즉각형 과민반응을 일으키는 가장 강력한 매개물질이다.¹³⁾ 그러므로 비만세포로부터 거의 90%까지 히스타민의 방출을 유도시키는 것으로 알려진 compound 48/80은 아나필락시 반응에 관한 연구를 수행하는데 많이 사용되고 있다¹⁴⁾. 또한 비만세포로부터 매개물질의 분비를 유도방법으로 IgE 수용체에 IgE 항체 결합 후 동일 항원의 자극에 의해서 유도될 수 있는 면역학적인 자극법이 있다¹⁵⁻¹⁷⁾. 이러한 항 IgE 항체는 알레르기 피부반응에 있어서 즉각형 과민반응에 대한 전형적인 생체내 모델로서 수동 피부 아나필락시 (PCA) 반응을 유도한다고 알려져 있다¹⁸⁾.

이에 著者는 肛腸療法의 有效성과 活用성을 探究하는 일환으로 丁香(*Syzygium aromaticum*)을 이용하여 compound 48/80에 의해 유도되는 전신성 즉각형 과민반응 및 항 IgE 항체에 의해 유도되는 국소성 즉각형 과민반응, 그리고 비만세포내 cAMP 수준에 미치는 영향 등을 알아보고, 또한 丁香(*Syzygium aromaticum*) 水浸液에 의한 保留灌腸과 經口投與의 效果를 比較해 보고자 實驗을 實施하여 有意한 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

II. 實驗 材料 및 方法

1. 材料

(1) 藥材

本 實驗에 使用한 丁香(*Syzygium aromaticum*)은 보화당 한의원 (전북 익산)에서 購入한 乾燥生藥을 精選하여 使用하였다.

(2) 試藥

Compound 48/80, anti-dinitrophenyl (DNP) IgE, DNP-human serum albumin (HSA)과 metrizamide는 Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA)에서 구입하였다. α -minimal essential medium은 Flow Laboratories (Irvine, UK)에서, fetal calf serum은 Life Sciences (Grand Island, NY)에서 구입하였다.

(3) 動物

생쥐 (Balb/c mice)와 흰쥐 (Wistar rats)는 대한 실험동물센터 (음성, 충북)에서 구입하여 실험중

에는 온도는 $22 \pm 1^\circ\text{C}$, 습도는 $55 \pm 10\%$ 가 유지되는 laminar air-flow room에서 사육하였다.

2. 方法

(1) 丁香(*Syzygium aromaticum*) 水浸液의 조제
약탕기에 약물 및 적량의 증류수를 넣고 70°C 에 서 5시간동안 추출하였다. 水浸液은 $0.45 \mu\text{m}$ 여과 지를 이용하여 여과한 다음 냉동건조하였다. 건조한 추출 약물은 생리식염수 혹은 Tyrode buffer A (10 mM HEPES, 130 mM NaCl, 5 mM KCl, 1.4 mM CaCl_2 , 1 mM MgCl_2 , 5.6 mM glucose, 0.1% bovine serum albumin)에 사용전에 용해시켰다.

(2) Compound 48/80에 의한 전신성 즉각형 과민반응

丁香(*Syzygium aromaticum*)은 compound 48/80 (7 mg/kg)의 복강내 투여하기 60분전 및 5, 10, 20분후에 직장 혹은 구강내에 투여하였다. 약물의 직장내 투여를 위해 Ketamine (6 mg/g)을 복강주사하여 마취시킨 다음 stomach sonde 끝이 생쥐의 직장내에 완전히 들어 가도록 한 후에 직장내에 분포하여 있는 모세혈관이 파괴되지 않도록 장갑을 끼고 sonde가 들어간 항문의 윗부분 피부를 지긋이 눌러준 다음 서서히 약물을 투여하였다. 약물투여 후에 즉시 순간접착제를 발라 주었다. 치사율은 즉각형 과민반응을 유발시킨후 60분 동안 관찰하여 결정하였다. 치사율의 관찰이 끝난 직후 생쥐의 심장 혈액으로부터 혈장을 분리하여 히스타민을 정량하였다.

(3) 국소에서 즉각형 과민반응 시험

IgE 의존적 피부반응인 국소의 수동피부 과민 반응 시험은 피부에 anti-DNP IgE (10 μg)를 피

내 주사한 48 시간 후에 흰쥐의 꼬리 정맥에 DNP-HSA (0.1 mg)와 4% Evans blue (1:4)를 주사하여 일으켰다. 30 분후에 흰쥐를 마취시킨후 피내주사한 피부를 절개하여 염색된 부위의 Evans blue 양을 측정하였다¹⁹⁾.

(4) 히스타민 정량

혈장 혹은 비만세포의 배양상층액 중에 있는 히스타민의 정량은 Shin등²⁰⁾의 방법으로 하였다. 간단히 설명하면 에펜돌프 튜브에 시료 500 μl 를 넣고 0.1 N-HCl 450 60% 과염소산 용액 50 μl 를 넣고 혼합 후 원심분리 (1,500 rpm, 20 min)하여 그 상층액 800 μl 를 5 N-NaOH 용액 500 μl , 증류수 3 ml, *n*-Butanol 10 ml 및 NaCl 1.2 g을 혼합한 시험관에 넣고 전탕 후 원심분리 (2,000 rpm, 10 min)하였다. Butanol층 8 ml를 50 ml 시험관에 넣고 0.1 N-HCl 용액 3 ml, *n*-Heptane 10 ml를 가하여 전탕 후 원심분리 (2,000 rpm, 10 min)하였다. 여기에서 얻어진 수층 2 ml에 1 N-NaOH 용액 400 μl 와 1% *o*-Phthaldialdehyde 용액 100 μl 를 넣고 수욕상 (37°C)에서 3 분동안 반응시킨 다음, 3 N-HCl 용액 200 μl 를 넣고 혼합 후 2 분 동안 방치하여 spectrofluorometer ($\lambda_{\text{ex}}=360 \text{ nm}$, $\lambda_{\text{em}}=440 \text{ nm}$)로 형광도를 측정하였다.

히스타민 유리 억제율(%)은 다음과 같이 계산하였다.

$$\text{억제율 (\%)} = \frac{[(\text{약물을 부가하지 않았을 때의 히스타민양} - \text{약물을 부가하였을 때의 히스타민양}) / \text{약물을 부가하지 않았을 때의 히스타민 양}] \times 100$$

(5) 복강 비만세포 분리

김 등²¹⁾의 방법에 준하여 복강 비만세포를 분리하였다. 간단히 설명하면 생쥐를 에테르로 마취시킨 후 0.1% gelatin을 함유한 Tyrode buffer B (NaCl, NaHCO₃, KCl, NaH₂PO₄, glucose) 약 20 ml를 복강내에 주입하고 30 초간 복벽을 가볍게 마사지한 후 복벽 중앙선을 조심스럽게 절개하여 복강세포를 함유한 세척액을 파스퇴르 피펫으로 채취하였다. 복강세포를 150 × g로 10 분간씩 3 회 반복하여 원침시킨 후 상층 부유액을 버리고 동일 Tyrode buffer B로 재부유시켰다. 이 세포부유액중 비만세포는 22.5% w/v metrizamide를 이용하여 Yurt 등²²⁾의 방법으로 분리 정제하였다.

(6) cAMP 측정

cAMP 수준은 Peachell 등²³⁾의 방법에 따라 측정하였다. 간단히 설명하면, 순수 분리한 복강 비만세포를 미리 37°C에서 가온시킨 Tyrode 완충액 A에 부유한 다음 에펜돌프튜브에 5 × 10⁵ cell씩 일정하게 나누어 약물을 처리하였다. 반응은 지정한 시간 간격으로 진행시키고, 짧고 강하게 vortex한 다음 산성화 에탄올 (86% ethanol/1 M HCl의 0.9 ml, 99:1)을 가하여 반응을 종료시켰고 액체질소로 순간 냉동시켰다. 샘플을 vortex한 다음 speed vaccum evaporator에서 건조시켰다. 건조한 샘플에 측정용 완충액 (150 - 200 μl)을 넣고 냉동 보관하였다. cAMP 수준은 Amersham International Plc.의 kit를 이용하여 효소면역측정법으로 결정하였다.

(7) 통계학적 분석

모든 결과는 mean ± SE로 나타내었으며, 통계학적 분석은 student's *t*-test로 행하였다. 유의성 검증은 대조군 (Saline군)과 비교하여 결정하였다.

III. 實驗成績

1. 丁香(*Syzygium aromaticum*)의 肛腸療法에 의한 전신적 즉각형 과민반응 억제 효과

비 면역학적 자극제인 compound 48/80을 복강내 주사하여 즉각형 과민반응을 유발시켰다. 치사율은 compound 48/80을 복강내 주사한 다음 60분 동안 감시하여 결정하였다. Table 1에 나타낸 바와 같이 대조군으로 40 μl의 생리식염수를 생쥐의 항문에 투여한 다음 compound 48/80 (7mg/kg)의 주사에 의해 치명적인 즉각형 과민반응으로 100% 치사율을 나타내었다. 그러나 丁香(*Syzygium aromaticum*)을 compound 48/80 주사 1시간 전에 0.001 - 1 mg/kg의 농도범위에서 肛腸療法으로 투여했을 때, compound 48/80에 의한 치사율이 용량의존적으로 감소하였다 (n=10/group). 특히 丁香(*Syzygium aromaticum*) 1 mg/kg의 농도에서는 생존율이 83.3%이었다. 丁香(*Syzygium aromaticum*)의 경구투여에 의한 전신적 즉각형 과민반응 억제 효과는 1mg/kg의 용량에서도 관찰되지 않았다.(Table 1) 다음은 즉각형 과민반응에 있어서 丁香(*Syzygium aromaticum*)의 肛腸療法에 의한 자극 물질 주사후의 억제효과를 검토하기 위하여 丁香(*Syzygium aromaticum*) (1mg/kg)을 compound 48/80 투여 직후, 5분, 10분 및 20분 후에 투약했을 때 생쥐의 치사율을 실험하였다. Table 2에 나타낸 것처럼 compound 48/80 투여 직후부터 10분까지 현저한 효과를 보였다. 丁香(*Syzygium aromaticum*) (1mg/kg) 투여에 의한 외견상 생리적인 이상은 관찰되지 않았다.(Table 2)

2. 丁香(*Syzygium aromaticum*)의 肛腸療法에 의한 혈장중 히스타민의 유리 억제 효과

丁香(*Syzygium aromaticum*)의 항장내 투여에 의한 즉각형 과민반응의 억제 기전을 규명하기 위하여, 혈장중 히스타민 수준의 변화를 분석하였다. 생쥐 복강에 compound 48/80을 주사하기 1시간 전에丁香(*Syzygium aromaticum*) (0.001 - 1 mg/kg)을 항장내에 투여하였다. Compound 48/80을 주사한 15분 후에 생쥐의 심장으로부터 혈액을 얻어 혈장을 분리하여 히스타민의 양을 측정하였다.丁香(*Syzygium aromaticum*) 투여에 의해 용량의존적으로 compound 48/80의 주사에 의한 혈장내 히스타민의 방출이 억제되었다 (Fig. 1). 특히丁香(*Syzygium aromaticum*) 0.01 - 1 mg/kg 에서는 그 효과가 현저하였다 ($P < 0.01$). 동일한 용량의 경구 투여에 의해서는 혈장중 히스타민 수준을 억제시키지 못하였다 (Fig. 1).

3. 丁香(*Syzygium aromaticum*)의 肛腸療法에 의한 국소 즉각형 과민반응의 억제 효과

다음은丁香(*Syzygium aromaticum*)의 항장내 투여에 의한 면역학적 방법으로 유발된 국소적 피부 즉각형 과민반응에 미치는 효과를 실험하기 위하여 전형적인 수동 피부 즉각형 과민반응 실험동물 모델을 이용하였다. 수동 피부 즉각형 과민반응은 비만세포 표면에 존재하는 IgE 수용체에 결합하는 특이 IgE 항체를 생체 국소에 수동적으로 투여한 다음 항원을 주사하여 일으키는 피부반응이다²⁴⁾. 대조군에는 생리식염수를 주사하였다. 항체 주사 48시간 후에 항원인 DNP-HSA 및 Evans blue 색소를 생쥐의 꼬리 정맥에 주사하여 색소의 국소누출량을 정량하여 비교하였다.丁香(*Syzygium aromaticum*)은 항원으로 야기하기 1시간 전에 투여하여 누출된 색소를 정량한 결과 Table 3에 나타낸 바와 같이丁香(*Syzygium aromaticum*) 0.1, 1 mg/kg에서 현저한 억제율을

나타냈다 ($P < 0.01$). 같은 용량의丁香(*Syzygium aromaticum*)을 경구 투여에 의해서는 국소 피부 과민 반응을 억제시키지 못하였다 (Table 3).

4. 복강 비만세포의 자극에 의한 히스타민 방출에 있어서丁香(*Syzygium aromaticum*)의 억제 효과

다음은 생체의 실험으로丁香(*Syzygium aromaticum*)이 비만세포의 자극물질인 compound 48/80과 anti-DNP IgE의 처리에 의한 히스타민의 방출을 억제하는지를 실험하였다. 복강 비만세포에丁香(*Syzygium aromaticum*)을 처리하고 10분 후에 compound 48/80 및 anti-DNP IgE와 DNP-HSA를 처리하여 히스타민의 방출량을 측정하였다.丁香(*Syzygium aromaticum*) (0.001 - 1 μ g/ml)은 농도의존적으로 비만세포로부터 compound 48/80 유도성 히스타민 방출을 억제했다 (Fig. 2).丁香(*Syzygium aromaticum*) 0.1, 1 μ g/ml 에서는 현저한 억제율을 나타냈다 ($P < 0.01$). 또한丁香(*Syzygium aromaticum*) (0.0001 - 1 μ g/ml)은 anti-DNP IgE 유도성 히스타민의 방출을 농도의존적으로 억제했다. (Fig. 3). 특히 이 경우에丁香(*Syzygium aromaticum*)은 0.001 - 1 μ g/ml 농도에서 현저한 억제율을 보였다. 위의 모든 실험에서丁香(*Syzygium aromaticum*)에 의한 세포 독성은 거의 관찰할 수 없었다 (trypan blue uptake).

5. 복강 비만세포의 cAMP 수준에 있어서丁香(*Syzygium aromaticum*)의 효과

丁香(*Syzygium aromaticum*)이 복강 비만세포로부터 히스타민의 방출을 억제하는 기작을 알아보기 위하여 비만세포내 cAMP 수준을 분석하였다. 복강 비만세포에丁香(*Syzygium aromaticum*) (10 μ g/ml)을 부가하고 cAMP 함량을 측정했을

때 대조군에 비해 약 47배가 증가하였다. 丁香 (*Syzygium aromaticum*)을 부가한 10초후에 빠르게 정점에 이르다가 1분후에는 급격히 감소하는 양상을 나타내었다 (Fig. 4).

Table 1. Effect of *Syzygium aromaticum* on compound 48/80-induced systemic immediate-type hypersensitivity

<i>Syzygium aromaticum</i> addition (mg/kg)	Compound 48/80 (7 mg/kg)	Mortality (%)	
		Oral	Anal
None (Saline)	+	100	100
0.001	+	100	100
0.01	+	100	66.7*
0.1	+	100	50*
1	+	100	16.7*
1	-	0	0

Mortality (%) within 1 hr following the compound 48/80 injection is presented as the No. of dead rats \times 100/total No. of experimental rats. * $P < 0.01$; significantly different from the saline value.

Table 2. Time-dependent effect of *Syzygium aromaticum* on compound 48/80-induced systemic immediate-type hypersensitivity

<i>Syzygium aromaticum</i> addition (mg/kg)	Compound 48/80 (7 mg/kg)	Mortality (%)	
		Oral	Anal
None (Saline) 0	+	100	100
0	+	100	40.7*
5	+	100	60*
10	+	100	70*
20	+	100	100

Mortality (%) within 1 hr following the compound 48/80 injection is presented as the No. of dead mice \times 100/total No. of experimental mice.

* $P < 0.01$; significantly different from the saline value.

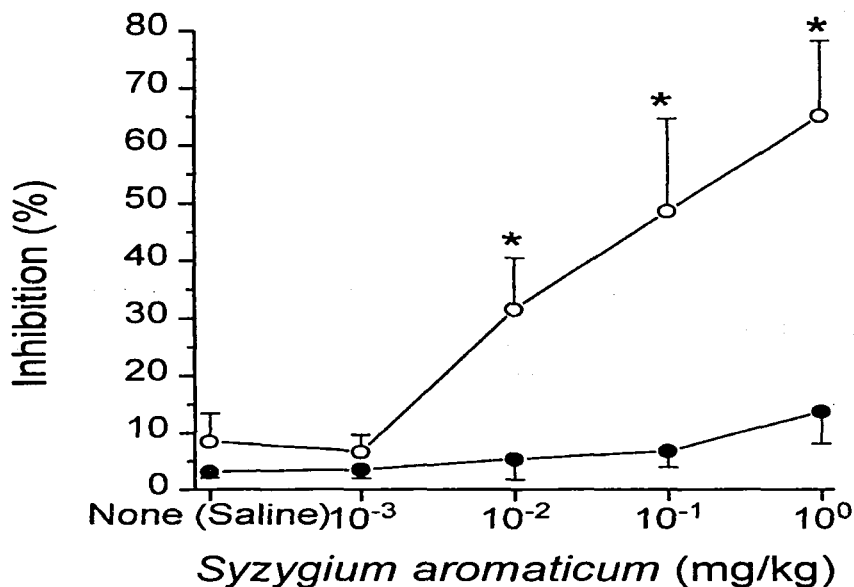


Fig. 1. Effect of *Syzygium aromaticum* on compound 48/80-induced plasma histamine release. Data are presented as the means \pm SE of three independent experiments. (○); Anal, (●); Oral.

* $P < 0.01$; significantly different from the saline value.

Table 3. Effect of *Syzygium aromaticum* on the 48-hr PCA in rats

Syzygium aromaticum addition (mg/kg)	Amount of dye (g/site)	Inhibition (%)
None (Saline)	18.9 \pm 4.3	-
1 (Oral)	19.6 \pm 3.5*	-
0.001 (Anal)	17.1 \pm 4.8	9.5
0.01 (Anal)	15.5 \pm 3.2	20.0
0.1 (Anal)	12.3 \pm 1.6*	34.9
1 (Anal)	7.3 \pm 2.4*	61.4

Data are presented as the means \pm SE of three independent experiments.

* $P < 0.01$; significantly different from the saline value.

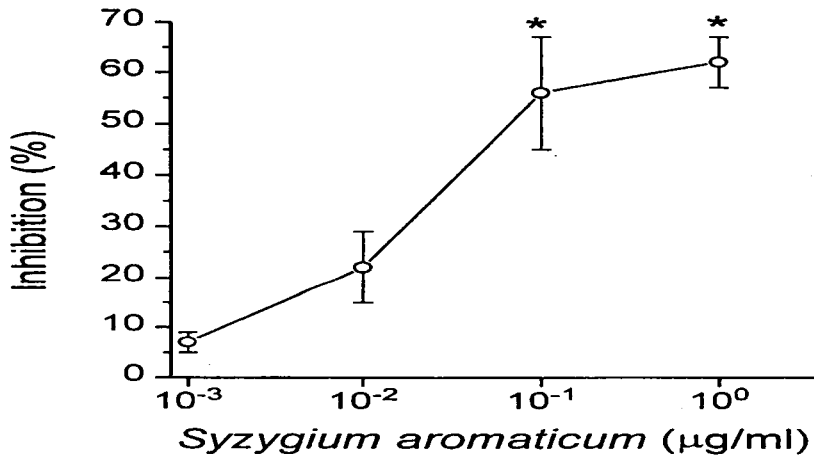


Fig. 2. Effect of *Syzygium aromaticum* on compound 48/80-induced histamine release from peritoneal mast cells. Data are presented as the means \pm SE of six independent experiments.

* $P < 0.01$; significantly different from the saline value.

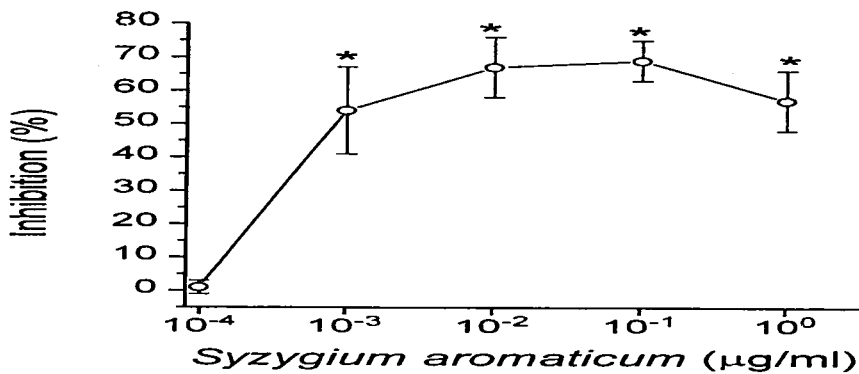


Fig 3. Effect of *Syzygium aromaticum* on IgE-mediated histamine release from peritoneal mast cells. Data are presented as the means \pm SE of six independent experiments.

* $P < 0.01$; significantly different from the saline value.

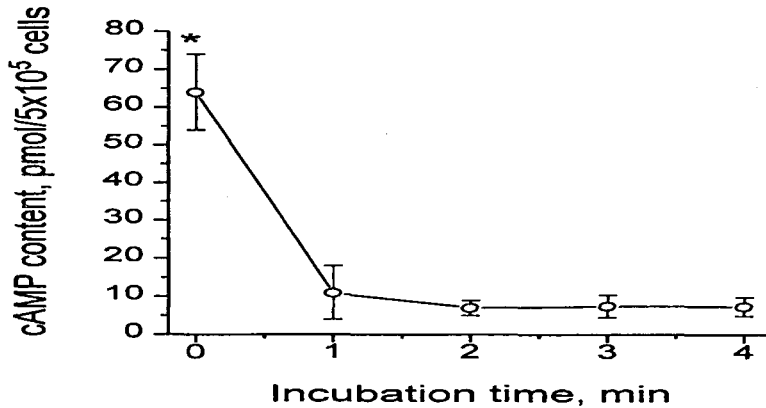


Fig 4. Time course of increase in the cAMP level of RPMC caused by *Syzygium aromaticum*. RPMC (5×10^5 cells/ml) were pretreated with saline or *Syzygium aromaticum* (10 μ g/ml) at 37°C. Each data represents the means \pm SE of 3 experiments.

* $P < 0.01$; significantly different from the saline

IV. 考 察

肛腸療法은 後漢時代의 張仲景이 『傷寒雜病論』²⁵⁾에서 “...此爲津液內竭, 雖不可攻之, ……宜蜜煎導而通之. 若土瓜根及大猪膽汁, 皆可爲導…”라고 하여 導法을 應用한 것이 그 嚆矢²⁶⁾이다.

保留灌腸은 煎湯한 藥液을 肛門에 管入하거나 大腸內에 滴入시켜 疾病을 治療하는 方法이며 肛腸療法 중 가장 많이 使用되어지는 方法으로 韓醫學의 整體觀과 局所藥物作用을 통하여 治療效果를 發揮하며, 適用할 수 있는 範圍가 넓어 大腸과 肛門部位의 局所疾患은 물론 內科, 外科, 婦人科, 小兒科 등의 病症에 모두 使用할 수 있다. 특히 服藥을 꺼리는 사람이나 昏睡, 極烈한 嘔吐, 嚥下困難 등의 病症에 모두 使用할 수 있다. 뿐만 아니

라 肛門이나 大腸의 局所 炎症性 病變과 慢性的인 脾胃損傷으로 攻下나 補法 등 모든 藥物을 投與하기가 어려울 때도 使用할 수 있다²⁶⁻²⁹⁾.

丁香(*Syzygium aromaticum*)은 丁香科(Myrtaceae)에 속한 常綠喬木인 丁香나무의 미개한 花蕾를 채취한 것³⁰⁾으로 모록카 제도(인도네시아 마레이 마다카스칼섬 등)에서 재배된다⁶⁻⁷⁾. 歸經은 脾·胃·腎, 性味는 辛溫 無毒하고³⁰⁻³¹⁾, 暖胃通氣, 健脾, 理氣消食, 止呃 등의 功效이 있어 胃腸虛寒으로 인한 慢性泄瀉에 功效이 있다. 또한 溫暖助陽의 功效이 있어 腰腿冷痛, 萎軟無力에 使用된다. 이 외에 驅蟲作用과 齒痛에 대한 경미한 마취작용도 있다⁵⁾.

알레르기(Allergy)란 개체가 어떤 抗原에 免疫된 다음 그 抗原이 再次 導入되면 正常的인 個體

보다 過敏한 反應을 보여서 組織傷害를 일으키는 현상으로 過敏症(hypersensitivity)과 같은 의미이다³²⁻³³⁾. 이때 抗原을 allergen이라고 하며 allergen은 卵白, 血清, 花粉, 木材의 香, 동물의 털이나 때, 食物, 藥品 등이 될 수 있다. 알레르기 (Allergy)에는 allergen을 주사하고 난 후 수분 내지 수시간 내에 일어나는 것과 24-48시간 후에 나타나는 것이 있는데, 前者를 卽刻型 allergy(immediate-type allergy or immediate hypersensitivity), 後者를 遲延型 allergy (delayed-type allergy or delayed hypersensitivity)라고 한다. 卽刻型 allergy는 體液性免疫이 關與하는 allergy이고 I-III型으로 분류되며, 遲延型 allergy는 細胞性免疫이 關與하는 것으로 IV型 allergy라고 부르고 있다³³⁾. 이는 Coombs와 Gell이 allergy를 發生機轉에 따라 I-IV型으로 分類한 것이고, 여기에 다시 Roitt가 V型을 追加되어 5가지로 分類되기도 한다³⁴⁻³⁷⁾.

즉각형 과민반응의 하나인 아나필락시스(anaphylaxis)는 무방어란 뜻으로 항원에 감작된 후 동일한 항원에 접촉했을 때 단시간 내에 일어나는 면역반응이다. 이종단백질 및 기타물질에 대한 생체의 비정상적 또는 과대한 알러지성 반응이다¹⁰⁾.

즉각형 과민반응을 일으키는 필수 세포는 비만세포이다¹¹⁻¹²⁾. 비만세포는 즉각형 과민반응 동안의 다양한 생리적 변화를 일으키는 중요한 세포로서 인식되고 있다³⁸⁾. 비만세포로부터 분비되는 물질 중에서 히스타민은 즉각형 과민반응을 일으키는 가장 강력한 매개물질이다. 히스타민의 방출은 비만세포의 표면막에 작용하는 자극물질에 탈과립 반응에 의해 일어난다¹³⁾. 비면역학적 자극제로 잘 알려진 물질로 합성 compound 48/80이 있다³⁹⁾. compound 48/80은

P-methoxy-N-methylphenethyl amine의 저분자량의 polymer로서 비만세포의 탈과립을 유도하는 인자들 가운데 가장 많이 사용되는 약제로서 비만세포의 세포질내로 Ca^{2+} 유입을 증가시켜 vasoactive amine을 유리하는 물질이다. 고농도의 compound 48/80은 비만세포로부터 거의 90%까지 히스타민의 방출을 유도시키는 것으로 알려졌기 때문에, 적당량의 compound 48/80의 사용하여 아나필락시스 반응에 관한 연구를 수행하는데 많이 사용되고 있다¹⁴⁾.

또 하나의 비만세포로부터 매개물질의 분비 유도방법으로 IgE 수용체에 IgE 항체 결합후 동일 항원의 자극에 의해서 유도될 수 있는 면역학적인 자극법이 있다¹⁵⁻¹⁷⁾. 이러한 항 IgE 항체는 알레르기 피부반응에 있어서 즉각형 과민반응에 대한 전형적인 생체내 모델로서 수동 피부 아나필락시스(passive cutaneous anaphylaxis, PCA) 반응을 유도한다¹⁸⁾. 즉, 수동 피부 즉각형 과민반응은 비만세포 표면에 존재하는 IgE 수용체에 결합하는 특이 IgE 항체를 생체 국소에 수동적으로 투여한 다음 항원을 주사하여 일으키는 피부반응이다²⁴⁾. 동물의 피부를 미리 항체로서 수동 감작한 후 항원을 투여하여 유발시킨 피부국소의 즉시형 과민반응으로 미리 또는 항원 투여시에 evan's blue등의 색소를 정맥주사하고 즉시형 과민반응에 의한 피부 미소혈관의 투과성 항진에 의한 누출색소반으로 판정한다.

본 실험에서 생쥐를 이용한 肛腸療法에 의한 compound 48/80에 의해 유도되는 전신성 즉각형 과민반응에 있어서 丁香(*Syzygium aromaticum*)은 농도 의존적인 효과를 나타내었다. 또한 丁香(*Syzygium aromaticum*)은 국소성 즉각형 과민반응도 현저하게 억제하는 것을 확인하였다. 이러한 丁香(*Syzygium aromaticum*)의 肛腸療法에 의한

전신성 및 국소성 즉각형 과민반응의 억제 기전을 알아보기 위한 실험에서, 丁香(*Syzygium aromaticum*)의 효능은 혈청중 히스타민 수준을 감소시킬 뿐 아니라 compound 48/80 혹은 anti-DNP IgE로 자극된 복강 비만세포로부터 방출되는 히스타민 양의 감소에 기인하는 것을 증명하였다. 특히 肛腸療法에 의한 丁香(*Syzygium aromaticum*)의 효과는 경구투여에서 보다 훨씬 좋았다. 이러한 결과는 丁香(*Syzygium aromaticum*)이 肛腸療法에 의해 잘 흡수되어 비만세포의 자극에 의한 즉시성 탈과립 반응을 억제하는 효과를 가지고 있는 것을 암시한다.

Compound 48/80에 의해 비만세포로부터 히스타민의 방출을 유도하는 신호전달과정의 활성화는 의심의 여지가 없다. 최근에 보고된 compound 48/80 및 이와 유사한 다른 화합물들이 거의 직접적으로 G-proteins를 활성화시키는 것이 밝혀졌기 때문이다⁴⁰⁻⁴¹. 이 분자는 Gi-유사 단백질이고 benzalkonium chloride에 의해 활성이 억제된다⁴². 즉각형 과민반응성 질환의 진행에는 여러 가지 다른 매개물질의 중요성이 인정되고는 있으나, 히스타민은 항원 유도성 피부 반응의 가장 근본적인 매개물질인 것으로 인식되고 있다. 화학적 매개물질의 피내 혹은 비강내 적용 및 화학적 매개물질 유도제의 투여에 의해서도 즉각형 과민반응 반응 모델과 유사한 양상으로 혈관 투과성이 증가한다⁴³⁻⁴⁴.

丁香(*Syzygium aromaticum*)을 肛腸療法으로 투여한 생쥐에서도 IgE 매개성 국소 즉각형 과민반응이 현저히 억제된 결과는 丁香(*Syzygium aromaticum*)의 肛腸療法으로 각종 항원에 의한 국소 피부 과민반응을 치료 할 수 있음을 의미한다.

丁香(*Syzygium aromaticum*)의 히스타민 방출 억

제에 의한 즉각형 과민반응 억제 기전 규명을 위해 비만세포내 cAMP 수준을 분석한 결과, 丁香(*Syzygium aromaticum*)에 의해 그 수준이 대조군보다 약 47배나 증가하는 것을 관찰하였다. 비만세포로부터 히스타민의 방출 억제 기작이 adenylate cyclase 활성화와 이에 따른 세포내 cAMP의 증가와 관련성이 있다는 보고와⁴⁵ 본 실험에서 丁香(*Syzygium aromaticum*)의 과민반응 억제 효과와는 깊은 관련성이 있는 것을 예상할 수 있다.

또한 화학적 혹은 면역학적 자극에 의한 화학적 매개물질의 방출을 억제하는 비만세포막의 안정화는 세포질내로의 Ca^{2+} 유입의 증가를 억제하는 것이 잘 알려져 있다⁴⁶. H_1 항히스타민제가 Ca^{2+} 의 mobilization을 방해할 수 있다는 증거⁴⁷도 있어서, 丁香(*Syzygium aromaticum*)에 의한 비만세포내 cAMP 함량의 일시적 증가가 히스타민의 방출 억제에 직접적인 영향을 미치는 요인이 된 것으로 생각된다. 그러나 더욱 더 상세한 작용기작 규명을 위해 관련 분자 및 단백질 수준에서의 연구가 필요할 것으로 사료된다.

V. 結 論

丁香(*Syzygium aromaticum*) 水浸液을 이용하여 compound 48/80에 의해 유도되는 전신성 즉각형 과민반응과 항 IgE 항체에 의해 유도되는 국소성 즉각형 과민반응, 비만세포내 cAMP 수준에 미치는 영향 및 保留灌腸과 口腔服用의 효과를 비교 관찰한 결과 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 丁香(*Syzygium aromaticum*)의 肛腸療法은

compound 48/80으로 유도되는 전신성 즉각형 과민반응을 용량 의존적 및 시간 의존적으로 억제하는 효과를 나타내었다.

2. 丁香(*Syzygium aromaticum*)의 肛腸療法은 생체내에서 compound 48/80에 의한 히스타민의 방출을 용량 의존적으로 억제하는 효과를 나타내었다.

3. 丁香(*Syzygium aromaticum*)의 肛腸療法은 anti-DNP IgE를 사용한 면역학적 자극에 의한 국소성 즉각형 과민반응도 현저히 억제하는 효과를 나타내었다 ($P < 0.01$).

4. 丁香(*Syzygium aromaticum*)은 compound 48/80 혹은 anti-DNP IgE로 활성화된 복강비만세포로부터 히스타민의 방출을 농도 의존적으로 억제하는 효과를 나타내었다.

5. 丁香(*Syzygium aromaticum*)에 의한 복강비만세포로부터 히스타민의 방출 억제 효과는 세포내 cAMP 함량의 증가에 기인한 것임을 규명하였다.

6. 丁香(*Syzygium aromaticum*)의 즉각형 과민반응 억제효과는 肛腸投與가 經口投與보다 훨씬 효과적이었다.

이상의 결과로 볼 때 丁香(*Syzygium aromaticum*) 水浸液은 肛腸療法으로 즉각형 과민반응을 분명하게 조절할 수 있음을 알 수 있으며, 肛腸投與가 經口投與보다 효과적인 결과는 肛腸療法의 有效性을 직접적으로 보여준 것으로 사료된다.

參考文獻

- 1) 문석재 外 : 난치병 치료를 위한 肛腸療法, 익산, 원광대학교출판국, p. 11, 1998.
- 2) 姜泰熙 : 肛腸療法에 의한 小柴胡湯의 '아나필락시 쇼크' 억제에 대한 실험적 연구, 대한한의학회지 제19권 2호, pp439-447, 1998.
- 3) 李建業 : 肛腸療法에 의한 小青龍湯의 알레르기 反應 抑制 效果, pp. 22-23, 圓光大碩士學位論文, 1998.
- 4) 趙正衍 : 肛腸療法에 의한 丹蔘抽出液의 알레르기 반응 抑制效果, 대한한의학회지 제20권 1호 pp11-21, 1999.
- 5) 陳存仁 : 圖說韓方醫學大辭典, 東京, 講談社, pp. 234-235, 1982.
- 6) 康秉洙外 : 臨床配合本草學, 서울, 永林社, pp. 208-209, 1994.
- 7) 上海中醫學院 : 中草藥學, 香港, 商務印書館香港分館, pp. 306-307, 1983.
- 8) 李尙仁 外 : 漢藥臨床應用, 서울, 成輔社, p. 209, 1986.
- 9) 陸昌洙 外 : 韓藥의 藥理, 成分, 臨床應用, 서울, 癸丑文化社, pp. 540-541, 1982.
- 10) 朴承成 : 醫學免疫學, 서울, 大學書林, pp. 65-78, 1982.
- 11) Gomes JC, Distasi LC, Sgabosa F, and Barata LES, Pharmacological Evaluation of the Inhibitory Effect of Extracts from *Anchietia salutaris* on the histamine Release Induced in the Rat and the Guinea Pig. *Int. Arch. Allergy Immunol.* **103**, pp. 188-193, 1994.
- 12) Ando A, Martin TR, and Galli SJ, Effects of Chronic Treatment with the c-kit Ligand, Stem Cell Factor, on Immuno-globulin E-Dependent Anaphylaxis in Mice, *J. Clin. Invest.* **92**, pp. 1639-1649, 1993.
- 13) Lagunoff D., Martin T. W. and Read G.,

- Agents that release histamine from mast cells. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **23**, pp. 331-351, 1983.
- 14) Allansmith M. R., Baird R. S., Ross R. N., Barney N. P. and Bloch K. J., Ocular anaphylaxis induced in the rat by topical application of compound 48/80. Dose response and time course study. *Acta Ophthalmol.* **67**, pp. 145-153, 1989.
- 15) Segal D. M., Taurog J. and Metzger H., Dimeric immunoglobulin E serves as a unit signal for mast cell degranulation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **74**, pp. 2993-2997, 1977.
- 16) Metzger H., Alcaraz G., Hohman R., Kinet J. P., Pribluda V. and Quarto R., The receptor with high affinity for immunoglobulin E. *Annu. Rev. Immunol.* **4**, pp. 419-470, 1986.
- 17) Alber G., Miller L., Jelsema C., Varin-Blank N. and Metzger H., Structure/function relationships in the mast cell high-affinity receptor for IgE (FcεRI) : Role of cytoplasmic domains. *J. Biol. Chem.* **266**, pp. 22613-22620, 1991.
- 18) Saito H. and Nomura Y., Screening methods for drug evaluation 3. In: *Pharmaceutical Research and Development* (Eds. Suzuki L., Tanaka H., Yajima H., Fukuda H., Sezaki H., Koga K., Hirobe M. and Nakajime T.), Hirokawa, Tokyo, p. 22. 1989.
- 19) Katayama S., Shionoya H. and Ohtake S., A new method for extraction of extravasated dye in the skin and the influence of fasting stress on passive cutaneous anaphylaxis in guinea pigs and rats. *Microbiol. Immunol.* **22**, pp. 89-101, 1978.
- 20) Shin B. K., Lee E. H., Kim H. M., Suppression of L-histidine decarboxylase mRNA expression by methyleugenol. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **232**, pp. 188-191, 1997.
- 21) Kim H. M., Lee E. H., Shin H. Y. and Moon Y. H., Inhibitory effect of mast cell-mediated immediate-type allergic reactions in rats by spirulina. *Biochem. Pharmacol.* **55**, pp. 1071-1076, 1998.
- 22) Yurt R. W., Leid R. W. and Austen K. F., Native heparin from rat peritoneal mast cells. *J. Biol. Chem.* **252**, pp. 518-521, 1977.
- 23) Peachell P. T., Macglashan D. W., Lichtenstein L. M. and Schleimer R. P., Regulation of human basophil and lung mast cell function by cyclic adenosine monophosphate. *J. Immunol.* **140**, pp. 571-579, 1988.
- 24) Wershil B. K., Mekori Y. A., Murakami T. and Galli S. J., ¹²⁵I-fibrin deposition in IgE-dependent immediate hypersensitivity reactions in mouse skin: demonstration of the role of mast cells using genetically mast cell-deficient mice locally reconstituted with cultured mast cells. *J. Immunol.* **139**, pp. 2605-2614,

- 1987.
- 25) 蔡仁植 : 傷寒論譯詮, 서울, 高文社, p.174, 1985.
- 26) 高樹中 : 中醫肛腸療法大全, 濟南, 濟南出版社, pp. 1-16, 1994.
- 27) 宋天杰 : 비특이성 ige양성 결장염의 임상문헌 분석, 中醫雜誌(한글판), 一中社, 9: pp. 88-91, 1993.
- 28) 楊向東 : 향문전색법으로 직장질병을 치료하는 방면의 진전, 中醫雜誌(한글판), 一中社, 7: pp. 85-88, 1993.
- 29) 趙馥谷 : 중약직장점적법으로 증병을 치료한 경험, 中醫雜誌(한글판), 一中社, 7: pp. 22-23, 1994.
- 30) 辛民教 : 臨床本草學, 서울, 永林社, pp. 266-267, 1991.
- 31) 金最壽 : 標準本草學, 서울, 進明出版社, pp. 328-340, 1975.
- 32) 鄭昇杞 : 알레르기疾患의 韓方療法, 大韓韓醫學會誌, 11:1, pp. 54-91, 1990.
- 33) 文希桂, 權赫儻 : 기본면역학, 서울, 대학서림, pp. 133-137, 1992.
- 34) 中島泉 : 면역학입문, 서울, 지구문화사, pp. 251-252, 1995.
- 35) 丁奎萬 : 알레르기과 韓方, 서울, 第一路, pp. 15-17, 59, 1990.
- 36) 서울대학교의과대학 : 면역학, 서울대학교출판부, pp. 165, 167-169, 229, 234-241, 1994.
- 37) 김세종 : 면역학, 서울, 고려의학, pp. 260-265, 1994.
- 38) Kim H. M., Lee E. H., Shin H. Y. and Moon Y. H., Inhibitory effect of mast cell-mediated immediate-type allergic reactions in rats by spirulina. *Biochem. Pharmacol.* **55**, pp. 1071-1076, 1998.
- 39) Ennis M., Pearce F. L. and Weston P. M., Some studies on the release of histamine from mast cells stimulated with polylysine. *Br. J. Pharmacol.* **70**, pp. 329-334, 1980.
- 40) Mousli M. C., Bronner C., Bockaert J., Rouot B. and Landry Y., Interaction of substance P, compound 48/80 and mastoparan with α -subunit C-terminal of G protein. *Immunol. Lett.* **25**, pp. 355-358, 1990a.
- 41) Mousli M. C., Bronner C., Landry Y., Bockaert J. and Rouot B., Direct activation of GTP-binding regulatory proteins (G proteins) by substance P and compound 48/80. *FEBS Lett.* **259**, pp. 260-262, 1990b.
- 42) Bueb J. -L., Mousli M. C., Bronner C., Rouot B. and Landry Y., Activation of Gi-like proteins, a receptor-independent effect of kinins in mast cells. *Mol. Pharmacol.* **38**, pp. 816-822, 1990.
- 43) Inagaki N., Miura T., Daikoku M., Nagai H. and Koda A., Inhibitory effects of β -adrenergic stimulants on increased vascular permeability caused by passive cutaneous anaphylaxis, allergic mediators and mediator releasers in rats. *Pharmacology* **39**, p. 1927, 1989.
- 44) Inagaki N., Miura T., Ohira K., Nagai H., Xu, Q. and Koda A. Effect of CV-3988, a specific antagonist against platelet activation factor, on homologous passive

cutaneous anaphylaxis in the mouse ear.

J. Pharmacobiodyn **13**, pp. 272-277, 1990.

- 45) Makino H. Saijo T. Ashida Y. Kuriki H. H. and Maki Y., Mechanism of action of an antiallergic agent, Amlexanox (AA-673), in inhibiting histamine release from mast cells. *Int. Arch. Allergy Immunol.* **82**, p. 6671, 1987.
- 46) Seeman P., The membrane actions of anaesthetics and tranquillizers. *Pharmacol. Rev.* **24**, p. 583, 1972.
- 47) Pearce F. L., Calcium and histamine secretion from mast cells. *Progr. Med. Chem.* **19**, p. 59, 1982.