

알레르기 반응에 미치는 建中湯의 효과

강경화 · 최영현² · 최병태¹ · 이용태*

동의대학교 한의과대학 생리학교실·동의대학교 한의과대학 한의학연구소, 1: 해부학교실, 2: 생화학교실

Effects of Gunjung-tang on Allergic Reaction

Kyung Hwa Kang, Yung Hyun Choi², Byung Tae Choi¹, Yong Tae Lee *

Department of Physiology, 1: Department of Anatomy, 2: Department of Biochemistry, College of Oriental medicine, Research Institute of Oriental medicine, Dongeui University

Gunjung-tang(GJT) has been reported at Shanghanlun(傷寒論), which has been used for the treatment of general weakness, digestive organ disease and the treatment of allergic disorders in clinical medicine. However, its effect in experimental models remains unknown. In a rat and mouse model, the role of GJT was examined in mast cell-dependent allergic reactions and secretion of inflammatory cytokines. GJT inhibited anti-dinitrophenyl IgE antibody-induced passive cutaneous anaphylaxis reaction by intraperitoneal pretreatment. GJT inhibited both IL-1 β and TNF- α secretion on egg albumin induced allergic tissues and compound 48/80 induced thymus. Furthermore, GJT enhanced B and T lymphocytes proliferation. Our findings provide evidence that GJT inhibits the IgE-dependent allergic reactions and inflammatory cytokines secretion, and enhanced immune response

Key words : Gunjung-tang(建中湯), allergy, IgE , cytokine, NO

서론

면역반응은 외부로부터 침입하는 미생물, 동종의 조직이나 체내에 생긴 불필요한 산물 등과 특이하게 반응하여 항체를 생산하며 생체가 이에 대처하여 처리하는 연쇄적인 반응인데, 생체에 유리해야만 할 면역 현상의 과정에서¹ 反逆反應이 일어나 도리어 생체에 불리하게 작용하는 면역반응을 알레르기라 말한다^{1,3}. 이처럼 면역체계의 부조화로 인해 발생하는 알레르기성 질환은 기생충 등에 감염율이 적은 선진국에서 높은 발생율을 보이고 있다⁴. 알레르기성 질환의 西醫學的 치료로는 抗原의 접촉을 피하는 회피요법, 항히스타민제, 혈관수축제 등의 약물요법, 면역관용을 유도하는 면역요법 등이 있다. 한의학적 관점에서 치료는 正氣의 강화, 즉 면역의 정상화를 꾀하여 지나치면 억제하고, 모자라면 보강시켜줌으로써 인체의 正氣, 생리기능을 항상 일정하게 유지해주는 효과를 갖는다⁵⁻⁶.

小建中湯은 漢代 張⁷의 《傷寒論》에 처음 收錄되어 있는 처방으로 桂枝湯에서 芍藥을 倍로 하고 飴糖을 君藥으로 한 방제이다. 처방의 구성은 飴糖은 滋養強壯하는 작용이 있으며 益脾

氣하고 養脾陰하며 溫補中焦하여 緩急하는 효능이 있으며 芍藥은 益陰營血하고 平肝止痛하며 桂枝는 溫陽氣, 溫經通絡하고 炙甘草는 甘溫하여 飴糖과 芍藥을 助하여 補陰하고 桂枝를 助하여 補陽溫中하고, 生薑과 大棗는 津液을 行하게 하고 和榮衛하고 中焦의 生發之氣를 升陽시킨다. 따라서 小建中湯은 溫中散寒과 補虛緩急作用이 있으므로 脾胃虛寒으로 氣血陰陽의 失調에 활용하는 방제이다^{7,9}. 한편 黃芪建中湯은 小建中湯에 黃芪를 가미한 처방으로 虛勞 및 氣虛로 인한 自汗 등의 諸不足 症狀에 쓴다고 하였다⁹. 小建中湯에 대한 실험적 연구로는 金^{10,11}의 小建中湯加 龍骨, 牡蠣가 흰쥐의 實驗的 胃潰瘍에 미치는 影響과 小建中湯加 龍骨, 牡蠣의 抗酸化效果, 細胞活性 및 遺傳子 發顯에 미치는 影響과 尹¹²의 小建中湯과 六辰丹이 白鼠의 成長發育에 미치는 影響에 대한 보고가 있었으며, 黃 建中湯에 관한 실험적 보고에는 張¹³이 胃腸疾患중 胃의 無力, 潰瘍, 疼痛 등에 本方이 유효하다고 한 바가 있고, 趙¹⁴가 運動疲勞恢復에 유효한 효과가 있음을 보고한 바 있다.

이에 본 실험에서 소건중탕과 황기건중탕의 알레르기에 미치는 영향을 알아보기 위하여 PCA 반응, egg albumin, compound 48/80 유발 알레르기반응에서의 cytokine의 발현에 미치는 영향과 림프구의 증식에 미치는 영향을 살펴보고 유의성 있는 성적을 얻었기에 보고하는 바이다.

* 교신저자 : 이용태, 부산시 진구 양정 2동 산 45-1, 동의대학교 한의과대학

· E-mail : ytleee@dongeui.ac.kr · Tel : 051-850-8635

· 접수 : 2003/09/25 · 수정 : 2003/10/31 · 채택 : 2003/11/17

재료 및 방법

1. 재료

1) 동물

動物은 體重 18-22 g의 ICR계 생쥐와 體重 180-200 g의 Sprague - Dawley계 흰쥐를 사용하였으며 고품사료 (삼양 배합 사료 실험동물용, 삼양유지사료, 한국)와 물을 충분히 공급하면서 실험실 환경 (溫度: 20±2 °C, 濕度: 40~60%, 明暗: 12 時間 light/dark cycle) 하에서 2 주 適應 후 實驗에 사용하였다.

2) 약재

본 實驗에 사용한 處方은 동의대학교 부속 한방병원에서 購入(주, 광명제약)하여 精選한 것을 사용하였고 處方內容은 《傷寒論》⁷⁾에 準하였으며, 1貼의 處方構成과 內容은 다음과 같다.

Table 1. Prescription of Sogunjung-tang

韓藥名	生藥名	重量(g)
飴糖	<i>Saccharum Granorum</i>	30
白芍藥	<i>Radix Paeoniae Lactiflorae</i>	18
桂枝	<i>Cinnamomum louerii Nees</i>	9
甘草(炙)	<i>Radix Glycyrrhizae</i>	6
生薑	<i>Rhizoma Zingiberis</i>	10
大棗	<i>Fructus Zizyphi Jujubae</i>	8
Total amount		81

Table 2. Prescription of Hwanggigunjung-tang

韓藥名	生藥名	重量(g)
飴糖	<i>Saccharum Granorum</i>	30
白芍藥	<i>Radix Paeoniae Lactiflorae</i>	18
黃芪	<i>Radix Astragali</i>	9
桂枝	<i>Cinnamomum louerii Nees</i>	9
甘草(炙)	<i>Radix Glycyrrhizae</i>	6
生薑	<i>Rhizoma Zingiberis</i>	10
大棗	<i>Fructus Zizyphi Jujubae</i>	8
Total amount		81

3) 試料의 造製 및 投與

小建中湯(Sogunjung-tang, 以下 SGJT)과 黃芪建中湯(Hwanggigunjung-tang, 以下 HGJT)을 각각 3 貼 分量인 218 g, 276 g을 환류냉각장치가 설치된 round flask에서 2000 cc의 蒸溜水와 함께 3 時間동안 加熱抽出하고, 그 여과액을 rotary evaporator로 감압 농축하여 200 cc의 檢液을 얻어 동결건조하여 SGJT 엑기스 36.3 g, HGJT 엑기스 48.6 g을 얻었다. 엑기스를 생리식염수에 용해하여 경구투여 직전에 꺼내 37 °C로 데워 체중 100 g 당 1 cc의 檢液을 경구투여하였다

2. 方法

1) Passive cutaneous anaphylaxis (PCA) 반응

IgE 의존형 피부 과민반응에 대한 영향을 알아보기 위하여 Katayama et al. (1978) 의 방법¹⁵⁾ 에 준하여 흰쥐 3마리를 한 군으로 하고 흰쥐의 등부위를 除毛하고 4 군데에 anti-DNP IgE를 피하주사하여 감작시켰다. 48 시간 경과 후 DNP-HSA 1 mg과 4% Evans blue를 1:1로 혼합하여 흰쥐의 미정맥에 주사하였다.

DNP-HSA 미정맥 주사 1시간 전에 1 g/kg의 농도의 SGJT

과 HGJT을 복강주사하였으며 Control은 동량의 saline을 처치하였다. 30 분 후 흰쥐를 도살하고 청색으로 착색된 등부위의 피부를 剝離하여 細切한 다음, 1N KOH용액 1 ml에 침적시켜 37 °C에서 하룻밤 방치하였다. Acetone과 phosphoric acid (5:13) 혼합액 9 ml을 첨가하여 원심분리한 후 상층액을 620nm에서 흡광도를 측정하였다.

2) Egg albumin 에 의한 알레르기 반응의 유발

① 抗原

항원으로 사용된 Egg albumin (Acros Organics, U.S.A)을 2 mg/ml 농도로 하여 동량의 complete Freund's adjuvant (Sigma, U.S.A)를 혼합해서 사용하였다.

② Egg albumin 에 의한 제 1형 과민반응의 유발

흰쥐 6마리를 1群으로 하여 실험하였고, Egg albumin (Acros Organics, U.S.A)을 항원으로 사용하여 egg albumin 2 mg/ml 농도의 항원 용액과 동량의 complete Freund's adjuvant (Sigma, USA) 를 혼합해서 유발된 것을 흰쥐 좌우 대퇴부에 1 ml씩 피하 주사하였다. 최초 면역 후 2 주 간격으로 총 2 회 면역하였고, Normal은 아무런 처치를 하지 않았고, Control은 生理食鹽水를, 실험군은 SGJT (2.42 g/kg)과 HGJT (3.24 g/kg)을 최종 면역 3 일 전부터 1 일 1 회씩 총 4 회 경구투여하였다.

③ 採血과 組織 採取

최종 면역 18 시간 경과 후 心臟穿刺로 採血하고, 血漿은 EDTA가 포함된 Bottle에 넣고 잘 혼합하여 사용하였고, 血清은 실온에서 30 분간 방치하였다가 원심분리기로 원심분리(4 °C, 2500 rpm, 15 분) 하여 上清液을 취하여 -70 °C에서 보관하였다가 사용하였다.

3) 역전사 중합효소 연쇄반응 (RT-PCR)

① RNA 추출

알러지 유발부위 조직을 채취하여 homogenize한 후 TRIzol 을 이용하여 조직에서 RNA를 추출하였다. 1 ml의 TRIzol에 200 ul chloroform을 넣은 후 10 초간 vortex mix하고, ice에서 10 분간 방치하였다. Microcentrifuge로 12,000 rpm에서 15 분간 원심분리한 후, 상층액을 취하여 동량의 isopropanol을 혼합한 후 천천히 흔들어서 주었다. 그리고 microcentrifuge를 이용하여 12,000 rpm에서 10 분간 원심분리하였다. 상층액을 제거한 후 pellet에 70% EtOH를 넣고 vortex한 후 원심분리하여 상층액을 제거하고 pellet은 DEPC (diethyl pyrocarbonate) - DW 20 ul에 녹여 RT-PCR에 사용하였다.

② Reverse transcription

Reverse transcription 반응은 준비된 total RNA를 75 °C에서 5 분간 변성시키고, 10 mM dNTPs, random sequence primer, RNase inhibitor, 100 mM DTT, 10×RT buffer를 가한 후, 0.5 ul의 M-MLV RT를 다시 가하고, DEPC-water로 부피가 20 ul가 되도록 하였다. 이 20 ul의 mixture를 잘 혼합한 뒤 낮은 원심분리를 이용하여 spin down시킨 후 42 °C에서 1 시간 동안 cDNA를 합성하였다.

③ cDNA PCR

유전자 증폭을 위한 PCR machine을 이용하여 역전사 증합 효소 연쇄반응을 수행하였다. 반응은 이미 합성된 2 μ l의 cDNA를 주형으로 사용하고, 주형에 대한 primer는 interleukin (IL)-1 β , TNF- α 를 증폭하기 위하여 sense primer와 antisense primer를 혼합하여 1 μ l를 가하고, master mixture에 최종부피가 20 μ l되도록 멸균 증류수를 가하였다. Predenaturation 95 $^{\circ}$ C, 10min, denaturation 95 $^{\circ}$ C 1분, annealing 50 $^{\circ}$ C 1분, elongation 72 $^{\circ}$ C 1분을 38 cycles한 뒤 postelongation을 72 $^{\circ}$ C에서 10분 동안 수행하였다. 각 PCR products는 10 μ l씩 1.2% agarose gel에 loading하여 100 V 조건에서 15분간 전기영동을 통하여 분석하였다.

각각의 primer는 Genbank에 기록된 염기서열을 토대로 적당한 부위를 선택하여 제작하였으며, 각각의 염기서열은 아래와 같다

① GAPDH

forward 5'-ATCCCATCACCATCTTCCAG-3'
reverse 5'-CCTGCTTACCACCTTCTTG-3'

② IL-1 β

forward 5'-GGCATAACAGGCTCATCTGG-3'
reverse 5'-CATCATCCACGAGTCACAG-3'

③ TNF- α

forward 5'-GTCGTAACCACCAAGC-3'
reverse 5'-GACTCCAAAGTAGACCTGCC-3'

4) Compound 48/80 유발 알레르기 반응

생쥐 4마리를 1군으로 나누고 Normal은 아무런 처치를 하지 않았으며, Control은 생리식염수를, 실험군은 SGJT과 HGJT을 1 g/kg의 농도로 복강주사하고 30분 경과 후 비만세포의 탈립제로 Compound 48/80 (2 mg/g, Sigma)을 생쥐 복강 내에 투여하였다. 1시간 경과 후 흉선조직을 채취하여 western blot analysis에 사용하였다.

5) Western blot analysis

채취한 흉선조직을 phosphate-buffered saline (PBS)으로 세척하고, lysis buffer (Sigma)를 넣어 분쇄하여 단백질 추출물을 얻어내었다. BioRad사의 protein assay kit를 이용하여 단백질 추출액의 농도를 정량하고 Laemmli's sample buffer를 가하여 100 $^{\circ}$ C에서 5분간 가열한 후 전기영동하였다. 겔상의 단백질을 nitrocellulose membrane으로 transfer하여, 5% skim milk를 이용하여 blocking하고, Santa Cruz Biotechnology의 interleukin-1 β (IL-1 β), tumor necrosis factor- α (TNF- α)에 대한 항체와 HRP-conjugated anti-goat IgG 항체를 연속적으로 처리하였다. Amersham의 ECL 방법을 이용하여 특정 단백질의 변화를 검출하였다.

6) 비장세포유래 T 림프구 과 B 림프구의 증식반응 측정

생쥐를 경추탈구시켜 비장을 무균적으로 적출하고 각각의 세포를 RPMI 1640배지로 세정($\times 3$ 회, PBS, 1500 rpm, 10 min)해서 비장세포 부유액을 무균조제한 후, 10% fetal bovine serum (Sigma)과 1% antibiotics-antimycotic (GIBCO-BRL, Grand Island, NY)을 함유한 RPMI 1640 배지에 1×10^7 cells/ml이 되도록

세포 수를 조정하고 다음, 96 well plate에 200 μ l씩 분주하고 SGJT과 HGJT을 농도별로(1 μ g/ml, 10 μ g/ml, 100 μ g/ml and 1 mg/ml) 첨가하여 37 $^{\circ}$ C CO₂ incubator에서 30분 동안 배양하였다. 30분 후 B cells mitogen인 LPS (10 μ g/ml)와 T cells mitogen인 Con A (5 μ g/ml)를 첨가하여 48시간 동안 37 $^{\circ}$ C의 CO₂ incubator에서 배양하였다. 배양 종료 4시간 전에 5 mg/ml 농도로 PBS에 희석된 MTT용액 20 μ l를 각 well에 첨가하고 4시간 후 0.01 N HCl에 녹인 10% SDS 100 μ l로 용해시켜 18시간 동안 빛을 차단하였다. 발색된 각 well의 흡광도를 ELISA reader를 이용해서 570 nm에서 측정하고 대조군의 흡광도와 비교하여 세포생존율을 백분율로 환산하였다.

7) 統計 處理

成績은 평균치 \pm 표준오차로 나타내었으며, 평균치간의 有意性은 Student's t-test를 이용하여 檢定하였고, p 값이 0.05 미만일 때 有意한 것으로 判定하였다.

실험결과

1. Passive cutaneous anaphylaxis 반응에 미치는 영향

PCA 반응은 항원과 항체가 반응하고 있는 곳에서 histamine 등의 생리활성물질이 유리되어 혈관벽의 투과성이 증가하고 혈장과 염색물질이 누출되어 피부에 청색반이 형성되는 것을 관찰하는데 있다. 이 청색반의 농도를 측정하고 결과 saline 투여군에 비해 SGJT은 54.3%, HGJT은 73.4%의 억제 효과를 보였다.

Table 3. Effect of SGJT and HGJT on the passive cutaneous anaphylaxis reaction

i.p. pretreatment (g/kg)a	Amount of dye (μ g/site)	Inhibition (%)
saline	36.85 \pm 6.77	
SGJT	16.83 \pm 2.14*	54.3
HGJT	9.79 \pm 1.50*	73.4

a) SGJT and HGJT were administered i.p. 1 h before the challenge with antigen. b) Data represents the mean \pm SE. from 3 rats. *, P<0.05; significantly different from the saline value.

2. IL-1 β 과 TNF- α 의 mRNA 발현에 미치는 영향

Egg albumin 유발 알레르기 반응에서 IL-1 β 과 TNF- α 의 발현을 transcription수준에서 관찰하기 위하여 RT-PCR을 이용하여 알레르기 유발부위인 다리조직에서 측정하였다(Fig. 1).

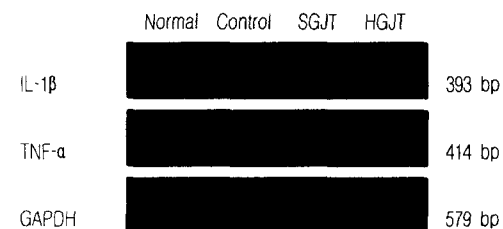


Fig. 1. Effect of SGJT and HGJT on interleukin-1 β (IL-1 β) and TNF- α transcript expression of egg albumin induced allergic tissue. Rats were orally administered SGJT and HGJT for 4 days. RNA was extracted at skeletal muscles of rats. Normal, non treated group; Control, group with not treatment after allergic sensitization and induction by egg albumin; SGJT, Allergic group treated with SGJT; HGJT, Allergic group treated with HGJT

Fig. 1. 에서 나타난 바와 같이 IL-1 β 의 발현양상은 Normal 에 비해 Control 에서 높은 발현을 보였으나 SGJT 과 HGJT 에서 는 전반적으로 비슷한 양상을 보였고 TNF- α 의 경우 SGJT 과 HGJT 에서 Normal과 거의 같은 수준을 보였다.

3. IL-1 β 과 TNF- α 의 생성량에 미치는 영향

Compound 48/80 유발 알레르기 반응에서 IL-1 β 과 TNF- α 의 발현을 protein 수준에서 관찰하기 위하여 Western blot analysis를 이용하여 흉선조직에서 측정하였다. Fig. 2. 에서 나타 난 바와 같이 IL-1 β 의 발현양상은 Normal에 비해 Control 에서 경미한 증가를 보였고 SGJT 과 HGJT 에서 감소하는 양상을 보 였다. TNF- α 의 경우 Normal에 비해 Control 에서 증가를 보였고 HGJT 에서 Normal과 거의 같은 수준을 보였다.

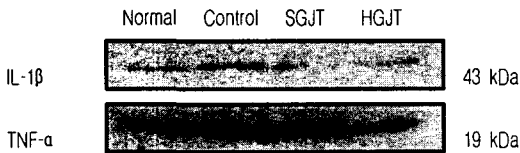


Fig 2. Effect of SGJT and HGJT on interleukin-1 β (IL-1 β) and TNF- α expression of compound 48/80 induced allergic tissue. Rats were i.p. pretreated SGJT and HGJT 1 h before stimulation by compound 48/80 (2 mg/g). Proteins were extracted at thymus of mice. Normal, non treated group; Control, group with not treatment before stimulation; SGJT, Allergic group treated with SGJT before stimulation; HGJT, Allergic group treated with HGJT before stimulation.

4. B 림프구의 증식에 미치는 영향

SGJT과 HGJT이 B 림프구의 증식에 미치는 효과는 Fig. 3.과 같다. 생쥐의 비장세포에 대조군에 비해 SGJT 1, 10 and 100 μ g/ml 농도 첨가군에서 각각 15%, 10%, 16.7%과 HGJT 1, 10 and 100 μ g/ml 농도 첨가군에서 각각 18.3%, 11.7%, 15%로 B 림프구 의 증식을 촉진시키는 효과를 나타내었다(Fig. 3.).

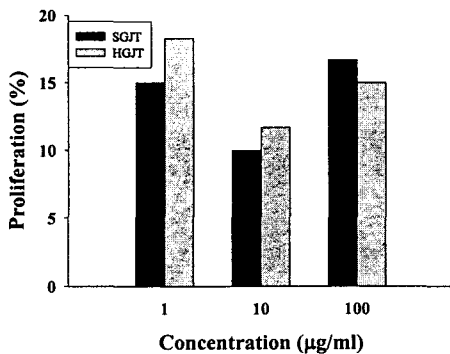


Fig. 3. Effect of SGJT and HGJT on the B lymphocytes proliferation in cultured murine splenocytes. Splenocytes were stimulated by LPS (10 μ g/ml). SGJT and HGJT treated to cultured splenocytes for 48 h. The cells assayed by MTT method. The OD of each well was measured at 570 nm with a microplate reader.

5. T 림프구의 증식에 미치는 영향

SGJT과 HGJT이 T 림프구의 증식에 미치는 효과는 Fig. 4. 과 같다. 생쥐의 비장세포에 대조군에 비해 SGJT 1, 10 and 100

μ g/ml 농도 첨가군에서 각각 0.62%, 6.28%, 7.98%과 HGJT 1, 10 and 100 μ g/ml 농도 첨가군에서 각각 3.82%, 7.52%, 11.59%로 T 림프구의 증식을 촉진시키는 효과를 나타내었다 (Fig. 4.).

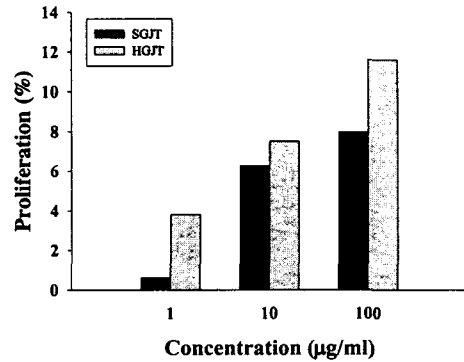


Fig. 4. Effect of SGJT and HGJT on the T lymphocytes proliferation in cultured murine splenocytes. Splenocytes were stimulated by Con A (5 μ g/ml). SGJT and HGJT treated to cultured splenocytes for 48 h. The cells assayed by MTT method. The OD of each well was measured at 570 nm with a microplate reader.

고 찰

면역반응은 외부로부터 침입하는 미생물, 동종의 조직이나 체내에 생긴 불필요한 산물 등과 특이하게 반응하여 항체를 생산하며 생체가 이에 대처하여 처리하는 연쇄적인 반응인데, 생체에 유리해야만 할 면역 현상의 과정에서 逆反應이 일어나 도리어 생체에 불리하게 작용하는 면역반응을 알레르기라 말한다¹⁻³). 이처럼 면역체계의 부조화로 인해 발생하는 알레르기성 질환은 기생충 등에 감염율이 적은 선진국에서 높은 발생율을 보이고 있다⁴). 알레르기는 두드러기 (담마진) 및 소아습진에서 생명을 위태롭게 하는 전신성 과민성 속에 이르기까지 다양한 질환을 포함하며 비만세포의 탈과립에 의해 분비된 히스타민 등의 화학적 매개물질에 의해 알레르기성 염증반응이 나타나며 염증성 cytokine의 발현이 활성화된다. 알레르기성 질환의 西醫學的 치료로는 抗原의 접촉을 피하는 회피요법, 항히스타민제, Corticosteroid, Sodium cromoglycate, 혈관수축제 등의 약물요법, 원인이 되는 항원을 낮은 농도부터 점차로 양을 증가시키면서 피하주사함으로써 외부에서 抗原이 유입되어도 알레르기 反應이 일어나지 않도록 면역관용을 유도하는 면역요법 등이 있다⁵⁻⁶). 한의학적 관점에서 치료는 正氣의 강화, 즉 면역의 정상화를 꾀하여 지나치면 억제하고, 모자라면 보강시켜줌으로써 인체의 正氣, 생리기능을 항상 일정하게 유지해주는 효과를 갖는다⁵⁻⁶). 小建中湯은 漢代 張⁷의 《傷寒論》에 처음 收錄되어 있는 處方으로 桂枝湯에서 芍藥을 倍로 하고 飴糖을 君藥으로 한 方劑이다. 處方의 構成은 飴糖은 滋養強壯하는 作用이 있으며 益脾氣하고 養脾陰하며 溫補中焦하여 緩急하는 효능이 있으며 芍藥은 益陰營血하고 平肝止痛하며 桂枝는 溫陽氣, 溫經通絡하고 炙甘草는 甘溫하여 飴糖과 芍藥을 助하여 補陰하고 桂枝를 助하여 補陽溫中하고, 生薑과 大棗는 津液을 行하게 하고 和榮衛하고 中焦

의 生發之氣를 升陽시킨다. 따라서 小建中湯은 輕度の 體力低下(氣血不足)나 消化性 機能低下(脾虛)가 이미 있는 상태에서 自律神經系의 失調가 겹치므로 平滑筋의 痙攣, 動運動의 亢進, 汗腺의 分泌異常, 動悸가 일어난 것, 특히 特發性 腹痛痙攣 症狀를 주로 치료하는 方劑이다. 그러므로 小建中湯은 鎮痛鎮痙滋養效果가 크며 溫中散寒作用이 있다. 한편 黃芪建中湯은 小建中湯에 黃芪를 加味한 處方으로 黃芪를 加하면 虛勞 및 氣虛로 인한 自汗 등의 諸不足 症狀에 쓴다고 하였다^{7,9)}. 黃芪는 甘味溫無毒하고 補氣升陽, 固表止汗, 托毒排膿, 利水退腫의 효능이 있는 補氣의 대표적인 藥材로서 身體虛弱으로 인하여 表氣가 不固해서 發하는 自汗症, 一切虛弱症, 胃下垂, 子宮下垂, 脫肛, 久瀉不癒, 瘡癤, 瘡癰內陷, 癰盛不潰, 潰破後久不收口, 水腫, 脚氣, 面目浮腫 등에 다양하게 응용한다⁹⁾.

이에 본 실험에서 소건중탕과 황기건중탕의 알레르기에 미치는 영향을 알아보기 위하여 PCA 반응, egg albumin, compound 48/80 유발 알레르기반응에서의 cytokine의 발현에 미치는 영향과 림프구의 증식에 미치는 영향을 살펴보고 있다. PCA 반응은 항원과 항체가 반응하고 있는 곳에서 histamine 등의 생리활성물질이 유리되어 혈관벽의 투과성이 증가하고 혈장과 염색물질이 누출되어 피부에 청색반이 형성되는 것을 관찰하는데 있다. 본 실험에서 청색반의 농도를 측정한 결과 saline 투여군에 비해 SGJT은 54.3%, HGJT은 73.4%의 억제를 보였다 (Table 3). 알레르기 반응에 의해 활성화된 비만세포는 히스타민 외에 IL-1 β 와 TNF- α 같은 cytokine을 분비하고, IL-1 β 와 TNF- α 는 다른 proinflammatory signal molecule들의 발현을 촉진시켜 염증반응을 일으킨다¹⁶⁻¹⁹⁾. 본 실험에서 egg albumin으로 알레르기성 염증반응을 유발 후 유발 부위인 다리조직에서 IL-1 β 와 TNF- α 의 mRNA 의 발현이 증가됨을 확인할 수 있었다. SGJT 과 HGJT 군에서 IL-1 β 의 경우 현저한 변화를 관찰할 수 없었고 TNF- α 의 mRNA 의 발현을 정상수준으로 감소시켰다 (Fig. 1). Compound 48/80 은 알레르기 동물 실험모델에 많이 사용되는 약물로 N-methyl-p-methoxyphenylethylamine 과 formaldehyde 에 의하여 cross-link 된 phenethylamine의 mixed polymer로서 비만세포의 세포막내로의 Ca⁺⁺의 유입을 증가시키고, cAMP-phosphodiesterase를 활성화시켜 세포 내 cAMP 수준을 감소시킴으로써 비만세포의 탈과립을 증가시키는 강력한 약물로 알려져 있다²⁰⁻²¹⁾. 흰쥐 비만세포의 과립들에는 histamine, serotonin, heparin 등이 주로 함유되어 있으며 이러한 과립들이 탈과립 인자에 의하여 세포 밖으로 방출되어 면역반응, 혈관운동 및 신경조절 물질로서 작용하는 것으로 알려져 있다. Compound 48/80 으로 알레르기 반응을 유발한 마우스 흉선 조직에서 IL-1 β 와 TNF- α 의 발현이 Normal에 비해 증가했으며 SGJT 과 HGJT 군에서 IL-1 β 의 감소를 보였고 HGJT 군에서 TNF- α 의 감소를 보였다 (Fig. 2). 또한 SGJT 과 HGJT 이 림프구의 증식에 미치는 영향을 살펴본 결과 비장세포 유래 B 림프구와 T 림프구의 증식을 증가시켰다(Fig. 4 and 5).

이상의 결과를 종합하여 보면 소건중탕과 황기건중탕은 알레르기성 동물모델에서 보여지는 피부반응과 염증반응을 억제하

는데 효과적이며, B, T 림프구의 면역반응을 증가시키는 것을 알 수 있었다. 소건중탕과 황기건중탕이 알레르기 반응을 억제하는 효과적인 것으로 관찰되어 알레르기 초기치료에 응용 가능하리라 생각되며, 앞으로 알레르기 면역기전에 대한 다양한 연구가 필요하리라 사료된다.

감사의 글

본 연구는 교내 연구비 지원에 의하여 이루어진 것임. (2003AA107)

참고문헌

1. 李淵台 : 最新免疫學, 集文堂 pp. 21, 33-35, 507-511, 1990.
2. 金一赫, 趙弼衡 譯 : 韓方醫藥學, 서울, 東南出版社 pp.75-103, 1985.
3. 서울대학교醫科大學編 : 免疫學, 서울, 서울대出版社 pp.123-141, 185-197, 1987.
4. 김태규 외: 免疫生物學, 서울, 라이프사이언스 p.31, 40, 81, 493-520, 1998.
5. 盧寬澤 : 耳鼻咽喉科學, 서울, 一潮閣 pp.204-208, 1999.
6. 白萬基 : 最新耳鼻咽喉科學, 서울, 一潮閣 pp.207-215, 1995.
7. 張介賓: 景岳全書, 서울, 成輔社 p. 343, 417, 418, 1975.
8. 蔡仁植: 傷寒論譯註, 서울, 고문사, p. 387, 453, 504, 1980.
9. 辛民教: 原色臨床本草學, 서울, 南山堂 p. 166, 169, 174, 179, 223, 254, 518, 1986.
10. 金兌仲, 小建中湯加 龍骨, 牡蠣가 흰쥐의 實驗的 胃潰瘍에 미치는 影響, 석사학위논문 慶山大學校, 2000.
11. 金兌仲, The antioxidant effect, cell viability and the effect to the gene expression using cDNA microarray assay of Shogunjung-tang ga yongglo.morea, 박사학위논문 慶山大學校, 2003.
12. 尹漢龍, 小建中湯과 六辰丹이 白鼠의 成長發育에 미치는 影響, 석사학위논문, 大田大學校, 2002.
13. 成銀美, 黃耆建中湯合理中湯이 抗遺瘍 및 胃腸管 機能에 미치는 效果에 對한 實驗的 研究, 석사학위논문, 尙志大學校, 1996.
14. 趙仁珠, 黃 建中湯 및 加味黃 建中湯이 흰쥐의 運動 疲勞恢復에 미치는 影響, 석사학위논문, 東義大學校, 1995.
15. S. Katayama, H. Shionoya and S. Ohtake: A new method for extraction of extravasated dye in the skin and the influence of fasting stress on passive cutaneous allergy in guinea pigs and rats. Microbiol. Immunol. 22: 89-101, 1978.
16. H.M. Kim and Y.M. Lee : Role of TGF-beta1 on the IgE-dependent anaphylaxis reaction. J. Immunol. 162. pp. 4960-4965, 1999.
17. R.W. Yurt, R.W. Leid and K.F. Austen : Native heparin from rat peritoneal mast cells. J. Biol. Chem. 252, pp. 518-521, 1977.

18. P.A. Shore, A. Burkhalter and V.H. Cohn : A method for fluorometric assay of histamine in tissues. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 127, pp. 182-186, 1959.
19. Ho PC, Lewis RA, Austen KF, Orange RP: Mediators of immediate hypersensitivity. In Gupta S, Good RA, eds. *Cellular, Molecular, and Clinical Aspects of Allergic Disorders*. New York, Plenum Press, 179-228, 1979.
20. H.M. Kim : Antiallergy drugs from Oriental medicines. *Int. J. Orient. Med.* 1, pp. 1-7, 2000.
21. M.R. Allansmith, R.S. Baird, R.N. Ross, N.P. Barney and K.J. Bloch : Ocular anaphylaxis induced in the rat by topical application of compound 48/80. Dose response and time course study. *Acta Ophthalmol.* 192. pp. 145-153, 1989.