

## 紅藤湯이 LPS 腔内 注入 생쥐에 미치는 抗炎症 효과

\*경원대학교 한의과대학 부속한방병원 한방부인과교실  
\*\*경원대학교 한의과대학 인천한방병원 한방부인과교실  
서지영\*, 김윤상\*\*, 윤정문, 이태희, 임은미\*

### ABSTRACT

#### Anti-inflammatory Effects of Hongdeung-Tang on Mice with LPS Injected in Vagina

Ji-Young Seo\*, Yoon-Sang Kim\*\*, Eun-Mee Lim\*

\*Dept. of Gynecology, Oriental Hospital, College of Oriental Medicine, Kyungwon University

\*\*Dept. of Gynecology, InCheon Oriental Hospital, College of Oriental Medicine, Kyungwon University

\*\*\*Dept. of Formulae pharmacology, College of Oriental Medicine, Kyungwon University

**Purpose** : There are various oriental medicine therapy of treating Pelvic Inflammatory Disease(PID) in clinics. We made the PID mice model by injection Lipopolysaccharide (LPS) in vagina, and investigate anti-inflammatory effects of *Hongdeung-Tang* among oral medication, retention enema therapy and herbal-acupuncture treatment.

**Method** : The ICR(20-30g) mice(♀) were used. To examine the occurrence of inflammation, LPS in different concentration was injected into the vagina of the mice, and White Blood Cell(WBC) in blood was counted. To examine anti-inflammatory effects, 6 mice were assigned to each of the normal group, the control group and the sample group. *Hongdeung-Tang* was medicated in oral and rectal with 1.0g/kg low dose and 3.0g/kg high dose and by herbal acupuncture for 5 days, 2 days before LPS injection. After 3days from LPS injection, blood was collected from retro-orbital plexus, and WBC, Interleukin-6(IL-6), Tumor Necrosis Factor- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ) in the blood was counted.

**Result** : After LPS injection with each dose, WBC count showed significant increase depending on LPS concentration from 100 $\mu$ g/kg, and it was maximized at 3 or 4 days after LPS injection.

the *Hongdeung-Tang* treatment groups, The number of WBC was decreased significantly only in low dose and high dose oral medication, and IL-6 concentration showed

significant decrease in oral and rectal medication as well as in herbal acupuncture treatment. TNF- $\alpha$  concentration was decreased significantly in oral and rectal medication of low dose and high dose. herbal-acupuncture treatment group datas showed reductive tendency.

**Conclusion** : Based on above results, we made the PID mice model by injection LPS in vagina , and demonstrated anti-inflammatory effect of *Hongdeung-Tang* of oral medication, retention enema therapy and herbal-acupuncture treatment.

**Key words** : *Hongdeung-Tang*, PID, LPS, vagina injection, retention enema therapy, herbal-acupuncture treatment

## I. 緒 論

최근 성개방 풍조, 성병의 증가, 인공유산 자궁내 피임장치의 삽입 등으로 인해 위험인자가 늘어나고 있는 骨盤炎症性疾患(Pelvic Inflammatory Disease, PID)은 자궁경상부의 생식기와 골반장기에 염증이 야기된 질환으로<sup>1,2,3)</sup>, 급성기에는 발열, 하복통, 분비물 증가 및 패혈증의 위험이 있을 뿐 아니라 만성적 경과를 거쳐 난관의 손상, 유착과 같은 기질적 변화를 일으키며 잦은 재발과 만성 골반통, 불임, 자궁외 임신과 같은 심각한 후유증을 남길 수 있다<sup>1,2,4,5)</sup>. 이와 같이 경과가 복잡하고 항생제 치료에도 불구하고 재발과 후유증을 남길 수 있는 骨盤炎症性疾患은 다양한 한의학적 접근이 필요하다<sup>2,4,6)</sup>.

骨盤炎症性疾患은 한의학에서 帶下, 婦人腹痛, 熱入血室, 産後發熱, 癥瘕, 痛經, 崩漏, 月經不調 등 다양한 범주에 속하며<sup>2,4,7,8,9)</sup>, 한약의 經口投與 외에도 保留灌腸療法과 藥鍼療法, 鍼灸法 등 다양한 한의학적 치법이 사용되고 있다<sup>2,4,10)</sup>. 그 중 煎湯한 韓藥液을 直腸內로 투여하여 치료작용을 일으키는 藥物 保留灌腸療法<sup>11,12)</sup>은 藥物이 직장점막을 통과 흡수되어 직접 병소에 도달하므로 骨盤腔의 혈액순환을 개선시키고 조직의 재생을 촉진하며消炎작용을 하므로 骨盤炎症性疾患에 활용된다<sup>11,13)</sup>. 한편 藥鍼療法은 經絡學說의 원리에

의거하여 有關한 穴位, 壓痛點 및 陽性反應點에 각종 藥物 抽出液을 注入하여 생체기능을 조정하고 질병을 치료하는 新鍼療法으로, 약효의 발생이 빠르고 약물이 위장관에서 파괴되는 것을 방지할 수 있는 장점이 있다<sup>14)</sup>.

최근 保留灌腸療法에 관한 임상 보고로 續發性月經痛, 卵巢囊腫을 치료한 엄<sup>15,16)</sup>의 보고와 慢性骨盤炎에 대한 조<sup>17)</sup>의 보고와, 紅藤湯과 康寧湯을 이용한 장<sup>18)</sup>과 송<sup>19)</sup>의 실험적 연구 보고가 있었다. 또한 조<sup>20)</sup>의 帶下患者의 藥鍼治療에 대한 임상적 고찰, 이<sup>21)</sup>의 銀花瀉肝湯 藥鍼이 염증성 질환에 미치는 효과에 대한 실험적 연구 등 부인과 염증성 질환과 藥鍼 응용에 대한 연구가 진행되고 있다.

이에 본 연구는 장<sup>18)</sup>의 연구와 유사하나, 보다 국소적인 생식기의 감염 유발을 위해 LPS의 腔內 注入을 시도하여 炎症을 유발시켰으며, 經口投與와 直腸投與 외에 藥鍼投與를 추가하여 紅藤湯의 抗炎症 효과를 관찰하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

## II. 實 驗

### 1. 材料

#### 1) 藥材

약재는 暎園大學校 附屬韓方病院에서 구입하여 사용하였고 紅藤湯<sup>27,28)</sup>의 處方內容과 1점의 分量은 다음과 같다.

Prescription of HongDeung-Tang

약제명	생약명	용량(g)
紅藤	SARGENTODOXA CUNEATA	30
蒲公英	TARAXACI HERBA	30
敗醬草	PATRINIAE RADIX	30
鴨跖草	COMMELINAE HERBA	30
三稜	SPARGANII RHIZOMA	9
莪朮	ZEDOARIAE RHIZOMA	9
玄胡索	CORYDALIDIS TUBER	9
총량		147

2) 藥物의 調製

(1) 經口投與 및 保留灌腸 藥物

紅藤湯 3첩 분량을 5,000cc 환저 플라스크에 넣은 뒤 3,000cc 증류수를 가하고 냉각기를 부착하여 4시간 동안 加熱煎湯한 다음 여과액을 Rotary evaporator(Eyela Co., Japan)로 減壓濃縮한 후 완전히 건조시켜 紅藤湯 煎湯粉末 35g을 얻었다.

(2) 藥針液

紅藤湯 1첩 분량을 환저 플라스크에 넣고 증류수 1500cc를 가여 냉각기를 부착하고 2시간 동안 설정온도 105℃에 이를 때까지 煎湯한 후 환류 냉각관으로 냉각수가 순환하도록 하고 107℃ 이상, 3시간 이상 설정하여 藥針液이 분해 갈대기로 추출되도록 한다. 추출된 藥針液의 상층액을 분리한 후 NaCl을 가하여 0.9% 등장액을 만들고 Na3PO4를 사용하여 PH 7.3으로 적정한 후 0.1µm(Cellulose)까지 여과하고 용기에 밀봉 후 멸균하여 紅藤湯 藥針液 400cc를 만들었다.

3) 動物

실험동물은 명진 동물실험센터에서 분양 받은 20~25g의 45주령 ICR계 암컷 생쥐를 사용하였다. 사료와 물은 자유로이 섭취할 수 있게 하고 실내온도 22±0.5℃를 유지하였으며 12시간을 주기로 밤과 낮의 구분이 되도록 조명을 조정하고 한 쥐장에 6마리의 생쥐를 사육하였다.

2. 方法

1) 농도별 Lipopolysaccharide(LPS) 주입에 따른 炎症 유발

정상군, 대조군 및 실험군으로 나누어 정상군은 무처리군으로, 대조군은 LPS 질내 주입군으로, 실험군은 농도별 LPS(Sigma Co., USA) 10, 100, 250, 500, 1000 µg/kg 주입군으로 설정하였다. 각 군은 생쥐 6마리씩을 배정하였다.

(1) LPS 腔內 注入 방법

LPS 腔內 주입 시 18호 syringe를 사용하였으며, 스테인레스 스틸 바늘의 끝을 잘라내고 sand paper로 단면을 매끈하게 문지른 후 사용하였다. LPS가 새어나오는 것을 방지하기 위해 注入後 腔 入口를 종이테이프로 막고 1시간 후 제거하였다.

(2) LPS 농도별 White Blood Cell(WBC) 수 측정 방법

LPS를 腔內 注入한 다음 6일간 매일 血中 WBC의 數를 측정하여 濃度別로 炎症유발 효과를 알아보았다.

생쥐를 頸椎分離法으로 도살한 후 眼窩靜脈叢(Retro-Orbital Plexus)에서 heparinized capillary tubes(USA)를 사용하여 혈액을 채취하였고, 혈액의 응고 방지를 위해 채취 전 약간의 heparin(중외제약, 한국)을 처리하였다.

採取한 혈액을 RBC lysis buffer로 1000배 희석하여(혈액 1µl에 lysis buffer 1000 µl를 넣고 가볍게 저준다) Trypan Blue Solution 0.4% (Sigma Co., USA)용액을 섞어 Hemacytometer (Superior, Germany)에 넣고 WBC의 숫자를 계산하였다.

2) 紅藤湯의 抗炎症 효과

(1) 실험군의 설정

정상군, 대조군 및 실험군으로 나누었으며 정상군은 처치를 하지 않았고, 대조군은 LPS의 腔

腔內 注入 후 생리식염수를 經口投與하였다. 실험군은 紅藤湯 3.0g/kg과 1.0g/kg을 경구로 투여한 經口投與군과 3.0g/kg과 1.0g/kg을 直腸으로 投與한 군 및 藥針液을 刺入한 5개 군으로 나누었다. 각 군에 생쥐 6마리씩을 배정하였다.

### (2) 藥物의 투여

LPS 腔內 注入 2일 전부터 총 5일 간 매일 1회 약물을 투여하였다. 경구 투여군은 종대를 이용하여 약물을 경구로 강제 투여하였고, 직장 투여군은 약물 주입 전 마취를 시킨 후 종대를 이용하여 直腸 內로 약물을 주입하고 종이테이프를 항문을 봉해 약물이 새어나오는 것을 막고 1시간 후 테이프를 제거하였다. 마취는 Entobar Inj.(한림 제약, 한국) 2mL를 증류수에 10배 희석하여 생쥐 체중의 1/10 용량을 복강에 투여하였다. 약침 투여군은 兩側 子宮穴에 각 0.05mL씩 총 0.1mL의 康寧湯 藥針液을 26gauge의 약침주사기(녹십자의료기기공업 주식회사, 한국)를 사용하여 注入하였다. 子宮穴은 생쥐에서 인체와 상응하는 부위를 骨度分寸法에 의해 取穴하였다.

### (3) 炎症 誘發

炎症 유발은 약물투여 2일째 생쥐를 마취시킨 뒤, 炎症의 誘發 효과 확인 실험 결과 가장 적합한 농도로 확인된 LPS 250 $\mu$ g/kg을 上記방법으로 腔內 注入 하였다.

### (4) 血中 WBC 수, IL-6 농도, TNF- $\alpha$ 농도 측정 방법

LPS 注入 후 3일째에, 上記 방법으로 採血 하여, 血中 WBC 수, Interleukin-6(IL-6) 농도 및 Tumor Necrosis Factor- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )를 측정하였다.

WBC 수의 측정은 上記 방법과 동일 하게 시행되었으며, IL-6, TNF- $\alpha$  농도는 다음과 같은 방법으로 측정하였다. 採血한 혈액을 4 $^{\circ}$ C에서 4,000 r.p.m.으로 원심 분리하여 혈청을

얻은 다음 -83 $^{\circ}$ C의 deep freezer에 보관하였다가 24시간 후 측정하였다. 측정하기 24시간 전에 Capture antibody를 PBS에 녹여서 96 well plate에 100 $\mu$ L씩 넣은 다음 plate를 paraffin film으로 봉한 후 4 $^{\circ}$ C 냉장고에 보관하였다. 24시간 후에 각 well을 wash buffer로 3회 세척한 다음 300 $\mu$ L의 block buffer를 가하고 1시간 동안 실온에 방치한 후 다시 wash buffer로 3회 세척한다. 여기에 Standard와 sample을 100 $\mu$ L씩 각 well에 가한 다음 실온에 2시간 동안 방치하였다. 2시간 후 Detection antibody를 reagent diluent에 희석하여 각 well에 100 $\mu$ L씩 가한 후 실온에서 다시 2시간 동안 방치한 후 wash buffer로 3회 세척하였다. 그 다음 streptavidin-HRP를 역시 reagent diluent로 희석하여 각 well에 100 $\mu$ L씩을 넣고 20분간 실온에 방치한다. 이를 다시 wash buffer로 3회 세척하고 Substrate solution을 100 $\mu$ L씩 가하고 20분간 방치하였다. 20분 후 각 well에 stop solution을 50 $\mu$ L씩 가하고 plate를 가볍게 두드리서 섞은 다음 optical density를 ELISA Reader (Merck Co., Korea)로 측정하였다.

### 3. 統計處理

각 실험 결과는 Graphpad Software Prism 3.0(USA)을 이용하여 확인하였으며 Student's t-test에 의하여 p값이 0.05미만인 경우 有意한 것으로 인정하였다.

## III. 成績

### 1. 炎症유발 실험

#### 1) 농도별 LPS 注入에 따른 WBC의 변화

각 농도의 LPS를 腔內 注入한 후 6일간의 WBC 수를 측정한 결과 100, 250, 500, 1000 $\mu$ g/kg의 농도에서 WBC 수가 유의하게 증가하였으며 3, 4일 까지 WBC의 수가 증가하였다가 그 후로는 감소하는 경향을 보였다. (Table 1, Fig. 1)

Table I. Increase of WBC Number Each Day after LPS Injection with Each Dose

Group	day ( $\times 10^4$ )					
	1	2	3	4	5	6
Normal	387.3	355.3	357.3	366.7	363.3	355.3
Control	394.7	359.3	385.3	368.7	366.7	361.3
Sample						
10 $\mu\text{g}/\text{kg}$	406.7	340	406.7	421.3	398.7	384
100 $\mu\text{g}/\text{kg}$	466.7	360	466.7**	489.3**	420	422.7*
250 $\mu\text{g}/\text{kg}$	511.3*	454	478.7***	537.3***	471.3***	460**
500 $\mu\text{g}/\text{kg}$	554.7**	522.7**	555.3***	574.7***	508***	474.7**
1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$	626***	542.7**	628.7***	605.3***	520***	503.3***

Recording datas are the mean count.

Normal : No treatment group

Control : Normal saline vaginal injected group

Sample : LPS vaginal injected group with each dose (10, 100, 250, 500, 1000  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )

\* : Statistical significance compared with control group( $p < 0.05$ )

\*\* : Statistical significance compared with control group( $p < 0.01$ )

\*\*\* : Statistical significance compared with control group( $p < 0.001$ )

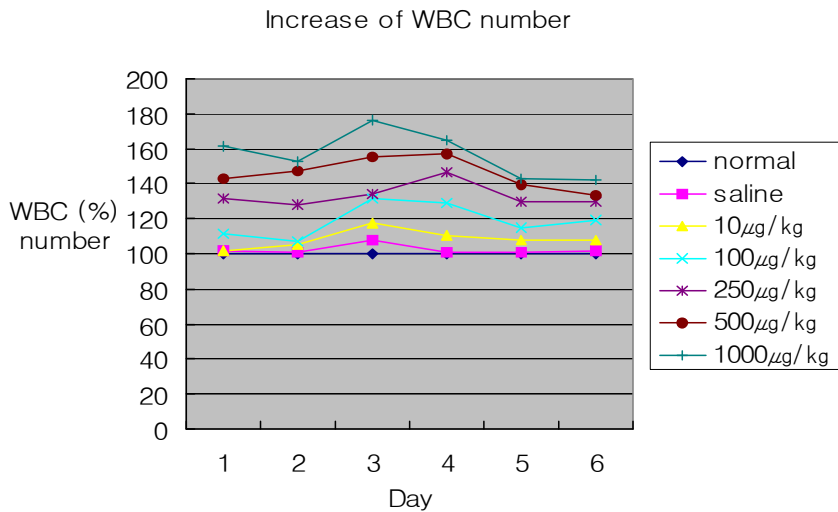


Fig. 1. Increase of WBC number each day after LPS injection with each dose.

The count data was transformed into the % data.

Normal : No treatment group

Saline : Normal saline vaginal injected group

Sample : LPS vaginal injected group with each dose(10, 100, 250, 500, 1000  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )

2. 紅藤湯의 抗炎症 효과 실험

1) 紅藤湯 투여 후 WBC 변화

LPS를 투입한 대조군은 정상군에 비하여 유의한 증가를 나타내었고, 經口投與군은 저농도와 고농도에서 유의성있는 감소를 보였으며 (p=0.0122, p=0.0263), 저농도와 고농도 直腸投與군과 藥鍼投與 군은 대조군에 비하여 감소하는 경향을 보였지만 유의성은 없었다(p=0.1927, p=0.1168, p=0.2022). (Table II, Fig. 2)

Table II. Change of WBC Number after *Hongdeung-Tang* Treatment at 3 Days after LPS Injection

Group	No. of mice	WBC Count( $\times 10^4$ )
Normal	6	347.3 $\pm$ 11.61 <sup>a)</sup>
Control	6	630.7 $\pm$ 30.12 <sup>***</sup>
HO 1g/kg	6	518.7 $\pm$ 15.31 <sup>#</sup>
HO 3g/kg	6	528.0 $\pm$ 21.17 <sup>#</sup>
HR 1g/kg	6	560.0 $\pm$ 21.22
HR 3g/kg	6	556.7 $\pm$ 27.62
Herbal-At.	6	572.7 $\pm$ 26.84

a) : Mean  $\pm$  Standard Error

Normal group : No treatment group

Control group : Saline orally medicated group

HO 1g/kg : LPS vaginal injected and *Hongdeung-Tang* orally 1.0 g/kg medicated group

HO 3g/kg : LPS vaginal injected and *Hongdeung-Tang* orally 3.0 g/kg medicated group

HR 1g/kg : LPS vaginal injected and *Hongdeung-Tang* rectally 1.0 g/kg medicated group

HR 3g/kg : LPS vaginal injected and *Hongdeung-Tang* rectally 3.0 g/kg medicated group

Herbal-At : LPS vaginal injected and *Hongdeung-Tang* Herbal-acupuncture treatment group

\*\*\* : Statistical significance compared with normal (p<0.001)

# : Statistical significance compared with control (p<0.05)

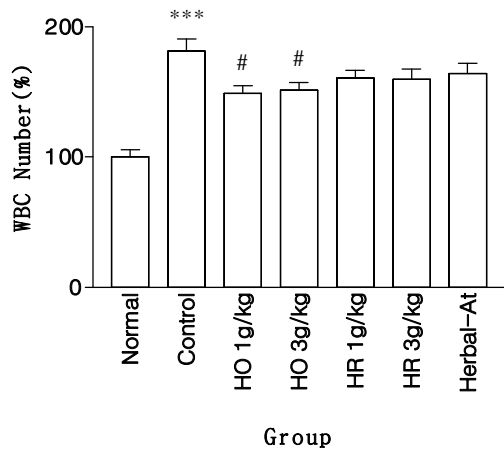


Fig. 2. Effect of *Hongdeung-Tang* on the change of % WBC number at 3 days after LPS injection.

Normal group : No treatment group

Control group : Saline orally medicated group

HO 1g/kg : LPS vaginal injected and *Hongdeung-Tang* orally 1.0 g/kg medicated group

HO 3g/kg : LPS vaginal injected and *Hongdeung-Tang* orally 3.0 g/kg medicated group

HR 1g/kg : LPS vaginal injected and *Hongdeung-Tang* rectally 1.0 g/kg medicated group

HR 3g/kg : LPS vaginal injected and *Hongdeung-Tang* rectally 3.0 g/kg medicated group

Herbal-At : LPS vaginal injected and *Hongdeung-Tang* Herbal-acupuncture treatment group

*Hongdeung-Tang* was medicated before and after LPS injection for 5 times.

Blood was collected from the retro-orbital plexus at 3 days after LPS injection.

\*\*\* : Statistical significance compared with normal (p<0.001)

# : Statistical significance compared with control (p<0.05)

2) 紅藤湯 투여 후 IL-6 변화

IL-6 농도는 저농도와 고농도 經口投與군에서 유의성 있게 감소하였으며 (p=0.0092, p=0.0004), 저농도와 고농도의 直腸投與군에서도 유의성 있는 감소를 보였다(p=0.0001, p=0.00001). 藥鍼投與 군에서도 유의한 감소가 있었다(p=0.0001). (Table III, Fig. 3)

Table III. Change of IL-6 Concentration after *Hongdeung-Tang* Treatment at 3 Days after LPS Injection

Group	No. of mice	IL-6 concentration (pg/mL)
Normal	6	56.70 ± 1.684 <sup>a)</sup>
Control	6	80.53 ± 7.386 <sup>***</sup>
HO 1g/kg	6	64.09 ± 4.763 <sup>##</sup>
HO 3g/kg	6	60.81 ± 3.030 <sup>###</sup>
HR 1g/kg	6	68.20 ± 4.998 <sup>###</sup>
HR 3g/kg	6	67.38 ± 3.030 <sup>###</sup>
Herbal-At.	6	39.08 ± 3.352 <sup>###</sup>

a) : Mean ± Standard Error

Normal group : No treatment group

Control group : Saline orally medicated group

HO 1g/kg : LPS vaginal injected and *Hongdeung-Tang* orally 1.0 g/kg medicated group

HO 3g/kg : LPS vaginal injected and *Hongdeung-Tang* orally 3.0 g/kg medicated group

HR 1g/kg : LPS vaginal injected and *Hongdeung-Tang* rectally 1.0 g/kg medicated group

HR 3g/kg : LPS vaginal injected and *Hongdeung-Tang* rectally 3.0 g/kg medicated group

Herbal-At : LPS vaginal injected and *Hongdeung-Tang* Herbal-acupuncture treatment group

\*\*\* : statistically significant compared with normal group. (p <0.001)

## : statistically significant compared with control group. (p <0.01)

### : statistically significant compared with control group. (p <0.001)

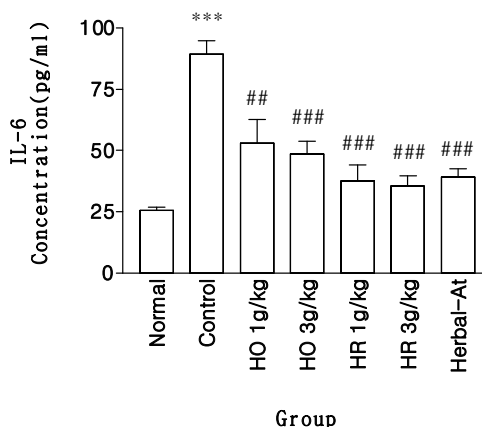


Fig. 3. Effect of *Hongdeung-Tang* on the IL-6 concentration at 3 days after LPS injection.

Normal group : No treatment group

Control group : Saline orally medicated group

HO 1g/kg : LPS vaginal injected and *Hongdeung-Tang* orally 1.0 g/kg medicated group

HO 3g/kg : LPS vaginal injected and *Hongdeung-Tang* orally 3.0 g/kg medicated group

HR 1g/kg : LPS vaginal injected and *Hongdeung-Tang* rectally 1.0 g/kg medicated group

HR 3g/kg : LPS vaginal injected and *Hongdeung-Tang* rectally 3.0 g/kg medicated group

Herbal-At : LPS vaginal injected and *Hongdeung-Tang* Herbal-acupuncture treatment group

*Hongdeung-Tang* was medicated before and after LPS injection for 5 times.

IL-6 was measured 3 days after LPS(250 µg/kg) injection. Blood was collected from the retro-orbital plexus.

\*\*\* : statistically significant compared with normal group. (p <0.001)

## : statistically significant compared with control group. (p <0.01)

### : statistically significant compared with control group. (p <0.001)

### 3) 紅藤湯 투여 후 TNF-α 변화

TNF-α 농도는 저농도와 고농도 經口投與군에서 대조군에 비하여 유의한 감소가 있었고 (p=0.0222, p=0.0069), 저농도와 고농도 直腸投與군에서도 유의성 있게 감소하였다(p=0.0059, p=0.0194). 藥鍼投與군에서는 거의 유의성이 인정되는 수준의 감소를 보였다(p=0.05004). (Table IV, Fig. 4)

Table IV. Change of TNF- $\alpha$  Concentration after *Hongdeung-Tang* Treatment at 3 Days after LPS Injection

Group	No. of mice	TNF- $\alpha$ concentration (pg/mL)
Normal	6	43.22 $\pm$ 3.144 <sup>a)</sup>
Control	6	70.46 $\pm$ 4.772 <sup>***</sup>
HO 1g/kg	6	61.07 $\pm$ 8.662 <sup>#</sup>
HO 3g/kg	6	50.73 $\pm$ 2.521 <sup>##</sup>
HR 1g/kg	6	46.97 $\pm$ 1.188 <sup>##</sup>
HR 3g/kg	6	61.07 $\pm$ 8.662 <sup>#</sup>
Herbal-At.	6	89.06 $\pm$ 8.902

a) : Mean  $\pm$  Standard Error

Normal group : No treatment group

Control group : Saline orally medicated group

HO 1g/kg : LPS vaginal injected and *Hongdeung-Tang* orally 1.0 g/kg medicated group

HO 3g/kg : LPS vaginal injected and *Hongdeung-Tang* orally 3.0 g/kg medicated group

HR 1g/kg : LPS vaginal injected and *Hongdeung-Tang* rectally 1.0 g/kg medicated group

HR 3g/kg : LPS vaginal injected and *Hongdeung-Tang* rectally 3.0 g/kg medicated group

Herbal-At : LPS vaginal injected and *Hongdeung-Tang* Herbal-acupuncture treatment group

\*\*\* : statistically significant compared with normal group. (p < 0.001)

# : statistically significant compared with control group. (p < 0.05)

## : statistically significant compared with control group. (p < 0.01)

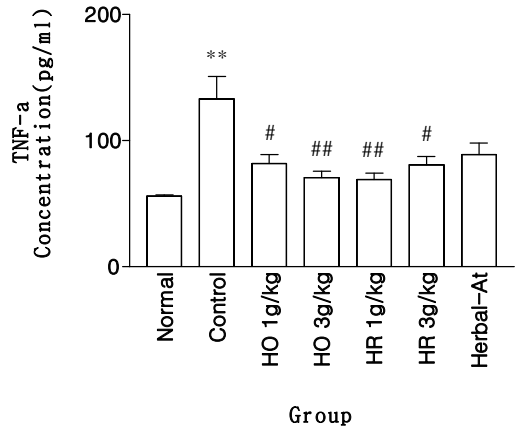


Fig. 4. Effect of *Hongdeung-Tang* on the TNF- $\alpha$  concentration at 3 days after LPS injection.

Normal group : No treatment group

Control group : Saline orally medicated group

HO 1g/kg : LPS vaginal injected and *Hongdeung-Tang* orally 1.0 g/kg medicated group

HO 3g/kg : LPS vaginal injected and *Hongdeung-Tang* orally 3.0 g/kg medicated group

HR 1g/kg : LPS vaginal injected and *Hongdeung-Tang* rectally 1.0 g/kg medicated group

HR 3g/kg : LPS vaginal injected and *Hongdeung-Tang* rectally 3.0 g/kg medicated group

Herbal-At : LPS vaginal injected and *Hongdeung-Tang* Herbal-acupuncture treatment group

*Hongdeung-Tang* was medicated before and after LPS injection.

TNF- $\alpha$  was measured 3 days after LPS injection.

Blood was collected from the retro-orbital plexus.

\*\*\* : Statistical significance compared with normal. (p < 0.001)

# : Statistical significance compared with control. (p < 0.05)

## : statistically significant compared with control group. (p < 0.01)

## IV. 考 察

骨盤炎症性疾患은 여러 가지 세균성 병원체에 의해 자궁경상부의 생식기와 골반장기에 염증이 야기된 질환으로<sup>1,2)</sup>, 근래 인공유산의 증가, 자궁내피임장치, 진단 목적의 침습적 검사의 증가, 성개방 풍조로 인한 성병의 지속적 증가 등의 위험요소가 점차 늘고 있다<sup>3,4)</sup>.



骨盤炎症性疾患은 다양한 원인균에 의한 상행성 감염으로 발생하며 복합 감염에 의한 경우가 대부분으로 자궁경관에 보건상태의 균이 환경요인 변화로 염증이 폭발적으로 자궁내막, 난관점막 그리고 복강과 난소에까지 파급되며, 급성 염증성 경과로 시작되어 완전히 치유되거나 서서히 만성 골반염이나 만성 재발성 골반염으로 이행하는 경과를 밟는다<sup>22)</sup>. 급성骨盤炎은 심한 下腹痛과 骨盤痛, 惡寒과 發熱, 化膿성의 자궁경부 분비물, 심한 경우 腹部膨滿, 惡心, 嘔吐, 高熱, 백혈구 증가 頻脈 등이 나타난다<sup>4,22,23)</sup>. 양방의 급성骨盤炎 치료는 항생제 투여를 기본으로 하는데<sup>6,22)</sup> 최근 항생제의 오남용으로 균들이 항생제에 내성을 가지게 되었고 특히 부인과 영역의 감염증은 다세균성 감염증의 특징을 보여 항생제 내성에 대한 훨씬 많은 문제가 발생할 수 있다<sup>24,25)</sup>. 骨盤炎症性疾患은 치료에도 불구하고 급성 질환의 약 1/4에서 재발, 만성 골반통, 성교통, 자궁의 임신, 불임증과 같은 만성적인 휴유증을 남기며<sup>3,6)</sup>, 骨盤炎의 기왕력을 가진 여성은 보통 여성에 비해 재감염이 2.5배나 증가하고<sup>3,26)</sup>, 감염 회수에 비례하여 불임율이 급격히 높아진다는 보고가 있었다<sup>5)</sup>.

骨盤炎症性疾患은 熱入血室, 産後發熱, 癥瘕, 痛經, 帶下, 崩漏, 婦人腹痛, 月經不調 등의 범주에 속하는데<sup>24,7,8,9)</sup>, 급성骨盤炎은 熱毒壅盛, 濕熱瘀結 등 實證 인 경우가 많아 淸熱, 解毒, 利濕을 위주로 하는 치료하며, 만성骨盤炎은 氣滯血瘀, 濕熱瘀結, 寒濕凝滯, 脾虛濕瘀, 腎陽虛 등 虛實挾雜한 경우가 대부분으로 活血, 行氣, 化瘀하는 治法을 辨證에 따라 사용한다<sup>24,8)</sup>.

淸熱解毒, 排膿消腫의 효과가 있는 紅藤湯은 急慢性骨盤炎의 치료를 위해 保留灌腸療法으로 주로 사용되는 처방으로<sup>4,27,28)</sup>, 구성 약물의 효능을 살펴보면 紅藤은 淸熱解毒散結하여 腸癰, 腹痛에 사용되고<sup>30)</sup>, 敗醬草는

淸熱解毒, 排膿破血하여 腸癰과 癥結을 없애는 효능이 있으며<sup>29,30,31)</sup>, 蒲公英은 淸熱解毒, 消腫散結하여 疔瘡腫毒과 腸癰을 치료하며<sup>30,31)</sup>, 鴨跖草는 淸熱瀉火, 涼血解毒하여 癰疽疔瘡, 癥瘕를 치료하고<sup>30,31)</sup>, 三稜, 莪朮, 玄胡索은 理氣活血, 祛瘀止痛 하는 작용이 있다<sup>30)</sup>.

保留灌腸療法은 韓藥을 煎湯한 후 藥物液을 直腸 내에 투여하여 局部 또는 全身에 치료작용을 일으키는 韓藥外治法의 일종으로, 張仲景의 蜜煎導法에 기초하고 있다<sup>11,12,32)</sup>. 保留灌腸療法은 위장관의 소화 흡수 및 肝의 대사 解毒 과정을 거치지 않으므로 胃酸, 消化酵素 및 腸液에 의해 약효가 파괴되지 않으며<sup>11,13)</sup> 치료효과가 빠르고 毒性이 있는 藥物의 투여가 經口보다 용이하다는 장점이 있다<sup>11,32)</sup>. 保留灌腸療法은 結腸炎(泄瀉), 腹瀉, 痢疾, 便血證, 腸麻痺證, 腸閉塞 등과 流行性出血熱, 嘔吐, 咳喘에 활용되었으며 소아과 감염성질환, 파상풍, 外感高熱 등에 사용할 수 있으며, 婦人科에서는 卵巢囊腫, 痛經과 완고하고 根治가 어려운 骨盤炎 등에 다용된다<sup>12)</sup>. 骨盤은 血管壁이 얇고 靜脈이 많으며 瓣膜이 없고 또한 直腸과 子宮靜脈이 서로 연계되어서 藥物이 直腸粘膜炎을 흡수 통과하여 직접 병소에 도달하므로 骨盤腔의 혈액순환을 개선시키고 肥厚된 결합조직을 연화시키며 조직의 재생을 촉진하며 국부적 消炎작용을 하기 때문에 骨盤炎에 保留灌腸을 활용할 수 있다<sup>4,13)</sup>. 骨盤炎症性疾患의 保留灌腸 치료에 대한 보고로 慢性骨盤炎 치험례<sup>17)</sup>와 骨盤炎 치료를 위해 사용된 保留灌腸療法에 관한 문헌적 고찰<sup>13)</sup>, 紅藤湯<sup>18)</sup>과 康寧湯<sup>19)</sup>을 이용한 保留灌腸療法의 실험적 보고 등이 있었다.

藥鍼療法은 經絡學說의 원리에 의거하여 有關한 穴位, 壓痛點 및 陽性反應點에 각종 藥物 抽出液을 注入하여 생체기능을 조정하고 질병을 치료하는 新鍼療法의 일종으로, 약

효의 發生이 빠르고 약물이 위장관에서 파괴되는 것을 방지할 수 있고 내복하기 힘든 환자에게 사용할 수 있는 장점이 있다<sup>14)</sup>. 골반염, 음부소양증, 난관염, 자궁내막염 등 부인과 질환에 다양한 제제의 약침이 사용되고<sup>4,10)</sup>, 여성 생식기 감염질환과 관련된 약침 연구로 대하증의 치료에 대한 임상 고찰<sup>20)</sup>, 銀花瀉肝湯 약침의 효능에 대한 실험적 연구<sup>21)</sup> 등이 있다.

본 실험에서 사용한 子宮穴은 腹部에 위치한 經外奇穴로 臍下正中線 臍下 4寸 左右傍 各 3寸에 위치한 穴로서 婦人胞下垂注陰下脫, 婦人淋病, 不孕, 子宮血腫, 子宮內膜炎, 腸疝痛, 蟲垂炎 등에 활용된다<sup>14)</sup>.

본 연구는 紅藤湯의 抗炎症 효과에 대한 張<sup>18)</sup>의 연구와 유사하나 기존 연구가 LPS를 생쥐의 복강내에 주입한데 반하여 본 연구에서는 보다 국소적인 골반 염증을 유도하고자 LPS의 腔內 注入을 시도하여 주로 상행감염에 의해 발생하는 骨盤炎의 병리모델을 만들었다. LPS는 그람 음성균의 세포벽을 구성하는 지다당류로서<sup>33)</sup>, 단구 및 대식세포, 호중구, 혈장의 각종 성분을 활성화시켜 인터루킨과 같은 Cytokine, 혈소판 활성화인자, 프로스타글란딘 보체 등 내인성 매개물질을 분비시키거나 활성화하여 염증을 일으킨다<sup>34)</sup>.

LPS의 腔內 注入 후 炎症이 유발된 생쥐에게 清熱解毒, 消腫排膿의 효능을 가진 紅藤湯의 直腸投與 및 經口投與 외에 藥鍼投與를 추가하여 실험하였다. 우선 炎症 유발의 확인과 炎症을 일으키는 LPS의 적정 농도를 결정하기 위해 다양한 농도의 LPS를 생쥐의 腔內에 注入한 후 6일간 WBC의 數를 측정할 결과, LPS 농도 100  $\mu\text{g}/\text{kg}$  이상에서 WBC의 數가 유의하게 증가하였으며 3, 4일 까지 증가하였다가 감소하는 경향을 보였다. 생리식염수를 腔內에 주입한 대조군의 WBC 數는 처치를 하지 않은 정상군의 수치와 유사하여 주사기에 의한 염증 유발을 배제할 수 있다. 실험군에서

WBC 數가 증가하여 염증이 유발되었음을 확인하였으며, 250  $\mu\text{g}/\text{kg}$  농도로 염증을 유발시켜 약물 투여 후 항염증효과를 관찰하였다.

炎症은 생체조직이 손상에 대해 반응하는 능동적인 과정으로 급성 염증단계에 충혈, 삼출, 백혈구 유주를 일으킨다<sup>35)</sup>. WBC는 炎症 발생 시 그 數가 증가하여 세균, 면역복합체, 피사조직의 파편 등을 탐식, 분해함으로써 생체 방어기전에 기여하는 면역세포이며<sup>36)</sup>, 炎症의 급성기에 식세포에 의해 분비되는 Cytokine은 내인성 발열인자로 작용하며 혈관 투과성 증가, 항체 작용을 모방하는 단백질 생산의 유도 등 중요한 염증 급성기 반응을 일으킨다<sup>37)</sup>. Cytokine에는 IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, TNF- $\alpha$  등이 있으며<sup>34,35)</sup> 본 실험에서 관찰한 TNF- $\alpha$ 는 혈관투과성을 증가시키고 발열을 유도하며, IL-6는 림프구의 활동성을 증가시키고 발열과 급성기 단백질 생산을 유도한다<sup>37)</sup>.

WBC 數는 저농도와 고농도 經口投與군에서 유의성 있는 감소를 보였으며 ( $p=0.0122$ ,  $p=0.0263$ ), 저농도와 고농도 直腸投與군과 藥鍼投與군은 대조군에 비하여 감소하는 경향을 보였지만 유의성은 없었다 ( $p=0.1927$ ,  $p=0.1168$ ,  $p=0.2022$ ).

IL-6 농도는 저농도와 고농도 經口投與군에서 농도의존적으로 유의성 있게 감소하였으며 ( $p=0.0092$ ,  $p=0.0004$ ), 저농도와 고농도의 直腸投與군에서도 역시 농도의존적으로 유의성 있는 감소를 보였다 ( $p=0.0001$ ,  $p=0.00001$ ). 藥鍼投與군에서도 유의한 감소가 있었다 ( $p=0.0001$ ).

TNF- $\alpha$  농도는 저농도와 고농도 經口投與군에서 대조군에 비하여 유의한 감소가 있었고 ( $p=0.0222$ ,  $p=0.0069$ ), 저농도와 고농도 直腸投與군에서도 유의성 있게 감소하였으며 ( $p=0.0059$ ,  $p=0.0194$ ), 藥鍼投與군에서는 거의 유의성이 인정되는 수준의 감소를 보였다 ( $p=0.05004$ ).

종합해보면 紅藤湯의 經口投與는 WBC,

IL-6, TNF- $\alpha$  농도를 유의성 있게 감소시켰고 直腸投與는 IL-6, TNF- $\alpha$  농도를 유의하게 감소시켰으며 특히 IL-6에서 농도의존적으로 현저한 감소가 있었다. 藥鍼投與는 IL-6에서 현저한 감소효과가 있었으며 TNF- $\alpha$ 에서도 거의 유효성이 인정되는 감소를 보였다. 이상으로 보아 經口投與와 直腸投與가 전반적인 염증 감소효과를 보이고 있으나, 紅藤湯의 특성상 연동운동을 촉진하여 排便을 용이하게 하는 敗醬草, 蒲公英<sup>29)</sup>이 다량으로 사용되며 특히 敗醬草의 臭氣가 부패된 된장냄새와 같아<sup>31)</sup> 복용에 어려움이 있음을 고려해 볼 때 紅藤湯은 임상에서 經口投與 보다는 保留灌腸療法에 사용하는 것이 적합한 처방이라고 사료된다. 약침투여의 경우 일정정도의 염증 감소효과를 보이고 있으나 투여량을 다양화한 추가 연구를 통해 효율성에 대한 보다 정확한 연구가 필요하다고 사료된다.

장<sup>30)</sup>의 연구 중 紅藤湯 전처치군에 대한 실험결과와 비교해 보면 경구투여와 직장투여에서 WBC, IL-6, TNF- $\alpha$ 의 전반적인 감소가 있음이 동일하나 유효율을 고려해 볼 때 특별히 투여 농도나 투여 방법과의 연관성이나 규칙성은 찾아볼 수 없었다.

이상의 실험 결과, LPS를 생쥐의 腔內 注入하여 炎症이 유발되었으며, 紅藤湯의 經口投與 및 直腸投與, 藥鍼投與는 염증성 반응을 억제할 수 있는 것으로 보이며 骨盤炎症性疾患에 응용할 수 있을 것으로 사료된다.

## V. 結 論

紅藤湯의 抗炎症 효과를 연구하기 위하여 LPS를 생쥐의 腔內에 注入하여 염증을 유발시켰으며, 저농도와 고농도의 經口投與군과 直腸投與군 및 藥針投與군으로 나누어 紅藤湯을 투여한 후 WBC의 數 및 IL-6, TNF- $\alpha$ 의 농도를 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. LPS를 농도별로 생쥐의 腔內에 注入한 결과 100 $\mu$ g/kg 이상의 농도에서 농도의존적으로 WBC의 數가 증가하였으며 주입 후 3, 4일 경에 최대로 증가하였다가 이후 감소하는 경향을 보였다.
2. WBC 측정 결과 紅藤湯 經口投與 군에서 대조군과 비교하여 유의한 감소를 보였고, 直腸投與군과 藥鍼投與군에서는 대조군에 비해 WBC의 감소가 있었으나 통계적인 유의성은 없었다.
3. IL-6 측정 결과 紅藤湯 經口投與군과 直腸投與군에서 대조군과 비교하여 농도의존적으로 유의성 있는 감소를 보였으며, 藥鍼投與 군에서도 대조군과 비교하여 유의한 감소를 나타내었다.
4. TNF- $\alpha$  측정 결과 紅藤湯의 經口投與군과 直腸投與군에서 유의성 있는 감소를 보였으며 藥鍼投與 군에서는 거의 유의성이 인정되는 감소를 나타내었다.

이상의 실험 결과, LPS를 생쥐의 腔內에 注入하여 炎症이 유발됨을 확인하였으며, 紅藤湯의 經口投與, 直腸投與, 藥鍼投與의 抗炎症 효과를 확인하였다.

□ 투 고 일 : 2004년 08월 02일

□ 심 사 일 : 2004년 08월 02일

□ 심사완료일 : 2004년 08월 07일

## 參 考 文 獻

1. 대한산부인과학회 교과서편찬위원회. 부인과학. 서울 : 칼빈서적, 1997, 165-175, 264-281, 284
2. 한의부인과학편찬위원회. 韓醫婦人科學(上). 서울 : 정담출판사, 2001, 266-280
3. 허혁 등. 포항지역의 골반염환자에 대한 보고. 대한산부인과학회지. 2003 ; 46(6) : 1116-1120

4. 司徒儀, 楊家林. 婦科專病 中醫臨床論治. 北京 : 人民衛生出版社, 2001, 224-264
5. Igra V. Pelvic inflammatory disease in adolescents. *AIDS patient care and STD*. 1998 ; 12(2) : 109-124
6. Lawrence M. Tierney, Jr. 등. *Current Medical Diagnosis & Treatment*. 서울 : 한우리 출판사, 1999 , 798-800
7. 夏桂成. 中醫臨床婦科學. 北京 : 人民衛生出版社, 1994, 285-293
8. 牛建昭. 現代中西醫婦科學. 北京 : 中國科學技術出版社, 1996, 230-260
9. 肖淑春. 東醫臨床婦人科學. 서울 : 법민문화사, 1999, 107, 125, 154, 582-588, 609
10. 대한약침학회. 약침요법총론. 서울 : 대한약침학회, 1999 ; 248-251
11. 李泰均. 慢性骨盤痛에 關한 文獻的 考察. *대한한방부인과학회지*. 1997 ; 10(1) : 111-119
12. 孫冠蘭. 中藥保留灌腸臨床應用近況. *中醫雜誌*. 1991 ; 32(9) : 50-52
13. 조성희, 진천식. 骨盤炎 治療를 위해 사용된 保留灌腸療法에 關한 文獻的 考察. *대한한방부인과학회지*. 2002 ; 15(2) : 79-93
14. 全國韓醫科大學 針灸經穴學室. 鍼灸學(上). 서울 : 集文堂, 1994, 809, 1457
15. 엄은석, 임은미. 續發性月經痛을 韓藥內服 및 藥物保留灌腸法으로 治療한 治驗 2 例. *대한한방부인과학회지*. 1999 ; 12(1) : 1-11
16. 엄은석, 임은미. 卵巢囊腫을 韓藥內服 및 藥物保留灌腸法으로 治療한 治驗 1 例. *대한한방부인과학회지*. 2000 ; 13(1) : 589-596
17. 조성희, 진천식. 慢性骨盤炎을 韓方治療한 治驗一例(韓藥內服藥과 保留灌腸治療 중심으로). *대한한방부인과학회지*. 2002 ; 15(3) : 181-189
18. 장성환, 김윤상, 임은미. 紅藤湯의 經口와 直腸投與의 抗炎症效果比較研究 한방부인과학회지. 2003 ; 16(2) : 56-67
19. 송미선 등. 康寧湯의 經口와 直腸投與의 抗炎症 效果 比較研究. 한방부인과학회지. 2003 ; 16(3) : 147-161
20. 조병욱 등. 대하환자의 약침치료에 대한 임상적 고찰. *대한한방부인과학회지*. 1996 ; 9(1) : 155-160
21. 이은미. 은화사간탕 약침의 효능에 관한 연구. *대한한방부인과학회지*. 2001 ; 14(1) : 157-171
22. 최유덕. 새임상 부인과학. 서울 : 고려의학, 2001, 381-395
23. T.R. Harrison, et al. *Harrison's principles of internal medicine*. United states of America : McGraw-Hill, 1994, 543-548
24. 김재욱 등. 산부인과 영역에서 감염증에 대한 치료로서 Pazeron의 유효성과 안전성을 평가하기 위한 제 4상 임상시험. *대한산부인과학회지*. 1999 ; 42(9) : 2071-2077
25. 조경훈, 강순범, 장윤석. 부인과감염증에서 유나신과 세프라딘/겐타마이신의 치료효과에 대한 비교연구. *대한산부인과학회지*. 1989 ; 32(1) : 21-28
26. Aral SG, Mosher WD, Cates W. Self-reported pelvic inflammatory disease in the united states, 1988. *JAMA*. 1991 ; 266 : 2570-2573
27. 周雪琴. 紅藤湯治療盆腔炎40例. *四川中醫*. 1996 ; 17(10) : 463
28. 王秀琴. 紅藤湯灌腸治療慢性盆腔炎121例. *陝西中醫*. 1993 ; 14(6) : 244
29. 顏正華 등. 中藥學. 北京 : 人民衛生出版社. 1989, 197-199
30. 進國韓의과대학 本草학교실. 本草學. 서울 : 永林社. 1992 , 173, 202, 223, 414, 417, 418
31. 정보섭, 신민교. 鄉藥大事典. 서울 : 영림사, 1998, 934-935
32. 裘沛然. 中國中醫獨特療法大全. 上海 : 文匯出版社, 1991, 515-518
33. Morrison DC, Ulevitch RJ. The effects of bacterial endotoxins on host mediation systems. A review. *Am J Pathol*. 1978 ; 93 : 526
34. Parrillo JE. Pathogenetic mechanisms of septic shock. *New Engl J Med*. 1993 ; 328 : 1471-1477

35. 이중달. 병리학. 서울 : 고려의학, 1991. 2  
9-32
36. 대한병리학회. 병리학. 서울 : 고문사, 67,  
168, 175
37. Charles A. Janeway, Jr.. Immuno Biolog  
y Third edition. london : Current Biolo  
gy Ltd., 1997, 9:14, 9:21.