

補肺元湯이 알리지반응에 미치는 영향

전용근 · 임재윤 · 송정모¹ · 은재순*

우석대학교 약학대학, 1: 우석대학교 한의과대학

Effect of *Bopaewon-tang* on Allergic Reaction

Yong Keun Jeon, Jae Yoon Leem, Jung Mo Song¹, Jae Soon Eun*

College of Pharmacy, Woosuk University, 1: College of Oriental Medicine, Woosuk University

The purpose of this research was to investigate the effects of *Bopaewon-tang* (BT) on allergic reaction. In the present study, we examined the effect of BT on type I and type IV allergic reaction. BT (500 mg/kg) did not affect the systemic anaphylaxis induced by compound 48/80 and the passive cutaneous anaphylaxis induced by anti-dinitrophenyl (DNP)-IgE and DNP-human serum albumin in vivo. Also, BT did not affect the release of histamine from peritoneal mast cells in rats. In addition, BT did not affect the permeability of evans blue into peritoneal cavity, but inhibited the writhing syndrome induced by acetic acid. BT inhibited the delayed type hypersensitivity induced by SRBC and the contact dermatitis induced by dinitrofluorobenzene. These results indicate that BT may be useful for the prevention and treatment of type IV allergy related disease.

Key words : *Bopaewon-tang*(補肺元湯), systemic anaphylaxis, histamine, delayed type hypersensitivity

서 론

補肺元湯은 東武 이제마의 辛丑本 <東醫壽世保元>¹⁾에 태음인의 新定處方으로 처음 제시된 것으로 처방의 내용상 <千金要方>²⁾의 生脈散의 變方이라 할 수 있다. 보폐원탕의 구성 약물에 대하여 東武 藥性歌³⁾에 준하여 파악해보면 맥문동은 폐의 기운을 補하고 和하는 약으로서 폐의 근본지기(本常之氣)를 유지시키는 대표적 약물이며, 길경은 폐를 굳세게 하고 폐기를 外揚시키는 작용으로 태음인의 呼散之氣를 선양하는 역할을 하는 약물이고, 오미자는 폐기를 재건시키고 올곧게 하는 작용을 하는 약물이다. 이러한 세 개의 약물로 구성된 보폐원탕의 주치에 대하여 <東醫壽世保元>에는 소아가 설사를 심여 차려 하면 반드시 櫻驚風을 발하게 되는데, 이를 예방하는 약이라 하였다. 이를 볼 때 보폐원탕은 태음인이 진액의 손상으로 인한 肺燥證에 폐의 본상 지기를 회복케 하는 처방임을 알 수 있다. 즉, 보폐원탕은 태음인의 약점인 肝大肺小로 인한 呼散之氣 부족으로 인한 병증을 해소하고 肺燥로 인한 병증을 조절하는데 있어서 기본이 되는 처방이라 할 수 있는데, 이는 태음인의 면역조절기능을 담당하는

기본처방임을 암시하는 것이라 할 수 있다.

Allergy는 Gell과 Coombs⁴⁾에 의해 4 가지형으로 분류되는데, 제 I, II 및 III 형은 항원과 체액성 항체의 상호작용에 기인된 즉시형반응이며, 제 VI 형은 임과구 표면의 항체 같은 물질과 항원의 반응으로 지연형반응이다. 제 I 형 allergy는 IgE 항체와 비만세포에 의해 일어나며, 가장 흔하게 일어나는 allergy로 비염, 기관지천식, 아토피성 피부염 및 화분증 등이 여기에 속한다. 제 I 형 allergy는 3단계로 구분할 수 있는데 제1단계는 IgE 항체의 생성과 비만세포 감각의 단계이다. 인체에 들어온 외인성 항원이나 생체에서 유래한 내인성 항원은 macrophage에 의해서 탐식되고 처리되어 T 세포와 B 세포를 자극한다. 이때 B 세포는 helper T 세포의 보조를 받아 형질세포로 분화되어 IgE 항체를 생성 분비하여 생성된 IgE 항체를 비만세포나 호염기구의 세포막 표면에 있는 IgE 수용체에 높은 친화력으로 결합되어 감각된다. 제2단계는 항원항체반응과 탈과립의 단계이다. 즉 동일한 항원이 생체에 들어오면 비만세포나 호염기구에 결합되어 있는 IgE 항체 사이에 가교를 형성하여 세포막에 존재하는 효소계가 활성화 되고 짧은 시간 내에 탈과립되어 화학적 매개물질의 유리가 일어난다. 유리되는 매개물질은 histamine, prostaglandine 등이며, cytokines으로는 IL-1, IL-4, IL-5 등이다. 제3단계는 비만세포에서 유리된 매개물질에 의한 모세혈관투과성 항진이다. 제

* 교신저자 : 은재순, 전북 완주군 삼례읍 후정리 490, 우석대학교 약학대학

· E-mail : jseun@wooksuk.ac.kr, · Tel : 063-290-1569

· 접수 : 2005/09/07 · 수정 : 2005/12/05 · 채택 : 2005/12/14

4형 allergy는 반드시 특정 항원에 대한 항체가 준비되어 있어 항체에 의한 조직 상해가 일어나는 제I - III형 allergy와는 다르게 T 림파구가 주된 역할을 하는 상해반응이다. Th1 림파구에 의해 활성화된 macrophage가 중심이 되는 지연형과민반응과 Tc 림파구에 의한 동종이식 장기의 거부반응이 여기에 속한다^{5,6)}.

본 실험에서는 보폐원탕이 allergy 반응에 미치는 영향을 측정하고자 제 I 형 및 IV 형 allergy 반응에 대한 실험을 실시한 결과, 약간의 지견을 얻었기에 이에 보고하고자 한다.

재료 및 방법

1. 실험동물

본 실험에 사용한 생쥐는 ICR계 수컷 20 ± 2 g을, 흰쥐는 SD계 수컷 180 ± 10 g을 대한실험동물(주)에서 구입하여, 온도 20 ± 3 °C, 습도 50 ± 5%, dark/light 12시간의 조건하에서 1 주 이상 실험실에 적응시킨 후 사용하였으며, 고품사료와 물을 자유롭게 섭취하도록 하였다.

2. 시약

실험에 사용한 시약은 compound 48/80, anti-dinitrophenyl (DNP)-IgE antibody, dinitrophenyl-human serum albumin (DNP-HSA), metrizamide, dinitrofluorobenzene (DNFB) 등을 Sigma Co.에서 구입하여 사용하였으며, 기타 시약은 1급 시약을 사용하였다.

3. 검액의 조제

보폐원탕의 구성약재들은 우석대학교 부속 한방병원에서 구입하여 정선하여 사용하였고 그 내용과 분량은 Table 1과 같으며, 처방 3첩 분량을 증류수 1,000 ml로 2회 가열 추출한 후, 여과하여 여액을 rotary evaporator로 농축한 다음, freeze dryer로 동결건조하여 보폐원탕 분말 39.6g (수득률; 49.8%, 이하 BT라 함)을 얻어, 동물실험 시에는 생리식염수에 용해시켜 사용하였으며, 세포실험시에는 membrane filter (0.45 µM)로 여과멸균하여 사용하였다.

Table 1. Prescription of *Bopaewon-tang*

韓藥名	生藥名	重量 (g)
麥門冬	<i>Liriodopsis Tuber</i>	12.0
桔 梗	<i>Platycodi Radix</i>	8.0
五味子	<i>Schizandrae Fructus</i>	4.0
Total		24.0

4. Compound 48/80에 의한 anaphylactic shock

생쥐 1군을 10 마리로 하여 대조군에는 생리식염수만을 실험군에는 BT 500 mg/kg을 경구 또는 복강으로 1회 투여하고, 1 시간 후에 Compound 48/80 8 mg/kg을 복강투여한 다음 1 시간 동안 anaphylactic shock에 의해 치사되는 생쥐의 수를 관찰하였다⁷⁾.

또한 반복투여에 의한 BT의 영향을 알아보기 위해, 500

mg/kg을 1일 1회씩 5 일간 경구투여한 후 동일한 실험을 실시하여 치사되는 생쥐의 수를 관찰하였다.

5. Anti-DNP-IgE와 DNP-HSA에 의한 PCA 반응

흰쥐 5마리를 1군으로 하여 털을 제거한 후, 등에 anti-DNP-IgE 0.5 µg (50 µl)을 피하주사 하였다. 48 시간 후에 대조군에는 생리식염수를, 실험군에는 BT 500 mg/kg을 경구투여한 다음 1 시간 후에 dinitrophenyl-human serum albumin (DNP-HSA) 1 mg과 4% evans blue 용액 1 : 1 혼합액 100 µl를 꼬리정맥에 주사하였다. 30분 후에 청색반점이 나타난 흰쥐의 등피부를 박리하여 1N-KOH 1 ml로 24 시간 동안 색소를 추출하였다. 추출액을 5N-H₃PO₄ 5 ml로 중화하고 acetone 3 ml를 가하여 2,500 rpm에서 10 분간 원심분리하였다. 상층액을 분리하여 620 nm에서 흡광도를 측정하였다⁸⁾.

6. 복강 mast cell의 분리

Kanemoto 등의 방법⁹⁾에 준하여 흰쥐 복강 mast cell을 분리하였다. 흰쥐를 ether로 마취시킨 후 실온에서 PMC buffer (PBS 100 ml, FBS 10 ml, Heparin 10,000 unit 1 ml)에 3차 증류수를 가해 1,000 ml로 조제, pH 7.0) 30 ml를 복강에 주입하고 90 초간 복벽을 가볍게 마사지한 다음 복강액을 채취하여 원심분리 (1,500 rpm, 5 분)하였다. 15 ml tube에 22.5% metrizamide (4 °C) 2 ml를 넣고 Yurt 등의 방법¹⁰⁾에 따라 그 위에 DME 배지로 희석한 세포부유액을 서서히 가하고 1,300 rpm에서 10분간 원심분리 하였다. 세포를 DME 배지로 세척한 후 2 × 10⁵ cells/ml로 조제하여 실험에 사용하였다.

7. 세포배양액 분리

세포배양액은 분리한 mast cell을 2 × 10⁵ cells/ml로 조제하여 eppendorf tube에 1 ml씩 넣고, CO₂-incubator에서 10분간 배양한 후 PMC buffer로 희석한 BT를 최종농도가 0.25, 0.5 및 2.5 mg/ml로 되도록 각각 가하고 37 °C에서 10분간 배양한 다음 compound 48/80 0.5 µg/ml를 가하여 10 분간 배양하였다. 배양액을 1,500 rpm으로 10 분간 (4 °C) 원심분리하여 상층액을 분리하였다. 단일 약재를 실험할 때는 최종농도를 2.5 mg/ml로 고정하여 동일한 실험을 실시하였다.

8. Histamine 정량

분리한 세포배양액 중의 histamine의 정량은 Harvima 등의 방법¹¹⁾을 수정하여 측정하였다. 원심후 상층액 10 µl와 S-adenosyl (methyl-¹⁴C) methionine (2 µci/ml) 1.5 µl, 300 mM Tris-glycine buffer (pH 8.3) 40 µl, histamine N-methyl transferase 5 µl를 첨가하여 37 °C 항온조에서 90분간 반응시킨 후 3N-perchloric acid 20 µl를 가하여 반응을 중지시켰다. Perchloric acid를 중화시키기 위해 10N-NaOH 20 µl를 가하고, toluene-isoamyl alcohol 1 ml로 추출한 후 상층액 700 µl를 얻어 cocktail 용액으로 scintillation 시킨 다음, β-counter를 사용하여 CPM (counter per minute) 값을 측정 후 histamine 표준곡선

에 의해 양을 측정하였다. Histamine양은 histamine 총량에 대한 백분율로 표시하였으며, 총 histamine양은 mast cell수가 2×10^5 cells/ml인 250 μ l를 100 °C로 10분간 가열한 다음 원심하여 얻은 상층액으로부터 측정된 histamine양을 100으로 정하였다.

$$\text{Histamine 유리율 (\%)} = (\text{실험군 histamine 유리량} \div \text{총 histamine 유리량}) \times 100$$

9. 모세혈관투과성 실험

생쥐 8 마리를 1군으로 하여 Shimomura의 방법¹²⁾에 따라 대조군에는 생리식염수만을, 실험군에는 BT를 500 mg/kg을, 약물대조군에는 aspirin 100 mg/kg을 경구투여 하였으며, 1 시간 후에 1% evans blue 5 ml/kg을 꼬리 정맥에 주사하였다. 주사 후 즉시 0.6% acetic acid 10 ml/kg을 복강 내에 주사하고, 1 시간 후에 복강액을 생리식염수 5 ml로 세척하여 회수한 다음 3,000 rpm에서 5 분간 원심분리하였다. 상등액을 620 nm에서 흡광도를 측정하여, 미리 작성한 검량선에 의해 유출된 evans blue 양을 비색정량하였다.

10. Acetic acid에 의한 진통작용 실험

생쥐 8 마리를 1군으로 하여 acetic acid writhing법¹³⁾에 따라 대조군에는 생리식염수만을, 실험군에는 BT 500 mg/kg을, 약물대조군에는 aminopyrine 100 mg/kg을 경구투여하였으며, 1 시간 후에 0.7% acetic acid 10 ml/kg을 복강 내에 주사하고, 10 분 후부터 10 분간의 writhing syndrome의 횡수를 측정하였다.

11. SRBC에 의한 delayed type hypersensitivity (DTH) 반응

생쥐 8 마리를 1군으로 하여 Yoshikai 등의 방법¹⁴⁾에 따라 BT 500 mg/kg을 경구투여하고 2×10^7 개의 SRBC 0.03 ml를 마우스 좌측 후 족척 피하에 주사해서 감작시킨 다음 4 일 후에 BT 500 mg/kg을 경구투여하고 1 시간 후 우측 후 족척 피하에 2×10^8 개의 SRBC 0.025 ml를 주사하여 반응을 야기하였다. 야기 직후 (T_0) 및 야기 24시간 후 (T_{24})에 족척의 두께를 micrometer로 측정하였다.

$$\% \text{ increase} = (T_{24} - T_0 / T_0) \times 100$$

12. DNFB에 의한 접촉성 피부과민반응

생쥐 8마리를 1군으로 하여 Ha의 방법¹⁵⁾에 따라 마우스의 복부를 제모한 다음 실험 1 일 및 2 일에 0.5% DNFB 용액 (acetone:olive oil = 4:1) 10 μ l를 복부피부에 도포하여 감작한 다음, 5 일 후 BT 500 mg/kg을 경구투여하고 1 시간 후 0.2% DNFB 용액 10 μ l 씩 귀 내 외면에 각각 도포하였다. 귀 종창 증가의 정도는 micrometer를 사용하여 야기직전 (T_0), 24시간 후 (T_{24}) 및 48시간 후 (T_{48})에 귀의 두께를 측정하였으며 종창증가의 정도는 다음 공식에 따라 %로 나타내었다.

$$\% \text{ increase} = (T_{24} \text{ or } T_{48} - T_0 / T_0) \times 100$$

13. 통계처리

모든 실험 결과들은 mean \pm SE로 나타내었고 통계처리는 Student's *t*-test를 실시하여 $p < 0.05$ 를 기준으로 유의성 여부를 판정하였다.

실험성적

1. BT가 compound 48/80에 의한 anaphylaxis에 미치는 효과
대조군은 compound 48/80을 투여시 100%가 사망하였으며, BT 500 mg/kg을 1회 경구투여 하였을 때 사망률이 100% 이었으며, 복강 투여하였을 때도 90%로 대조군과 별 차이가 없었다 (Table 2).

Table 2. Effect of a single administration of BT on the anaphylaxis induced by compound 48/80 in mice

Samples	Dose (mg/kg)	Route	Mortality (%)
Control	Saline	<i>p.o.</i>	100
BT	500	<i>p.o.</i>	100
BT	500	<i>i.p.</i>	90

BT (500 mg/kg) was administered orally 1 h, before compound 48/80 (8 mg/kg, *i.p.*) injection. The data represents the mortality of 10 mice.

BT 연속 투여에 의한 작용을 관찰하기 위해, BT 500 mg/kg을 5일간 경구투여하고 compound 48/80을 주사하고 사망률을 측정한 결과 90%로, 복강투여 하였을 때는 사망률이 80%로 대조군에 비해 약간 감소되었다(Table 3).

Table 3. Effect of repeated-administration of BT on the anaphylaxis induced by compound 48/80 in mice

Samples	Dose (mg/kg)	Route	Mortality (%)
Control	Saline	<i>p.o.</i>	100
BT	500	<i>p.o.</i>	90
BT	500	<i>i.p.</i>	80

BT (500 mg/kg) was administered *p.o.* or *i.p.* once a day for 5 days and compound 48/80 (8 mg/kg) was injected *i.p.* The data represents the mortality of 10 mice.

2. Anti-DNP-IgE와 DNP-HSA에 의한 PCA 반응에 미치는 효과
대조군에서 유출된 evans blue의 양은 $12.8 \pm 0.5 \mu\text{g/ml}$ 이었으나, BT를 투여한 군은 $11.7 \pm 0.6 \mu\text{g/ml}$ 로 대조군과 별 차이가 없었다(Table 4).

Table 4. Effect of BT on passive cutaneous anaphylaxis induced by anti-DNP-IgE and DNP-HSA in rats

Samples	Dose (mg/kg, <i>p.o.</i>)	Leakage of evans blue ($\mu\text{g/ml}$)	Inhibition (%)
Control	Saline	12.8 ± 0.5	-
BT	500	1.7 ± 0.6	8.6

BT (500 mg/kg) was administered *p.o.* 48 h after anti-DNP-IgE injection (*s.c.*). After 1 h, the mixture of dinitrophenyl-human serum albumin (DNP-HSA) and 4% evans blue was injected *i.v.* The data represents the mean \pm SE from 5 rats. ; Significantly different from control group ($p < 0.05$).

3. Compound 48/80에 의한 복강 mast cell로부터 histamine 유

리에 미치는 효과

Mast cell에 compound 48/80 0.5 µg/ml를 가했을 때 방출되는 histamine양은 45.2 ± 2.7% 이었으나, BT 0.25, 0.5 및 2.5 mg/ml를 전처리 하였을 때는 45.2 ± 2.3%, 43.9 ± 3.5% 및 41.8 ± 2.7%로 대조군과 별 차이가 없었다(Table 5).

Table 5. Effect of BT on histamine release induced by compound 48/80 from rat peritoneal mast cells in vitro

Drug Concentration (mg/ml)	Histamine release (%)
Control	45.2 ± 2.7
BT 0.25	45.2 ± 2.3
BT 0.5	43.9 ± 3.5
BT 2.5	41.8 ± 2.7

Various concentration of BT (0.25, 0.5 and 2.5 mg/ml) were added into the rat peritoneal mast cells 10 min. before compound 48/80 (0.5 µg/ml) treated. The data represents the mean ± SE from 3 experiments.

4. 모세혈관투과성 억제효과

대조군에서 유출된 evans blue의 양은 12.1 ± 0.5 µg/ml이었으나, BT를 투여한 군은 11.9 ± 0.5 µg/ml로 대조군과 별 차이가 없었으나, 대조약물군인 aspirin 투여 군은 6.8 ± 0.4 µg/ml로 43.1% 억제되었다(Table 6).

Table 6. Effect of BT on the permeability of evans blue into peritoneal cavity induced by acetic acid in mice

Samples	Dose (mg/kg, p.o.)	Leakage of evans blue (µg/ml)	Inhibition (%)
Control	Saline	12.1 ± 0.5	-
BT	500	11.9 ± 0.5	1.7
Aspirin	100	6.8 ± 0.4	43.1

The data represents the mean ± SE from 8 mice. † Significantly different from control group (p<0.001).

5. 진통효과

Acetic acid에 의한 writhing syndrome 횡수는 대조군에서 27.3 ± 2.4회이었으나, BT를 투여한 군은 15.4 ± 1.8회, 대조약물군인 aminopyrine 투여 군은 7.9 ± 0.9회로, 각각 43.6% 및 71.1% 억제되었다(Table 7).

Table 7. Effect of BT on writhing syndrome induced by acetic acid in mice

Samples	Dose (mg/kg, p.o.)	No. of Writhing syndrome	Inhibition (%)
Control	Saline	27.3 ± 2.4	-
BT	500	15.4 ± 1.8	43.6
Aminopyrine	100	7.9 ± 0.9	71.1

The data represents the mean ± SE from 8 mice. † Significantly different from control group (p<0.001).

6. SRBC에 의한 즉척증창반응에 미치는 효과

SRBC 투여 24 시간 경과 후 hind paw의 두께는 대조군에서 1.58 ± 0.01 mm에서 1.70 ± 0.02 mm로 13.3% 증가되었으나, BT

를 투여한 군은 1.58 ± 0.01 mm로 5.3% 증가되어 대조군에 비해 유의성 있게 감소하였다(Table 8).

Table 8. SRBC-induced delayed type hypersensitivity in BT-administered mice

Samples	Footpad thickness(mm)		Increase(%)
	T ₀	T ₂₄	
Control	1.50 ± 0.01	1.70 ± 0.02	13.3
BT	1.50 ± 0.01	1.58 ± 0.01†	5.3

Mice were sensitized with 2 × 10⁷ SRBC on 0 day and challenged with 0.03 ml of 2 × 10⁸ SRBC on 4 day. BT (500 mg/kg) was administered p.o. at the indicated day of SRBC-sensitization. Footpad thickness was measured just before challenge (T₀) and at 24 hr (T₂₄) after challenge, and calculated as following formula: % Increase = [(T₂₄ - T₀)/T₀] × 100. The data(footpad thickness(mm)) represents the mean ± SE from 8 mice. † Significantly different from control group (p<0.001).

7. DNFB에 의한 접촉성 피부과민반응에 미치는 효과

DNFB 도포 직전의 대조군의 귀 두께는 0.27 ± 0.01 mm 이었으며, 도포 24 시간 및 48 시간 후의 귀 두께는 0.52 ± 0.01 mm 및 0.60 ± 0.02 mm로 각각 92.6% 및 122.2%로 증가하였으며, BT 500 mg/kg을 투여한 군은 0.43 ± 0.02 mm 및 0.50 ± 0.01 mm로 각각 59.3% 및 85.2%로 증가하여 대조군에 비해 유의성 있게 감소하였다(Table 9).

Table 9. Contact dermatitis induced by DNFB in BT-administered mice

Samples	Ear thickness(mm)			Increase (%)	
	T ₀	T ₂₄	T ₄₈	T ₂₄	T ₄₈
Control	0.27 ± 0.01#	0.52 ± 0.01	0.60 ± 0.02	92.6	122.2
BT	0.27 ± 0.01	0.43 ± 0.02†	0.50 ± 0.01†	59.3	85.2

Mice were sensitized with 0.5% DNFB on 0 day and 1 day challenged with 0.2% DNFB on 5 day. BT (500 mg/kg) was administered p.o. for 5 day. Ear thickness was measured just before challenge (T₀) and was measured at 24 hr (T₂₄) or 48 hr (T₄₈) after challenge, and calculated as following formula: % increase = [(T₂₄ or T₄₈ - T₀)/T₀] × 100. #: The data [Ear thickness(mm)] represents the mean ± SE from 8 mice. † Significantly different from control group (p<0.01).

고찰

생체에서 면역 반응을 일으키는 실체는 임파구이며 외부로부터 항원이 들어오면 임파구가 감작하여 두가지 형태의 면역반응을 일으킨다. 첫째는 항원의 공격을 숙주의 조직에는 손상을 일으키지 않고 제거하거나 국소염증반응만을 일으키는 정상적인 면역반응이다. 둘째는 면역반응이 지나치게 증가되거나 원하지 않는 방향으로 진행되어 인체에 병적인 상태를 유발하는 과격한 반응을 일으키는 알레르기 또는 과민반응이다. 따라서 면역반응은 생체방어와 알레르기라는 양면성을 지니게 되며, 그 비중에 따라 생체에 있어서 의미가 전혀 다르게 나타나게 된다. 알레르기는 몇 가지의 형태로 분류되며 그 원인이 주로 항체와 관련되어 있으면 즉시형이라 하고, 세포성 면역이 주로 관여하면 지연형이라 한다¹⁶⁾.

현재 각종의 알레르기질환을 가지고 있는 특이체질이 전 인류의 20%를 차지하고 있으며¹⁷⁾, 최근에 들어 allergy를 위시해서

다양한 원인에 의해 신체의 이상을 호소하는 환자들이 현저하게 증가하고 있기 때문에, 이의 원인을 정확히 규명하여 새로운 치료약을 개발한다는 것은 중요한 의미가 있다고 생각된다. Allergy 환자의 증가 이유는 구체적으로 밝혀지지 않고 있지만 심각한 대기오염, 집 먼지 속의 진드기 증가, 고칼로리, 고지방식의 영향 등 여러 가지 요인이 지적되고 있다¹⁸⁾.

Allergy는 제 I 형에서 IV 형까지의 네 가지로 분류되고 있는데 제 I 형 allergy는 IgE 항체와 비만세포나 호염기구에 의해 유발되며, 피부, 점막 등에서 국소성 또는 전신성으로 상해가 나타난다. 즉 비만세포나 호염기구 표면의 Fcε RI에 IgE가 결합하고 결합한 IgE 두 분자의 V 영역에 특이 항원이 결합하면 세포 내 과립에서 이미 형성된 화학적 매개물질과 세포막 인지질의 생화학 반응으로 arachidonic acid 대사산물이 합성되어 방출되는 물질이 표적조직 및 표적세포에 작용하여 피부, 점막 등에서 국소성 또는 전신성으로 다양한 임상 증상을 나타내는 것을 말한다.

I형 allergy 반응은 10-20분 사이에 일어나므로 즉시형 또는 anaphylaxis형 allergy라 부른다. II형 allergy는 IgM 항체와 IgG 항체에 의해 일어나는 반응이며, III형 allergy는 면역복합형으로 내인성 또는 외인성의 항원과 IgG 항체 및 IgM 항체에 의해 일어나는 allergy이다. IV형 allergy는 지연형이라고도 하며 항원에 감작된 T 세포에서 염증반응을 일으키는 림포카인이 방출되는 allergy 반응이다¹⁶⁾.

본 실험에서는 제 I 형 알레르기의 지표실험으로서 BT가 compound 48/80에 의한 anaphylaxis 반응, 수동 피부 anaphylaxis 반응 (PCA 반응), compound 48/80에 의한 histamine 유리에 대한 실험 및 모세혈관투과성실험을 실시하였다. 제IV형의 지표실험으로는 SRBC에 의한 마우스 족척 종창 반응 (DTH 반응)과 DNFB에 의한 접촉성 피부과민반응에 대해 실험하였다. Compound 48/80에 의한 anaphylaxis 반응은 mast cell로부터 histamine, bradykinin 및 serotonin과 같은 혈관작용성 물질이 유리되어 나타나는 반응으로 알려져 있다¹⁹⁾.

BT를 경구 또는 복강으로 500 mg/kg을 1회 투여하고 compound 48/80을 주사하였을 때 anaphylaxis에 의해 치사되는 치사율은 경구투여 하였을 때 100%, 복강투여 하였을 때는 90%로 대조군과 별 차이가 없었으며, 반복투여에 의한 영향을 관찰하기 위해 BT 500 mg/kg을 경구 및 복강으로 5일간 투여하였을 때도 치사율은 각각 90% 및 80%로 대조군과 별 차이가 없었다. 이러한 결과는 BT가 histamine 및 IgE에 의해 유도되는 즉시형 과민반응을 억제하지 못함을 시사하는 것이다.

PCA반응은 즉시형 과민반응에 세포친화성 항체가 관여하고 있는 것을 관찰하는 실험으로 1차 항원 (anti-DNP-IgE)을 마우스 피하에 주사한 후, 2차 항원 (DNP-HSA)을 evans blue와 함께 혼합하여 정맥주사 하면 mast cell의 고친화성 IgE 수용체 (FcεRI)를 경유하여 mast cell의 활성화가 일어난다. Mast cell이 활성화되면 세포질 내의 Ca²⁺ 농도가 상승하여 탈과립이 일어나 histamine 등의 mediator가 유리되어 모세혈관 투과성이 증가하여 evans blue에 의한 청색반점으로 나타난다⁸⁾. BT를 투여하였

을 때 유출되는 evans blue의 색소량은 대조군에서 12.8 ± 0.5 μg/ml 이었으나, BT를 투여한 군은 11.7 ± 0.6 μg/ml로 대조군과 별 차이가 없었다. 이 결과는 BT가 mast cell의 활성화를 억제하지 못함을 의미하는 것이다.

Compound 48/80에 의해 mast cell은 탈과립되어 histamine이 유리된다. BT 0.25, 0.5 및 2.5 mg/ml를 전처리하고 compound 48/80을 처리하였을 때 전농도에서 histamine의 유리가 억제되지 못하였다. 이 결과는 BT가 즉시형 과민반응, 즉 제 I 형 allergy 반응을 억제하지 못하는 당제임을 의미하는 것이다.

Histamine이 유리되면 모세혈관투과성이 항진된다. 이를 확인하기 위해 acetic acid에 의한 모세혈관투과성 실험을 실시한 결과, 모세혈관투과성 억제물이 BT 500 mg/kg을 투여하였을 때는 대조군과 별 차이가 없었으며, aspirin 100 mg/kg을 투여하였을 때는 43.1%로 나타났다. 이는 BT가 histamine에 의한 모세혈관투과성에 대해서도 영향을 주지 않는다는 것을 시사하는 것이다.

BT가 진통작용에 미치는 영향을 관찰하기 위해 acetic acid에 의한 writhing syndrome의 횡수를 측정하였다. Writhing syndrome의 억제율이 BT 500 mg/kg을 투여하였을 때 43.6%, aminopyrine 100 mg/kg 투여하였을 때 71.1%로 나타났다. 이는 BT가 소염작용은 없으나 진통작용은 가지고 있음을 의미하는 것이다.

제IV형 allergy반응은 지연형과민반응 (DTH)으로서 특히 DTH 반응은 감작된 T 임파구와 macrophage에 의해 매개되는 세포매개성반응이 특징이다. 이 반응은 흥반과 경결이 특징적으로 나타나고 주사 후 24~48 시간이 지나서 최대가 된다. SRBC를 투여하고 24 시간 후, 대조군의 족척종창 팽창율은 13.3% 이었으나, BT를 투여하였을 때 5.3%로 대조군에 비해 감소하였다. DNFB를 처리하였을 때 귀 두께의 팽창율은 24 시간 및 48 시간 후, 대조군은 92.6% 및 122.2% 이었으나, BT를 투여하였을 때는 59.3% 및 85.2%로 대조군에 비해 감소하였다. 이러한 결과는 BT가 제 IV 형 allergy 반응을 억제할 수 있음을 시사하는 것이다.

결 론

보폐원탕 (BT)이 알레르기 반응에 미치는 영향은 다음과 같다. Compound 48/80에 의한 anaphylaxis 반응과 Anti-DNP-IgE와 DNP-HSA에 의한 PCA 반응을 억제하지 못하였으며, mast cell로부터 compound 48/80에 의한 histamine 유리 및 acetic acid에 의한 모세혈관투과성을 억제하지 못하였다. 한편, acetic acid에 의한 writhing syndrome을 억제하였으며, SRBC에 의한 DTH 반응과 DNFB에 의한 접촉성 과민반응을 억제하였다. 이상의 실험결과 보폐원탕은 제 VI 형 allergy 반응을 억제할 수 있는 당제라고 사료된다.

감사의 글

이 논문은 2005년도 교육인적자원부 지방연구중심대학육성사업 헬스케어기술개발사업단의 지원에 의하여 연구되었음.

참고문헌

1. 이제마. 동의수세보원, 서울, 행림출판, p 124, 1986.
2. 김창민, 류순섭. 사상체질의학, 아카데미서적, p 841, 2002.
3. 송일병 외. 개정증보 사상의학. 서울, 집문당, p 341, 2004.
4. Coombs, R.R.A. and Gell, P.G.H. Classification of allergic reactions responsible for clinical hypersensitivity and disease. In: Clinical Aspects of Immunology, 3rd ed. Blackwell Scientific, Oxford, p 761, 1975.
5. 신태용. 알레르기과 한약, 신일상사, pp 44-57, 2001.
6. Mackness, G.B. Delayed hypersensitivity and the mechanism of cellular resistance to infection. In: Progress in Immunology, edited by B. Amos, Academic press, New York, p 413, 1971.
7. Cochrane, D.E. and Douglas, W.W. Calcium-induced excretion of secretory granules (exocytosis) in mast cells exposed to compound 48/80 or ionophores A-23187 and X-537A. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 71, p 408, 1974.
8. 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. Microbiology and Immunology, 22, p 89, 1978.
9. Kanemoto, T., Kasugai, T., Yamatodani, A., Ushio, H., Mochizuki, T.K., Kimura, M., Nishimura, M. and Kitamura, Y. Supernormal histamine release and normal cytotoxic activity of beige rat mast cells with giant granules. Int. Arch. Allergy Immunol., 100, p 99, 1993.
10. Yurt, R.W., Leid, R.W. and Austen, K.F. Native heparin from rat peritoneal mast cells. J. Biol. Chem. 252, p 518, 1977.
11. Harvima, R.J., Harvima, I.J. and Traki, J.E. Optimization of histamine radioenzymatic assay with purified histamine N-methyltransferase. Clinica Chinica Acta., 171, p 247, 1988.
12. Shimomura, K. J. Pharm. Jpn., 24, p 837, 1972.
13. Whittle, B.A. Brit. J. Pharmacol., 22, p 246, 1964.
14. Yoshikai, Y., Maike, S., Matsumoto, T., Nomoto, K. and Takeya, K. Effects of stimulation and blockade of mononuclear phagocyte system on the delayed-type footpad reaction to SRBC in mice. Immunology, 38, p 577, 1979.
15. Ha, D.Y., Kim, H.I. and Im, S.Y. Effect of dexamethasone on different types of murine T suppressor cells. Kor. J. Immunology, 9, p 1, 1987.
16. Abbas, A. K., Lichtman, A. H. and Pober, J. S. Cellular and molecular immunology. Saunders Company(2ed). U.S.A., pp 279-282, 1994.
17. Middleton, E. Jr. and Reed, C.E. Allergy, principles and practice, 3rd ed., Mosby Co., St. louis, Missouri, 1988.
18. Gaddie, J., Skinner, C. and Palmer, K.N.V. Hypo-sensitization with house dust mite in bronchial asthma. Brit. Med. J., 2, p 581, 1976.
19. 中島 泉. 新免疫學入門, 南山堂, pp 202-209, 1993.