

# 黃芩藥鍼이 Type 1 Hypersensitivity에 미치는 영향

김 유 승<sup>1</sup> · 송 춘 호<sup>1</sup>

<sup>1</sup>동의대학교 한의과대학 경혈학교실

## Effect of scutellariae radix pharmacopuncture on the type 1 hypersensitivity

Yu-Seung Kim<sup>1</sup>, Choon-Ho Song<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Meridian & Acupoint, College of Oriental Medicine, Dongeui University

### Abstract

**Objectives :** We studied the effects of *Scutellariae Radix* pharmacopuncture solution (SRHAS) on the type 1 hypersensitivity.

**Methods :** *In vivo*, we measured compound 48/80-induced active systemic anaphylactic shock using ICR mice and anti-DNP IgE-induced passive cutaneous anaphylaxis (PCA) using Sprague Dawley rats. *In vitro*, we showed effects on cytotoxicity and  $\beta$ -hexosaminidase release from RBL-2H3 cells.

**Results :** *In vivo*, SRHAS pretreatments (100% or 50%) at BL13 inhibited active systemic anaphylactic shock induced by compound 48/80. PCA was only inhibited by pretreatments of SRHAS at optional points. *In vitro*, 0.1~2% SRHAS treatments did not affect cell viability while  $\beta$ -hexosaminidase release was significantly inhibited.

**Conclusions :** These results suggest that SRHAS may be beneficial in the inhibition of type I hypersensitive inflammatory response.

**Key words :** *Scutellariae Radix*, pharmacopuncture, type I hypersensitivity

## I. 緒 論

藥鍼療法은 한의학적 이론을 토대로 十二經脈, 奇經八脈의 경혈과 경의기혈, 아시혈 등의 특정수혈에 자침하여 경맥의 기능을 조절함으로써 精神氣血, 五臟六腑의 질병을 치료하는 침구-경혈학의 이론과, 한약의 기미 성상 작용을 살피 임상 치료 효율을 극대화시키고 약물을 인체의 기관이나 병소에 접근, 작용시키는

· 교신저자: 송춘호, 부산광역시 부산진구 양정2동 산 45-1 동의대학교 한의과대학 경혈학교실, Tel. 051-850-8643,

Fax. 051-853-4036, E-mail : chsong@deu.ac.kr

· 투고: 2006/08/22 · 심사: 2006/09/07 · 채택: 2006/09/11

기전을 연구하는 본초학의 이론을 결합시킨 방법으로, 임상 치료 효과가 뛰어나 최근 들어 그 임상 응용범위가 확대되고 있다<sup>1,2)</sup>

20세기 후반에 들어 전 세계적으로 알레르기 질환의 발병률이 증가되고 있으며, 우리나라도 아토피 피부염, 알레르기 비염, 기관지 천식 환자의 수가 급격히 증가하고 있다. 알레르기 질환은 환경적, 유전적 문제가 복잡하게 연관되어 발병되며, 아직까지 명확한 치료법이 제시되지 못하고 있는 실정이다.

黃芩은 脣形科(꿀풀과 Labiatae)에 속한 多年生草本인 黃芩(속썩은풀)의 根으로 淸熱燥濕, 瀉火解毒, 止血, 安胎 등의 效能이 있어 濕熱黃疸, 瀉痢, 熱淋, 氣分實熱, 肺熱咳嗽, 癰腫瘡毒, 血熱로 인한 出血, 胎熱不安 등을 治療하며<sup>3)</sup>, 임상에서 遲延性肝炎, 慢性肝炎, 유행성 뇌척수막염, 성홍열, 高血壓, 麥粒腫, 알레르기 등에 사용된다<sup>4)</sup>.

肺俞(BL13)는 肺의 背俞穴로 調肺氣, 補勞損, 淸虛熱, 和營血의 效능이 있어 각종 肺疾患, 肺炎, 肺結核, 咳嗽, 喘息, 氣管支炎, 骨蒸勞熱, 盜汗, 呼吸困難 등 알레르기 질환과 관련된 폐 질환에 활용된다<sup>5)</sup>.

黃芩을 이용한 실험적 연구로 전 등<sup>6)</sup>의 알리지성 접촉피부염에 미치는 영향, 김 등<sup>7)</sup>의 흰쥐 간세포 내의 항산화 효능, 허 등<sup>8)</sup>의 신장조직에서 세포손상에 미치는 영향, 안 등<sup>9)</sup>의 급성신부전에 미치는 영향, 조 등<sup>10)</sup>의 황금의 항산화 효과에 대한 연구 등이 있었으나, 알레르기 질환에 黃芩藥鍼을 이용한 연구는 아직 보고된 바가 없다.

이에 알레르기 질환에 대한 黃芩藥鍼의 활용 가능성을 살펴보고 응용범위를 넓히고자 黃芩藥鍼液 (*Scutellariae Radix* pharmacopuncture solution, 이하 SRHAS로 약칭)의 肺俞(BL13) 처치가 알레르기 반응에 미치는 영향과 黃芩藥鍼液이 RBL-2H3 cell에 미치는 영향을 살펴보기 위하여, compound 48/80을 이용한 active systemic anaphylactic shock 반응, anti-DNP IgE로 유도한 passive cutaneous anaphylaxis

반응, RBL-2H3을 이용한 실험적 알레르기 반응을 관찰하고 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

## II. 材料 및 方法

### 1. 材料

#### 1) 藥材

본 실험에 사용된 黃芩은 (주)광명제약에서 구입하여 사용하였으며, 藥鍼液은 대한약침학회의 약침제조방법에 따라 조제하였다. 간략히 설명하면 다음과 같다. 黃芩 300g을 증류수로 水洗하여 round flask에서 2,000ml의 증류수를 가하여 3시간 동안 煎湯하였다. 추출된 용액을 원심분리를 통하여 상층액을 분리하고, 0.2mm 여과지에서 여과하여 rotary evaporator로 200ml가 되도록 減壓濃縮하였다. 실온에서 냉각시킨 뒤 75% ethanol 100ml를 가하고 실온에서 교반 후 24시간 방치하여 생성된 침전물을 여별하고 濾液을 다시 85% ethanol 100ml를 가하여 24 시간 방치한 후 생성된 沈澱物을 濾別하고 95% ethanol 100ml를 가하여 같은 조작을 2회 반복한 다음 濾液 中 ethanol을 減壓濃縮시켜 殘渣 全量이 100ml가 되도록 하였다. 추출이 끝난 藥鍼液은 무기염류를 침강시키기 위해서 하루 동안 냉장 보관한 다음 생리식염수 1,000ml를 가하고 3% NaOH를 사용하여 pH 6~7로 조절하여 24시간 냉장 보관하였다. 微量의 부유물을 濾過한 후 高壓滅菌하여

## 黃芩藥鍼이 Type 1 Hypersensitivity에 미치는 영향

試料로 사용하였다.

韓藥名	生藥名	重量(g)
黃芩	<i>Scutellariae Radix</i>	300 g

### 2) 動物

실험에 사용한 동물은 ICR 계 mouse (male, 30 ± 2g)와 Sprague Dawley 계 rat (male, 200 ± 20g)를 (주) 샘타코 바이오 코리아에서 구입해서 사용하였고, 온도 22 ± 2℃, 습도 55 ± 5%, dark/light (12시간) 조건 하에서 고품질 pellet 사료와 물은 자유 섭취하도록 사육하였으며, 구입 하고 2주간 실험실 환경에 적응 후 실험에 사용하였다.

### 3) 細胞

RBL-2H3 세포는 한국세포주은행 (Korea Cell Line Bank, KCLB)에서 분양받아 배양하였다.

### 4) 藥鍼器

藥鍼器는 30gauge 3/10cc insulin syringe (Becton Dickinson, USA)를 사용하였다.

## 2. 方法

### 1) 檢液의 處置

檢液은 실험 동물의 등 부위를 제모한 후 高<sup>11)</sup>의 견해에 따라 人體의 第3 胸椎棘突起下 兩傍 1寸 5分處에 相應하는 양쪽 肺俞(BL13) 부위와 임의의 부위인 兪府(OP)에 각각 처치

하였다.

### 2) 實驗群의 構成

實驗群은 對照群 (CON), 黃芩藥鍼 100% 處置群 (SRHAS100), 黃芩藥鍼 50% 處置群 (SRHAS50)과 任意群 (OP100)으로 구분하였다. CON은 양쪽 肺俞(BL13)에 생리식염수를 25ul씩 1일 1회 3일간 處置한 群이고, SRHAS 100과 SRHAS50은 양쪽 肺俞(BL13)에 각각 해당 농도의 黃芩藥鍼을 25ul씩 1일 1회 3일간 處置한 群이며, OP100은 兪府에 동량의 黃芩藥鍼을 1일 1회 3일간 處置한 群이다.

### 3) Active systemic anaphylactic shock

ICR 계 mouse 10마리를 1군으로 하여 실험군 별로 3일간 처치한 후 3일째 되는 날 처치 1시간 후에 compound 48/80 (8μ g/g, Sigma, USA)을 복강 내에 투여하고 mouse의 치사율을 60분 동안 관찰하였다.

### 4) Passive cutaneous anaphylaxis

IgE 의존형 피부과민반응에 대한 영향을 알아보기 위하여 Katayama 등<sup>12)</sup>의 방법에 준하여 Sprague Dawley 계 rat 3마리를 1군으로 하고 실험군 별로 3일간 처치하였다. 처치 3일째 되는 날 rat의 등 부위를 제모하고 0.5mg의 anti-DNP IgE (Sigma, USA)를 네 군데 피하 주사한 후 감각된 부위를 표시하였다. 48시간 경과 후 DNP-HSA (Sigma, USA) 1mg과 4% evans blue (Sigma, USA)를 1:1로 혼합하여 mouse의 미정맥에 주사하였다. 30분 후 mouse

를 도살하고 청색으로 착색된 등 부위의 피부를 채취하여 1N KOH (Sigma, USA) 용액 100  $\mu$  l에 침적시켜 37°C에서 24시간 동안 방치하였다. Acetone (Sigma, USA)과 phosphoric acid (Sigma, USA) 5:13 혼합액 900  $\mu$  l를 첨가하여 원심분리한 후 상층액을 620nm에서 흡광도를 측정하였다.

### 5) Cell culture

세포의 배양을 위하여 10% heat-inactivated fetal bovine serum (FBS, Gibco BRL, USA) 과 1% penicillin 및 streptomycin (Gibco BRL, USA)을 포함한 DMEM (Dulbecco's modification Eagle medium, Gibco BRL, USA) 배양액에서 배양하였다. 세포는 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 조건 하에서 배양하였고, 세포의 증식에 따른 과밀도 현상을 해소하기 위하여 0.05% trypsin-EDTA solution (Gibco BRL, Grand Island, NY, USA)을 처리하여 세포를 부유시킨 다음 계대 배양하였다.

### 6) MTT assay

RBL-2H3 세포를 24 well plate (Corning, USA)에  $2 \times 10^5$  cell/ml의 세포수가 되도록 DMEM 배양액에 분주하여 24시간 동안 안정화시킨 후, SRHAS를 농도별 (0%, 0.1%, 0.5%, 1%, 2% 및 5%)로 처리한 후 1시간 동안 반응시켰다. 배양액을 제거한 후 5mg/ml tetrazolium bromide salt (MTT, Amresco, USA) 시약을 200ul씩 각 well에 넣고 잘 섞어 준 후 최대 4시간 37°C incubator에서 배양한 후

tetrazolium bromide salt를 제거하고 dimethylsulfoxide (DMSO, Amresco, USA)를 200  $\mu$  l씩 분주하여 well에 생성된 formazin이 잘 녹을 수 있게 충분히 흔들어서 모두 녹인 후 ELISA reader (Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA)로 540nm에서 흡광도를 측정하기 위해 96 well에 100ul씩 옮겼다. 3회의 측정으로 그에 대한 평균값과 표준 오차를 구하였다.

### 7) $\beta$ -Hexosaminidase activity

$\beta$ -Hexosaminidase의 activity는 Dastych 등<sup>13)</sup> 과 Schwartz 등<sup>14)</sup>의 방법에 의해 측정하였다. 간략히 요약하면 RBL-2H3을 10% fetal bovine serum (FBS)을 포함한 Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM)에 현탁시킨 후 24-well plate에 각 well당  $2 \times 10^5$ 개의 세포가 들어가도록 한 다음 37°C 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 하룻밤 배양하였다. 각 well의 세포들을 extracellular buffer (5mM KCl, 12.5mM NaCl, 20mM HEPES, 1.5mM MgCl<sub>2</sub>, 1.5mM CaCl<sub>2</sub>, 1mM dextros, pH 7.4)로 2번 세척한 다음 각 well 당 extracellular buffer와 SRHAS (0%, 0.1%, 0.5%, 1% 및 2%)를 처리한 후 1시간 동안 반응시켰다. 이후 PMA (50nM)와 A<sub>23187</sub> (1mM) (Sigma, USA)을 사용하여 세포를 37°C 5% CO<sub>2</sub> incubator에 1시간 동안 반응시키고 ice bath에서 10분간 incubation 시켜 반응을 종결시켰다. Supernatant 20 ul를 96 well plate에 옮기고, pellet은 Triton X-100 (0.1%) ml를 24 well에 넣고 녹인 후

## 黃芩藥鍼이 Type 1 Hypersensitivity에 미치는 영향

96 well에 20ul 넣었다. Supernatant와 pellet이 담긴 96 well에 substrate buffer (4-*p*-Nitrophenyl-*N*-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminide 1mM, sodium citrate 0.05 M, pH 4.5) 100ul를 넣고 37°C 에서 1시간 동안 배양시킨 다음 각 well 당 stop solution 200ul를 첨가하여 반응을 종결시켰다. ELISA를 사용하여 405nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료와 대조군의 흡광도 값으로 다음 식에 의해 net percent release(%)를 산출하였다.

$$\text{net percent release(\%)} = \frac{[S/(S+P) - \text{Scontrol}/(\text{Scontrol} + \text{Pcontrol})]}{\times 100}$$

S : supernatant, P : pellet

Scontrol/(Scontrol+Pcontrol)(%) is spontaneous release of mediator without a stimulus

### 8) 統計 處理

成績은 SPSS 12.0 통계 프로그램 패키지를 사용하여 평균치±표준오차로 나타내었고 유의수준은 P<0.05로 하였다. 각 실험군 간의 통계학적 분석은 one way-ANOVA와 Scheffe test 검정을 실시하였다.

## III. 結 果

### 1. Active systemic anaphylactic shock 반응에 미치는 영향

Compound 48/80에 의한 전신형 아나필락시스 반응에서 CON은 100%의 치사율을 보인데

Table 1. Effect of SRHAS on compound 48/80 induced active systemic anaphylactic shock in mice.

Sample	Dose ( $\mu$ l)	Acupoints	Lethality (%)
CON	25	BL13	100
SRHAS100	25	BL13	70
SRHAS50	25	BL13	60
OP100	25	Optional points	100

Data represents the mean S.E. of 10 mice.

CON : Group treated at BL13 with saline 1 h before compound 48/80 injection (8  $\mu$  g/g, i.p.).

SRHAS100 : Group treated at BL13 with 100% *Scutellariae Radix* pharmacopuncture solution 1 h before compound 48/80 injection.

SRHAS50 : Group treated at BL13 with 50% *Scutellariae Radix* pharmacopuncture solution 1 h before compound 48/80 injection.

OP100 : Group treated at non-acupuncture point with 100% *Scutellariae Radix* pharmacopuncture solution 1 h before compound 48/80 injection.

비해, SRHAS100과 SRHAS50은 각각 70%와 60%의 치사율을 보였으며, OP100은 100%의 치사율을 보였다 (Table 1).

### 2. Passive cutaneous anaphylaxis 반응에 미치는 영향

Anti-DNP IgE를 이용한 passive cutaneous anaphylaxis 반응에서 청색반의 누출량은 CON에서 57.14±3.10ug/ml로 나타났고, SRHAS100, SRHAS50 및 OP100은 각각 54.81±4.35ug/ml, 49.43±4.20ug/ml 및 41.33±5.96ug/ml로 감소를 나타내었으나, 각 군을 다중 비교한 결과 유의성 있는 변화는 보이지 않았다 (Fig. 1).

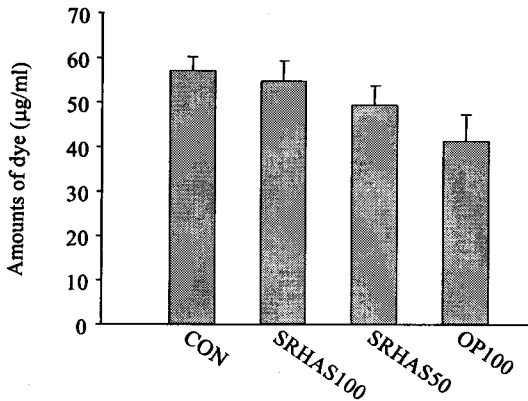


Fig. 1. Effects of SRHAS on the passive cutaneous anaphylaxis reaction in rats.

Rats were passively sensitized by i.d injection of anti-DNP IgE (0.5 ug). After 48 hours, rats were acupunctured at BL13 or OP with saline or SRHAS for 3 days prior to injection of DNP-HSA (1 mg, i.v.) containing 4% Evans blue. 30 minutes after antigen challenge, the area of dye was measured after sacrificing the animals. Each column represents the mean  $\pm$  S.E.

### 3. MTT assay

RBL-2H3 세포의 독성 및 생존률에 미치는 영향을 알아보기 위한 MTT assay에서 아무런 처리를 하지 않은 정상세포는  $2.06 \pm 0.10$ 로 나타났고, SRHAS 0.1%, 0.5%, 1%, 2% 및 5%의 농도를 처리한 세포에서는 각각  $2.23 \pm 0.09$ ,  $2.33 \pm 0.04$ ,  $2.26 \pm 0.02$ ,  $2.12 \pm 0.04$  및  $1.66 \pm 0.02$ 의 흡광도를 나타내었으며, 각 군을 다중 비교한 결과 5%군과 다른 군들 사이에 유의성 ( $p < 0.05$ ) 있는 변화를 보였다 (Fig. 2).

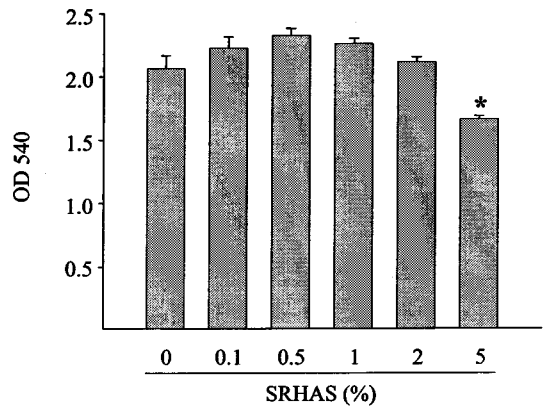


Fig. 2. Effects of SRHAS on the cell viability and cytotoxicity of RBL-2H3 cells.

Each column represents the mean  $\pm$  S.E. of 3 independent experiments.

The absorbance was measured at 540 nm using ELISA reader.

\*  $P < 0.05$ ; significant as compared to non-treatment sample by Scheffe's multiple comparison.

### 4. $\beta$ -Hexosaminidase activity

RBL-2H3 세포에서 누출된  $\beta$ -hexosaminidase의 양은 아무런 처리를 하지 않은 정상세포에서  $4.71 \pm 0.55\%$ 이었으며, PMA와  $A_{23187}$ 로 자극한 세포에서  $30.50 \pm 0.77\%$ 로 증가를 나타내었으나, PMA와  $A_{23187}$ 로 자극한 후 SRHAS를 0.1%, 0.5%, 1% 및 2%의 농도로 처리한 세포에서 각각  $22.38 \pm 1.08\%$ ,  $13.85 \pm 0.54\%$ ,  $7.61 \pm 0.88\%$  및  $2.94 \pm 0.73\%$ 로 감소를 보였다. PMA와  $A_{23187}$ 로만 자극한 세포에 비하여 SRHAS 각 농도에서 유의성( $p < 0.05$ ) 있는 감소를 보였으며, 각 군을 다중 비교한 결과 각 농도로 처리한 군 사이에 유의성( $p < 0.05$ ) 있는 변화를 보였다(Fig. 3).

## 黃芩藥鍼이 Type 1 Hypersensitivity에 미치는 영향

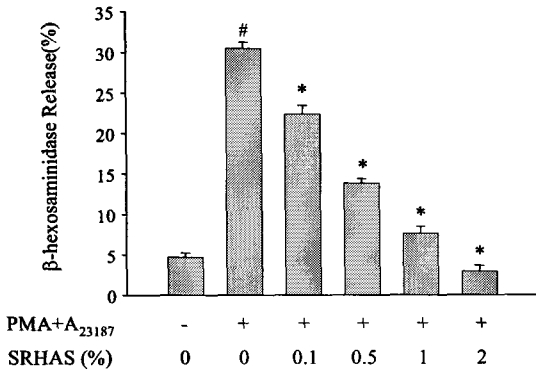


Fig. 3. Effects of SRHAS on  $\beta$ -hexosaminidase release from RBL-2H3 cells.

Each column represents the mean  $\pm$  S.E. of 3 independent experiments.

The absorbance was measured at 405 nm using ELISA reader.

#  $P < 0.05$ ; significant as compared to non-treatment sample by Scheffe's multiple comparison.

\*  $P < 0.05$ ; significant as compared to the only PMA+A<sub>23187</sub> treatment sample by Scheffe's multiple comparison.

## IV. 考 察

藥鍼療法은 韓醫學의 기본이론을 바탕으로 經絡, 穴位를 자극하는 치료 작용과 藥物 치료 작용을 결합하여 이루어진 독특한 요법의 하나로서, 穴位와 刺鍼 및 藥物 세 가지가 결합된 작용을 일으킨다. 鍼刺와 藥物作用이 직접적으로 經絡路線상의 穴位를 자극하여 일정한 치료 효과를 내고, 한편으로는 穴位 자극 후 藥物이 穴位에 잔류하는 시간이 길어지므로 穴位의 치료 효능을 증가시키고 연장시킬 수 있게 된다. 또한 經絡循行을 따라 經氣를 소통시켜 상응하는 병리조직기관에 직접 이르게 되어 穴位와

藥物이 공동으로 치료 작용을 충분히 발휘하게 되고, 또한 穴位에 대한 藥物 작용 역시 신경계 통과 神經體液系統을 통하여 작용하게 되어 인체의 저항력을 강화시킴으로써 더 큰 치료효과를 거두게 한다<sup>2)</sup>.

黃芩은 脣形科(꿀풀과, Labiatae)에 속한 多年生草本인 黃芩(속썩은풀)의 根으로서, 性味는 苦寒無毒하고, 心, 肺, 膽, 胃, 大腸으로 歸經하며, 清熱燥濕, 瀉火解毒, 止血, 安胎 등의 效能이 있어 濕熱黃疸, 瀉痢, 熱淋, 氣分實熱, 肺熱咳嗽, 癰腫瘡毒, 血熱의 出血, 胎熱不安 등을 치료한다<sup>3,15-17)</sup>. 임상에서 遲延性肝炎과 慢性肝炎, 流行性 뇌척수막염, 성홍열, 고혈압, 麥粒腫, 알레르기 등과 급성 편도선염이나 급성 인후염과 같은 상기도 감염의 치료에 사용된다<sup>4,18)</sup>

黃芩은 몇 가지의 활성성분을 함유하는데 주요한 것은 baicalin, baicalein, woogonin 및  $\beta$ -sitosterol 등이며, 포도상구균, 콜레라균, 장티프스, 파라티푸스, 이질, 디프테리아, 용혈성 연쇄상구균, 대장균, 폐렴균 및 스피로헤타균 등에 대한 항균작용이 있고, 유행성 독감 바이러스에 효과적이기도 하다. baicalein은 아스피린 보다는 효과가 약하지만 해열작용이 있고 해독 작용도 가지고 있다. baicalein 10mg을 쥐에게 투여하면 스트리키닌에 의한 LD50을 증가시킨다. 또한 CCL4에 중독된 쥐의 간장내 글리코겐 함량을 증가시킨다. 황금의 다른 작용으로는 이뇨, 진정, 혈압 강하, 소염, 항과민반응 효과 등이 있고, 담즙 분비를 촉진하는 효과도 있

는데 baicalein이 baicalin 보다 효과적이다. 이외에 황금은 평활근을 직접적으로 이완시키는 작용이 있다. 황금을 경구 투여하는 경우는 비교적 독성이 없다. 임상실험에서 baicalin 150mg을 근육 주사한 결과 고열과 근육통이 유발되었고, baicalin 27mg을 정맥 주사하였을 경우에는 고열과 백혈구 수치의 급격한 하강을 일으켰다<sup>18)</sup>.

肺俞(BL13)는 肺의 背俞穴로 調肺氣, 補勞損, 清虛熱, 和營血의 효능이 있어 각종 肺疾患, 肺炎, 肺結核, 咳嗽, 喘息, 氣管支炎, 骨蒸勞熱, 盜汗, 呼吸困難 등 알레르기 질환과 관련된 폐 질환에 활용된다<sup>5)</sup>.

黃芩藥鍼에 대한 연구보고로 전 등<sup>6)</sup>의 알리지성 접촉피부염에 미치는 영향, 김 등<sup>7)</sup>의 흰쥐 간세포 내의 항산화 효능, 허 등<sup>8)</sup>의 신장조직에서 세포손상에 미치는 영향, 조 등<sup>19)</sup>의 토끼의 腎臟切片에서 t-BHP로 유발된 유기양이온의 이동장애에 미치는 영향, 안 등<sup>9)</sup>의 급성신부전에 미치는 영향, 조 등<sup>20)</sup>의 腎臟上皮細胞에서의 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에 의한 磷酸鹽運搬의 抑制에 미치는 영향, 변 등<sup>21)</sup>의 급성독성에 관한 안전성 연구, 김 등<sup>22)</sup>의 황금추출물의 심근허혈-재관류 손상 억제 효과, 조 등<sup>10)</sup>의 항산화 효과 등이 보고되었다.

과민반응 또는 알레르기란 용어는 외부로부터 들어온 항원이 체내에서 면역반응에 의해 제거되는 과정에서 정상적인 반응과는 달리 속주에 오히려 해로운 영향을 미치게 될 때 일컫

는 것이다.

과민반응은 그 과정에서 생성되고 관여하는 활성 분자에 따라 여러 가지 형태로 나뉘는데 Gell과 Coombs에 의한 분류가 대표적이며, 관련된 기전이나 세포 그리고 분자요소 등에 따라 크게 4개의 그룹으로 나누어 분류하였다. 제1형 과민반응은 가장 흔한 과민성 질환으로 IgE 항체에 의해서 발생한다. IgE 이외의 항체는 염증세포들을 불러들이고 활성화시키며 또한 정상 세포 기능을 방해함으로써 조직 손상을 일으킬 수 있다. 이들 항체 중 일부는 특정 세포나 세포 외 바탕질에 존재하는 항원에 특이적이며, 이들 세포나 조직에 결합된 상태나 혈중에서 자유 항체로 발견된다. 이러한 항체에 의해 야기되는 질환을 제2형 과민반응 질환이라 한다. 다른 항체들은 혈중에서 면역 복합체를 형성하여 혈관 같은 조직에 침착하여 조직 손상을 일으킨다. 면역 복합체에 의해 야기되는 질환들은 제3형 과민반응 질환으로 분류한다. 마지막으로 지연형 과민반응의 작동 기전을 활성화시키는 T 림프구에 의해 조직 손상이 생기는 경우를 제4형 과민반응 질환이라 한다<sup>23,24)</sup>.

Type 1 hypersensitivity 또는 IgE-mediated hypersensitivity는 allergen이라 불리는 특이항원에 의해 야기된다. 이 allergen에 의해 많은 양의 IgE를 생성시키고, 이 항체는 조직 내의 mast cell이나 혈중의 basophil의 표면에 있는 Fc receptor와 강한 결합을 한다. 이렇게 감각된 mast cell이나 basophil은 이차적으로 체내



## 黃芩藥鍼이 Type 1 Hypersensitivity에 미치는 영향

에 들어온 allergen과 항원-항체반응을 일으켜 세포의 탈과립을 일으키게 된다. 이들 과립으로부터 분비된 활성화 분자들은 여러 가지 생물학적 또는 약리학적 작용으로 체내에서 여러 반응을 일으키는데, 그 활성화 분자들의 분비량이나 상황에 따라 국소적 또는 전신적 반응을 일으킨다<sup>25)</sup>.

Mast cell은 골수에서 유래하여 결합조직 전반에 분포되어 있으며 특히 혈관이나 임파관 주위에서 자주 발견된다. 피부나 호흡기 또는 소화관의 점막의 경우 분포농도가 매우 높다. Basophil과 마찬가지로 세포질내 많은 과립을 함유하고 있으며, 이 과립들은 약리학적 활성을 가지는 인자들을 함유하고 있어 탈과립 되면 type 1 hypersensitivity를 일으키게 된다. 또한 이들을 통해 광범위하게 체내 면역 및 병리학적 과정에 관여하게 된다.

Mast cell과 basophil의 탈과립은 거의 같은 기전에 의해 일어나는 것으로 알려져 있으며, mast cell의 경우 allergen과 IgE의 cross linkage에 의해 시작되지만 allergen이외의 다른 자극들, 즉 anaphylatoxin이나 synthetic ACTH, codein, morphin 등의 약물 또는 calcium ionophore 같은 물질들에 의해서도 탈과립이 일어날 수 있다.

Type 1 hypersensitivity의 임상적 발현은 mast cell과 basophil의 탈과립시 분비되는 여러 가지 요소들의 생물학적 효과와 깊은 연관이 있는데, 그 대표적인 것이 histamine으로 내장 및 기관지 평활근의 수축, 혈관삼투성의 증

가 그리고 점액분비의 증가 등의 반응을 나타낸다.

따라서 type 1 hypersensitivity에서 mast cell 및 basophil의 탈과립에 대한 黃芩藥鍼의 효과를 관찰하기 위해서 전신형 아나필락시스 반응과 수동 피부 아나필락시스 반응을 실시하였다.

전신형 아나필락시스 반응은 쇼크와 비슷한 증상으로 때로는 치명적일 수도 있는데 type 1 hypersensitivity 반응 시작 후 수분 내에 일어나며, 여러 가지 다양한 항원에 의해서 일어난다. 벌에 쏘였거나 개미에 물렸을 때, 페니실린이나 인슐린 등의 약제 또는 해산물이나 견과류 등 다양하다. 본 실험에서는 대표적인 mast cell degranulator인 compound 48/80을 이용해서 이 반응을 유도하였다.

수동 피부 아나필락시스는 국소성 아나필락시스 반응으로 피부 감작성을 갖는 항체를 검출하는 극히 예민한 방법이다. 항체의 양, 특이성, 항원의 구조, 즉시형 알레르기반응의 발현이나 억제 기전 등 각각의 면역기구 검토에 응용되는 방법이다. 동물의 피부를 미리 항체로서 수동감작한 후 항원을 투여하여 유발시킨 피부국소의 즉시형 알레르기 반응으로 항원 투여시에 evans blue를 함께 정맥주사하고 알레르기 반응에 의한 피부 미소혈관의 투과성 항진에 의한 누출 색소반으로 판정한다. 이 색소반은 항체가 결합하고 있는 mast cell에서 항원 항체 반응이 일어나 히스타민 등의 화학적 매개물질 등이 유리되어 국소 아나필락시스가 초

래된 결과이다.

본 실험에서는 ICR 계 mouse 및 Sprague Dawley 계 rat를 사용하여 전신형 아나필락시스, 수동형 피부 아나필락시스 반응 및 모세혈관 투과성에 미치는 黃芩藥鍼의 영향을 관찰하였다.

그 결과 compound 48/80에 의한 전신형 아나필락시스 반응에서 CON은 100%의 치사율을 보인데 비해, SRHAS100과 SRHAS50은 각각 70%와 60%의 치사율을 보였으며, OP100은 100%의 치사율을 보였다 (Table 1).

Anti-DNP IgE를 이용한 passive cutaneous anaphylaxis 반응에서 청색반의 누출량은 CON에서  $57.14 \pm 3.10 \text{ug/site}$ 로 나타났고, SRHAS100, SRHAS50 및 OP100은 각각  $54.81 \pm 4.35 \text{ug/site}$ ,  $49.43 \pm 4.20 \text{ug/site}$  및  $41.33 \pm 5.96 \text{ug/site}$ 로 감소를 나타내었으나, 각 군을 다중 비교한 결과 유의성 있는 변화는 보이지 않았다 (Fig. 1).

본 실험에서는 RBL-2H3 세포를 사용하여 세포독성 및 생존율에 미치는 黃芩藥鍼의 영향을 살펴보았으며, 세포독성과 생존율에 영향을 미치지 않는 범위에서  $\beta$ -hexosaminidase의 activity를 측정하여 mast cell 탈과립에 대한 黃芩藥鍼의 영향을 관찰하였다.

$\beta$ -hexosaminidase는 mast cell 내에 존재하는 효소로서 탈과립에 의해 histamine의 누출량과 비례하여 분비되는 것으로 알려져 있다. 이 효소의 측정은 mast cell의 탈과립을 측정하는 간접적인 방법으로 널리 사용되는 방법이

다.

RBL-2H3 세포의 독성 및 생존율에 미치는 영향을 알아보기 위한 MTT assay에서 아무런 처리를 하지 않은 정상세포는  $2.06 \pm 0.10$ 로 나타났고, SRHAS 0.1%, 0.5%, 1%, 2% 및 5%의 농도를 처리한 세포에서는 각각  $2.23 \pm 0.09$ ,  $2.33 \pm 0.04$ ,  $2.26 \pm 0.02$ ,  $2.12 \pm 0.04$  및  $1.66 \pm 0.02$ 의 흡광도를 나타내었으며, 각 군을 다중 비교한 결과 5% 그룹과 다른 그룹들 사이에 유의성 ( $p < 0.05$ ) 있는 변화를 보였다 (Fig. 2).

0.1~2%의 SRHAS 농도범위 내에서  $\beta$ -hexosaminidase의 activity에 미치는 영향을 측정한 결과 RBL-2H3 세포에서 누출된  $\beta$ -hexosaminidase의 양은 아무런 처리를 하지 않은 정상세포에서  $4.71 \pm 0.55\%$ 이었으며, PMA와  $A_{23187}$ 로 자극한 세포에서  $30.50 \pm 0.77\%$ 로 증가를 나타내었으나, PMA와  $A_{23187}$ 로 자극한 후 SRHAS를 0.1%, 0.5%, 1% 및 2%의 농도로 처리한 세포에서 각각  $22.38 \pm 1.08\%$ ,  $13.85 \pm 0.54\%$ ,  $7.61 \pm 0.88\%$  및  $2.94 \pm 0.73\%$ 로 감소를 보였다. PMA와  $A_{23187}$ 로만 자극한 세포에 비하여 SRHAS 각 농도에서 유의성 ( $p < 0.05$ ) 있는 감소를 보였으며, 각 군을 다중 비교한 결과 각 농도로 처리한 군 사이에 유의성 ( $p < 0.05$ ) 있는 변화를 보였다 (Fig. 3).

이와 같은 결과들을 종합해서 볼 때 黃芩藥鍼은 mast cell의 탈과립 억제에 효과적인 것으로 판단된다. 黃芩藥鍼液의 肺俞(BL13) 처치는 ICR 계 mouse를 이용한 전신형 아나필락시스 반응과 RBL-2H3 세포를 이용한 실험에서

## 黃芩藥鉞이 Type 1 Hypersensitivity에 미치는 영향

mast cell 탈과립을 억제하는 효과를 나타내었으며, Sprague Dawley 계 rat를 이용한 수동 피부 면역반응에서는 면역반응을 억제하는 경향성은 나타내었으나 유의성 있는 억제를 나타내지는 못했다. 이러한 결과를 볼 때 이는 약침 처치 간격 등 실험 방법상의 여러 가지 요인에 의해 기인된 것으로 추정되며, 향후 실험 방법의 변경을 통한 계속적인 연구가 필요할 것으로 생각된다.

## V. 結 論

黃芩藥鉞이 type 1 hypersensitivity에 미치는 영향을 연구한 결과 黃芩藥鉞液의 肺俞(BL13) 처치는 type 1 hypersensitivity를 억제하는 효과가 있는 것으로 판단된다.

## 參 考 文 獻

1. 대한약침학회. 약침요법시술지침서. 서울 : 한성인쇄. 1999 : 13-4.
2. 邢玉瑞, 袁志敏, 烏桂文. 약침요법. 서울 : 일중사. 1999 : 17-9.
3. 신민교. 臨床本草學. 서울: 영림사. 1997 : 400-1.
4. 안덕균. 原色韓國本草圖鑑. 서울 : 교학사. 2000 : 121.
5. 전국한외과대학 침구경혈학교실. 침구학(상). 서울 : 집문당. 2000 : 478-9.
6. 전재홍, 강운호. 黃芩抽出物이 DNCB로 유도된 생쥐의 Allergy성 接觸皮膚炎에 미치는

영향. 동국한외과연구소논문집. 1998 ; 7(1) : 119-33.

7. 김성일, 도원석, 김갑성. 黃芩藥鉞液의 흰쥐 肝細胞내의 抗酸化 效能에 관한 연구. 大韓鍼灸學會誌. 1999 ; 16(1) : 497-509.
8. 허경미, 송춘호. 黃芩藥鉞液이 腎臟組織에서 Oxidant에 의한 細胞損傷에 미치는 影響. 大韓鍼灸學會誌. 2001 ; 18(2) : 101-10.
9. 안창범, 권혜연, 윤현민, 장경진, 송춘호. 黃芩藥鉞液이 Cisplatin에 의해 유발된 急性腎不全에 미치는 영향. 大韓鍼灸學會誌. 2002 ; 19(3) : 156-67.
10. 조수인, 오원우. 黃芩의 抗酸化 효과. 大韓本草學會誌. 2005 ; 20(3) : 67-74.
11. 高炯均, 印昌植. 東醫獸醫鍼灸學. 서울 : 경희대학교 출판국. 2003 : 318, 328.
12. Katayama S, Shionoya H, Ohtake S. 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. 1978 ; 22 : 89-101.
13. Dastych J, Walczak-Drzewiecka A, Wyczolkowska J, Metcalfe DD. Murine mast cells exposed to mercuric chloride release granule-associated N-acetyl-beta-D-hexosaminidase and secrete IL-4 and TNF-alpha. J Allergy Clin Immunol. 1999 ; 103 : 1108-14.
14. Schwartz LB, Austen KF, Wasserman SI.

- Immunologic release of beta-hexosaminidase and beta-glucuronidase from purified rat serosal mast cells. *J Immunol.* 1979 ; 123 : 1445-50.
15. 주영승. 菘谷 本草學 각론(상). 서울 : 서림제. 2004 : 153-6.
16. 김경옥. 실용 본초학. 서울 : 정담. 2001 : 97-8.
17. 옥은성. 본초학. 서울 : 신광출판사. 2004 : 81-2.
18. 김형균, 김형민, 송봉근, 이언정, 정현택. 한약의 약리. 서울 : 고려의학. 2000 : 333-4.
19. 조미형, 장경전. 黃芩藥鉞液이 토끼의 腎臟切片에서 t-BHP로 유발된 유기양이온의 이동장애에 미치는 영향. *大韓鍼灸學會誌.* 2001 ; 18(4) : 143-51.
20. 조은진, 윤현민, 장경전, 송춘호, 안창범. 黃芩藥鉞液이 腎臟上皮細胞에서의 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에 의한 磷酸鹽運搬의 抑制에 미치는 영향. *大韓鍼灸學會誌.* 2002 ; 19(4) : 190-9.
21. 변부형, 서부일. 黃芩藥鉞의 급성독성에 관한 안전성 연구. *大韓本草學會誌.* 2003 ; 18(4) : 47-51.
22. 김찬형, 가 호, 김상현, 문현중, 이정상. 黃芩抽出物의 심근허혈-재관류 손상 억제 효과. *Kor J Lab Animal Sci.* 2004 ; 20(4) : 357-62.
23. Abbas AK, Lichtman AH. 세포분자면역학. 5판. 서울 : 범문사. 2004 : 411-2.
24. 강태숙, 김선희, 김영권, 김윤희, 김인환, 김충환 외. 임상면역학. 서울 : 청구문화사. 2005 : 281-92.
25. Tharp MD. IgE and immediate hypersensitivity. *Dermatologic Clinics.* 1990 ; 8(4) : 619-31.