

원저

紫苑藥鍼液의 肺俞 處置가 Type I Hypersensitivity에 미치는 영향

권혁상 · 송춘호

동의대학교 한의과대학 경혈학교실

Abstract

Effect of Radix Asteris Herbal Acupuncture at BL₁₃ on the Type I Hypersensitivity

Kwon Hyuk-sang and Song Choon-ho

Dept. of Meridian & Acupoint, College of Oriental Medicine, Dong Eui University

Objectives : We studied the effects of Radix Asteris herbal acupuncture solution (RAHAS) on the type I hypersensitivity.

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

Results : *In vivo*, RAHAS pretreatments at BL₁₃ and optional points inhibited active systemic anaphylactic shock induced by compound 48/80 and microvascular permeability increased by acetic acid. PCA was only inhibited by RAHAS pretreatments at BL₁₃. *In vitro*, RAHAS treatments inhibited β -hexosaminidase release.

Conclusion : These results suggest that RAHAS may be beneficial in the prevention of type I hypersensitive inflammatory response.

Key words : Radix Asteris, herbal acupuncture, type I hypersensitivity

I. 緒 論

藥鍼療法은 한의학적 이론을 토대로 本草方劑學的 약리작용과 經絡經穴의 치료작용을 배합시켜 형성된 치료요법으로¹⁾, 임상 치료 효과가 뛰어나 최근 들어 그 임상 응용범위가 확대되고 있다.

전 세계적으로 알레르기 질환 발병률이 증가되고 있고, 최근 우리나라도 산업과 문명의 발달로 인해 아토피 피부염, 알레르기 비염, 기관지 천식 등 알레르기 질환이 증가하는 추세이다²⁾. 알레르기 질환은 환경적 또는 유전적 문제가 복잡하게 연관되어 발병되는데 아직까지 명확한 치료법이 제시되지 못하고 있다.

紫菀은 국화과에 속한 다년생초본인 개미취의 根 및 根莖으로, 味가 辛苦하고 性溫, 無毒하며 肺經으로 歸經한다³⁾. 潤肺 化痰止咳의 효능이 있고 下氣의 성질이 있어⁴⁾, 痰多喘咳, 新久咳嗽, 勞嗽咳血, 肺痿肺癰 등을 다스린다⁵⁾.

肺俞(BL₁₃)는 肺氣를 조절하고 補勞損, 淸虛熱, 和營血하는 성질이 있어, 喘息, 咳嗽, 上氣 등 肺氣管支 系統의 질환을 다스린다⁶⁾.

紫菀을 이용한 실험적 연구로 항산화⁷⁾, 항종양⁸⁾에 대한 연구 등이 있었으나, 알레르기에 대한 연구는 아직 보고된 바가 없다.

이에 저자는 알레르기 질환에 대한 紫菀藥鍼의 활용가능성을 살펴보고 응용범위를 넓히기 위해 紫菀藥鍼液(radix asteris herbal acupuncture solution, 이하 RAHAS로 약칭)의 肺俞(BL₁₃) 처치가 알레르기 반응에 미치는 영향과 RAHAS가 RBL-2H3 cell에 미치는 영향을 살펴보았다. 실험 과정에서 compound 48/80을 이용한 active systemic anaphylactic shock 반응, anti-DNP IgE로 유도한 passive cutaneous

anaphylaxis 반응, acetic acid를 이용한 모세혈관투과성 반응 및 RBL-2H3 세포를 이용한 실험적 알레르기 반응의 관찰을 통해 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 材料 및 方法

1. 材料

1) 藥材

본 실험에 사용된 紫菀은 (주)광명제약에서 구입하여 사용하였으며, RAHAS는 대한약침학회의 약침 제조방법에 따라 조제하였다. 간략히 설명하면 다음과 같다. 紫菀 300g을 증류수로 水洗하여 round flask에서 2,000ml의 증류수를 加하여 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 加하여 실온에서 교반 후 24시간 방치하여 생성된 침전물을 여별하고 濾液을 다시 85% ethanol 100ml를 가하여 24시간 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 24 시간 냉장 보관하였다. 微量의 부유물을 濾過한 후 高壓滅菌하여 試料로 사용하였다.

韓藥名	生藥名	重量(g)
紫菀	Radix Asteris	300g

2) 動物

실험에 사용한 mouse는 ICR계 (6주령, male, 30 ±2g)를 (주) 샘타코 바이오 코리아에서 구입해서 사용했고, 사육은 온도 22±2℃, 습도 55±5%, dark/light (12시간) 조건 하에서 고품질 pellet 사료와 물은

자유 섭취하도록 하였으며, 구입하고 2주간 실험실 환경에 적응 후 실험에 사용하였다.

3) 細胞

RBL-2H3 세포주는 한국세포주은행 (Korean Cell

Line Research Foundation, KCLB)에서 분양받아 배양하였다.

4) 藥鍼器

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

5) 試藥

본 실험에 사용된 compound 48/80, anti-DNP IgE, DNP-HSA, PMA, A₂₃₁₈₇, evans blue, KOH, acetone, phosphoric acid 및 acetic acid는 Sigma로부터 구입하였으며, FBS, penicillin, streptomycin, DMEM 및 trypsin-EDTA solution은 Gibco BRL로부터 구입하여 사용하였다.

2. 方法

1) 檢液의 處置

RAHAS는 人體의 第3胸椎棘突起下 兩傍 1寸 5分處에 相應하는 양쪽 肺愈(BL₁₃) 부위와 임의의 부위인 둔부(OP)에 각각 처치하였다.

2) 實驗群의 構成

實驗群은 正常群(NOR), 對照群(CON), 紫菀藥鍼處置群(RAHAS)과 任意群(OP)로 구분하였다. NOR은 아무런 처치를 하지 않은 群이며, CON은 양쪽 BL₁₃에 생리식염수를 1일 1회 5일간 25 μ l씩 투여한 群이며, RAHAS는 양쪽 BL₁₃에 RAHAS를 1일 1회 5일간 25 μ l씩 처치한 群이며, OP는 동량의 RAHAS를 1일 1회 5일간 둔부에 처치한 群이다.

3) Active systemic anaphylactic shock 반응

ICR계 mouse 10마리를 1군으로 하여 NOR, CON, RAHAS와 OP 군으로 5일간 처치한 후 5일째 되는 날 처치 1시간 후 compound 48/80(8 μ g/g, Sigma)을 복강 내에 투여하고 mouse의 치사율을 60분 동안 관찰하였다.

4) Passive cutaneous anaphylaxis 반응

IgE 의존형 피부과민반응에 대한 영향을 알아보기 위하여 Katayama⁹⁾ 등의 방법에 준하여 ICR

mice 10마리를 1군으로 하고 NOR, CON, RAHAS와 OP군으로 5일간 처치하였다. 처치 3일째 되는 날 mouse의 등 부위를 제모하고 0.1 μ g의 anti-DNP IgE를 피하주사한 후 감각된 부위를 표시하였다. 48시간 경과 후 DNP-HSA 0.1mg과 4% evans blue를 1:1로 혼합하여 mouse의 미정맥에 주사하였다. 30분 후 mouse를 도살하고 청색으로 착색된 등 부위의 피부를 채취하여 1N KOH용액 100 μ l에 침적시켜 37°C에서 하룻밤 방치하였다. Acetone과 phosphoric acid(5:13) 혼합액 900 μ l를 첨가하여 원심분리한 후 상층액을 620nm에서 흡광도를 측정하여 미리 작성한 검량선에 의해 복강으로 누출된 evans blue의 양을 비색 정량하였다.

5) 모세혈관 투과성 반응

ICR mouse 10마리를 1군으로 하여 Whittle¹⁰⁾과 Shimomura¹¹⁾의 방법에 준하여 실험하였다. 간단히 설명하면 NOR, CON, RAHAS와 OP군으로 5일간 처치한 후 마지막 날 처치 1시간 후 1% evans blue 5ml/kg을 미정맥에 주사하였으며, 주사 후 즉시 0.6% acetic acid 10ml/kg을 복강 내에 주사하고 1시간 후에 생리식염수 10ml로 복강액을 세척해서 회수한 다음 3,000rpm에서 5분간 원심분리하고 상층액을 620nm에서 흡광도를 측정하여 미리 작성한 검량선에 의해 복강으로 누출된 evans blue의 양을 비색 정량하였다.

6) 세포 배양

RBL-2H3 세포주는 한국세포주은행(Korean Cell Line Research Foundation, KCLB)에서 분양받았으며 세포의 배양을 위하여 10% heat-inactivated fetal bovine serum (FBS, Gibco BRL, Grand Island, NY, USA)과 1% penicillin 및 streptomycin (Gibco BRL, Grand Island, NY, USA)을 포함한 DMEM (Dulbecco's modification Eagle medium, Gibco BRL, Grand Island, NY, USA) 배양액에서 배양하였다. 세포는 37°C, 5% CO₂ 조건하에서 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.

7) β -Hexosaminidase activity

β -Hexosaminidase의 activity는 Dastych 등¹²⁾과 Schwartz 등¹³⁾의 방법에 의해 측정하였다. 간략히 요약하면 RBL-2H3 세포를 10% fetal bovine serum (FBS)를 포함한 Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM)에 현탁시킨 후 24-well plate에 각 well당 2×10^5 개의 세포를 분주 한 다음 37°C 5% CO₂ incubator에서 하룻밤 배양하였다. 각 well의 세포들을 extracellular buffer (5mM KCl, 12.5 mM NaCl, 20mM HEPES, 1.5mM MgCl, 1.5mM CaCl₂, 1mM dextros, pH 7.4)로 2번 세척한 다음 각 well당 extracellular buffer와 RAHAS를 농도별 (0%, 0.005%, 0.01%, 0.1%, 0.25%)로 처리한 후 1시간 동안 반응시켰다. 이후 PMA(50nM)와 A₂₃₁₈₇ (1mM)을 사용하여 세포를 37°C 5% CO₂ incubator에 1시간 반응시키고 ice bath에서 10 분간 incubation 시켜 반응을 종결시켰다. Supernatant 20 μ l를 96well plate에 옮기고, pellet은 Triton X-100 (0.1%) 1ml를 24well에 넣고 녹인 후 96 well에 20 μ l 넣었다. Supernatant 와 pellet이 담긴 96well에 substrate buffer(4-p-Nitrophenyl-N-acetyl- β -D-glucosaminide 1mM, sodium citrate 0.05 M, pH 4.5) 100 μ l를 넣고 37°C에서 1시간 동안 배양시킨 다음 각 well당 stop solution 200 μ l를 첨가하여 반응을 종결시켰다. ELISA를 사용하여 405nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료와 대조군의 흡광도 값으로 다음 식에 의해 net percent release(%)를 산출하

였다.

$$\text{net percent release(\%)} = \frac{[S/(S+P) - S_{\text{control}}/(S_{\text{control}} + P_{\text{control}})] \times 100}{S : \text{supernatant, } P : \text{pellet, } S_{\text{control}}/(S_{\text{control}} + P_{\text{control}})(\%) \text{ is spontaneous release of mediator without a stimulus}}$$

S : supernatant, P : pellet, S_{control}/(S_{control}+P_{control})(%) is spontaneous release of mediator without a stimulus

8) 統計 處理

成績은 평균치±표준오차로 나타내었고 평균치간의 有意性은 Student's t-test를 이용하여 檢定하였으며 p값이 0.05 미만일 때 有意한 것으로 判定하였다.

III. 結 果

1. Active Systemic Anaphylactic Shock 반응에 미치는 효과

Compound 48/80에 의한 전신형 아나필락시스 반응에서 NOR과 CON에서는 100%의 치사율을 보인데 비해, RAHAS는 59.1%의 치사율을 보였으며, OP는 68.2%의 치사율을 보였다(Table 1).

Table 1. Effect of RAHAS on Compound 48/80 Induced Active Systemic Anaphylactic Shock

Sample	Dose(μ l)	Acupoints	Lethality(%)
NOR	-		100
CON	25	BL13	100
RAHAS	25	BL13	59.1
OP	25	Optional points	68.2

Data represents the mean S.E. of 3 independent experiments.

NOR: Group treated nothing 1 h before compound 48/80 injection (8 μ g/g, i.p.).

CON: Group treated at BL13 with saline 1 h before compound 48/80 injection.

RAHAS: Group treated at BL13 with radix asteris herbal acupuncture solution 1 h before compound 48/80 injection.

OP: Group treated at optional points with radix asteris herbal acupuncture solution 1 h before compound 48/80 injection.

2. Passive Cutaneous Anaphylaxis 반응에 미치는 영향

Anti-DNP IgE를 이용한 passive cutaneous anaphylaxis 반응에서 청색반의 누출량은 NOR은 2.3592 ± 0.0290 $\mu\text{g}/\text{site}$ 였으며, CON은 4.1522 ± 0.1587 $\mu\text{g}/\text{site}$ 로 NOR에 비해 유의한 증가를 보였다($p < 0.005$). 반면 RAHAS는 3.6775 ± 0.0922 $\mu\text{g}/\text{site}$ 로 CON에 비해 유의한 감소를 보였으며 ($p < 0.05$), OP는 3.8862 ± 0.0874 $\mu\text{g}/\text{site}$ 로 CON에 비해 유의한 변화를 보이지 않았다 (Fig. 1).

3. 모세혈관 투과성에 미치는 효과

Acetic acid를 이용한 모세혈관 투과성 반응에서 evans blue의 누출량은 NOR은 23.4180 ± 0.4417 $\mu\text{g}/\text{ml}$

였으며, CON은 27.9190 ± 1.1294 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 NOR에 비해 유의한 증가를 보였다 ($p < 0.005$). 반면 RAHAS는 24.8439 ± 0.5628 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 CON에 비해 유의한 감소를 보였으며($p < 0.05$), OP는 25.2491 ± 0.5255 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 CON에 비해 유의한 감소를 나타내었다($p < 0.01$)(Fig. 2).

4. β -Hexosaminidase activity

RBL-2H3 세포에서 누출된 β -hexosaminidase의 양은 NOR은 $3.947 \pm 0.47\%$ 였으며, CON은 $45.10 \pm 1.14\%$ 로 NOR에 비해 유의한 증가를 나타내었다($p < 0.005$). 반면 RAHAS 0.005%에서 $43.38 \pm 1.10\%$ ($p < 0.05$), RAHAS 0.01%에서 $38.78 \pm 1.43\%$ ($p < 0.01$), RAHAS 0.1%에서 $33.3 \pm 1.52\%$ ($p < 0.005$), RAHAS 0.25%에서 $29.08 \pm 1.50\%$ ($p < 0.005$)로 CON에 비해 유의한 감소를 보였었다(Fig. 3).

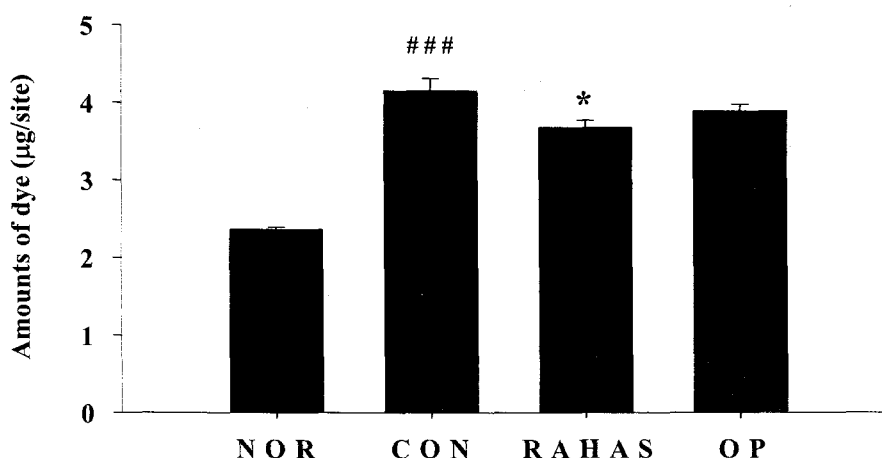


Fig. 1. Effects of RAHAS on the passive cutaneous anaphylaxis reaction in mice

Mice were passively sensitized by i.d. injection of anti-DNP IgE (0.1 μg) NOR, CON, RAHAS, or OP was acupunctured with radix asteris herbal acupuncture solution at BL13 or OP for 5days prior to injection of DNP-HSA (0.1mg, i.v.) containing 4% evans blue. 30minutes after antigen challenge, the area of dye was measured after sacrificing the animals. Each column represents the mean \pm S.E. of 8mice.

$p < 0.005$; significant as compared to the normal by Student's t-test.

* $p < 0.05$; significant as compared to the control by Student's t-test.

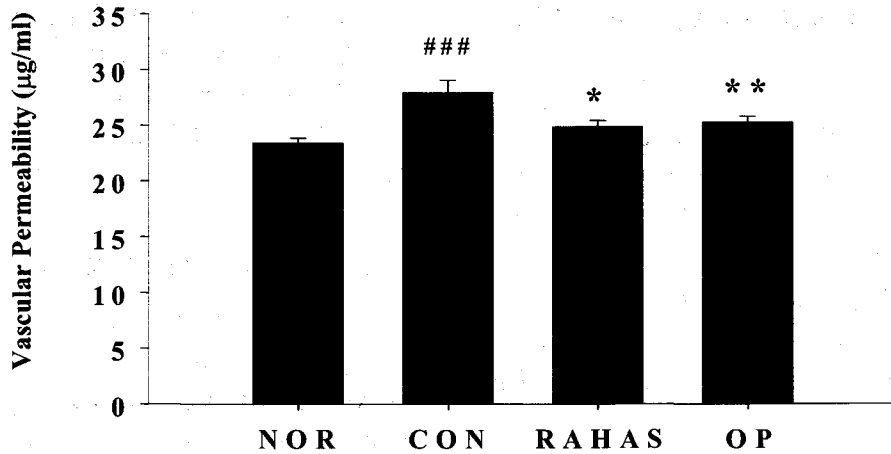


Fig. 2. Effects of RAHAS on acetic acid-induced vascular permeability
 Mice were acupunctured with radix asteris herbal acupuncture solution at BL13 or OP by saline or RAHAS for 5 days prior to acetic acid injection. Each column represents the mean±S.E. of 8 mice.
 ### p<0.005; significant as compared to the normal by Student's t-test.
 * p<0.05, ** p<0.01; significant as compared to the control by Student's t-test.

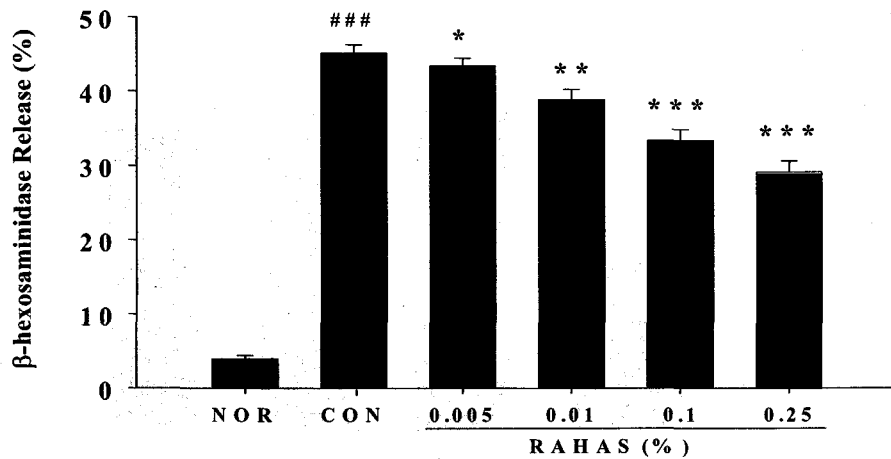


Fig. 3. Effects of RAHAS on β-hexosaminidase release from RBL-2H3 cells.
 Each column represents the mean±S.E. of 3 independent experiments.
 The absorbance was measured at 405 nm using ELISA reader.
 Release (%) = S/(S+P) x 100.
 S : supernant, P : pellet.
 ### p<0.005; significant as compared to the normal by Student's t-test.
 * p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.005; significant as compared to the control by Student's t-test.

IV. 考 察

藥鍼療法은 經絡學說의 원리에 의거하여 약물을 선택해서 유관한 穴位, 壓痛點 혹은 체표의 축진으로 얻어진 陽性反應點에 주입하여 刺鍼과 藥物作用을 통해 생체의 기능을 조정하고 병리상태를 개선시

켜 질병을 치료하는 新鍼療法의 일종으로⁶⁾, 임상에서 치료효과가 뛰어나며 최근 들어 그 임상 응용범위가 확대되고 있다.

紫菀은 性味가 辛苦溫하고 無毒하며 肺經으로 歸經하는데, 潤肺下氣, 化痰止咳의 效能이 있어 痰多喘咳, 新久咳嗽, 勞嗽咳血, 肺痿肺癰 등을 다스리며³⁻⁵⁾, 진해거담, 향균 등의 약리작용이 있어 백일해, 만성

기관지염, 폐렴 등에 유효하다¹⁴⁾.

肺俞(BL₁₃)는 調肺氣, 補勞損, 清虛熱, 和營血하는 性質이 있어, 咳嗽, 喘息, 咯血, 自汗 등 肺氣管支 系統의 질환을 다스린다¹⁵⁾.

정상적인 면역반응은 다양한 기전으로 알레르겐의 공격을 제거하기 위해서 효과분자들을 자극시켜 숙주의 조직에는 손상이 없이 이물질을 제거하거나 국소염증반응을 일으킨다. 그러나 조건에 따라서 면역반응이 지나치게 증가되거나 원하지 않는 반응으로 진행되어 인체에 해를 줄 때 과민증(hypersensitivity) 또는 알레르기(allergy)라는 용어를 사용한다. 정상적인 상태에서는 아무런 해가 없는 외부의 물질에 의하여 강하게 반응하는 알레르기는 문명이 발달된 곳일수록 심각하여 많은 의료비용을 필요로 하고 있다¹⁶⁾.

알레르기는 과민반응들이라 칭하는 면역계 반응들의 분류중의 하나이다. 과민반응은 조직손상을 초래하며 심각한 질병을 일으킬 수 있는 유해한 면역반응이다. 과민반응은 Coombs와 Gell에 의하여 4가지 형으로 분류되었다¹⁷⁾.

제1형 알레르기는 allergen과 접촉해서 증상이 발현하기까지의 시간이 짧기 때문에 즉시형 알레르기 또는 아나필락시스(anaphylaxis)형 알레르기라고 한다. 제2형 알레르기는 세포나 조직에 항체가 결합함으로써 2차적으로 발생하는 조직 장애를 말하며 세포독성형이라고 한다. 제3형 알레르기는 항원항체 복합체 즉, 면역복합체(immune complex)에 의해 발생한 조직 장애 반응을 말하며 면역복합체형이라고도 한다. 제4형 알레르기는 제1형 ~ 제3형 알레르기와 달리 항체가 관여하지 않으며 지연형 알레르기라고 한다¹⁸⁾.

알레르기는 종종 IgE에 의하여 매개되는 즉시형 알레르기인 제1형 과민반응과 동일시 된다¹⁷⁾.

알레르기 반응은 일종의 생체 방어기전으로 신체는 기생충 감염의 경우 많은 양의 IgE를 생성시킨다. 그러나 기생충 감염율이 적은 선진국에서는 이러한 면역체계가 꽃가루 같은 물질에도 반응하는 문제를 발생시키고 있다. 알레르기성 비염, 알레르기성 위장관 질환, 아나필락시스성 반응 등의 생리학적인 알레르기 반응은 감각이라고 하는 무증후성의 면역반응이 발달이 되어 IgE 항체를 체내에 다량 생성하게 된다. 이러한 IgE는 호흡기 및 전신조직의 비만세포에 있는 IgE 수용체와 결합하여 비만세포의 탈과립을 유도한다¹⁹⁾.

비만세포에는 점막형 비만세포(MMC)와 결합조직형 비만세포(CTMC)가 존재한다. 점막형 비만세포는 결합조직형 비만세포에 비해 직경이 작고 수명도 짧으나 T세포에 의존적이며, 세포막에 존재하는 고친화성 IgE 수용체 FcεRI의 수가 많다. 또한 기생충 감염에 대한 방어기구나 IgE 의존성의 즉시형 알레르기 반응에 직접적으로 관계하고 있는 것으로 알려져 있어서 점막형 비만세포가 알레르기 반응시에 급속한 탈과립을 일으키고 있는 것으로 예상된다.

양쪽 다 히스타민과 세로토닌을 포함하고 있으며, 결합조직형 비만세포에 더 많은 양이 존재한다. 결합조직형 비만세포는 대부분 혈관 주위에 분포하고 복막과 피부 등 결합조직에 존재하며, 점막형 비만세포는 소화관이나 기도점막 상피층 등의 점막에서 집중적으로 발견된다²⁰⁾.

이에 따라 점막형 비만세포의 탈과립에 대한 RAHAS의 효과와 결합조직형 비만세포의 탈과립에 대한 RAHAS의 효과를 관찰하기 위해서 전신형 아나필락시스 반응과 수동 피부 아나필락시스 반응을 실시하였다.

전신형 아나필락시스 반응은 항원의 침입에 의해 일단 감각된 생체가 다시 동일한 항원에 노출되면 IgE 의존성의 즉시형 알레르기 반응이 일어나며 그 중에서도 특히 쇼크에까지 이르는 격심한 전신증상이 나타나는데²¹⁾, 이 현상은 세포막상의 IgE 항체를 매개로 한 항원항체 반응의 결과 비만세포가 탈과립 현상을 일으켜 히스타민이나 세로토닌, 류코트리엔, 프로스타글란딘 등 각종의 화학적 매개물질이 유리되어 전신의 혈관 투과성 항진, 평활근 수축, 점액분비의 항진 등이 순간적으로 일어나기 때문이다. 또한 IgE 항체를 매개로 하지 않는 발생기전도 존재한다²²⁻²⁴⁾.

수동 피부 아나필락시스는 피부 감작성을 갖는 항체를 검출하는 극히 예민한 방법으로 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 투여 시에 evans blue를 함께 정맥주사하고 즉시형 알레르기 반응에 의한 피부 미소혈관의 투과성 항진에 의한 누출 색소반으로 판정한다. 이 색소반은 항체가 결합하고 있는 비만세포에서 항원 항체 반응이 일어나 히스타민 등의 화학적 매개물질 등이 유리되어 국소 아나필락시스

가 초래된 결과이다.

본 실험에서는 ICR계 mouse를 사용하여 전신형 아나필락시스, 수동형 피부 아나필락시스 반응 및 모세혈관 투과성에 미치는 RAHAS의 영향을 관찰하였다.

그 결과 compound 48/80에 의한 전신형 아나필락시스 반응에서 NOR과 CON에서는 100%의 치사율을 보인데 비해, RAHAS는 59.1%의 치사율을 보였으며, OP는 68.2%의 치사율을 보였다(Table 1).

Anti-DNP IgE를 이용한 passive cutaneous anaphylaxis 반응에서 청색반의 누출량은 NOR이 $2.3592 \pm 0.0290 \mu\text{g}/\text{site}$ 였으며, CON은 $4.1522 \pm 0.1587 \mu\text{g}/\text{site}$ 로 NOR에 비해 유의한 증가를 보였다($p < 0.005$). 반면 RAHAS는 $3.6775 \pm 0.0922 \mu\text{g}/\text{site}$ 로 CON에 비해 유의한 감소를 보였으며($p < 0.05$), OP는 $3.8862 \pm 0.0874 \mu\text{g}/\text{site}$ 로 CON에 비해 유의한 변화를 보이지 않았다 (Figure 1).

Acetic acid를 이용한 모세혈관 투과성 반응에서 evans blue의 누출량은 NOR은 $23.4180 \pm 0.4417 \mu\text{g}/\text{ml}$ 였으며, CON은 $27.9190 \pm 1.1294 \mu\text{g}/\text{ml}$ 로 NOR에 비해 유의한 증가를 보였다($p < 0.005$). 반면 RAHAS는 $24.8439 \pm 0.5628 \mu\text{g}/\text{ml}$ 로 CON에 비해 유의한 감소를 보였으며($p < 0.05$), OP는 $25.2491 \pm 0.5255 \mu\text{g}/\text{ml}$ 로 CON에 비해 유의한 감소를 나타내었다($p < 0.01$)(Figure 2).

β -hexosaminidase는 비만세포 내에 존재하는 효소로서 탈과립에 의해 histamine의 누출량과 비례하여 분비되는 것으로 알려져 있다. 이 효소의 측정은 비만세포의 탈과립을 측정하는 간접적인 방법으로 널리 사용되는 방법이다.

본 실험에서는 RBL-2H3를 사용하여 β -hexosaminidase의 activity를 측정하여 비만세포 탈과립에 대한 RAHAS의 영향을 관찰하였다.

그 결과 RBL-2H3 세포에서 누출된 β -hexosaminidase의 양은 NOR은 $3.947 \pm 0.47\%$ 였으며, CON은 $45.10 \pm 1.14\%$ 로 NOR에 비해 유의한 증가를 나타내었다($p < 0.005$). 반면 RAHAS 0.005%에서 $43.38 \pm 1.10\%$ ($p < 0.05$), RAHAS 0.01%에서 $38.78 \pm 1.43\%$ ($p < 0.01$), RAHAS 0.1%에서 $33.3 \pm 1.52\%$ ($p < 0.005$), RAHAS 0.25%에서 $29.08 \pm 1.50\%$ ($p < 0.005$)로 CON에 비해 유의한 감소를 보였다 (Figure 3).

종합해서 보면 RAHAS는 전신형 아나필락시스 반응에서 NOR, CON에 비해 치사율이 유의성 있게 감소하였고, 수동형 피부 아나필락시스 반응에서 청

색반의 누출량이 CON에 비해 유의성 있게 감소하였으며, acetic acid를 이용한 모세혈관 투과성 반응에서 evans blue의 누출량은 CON에 비해 유의한 감소를 보였고, RBL-2H3 세포에서 누출된 β -hexosaminidase의 activity 또한 RAHAS 농도에 비례하여 유의한 감소를 보였다.

이와 같은 결과들을 총괄해서 볼 때 RAHAS는 비만세포의 탈과립과 혈관투과성을 억제하여 즉시형 알레르기 반응을 억제하는 효과가 있는 것으로 판단된다.

V. 結 論

紫苑藥鍼液의 肺俞 處置가 type I hypersensitivity에 미치는 영향을 연구한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. RAHAS의 전처치는 compound 48/80으로 유발된 active systemic anaphylactic shock을 억제하는 효과가 관찰되었다.
2. RAHAS의 전처치는 IgE 매개 passive cutaneous anaphylaxis 반응을 억제하는 효과가 관찰되었다.
3. RAHAS의 전처치는 acetic acid로 유발된 모세혈관투과성을 억제하는 효과가 관찰되었다.
4. RAHAS의 전처치는 RBL-2H3에서 β -hexosaminidase의 분비를 억제하는 효과가 관찰되었다.

이상의 결과로 보아 紫苑藥鍼液의 肺俞 處置는 알레르기 반응을 억제하는 효과가 있는 것으로 판단된다.

VI. 참고문헌

1. 大韓藥鍼學會. 약침요법 시술 지침서. 서울 : 한성인쇄. 1999 : 13.
2. 丁奎萬. 알레르기와 韓方. 서울 : 圖書出版 第一路. 1993 : 59.
3. 全國韓醫科大學 本草學教室. 本草學. 서울 :

- 永林社. 2000 : 481-2.
4. 國家中醫藥管理局 中華本草 編委會. 中華本草. 上海 : 上海科學技術出版社. 2001 : 7卷 703-7.
 5. 國家藥典委員會 編. 中華人民共和國藥典. 北京 : 化學工業出版社. 2000 : 281-2.
 6. 全國韓醫科大學 鍼灸經穴學教室. 鍼灸學. 서울 : 集文堂. 1994 : 478-9, 1457.
 7. Ng TB, Liu F, Lu Y, Cheng CH, Wang Z. Antioxidant activity of compounds from the medicinal herb *Aster tataricus*. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*. 2003 ; 136(2) : 109-15.
 8. Saviano G, Benedetti E, Cozzolino R, De Capua A, Laccetti P, Palladino P, Zanotti G, Amodeo P, Tancredi T, Rossi F. Influence of conformational flexibility on biological activity in cyclic astin analogues. *Biopolymers*. 2004 ; 76(6) : 477-84.
 9. 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.
 10. Whittle BA. *Brit J. Pharmacol*. 1964 ; 22 : 246.
 11. Shimomura K. *Japan J Pharmacol*. 1972 ; 24 : 837.
 12. 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.
 13. 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.
 14. 安德均. 韓國本草圖鑑. 서울 : 教學社. 2000 : 607.
 15. 林鍾國. 鍼灸治療學. 서울 : 集文堂. 2001 : 360.
 16. 김형민. 면역과 알레르기. 서울 : 도서출판 신일상사. 1998 : 179.
 17. Janeway CA. 김태규 등 역. 면역생물학. 서울 : 라이프사이언스. 2002 : 494.
 18. 新谷太. 홍천수 역. 내과학 7권 면역·알레르기 질환. 서울 : 도서출판 정담. 2002 : 44-9.
 19. Tharp MD. et al. IgE and immediate hypersensitivity. *Dermatologic Clinics*. 1990 ; 8 : 619.
 20. Rubinchik E, Levi-Schaffer F. Mast cells and fibroblasts: two interacting cells. *Int J Clin Lab Res*. 1994 ; 24(3) : 139-42.
 21. Sheffer AL. Anaphylaxis: clinical aspects. *Allergy Asthma Proc*. 2004 ; 25(1) : 31-2.
 22. Oettgen HC, Martin TR, Boris AW, Deng C, Drazen JM, Leder P. Active anaphylaxis in IgE-deficient mice. *Nature*. 1994 ; 370 : 367-370.
 23. Mistovich JJ, Limmer D, Krost WS. Anaphylactic and anaphylactoid reactions. *Emerg Med Serv*. 2004 ; 33(6) : 48-9, 142.
 24. Lane SJ, Lee TH. Mast cell effector mechanisms. *J Allergy Clin Immunol*. 1996 ; 98(5 Pt 2) : S67-71.