대한한의학 방제학회지 제15권 2호 THE KOREAN JOURNAL OF ORIENTAL MEDICAL PRESCRIPTION 15(2):99~111, 2007

定喘化痰降氣湯加鹿茸이 Xylene으로 유발된 마우스의 급성 염증에 미치는 영향

조동희, 손지영, 이연경, 최규호, 박미연, 최해윤, 김종대
대구한의대학교 한의과대학 내과학교실

ABSTRACT

Anti-Inflammatory Effect of *Jungcheonhwadamgangki-tang ga Antler* in Xylene-Application Mouse Ear Acute Inflammation Model

Dong-Hee Cho, Ji-young Son, Yeon-kyeong Lee, Kyu-ho Choi, Mee-Yeon Park,
Hae-Yun Choi, Jong-Dae Kim
Department of Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Daegu Haany University

In the present study, the anti-inflammatory effect of "*Jungcheonhwadamgangki-tang ga Antler*" water extract was tested in Xylene-Application mouse ear acute inflammation model. The test articles were once dosed before Xylene-Application, and the changes on body weight and ear weights and histopathological observation of induced ear were conducted with ear histomorphometry. The obtained results were as follows.

The increases of absolute and relative ear weight detected in vehicle control compared to that

• 교신저자 : 김종대
• 대구광역시 수성구 상동 165번지 대구한의대학교 한의과대학 내과학 교실
• Tel : 053-770-2082
• 제1저자 : 조동희
• 대구광역시 수성구 상동 165번지 대구한의대한방병원
• Tel : 053-770-2082 Fax : 053-770-2169 E-mail : herb98@hanmail.net
• 접수 : 2007/ 11/ 14 수정 : 2007/ 12/ 14 채택 : 2007/ 12/ 19

of sham, were significantly and dose-dependently inhibited by *Jungcheonhwadamgangki-tang ga Antler* in the present study. A classic acute inflammatory histological changes such as subcutaneous edema, thickness and infiltration of inflammatory cells, was detected in vehicle control. However, these histological changes were significantly and dose-dependently inhibited by *Jungcheonhwadamgangki-tang ga Antler*. In addition, the increases of ear thickness half and thickness full detected in the vehicle control, were also dose-dependently decreased in the all *Jungcheonhwadamgangki-tang ga Antler*-dosing groups.

Base on these results, it is concluded that *Jungcheonhwadamgangki-tang ga Antler* extracts has clear anti-inflammatory effect on the acute inflammation such as bronchial asthma.

Key word : Jungcheonhwadamgangki-tang ga Antler(定喘化痰降氣湯加鹿茸), anti inflammatory effect, xylene-application mouse

Ⅰ. 서 론

염증은 세포손상을 일으키는 원인을 제거하거나 희석하기 위한 생체 방어로서, 혈관을 가진 결합조직에서 볼 수 있는 복합적 반응이다. 급성 염증은 비교적 기간이 짧아 수분, 수시간 또는 수일 지속되며, 혈장의 삼출과 백혈구의 이주를 특징으로 한다[1].

기관지 천식에서는 기관지 평활근의 비후, 점막부종과 충혈, 상피기저막 비후, 점액선의 비후, 급성 염증, 두텁고 끈끈한 점액에 의한 기도감입 등의 병리학적 특징을 보이고 있어 요즘은 기관지 천식을 일차적으로 기도의 아급성 염증질환으로 간주하는 경향이 있다. 그리고 치료는 대부분의 beta2-adrenoreceptor agonist외에 근본적인 염증의 치료를 목적으로 부신피질 호르몬 제제들이 천식 치료에 사용되어져 왔으나[2], 혈압상승, 위궤양, 골다공증과 백내장 발생 등의 부작용이 매우 심한 단점이 있다[3]. 이에 많은 학자들이 천식에 사용될 안전하고 효과적인 약제 개발 연구를 하고 있다.

定喘化痰降氣湯加鹿茸은 咳嗽, 痰喘, 氣喘, 氣管支喘息 등의 治療에 사용하는 定喘化痰降氣湯에 溫腎補陽 하는 鹿茸을 加味한 처방으로 임상에서 기관지천식, 기관지염 등의 치료에 자주 사용하고 있다[4-5].

定喘化痰降氣湯에 관한 실험연구로는 박[6]의 즉시형 및 지연형 알러지 반응을 억제시키는 효과와 폐혈전·색전을 억제시키는 효과에 대한 연구, 안[7]의 ovalbumin으로 유발된 천식에서 기관지 염증반응에 관한 연구, 이[8]의 조직학적 변화를 관찰한 연구 등에 관한 보고가 있다. 그리고 송[9]이 Xylene으로 유발된 마우스의 급성 염증에 定喘化痰降氣湯이 양호한 항염 효과를 내는 것으로 보고하였다.

녹용의 대한 연구로는, 급성염증을 유발시킨 흰쥐 혈액 중에서 급성기 반응 단백질의 농도를 감소시키거나, 녹용의 열탕 추출물로부터 항 염증 효과를 가진 펩타이드(peptide)를 분리하였다는

보고가 있으며, 지금까지의 녹용에 대한 연구결과들을 종합해보면 크게 조혈기능, 면역기능, 성장촉진, 간기능 강화, 항염증, 항스트레스, 노화방지, 골다공증의 예방과 치료 등 녹용의 의학적 응용분야는 매우 광범위하다고 알려져 왔다[10]. 이에 定喘化痰降氣湯加鹿茸은 定喘化痰降氣湯 보다 뛰어난 효력을 나타낼 것으로 생각되어 본 연구를 시행하게 되었다.

定喘化痰降氣湯加鹿茸의 급성 염증에 대한 항염효과를 확인하기 위해 Xylene-application mouse ear acute inflammation 모델을 이용하여 100, 250 및 500 mg/kg의 定喘化痰降氣湯加鹿茸 추출물을 전 투여한 후 Xylene을 mouse의 귀에 도포한 다음 초래되는 귀 중량, 귀의 조직학적 변화 및 귀 두께를 관찰하였으며, 대조약물로 Dexamethasone 및 Dicrofenac을 복강 투여하여 그 효능을 비교 관찰하였다.

II. 실 험

1. 재 료

1) 약 재

실험에 사용된 약재는 대구한의대학교 부속 대구한방병원 약제과에서 구입하여 사용하였으며, 定喘化痰降氣湯加鹿茸[5] 1첩 분량의 조성은 다음과 같다(Table 1).

Table 1. Composition of *Jungcheonhwadamgangki-tang ga Antler*

藥物名	生藥名	用量 (g)
陳 皮	*Citri Pericarpium*	8
柿 蒂	*Kaki Calyx*	6
半 夏	*Pinelliae Rhizoma*	4
南星炮	*Arisaematis Rhizoma*	4
杏 仁	*Armeniacae Amarum Semen*	4
五味子	*Schizandrae Fructus*	4
款冬花	*Farfarae Flos*	4
皂角刺	*Gleditsiae Spina*	4
沙 蔘	*Adenophorae Radix*	4
紫 菀	*Asteris Radix*	4
甘 草	*Glycyrrhizae Radix*	4
日當歸	*Angelicae Acutilobe Radix*	3
人 蔘	*Ginseng Radix*	3
蘇 子	*Perillae Fructus*	3
前 胡	*Peucedani Radix*	3
赤茯苓	*Poria*	3
貝 母	*Fritillariae Thunbergii Bulbus*	3
枳 實	*Panciri Fructus*	3
鹿茸 上	*Antler*	4
Total amount	19 types	75

2) 동 물

실험동물은 ICR mouse (Charles River, Japan)를 이용하였으며, 실험동물은 각 군 당 10 마리씩, 총 70 마리를 이용하였다. 실험동물은 5 마리씩 분리하여 polycarbonate cage에 수용하고, 온도 20-25 ℃ 및 습도 30-35%로 조절된 무균시설에서

사육하였으며, 명암주기는 12 : 12시간으로 조절하였다. 사료 및 음수는 자유롭게 섭취할 수 있도록 공급하였으며, 투여시작일과 최종 부검시 12시간 이상 절식시켰다. 실험동물은 picric acid를 이용하여 개체 번호를 식별하였다.

2. 방 법

1) 급성 염증의 유발

Hosseinzadeh 등[11]의 방법에 준하여, 약물 투여 30분 후 0.03 ㎖의 Xylene (Merck, Germany)을 마우스의 오른쪽 귀 inner surface에 점적하여 급성 염증을 유발하였다. 이때 정상군은 생리식염수를 동일한 방법으로 동량 점적하였다. 모든 실험동물은 Xylene-Application 2시간 후 희생시켰다.

2) 실험군의 구분

정상군, 대조군, Dexamethasone 15 ㎎/㎏ 복강 투여군(이하 DEXA 군), Dicrofenac 15 ㎎/㎏ 복강 투여군(이하 DICRO 군), 定喘化痰降氣湯加鹿茸 추출물 100 (JA100), 250 (JA250) 및 500 (JA500) ㎎/㎏ 투여군의 7 개군으로 구별하였다 (Table 2).

Table 2. Experimental Designs Used in This Study

Group ID	Treatment	Dosage	Xylene Application
Sham	D.W.	0 ㎎/㎏	No
Control	D.W.	0 ㎎/㎏	Yes
DEXA	Dexamethasone	15 ㎎/㎏	Yes
DICRO	Dicrofenac	15 ㎎/㎏	Yes
JA100	JCWDKKTA Extract	100 ㎎/㎏	Yes
JA250	JCWDKKTA Extract	250 ㎎/㎏	Yes
JA500	JCWDKKTA Extract	500 ㎎/㎏	Yes

JCWDKKTA Extract: *Jungcheonhwadamgangki-tang ga Antler* Extract; D.W.: Distilled Water; JCWDKKTA Extracts were dissolved in D.W. and dosed by gastric gavage at 10 ㎖/㎏ levels, and Dexamethasone (DEXA) and Dicrofenac (DICRO) was dosed by intraperitoneal injection at 10 ㎖/㎏ levels using saline as vehicle, 30 min after sing dosing of test articles and vehicle, Xylene was appliacated to the inner surface of unilateral ear. 2 hours after Xylene application, all animals were sacrificed.

3) 定喘化痰降氣湯加鹿茸의 추출

선정된 약제 10첩 분량(750 g)을 취하여 정제수 4000 ㎖로 가열 추출한 후 흡인 여과한 여과액을 rotary vacuum evaporator (N-N type; LAB Camp, Dajeon, Korea)로 감압·농축하여 점조성의 추출물을 얻은 다음 programmable freeze dryer (PVTFD10A; IlShin Lab., Seoul, Korea)를 사용하여 동결 건조시켜 1첩 당 18.296 g, 총 182.96 g (수율 약 24.39%)의 추출물을 얻어 실험에 사용하였다.

4) 약물의 투여

대조약물 투여군인 DEXA 및 DICRO 군에서는 각각 Dexamethasone (Sigma, USA) 및 Dicrofenac (Suzhou Leader Chemical Co., China) 15 ㎎/㎏을 생리 식염수에 녹여 10 ㎖/㎏의 농도로 단회 복강 투여하였으며, 定喘化痰降氣湯加鹿茸 추출물은 100, 250 또는 500 ㎎/㎏을 멸균 증류수에 녹여 단회 경구투여 하였다. 또한 대조군 및 정상군에서는 동일한 량의 멸균 증류수를 定喘化痰降氣湯加鹿茸 추출물과 동일한 방법으로 투여하였다. 모든 실험물질은 Xylene-Application 30분 전 단회 투여하였다.

5) 체중 및 체중증가량의 관찰

실험동물의 체중은 약물 투여 1일 전, 약물 및 급성 염증 유발 일(실험일)에 각각 측정하였으며, 모든 실험동물은 사료 섭취와 관련된 체중 차이를

줄이기 위해, 실험일에 18시간 이상 절식시켰다. 또한 실험 시작시의 개체별 체중 차이에 기인한 변화를 줄이기 위해 체중증가량을 계산하였다.

Body weight gains (g)

= Body weight at Sacrifice - Body weight at 1 day before dosing

6) 귀 중량의 관찰

모든 실험동물은 Xylene Application 2시간 후 최종 부검일에 Rompun® (Xylazine hydrochloride, 바이엘코리아) 0.2 ㎎/㎏을 복강 주사하여 진정시키고, Ketamine® (Ketamine hydrochloride, 유한양행) 1 ㎎/㎏을 복강 주사하여 마취시킨 다음, 양쪽 귀를 적출하여 g 단위로 중량을 측정하였다. 또한 개체간의 체중 차이에 기인한 오차를 줄이기 위하여 아래의 공식으로 상대 중량을 측정하였다.

Relative weight (%)

= [(Absolute Ear weight / Body weight at sacrifice) × 100]

유발된 정도에 의한 오차를 줄이기 위하여 정상 귀와 유발 귀사이의 중량 차이 역시 아래의 공식을 이용하여 측정하였다.

Differences (g)

= Induced ear weight - Intact ear weight

7) 조직학적 관찰

부검 시 유발 귀를 절취하여 10% neutral buffered formalin (10% NBF)에 24시간 이상 고정하였다. 이후 고정된 조직은 ethanol 탈수를 거쳐 일반적인 방법으로 paraffin에 포매 하였으며, 이후 3-4 ㎛의 연속절편을 제작한 다음 Masson's Trichrome 염색을 실시하고 광학현미경하에서 관찰하였다.

8) Histomorphometry 관찰

염색된 조직 표본 상에서 자동 조직영상장치 (analySIS Image Processing; SIS, Germany)를 이용하여 耳 연골을 포함하지 않은 반층 귀두께(ear thickness half)와 耳 연골을 포함한 전층 귀두께 (ear thickness full)를 각각 ㎛ 단위로 측정하였다.

9) 통계처리

모든 수치는 평균 ± 표준편차 (n=10)로 나타내었고, 대조군 또는 정상군과 비교하여 Mann-Whitney Wilcoxon's (MW) test를 실시하여 p value가 0.05 이하일 경우 유의성을 인정하였으며, 통계처리는 SPSS for Windows (Release 11.0.4, SPSS Inc., USA)를 사용하였다. 또한 체중 및 체중증가량의 변화를 제외한 모든 결과는 대조군의 경우 정상군과 비교한 % changes를 하기의 공식으로 계산하였으며, 또한 모든 약물 투여군은 대조군과 비교한 % changes를 아래의 공식을 이용하여 산출하였다.

% Changes vs Sham =

[(Data of Control - Data of Sham)/Data of Sham] × 100

% Changes vs Control =

[(Data of tested group - Data of Control)/Data of control] × 100

Ⅲ. 결 과

1. 체중 및 체중 증가량의 변화

1) 체중의 변화

투여 1일전 체중의 경우 정상군, 대조군, DEXA, DICRO, JA100, JA250 및 JA500 군에서 각각 34.76 ± 2.32, 34.79 ± 2.54, 34.92 ± 2.97, 34.53 ± 3.02, 34.78 ± 2.41, 34.74 ± 2.79 및 34.49 ± 3.08 g/head로 관찰되어 모든 실험군에서 유사한 체중을 나타내었으며 유의성은 없었다(Table 3).

또한 실험일에서도 정상군, 대조군, DEXA, DICRO, JA100, JA250 및 JA500 군에서 각각 30.80 ± 2.60, 30.88 ± 2.91, 30.93 ± 2.67, 30.48 ± 3.02, 30.88 ± 2.33, 30.82 ± 2.67 및 30.60 ± 2.97 g/head로 관찰되어 모든 실험군에서 유사한 체중을 나타내었으며 유의성은 없었다(Table 3).

2) 체중 증가량의 변화

정상군, 대조군, DEXA, DICRO, JA100, JA250

및 JA500 군에서 각각 -3.96 ± 1.00, -3.91 ± 0.78, -3.99 ± 0.82, -4.05 ± 0.55, -3.90 ± 0.43, -3.92 ± 0.56 및 -3.89 ± 0.45 g/head로 관찰되어 모든 실험군에서 유사한 체중 증가량을 나타내었다(Table 3).

Table 3. Body Weight Changes in Xylene-Application ICR Mice after *Jungcheonhwadamgangki-tang ga Antler* Extract Dosing

Group ID[a)]	Day -1	Day 0[b)]	Gains[c)]
Sham	34.76±2.32	30.80±2.60	-3.96±1.00
Control	34.79±2.54	30.88±2.91	-3.91±0.78
DEXA	34.92±2.97	30.93±2.67	-3.99±0.82
DICRO	34.53±3.02	30.48±3.02	-4.05±0.55
JA100	34.78±2.41	30.88±2.33	-3.90±0.43
JA250	34.74±2.79	30.82±2.67	-3.92±0.56
JA500	34.49±3.08	30.60±2.97	-3.89±0.45

[a)] Group ID were listed in Table 2; mean ± S.D., g (n=10); [b)] At experimental day after fasting; [c)] Body weight gains between Day -1 and Day 0.

2. 귀 중량의 변화

1) 절대 중량의 변화

정상 부위의 절대 귀 중량은 정상군, 대조군, DEXA, DICRO, JA100, JA250 및 JA500 군에서 각각 0.144 ± 0.013, 0.143 ± 0.007, 0.142 ± 0.013, 0.144 ± 0.011, 0.143 ± 0.008, 0.144 ± 0.006 및 0.143 ± 0.005 g/head로 관찰되어 모든 실험군에서 유사한 절대 중량치를 나타내었다(Table 4).

유발 부위의 귀 중량은 정상군, 대조군, DEXA, DICRO, JA100, JA250 및 JA500 군에서 각각 0.146 ± 0.012, 0.199 ± 0.013, 0.155 ± 0.017, 0.167 ± 0.015, 0.178 ± 0.012, 0.175 ± 0.019 및 0.163 ± 0.009 g/head로 관찰되어 DEXA 군을 제외한 모든 Xylene 적용군에서 정상군에 비해 유의성 있는 ($p<0.01$) 귀 중량의 증가를 나타내었으며, 대조군에 비해 유의성 있는($p<0.01$ 또는 $p<0.05$) 귀 중량의 감소가 모든 실험군에서 인정되었다(Table 4).

한편 정상 부위와 유발 부위의 귀 중량 차이는 정상군, 대조군, DEXA, DICRO, JA100, JA250 및 JA500 군에서 각각 0.002 ± 0.005, 0.057 ± 0.013, 0.013 ± 0.008, 0.023 ± 0.013, 0.035 ± 0.010, 0.032 ± 0.015 및 0.020 ± 0.005 g/head로 관찰되어, 모든 Xylene 적용군에서 정상군에 비해 유의성 있는($p<0.01$) 증가를 나타내었으며, 대조군에 비해 유의성 있는 ($p<0.01$ 또는 $p<0.05$) 귀 중량 차이의 감소가 모든 실험군에서 인정되었다. 특히 定喘化痰降氣湯加鹿茸 추출물 투여군에서는 대조군에 비해 투여 용량 의존적인 감소가 인정되었다. 이들 유발 부위와 정상부위 귀 중량의 차이는 각각 -77.21, -59.54, -37.46, -44.35 및 -64.31%의 변화를 나타내었다 (Table 4).

Table 4. Changes on Absolute Ear Weight at Sacrifice in Xylene-Application ICR Mice after *Jungcheonhwadamgangki-tang ga Antler* Extract Dosing

Group ID[a)]	Absolute weight (g)			
	Intact sides	Induced sides	Differences[b)]	Changes[c)]
Sham	0.144±0.013	0.146±0.012	0.002±0.005	
Control	0.143±0.007	0.199±0.013*	0.057±0.013*	2258.33%
DEXA	0.142±0.013	0.155±0.017$^{\#}$	0.013±0.008$^{*,\#}$	-77.21%
DICRO	0.144±0.011	0.167±0.015$^{*,\#}$	0.023±0.013$^{*,\#}$	-59.54%
JA100	0.143±0.008	0.178±0.012$^{*,\#}$	0.035±0.010$^{*,\#}$	-37.46%
JA250	0.144±0.006	0.175±0.019$^{*,\#}$	0.032±0.015$^{*,\#}$	-44.35%
JA500	0.143±0.005	0.163±0.009$^{*,\#}$	0.020±0.005$^{*,\#}$	-64.31%

[a)] Group ID ware listed in Table 1; mean ± S.D., (n=10); [b)] Differences between intact and induced sides; [c)] Changes vs Sham or Control; * $p<0.01$ compared to that of Sham; # $p<0.01$ compared to that of Control.

2) 상대 중량의 변화

정상 부위의 상대 귀 중량은 정상군, 대조군, DEXA, DICRO, JA100, JA250 및 JA500 군에서 각각 0.469 ± 0.051, 0.466 ± 0.051, 0.465 ± 0.069, 0.475 ± 0.039, 0.464 ± 0.047, 0.469 ± 0.050 및 0.471 ± 0.053%로 관찰되어, 모든 실험군에서 유사한 중량치를 나타내었다(Table 5).

유발 부위의 귀 중량은 0.477 ± 0.047, 0.651 ± 0.078, 0.507 ± 0.077, 0.552 ± 0.061, 0.579 ± 0.056, 0.574 ± 0.100 및 0.537 ± 0.064%로 관찰되어, DEXA 군을 제외한 모든 Xylene 적용군에서 정상군에 비해 유의성 있는($p<0.01$ 또는 $p<0.05$) 귀 중량의 증가를 나타내었으며, 대조군에 비해 유의성 있는($p<0.01$ 또는 $p<0.05$) 귀 중량의 감소가 DEXA, DICRO, JA250 및 JA500 군에서만 인정되었고, JA100 군에서도 대조군에 비해 현저한 감소를 나타내었으나 유의성은 인정되지 않았다(Table 5).

정상 부위와 유발 부위의 귀 중량 차이는 정상군, 대조군, DEXA, DICRO, JA100, JA250 및 JA500 군에서 각각 0.008 ± 0.016, 0.185 ± 0.049, 0.042 ± 0.026, 0.076 ± 0.046, 0.115 ± 0.029, 0.105 ± 0.050 및 0.067 ± 0.018%로 관찰되어, 모든 Xylene 적용군에서 정상군에 비해 유의성 있는($p<0.01$) 증가를 나타내었으며, 대조군에 비해 유의성 있는($p<0.01$) 귀 중량 차이의 감소가 모든 투여군에서 인정되었다. 한편 定喘化痰降氣湯加鹿茸 추출물 투여군에서는 대조군에 비해 투여 용량 의존적인 감소가 인정되었다. 이들 유발 부위와 정상부위 상대 귀 중량의 차이는 각각 -77.55, -58.83, -38.04, -43.33 및 -64.01%의 변화를 나타내었다(Table 5).

Table 5. Changes on Relative Ear Weight at Sacrifice in Xylene-Application ICR Mice after *Jungcheonhwadamgangki-tang ga Antler* Extract Dosing

Group ID[a]	Relative weight (%)			
	Intact sides	Induced sides	Differences[b]	Changes[c]
Sham	0.469±0.051	0.477±0.047	0.008±0.016	
Control	0.466±0.051	0.651±0.078*	0.185±0.049*	2287.33%
DEXA	0.465±0.069	0.507±0.077*,#	0.042±0.026*,#	-77.55%
DICRO	0.475±0.039	0.552±0.061*,#	0.076±0.046*,#	-58.83%
JA100	0.464±0.047	0.579±0.056*	0.115±0.029*,##	-38.04%
JA250	0.469±0.050	0.574±0.100**,##	0.105±0.050*,##	-43.33%
JA500	0.471±0.053	0.537±0.064**,#	0.067±0.018*,##	-64.01%

[a] Group ID was listed in Table 1; mean ± S.D., (n=10); Relative weight (%) was ratio vs body weight at sacrifice; [b] Differences between intact and induced sides; [c] Changes vs Sham or Control;
* $p<0.01$ compared to that of Sham; ** $p<0.05$ compared to that of Sham; # $p<0.01$ compared to that of Control; ## $p<0.05$ compared to that of Control.

3. 유발 귀의 조직병리학적 변화

정상군의 경우, 비교적 치밀한 각질 중층편평상피(Keratinized stratified squamous epithelium), 피하조직(subcutaneous tissue) 및 귀 연골 등 전형적인 귀 조직상을 나타내었다(Fig. 1a). 그러나 대조군의 경우, 피하 부종(subcutaneous edema)에 의한 귀 조직자체의 비후와 일부 중성호성 백혈구(neutrophil) 등과 같은 급성 염증 세포의 침윤 등 전형적인 급성 염증 소견이 인정되었다(Fig. 1b, c). 그러나 DEXA 및 DICRO 군에서 이러한 전형적인 급성 염증소견이 줄어들어 현저한 항염 효과가 인정되었으며(Fig. 2a, b), 또한 JA100, JA250 및 JA500 군에서 이러한 전형적인 귀 조직의 급성 염증소견이 투여 용량 의존적으로 경감되는 것으로 관찰되었다(Fig. 3a-c).

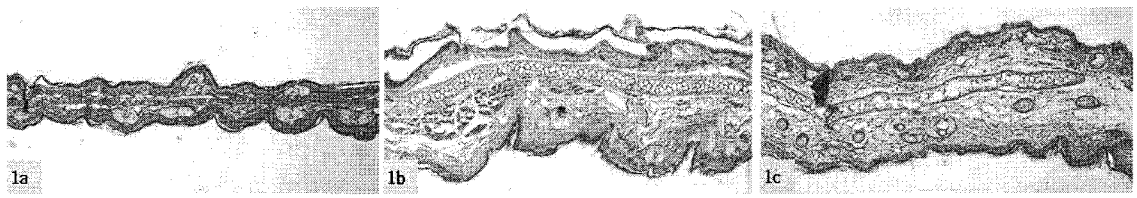

Fig. 1. Histological profiles of ear in Sham and Control groups.

1a. Sham 1b. Control 1c. Control ; All Masson's Trichrome Stain; × 100
Note that normal histological appearance of ear including keratinized stratified squamous epithelium were demonstrated in sham group with relatively well developed subcutaneous tissue and ear cartilage. However, classic acute inflammatory changes on the histological profiles of ear including edematous changes throughout the whole ear tissues with infiltration of inflammatory cells. Therefore the ear thickness were markedly increased in Control compared to that of Sham.

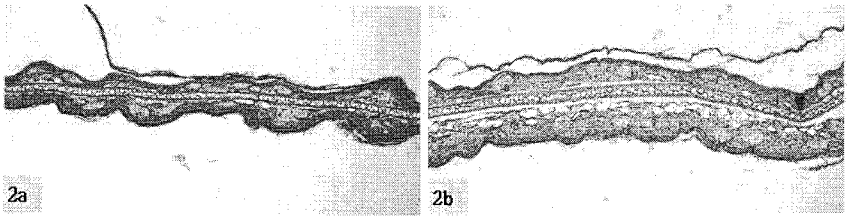

Fig. 2. Histological profiles of ear in Reference drug-dosing groups.

2a. DEXA group 2b. DICRO group ; All Masson's Trichrome Stain; × 100
Note that classic acute inflammatory changes on the histological profiles of ear including edematous changes throughout the whole ear tissues with infiltration of inflammatory cells were also demonstrated and the ear thickness in DICRO were markedly increased compared to those of Sham. Respectly, these changes on histological profiles were dramatically decreased compared to those of Control. In addition, quite similar histological profiles of ear were detected in DEXA compared to those of Sham.

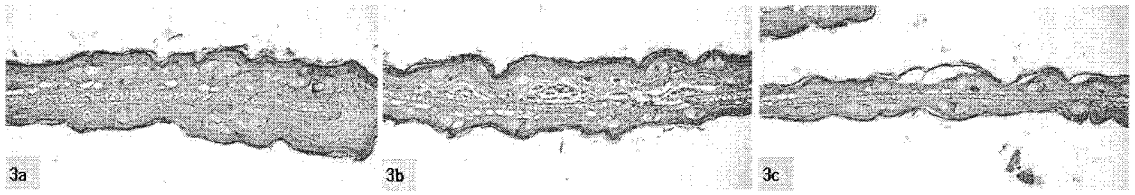

Fig. 3. Histological profiles of ear in *Jungcheonhwadamgangki-tang ga Antler* extract dosing groups.

3a. 100mg/kg-dosing group 3b. 250mg/kg-dosing group 3c. 500mg/kg-dosing group ; All Masson's Trichrome Stain; × 100
Note that classic acute inflammatory changes on the histological profiles of ear including edematous changes throughout the whole ear tissues with infiltration of inflammatory cells were also detected and the ear thickness were markedly increased. However, these changes on histological profiles were dramatically and dose-dependently decreased compared to those of Control in all *Jungcheonhwadamgangki-tang ga Antler* extract dosing groups.

4. Histomorphometry의 변화

1) 반층 귀두께(ear thickness half)의 변화

정상군의 경우에는 반층 귀두께가 55.62 ± 13.46 ㎛로 관찰되었으나, 대조군에서는 216.20 ± 41.07 ㎛로 관찰되어, 정상군에 비해 유의성 있는 ($p<0.01$) 증가 즉, 281.84%의 증가를 나타내었다.

한편 DEXA, DICRO, JA100, JA250 및 JA500 군에서는 반층 귀두께가 각각 79.02 ± 26.26, 117.99 ± 42.80, 132.73 ± 29.77, 128.65 ± 32.05 및 89.41 ± 17.64㎛로 관찰되어, 모든 투여군에서 대조군에 비해 유의성 있는($p<0.01$ 또는 $p<0.05$) 반층 귀두께의 감소가 관찰되었으며, 定喘化痰降氣湯加鹿茸 추출물 투여군에서는 대조군에 비해 투여 용량 의존적인 감소가 인정되었다. 반층 귀두께는 대조군에 비해 각각 -63.45, -45.42, -38.61, -40.49 및 -58.64%를 나타내었다(Table 6).

2) 전층 귀두께(ear thickness full)의 변화

정상군의 경우에는 전층 귀두께가 158.00 ± 26.29 ㎛로 관찰되었으나, 대조군에서는 427.22 ± 80.43 ㎛로 관찰되어, 정상군에 비해 유의성 있는 ($p<0.01$) 증가 즉, 170.40%의 증가를 나타내었다.

한편 DEXA, DICRO, JA100, JA250 및 JA500 군에서는 전층 귀두께가 각각 186.58 ± 22.50, 251.84 ± 63.78, 282.02 ± 58.57, 249.08 ± 57.16 및 187.52 ± 25.95 ㎛로 관찰되어, 모든 투여군에서 대조군에 비해 유의성 있는($p<0.01$) 전층 귀두께의 감소가 관찰되었으며, 定喘化痰降氣湯加鹿茸 추출물 투여군에서는 대조군에 비해 투여 용량 의존적인 감소가 인정되었다. 전층 귀두께는 대조군에 비해 각각 -71.12, -41.05, -33.99, -41.70 및 -56.11%를 나타내었다(Table 6).

Table 6. Changes on Ear Thickness Half and Thickness Full in Xylene-Application ICR Mice after *Jungcheonhwadamgangki-tang ga Antler* Extract Dosing

Group ID[a]	Thickness half (㎛)[b]	Changes[c]	Thickness full (㎛)	Changes
Sham	56.62±13.46		158.00±26.29	
Control	216.20±41.07*	281.84%	427.22±80.43*	170.40%
DEXA	79.02±26.26**,#	-63.45%	186.58±22.50**,#	-71.12%
DICRO	117.99±42.80*,#	-45.42%	251.84±63.78*,#	-41.05%
JA100	132.73±29.77*,#	-38.61%	282.02±58.57*,#	-33.99%
JA250	128.65±32.05*,#	-40.49%	249.08±57.16*,#	-41.70%
JA500	89.41±17.64*,#	-58.64%	187.52±25.95**,#	-56.11%

[a] Group ID was listed in Table 1; mean ± S.D., (n=10); [b] Thickness full (including ear cartilages) and half (upper sides excluded the ear cartilage) are measured using automated image analyzer; [c] Changes vs Sham or Control; * $p<0.01$ compared to that of Sham; ** $p<0.05$ compared to that of Sham; # $p<0.01$ compared to that of Control; ## $p<0.05$ compared to that of Control.

Ⅳ. 고 찰

염증 반응은 면역계를 동원하는 생체의 방어와 상처의 치유에 핵심적인 역할을 할 뿐 아니라 많은 질병의 병리 발생에 관련되어 있는 중요한 과정이다. 염증 반응의 궁극적인 목적은 손상 원인을 제거하여 조직 손상을 극소화시킴으로써 원상태로 수복시키려는 것으로, 계속된 염증 반응으로 손상된 조직은 여러 형태로 치유되고 구축된다[12].

현재까지 수많은 항염 물질들이 다양한 방법을 통해 개발되어져 왔으며, Xylene-application 마우스 ear acute inflammation 모델은 급성 염증에 대

한 효력평가시 가장 일반적으로 이용되는 방법으로 알려져 있다[11,13]. Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs (NSAIDs)의 일종인 Dicrofenac과 부신피질호르몬 제제인 Dexamethasone은 항염 실험에서 가장 흔히 사용되는 reference 물질이며, Dicrofenac 및 Dexamethasone의 Xylene-application 마우스 ear acute inflammation 모델에서의 효과는 비교적 잘 알려져 있고, 이 모델에서 여러 가지 물질들의 급성 염증에 대한 평가 시 reference 물질로 사용되어져 왔다[14,15].

Xylene-application 마우스 ear acute inflammation 모델에서는 Xylene 등의 염증유발 물질의 국소적 도포에 의해 초래되는 귀 부종의 변화를 평가하여 약효를 검증하며, 조직학적 변화 역시 하나의 중요한 기준으로 간주되고 있다[16-22]. 현재까지 송[9]이 定喘化痰降氣湯이 Xylene으로 유발된 마우스의 급성 염증에 양호한 항염 효과를 내는 것으로 보고하였는데, 천식 등의 호흡기계 염증성 질환의 치료제로 사용되어져 온 定喘化痰降氣湯加鹿茸의 Xylene-application mouse ear acute inflammation 모델에서의 항염 효과에 대한 보고는 찾아볼 수 없었다.

定喘化痰降氣湯加鹿茸은 咳嗽, 痰喘, 氣喘, 기관지 천식 등에 사용하는데 千緡湯, 定喘化痰湯, 蘇子降氣湯 三個처방을 합방하여 鹿茸을 加味한 것으로, 천식을 위시한 호흡기계 염증성 질환 치료에 사용되어져 왔다. 鹿茸은 인체의 정혈 (情血)을 보강하는 효과가 커서 소아의 성장 발육에 좋고, 면역력이 약해 호흡기 질환이 잘 걸릴 때 면역을 증강시켜 주어 호흡기 질환예방에 효과가 크며, 빈혈이나 큰 병을 앓고 난 뒤 회복시키는 힘이 강하고, 단독으로 쓰기보다는 다른 한약재와의 혼합처방이 서로의 효능을 상승시키는 것으로 알려져 있다[4,5].

본 연구에서는 定喘化痰降氣湯加鹿茸 추출물의 급성 염증에 대한 항염 효과를 확인하기 위해 Xylene-application mouse ear acute inflammation 모델을 이용하여 100, 250 및 500 mg/kg의 定喘化痰降氣湯加鹿茸 추출물을 전 투여한 후 Xylene을 mouse 귀에 도포한 다음 초래되는 귀 중량, 귀의 조직학적 변화 및 귀 두께를 관찰하였으며, 아울러 항염 효과에 대한 대조약물로 Dexamethasone 및 Dicrofenac 15 mg/kg을 복강 투여하여, 그 효능을 비교 관찰하였다.

체중 및 체중 증가량을 살펴보면, 대조군을 포함 모든 실험군에서 정상군과 유사한 체중 및 체중 증가량을 나타내어 투여 약물에 의한 독성 징후는 관찰되지 않았으며, 급성 염증시의 변화가 수반되지 않는 것으로 판단되었다.

또한 Xylene 적용 후 정상군에 비해 대조군에서는 현저한 절대 및 상대 귀 중량의 증가가 관찰되었으며, 정상 부위와 유발부위의 중량 차이 역시 정상군에 비해 현저히 증가되는 것으로 관찰되었다. 이러한 귀 중량의 증가는 전형적인 Xylene-application mouse ear acute inflammation 모델 소견이며[16-22], 이러한 귀 중량은 定喘化痰降氣湯加鹿茸 추출물 투여군과 DEXA 및 DICRO 투여군에서 대조군에 비해 유의성($p<0.01$ 또는 $p<0.05$) 있게 감소되어 이들 약물이 Xylene-application mouse ear acute inflammation에 대한 항염 효과를 나타내는 것으로 생각된다. 특히 定喘化痰降氣湯加鹿茸 추출물 투여군의 경우, 투여 용량 의존적으로 귀 중량의 감소가 초래되어 이들 추출물이 항염 활성을 가지고 있을 것으로 생각되었다.

조직학적 변화와 귀 두께의 변화를 살펴보면, 급성 염증시에는 일반적으로 조직부종과 급성 염증세포의 침윤이 관찰되는데[23-25] 본 실험의 결과에서도 현저한 부종에 의한 귀 조직 자체의 비후가 대조군에서 인정되었으며, 이로 인한 반층 귀 두께와 전층 귀 두께의 현저한 증가가 인정되었다. 일반적으로 후보물질의 Xylene-application mouse ear acute inflammation 모델에서 항염 효과 평가시 염증과정의 억제, 조직부종의 감소 및 염증세포의 침윤 억제 등을 조직학적으로 판단하

게 된다[23-25].

본 실험의 결과 대조군에 비해 定喘化痰降氣湯加鹿茸 추출물 투여군과 DEXA 및 DICRO 투여군에서 이러한 조직학적 소견 및 귀 두께가 유의성($p<0.01$) 있게 감소되어 이들 약물이 Xylene-application mouse ear acute inflammation에 대한 항염 효과를 나타내는 것으로 생각된다. 특히 定喘化痰降氣湯加鹿茸 추출물 투여군의 경우 투여 용량 의존적으로 감소가 초래되었으므로 이들 추출물이 항염 활성을 가지고 있을 것으로 추정되었다.

송[9]의 연구결과에 따르면 500 mg/kg의 定喘化痰降氣湯 추출물 경구 투여군이 DICRO 15 mg/kg 복강 투여군과 유사한 항염 효과를 나타내었는데, 본 연구 결과 定喘化痰降氣湯加鹿茸 추출물은 250 mg/kg 경구 투여군이 DICRO 15 mg/kg 복강 투여군과 유사한 항염 효과를 나타내는 것으로 관찰되어 定喘化痰降氣湯加鹿茸이 定喘化痰降氣湯보다 우수한 항염 효과를 보였다.

V. 결 론

定喘化痰降氣湯加鹿茸 추출물의 급성 염증에 대한 항염 효과를 평가하기위해 Xylene-application mouse ear acute inflammation 모델을 이용하여 定喘化痰降氣湯加鹿茸 추출물을 전 투여한 후 Xylene을 mouse 귀에 도포한 다음 초래되는 귀 중량, 귀의 조직학적 변화 및 귀 두께를 Histomorphometry를 통해 비교 관찰 한 후 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 체중 및 체중증가량의 변화의 경우 모든 定喘化痰降氣湯加鹿茸 추출물 투여군에서는 대조군과 유사한 체중 및 체중 증가량을 나타내었다.
2. 귀 중량 변화의 경우 定喘化痰降氣湯加鹿茸 추출물 투여군에서는 대조군에 비해 현저한 절대 및 상대 귀 중량의 감소와 정상부위와 유발부위의 차이의 감소를 나타내었으며, 특히 투여 용량 의존적으로 관찰되었다.
3. 귀 조직 변화의 경우 定喘化痰降氣湯加鹿茸 추출물 투여군에서는 에서 대조군에 비해 조직학적 염증변화가 현저하게 경감되었으며, 특히 투여 용량 의존적으로 경감되었다.
4. Histomorphometry 변화의 경우 定喘化痰降氣湯加鹿茸 추출물 투여군에서는 대조군에 비해 현저한 반층 귀 두께 및 전층 귀 두께의 감소를 나타내었으며, 특히 이러한 귀 두께의 감소가 투여 용량 의존적으로 관찰되었다.

이상으로 定喘化痰降氣湯加鹿茸이 기관지천식 등의 급성 염증질환에서 양호한 항염 효과가 있을 것으로 생각되며, 향후 定喘化痰降氣湯加鹿茸의 만성염증에 대한 항염 효과의 연구가 필요할 것으로 생각된다.

참고문헌

1. 대한병리학회. 병리학(제5판). 서울:고문사. 2005:68.
2. 전국의과대학교수 번역. 오늘의 진단 및 치료. 서울:도서출판 한우리. 1999:287-9.
3. Barns P, Pederson S. Efficacy and safety of inhaled corticosteroids in asthma. Am Rev Respir Dis. 1993:148:1-26.
4. 전국한의과대학 폐계내과학교실편저. 東醫肺系內科學. 서울:도서출판 국진기획. 2004:199,576,587.
5. 경희의료원한방병원. 한방기본처방집. 서울:대성문화사. 1988:191.
6. 박동일, 정승기, 이형구. 定喘化痰湯 및 定喘化痰降氣湯의 효능에 관한 실험적 연구. 경희의학. 1989:5(2):183.
7. 안태호, 황희정, 김대준, 박지현, 최해윤, 김종대. 定喘化痰降氣湯이 ovalbumin으로 유발된 천식

에 미치는 영향. 방제학회지. 2000:8(1):191-211.
8. 이상준, 박지현, 최해윤, 김종대. 定喘化痰降氣湯이 ovalbumin으로 유발된 천식의 조직화학적 변화에 미치는 영향. 방제학회지. 2001:9(1):273-288.
9. 송무식, 조동희, 전귀옥, 박미연, 최해윤, 김종대. 定喘化痰降氣湯이 Xylene으로 유발된 마우스의 급성 염증에 미치는 영향. 동의생리병리학회지. 2006:20(4):875-881.
10. 녹용의 정의, 성분 및 약효. 농촌진흥청. 축산과학원 축산자원개발부. Available at http://www.rda.go.kr/user.tdf?a=user.skilldic.SkillDicApp&c=1003&categories=0.T20041226995&seq=3354 (accessed on December 15, 2007).
11. Hosseinzadeh H, Haddadkhodaparast MH, Arash AR. Anti-nociceptive, anti-inflammatory and acute toxicity effects of *Salvia leriifolia* Benth seed extract in mice and rats. Phytother Res. 2003:17(4):422-5.
12. 최명애, 홍해숙, 박미정, 최스미, 이경숙, 서화숙, 신기수. 병태생리학. 서울:계축문화사. 2003:24-5.
13. Kou J, Ni Y, Li N, Wang J, Liu L, Jiang ZH. Analgesic and anti-inflammatory activities of total extract and individual fractions of Chinese medicinal ants *Polyrhachis lamellidens*. Biol Pharm Bull. 2005:28(1):176-80.
14. Ramprasath VR, Shanthi P, Sachdanandam P. Immunomodulatory and anti-inflammatory effects of *Semecarpus anacardium* LINN. Nut milk extract in experimental inflammatory conditions. Biol Pharm Bull. 2006:29(4):693-700.
15. Hosseinzadeh H, Younesi HM. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Crocus sativus* L. stigma and petal extracts in mice. BMC Pharmacol. 2002:15(2):7.
16. Abdel-Salam OM, Baiuomy AR, El-batran S, Arbid MS. Evaluation of the anti-inflammatory, anti-nociceptive and gastric effects of *Ginkgo biloba* in the rat. Pharmacol Res. 2004:49(2):133-42.
17. Al-Majed AA, Khattab M, Raza M, Al-Shabanah OA, Mostafa AM. Potentiation of dicrofenac-induced anti-inflammatory response by aminoguanidine in carrageenan-induced acute inflammation in rats: the role of nitric oxide. Inflamm Res. 2003; 52(9):378-82.
18. Vetrichelvan T, Jegadeesan M. Effect of alcohol extract of *Achyranthes aspera* Linn. on acute and subacute inflammation. Phytother Res. 2003:17(1):77-9.
19. Giner-Larza EM, Manez S, Giner RM, Recio MC, Prieto JM, Cerda-Nicolas M, Rios JL. Anti-inflammatory triterpenes from *Pistacia terebinthus* galls. Planta Med. 2002:68(4):311-5.
20. Hosseinzadeh H, Ramezani M, Fadishei M, Mahmoudi M. Antinociceptive, anti-inflammatory and acute toxicity effects of *Zhumeria majdae* extracts in mice and rats. Phytomedicine. 2002:9(2):135-41.
21. Gomez MA, Saenz MT, Garcia MD, Fernandez MA. Study of the topical anti-inflammatory activity of *Achillea ageratum* on chronic and acute inflammation models. Z Naturforsch [C]. 1999:54(11):937-41.
22. Rossetti RG, Seiler CM, Brathwaite K, Zurier RB. Effect of Misoprostol on Acute and Chronic Inflammation. Am J Ther. 1995:2(9):600-6.
23. Kou J, Ma R, Zhu D, Yan Y. Blood-activating and anti- inflammatory actions of *Polygala fallax*. Zhong Yao Cai. 2003; 26(4):268-71.
24. Rotelli AE, Guardia T, Juarez AO, de la

Rocha NE, Pelzer LE. Comparative study of flavonoids in experimental models of inflammation. Pharmacol Res. 2003;48(6):601-6.
25. De La Puerta R, Martinez E, Bravo L, Ahumada MC. Effect of silymarin on different acute inflammation models and on leukocyte migration. J Pharm Pharmacol. 1996;48(9):968-70.