

玉屏風散合蒼耳子散의 항알레르기 효능에 대한 연구

정진기, 박용기*

동국대학교 한의과대학 본초학교실

Anti-allergic effect of *Okbyeongpungsan-Hap-Changijasan*

Jin-Ki Jung, Yong-Ki Park*

Dept. of Herbology, College of Oriental Medicine, Dongguk University

ABSTRACT

Objectives : In this study, we investigated anti-allergic effect of *Okbyeongpungsan-Hap-Changijasan*(KOB01) in allergic rhinitis(AR) experimental animals and mast cells.

Methods : The potential anti-allergic effect of KOB01 was investigated in a rat model of compound 48/80-induced systemic anaphylactic shock and a mouse of ovalbumin(OVA)-induced AR, and human mast cell line, HMC-1 culture. Each animals were divided into four groups: normal, control, KOB01-treated(100 and 200 mg/kg) and anti-histamine drug, dosodium cromoglycate (DSCG)-treated(50 mg/kg). Animals were orally treated with KOB01 and DSCG and intraperitoneally injected with compound 48/80(10 µg/kg) or sensitized with 0.1% OVA. The mortality and serum histamine levels were measured in compound 48/80-induced anaphylactic rats. The histological changes in nasal mucosa were investigated in OVA-induced AR mice. Also, mast cell degranulation was observed in compound 48/80-stimulated HMC-1 cells.

Results : KOB01 increased mortality and significantly decreased serum histamine levels in compound 48/80-induced anaphylactic rats. The abnormal histological changes such as expansion of glandular cells and hypertrophy of epithelium in nasal mucosa of OVA-induced AR mice was improved by KOB01 treatment nearby a normal group. Therefore, KOB01 inhibited compound 48/80-induced degranulation in HMC-1 cells.

Conclusions : These results indicate that KOB01 decrease allergic response through suppressing the mast cell activation in AR and suggest a potential role for KOB01 as a source of anti-allergic agents for use in allergic disorders including of AR.

Key words : Okbyeongpungsan, Changijasan, anti-allergy, allergic rhinitis

서론

최근 사회가 산업화되면서 공기오염, 먼지와 같은 환경오염과 과도한 정신적 스트레스, 생활환경의 변화 등으로 체내 면역기능의 약화와 항원의 증가에 따라

알레르기 비염이 점차 증가하는 추세에 있다¹⁾. 알레르기 비염은 코 점막이 집먼지 진드기, 꽃가루, 동물의 털, 곰팡이 등의 특정 알레르기 항원(알레르겐, allergen)에 대하여 과민반응을 나타내는 것으로 연속적인 재채기 발작, 맑은 콧물, 鼻閉塞을 주요 특징으로

* 교신저자 : 박용기, 경북 경주시 석장동 707번지 동국대학교 한의과대학

· E-mail : yongki@dongguk.ac.kr · Tel : 054-770-2661

· 접수 : 2010년 4월 22일 · 수정 : 2010년 6월 15일 · 채택 : 2010년 6월 22일

하는 증상이며 전체 인구의 알레르기 비염은 코 점막이 집먼지 진드기, 꽃가루, 동물의 털, 곰팡이 등의 특정 알레르기 항원(알레르겐, allergen)에 대하여 과민반응을 나타내는 것으로 연속적인 재채기 발작, 맑은 콧물, 鼻閉塞을 주요 특징으로 하는 증상이며 전체 인구의 약 20% 정도가 경험하였거나 현재 발병상태에 있을 정도로 임상에서 흔히 접할 수 있는 질환이다²⁾. 알레르기 비염에는 급성이면서 꽃가루가 날아다니는 계절과 관련이 있는 계절성 알레르기성 비염과, 만성이며 계절과 관련 없이 연중 집안의 먼지, 진드기, 곰팡이가 주요한 항원이 되어 발생하는 통년성 알레르기성 비염으로 나누어지며, 알레르기를 일으키는 물질(알레르겐, allergen)로부터 피하는 회피요법, 약물요법, 면역요법, 수술치료 등이 치료방법으로 사용되고 있으나 실제 완전한 치료는 매우 어렵다^{3,4)}.

비만세포(mast cell)는 피부 바로 아래와 전신의 느슨한 연결조직 안에 존재하는 면역세포로서 Fcε RI라는 IgE 항체가 붙을 수 있는 표면인자가 있어서 IgE 항체에 알레르겐이 결합하게 되면 활성화되어 세포과립내 히스타민(histamine), 혈소판 활성화인자(platelet activating factor), 세로토닌(serotonin) 및 혈관에 작용하는 아민류나 지질매개물 등 다양한 화학매개물질들과 사이토카인류를 분비하는데 이 과정을 통해 알레르기 반응이 유발되며 만성적인 염증반응을 유도하게 된다^{5,6)}. 따라서 비만세포로부터 유발되는 알레르기 면역반응이 어떻게 조절되는가를 이해하고 활성화된 비만세포로부터 다량 합성되어 분비되는 화학매개물질들과 염증사이토카인류를 억제시켜주는 것은 알레르기 비염을 예방하거나 개선시켜 줄 수 있는 유효한 치료법 개발 전략이 될 수 있다⁷⁾.

한의학에서 코는 오장 중에서 肺의 상태를 반영하는 곳으로 알레르기 비염은 肺氣가 허약해져서 우리 몸의 겉면을 방어하는 衛氣가 막아주지 못하기 때문이라고 보는데, 주로 風寒, 風熱, 脾虛로 나누며 膽經의 열이 腦髓로 옮겨가는 내적 원인과 風寒으로 火邪가 뭉쳐서 발생하는 외적 원인으로 발병한다고 보며, 肺經風熱, 脾胃濕熱, 膽經熱, 肺經鬱熱, 肺脾氣虛 등으로 분류하기도 한다^{8,9)}.

알레르기 비염에는 蘇合香元과 玉屏風散이 주로 사용되는데 玉屏風散은 白朮, 防風, 黃芪로 이루어진 처방으로 益氣固表 작용에 의해 外邪의 체내 침입을 방지하고 면역력을 증강시키며 알레르기 체질을 개선함으로써 그 증상의 발현을 억제하는 작용을 하는 것으로 알려져 있다¹⁰⁾. 또한 肺氣를 보하기 위해 옥병풍산에 황기와 백출을 증미하거나, 陰虛로 自汗이 되는 경우에 地黃湯과 合方 및 氣虛로 자한이 되는 경우 補益湯과 합방 또는 浮小麥을 加해서 사용하기도 한다¹¹⁾. 한편, 蒼耳子散은 蒼耳子, 白芷, 辛夷, 薄荷로 구성된 發散風寒藥으로 일체의 風濕邪를 제거함으로써 風濕이 위로 鬱遏하여 된 頭痛鼻淵과 근골에 침습하여 된 風濕痺痛 및 피부에 음습하여 된 瘡疹瘙癢 등의 증상에 사용하는 것으로 알려져 있다¹²⁾. 옥병풍산에 대한 실험연구는 小青龍湯合玉屏風散의 난알부민 유도 알레르기 비염 생쥐에서의 IgE 및 사이토카인류 생성 감소효과¹³⁾와 玉屏風散加味の compound 48/80 유도 전신성 즉시형 알레르기 반응에 대한 억제효과가 보고되어 있으며¹⁴⁾, 蒼耳子散에 대한 실험연구로 흰쥐에서의 소염, 진통, 해열 및 히스타민 분비억제 효과에 대한 보고가 있다¹²⁾.

따라서 본 연구에서는 玉屏風散에 蒼耳子散을 가미한 옥병풍산합창이자산(玉屏風散合蒼耳子散 (Okbyungpoongsan-Hap-Changijasan; KOB01) 물추출물의 compound 48/80 유도 전신성 즉시형 알레르기 반응과 난알부민 유도 알레르기 비염 동물모델 및 비만세포에서의 항알레르기 효능을 조사하였다.

방 법

1. 재료

1) 약재

본 실험에 사용된 옥병풍산합창이자산(KOB01) 처방(Table 1)의 구성약재는 (주)광명당제약(울산, 한국)으로부터 구입하여 동국대학교 한의과대학 본초학교실에서 정선한 후 사용하였다.

本草名	學名	生藥名	分量(g)
白芷	<i>Angelica dahurica</i> Bentham et Hooker	Angelicae Dahuricae Radix	56,25
白朮	<i>Atractylodes japonica</i> Koidz	Atractylodis Rhizoma Alba	28,125
辛荑	<i>Magnolia denudata</i> Desrousseaux	Magnoliae Flos	28,125
黃芪	<i>Astragalus membranaceus</i> Bunge	Astragali Radix	13,5
防風	<i>Saposhnikovia divaricata</i> Schischkin	Saposhnikoviae Radix	13,5
蒼耳子	<i>Xanthium strumarium</i> Linne	Xanthii Fructus	13,5
羌活	<i>Ostericum koreanum</i> Maximowicz	Osterici Radix	11,25
黃芩	<i>Scutellaria baicalensis</i> Georgi	Scutellariae Radix	7,875
細辛	<i>Asarum sieboldi</i> Miq	Asia Radix	7,875
甘草	<i>Glycyrrhiza uralensis</i> Fisch	Glycyrrhizae Radix	5,625
薄荷	<i>Mentha arvensis</i> Linne var. <i>piperascens</i> Malinvand	Menthae Herba	5,625
Total	amount		191,25

Table 1. Prescription contents of *Okbyungpoongsan-Hap-Changijasan* (KOB01)

2) 동물

실험동물은 Sprague-Dawley계 180~210 g 수컷 흰쥐(rat)와 20~25 g 내외의 Balb/c계 수컷 생쥐(mouse)를 (주)코아텍(경기도, 한국)에서 구입하여 사용하였으며, 고품사료와 물은 제한 없이 공급하면서 $23 \pm 3^\circ\text{C}$ 온도범위와 $50 \pm 10\%$ 상대습도를 유지하였고, 12시간 낮, 12시간 밤의 생활리듬을 주었으며 구입 후 항온항습상태에서 1주간 적응시킨 후 모델제작에 사용하였다.

3) 시약 및 기기

실험에 사용되어진 시약은 dimethyl sulfoxide(DMSO, Sigma-Aldrich, St. Louise, CA, USA), phorbol myristate acetate(PMA, Sigma-Aldrich), ionophore A23187 (Sigma-Aldrich), compound 48/80(Sigma-Aldrich), fetal bovine serum(FBS, Thermo HyClone, Seoulin Biosciences Co., Seoul, South Korea), Iscove's Modified Dulbecco's Medium(IMDM, Seoulin Biosciences Co.), ovalbumin(chicken egg albumin, grade V, Sigma-Aldrich), 3-4,5-dimethylthazol-2-yl-2,5-tetrazolium bromide(MTT, Sigma-Aldrich), n-trityl-1,3-propanediamine acetate(Sigma-Aldrich), Al(OH)₃ gel(Sigma-Aldrich), histamine release assay kit(SPI Bio Bertin Pharma, Montigny-le-Bretonneux, France), Thermo hematoxylin & eosin stain kit(Seoulin Biosciences Co., Seoul, South Korea) 등이다.

실험에 사용되어진 기기는 microplater reader (Asys, Sunnyvale, CA, USA), freeze-dryer(Daeil Bio Tech, Gyeongkido, South Korea), rotary evaporator(Eyela, Tokyo, Japan), UV-VIS spectrophotometer(Shimazu, Kyoto, Japan) 등이다.

방 법

1) 玉屏風散合蒼耳子散(KOB01)의 제조

약탕기에 KOB01의 구성약재와 증류수 2L를 넣고 3시간 동안 달여 열수추출한 후 와트만여과지(Wathman No. 1)로 여과하였다. 그 여과액을 rotary vacuum evaporator에서 감압농축한 다음 freeze dryer를 이용하여 동결건조하였다. KOB01의 총 회수량은 70.92 g이었으며 수율(yield)은 37.08%였다. 건조한 추출물은 실험 전에 인산완충액(phosphate buffered saline, PBS)에 용해하여 0.22 μm membrane filter로 여과하여 사용하였다.

2) Compound 48/80에 의한 전신성 즉시형 알레르기 반응 동물모델 제작

흰쥐의 복강에 compound 48/80(8 mg/kg)을 주사하여 전신성 알레르기 반응을 유발하였다. 각 군은 compound 48/80 대신 생리식염수를 투여한 정상군(6마리), compound 48/80을 복강투여한 대조군(6마리), 대조군에 KOB01(100, 200 mg/kg)을 경구투여

한 실험군(12 마리) 및 항히스타민제인 disodium cromoglycate(DSCG, 50 mg/kg)를 경구투여한 양성 대조군(6마리)으로 나누었으며, KOB01과 DSCG는 compound 48/80 투여 1시간 전에 경구투여하였다. 히스타민 농도를 측정하기 위해 심장채혈 후 혈액으로부터 혈청을 분리하였으며, 치사율(mortality)의 측정은 전신성 알레르기 반응을 유발시킨 다음 5분 간격으로 3시간 동안 관찰한 후 다음과 같이 치사율을 구하였다. [치사율(%) = 총 죽은 동물 수 x 100 / 총 실험 동물 수]

3) 히스타민 농도 측정

혈액으로부터 분리한 혈청 내 히스타민의 양을 histamine release assay kit를 이용한 효소면역반응법으로 측정하였으며, 혈청 내 존재하는 히스타민의 농도는 표준용액의 정량곡선을 기준으로 계산하였다.

4) 난알부민 유도 알레르기 비염 동물모델 제작

난알부민(OVA) 1 mg을 PBS와 수산화알루미늄 겔 (Al(OH)₃ gel)을 1:1로 혼합한 용액 1 ml에 녹인 후 7일 간격으로 3회에 걸쳐 생쥐의 복강 내 주사함으로써 감작시켰으며, 마지막 복강 주사 7일 후 생쥐를 50×15×50 cm 크기의 상자 안에 넣고 0.1% OVA 용액 2 ml를 분사함으로써 알레르기 비염을 유발하였다. 각 군은 OVA 용액 대신 생리식염수를 복강주사한 정상군(6마리), OVA 감작을 통해 알레르기 비염이 유발된 대조군(6마리), OVA 복강 감작 후 7일 동안 매일 1회 KOB01(100, 200 mg/kg)을 경구투여한 실험군 및 DSCG(50 mg/kg)를 경구투여한 양성대조군으로 나누었다. 비점막 조직(nasal mucosa)의 변화를 관찰하기 위해 알레르기 비염 유발 후 동물을 희생시키고 머리를 분리한 후 비강을 둘러싸고 있는 골을 포함한 조직을 채취하였다.

5) 비점막의 병리표본 제작

채취한 비강조직 중 경구개의 절치유두 부위를 절단한 다음 4% formaldehyde 용액으로 24시간 고정한 다음 비중격 부위(nasal septum)를 노출시켜 13% formic acid 용액에서 24시간 탈회하였다. 이를 다시 파라핀으로 포매하여 블록을 만든 후 microtome을 이용하여 비강 내의 전정부위를 중심으로 6 μm 두께의 절편을 얻었다. 조직절편의 형태학적 변화를 관찰하기 위하여 Hematoxylin & Eosin(H&E) stain kit로 염색을 수행하였으며, 염색된 조직절편을 광학현미경 하에서 상피세포층(epidermal sheet) 손상정도, 점막하 조직의 부종, 충혈, 선세포(glandular cell)의 확장 등을 살펴 형태

학적 변화를 관찰하였다.

6) 비만세포 배양 및 세포독성검정

사람의 비만세포주(human mast cell line)인 HMC-1 세포는 세명대학교 한의과대학 본초학교실로부터 분양받았으며, 10% FBS와 1% penicillin-streptomycin이 포함된 IMDM 배지를 배양액으로 하여 37°C, 5% CO₂ 조건에서 배양하였다.

HMC-1 세포에 대한 KOB01의 세포독성을 평가하기 위해서 MTT assay를 수행하였다. 즉, HMC-1 세포(5 × 10⁴ cells/well)를 96-well culture plate에 100 μl IMEM 배지와 함께 하룻밤 37°C, 5% CO₂ 조건으로 배양한 다음, 여러 농도의 KOB01을 처리하여 24시간 배양하였다. 각 well에 5 mg/ml 농도의 MTT 용액을 50 μl씩 넣어 4시간 동안 배양하면서 환원반응을 유도한 후 반응액을 제거하고 100 μl의 DMSO 용액 첨가하여 보라색의 formazan 결정을 완전히 용해하였다. 발색정도를 microplate reader를 이용하여 570 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 세포독성정도는 세포만 배양한 대조군의 100% 생존도를 기준으로 상대적인 세포생존도(cell viability; %)를 계산하였다.

7) 비만세포의 탈과립 관찰

비만세포에서의 탈과립(degranulation) 현상을 관찰하기 위하여 HMC-1 세포(2 × 10⁵ cells/ml)를 6-well culture plate에 하룻밤 배양한 다음 여러 농도의 KOB01을 처리하여 1시간 동안 전처리하였다. 여기에 compound 48/80(10 μg/ml)을 처리한 후 30분 동안 배양하여 탈과립을 유도하였으며 탈과립 정도를 광학현미경(x1000)으로 관찰하였다. 세포 형태가 원형 또는 난원형이거나 세포 윤곽이 뚜렷하고 세포질 내에 과립들로 채워진 상태를 정상세포로 보았으며, 세포질 한쪽 극이 불룩해지는 수포상 비만세포, 세포질 중간이 잘룩한 표주박형 비만세포 및 세포 형태는 구형 또는 난형이지만 핵의 위치가 한쪽으로 치우쳐 있는 비만세포를 모두 변형된 비만세포로 관찰하였으며, 핵의 이동 없이 세포 윤곽이 불분명하고 세포질 내 과립이 세포표면으로 표출되거나 주위에 흩어져 있는 경우를 탈과립형 비만세포로 간주하였다.

8) 통계학적 검정

결과는 3회 반복실험에 대한 평균과 표준편차로 나타내었으며, 통계학적 유의성 검증은 GraphPad Prism 5.0 분석프로그램의 Student *t*-test를 이용하였고 p값이 0.05 이하인 경우 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

결 과

1. Compound 48/80에 의한 전신성 즉시형 알레르기 반응에 대한 효과

1) 치사율(mortality)에 대한 효과

즉시형 알레르기 반응에서 대한 KOB01의 효과를 조사하기 위하여 compound 48/80을 흰쥐의 복강내 투여한 후 치사율을 조사하였다.

그 결과, 그림 1에서와 같이 생리식염수를 투여한 대조군(control)은 compound 48/80 투여 후 35분에 100%의 치사율을 나타낸 반면, KOB01을 100 mg/kg (KOB01-100)와 200 mg/kg(KOB01-200)로 투여한 대조군에서는 각각 50%, 30%로 치사율이 현저히 감소하였다. 한편, 대조약물인 disodium cromoglycate(DSCG 50 mg/kg)을 투여한 경우에는 35분에 치사율이 15%로 KOB01에 비해 치사율 감소 효과가 높게 측정되었다(Fig. 1).

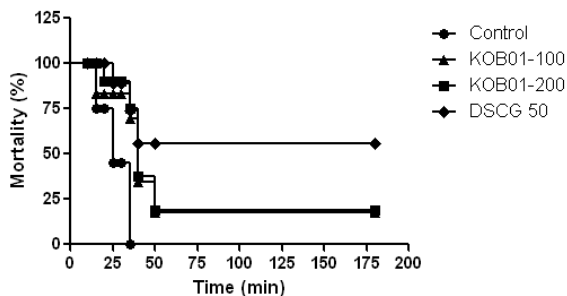


Fig. 1. Effect of KOB01 on compound 48/80-induced systemic anaphylactic shock. Groups of rats ($n=6$ per group) were orally administrated with saline, KOB01 (100 and 200 mg/kg) or disodium cromoglycate(DSCG, 50 mg/kg), and then intraperitoneally injected with compound 48/80(8 mg/kg). Mortality(%) was observed for 3 h at an interval of 25 min following compound 48/80 injection.

2) 히스타민 분비에 대한 효과

즉시형 알레르기 반응에서 히스타민 분비에 대한 KOB01의 효과를 조사하기 위하여 흰쥐의 혈액으로부터 분리된 혈청에서 효소면역분석법으로 히스타민의 농도를 측정하였다.

그 결과, 그림 2에서와 같이 정상군(normal)에서는 히스타민의 농도가 $91.54 \pm 19.99 \mu M$ 로 낮게 측정되었으며, 생리식염수를 투여한 대조군(C48/80)에서는 $590.39 \pm 75.29 \mu M$ 로 히스타민의 분비가 현저

히 증가되었다. 또한 KOB01을 100 mg/kg (KOB01-100)과 200 mg/kg(KOB01-200)으로 투여한 실험군에서는 각각 $499.60 \pm 85.91 \mu M$ 과 $170.39 \pm 25.18 \mu M$ 로 측정되어 농도에 의존적으로 히스타민의 농도가 감소하였다. 또한 KOB01을 200 mg/kg 투여한 실험군은 대조군에 비해 유의적으로 히스타민의 농도가 감소하였으며, 이는 DSCG 투여군($124.96 \pm 21.79 \mu M$)과 유사하게 감소되는 것으로 나타났다.

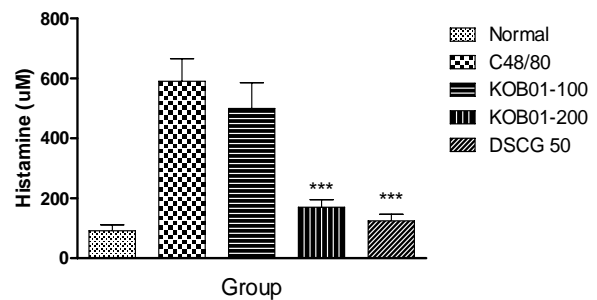


Fig. 2. Effect of KOB01 on compound 48/80-induced histamine releasing in rats. Groups of rats ($n=6$ per group) were orally administrated with saline, KOB01(100 and 200 mg/kg) or disodium cromoglycate(DSCG, 50 mg/kg) and then intraperitoneally injected with compound 48/80(8 mg/kg). The concentrations of serum histamine were measured by enzyme-immuno assay. *** $P<0.001$ vs. C48/80-treated group.

2. 난알부민 유도 알레르기 비염에서의 비점막 구조변화에 대한 효과

알레르기 비염에 대한 KOB01의 효과를 조사하기 위하여 난알부민 감작으로 알레르기 비염이 유도된 생쥐의 비강점막 형태변화를 H&E 염색으로 관찰하였다.

그 결과 그림 3에서와 같이 난알부민 감작으로 알레르기 비염이 유발된 대조군(OVA-C)의 비강점막에서는 후각 상피세포층이 손상되어 치밀도가 떨어지며 혈관이 확장되었고 술잔세포(goblet cell)가 발달하는 것을 관찰하였다. 반면 KOB01을 100 mg/kg (KOB01-100)과 200 mg/kg(KOB01-200)을 투여한 실험군에서는 후각 상피세포층이 대조군에 비해 잘 보존되었으며 혈관확장이나 술잔세포의 발달이 현저히 감소되는 것으로 나타났다(Fig. 3). 한편, DSCG 투여군의 경우에도 후각 상피세포층 손상과 술잔세포의 발달이 대조군에 비해 감소하였으나 KOB01 투여군에 비해 치밀도는 떨어지는 것으로 나타났다.

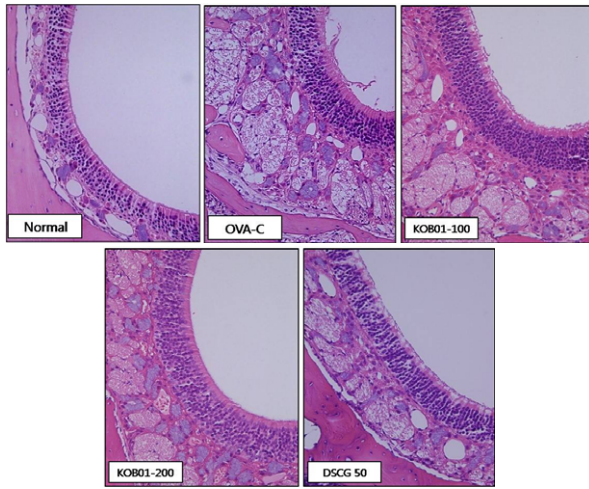


Fig. 3. Effect of KOB01 on histological changes of nasal mucosa in OVA-induced allergic rhinitis mice. Groups of mice ($n=6$ per group) were induced allergic rhinitis by OVA sensitization and then orally treated with saline, KOB01(100 and 200 mg/kg) or disodium cromoglycate(DSCG, 50 mg/kg). The nasal mucosa were stained with H&E stain kit and observed by microscope(x200).

3. 비만세포에서의 독성평가

비만세포에서의 KOB01의 독성정도를 평가하기 위해 HMC-1 세포에 다양한 농도(0.2~3mg/ml)의 KOB01을 처리한 후 MTT assay를 수행하였다.

그 결과 그림 4에서와 같이 세포만 배양한 무처리군의 세포 생존율은 $100.25 \pm 0.25\%$ 였으며, 옥병풍산합 창이자산을 0.2 mg/ml, 0.5 mg/ml, 1 mg/ml, 2 mg/ml, 3 mg/ml 농도로 처리하였을 때 각각 $97.68 \pm 1.41\%$, $102.15 \pm 0.25\%$, $99.59 \pm 0.25\%$, $103.31 \pm 0.41\%$ 및 $87.90 \pm 0.83\%$ 로 측정되어 2 mg/ml 농도까지 독성이 나타나지 않았다.

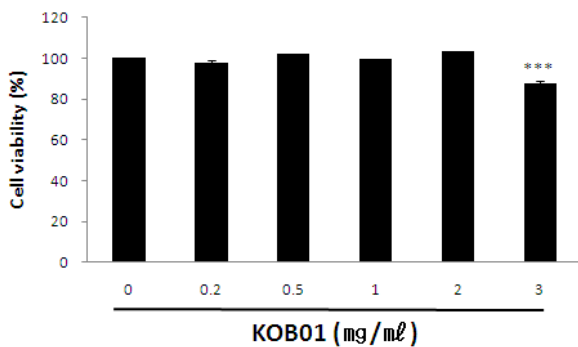


Fig. 4. Cytotoxicity of KOB01 in primary mast cells. After the cells (5×10^4 cells/well) were cultured with different concentrations of KOB01, cell viability was measured by MTT assay. The results show mean value of three independent experiments (SD = bars). *** $p < 0.001$ vs. cells only.

4. 비만세포의 탈과립에 대한 효과

비만세포는 히스타민을 포함하여 다양한 화학매개 물질이 함유된 과립으로 채워져 있는데 외부자극에 의해 탈과립화되어 화학매개물질들의 분비하게 됨으로써 알레르기 반응을 유도하게 된다. 따라서 비만세포의 탈과립화 현상에 대한 KOB01의 억제효과를 확인하기 위해서 KOB01을 처리한 후 compound 48/80를 통해 유도되는 탈과립현상을 현미경으로 관찰하였다.

그 결과 그림 5에서와 같이 compound 48/80를 처리한 경우(C48/80), 비만세포 내 핵의 위치가 한쪽으로 치우치거나 세포윤곽이 불분명하고 세포질 내 과립이 세포표면으로 표출되어 흩어지는 탈과립현상을 관찰할 수 있었으며, KOB01을 1 mg/ml과 2 mg/ml 농도로 처리하였을 때 농도에 의존적으로 탈과립현상이 억제됨으로써 비만세포가 원형 또는 난형 형태를 유지하면서 세포질 내 과립들이 채워진 안정화된 형태를 유지하는 것을 관찰하였다. 특히 KOB01을 2 mg/ml 농도로 처리하였을 때 비만세포가 현저히 안정화됨으로써 탈과립이 일어나지 않아 정상세포와 유사한 형태로 관찰되었다.

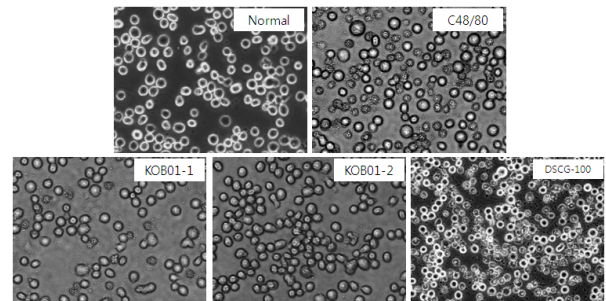


Fig. 5. Effects of KOB01 on compound 48/80-induced degranulation of HMC-1 cells. The cells (2×10^5 cells/ml) were pretreated with KOB01(1 and 2 mg/ml) for 1 h and then stimulated with compound 48/80($10 \mu\text{g/ml}$) for 30 min. Mast cell degranulation was observed by microscope ($\times 40$). Normal, cells only; C48/80, compound 48/80-treated cells; KOB01-1, KOB01 1 mg/ml-treated cells; KOB01-2, KOB01 2 mg/ml-treated cells; and DSCG-100, DSCG 100 $\mu\text{g/ml}$ -treated cells.

고찰

알레르기 반응은 인체 내 필요 이상의 면역반응이 과도하게 일어난 상태에서 비정상적인 면역반응을 통해 알레르기 비염과 같은 과민증(hypersensitivity) 질환을 유발하게 된다¹⁵⁾. 이러한 알레르기 면역반응에 대하여 한의학에서는 『靈樞本藏篇』에서 “衛氣者 所以溫分肉 充皮膚 肥腠理 使開闔者也”라 하여 비록 邪

氣가 盛할지라도 衛氣가 충실하면 질병이 발생하지 못한다고 하였으며, 『素問瘧論』에서도 "衛氣之所在與邪氣相合則病作"이라 하여 위기는 면역방어기능과 거의 같은 작용을 한다고 하여 表部에서 外邪에 대한 저항력을 나타내는 위기의 견고한 정도가 면역계 불균형으로 인한 알레르기 질환의 발병여부로 이해되고 있다¹⁶⁾. 또한 알레르기 鼻炎은 鼻飮, 噴嚏, 鼻涕, 鼻塞 등의 범위에 속하며 주요 증상으로는 鼻塞不利, 鼻流清涕, 鼻中因痒爲嚏이며 기타 鼻衄, 塞甚則濁涕, 不聞香臭, 不得息의 증상을 수반하기도 하며, 그 원인은 肺脾腎의 허손과 風寒邪氣의 鼻竅侵襲으로 風寒化火와 火熱內伏 등의 병리학적 변화가 나타나며 유발인자로는 계절적 요인, 七情, 六淫, 음식, 勞役, 일광 등으로 보고 있다¹⁷⁾. 특히 體質의 素因을 겸하고 있어 특정 계절에 반복적으로 재발하거나 만성적으로 경과하게 되며 다른 알레르기 질환인 천식이나 蕁麻疹 등의 既往歷이나 兼病 등으로 발전할 수 있다고 보고 있다¹⁸⁾.

양방에서는 알레르기 비염을 치료하기 위해 알레르기 면역반응의 각 단계를 차단하거나 그 영향력을 감소시키는 방식을 이용하고 있으며 항히스타민제, 혈관수축제, 세포막안정제, 스테로이드제제 등을 이용하는 약물요법과 항원과의 접촉을 피하는 회피요법, 수술요법 등을 사용하고 있다. 최근 알레르기 병태생리와 직접적으로 연관되는 면역기전이나 염증기전을 차단하는 약물요법이나 알레르기 반응에 간접적으로 영향을 줄 수 있는 스트레스 관련 기전을 억제하는 방법 등에 대한 연구가 이루어지고 있으나 아직까지 확실한 치료법은 없는 실정이다¹⁸⁾. 한편, 한방에서는 알레르기 비염을 신체표현형의 장애나 항상성의 실조가 원인이 되는 만성질환으로 보고 주로 脾肺의 正氣와 陽氣를 도와주고 면역력을 강화하는데 중점을 두어 扶正祛邪의 방법을 쓰고 있는데 옥병풍산, 창이자산 외 葛根湯, 補中益氣湯, 麗澤通氣湯, 通關散, 加味通竅湯, 辛荑散, 細辛散, 辛荑清肺飲, 川椒散 등을 활용하고 있다¹⁹⁻²³⁾.

옥병풍산은 인체의 피부로부터 外邪의 침입을 막고, 衛氣의 기능저하를 개선시킴으로써 허약한 체질을 개선시키는 처방이며 감기 예방 및 上氣道 감염, 만성 기관지염, 알레르기 비염, 만성 蕁麻疹 등의 치료에 활용되며 항알레르기 체질을 개선시키는 것으로 알려져 있다¹⁰⁾. 또한 창이자산은 알레르기성 비염 급성기에 증상을 빨리 소실시키기 위해 폐에 감촉된 風寒이나 風熱邪를 제거하거나 부비동염이나 중이염을 치료하는 데 사용하기도 한다¹²⁾.

본 연구에서는 玉屏風散合蒼耳子散의 알레르기 비염 개선 효과를 확인하기 위해 compound 48/80에

의한 전신성 즉시형 알레르기 반응과 난알부민에 의한 알레르기 비염 동물모델 및 비만세포에서 항알레르기 효과를 평가하였다. 그 결과 옥병풍산합창이자산은 compound 48/80에 의해 유도되는 급성 알레르기 반응에서 흰쥐의 치사율을 현저히 감소시켰으며 혈청 내 히스타민의 분비를 유의적으로 억제하였다. 이는 옥병풍산합창이자산이 급성 알레르기 반응에서 비만세포로부터 히스타민의 분비를 감소시킴으로써 알레르기 급성반응을 완화시킬 수 있음을 보여준다.

한편, 알레르기 비염에서 비점막 조직은 주로 호산구가 침윤되어 심한 점막하 부종의 소견을 보이게 되며 비점막 상피층이 손상되게 되는데 특히 술잔세포 증가, 섬모세포 손실, 선세포 비후, 비만세포와 호산구 등의 증가, 혈관 투과성 증가 등의 변화가 나타나게 된다^{24,25)}. 즉, 알레르기 비염이 만성화되면서 점막하 부위 즉, 고유층이 섬유화되면서 점막 점막 자체에 비가역적인 비후가 일어나게 된다. 본 연구에서 옥병풍산합창이자산은 난알부민으로 유도된 알레르기 비염 생쥐의 비강조직에서 후각세포와 섬모세포의 손상을 줄이고, 술잔세포의 발달을 막음으로써 후각 상피세포층을 잘 보존하는 것으로 나타났다. 이는 옥병풍산합창이자산이 알레르기 비염에서 나타나는 비강조직의 비정상적인 변화를 막음으로써 알레르기 반응을 개선시킬 수 있음을 의미한다.

비만세포 내에는 다양한 화학매개물질들이 커다란 과립형태로 저장되어 있으며 외부자극에 의해 탈과립되는데 이러한 비만세포로부터 탈과립의 증가는 히스타민을 비롯한 염증매개물질의 지속적인 분비를 의미하며 이러한 것이 알레르기 비염을 만성화시키는 원인이 된다²⁶⁾. 비만세포로부터 탈과립을 유도하는 방법에는 비만세포 표면의 Fcε RI에 IgE 항체가 붙어 항원의 결합에 의한 면역학적 자극법과 compound 48/80, substance P, lectin, anaphylatoxin 등에 의한 비면역학적 자극법이 있다²⁷⁾. 이러한 비만세포의 탈과립을 유발하는 자극에 의하여 세포내 과립에 저장되어 있는 화학매개물질들이 유리되는데 이러한 물질 중 히스타민이 가장 빠르게 유리되어 말초혈관에 대한 투과성 항진과 확장작용, 기관지 평활근에 대한 수축작용, 점막표면에 대한 선세포의 분비 항진작용 등을 나타내어 즉시형 과민반응 및 만성 염증반응을 일으킨다.

히스타민은 체내에서 히스티딘 탈탄산효소가 아미노산인 히스티딘에 작용해 생성되며 주로 비만세포 내에 커다란 과립형태로 저장된다⁵⁾. 현재까지 히스타민의 생리학적인 특성이 완전히 밝혀지지 않았으나 비만세포의 탈과립으로부터 분비되어 주로 모세혈관의 이완과 투과성 증가, 내장에 분포하는 근육의 수축,

위산분비 촉진, 심장박동 수 증가, 이물질에 의한 상처나 외부감염에 대한 신체 방어반응인 염증, 알레르기, 아나필락시스 반응 등의 면역반응을 나타내는데 매우 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다⁵⁾. 본 연구에서 옥병풍산합창이자산은 비만세포로부터 compound 48/80 자극에 의한 탈과립화 현상을 농도 의존적으로 억제하였으며, 이는 옥병풍산합창이자산이 비만세포의 막을 안정화시킴으로써 탈과립을 막아 히스타민의 방출을 억제함을 의미한다. 일반적으로 비만세포의 탈과립화 억제는 비만세포의 안정화에서 기인하며 이는 세포 내 cAMP의 양을 증가시키거나 세포내로의 칼슘이온의 유입을 억제하여 일어난다고 할 수 있다. 그러나 이에 대한 옥병풍산합창이자산의 정확한 작용기전을 규명하기 위해서는 차후 세포 내 cAMP의 수준, 칼슘이온의 세포 내로의 유입 양 및 히스타민 합성을 유도하는 L-histidine decarboxylase의 변화 등에 대한 연구가 좀 더 필요할 것으로 사료된다.

결론적으로 옥병풍산합창이자산은 급성 알레르기 반응과 알레르기 비염에서 치사율을 감소시키고 히스타민의 분비를 감소시키며 비점막의 구조적 손상을 막고 실제 비만세포로부터 탈과립화 현상을 억제함으로써 항알레르기 효과를 나타내었으며 이는 옥병풍산합창이자산이 알레르기 비염을 개선시킬 수 있는 한 약제제로 개발될 수 있음을 의미한다.

결론

옥병풍산합창이자산(KOB01)의 항알레르기 효과를 급성 알레르기 반응과 알레르기 비염 동물 및 비만세포에서 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. KOB01은 compound 48/80 투여에 의해 급성 알레르기 반응이 유발된 흰쥐에서 치사율을 감소시켰으며, 혈청 히스타민의 농도를 유의적으로 감소시켰다.
2. KOB01은 난알부민 감작에 의해 알레르기 비염이 유발된 생쥐에서 비점막의 구조적 손상을 개선시켰다.
3. KOB01은 사람의 비만세포인 HMC-1 세포에서 compound 48/80 투여에 의한 탈과립화를 억제함으로써 안정화시켰다.

따라서 옥병풍산합창이자산은 비만세포로부터 탈과립 현상을 막아 히스타민 분비를 억제함으로써 급성

알레르기 반응 및 알레르기 비염을 개선시킬 수 있는 것으로 나타났다.

감사의 글

본 연구는 보건복지가족부 학술용역사업 알러지성 비염 한약제제 개발 연구비(2009년)를 지원받아 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. 김윤범. 분체, 비류체, 비색증 등을 수반한 환자 에 대한 임상적 고찰. 대한한의학회지 1993; 14(2):162-167.
2. 김신예. 알레르기성 비염에 대한 문헌적 고찰 1994;(7):53-84.
3. 서울대학교 의과대학. 면역학. 서울대학교 출판부. 1987;188-197.
4. 서울대학교병원편저. 이비인후과(전공의진료편람). 의학출판사. 1994;150-151.
5. KM Ahn. Role of mast cell in allergic inflammation and innate immunity. Korean Journal of Pediatrics 2004;47:11-5.
6. Poole JA, Rosenwasser LJ. The role of immunoglobulin E and immune inflammation: implications in allergic rhinitis. Curr Allergy Asthma Rep. 2005; 5(3):252-8.
7. Borish L. Allergic rhinitis: systemic inflammation and implications for management. J Allergy Clin Immunol. 2003; 112(6):1021-31.
8. 하동찬 편저. 중의이비인후과학. 국립편역출판사. 1985;209-218.
9. 중의연구원 주편. 중의증상감별진단학. 인민위생출판사. 1987;537-540.
10. 박무현. 옥병풍산의 한방 약물학적 특성. 첨단기술정보분석. KISTI 2006 p. 1~7.
11. 황도연. (신증)방약합편. 2002;226.
12. 윤근찬, 채병윤, 창이산이 진통, 소염, 해열, 수면시간 및 Histamine치사에 미치는 영향. 경희대학교 대학원. 1986.
13. 김석산. 소청룡탕 합 옥병풍산이 알레르기 비염 에 미치는 효과. 경원대학교 대학원. 2004.
14. 조정연. 항장요법에 의한 옥병풍산가미의 즉각형

- 알레르기 반응 억제 효과. 동의생리병리학회지. 2002;16(2):239-244.
15. 박용준. 알레르기 치료제 개발 현황. 기술뉴스브리프. KISTI, 2006:1~5.
 16. 안덕균, 낙화생. 면역과 한방. 열린책들. 1994: 19-48.
 17. 김경준. 계지탕가미방의 알레르기 비염에 대한 치험보고. 대한외관과학회지. 1989;10(1):99-106.
 18. 신진욱, 김남권. 알레르기성 비염 환자에 대한 임상적 고찰. 대한한의학회지 2000;174-182.
 19. 김경준. 비염에 응용되는 보중익기탕 가감방의 치험례. 대한외관과학회지 2001;14(2):1-8.
 20. 양태규, 김윤범, 채병윤. 갈근탕과 가미갈근탕의 항알레르기 및 소염, 해열, 진통작용에 대한 실험적 연구. 대한안이비인후피부과학회지 2002; 15(1):76-76.
 21. 정동욱, 채병윤. 보중익기탕과 그 가미방이 항알레르기와 항균작용에 미치는 영향. 경희대학교 논문집 1991;20:441-461.
 22. 박진구. 여택통기탕과 여택통기탕 가미방의 항알레르기 효과에 대한 실험적 연구. 경희대학교 대학원, 2000.
 23. 박재현, 채병윤. 온폐탕과 온폐탕거총백의 항알레르기 효과 및 진통, 해열작용에 대한 실험적 연구. 동의학회지 2001;14(2):154-172.
 24. 송생엽, 심성용, 김경준.小青龍湯이 알레르기 비염 유발 백서의 과립구 및 조직학적 변화에 미치는 효과. 대한안이비인후피부과학회지.2004; 17(1):75-81.
 25. 김중성, 심성용, 엄유식. 補中益氣湯이 알레르기 비염 유발 백서의 과립구 및 조직학적 변화에 미치는 효과. 대한안이비인후 피부과학회지. 2004; 17(1):66-74.
 26. Brown, J. M., Wilson, T. M. & Metcalfe, D. D. The mast cell and allergic diseases: role in pathogenesis and implications for therapy. Clin. Exp. Allergy 2008;38:4-18.
 27. Kim JJ, Jo SK, Jung U, Park HR, Yee ST. Inhibitory effects of a herbal composition (HemoHIM) on the activation of human mast cell line (HMC-1). J Life Science 2009;19(2):1808-1814.