

알레르기 비염 유발 생쥐에 대한 荊芥連翹湯의 iNOS 생성 억제 효과

박정훈 · 홍승욱

동국대학교 한의과대학 안이비인후피부과학교실

The Effects of *Hyunggaeyungyo-tang* of Suppression of iNOS Production on Mice with Allergic Rhinitis;

Jung-Hoon Park · Seung-Ug Hong

Background and Objectives : Allergic rhinitis is one of the most common diseases in the otorhinolaryngology area. in oriental clinic, *Hyunggaeyungyo-tang*(HYT) has been used as a primary prescription to treat allergic rhinitis. However, there have been no studies so far performed on the effect of this HYT use. The purpose of this study was find out therapeutic effects of its exclusive use on the rat with allergic rhinitis.

Material and Methods : Thirty BALB/c mice were divided into three group : normal group(NOR), control group(CON) inoculated with allergic rhinitis and sample group(SAM) treated with the HYT extract after it was treated the same as the control group.

Rats were sensitized intraperitoneally with ovalbumin solution 4times at intervals of 2 days. After that time, rats in SAM were administered by HYT to treat the inflammation.

- Results** : 1. The number of eosinophil in SAM noticeably decreased than CON and this decrease had probability. The inhibition of eosinophil distribution, The infiltration of eosinophil in SAM noticeably decreased than CON.
2. The damaged mucosa as disruption of cilia in respiratory cell, vacant mucose secreting cell and infiltration of inflammation intricate cells in CON were increased than NOR, but SAM same as normal configuration. Decrease of itching and sneezing intricate neurotransmitter (substance P). Decrease of angiogenesis intricate cytokine(MIP-2).
3. Transcription factor(NF- κ B p65) was decreased.
4. Transcription factor inhibitor(p-I κ B) was decreased.
5. Inflammation cytokine(iNOS) was decreased.

Conclusion : The results suggest that HYT is significantly effective in the treatment of inflammation caused by allergic rhinitis through the suppression of NF- κ B activation and iNOS production.

Key words : *Hyunggaeyungyo-tang*, allergic rhinitis, NF- κ B, iNOS

I. 서 론

알레르기 비염은 감각된 환자의 비점막에 알레르겐이 부착하여 E형 면역글로불린 의존성으로 비만세포를 자극시켜 재채기, 콧물, 비강폐쇄의 특징적 증상을 유발하는 코의 염증성 질환이다¹⁾. 최근의 보고에 따르면 국내 알레르기 비염 환자의 수가 2002년부터 2008년까지 매년 평균 6.4%씩 증가하였고 2007년 대비 8.7% 증가하여 알레르기 비염 환자의 발생이 해마다 증가 추세에 있음을 알 수 있다²⁾.

한의학에서는 鼻鼽와 噴嚏가 알레르기 비염의 범주에 속한다고 할 수 있으며^{3,4)}, 荊芥連翹湯은 感受風寒型의 鼻鼽와 噴嚏 치료에 주로 사용되는 약제이다⁵⁾.

荊芥連翹湯은 명대 龔廷賢의 《萬病回春》⁶⁾에 처음 수록되어 風熱이 上發하여 頭上諸症을 야기시킨 것을 다스리는 대표적인 방제로 각종 이비인후질환에 많이 활용하고 있으며⁷⁾, 지금까지 항알레르기 작용에 대한 연구⁸⁾, 유전독성 평가⁹⁾ 등의 실험 연구가 이루어져 왔으며, 형개연교탕 가미가 알레르기 비염에 임상적으로 효과가 있음을 보고한 연구도 있었다¹⁰⁾. 이에 불구하고 형개연교탕에 대한 알레르기 비염 유발 동물 실험에 대한 보고는 아직 이루어지지 않았다.

이에 저자는 형개연교탕이 알레르기 비염 치료에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 생쥐 비강 점막에 OVA 항원자극을 통해 인위적으로 알레르기 비염을 유발시킨 후 형개연교탕 추출물을 투여하여 알레르기 비염의 대표적인 지표인 산호성 백혈구의 변화와 비강 점막 손상에 관련하여 동통 및 소양증을 일으켜 itching과 sneezing 행동을 유도

하는 신경전달물질인 substance P와 혈관신생성을 촉진하는 MIP-2, 그리고 전사인자 NF- κ B 활성억제를 통한 항염증효과(iNOS 발현) 등의 변화를 관찰하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 실험

1. 동물 및 재료

1) 동물

대한실험동물센터에서 분양 받은 태령 6주된 BALB/c계 암컷 생쥐를 무균사육장치 내에서 2주일동안 적응시킨 후 체중 20 g된 생쥐를 선별하여 사용하였다. 정상군(NOR), 알레르기 비염을 유발한 대조군(CON) 그리고 알레르기 비염 유발 후 형개연교탕 추출물 투여한 실험군(SAM)으로 나누었으며, 각 군에 각 10마리씩 배정하였다.

2) 재료

형개연교탕(Hyunggaeyungyo-tang) 2첩을 증류수 500 ml에 넣고 2시간동안 전탕한 후 여과하였다. 그 여액을 rotary evaporator를 이용하여 50 ml로 감압·농축한 후 동결 건조하였다.

2. 실험 방법

1) 알레르기 비염의 유발

알레르기 비염 유발을 위해 ovalbumin(OVA : chicken egg albumine, grade V, Sigma)를 항원으로 사용하였다. 인산완충용액(PBS : phosphate buffered saline)과 수산화알루미늄겔(Al(OH)₃ gel, Sigma)을 1:1로 하여 OVA 1 mg을 PBS와 수산화알루미늄겔용액에 혼합하여 1 ml를 만들어 0.1 % OVA용액이 되도록 하였다. 정상군, 대조군 그리고 실험군에게 알레르기 비염 유발 시작 21, 14, 7일전에 0.1 % OVA용액을 복강주사하여 감각시

교신저자 : 홍승욱, 경기도 고양시 일산동구 석사동 814번지
동국대학교 일산분교한방병원 안이비인후피부과
(Tel : 031-961-9085, E-mail : heenthstu@duih.org)
• 접수 2012/1/4 • 수정 2012/2/7 • 채택 2012/2/14

켰다. 최종 감작 7일경과 후 7일 동안 격일로 4회 0.1 % OVA용액을 대조군과 실험군의 생쥐 비강에 점적하여 알레르기 비염을 유발하였다. 유발은 콧물과 코 긁기 행동으로 확인하였다.

Table 1. The Amount and Composition of HYT Extract

Herbal Name	Scientific Name	Dose (g)
荊 芥	<i>Schizonepetae Herba</i>	5.25
連 翹	<i>Forsythiae Fructus</i>	5.25
防 風	<i>Ledebouriellae Radix</i>	5.25
當 歸	<i>Angelicae gigantis Radix</i>	5.25
川 芎	<i>Cnidii Rhizoma</i>	5.25
白芍藥	<i>Paeoniae Radix Alba</i>	5.25
柴 胡	<i>Bupleuri Radix</i>	5.25
枳 殼	<i>Aurantii Fructus</i>	5.25
黃 芩	<i>Scutellariae Radix</i>	5.25
梔 子	<i>Gardeniae Fructus</i>	5.25
白 芷	<i>Angelicae dahuricae Radix</i>	5.25
桔 梗	<i>Platycodi Radix</i>	5.25
甘 草	<i>Glycyrrhizae Radix</i>	3.75
Total Amount		66.75

Abbreviation : HYT, *Hyunggaeyungyo-tang*

2) 형개연교탕 투여

최종 감작 7일경과 후 7일 동안 매일 형개연교탕 추출액 2.5 ml/kg/day을 실험군에 구강 투여하였다.

3) 산호성백혈구 변화 조사

알레르기 비염의 대표적 지표인 산호성백혈구의 혈액내 빈도 변화를 조사하기 위해 우선 심장천자로 채혈한 후, Hinkelmann 용액에 희석한 다음 Neubauer 계산판(Superior, Germany)으로 계수하였다. 한편 점막내 산호성백혈구의 분포는 Congo Red stain 후 관찰하였다.

4) 코 점막 조직표본 제작

알레르기 비염 유발 7일 후 각 군을 sodium pentobarbital 용액으로 마취하고 vascular rinse와

10% 중성 포르말린용액(neutral buffered formalin : NBF)으로 심장관류고정을 실시하였다. 머리 분리 후 비강 주변 구조물을 제거한 다음 10% NBF에 실온에서 24시간동안 고정한 후 탈회액(decalcification solution, BBC, UK)에 8시간 처리하고 세척한 후 통상적인 방법으로 파라핀에 포매하여 5 μm 두께로 연속절편을 만들었다. 만들어진 연속절편은 Hematoxylin과 Eosin으로 염색하여 표본을 제작하였다.

5) 알레르기 비염 완화 효과 관찰

알레르기 비염 유발시 itching과 sneezing에 관여하는 신경전달물질인 substance P 분포 변화 관찰을 위한 면역조직화학적 염색을 실시하였다. 우선 절편을 proteinase K(20 μg/ml)에 5분 동안 proteolysis 과정을 거친 후 nonspecific background stain의 blocking 위해 5% normal goat serum(DAKO, Denmark)에서 2시간 동안 반응시켰다. 그리고 1차 항체인 mouse anti mouse substance P(1:250, Santa Cruz Biotec, USA)에 4℃ humidified chamber에서 72시간 동안 반응시켰다. 그런 다음 2차 항체인 biotinylated goat anti-mouse IgG(1:200, Santa Cruz Biotec)에 4℃ humidified chamber에서 24시간 link 하였고, 그런 다음 avidin biotin complex(ABC) kit(Vector Lab, USA)에 30분간 실온에서 반응시켰다. 0.05% 3,3'-diaminobenzidine(Sigma)과 0.01% HCl이 포함된 0.05M tris-HCl 완충용액(pH 7.4)에서 발색시킨 후, hematoxylin으로 대조염색하였다.

한편 혈관신생성에 관여하는 IL-8 유사 Angiogenic chemokine인 macrophage inflammatory protein (MIP)-2 분포 변화를 rabbit anti-mouse MIP-2 (1:250, Santa Cruz Biotec)을 이용한 면역조직화학적 염색 후 관찰하였다.

6) 알레르기 비염에 대한 항염증효과 관찰

염증유발유전자들을 조절하는 전사인자 nuclear factor(NF)- κ B와 phosphorylated(p)-I κ B protein의 분포 변화를 조사하기 위해 mouse anti mouse nuclear factor(NF)- κ B p65(1:500, Santa Cruz Biotec)와 mouse anti mouse p-IKB(1:500, Santa Cruz Biotec)를 이용한 면역조직화학적 염색을 실시하였다. 한편 염증 효소인 iNOS의 조직내 분포를 조사하기 위해 mouse anti-mouse iNOS(1:250, Santa Cruz Biotec)를 이용한 면역조직화학적 염색을 실시하였다.

7) 영상분석과 통계처리

면역조직화학 결과의 수치화를 위해 Image pro Plus(Media Cybernetic, USA)를 이용한 영상분석을 실시하였다. 유의성은 ANOVA test(SPSS17, SPSS, USA)를 통해 확인하였고, $p < 0.05$ 의 경우 유의성을 인정하였다.

III. 결 과

1. 산호성 백혈구 감소 효과

혈액내 산호성백혈구 수를 조사한 결과, 정상군에 비해 대조군에서는 그 수가 증가한 반면, 실험군에서는 대조군에 비해 유의성 있는 감소를 보였다. 640 ± 57 개/ μ l인 정상군에 비해 대조군은 313% 증가한 2646 ± 225 개/ μ l로 측정되었다. 이에 반해 실험군에서는 대조군에 비해 51% 감소된 1307 ± 134 개/ μ l로 측정되었다(Fig. 1-A).

한편 비강 점막내로 이주한 산호성백혈구의 수도 혈액 분석 결과와 일치하였다. 즉, 이주한 산호성백혈구의 수는 대조군은 정상군에 비해 증가한 반면, 실험군은 대조군에 비해 감소하였으며, 이러한 변화는 점막고유층에서 잘 관찰되었다(Fig. 1-B).

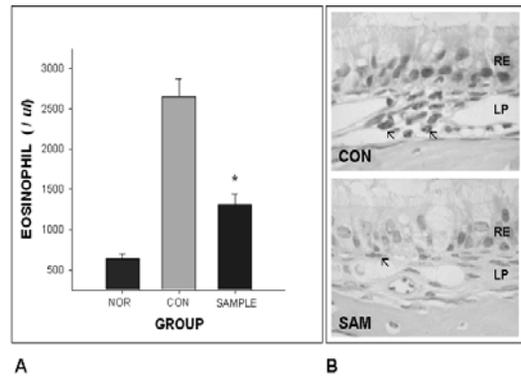


Fig. 1. The decrease of eosinophil by HYT treatment in AR elicited mice.

A. Eosinophil count.

The number of eosinophil in SAM noticeably decreased than CON and this decrease had probability.

B. The inhibition of eosinophil distribution.

The infiltration of eosinophil(arrow) in SAM noticeably decreased than CON(Congo red stain, $\times 1000$).

Abbreviation : NOR, NO-treated group; CON, AR elicited group; SAM, HYT treated group after AR elicitation; HYT, *Hyunggaeyungyo-tang*; *, $P < 0.05$ compared with CON.

2. 점막상피 손상 완화

1) 일반적인 형태 변화

코 점막 손상이 제일 심한 지역은 코 중격에 근접한 위코선반 주변의 점막이었고, 섬모 손상, 점액이 분비된 상태의 점액분비세포의 증가, 점막고유층내 염증관련세포의 이주 증가 등이 관찰되었다. 대조군에서 심한 손상이 대부분의 점막에서 관찰되었으나, 실험군에서는 일부 지역에서만 점막 손상이 관찰되었다(Fig. 2-A).

2) 점막내 Substance P 분포 감소

알레르기 비염 유발시 itching과 sneezing에 관여하는 신경전달물질인 substance P의 양성반응은 손상된 술잔세포주변의 점막고유층에서 관찰되었고, 세포질에서 강한 양성반응을 보였다. Substance P

양성반응은 정상군에 비해 대조군과 실험군에서 증가하였지만, 대조군에서 유의한 증가를 보였다. Substance P 양성반응의 영상분석 결과 대조군(1882±67)은 정상군(135±10)에 비해 1294% 증가하였고, 실험군(665±22)은 대조군에 비해 65% 감소한 것으로 관찰되었다(Fig. 2-B).

3) 점막내 혈관신생성 감소

대조군에서 손상이 심했던 점막의 점막고유층에서 많은 수의 모세혈관이 관찰되었으나, 실험군에서는 대조군보다 적은 수의 모세혈관이 분포하였다(Fig. 2-A). 한편 Angiogenic chemokine인 MIP-2 양성반응은 모세혈관주변 세포에서 관찰되었으며, 대조군(5984±148)은 정상군(214±10)에 비해 2696% 증가한 것으로 측정되었다. 이에 반해 실험군에서의 MIP-2 양성반응(1015±31)은 대조군에 비해 유의성 있는 감소를 보였는데, 영상분석 결과 83% 감소한 것으로 나타났다(Fig. 2-C).

3. 항염증효과

1) 전사인자 NF-κB 활성 감소

염증유발유전자들을 조절하는 전사인자 NF-κB p65 양성반응은 손상된 술잔세포주변 점막고유층에서 관찰되었고, 핵과 핵막주변 세포질에서 강한 양성반응을 보였다. 이러한 NF-κB p65 양성반응은 정상군에 비해 대조군과 실험군에서 증가하였지만, 대조군에서 유의한 증가를 보였다. NF-κB p65 양성반응의 영상분석 결과 대조군은 정상군에 비해 1795% 증가하였고, 실험군은 대조군에 비해 61% 감소한 것으로 관찰되었다(Fig. 3-A).

한편 인산화된 IκB protein의 양성반응도 NF-κB p65와 같은 양상으로 관찰되어 영상분석 결과 대조군은 정상군에 비해 2904% 증가하였고, 실험군은 대조군에 비해 63% 감소한 것으로 관찰되어 통계적으로 유의하였다(Fig. 3-B).

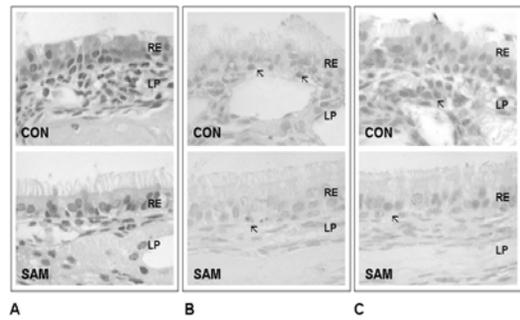


Fig. 2. The cure effect of HYT treatment for AR caused mucosa damages.

A. Mitigative Damage(H&E, ×1000).

The damaged mucosa as disruption of cilia in respiratory cell, vacant mucose secreting cell and infiltration of inflammation intricate cells in CON were increased than NOR, but SAM same as normal configuration.

B. Decrease of itching and sneezing intricate neurotransmitter(substance P(arrow) immunohistochemistry, ×1000).

C. Decrease of angiogenesis intricate cytokine(MIP-2 (arrow) immunohistochemistry, ×1000).

Abbreviation : MIP-2, macrophage inflammatory protein-2; RE, respiratory epithelium; LP, lamina proplia; Other Abbreviations as same as Fig. 1.

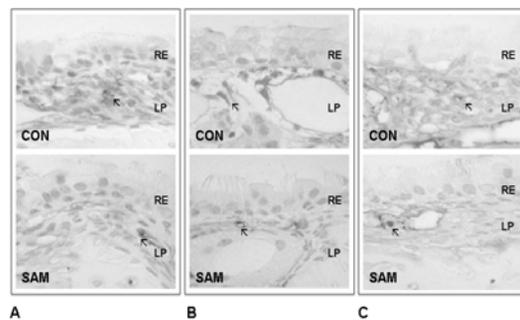


Fig. 3. The anti-inflammation of HYT for AR caused mucosa.

A. Decrease of transcription factor(NF-κB p65(arrow) immunohistochemistry, ×1000).

B. Decrease of transcription factor inhibitor(p-IκB(arrow) immunohistochemistry, ×1000).

C. Decrease of inflammation cytokine(iNOS(arrow) immunohistochemistry, ×1000).

Abbreviation : NF-κB p65, nuclear factor-κB p65; p-IκB, phosphorylated-IκB; iNOS, inducible nitric oxide synthase. Other Abbreviation as same as Fig. 2.

2) iNOS 생성 감소

염증효소인 iNOS 양성반응은 손상된 술잔세포 주변 점막고유층에서 관찰되었고, 핵막주변 세포질에서 강한 양성반응을 보였다. 이러한 iNOS 양성반응은 정상군에 비해 대조군과 실험군에서 증가하였지만, 대조군에서 유의한 증가를 보였다. iNOS 양성반응의 영상분석 결과 대조군은 정상군에 비해 2373% 증가하였고, 실험군은 대조군에 비해 74% 감소한 것으로 관찰되었다(Fig. 3-C).

IV. 고 찰

한의학적으로 알레르기 비염은 鼻鼽 혹은 鼻噴에 해당하며, 《素問·金匱真言論》¹¹⁾에서 "故春善病鼽衄...故冬不按橋, 春不鼽衄..." 《素問·至真要大論》¹¹⁾ "少陰之復, 燠熱內作, 煩躁, 鼽噴..."이라 하여 처음으로 鼻鼽, 鼻噴에 대해 언급하였다. 《河間三六書》¹²⁾에서는 鼽를 鼻出清涕, 時出清涕不止로 설명하여 맑은 콧물이 그치지 않고 흐르는 상태를 언급하고, 噴을 鼻中因痒而氣噴作于聲이라고 묘사하여 코속이 가려워 소리를 내며 재채기를 내뿜는 상태를 언급하였다. 鼻鼽 噴嚏의 원인은 주로 肺氣虛弱으로 肺衛가 약해져 皮毛나 腠理가 緻密하지 못할 때에 外感風寒이 侵入하거나 혹은 風熱이 內鬱되어서 발생되며 또는 心火나 邪熱이 陽明經에 入하여 蓄積되어서 나타난다. 이외에도 脾胃濕熱이 停滯되어서 또는 腎氣不足으로 肺를 溫純하지 못해서도 나타난다.

알레르기 비염은 증상이 나타나는 양상에 따라 통년성, 계절성, 계절적 악화를 동반한 통년성, 삽화성으로 분류한다. 계절성 알레르기 비염은 원인 항원과 접촉이 있는 특정한 계절에만 증상이 나타나는 것으로 대개 꽃가루나 곰팡이 등의 옥외 알레르겐이 원인이 되며, 통년성 알레르기 비염은 일년 내내 존재하는 집먼지 진드기, 곤충, 개나 고양이

이의 털 등에 의해 증상이 지속되는 경우를 말한다. 국내에서는 외국에 비해 상대적으로 통년성 혹은 계절적 악화를 동반한 통년성 비염이 많은 편이다¹³⁾.

소아알레르기 호흡기학회 역학조사위원회에서는 "한국 어린이, 청소년의 알레르기 질환에 관한 전국적 역학조사"를 1995년, 2000년, 2006년에 실시한 바가 있는데, 이에 따르면 "일생동안 알레르기 비염 진단의 유병률"이 1995년 15.5%, 2000년 20.4%, 2006년 28.4%로, "최근 1년간 알레르기 비염 치료의 유병률"은 1995년 11.8%, 2000년 15.1%, 2006년 21.8%로 청소년기 환자가 점차 증가 추세를 보이고 있음을 알 수 있고¹⁴⁾, 다음으로 2008년도 환경성질환 진료환자 분석 자료에 따르면 2002년부터 2008년 까지 알레르기 비염으로 진료받은 환자가 인구 1만명당 631명에서 1,034명으로 증가하여 연평균 6.4%씩 증가하였고 2007년 대비 8.7% 증가하여 전체 환자발생 추이가 매년 증가 추세를 있음을 알 수 있다²⁾.

코막힘, 재채기, 수양성 비루, 가려움증을 알레르기 비염의 4대 증상이라 한다. 항원이 코에 들어오면 몇 초 내에 가려움증이 발생하고 바로 재채기가 따르며 연속하여 콧물이 난다. 이어서 코막힘이 생기고 약 15분쯤에 절정에 이른다. 이상과 같은 초기 반응은 비만세포에서 분비되는 히스타민, 프로스타글란딘, 류코트리엔 등의 화학적 매개체로 인해 발생하며 항원 유입 후 1~2분 만에 시작하여 대체로 1시간 내에 증상이 소실된다. 재채기와 수양성 비루는 보통 아침 기상 시 심했다가 오후가 되면서 감소하고 코막힘 증상이 지속된다. 가려움증은 코 뿐 아니라 눈, 목, 귀 등에도 발생하므로 치료 시 고려해야 한다. 항원자극 4~11시간 후 항원 자극부위로 호산구를 비롯한 여러 종류의 염증세포가 몰려들어 이들이 분비하는 다양한 매개물질에 의하여 염증반응이 일어나고 만성적인 증상을 유발하는 후기반응이 속발한다. 후기

반응은 알레르기 비염 환자들이 만성적으로 호소하는 코막힘의 주된 기전이다. 알레르기 비염 환자가 호소하는 주증상 중 코막힘이 가장 흔한 증상으로 반 이상을 차지하며 그 외 콧물과 재채기가 흔하다. 코막힘 증상은 만성적이며 삶의 질을 떨어뜨린다. 그 밖에 눈물, 두통, 후각감퇴, 폐쇄성 비염 등의 증상이 있다¹⁵⁾.

알레르기 비염은 일단 발병하면 그 증상이 사춘기에 이르거나 성인이 되면서 약 20%에서 증상이 자연 소실되지만 평생 동안 지속되는 예가 많아서 적절한 예방과 치료가 중요하다. 현재 알레르기 비염의 발생시 대부분의 환자는 양방치료를 선택한다. 양방치료는 원인 항원에 대한 노출을 줄이는 환경요법과 약물요법, 면역요법 등으로 대별할 수 있다¹⁶⁾. 환경요법의 경우 원인 항원의 침입을 근본적으로 막는 것이지만 알레르겐이 일상 생활환경에 산재해 있기 때문에 실질적으로 실행하기 어렵다. 약물요법의 경우 대표적으로 항히스타민제와 국소용 스테로이드제를 많이 사용하며 혈관수축제, 항콜린제, 류코트리엔조절제 등이 보조적으로 사용되나, 가장 빈용하는 항히스타민제의 경우 두통, 현기증, 졸음, 구갈, 배노장애, 빈맥, 발기부전, 녹내장, 체중증가, 급성 중독 등의 부작용이 있고, 스테로이드제의 경우 현재까지 알려진 약제 중 가장 강력한 효과를 가지나, 장기간 사용시에 코속의 피부가 얇아지고 혈관이 확장되어 코피나 증상의 악화 등의 문제점이 나타나고, 소아의 경우 발육장애가 발생할 수 있고, 임신부에 대한 안전성은 아직 확인되지 않았다¹⁵⁾. 면역요법은 환경요법과 약물요법에 효과가 없거나 부작용이 있을 때 시행하는데, 증상이 연중 두 계절 혹은 6개월 이상 지속되고 증상과 연관된 항원에 대한 양성 피부반응 혹은 혈청 중 특이항체가 확실할 때 시행한다. 방법은 항원 용액을 낮은 농도부터 점차 증가시키며 1주에 1~2회씩 피하 주사하여 고농도에 이르면 월 1회씩 주사하여 3~5년간 지속하는 방법으로

60~70%에서 효과가 있는 것으로 알려져 있으나, 그 작용기전이 없으며 다중항원을 가진 환자의 경우 적절한 항원의 선정에 어려움이 있고 영국이나 스칸디나비아 국가에서는 부작용으로 인한 사망사고가 빈번하여 현재 면역요법의 시행이 많이 감소하고 있다. 이러한 치료의 한계점들로 인해 차츰 한방치료를 병행하는 것이 최근의 추세이다¹⁷⁾.

알레르기 비염의 현재 한의학적 치료는 感受風寒型에는 蓼蘇飲, 加味黃芩湯, 香葛湯, 荊芥連翹湯, 加味通竅湯, 辛夷清肺飲, 麗澤通氣湯, 蒼耳子散 등을 사용하고 脾胃濕熱型에는 葛根解肌湯, 清脾飲, 蓼蘇升葛湯 등을 사용하며, 肺失溫煦型등에는 當歸四逆加吳茱萸生薑湯, 溫肺止流丹, 麥門冬湯加減, 補中益氣湯加減, 清上補下丸, 腎氣丸合蒼耳子散 등을 사용한다^{3,5)}.

한편 《河間三六書》¹⁾에서는 ‘心火와 邪熱이 양명경에 관계해서 鼻에서 발생하고 가려우면 噴嚏’한다 하였고, 《東醫眼耳鼻咽喉科學》¹⁸⁾에서 鼻鼽는 ‘본래부터 울열이 있는 사람이 풍한에 감초되면 발생한다’하였다.

형개연교당은 明代 龔廷賢의 《萬病回春》⁶⁾에 처음 기재되었는데, 風熱上發로 頭上諸症에 사용되는 대표적인 方劑로 腎經風熱로 인한 兩耳腫痛에 사용되었으며, 清熱, 和血, 解毒작용이 있어서, 中耳炎, 扁桃腺炎 등 각종 이비인후과 질환에 널리 사용되고 있다. 荊芥, 連翹, 防風은 散風熱하여 消腫하고, 當歸, 川芎은 和血行血하여 諸經의 血凝氣聚를 散하며, 白芍藥, 白芷는 除風止痛하고, 柴胡, 黃芩, 梔子是 小陽火를 瀉하며, 桔梗, 枳殼은 胸膈을 利하게 하고 快氣宣通하며, 甘草는 諸藥을 和하고 急迫을 緩和하는 역할을 한다^{7,19)}. 그러므로 형개연교당은 散風, 解熱, 消腫, 行血, 止痛, 散火, 利氣하는 약효가 있고, 上焦, 頭面部 및 호흡기 계통의 염증을 치료하는 작용이 있어 알레르기 비염을 치료하는 데에 적합하며, 실제 알레르기 비염 치료의 빈용 처방으로 보고 되어 임상적 연구도

이루진바가 있다²⁰⁾.

형개연교탕과 관련된 기존 연구를 살펴 보면 1986년도에 최초로 膿耳와 관련하여서 해열 진통 및 소염작용에 대한 연구가 있었고²¹⁾, 1990년대에는 이 처방의 항알레르기작용과 관련해 histamine 과 serotonin에 대한 혈관 투과성 및 지연형 homologous PCA 등에 미치는 영향에 관한 연구⁸⁾와 형개연교탕과 이에 麗澤通氣湯 등을 가미한 처방이 진통, 국한성 부종, 지연형 반응 및 Histamine의 혈관투과성에 미치는 영향에 대한 실험이 있었으며²²⁾, 2000년도에 들어서는 호흡기 계통 감염증의 주요 원인균으로 알려진 *Klebsiella pneumoniae*에 대한 항균 작용에 대한 실험이 있었고²³⁾, RAW cell을 사용하여 알레르기 반응에 관련이 있는 NO production, iNOS, COX-2, IL-6, TNF- α 등에 미치는 영향²⁴⁾과 본방 투여에 따른 유전독성 평가 실험이 있었으며⁹⁾, 2008년에는 추출물의 28일 경구반복투여에 따른 독성시험²⁵⁾과 rat의 수태능 및 초기 배발생에 미치는 영향을 연구²⁶⁾한 실험이 있었다. 이 중 2007년에 수행되었던 RAW cell을 사용한 연구가 본 논문과 관찰내용에 가장 유사성이 있으나 알려지성 비염을 유발시킨 동물 실험이 아니라는 점에서 차이점이 있다. 또한 본 교실의 저자들 역시 2011년 RAW cell을 이용한 실험연구²⁷⁾를 통해 형개연교탕이 iNOS mRNA의 발현을 억제하고, NF- κ B 활성화 조절을 통해 iNOS 생성억제로 항염증작용을 일으켜 점막 손상을 완화시킨다는 연구결과를 보고하였으며, 본 실험을 통해 생쥐에 직접 알레르기 비염을 유발시켜 RAW cell에서 관찰했던 결과를 재확인할 수 있었다.

이와 같이 본 실험은 알레르기 비염 유발 생쥐의 점막에서 산화스트레스에 의한 NF- κ B p65, p-IKB 그리고 iNOS 양성반응의 증가를 확인 할 수 있었다. 이러한 과도한 염증반응에 의한 조직 손상의 결과로 산호성 백혈구의 이주 증가,

Substance P 생성 증가, MIP-2 증가 등이 관찰되었다. 특히 동통 및 소양증의 신경전달물질인 substance P는 증가되어, 혈관내피의존성 혈관확장, 비만세포 탈과립의 유도, 염증세포이주 및 증식에 관여하며²⁸⁾, itching과 sneezing 행동을 유도하고²⁹⁾, 혈관 신생성 chemokine인 MIP-2 발현은 염증관여세포의 이주증가에 기여한다³⁰⁾.

우수한 항산화능이 있는 형개연교탕의 투여는 점막손상을 완화시켰는데, 산호성백혈구 수 감소, Substance P 생성 감소 그리고 MIP-2 생성 감소 등이 관찰되었다. 또한 산화스트레스에 의한 NF- κ B p65, p-IKB 그리고 iNOS 증가도 감소되었다. 이상의 결과로 형개연교탕은 과도한 산화스트레스 조절을 통해 전사인자 NF- κ B 활성 억제를 통한 항염증작용으로 점막의 손상을 완화시키는 것으로 생각된다.

본 연구를 통해 알레르기 비염을 유발한 생쥐에게 형개연교탕을 투여하여 항산화 및 항염증 효과를 살펴본다 알레르기 비염에 양호한 효과를 보임을 알 수 있었으며, 이러한 형개연교탕은 알레르기 비염의 치료 뿐만 아니라, 알레르기 비염으로 인해 유발될 수 있는 급성이나 만성 부비동염의 치료에도 응용할 수 있으리라 사료된다. 향후 이 처방이 알레르기 비염을 유발하는 면역기전에 미치는 영향에 대한 연구가 추가적으로 필요할 것으로 판단되고, 특히 알레르기 면역반응 유도의 상당부분을 담당하고 있는 Th2 cell 분화 조절에 미치는 영향에 대한 연구가 필요하다고 사료된다.

V. 결 론

형개연교탕의 iNOS 생성 억제를 통한 항염증효과가 알레르기 비염 치료에 미치는 영향을 조사하기 위해 행해진 본 연구는 생쥐 비강 점막에 OVA 항원자극을 통해 인위적으로 알레르기 비염

을 유발시킨 후 형개연교탕 추출물을 투여한 다음 산호성백혈구 변화, 비강 점막 손상 완화, 전사인자 NF- κ B 활성억제를 통한 항염증효과(iNOS 발현) 등의 변화를 관찰하였다.

1. 알레르기 비염 유발 생쥐에서 알레르기 비염의 지표인 혈액과 조직내 산호성백혈구 수는 감소하였다.
2. substance P와 MIP-2 양성반응이 감소하여 비강 점막손상을 완화시켰다.
3. 염증반응의 주도적 전사인자 NF- κ B의 활성억제를 일으켰고 전염증효소인 iNOS 생성이 억제되었다.

이상의 결과로 형개연교탕은 알레르기 비염의 점막손상을 완화시키고, 염증효소의 생성을 억제하여 알레르기 비염의 치료에 효과적인 약제로 판단되며, 알레르기 비염으로 유발되는 급성 및 만성 부비동염의 치료에도 응용할 수 있을 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

1. 해리스내과학 편찬위원회. Harrison's PRINCIPAL OF INTERNAL MEDICINE COMPANION HANDBOOK, 서울:도서출판 정담, 2000:682-3.
2. 건강보험정책연구원. 2008년 주요 환경성질환 진료환자 759만명. 서울:국민건강보험공단, 2010.
3. 노석선. 원색안이비인후과학. 서울:(주)아이비씨 기획, 2007:606-11.
4. 김윤자, 김장현. 알레르기성 비염에 관한 문헌적 고찰. 대한한방소아과학회지. 1996;10(1): 17-34.
5. 염승철. 알레르기비염 치료의 최신경향에 관한 동서의학적 고찰. 선무학술논집. 2006;17(1):

- 191-214.
6. 龔廷賢. 增補萬病回春 下卷. 서울:일증사. 1994:12.
7. 신재용. 方藥合編解說. 서울:신광문화사. 1989: 169.
8. 유대섭, 진영상, 정규만. 荊芥連翹湯의 항알레르기작용에 대한 실험적 효과. 대한한방소아과학회지. 1990;4(1):19-30.
9. 지선영, 황순이, 이종록, 김상찬. 荊芥連翹湯 추출물의 유전독성 평가. 대한본초학회지. 2007;22(4):287-300.
10. 송영림, 김희택, 노석선. 荊芥連翹湯加味가 알레르기성 비염에 미치는 效能에 대한 臨床報告. 한방안이비인후피부과학회지. 1995;8(1): 163-76.
11. 배병철 역. 黃帝內經素問今釋. 서울:성보사. 1994:74-81, 761-813.
12. 劉完素. 河間三六書. 서울:성보사. 1976:275-6.
13. 이종명. 알레르기성 비염의 진단과 치료. 대한내과학회지. 2009;76(3):268-73.
14. 지혜미, 김경원, 김창수, 손명현, 신동천, 김규연. 대한 소아알레르기 호흡기학회지. 2009;19(2):165-72.
15. 대한이비인후과학회. 이비인후과학-두경부외과학II. 서울:(주)일조각. 2009:1087-104.
16. 우현수, 김창환. 알레르기성 비염의 한방치료에 대한 고찰. 대한한의학회지. 2006;27(1): 55-65.
17. Malling HJ, Weeke B. Immunotherapy. Allergy. 1993;48:1-35.
18. 채병운. 동의안이비인후과학. 서울:집문당. 1997: 321-8.
19. 강병수 외 11명. 본초학. 서울:영림사. 1995: 127-9, 131, 149, 167, 178, 199, 351, 409, 460, 540, 578, 581.
20. 이해자, 박은정. 알레르기성 비염의 임상적 연

- 구. 대한한방소아과학회지. 2001;15(2):167-75.
21. 김동일, 채병윤. 荊芥連翹湯과 加味荊芥連翹湯이 해열 진통 및 소염작용에 미치는 영향. 경희한의대논문집. 1986;9:411-22.
 22. 박은정, 신소영. 荊芥連翹湯과 加味荊芥連翹湯이 소염, 진통 및 항알레르기에 미치는 영향. 대한한방소아과학회지. 1997;11(1):249-73.
 23. 오은영, 지선영, 서부일. 荊芥連翹湯 및 구성약물의 *Klebsiella pneumoniae*에 대한 항균효과에 관한 연구. 대한본초학회지. 2003;18(2):109-19.
 24. 김민지, 이종록, 김상찬, 지선영. 형개연교탕이 lipopolysaccharide로 유도된 nitric oxide의 생성 및 iNOS와 COX-2의 발현, cytokine에 미치는 영향. 동의생리병리학회지. 2007;21(2):491-7.
 25. 안현주, 황순이, 이종록, 김상찬, 지선영. 荊芥連翹湯 추출물의 SD Rats 에서 28일 경구반복투여 독성시험. 대한한의학회지. 2008;16(1):147-68.
 26. 김은희, 황순이, 김상찬, 지선영. 荊芥連翹湯 추출물의 경구투여가 rat의 수태능 및 초기 배발생에 미치는 영향. 대한한의학회지. 2008;16(1):65-78.
 27. 박정훈, 김종채, 홍승욱. Mouse cell에서 荊芥連翹湯의 iNOS 생성 억제 효과. 한방안이비인후피부과학회지. 2011;24(1):78-85.
 28. Floyd RA, Neuroinflammatory processes are important in neurodegenerative diseases: an hypothesis to explain the increased formation of reactive oxygen and nitrogen species as major factors involved in neurodegenerative disease development. *Free Radic Biol Med*. 1999;26(9-10):1346-55.
 29. Pfaar O, Raap U, Holz M, Hörmann K, Klimek L. : Pathophysiology of itching and sneezing in allergic rhinitis. 2009;139(3-4):35-40.
 30. Yoshida S., Ono M., Shono T., Izumi H., Ishibashi T., Suzuki H., Kuwano M. Involvement of IL-8, vascular endothelial growth factor, and basic fibroblast growth factor in TNF- α dependent angiogenesis. *Mol. Cell Biol*. 1997;17:4015-23.