

Th2 사이토카인 및 케모카인 분비 조절을 통한 이중탕의 항알러지 효능 연구

정수진¹ · 서창섭² · 이미영² · 신현규^{2*}
¹한국한의학연구원 한의약융합연구부, ²K-herb연구단

Yijung-tang, a Traditional Herbal Formula, Exerts Anti-allergic Effect by Regulating Production of Th2-Type Chemokines and Cytokines

Soo-Jin Jeong¹, Chang-Seob Seo², Mee-Young Lee² and Hyeun-Kyoo Shin^{2*}

¹KM Convergence Research Division, Korea Institute of Oriental Medicine, Daejeon 305-811, Korea

²K-herb Research Center, Korea Institute of Oriental Medicine, Daejeon 305-811, Korea

Abstract – Yijung-tang (YJT) is a traditional herbal formula comprising 4 medicinal herbs. In the present study, we performed the simultaneous analysis for three compounds of YJT and examined anti-allergic effects *in vitro*. The column for separation of three compounds was used Gemini C18 column and maintained at 40°C. The mobile phase for gradient elution consisted of two solvent systems. To evaluate Th2 chemokines, YJT was treated into tumor necrosis factor (TNF)- α and interferon (IFN)- γ -stimulated HaCaT cells, and performed ELISA for thymus and activation regulated chemokine (TARC) and regulated on activation, normal T-cell expressed and secreted (RANTES). To measure Th2 cytokines, YJT was added into primary mouse splenocytes, and performed ELISA for interleukin (IL)-4, 5, 13. Calibration curves were acquired with $r^2 > 0.9999$. The contents of liquiritin, glycyrrhizin, and 6-gingerol in YJT were 4.50 mg/g, 11.10 mg/g, and 1.33 mg/g, respectively. YJT inhibited production of TARC and RANTES in TNF- α and IFN- γ -treated HaCaT cells. YJT also reduced production of IL-4, 5, and 13 in primary mouse splenocytes. In conclusion, our data will be a valuable information to improve quality control and anti-allergic effects of YJT.

Key words – Yijung-tang, Allergy, Th2 chemokine, Th2 cytokine

알러지(allergy)는 柰幸菅鼻임이라는 뜻을 포함하는 질환으로 면역 시스템의 오류로 인하여 꽃가루, 항생제, 식품 등에 대하여 특정 사람에게만 반응을 일으키는 것을 말한다. 알러지를 일으키는 물질을 알레르겐(allergen)이라고 하며, 두드러기, 가려움, 콧물, 기침 등으로 반응을 나타낸다.¹⁾ 알러지에 대한 약물 치료는 일반적으로 항히스타민제 또는 스테로이드계열 약물 등이 사용되고 있다. 그러나 이들 약물은 중추신경계 및 위장관계 손상 등의 부작용 발생과 장기간 고용량 사용 시 전신 hypercorticism, 부신기능 억제와 같은 문제점 등으로 인하여 이를 개선하기 위한 대체 약물의 개발이 시급한 실정이다. 이를 위하여 부작용이 적고 보다 효능이 우수한 천연물 신약 개발에 대한 관심이 증가하고 있다.

이중탕(理中湯; Yijung-tang in English, Lizhong-tang in Chinese and Richu-to in Japanese)은 인삼(人蔘), 백출(白朮), 건강(乾薑), 감초(甘草)의 4 가지의 한약재로 구성된 국내 다빈도 처방 중 하나이다. 본 처방은 후한대 「상한론(傷寒論)」에 처음 수록되었으며, 전통적으로 구토, 위통, 만성 위염, 궤양 등에 사용되어져 왔다.²⁾ 고전 한의서를 기반으로 한 이중탕의 한의학적 주치는 중초허한(中焦虛寒)으로 인한 자리불갈(自利不渴), 구토복통(嘔吐腹痛), 불욕음식(不欲飲食), 광란(霍亂)으로 인한 토리(吐利), 양허불섭혈(陽虛不攝血)로 인한 비출혈(鼻出血), 변혈(便血), 붕루(崩漏) 등에서 볼 수 있는 안색창백(顏色蒼白), 소기(少氣), 정신부족(精神不足) 및 소아(小兒)의 만경병후(慢驚病後)에 희타연말(喜唾涎沫), 중초허한(中焦虛寒)으로 인한 흉비(胸痞) 등의 증상 등이며, 온중거한(溫中祛寒), 보기건비(補氣健脾) 등의 효능이 알려져 있다.³⁾ 이중탕의 약리 효능에 관한 연구 결과로는 항아

*교신저자(E-mail): hkshin@kiom.re.kr
(Tel): +82-42-864-9464

토피성 피부염,⁴⁾ 항암,⁵⁾ 면역 조절⁴⁾ 등에 대한 논문이 발표된 바 있다.

본 연구에서는 이중탕의 품질 관리를 위하여 주요성분인 liquiritin, glycyrrhizin 및 6-gingerol을 대상으로 HPLC 분석을 실시하였다. 또한 피부 상피 세포와 비장 세포를 이용하여 Th2 케모카인 및 사이토카인 생산에 대한 영향을 연구하여, 알러지성 피부염 및 천식과 관련된 알러지성 질환에 대한 효능을 검색하고자 하였다. 특히 silymarin은 알러지성 피부염의 효능 약물로 알려진 바, 피부 상피 세포를 활용한 연구에서 양성 대조약물로 사용하였다.⁶⁾

재료 및 방법

재료 - 본 실험에 사용된 이중탕의 구성 한약재는 (주)유니허브(Youngcheon, Korea)와 (주)HMAX(Jecheon, Korea)에서 구입하여 전문가로부터 감정한 후 사용하였다. 처방을 구성하는 한약재들의 표본(2008-KE-19-1~KE-19-4)은 한국한의학연구원 K-herb 연구단에 보관하였다.

표준액의 조제 - 표준물질인 glycyrrhizin과 6-gingerol은 Wako Pure Chemical Industries, Ltd.(Osaka, Japan)으로부터 구입하였으며, liquiritin은 NPC BioTechnology Inc.(Daejeon, Korea)에서 구입하였다. 표준물질의 순도는 HPLC 분석 결과 모두 98% 이상이였으며, 모두 메탄올을 이용하여 1,000 µg/mL의 농도로 제조하였다.

이중탕 추출물 및 검액의 조제 - 이중탕의 구성한약재를 Table I과 같이 무게 비율로 배합한 시료 약 10.0 kg을 추출기(Cosmos 660; Kyungseo Machine Co., Incheon, Korea)에 넣고, 물을 시료의 10배로 첨가하여 100°C에서 2시간 전탕한 후 동결건조 하여 24.8%의 수율로 추출물 2.5 kg을 얻었다. HPLC 분석을 위해 동결 건조된 추출물 200 mg을 정확히 측정 후 물을 넣어 20 mL로 맞춘 후 0.2 µm membrane 여과(Woongki, Seoul, Korea)하여 검액으로 하였다.

HPLC 분석 - 이중탕의 품질관리를 위해 펌프(LC-20AT), 탈기장치(DGU-20A₃), 칼럼오븐(CTO-20A), 자동주입기(SIL-20AC) 및 광다이오드 검출기(SPD-M20A) 등으로 구성된 Shimadzu사의 Prominence LC-20A 시스템(Tokyo, Japan)을 사용하였다. HPLC 분석을 위한 methanol, acetonitrile 및

water는 J.T. Baker(Philipsburg, NJ, USA)에서 구입하였으며, glacial acetic acid는 특급시약으로 Junsei(Tokyo, Japan)에서 구입하여 사용하였다. 이중탕 내 주요 구성 성분의 함량을 분석하기 위하여 사용된 칼럼은 Gemini C₁₈(5 µm, 4.6×250 mm, Torrance, CA, USA) 칼럼을 사용하였고, 칼럼 온도는 40°C로 유지하였다. 유속은 1.0 mL/min으로 흘러주었으며 주입량은 10 µl였다. 이동상은 1.0% acetic acid가 함유된 water(A)와 1.0% acetic acid가 함유된 acetonitrile(B)을 사용하여 다음과 같이 기울기 용리로 흘러주었다: 15-20% B(0-10 분), 20-70% B(10-30 분), 70-100% B(30-40 분), 100% B(40-45 분), 100-15% B(45-50 분). 검출과장은 glycyrrhizin은 254 nm에서 liquiritin과 6-gingerol은 280 nm에서 검출하였다.

HaCaT 세포 배양 및 세포독성 평가 - HaCaT 세포는 American Type Culture Collection(Rockville, MD, USA)로부터 분양 받아 사용하였다. 세포 배양은 10% fetal bovine serum이 포함된 DMEM 배지를 사용하였으며, 37°C, 5% CO₂ 조건에서 실시하였다.

세포독성 평가를 위하여 96 well microplate에 1×10³ cells/well의 농도로 세포를 분주하여, 이중탕을 농도별(0, 10, 20, 50, 100, 200, 500, 1000 µg/mL)로 처리하여 24 시간 배양하였다. Cell countingkit(CCK)-8 solution을 10 µl씩 첨가하여 4 시간 동안 반응시킨 다음, microplate reader(Benchmark Plus, Bio-Rad, MN, USA)를 사용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였다. 측정값은 대조군과 비교를 통해 상대적인 세포 생존율(% of control)을 계산하였다.

마우스 비장세포 분리 및 배양 - 8-10 주령의 수컷 BALB/c 마우스(Orient Bio, Seongnam, Korea)를 경추탈골하여 희생한 후 비장을 적출하였다. 비장으로부터 단일 세포를 분리한 후 RBC lysis buffer(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)로 적혈구를 제거하였다. 세포 배양은 10% fetal bovine serum, 25 mM HEPES, 2 mM glutamine, 100 unit/mL penicillin, 100 mg/mL streptomycin(Gibco BRL, Carlsbad, CA, USA)을 함유하는 RPMI 1640 배지에 부유하여 37°C, 5% CO₂ 조건에서 실시하였다.

Th2 케모카인 및 사이토카인 분비 측정 - TNF-α와 IFN-γ로 자극한 HaCaT 세포에 이중탕을 처리한 후 배양 상등액을 수거하였다. Th2 케모카인(thymus and activation

Table I. Composition of Yijung-tang

Herbal medicine	Scientific name	Supplier	Source	Amount (g)
Gingeng Radix Alba	<i>Panax ginseng</i>	Omniherb	Geumsan, Korea	7.50
Atractylodis Rhizoma Alba	<i>Atractylodes macrocephala</i>	Omniherb	China	7.50
Glycyrrhizae Radix et Rhizoma	<i>Glycyrrhiza uralensis</i>	HMAX	China	3.75
Zingiberis Rhizoma	<i>Zingiber officinale</i>	Omniherb	Youngcheon, Korea	7.50
Total amount				26.25

Table II. Sequences of the oligonucleotide primers used for PCR amplification

Target	Primer sequences
TARC	
sense	5-ACT GCT CCA GGG ATG CCA TCG TTT TT-3'
antisense	5-ACA AGG GGA TGG GAT CTC CCT CAC TG-3'
RANTES	
sense	5-CCC CGT GCC GAG ATC AAG GAG TAT TT-3'
antisense	5-CGT CCA GCC TGG GGA AGG TTT TTG TA-3'
GAPDH	
sense	5-GTG ATG GCA TGG ACT GTG GT-3'
antisense	5-AAG GGT CAT CAT CTC TGC CC-3'

regulated chemokine; TARC, regulated on activation, normal T-cell expressed and secreted; RANTES) 측정 키트 (R&D systems, Minneapolis, MN, USA)를 사용하여 배양액 중 포함된 함량을 측정하였다.

마우스 비장세포를 p-hydroxycinnamic acid methyl ester로 1시간 전처리한 다음 concanavalin A(Con A; 1 µg/mL)로 3일간 자극한 세포에 이중당을 처리한 다음 배양 상등액을 수거하였다. Th2 사이토카인(IL-4, IL-5, IL-13) 측정 키트(BioSource International, Camarillo, CA, USA)를 사용하여 생성량의 변화를 측정하였다.

Th2 케모카인 발현 분석 - TNF- α 와 IFN- γ 로 자극한 HaCaT 세포에 이중당을 처리한 세포로부터 Trizol 시약(Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)을 이용하여 total RNA를 분리하였다. iScript cDNA Synthesis kit(Bio-Rad, Hercules, CA, USA)를 이용하여 cDNA를 합성하였다. 실험에 사용된 primer 염기서열은 Table II와 같으며, PCR의 조건은 94°C 30초, 64°C 1분, 72°C 1분 30초를 1 cycle로 총 25회 반응시키고, 최종적으로 72°C에서 10분간 DNA 합성을 연장시킨 후 1.5% agarose gel 상에서 전기 영동하여 발현을 확인하였다.

결 과

HPLC 동시분석 결과 - 이중당의 구성 약재 중 감초의 liquiritin과 glycyrrhizin, 건강의 6-gingerol에 대해 동시분석법을 설정하였다. 시료에 대한 최적의 추출 조건을 설정하

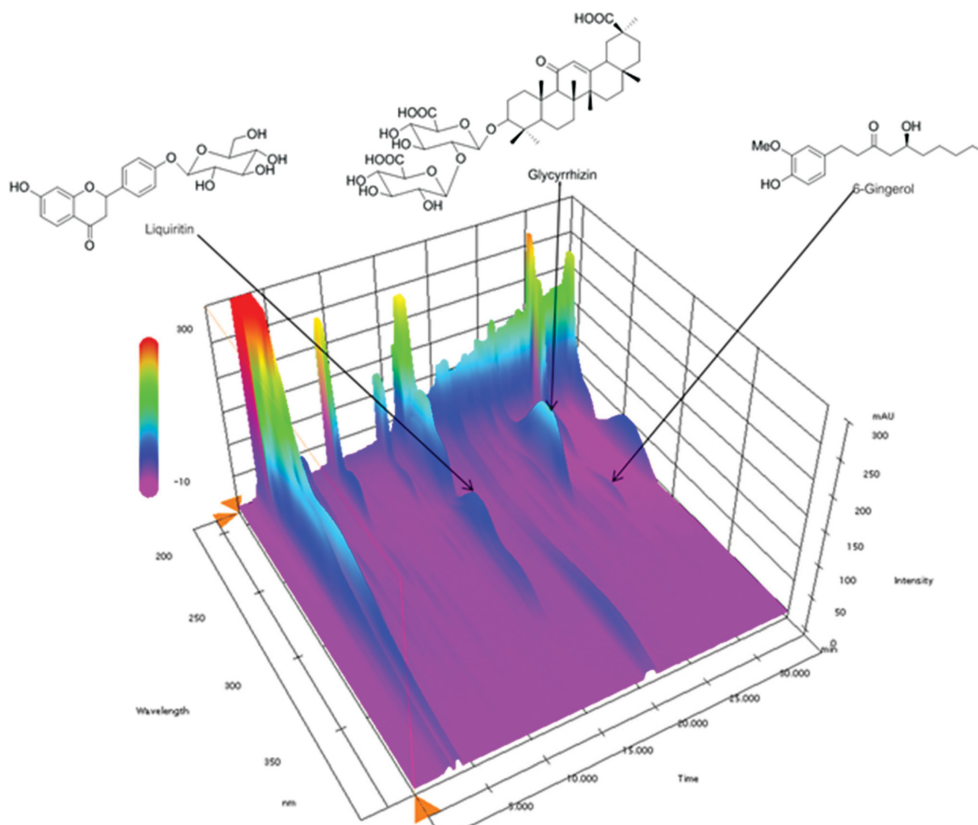
**Fig. 1.** Three-dimensional chromatogram of Yijung-tang by HPLC-PDA.

Table III. Regression data, linear range, correlation coefficient, LOD and LOQ for marker compounds in the Yijung-tang (n=3)

Compound	Linear range (µg/mL)	Regression equation ^a	Correlation coefficient (R ²)	LOD ^b (µg/mL)	LOQ ^c (µg/mL)
Liquiritin	1.00-500.00	y=15003.57x-8421.59	1.0000	0.26	0.87
Glycyrrhizin	1.00-500.00	y=7952.91x-4715.75	1.0000	0.52	1.72
6-Gingerol	5.00-500.00	y=5737.29x-3255.18	1.0000	0.48	1.59

^ay: peak area (mAU) of compounds; x: concentration (mg/mL) of compounds.

^bLOD = 3×signal-to-noise ratio.

^cLOQ = 10×signal-to-noise ratio.

Table IV. Contents of marker compounds in Yijung-tang by HPLC (n=3)

Compound	Mean (mg/g)	SD	RSD (%)	Source
Liquiritin	4.50	0.02	0.42	Glycyrrhizae Radix et Rhizoma
Glycyrrhizin	11.10	0.02	0.18	Glycyrrhizae Radix et Rhizoma
6-Gingerol	1.33	0.01	0.39	Zingiberis Rhizoma Crudus

기 위해 추출 방법(초음파 추출 및 진탕 추출), 추출 용매(0, 50, 70 및 90% methanol) 및 추출 시간(10, 20, 30, 60, 90 및 120분)을 비교하여 최종적으로 90분에서 50% methanol을 이용한 초음파 추출법을 선정하여 분석을 진행하였다. 또한 최적의 분석 조건을 설정하기 위해 methanol 및 acetonitrile의 유기용매에 산을 첨가하여 꼬리끌림 현상을 줄이고 분리능을 높이고자 하였다. 그 결과 3종의 성분은 35분 이내에 분리능 9.9이상으로 완전히 분리되었다. 설정된 분석법에 의해 liquiritin, glycyrrhizin 및 6-gingerol은 17.95분, 27.96분 및 32.47분에서 각각 검출되었다(Fig. 1). 이들 3종 성분의 검량선 작성 결과 상관계수가 모두 1.0000으로 완전한 직선성을 보였으며, 검출한계와 정량한계는 0.26-0.52 µg/mL과 0.87-1.72 µg/mL로 나타났다(Table III). 확립된 분석법을 이용하여 이증탕의 liquiritin, glycyrrhizin 및 6-gingerol 3종 지표성분에 대하여 동시분석을 실시한 결과 동결 건조된 시료에 대하여 4.50±0.02, 11.10±0.02 및 1.33±0.01 mg/g으로 검출되었다(Table IV).

이증탕의 항알러지 활성 결과 - HaCaT 인간 피부 상피 세포주에 대한 이증탕의 세포독성을 측정하기 위하여 CCK-8 assay를 실시하였다. 다양한 농도(0, 10, 20, 50, 100, 200, 500 or 1000 µg/mL)의 이증탕을 24 시간 동안 세포에 처리한 후 세포 생존율을 측정하였다. 그 결과, 200 µg/mL 처리 농도까지는 세포 독성이 관찰되지 않았으며, 500 µg/mL 처리 시 75.4%, 1000 µg/mL 처리 시 59.6%의 세포 생존율을 나타내었다(Fig. 2).

이증탕의 Th2 케모카인에 대한 효과를 확인하기 위하여, HaCaT 세포에 TNF-α와 IFN-γ를 처리하여 케모카인 생산을 유도하고, 이증탕을 처리하였다. 이증탕 처리는 TARC의 생성을 농도 의존적으로 억제하였다(Fig. 3A). RANTES의

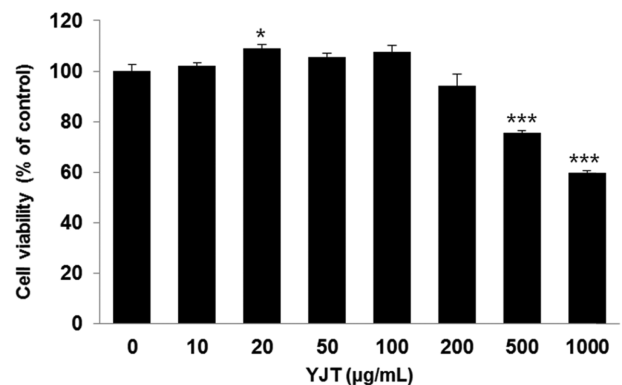


Fig. 2. Cytotoxicity of Yijung-tang (YJT) in HaCaT cells. Cells were seeded into 96-well plates and treated with various concentrations of YJT (0, 10, 20, 50, 100, 200, 500 or 1000 µg/mL) for 24 h. Cell viability was assessed using a CCK-8 assay. The values were expressed as mean±SEM of three independent experiments. **p*<0.05 and ****p*<0.001 compared with untreated control.

생산 또한 감소되었으나, TARC와 달리 농도 의존성은 없었다(Fig. 3B).

이증탕의 Th2 케모카인 분비에 대한 억제와 함께 mRNA 발현의 감소를 확인하였다. TNF-α와 IFN-γ의 처리는 TARC와 RANTES의 발현을 증가시켰으며, 이증탕 처리는 TNF-α와 IFN-γ에 의하여 유도된 TARC 및 RANTES의 발현을 억제하였다(Fig. 4).

BALB/c 마우스로부터 비장 세포를 분리한 후, 다양한 농도(0, 50, 100 or 200 µg/mL)의 이증탕을 24 시간 동안 처리하였다. 이증탕은 Th2 사이토카인 IL-4, IL-5 및 IL-13의 분비를 감소시켰다(Fig. 5).

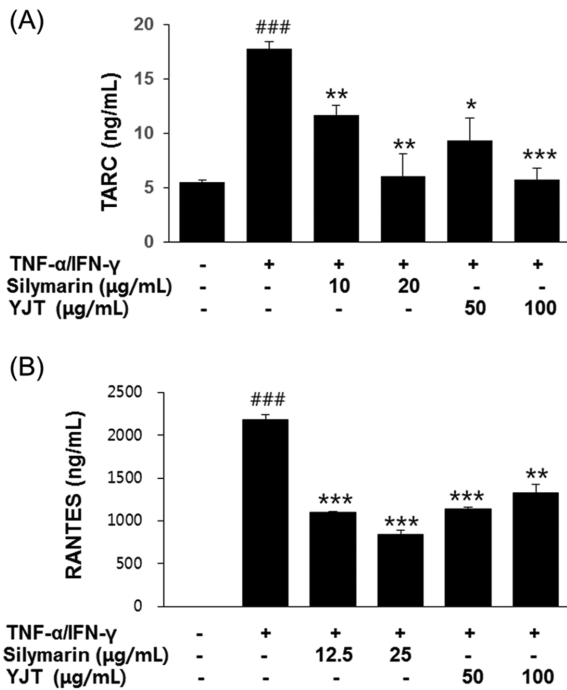


Fig. 3. Effects of Yijung-tang (YJT) on TNF- α and IFN- γ -stimulated productions of chemokines in HaCaT cells. Productions of TARC (A) and RANTES (B) were measured using the culture supernatant from cells co-treated with YJT (50 or 100 μ g/mL), and TNF- α and IFN- γ (each 10 ng/mL, TI) for 24 h. Silymarin (12.5 or 25 μ g/mL) was used as a positive control. Values were expressed as mean \pm SEM of three independent experiments. ^{###} p <0.001 compared with untreated control. ^{*} p <0.05, ^{**} p <0.01, and ^{***} p <0.001 compared with TI-treated control.

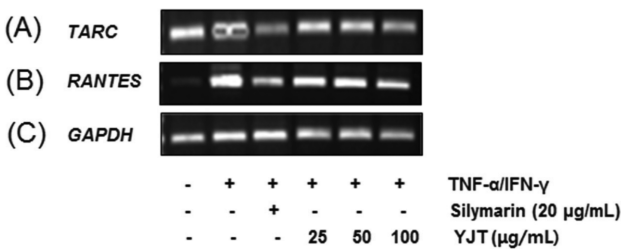


Fig. 4. Effect of Yijung-tang (YJT) on TNF- α and IFN- γ -stimulated chemokine expression at the mRNA level in HaCaT cells. RT-PCR was performed to determine the mRNA expression levels of Th2-type chemokines. (A) TARC and (B) RANTES, and (C) house keeping gene GAPDH.

고 찰

인구 고령화 및 식습관 변화에 따른 만성, 난치성 질환 발생이 증가하고 있으며, 그 중 천식, 아토피성 피부염 등 알러지성 질환의 유병률 또한 지속적으로 증가하고 있는 추세이다.⁷⁾ 현재 알러지 치료제로 사용되고 있는 약물은 대부

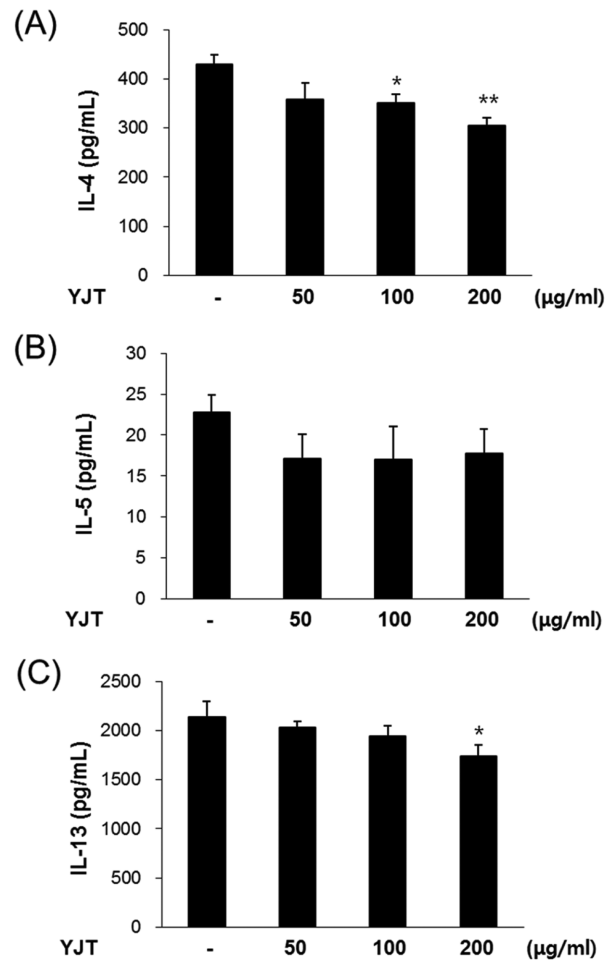


Fig. 5. Effect of Yijung-tang (YJT) on Th2-type cytokines production in ConA-stimulated primary mouse splenocytes. Productions of IL-4 (A), IL-5 (B) and IL-13 (C) were measured using the culture supernatant from cells in the absence or presence of YJT (50, 100 or 200 μ g/mL) and the cytokine levels were measured with ELISAs. Values were expressed as mean \pm SEM of three independent experiments. ^{*} p <0.05 and ^{**} p <0.01 compared with untreated control.

분 항히스타민제 또는 면역억제제로서 이들은 일시적 증상 완화에는 도움을 줄 수 있으나, 위장관계 장애, 피부 및 부속기관 장애 등 여러 가지 부작용을 수반하고 있다.⁸⁾ 2012년 한국의약품안전관리원의 의약품 유해사례 보고에 따르면, 항히스타민제인 프레드니솔론(prednisolone)과 덱사메타손(dexamethasone)의 부작용 건수가 각각 1위와 5위를 차지하였다.⁹⁾ 이러한 약물들의 부작용을 최소화하고 치료 효율을 증대시키기 위한 노력으로, 전통 의학의 적용 또는 현대 의학적 치료의 혼용 등의 방법으로 의약품 시장 영역을 확대해 나가고 있다.

한의학적 측면에서 알러지 질환을 정의하자면, 아토피성 피부염은 태열(胎熱), 내(奶), 선(癩), 태렴창(胎癩瘡), 유선

(乳癰) 등으로 설명될 수 있다. 천식은 호흡촉급(呼吸促急), 천명유성(喘鳴有聲)을 특징으로 하는 효진증(哮喘證)에 해당한다. 한방에서 알러지 치료는 주로 침 요법이 적용되고 있으나, 증상의 발현 양상, 발병 시기에 따라 적합한 한약의 처방도 이루어지고 있다. 아토피성 피부염에는 청기산(淸肌散), 소풍도적탕(消風導赤湯) 등이 처방되며, 천식 환자에게는 자음강화탕(滋陰降火湯), 금수육군전(金水六君煎) 등의 한약 처방이 사용된다.

본 연구에서는 이중탕의 항알러지 효능에 대한 연구를 수행하였으며, 이와 함께 본 처방의 품질관리를 위한 동시 분석을 실시하였다. 이중탕의 HPLC 분석을 위한 지표 성분은 대한약전을 기준으로 인삼의 ginsenoside Rb1과 ginsenoside Rg1, 감초의 liquiritin과 glycyrrhizin 및 건강의 6-gingerol을 선정 후 동시분석 조건 설정과 함량분석을 실시하였다.^{10,11)} 그 결과 본 처방에서는 감초의 glycyrrhizin이 11.10±0.02 mg/g으로 가장 많은 함량을 나타내었다.

보조 T 세포(helper T cell, Th cell)은 면역계에서 중요한 세포로서, 세포와 세포 간의 직접적 상호작용을 통하여 면역 반응의 조화에 중요한 역할을 한다.¹²⁾ Th1 세포가 세포 매개 면역 반응에 관여한다.¹³⁾ 반면에 Th2 세포는 immunoglobulin E(IgE) 생산을 촉진하여 알러지 반응에 중요한 역할을 한다.¹⁴⁾ 활성화된 Th2 세포는 천식, 아토피 등 알러지 환자에서 IL-4, -5, -13 등의 사이토카인의 분비를 증가시킨다.¹⁵⁾ 또한 Th2 세포는 여러 가지 자극으로 피부 상피 세포가 생산하는 케모카인들을 매개로 화학주성을 나타낸다.¹⁶⁾

HaCaT 세포에 TNF- α 와 IFN- γ 를 처리하여 염증성 케모카인의 분비를 유도하였을 때, Th2 케모카인 TARC와 RANTES 농도는 각각 17.80과 2182.99 ng/mL로 처리하지 않은 세포에 비하여 약 3배 및 약 2000배의 양이 유의적으로 증가하였다(Fig. 3). 반면에 TNF- α 와 IFN- γ 의 처리와 함께 이중탕 추출물의 처리는 사이토카인 자극으로 유도된 TARC와 RANTES의 생산량을 감소시켰다. 이는 양성 대조 약물인 silymarin 처리 시 TARC의 농도가 6.02 ng/mL, RANTES의 농도가 839.32 ng/mL까지 감소시켰으며, 이중탕 처리시에는 각각 5.76과 1329.72 ng/mL까지 감소시켰다. RANTES 생성에 대한 억제 효능은 silymarin 보다 다소 약하였으나, TARC 생성에 대한 억제 효능은 유사하였다. 결과는 TARC와 RANTES의 mRNA 발현에 대한 영향을 분석하였을 시 동일한 양상을 나타내었다(Fig. 4). 또한 이중탕을 마우스로부터 분리한 비장 세포에 처리하였을 때, Th2 사이토카인인 IL-4, 5, 13의 분비를 감소시켰다(Fig. 5). 처리하지 않은 세포의 사이토카인 농도와 비교하여, IL-4는 0.7배 수준으로 IL-13은 0.8배 수준으로 유의적인 감소가 관찰되었다. IL-5 분비 또한 감소하는 경향은 있었으나, 통계적 유의성은 없었다. 이와 같은 결과들은 이중탕이 알러지 질환에서 Th2 사이토카인 및 케모카인 분비 억제를 통하여

항알러지 효능을 나타낼 가능성을 제시한다.

결 론

본 연구는 한약 처방 이중탕을 대상으로 품질관리를 위한 HPLC 동시 분석과 *in vitro* 항알러지 효과를 다음과 같이 확인하였다. HPLC 분석 결과 이중탕의 구성 생약인 감초의 liquiritin과 glycyrrhizin이 4.50 mg/g과 11.10 mg/g, 건강의 6-gingerol이 1.33 mg/g으로 검출되었다. 또한 이중탕은 Th2 케모카인과 사이토카인의 생성 억제를 통하여 항알러지 효능을 나타내는 것이며, 향후 여러 가지 알러지 질환 특이적 동물 모델을 이용한 검증이 필요할 것으로 사료된다.

사 사

본 연구는 한국한의학연구원에서 지원하는 ‘한약 처방의 과학적 근거 기반 구축 사업(K14030)’에 의해 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

인용문헌

1. 전남대학교 의학전문대학원 알레르기 및 임상면역학 편찬위원회 (2010) 알레르기 및 임상면역학, 127. 전남대학교 출판부, 광주.
2. 허준 (2005) 동의보감, 1061. 동의보감 출판사, 서울.
3. 한의과대학 방제학교수 공편저 (1999) 방제학, 232. 도서출판 영림사, 서울.
4. Seo, H. Y., Han, J. K. and Kim, Y. H. (2009) The effect of Li Zhong Tang on the suppression of Th2 differentiation by IFN- γ response in IgE hyperproduction and atopic dermatitis-like skin lesions induced NC/Nga mouse. *J. Korean Oriental Pediatrics* **23**: 1-22.
5. Ha, J. Y. and Lee, J. (1998) Experiment on the antitumor and immunomodulatory effects of Gagamijungtang in BALB/c mice. *Korean J. Oriental Med. Pathol.* **12**: 73-81.
6. Kang, J. S., Yoon, W. K., Han, M. H., Lee, H., Lee, C. W., Lee, K. H., Han, S. B., Lee, K., Yang, K. H., Park, S. K. and Kim, H. M. (2008) Inhibition of atopic dermatitis by topical application of silymarin in NC/Nga mice. *Int. Immunopharmacol.* **8**: 1475-1480.
7. 2012 국민건강통계; 보건복지부 (2012) 질병관리본부 (국가승인통계 제11702, 국민건강영양조사).
8. Yoon, M. H. (2004) Clinical use of steroid. *Korean J. Pain* **17**: 45-53.
9. 한국의약품안전관리원 (2013) 의약품 유해사례 보고 동향 제1호. 2012년 4분기 보고서.
10. Korean Pharmacopoeia Committee (2008) The Korean Pharmacopoeia, 9th eds. Shinilbooks. 1095, 1099, 1169.
11. Shan, S. M., Luo, J. G., Huang, F. and Kong, L. Y. (2014)

- Chemical characteristics combined with bioactivity for comprehensive evaluation of *Panax ginseng* C.A. Meyer in different ages and seasons based on HPLC-DAD and chemometric methods. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **89**: 76-82.
12. Hamid, Q., Boguniewicz, M. and Leung, D. Y. M. (1994) Differential in situ cytokines gene expression in acute vs. chronic atopic dermatitis. *J. Clin. Invest.* **94**: 870-876.
 13. Hamid, Q., Naseer, T., Minshall, E. M., Song, Y. L., Boguniewicz, M. and Leung, D. Y. M. (1996) *In vivo* expression of IL-13 and IL-13 in atopic dermatitis. *J. Allergy Clin. Immunol.* **98**: 225-231.
 14. Neis, M. M., Peters, B., Dreuw, A., Wenzel, J., Bieber, T., Mauch, C., Krieg, T., Stanzel, S., Heinrich, P. C., Merk, H. F., Bosio, A., Baron, J. M. and Hermanns, H. M. (2006) Enhanced expression levels of IL-31 correlate with IL-4 and IL-13 in atopic and allergic contact dermatitis. *J. Allergy Clin. Immunol.* **118**: 930-937.
 15. Mothes, N., Niggemann, B., Jenneck, C., Hagemann, T., Weidinger, S., Bieber, T., Valenta, R. and Novak, N. (2005) The cradle of IgE autoreactivity in atopic eczema lies in early infancy. *J. Allergy Clin. Immunol.* **116**: 706-709.
 16. Shimada, Y., Takehara, K. and Sato, S. (2004) Both Th2 and Th1 chemokines (TARC/CCL17, MDC/CCL22, and Mig/CXCL9) are elevated in sera from patients with atopic dermatitis. *J. Dermatol. Sci.* **34**: 201-208.
- (2015. 4. 6 접수; 2015. 5. 19 심사; 2015. 5. 28 게재확정)