

龍角散의 항알레르기작용에 관한 연구

노진우 · 이광규¹ · 이창현² · 육상원*

우석대학교 한의과대학 원전사화교실, 1: 우석대학교 한의과대학 병리학교실, 2: 우석대학교 한의과대학 해부학교실

The Studies on the Anti-allergic Property of Yonggak-san

Jin Woo Rho, Kwang Gyu Lee¹, Chang Hyun Lee², Sang Won Yuk*

Department of Classics, 1: Pathology, 2: Anatomy, College of Oriental Medicine, Woosuk University

The purpose of this research was to investigate the effect of Yonggak-san (YGS) on the anti-allergic reaction in vivo and in vitro. Administration of YGS(500 mg/kg) enhanced hemagglutination(HA)titer against SRBC. On the while, YGS inhibited hyaluronidase activity in vitro and passive cutaneous anaphylaxis reaction, lethal anaphylaxis and mortality induced by compound 48/80 in mice, YGS decreased Arthus reaction, acute hind paw edema induced by histamine. But YGS did not affect delayed type hypersensitivity induced by SRBC. These results suggest that YGS have anti-allergic action

Key words : Yonggak-san(龍角散), hemagglutination, anaphylaxis, arthus reaction

서 론

면역의 주된 기능으로는 방어기능, 항상성 유지기능, 감독기능 등이 있는데 첫째, 방어기능은 외부로부터의 면역자극에 대한 반응을 나타내는 기능으로, 미생물의 자극에 대한 방어기능이 비정상적으로 과도하게 나타나면 알레르기 반응을 보이고, 반대로 비정상적으로 낮게 나타나는 경우에는 건강인에게는 전혀 문제가 되지 않는 미생물에 대해서도 감염되는 소위 "기회감염"을 일으키게 된다. 둘째, 항상성 유지기능은 생체의 내부환경을 항상 평형상태로 유지(homeostasis)시켜주는 기능으로, 어떤 면역자극에 의해 이 기능이 지나치게 커지게 되면 면역계 고유의 기능인 "자기(self)"와 "비자기(nonsel)"를 판별할 능력을 잃게 되어 소위 "자기면역질환"을 일으키게 된다. 셋째, 감독기능이란 면역자극에 대한 기능이 저하됨으로써 변이를 일으킨 세포를 제거하도록 하는 기능으로서, 감독기능이 제대로 되지 못할 경우에는 변이된 세포를 제거하지 못하는 결과를 초래하여 악성 종양을 일으킬 수 있다¹⁾. 면역의 기능 중 방어기능이 비정상적으로 과도하게 반응하여 오히려 인체에 영향을 주는 반응을 알레르기반응이라고 하는데, 다시 말하면 외래 항원의 자극을 받아 면역학적으로 활성화가 일어난 개체에 동일한 항원이 재차 침입해 들어오면 면역반응이 야기된다. 그러나 항원이 과잉상태

이거나 체내의 체액성 혹은 세포성 면역능이 고조되어 있을 경우에는 반응이 과잉으로 일어나 결국에는 조직손상과 같은 부(負)의 면역반응이 일어나는데 이를 과민반응 또는 allergy라 한다. 면역기능을 증강시키는 방법으로 한의학에서는 '扶正'의 방법을 위주로 사용되어야 한다고 주장하였다²⁾. 扶正法은 다시 補氣法, 補血法, 補陰法, 補陽法으로 세분해 지는데 이 중 補氣·補血法을 이용하여 면역기능을 연구한 논문으로는 尹³⁾과 閔⁴⁾, 南⁵⁾, 丁⁶⁾, 裴⁷⁾, 金⁸⁾, 鄭⁹⁾ 등이 있고, 補陰藥으로는 鄭鎭碩¹⁰⁾의 육미지황탕이 구속 Stress원취의 항Stress와 면역반응에 미치는 영향 등이 있다. 補陽法이란 陽氣不足으로 인한 生理機能減退로 야기되는 寒涼위주의 증후를 치료하는 것으로¹¹⁾ 補陽法을 사용하여 非特異성과 特異性免疫(細胞性免疫과 體液性免疫)을 증강시키는 작용을 한다고 보고되고 있다¹²⁾. 또 補陽藥이 면역계에 미치는 영향에 대한 연구로는 朴¹³⁾의 補陽藥類의 免疫약리학적 고찰에서 鹿茸, 肉蓯蓉, 杜仲 등은 대식세포의 탐식기능을 촉진시키고, 말초혈액중의 백혈구수의 증가를 촉진시키는 것으로는 巴戟天과 淫羊藿이 있으며, T 림파구의 활성을 자극하는 것으로는 鹿茸, 淫羊藿, 杜仲 등이 있고, 脾臟細胞의 면역기능을 증강시키는 것으로는 鹿茸, 肉蓯蓉, 淫羊藿 등이 있다고 하였다. 또 崔¹⁴⁾는 淫羊藿 水抽出物이 생쥐의 免疫글로블린 및 Cytokine생성에 미치는 영향에서 細胞性 및 體液性 면역반응을 증강시킨다고 하였다. 溫陽藥物인 桂心과 炮薑 灸甘草 및 收斂固澀약물인 龍骨로 구성된 龍角散은 太平聖惠方¹⁵⁾에 처음 수록된 처방으로 "虛勞失精, 百法未效"에 사용되는 처방으로, 오늘날에는 久瀉虛

* 교신저자 : 육상원, 전북 완주군 삼례읍 후정리 490, 우석대학교 한의과대학 E-mail : yuksw@woosuk.ac.kr, Tel: 063-290-1565

· 접수: 2002/07/25 · 수정: 2002/09/07 · 채택: 2002/09/30

寒, 腹中冷痛 등 전형적인 陽虛證에 활용된다고 하였다. 이에 저자는 龍角散의 allergy 반응에 미치는 효과를 관찰하고자 하였는데, 第 I 型에 미치는 영향을 살펴보기 위하여 passive cutaneous anaphylaxis(PCA) 반응, Compound 48/80에 의한 즉시형 anaphylaxis 발현 등을 실험하였고, 第 III 型을 관찰하기 위하여 Arthus 반응을 측정하였으며, 第 V 型을 관찰하기 위하여 SRBC에 의한 지연형과민반응(DTH반응) 및 histamine에 의한 생쥐 족척중창반응(염증반응) 등을 실험적으로 관찰한 결과 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

실험 재료

1. 실험동물

본 실험에 사용한 생쥐는 BALB/c계통 웅성(8주령, 20±2 g), 흰쥐는 SD계통의 웅성(8주령, 150±10g)을 대한실험동물(주)에서 구입해서 사용했으며, 사육은 온도 22±2℃, 습도 55±5%, dark/light(12 시간)조건 하에서 고형 pellet사료와 물은 자유 섭취하도록 하였다.

2. 시약 및 기구

실험에 사용한 시약은 RPMI1640 media, fetal bovine serum(FBS), Hank's balanced salt solution(HBSS), phosphate buffered saline(PBS), Ca²⁺-Locke solution, compound 48/80, egg albumin, histamine, evans blue, hyaluronidase, hyaluronic acid-K, p-dimethyl aminobenzaldehyde(DMAB), 등은 Sigma Co., 기타 시약은 특급시약 및 세포배양용 시약을 사용하였다. 사용기구로서는 culture flask(Nunc), 96well microtiter plate(Costar Co.), micrometer(Mitutoyo Co.), inverted microscope(Zeiss), laser flow cytometer(Coulter, EPICS-XL), ELISA reader(Dynatech, MR5000), luminometer(Berthold, 96LP), 그 외 centrifuge (VS -15000CF), CO₂ incubator, freeze dryer, deep freezer 등은 Vision Scientific Co.의 제품을 사용하였다.

3. 검액의 조제

본 실험에 사용한 龍角散의 구성은 「太平聖惠方」에 준하였으며, 사용한 약재들은 우석대학교 한방병원에서 정선해서 사용하였고, 처방 4첩 분량(163.5 g)을 증류수 2000 ml로 2회 가열 추출한 후, 여과해서 여액을 rotary evaporator로 농축한 다음, freeze dryer로 동결건조하여 분말 46 g(수득율: 28.1%)을 얻어(이하 YGS라 함), 동물실험시에는 생리식염수, 세포배양용에는 멸균 PBS에 용해시켜 사용하였다. 龍角散 1貼의 처방 구성내용은 다음과 같다.

Table 1. 龍角散의 處方構成

韓藥名	生藥名	重量(g)
龍骨	Fossilia Ossis Mastodi	37.5
桂心	Cinnamomi	1.125
炮薑	Zingiberis Rizoma	1.125
炙甘草	Glycyrrhizae Radix	1.125
總量		40.875

실험 방법

1. 시험관내 항알레르기 반응

In vitro계에서 항알레르기 작용을 스크리닝하고자 hyaluronidase 활성을 측정하였다. Hyaluronic acid를 기질로 사용해서 반응시킨 후 생성된 N-acetylglucosamine을 Morgan & Elson의 방법을 개량한 류¹⁶⁾ 등의 방법으로 측정하였는데, 시험관에 각 농도의 YGS(1, 10, 100 mg/ml) 0.1 ml를 첨가하여 1 unit of hyaluronidase sol./ml of acetate buffer(pH 3.5) 용액 0.5 ml를 가하고 37℃에서 20분간 incubate한 후, activator로서 12.5 mM의 CaCl₂ 0.1 ml를 첨가해서 다시 37℃에서 20분간 incubate한 다음 기질인 hyaluronic acid-K(1.2 mg/ml) 0.25 ml를 가하여 37℃에서 40분간 incubate한다. 다음에 0.4N NaOH와 potassium borate 용액을 각각 0.1 ml를 가해 3분 동안 자비한다. 실온으로 냉방한 후 DMAB용액(p-dimethylaminobenzaldehyde : DMAB 1g/ 100 ml of glacial acetic acid: 10N HCl=7:1) 3 ml를 가해 최종으로 37℃에서 20분간 incubate한 후 585 nm에서 흡광도를 구한다.

2. Passive cutaneous anaphylaxis(PCA)반응

항원으로 사용할 egg albumin(1 mg/0.2 ml)을 aluminum gel에 현탁시킨 후, 생쥐의 복강에 1차 감작(1st sensitization)시키고 4주 후에 2차 감작(2nd sensitization)을 행한 다음, 2 주가 경과한 후에 생쥐를 경추 탈구하여 채혈하고 혈청(IgE 항혈청)을 조제해서 실험에 사용할 때까지 -80℃에 동결 보존한다. 흰쥐 5마리를 1군으로 하여 등부위를 제모하고 삼기의 IgE혈청을 희석(1:160, 1:80, 1:40)해서 0.1 ml를 피하주사(s.c)하여 감작시킨 후, 3시간 후에 YGS 500 mg/kg body weight을 경구 투여하고 다시 1시간 후에 항원(1% egg albumin)과 1% Evans blue를 1:1로 혼합한 용액 0.5 ml를 정맥주사하여 PCA반응을 야기(challenge)시켰다. 30분 후에 흰쥐를 도살하고 청색으로 착색된 등부위의 피부부를 박리하여 세절한 다음, 1N KOH용액 1 ml에 침적시켜 37℃에서 하룻밤 방치하였다. 0.6N H₃PO₄과 acetone혼합액(5:3) 9 ml를 첨가하여 진탕한 후, 원심분리하고 상층액을 620nm에서 비색 정량하였다¹⁷⁾.

3. Compound 48/80에 의한 즉시형 anaphylaxis 발현

생쥐 8마리를 1군으로 하여 대조군에는 생리식염수만을, 실험군에는 YGS (500 mg/kg body weight)를 경구 투여하고, 1시간 후에 compound 48/80(10 mg/kg)을 복강 내에 주사하고 생쥐의 치사율(mortality)을 1시간 동안 관찰하였다¹⁸⁾.

4. Arthus 반응

Arthus반응은 Yoshikai의 방법¹⁹⁾에 따라 측정하였다. 항원으로 사용된 SRBC(면양적혈구: sheep red blood cell)는 전북 축산진흥연구소에서 사육중인 면양의 경동맥으로 부터 채혈해서 멸균된 Alsever's solution(dextrose 20.5 g/L citric acid 8.0 g/L, NaCl 4.2 g/L-여과멸균)에 주입하여 4℃에 보관하면서 1주일 이

내에 사용하였다. SRBC 0.2 ml(4×10^8 cells)를 생쥐 복강 내에 투여해서 1차 감작시키고 2주 후에 동일한 방법으로 2차 감작을 시행하였다. 2차 감작 5일 후에 YGS(500 mg/kg)를 경구 투여하고 1시간 후에 2×10^8 개의 SRBC 0.03 ml를 생쥐 우측 후족척 피하에 주사하여 반응을 야기시켰다. 야기 직후(T_0), 야기 3시간 후(T_3)에 족척의 두께를 micrometer(Mitutoyo engineers Co.)로 측정하는 다음, 족척증창의 지표를 구하였다.

$$\% \text{ increase} = (T_3 - T_0 / T_0) \times 100$$

5. SRBC에 의한 족척증창반응(자연형과민반응: DTH반응)

생쥐 8마리를 1군으로 하여 Yoshikai의 방법³³⁾에 따라 YGS 500 mg/kg을 경구투여하고 2×10^7 개/0.025 ml의 SRBC를 생쥐의 좌측 후족척 피하에 주사해서 감작시키고 감작 4일 후에 다시 YGS 500 mg/kg을 경구 투여하고 1시간 후 우측 후족척 피하에 2×10^8 개의 SRBC 0.025 ml를 주사하여 반응을 야기시켰다. 야기 직후(T_0), 야기 24시간 후(T_{24}) 및 야기 48시간 후(T_{48})에 족척의 두께를 micrometer로 측정하는 다음, 족척증창의 지표를 산정하였다.

$$\% \text{ increase} = (T_{24} \text{ or } T_{48} - T_0 / T_0) \times 100$$

6. Histamine에 의한 생쥐 염증반응

생쥐 8마리를 1군으로 하여 Huh의 방법²⁰⁾에 준하여 대조군에는 생리식염수만을, 실험군에는 YGS(500 mg/kg)를 각각 경구 투여하고 1시간 후에 좌측 후족척의 두께를 micrometer로 측정하는 뒤에 기용물질로서 histamine-0.9% saline(30 μ g/20 μ l)을 족척피하(20 μ l/hind paw)에 주사하였다. 주사 전, 주사 후 30분, 60분, 120분 및 180분에 족척의 두께를 측정하여 浮腫率을 산정하였다.

$$\text{浮腫率}(\%) = \frac{\text{실험군의 hind paw의 두께} - \text{대조군의 hind paw의 두께}}{\text{대조군의 hind paw의 두께}} \times 100$$

7. 통계처리

통계처리는 student's t-test로 하였으며, $p < 0.05$ 이하를 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

실험 결과

1. YGS가 시험관내 항 알레르기 반응에 미치는 효과

시험관 내에서 YGS의 알레르기 반응에 미치는 효과를 검토하고자 hyaluronidase활성을 측정하여 억제율을 산정하였다²¹⁾. Hyaluronidase는 알레르기가 발생할 때 효소활성이 증가하며, 특히 혈관투과성 항진작용과 관련이 있는 것으로 보고되어 있는데, YGS 1, 10 및 100 mg/ml을 첨가해서 효소 활성을 억제하는 정도를 % inhibition으로 살펴보았는데 각각 $21.1 \pm 0.4\%$, $72.5 \pm 2.7\%$ 및 $90.2 \pm 2.3\%$ 로 농도의존적으로 hyaluronidase활성이 억제되었다(Fig. 1). In vitro계에서 이 효소의 활성을 억제하는 것은 항 알레르기작용이 있음을 시사한다.

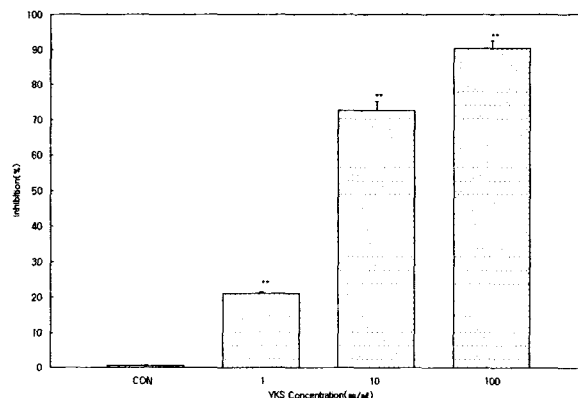


Fig. 1. Effect of YGS on the hyaluronidase activity in vitro. Absorbance of each sample was measured at 585 nm by spectrophotometer. Each value represents the mean \pm SE of 3 experiments. *, Significantly different from control group (**: $p < 0.01$).

$$\text{Inhibition}(\%) = \frac{\text{Acontrol} - (\text{Asample} - \text{Ablank})}{\text{Acontrol}} \times 100$$

2. YGS가 passive cutaneous anaphylaxis(PCA) 반응에 미치는 효과

생쥐에서 IgE 항혈청을 조제한 후, 제 I형 즉시형 anaphylaxis 반응의 일종인 PCA반응에 미치는 YGS의 영향을 살펴본 결과, 대조군의 evans blue 누출량은 1 : 160, 1 : 80 및 1 : 40으로 희석했을 때 각각 16.7 ± 1.3 , 21.8 ± 1.9 및 36.3 ± 2.4 μ g/ml이었으며, YGS 투여군에서 각각 13.5 ± 1.1 , 18.9 ± 1.7 및 27.4 ± 1.8 μ g/ml으로 특히 1 : 40으로 희석했을 때 대조군에 비하여 PCA반응이 유의하게 감소하였다(Table 2).

Table 2. Effect of YGS on the passive cutaneous anaphylaxis(PCA) reaction.

Samples (dilution of sera)	Leakage of Evans blue(μ g/ml)	
	CONTROL	YGS
1 : 160	16.7 ± 1.3	13.5 ± 1.1
1 : 80	21.8 ± 1.9	18.9 ± 1.7
1 : 40	36.3 ± 2.4	$27.4 \pm 1.8^*$

YGS(500 mg/kg) was administered p.o. 3 hours before anti-serum injection. The OD of each sample was measured at 620 nm by spectrophotometer. The data represents the mean \pm SE from 8 mice. *, Significantly different from control group(*: $p < 0.05$).

3. YGS가 compound 48/80에 의한 즉시형 anaphylaxis 발현에 미치는 효과

YGS의 즉시형 anaphylaxis에 미치는 효과를 검토하기 위하여 compound 48/80을 투여해서 확인한 결과, 대조군(normal saline)을 투여하고 compound 48/80(10 mg/ml) 투여에서는 생쥐 8마리 중 8 마리 전부가 사망(치사율 100%)하였으나, compound 48/80을 투여하기 1시간 전에 YGS를 투여한 군에서는 8마리 중 4 마리가 사망하였다(치사율 50%). 이 결과는 YGS가 즉시형 anaphylaxis를 억제하는 효과가 있음을 시사한다(Table 3).

Table 3. Effect of YGS on the immediate-type anaphylaxis by compound 48/80.

Samples	Number of Animal (Died/Used)	Lethality(%)
CONTROL	8/8	100
YGS	4/8	50

YGS(500 mg/kg) was administered p.o. 1 hour before compound 48/80(10 mg/ml, i.p.) injection.

4. YGS가 Arthus 반응에 미치는 효과

생쥐를 SRBC로 면역하기 2주일 전에 1차 감작시키고 2주일 후에 2차 감작을 시행, 5일 후에 YGS(500 mg/kg)를 경구 투여하고 1시간 후에 SRBC(2×10⁸개/0.03 ml)를 생쥐 우측 후족척 피하에 주사하여 반응을 야기시킨 다음, 야기 직후(T₀), 야기 3시간 후(T₃)에 족척의 두께를 측정해서 비교한 결과, 대조군에 비하여 YGS를 투여한 군에서 제 III형 알레르기반응인 Arthus반응이 감소하였다(Table 4).

Table 4. Effect of YGS on the Arthus reaction.

Samples	Footpad thickness(mm)		
	T ₀	T ₃	% increase
CONTROL	2.17±0.08	2.05±0.10	-5.5
YGS	2.26±0.11	1.89±0.06*	-16.4

Mice were sensitized with SRBC(4×10⁸ cells/0.03 ml) on 0 day and challenged with same dose of SRBC on 14th day. YGS(500 mg/kg) was administered p.o. on the 5th day after 2nd SRBC sensitization. Footpad thickness was measured by micrometer just before challenge(T₀) and agains at 3 hours(T₃) after challenge, and calculated as following formula: % increase = (T₃ - T₀ / T₀) × 100. The data(Footpad thickness(mm)) represents the mean±SE from 8 mice. *: Significantly different from control group(*: p<0.05).

5. YGS가 SRBC에 의한 생쥐의 지연형 과민반응(DTH반응)에 미치는 효과

SRBC(2×10⁷개/0.025 ml)를 생쥐의 좌측 후족척 피하에 주사해서 감작시키고, 감작 4일 후에 YGS(500 mg/kg)를 경구 투여 1시간 후, 우측 후족척 피하에 SRBC(2×10⁸개/ 0.025 ml)를 주사하여 반응을 야기시키고, 야기 직후(T₀), 야기 24시간 후(T₂₄) 및 야기 48시간 후(T₄₈)에 족척의 두께를 측정한 결과, 대조군에서는 T₀, T₂₄ 및 T₄₈이 각각 1.89±0.11, 1.91±0.12 및 1.79±0.15 mm이었으나, YGS 투여군에서는 각각 1.91±0.12, 1.87±0.14 및 1.68±0.13 mm로 생쥐의 족척종창반응(제 IV형 -지연형 과민반응)을 억제시키지 못하였다(Table 5).

Table 5. Effect of YGS on the delayed type hypersensitivity(DTH) reaction.

Samples	Footpad thickness(mm)				
	T ₀	T ₂₄	T ₄₈	T ₂₄	T ₄₈
CONTROL	1.89±0.11	1.91±0.12	1.79±0.15	1.1	-5.3
YGS	1.91±0.12	1.87±0.14	1.68±0.13	-2.1	-12.0

Mice were sensitized with SRBC(2×10⁷ cells/0.02 ml) on 0 day and challenged with 0.03 ml of 2×10⁸ cells SRBC on 4th day. YGS(500 mg/kg) was administered p.o. on the indicated day of SRBC-sensitization. Footpad thickness was measured by micrometer just before challenge(T₀) and agains at 3 hours(T₃) after challenge, and calculated as following formula: % increase = (T₂₄ or T₄₈ - T₀ / T₀) × 100. The data(Footpad thickness(mm)) represents the mean±SE from 8 mice.

6. YGS가 histamine에 의한 생쥐 염증반응에 미치는 효과

염증반응에 미치는 YGS의 효과를 살펴보기 위하여 histamine을 기염물질로 해서 생쥐의 족척종창반응을 시행하였

다. Histamine투여 직전의 hind paw의 두께는 1.71±0.03 mm였으며, 투여 후 30분, 60분, 120분 및 180분이 경과한 후의 대조군의 hind paw의 두께는 각각 2.19±0.03, 2.11±0.07, 2.01±0.09 및 1.92±0.06 mm이었다. 또한 histamine 투여 1시간 전에 YGS(500 mg/kg)를 투여한 군에서는 각각 2.05±0.02, 1.91±0.03, 1.88±0.05 및 1.83±0.04 mm로, 투여 30분 및 60분 후에 대조군에 비하여 유의성 있게 족척종창반응이 감소하였다(Table 6). 이는 YGS가 항염작용을 보유하고 있음을 나타낸다.

Table 6. Effect of YGS on the acute hind paw edema induced by histamine

Samples	Hind paw thickness(mm)			
	30	60	120	180(min)
CONTROL	2.19±0.03 (27.5)#	2.11±0.07 (23.4)	2.01±0.09 (17.5)	1.92±0.06 (12.3)
YGS	2.05±0.02* (19.9)#	1.91±0.03* (11.7)	1.88±0.05 (9.9)	1.83±0.04 (6.4)

YGS(500 mg/kg) was administered p.o. 1 hour before histamine injection. Hind paw thickness was measured by micrometer. The data(Footpad thickness(mm)) represents the mean±SE from 8 mice. *: Significantly different from control group(*: p<0.05). #: % increase of thickness. The hind paw thickness of normal mice was 1.71±0.03 mm.

고찰

면역의 기능중 이 방어기능이 비정상적으로 과도하게 반응하여 오히려 인체에 영향을 주는 반응을 알레르기반응이라고 하는데, 다시 말하면 외래 항원의 자극을 받아 면역학적으로 활성화가 일어난 개체에 동일한 항원이 재차 침입해 들어오면 면역반응이 야기된다. 그러나 항원이 과잉상태이거나 체내의 체액성 혹은 세포성 면역능이 고조되어 있을 경우에는 반응이 과민으로 일어나 결국에는 조직손상과 같은 부(負)의 면역반응이 일어나는데 이를 과민반응 또는 allergy라 한다. 결국 알레르기는 개체의 면역체계가 항원에 대하여 과도한 면역반응을 야기시킴으로써 발현되는 것이다. 과민반응이 임상적으로 치료의 대상이 될 정도로 심각한 상태이면 이를 과민성질환으로 분류한다. 이러한 allergy의 분류는 1963년 Gell과 Coombs가 처음 제안한 분류체계를 많이 이용하고 있으며 제 I형 ~ 제 IV형의 4가지형이 확립되었다²²⁾. 제 I형 과민반응은 항원(알레르겐)에 노출되고 일주일 쯤 경과하면 민감한 사람의 면역계에서 IgE항체가 생성되고 항원이 점막을 통해 흡수되면 수지상세포와 B세포에 섭취된다. 두 세포는 항원을 토막내어 토막항원을 2형조항원에 결합한 후 세포막에 제시한다. 수지상세포는 임파조직으로 이동하여 토막항원과 친화력이 강한 CD4⁺ T세포가 Th2세포로 활성화되어 토막항원을 제시한 B세포와 결합 한 후 B세포에 IL-4를 분비하여 IgE항체를 생산, 분비하는 형질세포로 활성화한다. 형질세포에서 분비한 IgE항체는 점막에 분포한 비만세포의 막(FcεR)에 결합한다. 이렇게 특정 알레르겐에 대한 IgE항체가 점막에 분포한 비만세포에 결합되면 감작되었다(아토피성, atopic person)라고 부르는데 특정이란 알레르기항원의 종류를 의미하고 감작(atopy)이란 재차 동일한 항원에 노출되었을 때 알레르기반응(atopic reaction)이 발생할 준비가 완료되었음을 의미한다. 이 시점의 감작된 점막은 외형상 감작이전의 점막과 차이가 없지만 감작된

후 동일 항원에 노출되어 항원이 점막에 흡수되면 수초 내지 수분 이내에 충혈, 부종, 분비증가, 평활근수축 등에 의한 알레르기 반응의 임상증상을 보이는데 점막을 통해 흡수된 항원이 이미 비만세포에 결합한 IgE항체와 결합하고 결합신호에 의해 비만세포가 히스타민, 세로토닌 등의 혈관활성물질을 분비하기 때문이다. 기관지천식, 담마진, 소아알레르기 등이며 소아의 약 30%와 성인 중 10%정도가 이러한 알레르기에 노출되어 있다²³⁾. 제II형 과민반응은 세포 표면에 있는 알레르겐성분과 반응하는 항체에 의해 개시되는 반응으로서 세포상해성 반응이라 부른다. 항원이 적혈구나 혈소판 등의 세포에 부착되고, IgG 혹은 IgM항체인 경우에 보체를 활성화시켜 과민반응이 시작된다. 자기면역성 용혈성빈혈, 혈소판 감소증 등이 있다. 제III형 과민반응(면역복합체형: Arthus reaction)은 항원이 많은 상태에서 항원과 항체가 복합체를 형성하여, 보체계를 활성화시켜 세포독성 작용을 나타내는데, 항원-항체 복합체에 의한 사구체신염, 혈관염 등이 대표적인 예이다. 제IV형 과민반응은 항원에 감작된 T림파구에 의해 매개되는 반응으로서 지연형 혹은 튜베르쿨린형 과민반응이 고전적인 예이며 접촉성 피부염과 이식거부현상 등이 있다. 알레르기질환의 증가는 대기 등의 환경오염의 증가, 집먼지 등의 불결한 곳에 서식하는 진드기²⁴⁾ 및 고지방식 등의 식이섭취 등과 장내 기생충의 소실²⁵⁾²⁶⁾, 상주균의 감소²⁷⁾ 등이 주요원인이다. 알레르기성 비염에 노출된 환자는 체내 임파구중 특히 CD8⁺의 TC/Ts세포가 정상에 비하여 약 20%정도 감소되고 있다는 보고²⁸⁾는 정상면역능의 결여로 인한 IgE항체가 과잉으로 분비된 결과다. 또한 Th2가 분비한 IL13이 세기관지 상피세포의 점액분비를 유도해서 천식을 악화시킨다는 새로운 보고도 있다²⁹⁾. 溫陽藥物인 桂心과 炮薑, 灸甘草 및 收斂固澀藥物인 龍骨로 구성된 龍角散은 太平聖惠方에 처음 수록된 처방으로¹⁵⁾ 虛勞失精을 치료하기 위해 수많은 치료를 사용해도 효과가 없을 때 사용하는 처방으로, 오늘날에는 久瀉虛寒, 腹中冷痛 등 전형적인 陽虛證에 활용된다고 하였다. 이와 같이 龍角散을 구성하고 있는 약물들은 주로 溫陽藥物로 免疫을 增強시키는 작용을 하는 것으로 사려되어 알레르기 반응에 미치는 효과를 관찰하였다. 시험관 내 hyaluronidase 활성측정, 제I형, III형 및 IV형 알레르기반응 및 histamine에 의한 즉각중창반응 등 염증반응에 미치는 효과를 관찰하였다.

龍角散의 각종 allergy반응에 미치는 효과는 특히 즉시형 과민반응에 효과가 있었다. Hyaluronidase는 hyaluronic acid형의 mucopolysaccharide를 가수분해시키는 효소로서 결합조직에의 투과성을 향진시킴으로서 임상적으로 피하에 주입된 약물의 확산과 흡수를 촉진하는 것으로 알려져 있다. Hyaluronidase는 맨처음 미생물에서 단리되었지만³⁰⁾, 현재는 포유류의 고환에서 추출하며 조직 중에 있는 이 효소는 lysosome으로부터 유래하는 것으로 추정된다³¹⁾. 항알레르기 작용을 검토하기 위하여 약물스크리닝에 hyaluronidase의 활성을 지표로 하였으며 효소의 기질인 hyaluronic acid는 비만세포에서는 histamine과 거의 같은 수준으로 유리되며 이 효소는 모세혈관 투과성항진에 관여하고 있다고 보고되었으며³²⁾³³⁾ Kakekawa 등은 tannin류 등이 불활성

의 hyaluronidase의 활성화를 억제하며 흰쥐의 장간막 비만세포의 탈과립을 강력하게 억제하는 항알레르기 작용을 보고하였다³⁴⁾. 또한 Sakamoto 등은 hyaluronidase의 활성이 PCA반응이 야기될 때 증가되며 DSCG나 baicalein-6인산에 의해 모세혈관 투과성 항진과 hyaluronidase 활성증가도 억제된다고 보고하여 제I형 알레르기반응에서 모세혈관 투과성 항진에 이 효소가 중요한 역할을 하는 것으로 추정하였다³⁵⁾. 본 실험에서도 龍角散이 hyaluronidase의 활성을 억제하는 작용을 가지고 있음을 확인하였다. 수동피부 anaphylaxis(PCA)반응은 즉시형 과민반응으로서 국소 anaphylaxis로 잘 알려져 있고, 화학적 전달물질의 유리 억제를 연구하는 중요한 in vivo 실험³⁶⁾이며, 이 반응의 원리는 항원을 생쥐 피내에 이입하면 세포친화성 항체는 세포와 결합하지만 세포와 결합하지 않은 항체는 소실될 때까지 방치한 다음 evans blue 등의 색소를 혼합해서 미정맥에 주사하면 항원과 항체가 반응하고 있는 곳에서 histamine 등의 생리활성물질이 유리되어 혈관벽의 투과성이 증가하고 혈장과 염색물질이 누출해서 피부에 청색반이 형성된다. 이 청색반의 크기와 색소의 농도를 측정할 결과, 龍角散을 투여한 군에서 1:40으로 희석시 대조군에 비하여 PCA반응이 유의하게 억제되었다. 이 결과는 龍角散이 PCA에 의한 즉시형 과민반응에 억제효과가 있음을 의미한다. 또한 즉시형 아나필락시스반응에 미치는 효과를 관찰하기 위하여 비만세포 탈과립을 유도하는 약물로 사용되는 compound 48/80을 투여해서 실험한 결과, 龍角散 투여시 compound 48/80에 의한 anaphylaxis발현이 50%정도 억제되는 것을 확인하였다. 이는 龍角散이 모세혈관 투과성항진을 억제해서 나타난 결과라고 추정된다. 한편, 제III형 알레르기반응에 미치는 효과는 Arthus반응을 지표로 해서 관찰하였는데 이 반응은 가용성항원에 의해 과면역이 된 상태에서 침강성 항체를 생성하는 개체에 동일항원을 재차 투여하면 항원-항체가 결합해서 모세혈관 내에서 침강성의 면역복합체가 형성되어 보체계를 활성화하고 복합체주변에서 혈소판의 응집이 일어나면서 부종, 발적 등이 일어나고 혈류장애로 인한 과사가 진행되는데³⁷⁾, 龍角散투여에 의해 Arthus반응이 억제되었다. 제IV형 지연형 알레르기(DTH반응)반응은 감작 T림파구와 식세포에 의해 주도되는 세포성면역의 과민반응인 것이 특징이다. 항원주사 후 24-48시간이 경과한 다음 흉반과 경결을 동반한 반응이 최대로 된다. SRBC에 의한 지연형 과민반응인 즉각중창반응은 억제하지 못하였다. 또한, 龍角散의 염증반응에 미치는 효과를 보고자 기염물질로서 histamine을 투여해서 생쥐의 즉각중창반응을 살펴본 결과, 龍角散은 histamine에 의한 급성 즉중창을 억제하는 효과가 투여 30분에서 60분 사이에 나타났는데 이 결과는 龍角散이 항히스타민 작용을 가지고 있음을 의미한다. 이상의 실험결과로 보아, 龍角散은 즉시형 알레르기에 대한 길항작용을 보유하는 면역조절제로서의 가치가 충분히 있는 것으로 추정된다.

감사의 글

본 논문은 우석대학교 학술연구비 지원에 의해 수행되었음.

참고문헌

1. Roitt, I., Brostoff, J. and Male, D.: Immunology. 4th Ed. 1.1-2.18, Mosby Publishing, U.K, 1998.
2. 안덕균 역, 면역과 한방, 열린책들, pp.19-21, 23-27, 67-73, 1998.
- 3.尹相協; 육군자탕, 소시호탕 ,어성초의 腫癌생취의 생존기간 연장효과와 면역반응에 관한 실험적 연구, 경희의학, 7(3): 342-357, 1991.
4. 閔泳奎, 淸熱大補湯의 免疫調節作用을 통한 항종양효과, 대한동의병리학회지 14(2):199-214, 2000.
5. 南于烈, 八物湯이 항암 및 면역조절작용에 미치는 영향, 동의 병리학회, 9(2), 295-315, 1995.
6. 정규만, 補兒湯이 免疫反應에 미치는 실험적 연구, 대한한의 학회 소아과학회지 1(1):13, 1986.
7. 裴廷燁, 小兒補血湯, 加味小兒補血湯, 加減小兒補血湯이 생취 의 免疫反應에 미치는 연구, 경희대학교 대학원, 1989.
8. 金奉成, 인삼양위탕의 면역증강효과에 대한 연구, 경희대학 교대학원, 1987.
9. 鄭連熙, 加味補兒湯이 면역기능 증진효과에 미치는 영향, 대 전대학교대학원, 석사학위논문, 1998.
10. 鄭鎭碩, 육미지황탕이 구속 Stress원취의 항Stress와 면역반응 에 미치는 영향, 경희대학교대학원, 석사학위논문, 1997.
11. 楊醫并, 中醫學問答(上), 인민위생출판사, p545, 1985.
12. 孫孝洪, 中醫治療學原理, 사천과학기술출판사, p228, 1990.
13. 朴鎭浩, 補陽藥類의 免疫藥理學的 考察, 대전대학교한의학연 구소 논문집9(1), pp215-223, 2000.
14. 崔用德, 淫羊藿 水抽出物이 생취의 免疫글로불린 및 Cytokine 生成에 미치는 영향, 又石大學校大學院 博士學位論文, 2001.
15. 太宗命, 太平聖惠方, 翰成社, p864, 1978.
16. 류재천, 박종세, 송윤선: 항알레르기 및 항염증작용의 시험관 내 1차 스크리닝법. 한국과학기술연구원 도핑콘트롤센터, 한 국생화학회, 1990.
17. Garvey, J.S.: Antibody-mediated hypersensitivity. In : Methods in Immunology, pp.451-462, Addison-Wesley Pub. Co., 1987.
18. Cochrane, D.E. and Douglas, W.W.: Calcium-induced excretion of secretory granules(exocytosis) in mast cells exposed to compound 48/80 or ionophores A-23187 and X537-A. Proc. Natl. Acad.Sci. USA, 71: 408, 1974.
19. Yoshikai, Y., Maie, S., Matsumoto, T., Nomoto, K. and Takeya, K.: Effects of stimulation and blockade of mononuclear phagocytic system on the delayed-type footpad reaction to SRBC in mice. Immunology, 38: 577, 1979.
20. Huh, I.H., Lee, S.J. and Kim, H.C.: Studies on the anti-inflammatory activity and its mechanism of Daidzein (I). Yakhak Hoeji, 31: 154, 1987.
21. Asboe-Hansen, G. and Weglius, O.: Histamine and mast cells(Studies on living connective tissue in the hamster cheek pouch). Acta. Physiol. Scand. 37, 350, 1956.
22. Coombs, R.R.A and Gell, P.G.H.: Classification of allergic reactions responsible for clinical hypersensitivity and disease. In : Clinical Aspects of Immunology, 3: 761, Blackwell Scientific Co., Oxford, 1975.
23. Schulz, O., Sewell H.F. and Shakib F.: Proteolytic cleavage of CD25, the alpha subunit of the human T cell interleukin 2 receptor, by Der p 1, a major mite allergen with cysteine protease activity.J Exp Med 19; 187(2): 271-275, 1998.
24. Shen, H.D., Tam, M.F., Chou, H. and Han, S.H.: The importance of serine proteinases as aeroallergens associated with asthma. Int Arch. Allergy Immunol. 119(4): 259-64,1999.
25. Dold, S., Heinrich, J., Wichmann, H.E. and Wjst M.J.: Ascaris-specific IgE and allergic sensitization in a cohort of school children in the former East Germany. Allergy Clin. Immunol. 102(3): 414-420, 1998.
26. 항원부하의 증가(Heinrich, J., Richter, K., Magnussen, H. and Wichmann, H.E.: Is the prevalence of atopic diseases in East and West Germany already converging Eur. J Epidemiol.14(3):239-45, 1998.
27. Sudo, N., Sawamura, S., Tanaka, K., Aiba, Y., Kubo, C. and Koga, Y. :The requirement of intestinal bacterial flora for the development of an IgE production system fully susceptible to oral tolerance induction. Immunol. 15;159 (4) : 1739- 1745, 1997.
28. Kus. J., Tse, K.s., Enarson, D., Grybowski, S. and Chan-Yeung, M.: Lymphocyte subpoulations in patients with allergic rhinitis. Allergy, 39: 509-514, 1984.
29. Grunig, G., Warnock, M., Wakil, A.E., Venkayya, R., Brombacher, F., Rennick, D.M., Sheppard, D., Mohrs, M., Donaldson, D.D., Locksley, R.M., and Corry, D.B.: Requirement for IL-13 independently of IL-4 in experimental asthma. Science 18; 282(5397):2 261-2263, 1998.
30. Meyer,K. Dubos, R. and Smith, E.M.: The hydrolysis of the polysaccharide acids of vitreous humor of umbilical cord. and of stretotococcus by the autolytic enzyme of pneumococcus. J. Biol. Chem., 118, 71, 1967.
31. Aronsonja, N.N. and Davidson, E.A.: Lysosomal hyaluronidase from rat liver. J. Biol. Chem., 242, 437-440, 1967.
32. Aronsonja,N.N., Davidson, E.A., Lysosomal hyaluronidase from rat liver. J, Biol. Chem., 242, 437-440, 1967.
33. Vaes, G., Hyaluronidase activity in lysosomes of bone tissue. J. Biochem., 103, 802-804, 1967.
34. Kakegawa, H., Matsumoto, H., Endo, K., Satoh, T., Nonaka, G. and Ishizaka, I.: Inhibitory effects of tannins on hyaluronidase activation and on the degranulation from rat

- mesentery mast cells. Chem. Pharm. Bull., 33, 5079-5082, 1985.
35. Sakamoto, K., Nagai, H. and Koda, A.: Role of hyaluronidase in immediate hypersensitivity reaction. Immunopharmacol. 2, 139-146, 1980.
36. Ovary, Z.: passive cutaneous anaphylaxis in immunological methods. ed. by Ackroyd. Oxford Bla. Sci. Pub., 259, 1964.
37. 서울대학교 의과대학편 : 면역학(전정판), pp. 1-3, 165-188, 서울, 서울대학교 출판부, 1993.