

肛腸療法에 의한 玉屏風散加味の 卽刻型 알레르기 반응 억제 효과

조정연* · 문구 · 문석재 · 원진희 · 유경태 · 이종덕¹

원광대학교 한의과대학 내과학교실, 1: 광주원광병원 방사선과

Inhibitory Effects of Immediate-Type Allergic Reaction of Okbyungpoongsan-Gami by Anal Therapy

Jeong Yeon Cho*, Gu Moon, Suk Jae Moon, Jin Hee Won, Kyoung Tae You, Jong Deok Lee¹

Department of Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Wonkwang University,

1: Department of Radiology of Gwangju Wonkwang Hospital

Okbyungpoongsan-Gami (OG) has been used for the treatment of excessive sweating with general weakness and allergic rhinitis recently. Anal therapy is another way of taking Oriental medicine. It is an important pathway but not available in common clinical situation. This experiment was performed in order to study the inhibitory effect of immediate-type allergic reaction of OG by anal therapy. In addition, the experiment was practised by 1H-NMR spectroscopy to examine molecular structure of OG. The results were obtained as follows : OG concentration-dependently inhibited compound 48/80- induced immediate type systemic allergic reaction with concentrations of 0.01-1.0g/kg by anal administration 1h before injection of compound 48/80. OG also concentration-dependently inhibited compound 48/80- induced ear swelling response with concentrations of 0.01-1g/kg by anal administration 1h before injection of compound 48/80. OG also inhibited the passive cutaneous anaphylaxis activated by anti-dinitrophenyl (DNP) IgE antibody concentration- dependently at concentrations ranging from 0.01 to 1g/kg. When OG was pretreated at concentrations ranging from 0.01 to 1g/ℓ, the histamine release from the rat peritoneal mast cells induced by compound 48/80 was reduced in a concentration-dependent manner. OG (0.1-1g/ℓ) had a significant inhibitory effect on histamine release from IgE-induced activated mast cells. OG is seen to be a biochemical compound certainly by 1H-NMR spectroscopy According to above results, anal therapy of OG may be beneficial in the treatment of systemic and local immediate-type allergic reactions by inhibition of histamine release from mast cells.

Key words : Okbyungpoongsan-Gami(玉屏風散加味), Anal Therapy, Immediate-Type Allergic Reaction.

서 론

肛腸療法은 약물을 적당한 劑型으로 만들어 항문주위에 사용하거나, 혹은 직접 약물로 肛門을 막거나, 또는 灌入시켜 질병을 치료하는 치료법이다. 그 가운데 灌腸法은 사용이 간편하고 부작용이 적으며 효과가 뛰어나 임상에서 광범위하게 응용되고 있다¹⁻²⁾. 肛腸療法을 이용한 알레르기 억제에 효과에 관한 연구에는 丹蔘³⁾, 丁香⁴⁾, 枳實⁵⁾ 등의 약재와 小柴胡湯⁶⁾, 小青龍湯⁷⁾ 등의 湯劑에 관한 연구가 있다. 玉屏風散加味는 《古傳中醫 名方新用》⁸⁾에 수록된 處方으로 玉屏風散에 桂枝, 紫蘇葉, 黃芩, 牧丹皮, 沙蔘, 合歡皮, 辛夷花를 가미하여 평소 肢體倦怠, 身疲懶言하면서, 鼻內가 乾塞하고 가려워 출혈과 結痂가 발생할 때에 사용한다.

비만세포(mast cell)는 알레르기 반응의 원인세포로 알려져 있으며, 특정 항원의 자극에 의하여 화학적 매개 물질들을 유리하게 된다. 그 중에서 histamine은 가장 빠르게 유리되어 알레르기 반응 및 염증반응을 일으킨다¹¹⁻¹²⁾. 강력한 탈과립 유도물질인 compound 48/80은 비만세포의 과립내 histamine의 약 90%를 방출시킨다¹³⁾. 따라서 적당량의 compound 48/80을 사용하여 객관적인 알레르기반응 조절효과 등을 연구할 수 있다¹¹⁾. 또한 비만세포 표면에 IgE가 결합하는 고친화성의 수용체를 매개로 한 자극으로 아나필락시를 연구할 수 있는 모델이 있다. 이 생체내 실험모델을 수동 피부 아나필락시 (passive cutaneous anaphylaxis, PCA) 반응이라 한다¹⁴⁻¹⁸⁾. 이에 저자는 肛腸療法에 의한 玉屏風散加味の 卽刻型 알레르기 반응 억제 효과를 동물실험모델을 이용하여 규명하고자 본 연구를 수행하였다. 또한 玉屏風散加味の 객관성정립 등을 위한 1H-NMR(proton nuclear magnetic resonance:양자 핵자기공명)스펙트럼 연구도 병행하였다.

* 교신저자 : 조정연, 광주광역시 남구 주월동 원광대학교 광주한방병원

E-mail : chochi@hanmail.net, Tel : 062-670-6527

· 접수: 2002/01/18 · 수정: 2002/02/25 · 채택 : 2002/03/20

재료 및 방법

1. 재료

1) 약재

본 실험에 사용한 약재는 원광대학교 광주한방병원에서 구입한 후 정선하여 사용하였다. 처방내용은 《古傳中醫 名方新用》⁸⁾에 의거하였으며 1첩의 분량은 다음과 같다.

Table 1. Prescription contents of Okbyungpoongsan-Gami Per Pack

本草名	生藥名	學名	分量(g)
白朮	Rhizoma atractylodis macrocephalae	Atractylodes macrocephala KOIDZ.	10
黃芪	Radix astragali	Astragalus membranaceus BUNGE.	5
防風	Radix osterici koreani	Ledebouriella divaricata UEKI.	5
桂枝	Ramulus Cinnamomi	Cinnamomum cassia PRESL.	6
黃芩	Radix scutellariae	Scutellaria baikalensis GEORGI.	6
紫蘇葉	Folium perillae	Perilla frutescens BRITTON. var acuta KUDO.	9
牡丹皮	Cortex moutan radidis	Paeonia suffruticosa ANDR.	9
沙蔞	Radix adenophorae	Adenophora triphylla var japonica HARA.	15
合歡皮	Cortex albiziae	Albizia julibrissin DURAZZ.	10
辛夷花	Flos magnoliae	Magnolia liliflora DESR.	10
Total	amount		85

2) 시약 및 동물

fetal bovine serum(FBS), α -minimal essential medium(α -MEM), compound 48/80, anti-dinitrophenyl(DNP) IgE, DNP-human serum albumin(HSA), o-phthaldialdehyde(OPA), evans blue 및 metrizamide는 Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA)에서 구입하였다. 마우스(ICR)와 흰쥐 (Sprague-Dawley)는 대한실험동물센터(대전)에서 구입하여 온도 22±2℃, 습도 55±10%가 유지되는 laminar air-flow room에서 사육하였다.

2. 방법

1) 玉屏風散加味 수침액의 조제

약탕기에 玉屏風散加味와 증류수 1ℓ를 넣고 2시간 동안 달여 여과하였다. 여과액은 freeze dryer를 이용하여 동결건조 하였다. 동결건조물의 수율은 약 16% (w/w)였다. 건조한 추출 약물은 실험 전에 증류수에 용해하여 사용하였으며, 세포실험에 사용한 약물은 인산완충용액 (phosphate-buffered saline, PBS)에 용해하여 0.22 μ m의 membrane filter로 여과하여 사용하였다.

2) compound 48/80에 의한 전신성 즉각형 알레르기 반응

마우스 복강에 compound 48/80(7mg/kg)을 주사하여 전신성 알레르기 반응을 유발시켰다. 玉屏風散加味는 compound 48/80 투여 1시간 전에 肛腸投與하였다. 약물의 直腸內 투여는 Ketamine(6mg/g, 생쥐 복강내 주사)을 투여하여 마취시킨 후 stomach sonde 끝이 생쥐의 直腸內에 완전히 들어가도록 한 다음 直腸內에 분포해 있는 모세혈관이 파괴되지 않도록 잠갑을 끼고 sonde가 들어간 肛門의 윗부분 피부를 지긋이 눌러준 다음

서서히 약물(total volume:40 μ l)을 투여하였다. 약물투여후에 즉시 肛門에 순간접착제를 발라 주어 약물이 새어나오는 것을 막았다. compound 48/80 주사 1시간 후에 다음과 같이 치사율을 구하였다.

$$[\text{치사율} (\%) = \text{총 죽은 마우스 수} \times 100 / \text{총 실험 마우스 수}]$$

3) compound 48/80에 의한 ear swelling 반응

마우스 귀에 compound 48/80 (100 μ g/site, 20 μ l)과 PBS 20 μ l (대조군)를 28 G hypodermic 주사침을 결합시킨 미세주사기로 피내주사하여 ear swelling 반응을 유발시켰다. 玉屏風散加味는 compound 48/80 투여 1시간 전에 肛腸投與하였고, compound 48/80 혹은 PBS 투여 40분 후에 digimatic micrometer(Mitutoyo, Japan)를 이용하여 귀의 두께를 측정하였다.

4) IgE 항체에 의한 수동 피부 알레르기 반응

IgE 항체 의존성 수동 피부 알레르기 반응 모델은 anti-DNP IgE를 흰쥐의 등피부에 피내 주사한 다음 24시간 후에, DNP-HSA를 꼬리정맥에 주사하여 일으켰다. 즉 깨끗이 털을 제거한 마우스 피부에 anti-DNP IgE (250ng/site)를 피내 주사했다. 주사부위는 수불용성 적색 잉크로 표시하고 24시간 동안 감각시킨 후에 실험을 수행했다. PBS에 용해시킨 1mg/ml의 DNP-HSA는 4% evans blue와 1:1로 섞어 500 μ l 씩 흰쥐의 꼬리정맥으로 주사하였다. 玉屏風散加味는 반응 1시간 전에 肛腸投與 하였고, evans blue 양을 정량하기 위하여 반응 40분 후에 실험동물을 치사시키고 염색된 피부 조직을 떼어냈다. 떼어낸 피부 조직은 1ml의 1.0 N-KOH에 넣어 녹인 후 9ml의 아세트산 인산 혼합물 (5:13)로 조직내의 evans blue를 추출하여 620nm의 파장에서 흡광도를 측정하였다¹⁹⁾.

5) 복강내 비만세포의 분리

Jippo 등의²⁰⁾ 방법에 준하여 흰쥐 복강 비만세포를 분리하였다. 즉 흰쥐를 클로로포름으로 마취시킨 후 완충용액 (1% FBS, 10,000 unit heparin in PBS) 약 30ml를 복강내에 주입하고 약 90초간 복벽을 가볍게 마사지하였다. 흰쥐의 복벽 중앙선을 따라 조심스럽게 절개하여 복강세포를 함유한 액을 파스퇴르 피펫으로 뽑아냈다. 복강세포를 150×g로 10분씩 2회 반복하여 원심 분리한 후 상층액을 버리고 1ml의 완충용액으로 다시 부유시켰다. 이 세포부유액 중의 비만세포는 PBS에 용해한 22.5%(w/v) metrizamide를 이용하여 분리하였다²¹⁾. 즉 1ml의 부유액을 2ml의 22.5%(w/v) metrizamide에 살며시 올린 후 섞이지 않도록 조심스럽게 400×g로 10분간 원심분리했다. 이때 침전된 세포만을 취했다.

6) 복강비만세포에서 histamine 유리

분리한 복강비만세포는 α -MEM과 FBS를 1:1로 섞은 배지에 재부유시켰다. 복강비만세포는 (2×10^5 cells/ml) 실험에 들어가기 전 20분 동안 37℃에서 안정화시킨 후 玉屏風散加味를 농도 별로 처리하였다. 15분 후에 6mg/ℓ 농도로 compound 48/80을 첨가하고 10분 후 원심분리하여 상층액을 얻었다. 또한 안정화시킨 복강비만세포 (2×10^5 cells/ml)를 20시간 동안 anti-DNP IgE (10mg/ℓ)로 감각시킨 후 새로운 배지로 세번 세포를 세척하여 배지 속의 anti-DNP IgE를 제거하였다. 새로운 배지에 재부유시킨 복강비만세포에 각 농도의 玉屏風散加味를 첨가하여 배

양하였다. 15분 후 DNP-HSA (1mg/ℓ)를 처리하였고 40분 후에 400×g, 4℃에서 5분 동안 원심분리하여 상층액을 취하였다. 유리된 histamine을 포함한 배지는 histamine을 정량하기 전까지 -70℃의 냉동고에 보관하였다.

7) histamine 정량

복강 비만세포로부터 유리된 histamine의 정량은 金 등¹¹⁾의 방법으로 하였다. 즉 에펜돌프 튜브에 시료 500μℓ를 넣고 0.1 N-HCl 450μℓ, 60% 과염소산 용액 50μℓ를 넣고 혼합 후 원심분리 (1,500rpm, 20min)하여 그 상층액 800μℓ를 5N-NaOH 용액 500 μℓ, 증류수 3ml, 부탄올 10ml 및 NaCl 1.2g을 혼합한 50ml 시험관에 넣고 20분간 교반 후 원심분리 (2,000 rpm, 10 min)하였다. 부탄올 층 8ml를 50ml 시험관에 넣고 0.1N-HCl 용액 3ml, n-Heptane 10ml를 가하여 20분간 교반 후 원심분리 (2,000rpm, 10min)하였다. 여기에서 얻어진 수층 2ml에 1N-NaOH 용액 400 μℓ와 1% o-phthalaldehyde 용액 100μℓ를 넣고 수욕상 (30℃)에서 3분 동안 반응시킨 다음, 3 N-HCl 용액 200μℓ를 넣고 혼합 후 형광흡광도계 (λ ex=360nm, λ em=440nm)로 형광도를 측정하여 다음과 같이 히스타민 유리 억제율을 구하였다.

$$[\text{억제율} (\%) = \frac{(\text{玉屏風散加味를 처리하지 않았을 때의 히스타민양} - \text{玉屏風散加味를 처리하였을 때의 히스타민양}) \times 100}{\text{玉屏風散加味를 처리 하지 않았을 때의 히스타민양}}]$$

8) 1H-NMR 분석

1H-NMR 스펙트럼은 Varian Unity 500(500 MHz, Japan) spectrometer로 분석하였다²²⁾.

9) 통계학적 분석

모든 자료는 mean ± SEM으로 나타내었으며, 통계학적 분석은 student's t-test로 행하였다. 유의성은 대조군과 비교하여 결정하였다.

결 과

1. 玉屏風散加味の 전신성 알레르기 반응 억제 효과

전신성 알레르기 반응은 비만세포에 대한 비면역학적 자극제인 compound 48/80(7mg/kg)을 마우스 복강에 주사하여 유도하였다. compound 48/80을 주사하기 1시간 전에 玉屏風散加味와 증류수를 肛腸投與하였다. 사망률은 compound 48/80을 주사한 후 1시간 후에 결정하였다.

Table 2. Effect of Okbyungpoongsan-Gami (OG) on compound 48/80-induced systemic allergic reaction

Dose of OG (g/kg)	Compound 48/80(7mg/kg)	Mortality(%)
None (DW)	+	100
0.01	+	100
0.1	+	75±14.4*
1.0	+	42.7±8.3*
1.0	-	0

Two hundred μℓ distilled water(DW) or OG was anally given at various doses 1 h before (n=8/group) the compound 48/80 injections. The compound 48/80 solutions were intraperitoneally given to mice. Mortality (%) within 1 h following the compound 48/80 injections is presented as the No. of dead mice × 100/total No. of experimental mice. Each value represents the mean±SEM of three independent experiments. *P<0.05; significantly different from the DW value.

Table 2에 나타난 바와 같이 증류수를 투여한 群에서는 100%의 사망률을 보인 반면 玉屏風散加味(0.1, 1.0g/kg)의 肛腸投與群은 현저하게 사망률이 감소되었으며, 玉屏風散加味는 전신성 알레르기 반응을 농도 의존적으로 억제하였다.

2. 玉屏風散加味の ear swelling 반응 억제 효과

비만세포 매개성 즉각형 피부 알레르기 반응중 하나인 ear swelling 반응 모델에서 肛腸療法에 의한 玉屏風散加味 효과를 분석하였다. 귀 피부 알레르기 반응은 비만세포에 대한 비면역학적 자극제인 compound 48/80을 마우스 귀에 피내 주사하여 유도하였다. 정상 생쥐에서 compound 48/80(10-200μg/site)은 농도 의존적으로 ear swelling 반응을 증가시켰고 compound 48/80 100μg/site 처리 시 반응이 가장 잘 일어났다. compound 48/80 주사후 40분 이후에는 반응이 감소하였다(data not shown). 따라서 본 실험에서는 compound 48/80 100μg/site를 국소에 피내주사하기 1시간 전에 玉屏風散加味를 증류수에 용해하여 肛腸投與한 다음 40분 후에 그 효과를 분석하였다.

Table 3에 나타난 바와 같이 玉屏風散加味는 ear swelling 반응을 0.1과 1.0g/kg의 농도에서 각각 26%, 32.3%로 유의성 있게 농도 의존적으로 감소함을 알 수 있다.

Table 3. Effect of OG on compound 48/80-induced ear swelling response

Dose of OG (g/kg)	Compound 48/80 (100μg/site)	Ear swelling (× 100μm)	Inhibition (%)
None (DW)	+	2.093±0.134	-
0.01	+	2.012±0.104	4
0.1	+	1.550±0.118	26*
1.0	+	1.417±0.134	32.3**

Fifty μℓ DW or OG was anally given at various doses 40 min before (n=6 group) the compound 48/80 injection. Twenty μℓ of compound 48/80 (100 g/site) were applied topically to the ears of mice. Each value represents the mean±SEM of three independent experiment. *P<0.05, **P<0.01; significantly different from the DW value.

3. 玉屏風散加味の 수동 피부 알레르기 반응 억제 효과

특이적 면역학적 방법으로 유발된 전형적인 수동 피부 알레르기 반응 실험동물 모델을 이용하여 肛腸療法에 의한 玉屏風散加味の 알레르기 억제효과를 분석하였다. 수동 피부 알레르기 반응모델은 비만세포 표면에 존재하는 FcεRI에 결합하는 특이 IgE 항체를 생체 국소에 수동적으로 투여한 다음 항원을 주사하여 일으키는 피부반응이다²³⁾. 대조군에는 증류수를 주사하였으며, 항체인 anti-DNP IgE를 주사한 뒤 24시간 후에 항원인 DNP-HSA 및 evans blue 색소를 생쥐의 꼬리 정맥에 주사하였다. 玉屏風散加味の 효과는 알레르기 반응이 일어난 국소 피부를 절개하여 침착된 색소의 양을 정량하여 대조군과 비교하였다. 증류수와 玉屏風散加味는 항원으로 반응시키기 1시간 전에 투여하여 침착된 색소를 정량하였다.

Table 4에 나타난 바와 같이 玉屏風散加味(0.01-1.0 g/kg)는 농도 의존적으로 수동 피부 알레르기 반응을 억제하였으며, 1.0 g/kg 농도에서는 32.8%까지 억제 효과를 나타냈다.

Table 4. Effect of OG on the 24h passive cutaneous anaphylaxis (PCA) in mouse

Dose of OG(g/kg)	Inhibition (%)
None (DW)	0±3.5
0.01	5.7±3.5
0.1	19.9±3.8*
1.0	32.8±3.6**

OG was administered orally 1 h (n=8/group) prior to the challenge with antigen. Each value is presented as the mean±SEM of four independent experiments. *P<0.05, **P<0.01; significantly different from the DW value.

4. 玉屏風散加味の 복강 비만세포로부터 histamine 유리 억제 효과
 생체의 실험으로 玉屏風散加味の 알레르기 반응 억제기전을 알아보하고자 玉屏風散加味の compound 48/80과 anti-DNP IgE 유도된 histamine 유리 억제 효과를 실험하였다. 즉, 분리한 흰쥐 복강 비만세포에 玉屏風散加味를 처리하고 15분 후에 10분 동안 compound 48/80을 처리하였으며, anti-DNP IgE 항체를 20시간 자극한 흰쥐 복강 비만세포에 玉屏風散加味를 25분간 처리한 후 DNP-HSA를 처리하여 40분 후에 histamine의 유리량을 측정하였다. 玉屏風散加味는 농도의존적(0.01-1.0g/l)으로 비만세포로부터 compound 48/80(Fig. 1), 혹은 anti-DNP IgE(Fig. 2)에 의해 유도되는 histamine 유리를 억제했다. 특히 玉屏風散加味는 0.1과 1.0g/l 농도에서 각각 25, 64.1%, 그리고 24, 63.6%로 현저한 억제 효과를 보였다. 위의 모든 실험에서 玉屏風散加味에 의한 세포독성은 나타나지 않았다(data not shown).

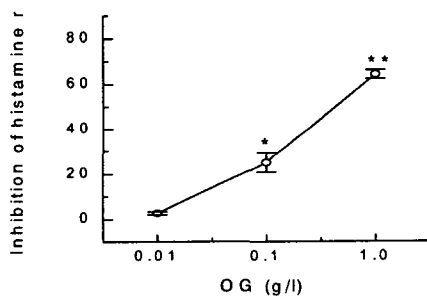


Fig. 1. Effect of OG on compound 48/80-induced histamine release from rat peritoneal mast cells. The cells (2×10^5 cells/ml) were preincubated with the drug at 37°C for 15 min prior to incubation with compound 48/80 (6 µg/ml) for 10 min. Each value is presented as the mean±SEM of three independent experiments. *P<0.05, **P<0.01; significantly different from the control value.

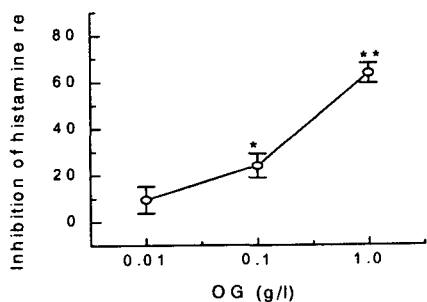


Fig. 2. Effect of OG on IgE-mediated histamine release from rat peritoneal mast cells. The cells (2×10^5 cells/ml) were preincubated with drug at 37°C for 15 min prior to incubation with DNP-HSA. Each value is presented as the mean±SEM of three independent experiments. *P<0.05, **P<0.01; significantly different from the control value.

5. 玉屏風散加味の 1H-NMR 분석

玉屏風散加味 구성 성분의 특성을 알아보기 위하여 1H-NMR 분석을 수행한 결과 주된 생물학적 화합물을 분명하게 관찰할 수 있었다. 특히 3.20과 4.30ppm 사이에서 화학적 이동 (chemical shift)을 보였으며, 5.65ppm에서도 보였다(Fig. 3).

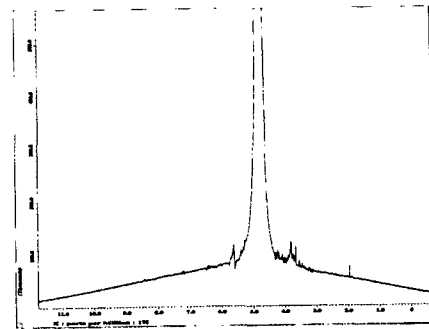


Fig. 3. 1H-NMR spectrum of OG.

고찰

肛腸療法는 後漢時代 張仲景이 《傷寒雜病論》²⁴⁾에서 “此爲津液內竭 雖不可攻之 …… 皆可爲導”라고 하여 도법으로 변비를 치료하는 방법을 소개한 것이 최초의 기록이다. 肛腸療法는 胃粘膜에 대한 약물의 직접적인 자극을 피하여 일부 內服할 수 없거나 內服하여 쉽게 胃腸管 반응을 일으키는 문제에 대하여 새로운 용약경로를 주었으며, 또한 약물이 直腸의 흡수를 통하여 혈액에 들어가므로 약력이 신속하고 효과적이며, 약물이 전신에 주는 불필요한 영향을 최대한으로 제한하여 최근에는 適應症이 매우 광범위하다^{1-2,25-28)}.

玉屏風散加味는 《古傳中醫 名方新用》⁸⁾에 수록된 處方으로 玉屏風散에 桂枝, 黃芩, 紫蘇葉, 牡丹皮, 沙蔘, 合歡皮, 辛夷花를 加味한 處方이다. 構成藥物을 살펴보면 黃芪, 白朮, 防風은 玉屏風散之劑로 益氣固表止汗하여 주로 衛氣虛 및 表虛自汗에 적용한다²⁹⁻³²⁾. 최근에 田³³⁾은 玉屏風散이 면역반응에 의한 조직의 손상을 최소화하면서 개체의 免疫力를 향상시킨다고 보고하였다. 沙蔘은 養陰清肺, 清虛熱하고, 黃芩은 清熱燥濕, 退肺熱하여 肺熱을 내리고 咳嗽을 멎게하며, 牡丹皮는 清熱活血하고, 合歡皮는 解鬱活血의 효능이 있어 瘀血阻滯에 사용한다. 紫蘇葉, 桂枝는 發汗解表, 散風寒시키며, 辛夷花는 散風寒, 通肺竅하여 外感風寒으로 인한 鼻塞에 사용한다³⁴⁾. 따라서 본 처방은 평소 肢體倦怠, 身疲懶言하고 鼻內가 乾塞하고 가려워 出血과 結核가 생겼을 때에 益氣固表, 清熱, 活血, 散風寒시켜 임상에서 면역력 저하로 인한 알레르기 비염 등에 사용할 수 있음을 알 수 있다.

항원의 자극을 받은 생체가 재차 동일 항원에 노출되면 처음 항원자극을 받은 생체에 비해 과도한 조직장애를 동반하는데 이러한 생체 반응을 알레르기라 한다⁹⁻¹⁰⁾. 1964년 Coombs와 Gell은 알레르기의 발생기전에 따라 I-IV형으로 분류하였으며, 이후 Roitt가 V형을 추가하였다^{10,35-37)}. 그 중 I형 알레르기는 감작된 개체가 동일한 항원에 다시 노출되면 즉시 반응이 일어나

므로 즉각형 알레르기라 하며, 보호면역반응(prophylaxis)의 반대되는 반응이라하여 아나필락시스형(anaphylaxis) 알레르기라고도 한다. 비만세포나 호염기구 표면의 특이적 수용체에 IgE가 결합하고 항원이 IgE를 매개로 비만세포에 결합하면 항원항체반응의 결과 비만세포에서 탈과립 반응이 일어나게 된다. 탈과립반응으로 유리되는 histamine, serotonin, prostaglandin 등의 화학적 매개물질은 표적조직 및 표적세포에 작용하여 아토피성 피부염, 알레르기성 두드러기, 기관지 천식, 알레르기성 비염 등의 다양한 임상증상을 나타낸다^{9,36}.

본 연구에서는 비만세포 매개성 즉각형 알레르기 반응에 있어서 肛腸療法에 의한 玉屏風散加味の 효과를 분석하고자 전신성 알레르기반응, ear swelling 반응, 그리고 수동 피부 알레르기 반응(PCA)을 동물 모델을 이용하여 실험하였다. 전신성 알레르기 반응은 비면역학적 자극제인 compound 48/80을 실험동물 복강에 주사하여 유도할 수 있다. compound 48/80이 복강비만세포를 탈과립시키면 짧은 시간동안 많은 양의 histamine이 방출하게 된다. 방출된 histamine은 혈관확장을 일으켜 실험동물은 저혈압에 의한 쇼크로 사망하게 된다³⁷. 전신성 알레르기 반응이 histamine에 의한 전신성 반응인 반면 ear swelling 반응은 국소 반응이다. 즉, 국소부위에 compound 40/80을 피내주사하면 농도의존적으로 부종(swelling)이 발생하게 된다. 수동 피부 알레르기 반응(PCA)을 유도하기 위해서는 동물의 피내에 비만세포 표면의 수용체에 결합하는 IgE항체(anti-DNP IgE)를 주사한 후에 특정항원(DNP-HSA)과 evans blue를 정맥으로 주사한다. 항체와 항원이 결합함으로써 그 결과 비만세포는 탈과립을 일으키고 이때 방출된 histamine은 말초혈관 확장작용을 일으킨다. 항원과 함께 주사한 evans blue는 혈관 투과성의 항진으로 인하여 혈관 확장이 일어난 부분에 많이 침착하게 되고 이때의 evans blue 양은 알레르기 반응의 정도와 비례한다²⁹.

본 실험에서 玉屏風散加味는 동물 모델을 이용한 전신성 알레르기 반응, ear swelling 반응, 그리고 수동 피부 알레르기 반응 실험 결과 모두 유의성 있는 알레르기 반응 억제 효과를 보였다. 또한 玉屏風散加味の 肛腸療法에 의한 알레르기 반응 억제 기전을 알아보기 위하여 compound 40/80과 anti-DNP IgE 유도성 histamine 유리 억제 능력을 실험하였다. 위 실험에서 玉屏風散加味는 compound 48/80으로 자극된 복강 비만세포로부터 방출되는 histamine의 양을 농도 의존적으로 감소시켰으며, anti-DNP IgE에 의한 자극에서도 같은 정도의 억제율을 보였다. 이러한 결과는 肛腸療法에 의해 투여된 玉屏風散加味가 大腸에서 잘 흡수되어 비만세포의 탈과립 반응을 억제하는 효과를 나타내는 것을 의미한다. 최근에 보고된 바에 의하면 compound 48/80 및 이와 유사한 다른 화합물들은 거의 직접적으로 G-proteins를 활성화시키는 것이 밝혀졌기 때문에 compound 48/80이 비만세포로부터 histamine 방출을 유도하는 신호전달 과정을 활성화한다는 점에는 의심의 여지가 없다³⁸. 다른 화학적 매개물질의 피내 혹은 비강내 적용 및 화학적 매개물질 유도제의 투여에 의해서도 알레르기 반응 모델과 유사한 양상으로 혈관 투과성이 증가한다³⁹. 그러나, 즉각형 알레르기 반응 질환의 진행에 여러 가지 다른 매개물질의 중요성이 인정되고 있음에도 불구하고

histamine은 항원 유도성 피부반응의 가장 근본적인 매개 물질로 인식되고 있다. 1H-NMR(proton nuclear magnetic resonance: 양자핵자기공명)은 외부 자기장하에서 자기모멘트를 갖는 핵자가 어떤 정확한 진동수의 전자기파를 흡수하는 현상으로 NMR의 중요한 목적은 원소조성을 알아내는데 있는 것이 아니라 화학적 분석과 구조결정의 기술로 사용하는데 있다. 즉 각각의 핵의 공명진동수는 분자의 화학 결합에 있어서의 전자 분포의 영향을 받는다⁴⁰. 본 실험에서는 玉屏風散加味를 1H-NMR로 분석하여 주된 생물학적 화합물임을 분명하게 관찰할 수 있었다.

玉屏風散加味를 肛腸療法으로 투여한 실험동물에서 IgE 매개성 수동 피부 알레르기 반응이 현저히 억제된 결과는 玉屏風散加味를 肛腸療法으로 각종 항원에 의한 국소 피부 알레르기 반응을 억제할 수 있음을 의미한다. 인체에 적합한 제형설계에 의한 肛腸投與 효과를 증명할 수 있는 임상실험이 연구 검토된다면 肛腸投與의 장점인 빠른 효과와 흡수율 증대에 의한 강력한 효능은 물론 경구투여 등이 불가능한 경우 및 胃腸障礙 등의 부작용이 우려되는 경우 효과적인 투여방법으로 정착될 수 있을 것으로 사료된다.

결론

肛腸療法에 의한 玉屏風散加味の 즉각형 알레르기 질환 치료방법을 모색하고자 실험동물 모델에서 玉屏風散加味の 효능을 실험한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

肛腸療法에 의한 玉屏風散加味 (0.01-1.0g/kg)의 투여에 의해 compound 48/80으로 유도되는 전신성 알레르기 반응이 농도의존적으로 억제되었다. 비만세포 매개성 즉각형 피부 알레르기 반응인 ear swelling 반응 모델에서 肛腸療法에 의한 玉屏風散加味(0.1, 1.0g/kg)의 투여에 의해 ear swelling 반응이 현저히 억제되었다. 肛腸療法에 의한 玉屏風散加味の 투여에 의해 즉각형 수동 피부 알레르기 반응을 농도 의존적으로 억제하였으며, 1.0g/kg 농도에서는 현저한 효과를 나타냈다. 玉屏風散加味는 비만세포로부터 compound 48/80 유도성 histamine 방출을 농도 의존적으로 억제하였으며, 0.1, 1.0g/ℓ 농도에서 각각 25, 64.1%의 현저한 억제율을 나타냈다. 玉屏風散加味는 비만세포로부터 anti-DNP IgE 유도성 histamine 방출을 농도 의존적으로 억제하였다. 특히 0.1, 1.0 g/ℓ 농도에서 각각 24, 63.6%의 현저한 억제율을 나타냈다. 玉屏風散加味 구성 성분의 특성을 알아보기 위하여 1H-NMR 분석을 수행하여 생물학적 화합물임을 관찰할 수 있었다.

이상의 결과는 肛腸療法에 의한 玉屏風散加味の 투여에 의해 즉각형 알레르기 반응을 분명하게 조절할 수 있음을 의미한다. 임상적으로 玉屏風散加味の 肛腸投與에 의해 최근 증가되고 있는 여러 형태의 다양한 알레르기 반응을 조절할 수 있을 것으로 사료된다.

감사의 글

이 논문은 2002년도 원광대학교의 교비지원에 의해서 연구됨.

참고문헌

1. 문석재 外 : 난치병 치료를 위한 肛腸 療法, 익산, 원광대학교 출판국, pp. 11-12, 1998.
2. 魯勳政 : 肛腸療法의 原理, 常用方法 및 臨床應用에 對한 文獻의 考察, 대한외관과학회지 제12권 2호, pp. 124-147, 1999.
3. 趙正衍 : 肛腸療法에 의한 丹蔘抽出液의 알레르기 반응 抑制效果, 대한한의학회지 제20권 1호 pp. 11-21, 1999.
4. 裴成熾 : 肛腸療法에 의한 丁香의 卽刻型 過敏反應 抑制效果, 대한외관과학회지 제13권 1호 pp. 116-128, 2000.
5. 李秦旭 : 肛腸療法에 의한 枳實의 卽刻型 알레르기 反應 抑制效果, 대한외관과학회지 제13권 1호 pp. 141-156, 2000.
6. 姜泰熙 : 肛腸療法에 의한 小柴胡湯의 아나필락시 쇼크 抑制에 대한 실험적 연구, 대한한의학회지 제19권 2호, pp. 439-447, 1998.
7. 李建業 : 肛腸療法에 의한 小青龍湯의 알레르기 反應 抑制效果, pp. 22-23, 圓光大碩士學位論文, 1998.
8. 劉堅 外 : 古傳中醫名方新用, 北京, 廣西民族出版社, p.143, 1991.
9. 김세종 : 번역학, 서울, 고려의학, pp. 260-265, 1994.
10. 오찬호 : 신 번역학 입문, 서울, 지구문화사, pp.250-260, 1995.
11. Kim H. M., Lee E. H., Shin H. Y., Moon Y. H., Inhibitory effect of mast cell-mediated immediate-type allergic reactions in rats by spirulina, *Biochem. Pharmacol.*, p. 55, 1071-1076, 1998.
12. Lagunoff D., Martin T.W., Read G., Agents that release histamine from mast cells, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 23, 31-51, 1983.
13. Ennis M., Pearce F.L., Weston P.M., Some studies on the release of histamine from mast cells stimulated with polylysine, *Br. J. Pharmacol.*, 70, 329-334, 1980.
14. Kim HM, Lee YM, Role of TGF-beta1 on the IgE-dependent anaphylaxis reaction, *J. Immunol.*, 162,4960-4965, 1999.
15. Segal DM, Taurog J, Metzger H : Dimeric immunoglobulin E serves as a unit signal for mast cell degranulation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 74, 2993-2997, 1977.
16. Metzger H., Alcaraz G., Hohman R., Kinet J. P., Pribluda V. and Quarto R., The receptor with high affinity for immunoglobulin E. *Annu. Rev. Immunol.* 4, 419-470, 1986.
17. Alber G., Müller L., Jelsema C., Varin-Blank N. and Metzger H., Structure/function relationships in the mast cell high-affinity receptor for IgE (FcεRI) : Role of cytoplasmic domains. *J. Biol. Chem.* 266: 22613-22620, 1991.
18. Saito H. and Nomura Y.: Screening methods for drug evaluation 3. In: *Pharmaceutical Research and Development*, Hirokawa, Tokyo, p. 22 1989.
19. Katayama S., Shionoya H., Ohtake S., A new method for extraction of extravasated dye in the skin and the influence of fasting stress on passive cutaneous allergy in guinea pigs and rats, *Microbiol. Immunol.*, 22, 89-101, 1978.
20. Jippo T., Nomura S., Kitamura Y., Cichorium intybus inhibits mast cell-mediated immediate-type allergic reactions, *Int. J. Orient. Med.*, 1, 82-88, 2000.
21. Yurt R.W., Leid R.W., Austen K.F., Native heparin from rat peritoneal mast cells, *J. Biol. Chem.*, 252, 518-521, 1977.
22. Williams, D. H. and Fleming, I. : *Spectroscopic methods in organic chemistry*, New York, McGraw-Hill, p.63-169, 1995.
23. Kim H.M., Kim K.S., Lee E.H., Specific inhibition of immunoglobulin E-mediated allergic reaction using antisense Fc epsilon RI alpha oligodeoxynucleotides, *Immunology*, p.93, 589-594, 1998.
24. 蔡仁植 : 傷寒論譯註, 서울, 高文社, p. 174, 1985.
25. 高樹中 : 中醫肛腸療法大全, 濟南, 濟南出版社, pp.1-16, 1994.
26. 宋大杰 : 비특이성 궤양성 결장염의 임상문헌 분석, *中醫雜誌(한글판)* 9권, 一中社, pp. 88-91, 1993.
27. 楊向東 外 : 항문전색법으로 직장질병을 치료하는 방면의 기전, *中醫雜誌(한글판)* 7권, 一中社, pp. 85-88, 1993.
28. 趙敬谷 : 중약직장점적법으로 증병을 치료한 경험, *中醫雜誌(한글판)* 7권, 一中社, pp. 22-23, 1994.
29. 黃泰康 外 : 中藥方劑現代研究大典, 北京, 科學出版社, pp. 309-311, 1996.
30. 陳偉 外 : 中醫基礎理論系列叢書 方劑學, 서울, 醫聖堂, pp. 246-248, 1993.
31. 康舜洙 : 바른 方劑學, 서울, 大星文化社, p. 90, 1996.
32. 圓光大學校 韓醫科大學 第18期 卒業準備委員會 : 譯釋中醫方劑問題, 익산, 圓光大學校出版局, p527-528, 1995.
33. 田庸哲 : 玉屏風散의 投與가 先天性 및 特異的 免疫反應에 미치는 影響, 圓光大碩士學位論文, 1996.
34. 裴秉哲 : 漢藥臨床應用, 서울, 成輔社, pp. 46, 48, 50, 61, 124, 130, 353, 358, 410, 468, 1986.
35. Roitt I.M. : 로이트 필수번역학, 서울, 고문사, p.227-230, 1991.
36. 정태호 : 번역학강의, 대구, 경북대학교출판부, p.256-263, 1991.
37. Tasaka K., Mio M., Okamoto M., Intracellular calcium release induced by histamine releasers and its inhibition by some antiallergic drugs, *Ann. Allergy*, 56, 464-469, 1986.
38. Mousli M. C., Bronner C., Bockaert J., Rouot B., Landry Y., Interaction of substance P, compound 48/80 and mastoparan with -subunit C-terminal of G protein, *Immunol. Lett.*, 25, 355-358, 1990.
39. Inagaki N., Miura T., Ohira K., Nagai H., Xu Q.A., Koda A., Effect of CV-3988, a specific antagonist against platelet activating factor, on homologous passive cutaneous anaphylaxis in the mouse ear, *J. Pharmacobiodyn.*, 13, 272-277, 1990.
40. 김영호 外 : 물리용어사전, 서울, 청문각, pp. 304-305, 1997.