

無比強壯酒의 면역증진 효과

신순식 · 김보경¹ · 안창수² · 김경철^{3*}

동의대학교 한의과대학 방제학교실, 1: 동의대학교 한의과대학 신경정신과학교실,
2: 해인한의원, 3: 동의대학교 한의과대학 진단학교실

Immune-enhancing Effect of Mubigangjang-Ju

Soon Shik Shin, Bo Kyung Kim¹, Chang Su An², Gyeong Cheol Kim^{3*}

*Department of Prescriptionology, College of Oriental Medicine, Dongeui University,
1: Department of Neuropsychiatry, College of Oriental Medicine, Dongeui University,
2: Haeinn Korean Oriental Medicine Clinic,
3: Department of Diagnostics, College of Oriental Medicine, Dongeui University*

Mubigangjang-Ju (MGJ) is a traditional wine, fermented extract of *Cynanchum wilfordii*, *Angelicae gigantis* and *Epimedium koreanum* etc. In the present study, we comparatively investigated the immune-enhancing effect of fermented extract (MGJ) and water extract (WE). Forced swimming test (FST) was performed as a model of activity test in mice and measured blood urea nitrogen (BUN), aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), lactic dehydrogenase (LDH), glucose (Glc) and total protein (TP) in the serum. Each extracts were orally administered into mice, 10 ml/kg, once per day for 7 days using a feeding atraumatic needle. After 3 days, on FST, the immobility time was decreased in the MGJ-fed group (133.7 ± 18.6 s) in comparison with the saline-fed group (155.8 ± 16.6 s). After 7 days, the immobility time was significantly decreased in the MGJ-fed group (105.3 ± 12.7 s) in comparison with the saline-fed group (171.3 ± 8.1 s). In addition, the content of AST was significantly decreased and the contents of BUN, ALT and LDH in the blood serum was also decreased. Whereas, the content of Glc tend to increase and TP level was not changed. However, WE had no effect on all experiments. The present results suggest that fermented extract was more effective than water extract and it may be useful for the immune-enhancing agent

Key words : Mubigangjang-Ju(無比強壯酒), Immune-enhancing effect

서 론

무비강장주(無比強壯酒)는 백하수오, 당귀신, 음양곽 등으로 만든 전통 약술이다. 주성분인 백하수오는 박주가리과에 속하는 다년생 덩굴풀인 은조롱(*Cynanchum wilfordii* HEMSL.)의 덩이뿌리로서¹⁾ 性味가 微溫無毒하고 苦甘澁한 益血祛風之品으로서 胃에 入하여 胃의 消化力を 돕고 腸에 이르러 분해되어 흡수된다²⁾. 당귀(*Angelicae gigantis* Radix)는 미나리과에 속하는 다년생초본의 뿌리로서 性은 溫無毒, 味는 甘辛微苦하며 귀경은 심, 간, 비경의 삼경이다. 또한 당귀는 養血潤燥, 活血舒筋하는 기능을 가지며 一切 血症에 대한 主治를 가지고 있다³⁾. 음양곽은

매자나무과에 속한 다년생 초본인 삼지구엽초 *Epimedium koreanum* Nakai의 전초로서 性味가 辛甘溫無毒하고 補腎腸養, 去風除濕하는 효능이 있어 風寒濕痺의 병증을 치료한다⁴⁾.

강제수영부하 (forced swimming test, FST) 실험은 주로 항우울제 효과를 관찰하기 위한 설치류에 대한 행동실험인데⁵⁾ 최근 들어 FST는 항피로, 면역증강 효과를 검증하는 실험에도 사용된다⁶⁻⁸⁾. 이 모델은 실험동물이 더 이상 도망갈 수 없는 상황에 처했을 때 좌절감의 결과로 부동자세를 유발하게 된다. 마우스는 계속된 시간동안 탱크안의 물에 놓여지고, 초기 수영 후 우울증 반응으로 보이는 부동자세를 취하게 된다.

혈중 BUN (blood urea nitrogen), aspartate aminotransferase (AST), ALT(Alanine Aminotransferase), lactic dehydrogenase (LDH), 글루코스 (Glc) 그리고 총단백 (total protein; TP) 등은 피로와 관련된 혈중 내 생화학적 지표물질이다. BUN 테스트는 신

* 교신저자 : 김경철, 부산시 진구 양정동 산45-1, 동의대학교 한의과대학

· E-mail : kimkc@dongeui.ac.kr, Tel : 051-850-8649

· 접수 : 2004/01/17 · 수정 : 2004/02/20 · 채택 : 2004/03/25

장기능을 측정하는데 가장 많이 쓰이는 방법이고, Urea는 단백질 대사의 마지막 산물로서 간에서 생성된다. 소화과정동안 단백질은 아미노산으로 분해되며 아미노산은 질소를 포함하고 있는데 암모니아 이온으로 제거되면 나머지 분자들은 세포에 필요한 에너지나 다른 물질들을 생산하는데 쓰인다. LDH는 근육손상의 정확한 지표물질이며 산화적 스트레스에 의해 증가한다^{9,10}. AST, ALT 수치는 간세포 괴사와 염증을 나타내는 생화학적 척도이다¹¹. LDH는 피루브산에서 젖산(lactate)으로의 전환을 촉진하며, 근육운동은 Glc를 젖산으로 바꾼다. 이 젖산은 혈중으로 방출되며 결국엔 간으로 흡수된다. 간은 젖산을 다시 Glc로 전환하며 혈중으로 Glc를 방출시킨다. 방출된 Glc는 적혈구와 기타 다른 조직에 의해 흡수된다. 운동에 필요한 에너지는 글리코겐의 분해, 간에서 방출된 Glc와 불포화 지방산에서 얻어진다¹². 일반적으로, Glc 수치는 운동 직후 감소하는 경향을 보인다. TP는 혈청단백질의 대략적 양을 나타낸다. 단백질 양은 영양상태, 신장질환, 간질환 등 많은 조건에 영향을 미칠 수 있다. 효소, 일부 호르몬, 헤모글로빈, 저밀도지방단백, 피브리노젠, 면역글로불린 등이 단백질의 예이다.

본 연구에서는, 면역증진 효과에 있어 전탕액과 알콜발효시킨 무비강장주의 효과를 비교하기 위해 마우스에서 FST를 수행하였고, 혈청에서 BUN, AST, ALT, LDH, Glc 그리고 TP 등의 수치를 분석하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물

본 실험에 사용된 수컷 ICR계(4주령)는 샘타코(오산)에서 구입했다. 구입 후 마우스의 환경 적응을 위해 일주일 후 실험을 진행했다. 사육조건은 22±1℃의 온도와 40-60% 정도의 습도를 유지시켰으며 사료와 생리식염수는 자유롭게 섭취하도록 했다. 각 실험군은 5마리의 ICR로 구성되었으며 마우스는 <실험동물의 관리와 사용에 대한 NIH Guide>와 현행법에 따라 신중히 다루었다.

2. 수침액 및 무비강장주 제조

본 실험에 사용된 약재는 동의대학교 부속한방병원(부산)에서 구입하여 사용하였다. 처방구성은 다음과 같다(Table 1).

Table 1. Contents of Prescription

Herbs	Quantity(g)
白何首烏 <i>Cynarchi Wilfordi Radix</i>	1200
當歸身 <i>Angelica gigantis Radix</i>	1200
淫羊藿 <i>Epimel Herb</i>	1200

추출액 제조를 위해 준비된 각각의 약재를 증류수에 3시간 정도 끓인 다음 추출물을 얻었다. 무비강장주는 전탕액을 바탕으로 찹쌀 9되로 밥을 지은 다음 찹쌀밥을 술밑과 잘 섞어 항아리에 넣고 음양곽, 백하수오, 당귀신을 도자기 용기에 함께 넣고 달였다. 식힌 달인 약액을 항아리에 붓고, 20일간 알맞은 온도에 두면 술이 익는다. 그리고 나서 주자를 박아 약주를 뜬다. 찌꺼기에 물을 부어 찌면 막걸리가 되는데 약주는 깨끗한 용기에 담고 밀봉하여 땅에 묻어 둔다.

3. FST

FST는 Porsolt et al.¹³의 방법에 따라 실시하였다. 먼저 마우스를 높이 25cm, 지름 10cm, 물높이 15cm, 수온 23-25℃인 실린더에 빠뜨린다. 물에 빠진 마우스는 빠져나가려 활발히 움직이다 서서히 활동이 느려지면서 수면위로 머리만 내미는 부동자세를 유지한다. 총 6분 동안 이러한 스트레스를 주며 2분이 지난 후 남은 4분 동안 부동시간을 측정하였다. 실험에 들어가기 전, 각 그룹간 부동시간의 평균을 유사하게 하기 위해 실험에 사용되는 모든 마우스의 부동시간을 측정했다. 그런 다음 부동시간의 평균값이 비슷하도록 그룹핑 하였다.

4. 혈청 분석

FST가 끝난 후 마우스를 마취시켜, 주사기로 심장에서 혈액을 채취했다. 혈액은 3000 rpm에서 10분간 원심 분리하여 혈청만 분리했다. 분리한 혈청으로 BUN, AST, ALT, LDH, Glc와 TP의 level을 각각 측정했다.

5. 통계학적 분석

모든 자료는 mean ± S.E.M.으로 나타냈고, 통계분석은 SPSS 10.0 (software)을 사용했으며, 평균치의 분석은 student's t-test, Mann-Whitney U, ANOVA, Kruskal-Wallis H test 등을 통해 p < 0.05인 것을 유의하다고 판정했다.

실험결과

1. FST에 있어 무비강장주의 효과

총 7일 동안, 하루에 한번, 10ml/kg의 전탕액과 무비강장주를 구강투여했으며 대조군은 생리식염수를 구강투여했다. 투여 3일 후 부동시간을 측정한 결과, 전탕액은 151.3±32.1초, 무비강장주는 133.7±18.6초, 그리고 생리식염수는 155.8±16.6초로 무비강장주-투여군이 전탕액-투여군보다 부동시간이 감소했다. 투여 7일 후 결과에서, 무비강장주 투여군(105.3±12.7초)은 전탕액 투여군(155.7±12.7초)보다 부동시간이 현저히 감소했다(P<0.05) (Fig. 1).

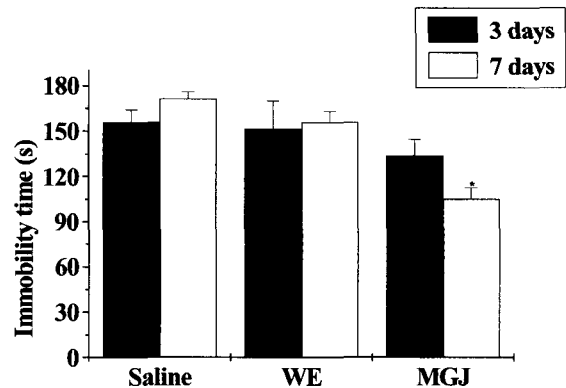


Fig. 1. Effect of WE and MGJ on FST. One day after the first measurement of immobility, the administration of WE and MGJ (10 ml/kg/day, p.o.) was started; this continued for a total of 7 days. Three days after the first administration, the second measurement of immobility was made. One day after the last administration (the 8th day), the third measurement of immobility was made. Values are the mean ± S.E.M. *P < 0.05 versus saline-fed group.

2. 혈중 생화학적 지표물질 변화에 있어 무비강장주의 효과

다음으로, FST 수행 후 마우스의 혈중 생화학적 지표물질 (BUN, AST, ALT, LDH, Glc 그리고 TP)을 분석하였다. 마우스는 마취시킨 후 주사바늘로 심장에서 혈액을 채취했으며 분리한 혈액은 원심분리하여 혈청만을 얻어 실험에 사용하였다. Table 2에 나타낸 바와 같이, 무비강장주는 AST 수치를 유의성있게 감소시켰고, BUN, LDH, ALT 수치도 감소시켰다. 또한 Glc 수치는 증가하는 경향을 보였고, TP 수치는 변화가 없었다. 그러나 전탕액 투여군은 전혀 유의성 있는 효과를 보이지 않았다.

Table 2. Effect of WE and MGJ on blood biochemical parameters in mice.

	Saline	WE	MGJ
TP (g/dL)	6.20 ± 0.26	6.03 ± 0.35	5.73 ± 0.15
ALT (IU/L)	27.5 ± 0.7	25.5 ± 2.1	18.5 ± 7.5
AST (IU/L)	106 ± 14.1	106 ± 38.1	51 ± 1.4
Glc (mg/dL)	220.5 ± 60.1	254.0 ± 19.8	280.0 ± 26.8
LDH (IU/L)	1109 ± 280.1	2294 ± 66.4	364 ± 65.1
BUN (mg/dL)	22.8 ± 2.05	24.7 ± 0.77	19.4 ± 1.27

Saline, WE and MGJ (10 ml/kg/day, p.o. for 7 days) was administered to mice. The analyzer determined each level. Each data value indicates the mean ± S.E.M. *P < 0.05 versus saline-fed group.

고찰

동양의학에서 인체의 면역능력은 正氣, 眞氣, 元氣 등과 有關한 바 이들은 생체를 구성하고 생명을 유지시켜주는 정화물질이면서 서로 동일한 기기작용으로 인체내에 존재하는 면역능력 또는 항상성 유지기구를 말하며¹⁴⁻¹⁵⁾, 외부 사기에 대항하여 질병을 예방하는 인체의 방어기전을 말한다.

본 저자는 백하수오, 음양곽, 당귀신 등 각 약재의 효능을 토대로 전통약술인 무비강장주를 제조하였고, 전탕액과 비교 실험하였다. 면역증진 효과를 생체내 실험으로 확인해 보기 위해 FST를 실시한 결과, 7일 투여 후 결과에서 무비강장주 투여군이 생리식염수 투여군에 비해 부동시간이 유의성 있게 감소하였고, 전탕액 투여군은 효과가 없었다. 이와 같은 결과는 혈청 분석에서도 동일하게 나타났다. FST 후 혈중 생화학적 지표물질의 수치가 변화하며¹⁶⁻¹⁸⁾ 특히 BUN, AST, LDH, Glc와 TP는 피로와 관련된 물질로 알려져 있다. BUN은 신장 기능, AST와 ALT는 간세포 손상과 염증 정도를 파악할 수 있는 생화학적 수치인데 무비강장주 투여군에서 이들의 수치가 감소함을 확인하였다. LDH는 근육 손상을 정확히 알 수 있는 지표가 될 수 있으며 산화적 스트레스에 의해 증가하는 것으로 알려져 있다^{9,10)}. 또한 피루브산에서 젖산으로 전환하는 촉매 역할을 하여 운동직후 LDH 수치는 증가한다. 본 연구결과에서 무비강장주 투여에 의해 LDH 수치가 감소하였다. 또한 Glc 수치는 운동직후 급속히 감소하는데 무비강장주 투여에 의해 증가하는 경향을 나타내 무비강장주가 에너지원으로 작용했을 가능성을 예상할 수 있다. 이런 결과들은 무비강장주에 의한 혈중 피로관련 대사물질의 변화를 의미하며 생체 면역기능증진에 직접 관여하는 세포활성물질과의 연관성 등 더욱 상세한 기전 등이 밝혀진다면 임상적 활용에 매우 유용할 것으로

사료된다. 무엇보다도 무비강장주 투여군이 전탕액 투여군에 비해 이러한 효과들이 뛰어난 결과는 의미가 있다. 향후 알콜발효시킨 무비강장주 효과 기전에 대한 상세 연구가 필요하다.

결론적으로 본 연구에서는, 무비강장주의 7일 동안 투여 후 FST에서 부동시간 감소 효과와 혈중 생화학적 지표물질의 유의성 있는 변화를 관찰함으로써 무비강장주의 면역증진효과에 의한 피로회복기능, 항스트레스기능 등을 암시하는 효능을 규명했다.

결론

무비강장주의 면역증진 효과를 조사하기 위해 마우스에서 FST와 혈청에서의 생화학적 지표물질 수치를 조사한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

무비강장주를 7일 동안 투여했을 때 FST에서 부동시간을 유의성 있게 감소시켰다. FST 수행 후 마우스의 혈중 생화학적 지표물질을 분석한 결과, 무비강장주는 ALT, AST, LDH, BUN 수치를 감소시켰고 Glc 수치는 증가시켰다. 전탕액 자체는 FST와 혈청분석 실험 모두에서 유의성 있는 효과를 나타내지 않았다.

이상의 결과는 무비강장주를 면역기능이 저하된 사람에게 유용하게 활용할 수 있음을 암시하고 있다.

감사의 글

이 연구과제는 2003년도 동의대학교 학술연구기금 산학연관 컨소시엄 과제 지원사업의 수행결과입니다.

참고문헌

1. 東醫學事典編纂. 新東醫學事典. 서울, 東方醫學社. p.382, 2001.
2. 金載益. 臨床本草學講座. 서울, 大成醫學社. pp.175-179, 2001.
3. 李尙仁. 本草學, 서울, 修書院 pp.101-102. 1981.
4. 辛民教. 本草學, 서울, 永林社 pp.222-223. 1997.
5. Mague SD, Pliakas AM, Todtenkopf MS, et al. Antidepressant-like effects of kappa-opioid receptor antagonists in the forced swim test in rats. J Pharmacol Exp Ther 305(1):323-30, 2003.
6. Deyama T, Nishibe S and Nakazawa Y. Constituents and pharmacological effects of Eucommia and Siberian ginseng. Acta Pharmacol Sin 22(12):1057-70, 2001.
7. Kim KM, Yu KW, Kang DH, Suh HJ. Anti-stress and anti-fatigue effect of fermented rice bran. Phytother Res 16(7):700-2, 2002.
8. Jeong HJ, Chung HS, et al. Immune-enhancement effect of the herbal combination Allergina. Clin Chim Acta 337(1-2): 77-84, 2003.
9. Reichling JJ, Kaplan MM. Clinical use of serum enzymes in liver disease. Dig Dis Sci. Dec;33(12):1601-14, 1988.
10. Coombes JS, McNaughton LR. Effects of branched-chain amino acid supplementation on serum creatine kinase and

- lactate dehydrogenase after prolonged exercise. *J Sports Med Phys Fitness* 40(3):240-6, 2000.
11. Burr JR, Reinhart GA, Swenson RA, et al. Serum biochemical values in sled dogs before and after competing in long-distance races. *J Am Vet Med Assoc* 211(2):175-9, 1997.
 12. Dorchy H. [Sports and type I diabetes: personal experience] *Rev Med Brux. Review. French* 23(4):A211-7, 2002.
 13. Porsolt RD, Le Pichon M, Jalfre M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature* 266(5604):730-2, 1977
 14. 劉正才 外: 中醫免疫, 重慶, 中慶出版社, pp.8-14,25,50-51, 1983.
 15. 杜鎬京: 東醫腎系學, 서울, 東洋醫學研究院, pp.8-11, 21, 1991.
 16. De-Mello MA. Effects of intrauterine and postnatal protein-calorie malnutrition on metabolic adaptations to exercise in young rats. *Braz J Med Biol Res* 27(10):2461-6, 1994.
 17. Laires MJ, Alves F, Halpern MJ. Changes in serum and erythrocyte magnesium and blood lipids after distance swimming. *Magnes Res* 1(3-4):219-22, 1988.
 18. Moriura T, Matsuda H, Kubo M. Pharmacological study on *Agkistrodon blomhoffii blomhoffii* BOIE. V. anti-fatigue effect of the 50% ethanol extract in acute weight-loaded forced swimming-treated rats. *Biol Pharm Bull* 19(1):62-6, 1996.