

# 瀉白散의 면역조절 효과

조성연 · 이동주 · 정한솔 · 이상룡<sup>1</sup> · 이광규\*

우석대학교 한의과대학 병리학교실, 1: 경혈학교실

## Effect of Sabaek-san on the Immunomodulatory Action

Seoung Yeoun Cho, Dong Joo Lee, Han Sol Jeong, Sang Ryong Lee<sup>1</sup>, Kwang Gyu Lee\*

Department of Pathology, 1: Department of AM-Pointology, College of Oriental Medicine, Woosuk University

The purpose of this research was to investigate the effect of Sabaek-San(SBS) on the activity of immune cell and leukemia cell. The addition of SBS(1  $\mu$ g/ml) enhanced the proliferation of cultured-splencocytes and thymocytes. And also, administration of SBS(250, 500 mg/kg) accelerated subpopulation of splenic T lymphocytes in BALB/c mice. Administration of SBS eminently enhanced the production of IFN- $\gamma$  and IL-4. The treatment of high dose of SBS inhibit the proliferation of Jurkat cells and dose-dependently increased the apoptosis of cultured-Jurkat leukemia cells. These results suggest that SBS have a cell mediated immuno-regulatory effect

Key words : Sabaek-San(瀉白散), IFN- $\gamma$ , immonoregulatory

### 서론

韓醫學에서의 건강에 대한 개념은 인체가 외계환경과 적응하여 인체내부가 평형을 이루는 것이다. 반대로 일정한 원인과 조건하에서 손상을 당하게 되면 인체내외의 평형이 실조되어 異狀현상이나 異常반응을 나타내는 것을 疾病이라 하고<sup>1)</sup>, 발생여부는 대체적으로 正氣와 邪氣간의 투쟁에 달려 있다. 正氣란 인간의 精血津液등의 陰液性 물질뿐만 아니라 장부와 경락 등의 기능을 기초로 해서 형성되어 기후환경에 대한 적응능력, 六淫에 대한 항거능력, 체내 邪氣에 대한 제거능력, 자아조절능력, 이미 손상된 기능에 대한 회복능력, 파괴된 조직에 대한 재생능력 등을 의미하며<sup>2)</sup>, 서양의학의 관점에서 본다면 인체의 방어기능, 손상된 조직의 회복력이나 혹은 면역기능 등이 모두 正氣의 범주에 속한다<sup>3)</sup>고 하였다. 때문에 발병에 있어서 《素問·刺法論》에 “정기가 내부에서 보존되면 사기가 침범할 수 없으면서 그 독기도 물리치기 때문이다 (正氣存內 邪不可干 避其毒氣)”라 하여<sup>4)</sup>, 正氣虛損이 발병의 근본이고 病邪가 발병의 조건임을 나타내주고 있다. 또 林<sup>5)</sup>에 의하면 正氣는 邪氣를 제거하고 陰陽을 조절하여 인체를 보호하는 작용을 하므로 인체에 면역조절기능이 있음을, 韋<sup>6)</sup>은 正氣가 허약한 환자의 경우 면역기능이 저하, 趙<sup>7)</sup>는

한의학에서 말하는 正氣는 비특이적인 방어기능 및 이와 관련있는 모든 방어물질을 총괄하여 正氣를 면역의 개념으로 이해하였다. “正氣”에 대한 개념을 서양의학으로 살펴보면 백혈구가 체내로 침입해 들어온 자기의 조직과 비자기를 인식하여 그것을 파괴하고 소멸시키는 체계를 면역<sup>8)</sup>이라고 하는데 이 개념과 매우 유사함을 알 수 있다. 면역계는 단일 장기이기보다는 여러 기관에서 다양한 세포들로 이루어지는 하나의 기능적인 시스템으로 외계 또는 자신 내부에서 기원하는 병적인 존재들을 인식하고 제거하는 것이다. 이것은 크게 두 부류로 나누어지는데 하나는 자연면역으로서 하등동물에서부터 존재하는 시스템으로 인체세포에 없고 다른 박테리아나 바이러스 등에만 존재하는 부분을 탐색한다. T세포와 B세포로 대표되는 적응면역은 척추동물 이후에만 발견되는 고도의 면역시스템으로서, 자연면역보다 그 초기 대응속도에서는 느리지만 항원이 재차 침범할 경우 또는 항원침범 후 일정기간이 지난 후에는 매우 강력한 방어기전을 제공한다<sup>9)</sup>. 정기가 떨어지면 면역력이 감소되어 病邪가 쉽게 침입하여 질병이 발생되기 때문에 치료하는 법으로는 정기를 충족시켜주는 “扶正法”과 邪氣를 제거해주는 것을 위주로 하는 “祛邪法”등을<sup>9)</sup> 적절하게 사용하여 왔다.

면역조절작용<sup>10)</sup>과 IL-2의 억제작용<sup>11-12)</sup> 가지고 있는 地骨皮와 抗腫痛작용이 있는<sup>11)</sup> 桑白皮, 특이성면역기능과 비특이성면역기능 등을 증강시킬 뿐만 아니라 항과민작용을<sup>12)</sup> 하는 甘草 등으로 구성된 瀉白散은 宋代 錢乙이 지은 《小兒藥證直訣》<sup>13)</sup>에

\* 교신저자 : 이광규, 전북 완주군 삼례읍 후정리 490, 우석대학교 한의과대학  
· E-mail : kwangl@core.woosuk.ac.kr · Tel : 063-290-1562  
· 접수 : 2003/10/13 · 수정 : 2003/11/24 · 채택 : 2004/01/06

처음 수록된 이래로 清肺熱 止咳平喘하는 효능을 가지고 있어 瀉肺散 혹은 瀉白湯 이라고도 하며 肺熱咳嗽 甚則 氣喘 皮膚蒸熱 或 發熱 午後尤甚 舌紅苔黃 細數脈 등에<sup>13-15)</sup> 사용한다고 하였다. 본 방에 대한 실험연구로는 李의<sup>16)</sup> 瀉白散 추출물에 의한 인체 폐암세포의 apoptosis 유도 기전에 관한 연구가 있으나 면역학적 활성에 대한 연구는 아직 보고된 바가 없다.

이에 清肺熱 止咳平喘하는 효능을 가지고 있는 瀉白散을 가지고 T, B림프구를 위주로 한 면역조절효과를 살펴보고자 비장 및 흉선세포의 생존율, 비장 및 흉선림프구의 아집단변화와 혈청 중 cytokine의 생성에 미치는 효과, 백혈병세포주인 Jurkat세포의 증식 및 apoptosis에 미치는 효과 등을 관찰한 결과, 유의성있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험동물

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

### 2. 시약 및 기구

실험에 사용한 시약은 RPMI1640 media, fetal bovine serum (FBS), phosphate buffered saline(PBS), propidium iodide, ethidium bromide, triton X-100, RNase A, proteinase K, sodium dodesyl sulfate, concanavalin A, lipopolysaccharide 등은 Sigma Co., PE conjugated anti-CD4, FITC conjugated anti-CD8, PE-anti B220, FITC-anti Thy 1 antibody 등은 Caltag Co., 기타 시약은 특급시약 및 세포배양용 시약을 사용하였다. 사용기구로서는 culture flask (Nunc), 96well microtiter plate (Costar Co.), inverted microscope (Zeiss), laser flow cytometer (Coulter, EPICS-XL), ELISA reader (Dynatech, MR5000) 그 외 centrifuge(VS -15000CF), CO<sub>2</sub> incubator, freeze dryer, deep freezer 등은 Vision Scientific Co.의 제품을 사용하였다.

### 3. 검액의 조제

본 실험에 사용한 瀉白散의 구성은 《小兒藥證直訣》<sup>13)</sup>에 준하였으며, 사용한 약재들은 우석대학교 한방병원에서 정선해서 사용하였고, 처방 2첩 분량(126g)을 증류수 2000 ml로 2회 가열 추출한 후, 여과해서 여액을 rotary evaporator로 농축한 다음, freeze dryer로 동결건조하여 분말 9.7g(수득율: 7.7%)을 얻어(이하 SBS라 함), 동물실험시에는 생리식염수, 세포배양용에는 멸균 PBS에 용해시켜 사용하였다. 瀉白散 1貼의 처방구성내용은 다음과 같다.

Table 1. Contents of Sabaek-San

韓藥名	生藥名	重量(g)
地骨皮	Lycii Radicis Cortex	30
桑白皮	Mori Cortex	30
甘草	Glycyrrhizae Radix	3
總量		63

### 4. 비장 및 흉선세포의 생존율 측정(in vitro)

생쥐를 경주 탈구시켜 비장 및 흉선을 적출한 다음, 각 세포 부유액을 조제하여 1×10<sup>6</sup>cells/well이 되도록 세포수를 조정하고 비장세포 부유액에는 LPS(5 µg/ml), 흉선세포 부유액에는 Con A(0.5 µg/ml)를 첨가하고 여기에 SBS(1~1000 µg/ml)를 가하여 48시간 동안 37℃의 CO<sub>2</sub>배양기(5%-CO<sub>2</sub>, 95%-air) 내에서 배양하였다. 배양 종료 4시간 전에 5 mg/ml농도로 DPBS-A(pH 7.4)에 희석된 MTT용액 20 µl를 각 well에 첨가하고, 0.1 N HCl에 녹인 10% SDS 100 µl로 용해시켜 18시간 동안 은박지로 빛을 차단하였다. 발색된 각 well의 흡광도를 ELISA reader를 이용해서 570 nm에서 측정하고 대조군의 흡광도와 비교하여 세포생존율을 백분율로 환산하였다<sup>17)</sup>.

### 5. 비장 및 흉선세포의 아집단 측정(in vivo)

생쥐에 SBS(500 mg/kg body weight)를 7일 동안 경구 투여(p.o)한 후, 생쥐를 경주 탈구시켜 비장 및 흉선을 적출한 다음, 각 세포 부유액을 조제하여 1×10<sup>6</sup>cells/well에 PE/FITC conjugated- anti B220 및 Thy1 monoclonal antibody와 PE-anti CD4/FITC-anti CD8 monoclonal antibody(1:40 dilution)로 이중 염색하여 4℃에서 30분간 반응시키고 laser flow cytometer (excitation: 488 nm, emission: 525 nm-FITC, 575 nm-PE)를 이용하여 각각의 세포 중의 lymphocyte의 아집단을 측정하였다<sup>18)</sup>.

### 6. 혈청 cytokine(IFN-γ와 IL-4)의 측정(in vivo)

생쥐에 DJSKI(500 mg/kg body weight)를 7일 동안 경구 투여한 후, 생쥐를 경주 탈구시켜 혈청을 분리하였다.

#### 1) IFN-γ의 측정

IFN-γ의 측정은 sandwich ELISA 방법으로 혈청 내 IFN-γ의 농도를 측정하였다<sup>19)</sup>. 4 µg/ml 농도로 0.1 M phosphate buffer(pH 9.0)에 희석한 anti-mouse IFN-γ antibody를 96well microplate에 각 well당 100 µl씩 coating하여 4℃에서 24 시간 동안 반응시켜 흡착시켰다. 그 후 PBST로 2회 세척하고, 1% BSA-PBS를 각 well 당 150 µl씩 가하여 실온에서 1 시간 동안 blocking을 하고 PBST로 3회 세척하였다. 1% BSA-PBS로 희석한 혈청 시료액과 표준용액(recombinant mouse IFN-γ)을 각 well 당 100 µl씩 넣어 실온에서 1시간 동안 반응시킨 후 PBST로 3회 세척하였다. 그 후 2 µg/ml 농도로 1% BSA-PBS에 희석한 biotinylate conjugated anti-murine IFN-γ antibody를 각 well 당 100 µl씩 넣어 실온에서 1 시간 동안 반응시켰다. PBST로 3회 세척한 후 2 µg/ml 농도로 희석한 streptavidin-alkaline phosphatase를 각 well당 100 µl씩 가하고 다시 실온에서 1 시간 동안 반응시켰다. 그 후 PBST로 5회 세척한 후 p-nitrophenyl phosphate 용액을 각 well당 100 µl씩 가하고 실온 차광하에 발색반응을 시켰다. 약 30분 후 50 µl의 3N NaOH용액으로 반응을 정지시키고, 30분 안에 ELISA reader로 405 nm 파장에서 흡광도를 측정 비교하였다.

#### 2) IL-4의 측정

IL-4의 측정은 상기의 IFN-γ의 측정방법에 준하였다.

7. 백혈병세포의 증식반응 측정(in vitro)

Jurkat 세포(human acute T cell leukemia cell line)를 96 well micro culture plate에  $1 \times 10^6$  cells/well이 되도록 주입하여 DJSKT(1, 10, 100  $\mu\text{g/ml}$ )를 첨가한 후, 48 시간 동안 37°C의 CO<sub>2</sub> 배양기 내에서 배양한 다음, 배양 종료 4 시간 전에 5 mg/ml 농도로 DPBS-A(pH 7.4)에 희석된 MTT 용액 20  $\mu\text{l}$ 를 각 well에 첨가하고, 0.1 N HCl에 녹인 10% SDS 100  $\mu\text{l}$ 로 용해시켜 18시간 동안 은박지로 빛을 차단하였다. 발색된 각 well의 흡광도를 ELISA reader를 이용해서 570 nm에서 측정하고 대조군의 흡광도와 비교하여 세포생존율을 백분율로 환산하였다<sup>17)</sup>.

8. 백혈병세포의 apoptosis 측정 (in vitro)

계대배양 중인 Jurkat세포를 96 well culture plate에  $1 \times 10^6$  cells/well이 되도록 세포를 조정한 다음 1, 10 및 100  $\mu\text{g/ml}$ 의 SBS를 첨가하여 24시간 배양하고 배양이 종료된 후, 각 세포를 수집해서 PI로 염색하여 DNA fragmentation (sub-G1 peak)을 정량하였다<sup>20)</sup>.

9. 통계처리

통계처리는 student's t-test로 하였으며,  $p < 0.05$ 이하를 유의성이 있는 것으로 판정하였다<sup>21)</sup>.

실험결과

1. 면역세포의 생존율에 미치는 효과.

생쥐의脾臟세포 배양계에서 대조군인 LPS(5  $\mu\text{g/ml}$ )군에 비하여 특히 SBS 1  $\mu\text{g/ml}$  첨가군에서脾臟세포의 유의성있는 증식이 관찰되었으며, 또한 흉선세포 배양계에서도 대조군인 Con A(0.5  $\mu\text{g/ml}$ )군에 비하여 SBS의 모든 농도(1-100  $\mu\text{g/ml}$ )의 SBS 첨가군에서 유의성있는 흉선세포의 증식이 관찰되었다(Fig. 1).

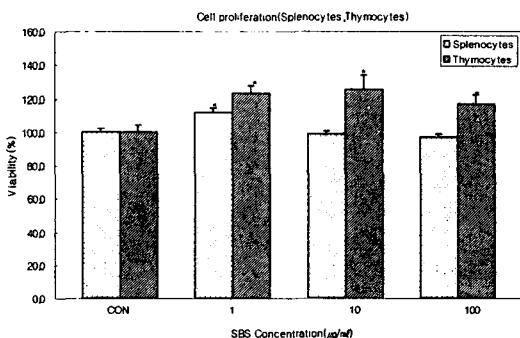


Fig 1. Effect of SBS on the cell viability in cultured mouse splenocytes and thymocytes in vitro. SBS(1~100  $\mu\text{g/ml}$ ) were treated to cultured mouse splenocytes or thymocytes for 48 hours. The cells assayed by MTT method. The OD of each well was measured at 570 nm with a microplate reader. Each data represents the mean  $\pm$  S.E of 3 experiments. \*: Significantly different from control group( $p < 0.05$ ).

2. 비장 및 흉선세포의 아집단에 미치는 효과

SBS를 250, 500 mg/kg의 농도로 나누어 1주일간 경구 투여

한 생쥐의 비장 및 흉선세포의 아집단변화를 살펴본 결과, 비장 세포 중 B세포는 대조군에서  $33.3 \pm 1.6\%$ 인 반면 250, 500 mg/kg 투여군에서는 각각  $36.6 \pm 1.3\%$  및  $37.0 \pm 4.5\%$ 였고, T세포는 대조군에서  $24.5 \pm 3.4\%$ 인 반면 각각의 투여군에서는 각각  $32.1 \pm 0.2\%$  및  $30.6 \pm 1.9\%$ 로 유의성있게 증가하였다. 비장내 T세포 아군 중 TH세포는 대조군에서  $16.3 \pm 1.9\%$ 인 반면 각 투여군에서는 각각  $20.3 \pm 0.9\%$  및  $18.2 \pm 0.4\%$ 로 증가하였고, Tc세포는 대조군에서  $9.6 \pm 1.5\%$ 인 반면 SBS처리군에서는 각각  $10.9 \pm 1.2\%$  및  $9.1 \pm 0.9\%$ 로 변화가 없었다. 또한 흉선세포 아군 중 TH세포는 대조군에서  $9.7 \pm 1.2\%$ 인 반면 투여군에서는 각각  $10.6 \pm 1.2\%$  및  $7.3 \pm 1.9\%$ 였다. Tc세포는 대조군이  $2.5 \pm 1.5\%$ 인데 비하여 투여군에서는 각각  $1.1 \pm 0.7\%$  및  $2.2 \pm 1.7\%$ 로 약간 감소하였다(Table 1).

Table 1. Effect of SBS on the Lymphocyte Subpopulation Change in Mouse Splenocytes and Thymocytes.

Treatment (mg/kg)	Cells	Splenocytes(%)		Thymocytes(%)		
		B cell	T cell		T <sub>H</sub>	T <sub>C</sub>
			T <sub>H</sub>	T <sub>C</sub>		
CONTROL	$33.3 \pm 1.6$	$24.5 \pm 3.4$	$16.3 \pm 1.9$	$9.6 \pm 1.5$	$9.7 \pm 1.2$	$2.5 \pm 1.5$
250	$36.6 \pm 1.3$	$32.1 \pm 0.2^*$	$20.3 \pm 0.9^*$	$10.9 \pm 1.2$	$10.6 \pm 1.2$	$1.1 \pm 0.7$
500	$37.0 \pm 4.5$	$30.6 \pm 1.9^*$	$18.2 \pm 0.4$	$9.1 \pm 0.9$	$7.3 \pm 1.9$	$2.2 \pm 1.7$

SBS (250, 500 mg/kg body weight) was administered p.o. once a day for 7 days, thereafter each cells were collected and the subpopulation was measured by a laser flow cytometer staining with PE or FITC conjugated anti-B220/Thy1 or CD4/CD8 monoclonal antibody. Each data represents the mean  $\pm$  S.E of 5 mice. \*: Significantly different from control group( $p < 0.05$ ).

3. 혈청 cytokine(IFN- $\gamma$ 와 IL-4)생성에 미치는 효과

SBS의 혈청 IFN- $\gamma$ 와 IL-4의 생성에 미치는 영향을 관찰한 결과 IFN- $\gamma$ 는 대조군에서  $50.1 \pm 4.3$  pg/ml이었으며, 250 mg/kg과 500 mg/kg 투여군에서 각각  $450.8 \pm 52.7$  pg/ml,  $330.4 \pm 34.2$  pg/ml로 현저한 증가를 보였다. IL-4는 대조군에서  $30.2 \pm 2.1$  pg/ml인 반면 250 mg/kg투여군에서는  $12.6 \pm 1.1$  pg/ml로 감소하였고, 500 mg/kg 투여군에서는  $42.3 \pm 0.6$  pg/ml로 증가하였다(Table 2).

Table 2. Cytokine Production in SBS-administered Mice Serum

Administration (mg/kg)	Cytokine production (pg/ml)	
	IFN- $\gamma$	IL-4
CONTROL	$50.1 \pm 4.3$	$30.2 \pm 2.1$
250	$450.8 \pm 52.7^{**}$	$12.6 \pm 1.1^*$
500	$330.4 \pm 34.2^{**}$	$42.3 \pm 0.6^*$

SBS(250, 500 mg/kg body weight) was administered p.o. once a day for 7 days, and the collected serum was assayed lymphokine with ELISA kit. The data represents the mean  $\pm$  S.E of 5 mice. \*: Significantly different from control group( \*\* : $p < 0.01$ , \* $p < 0.05$ )

4. 백혈병세포의 증식에 미치는 효과

계대배양한 Jurkat세포에 1, 10, 100, 1000  $\mu\text{g/ml}$  농도의 SBS를 48 시간 동안 처리하여, MTT assay를 통해 세포증식반응을 측정한 결과, 대조군을 100%로 하였을 때 1, 10, 100, 1000  $\mu\text{g/ml}$ 의 농도 투여군에서 각각  $106.0 \pm 3.3\%$ ,  $96.7 \pm 5.1\%$ ,  $90.0 \pm 3.4\%$ ,  $65.7 \pm 2.0$ 으로 농도 의존적으로 증식을 억제하였으며, 특히 1000  $\mu\text{g/ml}$ 에서는 유의성있는 억제를 보였다(Table 3, Fig. 2).

Table 3. Effect of SBS on the Proliferation of Cultured Jurkat Leukemia Cells

Cell Type	Jurkat cell Viability(%)
SBS( $\mu\text{g/ml}$ )	
CONTROL(-)	100.0 $\pm$ 1.5
1	106.0 $\pm$ 3.3
10	96.7 $\pm$ 5.1
100	90.0 $\pm$ 3.4
1000	65.7 $\pm$ 2.0*

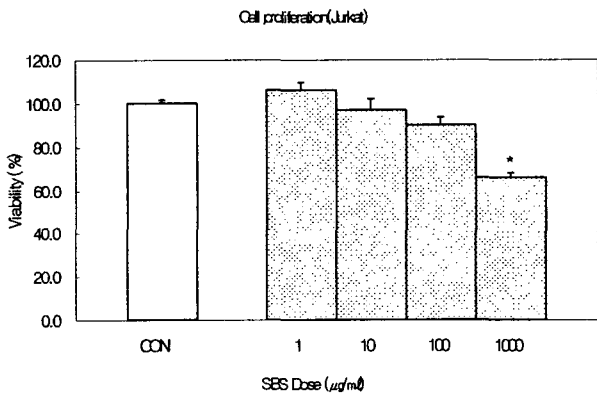


Fig. 2. Effect of SBS on the cell viability of Jurkat leukemia cells. SBS(1-1000  $\mu\text{g/ml}$ ) was treated with cultured Jurkat leukemia cells, and incubated for 48 hours, and the cells assayed by MTT method. The OD of each well was measured at 570 nm with a microplate reader. The data represents the mean $\pm$ SE of 3 experiments. \*: Significantly different from control group(p<0.05).

5. 백혈병세포의 apoptosis에 미치는 효과

계대배양한 Jurkat세포에 1, 10 및 100  $\mu\text{g/ml}$  농도의 SBS를 24 시간 동안 처리하여 유세포측정기에서 sub-G1 peak를 측정 한 결과, 대조군의 18.7 $\pm$ 1.9%에 비하여 SBS를 처리하면 각각 23.4 $\pm$ 2.8, 29.5 $\pm$ 3.5 및 34.1 $\pm$ 3.9%로 농도의존적으로 Jurkat세포의 apoptosis를 촉진하였다.

Table 4. Effect of SBS on the Apoptosis of Cultured Jurkat Leukemia Cells

Cell Type	Jurkat cell Apoptosis(%)
SBS( $\mu\text{g/ml}$ )	
CONTROL(-)	18.7 $\pm$ 1.9
1	23.4 $\pm$ 2.8
10	29.5 $\pm$ 3.5*
100	34.1 $\pm$ 3.9*

SBS(1-100  $\mu\text{g/ml}$ ) was treated with cultured Jurkat leukemia cells, and incubated for 24 hours, and then cells were collected, the sub-G1 peak was measured by a laser flow cytometer staining with propidium iodide. The data represents the mean $\pm$ SE of 3 experiments. \*: Significantly different from control group(p<0.05)

고찰

한의학에서는 인체가 외계환경과 적응하여 인체내부의 氣血 津液과 精, 陰陽 臟腑 經絡 등이 모두 상호 의존과 제약속에서 상대적으로 평형상태를 이루면 건강하다고 하였다. 이러한 건강 상태가 일정한 원인과 조건하에서 손상을 당하게 되면 인체내외의 평형이 실조되어 異狀현상이나 異常반응을 나타내는 것을 질병이라고 하였다<sup>1)</sup>. 질병의 발생여부는 대체적으로 正氣와 邪氣

간의 투쟁에 달려 있다. 正氣란 인간의 精 血 津液등의 음액성 물질뿐만 아니라 장부와 경락 등의 기능을 기초로 해서 형성되어 기후환경에 대한 적응능력, 六淫에 대한 항거능력, 체내 邪氣에 대한 제거능력, 자아조절능력, 이미 손상된 기능에 대한 회복능력, 파괴된 조직에 대한 재생능력 등을 의미하며, 邪氣는 자연 기후변화 및 그것과 관계있는 발병인자가 인체의 방어능력을 초월하여 질병을 발생시키는 것을 말한다<sup>2)</sup>. 때문에 正氣와 邪氣는 발병 중에 불가분하게 대립적 관계에 놓여있을 뿐만 아니라 상호 연계적인 관계로 존재한다. 서양의학의 관점에서 본다면 인체의 방어기능, 손상된 조직의 회복력이나 혹은 면역기능 등이 모두 正氣의 범주에 속한다<sup>3)</sup>고 하였다. 때문에 발병에 있어서 《素問·刺法論》<sup>4)</sup>과 《素問·評熱病論》<sup>2)</sup>에 각각 “정기가 내부에서 보존되면 사기가 침범할 수 없으면서 그 독기도 물리치기 때문이다 (正氣存內 邪不可干 避其毒氣).”, “사기가 모여있는 곳에는 그 정기가 반드시 허약한 것이다 (邪之所湊, 其氣必虛)”라고 하여 正氣虛損이 발병의 근본이고 病邪가 발병의 조건임을 나타내주고 있다. 正氣의 허손은 크게 물질적인 부족과 기능적인 쇠퇴로 구분되는데 물질적인 부족은 통칭 陰虛라고 하며 이것은 다시 精虛 血虛 津液不足 등으로 세분할 수 있다<sup>5)</sup>. 동시에 물질의 부족은 기능의 쇠퇴를 招來하기 때문에 이 둘 사이에는 陰陽互根적 관계에 놓여 있다<sup>6)</sup>. 또 질병을 치료하는 법으로는 正氣의 補益을 위주로 하는 “扶正法”과 邪氣를 제거해주는 것을 위주로 하는 “祛邪法”등을 적절하게 사용하여 왔다. 이 둘사이의 관계는 正氣와 邪氣의 消長관계에 의해 先扶正後祛邪, 先祛邪後扶正, 扶正과 祛邪를 동시에 병행하는 攻補兼施의 치법 등이 있다<sup>12)</sup>. 扶正法으로는 補氣法 補血法 補陽法 補陰法 등이 있으며 祛邪法으로는 發汗解表 清熱瀉火 解毒 祛痰 利濕 活血化癥 瀉下등이 있다<sup>13)</sup>. 또는 이 둘을 적절하게 배합해서 치료하는 攻補兼施적 방법이 있는데, 이것의 특징은 攻下法을 사용하되 그 중에 補法도 함께 하여 攻下로 인한 正氣의 손상을 보호해주며, 補法중에도 攻下藥을 함께 하여 邪氣가 오히려 왕성해 지는 것을 막는 역할을 하게 한다.<sup>11)</sup> 이 둘사이의 관계는 正氣와 邪氣의 消長관계에 의해 先扶正後祛邪, 先祛邪後扶正, 扶正과 祛邪를 동시에 병행하는 攻補兼施의 치법 등이 있다.

면역체계는 크게 선천성(비적응성)면역과 후천성(적응성)면역으로 나눌 수 있다. 적응성 면역에서의 면역반응은 특별한 병원체에 대한 특이성을 나타내며, 감염원을 기억하고 있어서 나중에 똑같은 항원이 다시 들어왔을 때 질병을 야기시키지 못하도록 막아주는 기능을 담당하고 있다. 선천성 면역을 대표하는 세포로는 단구, 대식세포, 다형핵 호중구 등의 탐식세포가 있으며, 이들은 미생물을 비특이적으로 인식하여 탐식하는 역할을 한다. 후천성 면역을 담당하는 중요한 세포로 림프구가 있는데, 이들은 각각의 병원체를 특이적으로 인식한다. 림프구에는 몇 가지 종류가 있는데 크게 T세포와 B세포로 나눌 수 있다. B세포는 표적분자인 항원을 특이하게 인식하고 결합하는 항체를 분비함으로써 병원균과 싸우며, T세포는 다방면의 기능을 수행한다. 어떤 T세포는 B세포의 성장과 항체의 분비를 조절하는데 관여하며, 어떤 T세포는 식세포와 작용을 하여 식세포로 하여금 병원체를 파괴

하는데 도움을 준다. 또 다른 T세포는 바이러스에 감염된 세포를 인식하고 파괴시킨다<sup>29)</sup>. 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 건 강인에게는 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(nonself)”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 악성종양을 일으킬 수 있다<sup>24)</sup>.

면역기능을 증강시키는 방법으로 한의학에서는 “扶正法”과 “祛邪法”이 있으나 주로 “扶正法”을 위주로 사용한다고 주장하고 있다. 扶正法은 다시 補氣法, 補血法, 補陰法, 補陽法으로 세분해 지고<sup>11)</sup> 뿐만 아니라 둘을 적절하게 배합해서 치료하는 攻補兼施적 방법이 있어 攻下法을 쓰되 그 중에 補法도 함께 하여 攻下로 인한 正氣의 損傷을 보호해주며, 補法中에도 攻下藥을 함께 하여 邪氣가 오히려 왕성해 지는 것을 막는 역할을 하게 한다.

瀉白散의 구성약물은 地骨皮와 桑白皮 및 甘草로 清肺熱 止咳平喘하는 효능을 가지고 있어 瀉肺散 혹은 瀉白湯 이라고도 하며 肺熱咳嗽 甚則 氣喘 皮膚蒸熱 或 發熱 午後尤甚 舌紅苔黃 細數脈 등에 사용한다고 하였다. 本處方의 구성약물에 대한 연구보고를 살펴보면, 地骨皮는 性味가 甘寒하고 涼血退蒸, 清泄肺熱하며<sup>10,12)</sup>, 桑白皮는 性味가 甘寒하고 瀉肺平喘, 利尿消腫하며<sup>10,11)</sup>, 甘草는 性味가 甘平하고 補裨益氣, 潤肺止咳, 緩急止痛하며<sup>10)</sup> 한다고 되어있다.

이와 같이 清肺熱 止咳 平喘 작용이 있는 瀉白散을 가지고 면역조절효과를 살펴보고자 배양계에서의 면역세포 생존율, 비장 및 흉선세포의 증식, 림프구 아집단에 미치는 효과 및 혈청 cytokine의 생성에 미치는 효과, 백혈병세포의 증식에 미치는 효과 등을 관찰하였다.

瀉白散은 비장 및 흉선세포의 증식을 촉진하였으며 또한 비장 및 흉선세포의 아집단을 분석한 결과, 비장의 B세포와 T세포를 증가시켰으나 특히 T세포의 증식을 유의성있게 증가시켜 생체면역력을 조절하는 것으로 보인다. 그 중에서 특히 TH세포는 생체 내에서 획득 면역을 담당하며, B세포의 활성화와 항체의 생성 및 대식세포의 활성을 도와주는 주요한 세포로서 瀉白散이 생체 내에서 면역작용에 가장 중심적인 역할을 수행하는 T림프구(특히 TH세포)의 증식을 촉진하는 작용을 보유하고 있는 점에서 주목된다. 그러나 흉선 내의 T림프구는 고농도에서 TH세포를 감소시키는 결과를 보였는데 이는 瀉白散이 고농도에서 흉선세포에 세포독성을 나타내고 있는 것이 아닌가 추정된다.

IFN- $\gamma$ 는 활성화된 TH1림프구에서 생성되는 cytokine으로

대식세포의 활성화, 자연살해세포 및 항원특이 세포독성 림프구의 세포독성을 증가시킴으로써 면역반응을 유도하는 역할을 한다<sup>25)</sup>. 실험결과 IFN- $\gamma$ 가 모든 농도의 瀉白散투여군에서 현저하게 증가하였다. 이것으로 보아 瀉白散이 TH1림프구의 증식 및 활성화를 촉진시키는 작용을 가지고 있는 것으로 사려된다.

IL-4는 활성화된 TH2세포에서 분비되는 cytokine으로<sup>26)</sup> B림프구의 활성화 등, 다양한 면역반응에 있어 중요한 역할을 한다<sup>27)</sup>. 본 연구 결과 실험군의 혈청 cytokine 중 IL-4의 생성이 저농도에서는 약간 감소되었으나 고농도에서 유의성있게 증가되었다. 또한 함암활성을 관찰하기 위하여 in vitro계에서 인체유래의 백혈병세포주인 Jurkat세포의 증식반응과 apoptosis에 미치는 효과를 관찰하였는데 본 실험에서는 瀉白散이 Jurkat세포의 생존율을 농도의존적으로 억제하였으며, 그 중에서 특히 1000  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 처리군에서 유의성있는 억제를 보였다.

Apoptosis는 생체의 특히 신경계와 면역계세포의 생성, 분화 및 기능발현에 중요하게 작용하는 능동적세포사의 개념으로서 조직의 괴사(necrosis)와는 전혀 다른 세포의 사망사전이며, 이는 세포가 죽을 때 사전에 이미 준비된 상황에서 사망프로그램을 가동시켜 자발적으로 죽음에 이르는 능동적 세포사멸기전이다. 세포자멸사는 발생의 기본적인 과정 중 하나로 다양한 조직에서 불필요하게 된 세포를 제거하는 역할을 한다<sup>28)</sup>.

瀉白散은 배양 백혈병세포의 apoptosis를 농도의존적으로 촉진시키는 작용을 관찰하였다. 이러한 연구 결과로 미루어보아 瀉白散은 생체 내에서 면역작용에 가장 중심적인 역할을 수행하는 T림프구의 활성을 증강시키며 TH1 및 TH2 림프구의 증식 및 활성을 촉진하는 면역조절작용과 더불어, 함암효과에 있어서도 Jurkat세포의 생존율을 억제하고 apoptosis를 촉진시키는 작용을 보유하고 있는 점이 주목된다.

## 결 론

瀉白散을 생쥐의 면역세포에 미치는 활성화와 백혈병세포의 증식 및 apoptosis에 미치는 효과를 관찰한 결과는 다음과 같다.

SBS는 in vitro 배양계에서 비장 및 흉선세포의 증식을 촉진시켰고, in vivo 실험에서 비장 T림프구를 유의성있게 증가시켰으며 그중 TH세포가 특히 증가하였다. 또 모든 농도의 투여군에서 혈청 IFN- $\gamma$ 의 생성을 현저히 촉진시켰으며, 고농도에서 IL-4의 생성을 촉진시켰다. 고농도처리군에서 Jurkat세포의 생존율을 감소시켰고, SBS는 in vitro 배양계에서 Jurkat세포의 apoptosis를 농도의존적으로 촉진시켰다.

이상의 실험결과, 瀉白散은 전반적으로 면역세포 중 T림프구의 활성을 증강시켰으며, 특히 TH1세포에서 분비하는 cytokine인 혈청 IFN- $\gamma$ 의 생성을 현저히 촉진시킴으로써 면역조절능력을 가지고 있으며, 아울러 함암효과도 관찰되었다.

## 감사의 글

본 논문은 “우석대학교 한방재활연구사업비 지원으로 수행함”

## 참고문헌

1. 賴嘯, 中醫病理, 廣東科技出版社, pp.1-2, 1987.
2. 成肇智, 中醫病機論 中國醫藥科技出版社, p.16, 1997.
3. 대한병리학회. 병리학(4판) 고문사, p.127, 2001.
4. 金達鎬, 李鍾馨, 注解補注 黃帝內經素問 下卷 醫聖堂 p.746,01.
5. 林通國 編著. 實用臨證中藥指南. 四川科學技術出版社, pp.180-182, 1990.
6. 章育正. 虛證和實證病人的免疫狀態. 上海中醫藥雜誌 6: 44-45, 1984
7. 趙鍾寬. 免疫에 관한 東洋醫學의 考察. 東洋醫學 12 (1): 19-23, 1986.
8. Abbas, A.K., Lichtman, A.H. and Poper, J.S.: Cellular and molecular immunology. 2: 241-260, W.B. Saunders Co., U.S.A, 1994.
9. 廣東中醫學院: 中醫方藥學, 廣東人民出版社, p.7, 1973.
10. 雷載權, 中華臨床中藥學(上卷),(下卷)人民衛生出版社, p.636, 1376, 1998.
11. 蔡永敏, 最新中藥藥理與臨床應用, 華夏出版社, p.122, 376, 1999.
12. 方文賢, 醫用中藥藥理學, 人民衛生出版社, p.157, 598-599, 1998.
13. 錢乙, 小兒藥證直訣, 金達鎬譯 圖書出版醫聖堂, p.111, 2002.
14. 許萍群, 方劑學, 人民衛生出版社, pp.160-161, 1995.
15. 段苦寒, 中醫類方辭典, 天津大學出版社, pp.160-163, 1995.
16. 이재훈의 4인 瀉白散 주출물에 의한 인체 폐암세포의 Apoptosis유도 기전에 관한 연구 등의생리병리학회지 17(2):451-456, 2003.
17. Mosmann, T.: Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival application to proliferation and cytotoxic assays. J. Immunol. methods, 65: 55-63, 1983.
18. Shortman, K. and Backson, H.: The differentiation of Tlymphocytes. I.Proliferation kinetics and interrelationships of subpopulations of mouse thymus cells. Cell. Immunol., 12: 230-246, 1974.
19. Enavall E, Perlmann, P. Enzyme-linked immunosorbent assay III: quantitation of specific antibodies of enzyme labeled anti-immunoglobulin in antigen-coated tubes. J. Immunol. 109: 129-135, 1972.
20. Telford, W.G., King, L. E. and Fraker, P.J.: Evaluation of glucocorticoid-induced DNA fragmentation in mouse thymocytes by flow cytometry. Cell Prolif., 24: 447-459, 1991.
21. Dowdy S. and Wearden S.: Statistics for research. Wiley, New York, USA, p262, 1983
22. 金達鎬, 李鍾馨, 注解補注 黃帝內經素問 上卷 醫聖堂 p.727, 2001.
23. Roitt, Brostoff, Male: Immunology sixth edition, Mosby, p.2, 2001.
24. Roitt, I., Brostoff, J. and Male, D.: Immunology. 4th Ed. 1.1-2.18, Mosby Publishing, U.K, 1998.
25. Fong TA, Mosmann TR: The role of interferon-gamma in delayed type hypersensitivity mediated by Th1 clones. J Immunol 143: 2887-2893, 1989.
26. Street NE, Mosmann TR.: Functional diversity of T lymphocytes due to secretion of different cytokine patterns. FASEB Journal. (5) pp.171-176, 1991.
27. Paul, WE. Interleukin-4: A prototypic immunoregulatory lymphokine. Blood. (77) pp. 1859-1870, 1991.
28. Kerr J.R.F. Wyllie A.H. Currie A.R.: Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. Br. J. Cancer 26: 239-257, 1972.