

定喘化痰降氣湯이 Xylene으로 유발된 마우스의 급성 염증에 미치는 영향

송무식 · 조동희* · 전귀옥 · 박미연 · 최해윤 · 김종대

대구한의대학교 한의과대학 내과학교실

Anti-Inflammatory Effect of “Jungcheonhwadamgangki-tang” in Xylene-Application Mouse Ear Acute Inflammation Model

Muh Sik Song, Dong Hee Cho*, Kwi Ok Jeon, Mee Yeon Park, Hae Yun Choi, Jong Dae Kim

Department of Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Daegu Haany University

In the present study, the anti-inflammatory effect of “Jungcheonhwadamgangki -tang” water extract was tested in Xylene-Application mouse ear acute inflammation model. The test articles were once dosed before Xylene-Application, and the changes on body weight and ear weights and histopathological observation of induced ear were conducted with ear histomorphometry. The increases of absolute and relative ear weight detected in vehicle control compared to that of sham, were significantly and dose-dependently inhibited by Jungcheonhwadam -gangki-tang in the present study. A classic acute inflammatory histological changes such as subcutaneous edema, hypertrophy and infiltration of inflammatory cells, was detected in vehicle control. However, these histological changes were significantly and dose-dependently inhibited by Jungcheonhwadam-gangki-tang. In addition, the increases of ear thickness half and thickness full detected in the vehicle control, were also dose-dependently decreased in the all Jungcheonhwadamgangki-tang-dosing groups. Base on these results, it is concluded that Jungcheonhwadamgangki-tang water extracts have clear anti-inflammatory effect on the acute inflammation, and about 500 mg/kg of Jungcheonhwadamgangki-tang water extracts have similar effect compared to that of Diclofenac 15 mg/kg.

Key words : Jungcheonhwadamgangki-tang(定喘化痰降氣湯), Anti-Inflammatory Effect, Xylene-Application mouse

서 론

염증은 염증의 발현양식 및 지속시간에 따라 크게 두 가지 기본적인 유형으로 대별될 수 있는 바, 그 하나는 급성염증이고 다른 하나는 만성염증이다. 그러나 염증의 이러한 분류는 시기적 차이뿐만 아니라 동원되는 백혈구의 종류를 주로 하는 형태학적인 특징과도 관련이 있다. 즉 급성염증은 다핵 백혈구의 침윤을 특징으로 하는데 반해서 만성염증은 대식세포, 림프구, 형질세포 등의 침윤을 보이는 것이다¹⁾.

기관지 천식에서는 기관지 평활근의 비후, 점막부종과 충혈, 상피기저막 비후, 점액선의 비후, 급성염증, 두텁고 끈끈한 점액

에 의한 기도감압 등의 병리학적 특징을 보이고 있어 요즘은 기관지 천식을 일차적으로 기도의 아급성 염증질환으로 간주하는 경향이 있다²⁾. 그리고 치료는 대부분의 beta2-admoreceptor agonist외에 근본적인 염증의 치료를 목적으로 부신피질 호르몬 제제들이 천식 치료에 사용되어져 왔으나³⁾, 혈압상승, 위궤양, 골다공증과 백내장 발생 등의 부작용이 매우 심한 단점이 있다³⁾. 이에 많은 학자들이 천식에 사용될 안전하고 효과적인 약제의 개발에 연구를 하고 있다.

定喘化痰降氣湯은 痰喘을 치료하는 千縉湯, 咳嗽와 喘證을 치료하는 定喘化痰湯 그리고 上氣喘促을 치료하는 蘇子降氣湯 三個의 處方을 合方하여 加減하고 溫中下氣하는 柿蒂를 加하여 만든 處方으로 咳嗽, 痰喘, 氣喘, 氣管支喘息 등의 治療에 사용한다^{4,5)}.

定喘化痰降氣湯에 관한 실험연구에서 차⁶⁾은 즉시형 및 지연형 알러지 반응을 억제시키는 효과와 폐혈전·색전을 억제시키

* 교신저자 : 조동희, 대구시 수성구 상동 165 대구한의대학교 부속한방병원

· E-mail : herb98@hanmail.net, · Tel : 053-770-2176

· 접수 : 2006/05/25 · 수정 : 2006/07/05 · 채택 : 2006/08/01

는 효과가 우수하다고 보고하였다. 안⁷⁾은 ovalbumin으로 유발된 천식에서 기관지 염증반응을 억제시켜 천식에 효과가 우수하다고 하였고, 또한 이⁸⁾는 조직학적 변화에서 기관지 점막의 비후 표면 상피세포의 변성과 탈락이 회복 되었고 기관지 점막의 미세구조상 섬모세포의 수적감소 및 점액분비세포의 수적 증가가 정상으로 회복되는데 좋은 효과를 나타낸다고 하였다. 그러나 아직까지 定喘化痰降氣湯 추출물 자체에 대한 항염 효과는 보고되지 않았다.

이에 본 연구에서는 定喘化痰降氣湯 추출물의 급성염증에 대한 항염효과를 확인하기 위해 Xylene-application mouse ear acute inflammation 모델을 이용하여 100, 250 및 500 mg/kg의 定喘化痰降氣湯 추출물을 전 투여한 후 Xylene을 mouse 귀에 도포한 다음 초래되는 귀 중량, 귀의 조직학적 변화 및 귀 두께를 관찰하였으며, 아울러 항염 효과에 대한 대조약물로 Dexamethasone 및 Dicrofenac 복용 투여하여, 그 효능을 비교 관찰하였다.

실 험

1. 재료

1) 약재

실험에 사용된 약재는 대구한의대학교 부속 대구한방병원에서 구입하여 사용하였으며, 定喘化痰降氣湯⁵⁾ 1첩 분량의 조성은 아래와 같다 (Table 1).

Table 1. Composition of "Jungcheonhwadamgangki-tang"

藥物名	生藥名	用量 (g)
陳 皮	<i>Citri Pericarpium</i>	8
柿 蒂	<i>Kaki Calyx</i>	6
半 夏	<i>Pinelliae Rhizoma</i>	4
南星炮	<i>Arisaematis Rhizoma</i>	4
杏 仁	<i>Armeniacaee Amarum Semen</i>	4
五味子	<i>Schizandrae Fructus</i>	4
款冬花	<i>Fartarae Flos</i>	4
皂角刺	<i>Gleditsiae Spina</i>	4
沙 蔘	<i>Adenophorae Radix</i>	4
紫 菀	<i>Asteris Radix</i>	4
甘 草	<i>Glycyrrhizae Radix</i>	4
當 歸	<i>Angelicae Gigantis Radix</i>	3
人 蔘	<i>Ginseng Radix</i>	3
蘇 子	<i>Perillae Fructus</i>	3
前 胡	<i>Peucedani Radix</i>	3
赤茯苓	<i>Poria</i>	3
貝 母	<i>Fritillariae Thunbergii Bulbus</i>	3
枳 實	<i>Panciri Fructus</i>	3
Total		71

2) 동물

동물은 ICR 마우스 (Charles River, Japan)를 이용하였으며, 각 군 당 10마리씩 총 70마리를 이용하였다. 동물은 5마리씩 분리하여 polycarbonate cage에 수용하고, 온도 20-25℃ 및 습도 30-35%로 조절된 무균시설에서 사육하였으며, 명암주기는 12 : 12 시간으로 조절하였다. 사료 및 음수는 자유롭게 섭취할 수 있도록 공급하였으며 투여시작일과 최종 부검시 12시간이상 절식시켰다. 실험동물은 picric acid를 이용하여 개체 번호를 식별하였다.

2. 방법

1) 급성염증의 유발

Hosseinzadeh 등⁹⁾의 방법에 준하여, 약물 투여 30분 후 0.03 ml의 Xylene (Merck, Germany) 을 마우스의 오른쪽 ear inner surface에 점적하여 급성 염증을 유발하였다. 이때 정상군은 생리식염수를 동일한 방법으로 동량 점적하였다. 모든 실험동물은 Xylene-Application 2시간 후 희생시켰다.

2) 실험군의 구분

정상군, 대조군, Dexamethasone 15 mg/kg 복용 투여군 (이하 DEXA 군), Dicrofenac 15mg/kg 복용 투여군 (이하 DICRO 군), 定喘化痰降氣湯 추출물 100 (J100), 250 (J250) 및 500 (J500) mg/kg 경구 투여군의 7 개 군으로 구별하였다(Table 2).

Table 2. Experimental Designs Used in This Study

Group ID	Treatment	Dosage	Xylene Application
Sham	D.W.	0 mg/kg	No
Control	D.W.	0 mg/kg	Yes
DEXA	Dexamethasone	15 mg/kg	Yes
DICRO	Dicrofenac	15 mg/kg	Yes
J100	JCWDKKT Extract	100 mg/kg	Yes
J250	JCWDKKT Extract	250 mg/kg	Yes
J500	JCWDKKT Extract	500 mg/kg	Yes

JCWDKKT Extract: Jungcheonhwadamgangki-tang Extract; D.W.: Distilled Water; JCWDKKT Extracts were dissolved in D.W. and dosed by gastric gavage at 10 ml/kg levels, and Dexamethasone (DEXA) and Dicrofenac (DICRO) was dosed by intraperitoneal injection at 10 ml/kg levels using saline as vehicle, 30 min after single dosing of test articles and vehicle, Xylene was applicated to the inner surface of unilateral ear. 2 hours after Xylene application, all animals were sacrificed.

3) 定喘化痰降氣湯의 추출

선정된 약재 10첩 분량 710 g을 취하여 정제수 4000 ml에 넣어 가열 추출한 후 흡인 여과한 여과액을 rotary vacuum evaporator (N-N type; LAB Camp, Daejeon, Korea)로 감압·농축하여 점조성의 추출물을 얻었다. 이후 programmable freeze dryer (PVTFD10A; IIShin Lab., Seoul, Korea)를 사용하여 동결 건조시켜 1첩 당 15.549 g, 총 155.49 g (수율 21.90%)의 물 추출물을 얻어 실험에 사용하였다.

4) 약물의 투여

대조약물 투여군인 DEXA 및 DICRO 군에서는 각각 Dexamethasone (Sigma, USA) 및 Dicrofenac (Suzhou Leader Chemical Co., China) 15 mg/kg을 생리 식염수에 녹여 10 ml/kg의 농도로 단회 복용 투여하였으며, 定喘化痰降氣湯 추출물은 100, 250 또는 500 mg/kg을 멸균 증류수에 녹여 단회 경구 투여하였다. 또한 대조군 및 정상군에서는 동일한 양의 멸균 증류수를 定喘化痰降氣湯 추출물과 동일한 방법으로 경구 투여하였다. 모든 실험물질은 Xylene-Application 30분 후 단회 투여하였다.

5) 체중 및 체중증가량의 관찰

실험동물의 체중은 약물 투여 1일 전, 약물 및 급성염증 유발 (실험일)에 각각 측정하였으며, 모든 실험동물은 사료 섭취와 관련된 체중 차이를 줄이기 위해, 실험일에 18시간 이상 절식시켰다. 또한 실험 시작시의 개체별 체중 차이에 기인한 변화를 줄이기 위해 체중증가량을 계산하였다.

Body weight gains(g) = Body weight at Sacrifice - Body weight at 1 day before dosing

6) 귀 중량의 관찰

모든 실험동물은 Xylene Application 2시간 후 최종 부검일에 Rompun® (Xylazine hydrochloride, 바이엘코리아) 0.2 mg/kg을 복강 주사하여 진정시키고, Ketalar® (Ketamine hydrochloride, 유한양행) 1 mg/kg을 복강 주사하여 마취시킨 다음 양쪽 귀를 적출하여 g 단위로 중량을 측정하였다. 또한 개체간의 체중 차이에 기인한 오차를 줄이기 위하여 아래의 공식으로 상대 중량을 측정하였다.

$$\text{Relative weight (\%)} = [(\text{Absolute Ear weight} / \text{Body weight at sacrifice}) \times 100]$$

유발된 정도에 의한 오차를 줄이기 위하여 정상 귀와 유발 귀사이의 중량 차이 역시 아래의 공식을 이용하여 측정하였다.

$$\text{Differences (g)} = \text{Induced ear weight} - \text{Intact ear weight}$$

7) 조직학적 관찰

부검 시 유발 귀를 절취하여 10% neutral buffered formalin (10% NBF)에 24시간 이상 고정하였다. 이후 고정된 조직은 ethanol 탈수를 거쳐 일반적인 방법으로 paraffin에 포매 하였으며, 이후 3-4 μm의 연속절편을 제작한 다음 Masson's Trichrome 염색을 실시하고 광학현미경하에서 관찰하였다.

8) Histomorphometry 관찰

염색된 조직 표본 상에서 자동 조직영상장치 (analySIS Image Processing; SIS, Germany)를 이용하여 귀 연골을 포함하지 않은 반중 귀두께 (ear thickness half)와 귀 연골을 포함한 전중 귀두께 (ear thickness full)를 각각 μm 단위로 측정하였다.

9) 통계처리

모든 수치는 평균 ± 표준편차 (n=10)로 나타내었고, 대조군 또는 정상군과 비교하여 Mann-Whitney Wilcoxon's (MW) test를 실시하여 p value가 0.05 이하일 경우 유의성을 인정하였으며, 통계처리는 SPSS for Windows (Release 6.1.2, SPSS Inc., USA)를 사용하였다. 또한 체중 및 체중증가량의 변화를 제외한 모든 결과는 대조군의 경우 정상군과 비교한 % changes를 하기의 공식으로 계산하였으며, 또한 모든 약물 투여군은 대조군과 비교한 % changes를 아래의 공식을 이용하여 산출하였다.

$$\% \text{ Changes vs Sham} = [(Data \text{ of Control} - Data \text{ of Sham}) / Data \text{ of Control}] \times 100$$

$$\% \text{ Changes vs Control} = [(Data \text{ of tested group} - Data \text{ of Control}) / Data \text{ of tested group}] \times 100$$

결 과

1. 체중 및 체중 증가량의 변화

1) 체중의 변화

투여 1일전 체중의 경우 정상군, 대조군, DEXA, DICRO, J100, J250 및 J500 군에서 각각 34.76 ± 2.32, 34.79 ± 2.54, 34.92 ± 2.97, 34.53 ± 3.02, 34.72 ± 3.28, 34.90 ± 2.82 및 34.55 ± 2.82 g으로 관찰되어 모든 실험군에서 유사한 체중을 나타내었다 (Table 3). 또한 실험일에서도 정상군, 대조군, DEXA, DICRO, J100, J250 및 J500 군에서 각각 30.80 ± 2.60, 30.88 ± 2.91, 30.93 ± 2.67, 30.48

± 3.02, 30.69 ± 3.24, 30.90 ± 2.64 및 30.60 ± 2.49g으로 관찰되어 모든 실험군에서 유사한 체중을 나타내었다 (Table 3).

2) 체중 증가량의 변화

정상군, 대조군, DEXA, DICRO, J100, J250 및 J500 군에서 각각 -3.96 ± 1.00, -3.91 ± 0.78, -3.99 ± 0.82, -4.05 ± 0.55, -4.03 ± 0.64, -4.00 ± 0.73 및 -3.95 ± 0.62g으로 관찰되어 모든 실험군에서 유사한 체중증가량을 나타내었다 (Table 3).

Table 3. Body Weight changes in Xylene-Application ICR Mice after "Jungcheonhwadamgangki-tang" Extract Dosing

Group ID	Day -1	Day 0 ^{b)}	Gains ^{c)}
Sham	34.76±2.32 ^{a)}	30.80±2.60	-3.96±1.00
Control	34.79±2.54	30.88±2.91	-3.91±0.78
DEXA	34.92±2.97	30.93±2.67	-3.99±0.82
DICRO	34.53±3.02	30.48±3.02	-4.05±0.55
J100	34.72±3.28	30.69±3.24	-4.03±0.64
J250	34.90±2.82	30.90±2.64	-4.00±0.73
J500	34.55±2.82	30.60±2.49	-3.95±0.62

Group ID was listed in Table 2: a) mean ± S.D., (n=10); b) At experimental day after fasting; c) Body weight gains between Day -1 and Day 0.

2. 귀 중량의 변화

1) 절대 중량의 변화

정상 부위의 절대 귀 중량은 정상군, 대조군, DEXA, DICRO, J100, J250 및 J500 군에서 각각 0.144 ± 0.013, 0.143 ± 0.007, 0.142 ± 0.013, 0.144 ± 0.011, 0.143 ± 0.010, 0.143 ± 0.009 및 0.143 ± 0.007 g으로 관찰되어 모든 실험군에서 유사한 절대 중량을 나타내었다 (Table 4).

Table 4. Changes on Absolute Ear Weight at Sacrifice in Xylene-Application ICR Mice after "Jungcheonhwadam-gangki-tang" extract dosing

Group ID	Absolute weight (g)			Changes ^{c)}
	Intact sides	Induced sides	Differences ^{b)}	
Sham	0.144±0.013 ^{a)}	0.146±0.012	0.002±0.005	
Control	0.143±0.007	0.199±0.013 ^{**}	0.057±0.013 ^{**}	2258.33%
DEXA	0.142±0.013	0.155±0.017 ^{**}	0.013±0.008 ^{**##}	-77.21%
DICRO	0.144±0.011	0.167±0.015 ^{**##}	0.023±0.013 ^{**##}	-59.54%
J100	0.143±0.010	0.185±0.013 ^{**#}	0.042±0.013 ^{**#}	-26.15%
J250	0.143±0.009	0.178±0.017 ^{**#}	0.035±0.013 ^{**##}	-38.16%
J500	0.143±0.007	0.170±0.013 ^{**##}	0.027±0.013 ^{**##}	-53.00%

Group ID was listed in Table 2: a) mean ± S.D., (n=10); b) Differences between intact and induced sides; c) Changes vs Sham or Control; ** p<0.01 compared to that of Sham (MW test); ## p<0.01 compared to that of Control (MW test); # p<0.05 compared to that of Control (MW test).

유발 부위의 귀 중량은 정상군에서 0.146 ± 0.012로 관찰되었으며, 대조군에서는 0.199 ± 0.013로 유의성 (p<0.01) 있는 증가를 나타내었다. DEXA, DICRO, J100, J250 및 J500 군에서 각각 0.155 ± 0.017, 0.167 ± 0.015, 0.185 ± 0.013, 0.178 ± 0.017 및 0.170 ± 0.013로 관찰되어 DEXA군을 제외한 모든 약물투여군에서 대조군에 비하여 유의성 (p<0.01 또는 p<0.05) 있는 귀 중량의 감소가 인정되었다. 한편 DEXA 군에서도 정상군에 비하여 다소 증가된 귀 중량이 관찰되었으나 유의성은 인정되지 않았다 (Table 4).

한편 정상 부위와 유발 부위의 귀 중량 차이는 정상군, 대조군, DEXA, DICRO, J100, J250 및 J500 군에서 각각 0.002 ± 0.005, 0.057 ± 0.013, 0.013 ± 0.008, 0.023 ± 0.013, 0.042 ± 0.013,

0.035 ± 0.013 및 0.027 ± 0.013으로 관찰되어 모든 실험군에서 대조군에 비하여 유의성 (p<0.01 또는 p<0.05) 있는 귀 중량 차이의 감소가 인정되었다. 특히 定喘化痰降氣湯 추출물 투여군에서는 대조군에 비하여 투여 용량 의존적인 감소가 인정되었다. 이들 유발 부위와 정상부위 귀 중량 차이의 변화율은 대조군에 비하여 DEXA, DICRO, J100, J250 및 J500 군에서 각각 -77.21, -59.54, -26.15, -38.16 및 -53.00%의 변화를 나타내었다 (Table 4).

2) 상대 중량의 변화

정상 부위의 상대 귀 중량은 정상군, 대조군, DEXA, DICRO, J100, J250 및 J500 군에서 각각 0.469 ± 0.051, 0.466 ± 0.051, 0.465 ± 0.069, 0.475 ± 0.039, 0.469 ± 0.050, 0.466 ± 0.050 및 0.471 ± 0.040%로 관찰되어, 모든 실험군에서 유사한 중량을 나타내었다 (Table 5).

유발 부위의 귀 중량은 정상군에서 0.477 ± 0.047로 관찰되었으며, 대조군에서는 0.651 ± 0.078로 관찰되어 정상군에 비하여 유의성 (p<0.01) 있는 귀 중량의 증가를 나타내었다. DEXA, DICRO, J100, J250 및 J500 군에서는 각각 0.507 ± 0.077, 0.552 ± 0.061, 0.607 ± 0.071, 0.582 ± 0.090 및 0.559 ± 0.071로 관찰되어 DEXA, DICRO 및 J500 군에서 대조군에 비하여 유의성 (p<0.01 또는 p<0.05) 있는 귀 중량의 감소가 인정되었다. 그러나 J100 및 J250 군에서도 대조군에 비하여 감소를 나타내었으나 유의성은 인정되지 않았다(Table 5).

정상 부위와 유발 부위의 귀 중량 차이는 정상군에서 0.008 ± 0.016으로 관찰되었으며, 대조군에서는 0.185 ± 0.049로 관찰되어 정상군에 비하여 유의성 (p<0.01) 있는 증가를 나타내었다. DEXA, DICRO, J100, J250 및 J500 군에서는 각각 0.042 ± 0.026, 0.076 ± 0.046, 0.138 ± 0.049, 0.116 ± 0.050 및 0.089 ± 0.047로 관찰되어, DEXA, DICRO, J250 및 J500 군에서 대조군에 비하여 유의성 (p<0.01 또는 p<0.05) 있는 귀 중량 차이의 감소가 인정되었다. 한편 J100군에서도 대조군에 비하여 감소된 정상부위와 유발 부위 귀 중량의 차이를 나타내었지만 유의성은 인정되지 않았으며, 定喘化痰降氣湯 추출물 투여군에서는 대조군에 비하여 투여 용량 의존적인 감소가 인정되었다. 이들 유발 부위와 정상부위 상대 귀 중량 차이변화율은 대조군에 비하여 DEXA, DICRO, J100, J250 및 J500 군에서 각각 -77.55, -58.83, -25.53, -37.51 및 -52.16%의 변화를 나타내었다(Table 5).

Table 5. Changes on Relative Ear Weight at Sacrifice in Xylene-Application ICR Mice after "Jungcheonhwadam -gangki-tang" Extract Dosing

Group ID	Relative weight (%)			
	Intact sides	Induced sides	Differences ^{b)}	Changes ^{c)}
Sham	0.469±0.051 ^{d)}	0.477±0.047	0.008±0.016	
Control	0.466±0.051	0.651±0.078**	0.185±0.049**	2287.33%
DEXA	0.465±0.069	0.507±0.077**	0.042±0.026***##	-77.55%
DICRO	0.475±0.039	0.552±0.061***##	0.076±0.046***##	-58.83%
J100	0.469±0.050	0.607±0.071**	0.138±0.049**	-25.53%
J250	0.466±0.050	0.582±0.090**	0.116±0.050***#	-37.51%
J500	0.471±0.040	0.559±0.071***##	0.089±0.047***##	-52.16%

Group ID was listed in Table 2; a) mean ± S.D., (n=10); Relative weight (%) was ratio vs body weight at sacrifice; b) Differences between intact and induced sides; c) Changes vs Sham or Control; ** p<0.01 compared to that of Sham (MW test); ## p<0.01 compared to that of Control (MW test); # p<0.05 compared to that of Control (MW test).

3. 유발 귀의 조직병리학적 변화

정상군의 경우 비교적 치밀한 각질 중층편평상피 (Keratinized stratified squamous epithelium), 피하조직 (subcutaneous tissue) 및 귀 연골 등 전형적인 귀 조직상을 나타내었다(Fig. 1a).

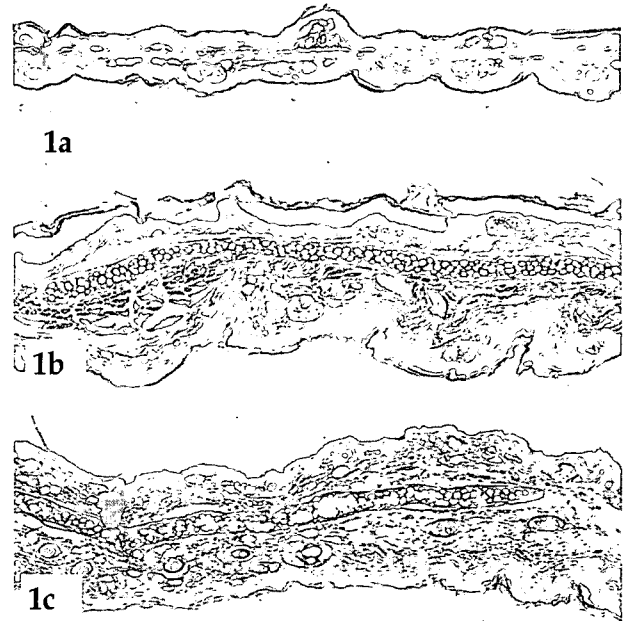


Fig. 1. Histological profiles of ear in Sham and Control groups. a. Sham b. Control c. Control ; All Masson's Trichrome Stain; × 100. Note that normal histological appearance of ear including keratinized stratified squamous epithelium were demonstrated in sham group with relatively well developed subcutaneous tissue and ear cartilage. However, classic acute inflammatory changes on the histological profiles of ear including edematous changes throughout the whole ear tissues with infiltration of inflammatory cells. Therefore the ear thickness were markedly increased in Control compared to that of Sham.

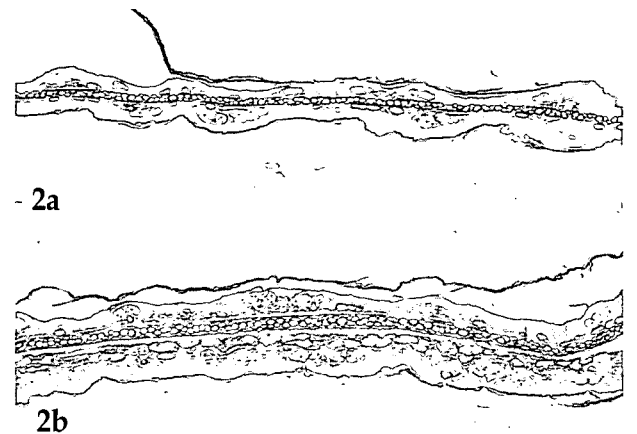


Fig. 2. Histological profiles of ear in Reference drug-dosing groups. a. DEXA group b. DICRO group ; All Masson's Trichrome Stain; × 100. Note that classic acute inflammatory changes on the histological profiles of ear including edematous changes throughout the whole ear tissues with infiltration of inflammatory cells were also demonstrated and the ear thickness in DICRO were markedly increased. However, these changes on histological profiles were dramatically decreased compared to that of Control. In addition, quite similar histological profiles of ear were detected in DEXA compared to that of Sham.

그러나 대조군의 경우, 피하 부종 (subcutaneous edema)에 의한 귀 조직자체의 비후와 일부 호중성 백혈구 (neutrophil) 등

과 같은 급성염증 세포의 침윤 등 전형적인 급성염증 소견이 인정되었다 (Fig. 1b, c). DEXA 및 DICRO 군에서 현저한 항염 효과가 인정되었으며 (Fig. 2a, b), 이러한 전형적인 귀 조직의 급성염증소견이 J100, J250 및 J500 군에서 투여 용량 의존적으로 경감되는 것으로 관찰되었다 (Fig. 3a-c).

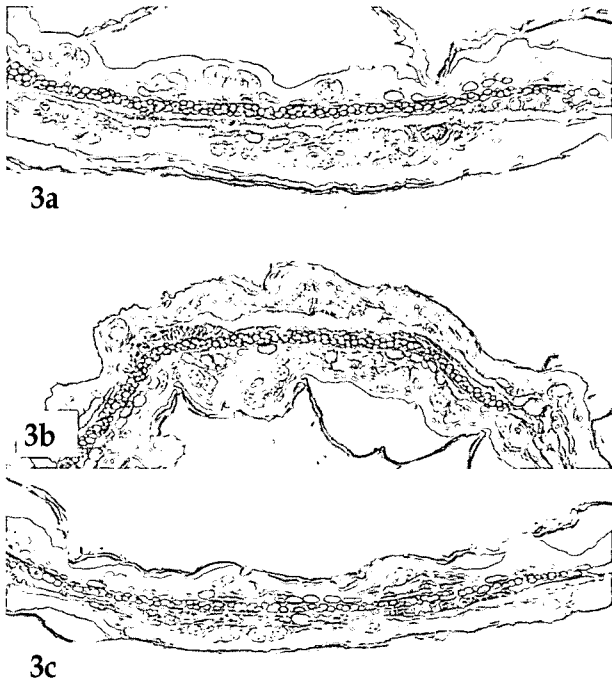


Fig. 3. Histological profiles of ear in "Jungcheonhwadamgangki-tang" extract dosing groups. a. 100 mg/kg-dosing group b. 250 mg/kg-dosing group c. 500 mg/kg-dosing group ; All Masson's Trichrome Stain; × 100. Note that classic acute inflammatory changes on the histological profiles of ear including edematous changes throughout the whole ear tissues with infiltration of inflammatory cells were also detected and the ear thickness were markedly increased. However, these changes on histological profiles were dramatically and dose-dependently decreased compared to that of Control in all Jungcheonhwadam gangki-tang extract dosing groups.

4. Histomorphometry의 변화

1) 반층 귀두께 (ear thickness half)의 변화

정상군의 경우에는 반층 귀두께가 55.62 ± 13.46 μm로 관찰되었으나 대조군에서는 216.20 ± 41.07 μm로 정상군에 비하여 281.84%의 증가로 관찰되어 유의성 (p<0.01)이 있었다. 한편 DEXA, DICRO, J100, J250 및 J500 군에서는 반층 귀두께가 각각 79.02 ± 26.26, 117.99 ± 42.80, 172.76 ± 39.24, 159.64 ± 46.24 및 126.46 ± 30.60 μm로 관찰되어, 모든 약물 투여군에서 대조군에 비하여 유의성 (p<0.01 또는 p<0.05) 있는 감소가 관찰되었으며, 특히 定喘化痰降氣湯 추출물 투여군에서는 대조군에 비하여 투여 용량 의존적인 감소가 인정되었다. 반층 귀두께 변화율은 대조군에 비하여 DEXA, DICRO, J100, J250 및 J500 군에서 각각 -63.45, -45.42, -20.09, -26.16 및 -41.51%를 나타냈다 (Table 6).

2) 전층 귀두께 (ear thickness full)의 변화

정상군의 경우에는 전층 귀두께가 158.00 ± 26.29 μm로 관찰되었으나, 대조군에서는 427.22 ± 80.43 μm로 정상군에 비하여 170.40%의 증가로 관찰되어 유의성 (p<0.01)이 있었다. 한편 DEXA, DICRO, J100, J250 및 J500 군에서는 전층 귀 두께가 각각

186.58 ± 22.50, 251.84 ± 63.78, 337.06 ± 64.82, 288.63 ± 94.59 및 264.52 ± 70.30 μm로 관찰되어, 모든 약물 투여군에서 대조군에 비하여 유의성 (p<0.01 또는 p<0.05) 있는 전층 귀두께의 감소가 관찰되었으며, 定喘化痰降氣湯 추출물 투여군에서는 대조군에 비하여 투여 용량 의존적인 감소가 인정되었다. 전층 귀 두께 변화율은 대조군에 비하여 DEXA, DICRO, J100, J250 및 J500 군에서 각각 -71.12, -41.05, -21.10, -32.44 및 -38.08%를 나타내었다 (Table 6).

Table 6. Changes on Ear Thickness Half and Thickness Full in Xylene-Application ICR Mice after "Jungcheonhwadam-gangki-tang" Extract Dosing

Group ID	Thickness half (μm) ^{b)}	Changes ^{c)}	Thickness full (μm)	Changes
Sham	56.62±13.46 ^{c)}		158.00±26.29	
Control	216.20±41.07**	281.84%	427.22±80.43**	170.40%
DEXA	79.02±26.26**##	-63.45%	186.58±22.50**##	-71.12%
DICRO	117.99±42.80**##	-45.42%	251.84±63.78**##	-41.05%
J100	172.76±39.24**#	-20.09%	337.06±64.82**#	-21.10%
J250	159.64±46.24**#	-26.16%	288.63±94.59**##	-32.44%
J500	126.46±30.60**##	-41.51%	264.52±70.30**##	-38.08%

Group ID was listed in Table 2: a) mean ± S.D., (n=10); b) Thickness full (including ear cartilages) and half (upper sides excluded the ear cartilage) are measured using automated image analyzer; c) Changes vs Sham or Control; ** p<0.01 compared to that of Sham (MW test); * p<0.05 compared to that of Sham (MW test); ## p<0.01 compared to that of Control (MW test); # p<0.05 compared to that of Control (MW test).

고찰

염증은 손상에 대한 살아있는 조직의 반응으로 생체조직이 어떤 원인에 의하여 손상을 받았을 때 이 손상을 국소화 시키고 손상된 부위를 정상상태로 되돌리려는 생체의 고도로 발달된 방어기전이며 이 기전은 손상부위의 혈관, 신경, 체액, 세포의 반응이 관여하는 대단히 복잡한 일련의 과정으로 이루어진다¹⁾.

현재까지 수많은 항염 물질들이 다양한 방법을 통해 개발되어져 왔으며, Xylene-application 마우스 ear acute inflammation 모델은 급성염증에 대한 효력평가 시 가장 일반적으로 이용되는 방법으로 알려져 있다^{9,10)}. Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs (NSAIDs)의 일종인 Diclofenac과 부신피질 호르몬 제제인 Dexamethasone은 항염 실험에서 가장 흔히 사용되는 reference 물질이며, Diclofenac 및 Dexamethasone의 Xylene-application 마우스 ear acute inflammation 모델에서의 효과는 비교적 잘 알려져 있고, 이 모델에서 여러 가지 물질들의 급성염증에 대한 평가 시 reference 물질로 사용되어져 왔다.

Xylene-application 마우스 ear acute inflammation 모델에서는 Xylene 등의 염증유발 물질의 국소적 도포에 의해 초래되는 ear 부종의 변화를 평가하여 약효를 검증하며, 조직학적 변화 역시 하나의 중요한 기준으로 간주되고 있다¹¹⁻¹⁷⁾. 현재까지 Xylene-application mouse ear acute inflammation 모델에서 천연물 유래의 추출물에 대한 항염효과는 가시개미 Polyrhachis lamellidens 추출물¹⁰⁾, 이란 약용식물 Salvia leriifolia 종자 추출물⁹⁾, 이란 약용식물 Zhumeria majdae 추출물¹⁵⁾, 샤프란 Crocus sativus 추출물¹⁶⁾, 수반하 Typhonium flagelliforme 추출물¹⁹⁾, 이란 약용식물 Zataria multiflora 추출물²⁰⁾ 및 11종의 요르단 약용식물 추출물²¹⁾ 등에서 진행되어 왔으나, 현재 복합 한약 처방 자

체에 대한 항염 효과를 평가한 보고는 극히 드물고, 천식 등의 호흡기계 염증성 질환의 치료제로 사용되어져 온 定喘化痰降氣湯의 Xylene-application mouse ear acute inflammation 모델에서의 항염 효과에 대한 보고는 찾아볼 수 없었다.

定喘化痰降氣湯은 咳嗽, 痰喘, 氣喘, 기관지 천식 등에 사용하는 처방으로 千縉湯, 定喘化痰湯, 蘇子降氣湯 三個처방을 합방하여 만든 처방으로 陳皮, 柿蒂, 半夏, 南星炮, 杏仁, 五味子, 款冬花, 皂角刺, 沙蔘, 紫菀, 甘草, 當歸, 人蔘, 蘇子, 前胡, 赤茯苓, 貝母, 枳實의 18종의 한약재로 구성되어 천식을 위시한 호흡기계 염증성 질환의 치료에 사용되어져 온 처방이다⁴⁻⁶⁾.

定喘化痰降氣湯의 구성약물들을 살펴보면 陳皮는 導滯消痰하고 定喘止咳하며 鎮咳祛痰하며, 柿蒂는 潤心肺하며 止欬逆하고 降氣止嘔하며 止呃하고, 半夏는 除濕化痰하고 祛痰平喘하며 痰涎壅塞을 치료한다. 南星은 消痰하고 咳嗽와 氣喘을 치료하며 痰結을 破하며, 杏仁은 消痰, 降氣, 潤燥하며 治水의 要藥으로 鎮咳祛痰하고, 五味子是 肺氣를 斂하여 寧嗽定喘하고 咳嗽喘息을 치료한다. 款冬花는 潤肺化痰하여 止咳시키는 良藥이 되어 모든 咳嗽에 응용되며, 皂角刺는 湧吐痰涎하고 消痰시키며 痰喘을 치료하고, 沙蔘은 補肺陰하고 清肺火하며 痰多不利와 氣虛咳嗽를 치료한다. 紫菀은 潤肺下氣하며 鎮咳祛痰하고 慢性咳嗽를 치료하며, 甘草는 能히 制藥을 協和하고 痰의 咯出을 용이하게 하며 咽喉의 分비를 증가시키고, 當歸는 一切의 血症을 치료하고 養血潤燥하며 咳逆上氣를 치료하며 주로 生血作用이 강하여 惡血을 제거한다. 人蔘은 肺中の 元氣를 大補하고 瀉火除煩, 生津止渴 시켜 호흡곤란과 肺癆를 치료하며, 蘇子는 止嗽, 化痰하여 止喘咳하고 痰結을 치료하고, 前胡는 降痰下氣하고 清肺熱시키며 化痰熱하여 治咳嗽하고 定喘喘한다. 赤茯苓은 通利濕熱하고 咳逆, 胸中痰水を 치료하며, 貝母는 心肺를 潤하고 燥痰을 化하며 咳嗽上氣를 치료하고, 枳實은 破氣行痰하여 止喘하고 嘔逆咳嗽를 치료한다^{22,23)}.

본 연구에서는 定喘化痰降氣湯 추출물의 급성염증에 대한 항염 효과를 확인하기 위해 Xylene-application mouse ear acute inflammation 모델을 이용하여 100, 250 및 500 mg/kg의 定喘化痰降氣湯 추출물을 전 투여한 후 Xylene을 mouse 귀에 도포한 다음 초래되는 귀 중량, 귀의 조직학적 변화 및 귀 두께를 관찰하였으며, 아울러 항염 효과에 대한 대조약물로 Dexamethasone 및 Diclofenac 15 mg/kg을 복강 투여하여, 그 효능을 비교 관찰하였다.

체중 및 체중 증가량을 살펴보면, 대조군을 포함 모든 실험군에서 정상군과 유사한 체중 및 체중 증가량을 나타내어 투여 약물에 의한 독성 징후는 관찰되지 않았으며, 급성 염증 시의 변화가 수반되지 않는 것으로 판단되었다.

또한 Xylene 적용 후 정상군에 비하여 대조군에서는 현저한 절대 및 상대 귀 중량의 증가가 관찰되었으며, 정상 부위와 유발부위의 중량 차이 역시 정상군에 비하여 현저히 증가되는 것으로 관찰되었다. 이러한 귀 중량의 증가는 전형적인 Xylene-application mouse ear acute inflammation 모델 소견이며¹¹⁻¹⁷⁾, 이러한 귀 중량은 定喘化痰降氣湯 추출물 투여군과 DEXA 및 DICRO 투여군에서 대조군에 비하여 유의성 (p<0.01) 있게 감소되어 이들 약물이 Xylene-application mouse ear acute inflammation에 대한 항

염 효과를 나타내는 것으로 생각된다. 특히 定喘化痰降氣湯 추출물 투여군의 경우, 투여 용량 의존적으로 귀 중량의 감소가 초래되어 이들 추출물이 항염 활성을 가지고 있을 것으로 생각되었다.

조직학적 변화와 귀 두께의 변화를 살펴보면, 급성 염증 시에는 일반적으로 조직부종과 급성 염증세포의 침윤이 관찰되는데²⁴⁻²⁶⁾ 본 실험의 결과에서도 현저한 부종에 의한 귀 조직 자체의 비후가 대조군에서 인정되었으며, 이로 인한 반층 귀 두께와 전층 귀 두께의 현저한 증가가 인정되었다. 일반적으로 후보물질의 Xylene-application mouse ear acute inflammation 모델에서 항염 효과 평가 시 염증과정의 억제, 조직부종의 감소 및 염증세포의 침윤 억제 등을 조직학적으로 판단하게 된다²⁴⁻²⁶⁾. 본 실험의 결과 대조군에 비하여 定喘化痰降氣湯 추출물 투여군과 DEXA 및 DICRO 투여군에서 이러한 조직학적 소견 및 귀 두께가 유의성 (p<0.01) 있게 감소되어 이들 약물이 Xylene-application mouse ear acute inflammation에 대한 항염 효과를 나타내는 것으로 생각된다. 특히 定喘化痰降氣湯 추출물 투여군의 경우 투여 용량 의존적으로 감소가 초래되었으므로 이들 추출물이 항염 활성을 가지고 있을 것으로 추정되었다.

이상에서 고찰해본바 定喘化痰降氣湯 추출물은 급성염증에 대한 비교적 양호한 항염효과를 나타내는 것으로 관찰되었으며, 500 mg/kg의 定喘化痰降氣湯 추출물 경구 투여군이 DICRO 15 mg/kg 복강 투여군과 유사한 항염 효과를 나타내는 것으로 관찰되었다.

결론

定喘化痰降氣湯 추출물의 급성염증에 대한 항염효과를 평가하기 위해 Xylene-application mouse ear acute inflammation 모델을 이용하여 定喘化痰降氣湯 추출물을 전 투여한 후 Xylene을 mouse 귀에 도포한 다음 초래되는 귀 중량, 귀의 조직학적 변화 및 귀 두께를 Histomorphometry를 통해 비교 관찰한 하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

체중 및 체중증가량의 변화경우 모든 定喘化痰降氣湯 추출물 투여군에서는 대조군과 유사한 체중 및 체중 증가량을 나타내었다. 귀 중량 변화의 경우 定喘化痰降氣湯 추출물 투여군에서는 대조군에 비하여 현저한 절대 및 상대 귀 중량의 감소와 정상 부위와 유발부위의 차이의 감소를 나타내었으며, 특히 투여 용량 의존적으로 관찰되었다. 귀 조직 변화의 경우 定喘化痰降氣湯 추출물 투여군에서는 대조군에 비하여 조직학적 염증변화가 현저하게 경감되었으며, 특히 투여 용량 의존적으로 경감되었다. Histomorphometry 변화의 경우 定喘化痰降氣湯 추출물 투여군에서는 대조군에 비하여 현저한 반층 귀 두께 및 전층 귀 두께의 감소를 나타내었으며, 특히 이러한 귀 두께의 감소가 투여 용량 의존적으로 관찰되었다.

참고문헌

1. 대한병리학회 편. 병리학(제5판). 서울, 고문사, p 68, 69, 2003.

2. 전국의과대학교수 번역. *오늘의 진단 및 치료*. 서울, 도서출판 한우리, pp 287-289, 1999.
3. Barns. P., Pederson, S. Efficacy and safety of inhaled corticosteroids in asthma. *Am Rev Respir Dis* 148, 1-26, 1993.
4. 전국한의과대학 폐계내과학교실편저. *東醫肺系內科學*. 서울, 도서출판 국진기획, p 199, 576, 587, 2004.
5. 경희의료원한방병원. *한방기본처방집*. 서울, 대성문화사, p 191, 1988.
6. 박동일, 정승기, 이형구. 定喘化痰湯 및 定喘化痰降氣湯의 효능에 관한 실험적 연구. *경희의학* 5(2):183, 1989.
7. 안태호, 황희정, 김대준, 박지현, 최해윤, 김종대. 定喘化痰降氣湯이 ovalbumin으로 유발된 천식에 미치는 영향. *방제학회지*, 8(1):191-211, 2000.
8. 이상준, 박지현, 최해윤, 김종대. 定喘化痰降氣湯이 ovalbumin으로 유발된 천식의 조직화학적 변화에 미치는 영향. *방제학회지*, 9(1):273-288, 2001.
9. Hosseinzadeh, H., Haddadkhodaparast, M.H., Arash, A.R. Anti-nociceptive, anti-inflammatory and acute toxicity effects of *Salvia leriifolia* Benth seed extract in mice and rats. *Phytother Res*, 17(4):422-425, 2003.
10. Kou, J., Ni, Y., Li, N., Wang, J., Liu, L., Jiang, Z.H. Analgesic and anti-inflammatory activities of total extract and individual fractions of Chinese medicinal ants *Polyrhachis lamellidens*. *Biol Pharm Bull*, 28(1):176-180, 2005.
11. Abdel-Salam, O.M., Baiuomy, A.R., El-batran, S., Arbid, M.S. Evaluation of the anti-inflammatory, anti-nociceptive and gastric effects of *Ginkgo biloba* in the rat. *Pharmacol Res*, 49(2):133-142, 2004.
12. Al-Majed, A.A., Khattab, M., Raza, M., Al-Shabanah, O.A., Mostafa, A.M. Potentiation of diclofenac-induced anti-inflammatory response by aminoguanidine in carrageenan-induced acute inflammation in rats: the role of nitric oxide. *Inflamm Res*, 52(9):378-382, 2003.
13. Vetrichelvan, T., Jegadeesan, M. Effect of alcohol extract of *Achyranthes aspera* Linn, on acute and subacute inflammation, *Phytother Res*, 17(1):77-79, 2003.
14. Giner-Larza, E.M., Manez, S., Giner, R.M., Recio, M.C., Prieto, J.M., Cerda-Nicolas, M., Rios, J.L. Anti-inflammatory triterpenes from *Pistacia terebinthus* galls. *Planta Med*, 68(4):311-315, 2002.
15. Hosseinzadeh, H., Ramezani, M., Fadishei, M., Mahmoudi, M. Antinociceptive, anti-inflammatory and acute toxicity effects of *Zhumeria majdae* extracts in mice and rats. *Phytomedicine*, 9(2):135-141, 2002.
16. Gomez, M.A., Saenz, M.T., Garcia, M.D., Fernandez, M.A. Study of the topical anti-inflammatory activity of *Achillea ageratum* on chronic and acute inflammation models. *Z Naturforsch [C]*, 54(11):937-941, 1999.
17. Rossetti, R.G., Seiler, C.M., Brathwaite, K., Zurier, R.B. Effect of Misoprostol on Acute and Chronic Inflammation. *Am J Ther*, 2(9):600-606, 1995.
18. Hosseinzadeh, H., Younesi, H.M. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Crocus sativus* L, stigma and petal extracts in mice. *BMC Pharmacol*. 2(1):7, 2002.
19. Zhong, Z., Zhou, G., Chen, X., Huang, P. Pharmacological study on the extracts from *Typhonium flagelliforme* Blume. *Zhong Yao Cai*, 24(10):735-738, 2001.
20. Hosseinzadeh, H., Ramezani, M., Salmani, G. Antinociceptive, anti-inflammatory and acute toxicity effects of *Zataria multiflora* Boiss extracts in mice and rats. *J Ethnopharmacol*, 73(3):379-385, 2000.
21. Atta, A.H., Alkofahi, A. Anti-nociceptive and anti-inflammatory effects of some Jordanian medicinal plant extracts. *J Ethnopharmacol*, 60(2):117-124, 1998.
22. 李尙仁, 安德均, 辛民教. *韓藥臨床應用*. 서울, 成輔社, p 56, 171, 253, 272, 345, 361, 399, 410, 431, 496, 497, 515, 518, 526, 528, 530, 531, 532, 1982.
23. 李龍城. *經藥分類典*. 서울, 壽文社, p 29, 47, 52, 53, 55, 56, 62, 85, 92, 1979.
24. Kou, J., Ma, R., Zhu, D., Yan, Y. Blood-activating and anti-inflammatory actions of *Polygala fallax*. *Zhong Yao Cai*, 26(4):268-271, 2003.
25. Rotelli, A.E., Guardia, T., Juarez, A.O., de la Rocha, N.E., Pelzer, L.E. Comparative study of flavonoids in experimental models of inflammation. *Pharmacol Res*, 48(6):601-606, 2003.
26. De La Puerta, R., Martinez, E., Bravo, L., Ahumada, M.C. Effect of silymarin on different acute inflammation models and on leukocyte migration. *J Pharm Pharmacol*, 48(9):968-970, 1996.