

解表二陳湯加鹿茸이 Xylene으로 유발된 마우스의 급성 염증에 미치는 영향

정봉균 · 전귀옥 · 조동희* · 박미연 · 최해윤 · 김종대

대구한의대학교 한의과대학 내과학교실

Anti-Inflammatory Effect of Haepyoejin-tang plus Antler water extract in Xylene-Application Mouse Ear Acute Inflammation Model

Bong-Gyun Jung, Kwi-Ok Jeon, Dong-Hee Cho*, 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 Haepyoejin-tang plus Antler 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 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 Haepyoejin-tang plus Antler 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 Haepyoejin-tang plus Antler. In addition, the increases of ear thickness half and thickness full detected in the vehicle control, were also dose-dependently decreased in the all Haepyoejin-tang plus Antler-dosing groups. Base on these results, it is concluded that Haepyoejin-tang plus Antler water extracts have a clear anti-inflammatory effect on the acute inflammation. However, somewhat lower anti-inflammatory effects were detected in Haepyoejin-tang plus Antler water extracts compare to that of Dexamethason and Dicrofenac. About 500 mg/kg of Haepyoejin-tang plus Antler water extracts have similar effect compared to that of Dicrofenac 15 mg/kg.

Key words : Anti-Inflammatory Effect, Haepyoejin-tang plus Antler, Xylene-Application mouse

서 론

염증이란 손상에 대한 살아있는 조직의 반응으로 생체조직이 어떤 원인에 의하여 손상을 받았을 때 이 손상을 국소화시키고 손상된 부위를 정상적인 상태로 되돌리려는 방어기전이다¹⁾.

염증의 발현양식과 지속시간에 따라 급성염증과 만성염증으로 구별되며, 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 것

이 그것이다¹⁾.

요즘 천식을 병리학적으로는 기도의 염증성 반응을 보이는 질환으로 정의하며, 천식의 발현 양상이 기관지의 염증성 부종이나 점액이 주요소인 경우에는 기관지 확장제만으로 치료에 잘 반응하지 않고 부신피질 스테로이드에만 반응하게 된다²⁾. 하지만 Dexamethason같은 부신피질 스테로이드제제들은 위궤양, 골다공증 등과 같은 부작용이 매우 심한 단점이 있어^{3,4)} 현재에도 이를 대체하기 위한 치료제 개발이 진행되고 있다^{5,6)}.

解表二陳湯은 명대의 공의 <古今醫鑑>에 최초로 기재된 처방⁷⁾으로 哮喘를 치료하며, 痰多氣急, 咳嗽哮喘하는 것을 다스리고 특히 辛溫解表치법에 의해 發熱, 身痛, 無汗의 風寒表證을 아울러 치료한다^{8,9)}. 또한 鹿茸은 단방보다는 복방에 배합하며 인체의 精血을 보강하는데 주로 활용한다¹⁰⁾. 현재까지 解表二陳

* 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 : 2006/08/02

탕의 실험적 연구¹¹⁻¹³⁾는 호흡기 손상에 대한 효능 연구였으며, 아직까지 항염에 대한 연구는 보고되지 않았다. 이에 解表二陳湯加鹿茸이 항염에 대한 효과가 있을 것으로 생각되어 연구를 하였다.

본 연구에서는 解表二陳湯加鹿茸 추출물의 급성염증에 대한 항염 효과를 알아보기 위하여 Xylene을 이용하여 마우스의 귀에 급성염증을 유발시키고 대조약물로 Dexamethasone 및 Dicrofenac 사용하여 解表二陳湯加鹿茸 추출물의 효과를 귀 중량, 귀의 조직학적 변화 및 귀 두께 등을 비교 관찰하였다.

실 험

1. 재료

1) 약재

실험에 사용된 약재는 대구한의대학교 부속 대구한방병원에 서 구입한 것을 사용하였으며, 실험에 사용된 解表二陳湯加鹿茸 1첩 분량⁸⁾의 조성은 다음과 같다 (Table 1).

Table 1. Composition of Haepyojein-tang plus Antler

| 藥物名 | 生藥名 | 用量 (g) |
|-------|----------------------------|--------|
| 半 夏 | <i>Pinelliae Rhizoma</i> | 8 |
| 橘 皮 | <i>Citri Pericarpium</i> | 4 |
| 赤茯苓 | <i>Poria</i> | 4 |
| 炙甘草 | <i>Glycyrrhizae Radix</i> | 2 |
| 蘇 葉 | <i>Perillae Herba</i> | 2 |
| 杏 仁 | <i>Armeniaca Semen</i> | 2 |
| 麻 黃 | <i>Ephedrae Herba</i> | 2 |
| 桑白皮 | <i>Mori Cortex Radicis</i> | 2 |
| 紫 菀 | <i>Asteris Radix</i> | 2 |
| 貝 母 | <i>Fritillariae Bulbus</i> | 2 |
| 桔 梗 | <i>Platycodi Radix</i> | 2 |
| 生 薑 | <i>Zingiberis Rhizoma</i> | 4 |
| 鹿茸 上 | <i>Antler</i> | 4 |
| Total | | 40 |

2) 동물

동물은 ICR 마우스 (Charles River, Japan)를 이용하였으며, 동물은 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 : 12시간으로 조절하였다. 사료 및 음수는 자유롭게 섭취할 수 있도록 공급하였으며 투여시작일과 최종 부검시 12시간이상 절식시켰으며, picric acid를 이용하여 개체 번호를 식별하였다.

2. 방법

1) 解表二陳湯加鹿茸의 추출

선정된 약재 10첩 분량인 400 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 10.321g 총 103.21g (수율 25.80%)의 추출물을

얻어 실험에 사용하였다.

2) 약물의 투여

DEXA 및 DICRO 군은 각각 Dexamethasone (Sigma, USA) 및 Dicrofenac (Suzhou Leader Chemical Co., China) 15 mg/kg을 생리 식염수에 녹여 10 ml/kg의 농도로 단회 복강 주사하였으며, 解表二陳湯加鹿茸 추출물은 100, 250 또는 500 mg/kg을 멸균 증류수에 녹여 10 ml/kg의 농도로 단회 경구 투여하였다. 또한 대조군 및 정상군에서는 동일한 양의 멸균 증류수를 사용하였다. 모든 약물은 Xylene-Application 30분 후 단회 투여하였다.

3) 실험군의 구분

정상군, 대조군, Dexamethasone 15mg/kg 복강 투여군 (이하 DEXA 군), Dicrofenac 15mg/kg 복강 투여군 (이하 DICRO 군), 解表二陳湯加鹿茸 추출물 100 (HA100), 250 (HA250) 및 500 (HA500) mg/kg 투여군의 7 개군으로 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 |
| HA100 | HPEJTA Extract | 100 mg/kg | Yes |
| HA250 | HPEJTA Extract | 250 mg/kg | Yes |
| HA500 | HPEJTA Extract | 500 mg/kg | Yes |

HPEJTA Extract: Haepyojein-tang plus Antler Extract; D.W.: Distilled Water; HPEJTA 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. 30min after using dosing of test articles and vehicle, Xylene was applied to the inner surface of unilateral ear. 2hours after Xylene application, all animals were sacrificed.

4) 급성염증의 유발

Hosseinzadeh 등⁸⁾의 방법에 준하여 약물 투여 30분 후 마리당 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.

5) 체중 및 체중 증가량의 관찰

실험동물의 체중은 약물 투여 1일 전, 약물 및 급성염증 유발 일 (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 체중 증가량을 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, 유한양행) 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.

Relative weight (%) = [(Absolute Ear weight / Body weight at sacrifice) × 100]

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

Differences (g) = Induced ear weight - Intact ear weight

7) 조직학적 관찰

부검 시 염증이 유발된 귀를 절취하여 10% neutral buffered formalin (10% NBF)에 24시간 이상 고정하였다. 고정된 조직은 ethanol 탈수를 거쳐 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) test 를 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 체중 증가량의 변화를 제외한 모든 결과는 대조군의 경우 정상군과 비교한 % changes를 아래의 공식으로 계산하였으며, 또한 모든 약물 투여군은 대조군과 비교한 % changes를 아래의 공식을 이용하여 산출하였다.

% Changes vs Sham = [(Data of Control - Data of Sham)/Data of Control] × 100

% Changes vs Control = [(Data of tested group - Data of Control)/Data of tested group] × 100

결 과

1. 체중 및 체중 증가량의 변화

1) 체중의 변화

투여 1일전 체중의 경우 정상군, 대조군, DEXA, DICRO, HA100, HA250 및 HA500 군에서 각각 34.76 ± 2.32, 34.79 ± 2.54, 34.92 ± 2.97, 34.53 ± 3.02, 34.65 ± 2.08, 34.70 ± 3.08 및 34.85 ± 3.41g/head로 관찰되어 모든 실험군에서 유사한 체중을 나타내었다 (Table 3).

Table 3. Body Weight Changes in Xylene-Application ICR Mice after "Haepyojin-tang Plus Antler" Extract Dosing

| Group ID | Day -1 | Day 0 ^{a)} | 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 |
| HA100 | 34.65±2.08 | 30.75±2.27 | -3.90±0.37 |
| HA250 | 34.70±3.08 | 30.78±3.12 | -3.92±0.51 |
| HA500 | 34.85±3.41 | 30.97±3.65 | -3.88±0.36 |

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

또한 실험일에서도 정상군, 대조군, DEXA, DICRO, HA100, HA250 및 HA500 군에서 각각 30.80 ± 2.60, 30.88 ± 2.91, 30.93 ± 2.67, 30.48 ± 3.02, 30.75 ± 2.27, 30.78 ± 3.12 및 30.97 ± 3.65g/head로 관찰되어 모든 실험군에서 유사한 체중을 나타내었다(Table 3).

2) 체중 증가량의 변화

정상군, 대조군, DEXA, DICRO, HA100, HA250 및 HA500 군에서 각각 -3.96 ± 1.00, -3.91 ± 0.78, -3.99 ± 0.82, -4.05 ± 0.55, -3.90 ± 0.37, -3.92 ± 0.51 및 -3.88 ± 0.36g/head로 관찰되어 모든 실험군에서 유사한 체중 증가량을 나타내었다(Table 3).

2. 귀 중량의 변화

1) 절대 중량의 변화

정상 부위의 절대 귀 중량은 정상군, 대조군, DEXA, DICRO, HA100, HA250 및 HA500 군에서 각각 0.144 ± 0.013, 0.143 ± 0.007, 0.142 ± 0.013, 0.144 ± 0.011, 0.144 ± 0.007, 0.143 ± 0.009 및 0.144 ± 0.014g/head로 관찰되어 모든 실험군에서 유사한 절대 중량을 나타내었다 (Table 4). 유발 부위의 귀 중량은 정상군, 대조군, DEXA, DICRO, HA100, HA250 및 HA500 군에서 각각 0.146 ± 0.012, 0.199 ± 0.013, 0.155 ± 0.017, 0.167 ± 0.015, 0.189 ± 0.007, 0.180 ± 0.021 및 0.174 ± 0.017g/head로 관찰되어 DEXA 군을 제외한 모든 Xylene 적용군에서 정상군에 비하여 유의성 (p<0.01 또는 p<0.05) 있는 귀 중량의 증가를 나타내었으며, 대조군에 비하여 유의성 (p<0.01 또는 p<0.05) 있는 귀 중량의 감소는 HA100 군을 제외한 모든 실험군에서 인정되었다. HA100 군군에서도 대조군에 비하여 귀 중량의 감소가 관찰되었으나 유의성은 인정되지 않았다. 또한 DEXA 군에서도 정상군에 비하여 귀 중량이 다소 증가되었으나 유의성은 인정되지 않았다 (Table 4).

Table 4. Changes on Absolute Ear Weight at Sacrifice in Xylene-Application ICR Mice after "Haepyojin-tang plus Antler" 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% |
| HA100 | 0.144±0.007 | 0.189±0.007 ^{**} | 0.045±0.011 ^{**#} | -21.38% |
| HA250 | 0.143±0.009 | 0.180±0.021 ^{**#} | 0.037±0.020 ^{**#} | -34.10% |
| HA500 | 0.144±0.014 | 0.174±0.017 ^{**##} | 0.030±0.017 ^{**##} | -46.82% |

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<0.05 compared to that of Control (MW test); ## p<0.01 compared to that of Control (MW test).

한편 정상 부위와 유발 부위의 귀 중량 차이는 정상군, 대조군, DEXA, DICRO, HA100, HA250 및 HA500 군에서 각각 0.002 ± 0.005, 0.057 ± 0.013, 0.013 ± 0.008, 0.023 ± 0.013, 0.045 ± 0.011, 0.037 ± 0.020 및 0.030 ± 0.017g/head로 관찰되어 모든 Xylene 적용군에서 정상군에 비하여 유의성 (p<0.01) 있는 증가를 나타내었으며, 또한 대조군에 비하여 유의성 (p<0.01 또는 p<0.05) 있는 귀 중량 차이의 감소가 모든 실험군에서 인정되었다. 특히 解表二陳湯加鹿茸 추출물 투여군에서는 대조군에 비하

여 투여 용량 의존적인 감소가 인정되었다. 이들 유발 부위와 정상부위 귀 중량의 차이는 대조군에 비하여 DEXA, DICRO, HA100, HA250 및 HA500 군에서 각각 -77.21, -59.54, -21.38, -34.10 및 -46.82%의 변화를 나타내었다(Table 4).

2) 상대 중량의 변화

정상 부위의 상대 귀 중량은 정상군, 대조군, DEXA, DICRO, HA100, HA250 및 HA500 군에서 각각 0.469 ± 0.051, 0.466 ± 0.051, 0.465 ± 0.069, 0.475 ± 0.039, 0.470 ± 0.034, 0.468 ± 0.050 및 0.469 ± 0.070%로 관찰되어 모든 실험군에서 유사한 중량을 나타내었다 (Table 5). 유발 부위의 귀 중량은 정상군, 대조군, DEXA, DICRO, HA100, HA250 및 HA500 군에서 각각 0.477 ± 0.047, 0.651 ± 0.078, 0.507 ± 0.077, 0.552 ± 0.061, 0.616 ± 0.055, 0.591 ± 0.100 및 0.568 ± 0.092%로 관찰되어 DEXA군을 제외한 모든 Xylene 적용군에서 정상군에 비하여 유의성 (p<0.01 또는 p<0.05) 있는 귀 중량의 증가를 나타내었다. 또한 DEXA 및 DICRO 군에서 대조군에 비하여 유의성 (p<0.01 또는 p<0.05) 있는 귀 중량의 감소가 인정되었으며, 解表二陳湯加鹿茸 추출물 투여군에서는 대조군에 비하여 감소를 나타내었으나 유의성은 인정되지 않았다. 한편 DEXA 군에서도 정상군에 비하여 다소 증가된 귀 중량치가 관찰되었으나 유의성은 인정되지 않았다 (Table 5).

정상 부위와 유발 부위의 귀 중량 차이는 정상군, 대조군, DEXA, DICRO, HA100, HA250 및 HA500 군에서 각각 0.008 ± 0.016, 0.185 ± 0.049, 0.042 ± 0.026, 0.076 ± 0.046, 0.146 ± 0.040, 0.123 ± 0.070 및 0.099 ± 0.060%로 관찰되어 모든 Xylene 적용군에서 정상군에 비하여 유의성 (p<0.01)있는 증가를 나타내었다. 또한 모든 투여군에서 대조군에 비하여 유의성 (p<0.01 또는 p<0.05) 있는 귀 중량 차이의 감소가 인정되었으며, 解表二陳湯加鹿茸 추출물 투여군에서도 대조군에 비하여 투여 용량 의존적인 감소가 인정되었다. 이들 유발 부위와 정상부위 상대 귀 중량의 차이는 대조군에 비하여 DEXA, DICRO, HA100, HA250 및 HA500 군에서 각각 -77.55, -58.83, -20.91, -33.42 및 -46.28%의 변화를 나타내었다 (Table 5).

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

| Group ID | Relative weight (%) | | | |
|----------|---------------------------|------------------------------|------------------------------|-----------------------|
| | Intact sides | Induced sides | Differences ^{b)} | Changes ^{c)} |
| Sham | 0.469±0.051 ^{a)} | 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% |
| HA100 | 0.470±0.034 | 0.616±0.055** | 0.146±0.040** | -20.91% |
| HA250 | 0.468±0.050 | 0.591±0.100** | 0.123±0.070** [#] | -33.42% |
| HA500 | 0.469±0.070 | 0.568±0.092 [*] | 0.099±0.060*** ^{##} | -46.28% |

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<0.05 compared to that of Sham (MW test); ** p<0.01 compared to that of Sham (MW test); # p<0.05 compared to that of Control (MW test); ## p<0.01 compared to that of Control (MW test).

3. 염증유발 귀의 조직병리학적 변화

정상군의 경우 비교적 치밀한 각질 중층편평상피, 피하조직 그리고 귀 연골 등 전형적인 귀 조직상을 나타내었다 (Fig. 1a). 그

러나 대조군의 경우 피하 부종에 의한 귀 조직자체의 비후와 일부 호중성 백혈구 등과 같은 급성염증 세포의 침윤 등 전형적인 급성염증 소견이 관찰되었다 (Fig. 1b, c). DEXA 및 DICRO 군에서 현저한 항염 효과가 관찰되었으며 (Fig. 2a, b), HA100, HA250 및 HA500 군에서도 이러한 전형적인 귀 조직의 급성염증소견이 용량 의존적으로 경감되는 것으로 관찰되었다 (Fig. 3a-c).

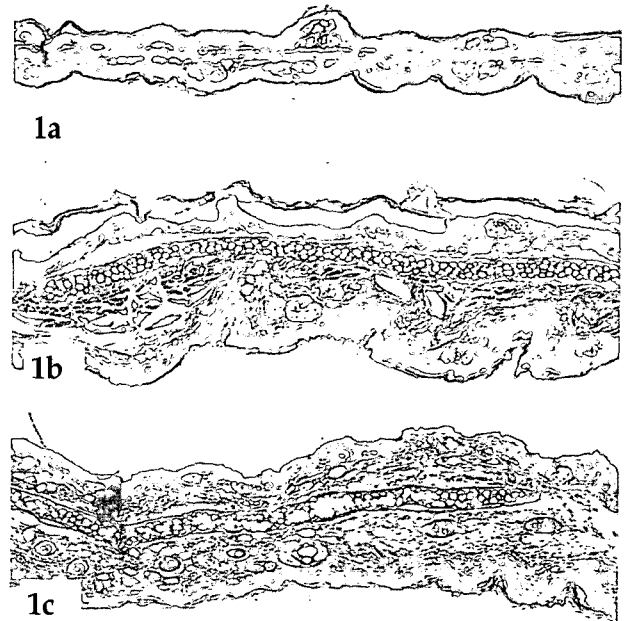


Fig. 1. Histological profiles of ear in Sham and Control groups. a. Sham b. Control c. Control; All Masson's Trichrome Stain; × 100. Note that normal histological appearance of ear including keratinized stratified squamous epithelium were demonstrated in sham group with relatively well developed subcutaneous 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.

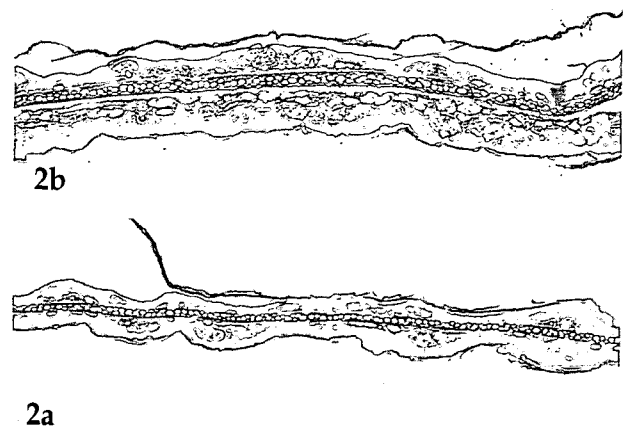


Fig. 2. Histological profiles of ear in Reference drug-dosing groups. a. DEXA group b. DICRO group; All Masson's Trichrome Stain; × 100. Note that classic acute inflammatory changes on the histological profiles of ear including edematous changes throughout the whole ear tissues with infiltration of inflammatory 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.

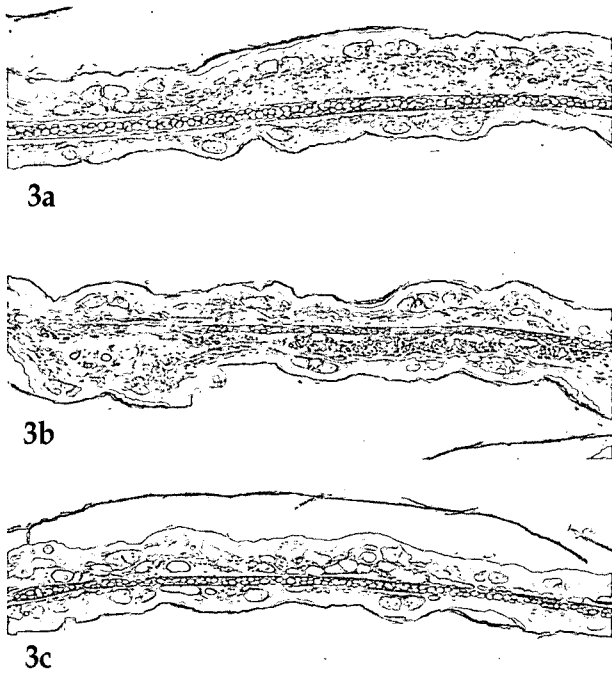


Fig. 3. Histological profiles of ear in Haepyojein-tang plus Antler extract dosing groups. a. 100 mg/kg-dosing group b. 250 mg/kg-dosing group c. 500 mg/kg-dosing group: All Masson's Trichrome Stain; $\times 100$. Note that classic acute inflammatory changes on the histological profiles of ear including 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 Haepyojein-tang plus Antler extract dosing groups.

4. Histomorphometry의 변화

1) 반층 귀두께의 변화

정상군의 경우에는 반층 귀두께가 $55.62 \pm 13.46 \mu\text{m}$ 로 관찰되었으나, 대조군에서는 $216.20 \pm 41.07 \mu\text{m}$ 로 관찰되어 정상군에 비하여 281.84%의 증가로 유의성 ($p < 0.01$)이 있었다. 한편 DEXA, DICRO, HA100, HA250 및 HA500 군에서는 반층 귀두께가 각각 79.02 ± 26.26 , 117.99 ± 42.80 , 150.80 ± 34.75 , 135.48 ± 31.84 및 $119.87 \pm 26.85 \mu\text{m}$ 로 관찰되어 모든 투여군에서 대조군에 비하여 유의성 ($p < 0.01$) 있는 감소가 관찰되었으며, 解表二陳湯加鹿茸 추출물 투여군에서도 대조군에 비하여 투여 용량 의존적인 감소가 관찰되었다. 또한 반층 귀두께는 대조군에 비하여 DEXA, DICRO HA100, HA250 및 HA500 군에서 각각 -63.45, -45.42, -30.25, -37.34 및 -44.56%를 나타내었다 (Table 6).

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

| Group ID | Thickness half (μm) ^{a)} | Changes ^{c)} | Thickness full (μm) | Changes |
|----------|--|-----------------------|----------------------------------|---------|
| Sham | 56.62 \pm 13.46a) | | 158.00 \pm 26.29 | |
| Control | 216.20 \pm 41.07** | 281.84% | 427.22 \pm 80.43** | 170.40% |
| DEXA | 79.02 \pm 26.26** | -63.45% | 186.58 \pm 22.50** | -71.12% |
| DICRO | 117.99 \pm 42.80** | -45.42% | 251.84 \pm 63.78** | -41.05% |
| HA100 | 150.85 \pm 34.75** | -30.25% | 290.54 \pm 88.51** | -31.99% |
| HA250 | 135.48 \pm 31.84** | -37.34% | 232.42 \pm 63.11** | -45.60% |
| HA500 | 119.87 \pm 26.85** | -44.56% | 214.85 \pm 53.29** | -49.71% |

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

2) 전층 귀두께의 변화

정상군의 경우에는 전층 귀두께가 $158.00 \pm 26.29 \mu\text{m}$ 로 관찰되었으나, 대조군에서는 $427.22 \pm 80.43 \mu\text{m}$ 로 관찰되어 정상군에 비하여 170.40%의 증가로 유의성 ($p < 0.01$)이 있었다. 한편 DEXA, DICRO HA100, HA250 및 HA500 군에서는 전층 귀두께가 각각 186.58 ± 22.50 , 251.84 ± 63.78 , 290.54 ± 88.51 , 232.42 ± 63.11 및 $214.85 \pm 53.29 \mu\text{m}$ 로 관찰되어 모든 투여군에서 대조군에 비하여 유의성 ($p < 0.01$) 있는 감소가 관찰되었으며, 解表二陳湯加鹿茸 추출물 투여군에서는 대조군에 비하여 투여 용량 의존적인 감소가 관찰되었다. 또한 전층 귀두께는 대조군에 비하여 DEXA, DICRO HA100, HA250 및 HA500 군에서 각각 -71.12, -41.05, -31.99, -45.60 및 -49.71%를 나타내었다 (Table 6).

고 찰

염증은 국소적인 손상에 대한 혈관이 살아있는 조직의 반응으로 정의될 수 있으며 그 원인이 되는 인자를 제거하고 희석하고 차단하는 합목적적인 과정으로 혈관을 가진 조직에 특이적인, 유기체의 생존에 필요불가결한 반응이다¹⁾.

현재까지 수많은 항염 물질들이 다양한 방법을 통해 개발되어 왔으며, Xylene-application 마우스 ear acute inflammation 모델은 급성염증에 대한 효력평가에 가장 일반적으로 이용되는 방법으로 알려져 있다^{14,15)}. Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs (NSAIDs)의 일종인 Diclofenac과 부신피질 호르몬 제제인 Dexamethasone은 항염 실험에서 가장 흔히 사용되는 참고 물질이며, Xylene-application 마우스 귀 염증에서 여러 가지 물질들의 급성염증에 대한 평가시 참고 물질로 사용되어져 왔다.

Xylene-application 마우스 귀 급성 염증 모델에서는 Xylene 등의 염증유발 물질의 국소적 도포에 의해 초래되는 귀 부종의 변화를 평가하여 약효를 검증하며, 조직학적 변화 역시 하나의 중요한 기준으로 간주되고 있다¹⁶⁻²³⁾. 현재까지 Xylene-application 마우스 귀 급성 염증 모델에서 천연물 유래의 추출물에 대한 항염 효과는 가시개미 Polyrrhachis lamellidens 추출물¹⁵⁾, 이란 약용식물 Salvia leriifolia 종자 추출물¹⁴⁾, 이란 약용식물 Zhumeria majdae 추출물²¹⁾, 샤프란 Crocus sativus 추출물²⁴⁾, 수반하 Typhonium flagelliforme 추출물²⁵⁾, 이란 약용식물 Zataria multiflora 추출물²⁶⁾ 및 11종의 요르단 약용식물 추출물²⁷⁾ 등에서 진행되어 왔으나, 현재 한약 처방 자체에 대한 항염 효과를 평가한 보고는 극히 드물고 천식의 치료에 자주 사용되어져 온 解表二陳湯에 鹿茸을 첨가한 解表二陳湯加鹿茸 추출물의 Xylene-application 귀 급성 염증 모델에서의 항염 효과에 대한 보고는 찾아볼 수 없었다.

解表二陳湯은 병대의 龔의 <古今醫鑑>에 최초로 기재된 처방²⁾으로 一切의 痰飲을 치료하는 二陳湯에 辛溫解表하는 蘇葉, 麻黃, 生薑, 化痰止咳하는 貝母, 桔梗, 杏仁, 桑白皮, 紫菀 그리고 潤肺止咳하는 炙甘草를 합한 처방이다¹⁰⁾. 본방은 一切痰飲의 證을 다스리며, 특히 辛溫解表치법에 의해 發熱, 身痛, 無汗의 風寒表證을, 아울러 咳嗽, 哮喘, 氣急, 痰多를 치료한다. 그래서 外로 風寒에 감하고 內로 脾虛氣鬱하여 痰滯하여 이로서 隔熱氣逆하여 痰

多氣急, 咳嗽哮喘하는 것을 다스리는 처방이다⁹⁾. 또한 鹿茸은 壯元陽하고 生精髓하기 때문에 원기부족 畏寒乏力 또는 소아 발육부진 등에 사용하며 단방보다 복방에 배합하여 응용해 왔다¹⁰⁾.

본 연구에서는 해수 및 천식에 많이 활용하고 있는 解表二陳湯加鹿茸의 항염 효과를 알아보기로 Xylene-application 마우스 귀 급성 염증 모델을 이용하여 급성염증을 유발 시켰다. 대조약물로는 Dexamethasone 과 Diclofenac 15 mg/kg을 복강 투여하였고, 100, 250 및 500 mg/kg의 解表二陳湯加鹿茸 추출물을 경구 투여한 후 염증이 유발된 귀의 중량 및 조직학적 변화 그리고 귀 두께를 Histomorphometry를 통해 비교 관찰하였다.

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

또한 Xylene 적용 후 대조군에서는 정상군에 비하여 현저한 절대 및 상대 귀 중량의 증가가 관찰되었으며, 정상 부위와 유발 부위의 중량 차이 역시 정상군에 비하여 현저히 증가되는 것으로 관찰되었다. 이러한 귀 중량의 증가는 전형적인 Xylene-application 마우스 귀 급성 염증 모델 소견으로 볼 수 있다¹⁶⁻²³⁾. 이러한 귀 중량은 DEXA 및 DICRO 투여군을 포함한 모든 투여군에서 대조군에 비하여 유의성 있게 감소되었는데 특히 500 mg/kg의 解表二陳湯加鹿茸 추출물을 경구 투여군에서는 DICRO군과 같은 유의성 ($p < 0.01$) 있는 감소가 인정되었다. 따라서 이는 Xylene-application 마우스 귀 급성 염증에 대한 항염 효과를 나타내는 것으로 생각된다. 특히 解表二陳湯加鹿茸 추출물 투여군의 경우 투여 용량 의존적으로 귀 중량의 감소가 관찰되어 이들 추출물이 항염 활성을 가지고 있을 것으로 생각되었다.

염증이 유발된 귀의 조직학적 변화와 반층 귀 두께 및 전층 귀 두께의 경우를 살펴보면 급성 염증 시에는 일반적으로 조직 부종과 급성 염증세포의 침윤이 관찰되는데²⁸⁻³⁰⁾, 본 실험에서도 부종에 의한 귀 조직 자체의 비후가 대조군에서 관찰되었으며, 이로 인한 반층 귀두께 및 전층 귀 두께의 증가가 관찰되었다.

DEXA 및 DICRO 군과 100, 250 및 500 mg/kg의 解表二陳湯加鹿茸 추출물 투여군에서 대조군에 비하여 피하 부종과 조직 자체의 비후 및 급성염증세포의 침윤이 용량 의존적으로 줄어들었으며, 귀 두께에서도 유의성 ($p < 0.01$) 있는 감소가 관찰되어 이들 약물이 Xylene-application 마우스 귀 급성 염증에 대한 항염 효과를 나타내는 것으로 생각된다. 특히 解表二陳湯加鹿茸 추출물 투여군의 경우 투여 용량 의존적으로 감소가 초래되었으므로 이들 추출물이 항염 활성을 가지고 있을 것으로 생각되었다.

이상에서 살펴본바 解表二陳湯加鹿茸 추출물은 비교적 양호한 급성염증에 대한 항염 효과를 나타내는 것으로 관찰되었으며, 500 mg/kg의 解表二陳湯加鹿茸 추출물 투여군의 경우는 DICRO 15mg/kg 복강 투여군과 항염 효과가 유사한 것으로 관찰되었다.

결론

解表二陳湯加鹿茸 추출물의 급성염증에 대한 항염 효과를

알아보고자 Xylene을 이용하여 마우스의 귀에 급성염증을 유발시키고 대조약물로 Dexamethasone 및 Diclofenac 사용하여 解表二陳湯加鹿茸 추출물의 효과를 귀 중량, 귀의 조직학적 변화 및 귀 두께 등을 비교 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

체중 및 체중 증가량의 변화의 경우 모든 解表二陳湯加鹿茸 추출물 투여군에서는 대조군과 유사한 체중 및 체중 증가량을 나타내었다. 귀 중량의 변화의 경우 解表二陳湯加鹿茸 추출물 투여군과 DEXA 및 DICRO 투여군에서 대조군에 비하여 유의성 있는 절대 및 상대 귀 중량의 감소를 나타내었으며, 정상부위와 유발부위의 차이 역시 대조군에 비하여 감소되었다. 특히 解表二陳湯加鹿茸 추출물 투여군에서는 이러한 귀 중량의 감소가 투여 용량 의존적으로 관찰되었다. 귀 조직학적 변화의 경우 解表二陳湯加鹿茸 추출물 투여군과 DEXA 및 DICRO 군에서 대조군에 비하여 조직학적 급성 염증을 변화가 많이 경감되었으며, 특히 解表二陳湯加鹿茸 추출물 투여군에서는 투여 용량 의존적으로 경감되었다. 귀 두께 변화의 경우 解表二陳湯加鹿茸 추출물 투여군과 DEXA 및 DICRO군에서 대조군에 비하여 유의성 있는 반층과 전층 귀 두께의 감소를 나타내었으며, 특히 解表二陳湯加鹿茸 추출물 투여군에서는 이러한 귀 두께의 감소가 투여 용량 의존적으로 관찰되었다.

참고문헌

1. 대한병리학회 편. 병리학. 서울, 고문사, pp 65-68, 83, 1998.
2. 한용철. 임상호흡기학. 서울, 일조각, p 208, 219, 1993.
3. Barns, P., Pederson, S. Efficacy and safety of inhaled corticosteroids in asthma, *Am Rev Respir Dis*, 148, 1-26, 1993.
4. Waddell, A.N., Patel, S.K., Toma, A.G., Maw, A.R. Intranasal steroid sprays in the treatment of rhinitis: is one better than another? *J Laryngol Otol*, 117(11):843-845, 2003.
5. Roh, G.S., Seo, S.W., Yeo, S., Lee, J.M., Choi, J.W., Kim, E., Shin, Y., Cho, C., Bae, H., Jung, S.K., Kwack, K. Efficacy of a traditional Korean medicine, Chung-Sang-Bo-Ha-Tang, in a murine model of chronic asthma. *Int Immunopharmacol*, 5(2):427-436, 2005.
6. Leclerc, N., Noh, T., Khokhar, A., Smith, E., Frenkel, B. Glucocorticoids inhibit osteocalcin transcription in osteoblasts by suppressing Egr2/Krox20-binding enhancer. *Arthritis Rheum*, 52(3):929-939, 2005.
7. 賈得道. 中國醫學史略. 山西, 山西人民出版社, p 243, 1979.
8. 허준. 東醫寶鑑. 서울, 남산당, p 134, 481, 1987.
9. 신재용. 방약합편해설. 서울, 정보사, p 133, 1998.
10. 전국한의과대학 본초학교수 편저. 본초학. 서울, 영림사, p 123, 126, 460, 464, 478, 481, 484, 541, 1995.
11. 朴東一, 李珩九. 解表二陳湯이 鎮痛, 鎮痙, 解熱 및 O3 中毒으로 인한 흰쥐 肺損傷에 미치는 影響. 慶熙韓醫大論文集, 9, 463-470, 1986.
12. 이경태, 박동일. 해표이진탕이 흰쥐의 SO₂에 의한 호흡기손

- 상에 미치는 영향. 한의학회지 17(2):178-190, 1996.
13. 백동진, 정희재, 이형구, 정승기. 해표이진탕가감방이 천식 모델 내의 Cytokine에 미치는 영향. 한의학회지 21(3):57-66, 2000.
 14. Hosseinzadeh, H., Haddadkhodaparast, M.H., Arash, A.R. Antinociceptive, antiinflammatory and acute toxicity effects of *Salvia leriifolia* Benth seed extract in mice and rats. *Phytother Res*, 17(4):422-425, 2003.
 15. 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.
 16. Ojewole, J.A. Antinociceptive, anti-inflammatory and anti-diabetic effects of *Bryophyllum pinnatum* (Crassulaceae) leaf aqueous extract. *J Ethnopharmacol*, 99(1):13-19, 2005.
 17. 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.
 18. 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.
 19. Vetrichelvan, T., Jegadeesan, M. Effect of alcohol extract of *Achyranthes aspera* Linn. on acute and subacute inflammation. *Phytother Res*, 17(1):77-79, 2003.
 20. 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.
 21. Hosseinzadeh, H., Ramezani, M., Fadishei, M., Mahmoudi, M. Anti-nociceptive, anti-inflammatory and acute toxicity effects of *Zhumeria majdae* extracts in mice and rats. *Phytomedicine*, 9(2):135-141, 2002.
 22. 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.
 23. 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.
 24. 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.
 25. 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.
 26. 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.
 27. Atta, A.H., Alkofahi, A. Anti-nociceptive and anti-inflammatory effects of some Jordanian medicinal plant extracts. *J Ethnopharmacol*, 60(2):117-124, 1998.
 28. 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.
 29. 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.
 30. 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.