

## 알레르기 후기 반응 염증 억제 효과에 관한 太陰調胃湯의 실험적 연구

염유림, 정희재, 김진주, 정승기  
경희대학교 한의과대학 폐계내과학교실

### An Experimental Study on the Anti-inflammatory Effect of *Taeumjowui-tang* (*Taiyintiaowei-tang*) in Allergic Late Inflammation

Yu-rim Yeom, Hee-jae Jung, Jin-ju Kim, Sung-ki Jung  
Division of Allergy, Immune & Respiratory System,  
Dept. of Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Kyung-Hee University

#### ABSTRACT

**Objective :** Allergic disease, a very common chronic illness that affects all ages of patients, has been well characterized as an IgE-dependent immunologic response. Recently, interest has grown about the late inflammatory reaction as well as the early one characterized by IgE and mast cells in allergic disease. The purpose of this study was to find the anti-inflammatory effect of *Taeumjowui-tang* (*Taiyintiaowei-tang*) in allergic reaction.

**Methods :** The experiment was performed using Raw 264.7 cells pretreated with *Taeumjowui-tang* contents extracts. The results were measured for different concentrations of *Taeumjowui-tang* extracts (100, 200, 300 µg/ml): the toxicity and proliferation of cells by MTT analysis, LPS-induced NO production using Griess reagent and IL-6/ TNF-α production, which is a significant criteria for diagnosing allergic reaction.

**Results :** No toxicity of *Taeumjowui-tang* (100, 200, 300 µg/ml) on Raw 264.7 cells was found after 24 hours incubation. LPS-induced NO production was reduced after treatment with *Taeumjowui-tang* (100, 200, 300 µg/ml) (P<0.001). IL-6 decreased only at 100 µg/ml (P<0.05). TNF-α production decreased only at 300µg/ml, but still statistically insignificant. There was no relationship between any components of *Taeumjowui-tang* alone and inhibition of NO production.

**Conclusions :** These data suggest that *Taeumjowui-tang* has anti-inflammatory effects in allergic reaction.

**Key words :** Allergy, IL-6, NO, *Taeumjowui-tang*, TNF-α

## 1. 서 론

太陰調胃湯은 李濟馬의 『東醫壽世保元』에 처음 소개된 처방<sup>1)</sup>으로 태음인 黃疸, 傷寒, 頭痛, 身痛, 無汗, 食滯痞滿, 腿脚無力 등을 주로 치료한다. 태

음인은 肝大肺小 한 臟理를 가져, 上焦 영역의 呼散 기능 부족과 中下焦 영역의 吸聚기능의 과도로 인하여 병증이 야기되는 체질인데, 송<sup>2)</sup>은 太陰調胃湯이 태음인의 肺燥寒證 치료에 응용되며, 그 입방 목적이 폐의 呼散之氣 부족에서 오는 燥病證을 發汗과 潤燥시키는 방법으로 치료하기 위한 것이라 하였다.

알레르기 면역 반응을 살펴보면 조기반응에서는

· 교신저자: 정승기 서울시 동대문구 회기동 1번지  
경희의료원 부속한방병원 한방5내과 의사실  
TEL: 02-958-9147 FAX: 02-958-9148  
E-mail: jskes@gmail.com

항원에 노출된 후 비만세포의 탈과립이 일어나면서, 조기반응 증상을 유발하는 histamine, leukotriene, prostaglandin과 같은 다양한 매개물질을 분비한다. 그리고 후기반응은 T세포, 호염기구, 호산구로 이루어진 염증세포들의 유입에 의해 특징지어지는 복합적인 염증 반응에 의해 이루어진다<sup>3,4</sup>. 알레르기 질환의 지속적인 염증반응에 있어서는 상피세포, 비만세포와 후기반응의 주된 역할을 하는 호산구, 호염기구, T세포 같은 염증세포 모두가 관여하여 알레르기 염증반응을 유발하고 지속시킨다. 이러한 일련의 과정에서 대식세포는 T세포에 항원을 제공하는 기능을 하여 면역반응을 개시하는데 중요한 역할을 하고, 비특이적 면역반응을 담당하는데, NO는 주로 대식세포에서 생성되는 중간물질<sup>5</sup>로 염증반응의 정도를 가늠하는 척도가 된다<sup>6,7</sup>.

또한 이들에 대한 이해를 바탕으로 질환의 발생 기전의 이해 및 치료에 응용하여 만성 알레르기 비염의 진단에 NO측정을 이용한 진단법 등이 연구되기도 하였다<sup>7,20</sup>.

太陰調胃湯에 대한 실험실 연구로는 아급성 및 급성 독성시험 연구<sup>8,9</sup>, 비만치료 효과에 대한 연구<sup>10,11</sup>, 항노화 효과 궤양 억제 효능에 관한 연구<sup>12</sup>가 있으며, 임상연구로는 太陰調胃湯을 태음인, 소음인, 소양인에 복용케하여 나타나는 부작용 등의 반응에 대한 연구<sup>13</sup> 등이 있다. 알레르기 질환과 관련한 太陰調胃湯에 대한 연구는 태음인의 알레르기 비염에서 가장 빈용된 처방이 太陰調胃湯이라는 보고<sup>14,15,16</sup> 등이 있지만, 알레르기 질환 太陰調胃湯의 치료기전에 대한 실험실적인 연구는 아직 없다.

이에 저자는 太陰調胃湯의 만성적인 알레르기 질환에서 나타나는 알레르기 후기반응과 관련된 염증치료기전을 확인하고자 본 연구에서 in vitro에서 염증 반응의 일련의 단계에서 작용하는 대식세포의 nitric oxide(NO) 생산을 유도하는 것으로 알려진 lipopolysaccharides(LPS)를 처리하여 염증을 유도한 Raw264.7 Cell에 太陰調胃湯을 처리한 후 NO생산 정도를 측정하였다. 그리고 대표적인

염증 반응 관여 사이토카인인 IL-6와 TNF- $\alpha$ 의 생산에 太陰調胃湯이 미치는 영향을 확인하여 太陰調胃湯의 염증 억제 효과가 염증반응을 일으키는 대식세포를 직접적 혹은 간접적으로 억제한 것인지 확인하고자 한다.

## II. 실험

### 1. 재 료

#### 1) 세포주

생쥐 단핵/대식세포 계열의 세포주인 Raw 264.7은 한국세포주은행(서울대학교 의과대학 암연구소)에서 구입하였다. 세포배양을 위한 DMEM(Dulbecco's modified Eagle's medium) 배지에 sodium bicarbonate (NaHCO<sub>3</sub>, 2 g/L), 항생제 (100 units/mL penicillin, 100 mg/mL streptomycin), 10% FBS(fetal bovine serum)를 첨가한 것을 이용하였다.

#### 2) 시 약

DMEM(Dulbecco's modified Eagle's medium, Invitrogen, USA) 배지, FBS (fetal bovine serum, Invitrogen, USA)과 penicillin (10000 U/ml)/streptomycin (10000 U/ml)(P/S)는 Gibco BRL(Grand Island, NY, USA)회사 제품을 사용하였으며, LPS (lipopolysaccharides)는 Difco Laboratories(Detroit, Michigan, USA)회사 제품을 사용하였다.

그 외 시약으로 NaHCO<sub>3</sub>(sodiumbicarbonate, Sigma, USA), 효소 중합 연쇄반응을 위한 Gress 시약 (Promega, USA), IL-6와 TNF- $\alpha$  측정하기 위해 ELISA kit (enzyme linked immunosorbent assay, BD Pharmingen, USA)를 사용하였다.

#### 3) 검 액

太陰調胃湯 구성 약재는 경희의료원 한방병원(서울, 한국)에서 구입하여 4첩 분량인 208g을 2차 증류수 1,500mL에 넣고 가열 농축, 동결 건조하여 50g을 얻었으며 (수득율 : 24%) 처방의 내용과 1첩 용량은 다음과 같다(Table 1).

Table 1. Contents of *Taeumjowui-tang*(*Taiyintiaowei-tang*)

Herber name	Scientific name	Weight (g)
薏苡仁	<i>Coix lachrymajobi var. mayuen</i>	12
乾 栗	<i>Castanea crenata</i>	12
萊菔子	<i>Raphanus sativus</i>	8
麥門冬	<i>Liriope platyphylla</i>	4
石菖蒲	<i>Acorus gramineus</i>	4
桔 梗	<i>Platycodon grandiflorum</i>	4
麻 黃	<i>Ephedra sinica</i>	4
五味子	<i>Schisandra chinensis (Turcz.) Baill</i>	4
Total amount		52

2. 방 법

1) 세포 생존율 측정

3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide(MTT) 시약을 이용하여 세포 생존율을 측정함으로써 세포독성을 측정하였다. Raw 264.7 세포를 48-well plate( $2 \times 10^5$  cell/well) 또는 96-well plate( $1 \times 10^4$  cell/well) 농도로 접종한 후 각 well에 농도별 검액 투여하여 37°C, 5% CO2 배양기에서 나타난 시간(24, 48, 72 시간)만큼 배양하였다. MTT 용액(5 µg/ml)을 첨가하고 4시간 후 상등액을 제거하고 dimethylsulfoxide(DMSO) 100 또는 300 µl를 넣어 푸른색의 formazan이 용출되도록 하여 micro plate reader로 565 nm에서 흡광도를 측정하여 대조군과 비교하였다.

2) NO 측정법

안정된 NO 산화물인 NO<sub>2</sub>-(nitrite)는 Griess 반응21을 이용하여 측정하였다. 세포배양 상층액을 flat bottom 96well plate에 50µl씩 넣고 여기에 Griess 시약 sulfanilamide solution을 동량 첨가하여 10분간 반응시킨 후, 다시 NED solution을 동량 첨가하여 10분간 반응 후 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. Nitrite의 농도는 sodium nitrite를 100 nM에서부터 1.56 nM까지 2배씩 희석하여 얻은 표준 곡선과 비교하여 계산하였다.

3) IL-6와 TNF-α 농도 측정

배양한 세포주를 lipopolysaccharides (LPS) 단독 또는 太陰調胃湯 추출물과 같이 배양한 상층액을 24시간 후에 회수하여 ELISA kit (BD Pharmingen, CA, USA)로 상층액에 포함된 IL-6와 TNF-α의 양을 측정하였다. Anti-mouse IL-6 monoclonal antibody 또는 anti-mouse TNF-α monoclonal antibody를 250배 희석하여 96well plate (Corning, NY, USA)에 100µl씩 넣고 4°C에서 overnight하였다. Washing buffer (PBS containg 0.05% tween 20)로 3번 washing 후, 1% bovine serum albumin (BSA)인 PBS를 200 µl씩 넣고 상온에서 1시간 동안 반응하였다. 다시 3번 washing 후, standard와 2-10배 희석한 samples을 100씩 넣고 2시간 반응 후 다시 5번 washing하였다. 그 후 working detector (washing buffer로 250배 희석한 detection antibody와 streptavidin-horseradish peroxide-conjugated detection antibody)를 100 µl씩 넣고 1시간 반응하였다. 7번 washing 후, TMB substrat reagent A와 B를 동량 섞은 것을 100 µl씩 넣고 어두운 곳에서 30분 동안 반응시켰다. 그 후, 1M H2SO4를 각 50씩 넣고 즉시 ELISA reader (EL800, Bio-Tek, VT, USA)를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정한다. 정량은 표준 곡선을 만들어 측정하였으며, 이 때 측정 한계치는 15.6 ng/mL이었다.

4) 통계

통계 처리는 Prism 4 software (GraphicPad Software Inc., CA, USA)을 사용하여 post test (Dunnett)을 포함한 one-way ANOVA test로 유의성을 측정하였다. 결과는 mean ± S.E.M(standard error of mean)으로 표시하였고, 통계적 유의성 차이는 \*p<0.05 또는 \*\*p<0.001로 정의하였다.

III. 결 과

1. 太陰調胃湯의 Raw 264.7 cell 세포 독성과 생장에 대한 영향

1) 太陰調胃湯 단독 처리군

太陰調胃湯의 Raw 264.7 cell에 대한 세포 독성과 생장에 미치는 영향을 조사하기 위하여 太陰調胃湯을 100, 200, 300 µg/ml의 농도로 처리하고 24, 48 그리고 72시간 배양 후에 무처리군을 100 %으로 하여 세포 생존율을 측정하였다(Fig. 1. A, B). 그 결과, 24시간 배양시 太陰調胃湯 100, 200 그리

고 300 µg/ml 농도에서 각각 114.6, 89.85 그리고 112.1 %, 48시간 배양 시 각각 66.13, 67.63, 그리고 68.45 (p < 0.001) % 를 나타내어 太陰調胃湯 100, 200, 300 µg/ml 농도에서 24간 배양 시에는 독성이 없는 것으로 나타나 이 농도와 시간으로 실험을 진행하였다.

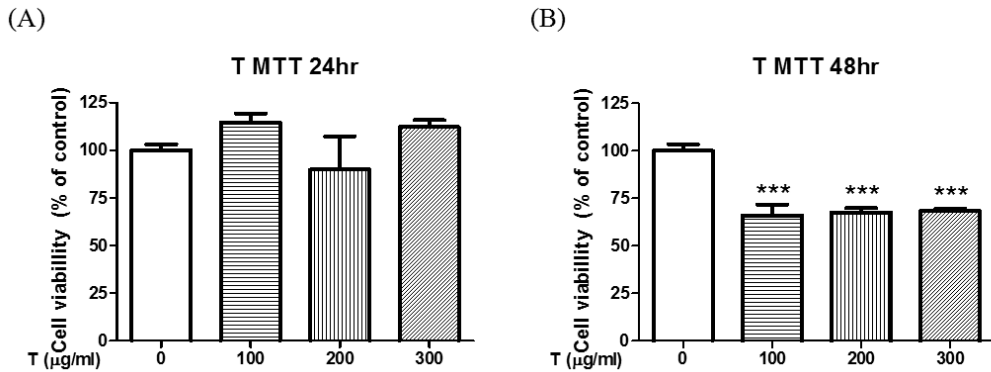


Fig. 1. Effect of *Taeumjowui-tang*(T) extract on the toxicity and proliferation of Raw 264.7 cell.

T extract was treated for 24 hr(A), and 48 hr(B) as concentration of 0, 100, 200 and 300 µg/ml, respectively. The effect of these on the toxicity of cell was checked by MTT analysis method. The result was shown as the mean ± S.E.M.. \*\*\*P<0.001 compared with no treated group.

2) 太陰調胃湯과 LPS 병행 처리군

太陰調胃湯을 LPS 1 µg/ml과 같이 100, 200, 300 µg/ml의 농도로 처리하고 24시간 배양 후에 아무런 처리를 하지 않은 그룹과 LPS만 처리한 그룹과 MTT 방법을 이용하여 세포의 생존율을 비교하였다. 무처리군을 100 %로 보았을 때, LPS만 처리하였을 경우와 太陰調胃湯을 LPS 1 µg/ml과 같이 100, 200, 300 µg/ml의 농도로 처리한 경우 각각 세포 생존율이 100.1, 105.0, 100.6, 그리고 104.4 %로 나타났다(Fig. 2). 따라서 太陰調胃湯과 LPS를 병행 처리한 결과 이 농도 범위에서 세포독성이 거의 없는 것으로 판단되어 이 농도 범위를 기준으로 실험을 실시하였다.

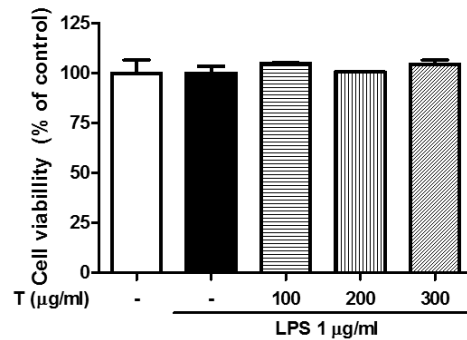


Fig. 2. Effect of *Taeumjowui-tang*(T) extract with LPS on the toxicity of Raw 264.7 cell.

T extract was treated for 24 hr as concentration of 100, 200 and 300 µg/ml, respectively. The effect of these on the toxicity of cell was checked by MTT analysis method. The result was shown as the mean ± S.E.M..

### 2. 대식세포주 NO 생산

RAW264.7에 대식세포의 NO 생산을 유도하는 것으로 알려진 Lipopolysaccharides (LPS)와 太陰調胃湯 (T)과 함께 처리하여 24시간 배양한 후, 배양액 중 대식세포가 생산한 NO로 부터 산화된 형태인 NO<sub>2</sub>-농도를 측정하였다. LPS를 단독으로 처리하였을 때의 NO<sub>2</sub>-농도가 27.11 ± 1.27 nM 정도까지 증가하였지만, 太陰調胃湯 100 µg/ml 에서는 21.70 ± 0.60 nM, 太陰調胃湯 200 µg/ml 에서는 19.92 ± 0.96 nM, 太陰調胃湯 300 µg/ml 에서는 17.30 ± 0.12 nM가 되어, 太陰調胃湯 농도 의존적으로 NO<sub>2</sub>-농도가 감소하여 太陰調胃湯은 LPS로 유도된 대식세포의 NO생산에 대해 억제작용을 나타내었다(Fig. 3).

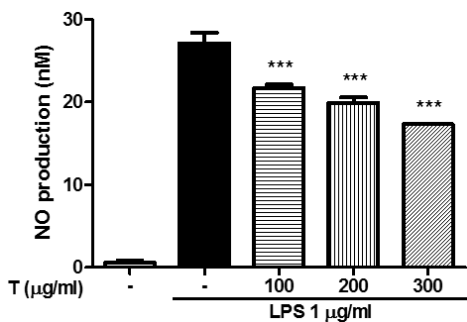


Fig. 3. Effects of *Taeumjowui-tang*(T) extract on LPS-induced NO production in RAW 264.7 cells.

Cells were pretreated with T extract (100, 200 and 300 µg/ml) for 1 hr followed with LPS(1 µg/ml) for 24 hr. Nitrite in the medium was measured using Griess reagent. \*\*\*P<0.001 compared with LPS alone.

### 3. IL-6 생산

太陰調胃湯에 의한 NO 생산 억제가 직접적으로 대식세포의 NO 생산을 억제함으로써 일어나는지 또는 NO 생산을 유도하는 다른 물질의 생산을 억제한 간접적인 결과인지를 알아보기 위하여 대식세포가 생산하는 대표적인 사이토카인인 IL-6 분

비량을 측정하였다. LPS를 단독으로 처리하였을 때의 IL-6 농도는 각 2,507 pg/ml 까지 증가하였으며, LPS와 太陰調胃湯을 함께 처리하였을 때 IL-6 분비량을 측정된 결과 太陰調胃湯 100 µg/ml 에서는 2,185 pg/ml로 감소하였다(p < 0.05). 그러나 다른 농도에서 IL-6 분비 감소효능은 관찰되지 않았다(Fig. 4).

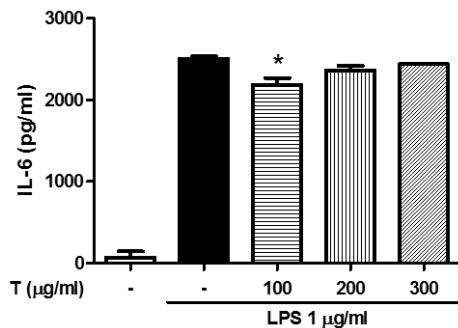


Fig. 4. Effect of *Taeumjowui-tang*(T) extract on IL-6 production by LPS-induced Raw 264.7.

Cells were pretreated with T extract (100, 200 and 300 µg/ml) for 1 hr followed with LPS (1 µg/ml) for 24 hr. The concentration of IL-6 in the medium was measured by enzyme linked immuno-sorbent assay (ELISA). \*P<0.05 compared with LPS alone.

### 4. TNF-α 생산

太陰調胃湯에 의한 NO 생산 억제가 직접적으로 대식세포의 NO 생산을 억제함으로써 일어나는지 또는 NO 생산을 유도하는 다른 물질의 생산을 억제한 간접적인 결과인지를 알아보기 위하여 대식세포가 생산하는 또 다른 대표적인 사이토카인인 TNF-α의 양을 측정하였다. 우선 LPS를 단독으로 처리하였을 때의 TNF-α의 농도는 16,960 pg/ml 까지 증가하였다. LPS와 太陰調胃湯을 함께 처리 후 TNF-α의 양을 측정된 결과 고용량인 太陰調胃湯 300 µg/ml 에서 분비 억제 효과가 보이나 통계적 유의성을 찾아볼 수 없었으며, 그 이하의 농도에서는 억제 효과를 볼 수가 없었다(Fig. 5).

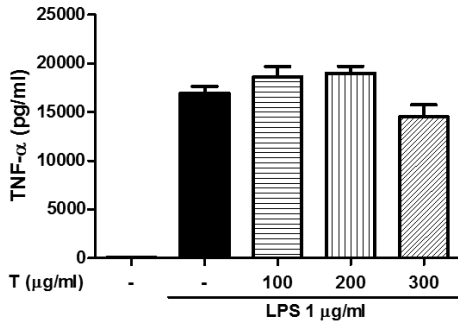


Fig. 5. Effect of *Taeeumjowui-tang*(T) extract on TNF-α production by LPS-induced Raw 264.7.

Cells were pretreated with T extract (100, 200 and 300 μg/ml) for 1 hr followed with LPS (1 μg/ml) for 24 hr. The concentration of TNF-α in the medium was measured by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA).

5. 구성 약물의 대식세포주 NO 생산에 대한 영향

대식세포의 NO 생산을 저해한 太陰調胃湯의 구성약물 중 각각의 대식세포주 NO 생산 저해효과를 알아보기 위하여, RAW264.7에 대식세포의 NO 생산을 유도하는 것으로 알려진 LPS에 太陰調胃湯의 구성약물인 薏苡仁 *Coix lachrymajobi* var. *mayuen* seed (69 μg/ml), 乾栗 *Castanea crenata* seed (69 μg/ml), 萊菔子 *Raphanus sativus* seed (46 μg/ml), 麥門冬 *Liriope platyphylla* tuber (23 μg/ml), 石菖蒲 *Acorus gramineus* rhizome (23 μg/ml), 桔梗 *Platycodon grandiflorum* root (23 μg/ml), 麻黃 *Ephedra sinica* stem (23 μg/ml) 그리고 五味子 *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill fruit (23 μg/ml) 를 각각 처리하여 24시간 배양한 후, 배양액 중 대식세포가 생산한 NO로 부터 산화된 형태인 NO<sub>2</sub>-농도를 측정하였다.(각 약재의 용량은 각 첨당 들어가는 약재의 그램수에 비례하여 정하였다. 즉, 최고 농도인 300 μg/ml에 들어가는 각각의 약물의 용량비율에 맞추어 300 μg/ml x 12g/52g = 69 μg/ml 또는 300 μg/ml x 8g/52g = 46 μg/ml으로 계산하여 정하였다)

LPS를 단독으로 처리하였을 때의 NO<sub>2</sub>-농도가 47.64 nM 정도까지 증가하였지만, 太陰調胃湯 각

각의 구성약물과 같이 처리하였을 때 NO<sub>2</sub>-농도는 감소하지 않았다(Fig. 6). 萊菔子は 오히려 세포 독성을 나타내어 NO를 측정하지 않았다.

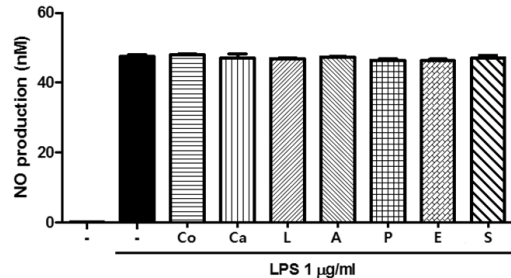


Fig. 6. Effects of each contents of *Taeeumjowui-tang*(T) extracts on LPS-induced NO production in RAW 264.7 cells.

Cells were pretreated with *Taetemjowee-tang* contents extracts (Co: 69 μg/ml, Ca: 69 μg/ml, L: 23 μg/ml, A: 23 μg/ml, P: 23 μg/ml, E: 23 μg/ml, S: 23 μg/ml) for 1 hr followed with LPS (1 μg/ml) for 24 hr. Nitrite in the medium was measured using Griess reagent.

- : LPS alone.
- Co : *Coixlachrymajobi* var. *mayuen*
- Ca : *Castanea crenata*
- L : *Liriope platyphylla*
- A : *Acorus gramineus*
- P : *Platycodon grandiflorum*
- E : *Ephedra sinica*
- S : *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill

IV. 고찰

靈樞 本神篇에서 肺는 臟氣하고 氣는 舍魄하며 肺氣가 虛한 즉 鼻塞不利하고 少氣한다고 하여<sup>22</sup>, 肺氣가 天稟的으로 虛한 肺虛體質者에는 鼻塞不利하고, 少氣한 病證 즉, 鼻塞症을 主訴로하는 급만성비염, 알레르기성비염, 알레르기 천식 등의 질환이 올 가능성이 많다고 하였다<sup>23</sup>.

太陰調胃湯은 補肺元湯에서 출발하고 있다고 하여 태음인 肺小의 體質病證의 主方이 補肺元湯을 기본으로 하여 補肺를 위주로 하고 있다<sup>23</sup>.

太陰調胃湯의 구성약물은 薏苡仁, 乾栗, 蘿菔子, 五味子, 麥門冬, 石菖蒲, 桔梗, 麻黃으로 구성되어

있으며, 태음인 黃疸, 傷寒, 頭痛, 身痛, 無汗, 食滯痺痞滿, 腿脚無力 등을 주로 치료한다<sup>1</sup>.

太陰調胃湯을 구성하는 각각 약재의 性味, 歸經, 效能을 알아보면, 薏苡仁은 性涼 無毒, 味는 甘淡하고, 脾胃 肺로 歸經하여 健脾滲濕, 除痺止瀉, 清熱排膿하는 효능이 있으며, 乾粟은 性 甘微鹹하고 味平하고, 腎로 歸經하여 止血, 補腎強筋, 益氣健脾, 活血消腫하는 효능이 있다. 蘿菔子는 性平 無毒, 味는 辛甘하고, 肺, 胃經로 歸經하며 下氣定喘, 消食化痰하는 효능이 있으며, 五味子는 性溫 無毒, 味는 酸甘하고, 肺, 心, 腎經으로 歸經하며 斂肺, 滋腎, 生津, 收汗, 澀精하는 효능이 있다. 麥門冬은 性微寒 無毒, 味甘微苦하고, 肺 胃 心經으로 歸經하며 養陰潤肺, 清心除煩, 益胃生津하는 효능이 있으며, 石菖蒲는 性溫 無毒, 味辛苦하고, 心 胃經으로 歸經하며, 化濕開胃, 開竅豁痰, 聖神益智하는 효능이 있다. 桔梗은 性平 無毒, 味苦辛하고, 肺經으로 歸經하며 宣肺利咽, 祛痰排膿하는 효능이 있으며, 麻黃은 性溫 無毒, 味辛微苦하고, 肺, 膀胱經으로 歸經하며, 發汗散 宣肺平喘 利水消腫하는 효능을 갖는다. 이상에서 보듯 太陰調胃湯을 구성하고 있는 8가지 약재 중 乾粟과 石菖蒲를 제외한 6가지 약재가 공통적으로 肺經으로 歸經하고, 肺系에 작용하는 것을 알 수 있다.

肺系는 위로 喉嚨과 연결되어 있으며, 鼻에 開竅하고, 밖으로 皮毛와 습하며, 대장과는 서로 表裏 관계를 이루고 있다<sup>24</sup>. 이 중 鼻는 肺之竅也라하여 肺는 咽喉를 통하여 鼻에 開竅하여 호흡의 문호가 된다. 肺의 질병은 鼻에 발현되어 鼻塞流涕, 호흡 곤란이 생기고 심하면 鼻翼翻動을 나타내며, 外感風寒에 肺가 상하면 鼻塞 또는 鼻水증상이 나타나며 嗅覺에도 영향을 준다. 肺에 燥熱이 있으면 鼻空이 건조해지고, 邪熱이 정체하면 천식과 鼻翼翻動을 일으킨다. 이는 肺와 鼻와의 연관관계를 설명한 것으로<sup>25</sup> 알레르기비염, 만성비염은 肺와 긴밀히 연관되어있음을 알 수 있다. 또한 肺系는 코, 인후, 기관, 기관지 폐포 등 호흡기계는 물론 폐계에서

관장하는 기관 및 조직인 피부, 대장, 모발, 땀샘, 기, 언어 및 면역 등을 포함하고 있어 太陰調胃湯은 폐의 呼散之氣 부족에서 오는 병증을 치료하므로 알레르기비염, 만성비염, 아토피 피부염 등의 전반 알레르기질환에 유효하리라 생각된다.

太陰調胃湯에 관한 연구로는 태음인 알레르기비염 환자의 사상 의학적 치료 방법과 증치 의학적 치료를 비교한 연구에서 太陰調胃湯을 가장 빈용한 처방으로 보고하였고<sup>14</sup>, 만성비염의 임상분석 및 비염 치료에 관한 연구에서 태음인에게 가장 빈용된 처방은 太陰調胃湯이라고 보고되었다<sup>15,16</sup>. 최근에는 비만 치료에<sup>10,11,26,27</sup> 대한 太陰調胃湯의 효능에 관한 연구들이 이루어지고 있다.

알레르기 면역 반응 과정은 최초로 항원이 인식되는 감각반응, 또다시 항원에 노출된 지 수 분 내에 일어나는 조기반응, 수 시간 내에 일어나는 후기 반응으로 나뉜다. 감각반응에서는 항원이 들어오면 항원제시세포에 의해 Th이 활성화되고, 활성화된 T세포는 IL-4, IL-6, IL-13 등의 사이토카인을 방출하여 IgE의 생산을 유도한다. 조기반응에서는 비만 세포가 탈 과립 되면서 IgE의 교차연결이 일어나면 histamine, leukotriene, prostaglandin 등의 매개물질을 분비한다. 후기반응은 조기반응 후 T세포, 호염기구, 호산구로 이루어진 염증세포들의 유입에 의한 염증반응으로 이루어지며, 이들 염증세포에서 분비되는 매개물질에 의해 그 증상이 지속되게 된다. 즉, 후기반응이 알레르기 질환의 지속적인 염증반응과 연관되어 있다.

이러한 만성적인 염증 반응으로 생성되는 결과물 중NO는 주로 대식세포에서 생성되는 작고 불안정한 무기가스로, 급만성 염증에 핵심적인 역할을 하며 Th1의 감소, 사이토카인의 생성에 중요한 역할을 한다. 그리고 만성 알레르기비염과 천식 환자의 점막과 혈청, nasal 등에서 NO농도가 높게 측정되었으며, 이를 이용하여 알레르기 비염과 천식 등의 진단에 이용할 수 있다는 주장의 연구가 있었다<sup>7,20</sup>.

따라서 본 연구에서는 太陰調胃湯의 알레르기 후기반응에 관련된 염증 억제 효과를 확인하기 위하여 太陰調胃湯이 RAW 264.7 대식세포주를 이용한 염증반응과 관련된 NO의 생성 및 전염증 사이토카인인 IL-6, TNF- $\alpha$ 의 생산에 미치는 영향을 관찰하였다.

太陰調胃湯을 Raw264.7 cell에, 200, 300  $\mu\text{g/ml}$ 의 농도로 처리하고 24, 48 그리고 72시간 배양 후에 무처리군을 100 %으로 하여 세포 생존율을 측정하였다. 24시간 배양 시 太陰調胃湯 100, 200 그리고 300  $\mu\text{g/ml}$  농도에서 각각 114.6, 89.85 그리고 112.1 %, 48시간 배양 시 각각 66.13, 67.63, 그리고 68.45 ( $p < 0.001$ ) % 를 나타내어 太陰調胃湯 100, 200 그리고 300  $\mu\text{g/ml}$  농도에서 24간 배양 시 太陰調胃湯 자체로는 유의성 있는 독성을 나타내지 않는 농도와 배양 시간임을 확인하였다. 이런 결과를 바탕으로 太陰調胃湯을 LPS 1  $\mu\text{g/ml}$ 과 함께 100, 200, 300  $\mu\text{g/ml}$ 의 농도로 처리하고 24시간 배양 후에 아무런 처리를 하지 않은 그룹과 LPS만 처리한 그룹을 MTT 방법을 이용하여 세포의 생존율을 비교하였다. 그 결과 LPS만 처리하였을 경우와 太陰調胃湯을 LPS 1  $\mu\text{g/ml}$ 과 함께 100, 200, 300  $\mu\text{g/ml}$ 의 농도로 처리한 경우 각각 세포 생존율이 100.1, 105.0, 100.6, 그리고 104.4 %로 이농도 범위에서 太陰調胃湯은 세포독성이 거의 없는 것으로 판단되어 이농도 범위를 기준으로 다음의 실험을 실시하였다.

RAW264.7에 대식세포의 NO 생산을 유도하는 것으로 알려진 LPS와 太陰調胃湯을 함께 처리하여 24시간 배양한 후, 배양액 중 대식세포가 생산한 NO로부터 산화된 형태인 NO<sub>2</sub>-농도를 측정할 결과 LPS를 단독으로 처리하였을 때의 NO<sub>2</sub>-농도가 27.11 nM 정도까지 증가하였지만, 太陰調胃湯 100  $\mu\text{g/ml}$ 을 같이 처리한 경우 NO<sub>2</sub>-농도는 21.70  $\pm$  0.60 nM, 太陰調胃湯 200  $\mu\text{g/ml}$  을 같이 처리한 경우 19.92  $\pm$  0.96 nM, 太陰調胃湯 300  $\mu\text{g/ml}$  을 같이 처리한 경우 17.30  $\pm$  0.12 nM가 되어, 太陰調胃湯 농도 의존적으로 감소하였다. 이 결과를 통해

太陰調胃湯은 LPS로 유도된 대식세포의 NO생산에 대해 그 농도에 의존적으로 억제작용을 나타내는 것으로 생각된다.

太陰調胃湯에 의한 NO 생산 억제가 직접적으로 대식세포의 NO 생산을 억제함으로써 일어나는지 또는 NO 생산을 유도하는 다른 물질의 생산을 억제한 간접적인 결과인지를 알아보기 위하여 대식세포가 생산하는 대표적인 사이토카인인 IL-6, TNF- $\alpha$ 의 분비량을 또한 측정하였다. IL-6는 B세포를 분화유도하고, T세포가 IL-2 생성을 증강하도록 유도하여 염증 반응을 증폭시키는 작용을 하며<sup>28,29</sup>, TNF- $\alpha$ 는 호중구에 작용하여 호중구를 활성화시키는 역할을 하는데, 이는 알레르기 염증 반응에서 초기에 합성되는 전염증 사이토카인으로 알레르기 비염 환자에서 증가된다는 보고가 있다<sup>30</sup>. IL-6의 경우 LPS를 단독으로 처리하였을 때의 IL-6 농도가 각 2,507 pg/ml 정도까지 증가하였으며, 100  $\mu\text{g/ml}$  太陰調胃湯을 같이 처리하였을 때 2,185 pg/ml로 감소하였다. ( $p < 0.05$ ). 그러나 다른 농도에서는 IL-6의 분비가 감소되지 않았다. 그리고 TNF- $\alpha$ 의 경우 100  $\mu\text{g/ml}$ , 200  $\mu\text{g/ml}$  太陰調胃湯에서는 감소가 없었으나 300  $\mu\text{g/ml}$  太陰調胃湯 농도에서 유의하지는 않으나 감소효과를 보였다.

본 연구에서, 太陰調胃湯은 NO를 농도 의존적으로 생산이 억제하였으나, IL-6는 太陰調胃湯의 저농도(100  $\mu\text{g/ml}$ )에서만 감소되는 효과( $p < 0.05$ )를 나타내었고, TNF- $\alpha$ 는 고농도(300  $\mu\text{g/ml}$ )농도에서만 감소하는 경향을 나타내었다.

즉 太陰調胃湯은 알레르기 후기 염증반응에 있어서 증상 발현에 중요한 역할을 하는 대식세포를 직접적으로 억제하여 항염증 작용을 나타내는 것으로 추측할 수 있다. 그러나 또 다른 염증 기전인 염증발현 사이토카인 IL-6와 TNF- $\alpha$ 는 특정농도에서만 억제 효과가 보여 太陰調胃湯의 항염증 기전으로 보기는 어렵지만 농도에 따른 추가적인 연구를 통해서 정확한 효능을 검정할 필요가 있을 것으로 생각된다.



이 등<sup>31</sup>은 서양인에 비하여 한국인 알레르기 비염 환자에서는 TNF- $\alpha$  수치가 높지 않아 알레르기 비염에 있어서 그 연관성이 없다고 보고한 바가 있는데, 이것은 太陰調胃湯이 TNF- $\alpha$ 에 대한 영향이 확실치 않으나, 임상상 알레르기 비염에 치료 효과가 나타난다는 사실이 어느 정도 뒷받침된다고 해석할 수 있다.

또한 太陰調胃湯을 구성하는 개별 약재의 NO 생산 저해 효과를 알아본 실험에서는 각각의 약재가 모두 NO생산 저해 효과가 나타나지 않았으며, 나복자는 오히려 세포 독성을 나타내었다. 이러한 결과가 각각의 개별 약물이 NO 생산 저해 효과가 없는 것을 의미하는 것은 아니며, 오히려 복합되어 상승작용을 의미하는 것으로 해석될 수 있다. 太陰調胃湯은 세포 독성을 보이지 않았으며, NO 생산 저해 효과를 나타냈었던 것으로 보았을 때, 태음조위탕의 구성 약재인 薏苡仁, 乾栗, 蘿藦子, 五味子, 麥門冬, 石菖蒲, 桔梗, 麻黃 8가지 약물이 동시에 작용하여 항염증효과의 상승 작용(synergic effect)과 蘿藦子の 독성을 억제하는 작용이 나타난 것으로 생각된다. 각각의 단미를 함께 사용하였을 때 상대 약재의 억제작용으로 한 약재의 독성이나 열성 반응이 감소되는 작용을 하는 것을 본초학적 철정원리 중 相畏 혹은 相殺이라고 하는데, 蘿藦子の 독성 감소는 이러한 원리가 작용하였다고 생각할 수 있다. 그러나 이 결과만으로는 어느 약재가 蘿藦子の 독성을 억제하였는지 알 수 없어, 이후 추가 연구가 필요하다. 단미 간의 복합작용이 NO 생산 저해 효과의 증가를 가져오는 것은 유사한 효능의 약재를 배합하여 그 효능을 증가시키는 相須, 효능이 다른 2종의 약재를 배합하여 한 종의 약재가 주가 되는 약재의 효능을 증대시키는 相使의 원리가 작용하였다고 생각할 수 있다. 이는 복합 방제로 인해 새롭고 혹 강력한 치료 효과를 나타내는 한약의 이론에 대한 실험적 근거에 해당한다고 생각할 수 있다. 이는 한의학의 임상에서 사용하는 처방이 대부분 복합방제이므로, 이러한 실험

결과를 단미 제제에 관한 연구를 기초로 하여, 복합방제에 관한 연구가 더 활발하게 진행되어야 할 것을 시사한다.

본 연구 결과 太陰調胃湯은 재채기, 맑은 콧물, 코 막힘을 주 증상으로 하는 알레르기 비염과 호흡곤란, 천명, 기침의 증상을 보이는 알레르기 천식 등 만성적인 알레르기 질환에 응용할 수 있을 것으로 생각된다.

본 연구에서는 太陰調胃湯의 후기반응과 관련된 항염증 치료 기전을 이해하기 위한 단편적인 실험을 진행하였으나, 현 임상에서는 太陰調胃湯을 경구 투여하여 위장관 흡수시키므로, 실험실에서 만들어진 cell을 이용하여 처리한 본 실험과는 다소의 차이를 가질 수밖에 없다. 하지만 이러한 실험적 결과를 바탕으로 한 太陰調胃湯을 구성하고 있는 각각의 약물의 다양한 조합을 통하여 구체적으로 어떤 약물이 항알레르기 기전에 있어서 주된 상승작용을 하는지에 대한 in vitro 및 in vivo의 약동학적 연구가 앞으로 더 이루어진다면 더 많은 것을 설명할 수 있지 않을까 생각된다.

## V. 결 론

太陰調胃湯의 알레르기 후기반응 억제효과 기전을 확인하기 위하여, in vitro에서 대식세포의 NO 생산을 유도하는 것으로 알려진 LPS를 처리하여 염증을 유도한 Raw264.7 Cell에 太陰調胃湯을 처리하여 NO생산 정도, IL-6와 TNF- $\alpha$ 의 생산에 미치는 영향을 관찰한 결과 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. RAW 264.7 cell에 太陰調胃湯을 100, 200, 300  $\mu\text{g/ml}$ 의 농도로 처리하고 24시간 배양한 결과 세포 독성이 거의 없는 것으로 나타났다.
2. 太陰調胃湯 100  $\mu\text{g/ml}$ , 200  $\mu\text{g/ml}$  그리고 300  $\mu\text{g/ml}$  에서 유의한( $p < 0.001$ ) NO<sub>2</sub>-농도 감소 효과를 보였다.

3. 太陰調胃湯 100 $\mu$ g/ml 에서만 유의한( $p < 0.05$ ) IL-6 분비 감소효과를 보였다.
4. 太陰調胃湯 300  $\mu$ g/ml 에서만 TNF- $\alpha$  분비가 감소하는 경향을 보였다.
5. 太陰調胃湯의 구성약물인 薏苡仁 (69  $\mu$ g/ml), 乾栗 (69  $\mu$ g/ml), 萊菔子 (45  $\mu$ g/ml), 麥門冬 (23  $\mu$ g/ml), 石菖蒲 (23  $\mu$ g/ml), 桔梗 (23  $\mu$ g/ml), 麻黃 (23  $\mu$ g/ml) 그리고 五味子 (23  $\mu$ g/ml) 각각은 NO생산을 억제하지 않는 것으로 나타났다.

### 참고문헌

1. 李濟馬. 東醫壽世保元. 서울: 행림출판사; 1993, p. 19-24, 137-41.
2. 송일병. 알기 쉬운 사상의학. 서울: 하나미디어; 1993, p. 214-25, 248-51.
3. Bradding P, Feather IH, Wilson S, Bardin PG, Heusser CH, Holgate ST et al. Immunolocalization of cytokines in the nasal mucosa of normal and perennial rhinitic subjects. The mast cell as a source of IL-4, IL-5, and IL-6 in human allergic mucosal inflammation. J Immunol 1993;151:3853-65.
4. Pawankar R, Ra C. Heterogeneity of mast cells and T cells in the nasal mucosa. The Journal of allergy and clinical immunology 1996;98:S248-62.
5. 김형갑, 신상우, 박종현. 葛根解肌湯의 항 Allergy 및 항염증 효과. 동의생리병리학회지. 2009;23(2):381-8.
6. Dae Nam Kim, Ji Young Kim, Eun Hee Han, Kyo Nyeo Oh, Sung Hoon Kim, Mi Rim Jin, Hye Gwang Jeong, Dong Hee Kim. Gamipaidok-san Possesses Antiallergic and Anti-inflammatory Activities. Korean J. Oriental Physiology & Pathology. 2005;19(6):1659-65.
7. Frieler M. Nitric oxide in allergic rhinitis and asthma. Allergy Asthma Proc. 1998;19(6):349-51.
8. 유태원, 최봉재, 박수연, 장문석, 박성규. 태음조위탕(太陰調胃湯)의 경구 투여에 의한 SD계 흰쥐의 아급성 독성시험 연구. 동의생리병리학회지. 2009;23(4):848-52.
9. 장문석, 심경준, 김휴영, 박은화, 고은빛, 최봉재, 양응모, 이명중, 박성규. SD계 흰쥐에 대한 태음조위탕(太陰調胃湯)의 급성 경구 독성 시험 연구. 동의생리병리학회지. 2008;22(6):1439-43.
10. Cho SW, Park SS. Effects of Taeyeumjowee-tang on loss of body weight, plasma lipid and UCPI revelation of fated white rats. J Korean Oriental Med. 2004;25(2):87-97.
11. Shin DJ, Kim DR, Kim SH. The effect of Taemjowetang and Herba Ephadrae on the obese mRNA and TNF- $\alpha$  mRNA in obesity-induced rats. J of Sasang Const Med. 2001;13(1):79-87.
12. 안택원, 이현, 주입산. 청심연자탕(淸心蓮子湯)과 태음조위탕(太陰調胃湯)이 Wistar rat의 노화(老化)에 미치는 영향. 사상체질의학회지. 2005;17(2):74-84.
13. 김효정, 김종열. 태음조위탕(太陰調胃湯)을 복용한 태음인(太陰人) 소음인(少陰人) 소양인(少陽人)의 반응에 대한 임상보고. 동의생리병리학회지. 2008;22(6):1600-5.
14. Kim HG, Lee SK, Song IB, Ko BH. A clinical study on Sasang constitutional medical treatment Effectiveness of allergic rhinitis patient in Taeumin. J of Sasang Const Med. 2006;18(1):138-46.
15. Kim JY. An analysis of the treatment of chronic rhinitis by Sasang constitutional medicine. J of Sasang Const Med. 2002;14(2):78-89.
16. Park EK, Park SS. A study on the treatment of rhinitis by Sasang constitutional medicine. J of Sasang Const Med. 2001;13(1):109-18.
17. 박종수, 강희, 명유진, 박성민, 심범상, 김성훈,

- 최승훈, 안규석. 三子養親湯 물 抽出物이 마우스 Th1/Th2 분화 및 알레르기 염증 반응 조절에 미치는 효과. 2006;20(3):548-56.
18. 김장형, 천진홍, 김성윤, 박용기. 백렴의 알레르기 염증반응에 대한 억제효과. 대한본초학회지. 2008;23(4):91-101.
  19. 김상현, 손준호, 이승호. 생강나무 추출물의 알레르기성 염증반응 억제 효과. 생약학회지. 2009;40(3):233-7.
  20. Struben VM, Wieringa MH, Feenstra L, de Jongste JC. Nasal nitric oxide and nasal allergy. Allergy. 2006;61(6):665-70.
  21. 정효원, 박용기. 생강 클로로포름 분획의 활성화된 뇌신경교세포(腦神經膠細胞)에서 염증반응 억제효과. 대한본초학회지. 2008;23(3):73-83.
  22. 李慶雨. 編注譯解 黃帝內經靈樞. 서울: 여강출판사; 2002. p. 329.
  23. 염태환. 體質鍼診療提要. 서울: 윗고니사; 2007. p. 445.
  24. 나창수(羅昌洙) 외. 한의학 총강. 서울: 의성당; 2001. p. 222.
  25. 전국한의과대학 폐계내과학 교실. 동의폐계내과학. 서울: 국진기획; 2009. p. 4.
  26. 장영주, 조정훈, 송병재. 대한한방비만학회지 Jang YJ, Cho JH, Song BJ. Effect of Taeyeumjowee-tang and electroacupuncture on obesity. Journal of Korean Oriental Association for Study of Obesity. 2001;1(1):77-83.
  27. 이기주, 전병훈, 김경요. 太陰調胃湯이 白鼠의 肥滿症 및 誘導肥滿細胞에 미치는 효과. 사상체질의학회지. 1996;8(2):219-38.
  28. Van Cauwenberge PB. Nasal sensitization. Allergy. 1997;52(33):7-9.
  29. Ghaffar O, Lavigne F, Kamil A, Renzi P, Hamid Q. Interleukin-6 expression in chronic sinusitis : colocalization of gene transcripts to eosinophils, macrophages, T lymphocytes, and mast cells. Otolaryngol Head Neck Surg. 1998 Apr;118(4):504-11.
  30. Riccio AM, Tosca MA, Cosentino C, Pallestrini E, Ameli F, Canonica GW et al. Cytokine pattern in allergic and non-allergic chronic rhinosinusitis in asthmatic children. Clin Exp Allergy. 2002;32:422-6.
  31. 이재훈, 최태욱, 이정현, 정하민, 민정열, 김정중. Tumor Necrosis Factor 유전자 다형성을 이용한 한국인 알레르기비염 환자에서의 감수성에 대한 연구. 대한이비인후과학회지-두경부외과학. 2005;48(9):1107-10.