

적백하오관중탕 약침액이 노화 흰쥐 비장세포의 면역활성에 미치는 영향

이현석, 최강민, 임윤경

대전대학교 한의과대학 경락경혈학교실

The Effect of Jeokbaekhaogwanjung-tang Herbal Acupuncture Solution on the Immune Activity of Spleen Cells of Aged Rats

Hyun-Suk Lee, Kang-Min Choi, Yun-Kyoung Yim

Department of Meridians & Acupoints, College of Korean Medicine, Daejeon University

Objectives: The purpose of this study was to investigate the effect of Jeokbaekhaogwanjung-tang (JGT) distillate on the immune activity of spleen cells of aged rats.

Methods: Spleen cells of 10w, 52w 72w old SD rats were cultured and treated with JGT distillate and the levels of IL-2, IL-4, IL-10 and IFN- γ were measured.

Results:

1. The levels of IL-2 and IFN- γ in the spleen cells of 52w old rats were significantly decreased by JGT treatment.

2. The level of IFN- γ in the spleen cells of 72w old rats were significantly decreased by JGT treatment.

Conclusion: These results suggest that Jeokbaekhaogwanjung-tang distillate has an immune regulative effect by way of suppressing the change of immune activity caused by aging in rats.

Key Words : Jeokbaekhaogwanjung-tang, immune activity, spleen cells, cytokine, aged rats

서론

노화란 예측이 가능하며 진행적이고 피할 수 없는 생물학적 과정으로, 기관계의 항상성 및 예비력 조절이 지속적으로 침식되는 것을 말한다. 정상적인 노화에서 항상성 유지의 최대한계는 대개 고령에 나타나지만 결국 임계점에 달하여 최소한의 침해도 극복하지 못하고 상대적으로 단기에 걸쳐 사망에 이르게 된다¹⁾.

노화는 인종, 개인차, 유전적 차이에 따라 그 진행 속도가 다르며 환경적 요인에 의해서도 많은 영

향을 받는다. 현대의학에서는 진화론, 세포설, 분자설, 계통설, 분자 염증설 등의 다양한 이론을 노화의 원인으로 제시하였으나, 최근에 제시되고 있는 여러 가지 원인 중에서 ‘인체 면역 기능의 변화’로 인하여 노화가 발생한다는 학설이 설득력을 얻고 있다²⁾.

면역이란 질병, 그 중에서 특히 전염성 질병에 대한 저항력을 의미한다. 면역계통은 이러한 감염에 대한 저항을 수행하는 분자, 세포 및 조직 전체의 집합체이며, 이러한 분자 및 세포들이 협응하여 전염성 미생물에 대해 일으키는 반응이 면역반응이다³⁾.

인간은 노화가 진행되면서 면역계통의 항체 생산

• Received : 16 February 2016

• Revised : 25 March 2016

• Accepted : 28 March 2016

• Correspondence to : 임윤경

대전 동구 대학로 62 대전대학교 12407호

Tel : +82-42-280-2610, Fax : +82-42-280-2610, E-mail : docwindy@dju.kr

능력이 감소하고 이로 인하여 면역반응이 적어지게 되어 외계 항원에 대한 저항력이 떨어질 뿐 아니라, 면역 인식 장애로 자가 항체의 생산이 증가하여 자신 몸의 세포 조직을 스스로 파괴하여 노화가 진행된다²⁾.

한의학에서는 노화의 원인을 先天 및 後天의 관계, 臟腑, 陰陽, 精氣神血의 변화 등으로 설명하고 있으며⁵⁾, 그 중 사상의학에서는 수명과 노화를 인생 과정에서의 生息充補之道와 命脈의 변화로 설명하며. 최근 『東醫壽世保元』에 제시된 사상체질처방을 활용한 노화와 면역에 관련된 실험 연구들⁶⁻¹¹⁾이 활발하게 진행 중이다

적백하오관중탕은 少陰人 처방으로, 몸이 무거워 보이고 結胸證狀(心下壓痛이나 체하면 가슴이 막힌 것 같이 아플 때)이 있고 小便不快나 膀胱炎, 小便頻數 등이 오는 경우에 쓴다. 또한 心虛로 가슴 전체가 답답하고 숨차고 불안하며 잠이 잘 오지 않는 등의 신경증이 심하고 腹動悸가 있는 경우와 아랫배가 자주 아픈 경우에도 활용할 수 있다¹²⁾.

아직까지 적백하오관중탕이 노화 및 면역에 미치는 영향에 관한 연구는 보고된 바가 없다. 이에 저자는 동물 실험을 시행하기 전 세포실험 연구로서, 적백하오관중탕이 노화기 면역 활성에 미치는 영향을 알아보고자, 10주령, 52주령, 72주령 흰쥐의 비장 세포에 적백하오관중탕 증류액을 처리한 후 면역과 관련된 cytokine의 함량을 측정하여 분석한 결과, 약간의 지견을 얻었기에 보고하고자 한다.

연구 방법

1. 재료

1) 동물

동물은 10주령, 52주령, 72주령의 SD rat을 사용하였다. 실험에 사용된 동물은 (주)중앙실험동물(경기도, 한국)에서 공급받아 실험 당일까지 고품사료(삼양사료, 한국)와 물을 충분히 공급하였고, 실험실은 실온(22±2℃), 습도(40-60%)를 유지하였다. 본 실험은 대전대학교 동물실험윤리규정을 준수하여

시행하였다.

2) 약재

본 실험에 사용된 적백하오관중탕(JGT)의 약재들은 대전대학교 한방병원 약제실의 검수를 받아 구입하여 이용하였다. 적백하오관중탕의 약재들은 정량하여, 사용하기 전에 증류수에 세척하였다. 적백하오관중탕의 구성은 Table 1과 같다.

2. 실험 방법

1) 적백하오관중탕 증류액 제조

적백하오관중탕 약재를 세척 후 분쇄기로 분쇄하여 1ℓ의 증류수를 가하고 shaker를 이용하여 3시간 동안 진탕을 실시한 다음 여과지로 여과하였다. Impellar에 반응조 하부와 반응조 상부를 설치하고 그 위에 냉각관(환류, 증류)과 분액 여두를 설치하였다. 적백하오관중탕 진탕액을 반응조 하부에 넣고, 105℃에서 예열하였다. 탕약이 끓기 시작하면 추출 온도 107℃에 맞춘 뒤, 6시간 동안 진탕을 실시하며, 이때 냉각수(4℃)가 환류냉각관에서 흐르도록 하여, 시간의 경과에 따라 설정온도 범위(진탕 온도 105℃)에서 진탕되고, 충분히 끓은 약재의 온도가 높아지고(추출온도 107℃), 냉각수 순환위치가 바뀔 때 따라 반응조 내부에서만 순환하던 기체가 냉각수에 의해 액체화되어, 증류액이 분액여두로 한 방울씩 받아지도록 하였다. Table 1의 한 첩 기준으로

Table 1. The Compositions of Jeokbaekhaogwanjung-tang(JGT)

Herbs	Pharmacognostic name	Dose(g)
白何首烏	Cynanchi Wilfordii Radix	4
赤何首烏	Polygoni Multiflori Radix	4
良薑	Alpiniae Officinari Rhizoma	4
乾薑	Zingiberis Rhizoma	4
陳皮	Citri Unshii Pericarpium	4
青皮	Citrii Unshiu Immaturi Pericarpium	4
香附子	Cyperi Rhizoma	4
益智仁	Aipiniae Fructus	4
棗二	Zizyphi Fructus	7
Total		39

적백하오관중탕 증류액 470 ml를 얻었다. 추출이 끝나고 1l 용기에 받아진 증류액을 무기염류를 침강시키기 위해서 하루 동안 냉장 보관한다. 하루 동안 냉장 보관된 적백하오관중탕 증류 추출액은 filtering을 실시하고, 멸균된 용기에 넣어 냉장 보관하였다.

2) 면역세포 분리

본 실험은 10 주령, 52 주령, 72 주령의 SD rat의 비장 조직으로부터 얻은 splenocytes를 이용하여 수행하였다. 실험동물의 혈관에 Hank's balanced salt solution (Cambrex, USA)를 관류하여 실험동물의 혈액을 배출시킨 후 비장을 적출하였다. 적출된 비장은 RBC를 제거하고, splenocytes만을 분리하였다. 분리된 세포를 안정화시킨 후 실험에 사용하였다.

3) 실험군 분류 및 약물 처리

10 주령, 52 주령, 72 주령의 SD rat에서 얻은 비장 세포를 각 주령별로 다시 4군으로 분류하여 아래와 같이 처리한 후 24시간 동안 배양하였다.

- ① No treatment군(NT) : 아무런 처리도 하지 않은 세포군
- ② Concanavalin A(ConA)군 : ConA(50ug/ml)를 처리한 세포군
- ③ Vitamin C(Vit. C)군 : ConA(50ug/ml) + 1% Vitamin C(1mg/ml)를 처리한 세포군
- ④ 적백하오관중탕(JGT)군 : ConA(50ug/ml) + 50% 적백하오관중탕 증류액(1mg/ml)을 처리한 세포군

4) Cytokine analysis

비장세포에 ConA 및 약물을 처리하고 24시간 후에 cell culture supernatant를 사용하여 ELISA kit(R&D, USA)로 IL-2, IL-4, IL-10, IFN- γ 의 함량을 측정하였다.

3. 통계 분석

통계분석은 SPSS 통계프로그램(ver 18.0 KO)을 이용하였다. 결과값은 평균 \pm 표준편차로 나타내었

다. 각 군의 데이터는 Kruskal-wallis test를 이용하여 분석한 후 Mann Whitney U test를 이용하여 구간 차이를 확인하였다. 신뢰도 95% 이상($p < 0.05$) 일 때 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

결 과

1. 주령에 따른 cytokine 변화

NT군의 주령에 따른 면역 cytokine의 변화를 분석하였다. IL-2는 10주령에 비해 52주령에서 유의하게 높았고, 52주령에 비해 72주령에서 유의하게 낮았다. IL-4는 10주령에 비해 52주령과 72주령에서 유의하게 높았다. IL-10는 주령에 따른 유의한 차이를 나타내지 않았다. IFN- γ 는 10주령에 비해 52주령과 72주령에서 유의하게 높았다(Figure 1).

2. 적백하오관중탕 증류액 처리에 따른 cytokine 변화

1) IL-2

10주령에서는 Vit.C군과 JGT군의 IL-2 농도가 ConA군에 비해 유의하게 낮았다. 52주령에서는 JGT군의 IL-2 농도가 ConA군과 Vit.C군에 비해 유의하게 낮았다. 72주령에서는 Vitamin C나 적백하오관중탕 처리에 따른 IL-2의 농도의 유의한 차이는 없었다(Figure 2).

2) IL-4

약물 처치에 따른 IL-4의 농도를 비교분석하였다. 10주령에서는 ConA군에 비해 Vit.C군과 JGT군의 IL-4 농도가 유의하게 낮았다. 52주령에서는 ConA군에 비해 Vit.C군의 IL-4 농도가 유의하게 낮았다. 72주령에서는, ConA군에 비해 Vit.C군의 IL-4 농도가 유의하게 낮았고, Vit.C군에 비해 JGT군의 IL-4 농도가 유의하게 높았다(Figure 3).

3) IL-10

약물 처치에 따른 IL-10의 농도를 비교분석하였

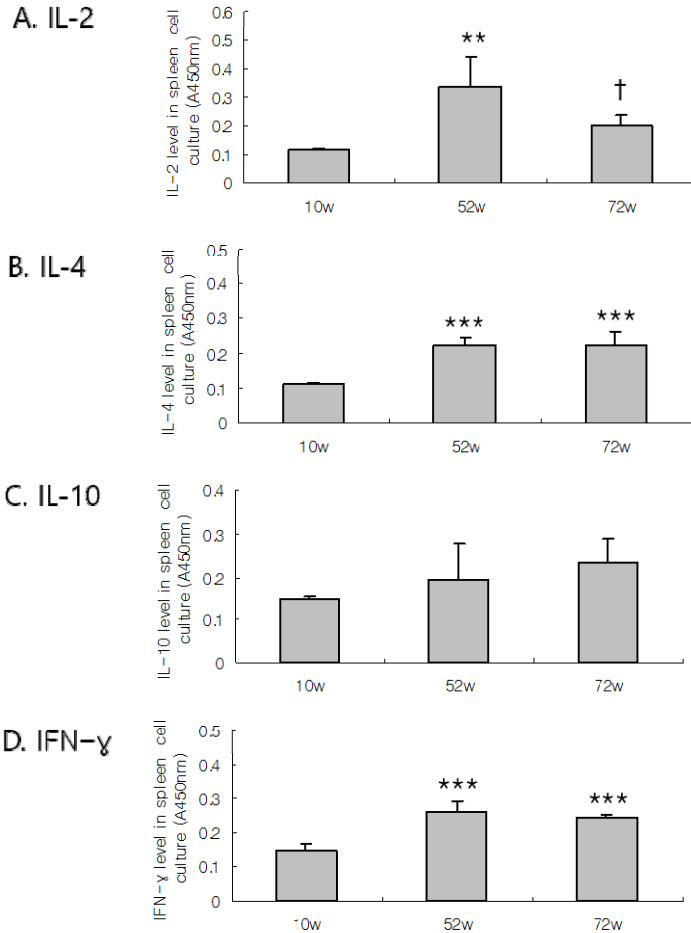


Fig. 1. Effect of Aging on the levels of various immune cytokines in the spleen cell culture.

The levels of various immune cytokines in rat's spleen cell culture were analysed by ELISA. Values represent mean \pm SD (n=5)

NT : Cells with no treatment. ConA : Cells treated with ConA for 24 hours.

Vit.C : Cells treated with ConA and Vitamin C for 24 hours. JGT : Cells treated with ConA and JGT distillate for 24 hours.

***: p(0,001), **: p(0,01 compared to 10w group, † : p(0,05 compared to 52w group.

다. 10주령에서는 ConA군에 비해 Vit.C군과 JGT군의 IL-10 농도가 유의하게 낮았고, Vit.C군에 비해 JGT군의 IL-10 농도가 유의하게 낮았다. 52주령에서는 vitamin C와 적백하오관중탕 처리에 의한 IL-10 농도 변화는 없었다. 72주령에서는, ConA군에 비해 Vit.C군의 IL-10 농도가 유의하게 낮았고, Vit.C군에 비해 JGT군의 IL-10 농도가 유의하게 높았다(Figure 4).

4) IFN- γ

약물 처치에 따른 IFN- γ 의 농도를 비교분석하였다. 10주령에서는 vitamin C와 적백하오관중탕 처리에 의한 IFN- γ 농도의 변화는 없었다. 52주령에서는, ConA군과 Vit.C군에 비해 JGT군의 IFN- γ 농도가 유의하게 낮았다. 72주령에서는 ConA군에 비해 Vit.C군과 JGT군의 IFN- γ 농도가 유의하게 낮았다(Figure 5).

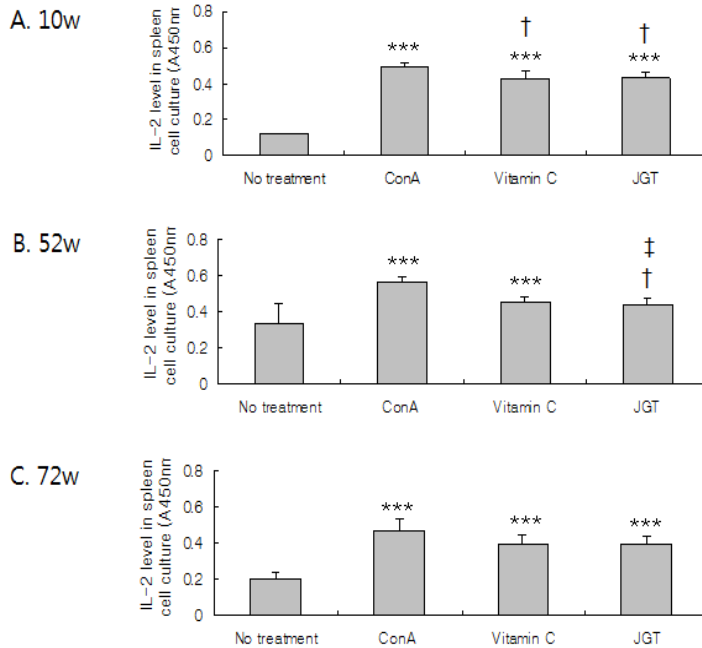


Fig. 2. Effect of JGT distillate on IL-2 level in spleen cell culture of aged rat

The level of IL-2 in rat's spleen cell culture was analysed by ELISA. Values represent mean \pm SD (n=5)

NT : Cells with no treatment, ConA : Cells treated with ConA for 24 hours,

Vit,C : Cells treated with ConA and Vitamin C for 24 hours, JGT : Cells treated with ConA and JGT distillate for 24 hours,

***: p(0,001, **: p(0,01 compared to NT group,

† : p(0,05 compared to ConA group, ‡ : p(0,05 compared to Vit,C group.

고찰

한국인의 기대수명은 2013년 기준 81.5세로서 점차 수명이 길어지고 있다¹³⁾. 수명연장과 더불어 노인병도 지속적인 증가 추세에 있으며, 따라서 수명 연장뿐만 아니라 건강한 노화에 대한 관심이 지속적으로 높아지고 있다.

노화란 생체의 생리적 재생능이 점차적으로 약화됨으로써 생체조직의 세포 수가 감소하고 이로 인해 생체의 전반적 기능이 저하되는 것을 말한다¹⁴⁾. 인간은 연령이 증가함에 따라 노화하지 않을 수 없고 노화의 마지막은 곧 죽음을 의미하기 때문에, 최근 노화의 원리나 양상 혹은 노화를 예방하는 방법 등에 대한 관심이 증대되고 있다¹⁵⁾.

현재까지 제시된 노화에 관한 학설에는 내분비설, 면역설, 시계 생존설, 유전자설 및 유리기설 등이 있

다. 내분비 및 면역설은 여러 가지 호르몬의 분비 및 합성의 현저한 저하와 면역세포의 면역체 생성 능력의 약화에 의하여 노화가 발생한다는 것이고, 시계 생존설은 이 지구상에 존재하는 모든 생물은 일정 기간 동안에 생존한다는 것이며, 유전자설은 DNA 유전정보의 문제나 복제 및 세포 분열 과정에서 문제로 인하여 노화가 진행된다는 가설이다. 또한 유리기설은 체내 산화의 증가, 항산화 효소의 감소로 인하여 노화가 촉진된다는 것으로 노화의 원인을 활성산소로 제시하고 있다¹⁶⁾.

면역이란 자신과 타인을 구분하여 외부로부터 인체를 보호하는 기능을 하는 생명활동의 한 부분이다¹⁷⁾. 내분비 및 면역설은 정상적인 면역계의 기능변화에 의해 노화가 진행된다고 주장하는 이론이다. 노화가 진행되면서 면역세포가 다양해지고 신체와 조직 간의 자가 조절 능력이 퇴화하게 되는데, 이로

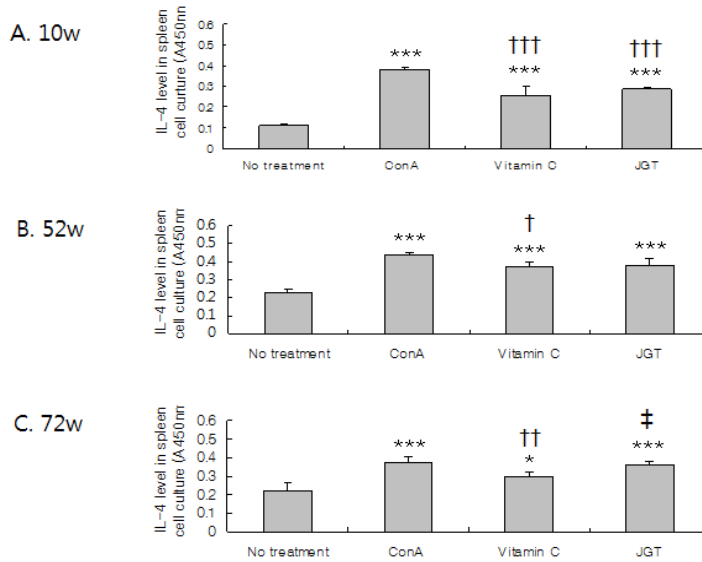


Fig. 3. Effect of JGT distillate on IL-4 level in spleen cell culture of aged rat

The level of IL-4 in rat's spleen cell culture was analysed by ELISA. Values represent mean ± SD (n=5)

NT : Cells with no treatment, ConA : Cells treated with ConA for 24 hours,

Vit.C : Cells treated with ConA and Vitamin C for 24 hours, JGT : Cells treated with ConA and JGT distillate for 24 hours,

***: p(0,001), *: p(0,05) compared to NT group,

† † † : p(0,001), † † : p(0,01) compared to ConA group, ‡ : p(0,01) compared to Vit.C group.

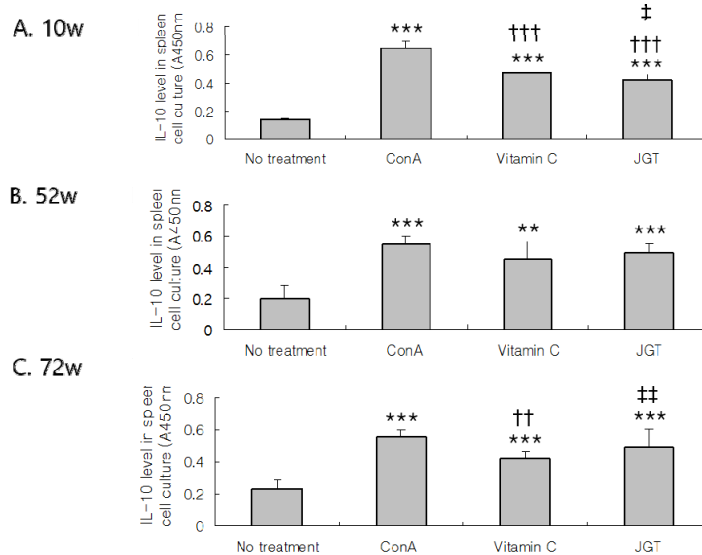


Fig. 4. Effect of JGT distillate on IL-10 level in spleen cell culture of aged rat

The level of IL-10 in rat's spleen cell culture was analysed by ELISA. Values represent mean ± SD (n=5)

NT : Cells with no treatment, ConA : Cells treated with ConA for 24 hours,

Vit.C : Cells treated with ConA and Vitamin C for 24 hours, JGT : Cells treated with ConA and JGT distillate for 24 hours,

***: p(0,001), **: p(0,01) compared to NT group,

† † † : p(0,001), † † : p(0,01) compared to ConA group, ‡ ‡ : p(0,01), ‡ : p(0,05) compared to Vit.C group.

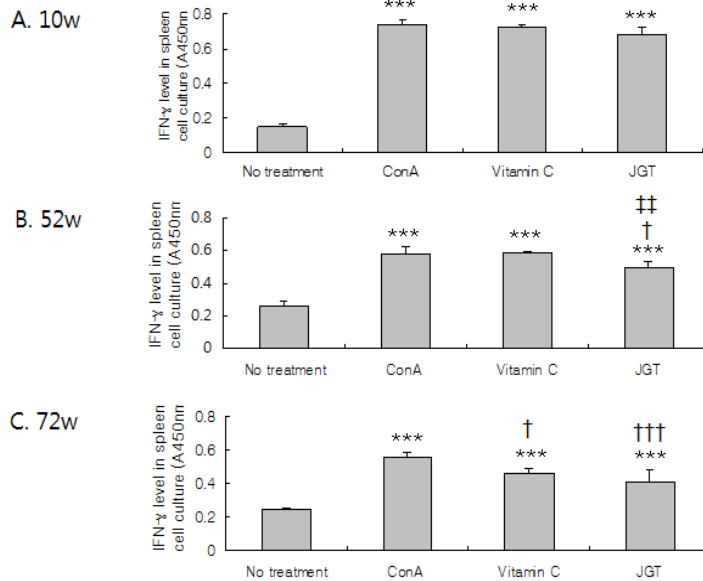


Fig. 5. Effect of JGT distillate on IFN- γ level in spleen cell culture of aged rat

The level of IFN- γ in rat's spleen cell culture was analysed by ELISA. Values represent mean \pm SD (n=5)

NT : Cells with no treatment, ConA : Cells treated with ConA for 24 hours,

Vit,C : Cells treated with ConA and Vitamin C for 24 hours, JGT : Cells treated with ConA and JGT distillate for 24 hours,

*** : p(0,001 compared to NT group,

††† : p(0,001 † : p(0,05 compared to ConA group, ‡‡ : p(0,01 compared to Vit,C group.

인하여 자신의 정상세포가 외부의 이물질로 인식되고, 면역계가 이를 공격한다. 그러므로 노년에는 불필요한 면역반응이 증가하여 과알부민혈증, 자가 면역 질환, 악성 종양 같은 질환들이 다발하게 된다. 항진된 자가 면역 작용에 의하여 암, 당뇨병, 아밀로이드증 등이 유발되고, 죽상경화증, 고혈압, 색전증 등의 질환과도 관련이 깊다. 또한, 심혈관 질환, 알레르기성 질환, 류마티스성 질환 역시 관련이 깊다¹⁸⁾. 즉, 나이가 들면서 면역계의 항체 생산력이 감소하여 외계 항원에 대한 저항력이 떨어질 뿐 아니라, 면역인식 장애로 자가 항체의 생산이 증가하여 자신 몸의 세포 조직을 스스로 파괴하여 노화가 진행되기 때문에 노화와 면역은 매우 밀접한 관계가 있다²⁾.

한의학에서는 노화의 原因에 대하여 음양의 부족화, 形身衰弱, 氣血 및 腎氣衰弱 등으로 설명하고, 생체의 老衰를 음양, 臟腑, 氣血, 經絡의 變化 및 精神의 變化로 보았다¹⁹⁾.

韓醫學에서 면역의 개념은 『黃帝內經』에서부터 유래된다고 볼 수 있다. 즉, 질병을 인체의 正氣와 邪氣가 서로 다투는 과정으로 보고, 正氣의 강하고 약함이 직접적으로 질병의 발생, 변화를 결정한다고 인식하여, 이를 바탕으로 扶正去邪의 치료원칙을 완성하였다²⁰⁾.

또한, 『黃帝內經』 「四氣調神大論」에서는 아직 병이 발생하지 않고 병들기 이전인 “未病”의 상태를 제시하여 正氣의 손상이 심하지 않은 평소 건강 상태의 생활 관리의 중요성을 강조하였다.

이와 같이 韓醫學에서는 노화의 원인과 과정에 대한 분명한 인식이 있었으며, 건강관리에 있어서 질병 발생 이전인 “未病” 상태의 “調養”을 강조하여 평소건강 상태에서의 정신적, 육체적 관리의 필요성을 제시하였다. 이는 현대 의학에서 중요시하는 인체의 면역 작용과 일치하는 부분이 많으며, 노화의 원인을 찾고 예방을 하는 방법에 있어서 인체의 면

역 능력이 관련되어 있음을 알 수 있다. 노화와 면역에 대한 관심은 최근의 한의학계에도 꾸준히 증가하고 있으며, 활발한 연구가 진행 중이다.

사상의학에서는 수명과 노화의 개념을 인생과정에서 命脈의 변화와 生息充補之道의 변화를 통하여 설명하고 있고, 장수의 방법으로 酒色財權의 절제를 통한 心慾의 조절을 제시하고 있다. 『濟衆新編』 「五福論」에서는 長壽를 인간의 五福 중에 으뜸으로 꼽아 중요시 생각하였으며, 생명력과 건강지수를 의미하는 지표로 命脈實數를 정의하였고, 神仙, 淸朗, 快輕, 康寧의 건강한 사람과 外感, 內傷, 危傾의 병적인 사람의 등급을 각각의 상태에 따라 8 가지로 구분하여 설명하였다. 각 체질에 있어서는 偏小之臟에서 발현되는 保命之主를 생명력의 근간으로 命脈을 결정짓는 관건으로 삼았다. 또한, 질병의 치료에 있어서 服藥의 방법 보다는 평소 心慾의 절제와 생활관리를 통한 치료를 중시하여 질병 발생이전에 生活調養 할 것을 강조하였다⁶⁾.

적백하오관중탕은 소음인 처방으로, 병을 치료한 후 허약해진 신체를 조리하여 신체기능을 회복하고 평소 체질적 특성으로 자주 발생하는 소병(素病)이 발생하지 않도록 치료 및 예방하는데 쓰이며, 특히 만성질환이나 소모성질환, 노인과 같은 허약자에게 다용하는 처방이다²⁰⁾.

사상체질 중 少陰人은 腎大脾小한 臟局의 大小를 가지고 있다. 소음인은 하늘로부터 지극히 좋게 타고난 樂性(好善이 無雙한 本性)의 작용에 의하여 腎의 活力素인 精海가 풍성해지고, 하늘로부터 지극히 약하게 타고난 喜性(邪心이 無雙한 本性)이 逆動하여 나타난 喜情의 작용에 의하여 脾의 活力素인 膜海가 부족해지므로 腎大脾小하게 된다. 즉 타고난 두 가지의 性作用에 의하여 소음인은 腎局의 활력소가 되는 “精”을 담고 있는 “精海”라는 그릇은 크게 타고 났으므로 精海는 풍성하고 脾局의 활력소가 되는 “膜”을 담고 있는 “膜海”라는 그릇은 작게 타고 났으므로 膜海는 부족하다는 것이다²¹⁾.

적백하오관중탕은 소음인 처방으로 少陰病 險證인 藏結病에 쓰는 처방이다. 즉 소음병을 타고난 사

람이 暴喜하면 膜海가 삭감되므로 정기인 脾陽溫氣가 허약해져서 毒素인 大腸寒氣를 이기지 못하므로 腰脊으로 하강하여 腎局에 도달하지 못하고 오히려 정기인 脾陽溫氣가 독소인 大腸寒氣로 인하여 억압된다. 그리고 정기인 脾陽溫氣도 허약해져서 독소인 大腸寒氣를 이기지 못하므로 흥격으로 상승하여 脾局에 도달하지 못하고 오히려 정기인 腎陽溫氣가 독소인 大腸寒氣로 인하여 억압되어 곤란해져 열이 나는 상태가 된다.

大腸寒氣로 인해 곤란해진 腎陽溫氣가 열이 나는 상태가 되면 사기로 작용하여 精海를 고갈하려 하는데, 정기인 腎陽溫氣는 독소인 大腸寒氣로 인하여 억압되어 腎局의 생리력은 거의 작용하지 못하므로 사기가 精海를 고갈시키게 된다. 이와 같은 상태가 지속되면 더 나아가서 사기가 膜海를 고갈시키려 하는데, 이 때 정기인 脾陽溫氣가 독소인 大腸寒氣로 인하여 억압되어 脾局의 생리력이 거의 작용하지 못하므로 사기가 膜海를 고갈시키게 된다. 적백하오관중탕은 이런 상황에서 나타나는 병증에 쓰는 補益精海而補益膜海하는 처방으로 精海와 膜海 중 濁滓를 補益하는 것을 위주로 한다²¹⁾.

白何烏, 赤何烏, 高良薑, 乾薑, 靑皮, 陳皮, 香附子, 益智仁 各 1錢, 大棗 2個로 구성된 적백하오관중탕은 少陰人의 命脈實數의 감소를 줄이고 건강유지와 수명연장 효과가 있을 것으로 기대된다. 또한 적백하오관중탕은 병을 치료한 후 허약해진 신체를 조리하여 신체기능을 회복하고 평소 체질적 특성으로 자주 발생하는 소병(素病)이 발생하지 않도록 치료 및 예방하는데 쓰이며, 특히 만성질환이나 소모성질환, 노인과 같은 허약자에게 다용하는 약이므로 허약자가 평소에 본 처방을 복용하여 조리하면 소병 및 질병을 예방할 수 있을 것으로 생각한다. 이를 바탕으로 노인의 소병 치료 및 질병 예방에 적용할 것을 목표로 면역 조절이 건강을 유지할 것이라는 관점에서 접근해보았다.

본 실험에 사용된 흰쥐의 주령은 기존 연구들^{22, 23)}을 참고하여 설정하였다. SD rat의 체중은 대체로 10주령에서 빠르게 성장하다 52주령부터 감소하기

시작하는데^{22, 23)}, 본 연구에서는 10주령을 면역기능이 왕성한 “성장기”로, 52주령을 면역 노화가 시작되는 “초기 노화기”로, 72주령을 면역 노화가 심화되는 “말기 노화기”로 구분하여 연구를 진행하였다.

본 연구에서는 면역 보강제나 면역 항원 같은 자극물질 대신 T 림프구의 유사분열 물질인 Con A를 활용하여 세포 splenocytes의 면역 활성을 유도하였고, 항산화 작용이 뛰어나 항노화 효과가 있을 것으로 추정되는 Vitamin C를 비교 약물로 설정하여 적백하오관중탕 증류액의 효과와 비교, 분석하였다.

본 실험에서 노화에 따른 면역활성 변화를 관찰하기 위하여, NT군의 주령에 따른 IL-2, IL-4, IL-10, IFN- γ 의 농도 변화를 분석하였다(Figure 1).

Interleukin-2(IL-2)는 CD8+ T 세포에서 적은 양이 생성되기는 하나 주로 CD4+ T 세포에서 분비되어 T 세포의 증식에 관여하고 면역반응을 매개하고 조절한다. 또한 IL-2를 생성하는 CD4+ T 세포에 autocrine으로 작용하거나 주위세포에 paracrine 성장요소로 작용하기 때문에 생리활성 농도에서는 endocrine 효과가 없다. CD4+ T 세포에서 생성되는 IL-2의 양이 면역반응의 강도를 결정하는데 주요 인자이며, INF- α 와 TNF- α 를 포함하여 T 세포에서 생성되는 다른 사이토카인의 생성을 용이하게 한다²⁴⁾. IL-2 작용은 특히, 항원 특이 killer T 세포 유도, NK세포활성 증강, lymphokine activated killer(LAK) 세포활성화, B 림프구 증식 및 분화 촉진 등이다. IL-2의 조절조절에 관한 역할로는 NK 세포의 INF- α 생산으로 적혈구 colony 형성을 억제한다는 보고가 있다²⁵⁾. 또한 INF- α 는 NK 활성을 증강한다. 즉, IL-2는 생체방어와 조혈에 중요한 역할을 수행하고 있다. IL-2는 각종 cytokine을 생산하는 helper T 세포 증식을 촉진하는 것으로 면역응답능을 제어한다. 따라서 사람말초혈중 IL-2 활성 측정이나 림프구의 IL-2 생산능을 검토하는 것은 helper T 세포의 기능을 검토할 뿐만 아니라 각 개체에 있어서 면역응답능의 전모를 추측하여 질환을 상세하게 해석하기 위하여 유력한 수단이 되는 것이다²⁵⁾.

본 실험에서 NT군 세포에서의 IL-2 변화는 성장

기(10주령)에 낮은 수준이었다가 초기노화기(52주령)에 크게 증가하였으며 말기노화기(72주령)에 다시 감소하는 경향을 나타내었다(Figure 1-A).

IL-4는 면역학적 과민반응 유도에 중요한 역할을 하는데 주로 Th2 세포에서 생성되는 알레르기 염증 반응에 있어서 중요한 역할을 하는 cytokine이다. 따라서 아토피피부염, 알레르기성 비염, 천식과 같이 면역 과민으로 인한 알레르기 염증반응을 유도하는데 중요한 cytokine으로 알려져 있다³⁾.

본 실험에서 NT군 세포에서의 IL-4의 변화는, 성장기(10주령)에 낮은 수준이었다가 노화기(52주령과 72주령)에 유의하게 증가하였다(Figure 1-B).

IL-10은 단핵구/대식세포, T 세포, B 세포, 각질세포, 비만세포에서 분비되며, 각각의 세포에 표적세포로 작용한다²⁶⁾. 주된 기능은 활성화된 대식세포와 염증성 사이토카인의 생성을 억제하여 세포성 면역의 항상성과 비특이적 면역반응을 조절하는 역할을 한다. NK세포의 기능을 억제하는 반면, 비만세포의 증식과 기능 자극을 하고 B세포의 활성화와 분화를 촉진하는 작용도 있다. 또한 대식세포와 수지상세포가 분비하는 IL-12와 TNF 생성을 억제하고, 대식세포의 보조 자극물질과 class II MHC 분자의 발현을 억제하여 T세포의 활성화를 저해함으로써 결국 세포성 면역을 종결시킨다.²⁶⁻²⁷⁾

본 실험에서 NT군 세포에서의 IL-10은 노화과정에 따라 증가하는 경향을 나타내었으나 통계적 유의성은 없었다(Figure 1-C).

Interferon- γ (IFN- γ)는 세포내 과립계통에 머무는 세균제거에 관련이 있으며 비특이면역(자연면역), 특이면역 모두에서 관련이 있다²⁸⁾. INF- γ 는 증식억제와 항바이러스 작용을 갖고 있으며 세포내 미생물과 암세포를 죽이기 위해 대식세포를 강력하게 활성화시킨다. 또한 다양한 세포에서 class I과 class II MHC의 발현을 유도하고 B 세포와 T 세포의 분화를 촉진시킨다. INF- γ 는 NK 세포와 T세포를 강력하게 활성화하고 또한 호중구와 내피세포를 활성화 한다²⁷⁾.

본 실험에서 NT군 세포에서의 IFN- γ 의 변화는,

성장기(10주령)에 낮은 수준이었다가 노화기(52주령과 72주령)에서 증가하였다(Figure 1-D).

이러한 노화과정에 따른 비장세포내 면역 cytokine의 변화에 대하여 Vit.C와 적백하오관중탕 증류액이 미치는 영향을 비교 분석하였다(Figure 2-5).

적백하오관중탕 증류액은 성장기(10주령) 비장세포의 IL-2, IL-4, IL-10 level을 유의하게 감소시켰다(Figure 2, Figure 3, Figure 4). IL-4는 면역학적 과민반응 유도에 중요한 역할을 한다³⁾. 본 실험에서 적백하오관중탕 증류액이 성장기(10주령) 흰쥐의 비장세포에서 IL-4와 IL-10을 억제한 것은 소아 천식 등, 성장기 알레르기 염증반응에 대한 적백하오관중탕의 임상 활용 가능성을 시사한다고 하겠다.

초기노화기(52주령)에서는 적백하오관중탕 증류액에 의해 IL-2와 IFN- γ 가 유의하게 감소하였고(Figure 2, Figure 5), 말기노화기(72주령)에서는 IL-10과 IFN- γ 가 유의하게 감소하였다(Figure 4, Figure 5). 전술한 것처럼 정상 노화과정에서 IL-2와 IFN- γ 는 성장기(10주령)에 낮은 수준을 유지하다가 노화기(52주령과 72주령)에 크게 증가하였다(Figure 1). 따라서 적백하오관중탕이 노화기(52주령과 72주령) 세포의 IL-2와 IFN- γ 를 감소시킨 것은 노화에 따른 면역계의 변화를 억제 또는 완화시킨 것으로 해석되며, 이는 적백하오관중탕 증류액이 면역계에 대한 항노화 효과가 있음을 나타내는 것으로 사료된다. 특히 초기노화기(52주령)에서의 이러한 효과는 Vit.C보다 우수한 것으로 나타났다(Figure 2, Figure 5).

IL-4는 Vit.C에 의해 노화기(52주령과 72주령)에 대조군에 비하여 유의하게 감소하였으나, 적백하오관중탕은 노화기(52주령과 72주령) IL-4 농도에 유의한 변화를 나타내지 않았다(Figure 3). 따라서 적백하오관중탕이 노화에 의한 IL-4 변화에는 유의한 영향을 미치지 못하였음을 알 수 있다.

정리하면, 노화 흰쥐의 비장세포에서 적백하오관중탕 증류액에 의해 초기노화기(52주령)의 IL-2와 IFN- γ 의 증가가 억제되었고, 말기노화기(72주령)의 IFN- γ 증가가 억제되었다. 따라서 적백하오관중탕

증류액은 노화에 의한 면역계의 변화를 억제 또는 완화시킴으로써 면역계에 대한 항노화 효과가 있을 것으로 사료된다.

본 연구는 세포실험이라는 한계점이 있으며, 동물 실험 등 후속연구를 통해 적백하오관중탕의 정확한 효과와 기전을 입증할 필요가 있을 것으로 생각된다. 향후 임상에서 항노화 및 수명 연장을 위한 적백하오관중탕의 다양한 활용을 위하여 앞으로 보다 많은 추가적인 연구를 기대한다.

結 論

적백하오관중탕 증류액이 노화 흰쥐 비장세포의 면역 활성에 미치는 영향을 알아보기로 성장기(10주령), 초기노화기(52주령) 및 말기노화기(72주령) SD rat의 비장세포에 적백하오관중탕(JGT) 증류액을 처리하고 IL-2, IL-4, IL-10, IFN- γ 의 함량을 측정하여 분석한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 52주령 JGT군에서 대조군 및 Vit.C군에 비하여 IL-2, IFN- γ 의 농도가 유의하게 감소하였다.
2. 72주령 JGT군에서 대조군에 비하여 IFN- γ 의 농도가 유의하게 감소하였다.

참고문헌

1. Cho JY. Geriatric medicine. 2nd edition. Seoul : HanKook Book. 2006:40-41.
2. Koo BS. Anti-Aging medicine basic principles and clinical practice. Seoul : Calvin Book. 2003:37-44.
3. Kang TS, Kim SH, Kim YH, Kim YK, Kim YH, Kim YH. Clinical Immunology. Seoul : ChungGuMoonHwaSa. 2005:11-23.
5. Kim KH. Preventive Oriental Medicine. Seoul: SeoWonDang. 2002:405-480.
6. Choi BC, Ahn TW. Anti-Oxidant Effect of Hyangsangyitang Decoction in Stomach,

- Spleen and Pancreas Cell of SD Rats. *J Sasang Constitut Med.* 2008;20(2):72-84.
7. Lee HE, Ahn TW. Anti-Oxidant Effect of Hyeongbangjiwhang-tang Decoction in Kidney, Bladder and Spleen cell of SD Rats. *J Sasang Constitut Med.* 2008;20(2):85-97.
 8. Lee SY, Ahn TW. Anti-aging Effect of Tae-Eumin's Nocyongdaebo-tang(NYD) in Aged Rats. *J Sasang Constitut Medicine.* 2008;20(2): 58-71.
 9. Sun TC, Ahn TW. Anti-aging Effect of Sipyimigwanjungtang in Aged Rats. *J Sasang Constitut Medicine.* 2008;20(2):98-110.
 10. Ryu CR, Song JM. Immunoregulatory Action Soeumin Seungyangikkittang. *J Sasang Constitut Med.* 2001;13(3):102-113.
 11. Lim JP, Ahn TW. The Anti-Oxidant and Immune-regulatory Effect of Chungsimyeonja-tang in Aged Rat. *J Sasang Constitut Med.* 2007;19(3):227-241.
 12. Ryu JY. Four-Constitution Medicine Lecture. Gyeonggi-do : Daesung Publishing Co. 2003:407.
 13. United Nations Development Programme. Human Development Report 2014. New York : UNDP. 2014;160.
 14. Son JR. Free radical & Antioxidant. Seoul : Biomedical. 2004 : 130.
 15. Jang HS. Adult psychology: Adult development, aging & death. Seoul : ParkYoungSa. 2006:78.
 16. Lim IS. The Approach of Antioxidant, Endocrine, & Immune System on Exercise & Aging. *Exercise Science.* 2002;11(1):35-51.
 17. Kim YD. The newest Immunity. Seoul : JipMoonDang. 1982:33.
 18. Choi YH. The elderly and health. Seoul : HyunMoonSa. 2000:4-5,38-45.
 19. Du HK. Oriental Kidney System Internal Medicine. Seoul : Institute of the oriental science. 1991: 1093-1100, 1325-1383.
 20. Lim EM, Lee SH. Oriental Medicine looked at the concept of immune. *The Journal of the Korea Institute of Oriental Medical Informatics.* 2006;12(1):129-145.
 21. Shin HI. an annotated edition of Longevity and Life Preservation in Eastern Medicine : Sang. Gyeonggi-do : Daesung Publishing Co. 2003: 50-51, 616-617
 22. Jang EC, Youn WK, Lee SK. Effect of Age on Glucose Metabolism of Skeletal Muscle in Rats. *Yeungnam Univ. J. of Med.* 2001;18(1): 94-100.
 23. Park SK, Lee HJ, Kim HT, Whang WW. An experimental study of oriental medicine on cure for dementia : the effect of Jowiseungcheongtang and Hyungbangjihwangtang on cure for aged rats. *J. of Oriental Neuropsychiatry.* 1998;9(2): 19-35.
 24. Pyo SN, Son EH. Introduction to Immunology. Seoul : ShinIlBooks. 2008: 145-158.
 25. Lee GN, Kwon OH. Clinical Laboratory File. 3rd edition. Seoul : Medical Publisher. 2003: 716-732.
 26. Kasper DL, Braunwald E, Fauci AS, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, et al. Harrison's Internal Medicine. 1st Ed. Seoul:MIP Publishers. 2006:2079-2107.
 27. Pyo SN, Son EH. Introduction to Immunology. Seoul:Shinil Books. 2008:152-158.
 28. Seo S. Clinical Immunology. 2nd edition. Seoul:Korea Medical Book Publisher. 2009:121, 126-131.