

소청룡탕이 LPS로 유도된 폐손상 동물모델에 미치는 영향

진보람^{1#}, 최인영², 황도영², 함성호², 안효진^{1*}

1 : 상지대학교 한의과대학 약리학교실, 2 : 한국한약진흥원 한약재표준화팀

The effects of Socheongryong-Tang on LPS-induced lung inflammation rats model

Bo-Ram Jin^{1#}, In Young Choi², Do Young Hwang², Seong-Ho Ham², Hyo-Jin An^{1*}

1 : Department of Pharmacology, College of Korean Medicine, Sangji University, 83 Sangjidae-gil, Wonju-si, Gangwon-do 26339, Republic of Korea

2 : Korean Medicinal Herbs Standardization Team, National Institute for Korean Medicine Development, 288, Udeuraendeu-gil, Anyang-myeon, Jangheung-gun, Jeollanam-do, Republic of Korea

ABSTRACT

Objectives : In present study, we investigated a therapeutic effect and optimum dose of Socheongryong-Tang (SCT) on LPS-induced lung inflammation rats model.

Methods : Male Sprague-Dawley rats (260 ± 10 g) were divided into 12 groups : Group 1 included the normal rats, and Group 2-12 were administrated LPS by intranasal injection to induce experimental lung inflammation. After 1 day of LPS administration, Group 3-9 were treated with SCT × 1/4, × 1/2, × 1, × 3, × 6, × 12 or × 18, respectively. Group 10-12 (positive control) were treated with dexamethasone 1 mg/kg or acetylcystein 1.5 mg/kg or diclofenac sodium 0.4 mg/kg, respectively. After sacrifice, bronchoalveolar lavage fluid (BALF) was isolated. The levels of IL-1β, TNF-α, mucin glycoprotein 5AC (MUG5AC) were measured in BALF using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

Results : LPS injected rats exhibited outstanding lung inflammation manifestations, including increased amount of total cells and neutrophil, and upregulated inflammatory cytokines level in BALF. However, the administration of SCT × 1/4, × 1/2 and × 1 decreased total cells and neutrophil, and suppressed the production of inflammatory cytokines, including IL-1β and TNF-α, and MUG5AC in BALF. Notably, inhibitory effect of SCT × 1/2 and × 1 on the level of TNF-α was markedly better than that of positive controls, dexamethasone and acetylcystein.

Conclusions : Taken together, these results suggest that SCT × 1/2 and × 1 has therapeutic effects on LPS-induced lung inflammation rats model.

Key words : Socheongryong-Tang, LPS-induced lung inflammation rats model, SD rats

I. 서 론

소청룡탕(小青龍湯)은 동의보감에서 “상한(傷寒)에 걸을 풀지 못하고 심하(心下)에 수기(水氣)가 있어 건구역을 하며, 기가 역(逆)하고 열이 나며, 해수천식(咳嗽喘息)하는 증세를 치료한다”고 하였으며, 『傷寒論·辨太陽病脈證并治中』에 처음 등

장하는 처방으로 麻黃, 半夏, 五味子, 芍藥, 細辛, 桂枝, 甘草, 乾薑로 구성되어 解表化飲하고 止咳平喘하는 효능으로 外感風寒에 水飲이 內停되어 나타나는 惡寒發熱, 無汗, 咳喘痰多, 痰飲咳喘으로 편하게 누울 수 없는 것, 身體痛重, 頭面四肢浮腫 등의 증상이 나타나는데 사용하는 처방이다. 한편 건강보험(2016년도 기준)에서는 감기 등 호흡기질환(감기, 콧물, 재채기,

*Corresponding Author : Hyo-Jin An, Department of Pharmacology, College of Korean Medicine, Sangji University, 83 Sangjidae-gil, Wonju-si, Gangwon-do 26339, Republic of Korea.

· Tel : +82-33-738-75036 · Fax : +82-33-730-0679 · E-mail : hjan@sj.ac.kr

#First author : Bo-Ram Jin, Department of Pharmacology, College of Korean Medicine, Sangji University, 83 Sangjidae-gil, Wonju-si, Gangwon-do 26339, Republic of Korea.

· E-mail : wlsqh92@gmail.com

· Received : 22 Aug 2019 · Revised : 09 Sep 2019 · Accepted : 25 Sep 2019

기침, 숨 실 때의 가슴통증, 멍치 통증, 비염, 급만성 인두염, 인플루엔자, 천식, 폐렴, 늑막염, 폐부종)과 사세불명의 호흡 기장에 및 기관, 기관지 및 폐 양성신생물과 같은 적응증을 제시하고 있다.

본 처방에 대한 연구들을 종합해 보았을 때 한국과 중국에서 천식과 폐 손상 개선에 관한 연구가 꾸준히 진행된 것을 확인할 수 있었다. 중국에서는 천식 개선에 관한 연구가 폐 손상에 관한 연구보다 3배 정도 많으며, 더불어 알러지성 비염, 면역 조절 등에 관한 연구가 진행된 바 있다. 한국에서는 알러지 개선과 면역조절에 관한 연구, 일본에서는 알러지 개선, 인플루엔자 개선에 대한 연구결과가 주로 보고되었다¹⁾.

이전 국내 연구결과에 따르면 소청룡탕의 경구투여가 실험 동물에서 기관지 확장 작용과 항히스타민 작용을 동시에 가지고 있어 프레드니솔론과 병용투여 Th2 관련 cytokine을 억제하면서 천식 개선에 매우 효과적임을 확인하였다²⁾. 또한 Compound 48/80으로 유발한 anaphylaxis 마우스 모델에서 소청룡탕 투여에 의한 혈청 내 히스타민의 용량의존적(물엑스 0.001 ~ 1 g/kg) 억제를 확인함에 따라 mast cell 관여 알러지 질환에서의 소청룡탕의 개선효과를 확인하였으며³⁾, elastase로 유발한 기관지염 모델에서의 조직 수복효과⁴⁾, ovalbumin (OVA)로 유발한 알러지성 비염모델에서 비강점막 내 비만세포의 침윤억제를 통한 염증 개선효과⁵⁾, OVA로 유발한 천식 모델에서 폐포세척액 (bronchoalveolar fluid, BALF) 내 IL-4 생성 억제 및 기관지 내 염증세포의 침윤 억제효과를 확인한 바 있다⁶⁾.

국외 연구결과를 조사한 결과, 소청룡탕의 influenza 및 coxsackie virus에 대한 항바이러스 효과⁷⁾와 더불어 fluticasone 흡입제를 이용하는 천식 환자에게 소청룡탕을 병용투여 했을 때 혈중 IL-16이 현저히 감소 됨에 따라 소청룡탕이 중증 천식 환자에게 유효함을 확인하였으며⁸⁾, 경구투여한 소청룡탕의 histamine 유리 억제에 따른 항알러지 효과를 확인하였다⁹⁾.

소청룡탕의 구성약재 중 하나인 麻黃은 발한해표(發汗海表), 윤폐지해(潤肺止咳), 이수소종(利水消腫)의 효능을 가지는 약재로서 마황의 대표 성분인 ephedrine은 교감신경 절후 섬유의 말단에 있는 adrenergic α , β 수용체에서 norepinephrine의 유리촉진으로 그 효력을 강화함으로써 간접적인 교감신경 흥분작용을 나타낸다¹⁰⁾. 半夏는 조습화담(燥濕化痰), 강역지구(降逆止嘔), 소비산결(消痞散結)의 효능을 가지는 약재로서 이를 이용한 연구결과로 OVA 유도 천식 모델에서의 개선 효과¹¹⁾, 반하에 함유된 지방산인 pinellic acid의 nasal influenza virus vaccin 병용사용에 대한 항바이러스성 IgA 및 IgG 상승 효과¹²⁾가 확인된 바 있다. 五味子是 收斂藥 중 澀精宿尿止帶藥으로서 수렴고삼(收斂苦澀), 익기생진(益氣生津), 보신영심(補腎寧心)하여 폐허해수(肺虛咳嗽), 구건작갈(口乾作渴), 자한(自汗), 도한(盜汗), 몽정(夢精), 활정(活精), 구사구리(久瀉久痢)를 치료하는데 이용하는데, 흡연에 노출된 기니피그에서 기침과 가래 및 호흡기염증지표를 조사한 결과 오미자 에탄올엑스 및 에탄올수용액 추출물이 물엑스에 비해 월등한 호흡기 질환 개선효과를 보임을 확인한 바 있다¹³⁾. 芍藥은 補血藥으로서 養血柔肝, 緩中止痛, 斂陰收汗의 효력을 가지고 있으며, 작약 물엑스 단미제에 대한 기존 연구결과는 극히 적은 양이나, 항

우울효과, 염산-에탄올 유발 위궤양의 개선효과, 관절염 개선 및 죽상동맥경화증 개선 효과가 보고된 바 있다¹⁴⁻¹⁷⁾. 細辛은 解表藥으로서 해표산한(解表散寒), 거풍지통(祛風止痛), 통규(通竅), 온폐화음(溫肺化飲)의 효력을 가지고 있으며, 물엑스에 대한 연구는 그리 많지 않다. 세신에 함유되어있는 성분인 α -, β -asarone은 바이러스 성장 억제를 통해 호흡기감염을 억제시키고 기침반사신경 억제를 통해 기침을 멎게 한다고 알려져 있으나, 세신은 발암성 및 신장염을 유발하는 성분을 많이 함유하고 있으므로 유효성과 안전성에 대한 충분한 연구가 필요하다 사료된다¹⁸⁻²¹⁾. 桂枝는 辛溫解表藥으로서 산한해표(散寒解表), 온통경맥(溫通經脈)의 작용을 가진 發散風寒藥으로서 관절비통(關節痹痛), 발한해기(發汗解肌), 풍한감모(風寒感冒), 완복냉통(腕腹冷痛), 혈한경폐(血寒經閉), 담음(痰飲), 심계(心悸), 수종(水腫), 분돈(奔豚)등을 치료하는데, 이 역시 물엑스에 대한 연구는 많지 않다. 계지의 약동학 및 경구투여에 의한 효력과 관련한 성분은 eugenol, cinnamaldehyde류, methyleugenol 등 정유와 cinnamic acid, 2-methoxycinnamic acid, 2-methoxycinnamaldehyde 등 페닐성 화합물로서 항염 항균, 혈관확장에 의한 혈압저하 및 심근부담의 완화 효력이 알려져 있다²²⁻²⁴⁾. 灸甘草는 감초를 그대로 불에 볶아서 만든 것으로 온도 및 가열시간을 다양하게 변경하여 연구한 결과 감초의 주요 성분인 glycyrrhizin은 glycyrrhetic acid로, liquiritin이 liquiritigenin으로 변화됨을 확인하였다. 이는 감초의 약성변화를 가져올 것으로 여겨지나 이들 성분 모두 물로 추출했을 때 그 전구물질에 비해 물에 난용성이므로 물 엑스를 이용한 효력연구가 앞으로 더 진행되어야 할 것으로 사료된다²⁵⁻²⁷⁾. 乾薑의 본초학적 효력인 산한해표(散寒解表), 온중지구(溫中止嘔), 화담지해(化痰止咳)와 관련하여 6-, 8-, 10-gingerol과 6-shogaol 및 생강 특유 방향성분인 citral의 소화관 내 진토 및 진경작용, citronellol의 호흡기에 대한 작용효과가 연구된 바 있다. 생강을 한약 제제 조제 시 첨가하는 것은 합성 약물 투약 시 함께 투약되는 소화제 또는 부형제의 역할로서 6-, 8-, 10-gingerol과 6-shogaol이 발휘하는 위산분비 억제 효과와 관련하여 한약 유래 성분에 의한 위장장애 또는 소화 장애를 개선하기 위한 것으로 사료된다²⁸⁻³¹⁾.

소청룡탕 및 구성 약재에 대한 기존 연구결과를 바탕으로, 본 연구에서는 풍한(風寒)에 의한 콧물 및 맑은 가래, 열이 발생하는 바이러스성 감기에 대한 소청룡탕의 개선 효과를 주로 다루고자 하였다. 또한 임상에서 발한(發汗)과 점액분비 억제, 및 구토성 기침(목이 간지러우며 격심한 기침)의 증상에 소청룡탕이 사용된다는 점을 감안하여, LPS로 유도한 폐렴 동물 모델에서 소청룡탕 투약에 따른 개선능을 확인하고자 하였다. 이에 실험동물 기관지에 LPS를 주입하여 나타나는 폐조직 손상 및 염증반응에 대하여 소청룡탕 투약에 의한 BALF에서의 염증마커 억제능을 확인하고자 하였다. 따라서 본 연구를 통해 첫째로 단미혼합제제로서 바이러스 연계 풍한(風寒)과 관련한 실험모델에서 소청룡탕의 용법 및 용량의 근거를 마련하고자 하였으며, 둘째로 기존에 연구된 바 있는 소청룡탕의 기전과 구성 약재의 효력정보를 바탕으로 신규효력실험을 진행하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 실험물질

소청룽탕은 (주) 경방신약 (대한민국, 인천광역시)에서 혼합 단미엑스제형인 경방소청룽탕정 (제조번호 : H71501502)을 구매하여 사용하였다. dexamethasone (Enzo, USA), diclophenac · Na (Sigma, USA), LPS (Escherichia coli 026:B6, Sigma, USA), acetylcystein (Enzo, USA), TNF- α (R&D systems, USA), IL-1 β (R&D systems, USA), MUC5AC (CUSABIO, USA)는 구매하여 사용하였다.

2. 실험동물

본 실험에서는 7주령 SPF (Specific Pathogen-Free) SD계 랫드를 (주) 오리엔트바이오에서 분양받아 사용하였다. 수컷 SD 랫드 (250~270g)을 3마리씩 케이지에 넣고 일주일 동안 온도 21±1℃, 상대습도 50~55% 조명 시간 12시간/일 (08시 점등~20시 소등), 환기 횟수 10~20회/시간, 조도 150~300 Lux의 사육환경에서 적응시켰다. 사료는 실험동물용 고품사료를 사용하였으며, 동물에게 공급은 급이기에 넣어 자유 섭취시켰다. 급수의 경우 공급은 급수병을 통해 자유 섭취시켰다.

3. 실험군의 구성과 약물투여

랫드를 CO₂로 약하게 마취를 하고 LPS (E. coli 026:B6, 100 μ g/200 μ l/rat, saline, 37℃)를 intra nasal 방법으로 주입하였다. LPS 처리 1일 후부터 약물을 용량에 맞춰 1일 3회, 1주일간 경구 투여하였으며, 대조약물로 스테로이드성 소염제 dexamethasone (1 mg/kg, 1일 1회), 진해거담제 acetylcystein (1.5 mg/kg, 1일 3회), 비스테로이드성 소염제 diclofenac · Na (0.4 mg/kg, 1일 3회)을 각각 물에 현탁하여 경구 투여 하였다. 소청룽탕은 사람 기준량 (133 mg/kg, 성인 60 kg기준)을 랫드 기준량 40 mg/kg (랫드 250 g 기준)으로 환산하고 1x로 표기하였으며, 1/4배 (10 mg/kg, \times 1/4), 1/2배 (20 mg/kg, \times 1/2), 1배(40 mg/kg, \times 1), 3배 (120 mg/kg, \times 3), 6배 (240 mg/kg,

\times 6), 12배 (480 mg/kg, \times 12), 18 배 (720 mg/kg, \times 18)량을 물에 현탁하여 1일 3회, 4시간 간격으로 투약하였다.

4. BALF 채취 및 세포 분석

랫드 6마리씩을 CO₂ chamber에 넣어 질식사시키고, 기도를 확보하여 카테터를 삽입한 뒤, 차가운 PBS 2 ml로 3 회 왕복 세척하여 얻은 BALF을 4℃에서 10 분간 1,200 rpm으로 원심 분리하여 상층액과 침전층을 분리하였다. 원심분리한 침전층을 다시 PBS로 현탁하고 hemocytometer를 사용하여 총 cell 수를 측정하였다. Wright-Giemsa stain을 실시하여 neutrophil 수를 산출하여 세포 수 비율로 표시하였다.

5. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

BALF 상층액을 이용하여 Bradford법에 따라 총 단백질을 정량하고, IL-1 β , TNF- α , mucin glycoprotein 5AC (MUG5AC)의 양을 ELISA법으로 정량하였다.

6. 통계처리

실험에서 얻은 모든 결과는 one-way analysis of variance (ANOVA) with Dunnett's test를 사용하여 통계 처리하였고, mean \pm S.E.로 나타내었다. 분석 결과 간 유의성은 P < 0.05 수준에서 GraphPad Prism을 사용하여 검정하였다.

III. 결 과

1. 폐포 세척액 내 총 세포 수 발현의 변화

폐포 세척액 내 총 세포 수를 측정하여 각 군별 발현량을 비교하였다. 질병유도군인 Con 그룹에서 폐포세척액 내 총 세포수의 증가를 확인하였으며, 소청룽탕 저농도 투여군 및 대조약물군에서 그 수가 감소하는 것을 확인할 수 있으나 유의성은 없었다 (Table 1).

Table 1. Effect of SCT on extents of total cells in BALF from LPS-induced lung inflammation rats model.

Extents of total cells in BALF (cells/ml in BALF)										
LPS-induced lung inflammation rats										
Con	SCT							Positive control		
	\times 1/4	\times 1/2	\times 1	\times 3	\times 6	\times 12	\times 18	A	B	C
17	14.8	13.2	14.9	16.1	16.1	17.1	17.1	13	10	12
\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm
10.7	2.9	1.1	6.8	3.6	4.5	3.5	7.9	6.5	1.8	2.7

Con : LPS-induced lung inflammation rats, \times 1/4 : LPS-induced lung inflammation rats treated with SCT 10 mg/kg, \times 1/2 : LPS-induced lung inflammation rats treated with SCT 20 mg/kg, \times 1 : LPS-induced lung inflammation rats treated with SCT 40 mg/kg, \times 3 : LPS-induced lung inflammation rats treated with SCT 120 mg/kg, \times 6 : LPS-induced lung inflammation rats treated with SCT 240 mg/kg, \times 12 : LPS-induced lung inflammation rats treated with SCT 480 mg/kg, \times 18 : LPS-induced lung inflammation rats treated with SCT 720 mg/kg, A : LPS-induced lung inflammation rats treated with Dexamethasone 1 mg/kg, B : LPS-induced lung inflammation rats treated with Acetylcystein 1.5 mg/kg, C : LPS-induced lung inflammation rats treated with Diclofenac · Na 0.4 mg/kg. All data are mean \pm SD (n = 5). Significance was determined using ANOVA and Dunnett's post hoc test.

2. 폐포 세척액 내 호중구 수 발현의 변화

폐포 세척액을 이용하여 각 군별 폐포 세척액 내의 neutrophil 함량을 측정하였다. 질병유도군인 Con 그룹에서 폐포세척액

내 neutrophil 수의 증가를 확인하였으며, 소청롱탕 저농도 투여군 및 대조약물군에서 그 수가 감소하는 것을 확인할 수 있었으나 유의성은 없었다 (Table 2).

Table 2. Effect of SCT on extents of neutrophil in BALF from LPS-induced lung inflammation rats model.

Extents of neutrophil in BALF (cells/ml in BALF)										
LPS-induced lung inflammation rats										
Con	SCT							Positive control		
	× 1/4	× 1/2	× 1	× 3	× 6	× 12	× 18	A	B	C
4,25 ± 1,5	3,8 ± 1,25	3,6 ± 1,65	3,5 ± 0,4	3,8 ± 0,2	4 ± 0,9	4,15 ± 1,7	4,3 ± 1,8	3,6 ± 1,05	3,01 ± 0,5	3,25 ± 1,256

Con : LPS-induced lung inflammation rats, × 1/4 : LPS-induced lung inflammation rats treated with SCT 10 mg/kg, × 1/2 : LPS-induced lung inflammation rats treated with SCT 20 mg/kg, × 1 : LPS-induced lung inflammation rats treated with SCT 40 mg/kg, × 3 : LPS-induced lung inflammation rats treated with SCT 120 mg/kg, × 6 : LPS-induced lung inflammation rats treated with SCT 240 mg/kg, × 12 : LPS-induced lung inflammation rats treated with SCT 480 mg/kg, × 18 : LPS-induced lung inflammation rats treated with SCT 720 mg/kg, A : LPS-induced lung inflammation rats treated with Dexamethasone 1 mg/kg, B : LPS-induced lung inflammation rats treated with Acetylcystein 1.5 mg/kg, C : LPS-induced lung inflammation rats treated with Diclofenac · Na 0.4 mg/kg. All data are mean ± SD (n = 5). Significance was determined using ANOVA and Dunnett's post hoc test.

3. 폐포 세척액 내 염증성 사이토카인 IL-1β 발현 함량의 변화

ELISA를 이용하여 IL-1β 사이토카인의 발현량을 측정하였다. 질병유도군인 Con 그룹의 IL-1β의 생성량은 Nor군과 비교하여 유의성있게 증가하였다. 한편, 증가된 IL-1β 사이토카인의 생성량은 소청롱탕 × 1/4, × 1/2 농도 투여군 및 양성대조군에서 눈에 띄게 감소하였으나, 통계적 유의성은 없었다 (Fig 1).

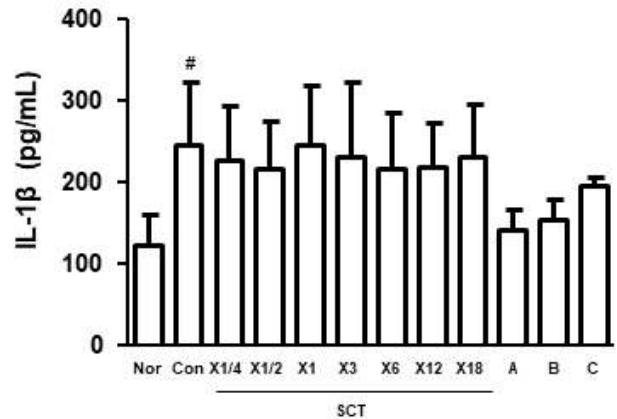


Fig 1. Effect of SCT on IL-1β level in BALF from LPS-induced lung inflammation rats model.

The level of IL-1β was evaluated with ELISA and expressed as mean ± S.D. of 6 rats experimental group. Nor : Normal rats, Con : LPS-induced lung inflammation rats, × 1/4 : LPS-induced lung inflammation rats treated with SCT 10 mg/kg, × 1/2 : LPS-induced lung inflammation rats treated with SCT 20 mg/kg, × 1 : LPS-induced lung inflammation rats treated with SCT 40 mg/kg, × 3 : LPS-induced lung inflammation rats treated with SCT 120 mg/kg, × 6 : LPS-induced lung inflammation rats treated with SCT 240 mg/kg, × 12 : LPS-induced lung inflammation rats treated with SCT 480 mg/kg, × 18 : LPS-induced lung inflammation rats treated with SCT 720 mg/kg, A : LPS-induced lung inflammation rats treated with Dexamethasone 1 mg/kg, B : LPS-induced lung inflammation rats treated with Acetylcystein 1.5 mg/kg, C : LPS-induced lung inflammation rats treated with Diclofenac · Na 0.4 mg/kg. All data are mean ± SD (n = 5). #P < 0.05 vs. Nor group. Significance was determined using ANOVA and Dunnett's post hoc test.

4. 폐포 세척액 내 염증성 사이토카인 TNF-α 발현 함량의 변화

ELISA를 이용하여 TNF-α 사이토카인의 생성량을 측정하였다. Con군의 TNF-α 사이토카인 생성량은 Nor군 대비 유의적으로 증가하였으며, 소청롱탕 × 1/2, × 1, × 12 농도 투여군 및 양성대조군 Diclofenac · Na 투여 그룹에서 유의성 있는 억제 효과를 확인하였다 (Fig 2).

5. 폐포 세척액 내 뮤신당단백 발현 함량의 변화

폐포 세척액 내에서 뮤신분비에 관여하는 뮤신당단백인 MUC5AC의 발현량을 확인하였다. 질병유도군인 Con 그룹에서 정상 그룹 대비 MUC5AC 발현의 유의성있는 증가를 확인하였으며, 소청롱탕 × 1/2, × 1 투여 농도에서 약한 억제 효과를 확인하였으나 통계적 유의성은 없었다. 한편, 양성대조군으로 사용된 양약의 효과가 더 높게 관찰되었다 (Fig 3).

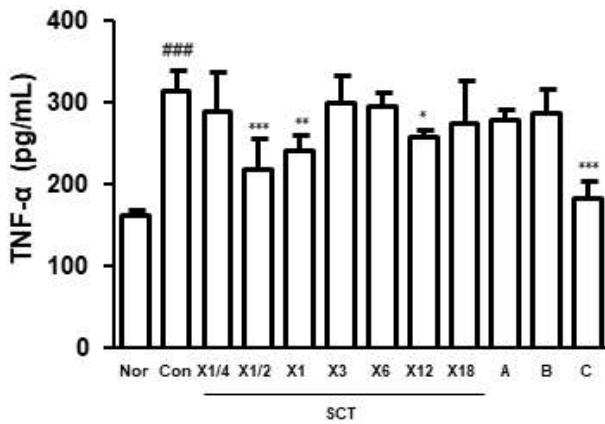


Fig 2. Effect of SCT on TNF- α level in BALF from LPS-induced lung inflammation rats model.

The level of TNF- α was evaluated with ELISA and expressed as mean \pm S.D. of 6 rats experimental group. Nor : Normal rats, Con : LPS-induced lung inflammation rats, X 1/4 : LPS-induced lung inflammation rats treated with SCT 10 mg/kg, X 1/2 : LPS-induced lung inflammation rats treated with SCT 20 mg/kg, X 1 : LPS-induced lung inflammation rats treated with SCT 40 mg/kg, X 3 : LPS-induced lung inflammation rats treated with SCT 120 mg/kg, X 6 : LPS-induced lung inflammation rats treated with SCT 240 mg/kg, X 12 : LPS-induced lung inflammation rats treated with SCT 480 mg/kg, X 18 : LPS-induced lung inflammation rats treated with SCT 720 mg/kg, A : LPS-induced lung inflammation rats treated with Dexamethasone 1 mg/kg, B : LPS-induced lung inflammation rats treated with Acetylcystein 1.5 mg/kg, C : LPS-induced lung inflammation rats treated with Diclofenac · Na 0.4 mg/kg. All data are mean \pm SD (n = 5). ###P < 0.001 vs. Nor group; *P < 0.05, **P < 0.01, ***P < 0.001 vs. Con group. Significance was determined using ANOVA and Dunnett's post hoc test.

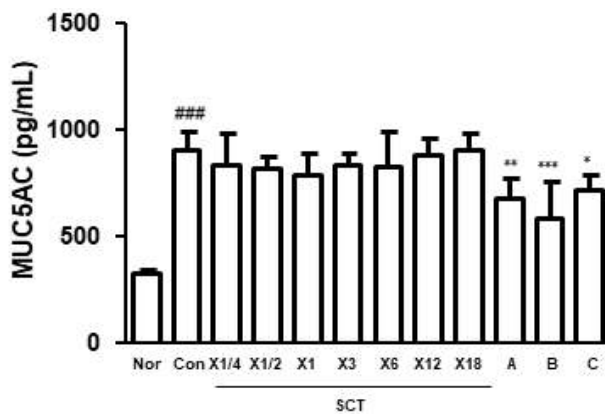


Fig 3. Effect of SCT on MUC5AC level in LPS-induced lung inflammation rats model.

The level of MUC5AC was evaluated with ELISA and expressed as mean \pm S.D. of 6 rats experimental group. Nor : Normal rats, Con : LPS-induced lung inflammation rats, X 1/4 : LPS-induced lung inflammation rats treated with SCT 10 mg/kg, X 1/2 : LPS-induced lung inflammation rats treated with SCT 20 mg/kg, X 1 : LPS-induced lung inflammation rats treated with SCT 40 mg/kg, X 3 : LPS-induced lung inflammation rats treated with SCT 120 mg/kg, X 6 : LPS-induced lung inflammation rats treated with SCT 240 mg/kg, X 12 : LPS-induced lung inflammation rats treated with SCT 480 mg/kg, X 18 : LPS-induced lung inflammation rats treated with SCT 720 mg/kg, A : LPS-induced lung inflammation rats treated with Dexamethasone 1 mg/kg, B : LPS-induced lung inflammation rats treated with Acetylcystein 1.5 mg/kg, C : LPS-induced lung inflammation rats treated with Diclofenac · Na 0.4 mg/kg. All data are mean \pm SD (n = 5). ###P < 0.001 vs. Nor group; *P < 0.05, **P < 0.01, ***P < 0.001 vs. Con group. Significance was determined using ANOVA and Dunnett's post hoc test.

IV. 고찰

바이러스성 폐렴과 세균성 폐렴은 그 진행방법은 다르나 결과적으로 폐 조직 손상과 염증 및 발열을 일으키며 폐렴이 진행되므로 병원체가 존재하는 한 항생제 또는 항바이러스제의 투약이 필요하며, 동일한 폐조직의 수복과정을 보인다. 본 연구에서는 대표적인 폐렴 실험 모델인 LPS 유도 폐렴모델을 사용하여 동물에 폐렴을 유발하고 각 약물을 투약한 다음 이에 대한 개선 효과를 확인하고자 하였다.

기관지에 LPS를 주입하면 기관지 상피세포 및 tight junction에서 myosin light chain이 분해된다. 이에 세포막 투과성이 항진되어 점액 분비가 늘어나고, 폐조직의 myeloperoxidase이 증가하며, 동시에 손상된 조직으로부터 유래하는 P-selectin이 폐조직의 neutrophil infiltration을 유도하면서 염증이 가속화된다. 염증에 의해 혈중 P-selectin, IL-1 β 와 TNF- α , IL-6가 증가되며, 폐포세척액에서는 염증 유도에 따라 염증 관련 세포인 neutrophil과 leucocyte, IL-1 β 와 TNF α , MUC5AC의 발현이 증가한다. 따라서, 실험 동물의 기관지에 LPS를 주입하고 나타나는 병리현상에 대하여 각 약물 투약에 의한 염증마커 발현 변화량을 확인함으로써 약물에 의한 개선 여부를 파악할 수 있다. 이에 본 실험에서는 건강보충용 소청룡탕정의 1회 상용량 (사람 기준상용량 (8g)/체중 (60 kg))을 랫드 무게 대비 투여량으로 환산(x1로 표기)시켜 소청룡탕에 의한 폐렴 개선 여부를 확인하였다.

이전 연구결과에 따르면 소청룡탕은 천식 및 비염 개선 효과, 폐 손상 억제 효과 및 항바이러스효과를 나타낼 뿐만 아니라, bleomycin로 유도한 폐 섬유화 모델에서 치료 효과³²⁾, OA로 유도한 급성 폐 손상 모델에서 thromboxane A2 생성 억제를 통해 급성 호흡곤란 개선 효과를 보였다³³⁾. 더불어 소청룡탕의 항바이러스효과 재규명 연구결과에 따르면, 소청룡탕이 점막 표면의 면역세포를 증식시킴에 따라 비강 및 폐포액 중 바이러스 증식을 현저히 감소시킴을 확인하였으며^{34,35)}, 소청룡탕의 투여가 항알러지 효과를 보이되 진정, 졸림 등 항히스타민제로서의 부작용을 나타내지 않는 것을 확인하였다³⁶⁾. 한편, 소청룡탕의 환자의 체질에 따른 약제성 폐렴 유발 가능성이 보고된 바 있으며, 이 분야에 대한 추가적인 연구가 필요한 상황이다^{37,38)}.

소청룡탕의 증치(證治) 및 구성 약재의 본초학적 효력을 종합해 보았을때 소청룡탕이 반사성 기침, 묽은 가래나 콧물에 사용된 기록을 바탕으로 호흡기의 미생물감염보다는 대체로 알러지 또는 바이러스 질환에 이용되었음을 알 수 있다. 또한 解熱機構가 작동되지 않는 교감신경 억제상태 또는 汗腺에서의 작용이 억제된 상태로부터 비롯된 惡寒發熱과 無汗 증상에 대한 소청룡탕의 사용을 고려해보면, 發汗을 통해 解熱하는 것은 麻黃, 桂枝의 역할로 여겨지고, 항알러지 및 염증개선에는 甘草의 역할로 여겨지며, 기침 및 가래 분비 억제에는 麻黃, 半夏, 細辛, 五味子の 기능, 여기에 生薑은 몸을 따뜻하게 하고 麻黃의 심혈관 부작용을 경감시키는 역할을 하는 것으로 여겨진다.

본 실험에서는 풍한에 의한 콧물과 맑은 가래 및 열이 발생 하는 바이러스성 감기에 대한 소청룡탕의 개선 효과를 주로 다루었다. 임상에서 적용되는 소청룡탕의 주치 및 효능을 바탕으로 소청룡탕의 항알러지효과 및 기관지분비억제, 해열, 발한

및 소염 효과를 주 효력으로 설정하였으며, 이의 호흡기질환 및 유사질환에 대한 적용 가능성을 염두하여, 본 실험에서 LPS성 폐렴에 대한 소청룡탕의 용량 의존적 효력실험 진행함에 따라 적절한 투여량을 예측하고자 하였다.

그 결과, LPS로 유발한 폐 손상에 대해 소청룡탕 저농도 투여군에서 폐포세척액의 세포수 및 neutrophil수 감소를 확인할 수 있었으며 염증성 사이토카인 TNF- α , IL-1 β 의 발현량 감소 및 뮤신단백인 MUC5AC의 억제를 확인하였다. 한편, 소청룡탕 $\times 1/2$ 및 $\times 1$ 농도투여군은 대조약으로 사용된 dexamethason, acetylcystein, diclofenac · Na 투여군에 준하는 효력을 보이지는 않았으나, 소청룡탕 $\times 1/2$, $\times 1$ (제제로서 1.2 및 2.4g/60kg, 성인용량기준) 농도의 투여가 폐포세척액 내 세포수 및 neutrophil수 MUC5AC, IL-1 β 의 발현을 억제하고, 특히 TNF- α 의 발현을 유의적으로 억제하였다.

한편, 본 실험결과에 따르면 소청룡탕 고농도의 투여가 폐포세척액 내 총 세포수, 호중구 수 및 염증성 사이토카인 발현량을 유지 혹은 증가시키는 것을 확인할 수 있었다. 이는 복합 처방을 구성하고 있는 다양한 성분 및 이들의 상호작용에 따른 약물효능예측의 한계로 생각되어지며, 이에 본 연구에서는 다양한 농도군을 설정하여 소청룡탕 투여 용량의 근거를 마련하고자 하였다.

결론적으로 LPS로 유도된 폐손상에 대해 소청룡탕정의 개략적 투여량을 20 및 40 mg/kg으로 제시하는 바이며, 소청룡탕을 폐렴 질환 치료제로써 적극적으로 활용할 수 있으리라 사료된다.

V. 결 론

소청룡탕의 LPS 유도 폐렴모델에서 염증개선효과 확인 실험을 수행한 결과 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. LPS로 유발한 폐손상에 대해서 소청룡탕 저농도 투여는 폐포세척액의 세포수, neutrophil 수 감소를 보였다.
2. 소청룡탕 저농도 투여군은 대조약으로 사용된 dexamethason, acetylcystein, diclofenac · Na 투여군에 준하는 효력을 보이지는 않았으나, 염증성 사이토카인 IL-1 β 의 분비를 감소시키고 뮤신단백인 MUC5AC을 약하게 억제하였다.
3. 폐포세척액 내 TNF- α 의 양을 확인했을 때, 랫드에서는 소청룡탕 $\times 1/2$, $\times 1$ (20, 40 mg/kg, 제제로서 1.2 ~ 2.4 g / 성인 60 kg 용량기준) 농도에서 최대 효력을 발휘하였다.

이상으로 본 실험결과를 통해, 소청룡탕이 폐렴 질환의 개선에 도움을 줄 수 있음을 확인할 수 있었으며, 투여 용량에 있어서는 임상에서 사람에 대한 상용량이나 1/2 용량에서 최대 효과를 나타내는 것을 확인하였다. 추가 연구를 통하여 결정해야겠으나, 현재 사용량보다 감량하거나 현재 용량으로의 투여가 적절한 것으로 판단되며, 추가적인 용량 결정실험과 기전

연구를 통해 소청룡탕을 폐렴 질환 치료제로써 적극적으로 활용할 수 있으리라 사료된다.

Acknowledgement

This work was supported by a grant from Pharmacological Standardization Project of Traditional Korean Medicine by Ministry of Health and welfare (MOHW) and JeollaNamdo, Republic of Korea.

References

1. Kim JH, Shin HK. Analysis of Biological Experiment on Socheongryong-tang (Xiaoqinglong-tang). *Journal of Korean Oriental Medicine*. 2012; 33(3) : 54-73.
2. Kim HW. Combination treatment with Socheongryong-Tang, a herbal medicine, and prednisolone reduces inflammation and hyperresponsiveness of the airway in asthmatic mice :via regulation of Th2 skewing cytokines and antigen specific antibody production. Graduate School of Dongshin University. 2007.
3. Kim KY, Lee JH, Kim YJ, Choi SY, Kim TH, Lyu YS, Kang HW. Anti-allergic Effects of Socheongryong-tang on RBL-2H3 Mast Cell and Mice-mediated Allergy Model. *Journal of physiology & pathology in Korean Medicine*. 2007; 21(5) : 1260-1270.
4. Lee JG, Yang SY, Kim MH, Namgung U, Park YC. Protective Effects of Socheongryong-tang on Elastase-Induced Lung Injury. *Journal of Korean Oriental Medicine*. 2011; 32(4) : 83-99.
5. Kim IH, Ku JM, Hur HS, Na CH, Jang BH, Shin YC, Ko SG. Anti-allergic effects of So-Cheong-Ryong-Tang in ovalbumin-induced allergic rhinitis model. *Journal of Society of Preventive Korean Medicine*. 2014; 18(3) : 69-80.
6. Kim HY. Effects of Socheongryong-Tang on Inflammatory Cells in Asthmatic Mice. *Journal of Society of Preventive Korean Medicine*. 2006; 10(2) : 121-129.
7. Ma LL, Ge M, Wang HQ, Yin JQ, Jiang JD, Li YH. Antiviral Activities of Several Oral Traditional Chinese Medicines against Influenza Viruses. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2015; 2015 : 367250.
8. Zhang X, Wang L, Shi Q. Effect of fluticasone inhalation combined with xiaoqinglong decoction on pulmonary function and serum interleukin-16 level in asthma patients. *Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi*. 2003; 23(6) : 426-9.
9. Li Y, Wu J, Wu X. Effect of xiaoqinglong decoction

- drug-serum on degranulation and histamine releasing of peritoneal mastocyte in sensitized rats. Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi. 2000; 20(1) : 40-2.
10. Woollorton E, Sibbald B. Ephedra/ephedrine: cardiovascular and CNS effects. CMAJ. 2002; 166(5) : 633.
 11. Song J, Park YC. Effects of Pinelliae Rhizoma on immunocyte and cytokine production in asthma model mouse. Journal of korean oriental internal medicine. 2005; 26(1) : 156-168.
 12. Nagai T, Shimizu Y, Shirahata T, Sunazuka T, Kiyohara H, Omura S, Yamada H. Oral adjuvant activity for nasal influenza vaccines caused by combination of two trihydroxy fatty acid stereoisomers from the tuber of Pinellia ternata. Int Immunopharmacol. 2010; 10(6) : 655-61.
 13. Zhong S, Nie YC, Gan ZY, Liu XD, Fang ZF, Zhong BN, Tian J, Huang CQ, Lai KF, Zhong NS. Effects of *Schisandra chinensis* extracts on cough and pulmonary inflammation in a cough hypersensitivity guinea pig model induced by cigarette smoke exposure. J Ethnopharmacol. 2015; 165 : 73-82.
 14. Lee TH, Min NK. Effects of Paeoniae Radix Rubra on CRF, c-Fos and TH in the Forced Swimming Test, The Korea journal of herbology. 2010; 25(4) : 61-67.
 15. Bae JY, Kim CY, Kim HJ, Park JH, Ahn MJ. Differences in the chemical profiles and biological activities of *Paeonia lactiflora* and *Paeonia obovata*. J Med Food. 2015 ; 18(2) : 224-32.
 16. Jiang D, Chen Y, Hou X, Xu J, Mu X, Chen W. Influence of *Paeonia lactiflora* roots extract on cAMP-phosphodiesterase activity and related anti-inflammatory action. J Ethnopharmacol. 2011; 137(1) : 914-20.
 17. Li J, Chen CX, Shen YH. Effects of total glucosides from paeony (*Paeonia lactiflora* Pall) roots on experimental atherosclerosis in rats. J Ethnopharmacol. 2011; 135(2) : 469-75.
 18. Jo SE, Kang JH, Lee H. The Immuno-modulatory Effect of Root of Asarum sieboldii Miq. Water Extract on OVA-induced Asthma, Journal of Korean acupuncture & moxibustion medicine society. 2016; 33(1), 23 - 36.
 19. Unger P, Melzig MF. Comparative study of the cytotoxicity and genotoxicity of alpha- and Beta-asarone. Sci Pharm. 2012; 80(3) : 663-8.
 20. Chen QX, Miao JK, Li C, Li XW, Wu XM, Zhang XP. Anticonvulsant activity of acute and chronic treatment with α -asarone from *Acorus gramineus* in seizure models. Biol Pharm Bull. 2013 ; 36(1) : 23-30.
 21. Yu Z, Liang Y, Liang W., Development and evaluation of α -asarone transdermal patches based on hot-melt pressure-sensitive adhesives. AAPS PharmSciTech. 2013; 14(1) : 294-300.
 22. Yang GE. Effect of the water extract of cinnamon on Lipopolysaccharide-Stimulated Inflammatory Response and Macrophage Activity. Graduate School of kyunghee University. 2007.
 23. Zheng FH, Wei P, Huo HL, Xing XF, Chen FL, Tan XM, Luo JB. Neuroprotective effect of gui zhi (ramulus cinnamomi) on ma huang- (herb ephedra-) induced toxicity in rats treated with a ma huang-gui zhi herb pair. Evid Based Complement Alternat Med. 2015; 2015 : 913461.
 24. Li X, Jiang YH, Jiang P, Yang JL, Ma DF, Yang CH. Effect of Guizhi Decoction on heart rate variability and regulation of cardiac autonomic nervous imbalance in diabetes mellitus rats. Chin J Integr Med. 2014; 20(7) : 524-33.
 25. Seo CS, Kim JH, Shin HK, Hwang SY, Kim BS. Quantitative Analysis of the Marker Components in Glycyrrhizae Radix et Rhizoma by Processing Method. Journal of Haehwa Medicine. 2014; 23(1). 93-104.
 26. Kim NJ, Jin YH, Hong ND. Studies on the Processing of Crude Drugs (4) - Physico - chemical Transformation of Glycyrrhizin in Glycyrrhizae Radix by Processing. Korean Journal of Pharmacology. 1995; 26(1) : 31-39.
 27. Kim NJ, Hong ND. Studies on the Processing of Crude Drugs (V) - On the Constituents and Biological Activities of Glycyrrhizae Radix by Processing. 1996; 27(3), 196-206.
 28. Kim JS, Koh MS, Kim YH, Kim MK, Hong JS. Volatile Flavor Components of Korean Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). 1991; 23(2) : 141-149.
 29. Arslan M, Ozdemir L. Oral intake of ginger for chemotherapy-induced nausea and vomiting among women with breast cancer. Clin J Oncol Nurs. 2015; 19(5) : E92-7.
 30. Adib-Hajbaghery M, Hosseini FS. Investigating the effects of inhaling ginger essence on post-nephrectomy nausea and vomiting. Complement Ther Med. 2015; 23(6) : 827-31.
 31. Micklefield GH, Redeker Y, Meister V, Jung O, Greving I, May B. Effects of ginger on gastroduodenal motility. Int J Clin Pharmacol Ther. 1999; 37(7) : 341-6.
 32. Yang CQ, Sun PY, Ding DZ, Moriuchi H, Ishitsuka Y, Irikura M, Irie T. The ethical Kampo formulation Sho-seiryu-to(TJ-19) prevents bleomycin-induced

- pulmonary fibrosis in rats. *Biol Pharm Bull*. 2010; 33(8): 1438-42.
33. Yang CQ, Ishitsuka Y, Moriuchi H, Golbidi S, Jin ZJ, Irikura M, Irie T. Protection afforded by a herbal medicine, Sho-seiryu-to (TJ-19), against oleic acid-induced acute lung injury in guinea-pigs. *J Pharm Pharmacol*. 2009 ;61(7): 925-32.
 34. Yamada H, Nagai T. In vivo antiinfluenza virus activity of Kampo medicine Sho-seiryu-to through mucosal immune system. *Methods Find Exp Clin Pharmacol*. 1998; 20(3) : 185-92.
 35. Nagai T, Urata M, Yamada H. In vivo anti-influenza virus activity of Kampo (Japanese herbal) medicine "Sho-seiryu-to"--effects on aged mice, against subtypes of a viruses and B virus, and therapeutic effect. *Immunopharmacol Immunotoxicol*. 1996; 18(2) : 193-208.
 36. Sakaguchi M, Iizuka A, Yuzurihara M, Ishige A, Komatsu Y, Matsumiya T, Takeda H. Pharmacological characteristics of Sho-seiryu-to, an antiallergic Kampo medicine without effects on histamine H1 receptors and muscarinic cholinergic system in the brain. *Methods Find Exp Clin Pharmacol*. 1996; 18(1) : 41-7.
 37. Suzuki T, Higa M, Takahashi M, Saito S, Kikuchi N, Yamamuro W. A case of sho-seiryu-to-induced pneumonia with a marked increase in peripheral eosinophils. *Nihon Kokyuki Gakkai Zasshi*. 2006; 44(8) : 578-82.
 38. Hata Y, Uehara H. A case where herbal medicine sho-seiryu-to induced interstitial pneumonitis. *Nihon Kokyuki Gakkai Zasshi*. 2005; 43(1) : 23-31.