

水火既濟湯 증류액이 노화 흰쥐의 비장세포 면역활성에 미치는 영향

최재송 · 배나영 · 안택원

대전대학교 한의과대학 사상체질의학과

Abstract

The Effect of Suhwagije-tang Distillate on the Immune Activity of Spleen Cells of Aged Rats

Jae-Song Choi, Na-Young Bae, Teak-Won Ahn

Dept. of Sasang Constitutional Medicine, College of Oriental Medicine, Daejeon Univ.

1. Objectives

The purpose of this study is to investigate the effect of Suhwagije-tang(SGT) distillate on the immune activity of spleen cells of aged SD rats.

2. Methods

We used 10, 50, 72 weeks old SD rats in this study. Spleen cells from SD rats were stimulated with ConA and treated with 1% Vitamin C(Vit.C) or Suhwagijetang distillate(SGT). After 24 hours, the concentrations of IL-2, IL-4, IL-10, IFN- γ in the cell culture supernatant were measured by ELISA.

3. Results and Conclusions

- 1) At all concentration of SGT distillate, survival rates of liver cells were higher than the control group. In addition, 50% SGT distillate group's cell survival rates were significantly higher than other groups.
- 2) In 10 weeks SD rats(SGT group), the concentration of IL-2 significantly decreased in comparison with ConA group, Vit.C group. In 52 weeks SD rats(SGT group), the concentration of IL-2 significantly decreased in comparison with ConA group.
- 3) In 10, 52 weeks SD rats(SGT group), the concentration of IL-4 significantly decreased in comparison with ConA group.
- 4) In 10 weeks SD rats(SGT group), the concentration of IL-10 significantly decreased in comparison with ConA group. And in 72 weeks SD rats(SGT group), the concentration of IL-10 significantly increased in comparison with Vit.C group.
- 5) In 52, 72 weeks SD rats(SGT group), the concentration of IFN- γ significantly decreased in comparison with 10 weeks SD rats(SGT group).

These results suggest that Suhwagije-tang(SGT) distillate has the effect of increasing the immune activity of spleen cells of aged SD rats.

Key Words: Suhwagije-tang, Immune activity, Spleen cells, Cytokine, Aged rats.

I. 緒 論

우리나라는 2010년 현재 65세 이상 노인 인구의 비율이 전체 인구의 11%로 이미 고령화 사회에 접어들었으며, 2026년 인구 비율 예측 자료 상 65세 이상 노인 인구의 비율이 20.8%로 초고령사회로 접어들 것으로 전망되고 있다. 이처럼 급속하게 고령사회로 접어들어 따라 수명 연장 및 건강한 삶에 대한 관심이 더욱 높아지고 있다¹.

노화란 생체의 생리적 재생 기능의 점진적인 감약에 의해서 생체 장기조직의 세포 수 감소와 이로 인한 인체의 전반에 걸친 기능저하를 말한다². 인간은 연령 증가와 함께 노화하지 않을 수 없고 노화의 끝은 곧 죽음을 의미하기 때문에, 최근 노화의 양상이나 원리 혹은 노화를 막는 방법 등에 대한 관심이 증대되고 있다³.

水火既濟湯은 少陽人의 陰虛午熱證을 치료하는 처방이다. “陰虛火動午熱初變爲消渴症及面目口鼻牙齒癰疽 小兒食多肌瘦及當門二齒內微出血”을 主治하며, 이는 곧 表裏陰陽이 모두 虛損된 水火不濟의 상태로 少陽人의 퇴행성 질환이나 소모성 질환에 응용하여 질병의 진행을 늦추고, 면역 능력의 증강 효과를 기대할 수 있다⁴.

韓醫學에서는 老化를 生, 長, 壯, 老, 死하는 인류생명의 자연법칙으로 인식하였고, 나이의 증가와 함께 陰陽, 臟腑, 氣血, 經絡, 情志의 변화로 나타나는 생명의 衰退현상으로 파악하였다⁵. 특히, 《素問·上古天真論》에는 腎氣와 生殖能力의 盛衰에 老化의 진행 과정을 남녀로 구분하여 설명하였고, 《素問·陰陽應象大論》에서는 노화 현상의 원인을 40세 이후부터 연령이 증가하면서 나타나는 陰氣의 쇠퇴로 인한 것으로 설명하였다⁶. 따라서 少陽人의 陰虛午熱證을 치료하는 水火既濟湯을 활용하여 陰氣의 쇠퇴로 인한 노화를 억제하고 면역력 증강을 통해 인류 수명을 연장하는 효과를 기대할 수 있겠다.

현재까지 많은 노력에도 불구하고 아직 노화의 기전에 대한 명확한 규명은 없으나⁷, 노화의 원인에 대하여 다양한 원인과 학설들이 제시되고 있으며 그 중 면역이론⁸이 주목을 받고 있다.

면역이란 질병, 특히 전염성 질병에 대한 저항력을 뜻한다. 면역계통은 바로 이러한 감염에 대한 저항을 실현하는 세포, 조직 및 분자 전체의 집합체이며, 이 세포 및 분자들이 조화를 이루어 전염성 미생물에 대해 일으키는 반응이 면역반응이다⁹. 면역이론이란 노화가 진행되면서 인체의 면역기능이 감퇴하여 노화가 진행된다는 이론이다. 즉, 나이가 들면서 면역계통의 항체 생산 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 진행된다는 것이다⁸.

최근 노화와 면역에 대한 관심이 급격히 증가하면서 한의학계에도 항노화 및 면역 기능 증진에 관한 연구가 활발하게 진행되고 있다. 지금까지의 水火既濟湯에 관한 연구에는 항노화 및 성호르몬과 관련된 것^{10,11}이 있었으나 면역 활성화에 관련된 연구는 없었다. 이에 저자는 동물 실험 및 임상연구 시행 전 기초연구로서 水火既濟湯이 노화 흰쥐 비장세포의 면역 활성화에 미치는 영향을 알아보기 위하여 다양한 주령의 Sprague-Dawley rat(이하 SD rat)의 비장세포에서 분리된 leukocyte에 Concanavalin A(이하 Con A)와 水火既濟湯 증류 원액을 처리 후 나타난 면역 관련 검사의 결과를 비교 분석하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 材料 및 方法

1. 재료

1) 동물

동물은 5주령과 24주령의 웅성 SD rat을 (주)중앙실험동물(경기도, 한국)에서 공급받아 10주령, 52주령, 72주령이 될 때까지 실험실에서 사육하여 실험에 사용하였다. 실험에 사용된 동물은 실험 당일까지 고형 사료(삼양사료, 한국)와 물을 충분히 공급하고, 실험실은 실온(22±2℃)을 유지하였다. 본 실험은 대전대학교 동물실험윤리규정을 준수하여 시행하였다.

2) 약재

본 실험에 사용된 水火既濟湯의 약재들은 대전

Table 1. The Compositions of Suhwagije-tang(SGT)

Herbs	Country of origin	Pharmacognostic name	Dose(g)
生地黃	Korea	<i>Rehmannia glutinosa</i>	4
乾地黃	Korea	<i>Rehmannia glutinosa</i>	4
知母	China	<i>Anemarrhena asphodeloides</i>	4
黃柏	China	<i>Phellodendron amurense</i>	4
山茱萸	Korea	<i>Cornus officinalis</i>	4
覆盆子	Korea	<i>Rubus chingii</i>	4
柴胡	China	<i>Bupleurum chinense</i>	4
苦參	China	<i>Sophora flavescens</i>	4
白茯苓	Korea	<i>Poria cocos</i>	4
澤瀉	Korea	<i>Alisma canaliculatum</i>	4
肉蓯蓉	China	<i>Cistanche deserticola</i>	4
Total			44

Table 2. Reagents

시약명	제조사	제조국
3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide(MTT)	Sigma	
Trypan blue		
HBSS	Cambrex	
Fetal bovine serum(FBS)		
Antibiotics	Hyclone	
Phosphate buffer saline(PBS)		
RPMI-1640 medium	Lonza	U.S.A.
IL-2 ELISA KIT		
IL-4 ELISA KIT		
IL-10 ELISA KIT	R&D	
IFN- γ ELISA KIT		

Table 3. Instruments

기기명	제조사	제조국
Specrophotometer	Shimazu	Japan
Bio-freezer	Sanyo	
ELISA reader	TARAN	Canada
Ice maker	Vision science	Korea
Cytological centrifuge		
Micro centrifuge	Hanil	U.S.A.

대학교 한방병원 약제실의 검수를 받아 구입하여 이용하였다. 水火既濟湯의 약재들은 정량하여, 사용하기 전에 증류수에 세척하였다. 水火既濟湯의 specimen number는 2007-sy-001이며, -20℃에서 냉동 보관하여 실험 전에 해동하여 사용하였고 사용 후 남은 분말은 대전대학교 한의과대학 경락경혈학실험실에 냉동 보관 중이다. 水火既濟湯(Suhwagije-tang; SGT)의 구성은 다음과 같다(Table 1).

3) 시약 및 기기

(1) 시약

본 실험에 사용된 시약은 다음과 같다(Table 2).

(2) 기기

본 실험에 사용된 기기는 다음과 같다(Table 3).

2. 방법

1) 약물

水火既濟湯 약제 55g을 세척 후 분쇄기로 분쇄하여 1ℓ의 증류수를 가하고 shaker를 이용하여 3시간동안 전탕을 실시한 다음 여과지로 여과하였다. 증류는 impellar(heating)에 반응조 하부와 반응조 상부조를 설치하고 그 위에 냉각관(환류, 증류)과 분액 여두를 설치하고, 水火既濟湯 진탕액을 반응조 하부에 넣고, 105℃에서 예열하였다. 탕약이 끓기 시작하면 추출온도 107℃에 맞춘 뒤, 3시간동안 전탕을 실시하였다. 이때 냉각수(4℃)가 환류냉각관에서 흐르는지 확인하였다. 시간의 경과에 따라 설정온도 범위(전탕 온도 105℃)에서 전탕되고, 충분히 끓은 약제의 온도가 높아지고(추출온도 107℃), 냉각수 순환위치가 바뀔 때 따라 반응조 내부에서만 순환하던 기체가 냉각수에 의해 액체화되어, 증류액이 한 방울씩 받아진다. Table 1의 한 첩 기준으로 水火既濟湯 증류액 400ml을 얻었다. 추출이 끝나고 1ℓ bottle에 받아들인 증류액은 무기염류를 침강시키기 위해서 하루 동안 냉장 보관하였다. 하루 동안 냉장 보관된 水火既濟湯 증류액은 filtering하고, 멸균된 bottle에 넣어 실험에 사용될 때까지 -20℃에서 냉동 보관하여 실험 전에 해동하여 사용하였다.

2) 세포독성 측정

(1) 간세포 분리

52주령 수컷 SD rat의 간세포를 사용하였다. Rat을 ethyl ether를 이용하여 마취 시킨 후, 대동맥 혈관에 HBSS(Ca²⁺, Mg²⁺ free)를 투여하며 복부 쪽 혈관을 절단시켜 동물의 혈액을 모두 배출시켰다. 간을 적출하여 조직을 잘게 잘라 RPMI 1640 media(with 10% FBS)와 collagenase type IV(300u/ml)를 넣고 37℃에서 90분간 incubation 하였다. 이때 20분에 한 번씩 흔들어서 줌으로써 간세포가 분리가 잘 되도록 하였다. 간 조직을 HBSS(Ca²⁺, Mg²⁺ free)를 사용하여 mesh에서 같이 주었다. 이렇게 얻어진 시료를 원심 분리하여 획득한 세포는 RBC를 완전히 제거 하여, 실질세포를 이용하여 실험을 수행하였다.

(2) 간세포의 배양 및 세포독성 측정

분리된 간세포의 viability를 trypan blue를 이용하여 확인한 뒤, 24 well plate에 5×10^5 cells/well로 세포를 분주하고, RPMI-1640 배양액에 10% FBS와 항생제 penicillin(100 U/ml)과 streptomycin(100 μg/ml)과 수화기제당 증류액을 각각 100%, 50%, 25%, 10%의 농도별로 처리하고, 72시간 동안 세포를 배양하였다. 68시간 후에, MTT solution (1mg/ml, Cat No. 135038, Sigma, USA)을 각 well에 20μl씩 분주하고 4시간 동안 37℃에서 배양하였다. 4시간 후, 각 well에 있는 medium을 100μl씩 버리고, solubilizing solution을 100μl씩 분주한 뒤 pipetting을 강하게 하여 well에 dark blue crystals가 침전하는 정도를 ELISA reader를 이용하여 570nm에서 optical densities로 확인하였다.

3) Cytokine analysis

(1) 면역세포 분리

본 실험은 10주령, 52주령, 72주령의 SD rat의 비장 조직으로부터 얻은 면역세포를 이용하여 수행하였다. HBSS를 관류하여 실험동물의 혈액을 제거한 후, 비장을 적출하였다. 적출된 비장은 RBC를 제거하고, leukocytes만을 분리하였다. 분리된 세포를 안정화시킨 후 실험에 사용하였다.

(2) 약물 처리 및 배양

분리된 leukocyte에 아래와 같이 처리하고 37℃에서 24시간 배양하였다.

No treatment군(NT) : 아무런 처리도 하지 않은 세포군

ConA군(ConA) : ConA(50ug/ml)를 처리한 세포군

Vitamin C군(Vit. C) : ConA(50ug/ml)와 1% Vitamin C를 처리한 세포군

수화기제당군(SGT) : ConA(50ug/ml)와 수화기제당 증류액 원액을 처리한 세포

(3) Cytokine analysis by ELISA

Cell culture supernatant를 사용하여 ELISA로 IL-2, IL-4, IL-10, IFN-γ의 함량을 측정하였다.

4) 통계 분석

본 실험에서 얻은 결과 값은 평균 ± 표준편차로

나타내었다. SPSS 통계프로그램(14.0 KO)의 일원배치 분산분석(one-way ANOVA)을 사용하여 군간 비교를 하였으며, 사후검정은 Scheffe's test를 이용하였다. 각 실험군의 결과값을 비교하여 신뢰도 95% 이상(p<0.05) 일 때 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

Ⅲ. 結 果

1. 세포 독성

52주령 SD rat의 간세포를 분리하여 수화기제당 증류액을 여러 가지 농도로 처리하였다. 모든 농도에서 control에 비하여 세포 생존률이 증가하였으며, 50%

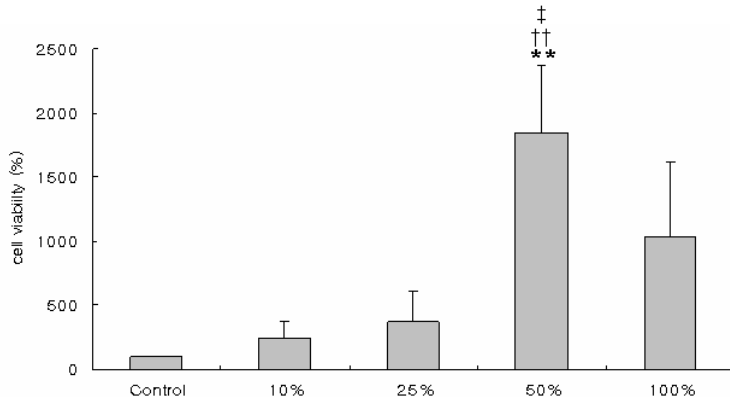


Figure 1. Cell survival rate with various concentrations of SGT distillate.

** : p<0.01 compared to control by ANOVA test.

† † : p<0.01 compared to 10% SGT distillate by ANOVA.

‡ : p<0.05 compared to 25% SGT distillate by ANOVA.

Table 4. Effect of SGT on the Level of Various Immune Cytokines in Rat Spleen Cell Culture Supernatant.

	Age	NT (No treatment)	ConA (ConA only)	Vit.C (ConA+Vit.C)	SGT (ConA+SGT)
IL-2	10w	0.115±0.007	0.497±0.017	0.428±0.046	0.320±0.073
	52w	0.337±0.106	0.565±0.027	0.451±0.031	0.357±0.059
	72w	0.202±0.037	0.465±0.071	0.394±0.053	0.432±0.058
IL-4	10w	0.111±0.006	0.382±0.013	0.256±0.046	0.292±0.015
	52w	0.224±0.024	0.433±0.039	0.376±0.020	0.354±0.032
	72w	0.225±0.037	0.374±0.033	0.399±0.026	0.304±0.052
IL-10	10w	0.145±0.007	0.650±0.050	0.479±0.012	0.430±0.050
	52w	0.195±0.084	0.547±0.053	0.453±0.115	0.449±0.034
	72w	0.233±0.057	0.553±0.048	0.425±0.044	0.547±0.066
IFN-γ	10w	0.147±0.020	0.734±0.036	0.724±0.014	0.636±0.066
	52w	0.262±0.030	0.576±0.047	0.585±0.008	0.477±0.016
	72w	0.243±0.010	0.556±0.031	0.462±0.024	0.485±0.080

Spleen cells from 10w, 52w, 72w old rats were stimulated with ConA and treated with Vitamin C(Vit.C) or *Suhwagijetang* distillate(SGT). After 24 hours, the concentrations of immune cytokines in the cell culture supernatant were measured 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.

§ SGT : Cells treated with ConA and SGT distillate for 24 hours.

수화기제당 증류액에서 가장 높은 세포 증식을 나타 내었다(Fig. 1).

2. Cytokine 활성화에 미치는 영향

10주, 52주, 72주령 rat의 비장에서 면역세포를 분리하여 ConA와 약물을 동시에 처리하고 24시간 동안 배양한 후, 면역과 관련된 여러 cytokine 수치를 측정하였다(Table 4).

1) IL-2

10주, 52주, 72주령 rat의 비장 세포에 ConA와 약물을 처리한 후, 주령별 IL-2의 농도를 비교하였다. 아무런 처리를 하지 않은 세포군에서는 10주령에 비해 52주령에서 IL-2의 농도가 유의하게 높았고, 52주령에 비해 72주령에서 IL-2의 농도가 유의하게 낮았다. ConA만 처리한 세포군에서는 52주령에 비해 72주령에서 IL-2의 농도가 유의하게 낮았다. Vit.C 세포군과 SGT 세포군에서는 주령별 IL-2 농도에 유의한 차이가

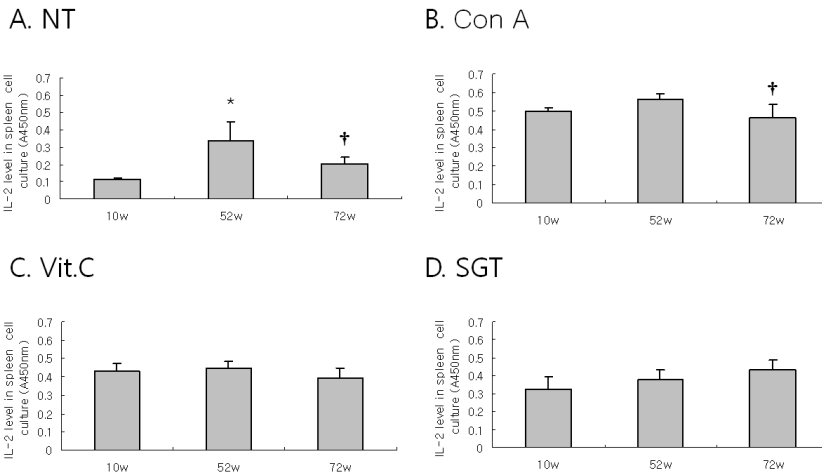


Figure 2. Effect of Aging on the level of IL-2 in rat spleen cell.

* : p<0.01 compared to 10w group by ANOVA.

† : p<0.01 compared to 52w group by ANOVA.

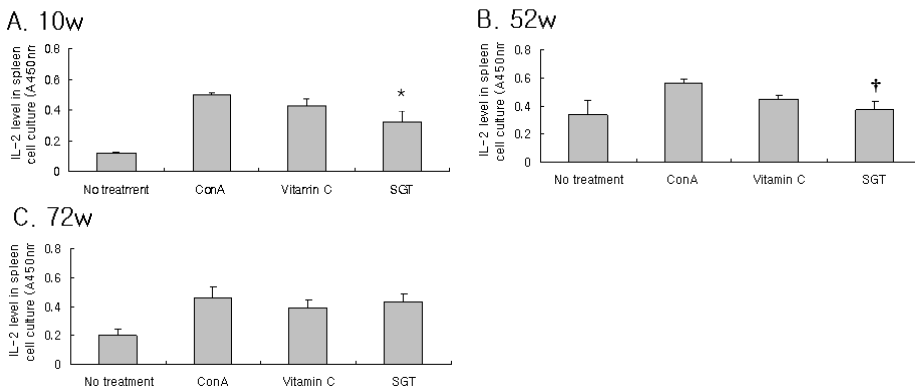


Figure 3. Effect of SGT on the level of IL-2 in rat spleen cell.

* : p<0.001, † : p<0.01 compared to ConA culture by ANOVA.

‡ : p<0.05 compared to Vit.C culture by ANOVA.

나타나지 않았다(Fig. 2).

약물처리에 따른 IL-2 농도를 비교한 결과, 모든 주령에서 ConA 처리에 의해 IL-2 농도가 유의하게 증가하였다. 모든 주령에서 Vit.C 처리에 의한 IL-2 농도의 유의한 변화는 나타나지 않았다. SGT 처리에 의해 10주령에서 ConA세포군과 Vit.C 세포군에 비해 IL-2 농도가 유의하게 감소하였고, 52주령에서는 ConA세포군에 비해 IL-2 농도가 유의하게 감소하였다. 72주령에서는 SGT 처리에 의한 IL-2 농도의 유의한 변화가

나타나지 않았다(Fig. 3).

2) IL-4

10주, 52주, 72주령 rat의 비장 세포에 ConA와 약물을 처리한 후, 주령별 IL-4의 농도를 비교하였다. 아무런 처리를 하지 않은 세포군에서는 10주령에 비해 52주령과 72주령에서 IL-4 농도가 유의하게 높았다. ConA만 처리한 세포군에서는 52주령에 비해 72주령에서 IL-4의 농도가 유의하게 낮았다. Vit. C 처리군에

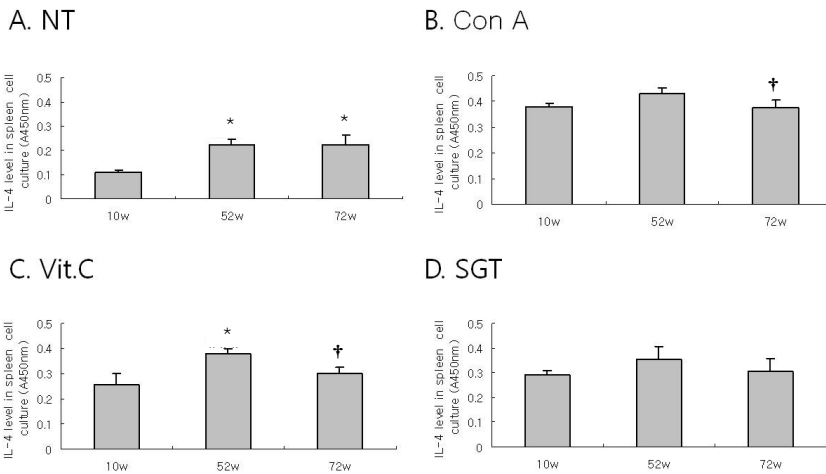


Figure 4. Effect of Aging on the level of IL-4 in rat spleen cell.

* : p<0.001 compared to 10w group by ANOVA.

† : p<0.05 compared to 52w group by ANOVA.

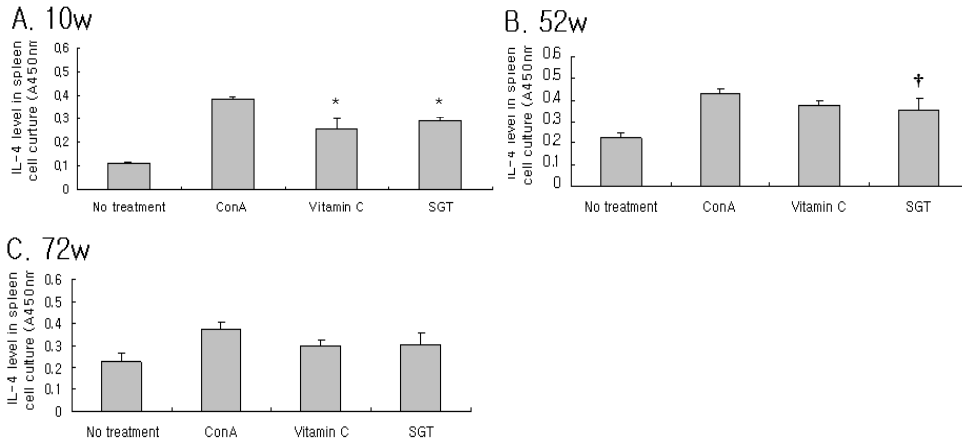


Figure 5. Effect of SGT on the level of IL-4 in rat spleen cell.

* : p<0.001, † : p<0.01 compared to ConA culture by ANOVA.

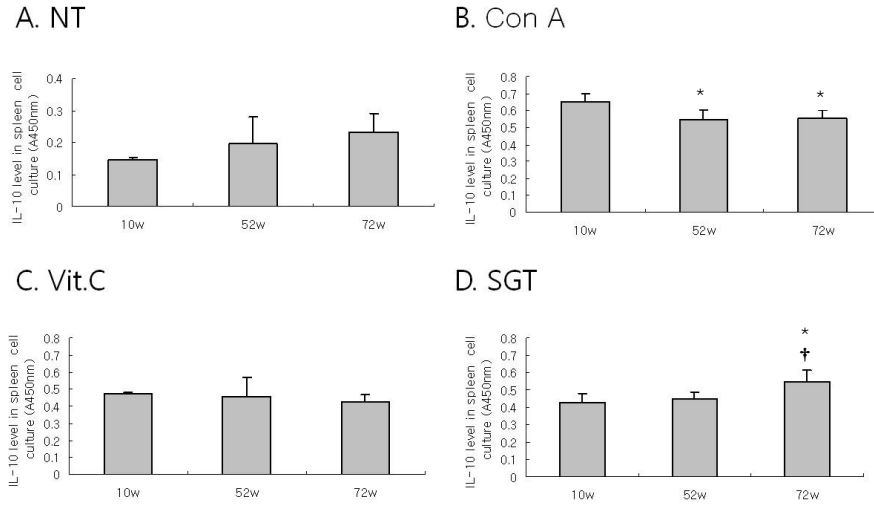


Figure 6. Effect of Aging on the level of IL-10 in rat spleen cell.

* : p<0.05 compared to 10w group by ANOVA.
† : p<0.05 compared to 52w group by ANOVA.

서는 10주령에 비해 52주령에서 IL-4의 농도가 유의하게 높았으며, 52주령에 비해 72주령의 IL-4 농도가 유의하게 낮았다. SGT 처리군에서는 주령별 IL-4 농도의 유의한 차이가 나타나지 않았다(Fig. 4).

약물처리에 따른 IL-4 농도를 비교한 결과, 모든 주령에서 ConA 처리에 의해 IL-4 농도가 유의하게 증가하였다. Vit.C 처리에 의해 10주령 세포에서 ConA세포군에 비해 IL-4 농도가 유의하게 감소하였다. SGT 처리에 의해 10주령과 52주령 세포에서 ConA세포군에 비하여 IL-4 농도가 유의하게 감소하였고, 72주령 세포에서는 SGT 처리에 의한 IL-4 농도의 유의한 변화가 나타나지 않았다(Fig. 5).

3) IL-10

10주, 52주, 72주령 rat의 비장 세포에 ConA와 약물을 처리한 후, 주령별 IL-10의 농도를 비교하였다. 아무런 처리를 하지 않은 세포군에서는 주령이 증가함에 따라 IL-10 농도가 증가하는 경향을 보였으나 유의성은 없었다. ConA를 처리한 세포군에서는 10주령에 비해 52주령과 72주령 세포군의 IL-10 농도가 유의하게 낮았다. Vit.C를 처리한 세포군에서는 주령에 따

른 IL-10 농도의 유의한 차이가 보이지 않았다. SGT를 처리한 세포군에서는 10주령과 52주령 세포에 비해 72주령 세포군의 IL-10 농도가 유의하게 높았다(Fig. 6).

약물처리에 따른 IL-10 농도를 비교한 결과, 모든 주령에서 ConA 처리에 의해 IL-10 농도가 유의하게 증가하였다. Vit.C 처리에 의해 10주령과 72주령 세포에서 ConA세포군에 비해 IL-10 농도가 유의하게 감소하였다. SGT 처리에 의해 10주령 세포에서 ConA세포군에 비하여 IL-10 농도가 유의하게 감소하였고 52주령 세포에서는 유의한 변화가 나타나지 않았으며, 72주령 세포에서는 Vit.C 세포군에 비하여 IL-10 농도가 유의하게 증가하였다(Fig. 7).

4) IFN-γ

10주, 52주, 72주령 rat의 비장 세포에 ConA와 약물을 처리한 후, 주령별 IFN-γ의 농도를 비교하였다. 아무런 처리를 하지 않은 세포군에서는 10주령에 비해 52주령과 72주령에서 IFN-γ의 농도가 유의하게 높았다. 반면 ConA 세포군에서는 10주령에 비해 52주령과 72주령에서 IFN-γ의 농도가 유의하게 낮았다. Vit.C 세포군에서는 52주령에서 10주령에 비해 IFN-γ 농도

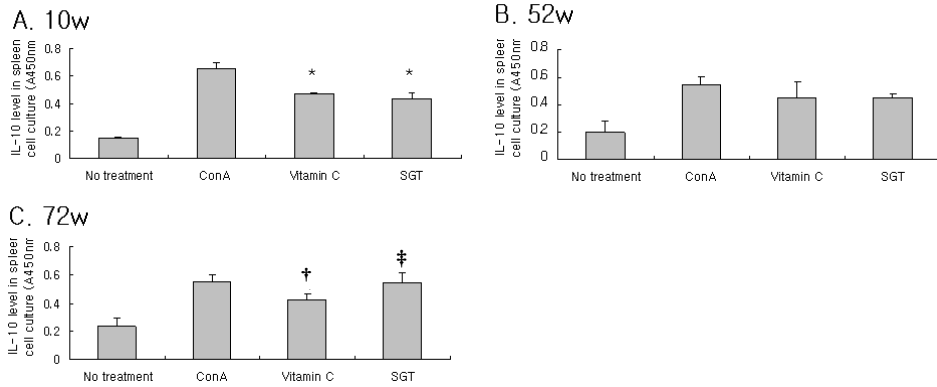


Figure 7. Effect of SGT on the level of IL-10 in rat spleen cell.
 * : p<0.001, † : p<0.05 compared to ConA culture by ANOVA.
 ‡ : p<0.05 compared to Vit.C culture by ANOVA.

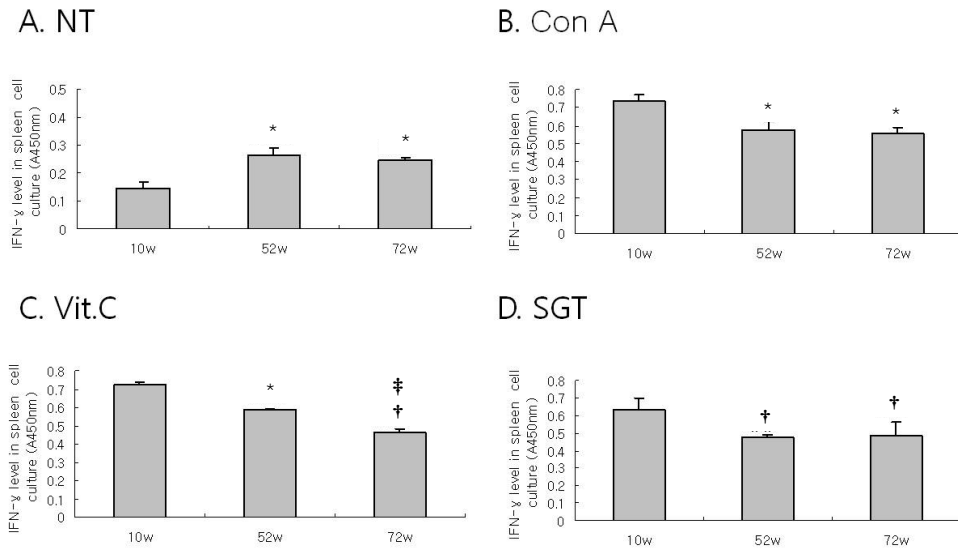


Figure 8. Effect of Aging on the level of IFN-γ in rat spleen cell.
 * : p<0.001, † : p<0.01 compared to 10w group by ANOVA.
 ‡ : p<0.001 compared to 52w group by ANOVA.

가 유의하게 낮았으며, 72주령에서는 10주령과 52주령에 비해 IFN-γ 농도가 유의하게 낮았다. SGT 세포군에서는 10주령에 비해 52주령과 72주령에서 IFN-γ 농도가 유의하게 낮았다(Fig. 8).

약물처리에 따른 IFN-γ의 농도를 비교한 결과, 모든 주령에서 ConA 처리에 의해 IFN-γ 농도가 유의하게 증가하였다. 모든 주령에서 Vit.C 처리에 의한 IFN-

γ 농도의 유의한 변화는 나타나지 않았다. SGT 처리에 의해 10주령과 52주령에서 ConA 세포군과 Vit.C 세포군에 비하여 IFN-γ 농도가 유의하게 감소하였으며, 72주령에서는 ConA 세포군에 비하여 IFN-γ 농도가 유의하게 낮았고 Vit.C 세포군에 비해서는 유의한 차이가 없었다(Fig. 9).

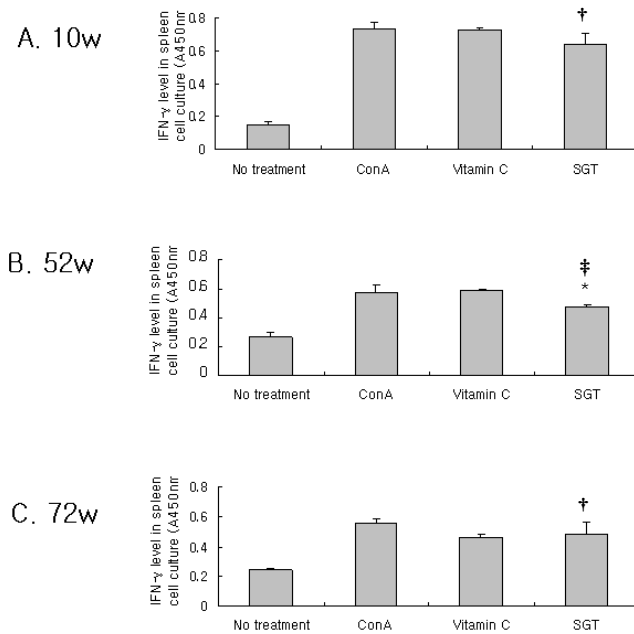


Figure 9. Effect of SGT on the level of IFN- γ in rat spleen cell.
 * : $p < 0.01$, † : $p < 0.05$ compared to ConA culture by ANOVA.
 ‡ : $p < 0.001$, § : $p < 0.05$ compared to Vit.C culture by ANOVA.

IV. 考 察

2005년도 한국인의 평균수명은 78.5세로서 경제협력개발기구(OECD) 소속 30개 국가 중 21위로 나타났으며, 여성의 평균수명은 85.5세, 남성의 평균수명은 75.1세로 점차 수명이 길어지고 있다¹². 그러나 수명 연장과 더불어 노인병도 계속적인 증가 추세에 있으며, 따라서 수명연장뿐만 아니라 건강한 노화에 대한 관심이 지속적으로 높아지고 있다.

많은 과학자들이 노화의 생물학적 원인을 규명하기 위해 많은 노력을 해오고 있으나, 아직까지 해답을 찾지 못하고 있다. 현재까지 수많은 노화 이론들이 제시되었으나 생물학적 노화의 이론은 크게 두 가지 영역으로 나눌 수 있다. '예정된 노화설(programmed aging)'과 '추계학적 사건으로의 노화설(aging as stochastic events)'로서 전자는 노화가 유전자 조절의 변화에 의해 결정되며 출생부터 사망까지 인간의 발달은 생물학적 시계에 의해 지배받고 이것이 여러 변화가

일어날 적절한 시계를 정해 준다는 설이고, 후자는 개체들이 우연한 사건들로 인해 늙는다는 것으로 독성산소로 인한 유전자 손상과 일상생활로 인한 단순한 소모이론이 이에 해당된다¹³.

한의학에서는 노화의 原因에 대하여 陰陽의 不調和, 形身衰弱, 氣血 및 腎氣衰弱 등으로 설명하고 生體의 老衰를 陰陽의 變化, 臟腑의 變化, 氣血의 變化, 經絡의 變化 및 精神의 變化로 보았다⁵.

특히, 《素問·上古天真論》에는 남자 8세, 여자 7세를 기준으로 남녀가 나이를 먹음에 따라 腎氣와 生殖能力의 盛衰에 따라 사람의 외모 및 動態가 바뀌어 가는 老化의 진행 과정을 남녀로 구분하여 설명하였고, 《素問·陰陽應象大論》에서는 “年四十, 而陰氣自半也, 起居衰矣. 年五十, 體重, 耳目不聰明矣. 年六十, 陰痿, 氣大衰, 九竅不利, 下虛上實, 涕泣俱出矣.”라 하여 노화 현상의 원인을 40세 이후부터 연령이 증가하면서 나타나는

陰氣의 쇠퇴로 인한 것으로 설명하였다⁶.

이제마는 《濟衆新編·勸壽論》에서 노화의 요인을 嬌奢, 懶怠, 偏急, 心慾이라고 하였으며, 장수의 요인을 簡約, 勤幹, 警戒, 聞見이라고 하였다. 《濟衆新編·五福論》에서 人生至樂으로 壽, 美, 心術, 好讀書, 家産, 行世의 다섯 가지를 제시하고 그 중 가장 앞서는 것이 壽라하여 장수를 매우 중요하게 생각하였다. 또한, 이러한 수를 이루는 수단은 적절한 食餌와 心火의 조절이고, 壽를 이루기 위해서는 의약의 남용과 오용을 경계해야 한다고 하여 장수를 위한 養生의 방법에 대해서도 구체적으로 제시하였다⁴.

《東醫壽世保元四象草本卷》에 제시된 命脈實數의 개념은 偏大之臟과 偏小之臟과의 상대적 크기를 비교해서 건강인과 비건강인의 상태를 척도로 나타내기 위한 개념이다. 또한, 각 체질별로 保命之主를 제시하고 있는데, 太陽人の 吸聚之氣, 太陰人の 呼散之氣, 少陽人の 出放之氣(陰清之氣), 少陰人の 納積之氣(陽暖之氣)가 이에 해당한다. 이러한 保命之主는 體質正氣를 의미하는 것으로 이의 정상적 기능 여부에 따라 건강 상태와 질병의 輕重危急이 달라진다고 보았다. 또한 生息充補之道라는 개념이 등장하는데, 이는 醫藥에 의존하지 않아도 인체가 스스로 치유기전을 발동하는 자연치유력의 개념과 유사한 것이다⁴. 따라서 이제마는 수명과 노화의 개념을 인생과정에서 命脈의 변화와 生息充補之道의 변화로 규정하여 설명하였다.

水火既濟湯은 《東醫壽世保元四象草本卷》에서 처음 언급되었으며 少陽人の 陰虛午熱證을 치료하는 처방이다. 陰虛午熱證은 소양인이 腎小한 특징으로 表陽이 상승하지 못 할 뿐만 아니라 表陰도 하강하지 못하여 陰虛火動이 나타나는 병증으로, 陰氣가 虛하여 午後에 熱이 오르고 물을 찾고 등이 시리며, 嘔逆이 나는 증세가 있고, 또 消渴病 중 下消, 中風, 吐血 등의 증후도 이 범주에 속한다. 이때는 補陰하며 火氣를 풀어주는 滋陰降火法을 사용하여 清陽을 상승시킨다⁴.

水火既濟湯의 약물 구성을 살펴보면, 六味地黃湯의 주 약물인 熟地黃, 山茱萸, 茯苓, 澤瀉를 기본으로 生地黃, 覆盆子, 知母, 黃柏, 肉蓯蓉, 苦參,

柴胡를 加하여 구성되었다⁴. 少陽人の 偏小之臟인 腎陰, 眞精을 熟地黃, 山茱萸, 覆盆子, 肉蓯蓉으로 크게 보하고, 寒熱往來라는 特定的 熱型을 다루기 위하여 解鬱의 작용이 있는 柴胡를 사용하여 각종의 熱證이나 胸脇의 疼痛을 다스리며, 苦參, 黃柏으로 腸胃의 조직에 熱結로 인하여 발생하는 腸癰, 泄痢 등의 壞死性 病毒을 풀어낸다. 또한, 生地黃으로 中上焦의 흥격에 發하는 疼痛性 熱證을 다스리고, 知母로 소양인 腎局陰氣를 보강하면서 陰氣를 耗損하는 虛火를 清解하면서 심하지 않은 陰結을 茯苓, 澤瀉의 협조작용으로 下降하도록 유도한다¹⁴. 따라서 소양인 腎局의 眞陰을 補하면서도 胸膈 및 腸胃의 熱을 효과적으로 내리고 淸熱하면서도 陰의 消耗를 최소화하여 少陽人の 保命之主인 陰清之氣를 유지하고 陰虛午熱상태를 개선하는 주요 처방이 된다. 즉, 表裏陰陽이 모두 虛損된 水火不濟의 상태, 만성 소모성질환이나 노인성질환의 치료 및 면역력 증가와 노화에방에도 그 활용 범위가 클 것으로 생각된다.

사상체질처방을 활용한 노화와 면역 관련 연구들도 활발하게 진행되고 있으며, 이 중 水火既濟湯에 관한 연구로는 水火既濟湯의 항산화 효과를 증명한 배¹⁰의 연구와, 혈청 테스토스테론 감소 방지 효과를 증명한 이¹¹의 연구가 있으나 노화에 중요한 영향을 미치는 면역기능에 관한 연구는 아직까지 찾아볼 수 없었다.

또한 인체의 중요한 이차 면역기관으로 혈액 내 항원에 대한 면역반응을 시작하는데 중대한 역할을 하는 비장¹⁵에 관련된 한의학 연구로는 석고가 생쥐 비장세포 IL-4에 미치는 영향을 연구한 임¹⁶의 연구와 白金丸의 경구 투여가 전기자극 스트레스 받은 생쥐의 비장 사이토카인 생성에 미치는 영향을 연구한 심¹⁷의 연구가 있으며, 사상체질처방인 香砂養胃湯¹⁸과 荊防地黃湯¹⁹의 전탕액이 노화 쥐의 비장 세포에 미치는 영향을 조사한 연구들이 있으나 水火既濟湯이 노화 쥐의 비장 세포에 미치는 영향에 관한 연구들은 찾지 못하였다.

이에 저자는 동물 실험 및 임상연구 시행 전 기초연구로서 水火既濟湯 증류액이 노화 흰쥐 비장세포의 면역활성에 미치는 영향을 알아보기 위하여 SD rat의

비장 세포를 활용하여 cytokine analysis 실험을 하였다. ELISA 분석법으로 면역반응과 관련된 총 4가지의 cytokine(IL-2, IL-4, IL-10, IFN- γ)의 함량을 측정하여 분석하였다. 그리고 ConA 처리한 실험군(ConA군, Vit C군, SGT군) 외에 면역 활성이 일어나지 않은 안정화된 세포 자체의 cytokine 수치를 비교, 분석하기 위하여 10주령, 52주령, 72주령의 SD rat에 ConA 처리를 하지 않은 No treatment group(NT군)을 추가 설정하여 실험하였다.

Concanavalin A는 작두콩(jack bean)의 conavalia einformis에서 추출한 lectin으로서 T 세포 의존성 항원으로 분자량이 55,000이며 적혈구를 응집시키고 또한 T세포에 작용하여 아구화(blastogenesis) 및 유사분열을 촉진시키는 T-cell mitogen이다²⁰. 본 연구에서는 항원이나 면역 보강제 같은 자극물질 대신 T 림프구의 유사분열 물질인 Con A를 활용하여 흰쥐의 비장세포 leukocyte의 면역 활성을 유도하였다.

또한, 항산화 작용이 있어 면역력 증강 및 노화 방지의 효과가 있다고 알려진 Vitamin C^{21,23}를 양성 대조군으로 설정하여 노화 흰쥐 비장세포의 면역활성에 미치는 영향을 水火既濟湯 증류액의 효과와 비교하였다.

실험에 앞서 SGT의 세포독성 측정을 위해 실험모델과 동일한 52주령 수컷 SD rat 간세포를 사용하였다. SGT 증류액을 10%, 25%, 50%, 100%의 농도로 처리하여 72시간 동안 배양 후, 세포생존율을 측정한 결과 모든 농도에서 대조군에 비하여 세포생존율이 증가하였다. 또한 SGT 농도가 높을수록 세포 생존율이 높은 경향이 있었으며, 특히 50% SGT 증류액의 경우 세포 생존율이 유의하게 증가하여 가장 높게 측정되었다(Fig. 1). 이는 일반적인 지금까지의 실험적 연구들에서 전탕액의 농도가 증가함에 따라 세포독성이 증가했던 경우들^{24,27}과 대조적으로 水火既濟湯 증류액이 세포독성이 없으며 오히려 간세포의 세포생존율을 크게 높일 수 있음을 보여준다. 그러나 이전의 실험은 전탕액을 농축 후 희석하여 사용하였지만, 본 연구에서는 전탕액의 증류액을 사용하였으므로 처방에 대한 세포독성을 단편적으로 비교하기는 힘들 것으로 생각된다. 따라서 추가적인 연구를 통하여 전탕액과 증류액이 각각 세포 독성에 미치는 영향을 분명히 할 필요가

있을 것으로 보인다.

SD rat은 약 8주령까지는 체중이 급속하게 증가하고 약 16주령까지는 체중 증가 속도가 급속히 둔화되며 약 32주령까지는 경미한 체중 증가만 나타난다는 관찰을 토대로 장²⁸은 평균 7주령까지를 성장기로 28주까지를 성숙기로 분류하였으며, 박²⁹은 쥐의 연령이 약 52주령 이상이 되면서 운동 및 감각 기능이 저하된다는 Murphy³⁰등의 연구를 기초로 이 시기가 SD rat의 노화에 해당한다고 판단하였다. 이를 바탕으로 이²⁴와 손²⁵의 연구에서는 6주령, 18주령, 36주령, 48주령 및 64주령의 SD rat을 각각 성장기, 성숙기, 초기노화기, 노화기, 말기노화기로 설정하고 매주 체중을 측정 한 결과 10주령에서는 모든 군에서 체중이 증가하고 22주령, 40주령부터는 경미하게 체중이 증가하였으며 52주령부터 체중이 감소한 것으로 나타났다. 또한 이¹¹의 연구에서는 SD rat을 6주령, 48주령 및 68주령으로 구분하여 성장기, 노화기, 말기노화기로 설정하고 1주일 간격으로 체중을 측정 한 결과 10주령에서는 모든 군에서 체중이 증가하였으며 52주령과 72주령에서는 체중이 대체로 완만하게 감소하거나 유지되었다. 즉, 이들 연구를 종합하면 SD rat의 체중은 대체로 10주령에서 빠르게 성장하다 52주령부터 감소하기 시작한다.

따라서 본 연구에서는 면역 기능이 왕성한 성장기와 면역노화가 시작되는 노화기, 면역노화가 심화되는 말기노화기에 주목하여 실험용 SD rat을 10주령, 52주령, 72주령으로 구분하고 각각 성장기, 노화기, 말기노화기로 설정하여 연구를 진행하였다.

사이토카인(Cytokine)은 특히 면역반응에서 세포와 세포 간의 매개인자로 작용하며 세포에 의하여 방출된 다양한 집단의 비항체성 단백질을 말한다⁹. Cytokine이란 용어는 cyto(세포), kine(작동물질)이라는 의미이다³¹. 효과적인 면역반응의 발달에는 림프구, 염증세포, 조혈모세포들이 관여한다. 이 세포들 간의 복합적 상호작용은 통칭 사이토카인이라고 불리는 단백질군에 의해 매개된다¹⁵.

Interleukin-2(IL-2)는 CD8+ T 세포에서 적은 양이 생성되기는 하나 주로 CD4+ T 세포에서 분비되어 면역 반응을 매개하고 조절하며, T 세포의 증식에도 관여한다. 또한 IL-2를 생성하는 CD4+ T 세포에 autocrine

으로 작용하거나 주위세포에 paracrine 성장요소로 작용하기 때문에 생리활성 농도에서는 endocrine 효과가 없다. CD4+ T 세포에서 생성되는 IL-2의 양이 면역반응의 강도를 결정하는데 주요 인자이며, INF- γ 와 TNF- β 를 포함하여 T 세포에서 생성되는 다른 사이토카인의 생성을 용이하게 한다³². IL-2는 세포독성을 나타내는 T림프구를 장시간 성장, 유지하므로 림프구배양액에 존재하는 T세포성장인자(T cell growth factor; TCGF)로 불리기도 했었다³³.

IL-2 작용은 특히, 항원 특이 killer T 세포 유도, NK 세포활성 증강, lymphokine activated killer(LAK) 세포활성화, B 림프구 증식 및 분화 촉진 등이다. IL-2의 조절조절에 관한 역할로는 NK 세포의 INF- γ 생산으로 적혈구 colony 형성을 억제한다는 보고가 있다. 또한 INF- γ 는 NK 활성을 증강한다. 즉, IL-2는 생체방어와 조절에 중요한 역할을 수행하고 있다. IL-2는 각종 cytokine을 생산하는 helper T 세포 증식을 촉진하는 것으로 면역응답능을 제어한다고 한다. 따라서 사람 말초혈중 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 것이다³¹.

본 연구의 결과, 정상적인 노화의 과정을 나타내는 NT군에서는 노화기(52주령)에 IL-2의 농도가 증가하고 말기노화기(72주령)에 IL-2의 농도가 감소하는 경향을 나타내었다. 반면, SGT군의 경우 노화기의 IL-2 농도가 대조군(ConA)에 비하여 유의하게 감소되어, 수화기제당 증류액 처리가 노화기의 IL-2 증가를 유의하게 억제하였음을 보여주었다. 또한 성장기에서 SGT의 투여가 대조군(ConA군), 양성 대조군(Vit.C군)에 비하여 IL-2 농도를 유의하게 감소시키는 효과가 있었으며 이의 정확한 작용에 대해서는 추가적인 연구가 필요할 것으로 생각된다(Fig. 2)(Fig. 3).

Interleukin-4(IL-4)는 협조 T 세포 중 주로 Th2가 생산한다⁹. IL-4는 B림프구의 DNA합성을 자극할 수 있는 분자로 연구되면서 B세포성장인자(B cell growth factor; BCGF)로 명명 되었으나 IL-4분자가 휴지상태의 B세포의 MHC class II분자의 발현을 증가시킴이 발견되어 B세포자극인자-1(B cell stimulatory factor-1 ;

BCF-1)로서 제외되기도 하였다³³. 그 주된 기능은 T 세포와 B 세포의 증식 및 활성화인자로의 작용과, naive T 세포를 Th2 세포로 분화되도록 자극하고 성장시키는 것이다. 특히 B세포의 CD23(IgE의 Fc에 대한 수용체) 발현을 유도하여 IgE 전환을 자극한다³⁴. 그 외에도 비만세포를 자극하여 증식을 촉진하고, macrophage에 작용하여 Ia 항원발현이나 항종양 활성, 항원제시능을 증강시키며, 골수 간세포를 자극하여 증식을 촉진한다³¹.

IL-4는 면역학적 과민반응 유도에 중요한 역할을 한다. 주로 Th2 세포에서 생성되는 알레르기 염증반응에 있어서 중요한 역할을 하는 cytokine으로 아토피 피부염, 알레르기성 비염, 천식과 같이 면역 과민으로 인한 알레르기 염증반응을 유도하는데 핵심적인 cytokine으로 알려져 있다⁹.

Naive T 세포는 Th1과 Th2 세포로 분화하는데 아토피, 천식, 비염 등의 면역학적 과민반응을 보이는 환자에서는 Th1 세포에서 분비되는 IL-2, IL-12, INF- γ 등의 cytokine 양이 감소하고 Th2 세포에서 분비되는 IL-4, IL-5, IL-10, IL-13 등의 cytokine 양이 증가하는 것으로 보고되고 있어서 Th1/Th2의 불균형이 알레르기 질환의 발병에 중요한 역할을 한다고 알려져 있다³⁵. 식품의약품안전청에서 제시한 가이드라인³⁶에 따르면 알레르기 염증 반응이 발생한 흰쥐의 비장 세포에 ConA 처리를 하면 Th2 cytokine(IL-4, IL-5, IL-10, IL-13 등)의 농도가 크게 증가하고 시험물질이 Th2 cytokine 농도에 미치는 영향을 분석함으로써 알레르기 질환에 시험물질의 효력을 알 수 있다고 하였다.

위의 결과에서 SGT는 성장기와 노화기의 노화 흰쥐 비장세포에서 유의한 IL-4 억제 효과가 있었으며, 이는 면역 기능 이상으로 인한 알레르기 질환에 SGT가 유의한 효과가 있을 것임을 나타낸다. 특히, 노화에 따른 면역 인식 장애로 발생하는 노인성 천식 같은 알레르기성 염증 질환의 예방 및 치료에 SGT를 응용할 수 있으며, 이로 인한 수명의 연장, 면역 조절 능력의 향상을 기대할 수 있겠다(Fig. 4)(Fig. 5).

Interleukin-10(IL-10)은 활성화된 큰포식세포와 일부 조력 T 세포가 생산하는 cytokine으로, 주기능은 활성화된 큰포식세포를 억제하여 선천 및 세포매개면역반응의 항상성이 유지되게 하는 것이다³⁴. 그래서

초기에는 IL-10을 싸이토카인생성억제인자(cytokine synthesis inhibitory factor ; CSIF)라 하였다³³. 대식세포와 수지상 세포가 분비하는 IL-12와 TNF 생성을 억제하고, 대식세포의 보조 자극물질과 class II MHC 분자의 발현을 억제하여 T 세포 활성화를 저해하게 되어 세포성 면역을 종결시키게 된다³². 특히, 단핵구, macrophage계 세포의 IL-1, IL-6, TNF α 생산을 억제하는 것으로 항염증성 cytokine으로서의 역할이 주목되고 있다³¹.

위의 결과에서 SGT군에서는 10주령과 52주령 세포에 비해 72주령 세포군의 IL-10 농도가 유의하게 높았다(Fig. 6). 이는 SGT 증류액의 처리를 통해 말기 노화기의 IL-10 농도가 유의성 있게 증가함으로써, SGT가 말기 노화기의 면역 조절 능력을 향상시키는 효과가 있는 것으로 생각된다.

또한, SGT 처리에 의하여 10주령 세포에서 ConA 세포군에 비하여 IL-10 농도가 유의하게 감소하였고, 72주령 세포에서는 Vit.C군에 비하여 IL-10 농도가 유의하게 높은 것으로 나타났다(Fig. 7). 강³⁷ 등의 연구에 의하면 소아 천식 환자에서 급성기의 경우 혈청 IL-10의 농도가 정상 대조군에 비하여 유의하게 증가하고, 회복기에는 혈청 IL-10의 농도가 급성기에 비해 유의하게 감소하였다. 이로써 SD rat의 성장기에 있어서 SGT가 IL-10을 억제하여 천식과 같은 알레르기 염증 반응에 분명한 효과가 있음을 알 수 있다. 그리고 SGT의 투여가 노화에 의하여 면역 조절 능력이 감소하기 쉬운 흰쥐의 말기 노화기에 있어서 다른 cytokine의 생성을 억제하여 세포성 면역을 종결시키는 IL-10을 활성화하여 노인의 천식과 같은 알레르기 질환의 예방에 도움을 줄 수 있으며, 이 효과는 양성 대조군인 Vit.C 보다 유의하게 높은 것으로 나타났다.

Interferon(IFN)은 최초로 규명된 항바이러스 물질로 면역조절 및 성장인자(growth factor)로 작용한다. 인터페론의 중요한 기능은 모든 세포 내에서 바이러스 증식을 억제한다³². 인터페론은 당초 항 virus 작용이 있는 물질로 발견되었는데, 그후 항종양 작용, 면역조절작용, 세포 표면항원의 발현 증가작용 등을 발휘하는 cytokine이라는 것이 밝혀지게 되었다. 즉, virus에 의한 감염뿐만 아니라 면역계가 관여하는 질환에서 질환의 형성 및 수식에 관여하는 것으로 이해하고 있

다. 따라서 이것을 혈중에서 측정하는 일은 virus 감염뿐만 아니라 면역계가 관여하는 질환에 대한 정보를 얻는데 유용한 것이다³¹.

인터페론은 INF- α , β , γ 세 가지로 분류되는데, INF- α 는 바이러스에 반응한 백혈구에서 분비되며 20여개의 변종이 있다고 알려져 있다. INF- β 의 경우, 바이러스에 반응한 섬유아세포에서 분비되며, INF- γ 는 T 세포나 NK 세포에서 분비된다. INF- α 와는 달리 INF- β 와 INF- γ 는 단일 단백질이다³². INF- α , INF- β 는 바이러스 증식을 억제시키며 MHC class I의 발현을 증진시키며 I형 인터페론으로 불린다⁹.

Interferon- γ (IFN- γ)는 산에 불안정한 인터페론인 II형 인터페론으로서 산에 안정된 인터페론인 I형 인터페론과는 구분된다. INF- γ 의 생성은 T 세포와 NK 세포가 마이토젠, 항체, 혹은 항원에 의해서 자극을 받음으로서 나타난다. 세포내 과립계통에 머무는 세균제거에 관련이 있으며 비특이면역(자연면역), 특히 면역 모두에서 관련이 있다³⁴. INF- γ 는 다양한 작용을 가지고 있는데, 증식억제와 항바이러스 작용을 갖고 있으며 세포내 미생물과 암세포를 죽이기 위해 대식세포를 강력하게 활성화 시킨다. 또한 다양한 세포에서 class I과 class II MHC의 발현을 유도하고 B 세포와 T 세포의 분화를 촉진시킨다. INF- γ 는 NK 세포와 T 세포를 강력하게 활성화하고 또한 호중구와 내피세포를 활성화 한다³².

본 연구의 결과, SGT군에서는 10주령에 비해 52주령과 72주령에서 IFN- γ 농도가 유의하게 낮았다(Fig. 8). 또한, SGT 처리에 의해 10주령과 52주령에서 ConA 세포군과 Vit.C 세포군에 비하여 IFN- γ 농도가 유의하게 감소하였으며, 72주령에서는 ConA 세포군에 비하여 IFN- γ 농도가 유의하게 낮았고 Vit.C 세포군에 비해서는 유의한 차이가 없었다(Fig. 9).

따라서 SGT는 모든 주령에 있어서 항바이러스 효과가 우수한 IFN- γ 의 억제 효과가 있으며 특히 면역 조절 능력이 저하되어 면역 균형이 깨지기 쉬운 노화기와 말기 노화기에 유의한 효과가 있을 것으로 기대된다.

이상의 연구 결과를 종합하면, SGT군은 10주령, 52주령, 72주령으로 노화가 진행됨에 따라 비록 유의성은 없지만 IL-2의 농도가 증가하는 경향성이 있었으며,

이는 IL-2와 관련한 면역 능력 증진에 SGT가 도움을 줄 수 있을 것으로 추측할 수 있다. 또한 10주령과 52주령에서 SGT의 투여가 IL-2 농도를 유의하게 감소시키는 효과가 있었으며 이의 정확한 작용에 대해서는 추가적인 연구가 필요할 것으로 보인다. SGT군은 10주령과 52주령에서 유의한 IL-4 억제 효과가 있었으며, 이는 면역 조절 기능 이상으로 인한 알레르기 성 염증 질환에 SGT가 유의한 효과가 있음을 시사한다. SGT군은 10주령과 52주령에 비해 72주령의 IL-10 농도가 유의하게 증가하여 말기 노화기의 면역 조절 능력을 향상시키는 효과가 있을 것으로 생각된다. 게다가 10주령에서 IL-10 농도가 유의하게 감소함으로써 성장기의 알레르기 염증 반응에 SGT의 효과를 기대할 수 있으며, 72주령에서 IL-10 농도가 유의하게 증가함으로써 SGT가 노인의 천식과 같은 알레르기 질환의 예방에 효과가 우수할 것으로 예상할 수 있다. 끝으로 SGT군은 IFN- γ 의 억제 효과가 있으며 특히 면역 조절 능력이 저하되어 면역 균형이 깨지기 쉬운 노화기와 말기 노화기에 유의한 효과가 있을 것으로 기대된다.

본 연구에서 水火既濟湯은 노화 흰쥐 비장세포의 면역 활성을 유의하게 증진시키는 효과가 있었으며, 특히 면역 불균형을 개선할 수 있는 면역 조절 작용이 있는 것으로 생각된다. 앞으로 추가적인 연구를 통하여 水火既濟湯이 노화를 유발하는 면역 기능의 저하를 억제하고 면역 조절 능력을 향상시켜 아토피, 비염, 천식과 같은 소아 및 노인의 알레르기성 염증 질환 치료에 도움을 줄 수 있을 것으로 기대할 수 있다. 하지만 본 연구는 살아있는 생명체가 아닌 죽은 흰쥐에서 비장세포만을 추출하여 약물 처리에 의한 반응을 분석하였다는 한계점이 있으며, 앞으로 동물 연구 및 임상 연구를 통해 水火既濟湯의 정확한 효과와 기전을 입증할 필요가 있을 것으로 생각된다. 향후 임상에서 항노화 및 수면 연장을 위한 水火既濟湯의 다양한 활용을 위하여 앞으로 보다 많은 추가적인 연구가 필요할 것이다.

V. 結 論

水火既濟湯이 노화 흰쥐 비장세포의 면역 활성에 미치는 영향을 알아보기 위하여 10주령, 52주령

및 72주령의 SD rat의 비장세포에서 leukocyte만을 분리하여 ConA 처리 후, 양성 대조군에는 vitamin C(Vit. C)를, 실험군에는 水火既濟湯 증류액(SGT)을, 대조군에는 ConA만을 처리하고 cytokine 중 IL-2, IL-4, IL-10, IFN- γ 의 함량을 측정하여 각각의 실험군을 비교 분석한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 水火既濟湯은 세포독성 실험결과 모든 농도에서 대조군에 비하여 세포생존율이 증가하였으며, 50% 水火既濟湯 증류액을 처리한 경우에는 세포생존율이 다른 농도에 비해 유의하게 높았다.
2. SGT군은 10주령 흰쥐의 비장세포에서 대조군(ConA군)과 양성 대조군(Vit.C군)보다 IL-2의 농도가 유의하게 감소하였고, 52주령 흰쥐의 비장세포에서 대조군(ConA군)보다 IL-2의 농도가 유의하게 감소하였다.
3. SGT군은 10주령과 52주령 흰쥐의 비장세포에서 대조군(ConA군)보다 IL-4의 농도가 유의하게 감소하였다.
4. SGT군은 10주령 흰쥐의 비장세포에서 대조군(ConA군)보다 IL-10 농도가 유의하게 감소하였고, 72주령 흰쥐의 비장세포에서 양성 대조군(Vit.C군)보다 IL-10 농도가 유의하게 증가하였다.
5. SGT군은 52주령과 72주령 흰쥐의 비장세포에서 10주령 보다 IFN- γ 농도가 유의하게 감소하였다.

이상의 결과 水火既濟湯은 노화 흰쥐의 비장세포의 면역 활성 및 면역 조절 능력을 증가시키는 효과가 있었다. 따라서 水火既濟湯의 활용을 통해 노화의 방지와 면역력 증강의 효과를 기대할 수 있겠다. 앞으로 水火既濟湯의 다양한 활용을 위하여 추가적인 연구가 지속적으로 필요할 것이다.

VI. 參考文獻

1. 통계청. 2010 고령자통계. 통계소식. 2010. Available

- from:URL:http://kostat.go.kr.
2. 손장락. 활성산소와 항산화제. 서울:바이오메디컬. 2004:130.
 3. 장휘숙. 성인심리학. 성인발달, 노화, 죽음. 서울:박영사. 2006:78.
 4. 전국한의과대학 사상의학교실. 개정증보사상의학. 서울:집문당. 2005:81-82, 200-201,312,390-394,410, 694.
 5. 杜鎬京. 東醫腎系學. 서울:東洋醫學研究院. 1991:1093-1100,1325-1383.
 6. 이경우. 편주역해 황제내경소문 1권. 서울:여강출판사. 2000:31,201-202.
 7. 김숙희, 김화영. 노화. 서울:민음사. 1995:77-88.
 8. 구병삼. 노화방지의학. 서울:칼빈서적. 2003:37-44.
 9. 강태숙 외 19명. 임상면역학. 서울:청구문화사. 2005:11-23.
 10. Bae JK, Ahn TW. Antioxidative activity of Suhwagije-tang in aged rats. in press (Korean).
 11. Lee JH, Goo DM, Ahn TW. Effects of Suhwagije-tang distillate on serum and testosterone in aging rats. Journal of Sasang Constitutional Medicine. 2010;22(4): 85-97. (Korean)
 12. 보건복지부. 우리나라의 보건의료 실태 분석 결과. Available from: http://news.chosun.com/site/data/html_dir/
 13. Cheon JS. Concept of ageing. J Korean Soc Biol Ther Psychiatry. 2007;13(2):129-137. (Korean)
 14. 이정찬. 신 사상의학론. 2권. 서울:목과토. 2003: 191,205,207,228,229,238,239.
 15. 대한미생물학회. Kuby 면역학. 서울:이퍼블릭. 2008:43-54.
 16. Lim KH, Kim SY, Kim HM, Kim JS, Jo CJ, Yu YC, An HJ. Effect of Gypsum Fibrosum on Interleukin-4 Secretion of Mice Splenocytes. Journal of the Korea Association of Herbolgy. 2002;17(2):139-144. (Korean)
 17. Shim SM, Joo SG, Kim GW, Koo BS. Effects of Baegumhwan administration on immune-function in ICR mice stressed by electric footshock. Journal of Oriental Neuropsychiatry. 2002;13(1):1-15. (Korean)
 18. Choi BC, Ahn TW. Anti-Oxidant Effect of Hyangsaya-nyi-tang Decoction in Stomach, Spleen and Pancreas Cell of SD Rats. J Sasang Constitut Med. 2008;20(2): 72-84. (Korean)
 19. Lee HE, Ahn TW. Anti-Oxidant Effect of Hyeongbang-jihwang-tang Decoction in Kidney, Bladder and Spleen Cell of SD Rats. J Sasang Constitut Med. 2008;20(2): 85-97. (Korean)
 20. 나종득, 안희경. Concanavalin A의 자극에 의한 생쥐 오금림프절내 림프소절과 속결질의 변화에 관한 형태계측학적 연구. 경희대학교 대학원 박사학위 논문. 2000:1-37.
 21. Yoon HG, Bang DW, Park SH, Ahn JH, Seo J, Yoon YJ, Hyon MS, Kim SK, Kwon YJ. The change of serum level of total antioxidant status and cytokine, and in-stent restenosis after supplementation of antioxidant. The Korean Journal of Internal Medicine. 2006;71(2): 158-165. (Korean)
 22. Kim YH, Kim JW, Kim CH, Cho MK, Kim SM, Kang WD, Cho HY, Yang SY, Ahn BW, Song TB. Effect of vitamin C and E on the Lipid peroxide, anti-oxidant ability, and antioxidant vitamin Levels in maternal and umbilical venous plasma. Korean Journal of Obstetrics & Gynecology. 2009;52(11):1117-1126. (Korean)
 23. Kwak YS. Studies of Exercise-Induced Allergy Anaphylaxis Mechanisms and the Effects of Vitamin C and Catalase Supplementation in Exercise-Induced Allergy Anaphylaxis Models. Journal of life science. 2010;20(4):511-518. (Korean)
 24. Lee SY, Ahn TW. Anti-aging Effect of Tae-Eumin's Nocyongdaebo-tang(NYD) in Aged Rats. J Sasang Constitut Med. 2008;20(2):58-71. (Korean)
 25. Sun TC, Ahn TW. Anti-aging Effect of Sipyimigwanjung-tang in Aged Rats. J Sasang Constitut Med. 2008;20(2): 98-110. (Korean)
 26. Lee HS, Ahn TW. Anti-aging and Anti-oxidative Effect of Gongjinhugwon-dan in Early Stages of Aging Rats. J Sasang Constitut Med. 2007;19(3): 242-256. (Korean)
 27. Lim JP, Ahn TW. The Anti-oxidative and Immune-regulatory Effect of Chungsimyeonja-tang in Aged Rat.

- Journal of Sasang Constitutional Medicine. 2007;19(3): 227-241. (Korean)
28. 장응찬. 흰쥐에서 연령이 골격근의 당대사에 미치는 영향. 영남의대학술지. 2001;18(1):94-100.
 29. Park SK, Lee HJ, Kim HT, Whang WW. An experimental study of oriental medicine on cure for dementia. Journal of Oriental Neuropsychiatry. 1998; 9(2):19-35. (Korean)
 30. Murphy MP, Rick J Th, Milgram NW, Ivy GO. A simple and rapid test of sensorimotor function in the aged rat. Neurobiology of Learning and Memory. 1995; 64:181-186.
 31. 이귀녕, 권오현. 임상병리 파일. 제3판. 서울:의학문화사. 2003:716-732.
 32. 표석능, 손은화. 면역학개론. 서울:신일북스. 2008: 145-158.
 33. Mire-Sluis, A.R., R.Thorpe. CYTOKINES. San Diego, California: Academic Press. 1998:19-400.
 34. 서설. 임상면역학 제2판. 서울:고려의학. 2009:121, 126-131.
 35. Chang Joon Bae, Min Sun Kim, Su Youn Yim, Dae Youn Hwang, Cheul Kyu Kim, Byoung Guk Kim, Sun Bo Shim, Seung Wan Jee, Su Hae Lee, Ji Soon Sin, Byoung Chun Lee, Jong Min Woo, Mee Kyung Jang, Kab Ryong Chae. Phthalic Anhydride Can Induce the Difference on Skin Inflammation and Interleukin-4 Expression in BALB/c, TG2576 and NOD Mice. Laboratory Animal Research. 2008;24(1):27-31.
 36. 식품의약품안전청 바이오생약국. 생약·한약제제의 효력시험 가이드라인(아토피피부염). 서울:바이오생약국 생약제제과. 2010:7.
 37. 강혜영, 김동수, 이영진, 김규언, 정병주, 이기영. 소아 천식 환아에서 혈청 Interleukin - 10치의 변동에 관한 연구. 대한 천식 및 알레르기학회 추계학술대회 초록집. 1995:485.