

## 少陰人 藿香正氣散의 抗 Allergy 作用

안보국\* · 송정모\*

### Abstract

## Anti-allergy Action of Soeumin *Kwakhyangjeonggis*

Ahn Bo-kook · Song Jeong-mo

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

The purpose of this research was to investigate the effects of *Kwakhyangjeonggis* (KJS) on the anti-allergic action. In the present study, we examined the effect of KJS on type I and type IV allergic reaction. KJS inhibited the systemic anaphylaxis induced by compound 48/80 and platelet activating factor (PAF), and inhibited the passive cutaneous anaphylaxis (PCA) induced by anti-dinitrophenyl (DNP)-IgE and DNP-human serum albumin (HSA) *in vivo*. In addition, KJS dose-dependently inhibited the release of histamine from peritoneal mast cells in rat. Also, KJS inhibited the delayed type hypersensitivity (DTH) induced by SRBC and the contact dermatitis induced by dinitrofluorobenzene (DNFB). KJS inhibited the proliferation of splenocytes, the subpopulation of B220<sup>+</sup> cells and CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>(Th) cells in splenocytes and the production of  $\gamma$ -interferon in serum and splenocytes. These findings suggest that KJS prevented the type I allergy by the inhibition of histamine release from mast cells and the type IV allergy by the inhibition of  $\gamma$ -interferon production and B lymphocytes subpopulation. These results indicate that KJS may be useful for the prevention and treatment of type I and type IV allergy related disease.

Key words : Kwakhyangjeonggis(KJS), I allergy, IV allergy, prevention

### I. 緒 論

Allergy 질환이 알려지기 시작한 것은 기원전 1세기부터지만 크게 문제되기 시작한 것은 산업의 발달로 각종 물질이 우리의 생활환경을 오염시키면서부터이다. 최근 우리나라에서도 allergy 질환이 증가하는 추세에 있으며 발병 연령도 매우 낮아지고 있다.<sup>1)</sup>

한의학에서는 '扶正祛邪'라는 치료방법이 면역 및

allergy 질환 치료에 대한 이론적 근거가 되고 있으며,<sup>2)</sup> 최근 들어서는 체질과의 관련성을 중요하게 생각하는 경향이 높아지고 있다. 사상의학에서는 각 체질의 병증을 表病과 裏病으로 분류함으로써 체질에 따른 臟腑의 상호관계를 정상화시켜 균형을 회복하면 면역계의 다양성이 충분히 발휘되어 항병력을 증강시키고 病邪에 대항할 수 있다 하여 면역과 allergy 질환에 대한 치료의 근거를 제시하고 있다.<sup>3)</sup>

少陰人 藿香正氣散은 李濟馬<sup>4)</sup>의 『東醫壽世保

\* 우석대학교 한의과대학 사상체질과

교신저자 : 송정모 주소)전주시 완산구 중화산동 2-5 우석대학교 부속한방병원 전화)063-220-8600 E-Mail)soo-dang@hanmail.net

元」新定 少陰人病 應用要藥 二十四方に 수록되어 있으며, 興信<sup>3)</sup>의 「古今醫鑑」에 기재된 藿香正氣散에서 桔梗·白芷·白茯苓을 去하고 桂皮·乾薑·益智仁을 추가하여 少陰人 腎受熱表熱病的 太陽病 大腸怕寒, 鬱狂初證, 少陰人 胃受寒裏寒病的 太陰病 下利清穀 등의 증에 응용된 처방이다<sup>6,7)</sup>.

따라서 임상활용에 있어서 外感風寒·內傷飲食·六鬱·頭痛·嘔逆·胸悶·腹脹·痰嗽·嘔吐·泄瀉·霍亂·癩疹·中風初證 등에 적용하는 처방으로서 그 활용도가 매우 광범위하다<sup>6,10)</sup>.

少陰人 藿香正氣散은 또한 少陰人의 表病과 裏病에 두루 사용하여 升陽益氣와 襄陰降氣의 작용을 동시에 발휘하면서 臟腑의 불균형을 조절해주는 치료기전으로 볼 때 면역조절기능이 있을 것으로 추측할 수 있으며, 癩疹, 咳嗽 등 allergy 질환에도 사용되어 왔다는 점을 고려할 때 면역조절기능 실조로 인한 질환과 각종 allergy 질환에 광범위하게 사용할 수 있을 것으로 사료된다.

최근 한의학계에서는 약재의 單味 혹은 복합처방이 면역 및 allergy에 미치는 영향에 대한 실험적 연구가 많이 이루어지고 있는데<sup>11,34)</sup>, 사상처방을 이용한 연구는 朴<sup>35)</sup>의 葛根解肌湯, 金<sup>36)</sup>의 清心蓮子湯과 清肺瀉肝湯, 崔<sup>37)</sup>의 熱多寒少湯, 徐<sup>38)</sup>의 少陽人 忍冬藤地骨皮湯 등으로 면역작용을 살펴 본 것들이 보고되어 있으나 少陰人 處方에 대한 것은 없었다.

Allergy는 Gell과 Coombs<sup>39)</sup>에 의해 4 가지 형으로 분류되는데, 제 I, II 및 III 형은 항원과 체액성 항체의 상호작용에 기인된 즉시형 반응이며, 제 VI 형은 지연형 반응으로 주로 감각 T 임파구에 의해 주도되는 반응이다.<sup>40)</sup>

따라서 저자는 少陰人 藿香正氣散의 allergy에 대한 작용을 관찰하고자 가장 흔한 제 I 형 및 IV 형에 대한 실험을 실시한 바, 유의한 결과가 있었기에 보고하는 바이다.

## II. 實驗 材料 및 方法

### 1. 材料

#### 1) 動物

본 실험에 사용한 mouse는 ICR계 및 BALB/c계 수

컷 20±2g을, rat는 SD계 수컷 200±20g을 대한실험동물에서 구입하여, 온도 20±2℃, 습도 50±5%, dark/light 12시간의 조건하에서 1주일 이상 실험실에 적응시킨 후 사용하였으며, 고형사료와 물을 자유롭게 섭취하도록 하였다.

### 2) 試藥 및 器具

실험에 사용한 시약은 Dulbecco's modified Eagle's medium(DME), penicillin-streptomycin, Dulbecco's phosphate buffered saline(DPBS-A), compound 48/80, anti-dinitrophenyl(DNP)-IgE antibody, dinitrophenyl-human serum albumin(DNP-HSA), platelet activating factor(PAF), metrizamide, dinitrofluorobenzene(DNFB)는 Sigma Co., RPMI 1640, fetal bovine serum(FBS), trypsin은 Gibco Co., mouse γ-IFN immunoassay kit, mouse interferon-2(IL-2) immunoassay kit, mouse IL-4 immunoassay kit는 R&D Co., PE-conjugated anti-CD4, FITC-conjugated anti-CD8 antibody, PE-conjugated anti-B220, FITC-conjugated anti-Thy1 mAbs는 Dainippon seiyaku Co. 등을 사용하였으며, 기타 시약은 cell culture用 및 1급 시약을 사용하였다. 사용기구는 culture flask(Nunc), multi-well plate(96-well, 24-well, Costar), Microplate -Reader (Dynatech MR5000), CO2 incubator(Vision scientific Co.), inverted microscope (Nikon Co.), freeze dry apparatus (Ilisin Co.), flow cytometer (Coulter EPICS- XL), spectrofluorometer(Kottron Co.) 등을 使用하였다.

### 2. 方法

#### 1) 檢液의 調劑

본 실험에 사용한 少陰人 藿香正氣散의 구성은 「東醫壽世保元」<sup>4)</sup>에 준하였으며, 사용한 약재들은 우석대학교 부속 한방병원에서 구입하여 정선하여 사용하였고 그 내용과 분량은 다음과 같다.

Prescription of Soeumin Kwakhyangjeonggisan

韓藥名	生藥名	重量(g)
藿香	Agastachis Herba	6
蘇葉	Perillae Herba	4
蒼朮	Atractylodis Rhizoma	2
白朮	Atractylodis Rhizoma Alba	2
半夏	Pinelliae Tuber	2
陳皮	Aurantii Nobilis Pericarpium	2
青皮	Aurantii Immatri Pericarpium	2
大腹皮	Arecae Pericarpium	2
桂皮	Cinnamomi Cortex	2
乾薑	Zingiberis Rhizoma	2
益智仁	Alpiniae Fructus	2
甘草	Glycyrrhizae Radix	2
生薑	Zingiberis Rhizoma	4
大棗	Zizyphi Fructus	2
合計		36

상기 처방 2침 분량을 증류수 2,000ml로 2회 가열 추출한 후, 여과하여 여액을 rotary evaporator로 농축한 다음, freeze dryer로 동결건조하여 분말 14.8g (수득율 20.6%)을 얻어 (이하 KJS라 칭함), 동물실험 시에는 생리식염수에 용해시켜 사용하였다.

**2) Compound 48/80에 의한 anaphylatic shock**

생쥐(ICR계) 1군을 10마리로 하여 대조군에는 생리식염수만을 실험군에는 KJS 500mg/kg 및 1,000 mg/kg을 경구 및 복강으로 투여하고 1시간 후에 Compound 48/80 8mg/kg을 복강투여한 다음 1시간 동안 anaphylatic shock에 의해 치사되는 생쥐의 수를 관찰하였다.<sup>41)</sup>

또한 반복투여에 의한 KJS의 영향을 알아보기 위해 KJS 500mg/kg을 1일 1회씩 7일간 경구투여한 후 동일한 실험을 실시하여 치사되는 생쥐의 수를 관찰하였다. KJS 연속 투여에 의한 영향을 관찰하기 위해서 KJS 500mg/kg을 경구로 1일 1회씩 7일간 경구투여하고, 동일한 실험을 실시하여 치사되는 생쥐의 수를 관찰하였다.

**3) PAF에 의한 anaphylatic shock**

생쥐(ICR계) 1군을 10 마리로 하여 Ha의 방법<sup>42)</sup>에

의해 실시하였다. 대조군에는 생리식염수만을 실험군에는 KJS 500mg/kg 및 1,000mg/kg을 경구 및 복강으로 투여하고 1시간 후에 platelet activating factor(PAF) 25µg/ml를 0.1ml 꼬리 정맥에 주사한 다음 1 시간 동안 anaphylatic shock에 의해 치사되는 생쥐의 수를 관찰하였다.

**4) Anti-DNP-IgE와 DNP-HSA에 의한 PCA 반응**

흰쥐 5마리를 1군으로 하여 털을 제거한 후, 등에 anti-DNP-IgE 0.5µg(50µl)을 피하주사하였다. 48 시간 후에 대조군에는 생리식염수를, 실험군에는 KJS 500mg/kg을 경구투여한 다음 1시간 후에 dinitrophenyl- human serum albumin(DNP-HSA) 1mg과 4% evans blue 용액 1 : 1 혼합액 100µl를 꼬리정맥에 주사하였다. 30분 후에 청색반점이 나타난 흰쥐의 등 피부를 박리하여 1N-KOH 1ml로 24시간 동안 색소를 추출하였다. 추출액을 5N-H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 5ml로 중화하고 acetone 3ml를 가하여 2,500 rpm에서 10분간 원심분리하였다. 상층액을 분리하여 620nm에서 흡광도를 측정하였다.<sup>43)</sup>

**5) 복강 mast cell의 분리**

Kanemoto 등<sup>44)</sup>의 방법에 준하여 흰쥐 복강 mast cell을 분리하였다. 흰쥐를 ether로 마취시킨 후 실온에서 PMC buffer (PBS 100ml, FBS 10ml, Heparin 10,000 unit 1ml에 3차 증류수를 가해 1,000 ml로 조제, pH 7.0) 30ml를 복강에 주입하고 90초간 복벽을 가볍게 마사지한 다음 복강액을 채취하여 원심분리 (1,500 rpm, 5분)하였다. 15ml tube에 22.5% metrizamide (4 °C) 2ml를 넣고 Yurt 등의 방법<sup>45)</sup>에 따라 그 위에 DME 배지로 희석한 세포부유액을 서서히 가하고 1,300 rpm에서 10분간 원심분리 하였다. 세포를 DME 배지로 세척한 후 2 x 10<sup>5</sup> cells/ml로 조제하여 실험에 사용하였다.

**6) 세포배양액 분리**

세포배양액은 분리한 mast cell을 2 x 10<sup>5</sup> cells/ml로 조제하여 eppendorf tube에 1ml씩 넣고, CO<sub>2</sub>-incubator에서 10분간 배양한 후 PMC buffer로 희석한 KJS를 최종농도가 0.05, 0.25, 0.5, 2.5 및 5mg/ml로 되도록 각각 가하고 37°C에서 10분간 배양한 다음

compound 48/80 5µg/ml를 가하여 10분간 배양하였다. 배양액을 1,500 rpm으로 10분간(4℃) 원심분리하여 상층액을 분리하였다.

#: PMC buffer; 10X PBS 100 ml + FBS 10 ml + heparin(10,000 unit, 1 ml) + 3차 증류수 = 1,000 ml(pH 7.0)

### 7) Histamine 정량

분리한 세포배양액 중의 histamine의 정량은 Shore 등<sup>46)</sup>의 방법에 준하여 측정하였다. 혈청 및 상층액 500µl에 0.N-HCl 450µl와 과염소산 용액 50µl를 넣고 혼합한 후 1,500 rpm으로 20분간 원심분리하고, 상층액 800µl를 취해 5N-NaOH 용액 500µl, 증류수 3ml, n-BuOH 10ml 및 NaCl 1.2g을 넣어 진탕한 다음 2,000 rpm으로 20 분간 원심분리 하였다. n-BuOH 층 8ml를 취하여 0.1N-HCl 3ml와 n-heptane 10ml를 가하여 진탕한 후 2,000 rpm으로 20 분간 원심분리하였다. 수층 2ml를 취하여 1N-NaOH 용액 400µl와 1% o-phthalaldehyde(OPA) 용액 100µl를 가하고 37℃ 수 욕상에서 3분 동안 반응시킨 다음 3N-HCl 200µl를 넣어 혼합하여 2분 동안 방치한 후 λ<sub>em</sub>=353nm, λ<sub>em</sub>=440nm에서 형광광도를 측정하였다.

$$\text{Histamine 유리억제율 (\%)} = \frac{A - B}{A} \times 100$$

A; KJS를 첨가하지 않았을 때의 histamine 양

B; KJS를 첨가하였을 때의 histamine 양

### 8) SRBC에 의한 delayed type hypersensitivity (DTH) 반응

생쥐 8 마리를 1군으로 하여 Yoshikai 등<sup>47)</sup>의 방법에 따라 KJS 500mg/kg을 경구투여하고 2 x 10<sup>7</sup>개의 SRBC 0.03ml를 마우스 좌측 후 족척 피하에 주사해서 감작시킨 다음 4일 후에 KJS 500mg/kg을 경구 투여하고 1시간 후 우측 후 족척 피하에 2 x 10<sup>8</sup>개의 SRBC 0.025ml를 주사하여 반응을 야기하였다. 야기 직후(T<sub>0</sub>) 및 야기 24시간 후(T<sub>24</sub>)에 족척의 두께를 micrometer로 측정하였다.

$$\% \text{ increase} = (T_{24} - T_0 / T_0) \times 100$$

### 9) DNFB에 의한 접촉성 피부과민반응

생쥐 8마리를 1군으로 하여 Ha<sup>48)</sup>의 방법에 따라 마우스의 복부를 제모한 다음 실험 1일 및 2일에

0.5% DNFB 용액(acetone:olive oil=4:1) 10µl를 복부피부에 도포하여 감작한 다음, 5일 후 KJS 500 mg/kg을 경구투여하고 1시간 후 0.2% DNFB 용액 10µl씩 귀 내 외면에 각각 도포하였다. 귀 종창증가의 정도는 micrometer를 사용하여 야기직전 (T<sub>0</sub>), 24시간 후 (T<sub>24</sub>) 및 48시간 후 (T<sub>48</sub>)에 귀의 두께를 측정하였으며 종창증가의 정도는 다음 공식에 따라 %로 나타내었다.

$$\% \text{ increase} = (T_{24} \text{ or } T_{48} - T_0 / T_0) \times 100$$

### 10) Thymocytes 및 splenocytes의 분리

생쥐의 thymocytes 및 splenocytes 분리는 Wysocki<sup>49)</sup> 및 Mizel<sup>50)</sup> 등의 방법을 이용하였다. 생쥐 5 마리를 1군으로 하여 KJS 500mg/kg을 1일 1회씩 7일간 경구 투여한 다음 8일째 생쥐를 경추탈골하여 도살하였다. 적출한 흉선 및 비장을 DPBS-A를 넣은 petri dish에서 잘게 분쇄하고 멸균된 stainless mesh로 여과하여 세포부유액을 얻은 후, DPBS-A로 2회 세척한 다음 (1,500 rpm에서 10분간 원심분리), thymocytes 및 splenocytes 부유액으로 하였다. 배지에는 10% FBS와 penicillin-streptomycin (100units/ml, 100µg/ml)을 첨가하여 사용하였다.

### 11) Thymocytes 및 splenocytes의 증식능 측정

Thymocytes 및 splenocytes의 증식능 측정은 Mosmann<sup>51)</sup>이 개발하여 Kotnik 등<sup>52)</sup>이 변형시킨 MTT 방법으로 측정하였다. 분리한 thymocytes 및 splenocytes를 RPMI 1640 배지로 세포 부유액을 조제한 후, 96-well plate의 각 well에 세포 부유액 100µl (2x10<sup>5</sup> cells/ml)를 접종하고 thymocytes에는 concanavalin A(Con A) 5µg/ml를 첨가하거나 또는 첨가하지 않은 조건으로, splenocytes에는 lipopolysaccharide(LPS) 10µg/ml를 첨가하거나 첨가하지 않은 조건으로 37℃의 CO<sub>2</sub> incubator에서 48시간 배양하였다. 배양 종료 4시간 전에 5mg/ml 농도로 DPBS-A에 희석된 MTT용액 20 µl를 각 well에 첨가하고, 0.1N-HCl에 용해시킨 10%-SDS 100µl를 각 well에 첨가하여 차광 상태에서 18시간 더 배양한 후 발색된 각 well의 흡광도를 microplate reader로 570nm에서 측정하여 세포생존율을 산정하였다.

### 12) Thymocytes 및 splenocytes의 subpopulation 측정

분리한 thymocytes 및 splenocytes를 각각 RPMI 1640 배지로 3회 세척하였다. T cell의 population은 PE-conjugated anti-CD4 및 FITC-conjugated anti-CD8 monoclonal antibody로, T 및 B cell의 subpopulation은 PE-conjugated anti-B220 및 FITC-conjugated anti-Thy1 monoclonal antibody로 이중 염색하여 4 °C에서 30 분간 반응시킨 후 flow cytometer [excitation; 488 nm, emission; 525 nm(FITC), 575 nm(PE)]로 subpopulation을 측정하였다<sup>33)</sup>.

### 13) Cytokines 측정

생쥐 5마리를 1군으로 하여 대조군에는 생리식염수만을, 실험군에는 KJS 500mg/kg을 1일 1회씩 7일간 경구투여한 다음 8일째 생쥐의 심장으로부터 혈액을 채취하여 원심분리한 후 혈청을 분리하여, 혈청 50 $\mu$ l를 취하여 mouse immunoassay kit를 이용하여 cytokines를 측정하였다. 즉 sample 50 $\mu$ l에 assay diluent 50 $\mu$ l를 혼합하여 실온에서 2시간 동안 incubation한 후 4회 세척하였다. 세척 후 anti-mouse cytokines conjugated concentrate 100 $\mu$ l를 가하여 실온에서 2 시간 incubation한 후, 5회 세척하고 substrate solution 100 $\mu$ l를 혼합하여 30분 동안 실온에서 배양하였다. Stop solution 100 $\mu$ l를 가하여 450nm에서 microplate reader로 흡광도를 측정한 후, 미리 작성한 검량선에 의해 cytokines의 양을 환산하였다.

Thymocytes 및 splenocytes 배양액 중  $\gamma$ -Interferon의 측정은 생쥐 5마리를 1군으로 하여 대조군에는 생리식염수만을, 실험군에는 KJS 500mg/kg을 1일 1회씩 7일간 경구투여한 다음 8일째 동일한 방법으로 thymocytes 및 splenocytes를 분리하여 2 x 10<sup>7</sup> cells/ml로 조제하여 96 well plate에 200 $\mu$ l 씩 분주한 후, 72 시간 동안 CO<sub>2</sub> incubator에서 배양하였다. 배양액을 원심분리 (2,500rpm, 2분, 4°C) 한 다음, 상등액 50  $\mu$ l를 취하여 mouse immunoassay kit를 이용하여  $\gamma$ -Interferon의 양을 측정하였다.

### 14) 통계처리

모든 실험 결과들은 Mean $\pm$ SE로 나타내었고 통계 처리는 student t-test를 실시하여 P<0.05를 기준으로

유의성 여부를 판정하였다.

## III. 實驗 結果

### 1. 藿香正氣散 (KJS)이 compound 48/80에 의한 anaphylaxis에 미치는 효과

대조군은 compound 48/80을 주사시 100%가 사망하였으나, KJS 500 및 1,000mg/kg을 경구투여시에는 사망률이 각각 70 및 50%로 감소하였으며, KJS 500 및 1,000mg/kg을 복강투여시에는 사망률이 각각 50 및 0%로 대조군에 비해 감소하였다(Table I).

Table I. Effect of Kwakhyangjeonggisan(KJS) on the anaphylaxis induced by compound 48/80 in mice

Samples	Dose (mg/kg)	Route	Mortality (%)
Control	Saline	p.o.	100
KJS	500	p.o.	70
KJS	1,000	p.o.	50
KJS	500	i.p.	50
KJS	1,000	i.p.	0

KJS (500mg/kg or 1,000mg/kg) was administered p.o. or i.p. 1 h before Compound 48/80 (8 mg/kg, i.p.) injection. The data represents the mortality of 10 mice.

한약은 경구투여를 하기 때문에 KJS 연속 투여에 의한 작용을 관찰하기 위해 KJS 500 mg/kg을 7일간 경구투여하고 compound 48/80을 주사시 사망률은 30%를 나타내었다. 이는 KJS가 compound 48/80에 의한 즉시형 과민반응을 억제할 수 있음을 시사하는 것이다(Table II).

Table II. Effect of a repeat administration of KJS on the anaphylaxis induced by compound 48/80 in mice

Samples	Mortality (%)
Control	100
KJS	30

KJS (500mg/kg) was administered p.o. once a day for 7 days and Compound 48/80 (8mg/kg) was injected i.p. The data represents the mortality of 10 mice.

### 2. PAF에 의한 anaphylaxis에 미치는 효과

대조군은 PAF을 주사시 100%가 사망하였으나, KJS 500 및 1,000mg/kg을 경구투여시에는 사망률이 80 및 60%로 감소하였으며, KJS 500 및 1,000mg/kg을 복강투여시에는 사망률이 50 및 30%로 대조군에 비해 감소하였다(Table III). 이러한 결과는 KJS이 PAF에 의해 유도되는 전신성 anaphylaxis의 발현을 억제하여 생체를 방어하는 작용이 있음을 의미하는 것이다.

Table III. Effect of KJS on the anaphylaxis induced by PAF in mice

Samples	Dose (mg/kg)	Route	Mortality (%)
Control	Saline	p.o.	100
KJS	500	p.o.	80
KJS	1,000	p.o.	60
KJS	500	i.p.	50
KJS	1,000	i.p.	30

KJS (500 mg/kg or 1,000 mg/kg) was administered p.o. or i.p. 1 h before PAF(25 µg/ml i.v.) injection. The data represents the mortality of 10 mice.

### 3. Anti-DNP-IgE와 DNP-HSA에 의한 PCA 반응에 미치는 효과

대조군에서 유출된 evans blue의 양은 8.5±0.6µg/ml이었으나, KJS을 투여한 군은 5.8±0.2µg/ml로 약 32% 감소하였다(Table IV).

Table IV. Effect of KJS on passive cutaneous anaphylaxis(PCA) in mice

Samples	Leakage of evans blue(µg/ml)
Control	8.5±0.6
KJS	5.8±0.2*

The data represents the mean±SE from 5 rats.

\* ; Significantly different from control group (p<0.05).

### 4. Compound 48/80에 의한 복강 mast cell로부터 histamine 유리에 미치는 효과

Mast cell에 KJS를 전처리하고 compound 48/80을 가했을 때 KJS는 용량 의존적으로 복강 mast cell로

부터 histamine의 방출을 억제하였다(Table V).

Table V. Effect of KJS on histamine release induced by compound 48/80 from rat peritoneal mast cells in vitro

KJS Concentration (mg/ml)	Inhibition of histamine release (%)
0.05	9.4±1.2
0.25	19.8±2.5
0.5	33.1±2.9
2.5	34.6±3.1
5	48.1±4.2

The data represents the mean±SE from 3 experiments.

### 5. SRBC에 의한 족척종창반응에 미치는 효과

SRBC 투여 24 시간 경과 후 hind paw의 두께는 대조군에서 1.45±0.02mm에서 1.65±0.03mm로 13.8% 증가되었으나, KJS 500mg/kg을 투여한 군은 1.46±0.03mm에서 1.54±0.03mm로 5.5% 증가되어 대조군에 비해 증가율이 감소하였다(Table VI).

Table VI. SRBC induced delayed type hypersensitivity in KJS-administered mice

Samples	Footpad thickness(mm)		Increase(%)
	T0	T24	
Control	1.45±0.02	1.65±0.03	13.8
KJS	1.46±0.03	1.54±0.03*	5.5

Mice were sensitized with  $2 \times 10^7$  SRBC on 0 day and challenged with 0.03 ml of  $2 \times 10^8$  SRBC on 4 day. KJS (500mg/kg) was administered p.o. at the indicated day of SRBC-sensitization. Footpad thickness was measured just before challenge (T<sub>0</sub>) and again at 24 hr (T<sub>24</sub>) after challenge, and calculated as following formula: % Increase =  $[(T_{24} - T_0)/T_0] \times 100$ . The data[footpad thickness(mm)] represents the mean±SE from 8 mice.

\*; Significantly different from control group (p<0.05).

### 6. DNFB에 의한 접촉성 피부과민반응에 미치는 효과

DNFB 도포 직전의 대조군의 귀 두께는 0.30±0.01mm 이었으며, 도포 24시간 및 48시간 후의 귀 두께는 0.55±0.01mm 및 0.63±0.02mm로 각각

83.3% 및 110.0%로 증가하였으나, KJS 500mg/kg을 투여한 군은 0.50±0.01mm 및 0.56±0.02mm로 각각 66.7% 및 86.7% 증가하여 대조군에 비해 증가율이 감소하였다(Table VII).

Table VII. Contact dermatitis induced by DNFB in KJS-administered mice

Samples	Ear thickness(mm)			Increase (%)	
	T <sub>0</sub>	T <sub>24</sub>	T <sub>48</sub>	T <sub>24</sub>	T <sub>48</sub>
Control	0.30±0.01	0.55±0.01	0.63±0.02	83.3	110.0
KJS	0.30±0.01	0.50±0.01*	0.56±0.02*	66.7	86.7

Mice were sensitized with 0.5% DNFB on 0 day and 1 day challenged with 0.2% DNFB on 5 day. KJS (500mg/kg) was administered *p.o.* for 5 day. Ear thickness was measured just before challenge (T<sub>0</sub>) and agains at 24 hr (T<sub>24</sub>) and 48 hr (T<sub>48</sub>) after challenge, and calculated as following formula: % Increase = [(T<sub>24</sub> or T<sub>48</sub> - T<sub>0</sub>)/T<sub>0</sub>] X 100.

\*; The data [Ear thickness(mm)] represents the mean±SE from 8 mice.

\*; Significantly different from control group (p<0.05).

## 7. Thymocytes 및 splenocytes의 증식능에 미치는 효과

대조군의 thymocytes에 T-lymphocyte mitogen인 Con A를 처리하였을 때의 세포생존율을 100%로 하였을 때, Con A를 처리하지 않았을 때 세포생존율은 78.5±2.1%로 감소하였으며, KJS를 투여하고 분리한 thymocytes에 Con A를 처리하였을 때의 세포생존율은 105.1±2.6%로, Con A를 처리하지 않았을 때 세포생존율은 84.1±2.8%로 대조군과 별 차이가 없었다(Table VIII).

대조군의 splenocytes에 B-lymphocyte mitogen인 LPS를 처리하였을 때의 세포생존율을 100%로 하였을 때, LPS를 처리하지 않았을 때 세포생존율은 77.5±3.1%로 감소하였으며, KJS를 투여하고 분리한 splenocytes에 LPS를 처리하였을 때의 세포생존율은 61.9±1.5%로, LPS를 처리하지 않았을 때 세포생존율은 47.2±1.8%로 대조군에 비해 감소하였다(Table IX).

Table VIII. Effect of KJS on the proliferation of murine thymocytes

Samples	Cell Proliferation (%)	
	Treated of Concanavalin A	Non-treated of Concanavalin A
Control	100.0±2.2	78.5±2.1
KJS	105.1±2.6	84.1±2.8

KJS (500mg/kg) was administered *p.o.* once a day for 7 days, and the separated thymocytes (1.2x10<sup>6</sup> cells/ml) were cultured for 48 h in RPMI1640 media mixed with an activating mitogen of concanavalin A. The data represents the mean±SE of 5 mice.

Table IX. Effect of KJS on the proliferation of murine splenocytes

Samples	Cell Proliferation (%)	
	Treated of Lipopolysaccharide	Non-treated of Lipopolysaccharide
Control	100.0±2.7	77.5±3.1
KJS	61.9±1.5*	47.2±1.8*

KJS (500mg/kg) was administered *p.o.* once a day for 7 days, and the separated splenocytes (1.2x10<sup>6</sup> cells/ml) were cultured for 48 h in RPMI1640 media mixed with an activating mitogen of lipopolysaccharide. The data represents the mean±SE of 5 mice.

\*; Significantly different from control group (p<0.01).

## 8. Thymocytes 및 splenocytes의 subpopulation에 미치는 효과

대조군의 thymocytes 중 CD4 single positive(CD4<sup>+</sup>) 세포는 12.5±0.3%이었으며, CD8 single positive(CD8<sup>+</sup>) 세포는 3.2±0.2%이었다. KJS를 투여하고 분리한 생쥐 thymocytes의 CD4<sup>+</sup> 세포는 12.9±0.5%로, CD8<sup>+</sup> 세포는 3.6±0.5%로 대조군과 별 차이가 없었다(Table X).

대조군의 splenocytes 중 Thy1 positive 세포(Thy1<sup>+</sup>)는 37.8±2.5%이었으며, B220 positive 세포(B220<sup>+</sup>) 세포는 22.7±1.8%이었다. KJS를 투여하고 분리한 생쥐 splenocytes 중 Thy1<sup>+</sup> 세포는 36.4±1.9%로 B220<sup>+</sup> 세포는 16.5±1.5%로 대조군에 비해 B220<sup>+</sup> 세포가 감소하였다. Splenic T-lymphocytes 중 대조군의 CD4<sup>+</sup> 세포는 13.1±0.7% 이었으며, CD8<sup>+</sup> 세포는 4.1±0.6%이었으나, KJS를 투여하고 분리한 생쥐 splenic T-lymphocytes 중 CD4<sup>+</sup> 세포는 11.6±0.9%로 대조군

에 비해 감소하였으나, CD8<sup>+</sup> 세포는 4.7±0.5%로 대조군과 별 차이가 없었다(Table XI).

Table X. Effect of KJS on the subpopulation of murine thymocytes

Samples	Cell Subpopulation (%)	
	CD4 <sup>+</sup>	CD8 <sup>+</sup>
Control	12.5±0.3	3.2±0.2
KJS	12.9±0.5	3.6±0.5

KJS (500mg/kg) was administered p.o. once a day for 7 days, and the separated thymocytes were stained with PE-conjugated anti-CD4 and FITC-conjugated anti-CD8 monoclonal antibody for 30 minutes at 4 °C. The subpopulation was determined with a flow cytometer. The data represents the mean±SE of 5 mice.

Table XI. Effect of KJS on the subpopulation of murine splenocytes

Samples	Cell Subpopulation (%)			
	B220 <sup>+</sup>	Thy1 <sup>+</sup>	CD4 <sup>+</sup>	CD8 <sup>+</sup>
Control	37.8±2.5	22.7±1.8	13.1±0.7	4.1±0.6
KJS	36.4±1.9	16.5±1.5*	11.6±0.9*	4.7±0.5

KJS (500mg/kg) was administered p.o. once a day for 7 days, and the separated splenocytes were stained with PE-conjugated anti-B220 및 FITC-conjugated anti-Thy1 monoclonal antibody or PE-conjugated anti-CD4 and FITC-conjugated anti-CD8 monoclonal antibody for 30 minutes at 4 °C. The subpopulation was determined with a flow cytometer. The data represents the mean±SE of 5 mice.

\*, Significantly different from control group (p<0.05).

### 9. Cytokines 분비에 미치는 효과

대조군의 혈청 중  $\gamma$ -interferon의 양은 40.3±4.3 pg/ml 이었으나, KJS를 투여한 군은 30.5±3.1 pg/ml로 대조군에 비해 감소하였으나, interleukin-2 및 interleukin-4의 양은 대조군에서 각각 45.6±2.8 pg/ml 및 85.2±5.1 pg/ml 이었으며, KJS를 투여한 군은 49.8±5.3 pg/ml 및 80.6±5.7 pg/ml로 대조군과 별 차이가 없었다(Table XII).

혈청 중  $\gamma$ -interferon의 양이 감소하였기 때문에, 이를 주로 생산하는 thymocytes 및 splenocytes의 배양액 중  $\gamma$ -interferon의 양을 측정하였다. Thymocytes에서 대조군의  $\gamma$ -interferon의 양은 297.6±6.3 pg/ml 이었으며 KJS를 투여한 군은 307.5±11.7 pg/ml로 대조

군에 비해 별 차이가 없었으나, splenocytes에서 대조군의  $\gamma$ -interferon의 양은 442.8±12.7 pg/ml 이었으며, KJS를 투여한 군은 332.5±15.4 pg/ml로 감소하였다 (Table XIII).

Table XII. Effect of KJS on the production of cytokines in mice serum

Samples	Production of Cytokine (pg/ml)		
	$\gamma$ -Interferon	Interleukin-2	Interleukin-4
Control	40.3±4.3	45.6±2.8	85.2±5.1
KJS	30.5±3.1*	49.8±5.3	80.6±5.7

KJS (500 mg/kg) was administered p.o. once a day for 7 days, and the production of cytokines was determined in separated serum with ELISA kit. The data represents the mean±SE of 5 mice.

\*Significantly different from control group (\*; p<0.05).

Table XIII. Effect of KJS on the production of  $\gamma$ -Interferon in murine thymocytes and splenocytes

Samples	$\gamma$ -Interferon (pg/ml)	
	Thymocytes	Splenocytes
Control	297.6±6.3	442.8±12.7
KJS	307.5±11.7	332.5±15.4*

KJS (500mg/kg) was administered p.o. once a day for 7 days, and the separated thymocytes (2 x 10<sup>7</sup> cells/ml) were cultured for 72 h in RPMI1640 media. The secretion of cytokines was determined in supernatants of cultures with ELISA kit. The data represents the mean±SE of 5 mice.

\*Significantly different from control group (p<0.01).

## IV. 考 察

少陰人 藿香正氣散은 『東醫壽世保元』<sup>4)</sup> 新定 少陰人病 應用要藥 二十四方に 수록되어 있으며, 李濟馬가 龔信<sup>3)</sup>의 『古今醫鑑』에 기재된 藿香正氣散에서 桔梗·白芷·白茯苓을 去하고 桂皮·乾薑·益智仁을 추가하여 만든 처방으로 少陰人の 表病과 裏病에 두루 사용된 처방이다. 藿香 一錢五分, 紫蘇葉 一錢, 蒼朮 白朮 半夏 陳皮 青皮 大腹皮 桂皮 乾薑 益智仁 炙甘草 各五分, 生薑 三片 大棗 二枚의 내용으로 구성되어 있으며, 少陰人 腎受熱表熱病에서 太陽病과 陽明病, 胃受寒裏寒病에서 太陰病에 사용되는데 것으로 기재되어 있다<sup>4)</sup>.

腎受熱表熱病에서는 張仲景이 논한 바 太陽傷風發熱惡寒者是 少陰人腎受熱表熱病이나 이證에 發熱惡寒而無汗者是 桂枝湯, 川芎桂枝湯, 香蘇散, 芎歸香蘇散 등과 함께 藿香正氣散을 사용할 수 있다고 하여 少陰人 表病證의 鬱狂初證에 응용함을 밝혔다. 또한 太陽病의 外證未除한 상태에서 其人如狂者是 腎陽困熱이고 小腹硬滿者是 大腸怕寒인데, 大腸怕寒이면 마땅히 藿香正氣散이나 香砂養胃湯으로 和解한다고 하였으며, 만일 外熱이 包裹冷하여 毒氣가 重結於內하여 장차 養虎遺患의 弊가 생길 우려가 있으면 먼저 巴豆丹을 써서 설사를 시킨 후에 藿香正氣散을 사용한다고 하였다<sup>4)</sup>. 이는 表病이 있으면서 裏病證이 동시에 나타날 때 裏病證을 먼저 해소하는 방법으로 사용하기도 함을 밝힌 내용으로 볼 수 있다.

또한 藿香正氣散은 婦人傷寒發熱에 經水適來適斷하고 晝日明了, 夜則譫語하여 如見鬼狀한 熱入血室證과 陽明病의 口燥嗽水不欲嚥한 증, 陽明病에 不能食한데 攻其熱하면 반드시 嘔이 생기는 證, 비록 陽明에 속해도 嘔多하여 攻下해서는 안되는 證 등 陽明病證에도 香砂養胃湯이나 八物君子湯과 더불어 응용할 수 있다고 기재되어 있는데<sup>4,6)</sup>, 이 또한 비록 表病이라 하여도 裏寒證으로 인한 병증을 수반하는 경우 사용할 수 있음을 제시한 것으로 보인다.

한편 이제마는 張仲景이 病發於陰而反下之라 말한 것은 病發於胃弱한 것으로 마땅히 藿香正氣散을 사용하여야 하는데 반대로 大黃 등으로 下法을 썼음을 의미한다고 해석하였는데<sup>4)</sup>, 이는 藿香正氣散이 病發於陰 혹은 胃弱한데 응용되는 처방임을 보여주는 것이라 할 수 있다.

胃受寒裏寒病에서는 少陰人病에 下利清穀者是 積滯가 自解하는 것인데 太陰證 下利清穀者是 마땅히 藿香正氣散, 香砂養胃湯, 芫花寬中湯 등으로 溫胃而降陰하고, 少陰證 下利清穀者是 官桂附子理中湯으로 健脾而降陰하여야 한다고 하였는데<sup>4,6)</sup>, 이는 藿香正氣散이 溫胃而降陰하는 치료기전에 의하여 太陰證에 응용되는 처방임을 설명한 내용이다.

또한 이제마는 “藿香正氣散, 香砂六君子湯, 寬中湯, 蘇合元 등은 모두 張仲景 瀉心湯의 變劑로 이는 所謂 靑於藍者 出於藍한 것이다”<sup>4)</sup>라 하여 後世方 藿香正氣散이 瀉心湯의 의미를 가진 것으로 설명하

였다. 이제마는 瀉心湯證의 主症狀인 心下痞를 太陰病證의 주된 증후로 삼고 溫胃而降陰시킴으로써 이를 해결하려 했음을 알 수 있는 내용이다.

한편, 少陰人 藿香正氣散의 母方이라 할 수 있는 藿香正氣散은 「東醫寶鑑」<sup>5)</sup>에서 雜病篇의 傷寒陰證·乾霍亂·濕霍亂·四時傷寒·不伏水土 등의 항목에서 언급되고 있는 바, 역대 醫書에 의하면 外感風寒의 邪를 宣散하고, 飲食內傷으로 인한 濕濁을 化濕제하며, 겸하여 和中利氣의 효능이 있어서 發熱惡寒·頭痛·胸膈滿悶·腹脘疼痛·惡心嘔吐·腹脹·痰嗽·氣喘·傷冷·傷濕·傷暑·瘧亂·吐瀉·痢疾·腸鳴泄瀉·舌苔白膩·山嵐瘴氣·不伏水土·傷寒陰證 등을 치료하는 방제로 널리 응용되고 있는 처방이다.<sup>5,54-64)</sup>

이제마도 이와 같은 후세방 藿香正氣散의 용도와 처방정신에 대하여 그대로 인정하고 받아들였을 것으로 사료된다. 이는 醫源論<sup>4)</sup>에서 “少陰人의 病證藥理는 張仲景이 庶幾乎昭詳發明하였고 宋元明 諸醫가 盡乎昭詳發明하였다”라고 한 것에서 알 수 있듯이 후세 의가들에 의하여 少陰人의 병증과 처방운용이 거의 정립되었고 이를 이제마가 인정한 것으로 볼 수 있으며, 다만 병증에 대한 해석을 사상의학적으로 재해석하여 새로운 소음인 병증체계를 확립할 수 있었던 것으로 파악된다. 따라서 「東醫寶鑑」에 제시된 藿香正氣散의 다양한 병증운용을 瀉心湯의 정신으로 요약하고 溫胃而降陰하는 치료정신으로 해석하였던 것이다.

이와 같은 처방정신에 따라 少陰人 藿香正氣散은 이제마 이후의 四象醫家들에 의하여 太陰證 吐瀉·外感風寒·四時不正之邪·惡寒發熱·下焦蓄血證·內傷飲食·頭痛·嘔逆·胸悶·腹脹·咳嗽·嘔吐·泄瀉·霍亂·癰疹·中風初證 등에 광범위하게 응용되어 왔다.<sup>8-10)</sup>

이와 같이 少陰人 藿香正氣散은 少陰人의 表病과 裏病에 두루 사용하여 升陽益氣와 裏陰降氣 作用을 동시에 발휘하면서 장부간의 불균형을 조절하므로 면역조절작용과 항 allergy 작용이 있을 것으로 추측할 수 있다.

Allergy는 1906년 소아과 의사 Clemens von Pirquet가 처음 사용한 용어로 그리스어의 allos(change)와 ergo(action)의 합성어로 생체의 변화된 반응능력을

뜻하며, 이물질(항원)에 대하여 특이한 변형된 반응을 나타내는 생물학적 현상으로 면역반응이 생체에 미치는 영향 중에서 병적 과정을 초래하는 것을 말한다. 최근에 와서는 면역현상과 대립하는 것으로 과민반응과 거의 같은 뜻으로 사용되고 있다.<sup>65,68)</sup>

한의학 문헌에서 allergy와 관계된 것으로 巢元方<sup>69)</sup>의 『諸病源候論』에 漆의 과민반응과 체질과의 연관성에 대한 내용이 있으며, 역대 문헌에 나온 哮喘, 鼻軌, 軌嚏, 癩疹, 奶癩(胎熱), 胎斂瘡 등의 병증이 allergy와 관련된 病症이라고 볼 수 있다<sup>69)</sup>.

Allergy 반응 중 가장 흔한 제 I 형은 anaphylaxis 형 반응으로 항원이 세포친화성 IgE 항체와 결합하면 가교를 형성하여 IgE 항체의 수용체를 가진 조직 비만세포 또는 혈액 호염기구 내에서 일련의 활성화 반응이 일어나면서 비만세포 또는 호염기구가 탈과립되어 histamine, serotonin 등의 1차성 및 leukotrieneb, PAF 등 2차성의 혈관작용성 매개물들이 방출되어 allergy 반응이 유발된다. 제 IV 형은 항체가 반응의 주역이 되는 I ~ III 형의 작용기전과는 달리 주로 감각 T 임파구에 의해 주도되는 반응이다.<sup>40)</sup>

제 I 형의 질환으로는 anaphylaxis shock, 기관지천식, 담마진, 고초열, 화분증 및 알러지성 비염, 제 II 형 질환으로는 용혈성빈혈, 재생불량성빈혈 및 혈소판감소증, 제 III 형 질환으로는 국소성 조직괴사, 제 IV 형 질환으로는 접촉성피부염 및 이식조직 거부 반응 등이 있다. 피부과 영역에서는 제 I 형과 IV 형이 복합적으로 관여하는 경우가 많다.<sup>70)</sup>

본 연구에서는 少陰人 藿香正氣散(KJS)의 항 allergy 작용에 대하여 살펴보고자 각종 allergy 반응에 대한 실험을 실시하였다.

제 I 형 allergy는 IgE 항체와 mast cell에 의해 유발되며, 피부, 점막 등에서 국소성 또는 전신성으로 상해가 나타난다. 본 실험에서는 제 I 형 알레르기의 지표실험으로서 KJS가 compound 48/80에 의한 anaphylaxis 반응, PAF에 의한 anaphylaxis 반응, 수동 피부 anaphylaxis 반응 (PCA 반응), compound 48/80에 의한 histamine 유리에 대한 실험을 하였다. 제 IV 형 allergy는 T 임파구에 의한 상해반응으로 Th1 임파구에 의해 활성화된 macrophages가 중심이 되는 지연형 과민반응과 Tc 임파구에 의한 동종 이식 거부반응

이 여기에 포함된다. 제 IV 형의 지표실험으로서는 SRBC에 의한 마우스 족척 종창반응 (DTH 반응)과 DNFB에 의한 접촉성 피부과민반응을 실험하였다.<sup>71)</sup>

Compound 48/80에 의한 anaphylaxis 반응은 mast cell로부터 histamine, bradykinin 및 serotonin과 같은 혈관작용성 물질이 유리되어 나타나는 반응으로 알려져 있다.<sup>72)</sup> KJS를 경구로 500mg/kg 및 1,000mg/kg 투여하고 compound 48/80을 주사하였을 때 anaphylaxis에 의해 치사되는 치사율은 70% 및 50%로 감소하였으며, KJS를 복강으로 500mg/kg 및 1,000mg/kg 투여하고 compound 48/80을 주사하였을 때 anaphylaxis에 의해 치사되는 치사율은 50% 및 0%로 감소하였다. 또한 KJS 500mg/kg을 경구로 7일간 투여하였을 때 치사율은 30%로 감소하였다.

PAF는 Benveniste 등<sup>73)</sup>에 의하여 IgE로 감작된 토끼의 호염기구에서 1980년에 처음으로 분리된 이후 제 I 형 과민반응 및 염증반응의 강력한 mediator임이 확인되었으며, 혈소판 뿐만 아니라 호중구, 호산구, macrophage, 혈관내피세포 등 각종 세포에서 분비되고 있음이 밝혀졌으며<sup>74)</sup>, 이를 동물에 주사하면 IgE 중개성 anaphylaxis와 같은 증상이 발현됨이 증명되었다.<sup>75)</sup> KJS를 경구 및 복강 투여하고 PAF에 의한 anaphylaxis에 의한 치사율을 측정한 결과 치사율이 감소되었다. 이러한 결과는 KJS가 histamine 및 IgE에 의해 유도되는 즉시형 과민반응을 모두 억제하고 있음을 의미하는 것이다.

PCA반응은 즉시형 과민반응에 세포친화성 항체가 관여하고 있는 것을 관찰하는 실험으로 항원 (anti-DNP-IgE)을 마우스 피내에 주사하면 세포친화성 항체는 세포와 결합하지만 세포와 결합하지 않은 항체는 소실될 때까지 방치한 다음 항원 (DNP-HSA)을 evans blue와 함께 혼합하여 정맥주사하면 mast cell의 고친화성 IgE 수용체(FcεRI)를 경유하여 mast cell의 활성화가 일어난다. Mast cell이 활성화되면 세포질 내의 Ca<sup>2+</sup> 농도가 상승하여 탈과립이 일어나 histamine 등의 mediator가 유리되어 모세혈관 투과성이 증가하여 evans blue에 의한 청색반점으로 나타난다.<sup>43)</sup> KJS 투여시 유출되는 evans blue의 색소 양이 감소되었다. 이는 KJS가 mast cell의 활성화를 억제하고 있음을 시사하는 것이다.

Compound 48/80에 의해 mast cell은 탈과립 되어

histamine이 유리된다. KJS를 전처리하고 compound 48/80을 처리시 용량의존적으로 histamine의 유리가 억제되었다. 이 결과는 KJS가 mast cell로부터 histamine의 유리를 억제하여 즉시형 과민반응, 즉 제 I 형 allergy 반응을 억제하고 있음을 시사하는 것이다.

제 IV 형 allergy반응은 지연형과민반응 (DTH)으로서 특히 DTH 반응은 감각된 T 임파구와 macrophage에 의해 매개되는 세포매개성반응이 특징이다. 이 반응은 홍반과 경결이 특징적으로 나타나고 주사 후 24~48시간이 지나서 최대가 된다. KJS를 투여하고 SRBC를 투여하였을 때 즉척종창이 대조군에 비해 감소하였으며, DNFB를 처리하였을 때 도 귀의 두께가 감소하였다. 이는 KJS가 제 IV 형 allergy 반응을 억제할 수 있음을 의미하는 것이다.

한편, 제 IV 형 allergy 반응은 생체의 면역계와 긴밀한 관계가 있으며, 생체의 면역계는 흉선에서 분화되는 T 임파구와 골수에서 유래하는 B 임파구 및 macrophage 등이 중요한 역할을 담당하고 있다.

흉선세포는 thymus의 피질 및 수질에서 분화과정을 거쳐 helper T lymphocyte(CD4<sup>+</sup>) 및 cytotoxic T lymphocyte (CD8<sup>+</sup>)로 분화되며, 분화된 helper T(Th) 세포 중 Th1 세포에서는  $\gamma$ -IFN 및 IL-2가, Th2 세포에서는 IL-4, IL-6 및 IL-10 등의 cytokine이 분비되어, 다른 T, B 임파구 및 macrophage의 증식과 분화를 촉진하는 것으로 알려져 있고, Cytotoxic T cell은 tumor cell의 lysis를 일으키며 macrophage를 활성화시키는 것으로 알려져 있다. 한편 B 임파구는 항체의 생성을 촉진하는 것으로 알려져 있다.<sup>76)</sup> KJS 투여시 흉선세포의 증식은 변화가 없었으나, 비장세포의 증식은 억제되었다. 이는 KJS가 B 임파구의 증식을 억제하여 항체 생성을 억제할 수 있음을 시사하는 것이다. 한편 흉선세포 중 Th/Tc 세포의 비율은 대조군에서 12.5% 및 3.2%로 KJS 투여시 12.9% 및 3.6%로 대조군과 별 차이가 없었다. 정상 생쥐 thymus에서 CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>(Th) cells은 약 12%이며, CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>(Tc) cells은 약 3%로 보고되어 있으며<sup>77)</sup>, 본 실험에서도 대조군의 흉선세포의 subpopulation은 비슷하였다. 비장세포 중 B 임파구의 population은 대조군에 비해 감소하였으며, 비장세포 중 Th/Tc 세포의 비율은 감소되었다. 이는 KJS가 비장세포의 B 임파구의 population을 감소시켜 항체 생산을 억제할 수 있음을 시사하

는 것이며, 비장세포 중 Th 세포의 작용을 억제할 수 있음을 의미하는 것이다.

비장세포 중 Th 세포의 population이 감소되었기 때문에 Th 세포에서 분비되는 cytokines인  $\gamma$ -IFN, IL-2 및 IL-4의 양을 측정하였다. KJS를 투여하고 분리한 혈청 중에 Th1 세포에서 분비되는  $\gamma$ -IFN의 양은 대조군에 비해 감소하였으나, IL-2의 양은 대조군과 별 차이가 없었으며, Th2 세포에서 분비되는 IL-4의 양도 별 차이가 없었다. 감소된  $\gamma$ -IFN이 흉선 세포와 비장세포 중 어느 쪽에서 감소되었는가를 관찰한 결과 비장세포에서 감소되었다. 이 결과는 비장세포에서 감소된 Th 세포가 주로 Th1 세포임을 시사하는 것이며, 비장세포의 Th1 세포로부터  $\gamma$ -IFN의 분비가 감소되었음을 의미하는 것이다. DTH 반응은 Th1 세포가 동일한 항원으로 재차 자극되어  $\gamma$ -IFN을 생성하여 macrophage를 활성화함으로써 나타나는 염증성 조직상해이다. 본 실험결과 KJS 투여시  $\gamma$ -IFN의 생성이 억제되었다는 것은 KJS가 DTH 반응시 비장세포의 Th1 세포의 population을 감소시켜  $\gamma$ -IFN의 생성을 억제하여 제 VI 형 allergy 반응에 효과가 있음을 시사하는 것이다.

이상의 실험결과 KJS는 histamine 유리를 억제하여 제 I 형 allergy 반응을, B 세포의 증식 억제 및  $\gamma$ -IFN의 생성을 억제하여 제 VI 형 allergy 반응을 억제하는 약물이라 사료된다.

## V. 結 論

少陰人 藿香正氣散 (KJS)의 항 allergy 작용에 대한 실험결과는 다음과 같다.

1. Compound 48/80에 의한 anaphylaxis 반응을 억제하였다.
2. PAF에 의한 anaphylaxis 반응을 억제하였다.
3. Anti-DNP-IgE와 DNP-HSA에 의한 PCA 반응을 억제하였다.
4. Mast cell로부터 compound 48/80에 의한 histamine 유리를 억제하였다.
5. SRBC에 의한 DTH 반응을 억제하였다.
6. DNFB에 의한 접촉성 과민반응을 억제하였다.
7. 흉선세포의 증식에는 영향을 주지 않았으나, 비

- 장세포의 증식은 억제하였다.
8. 흉선세포의 Th/Tc 세포의 비율에는 영향을 주지 않았으나, 비장세포의 T 세포의 비율 및 Th 세포의 비율은 감소시켰다.
  9. 혈청 중  $\gamma$ -IFN의 양은 감소되었으나, IL-2 및 IL-4의 양은 변화가 없었다.
  10. 흉선세포 중  $\gamma$ -IFN의 양은 변화되지 않았으나, 비장세포 중  $\gamma$ -IFN의 양은 감소되었다.

이상의 실험결과 少陰人 藿香正氣散은 histamine 및 IgE에 의해 매개되는 제 I 형 allergy 및 T 임파구가 관여하는 제 VI 형 allergy반응을 억제하는 항 allergy작용이 있는 약물이라고 사료된다.

## V. 參考文獻

1. 편복양 : 알레르기 질환의 조기예방, 서울, 알레르기, 1994 ; 14(1):3-9.
- 2.駱和生 : 免疫과 韓方, 서울, 열린책들, 1994 ; 15-21.
- 3.金敬堯 : 難治病과 免疫 그 四象醫學의 接近, 사상학회지, 1995 ; 7(2):122.
- 4.李濟馬 : 東醫壽世保元, 서울,杏林出版社, 1979 ; 9, 29-41, 63, 69.
- 5.龔信 : 古今醫鑑,江西省,江西省新華書店, 1990 ; 123, 127.
- 6.전국한의학대학교사상의학교실 : 四象醫學, 서울,集文堂, 1997 ; 458-462.
- 7.洪淳用,李乙浩 : 四象醫學原論, 서울,杏林出版社, 1994 ; 45, 149-156, 178-181, 224, 230.
- 8.元持常 : 東醫四象新編, 대구,韓林院, 1990 ; 24-26, 42.
- 9.朴寅商 : 東醫四象要訣, 서울,소나무, 1991 ; 151.
- 10.朴爽彦 : 東醫四象大典, 서울,醫道韓國社, 1977 ; 391-580.
- 11.金倫範 : 藿香正氣散과 加味方이 胃腸管機能 및 抗 알레르기에 미치는 影響, 慶熙大學校大學院, 1993.
- 12.趙英敏 : 小青龍湯이 알레르기 喘息의 呼吸樣相과 氣管組織에 미치는 影響, 慶熙大學校大學院, 1999.
- 13.신연상 : 蒼耳散合辛夷膏의 血液學的 變化 및 알레르기 反應에 미치는 實驗的 研究, 大田大學校大學院, 1999.
- 14.이승룡 : 補中益氣湯 및 補中益氣湯加味方이 흰 쥐의 알레르기 喘息에 미치는 影響, 東義大學校大學院, 1999.
- 15.柳旭相 : 麥門冬湯이 알레르기 喘息의 呼吸樣相과 氣管組織에 미치는 影響, 慶熙大學校大學院, 1999.
- 16.金承洙 : 解表二陳湯이 알레르기 喘息의 呼吸樣相과 氣管組織에 미치는 影響, 慶熙大學校大學院, 1999.
- 17.權純湖 : 五拗湯이 알레르기 喘息의 呼吸樣相과 氣管組織에 미치는 影響, 慶熙大學校大學院, 1999.
- 18.王中權 : 定喘湯이 알레르기性 喘息의 呼吸樣相과 氣管粘膜炎의 好酸球浸潤에 미치는 影響, 慶熙大學校大學院, 1999.
- 19.全彰基 : 辛夷花에 의한 即時型 알레르기의 反應 抑制 效果, 圓光大學校大學院, 1999.
- 20.李寬順 : 實驗動物모델에서 金黃散의 急性 皮膚疾患에 대한 抗알레르기 效果, 圓光大學校大學院, 1999.
- 21.공복철 : 細辛根이 抗 알레르기 效果에 對한 實驗的 研究, 東義大學校大學院, 1998.
- 22.李克魯 : 白朮 黃芪 龍葵의 免役調節作用 및 알레르기 低減화에 關한 研究, 慶山大學校大學院, 1997.
- 23.金弼洙 : 葛根解肌湯合平胃散加味方이 鎮痛 消炎 및 알레르기 反應에 對한 研究, 大田大學校大學院, 1997.
- 24.黃光鎬 : 即時型 알레르기 反應에 있어서 枳實 抽出液의 抑制作用機轉, 圓光大學校大學院, 1996.
- 25.李惠卿 : 小青龍湯과 加味小青龍湯이 I型 및 IV型 알레르기反應과 肺浮腫에 미치는 影響, 大田大學校大學院, 1996.
- 26.朴陽春 : 蘇子降氣湯과 加味蘇子降氣湯이 I型 및 IV型 알레르기反應과 肺損傷에 미치는 影響, 大田大學校大學院, 1994.
- 27.金京善 : 托裏消毒飲의 抗 알레르기 效果에 關

- 한 實驗的 研究, 慶熙大學校大學院, 1994.
28. 崔圭東 : 銀花甘草湯과 加味方이 抗 알레르기 解熱 消炎 鎮痛效果에 미치는 影響, 慶熙大學校大學院, 1993.
  29. 李延淑 : 加味清心連子飲 煎湯液이 抗 알레르기 反應과 Mouse의 免役細胞機能에 미치는 影響, 大田大學校大學院, 1993.
  30. 김중호 : 消風散과 加味消風散이 免役反應 및 抗 알레르기에 미치는 影響, 慶熙大學校大學院, 1991.
  31. 蘇敬順 : 消風清熱加減方이 알레르기의 豫防 및 治療에 미치는 影響, 慶熙大學校大學院, 1990.
  32. 金英信 : 清肌散 및 清肌散加減方的 抗 알레르기 免役反應에 對한 實驗的 研究, 慶熙大學校大學院, 1990.
  33. 金英台 : 蘇子降氣湯 및 蘇子導痰降氣湯이 I型 및 IV型 알레르기 反應과 肺血栓塞에 미치는 影響에 關한 比較 研究, 慶熙大學校大學院, 1988.
  34. 宋峰根 외 : 枳實의 抗알러지 作用에 對한 研究, 대한한방내과학회지, 2000 ; 21(1):156-161.
  35. 朴性植 : 太陰人 葛根解肌湯과 元持上의 葛根解肌湯이 免役反應에 미치는 影響, 사상체질의학회지, 1997 ; 9(1):315-338.
  36. 金達來 : 太陰人 清心連子湯과 清肺瀉肝湯의 免役反應과 抗 알레르기 效果에 關한 實驗的 研究, 慶熙大學校大學院, 1991.
  37. 최의권 : 熱多寒少湯이 太陰人 腦硬塞症 患者의 細胞活性物質生成調節에 미치는 影響, 사상체질의학회지, 2000 ; 12(1):201-215.
  38. 서용배 : 少陽人 忍冬藤地骨皮湯이 中消合併症에 미치는 影響, 사상체질의학회지, 2000 ; 12(1):186-200.
  39. Coombs, R.R.A. and Gell, P.G.H.: Classification of allergic reactions responsible for clinical hypersensitivity and disease. In: Clinical Aspects of Immunology, 3rd ed., Blackwell Scientific, Oxford, 1975 ; 761.
  40. IFT Expert Panel on Food Safety and Nutrition: Food Technol., 1985 ; 39(9):65.
  41. Cochrane, D.E. and Douglas, W.W.: Calcium-induced excrusion of secretory granules (exocytosis) in mast cells exposed to compound 48/80 or ionophores A-23187 and X-537A. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1974 ; 71:408.
  42. Ha, T.Y., Park, Y.M. and Rhew, H.Y.: Effect of platelet activating factor on fatal active systemic anaphylaxis. *Kor. J. Immunology*, 1990 ; 12(2):145.
  43. Katayama, S., Shionoya, H. and Ohrake, S.: A new method for extraction of extravasated dye in the skin and the influence of fasting stress on passive cutaneous anaphylaxis in guinea pigs and rats. *Microbiology and Immunology*, 1978 ; 22:89.
  44. Kanemoto, T., Kasugai, T., Yamatodani, A., Ushio, H., Mochizuki, T.K., Kimura, M., Nishimura, M. and Kitamura, Y.: Supernormal histamine release and normal cytotoxic activity of beige rat mast cells with giant granules. *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 1993 ; 100:99.
  45. Yurt, R.W., Leid, R.W. and Austen, K.F.: Native heparin from rat peritoneal mast cells. *J. Biol. Chem.*, 1977 ; 252:518.
  46. Shore, P.A., Burkhalter, A. and Cohn, V.H.: A method for fluorometric assay of histamine in tissues. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1959 ; 127:182.
  47. Yoshikai, Y., Maie, S., Matsumoto, T., Nomoto, K. and Takeya, K.: Effects of stimulation and blockade of mononuclear phagocyte system on the delayed-type footpad reaction to SRBC in mice. *Immunology*, 1979 ; 38:577.
  48. Ha, D.Y., Kim, H.I. and Im, S.Y.: Effect of dexamethasone on diferent types of murine T suppressor cells. *Kor. J. Immunology*, 1987 ; 9:1.
  49. Wysocki, L.J. and Sato, V.L.: Planning for lymphocytes: A method for cell selection. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1978 ; 75:2844.
  50. Mizel, S.B., Openheim, J.J. and Rosensteich, D.L.: Characterization of lymphocyte-activating factor(LAF) produced by the macrophage cell line P388D1. *J. Immunol.*, 1979 ; 120:1497.
  51. Mosmann, T.: Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxic assays. *J. Immunol. methods*. 1983 ; 65:55.
  52. Kotnic, V. and Fleischmann, W.R.Jr.: A simple and

- rapid method to determine hematopoietic growth factor activity. *J. Immunol. methods.* 1990 ; 129:23.
53. Suda, T. and Nagata, S.: Purification and characterization of the Fas-ligand that induces apoptosis. *J. Exp. Med.*, 1994 ; 179:873-879.
54. 許浚 : 東醫寶鑑, 서울, 南山堂, 1994 ; 386.
55. 陳師文 : 太平惠民和劑局方, 北京, 人民衛生出版社, 1985 ; 78-79.
56. 康命吉 : 濟衆新編, 서울, 鼎談, 1994 ; 14-15.
57. 周命新 : 醫門寶鑑, 대구, 韓林院, 1987 ; 21.
58. 楊蘊祥 外 : 古今名方, 北京, 河南科學技術出版社, 1983 ; 401-402.
59. 吳謙 : 醫宗金鑑, 서울, 一中社, 1982 ; 79.
60. 王肯堂 : 六科准繩, 서울, 翰成社, 1982 ; 409.
61. 李仲梓 : 醫宗必讀, 서울, 一中社, 1991 ; 180-181.
62. 李槿 : 醫學入門, 서울, 大星文化社, 1994 ; 70.
63. 程國彭 : 醫學心悟, 臺北, 大方出版社, 1985 ; 283-284.
64. 朱震亨 : 丹溪心法, 서울, 大星文化社, 1982 ; 250.
65. 尹德鎮 : 小兒科學大全, 서울, 연세대학교출판부, 1984 ; 453-459.
66. 醫學教育研修院 : 家庭醫學, 서울, 서울대학교출판부, 1988 ; 248-250, 604-607.
67. 丁奎萬 : 東醫小兒科學, 서울, 행림출판, 1990 ; 400-411.
68. 丁奎萬 : 알레르기과 韓方, 서울, 第一路, 1990 ; 15-55.
69. 巢元方 : 諸病源候論, 臺中, 昭人出版社, 1958 ; 35:19, 49:8.
70. Mackaness, G.B.: Delayed hypersensitivity and the mechanism of cellular resistance to infection. In: Progress in Immunology, edited by B. Amos, Academic press, New York, 1971 ; 413.
71. 中島 泉 : 新免疫學入門, 서울, 南山堂, 1993 ; 202-209.
72. Amir, S. and Englis, A.M.: An inhibitor of nitric oxide production. N<sup>G</sup>-nitro-L-arginine-methyl ester, improves survival in anaphylactic shock. *Eur. J. Pharmacol.*, 1991 ; 203:125.
73. Benveniste, J., Henson, P.M. and Cochrane, C.G.: leukocyte-dependent histamine release from rabbit platelet. The role of IgE, basophil and a platelet-activating factor. *J. Exp. Med.*, 1972 ; 136:1356.
74. Fitzgerald, M.F., Moncada, S. and Parente, L.: The anaphylaxis release of platelet activating factor from perfused guinea-pig lungs. *Br. J. Pharmacol.*, 1986 ; 88:149.
75. Darius, H., Lefer, D.J. and Smith, J.B.: Role of platelet-activating factor in mediating guinea pig anaphylaxis. *Science*, 1986 ; 232:58.
76. Miceli, M.C. and Parnes, J.R.: The role of CD4 and CD8 in T cell activation and differentiation. *Advances in Immunology*, 1993 ; 53:59.
77. Abbas, A. K., Lichtman, A. H. and Pober, J. S.: Cellular and molecular immunology., Saunders Company (2ed). U.S.A., 1994 ; 177-178.