

清肺瀉肝湯이 생쥐의 Lipopolysaccharide 유발 關節炎에 미치는 影響

김주희* · 박성식*

Abstract

The Effect of Chungpyesagantang on Lipopolysaccharide induced Arthritis in Mice

Kim Ju-hee* · Park Seong-sik*

*Dept. of Sasang Constitutional Medicine, College of Oriental Medicine, Dongguk Univ.

1. PURPOSE : The purpose of this study is to investigate the effect of Chungpyesagantang on LPS induced Arthritis in Mice.
2. METHOD : All the BALB/C Mice used in this study were 4wks of age at the start of the experiment. The experimental model of Arthritis was induced by injection of 300 μ g/kg LPS in mice knee joint. The experiment was compare daily CS treatment group after Arthritis elicitation with Arthritis elicited group at day 4, 7, 14 after Arthritis elicitation.
3. RESULTS
 - 1) The hyperplasia of synoviocytes of CS treatment group after Arthritis elicitation is softer than Arthritis elicited group.
 - 2) The aggregation of collagen fibers CS treatment group after Arthritis elicitation is decreased than Arthritis elicited group.
 - 3) The distribution of TUNEL positive cells(apoptotic cell) of CS treatment group was remarkably increased than Arthritis elicited group.
 - 4) The distribution of TNF- α , NF- κ B p50, COX-2 positive cells of CS treatment group after Arthritis elicitation in synovial membrane was decreased than Arthritis elicited group.
 - 5) The distribution of IL-2R- α , ICAM-1 positive cells of CS treatment group after Arthritis elicitation in apical surface of synovial membrane was decreased than Arthritis elicited group.
 - 6) The distribution of NF- κ B p50, IL-2R- α in common iliac lymph node of CS treatment group after Arthritis elicitation positive cells was decreased than Arthritis elicited group.
4. CONCLUSION : As a result of these experimental results, it may be concluded that Chungpyesagantang used for treatment of LPS induced Arthritis in Mice.
Inflammation activity in CS treatment group after Arthritis elicitation was decreased than Arthritis elicited group.

KEY WORDS : Chungpyesagantang, LPS induced Arthritis, TNF- α , NF- κ B p50, COX-2, IL-2R- α , ICAM-1

* 동국대학교 한의과대학 사상체질과

교신처자 : 김주희 (주소) 경기도 수원시 팔달구 매탄동 1270-1번지 주공플라자 3층 삼인당 한의원
전화)031-214-7533 e-mail) kjh72@hotmail.com

I. 緒 論

清肺瀉肝湯은 元¹⁾의 『東醫四象新編』에서 처음 命名된 處方으로, 李²⁾의 『東醫壽世保元』의 太陰人 肝受熱裏熱病論에 기재된 熱多寒少湯에 大黃 1錢을 加한 處方이다. 이 처방은 太陰人 燥熱病에 大便秘結이 있는 症을 治療하는 方劑로, 中風으로 인한 中腑二便閉, 燥, 火, 六鬱, 水積, 白淫, 癩癩, 尿血, 痰塊, 産後 胞衣不下로 인한 腹痛등을 治療하는데 사용되며, ¹⁻³⁾ 臨牀적으로 太陰人の 關節 疾患이나 痛症 疾患에도 活用될 수 있는데, 『東醫四象新編』¹⁾에서는 歷節風에도 活用할 수 있다고 하였다.

歷節風이란 關節疾患으로 張⁴⁾의 『金匱要略』에서 病名으로 제시되었고 巢⁵⁾의 『諸病源候論』에서 언급되고 있으며 發熱과 骨節煩疼 掣痛 不得屈伸 肢節疼痛 身體羸 脚腫如脫⁴⁾, 骨節蹉跌⁶⁾ 등의 症狀이 있고, 痺症⁷⁾(風痺, 寒痺, 濕痺, 熱痺), 白虎歷節風⁸⁾, 鶴膝風, 白虎病⁹⁾ 痛風⁸⁾ 등과 같은 범주로 볼 수 있다.

清肺瀉肝湯에 대한 研究 報告로는, 臨牀적으로 太陰人 中風治療에 活用됨을 論한 바 있으며,⁹⁾ 實驗적으로 姜等¹⁰⁻¹¹⁾이 연구한 혈전 형성 억제와 뇌동맥에 미치는 영향이 있고 그의 張等¹²⁻¹³⁾의 항알레르기 효과, 具, 許¹⁴⁻¹⁵⁾의 糖尿, 肥滿에 미치는 影響 등이 있으며, 尹¹⁶⁾의 報告에서 鎮痛에 미치는 효과를 보고한 바 있다. 歷節風에 대한 기존의 研究 報告로는 理論적으로 痺病에 대한 研究¹⁷⁻¹⁸⁾가 있고, 實驗적으로 張¹⁹⁾의 黃柏 및 威靈仙 藥鍼과 崔等²⁰⁻²¹⁾의 桂枝藥鍼, 전²²⁾의 大防風湯이 LPS유발 關節염에 미치는 영향 등이 있었다.

이에 著者는 清肺瀉肝湯을 이용하여 歷節風에 미치는 효과를 實驗적으로 檢證해보고자,

Lipopolysaccharide(이하LPS)로 유발한 생쥐의 實驗的 關節炎에 이를 투여하여 關節 運轉막에서 일어나는 형태 변화, 섬유화, 運轉 세포의 증식과 세포 자기살해, 運轉關節막내 炎症 관련 신호 물질의 변화, 運轉 關節막내 세포성 면역과 온영덩 림프절내의 세포성 면역 변화를 조사 관찰한 바 有意한 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

II. 實驗 材料 및 方法

1. 실험 재료

1) 실험동물

분양받은 태령 4주된 BALB/C계 생쥐 암컷(대한실험동물센터, 한국)을 무균사육장치 내에서 적응시킨 후 체중 20g±1g의 생쥐를 선별하여 사용하였다. 실험군은 아무런 처치를 하지 않은 대조군, LPS로 유도된 關節炎 유발군 및 關節炎 유발후 清肺瀉肝湯추출액 (Chungpyesagantang, 이하 CS) 을 음용시킨 CS투여군으로 나누었다. 다시 關節炎 유발군 과 CS투여군은 LPS 처리 후 시간의 경과에 따라 4, 7 및 14일로 세분시켰으며 각각에는 10마리씩 배정하였다.

2) 清肺瀉肝湯 추출물의 조제와 투여

본 실험의 清肺瀉肝湯의 처방은 『東醫四象新編』¹⁾에 근거하여 동국대학교 한방병원에서 조제한 것으로 1첩 분량은 Table 1과 같다. 1첩 분량을 증류수 1000 ml에 넣고 3시간 동안 전탕하고 원심 분리시킨 후 여과하였다. 그 여액을 rotary evaporator에서 100ml로 농축하였다. 농축된 清肺瀉肝湯 추출액은 CS

투여군에 關節炎 유발 후 매일 3.3 ml/kg씩 음용 투여하였다.

Table 1. The amount and composition of Chungpyesagantang (CS)

韓藥名	生藥名	重量 (g)
葛根	Puerariae Radix	16.0
黃芩	Scutellariae Radix	8.0
藁本	Angelicae Tenuissimae Radix	8.0
蘿菘子	Raphami semen	4.0
桔梗	Platycodi Radix	4.0
升麻	Cimicifugae Rhizoma	4.0
白芷	Angelicae Radix	4.0
大黃	Rhei Undulati Rhizoma	4.0
計		52.0

2. 실험 방법

1) LPS 처리를 통한 關節炎의 유발

關節炎을 유발시키기 위해 Lipopolysaccharide (LPS, Sigma, USA, 이하 LPS)를 증류수에 희석한 후 각각 300 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 씩 무릎관절에 주사하였다. 특히 무릎 관절낭으로의 정확한 주사를 위해 sodium pentobarbital 용액으로 마취한 다음 무릎 부위 피부를 절개하여 무릎뼈를 확인한 후 주사하였다. 한편 무릎 관절에서의 關節炎 유발 여부는 LPS 주사 후 24-48시간 동안 무릎 주변에서 나타나는 부종(edema)의 확인을 통해 이루어졌다

2) 윤활 관절막 표본 제작

관절염 유발 후 4, 7 및 14일째에 sodium pentobarbital 용액으로 마취한 다음 4% paraformaldehyde로 심장 관류 고정을 시행하였다. 무릎 관절을 적출하여 24시간동안 4% paraformaldehyde에서 후고정하였다. 후고정 후 4주 동안 EDTA 용액에서 탈회

(decalcification)한 후 증류수로 세척하였다. 그런 다음 무릎 관절을 통상적인 방법으로 파라핀에 포매하여 5 μm 두께로 연속 절편을 만들었다. 만들어진 연속절편은 Hematoxylin과 Eosin으로 염색하여 표본을 제작하였다.

3) 온영덩 림프절 (common iliac lymph node) 표본 제작

관절염 유발 후 4, 7 및 14일에 sodium pentobarbital solution으로 마취한 다음 4% paraformaldehyde로 심장 관류 고정을 시행하였다. 관류 고정 후 온영덩 림프절을 적출한 다음 실온의 10% 중성 포르말린용액에 24시간동안 후고정하였다. 그런 다음 통상적인 방법으로 paraffin에 포매하여 5 μm 두께의 연속 절편을 만들었다.

4) 섬유화 관찰을 위한 조직 화학적 염색

윤활 관절막에서 콜라겐섬유의 분포 변화의 관찰은 Van Gieson's picric acid-fuchsin 염색을 통해 이루어졌다. 우선 절편된 무릎관절은 우선 Weigert's iron hematoxylin에서 20분동안 핵 염색한 다음 Van Gieson's 염색용액에서 5분간 콜라겐섬유에 대한 염색을 실시하였다.

5) 면역 조직 화학적 변화 관찰

(1) 세포 증식 변화 관찰

윤활 관절막내 세포 분열 변화를 조사하기 위해 BrdU를 이용한 면역 조직 화학적 염색을 실시하였다. 우선 실험 동물에서 무릎 관절을 적출하기 5시간전, 3시간전, 1시간전에 생리 식염수에 녹인 5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU, Sigma) 50 mg/kg을 복강 주사하였다.

얻어진 연속 절편은 4 °C와 37 °C의 2N HCl용액에서 각각 20분씩 반응시켜 DNA-denaturation을 일으켰다. 0.1M borate 완충용액 처리로 안정시킨 후 비특이적 면역반응을 억제하기위해 0.01%의 proteinase K (DAKO, Denmark)가 포함된 normal goat serum (1:20, DAKO)에 1시간동안 반응시켰다. 그런 다음 1차 항체인 mouse anti-mouse BrdU (1:50, Amersham, UK)에 4°C incubation chamber내에서 48시간 반응시켰고 2차 항체인 biotinylated goat anti-mouse IgG (1:100, DAKO)에 실온에서 4시간동안 반응시켰다. Avidin biotin complex (ABC : Vector Lab, USA)에 1시간동안 실온에서 반응시킨 후 0.05% 3,3'-diaminobenzidine (DAB : Sigma)과 0.01% HCl이 포함된 0.05M tris-HCl 완충용액 (pH 7.4)에서 발색시킨 후, hematoxylin으로 대조 염색하여 광학현미경으로 관찰하였다.

(2) 염증관련 신호물질의 변화

윤활 관절내 염증관련 신호에 관여하는 tumor necrosis factor (TNF)- α , nuclear factor (NF)- κ B 그리고 cyclooxygenase (COX)-2의 변화를 관찰하기위한 면역 조직 화학적 염색을 실시하였다. 우선 절편을 proteinase K (20 μ g/ml)에 5분 동안 proteolysis 과정을 거친 후 blocking serum인 10% normal goat serum에서 1시간 동안 반응시켰다. 그리고 1차 항체인 rabbit anti-mouse TNF- α (1:200, Santa Cruz Biotec, USA), rabbit anti-mouse NF- κ B p50 (1:200, Santa Cruz Biotec) 그리고 rabbit anti-mouse COX-2 (1:500, Chyman, USA)에 4°C

humidified chamber에서 48시간 동안 반응시켰다. 그런 다음 2차 항체인 goat anti-rabbit IgG (1:100, DAKO)에 4°C humidified chamber에서 24시간 동안 반응시켰으며 이후 과정은 위에 기술한 면역 조직 화학적 염색법과 동일하였다.

(3) 세포성 면역 변화 관찰

윤활 관절내 세포성 면역 반응의 변화를 관찰하기 위해 세포성 면역 매개 사이토카인 (cytokine)인 인터루킨(interleukin : IL)-2의 분포변화를 조사하였다. 본 실험에서는 rat anti-mouse CD25R- α (1:200, Pharmingen, USA)를 단클론항체를 이용한 면역 조직 화학적 염색을 실시하였다. 한편 윤활 관절내 조직내 세포이주 (migration)에 관여하는 세포부착분자 (intercellular adhesion molecule : ICAM)-1의 분포 변화를 관찰하기 위해 hamster anti-mouse CD54-1 (1:100, Serotec, UK)를 이용한 면역 조직 화학적 염색을 실시하였으며, 위에서 기술한 동일한 방법으로 실시되었다.

(4) 온엉덩 림프절의 세포 활성 변화

온엉덩 림프절내 세포 활성 변화를 관찰하기 위해서 rabbit anti-mouse NF- κ B p50과 rat anti-mouse CD25R- α 를 이용한 면역 조직 화학적 염색을 실시하였으며, 위에서 기술한 동일한 방법으로 실시되었다.

6) Apoptosis 변화 관찰

Apoptotic 세포의 분포 변화를 조사하기 위해 in situ apoptosis detection kit (Apoptag, Intergen, USA)를 이용한 TUNEL (terminal deoxynucleotidyl

transferase-mediated dUTP-biotin nick-end labelling)방법을 실시하였다. 먼저 조직 절편을 proteinase K에 5분간 proteolysis 시킨 다음 equilibration buffer에서 20초간 처리하였다. 그런 다음 strength TdT enzyme (36 μ l TdT enzyme : 72 μ l reaction buffer)을 처리하여 37 $^{\circ}$ C의 humidified chamber에서 1시간 동안 반응시킨 후 strength stop/wash buffer에서 10분 동안 처리하였다. Anti-digoxigenin-peroxidase에 1시간 동안 반응시킨 후 DAB를 처리하였다. Hematoxylin으로 대조 염색한 후 광학 현미경으로 관찰하였다.

7) 영상분석과 통계처리

면역조직화학과 TUNEL 염색 결과의 수치화를 위해 Optimas 5.2 (Optima Co., USA)를 이용한 영상분석 (image analysis)을 실시하였다. 영상분석 결과는 Sigma Plot 4.0 (Sigma)을 통한 student T test로 유의성을 검증하였다.

III. 成 積

1. 윤활 관절막내 일반적인 형태 변화

관절염 유발 후 윤활 관절막의 자유면 (apical surface)에서 관찰되는 주된 형태학적 변화는 윤활 세포 과형성 (hyperplasia)으로 인한 윤활 관절막 자유면의 두께 증가였다. 우선 비교적 형태학적 변화가 적었던 4일군에서는 무릎 관절강의 관절 연골 (articular cartilage)과 관절낭 (synovial capsule)의 윤활 관절막 (synovial membrane)이 연결

되는 부위에서 윤활 세포 과형성이 관찰되었다. 그러나 그 외 부위의 윤활 관절막에서는 대조군과 동일한 형태 즉, 2-3층의 윤활 세포로 구성된 윤활 관절막의 자유면이 나타났었다. 7일군의 경우는, 윤활 세포 과형성이 전체 윤활 관절막까지 확장된 것으로 관찰되었다 (Fig. 1). 그리고 더 시간이 경과된 14일군에서는 7일군에 비해 윤활 관절막의 자유면 두께 증가가 더 큰 것으로 관찰되었다 (Fig. 2). 윤활강 쪽으로 많은 돌기 (filopodia)를 내어 마치 세포질이 이탈한 것처럼 보이는 윤활세포의 출현이 증가하여 윤활 관절막의 자유면 표면이 전반적으로 거칠게 나타났다 (Fig. 2, 3). 또한 자유면 쪽으로 침윤하는 림프구의 증가도 확인할 수 있었다 (Fig. 3). 한편 대조군의 윤활관절막내 지방조직사이에서 적은 수로 분포한 혈관은 관절염 유발 후 시간의 경과에 따라 급속히 증가되는 양상을 보였으며, 특히 윤활 관절막의 자유면 기저부에서 윤활 세포 주변에서 직경이 큰 모세혈관 전세동맥 (precapillary arteriole)과 모세혈관 후세정맥 (postcapillary venule) 출현이 급속하게 증가하였다. 이러한 증가는 14일군에서 최고였다 (Fig. 4). 또한 모세혈관 주변에서 시간의 경과에 따른 염증 세포 이주 증가가 일어났으며 특히, 중성호성 백혈구와 림프구의 이주 증가가 두드러지게 관찰되었다. 그러나 CS투여군은 관절염 유발군에서 나타난 형태 변화와는 다른 양상으로 나타났다. 우선 관절염 유발군에 비해 CS투여군은 윤활 관절막의 자유면 두께 증가가 적게 나타났다 (Fig. 5, 6). 이러한 경향은 전 실험 기간동안 유지되었다. 윤활강 쪽에서 많은 세포질 돌기를 내는 윤활 세포들의 출현도 감소한 것으로 관찰되어, 대체적으로 대조군에서 관찰되는 윤활 관절막과 같은 매끄러운 표면상태

로 나타났다(Fig. 6). 또한 CS투여군에서는 일부 윤활 관절막의 자유면에서만 모세혈관의 급속한 출현 증가가 관찰되었을 뿐, 모세 혈관 주변부에서는 중성호성 백혈구와 림프구를 비롯한 염증세포의 이주 증가가 관찰되지 않았다. 윤활 관절막 자유면으로의 림프구 침윤 증가도 관절염군보다는 낮았다 (Fig. 7).

2. 윤활 관절막내 섬유화 변화

관절염 유발 후 윤활관절막내 주된 형태학적 변화 중 하나는 섬유화 (fibrosis)와 섬유화를 주도하는 섬유모세포 침적 증가였다. 시간의 경과에 따른 섬유화의 양상은 관절염 유발 4일군에서는 관절연골과 관절낭 연결부위의 윤활 관절막에서 콜라겐섬유로 된 얇은 섬유화층이 관찰되었다. 이러한 얇은 섬유화층은 시간이 경과할수록 확장되어, 14일군에서는 일부 지방층을 제외한 윤활 관절막의 모든 지역에서 섬유화가 관찰되었다 (Fig. 8). 이런 섬유화 부위에서는 세포 가장자리가 잘 발달된 섬유모세포 침적이 증가된 것으로 관찰되었다 (Fig. 9). 그러나 실험기간동안 CS투여군의 윤활 관절막에서 관찰된 결과는 관절염 유발군과는 많은 차이를 보였는데, 우선 관절염 유발군에 비해 낮은 섬유화가 일어났다 (Fig. 10). 관절염 유발군의 윤활 관절막 대부분 지역에 확장되어 분포하는 콜라겐섬유는 CS투여군에서는 윤활 관절막 자유면 기저부에서 관찰되었는데, 지방층사이의 모세혈관주변부에서 마치 지방세포를 얇게 둘러싸고 있는 형상으로 관찰되었다. 또한 섬유화 주변에 침적하는 섬유모세포의 수도 적었다.

3. 윤활관절막내 윤활세포 증식과 세포자기 살해 변화

세포분열상태에 있는 윤활세포

(synoviocyte)의 핵과 그 주변세포질에서 양성반응(Fig. 12)을 보이는 BrdU는 그 분포가 관절염 유발 후 시간의 경과에 따라 증가하였다. 영상분석 결과 14일군에서 최고 $305.4 \pm 10.3 / 200,000$ pick cell로 관찰되었다 (Fig. 11, Table 2). 관절염유발군의 이러한 증가에 비해 CS투여군은 BrdU 양성반응 세포의 증가폭이 적었는데 14일군에서는 44.3%가 감소된 $170.0 \pm 12.7 / 200,000$ pick cell이 관찰되었다. ($P < 0.05$) (Fig. 13, Table 2).

한편 관절염 유발 후 시간이 경과할수록 핵 부위에 강한 TUNEL 양성반응 (Fig. 16)을 보이는 apoptotic 세포의 분포가 윤활 관절막 자유면에서 증가한 것으로 관찰되었다. 영상분석 결과 14일군에서 $3936.0 \pm 116.0 / 200,000$ pick cell로 나타났다 (Fig. 14, Table 2). 이에 반해 CS투여군의 apoptotic 세포의 분포 증가는 관절염 유발군보다 더 컸는데 14일군에서는 233.6% 증가된 $9196.0 \pm 223.6 / 200,000$ pick cell이 관찰되었다(Fig. 15, Table 2). ($P < 0.05$)

Table 2. The image analysis of immunohistochemistry and TUNEL in CS treated murine knee joint after arthritis elicitation.

Antibody	Gr	Time (days)			
		NI	4	7	14
BrdU	A	55.8± 1.8	98.4± 9.5	195.0± 14.9	305.4± 10.3
	CS	55.8± 1.8	74.0± 7.2	135.0± 10.5	170.0± 12.7
Apoptosis	A	984.0±39.3	1,934.0±116.5	2,415.0±105.1	3,936.0±116.0
	CS	984.0±39.3	2,692.0± 90.6	6,248.0±158.1	9,196.0±223.6

(image analysis for range of intensity: 50 -150/200,000 particles)

Values are Mean ± S. D.

Abbreviation :

INI: NO arthritis elicitation

A: arthritis elicited mice

CS:CS treated mice after arthritis elicitation

BrdU: bromodeoxyuridine

Apoptosis: apoptotic cell

*: P < 0.05 compared with A.

4. 율관절막내 염증관여 신호물질 변화

염증 세포 침윤 지역에서 세포질에서 강한 TNF- α 양성반응 (Fig. 18)을 보이는 세포의 분포는 관절염 유발 후 시간의 경과에 따라 증가하였다. 영상 분석 결과 14일군에서 최고 3,745.0 \pm 172.6 / 200,000 pick cell로 관찰되었다 (Fig. 17, Table 3). 관절염 유발군의 이러한 증가에 비해 CS투여군은 TNF- α 양성반응 세포의 증가폭이 적었는데 14일군에서는 29.4%가 감소된 2,644.8 \pm 121.9 pick cell이 관찰되었다 (Fig. 19, Table 3).

자유면, 염증세포 침윤지역, 일부 세동맥 주변 그리고 섬유화 지역에서 세포질에 강한 양성 반응을 보이는 NF- κ B p50은 관절염 유발 후 시간이 경과할수록 증가한 것으로 관찰되었으며, 영상분석 결과 14일군에서 7,045.0 \pm 335.4 / 200,000 pick cell로 나타났다 (Fig. 20, Table 3). 이에 반해 CS투여군의 NF- κ B p50은 관절염 유발군보다 낮은 분포를 보여, 14일군에서는 66.66% 감소된 2,354.2 \pm 82.6 pick cell로 관찰되었다 (Fig. 21, Table 3).

한편 염증세포 침윤지역에서 분포하는 COX-2 양성반응세포는 세포질에서 강한 양성 반응을 보이는 것으로 관찰되었는데 관절염 유발 후 시간이 경과할수록 증가하였다.

이러한 분포는 14일군에서는 5,305.0 \pm 224.7 / 200,000 pick cell로 최고 수치로 관찰되었다 (Fig. 22, Table 3). 관절염 유발군의 이러한 증가에 비해 CS투여군은 COX-2 양성반응 세포의 증가폭이 적어 14일군에서는 70.9%가 감소된 1,546.0 \pm 77.8 pick cell이 관찰되었다(Fig. 23, Table 3). (P<0.05)

Table 3. The image analysis of immunohistochemistry in CS treated murine knee joint after arthritis elicitation.

Antibody	Group	Time (days)			
		INI	4	7	14
TNF- α	A	214.0 \pm 35.5	962.0 \pm 66.7	1,978 \pm 145.8	3,745.0 \pm 172.6
	CS	214.0 \pm 35.5	784.0 \pm 66.7	1,139.0 \pm 98.5	2,644.8 \pm 121.9
NF- κ B p50	A	745.0 \pm 63.2	1,946.0 \pm 127.5	3,974.2 \pm 177.0	7,045.0 \pm 335.4
	CS	745.0 \pm 63.2	1,125.0 \pm 73.8	1,932.0 \pm 74.2	2,354.2 \pm 82.6
COX-2	A	654.0 \pm 36.1	1,139.0 \pm 79.1	3,721.0 \pm 165.3	5,305.0 \pm 224.7
	CS	654.0 \pm 36.1	978.0 \pm 14.6	1,021.0 \pm 72.3	1,546.0 \pm 77.8

(image analysis for range of intensity: 50-150/200,000 particles)

Values are Mean \pm S. D.

Abbreviation :

INI: NO arthritis elicitation

A: arthritis elicited mice

CS:CS treated mice after arthritis elicitation

TNF- α : tumor necrosis factor- α

NF- κ B p50: Nuclear factor- κ B p50

COX-2: cyclooxygenase-2

*: P < 0.05 compared with A.

5. 율관절막내 세포성 면역 변화

자유면 기저부에서 다수 분포하는 것으로 관찰된 IL-2R- α 양성반응세포는 염증세포 침

윤지역, 일부 세동맥 주변 그리고 섬유화 지역에서도 나타났는데 (Fig. 25), 이러한 분포는 관절염 유발 후 시간의 경과에 따라 증가하였다. 이러한 증가는 14일군에서 최고에 달해 1,217.0±79.1 / 200,000 pick cell로 나타났다 (Fig. 24, Table 4). 관절염 유발군의 이러한 증가에 비해 CS투여군은 IL-2R-α 양성반응 세포의 증가폭이 적었는데, 14일군에서는 23.9%가 감소된 926.0±27.9 pick cell이 관찰되었다 (Fig. 26, Table 4).

자유면, 염증세포 침윤지역, 일부 세동맥 주변 그리고 섬유화 지역에서 세포질에 강한 양성반응 (Fig. 28)을 보이는 ICAM은 관절염 유발 후 시간이 경과할수록 증가한 것으로 관찰되었으며, 영상분석 결과 14일군에서 1,087.0±87.0 / 200,000 pick cell로 나타났다 (Fig. 27, Table 4). 이에 반해 CS투여군의 ICAM는 관절염유발군보다 낮은 분포를 보여, 14일군에서는 59% 감소된 466.0±23.2 pick cell로 관찰되었다 (Fig. 29, Table 4). (P < 0.05)

Table 4. The image analysis of immunohistochemistry in synovial membrane of CS treated murine knee joint after arthritis elicitation.

Antibody	Group	Time (days)			
		INI	4	7	14
IL-2R-α	A	178.0±14.6	397.0±13.9	792.0±34.9	1,217.0±79.1
	CS	178.0±14.6	298.0±12.8	528.6±13.2	926.0±27.9
ICAM-1	A	115.0±9.1	254.0±13.3	688.0±30.4	1,087.0±87.0
	CS	115.0±9.1	193.0±7.4	301.0±16.1	466.0±23.2

(image analysis for range of intensity: 50-150/200,000 particles)

Values are Mean ± S. D.

Abbreviation :

INI:NO arthritis elicitation

A:arthritis elicited mice

CS:CS treated mice after arthritis elicitation

IL-2R-α:Interleukine 2 receptor α chain

ICMA-1:Intercellular adhesion molecule-1

*: P < 0.05 compared with A.

6. 온영덩 림프절내 세포성 면역 활성 변화

관절염 유발 후 온영덩 림프절의 결피질 (paracortical area), 수질동 (medullary sinus) 그리고 수질끈 (medullary cord)에서 NF-κB p50 양성반응 세포의 분포가 증가하였으며, 세포질에서 강한 양성반응을 보였다 (Fig. 31). 이러한 시간에 따른 NF-κB p50 양성반응 세포의 증가는 14일에 절정에 달해 76,389.0±2,549.5 / 200,000 pick cell로 관찰되었다 (Fig. 30, Table 5). 이에 반해 CS투여군은 NF-κB p50 양성반응 세포의 증가가 적어, 14일군의 경우 10.9%가 감소된 68,039.0±2,263.8 pick cell이 관찰되었다 (Fig. 32, Table 5).

주로 결피질과 수질동에서 분포하는 것으로 관찰된 IL-2R-α 양성반응세포는 세포 가장 자리에서 강한 양성을 보여 마치 원형의 띠를 형성하는 것처럼 보였으며 주로 림프아세포 (lymphoblast)였다 (Fig. 34). 이러한 IL-2R-α 양성반응세포는 관절염 유발 후 시간이 경과할수록 증가한 것으로 관찰되었으며, 영상분석 결과 14일군에서 최고인 16,785.0±899.0 / 200,000 pick cell로 나타났다 (Fig. 33, Table 5). 이에 반해 CS투여군의 IL-2R-α 양성반응세포의 분포는 관절염 유발군보다 적었으며, 이러한 차이는 14

일군에서는 44.0% 감소된 9,412.0±206.1 pick cell로 나타났다(Fig. 35, Table 5). (P < 0.05)

Table 5. The image analysis of immunohistochemistry in CS treated murine common iliac lymph node after arthritis elicitation.

Antibody	Group	Time (days)			
		INI	4	7	14
NF-κB p50	A	15,768.8±881.2	28,994.0±1,950.6	53,216.0±1,578.0	76,389.0±2,549.5
	CS	15,768.8±881.2	20,124.0±1,622.2	41,378.0±1,686.7	68,039.0±2,263.8
IL-2R-α	A	2,240.0±121.7	4,968.2±190.3	9,362.0±331.4	16,785.0±899.0
	CS	2,240.0±121.7	3,191.0±152.4	6,313.0±106.7	9,412.0±206.1

(image analysis for range of intensity: 50-150/200,000 particles)

Values are Mean ± S. D.

Abbreviation :

INI:NO arthritis elicitation

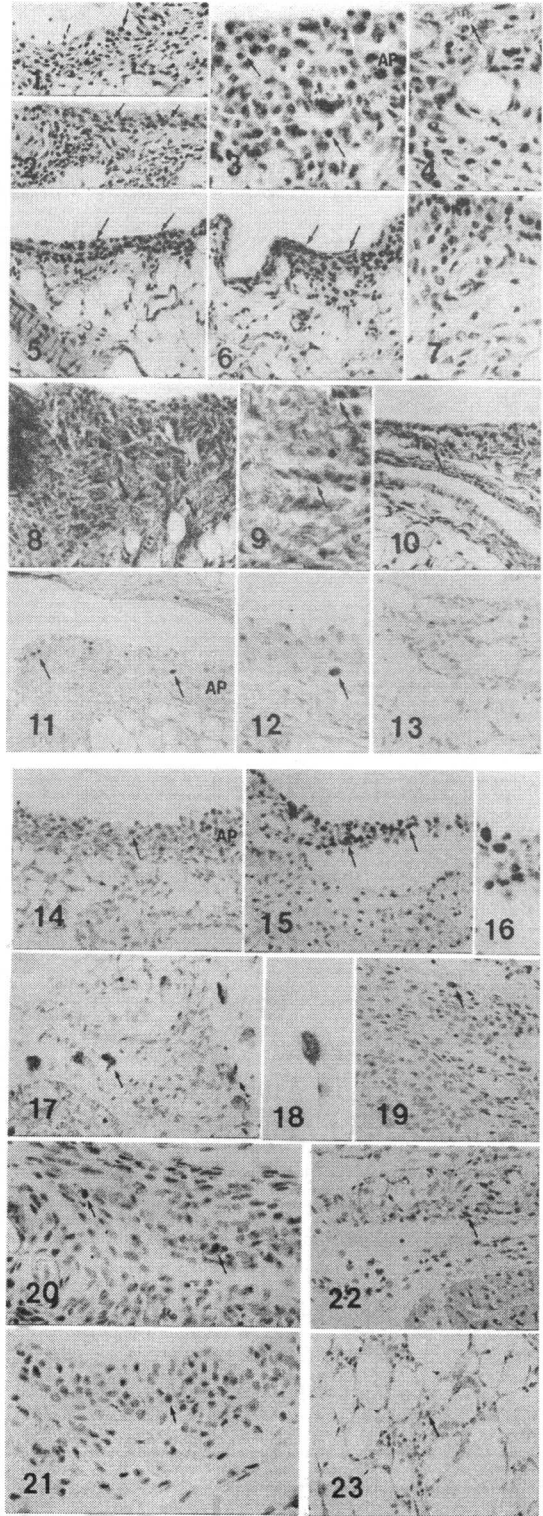
A: arthritis elicited mice

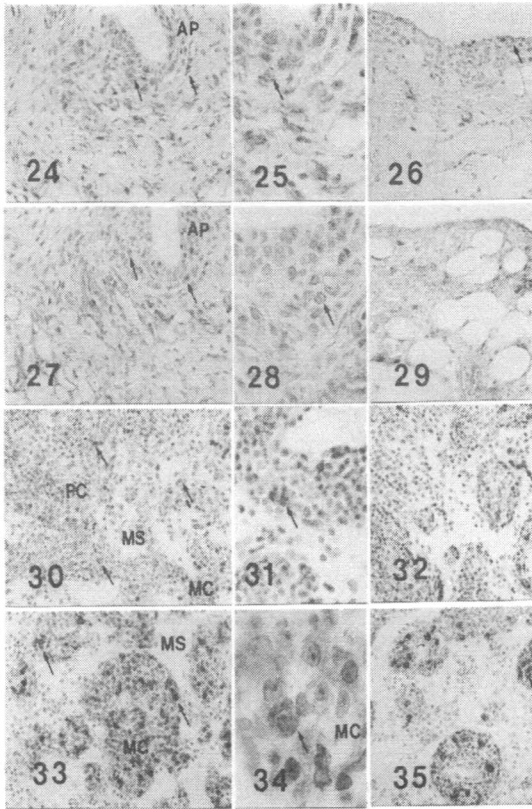
CS:CS treated mice after arthritis elicitation

NF-κB p50: Nuclear factor-κB p50

IL-2R-α: Interleukine 2 receptor α chain

*: P < 0.05 compared with A.





Legends for figure

Fig. 1. The morphology of synovial membrane from mice at day-7 after arthritis elicitation. The layer of synoviocytes (arrow) is enlarged and the increase in number of synoviocytes is remarkable. H&E. $\times 200$.

Fig. 2. The morphology of synovial membrane from mice at day-14 after arthritis elicitation. The layer of synoviocytes (arrow) is enlarged than Fig. 1. H&E. $\times 200$.

Fig. 3. The enlargement of apical surface (AP) from murine

synovial membrane at day-14 after arthritis elicitation. The synoviocytes with filopodia were appeared and the infiltration of lymphocytes (arrow) into apical surface increased. H&E. $\times 400$.

Fig. 4. The enlargement of infiltration region of inflammation component cell from murine synovial membrane at day-14 after arthritis elicitation. The numerical increase of capillary (arrow) are noticed. H&E. $\times 400$.

Fig. 5. The morphology of synovial membrane from mice at day-7 after arthritis elicitation with daily CS treatment. The hyperplasia of synoviocytes (arrow) is softer than arthritis elicited group. H&E. $\times 200$.

Fig. 6. The morphology of synovial membrane from mice at day-14 after arthritis elicitation with daily CS treatment. The hyperplasia of synoviocytes (arrow) are softer than arthritis elicited group. H&E. $\times 200$.

Fig. 7. The enlargement of apical surface from murine synovial membrane at day-14 after arthritis elicitation with daily CS treatment. The synoviocytes with filopodia, infiltration of lymphocytes into apical surface, and capillary were decreased than arthritis elicited group. H&E. $\times 400$.

Fig. 8. The morphology of synovial membrane from mice at day-14 after arthritis elicitation. The aggregation of collagen fibers (arrow) is seen. Van Gieson's Method. $\times 200$.

Fig. 9. The enlargement of collagen fiber aggregational region in Fig. 8. The numerical increase of fibroblast (arrow) is seen. Van Gieson's Method. $\times 400$.

Fig. 10. The morphology of synovial membrane from mice at day-14 after arthritis elicitation with daily CS treatment. The aggregation of collagen fibers (arrow) is decreased than arthritis elicited group. Van Gieson's Method. $\times 200$.

Fig. 11. The immunohistochemical stain for BrdU from mice at day-14 after arthritis elicitation. The numerical increase of BrdU positive cells (arrow) are seen in apical surface of synovial membrane. $\times 200$

Fig. 12. The magnification of BrdU positive cell (arrow) in Fig. 11. The positive reaction is appeared in nucleus and it's around. Immunohistochemistry. $\times 400$

Fig. 13. The immunohistochemical stain for BrdU from mice at day-14 after arthritis elicitation with daily CS treatment. The distribution of BrdU positive cells (arrow) were

decreased. $\times 200$

Fig. 14. The immunohistochemical stain for apoptotic body from mice at day-14 after arthritis elicitation. The numerical increase of TUNEL positive cells (arrow) are seen in apical surface of synovial membrane. $\times 200$

Fig. 15. The immunohistochemical stain for apoptotic body from mice at day-14 after arthritis elicitation with daily CS treatment. The distribution of TUNEL positive cells (arrow) were remarkably increased than arthritis elicited group. $\times 200$

Fig. 16. The magnification of apoptotic cell (arrow) in Fig. 15. The positive reaction is appeared in nucleus. Immunohistochemistry. $\times 400$

Fig. 17. The immunohistochemical stain for TNF- α from mice at day-14 after arthritis elicitation. The numerical increase of TNF- α positive cells (arrow) are seen in synovial membrane. $\times 200$

Fig. 18. The magnification of TNF- α positive cell in Fig. 17. The positive reaction is appeared in cytoplasm. Immunohistochemistry. $\times 400$

Fig. 19. The immunohistochemical stain for TNF- α from mice at day-14 after arthritis elicitation with daily CS treatment. The distribution of

TNF- α positive cells (arrow) were decreased. x200

Fig. 20. The immunohistochemical stain for NF- κ B p50 from mice at day-14 after arthritis elicitation. The numerical increase of NF- κ B p50 positive cells (arrow) are seen in synovial membrane. x200

Fig. 21. The immunohistochemical stain for NF- κ B p50 from mice at day-14 after arthritis elicitation with daily CS treatment. The expression of NF- κ B p50 positive cells (arrow) were decreased. x200

Fig. 22. The immunohistochemical stain for COX-2 from mice at day-14 after arthritis elicitation. The numerical increase of COX-2 positive cells (arrow) are seen in synovial membrane. x200

Fig. 23. The immunohistochemical stain for COX-2 from mice at day-14 after arthritis elicitation with daily CS treatment. The expression of COX-2 positive cells (arrow) were decreased. x200

Fig. 24. The immunohistochemical stain for IL-2R- α from mice at day-14 after arthritis elicitation. The numerical increase of IL-2R- α positive cells (arrow) are seen in apical surface of synovial membrane. x200

Fig. 25. The magnification of IL-2R- α positive cell (arrow) in Fig. 24. The positive reaction is appeared

in cytoplasm. Immunohistochemistry. x400

Fig. 26. The immunohistochemical stain for IL-2R- α from mice at day-14 after arthritis elicitation with daily CS treatment. The distribution of IL-2R- α positive cells (arrow) were decreased. x200

Fig. 27. The immunohistochemical stain for ICAM-1 from mice at day-14 after arthritis elicitation. The numerical increase of ICAM-1 positive cells (arrow) are seen in apical surface of synovial membrane. x200

Fig. 28. The magnification of ICAM-1 positive cell (arrow) in Fig. 27. The positive reaction is appeared in cytoplasm. Immunohistochemistry. x400

Fig. 29. The immunohistochemical stain for ICAM-1 from mice at day-14 after arthritis elicitation with daily CS treatment. The distribution of ICAM-1 positive cells (arrow) were decreased. x200

Fig. 30. The immunohistochemical stain for NF- κ B p50 from mice at day-14 after arthritis elicitation. The numerical increase of NF- κ B p50 positive cells (arrow) are seen in paracortex (PC), medullary sinus (MS), and medullary cords (MC) of common iliac lymph node. x200

Fig. 31. The magnification of NF- κ B p50 positive cell (arrow) in Fig.

30. The positive reaction is appeared in cytoplasm. Immunohistochemistry. x400

Fig. 32. The immunohistochemical stain for NF-κB p50 from mice at day-14 after arthritis elicitation with daily CS treatment. The distribution of NF-κB p50 positive cells (arrow) were decreased. x200

Fig. 33. The immunohistochemical stain for IL-2R-α from mice at day-14 after arthritis elicitation. The numerical increase of IL-2R-α positive cells (arrow) are seen in paracortex, medullary sinus, and medullary cords of common iliac lymph node. x200

Fig. 34. The magnification of IL-2R-α positive cell (arrow) in Fig. 33 . The positive reaction is appeared in cytoplasm. Immunohistochemistry. x400

Fig. 35. The immunohistochemical stain for IL-2R-α from mice at day-14 after arthritis elicitation with daily CS treatment. The distribution of IL-2R-α positive cells (arrow) were decreased. x200

IV. 考 察

淸肺瀉肝湯은 太陰人 肝受熱裏熱症의 燥熱症에 사용하는 處方으로 元¹⁾의 『東醫四象新編』에 처음 命名되었다. 이는 李²⁾의 『東醫壽世保元』의 太陰人 肝受熱裏熱病論에 “太陰

人燥熱也...當用熱多寒少湯 加藥本 大黃”이라 기재되어 있으며, 熱多寒少湯에 大黃 1錢을 加한 處方으로 그 處方名은 『東醫四象新編』에 가서야 定하여 졌다. 처방 내용은 葛根 4錢, 黃芩, 藥本 各 2錢, 蘿菥子, 桔梗, 升麻, 白芷, 大黃이 各 1錢으로 太陰人 虛勞夢泄症에 大便秘結이 있는 症을 치료하는 方劑로, 臨床에서 中風으로 인한 中腑二便閉, 斑疹, 燥, 火, 六鬱, 酒積, 水積, 蟲積, 下消, 夢遺(精), 白淫, 氣痛, 癩癩, 癩狂, 吐血, 尿血, 熱痰, 鬱痰, 痰塊, 流注痰 등을 治療하며 산후 胞衣不下로 인한 腹痛 및 歷節風등을 治療하는데 사용 되어 진다. ¹⁻³⁾

淸肺瀉肝湯은 呼散之氣가 弱하고, 吸聚之氣가 강한 太陰人의 裏熱症인 燥熱症에 사용되어 지는 處方이다. 主藥인 葛根이 주로 肝熱 症狀을 解消하여 解鬱熱하고, 桔梗의 壯肺之外攘之力과 黃芩의 收斂肺元, 升麻의 升陽, 大黃의 通肺之痢便하는 效能으로 肺燥를 다스리는 효과가 있는 淸肺瀉肝湯을 사용하여 太陰人의 燥熱症狀을 解鬱하여 여러 主治 症狀들이 解消되어 지는 것으로 생각된다. ²³⁾

本草의 效能에 있어서 葛根은 發散解熱, 活血散瘀하고, 黃芩은 抗菌消炎하고 調經安胎하며, 藥本은 發散解表하고 祛濕止痛하며, 蘿菥子是 消食, 化痰하며, 桔梗은 消痰, 利咽消腫, 排膿解毒하며, 升麻는 發汗透疹, 補益乘提하고, 白芷는 排膿消腫하며, 大黃은 瀉下, 解熱하며, 化瘀止血하는 效能이 있어, 氣液의 흐름이 원만 하지 않아 병리적인 產物인 痰이나 水飲, 瘀血등이 太陰人에게 많을 수 있음을 유추하건데, 濕熱과 痰濁을 祛濕, 化痰, 化瘀시키고, 下氣하므로써 體內的 불필요한 濕痰을 効果적으로 體外로 排出할 것으로 생각된다. ²⁴⁾ 이러한 관점에서 淸肺瀉肝湯이 『東醫四象新編』¹⁾에서 언급한 증상들에 應用하기에

적합한 處方인 것을 생각해 볼 수 있다.

歷節風이란 關節疾患으로 張⁴⁾의 『金匱要略』에서 病名으로 제시되었고 巢⁵⁾의 『諸病源候論』에서 언급되고 있으며 痺症⁷⁾(風痺, 寒痺, 濕痺, 熱痺), 白虎歷節風⁶⁾, 鶴膝風, 白虎病²⁵⁾ 痛風⁸⁾ 등의 범주로 본다. 疼痛, 麻木, 重着, 關節腫大, 發熱, 骨節煩疼 掣痛 肢節疼痛 身體羸 脚腫如脫 不得屈伸⁴⁾ 骨節蹉跌⁶⁾ 등의 증상이 發하는 것이다.²⁶⁾

原因으로는 內因과 外因으로 구분하는데 外因에 대해서 먼저 언급한다면, 體虛한데 起居失常 등으로 인하여 風寒濕熱 등의 邪氣가 皮膚, 血脈, 肌肉, 筋肉, 骨節, 經絡 등에 入하여 發病한 것으로 『素問·痺論』에 “風寒濕三氣雜至合而爲痺也 其風氣勝者爲行痺 寒氣勝者爲痛痺 濕氣勝者爲着痺”라 하여 痺症을 처음 언급하고 있다.⁷⁾ 『諸病源候論』에서는 歷節風을 거론하고 그 原因을 “飲酒溲理開汗出當風所致”라고 하였다.⁵⁾ 內因으로는 七情, 飲食不節, 虛勞, 房勞 등으로 인한 臟腑의 虛實을 통하여 內寒, 內風, 內濕, 內熱, 內燥가 發하며, 痰飲, 瘀血 등의 병리현상이 나타난다. 李²⁷⁾는 內因으로 血虛有火를 外因으로 風濕生痰을 論하였고, 朱⁸⁾는 內因으로 痰, 血虛를 外因으로 風熱, 風濕으로 언급하였고, 李²⁸⁾는 內因으로 七情과 外因으로 六氣에 傷하여 發病한다고 하였다.²⁶⁾

症狀과 治法에 대해서 간략하게 거론하면 外因의 경우 風, 寒, 濕, 熱의 邪氣로 나누어 생각한다. 風邪로 인한 경우 이를 行痺라고 하며 肢節流注疼痛, 惡寒, 發熱, 脈浮 등의 증상이 있으며 浮腫이 없다. 治法은 祛風通絡한다. 寒邪로 인한 경우 이를 痛痺라고 하며, 肢節關節疼痛이 極甚, 刺痛, 脈緊하고, 局部에 冷感이 있으며 治法은 溫經通絡하며 散寒한다. 濕邪로 인한 경우 着痺라고 하며 肢節關

節疼痛과 重着感, 麻木感이 있으며 脈濡하고 痛處가 固定되고 活動이 불편하다. 治法은 燥濕과 利小便을 통한 祛濕이 主가 된다. 熱邪로 인한 경우 이를 熱痺라 하고 肢節關節에 發熱感, 發赤, 舌質紅, 舌苔黃, 脈滑數하며 治法은 清熱解毒한다.²⁶⁾ 內因으로 인한 病症發生의 治法으로는 臟腑의 機能失調로 因한 風寒濕熱의 發生인 경우는 臟腑의 虛實을 調節하면서 外因時의 治法을 竝用한다. 內因으로 因해 濕, 瘀血, 痰飲 등의 病症이 發生한 경우에는 除濕, 活血化痰, 治痰의 治法을 竝行한다.²⁹⁾

이에 著者는 清肺瀉肝湯이 歷節風에 미치는 효과를 검증해 보고자 體質 구분을 하지 않고, LPS로 關節염을 유발한 쥐에 清肺瀉肝湯을 투여하여 본 실험을 시행하였다. LPS는 그람 음성균 세포벽의 구성 성분으로 단백질과 대식세포에서 염증반응의 매개물질인 TNF- α 의 생성과 분비를 강력히 유발하는 염증유발 물질로 多用되고 있다. LPS유발 關節염은 부종과 섬유화가 나타나고 염증유발물질이 증가하고 면역반응이 왕성해지는 염증성 關節질환의 양상을 보인다.

關節炎 유발시 運轉 關節막의 두께 비후는 자유면에 위치한 運轉 분비 세포 또는 섬유모세포 유사 運轉 세포(fibroblast like synoviocyte)의 세포 과형성으로 기인되며, 이는 IL-1 β , IL-2 등의 cytokine(cytokine이란 세포가 만드는 세포간의 신호전달에 관여하는 액성인자이며 염증유발인자)과 cell adhesion molecular(CAM)의 분비를 증가³⁰⁾하여 연쇄적 염증반응을 가속화시키는 방아쇠 역할을 하는 것으로 생각된다. 運轉 關節막의 자유면 아래부위에서 나타나는 주된 형태학적 변화는 섬유화(fibrosis)와 염증부위로의 이주세포의 증가였다. 運轉 關節막의 모든 지역에서 섬유화가 일어났으며, 섬유화

가 일어난 부위에서는 세포가장자리가 잘 발달된 많은 수의 섬유모세포 침적이 관찰되었다. collagen fiber의 합성 촉진은 윤활분비세포에서의 IL-1 β 신호기전에 의한 것으로 collagenase의 합성 또한 유도함으로써 조직의 동화와 이화작용을 조절하는 역할³¹⁾과 관절염 유발시 중성호성백혈구, 단핵구 및 림프구 등에 대한 주화작용³²⁾, 관절내 연골과 연골하 골조직의 파괴³³⁾ 및 prostaglandin 등의 염증매개물질의 분비를 자극한다.³⁴⁾ 한편 조직내 TNF- α 의 분비증가는 nuclear factor (NF)- κ B의 세포내 작용을 유도하여, 급성 염증상황에 의한 조직 손상을 초래한다. 본 실험에서는 NF- κ B의 변화를 NF- κ B p50 항체를 이용한 면역조직화학으로 조사하였는데 관절염 유발 후 급격하게 증가된 양상을 보였다. 이는 전염증성 물질인 COX-2를 비롯해, 세포성 면역과 세포 기용 등의 과도한 증가를 촉발시켰다. 먼저 COX-2의 증가가 관찰되었는데, COX-2는 외부자극에 의해 염증이 유발되어 전달되는 과정에서 발현되는 유도성 동종효소 (inducible isoform)로 섬유모세포와 큰포식세포를 포함한 여러 세포에서 발현되어 염증이 일어나는 곳에서 proinflammatory prostaglandin을 과량 방출한다.³⁵⁻³⁶⁾ COX-2의 과도한 발현은 IL-2 분비 증가를 통한 세포성 면역연쇄반응 작용을 유발시키게 되었고, 그 결과로 염증관여세포의 이주에 관여하는 세포유착분자 (cellular adhesion molecular: CAM)의 분포 증가가 일어났다. 이러한 IL-2와 ICAM 분비증가는 섬유모세포 유사윤활세포 (fibroblast like synoviocyte: FLS)의 세포과형성과 일련의 관련성을 가진다.³⁷⁻³⁸⁾ 그리고 이러한 염증관여세포의 유입은 조직손상을 좀 더 가속화시키는 결과를 초래한다.

이에 반해 淸肺瀉肝湯 투여군에서는 실험기간동안 윤활세포의 세포과형성, 섬유화, 섬유모세포의 침착 그리고 염증세포 이주 등이 關節炎 유발군보다 적었다. 淸肺瀉肝湯은 윤활세포의 증식 억제와 apoptosis 증가 조절을 통해서 윤활세포의 세포과형성을 억제함으로써 자가 면역을 유발하게 되는 윤활분비세포의 면역활성물질 분비를 차단한다. 즉 TNF- α 의 분비 억제는 NF- κ B의 발현을 저해함으로써 COX-2의 작용을 차단하게 된다. 이는 세포성 면역연쇄의 방어쇄인 IL-2R과 세포기용에 관여하는 세포부착물질인 ICAM의 과도한 발현이 억제되어 자가 면역 반응이 윤활관절막에서 과도하게 일어나지 않았다. 또한 온영덩림프절에서도 NF- κ B와 IL-2R의 발현이 억제되었다.

이상의 연구결과로 보아 淸肺瀉肝湯은 LPS로 유도된 관절질환의 과도한 자가 면역 반응을 억제함으로써 무릎 관절의 조직손상을 막는 것으로 생각된다.

V. 結 論

淸肺瀉肝湯이 歷節風에 미치는 효과를 실험적으로 검증하고자 lipopolysaccharide를 이용하여 생쥐 무릎 관절낭에 인위적으로 염증성 關節疾患을 유발시켜 淸肺瀉肝湯추출액을 응용 투여한 후 윤활관절막에서 일어나는 일반적인 형태, 섬유화, 윤활세포의 증식과 세포자기살해, 윤활관절막내 염증관여 신호물질 (TNF- α , NF- κ B p50, COX-2), 윤활관절막내 세포성 면역 (IL-2R- α , ICAM-1) 등의 변화와 온영덩림프절 내 세포성면역 변화 (NF- κ B p50, IL-2R- α)를 조사한 바 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 淸肺瀉肝湯 투여군에서는 실험기간동안
유허세포의 세포과형성, 염증세포 이
주 등이 관절염 유발군보다 유의성 있게
감소하였다.
2. 淸肺瀉肝湯 투여군에서는 섬유화와 섬유
모세포의 침착이 관절염유발군보다 유의
성 있게 적었다.
3. 淸肺瀉肝湯은 유허세포의 증식 억제와
apoptosis 증가 조절을 통해서 유허세포
의 세포과형성을 억제한다.
4. 淸肺瀉肝湯 투여군에서는 자가 면역을 유
발하게 되는 유허분비세포의 면역 활성
물질 분비를 차단한다. 즉 TNF- α 의 분
비 억제는 NF- κ B의 발현을 저해함으로
써 COX-2의 작용을 차단하게 된다.
5. 淸肺瀉肝湯 투여군에서는 면역 활성 물질
분비의 차단으로 세포성 면역 연쇄의 방
아쇄인 IL-2R과 세포기용에 관여하는 세
포부착물질인 ICAM의 과도한 발현을 억
제하게 되어, 유허 관절막에서의 자가면
역반응이 감소하였다.
6. 淸肺瀉肝湯 투여군에서는 온엉덩 림프절
에서도 NF- κ B와 IL-2R의 발현이 억제
되었다.
- 1992 : 16
6. 孫思邈. 備急千金要方. 臺北: 宏業書局有限
公社. 1975: 164
7. 張馬合註. 黃帝內經素問. 臺北: 대련국풍출
판사. 1973: 298-305.
8. 朱丹溪. 丹溪心法附餘. 서울: 大成文化社.
1989 : 207-216
9. 崔載永, 朴性植. 四象醫學的 中風治療 157
례에 대한 臨牀的 研究. 四象醫學회지.
1998: 10(2): 450
10. 姜俊權. 淸肺瀉肝湯및 구성약물이 혈소판
응집과 혈전형성 억제에 미치는 영향:
경희대학교 박사학위논문. 2001.
11. 吳延煥. 淸肺瀉肝湯이 중대뇌동맥 폐쇄후
재관류에 미치는 영향. 동국대학교 박사
학위논문. 2001.
12. 張鍾喆. 淸肺瀉肝湯의 항알레르기 效果에
대한 실험적 연구: 경희대학교 석사학위
논문. 2000.
13. 金達來, 高炳熙, 宋一炳. 太陰人 淸心蓮子
湯과 淸肺瀉肝湯의 免疫反應과 抗알레르
기 效果에 關한 실험적 연구. 경희한의대
논문집. 1991: 14: 131-160
14. 具眞淑. 淸肺瀉肝湯이 Streptozotocin
으로 유발된 흰쥐의 실험적 糖尿에 미치
는 영향: 동국대학교 석사학위논문.
1996.
15. 許秀榮, 姜孝信. 淸肺瀉肝湯이 白鼠의 실
험적 肥滿에 미치는 영향. 한방재활의학
회지. 1998: 8 (2): 106-126
16. 尹炳洙. 太陰人 淸肺瀉肝湯의 效能에 대
한 실험적 연구.
四象醫學會誌. 1990: 2(1): 135-146.
17. 鄭錫熙. 痺病의 文獻的 考察. 대한 한의
학회지. 1995: 16(1): 9-20
18. 안정미, 정석희, 이종수, 송용선, 김영훈.

參 考 文 獻

1. 元持常. 東醫四象新編. 서울: 종합의원사.
1974: 66-67
2. 李濟馬. 東醫壽世保元. 서울:杏林出版.
1986 : 110-118.
3. 전국 한의과대학 四象醫學教室. 四象醫學
: 서울. 集文堂 : 1994. 483-484, 553.
4. 張仲景. 仲景全書. 서울: 大成文化社.
1984: 216.
5. 巢元方. 巢氏諸病源候論. 서울: 大成文化社

- 關節炎의 原因 症狀 치료의 한 양방 비교. 동의물리요법학회지. 1991; 1(1): 59-66
19. 張峻赫. 黃柏 및 威靈仙 藥鍼이 LPS유발 關節炎의 IL-1 β 발현 억제에 미치는 영향: 동국대학교 박사학위논문. 1996.
20. 崔兪行. 桂枝藥鍼 자극이 mouse의 LPS유발 關節炎 증상과 세포성 면역반응에 미치는 영향: 동국대학교 석사학위논문. 1999.
21. 安炯俊. 桂枝藥鍼이 백서의 LPS유발 관절염증 면역조직화학적 변화에 미치는 영향: 동국대학교 석사학위논문. 1998.
22. 전원준. 大防風湯의 LPS유발 관절염 완화 효과에 관한 실험적 연구. 동국대학교 학위논문: 2000.
23. 朝鮮民族醫藥研究所. 朝鮮民族四象醫學. 서울: 여강출판사. 1991: 311-4, 314, 316-7, 340-1
24. 陳存仁. 圖說 韓方 醫藥大辭典. 서울: 송악출판사. 1986.
25. 王 燾. 外臺秘要. 北京: 人民衛生出版社. 1955: 382, 369.
26. 東西醫學融合研究會. 臨床東西醫學. 서울: 永林社. 1997: 374-390
27. 李 槲. 編註醫學入門. 서울: 南山堂. 1985: 1445-1457.
28. 李東垣. 東垣十鍾醫書. 서울: 大成文化社. 1983.
29. 李鳳教. 症狀鑑別治療. 서울: 成補社. 1991: 317-319
30. Carlene Tsai, Luis A. Diaz, JR., Nora G. Singer, Lan Lan Li, Anita H. Kirsch, Raj Mitra, Brian J. Nickoloff, Leslie J. Crofford, and David A. Fox. Responsiveness of Human T Lymphocytes to Bacterial superantigens presented by cultured Rheumatoid Arthritis Synoviocytes, Am. College Rheumto.1996; 39(1): 125-136
31. Mizel S. B., Dayer J. M., Krane S. M., and Mergenhagen S. E. Stimulation of Rheumatoid synovial cell collagenase and prostaglandin production by partially purified lymphocyte activating factor(IL-1). Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1981; 78: 2474-2486.
32. Pettipher E. R., Higgs G. A., and Henderson B. IL-1 induces leukocytes infiltration and cartilage proteoglycan degradation in the synovial joint. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1986; 83: 8749 - 8756.
33. Saklatvala J. IL-1 - Purification and biochemical aspects of its action on cartilage. J. Rheum.1987; 14: 52-58.
34. Bunning R., Crawford A., Richardson H., Opendakker G., van Damme J., and Russell R. IL-1 preferentially stimulates the production of tissue-type plasminogen activator by human articular chondrocytes. Biochem. Biophys. Acta 924. 1987: 437-449,
35. H. J. Rothkötter, R. Pabst, and M. Bailey. Lymphocyte migration in the intestinal mucosa: entry, transit and emigration of lymphoid cells and the influence of antigen. Veterinary Immuno immunopath. 1999; 72: 157-165.

36. Y.-X. Li, N. Li, Y.-S Li, B. Wu, and J.-S. Li . Upregulated intragraft gene expression, ICAM-1 and IL-2R molecules, and apoptotic epithelial cells during rejection of rat small intestine allgrafts. *Transplant Proceed.* 2000; 32: 1283-1286.
37. Ishikawa H, Hirata S, Nishibayashi Y, Imura S, Kubo H, and Ohno O . The Role of Adhesion Molecules in Synovial Pannus Formation in Rheumatoid Arthritis, *Clin. Orthopad. & Relat. Res.* 300 : 1994. 297-303.
38. Z. Morise, S. Komatsu, J. W. Fuseler, D. N. Granger, M. Perry, A.C. Issekutz, and M. B. Grisham : ICAM-1 and P-selectin expression in a model of NSAID-induced gastropathy. *Am J Physio.* 1998 ; 27: G246-252. 설