

太陰人 清心蓮子湯이 SD rat 의 抗酸化 및 免疫調節效果에 대한 실험적 연구

임종필 · 안택원

대전대학교 한의과대학 사상체질과

Abstract

The Anti-oxidative and Immune-regulatory Effect of Chungsimyeonja-tang in Aged Rat

Lim Jong-Pil, Ahn Taek-Won

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

1. Objectives

The purpose of this study is to investigate the anti-oxidative and immune regulatory effect of oral administration of Chungsimyeonja-tang decoction in aged rats.

2. Methods

The rats in the normal group were 14 weeks old, and those in the control and Chungsimyeonja-tang groups were 40 weeks old. The rats in Chungsimyeonja-tang group were orally treated with chungsimyeonjatang decoction daily for 2 months. To observe the anti-oxidative effect and immune regulatory effect of Chungsimyeonja-tang, we performed blood chemistry analysis, histological analysis.

3. Results and Conclusions

- 1) The number of WBC in blood was significantly increased and the number of PLT in blood was significantly decreased by oral administration of Chungsimyeonja-tang decoction.
- 2) The levels of albumin, LDL cholesterol, ALP and GOT in serum were significantly decreased, and the level of glucose in serum was significantly increased by oral administration of Chungsimyeonja-tang decoction.
- 3) The concentrations of glutathione and catalase were significantly increased and the concentrations of NO and MDA were significantly decreased in the liver of early aged rats by oral administration of Chungsimyeonja-tang decoction.
- 4) The concentrations of SOD and catalase were significantly increased and the concentration of MDA was significantly decreased in the lung of aged rats by oral administration of Chungsimyeonja-tang decoction.
- 5) The levels of IL-4 and IL-6 were significantly decreased while the levels of IFN- γ were significantly increased in the spleen of early aged rats by oral administration of Chungsimyeonja-tang decoction.

Key Words : Chungsimyeonja-tang, Anti-oxidative Effect, Immune-regulatory Effect, Aged Rat

I. 緒 論

우리나라는 65세 이상 노인이 2000년에 전체 인구의 7.1%로 이미 고령화 사회에 진입하였으며, 2010년에는 평균수명이 76.1세로 증가 할 것으로 예측되어 장수하는 만큼 건강하고 질 높은 삶이 요구되고 있다¹⁻².

제2차 국제노년학회에서 발표한 老化의 정의에 따르면, 老化란 ‘나이가 많아짐에 따라 조직에 변화가 생겨 환경 변화에 적절히 반응할 수 있는 기관(혹은 조직) 기능과 스스로 규제하려는 통합 능력 등이 감퇴함은 물론 조직의 예비 능력이 감퇴하여 적응이 제대로 안 되는 상태’이다³.

한의학에서는 노화의 기전에 대하여 『靈樞』「榮衛生會篇」⁴에서 “老者之氣血衰 其肌肉枯 氣道澁 五臟之氣相搏 其營氣衰少而 衛氣內伐”이라 하여 氣血의 쇠퇴로 기육이 점차 약해져서 장부의 기능이 감퇴하여 발생함을 설명하였고, 『素問』「陰陽應象大論」⁵에는 “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”라 하여 陰精의 虧損으로 일련의 노쇠를 가져온다 하여 인간의 노쇠는 陰陽氣血의 실조와 관련 있음을 설명하고 있다.

李濟馬(1838-1900)는 『濟衆新編』「五福論」⁶에서 인생의 지극한 즐거움 중 첫째는 장수하는 것이라 하였으며, 命脈과 本常之氣 및 生息充補之力的 변화가 수명의 長短을 결정짓는 요인으로 보고, 체질에 따른 臟腑大小偏差를 극복하는 保命之主로 무병상태를 유지하며 心慾과 知行, 恭敬과 怠慢, 調養과 病變, 調病 등을 통한 체질적 양생을 강조하였다⁷⁻¹⁰.

老化의 기전을 설명하기 위한 여러 학설 중 최근에는 활성산소에 의한 손상이 老化와 수명결정에 중요하다고 생각하는 활성산소설¹¹⁻¹³과 면역이론¹⁴⁻¹⁶이 주목을 받고 있다.

생체는 활성산소의 파괴적 작용으로부터 세포를 보호하기 위한 다양한 방어기전을 가지고 있다. 그러나 활성산소와 항산화 방어계의 균형이 무너지면 세포는 손상을 받게 된다. 따라서 활성산소의 독성을 억제할 수 있는 항산화제의 보충은 매우

중요한 문제로 최근에 식품 및 의학 분야에서 많은 관심이 집중되고 있다¹⁷⁻¹⁸.

老化에 의해 면역력의 저하로 활성산소 라디칼에 의해 과산화를 받아 장애를 받으면 당연히 면역응답에 지장이 생긴다. 또한 연령의 증가와 함께 이의 장애는 축적된다. 항산화제는 이의 과산화를 방지하기 위해 면역력을 상승시키는데 이것으로 보아 과산화지질의 생성은 면역의 저하와 관계가 있음을 알 수 있다¹⁷.

淸心蓮子湯은 『東醫壽世保元』⁷에 처방의 구성만 기록되었다가 『東醫四象新編』¹⁹에 “治虛勞 夢泄無度 腹痛泄瀉 舌卷中風 食滯 胸腹痛”라 하여 그 主治證과 治驗例가 처음으로 서술된 후 많은 의서²⁰⁻²⁵에서 太陰人의 裏熱病 虛勞와 無力 등에 활용할 수 있다고 하였다.

최근 淸心蓮子湯에 대한 연구로는 효능과 활용에 대한 臨床的 研究²⁶와 亢스트레스 效果에 관한 實驗的 研究²⁷ 외에 항allergy 작용^{28,29}이나 淸心蓮子湯과 太陰調胃湯이 Wister rat의 老化에 미치는 영향³⁰ 등에 관한 보고가 있었으나, 老化와 관련된 抗酸化 및 면역작용에 대한 연구와 체질의학의 특징인 臟腑大小의 선택적 약물반응에 대한 연구는 미흡하였다.

이에 저자는 32주령의 SD rat에 8주간 淸心蓮子湯을 경구투여한 후 혈액학적, 혈청 생화학적 변화, 간과 폐 조직 내의 SOD활성도, glutathione, NO, MDA, catalase 활성도, 비장세포에서 cytokine을 측정 한 결과 유의한 성적을 얻었기에 이에 보고하는 바이다.

II. 研究方法

1. 재료

1) 동물

실험동물은 (주)샘타코로부터 공급받은 雌性的 6주령 SD Rat(180±10g) 및 32주령의 SD Rat(550±10g)을 1주일 동안 일정한 조건의 실험실환경(온도: 22±2℃, 습도: 50%, 명암: 12시간 light/dark cycle)에서 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 각 실험군을 8마

Table 1. The Compositions of Chungsimyeonja-tang

| 構成藥物 | 生藥名 | 用量(g) |
|--------------|-------------------------------|-------|
| 蓮子肉 | <i>Nelumbinis Semen</i> | 8 |
| 山藥 | <i>Dioscoreae Rhizoma</i> | 8 |
| 天門冬 | <i>Asparagi Radix</i> | 4 |
| 麥門冬 | <i>Liriopsis Tuber</i> | 4 |
| 遠志 | <i>Polygalae Radix</i> | 4 |
| 石菖蒲 | <i>Acori Graminei Rhizoma</i> | 4 |
| 酸棗仁 | <i>Zizyphi Spinosae Semen</i> | 4 |
| 龍眼肉 | <i>Longanae Arillus</i> | 4 |
| 柏子仁 | <i>Biotae Semen</i> | 4 |
| 黃芩 | <i>Scutellariae Radix</i> | 4 |
| 蘿菴子 | <i>Raphani Semen</i> | 4 |
| 甘菊花 | <i>Chrysanthemi Flos</i> | 2 |
| Total Amount | | 54 |

리씩 하여 6주령의 흰쥐를 정상군(normal), 32주령의 흰쥐를 대조군(control), 32주령의 흰쥐에 淸心蓮子湯을 식수에 1%로 희석하여 자유급수(ad libitum)한 실험군(Chungsimyeonja-tang)으로 분류하여 8주간 실험하였다.

2) 약재

실험에 사용된 淸心蓮子湯(Chungsimyeonja-tang)의 약재의 구성은 『東醫壽世保元』⁷⁾을 기준으로 하였고 사용한 약재는 대전대학교 부속한방병원에서 구입한 것을 정선하여 사용하였다.

2. 방법

1) 약재 제조

약탕기(웅진약탕기. 한국)를 이용하여 54g의 약재에 1ℓ의 증류수를 가하여 3시간 동안 끓인 다음 여과지(3M. 한국) 여과한 후 강압증류장치를 이용하여 수분을 제거하여 분말을 만들었다.

2) In vitro

(1) 細胞毒性 측정

細胞毒性 측정방법은 SRB assay 법³¹⁾을 약간 변형하여 실험하였다.

① Mouse lung fibroblast cell(mLFC) 배양

BALB/c 생쥐의 lung 조직을 cool-D-PBS로

3회 세척한 후 작은 조각으로 절단하여 conical tube(15 ml)에 넣어 1,400rpm에서 5분간 원심분리하고 tube에 Dulbecco's Modified Eagle Medium {DMEM; con -taining collagenase A(5 mg/ml)와 DNase type(0.15mg/ml), antibiotics (penicillin 10⁴U/m, streptomycin 10mg/ml, amphotericin B 25µg/ml)}을 넣고 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 2시간 동안 배양하였다. 0.5% trysin-0.2% EDTA를 첨가하고 30분간 계속 배양한 후 PBS로 약 2회 1,500 rpm에서 원심분리하였다. DMEM-10% FBS에 일주일 동안 배양한 후 0.5% trysin-0.2% EDTA로 mLFC 세포를 분리하여 DMEM-5% FBS 배양액에 10⁵cells/ml 농도로 맞추어 96 well plate에 분주하였다.

② SRB assay 법

mLFC 세포는 37°C 5% CO₂ 배양기에서 1시간 배양한 후 淸心蓮子湯(0.1%, 1%, 5%, 10%)을 처리하여 48시간 동안 배양하였다. 배양 후, 배양액을 버리고 PBS로 2회 세척하였다. 각 well에 50% TCA(trichloroacetic acid) 50µl를 가하여 4°C에서 1시간 동안 방치한 후 증류수로 5회 세척한 다음 well plate를 공기 중에서 건조하였다. 각 well당 100µl씩 SRB (0.1% acetic acid)용액을 가하고 실온에서 30분간 염색하였다. 그리고 0.1% acetic acid

로 4회 세척한 다음 공기 중에서 건조하고 10mM Tris Base로 각 well당 100 μ 씩 용해시켰다. 이 plate를 plate shaker에서 5분간 shaking 한 후 흡광도(540nm)를 측정하였다.

(2) 약물의 DPPH 소거능 측정

淸心蓮子湯 희석액 4ml에 1.5 $\times 10^{-4}$ M DPPH / MeOH 1ml을 넣고 잘 흔들어 혼합하여 실온에서 30분간 방치한 후 흡광도 517nm에서 측정하였다.

DPPH 소거능(%)=(대조군의 흡광도-추출물의 흡광도/대조군의 흡광도) \times 100

(3) 약물의 SOD 활성도 측정

분획물 희석액 1ml에 60 μ M PMS/phosphate buffer (pH 7.4) 1ml과 486 μ M NADH phosphate buffer 1ml, 그리고 150 μ M NBT/phosphate buffer 1ml을 혼합하여 실온에서 5분간 방치 한 후 흡광도 560nm에서 측정하였다.

(4) 약물의 지질과산화도 측정

① Linoleic acid emulsion의 제조

Linoleic acid 0.052ml에 99%의 ethanol 4ml와 50mM phosphate buffer(pH7.0) 4ml를 혼합한 후 淸心蓮子湯을 농도별로 1ml씩 첨가하였다. 여기에 최종 volume이 10ml이 되도록 증류수 0.948ml를 가하여 40 $^{\circ}$ C에서 10일간 자동 산화 반응하였다

② TBA법에 의한 지질과산화물 억제율 측정
지질과산화물 생성 억제율 측정은 Suematsu³² 등의 방법에 따라, 위의 과정을 통해 40 $^{\circ}$ C에서 10일간 자동산화 시킨 linoelic acid 혼탁액 200 μ 를 넣고, 8.1% sodium dodesyl sulfate (SDS) solution 225 μ 를 가하여 5초 동안 vortex mixer로 혼합 하였다. 여기에 20% acetic acid 1.5ml를 가하고 증류수 75 μ 를 더한 후 5초 동안 vortex mixer 로 혼합 하였다. 1.2% thiobarbiture acid solution을 1ml 가하고 clean dry marble로 덮은 후 water bath에서 30분간 끓였다. 그리고 실온에서 30분간 방치 후 3000rpm에서 20분간 원심 분리하여 상층액을 532nm에서 흡광도를 측정하였다.

③ Thiocyanate 측정

40 $^{\circ}$ C에서 10일간 자동산화시킨 linoelic acid

혼탁액 0.1ml에 75% ethanol 4.7ml과 30% ammonium thiocyanate 0.1ml을 넣은 후 2 $\times 10^{-2}$ M FeCl₂(3.5% HCl 0.1ml 포함)을 가하여 실온에서 3분간 반응시킨 후 500nm에서 흡광도를 측정하였다.

3) *In vivo*

(1) Hematology 분석

실험 종료 24시간 후 ethyl ether를 이용해 rat를 마취하고 심장 채혈 법으로 채혈하였다. 채혈한 혈액은 CBC bottle에 넣어 RBC, WBC, PLT를 (주)이원 임상검사센터(대전. 한국)에 의뢰하여 측정하였다.

(2) Blood chemistry 분석

실험 종료 24시간 후 ethyl ether를 이용해 rat를 마취하고 심장 채혈 법으로 채혈하였다. 채혈한 혈액은 6500rpm 15분간 원심 분리하여 LDL cholesterol, total bilirubin, albumin, ALP, glucose, GOT, GPT를 (주)이원 임상검사센터(대전. 한국)에 의뢰하여 측정하였다.

(3) 조직 분획의 분석

① 肝과 肺조직의 분획

실험동물을 ether로 마취시킨 후 복부 정중선을 따라 절개하고 복부대동맥에서 혈액을 취하였다. 생리 식염수로 관류하여 혈액을 제거한 후 간과 폐 조직의 일부를 적출하여 여지로 혈액 및 이물질을 제거하고 Bansal등의 방법에 의해 간 조직 1g에 4배의 150mM의 KCl을 가하여 homogenizer를 이용하여 균질화하였다. 균질화한 조직을 600 \times g에서 10분간 원심분리하여 균질화되지 않은 조직 등을 제거한 후 상등액을 10,000 \times g에서 20분간 원심분리 하여 mitochondrial fraction을 얻었다. 이 상등액을 105,000 \times g에서 1시간 원심분리 하여 cytosolic fraction으로 그 침전물에 동일한 양의 0.1M potassium phosphate buffer를 가하여 현탁시켜 microsomal fraction을 얻었다. microsomal fraction은 glutathion의 함량과 MDA의 함량을 측정하였고 cytosolic fraction을 이용하여 SOD 생성저해 효과와

NO 함량을 측정하였다. Mitochondrial fraction에서 catalase의 활성 측정하였다.

② SOD 활성도 측정

SOD 활성도는 SOD assay kit를 이용하여 450nm에서 흡광도를 측정 후 SOD 활성도를 계산하였다.

③ Glutathione 함량 측정

조직 내 Glutathione 함량은 kit를 이용하여 450nm에서 흡광도를 측정해서 결과를 얻었다.

④ NO 함량 측정

조직 내 NO 함량은 kit를 이용하여 450nm에서 흡광도를 측정해서 결과를 얻었다.

⑤ Lipid peroxide content 측정

Lipid peroxidation assay kit를 이용하여 측정하였고 586nm에서 흡광도를 측정한 후 MDA를 계산하였다.

⑥ Catalase activity 측정

Catalase 활성도 측정은 Aebi의 방법에 따라 3.0ml cuvette에 130nm phosphate buffer(pH 7.0) 500 μ l, 간 분획물 40 μ l와 증류수 660 μ l를 혼합하여 기질인 15mM H₂O₂ 농도에 의한 흡광도의 감소율을 240nm에서 측정하였다. 효소의 활성도는 1분 동안 1 μ M의 H₂O₂를 분해시키는 효소의 양을 1unit로 표시하였다.

(4) 脾臟細胞에서의 Cytokine 측정

① 세포배양

Rat의 비장조직을 적출하여 cool D-PBS로 3회 세척한 후 40 μ m nylon mesh에 갈아서 conical tube(15 ml)에 넣어 1,400rpm에서 5분간 원심분리하고 상층을 제거 한 후 ACK blood lysis sol. 2ml을 넣고 실온에 5분 동안 방치 한 후 10ml의 D-PBS 넣어 1,400rpm에서 5분간 원심분리하여 비장세포를 얻었다. 비장세포를 5% fetal bovine serum 과 antibiotics(penicillin 100U/ml, streptomycin 100 μ g/ml)가 포함된 RPMI 1640 medium (Sigma, USA) 넣어서 5 \times 10⁶ cells/ml 농도로 맞추고 50 μ g/ml anti-CD3/CD28 항체가 coating되어 있는 96 well plate에 分株하여 37 $^{\circ}$ C CO₂ 배양기에서 48

시간동안 배양하였다. 배양 후 원심분리하여 상층액만을 분리하였고 상층액 중에 분비된 cytokines을 ELISA를 이용하여 측정하였다.

② Cytokine 측정

ELISA Kit(Biosource, USA)를 사용하여 spleen cell culture supernatant 에서 IL-4, IL-6 그리고 IFN- γ 를 측정하였다. 抗cytokine 항체가 코팅된 96 well plate에 supernatant을 가하여 반응시킨 후 4번 세척하고, 다시 biotin이 표식된 抗cytokine 항체를 가하여 반응시킨 후 4번 세척하였다. 여기에 streptavidin-HRP를 가하고 ELISA-reader를 이용하여 450nm에서 흡광도를 측정하였다.

4) 통계처리

본 실험에서 얻은 결과에 대하여 ANOVA multi t-test(JAVA, Bonferroni Ver II)로 분석하여 p값 구했다. 각 실험군을 대조군과 정상군으로 비교하여 p<0.05 일 때 유의성이 있다고 판정하였다.

Ⅲ. 結 果

1. *in vitro*

1) 細胞毒性 측정

BALB/c 생쥐의 lung 조직을 이용한 淸心蓮子湯 전탕액의 독성실험에서 농도 의존적으로 세포 생존율이 감소하였으나 1%에서 가장 높은 생존율을 보였다.

2) DPPH 소거능 측정

DDPH(2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl)생성을 억제하는 효과를 측정한 결과 1%에서 억제 효과가 가장 높게 나타났다.

3) SOD 활성도 측정

SOD 활성도를 측정한 결과 10%에서 효과가 가장 높게 나타났다

4) 지질과산화도 측정

(1) TBA법에 의한 지질과산화물 생성 억제도 측정

Linoleic acid의 지질과산화물 생성을 억제하는 효과를 측정한 결과 10%에서 억제 효과가 높게 나타났다.

(2) Thiocyanate 생성 억제도 측정

Linoleic acid의 지질과산화물 생성을 억제하는 효과를 측정한 결과 10%에서 억제 효과가 높게 나타났다.

2. *In vivo*

1) Hematology 분석

각 실험군의 혈액을 채취하여 혈구 세포 수를 측정하였다(Table 2).

2) Blood chemistry 분석

각 실험군의 혈청으로부터 혈청 성분을 분석하였다(Table 3).

Table 2. Effect of the Chungsimyeonja-tang on CBC(Complete Blood Count)

| Parameter | Normal | Control | CSY |
|--|------------------|--------------------|-------------------------------|
| WBC(10 ³ cells/ μ l) | 9.65 \pm 1.05 | 5.24 \pm 2.68* | 9.36 \pm 1.97 [#] |
| RBC(10 ⁶ cells/ μ l) | 8.47 \pm 0.09 | 8.9 \pm 0.32* | 8.91 \pm 0.43 |
| Platelet(10 ³ cells/ μ l) | 514.8 \pm 53.6 | 715.6 \pm 52.1** | 533.4 \pm 49.3 [#] |

The rats in the normal group were 14 weeks old, and those in the control and CSY groups were 40 weeks old. The rats in CSY group were orally treated with Chungsimyeonja-tang decoction daily for 2 months. Values represent mean \pm S.D.(n=8).

*: p<0.05, **: p<0.01 compared with normal group, [#]: p<0.05 compared with control group.

Table 3. Effect of the Chungsimyeonja-tang on Serum Chemistry

| Parameter | Normal | Control | CSY |
|-------------------------|-------------------|---------------------|--------------------------------|
| Albumin(g/ dl) | 2.51 \pm 0.06 | 2.79 \pm 0.09** | 2.53 \pm 0.15* |
| Total bilirubin(mg/ dl) | 0.33 \pm 0.05 | 0.21 \pm 0.02** | 0.25 \pm 0.04** |
| LDL-cholesterol(mg/ dl) | 16.8 \pm 1.92 | 36.0 \pm 4.18** | 24.8 \pm 1.48** [#] |
| Glucose(mg/ dl) | 140.3 \pm 19.27 | 116.2 \pm 7.79** | 133.2 \pm 7.19 [#] |
| ALP(IU/ ℓ) | 237 \pm 40.32 | 369.8 \pm 45.54** | 234.8 \pm 34.12 [#] |
| GOI(IU/ ℓ) | 210.4 \pm 32.26 | 287.6 \pm 42.62** | 224.4 \pm 32.89 [#] |
| GPT(IU/ ℓ) | 36.2 \pm 4.44 | 64.2 \pm 9.97** | 49.6 \pm 6.80* |

The rats in the normal group were 14 weeks old, and those in the control and CSY groups were 40 weeks old. The rats in CSY group were orally treated with Chungsimyeonja-tang decoction daily for 2 months. Values represent mean \pm S.D.(n=8).

*: p<0.05, **: p<0.01 compared with normal group, [#]: p<0.05 compared with control group, ^{##}: p<0.01 compared with control group.

Table 4. Effect of the Chungsimyeonja-tang on Antioxidant in Rat Liver

| Parameter | Normal | Control | CSY |
|--------------------------------|-----------------|-------------------|-------------------------------|
| SOD activity(%) | 90 \pm 8.3 | 79 \pm 3.7 | 84 \pm 8.4 |
| GSH conc.(μ mol/ ℓ) | 137.9 \pm 9.6 | 106.2 \pm 12.9 | 125.7 \pm 6.5 ^{##} |
| NO conc.(μ mol/ ℓ) | 42.3 \pm 5.2 | 86.7 \pm 6.3* | 75.8 \pm 3.4 [#] |
| MDA conc.(μ mol/ml) | 3.07 \pm 0.15 | 3.87 \pm 0.21** | 3.23 \pm 0.15 [#] |
| Catalase activity(U/mg) | 284.2 \pm 6.7 | 165.1 \pm 4.4 | 212.2 \pm 3.4 ^{##} |

The rats in the normal group were 14 weeks old, and those in the control and CSY groups were 40 weeks old. The rats in CSY group were orally treated with Chungsimyeonja-tang decoction daily for 2 months. Values represent mean \pm S.D.(n=8).

*: p<0.05, **: p<0.01 compared with normal group, [#]: p<0.05, ^{##}: p<0.01 compared with control group.

Table 5. Effect of the Chungsimyeonja-tang on Antioxidant in Rat Lung

| Parameter | Normal | Control | CSY |
|-------------------------|-----------|-------------|------------------------|
| SOD activity(%) | 95±7.9 | 74±4.2 | 91±8.1 [#] |
| GSH conc.(umol/ ℓ) | 138.5±8.7 | 112.4±9.6* | 128.1±6.5 |
| NO conc.(umol/ ℓ) | 37.1±4.9 | 80.4±5.8** | 72.4±4.2* |
| MDA conc.(umol/ ml) | 2.83±0.19 | 4.30±0.17** | 3.33±0.12 [#] |
| Catalase activity(U/mg) | 256.3±5.2 | 171.7±5.9 | 208.6±4.2 [#] |

The rats in the normal group were 14 weeks old, and those in the control and CSY groups were 40 weeks old. The rats in CSY group were orally treated with Chungsimyeonja-tang decoction daily for 2 months. Values represent mean±S.D.(n=8).

*: p<0.05, **: p<0.01 compared with normal group, #: p<0.05 compared with control group.

Table 6. Effect of the Chungsimyeonja-tang on Cytokines in Rat Spleen

| Parameter | Normal | Control | CSY |
|-----------|-----------|-------------|-------------------------|
| IL-4 | 0.47±0.02 | 0.67±0.14* | 0.49±0.02 [#] |
| IL-6 | 0.43±0.02 | 0.65±0.05** | 0.57±0.04* [#] |
| IFN-γ | 0.28±0.01 | 0.22±0.02** | 0.27±0.01 [#] |

The rats in the normal group were 14 weeks old, and those in the control and CSY groups were 40 weeks old. The rats in CSY group were orally treated with Chungsimyeonja-tang decoction daily for 2 months. Values represent mean ± S.D.(n=8).

*: p<0.05, **: p<0.01 compared with normal group, #: p<0.05 compared with control group.

3) 조직 분획의 분석

(1) Liver

간 조직의 분획물로부터 抗酸化 효과를 측정하였다(Table 4).

(2) Lung

폐 조직의 분획물로부터 抗酸化 효과를 측정하였다(Table 5).

4) 脾臟細胞에서의 Cytokine 측정

각 실험군의 脾臟細胞에서 cytokine을 측정하였다(Table 6).

IV. 考 察

노화란 출생부터 죽음까지의 계속되는 과정을 뜻한다. 그러나 성장하는 생체에서는 합성 과정이 소모과정을 능가하므로 이 시기에는 성장과 발육이라는 표현을 하나, 성인이후부터는 소모과정이 합성 과정을 능가하므로 이때부터 노화되어 간다는 표현을 한다³. 신체내의 평형이 깨어져 내적 및 외적 환경에 대한 적응을 어렵게 만드는 신체의

구조와 기능의 점진적인 저하를 의미 한다¹⁴.

제2차 국제노년학회에서 발표한 노화의 정의를 요약하면 노화란 ‘나이가 많아짐에 따라 조직에 변화가 생겨 환경 변화에 적절히 반응할 수 있는 기관(혹은 조직) 기능과 스스로 규제하려는 통합 능력 등이 감퇴함은 물론 조직의 예비 능력이 감퇴하여 적응이 제대로 안 되는 상태’이다³.

현재까지 노화의 원인에 관하여 확실히 밝혀진 바는 없으나 많은 가설을 크게 세 가지로 분류할 수 있다. 첫째는 내적 인자인 유전자에 의해 생명체의 노화와 수명이 예정되어 있다는 노화예정설(genetic programme theories of aging)이고, 둘째는 여러 가지 해로운 인자들에 의한 생체물질의 손상이 축적되어 노화에 이른다는 유해인자 손상설(theories of aging related to primary damage)이다. 마지막으로는 위의 두 가설을 통합하여 하나의 가설로 발전시킨 노화의 통합 모델(unifying model of the programmed and stochastic theories of aging)이다^{33,34}.

유해인자 손상설 중 Harman에 의하여 제창되어 최근 대두되고 있는 학설은 Free radical 이론

이다.¹¹

Free radical 이론은 노화가 진행되는 동안 산소에서 유래된 free radical에 의해 세포내 산화적 손상이 축적되어 질병과 죽음을 초래한다는 학설로, 인체에 흡입된 산소의 일부가 활성산소인 free radical로 변환되어 지질의 과산화반응을 촉진시켜 생체의 기능을 약화시킴으로써 노화가 진행된다는 이론이다.^{12,13,17,18}

또한 면역 이론도 점차 주목 받고 있는데, 면역 기능은 외계에서 체내로 침입하는 세균, 바이러스, 독 물질 등에 대하여 방어하는 기능으로 생명유지 기능에 매우 중요하다. 그러나 노화가 진행되면 면역기능에 이상이 생겨 기능적 노화가 진행된다는 이론이다. 즉, 나이가 들면 면역 기관에서 생산하는 항체의 양이 감소하여 면역방어 능력이 감소 한다는 것이다. 다른 한편으로는 외계물질 뿐 아니라 면역인식 장애에 의한 자가 항체의 생산이 증가되어 자신의 몸을 스스로 파괴하게 되고 노화가 더욱 촉진 된다는 학설이다.^{14,15}

또한 노화에 의해 면역력의 저하로 활성산소 라디칼에 의해 과산화를 받아 장애를 받으면 당연히 면역응답에 지장이 생긴다. 또한 연령의 증가와 함께 이의 장애는 축적된다. 항산화제는 이의 과산화를 방지하기 위해 면역력을 상승시키는데 이것으로 보아 과산화지질의 생성은 면역의 저하와 관계가 있음을 알 수 있다.¹⁷

한의학에서 면역학의 개념은 『黃帝內經』³⁵에서 유래한다고 할 수 있는데 『素問』 「上古天真論」에서는 “眞氣從之 精神內守 病安從來”라 하였다. 이 학설의 眞氣는 통상적으로 正氣를 의미하는데, 正氣란 신체 내에서 일체의 질병에 저항하는 물질로 臟腑經絡, 榮衛氣血의 정상적인 생리기능을 내포하고 있다. 또한 『素問』 「類編刺法論」³⁵에서는 “正氣存內 邪不可干”이라 하여 신체의 正氣가 충실하면 外邪, 內邪를 막론하고 모두 예방될 수 있다고 하였다. 『素問』 「評熱病論」³⁵에서는 “邪氣所湊 其氣必虛”라 하여 外邪에 의하여 신체 방어능력인 正氣가 저하되는 상황을 설명하였다. 이처럼 한의학에서는 질병을 인체의 正氣와 병사가 서로 다투는 상황으로 보고 正氣의 강하고 약

함이 직접 병의 발생과 발전, 변화와 전기를 결정한다고 인식하였으며, 扶正祛邪를 그 치법으로 하고 있다. 종합하면, 眞氣 혹은 正氣는 생체의 면역계통의 정상적인 기능을 말하며, 扶正祛邪의 원칙에 따라 면역성 질병의 치료와 예방이 가능할 것이다.

노화에 대해 한의학에서는 『靈樞』 「榮衛生會篇」⁴에서 “老者之氣血衰 其肌肉枯 氣道澁 五臟之氣相搏 其營氣衰少而 衛氣內伐”이라 하여 氣血의 衰退로 肌肉이 점차 약해져서 장부의 기능이 약해지면서 발생함을 설명하였고, 『素問』 「陰陽應象大論」⁵에는 “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”라 하여 陰精의 虧損으로 일련의 노쇠를 가져온다고 하여 노화의 기전에 대해 臟腑機能失調와 精氣神의 작용 弱화 그리고 陰陽失調가 중요한 작용을 일으킨다고 하였다.³⁶

기존 학의학의 陰陽論이나 五行의 이론체계와는 다른 ‘事心身物’을 기본으로 인간의 체질을 장부대소의 편차로 네 가지로 구분하여 병증체계를 일관되게 유지하는 사상체질의학²⁵의 창시자 東武公은 『濟衆新編』 「五福論」⁶에서 인생의 지극한 즐거움을 다섯 가지로 보았는데 첫째는 장수하는 것이라 하였으며, 『東醫壽世保元』⁷에서 “四十九歲至六十四歲曰老”라 하여 50대에 들어 노인의 단계로 접어든다고 하였다. 또한 인생단계를 16세 간격으로 구분하여 保命의 방법이 달라짐을 설명하며, 酒色財權도 體質에 따라 偏小之臟에 영향을 주어 수명에 영향을 준다고 하였다.

『東醫壽世保元四象草本卷』⁸에 따르면 四象醫學의 인 수명과 노화의 개념은 인생과정에서 命脈과 本常之氣 및 生息充補之力的 변화를 의미한다. 生息을 보충하는 능력은 幼年期를 기준으로 少年期, 壯年期, 老年期가 차이가 있다. 老年은 壯年만 같지 못하고, 少年은 幼年만 같지 못하다. 少年의 生息은 幼年의 3/4을 얻고, 壯年의 生息은 幼年의 2/4를 얻고, 老年의 生息은 幼年의 1/4를 얻는다. 이 生息補充之道의 차이를 40세를 기준으로 설명한다. 보통사람(平人)은 40세로 중년이 되는 반면에 지극히 장수하는 사람(極壽人)은

60세가 중년이 된다. 즉 幼少壯老에서 生息補充之道의 차이가 있고, 平人과 極壽人의 중년이 다르기 때문에 평소의 攝生과 調養으로 命脈을 유지하는 것이 중요한 것이다. 즉, 수명의 장단을 결정짓는 요인은 각 체질에 따른 臟腑大小偏差를 극복하는 保命之主로 무병상태를 유지하며 心慾과 知行, 恭敬과 怠慢, 調養과 病變, 調病 등을 통한 체질적 양생을 의미하는 것이다^{9,10}.

臟腑形局이 肝大而肺小한 太陰人の 병증은 크게 胃腕受寒表寒病과 肝受熱裏熱病으로 구분되고³⁷, 다시 胃腕受寒表寒病은 太陽寒厥證과 胃腕寒證으로, 肝受熱裏熱病은 肝燥熱證과 燥澁便閉證으로 분류된다²⁵.

太陰人 병증을 고찰한 임³⁸의 연구에 따르면, 太陰人 중에서 어떤 원인에 의하든지 개체가 胃腕衰弱而 表局虛薄 不勝寒而 外被寒邪所圍 正邪相爭之形勢 客勝主弱이라는 기전으로 반응을 나타내면 이는 胃腕受寒表寒病證이 되고, 어떤 원인에 의해서든 肝熱大盛 肺燥太枯 라는 기전으로 개체가 반응을 보이면 이는 肝受熱裏熱病證으로 분류하였는데, 肝受熱裏熱病證인 太陰人の 경우 呼散之氣보다 吸取之氣가 강하고 타 체질에 비해 활동량이 적어 고혈압이나 고지혈증 등의 현대 성인병질환에 이환될 가능성이 높다는 연구들^{39,40}도 보고되고 있다.

한편, 太陰人 表證 처방인 太陰調胃湯과 裏證 처방인 淸心蓮子湯이 노화에 미치는 영향을 고찰한 주³⁰의 연구를 살펴보면, 淸心蓮子湯을 투여하였을 때 太陰調胃湯에 비하여 GOT, GPT, 혈청 albumin 등에서 현저한 간기능 개선 효과가 있었으며, 총콜레스테롤과 중성지방 수치도 유의성 있게 감소시킨 것으로 확인되었다.

향후 이와 같은 太陰人 질환 치료를 위하여 太陰人 裏證 처방에 관한 다양한 연구가 필요할 것으로 사료된다.

현재 사용하고 있는 淸心蓮子湯은 『東醫壽世保元四象草彙』⁸에는 기술되어 있지 않지만 『東醫壽世保元甲午本』⁴¹과 『辛丑本』에 處方의 構成만 기록되었다가 『東醫四象新編』¹⁹에 “治虛勞夢泄無度 腹痛泄瀉 舌卷中風 食滯 胸腹痛”이라 하여

그 主治證과 治驗例가 처음으로 서술된 處方이다.

太陰人の 裏病證인 肝燥熱證으로 인한 病證에 사용되는 淸心蓮子湯은 蓮子肉, 山藥, 天門冬, 麥門冬, 遠志, 石菖蒲, 酸棗仁, 龍眼肉, 栝子仁, 黃芩, 萊菔子, 甘菊의 약물로 구성되어 있는 처방으로^{7,25}, 그 처방의 내용을 분석해 보면 補肺和肺, 壯肺, 收斂肺元, 安神補心 등으로 肺元을 補하고 和하는 藥物과 心神을 安定시키는 藥物로 構成된 處方이다^{7,25}.

최근 연구로는 淸心蓮子湯의 효능과 활용에 대한 임상적 연구²⁶와 太陰人 淸心蓮子湯의 亢스트레스 효과에 관한 實驗的 研究²⁷, 太陰人 淸心蓮子湯의 항allergy 작용에 대한 실험적 연구²⁸, 太陰人 淸心蓮子湯과 정폐사간탕의 면역반응과 항알레르기 효과에 관한 실험적 연구²⁹, 노화와 관련하여 裏證와 表證 藥을 나누어 실험 한 논문³⁰ 등이 있었으나 노화와 관련된 抗酸化 및 면역작용과 체질의학의 특징인 臟腑大小의 선택적 약물반응에 대한 연구는 아직 미흡하였다

이에 저자는 32주령의 SD rat에 8주간 淸心蓮子湯을 경구 투여한 후 혈액학적, 혈청 생화학적 변화, 그리고 太陰人の 偏大之臟과 偏小之臟인 있는 간과 폐 조직내의 SOD활성도, glutathione, NO, MDA, catalase 활성도 등을 測定하고, 비장세포에서 cytokine을 측정하여 결과 유의한 성적을 얻었기에 이에 보고하는 바이다.

淸心蓮子湯 전탕액을 10, 5, 1, 0.1%로 희석하여 세포의 생존율과 DPPH radical 소거능을 측정하여 결과 淸心蓮子湯 전탕액의 농도가 1%에서 가장 높은 생존율과 소거능을 보였다.

인체 내에는 활성산소의 독성으로부터 조직을 보호하고 항상성을 유지하려는 防禦系로는 selenium, Vt.C, E 등의 비효소계와 SOD와 catalase, peroxidase 등과 같은 효소계가 존재한다^{11,42}. 특히 SOD는 세포내에 생성된 O₂를 H₂O₂로 전환시키는 효소로서 알려져 있다¹⁷.

본 실험에서 淸心蓮子湯 전탕액을 10, 5, 1, 0.1%로 희석하여 SOD 활성도를 측정하여 결과, 농도 의존적으로 SOD 활성도가 높게 나타났다.

세포막에 다량 존재하고 있는 인지질의 불포

화지방산이 활성산소류의 공격을 받아 산화반응이 연속적으로 이루어짐으로서 세포막이 손상을 입게 되어 세포막의 파괴로 인한 세포손상이 나타나 老化의 진행을 촉진시키거나 질병의 유발과 밀접한 관련성을 지니고 있는 것으로 알려져 있다⁴³. 그러므로 세포독성을 측정하는 일반적인 방법으로 지질의 과산화반응을 이용할 수 있다.

Linoleic acid의 지질과산화물 생성을 억제하는 효과와 thiocyanate 생성을 억제하는 효과를 측정 한 결과, 10%에서 억제 효과가 높게 나타났다.

본 실험에서 淸心蓮子湯 전탕액을 10, 5, 1, 0.1%로 희석하여 TBA법에 의한 각 실험군의 혈액을 채취하여 혈구 세포 수를 측정하였다. 백혈구 수는 대조군이 정상군에 비하여 유의성 있게($p < 0.05$) 감소하였고 淸心蓮子湯을 투여한 실험군은 대조군에 비하여 유의성 있게($p < 0.05$) 증가하였다. 적혈구 수에서는 대조군에서 정상군에 비하여 유의성 있게($p < 0.01$) 증가하였으나 실험군은 대조군과 비교하여 별다른 차이가 없었다. 혈소판 수는 대조군에서 정상군에 비하여 유의성 있게($p < 0.01$) 증가하였으며 淸心蓮子湯을 투여한 실험군은 대조군과 비교하여 유의성 있게($p < 0.05$) 감소하였다.

Albumin수치는 간장애, 특히 지방간 등에서 상승되며 간기능을 알게 되는 중요한 지표중의 하나이다⁴⁴. 혈청단백질인 Albumin은 대조군에서 정상군에 비하여 유의성 있게($p < 0.01$) 증가하였고, 실험군에서는 대조군과 비교하여 감소하였으나 유의성은 없었다.

간에 존재하는 효소인 ALP와 GOT, GPT수치는 대조군에서 정상군에 비하여 유의성 있게($p < 0.01$) 증가하였으나, 실험군에서는 대조군에 비하여 ALP와 GOT 수치가 유의성 있게 ($p < 0.01, p < 0.05$) 감소하여. 淸心蓮子湯의 간기능 개선 효과가 확인되었다.

백서를 이용하여 한약의 抗老化효과를 실험한 논문에는 이⁴⁵의 wister rat의 老化에 따른 체중, 혈액학적 및 혈청 생화학적 변화에 미치는 獨活地黃湯에 대한 실험적 고찰과 최⁴⁶의 wister rat의 노화에 따른 변화에 미치는 十二味寬中湯에 대한 實驗的 考察 등의 논문이 있다. 이⁴⁵의 실험에서 40

주령 백서에 10주간 獨活地黃湯을 투여한 결과 대조군에 비하여 혈청 GOT, GPT, albumin이 모두 유의성 있게 감소하였으며, 최⁴⁶의 실험에서 40주령 백서에 10주간 十二味寬中湯을 투여한 결과 대조군에 비하여 혈청 GOT, GPT, albumin이 모두 유의성 있게 감소하였음이 확인되어 太陰人, 少陽人, 少陰人의 裏證 처방이 모두 간 기능 개선에 일정부분 효과가 있다고 사료된다.

Bilirubin은 사람에게서는 하루 0.3g생산된다. 생산된 bilirubin은 혈액중의 알부민 단백질과 결합하여 간으로 운반되고 담즙색소가 되어서 배설된다. 빌립루빈의 抗酸化 작용은 비타민 C의 12분의 1, 요산의 3배의 활성이 있다⁴². 이번 실험에서 total bilirubin은 대조군에서 정상군에 비하여 유의성 있게($p < 0.01$) 감소하였고, 실험군은 정상군에 비하여 유의성 있게 감소하였으나 대조군에 비하여는 약간 증가하였다. 이는 실험군이 대조군에 비교하여 체내의 혈액학적인 변화에 대해 산화를 억제하는 작용을 하고 있는 것으로 사료되나 통계적인 유의성은 없어서 향후 추가적인 연구가 필요할 것이다.

혈중 cholesterol은 당질대사와 전해질을 조절하고 생체내의 필수 호르몬의 원료가 되기도 하지만 그 혈중 농도가 기준치를 초과하면 고지혈증 등을 유발하게 되는 것으로 알려져 있다⁴⁷. 특히 LDL-cholesterol은 동맥벽에 침착되어 혈관내피세포의 손상을 초래한다. 혈관벽에 침착된 LDL-cholesterol이 산화되면 내피세포 독성물질로 변하여 내피세포 손상이 증폭되면서 죽상 동맥경화증의 원인이 되는 것이다⁴⁷. 이번 실험에서 LDL-cholesterol의 농도는 대조군에서 정상군에 비하여 유의성 있게($p < 0.01$) 증가하였고, 실험군은 대조군에 비하여 유의성 있게 ($p < 0.05$) 감소하였다. 이는 淸心蓮子湯이 LDL-cholesterol의 과다를 억제하여 대사이상 질환을 예방하는 효과가 있다고 사료된다.

이⁴⁵의 실험에서는 40주령 백서에 10주간 獨活地黃湯을 투여한 결과 대조군에 비하여 혈중 cholesterol은 14.9%, triglyceride는 28.9% 감소하였고, 40주령 백서에 10주간 十二味寬中湯을 투여한 최⁴⁶의 실험에서도 대조군에 비하여 혈중 cholesterol과 triglyceride가 유의성 있게 감소하여 각 체질의 裏證

처방이 등맥경화 예방에 효과가 있다고 보여 진다.

연령의 증가에 따라 감소하는 것으로 알려진 생체의 에너지원인 혈중 Glucose는 대조군에서 정상군에 비하여 유의성 있게($p < 0.01$) 감소하였고, 실험군에서는 대조군에 비하여 유의성 있게 ($p < 0.01$) 증가하는 것으로 나타나 淸心蓮子湯이 노화가 시작되면서 나타나는 혈중 Glucose 감소에 대해 적절한 에너지원을 증가시키는 것으로 사료된다. 이 결과는 少陰人 처방을 실험 약물로 선택한 최⁴⁶와 비슷한 하였지만 少陽人 처방인 獨活地黃湯의 실험⁴⁵결과와는 차이가 있었다.

활성산소에 의한 산화 스트레스에 대응할 수 있는 항산화력 측정은 간과 폐조직에서 시행하였다. 太陰人은 肝大而肺小한 장부형국을 특징으로 하며, 偏小之臟인 肺와 偏大之臟인 肝의 불균형을 조절하는 것이 필요³⁸하므로 五臟 중에서 특히 肝과 肺를 중심으로 淸心蓮子湯의 항산화 효과를 확인해 보았다.

또한 지금까지 복합처방의 抗老化 효과를 관찰한 주 등^{30,45,46}의 연구에서는 한약 투여 후의 혈청학적 검사를 위주로 하였으나, 노화에 영향을 주는 항산화와 면역조절에 관하여 고찰한 본 실험에서는 한약 투여 후 실제 장기 조직에서 다양한 항산화물질과 산화반응물의 농도를 측정해 보았다.

SOD는 활성산소를 기질로 하여 과산화수소와 산소를 만드는 효소로서 반응성이 큰 활성산소는 일단 SOD에 의해 과산화수소가 된 후 catalase에 의해 물로 되어 무독화 된다¹⁷.

본 실험에서 분획한 간 조직으로부터 SOD의 활성을 측정한 결과, 대조군에서는 정상군에 비하여 감소하였으며 실험군에서는 대조군에 비하여 증가하였으나, 통계적 유의성은 없었다.

Glutathione은 이물질성 화합물의 탈독성을 위한 반응을 촉진하며 반응효소들이나 프리라디칼의 抗酸化제를 위한 반응을 촉매한다. 세포 내 환원제로서 촉매라든가 물질대사를 포함해서 세포 내 수송이나 저장, 세포 산화 환원의 균형조절, DNA 합성, 면역기능 및 세포증식에서 중요하다. glutathione은 모든 조직에서 존재하며 glutathione peroxidase의 작용을 받아 과산화수소를 무독한 물로

변환시키는 대신 자신은 산화형이 된다⁴³.

간 조직에서 抗酸化 효소인 glutathione의 함량을 측정한 결과, 실험군에서 대조군에 비하여 유의성 있게($p < 0.01$) 증가하였다 이는 淸心蓮子湯이 과산화수소를 무독한 물로 변환시키는 항산화과정에 유효한 작용을 한다고 사료된다.

NO(nitric oxide)는 細胞間 또는 細胞內 messenger로서 뿐만 아니라 免役學的으로도 매우 중요하지만 superoxide와 반응하여 반응성이 가장 큰 活性酸素인 hydroxyl radical을 생성하기 때문에 brain aging에 주요한 원인으로 주목받고 있다⁴⁸. 산화물질인 NO함량을 측정한 결과, 대조군에서 정상군에 비하여 유의성 있게($p < 0.05$) 증가하였고, 실험군에서 정상군보다는 높았으나 대조군과 비교하여 유의성 있게($p < 0.05$) 감소하였다.

Free radical 반응에 의한 산화적 손상의 지표로 생체내에서 지질과산화 부산물로서 lipofuscin 과 함께 age-pigment 형성에 관여 하는 것으로 알려진 산화물질인 MDA⁴⁹ 함량을 측정한 결과, 대조군에서 정상군에 비하여 유의성 있게 ($p < 0.01$) 증가하였고, 실험군에서는 대조군에 비하여 유의성 있게 ($p < 0.05$) 감소하였다.

淸心蓮子湯은 NO, MDA와 같은 산화물질을 감소시킴으로써 인체의 산화와 그로 인한 노화를 억제하는 작용이 있다고 사료된다.

Catalase는 free radical에 의한 세포 독성 시 초기에 반응하는 중요한 항산화 효소로 hydrgen peroxide를 분해함으로써 hydrgen peroxide 증가에 따른 조직 손상을 방지하는 효과가 있으며 여러 장기에서 다양하게 존재하지만 신장과 간장에서 활성도가 특히 높다⁵⁰. 항산화 효소인 catalase의 함량을 측정한 결과, 대조군에서 정상군에 비하여 catalase의 함량이 유의성 있게($p < 0.01$) 감소하였으나, 실험군에서는 catalase의 함량이 대조군에 비하여 유의성 있게($p < 0.01$) 증가하여 淸心蓮子湯의 항산화효과를 확인할 수 있었다.

분획한 폐 조직에서 항산화 효소인 SOD의 활성을 측정한 결과, 실험군에서 대조군에 비하여 유의성 있게($p < 0.05$) 증가하였다.

항산화 효소인 glutathione 함량은 대조군에서

정상군에 비하여 유의성 있게($p < 0.05$) 감소하였고, 실험군에서는 대조군과 비교하여 증가하였으나 통계적 유의성은 나타나지 않았다.

산화물질인 NO함량을 측정된 결과, 대조군에서 정상군에 비하여 유의성 있게($p < 0.01$) 증가하였고, 실험군에서는 정상군보다는 높았으나($p < 0.05$) 대조군과 비교하여 감소하였다.

산화물질인 MDA함량은 대조군이 정상군에 비하여 유의성 있게($p < 0.01$) 증가하였고, 실험군에서는 대조군과 비교하여 유의성 있게($p < 0.05$) 감소하였다.

또한 항산화 효소인 catalase의 함량을 측정된 결과, 대조군에서 정상군에 비하여 유의성 있게($p < 0.01$) 감소하였으나, 실험군에서는 대조군에 비하여 유의성 있게($p < 0.05$) 증가하였다.

폐조직에서 淸心蓮子湯은 항산화 효소인 SOD와 catalase의 활성도를 모두 유의성있게 증가시켜 항산화의 전 과정에 유의한 효과가 있는 것으로 사료되며, 산화물질인 MDA함량을 감소시켜 세포막 지질의 불포화지방산의 산화적 분해를 억제함으로써 항산화 작용을 한다고 사료된다.

이상의 결과에서 淸心蓮子湯은 간조직에서는 glutathione 함량, Catalase 활성을 $p < 0.01$ 수준으로 유의하게 증가시켰고, NO 함량, MDA 함량을 유의하게 감소($p < 0.05$)시켰으므로 산화의 초기단계에 항산화효소의 활성도를 증가시키며, 산화에 의한 조직손상을 복구시키는 과정에도 유의한 효과가 있음이 확인되었다. 또한 폐조직에서는 SOD 활성, Catalase 활성을 유의하게 증가시켰고, MDA 함량을 유의하게 감소시켰으므로 항산화의 전 과정에서 항산화 효소의 활성을 높이는 것으로 사료된다.

면역반응에 관여하는 림프계 세포, 염증세포 그리고 이외 조절계 세포들은 서로 다른 기능을 가진 세포들이 직접 접촉하거나 또는 이 세포들이 분비하는 단백질에 의하여 자극을 전달하여 효율적인 기능을 가지게 된다. 이들 세포들이 분비하는 분자량이 작은 단백을 cytokine 이라 하며^{51,52}, 세포의 활성화, 증식 및 분화를 조절함으로써 정상 세포의 성장 및 발육에 관여할 뿐만 아니라 여러 질병의 원인물질로 작용하여 질병의 발생 및 치유에

관여 한다고 알려져 있다⁵³⁻⁵⁸.

면역계의老化에 관해서는 아직 완전하게 알려져 있지 않지만, 면역계의老化가 노년기의 질병과 감염에 대한 개인의 저항력에 대한 지대한 영향을 미친다¹⁴. 이에 저자는老化기전에 관한 기초적인 분자생물학적인 연구로 비장세포에서 cytokine을 측정하였다.

세포와 세포사이의 정보전달을 매개하는 펩타이드로서 외부자극에 의하여 활성화된 단핵구(monocyte)가 생산하는 물질을 monokine, 림프구가 생산하는 물질을 lymphokine이라 하며, 백혈구 특히 T세포에 의해 만들어지는 대부분의 cytokine은 interleukin(IL)이라는 이름으로 명명하고 IL- 다음에 숫자를 기입한다¹⁶.

IL-4는 처음에는 B세포 자극인자 또는 B세포 분화인자로 알려졌다. IL-4는 항염증작용을 나타내는 cytokine이며 T세포, B세포, 단핵세포, 호중구, 조혈전구세포, 섬유세포, 혈관내피세포, 상피세포 등에서 다양하게 면역조절 작용을 나타낸다^{16,51}.

T세포에서 IL-4는 T_H2 세포로 분화되는 것을 억제시킴으로써 체액성 면역반응을 차단시키며, T_H1 세포의 cytokine 분비를 억제시킴으로써 세포성 면역반응을 차단시킨다. 그러나 IL-4는 항원 특이성 세포 살해성 세포의 생성은 촉진시키며, 활성화 T세포와 자연 살해세포 등의 증식도 촉진시킨다⁵³.

IL-4는 대식세포에서 슈퍼옥사이드의 생성을 억제시키며 콜라겐 분해효소의 분비도 억제시킨다. 또한 IFN- γ 의 대식세포-활성화 효과를 길항해서 세포매개 면역반응을 저해한다⁵³.

실험동물의 脾臟細胞에서 IL-4 level을 측정된 결과, 대조군은 정상군에 비하여 IL-4 level이 유의성 있게($p < 0.05$) 증가하였으나, 실험군에서는 대조군과 비교하여 IL-4 level이 유의성 있게($p < 0.05$) 감소하였다.

IL-6는 단핵대식세포가 생성하는 광범위한 생리활성을 나타내는 cytokine으로 T임파구, 비 T임파구 및 각종 암세포 등을 활성화시키는 기능을 가지고 있다. IL-6는 B임파구를 항체생성세포로 분화 촉진시키는 것으로 알려져 왔다. 즉, T-B 세포

협동 작용 시 IL-6는 B림파구를 활성화시켜 면역 글로블린 생성을 촉진시키는데 관여하는 인자로 생각되었다^{58,54}. IL-6는 융합암세포와 형질세포종의 성장인자가 되기도 한다. 또한 조혈근간세포와 신경세포의 분화를 촉진시키기도 한다⁵³.

실험동물의 脾臟細胞에서 IL-6 level을 측정 한 결과, 대조군은 정상군에 비하여 IL-6가 유의성 있게(p<0.01) 증가하였으나, 실험군에서는 대조군에 비하여 유의성 있게(p<0.05) 감소하였다.

Interferon(IFN)은 세포에서 항바이러스 및 항암작용 등을 나타내는 단백질로써 IFN- α , IFN- β , IFN- γ 등이 있다. IFN은 바이러스를 직접 죽이지는 않고 바이러스 유전자의 전사와 번역과정에 영향을 미치는 효소를 생성시켜 바이러스에 대한 저항 상태를 유도 한다¹⁶.

IFN- γ 는 주로 활성화된 T림파구에서 생성되는 lymphokine의 일종으로써, CD4 T세포, CD8 T세포, 자연살해 세포 등이 분비하며, 바이러스 증식 억제 작용과 각종 면역반응을 조절 한다⁵⁷. IFN- γ 는 B세포의 항체생산 종류에 영향을 미치며, MHC class I과 II의 발현을 증가시키며, 대식세포의 세포내 기생충사멸작용 증대 등의 작용도 있다^{51,57}. IFN- γ 는 각종 작용을 나타내지만 항바이러스 작용, 항원충작용, 면역조절작용 등이 많이 연구 되었다^{16,53,56}.

실험동물의 脾臟細胞에서 IFN- γ level을 측정 한 결과, 대조군에서 정상군에 비하여 IFN- γ 가 유의성 있게(p<0.01) 감소하였으나, 실험군에서는 대조군에 비하여 유의성 있게(p<0.05) 증가하였다.

이상의 결과에서 淸心蓮子湯은 노화 생쥐의 비장세포의 분자수준에서도 IL-4 level 과 IL-6 level은 감소시키고, IFN- γ level은 증가시키는 결과를 나타내어 면역기능을 향상시켜 抗老化 효과를 갖는 것으로 사료된다.

이상의 결과로 볼때 太陰人 淸心蓮子湯은 老化에 따른 신체기능 저하를 억제하는 일정한 작용이 있어 수명 연장에 도움이 될 수 있을 것으로 생각되나 향후 그 기전의 연구와 노화의 단계별 병태 모델의 개발이 필요할 것으로 사료된다.

V. 結 論

淸心蓮子湯의 抗老化 효과를 실험적으로 입증하기 위하여 老化 모델인 32주령의 Sprague-Dawley rat에 8주간 淸心蓮子湯을 경구투여한 후 혈액학적 변화, 혈청 생화학적 변화, 간과 폐조직내의 SOD, Glutathione, NO, MDA, Catalase 활성도, 비장세포에서 Cytokine을 측정 한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 혈액학적 분석 결과, 淸心蓮子湯은 백혈구수를 유의하게 증가시키고, 혈소판 수는 유의하게 감소시켰다.
2. 혈청학적 분석 결과, 淸心蓮子湯은 LDL cholesterol, ALP와 GOT 수치를 유의하게 감소시켰고, glucose 농도를 유의하게 증가시켰다.
3. 간에서의 抗酸化 효과를 분석한 결과, 淸心蓮子湯은 Glutathione 함량, Catalase 활성을 유의하게 증가시켰고, NO 함량, MDA 함량을 유의하게 감소시켰다.
4. 폐에서의 抗酸化 효과를 분석한 결과, 淸心蓮子湯은 SOD 활성, Catalase 활성을 유의하게 증가시켰고, MDA 함량을 유의하게 감소시켰다.
5. 淸心蓮子湯은 비장조직내 IL-4 level과 IL-6 level을 유의하게 감소시키고, IFN- γ level은 유의하게 증가시켰다.

이상의 결과, 淸心蓮子湯은 抗老化 및 면역증강 효과가 있는 것으로 사료되어 향후 임상에서의 활용과 함께 작용기전에 대한 추가 연구가 필요하리라 사료된다.

VI. 參考文獻

1. 우종인 외. 노인의 건강과 임상검사. 서울대학교 출판부, 서울, 2005:5-6.
2. 대한노인병학회. 노인의학. 의학출판사, 서울, 2002:18-19.
3. 이충일 외. 한국노년의 건강. 소화, 서울, 2001: 28-34.

4. 河北醫學院 校釋. 靈樞經校釋. 人民衛生出版社, 북경, 1982:355.
5. 程士德. 素問注釋匯粹. 人民衛生出版社, 북경, 1987:95.
6. 이제마. 동무 격치고해석. 영림사, 서울, 2001:471.
7. 이제마. 東醫壽世保元. 행림서원, 서울, 1985: 12-80.
8. 김달래 編譯. 東醫壽世保元四象草藁. 정담, 서울, 1999:41-46.
9. 김선민, 송일병. 東醫壽世保元四象草本卷에서의 양생에 관한 고찰. 사상체질의학회지. 2000; 12(1):101-109.
10. 한주석, 고병희, 송일병. 동의수세보원과 제중신편의 양생 장수론에 대한 고찰. 사상체질의학회지. 1991;3(1):141-149.
11. Harman, D. Free radical theory of aging : Role of free radicals in the organization and evolution of life, aging and disease process. Free Radicals, Aging and Degenerative Disease(ed. Johnson, J. E. et al.). Alan R. Liss. inc, New York, 1986: 3-49.
12. Pryor W. A. Free radicals in biology. The involvement of radical reactions in aging and carcinogenesis. Elsevier, Amsterdam, 1997:331, 359.
13. Mehlhorn R. J. etc. The free radical theory of aging: A critical review. Adv. Free Radical biol. Med. 1985;1:165-223.
14. 배영철 외. 노인의학. 고려의학, 서울, 1996: 21-27.
15. 가톨릭大學大學院. 노인병. 수문사, 서울, 1991: 15-25.
16. 표석능 외. 면역조절제. 신일상사, 서울, 2005: 66-72.
17. 최병기 외. 활성산소와 질환. 신일상사, 서울, 2004:213-219, 247-262, 279-281.
18. 손장락. 활성산소와 抗酸化제. 바이오메디컬, 서울, 2004:26-29.
19. 元德必. 東醫四象新編. 우문사, 서울, 1929: 102-126.
20. 이태호. 東醫四象診療醫典. 행림출판, 서울, 1978:138-140.
21. 박인상. 東醫四象要訣. 소나무, 서울, 1987: 150-184.
22. 김주. 性理臨床論. 대성문화사, 서울, 1997: 78-84.
23. 신흥일. 東醫壽世保元註解. 대성의학사, 서울, 2000:1134-1143.
24. 이정찬. 新四象醫學論. 목과토, 서울, 2001: 210-244.
25. 전국한의과대학 사상의학교실. 改訂增補 四象醫學, 집문당, 서울, 2004:342-353, 415-418, 423, 538.
26. 박성식. 淸心蓮子湯 활용에 대한 임상적 연구. 사상의학회지. 1998;10(1):235-267.
27. 홍석철, 고병희, 송일병. 太陰人 淸心蓮子湯의 亢스트레스 效果에 관한 實驗的 研究. 사상의학회지. 1995;7(2):227-240.
28. 박승찬. 太陰人 淸心蓮子湯의 항allergy 작용에 대한 실험적 연구. 사상체질의학회지. 2003;15(2):1-14.
29. 김달래. 太陰人 淸心蓮子湯과 청폐사간당의 면역반응과 항알레르기 효과에 관한 실험적 연구. 경희대의과대학 논문집. 1991;14:131-160.
30. 주입산, 안택원, 이현. 淸心蓮子湯과 太陰調胃湯이 Wister rat 의 老化에 미치는 영향. 사상체질의학회지. 2005;17(2):74-84.
31. Skehan P, Storeng R, Scudiero D, Monk A, McMahon J, Visca D, Wareen JT, Kennedy S, Boyd MR. New colorimetric cytotoxicity assay for anti-cancer drug screening, Journal of the National Cancer Institute, 1990;82(13):1107-1112.
32. Suematsu, T., Kamada, T., Abe, H., Kikuchi, S., and Yagi, K. Serum lipoperoxide levels in patients suppering from liver disease. Clin. Chim. Acta. 1977;79:267-770.
33. Blois, M, S. Antioxidant determination by the use of a stsble freeradical. nature. 1967;4617:1198.
34. Hassinen I. E. etc. Role of cellular energetics in ischemia-reperfusion and ischemic preconditioning of myocardium. Mol Cell Biochem. 1998;184:

- 393-400.
35. 박찬국. 현토국역 황제내경소문주석. 집문당, 서울, 2005:1-16, 375-381, 595-608.
 36. 이화. 노인보건에 대한 연구, 대전대학교한의학연구소 논문집. 2001;18:1-27.
 37. 이수경, 고병희, 송일병. 동의수세보원의 문헌적 자료에 근거한 太陰人 병증에 관한 고찰. 사상체질의학회지. 1995;7(1):103-115.
 38. 임진희, 이의주, 고병희, 송일병. 태음인 병증으로 중심으로 판본에 따른 병증 개념의 변화에 관한 고찰. 사상체질의학회지. 2002;14(1):26-33.
 39. 백태현, 김달래. 사상체질과 비만의 상관성에 대한 임상적 연구. 사상체질의학회지. 2002; 8(1):319-33.
 40. 이준희, 고병희, 송일병. 중풍 입원환자의 소양인 太陰人 체질병증 유형에 관한 임상적 고찰. 사상체질의학회지. 2004;16(3):44-57.
 41. 김달래 編譯. 동의壽世保元 甲午舊本. 목과도, 서울, 2002:228-229.
 42. 김승업. 불로장수의 科學. 삶과꿈, 서울, 2005: 68-76, 90-98.
 43. 김영근 外. 프리라디칼. 여문각, 서울, 1997: 455, 564.
 44. 吉利 和. 내과진단학. 제일의학사, 서울, 1992: 489-496, 715.
 45. 이수영. wister rat의 老化에 따른 체중, 혈액학적 및 혈청 생화학적변화에 미치는 獨活地黃湯에 대한 실험적 고찰. 대전대학교 한의학연구소. 2004;13(2):327-335.
 46. 최예원. 十二味寬中湯이 Wister rat의 老化에 따른 변화에 미치는 실험적 연구. 대전대학교 한의학연구소. 2004;13(2):317-326.
 47. 해리슨내과학 편찬위원회. 해리슨 내과학. 정담, 서울, 1997:2239.
 48. Gulyaeva, N. etc. NO synthaseand free radical generation in brain regions of old rats; correlations with individual behaviour. Neuro. Report. 1994;6:94-96.
 49. Greenwald R.A. and Cohen G. eds. Oxygen radicals and their scavenger system. Elsevier Science Publishing Co., New York, 1983:153-155.
 50. 鄭智天. 左歸飲과 右歸飲에 의한 活性酸素類의 消去作用과 抗酸化 酵素系의 活性증가 효과에 대한 研究. 大韓韓醫學學會誌. 1996; 17(1):465-477.
 51. 김세중. 면역학 길라잡이. 고려의학, 서울, 2000: pp.65-68.
 52. 김경태 외. 면역조직화학의 이해. 대학서림, 서울, 2005:802-329.
 53. 강재성 외. 세포분자면역학 5판. 범문사, 서울, 2004:243-274.
 54. 권명상 외. 임상면역학. 고려의학, 서울, 1998: 163-177.
 55. 대한천식및 알레르기학회. 천식과 알레르기 질환. 군자출판사, 서울, 2002:55-57.
 56. 박재갑 외. 종양학. 일조각, 서울, 2003:176-178, 182.
 57. 전남대학교 의과대학 면역 및 알레르기학 편찬위원회. 면역 및 알레르기학. 전남대학교출판부, 광주, 1999:19-29.
 58. 황상익. 면역의 의미론. 한울, 서울, 1998: 75-87.