

加減左歸飲의 알레르기성 氣管支喘息 反應 調節 效果

박영주, 박은정*, 이해자, 박종익

원광대학교 한의과대학 소아과학교실, *원광대학교 전주한방병원 소아과

Regulatory Effects of Allergic Bronchial Asthma Responses by *KagamJwaGwiEum*

Park Young Joo, Park Eun Jung*, Lee Hai Ja, Park Jong Ik
Department of Pediatrics, College of Oriental Medicine, Wonkwang University
*Department of Pediatrics, Jeonju Oriental Hospital, Wonkwang University

Objective : *KagamJwagwiEum*(KJE) has been used for the purpose of prevention and treatment of bronchial asthma and allergic asthma in Korea. To investigate the biological effect of KJE, the author examined cytotoxicity and inflammatory cytokines secretion with human leukemic mast cell line, HMC-1.

Methods : HMC-1 was stimulated with phorbol 12-myristate 13-acetate(PMA) and calcium ionophore A23187. KJE by itself had no effect on viability of HMC-1. The effects of KJE on the secretion of tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin(IL)-6 and IL-8 from HMC-1 were evaluated with enzyme-linked immunosorbent assay.

Results : KJE inhibited PMA plus A23187-induced TNF- α and IL-6 secretion. But KJE had no effect IL-8 secretion. KJE had immunoregulatory effects on cytokines, increased secretion of NO and TNF- α but did not effect IL-12 secretion when the cells were primed and triggered with IFN- γ in the peritoneal macrophages of C57BL/6 mice.

Conclusions : Taken together, these results suggest that KJE inhibit the production of inflammatory cytokines in HMC-1 cells and activate macrophages.

Key words : allergy, asthma, immunoregulatory, *KagamJwagwiEum*

접 수 : 2004년 11월 11일, 채택일자: 2004년 12월 13일
교신저자 : 박영주, 전북 전주시 서노송동 648-4 우리한의원
(Tel: 063-271-0675, E-mail: elnaam@hanmail.net)

* 본 연구는 2003년 원광대 교비 지원에 의해서 이루어졌습니다.

I. 緒 論

左歸飲은 明代 張¹⁾이 命門의 陰이 衰하고 陽이 勝한 경우에 사용한 壯水之劑로 六味地黃湯²⁾에서 涼性의 牡丹皮와 泄腎經之火하는 澤瀉를 去하고 滋補肝腎의 枸杞子와 益氣健脾의 炙甘草를 가하여³⁾ 六味地黃湯보다 滋補의 역량을 증강시킨 方劑⁴⁻⁶⁾이며 각종 만성질환 및 열성 질환의 회복기에 肝腎陰虛證이 나타나는 경우, 본방을 응용하고 있다^{7,8)}.

加減左歸飲은 左歸飲⁹⁾에 清肺熱하는 桑白皮, 地骨皮, 黃芩 및 鎮咳祛痰平喘하는 麻黃, 紫菀, 款冬花 등과 降氣定喘하는 陳皮, 青皮, 蘇子, 前胡와 補肺陰하는 天門冬, 麥門冬, 五味子, 百合 등을 加한 처방으로 면역력이 약한 알레르기 체질의 소아에게 감기로 인해 유발된 만성적, 반복적으로 발생하는 기관지 천식의 완해기에 사용되고 있다.

알레르기란 인체의부에서 이물질들이 체내로 들어오면 우리몸을 보호하는 면역반응이 일어나는데 이러한 정상적인 면역반응이 지나치게 되면 과민반응을 유발하여 우리 몸에 이상이 생기는 것을 말한다. 최근 알레르기 질환은 전 세계적으로 빠른 속도로 증가하고 있는 추세이다¹⁰⁻⁴⁾.

이 알레르기 질환 가운데 호흡기계 질환의 하나인 기관지 천식은 특이적인 알레르겐이나 비특이적인 자극에 의해 기관지 점막부종, 점액 분비 증가 및 기관지 평활근의 수축이 가역적이고도 반복적으로 나타나는 증후군을 말한다. 천식의 병리 소견은 기도상피층 탈락, 활성화된 호산구의 상피층 및 점막하 조직침윤, 기관지 분비물내 호산구 증가, 비만세포 증가, 림프구 증가, 점막하 분비선 증식 등이

며, 알레르기성 염증 유발과 관련성이 많은 세포활성물질 (cytokines)인 tumor necrosis factor-alpha (TNF- α), interleukin(IL)-4, IL-6 및 IL-8의 농도가 기관지 천식 환자에서 유의성 있게 증가된다¹⁵⁾.

알러지성 기관지 천식에 대한 연구로는 朴¹⁶⁾의 解表兩陳湯 및 解表二陳湯, 洪¹⁷⁾의 麻黃湯, 尹¹⁸⁾의 潤肺除嗽飲, 宋¹⁹⁾의 半夏溫肺湯, 金²⁰⁾의 清肺湯 및 加味清肺湯, 朴²¹⁾의 定喘湯, 李²²⁾, 金²³⁾ 등의 瀉白散이 기관지 천식 조절 효과를 나타내는 것으로 보고하였으며 특히 金²³⁾은 瀉白散이 비면역학적 억제제인 compound48/80에 의한 즉각적 면역 반응과 히스타민 분비를 억제한다고 보고하였으나 加減左歸飲의 세포내 면역반응에서의 알레르기성 기관지 천식 반응 조절 효과에 관한 연구는 아직까지 보고된 바 없다. 이에 저자는 加減左歸飲의 효과를 입증하고자 먼저 비만세포 활성화 물질로 알려진 calcium ionophore A23187과 phorbol 12-myristate 13-acetate(PMA)로 인간 비만세포주인 human mast cell-1(HMC-1) 세포를 자극하여 세포활성물질의 분비와 발현을 유도한 후, 항염증 모델로서 비만세포에서 염증성 세포활성물질의 억제를 실험하였고, 면역활성 모델로서 대식세포에서 NO, TNF- α , IL-12 분비에 미치는 영향을 관찰한 바 유의할만한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 방 법

1. 재료 및 시약

세포배양액 Iscove's Modifide Dulbecco's Media(IMDM), Dulbecco's Modified Eagle's Medium(DMEM)은 Gibco BRL(Grand Island, NY, USA)로부터 구입했으며, phorbol 12-myristate 13-acetate(PMA), avidin-peroxidase, 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid), 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-diphenyltetrazolium bromide(MTT), N-(1-naphthyl)-ethylenediamine dihydrochloride, sodium nitrite, 그 외 다른 시약들은 Sigma(St. Louis, MO, USA)에서 구입했다. Anti-human TNF- α , anti-murine TNF- α /IL-12, 재조합 human TNF- α , murine TNF- α /IL-12, biotinylated human TNF- α , murine TNF- α /IL-12 항체는 R&D Systems(Minneapolis, MN, USA)에서 구입했다. Anti-human IL-6/IL-8, 재조합 human IL-6/IL-8, biotinylated anti-human IL-6/IL-8 항체는 Pharmingen (Cambridge, U. K.)에서 구입 했다. Murine recombinant (r) IFN- γ 는 Genzyme (Munche, Germany)으로부터 구입했다. Thioglycollate(TG)는 Difco Laboratories (Detroit, MI)에서 구입했다. 0.2 μ m syringe filter와 96 wells, 4 wells, 100-mm diameter dishes 는 Nunc(Naperville, IL)에서 구입했다. Hanks balanced salt solution (HBSS), fetal bovine serum(FBS) 등은 Life Technologies(Grand Island, NY)에서 구입했으며, 수컷 C57BL/6 생쥐는 대한 실험동물센터(음성, 한국)에서 구입했다.

2. 실험약물 제조

실험에 사용할 加減左歸飲 엑스 제조를 위해 生地黃 8g, 山藥, 山茱萸, 桑白皮, 地骨皮 각각 6g, 白茯苓, 枸杞子, 知母, 貝母, 麻黃, 杏仁, 五味子, 半夏, 陳皮, 枳實, 桔梗, 靑皮, 蘇子, 前胡, 紫菀, 款冬花, 天門冬, 麥門冬, 當歸, 黃芩, 百合, 白芍藥 각각 4g을 증류수에 넣고, 3시간 정도 끓인 다음, 여과한 후 동결 건조했다. 엑스는 4°C에 보관하면서 실험에 사용했다. 엑스 분말은 PBS(phosphate-buffered saline)에 녹여 0.22 μ m 여과지로 여과하여 실험에 사용했다.

3. HMC-1 세포 배양

사람의 비만세포주인 HMC-1 세포는 IMDM 배양액에서 배양했다. IMDM은 100 U/ml의 penicillin, 100 μ g/ml streptomycin, 50 nM mercaptoethanol과 10% fetal bovine serum(FBS)를 포함했으며, 37°C, 5% CO₂와 95% 습도가 유지되는 배양기에서 배양했다. 세포는 50 nM PMA와 1 μ M A23187로 자극하기 전에 30분간 加減左歸飲 엑스를 농도 별로 전처리 하여 37°C에서 8시간 배양했다. 배양액은 원심분리하여 -75°C에 보관했다.

4. 복강대식세포 배양

복강대식세포는 Narumi 등의 방법을 이용하여 배양했다. 간략하게 설명하면, 3~4일 전에 생쥐 복강에 TG를 2.5ml 주입한 후, 10U/ml의 heparin이 첨가된 8ml HBSS를 복강에 주입하고 세포를 주사기로 취했다. 800 rpm에서 5분 동안 원심분리 한 후 10% FBS 가 첨가된 DMEM을 이용해 4 wells에 3 \times 10⁵

加減左歸飲의 구성 약물

약물명	생약명	용량(g)
生地黃	<i>Rehmannia Glutinosa</i>	8
山藥	<i>Dioscorea batatas</i>	6
山茱萸	<i>Cornus officinalis</i>	6
桑白皮	<i>Morus alba</i>	6
地骨皮	<i>Lycium chinense</i>	6
白茯苓	<i>Poria cocos</i>	4
枸杞子	<i>Lycium chinense</i>	4
知母	<i>Anemarrhena asphodeloides</i>	4
貝母	<i>Fritillaria verticillata</i>	4
麻黃	<i>Ephedra sinica</i>	4
杏仁	<i>Prunus armeniaca</i>	4
五味子	<i>Schisandra chinensis</i>	4
半夏	<i>Pinellia ternata</i>	4
陳皮	<i>Citrus unshiu</i>	4
枳實	<i>Citrus aurantium</i>	4
桔梗	<i>Platycodon grandiflorum</i>	4
青皮	<i>Citrus unshiu</i>	4
蘇子	<i>Perilla frutescens</i>	4
前胡	<i>Angelica decursiva</i>	4
子菀	<i>Aster tataricus</i>	4
款冬花	<i>Tussilago farfara</i>	4
天門冬	<i>Asparagus cochinchinensis</i>	4
麥門冬	<i>Ophiopogon japonicus</i>	4
當歸	<i>Angelica sinensis</i>	4
黃芩	<i>Scutellaria baicalensis</i>	4
白合	<i>Lilium lancifolium</i>	4
白芍藥	<i>Paeonia japonica</i>	4
총 량		0

cells씩 분주했다. CO₂ 배양기에서 3시간 배양 한 후 HBSS로 3번 세정해서 붙지 않은 세포를 떼어낸 다음 10% FBS가 첨가된 DMEM을 이용해 배양했다.

5. MTT

세포 생존율을 조사하기 위하여 MTT 정량을 실시했으며, 간기하면 HMC-1 세포 (5×10⁵ cells) 500 μl를 4-well plate에 seeding 하여 1.0 mg/ml 농도의 加減左歸飲으로 처리

한 군과 처리하지 않은 군을 8시간 배양하고, 8시간 배양 후 새로운 배양액으로 바꿔 주고 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도의 MTT 용액을 첨가한 후 37°C에서 4시간 배양했다. 원심 분리하여 얻은 formazan에 disodiumsulfoxide(DMSO)를 첨가하여 잘 녹인 후 96-well plate에 넣은 후 540nm에서 흡광도를 측정했다.

6. 세포활성물질 정량

세포활성물질인 TNF- α , IL-6, IL-8 그리고 IL-12의 분비는 enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA) 방법으로 측정했다²⁴⁾. 즉 96-well plate에 1차 capture 항체를 100 μl 씩 넣어 코팅하고, 0.05% tween-20이 첨가된 PBS(PBS-tween)로 세정한 다음 1% BSA, 5% sucrose, 0.05% NaN_3 가 포함된 PBS로 1시간 동안 blocking했다. Blocking이 끝나면 PBS-tween으로 세정하고, 준비해둔 시료와 함께 농도를 알고 있는 제조항 세포활성물질을 100 μl 를 넣어 2시간 방치한 후, 다시 2시간 후에 PBS-tween으로 세정하고 2차 detection 항체를 100 μl 를 넣어서 1시간 동안 방치한 다음 well을 PBS-tween으로 세정하고 avidin-peroxidase를 넣어 30분간 반응시켰다. 30분 후 PBS-tween으로 세정하고 기질인 ABTS를 첨가하여 발색반응이 일어나면 405 nm 파장에서 ELISA reader를 이용하여 흡광도를 측정했다. 농도를 알고 있는 제조항 세포활성물질을 이용하여 시료의 농도를 결정했다.

7. NO₂⁻ (nitrite) 농도 측정

복강대식세포 (3×10^5 cells/well)에 rIFN- γ (10U/ml)를 처리 한 6시간 후에 여러 농도의

KJE을 처리하고 48시간 후에 Xie 등의 방법에 준하여 NO의 농도(nitrite)를 측정했다²⁵⁾. 간략하게 설명하면, 배지 100 μl 에 Griess 시약을 동량 섞어 상온에서 10분 방치한 다음, Titertek Multiskan(Flow Laboratories, North Ryde, Australia)을 이용하여 540nm에서 흡광도를 측정했다. NO₂ 농도는 sodium nitrite를 standard로 사용하여 환산했다. 세포가 없는 배지에서 5-8 μM 의 NO₂를 함유하기 때문에 각 실험에서 이 값을 감했다.

8. 통계분석

모든 결과는 평균값 \pm 표준오차(mean \pm S.E.M)로 나타내었고, 평균값은 세 번 이상의 독립된 실험을 통하여 구했다. 그룹간의 평균값 비교를 위해서 ANOVA를 실시했다. 통계적 유의성을 위한 유의수준은 $p < 0.05$ 로 판정했다.

III. 결 과

1. 加減左歸飲의 세포 독성 관찰

加減左歸飲의 세포독성 유무를 관찰하기 위하여 HMC-1 세포에서 MTT를 실시했다. Fig.1 은 1.0mg/ml 농도의 加減左歸飲을 8시간 단독 처리하여 배양한 군의 세포생존율을 나타낸 것이다. 加減左歸飲은 HMC-1 세포에 대한 세포 독성이 없음을 확인했다(Fig. 1).

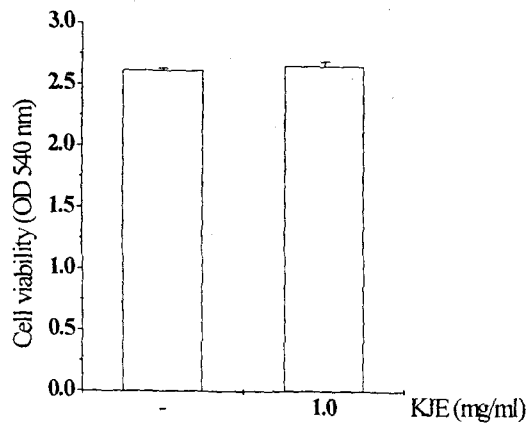


Fig. 1. Effect of KJE (1 mg/ml) on the cell viability in HMC-1 cells. Cell viability was evaluated by MTT assay 8 h after KJE treatment in HMC-1 cells. Data represent the mean \pm S.E.M. of three independent experiments

2. 加減左歸飲의 HMC-1 세포로부터의 염증성 세포활성물질 분비 조절 효과

HMC-1 세포를 PMA와 A23187로 자극하여 TNF- α , IL-6 및 IL-8의 분비량을 증가시킨 후, 加減左歸飲의 분비 조절 효과를 ELISA 방법으로 분석했다. 먼저 TNF- α 를 정량한 결과 PMA와 A23187로 자극한 대조

군($0.34 \pm 0.03 \text{ ng/ml}$)에 비하여 加減左歸飲 0.01mg/ml, 0.1mg/ml, 1.0mg/ml를 전 처리한 군의 경우 TNF- α 는 각각 $0.23 \pm 0.04 \text{ ng/ml}$, $0.19 \pm 0.01 \text{ ng/ml}$, $0.14 \pm 0.03 \text{ ng/ml}$ 의 분비량을 보였으며 0.1mg/ml 처리군과 1.0mg/ml 처리군의 경우 대조군과 비교했을 때 $p < 0.05$ 의 유의성을 보였다(Fig. 2).

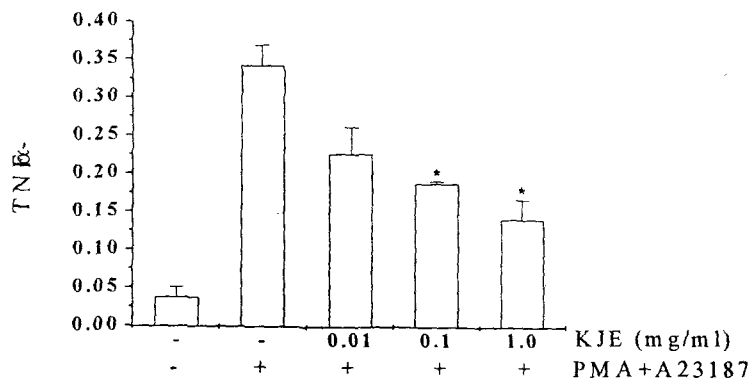


Fig. 2. Effect of KJE on the TNF- α inhibition in PMA plus A23187-stimulated HMC-1 cells. Cells were pretreated with KJE for 30 min and then challenged with PMA plus A23187 for 8 h. TNF- α concentrations were measured from cell supernatants using ELISA method. Values are mean \pm S.E.M. of duplicate determinations from three separate experiments. *, $p < 0.05$: significantly different from the stimulated group.

IL-6는 PMA와 A23187로 자극한 대조군 (12.54 ± 0.27 ng/ml)에 비하여 加減左歸飲을 각각 0.01mg/ml, 0.1mg/ml, 1.0mg/ml를 전 처리한 군에서 12.52 ± 0.45 ng/ml, 11.52 ± 0.39 ng/ml과 9.43 ± 0.62 ng/ml 의 분비량을 보였다. 加減左歸飲 1.0mg/ml 처리군의 경우 $p < 0.05$ 의 유의수준을 나타내었다 (Fig. 3).

IL-8은 PMA와 A23187로 자극한 대조군 (0.87 ± 0.02 ng/ml)에 비하여 加減左歸飲을 각각 0.1mg/ml, 1.0mg/ml를 전 처리한 군에서 0.89 ± 0.01 ng/ml과 0.87 ± 0.01 ng/ml의 분비량을 보였다. 본 실험에서 加減左歸飲은 IL-8 억제 효과는 보이지 않았다(Fig. 4).

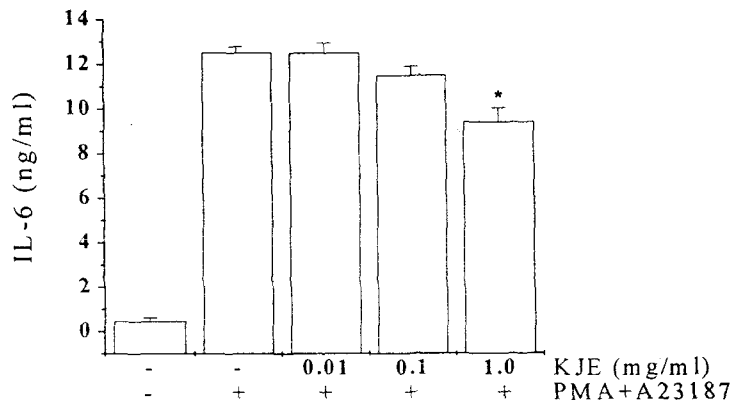


Fig. 3. Effect of KJE on the IL-6 inhibition in PMA plus A23187-stimulated HMC-1 cells. Cells were pretreated with KJE for 30 min and then challenged with PMA plus A23187 for 8 h. IL-6 concentrations were measured from cell supernatants using ELISA method. Values are mean \pm S.E.M. of duplicate determinations from three separate experiments. *, $p < 0.05$: significantly different from the stimulated group.

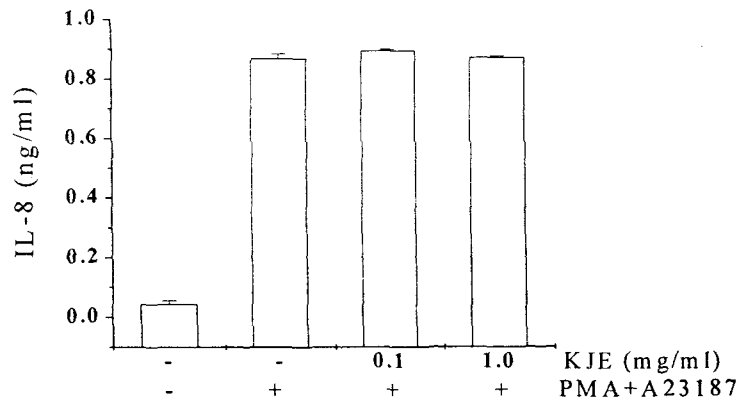


Fig. 4. Effect of KJE on the IL-8 secretion in PMA plus A23187-stimulated HMC-1 cells. Cells were pretreated with KJE for 30 min and then challenged with PMA plus A23187 for 8 h. IL-8 concentrations were measured from cell supernatants using ELISA method. Values are mean \pm S.E.M. of duplicate determinations from three separate experiments.

3. 加減左歸飲에 의한 NO 생성 유도 효과

복강대식세포에서 加減左歸飲에 의한 NO 생성 효과를 분석하기 위해 rIFN- γ 로 자극하지 않은 세포와 자극한 세포에 加減左歸飲을 처리했다. 처리 48시간 후에 배지내 NO의 농도를 측정했다. Fig. 5에 나타낸 바와 같이 加減左歸飲 단독으로는 NO 생성에 영향을 미치지 않았으나 rIFN- γ 로 자극하고 6시간 후에 加減左歸飲을 처리했을 때 NO 생성이 증가하는 것을 확인했다. Fig. 5에서 볼 수 있듯이 加減左歸飲은 농도 의존적으로 NO의 생성을 증가시켰으며, 특히 1mg/ml 농도에서 NO 생성을 현저히 증가시켰다(Fig. 5).

4. rIFN- γ 와 KJE 자극에 의한 TNF- α 및 IL-12 생성 효과

다음은 rIFN- γ 와 加減左歸飲 자극에 의한 대식세포로부터 TNF- α 생성 효과를 분석했다. rIFN- γ 단독이나 배지 단독에서 24시간 배양 시 TNF- α 의 생성은 매우 낮았으나 加減左歸飲만을 단독 처리한 결과 농도 의존적으로 TNF- α 가 증가했으며 rIFN- γ 를 함께 처리했을 때도 加減左歸飲 단독 처리와 비슷한 증가 양상을 보였다. 加減左歸飲 1 mg/ml 농도에서는 단독처리 뿐 아니라 rIFN- γ 를 함께 투여했을 때 모두 TNF- α 생성량이 현저히 증가했다(Fig. 6). 마지막으로 加減左歸飲의 IL-12에 대한 영향을 실험한 결과 rIFN- γ 단독 처리 와 rIFN- γ 와 KJE를 함께 투여한 그룹 모두에서 유의한 차이를 보이지 않았다 (Table. 1).

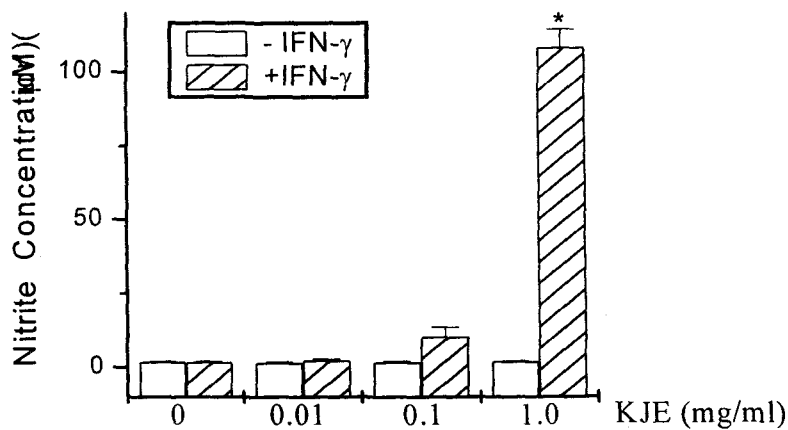


Fig. 5. Dose-dependent effect of KJE on NO synthesis in rIFN- γ -treated peritoneal macrophages. Peritoneal macrophages (3×10^5 cells/well) were cultured with rIFN- γ (10 U/ml). The peritoneal macrophages were then stimulated with various concentrations of KJE for 6 hr after incubation. After 48 hr of culture, NO release was measured by the Griess method (nitrite). NO (nitrite) released into the medium is presented as the mean \pm S.E.M. of three independent experiments duplicate in each run. *, $p < 0.001$; significantly different from the control.

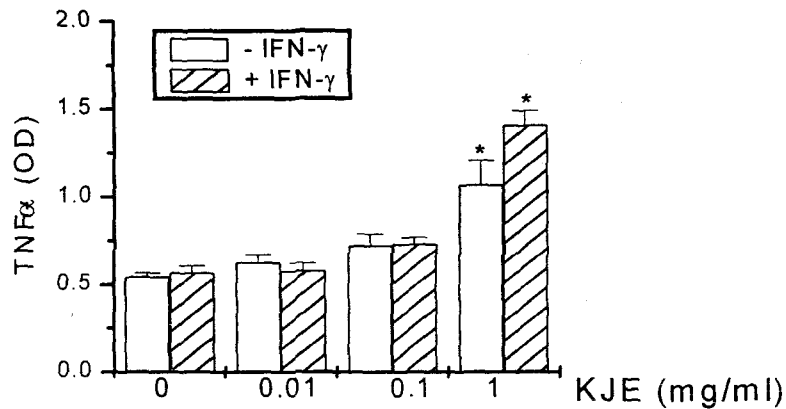


Fig. 6. Peritoneal macrophages (3×10^5 cells/well) were cultured with rIFN- γ (10 U/ml). The peritoneal macrophages were then stimulated with various concentrations of KJE for 6 hr after incubation. After 24 hr of culture, TNF- α production was measured by the ELISA method. TNF- α released into the medium is presented as the mean \pm S. E.M. of three independent experiments duplicate in each run. *, $p < 0.05$; significantly different from the rIFN- γ alone.

Table 1. Effect of KJE on the production of IL-12 by rIFN- γ plus KJE or only KJE in peritoneal macrophages

Addition ^a		IL-12 secretion ^b (ng/ml)
rIFN- γ (10 U/ml)	KJE (mg/ml)	
-	-	0.059 \pm 0.016
-	0.01	0.066 \pm 0.006
-	0.1	0.070 \pm 0.008
-	1.0	0.060 \pm 0.007
+	-	0.052 \pm 0.010
+	0.01	0.060 \pm 0.090
+	0.1	0.040 \pm 0.005
+	1.0	0.077 \pm 0.082

^a Peritoneal macrophages (2.5×10^6 cells/well) were stimulated with rIFN- γ , or rIFN- γ + LPS, or rIFN- γ + KJE, or not.

^b The amount of IL-12 secreted by peritoneal macrophages was measured by ELISA method after 24 h incubation. Values are the mean \pm SEM of three independent experiments duplicate in each run.

IV. 考 察

喘息은 呼吸急促하고 喘鳴有聲한 증상을 주증상으로 하는 한의학의 哮喘에 해당한다^{26, 27}. 喘은 呼吸이 促急한 症狀, 즉 숨이 차서 헐떡거리는 것을 말하고, 哮는 목 안에서 가래소리가 나는 것을 말한다.

哮喘의 유발인자는 氣候變化와 感受外邪, 住居環境과 異物接觸, 飲食傷(生冷, 酸, 鹹, 甘, 肥)²⁸이며 유전인자로는 가족력이 있다. 내재인자로는 先天的으로 稟賦가 不足하거나 腎氣가 充滿치 못하거나, 後天的으로 水穀의 營養不足으로 또는 脾氣가 不健하여, 또는 病後에 肺氣가 不實하여 營衛가 虛損되어서 發生된다²⁹.

喘息의 發作은 氣候變化와 寒暖의 變化에 影響을 받고, 異物에 感觸되어 돌연 發作한다. 먼저 鼻喉가 가렵고, 嚔噴, 呼吸不暢하고, 胸部悶塞이 있고, 계속 發作이 있으면 呼吸困難, 喘息鳴, 喉中痰鳴, 痰粘量少, 吐咯不爽, 甚則 不能平臥하고, 大量的 粘液痰을 排出하는 咳嗽가 있는 후 呼吸이 점차 好轉된다. 發作時間은 多樣하며, 發作 횟수는 일년에 수 차례에서부터 한 달에 수 차례 發作까지 다양하고, 또 晝夜로 發作이 수 차례 있기도 하고, 심하면 呼吸困難이 심하고, 喉間에서 가르랑가르랑하는 痰聲이 있으며 水鷄聲이 있다. 목소리가 나오지 못하며 窒息할 수 있다³⁰.

喘息發作時에 痰涎이 稀薄하고, 白色이며, 泡沫이 있고, 畏寒과 四肢冷이 있으면 水寒이 肺를 犯한 때문이다. 發作時에 氣喘이 短粗하고 黃色痰이 粘液質이며 冷飲을 마시고, 顏色이 紅潮하면 熱痰이 壅肺한 것이다. 胸滿 苦悶 不安하고, 喘鳴이 있고, 膿같은 痰

을 뱉어내고, 口乾 便秘가 있으면 實證이다. 低聲短息하고, 動則 喘乏하고, 身體는 涼하고 易汗하며 弱脈이며 無力하면 虛證이다³¹.

치료방법은 發作期와 緩解期로 나누어진다. 發作期에는 대체로 邪實證이므로 攻邪氣하는데 辨證에 따라 寒邪應溫, 熱邪應清, 有痰宜滌, 有表宜散, 氣壅宜降法을 활용해야한다³². 緩解期(治本)에는 扶脾益腎, 補土生金法을 爲主로 臟腑機能을 調理하며, 生痰之源을 除去하는 法을 활용한다.

구체적으로 發作期를 나누어 살펴보면 먼저 痰熱^{33,34}의 경우 淸肺, 化痰, 定喘하며 治方은 麻杏石甘湯合蘇葶丸, 麻杏石甘湯加減, 定喘化痰湯加味방을 사용하며 風寒³⁵⁻³⁷의 경우 溫肺(疏風, 散寒)化痰 平喘하며 治方은 小青龍湯合三子養親湯, 小青龍湯合蘇子降氣湯合三子養親湯, 蘇子降氣湯加減, 紫蘇飲子, 華蓋散, 小青龍湯合黑錫丹加減을 사용한다. 濕痰³⁸의 경우 健脾 割痰 平喘하고 治方은 解表二陳湯加減, 苓桂朮甘湯加味 淸心滌痰湯, 六安煎合蘇葶滾痰丸加減을 사용한다.

緩解期³⁹도 다시 나눌 수 있는데 肺氣虛弱은 補肺固衛 平喘하며 治方은 玉餅風散, 百合固金湯加減, 補肺阿膠湯加減을 사용하며, 脾氣虛弱의 경우 補脾化痰 平喘 하고 治方은 六君子湯加減, 蓼芩白朮散加減을 사용한다. 腎虛不納은 補腎 固本 平喘하며 治方은 金匱腎氣丸加減, 金水六君煎加減, 淸上補下丸加減, 麥味地黃丸, 蓼蛤散加減, 河車大造丸을 사용한다³⁰.

서양의학에서 천식은 알레르겐, 비만세포 및 IgE 가 관여하여 분비되는 화학매체의 직접적인 약리작용에 의해서 또 화학매체와 사이토카인, 유착분자가 관여하여 기관지로 모여온 염증세포에 의해서 발병하는 기도의 만성 알레르기 염증성 질환으로 이해되고 있다⁴⁰.

천식의 병리 소견은 기도상피층 탈락, 배세포 증식, 활성화된 호산구의 상피층 및 점막하 조직침윤, 기관지 분비물내 호산구 증가, 비만세포 증가, 림프구 증가, 상피세포 기저막층의 비후, 점막하 분비선 증식, 기관지 근육의 비후 및 증식 등이다⁴¹⁾. 이런 소견에 중요한 역할을 하는 인자로는 호산구, 비만세포, T 세포로 알려져 있다. 임상적으로 알레르기성 천식 환자의 기관지 폐포세척액과 정상군의 기관지 폐포세척액을 비교했을 때 천식환자의 기관지 폐포세척액에서 eosinophils, mast cells, mast cell mediators 등이 일관되게 증가되어 있다. 또한 활성화된 폐비만세포로부터 다양한 세포활성물질들을 분비되며, 특히 알레르기성 염증 반응의 유발에 중요한 세포활성물질들이 천식의 병리 조직에서 발견된다. 특히 염증 유발과 관련성이 많은 세포활성물질 (cytokines)인 tumor necrosis factor-alpha (TNF- α), interleukin(IL)-4, IL-6 및 IL-8의 농도가 기관지 천식 환자에서 유의성 있게 높음을 알 수 있다.

TNF- α 는 염증의 중요한 개시인자⁴²⁾, 혈관내피세포의 표면 부착인자(adhesion molecule)의 발현을 유도하여 백혈구를 염증 병소로 모이게 한다. 또한 단핵구 등의 세포에 작용하여 chemokine을 합성케 한다. IL-6는 염증 반응이 일어나는 동안 강력한 매개자 역할을 하며⁴³⁾, IL-1 및 TNF- α 에 의해 단핵 식균세포, 혈관내피세포, 섬유아세포 등에서 생성된다⁴⁴⁾. IL-8은 호중구, 호염기구와 T세포에 대한 화학주성을 가진 α -chemokine으로 호중구를 활성화 시키고 호염기구에서의 히스타민을 유리시키는 것으로 밝혀져 있어 세기관지염이나 기관지천식과 같은 폐쇄성 호흡기 질환의 병태생리에 관여하고 있다⁴⁵⁻⁴⁷⁾.

대식세포는 골수에서 생성되어 혈관내에서

는 단구로, 그리고 조직내에서는 대식세포로 존재하며 미생물 감염에 대한 숙주의 방어와 항상성 유지의 일선에서 주역을 담당한다^{48,49)}. 특히 nitric oxide(NO), 종양괴사인자(TNF- α), IL-1 β , IFN- γ , superoxide 등 여러 물질을 분비하여 탐식작용과 염증반응에 밀접히 관여한다^{50,51)}.

加減左歸飲은 生地黃, 山藥, 山茱萸, 桑白皮, 地骨皮, 白茯苓, 枸杞子, 知母, 貝母, 麻黃, 杏仁, 五味子, 半夏, 陳皮, 枳實, 桔梗, 靑皮, 蘇子, 前胡, 紫菀, 款冬花, 天門冬, 麥門冬, 當歸, 黃芩, 百合, 白芍藥으로 이루어져 있다. 生地黃은 淸血滋陰하며 山藥은 補脾胃 益肺腎하며 山茱萸는 補益肝腎 澁精 斂汗止瀉 하고, 桑白皮는 瀉肺 平喘 行水 消腫하고 흰쥐의 장간막 비만세포 및 복강 비만세포의 탈과립을 억제한다고 보고 되었고⁵³⁻⁵⁴⁾ 地骨皮는 淸熱涼血 淸肺熱 退骨蒸勞熱하며 白茯苓은 利水滲濕, 健脾補中, 寧心安神하며 枸杞子는 滋補肝腎 益精明目하며 知母는 淸熱除煩 滋陰降火하며 貝母는 止咳化痰 淸熱散結하며 麻黃은 發汗解表 宣肺平喘 利水하며 杏仁은 止咳定喘 潤腸通便하며 五味子는 斂肺滋腎 生津斂汗 澁精止瀉하며 半夏는 降逆止嘔 燥濕祛痰 消痞散結하며 陳皮는 理氣健脾 燥濕化痰 하며 枳實은 破氣行痰 散積消痞하며 桔梗은 宣肺祛痰 排膿理氣³⁾ 하여 호산구 및 IgE 항체를 감소시켜 알레르기 천식에 유효한 효과가 있는 것으로 알려져 있다⁵⁴⁾. 靑皮는 疏肝破氣 散積化滯³⁾하며 기관지의 과민반응과 염증 반응에 관여하는 혈관내피성장요인의 작용을 억제시킴으로써 천식치료에 효과가 있음이 밝혀졌고⁵⁵⁾ 蘇子, 前胡, 紫菀, 款冬花는 止咳平喘약물로서 각기 降氣消痰 定喘滑腸, 降氣化痰 疎散風熱, 潤肺下氣 化痰止咳, 潤肺降氣 化痰止咳하며 天門冬, 麥門冬은 補陰藥類로 각기 養陰淸熱 潤燥生津, 滋陰淸熱 潤肺生

津 强心利尿하며, 當歸는 補血和血 調經止痛 潤腸通便하며, 黃芩은 清熱燥濕 止血安胎하며 百合은 潤肺止咳 清心安神하며 白芍藥은 柔肝止痛 養血斂陰 平抑肝陽한다³⁾.

본 연구에서는 加減左歸飲의 생물학적 효과를 규명하기 위하여 사람의 비만세포주인 HMC-1 세포를 PMA와 calcium ionophore A23187로 자극하여 분비되는 염증성 세포활성물질에 대한 加減左歸飲의 효과를 실험했다. 세포독성은 MTT 분석법으로 측정했고, TNF- α , IL-6 와 IL-8의 분비량 측정은 ELISA 방법을 사용했다. 그 결과 加減左歸飲 단독으로는 HMC-1 세포에 독성을 나타내지 않았으며, PMA와 A23187로 자극한 HMC-1 세포에서는 TNF- α 와 IL-6의 현저한 증가율을 보였으며 加減左歸飲 1.0 mg/ml 을 처리한 실험군에서 TNF- α 의 경우 65.96% ($p < 0.05$), IL-6의 경우 25.73%의 억제율을 보였다. 그러나 IL-8 분비 억제 효과는 보이지 않았다. TNF- α 는 천식의 염증반응에서 중요한 역할을 하며 기도 호산구를 자극하여 다른 세포활성 물질들을 분비케 한다⁵⁶⁻⁵⁸⁾. Brown-Norway rats에서 TNF- α 의 흡입은 기도과민 반응을 증가시키며 사람에게 대해서도 같은 경향을 보였다⁵⁹⁻⁶⁰⁾. IL-6 또한 염증성 세포활성 물질로서 천식 환자에서 정상인보다 증가되어 있는 것을 알 수 있다⁶¹⁾.

알레르기 반응^{10,62-65)} 과정중 발생하는 임상 증상들은 반응 초기의 특이적 면역반응과 반응 후기의 염증반응 등이 있다. 초기 알레르기 반응은 거의 대부분이 肥胖細胞를 매개로 일어나며 肥胖細胞는 피부, 호흡기, 위장관의 점막, 임파관 주위, 혈관 주위, 뇌등의 전신의 장기에 널리 분포하여 알레르기 반응에 있어서 매우 중요한 역할을 한다⁶⁶⁾. 肥胖細胞는 세포막에 존재하는 고친화성의 IgE 수용체

(Fc ϵ RI)를 통해서 활성화된다. IgE 수용체에 결합되어 있는 IgE 항체가 항원에 의하여 가교를 형성하면 포스포리파아제 C, 단백질 인산화효소 C, 칼슘 이온의 작용을 거쳐서 과립에 저장되어 있던 히스타민, 콘드로이틴 황산염, 헤파린, 단백질 분해효소 등이 유리됨으로써 반응 초기 단계를 매개한다. 히스타민을 포함하는 전기 화학 전달 매개물질들은 알레르기 반응의 초기에 볼 수 있는 여러 가지 임상증상을 유발하는 원인물질들이며, 가장 많은 양을 차지하는 물질은 히스타민이다. 따라서 알레르기 반응에서 히스타민에 의한 작용이 중요하며, 그 증상으로는 혈관 확장, 부종 등이 있다⁶⁷⁻⁷⁰⁾.

알레르기 반응의 새로운 개념인 후기의 염증 반응은 화학 전달물질의 작용만으로는 설명하기 어렵다. 특히 혈소판 활성화자는 강력한 호산구(好酸球) 화학주성을 가지고 있어, 히스타민에 의해서 확장된 혈관을 통해서 호산구가 침윤되고 호산구로부터 유리된 독성 물질에 의하여 세포 파괴가 지속될 수 있다⁷¹⁻⁷⁴⁾. 최근에 발표된 많은 병리소견에서 만성 염증성 반응이 알레르기 반응에서 공통적으로 발견되었고, 특히 초기 알레르기 반응 6 시간 전후에 나타나는 후기 반응의 기전이 염증 반응으로 이해되고 있기 때문에, 肥胖細胞로부터 유리되는 화학 전달물질 외에 중요한 염증성 세포활성물질인 TNF- α 와 IL-6가 이러한 알레르기성 염증 반응의 유도에 결정적인 역할을 하는 것으로 알려져 있다⁷⁵⁾. TNF- α 는 혈관내피세포로 하여금 새로운 표면 수용체가 발현되도록 함으로써 내피세포의 표면이 백혈구, 즉 처음에는 호중구 그리고 계속해서 단핵구 및 림프구에 대해 더욱 부착성을 가지게 한다. TNF- α 는 또한 호중구에 작용하여 내피세포에 대한 호중구의 부착성을 증가시킨다.

이러한 작용은 염증이 생긴 국소부위에 백혈구가 축적되게 하는데, 아마도 이것은 염증반응에 있어서 TNF- α 가 나타내는 생리적으로 가장 중요한 국소 효과이다. TNF- α 는 단핵구 및 다른 형태의 세포를 자극하여 백혈구의 보충에 한 역할을 담당하는 케모카인(chemokine)을 분비토록 하며 또한 염증성 백혈구를 활성화시켜 미생물을 죽이도록 한다. 특히 TNF- α 는 호중구 활성화능이 강하여 호산구 및 단핵 식균세포에도 영향을 미친다. TNF- α 가 저농도로 계속 생성되는 경우, 조직의 재배열(tissue remodeling)이 일어난다. TNF- α 는 새로운 혈관의 형성을 유도하는 혈관생성인자(angiogenesis factor) 및 결합조직의 침착(deposition)을 야기하는 섬유아세포 성장인자로서 작용한다⁷⁶⁾.

또한, IL-6는 간세포로 하여금 피브리노젠(fibrinogen)과 같은 몇 가지 혈장단백질을 합성시켜 급성 단계반응을 일으킨다. IL-6는 B 림프구 분화의 후기단계에서 활성화된 B 림프구의 성장인자로서 작용한다. IL-6는 몇몇 종양성 형질 세포에 대한 성장인자로서 작용하며, 그리고 자력으로 성장하는 수 많은 형질세포종 세포들은 자가분비적 성장인자로서 IL-6를 분비한다⁷⁷⁾.

加減左歸飲의 면역증진효과를 확인하기 위해서 in vitro 모델로서 쥐의 복강 대식세포 활성을 분석한 결과, 대식세포에서 加減左歸飲과 rIFN- γ 의 동시 자극에 의하여 NO와 TNF- α , IL-12 생성 변화를 확인했다. 加減左歸飲은 rIFN- γ 자극시 1 mg/ml 농도에서 가장 높은 NO 증가를 나타냈다. 이런 결과는 加減左歸飲이 대식세포에서 NO를 생성하는 2차 자극제 역할을 하는 것을 의미한다. 加減左歸飲에 의해 증가된 NO가 인체내에서 생리적 반응을 명확히 설명할 순 없지만 대식세

포에서 유도된 NO는 여러 가지 형태의 박테리아, 암세포 등에 강력한 효과를 나타내는 물질로 알려져 있기 때문에 이러한 임상적 상황에 적용 가능성은 예상할 수 있다^{78,79)}. 또한 加減左歸飲 단독처리 혹은 IFN- γ 를 함께 처리한 군에서 TNF- α 의 증가는 이 대식세포의 활성을 촉진시켜 생체 면역기능을 향진시킬 수 있음을 의미한다.

이상을 종합하여 보면 加減左歸飲은 알레르기 반응 중 후기 염증 반응에 있어서 염증반응을 유도하는 TNF- α , IL-6, IL-12을 감소시켜 알레르기성 기관지천식의 후기 염증반응을 조절하여 기관지 천식을 효과적으로 치료할 수 있으며 또한 우리 몸의 항염증 및 항암작용을 도와주는 NO생성을 유도하므로 임상적으로 기관지 천식뿐만 아니라 우리 몸의 항염증 및 항암 작용에 사용할 수 있을 것으로 생각되어지는 바 더 많은 연구가 필요하리라고 본다. 또한 加減左歸飲을 단독처리 혹은 IFN- γ 를 함께 처리한 군에서 TNF- α 의 증가는 加減左歸飲이 대식세포의 활성을 촉진시켜 생체 면역기능을 향진시킬 수 있음을 의미하므로 기관지 천식의 완해기에 면역기능을 높이기 위하여 사용되어지는 것을 잘 나타내주고 있다고 사료된다.

V. 結 論

저자는 본 연구에서 加減左歸飲의 세포내 면역반응에서의 알레르기성 기관지 천식반응 조절 효과를 규명하기 위하여 비만세포에서 염증성 세포활성 물질, 대식세포에서의 NO, TNF- α , IL-12의 분비를 검토한 결과 다음과

같은 결론을 얻었다.

1. 加減左歸飲은 HMC-1 세포에 대한 세포 독성을 나타내지 않았다.
2. 加減左歸飲은 PMA와 A23187로 자극된 HMC-1 세포에서 TNF- α 와 IL-6의 분비를 억제했다.
3. 加減左歸飲은 PMA와 A23187로 자극된 HMC-1 세포에서 IL-8의 분비에는 영향을 미치지 않았다.
4. 加減左歸飲은 복강대식세포에서 NO 생성을 유도했다.
5. 加減左歸飲은 복강대식세포에서 TNF- α 생성을 유도했다.
6. 加減左歸飲은 복강대식세포에서 IL-12 생성은 유도하지 않았다.

이상의 결과로 보아 加減左歸飲은 면역 능력을 증강 시키는 세포 활성 물질 분비를 촉진하고 염증 반응에 관련된 세포내 염증 반응 물질의 분비를 억제함을 알 수 있다. 따라서, 加減左歸飲은 기관지 천식의 완해기에 기관지 천식 치료 및 면역 능력 증강을 목적으로 사용할 수 있음을 알 수 있다.

參 考 文 獻

1. 장개빈. 경약전서. 대구: 동양종합통신교육원, 1978:979, 1073.
2. 장중경. 금계요락방론. 태북: 태련국풍출판사, 1973:34-5.
3. 신민교. 원색임상본초학. 서울: 도서출판 영림사, 1992:171-683.
4. 황일구. 중의방제문제. 장사: 호남과학기술출판사, 1982:185-6.
5. 소염방. 장부증치여용약. 산둥: 산둥과학기술출판사, 1983:291-292, 316, 318-319, 324, 326.
6. 남경중의학원. 중의방제학. 상해: 상해과학기술출판사, 1982:168-70.
7. 정진의. 중의처방해설. 서울: 계축문화사, 1986:84-5, 88, 89.
8. 이상인. 천진처방해설. 서울: 정보사, 1987:73-5, 344-55.
9. 전을. 소아약증직결. 강소: 강소과학기술출판사, 1983:4, 20, 48.
10. 정규만. 알레르기과 한방. 서울: 도서출판 제일로, 1990:15-26, 60, 61, 89-98.
11. 강석영. 알레르기 질환의 임상 실제. 서울: 일조각, 1988:192-207, 242-51.
12. 민창홍, 유재근. 최신 미생물학. 서울: 고문사, 1984:79-80.
13. 하대유의 편역. 그림으로 본 면역학. 서울: 고문사, 1994:279-81.
14. 오찬호. 신면역학 입문. 서울: 지구문화사, 1995:250-3.
15. Stankiewicz W, Dabrowski MP, Chcialowski A, Plusa T. Cellular and cytokine immunoregulation in patients with chronic obstructive pulmonary disease and bronchial asthma. Mediators Inflamm. 2002;11(5):307-312.
16. 박천수. 해표양진탕 및 해표이진탕이 GUINEA PIG의 기관지 평활근에 미치는 영향. 원광대학교 대학원. 1990.
17. 홍재의. 마황탕이 GUINEA PIG의 기관지 평활근에 미치는 영향. 원광대학교 대학원. 1991.

18. 윤호석. 윤폐제수음이 GUINEA PIG의 기관지 평활근에 미치는 영향. 원광대학교 대학원. 1991.
19. 송진오. 반하온폐탕 및 그 구성약물이 실험동물에 미치는 영향. 원광대학교 대학원. 1992.
20. 김병훈. 청폐탕 및 가미청폐탕이 Oleic acid로 유발시킨 家口의 폐수종과 GUINEA PIG의 기관지 평활근에 미치는 영향. 원광대학교 대학원. 1989.
21. 박천수. 定喘湯의 效能에 關한 實驗的 研究. 원광대학교 대학원. 1995.
22. 이순호. 사백산이 호흡기계에 미치는 영향. 원광대학교 대학원. 1995.
23. 김민호. 瀉白散이 Compound 48/80에 의하여 誘導된 Anaphylatic shock와 皮下 反應에 미치는 影響. 원광대학교 대학원, 1991.
24. Kim MS, Chae HJ, Shin TY, Kim HM, Kim HR. Estrogen regulates cytokine release in human mast cells. Immunopharm Immunot 2001; 23(4):495-504.
25. Xie QW, Cho HJ, Calaycay J, Mumford RA, Swiderek KM, Lee TD, Ding A, Troso T, Nathan C. Cloning and characterization of inducible nitric oxide synthase from mouse macrophages. Science 1992; 256:225-8.
26. 丁奎萬. 소아 기관지천식의 임상적 고찰. 대한한의학회지. 1984;5(1):96-101.
27. 길천영성, 황의옥, 정승기, 이행구. 알레르기성 천식에 관한 문헌적 고찰. 대한한의학회지. 1990;11(1):39-70.
28. 오극잠. 吳氏兒科學. 대북: 신문출판공사. 1980;72, 245.
29. 상해중의학원. 중의내과학. 香港: 상무인서관. 1983:181-184.
30. 이형구, 정승기. : 동의폐계내과학, 서울: 민서출판사. 1991:187-195, 450,451.
31. 허 준. :동의보감. 서울: 남산당. 1986: 119-121, 467-475, 638-720.
32. 孫一奎. 적수현주(중국의학대계, 권34). 서울:여강출판사. 1988:660-734.
33. 李中梓. 의중필독. 서울:성보사. 1980:110.
34. 왕궁당. 유과준승(중국의학대계, 권38). 서울:여강출판사. 1988:770-786.
35. 朱 櫛. 晉濟方. 서울:翰成社. 1982:1900.
36. 張介賓. 景岳全書. 서울:일증사. 1988: 348.
37. 沈金鰲. 沈氏尊生書. 대북:자유출판사. 972:49.
38. 朱震亨. 丹溪心法. 타이베이:오주출판사. 1969:339.
39. 상해중의학원. 중의아과학. 香港:상무인서관. 1981:55-64.
40. National asthma education program, Expert panel report: Guideline for the diagnosis and management of asthma J. allergy Clin. Immunol. 1988;88:424.444.
41. Laitinen LA, Heino M, Laitinen A; Damage of the airway epithelium and bronchial reactivity in patients with asthma Am, Rev, Respir. Dis, 1985;131:559-563.
42. Kim HM, Lee YM. Role of TGF-beta 1 on the IgE-dependent anaphylax reaction. J Immunol 1999; 162:4960-4965.
43. Erchler WB, Keller ET. Age-associated

- increased interleukin-6 gene expression, late-life diseases, and frailty. *Annu Rev Med.* 2000;51:245-270.
44. Rollins BJ. Chemokines. *Blood.* 1997; 90:909-928.
 45. Schroder JM. The monocyte-derived neutrophil activating peptide (NAP/interleukine-8) stimulates human neutrophil arachidonate-5-lipoxygenase, but not the release of cellular arachidonate. *J Exp Med.* 1989;170:847-863.
 46. Leonard EJ, Yoshimura T. Neutrophil attractant/activation protein-1 (NAP-1[interleukin-8]. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 1990;2:479-486.
 47. Baggiolini M, Dewald B, Moser B. Interleukin-8 and related chemotactic, cytokines CXC and CC chemokines. *Adv Immunol.* 1994;55:97-179.
 48. Van Furth R, Sluiter W, Dissel JT. Genetic control of monocyte production and macrophage function, in Steinman RM, North RJ (eds): *Mechanisms of Host Resistance to Infectious Agents, Tumors, and Allografts.* New York, NY, Rockefeller University. 1986:138.
 49. Roitt IM. The anatomy of the immune response, in Roitt IM. (ed): *The Essential Immunology.* London, UK, Blackwell Scientific. 1994:147.
 50. MacMicking JQ, Xia W, Nathan C. Nitric oxide and macrophage function. *Annu Rev Immuno.* 1997;15: 323-50.
 51. James PE, Grinberg OY, Swartz HM. Superoxide production by phagocytosing macrophages in relation to the intracellular distribution of oxygen. *J Leukocyte Biol* 1998;64:78-84.
 52. 김정수, 전병득. 상백피가 백서 장간막 비만세포에 미치는 영향. *전북의대 논문집.* 1986;10:231-9.
 53. 소순남, 김정수, 전병득, 이무삼. 상백피가 백서 복강 비만세포에 미치는 영향에 관한 세포형태학적 연구. *전북의대 논문집.* 1986;10(3):221-30.
 54. 김성수. 길경에 의한 알레르기 천식 효과에 대한 연구. *원광대학교 대학원,* 2003.
 55. 이해자. 靑皮가 천식유발 백서에서 VEGF에 미치는 영향. *원광대학교 대학원.* 2003.
 56. Kwon O, Au BT, Collins PD, Mak JC, Robbins RR, Chung KF, Barnes PJ. Tumour necrosis factor-induced interleukin-8 expression in pulmonary cultured human airway epithelial cells. *Am J Physiol.* 1994;267: L398-L405.
 57. Cromwell O, Hamid Q, Corrigan CJ, Barkans J, Meng Q, Collins PD, Kay AB. Expression and generation of interleukin-8, IL-6 and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor by bronchial epithelial cells and enhancement by IL-1 beta and tumour necrosis factor-alpha. *Immunology.* 1992;77:330-7.
 58. Shah A, Church MK, Holgate ST. Tumour necrosis factor- α : A potential mediator of asthma. *Clin Exp Allergy.* 1995;25:1038-44.
 59. Kips JC, Tavernier J, Pauwels RA.

- Tumor necrosis factor causes bronchial hyperresponsiveness in rats. *Am Rev Respir Dis.* 1992;145:332-6.
60. Thomas PS, Yates DH, Barnes PJ. Tumor necrosis factor- α increases airway responsiveness and sputum neutrophils in normal human subjects. *Am J Respir Crit Care Med.* 1995;152:76-80.
61. Gosset P, Tsicopoulos A, Wallaert B, Vannimenus C, Joseph M, Tonnel AB, Capron A. Increased secretion by tumor necrosis factor- α and interleukin-6 by alveolar macrophages consecutive to the development of the late asthmatic reaction. *J Allergy Clin Immunol.* 1991;88:561-71.
62. 윤덕진. 小兒科學大全. 서울:연세대학교 출판부. 1984:451-63.
63. 이기영. 알레르기의 진료. 서울:한국의학사. 1992:3.
64. 홍창의. 소아과학. 서울:대한교과서주식회사. 1997:995-1016.
65. 강석영. 알레르기질환의 診斷과 治療. 서울:일조각. 1987:129-131.
66. Wedemeyer J, Tsai M, Galli SJ. Roles of mast cells and basophils in innate and acquired immunity. *Curr Opin Immunol.* 2000;12:624-31.
67. Hart PH. Regulation of the inflammatory response in asthma by mast cell products. *Immunol Cell Biol.* 2001;79:149-53.
68. Lau AH, Chow SS, Ng YS. Immunologically induced histamine release from rat peritoneal mast cells is enhanced by low levels of substance P. *Eur J Pharmacol.* 2001;414(2-3):295-303.
69. Woolley DE, Tetlow LC. Mast cell activation and its relation to proinflammatory cytokine production in the rheumatoid lesion. *Arthritis Res.* 2000;2(1):65-74.
70. Kim HM, An NH, Yi BH, Chae HJ, Kim HR, Moon SJ, Kim JJ, Park ST, Baek SH. Inhibitory effect of mast cell-mediated immediate-type allergic reactions by sulfapyridine. *Immunopharmacol Immunotoxicol.* 2000;22(2):253-66.
71. Falcone FH, Haas H, Gibbs BF. The human basophil: a new appreciation of its role in immune responses. *Blood.* 2000;96(13):4028-38.
72. Tsang S, Hayashi M, Zheng X, Campbell A, Schellenberg RR. Simplified purification of human basophils. *J Immunol Methods.* 2000;233(1-2):13-20.
73. Park H, Jung K, Kang K, Nahm D, Cho S, Kim Y. Enhanced basophil histamine release and neutrophil chemotactic activity redispense grain dust-induced airway obstruction. *Clin Exp Allergy.* 1999;29(4):543-9.
74. Vollrath IB, Gibbs BF, Wolff HH, Amon UE. Relationship between basophil chemotaxis and histamine releasability to immunological stimulation. *Inflamm. Res.* 46 Suppl. 1997;

1:S11-2.

75. Smart KR Jr, Warejcka DJ, Castresana MR, Dalton ML, Webb JG, Newman WH. Isoproterenol inhibits bacterial lipopolysaccharide-stimulated release of tumor necrosis factor-alpha from human heart tissue. *Am Surg.* 2000;66(10):947-51.
76. Thomas PS. Tumour necrosis factor-alpha: The role of this multi-functional cytokine in asthma. *Immunol Cell Biol.* 2001;79(2):132-40.
77. Meng ZH, Dyer K, Billiar TR, Tweardy DJ. Essential role for IL-6 in postresuscitation inflammation in hemorrhagic shock. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2001;280(2):C343-51.
78. Stuehr DJ, Gross SS, Sakuma I, Levi R, Nathan CF. Activated murine macrophages secrete a metabolite of arginase with the bioactivity of the endothelium-derived relaxing factor and the chemical reactivity of nitric oxide. *J Exp Med.* 1989;169:1011-20.
79. Nathan CF, Hibbs JB. Role of nitric oxide synthesis in macrophage antimicrobial activity. *Curr Opin Immunol.* 1991;3:65-70.