

白鼠의 足三里에 시술한 枇杷葉藥鍼이 천식억제 및 면역조절효과에 미치는 영향

정주열¹ · 임윤경² · 이 현¹

대전대학교 한의과대학 침구학교실¹, 경혈학교실²

The Effects of Eriobotryae Folium Herbal-acupuncture at ST36 on ovalbumin-induced asthma in C57BL mouse

Ju-Yul Jung¹, Yun-Kyoung Yim², Hyun Lee¹

Dept. of Acupuncture & Moxibustion¹ and Meridian & Acupoint², College of Oriental Medicine, Daejeon University

Abstract

To study the effects of EF(Eriobotryae Folium) herbal acupuncture on asthma, we injected EF-HAS into Jok-samni(ST36) of C57BL/6 mice

Objective : The aim of this study was to investigate the effect of EF-HA(herbal acupuncture) at ST36 on ovalbumin-induced asthma in mice

Methods : C57BL/6 mice were sensitized and challenged with OVA(ovalbumin) for 12 weeks(once a week). Experimental groups were treated with concentrations(1%) of EF-HA at Jok-samni(ST36) for the later 8 weeks(3times/week).

Result :

1. The weight and total cells of lung of the mice group treated with EF-HA decreased significantly compared with that of Control group.

2. Total Leukocytes and Eosinophils in BALF of the mice group treated with EF-HA decreased significantly compared with those of Control group.

3. The sticking of collagen on histological analysis of lung sections, the mice group treated with EF-HA decreased significantly compared with those of Control group.

4. The concentration of IgE, IL-4, IL-5 in BALF of the mice group treated with EF-HA decreased significantly compared with those of Control group.

5. The concentration of IL-4, IL-5, IL-13 in Serum of the mice group treated with EF-HA decreased significantly compared with those of Control group.

6. The number of Gr-1⁺/CD11b⁺, CD3⁻/CCR3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD3e⁺/CD69⁺ cells in the lungs of the mice group treated with EF-HA decreased significantly compared with those of Control group.

7. The cytokine's manifestation of mRNA of the mice group treated with EF-HA with RT-PCR decreased significantly compared with that of Control group.

Conclusion : We conclude that EF-HA is effective on OVA-induced asthma of C57BL/6 mouse.

Key words : OVA-induced asthma, Eriobotryae Folium, HA(herbal acupuncture)

· 교신저자: 이현, 대전광역시 동구 용운동 96-3 대전대학교 한의과대학
침구학교실, Tel. 042-280-2641, Fax. 042-280-2610,
E-mail: lh2000@dj.u.ac.kr

· 투고: 2005/11/21 · 수정: 2005/12/13 · 채택: 2005/12/19

I. 서 론

喘息은 氣道炎症을 특징으로 하는 만성 염증성 질환으로 일반적으로 알레르기, 불안, 상기도 감염, 흡연 또는 기타의 환경적 유해물질 등에 의해 유발되는 기도과민성의 결과로 주로 발생되며 또한 유전, 기관지경련, 내분비장애, 관상동맥이상 등으로도 유발된다. 임상적으로 천식에 대해 가변적 기도폐색, 병태생리학적으로 기도과민성, 병리학적으로 기도의 염증성 반응을 보이는 질환으로 정의하고 있으며, 주요 증상은 발작적 호흡곤란, 喘鳴, 기침, 肺의 過吸氣, 囉音, 喀痰 등이다^{1~4)}. 최근 기관지천식에 관한 연구는 기도의 염증발현에 관여하는 세포와 분자수준의 기전에 초점이 맞추어지고 있다^{3~5)}.

한의학에서 천식은 呼吸急促, 喘鳴有聲을 특징적인 증후군으로 하는 哮喘證과 유사하며^{5,6)}, 隋代 巢의 《諸病源候論》⁷⁾에 처음 기술된 이후 寒冷說, 心因說, 痰因說, 素因說, 感染說, 肺腎의 機能失調 등의 원인으로, 潤肺, 祛痰, 定喘, 補陰시키는 약물과 침구치료 위주로 사용하고 있다⁵⁾. 최근에는 喘息에 효과가 있다고 기록된 방제 및 본초를 이용한 천식의 억제효과를 밝히는데 주력하고 있다^{8~17)}.

枇杷葉(Eriobotryae Folium)은 장미과에 속한 상록수교목인 비파나무의 잎을 건조한 것으로 味苦하고 性이 微寒하여 肺經에 들어가 清肺熱, 化痰止咳 하는 효능이 있어 氣逆喘急, 清熱降逆 등에 사용되고 있다¹⁸⁾.

枇杷葉에 관한 연구로는 윤¹⁹⁾ 등의 당뇨병에 관한 보고가 있었으나 喘息과 관련된 연구는 아직까지 접하지 못하였다.

이에 저자는 清肺熱, 化痰止咳하는 비파엽으로 약침액을 제조한 후 調和氣血, 扶正培元, 祛邪防病的 穴性을 가진 足三里(ST36)에 약침을 시술하여 천식억제 및 면역조절효과에 유의성

있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 재료 및 방법

1. 재료

1) 동물

동물은 자성인 4~5주령의 C57BL/6생쥐를 대한실험센터에서 공급받아 실험 당일까지 고형사료(항생제 무첨가, 삼양사료)와 물을 충분히 공급하고, 실온 22±2 ℃를 유지하여 2주일 간 실험실환경에 적응시킨 후 실험에 사용하였다.

2) 약재

실험에 사용된 비파엽(Eriobotryae Folium ; 이하 EF라 표현함)은 대전대학교 부속한방병원에서 구입한 것을 정선하여 사용하였다.

3) 약침액의 제조

분쇄기를 이용하여 비파엽 55 g을 분쇄하여 분말로 만들어, 원형삼각플라스크에 넣고, 증류수 500 ml을 가하여 3 시간 동안 shaking water bath에서 유출한 후, 유출액을 여과하였다. 이 여과액을 여과지로 3 회 여과한 후, rotary evaporator로 감압농축 하였다. 이 농축액에 95 % ethyl alcohol 30 ml를 가하고 실온에서 교반한 후 방치하여, 침전물이 생성되게 하였다. 침전물이 생성되면 여과하여 침전물을 제거하고, 여과액을 다시 rotary evaporator로 감압농축한 후 이 농축액에 85 % ethyl alcohol 30 ml를 가하고 잠시 교반한 후 방치하여 여과하였다. 다시 농축 후 75 % ethyl alcohol 30 ml를 가하고 교반한 후 방치하였다가 여과하는 조작을 2 회 반복하였다. 여과액 중의 ethyl alcohol 성분을 rotary evaporator로 감압 제거하고 남은 농축액이 20 ml가 되게 하였다. 1 N NaOH를 이용하여

농축액을 pH6.8이 되도록 조절하고, 저온에서 12 시간 방치한 후 멸균하였다. 멸균된 농축액에 PBS를 가하여 1 %로 희석하여 약침액으로 사용하였다.

2. 方法

(1) In vitro

喘息이 유발된 생쥐에서 분리한 폐 조직을 잘게 절단한 후 collagenase를 가하여 shaking incubation을 통해 세포를 분리하였다. 분리해낸 세포에 rIL-3/rIL-5를 가하고 incubation하여 활성화 시켰다. 활성화된 세포에 약침액을 가하여 48 시간 동안 배양 시킨 후 표식항체를 반응시켜 FACS 분석하였다.

(2) In vivo

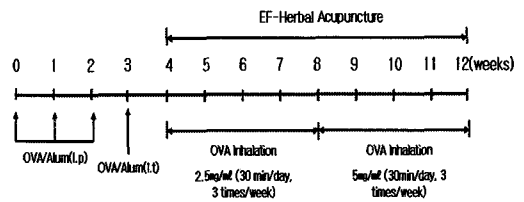
1) Asthma mouse model

실험 1 주째 200 μl 의 OVA/alum(500 $\mu\text{g}/\text{ml}$)을, 2, 3주째에는 100 μl OVA/alum (500 $\mu\text{g}/\text{ml}$)을 생쥐의 복강에 투여(i.p)하였다. 4 주째에는 마취 후에 100 μl 의 OVA/alum (500 $\mu\text{g}/\text{ml}$)을 기도투여(i.t)하였다. 5-8주째까지는 2.5 mg/ml의 OVA/PBS 40 μl 을, 9-12주째까지는 5 mg/ml의 OVA/PBS 40 μl 을 air compressor를 이용하여 30 분간 주 3 회 노출시켰다.

2) Classification of experimental animal groups

실험군은 7마리를 1군으로 하여 Normal군, Control군, Needle prick군, EF-HA군 등 4군으로 나누었다. Normal군은 아무런 처치도 하지 않았고, Control군은 천식 유발 후 아무런 처치도 하지 않았다. Needle prick군은 천식을 유발하고 족삼리(ST36)에 주사기를 자입 후 즉시 제거하였다. EF-HA군은 천식 유발 후 족삼리

Fig. 1. OVA-induced mouse asthma model



(ST36)에 1 %의 비파엽약침액(100 μl)을 주입하였다. Needle prick자극 및 비파엽약침은 5 주째부터 12 주째까지 8 주간 주 3 회 시행하였다 (Fig.1).

3) Bronchoalveolar-lavage fluid(BALF) Isolation

생쥐를 마취한 후 표피를 열고 기도에 주사기를 삽입하고 끈으로 묶어 고정된 후 10% FBS/DMEM medium을 3 회 순환 시켜 분리하였다.

4) Photomicrographs

분리된 BALF를 세척해서 Cytospin centrifuge에 1,000 rpm으로 5분간 원심 분리하여 고정시킨 후 blood smears staining set(Merck, Germany)를 사용하여 염색하였다. 공기 중에서 건조시킨 후 Bright microscope (Nikon, Japan ; $\times 400$)로 측정하였다.

5) Histological Analysis

조직은 Masson's Trichrome 염색을 하였다. 폐조직의 일부 Cryotome을 이용하여 절편을 한 후, Masson's Trichrome stain system (Dako, Japan)을 사용하여 염색하였다.

6) Fluorescence activated cell sorter (FACS) Analysis

생쥐에서 분리해낸 폐 조직을 잘게 절단한 후

collagenase를 가하여 incubation을 통해 분리해 낸 세포에 표식항체를 반응시켜 Flow cytometer로 분석하였다.

7) Enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA) Analysis

ELISA Kit를 사용하여, 생쥐에서 분리한 BALF와 serum에서 각 cytokine량을 측정하였다. 항cytokine 항체가 코팅된 96well plate에 BALF 또는 serum을 가하여 반응 시킨 후 4 번 세척하였다. 그 후 biotin이 표식된 항cytokine 항체를 가하여 반응 시킨 후 4 번 세척하고 여기에 straptavidin-HRP를 가하여 Elisa-reader를 이용하여 측정하였다.

8) RT-PCR(Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction)

① Total RNA의 抽出

각 실험군의 생쥐에서 떼어낸 폐 조직을 homogenizer를 이용하여 분쇄한 후 RNAzolB (Tel-Test, USA)를 이용하여 total RNA를 추출하였다. 추출한 RNA는 DEPC(Diethyl Pyrocarbonate)를 처리한 20 μ l의 증류수에 용해시켜 정량하고, RNA를 확인하기 위하여 RNA 4 μ g을 EtBr이 들어있는 formaldehyde buffer와 섞어 70 $^{\circ}$ C에서 10분간 denaturation 시킨 후 formaldehyde를 넣은 1.5 % agarose gel에 loading dye와 함께 loading 하여 그 양을 확인하였다. 확인한 RNA는 RT-PCR(Reverse Transcription - Polymerase Chain Reaction)에 사용하였다.

② cDNA 合成

역전사 반응은 준비된 total RNA 3 μ g에 해당하는 양을 75 $^{\circ}$ C에서 10분 동안 denaturation 시키고, 이 denaturated total RNA 3 μ g에 2.5 μ l

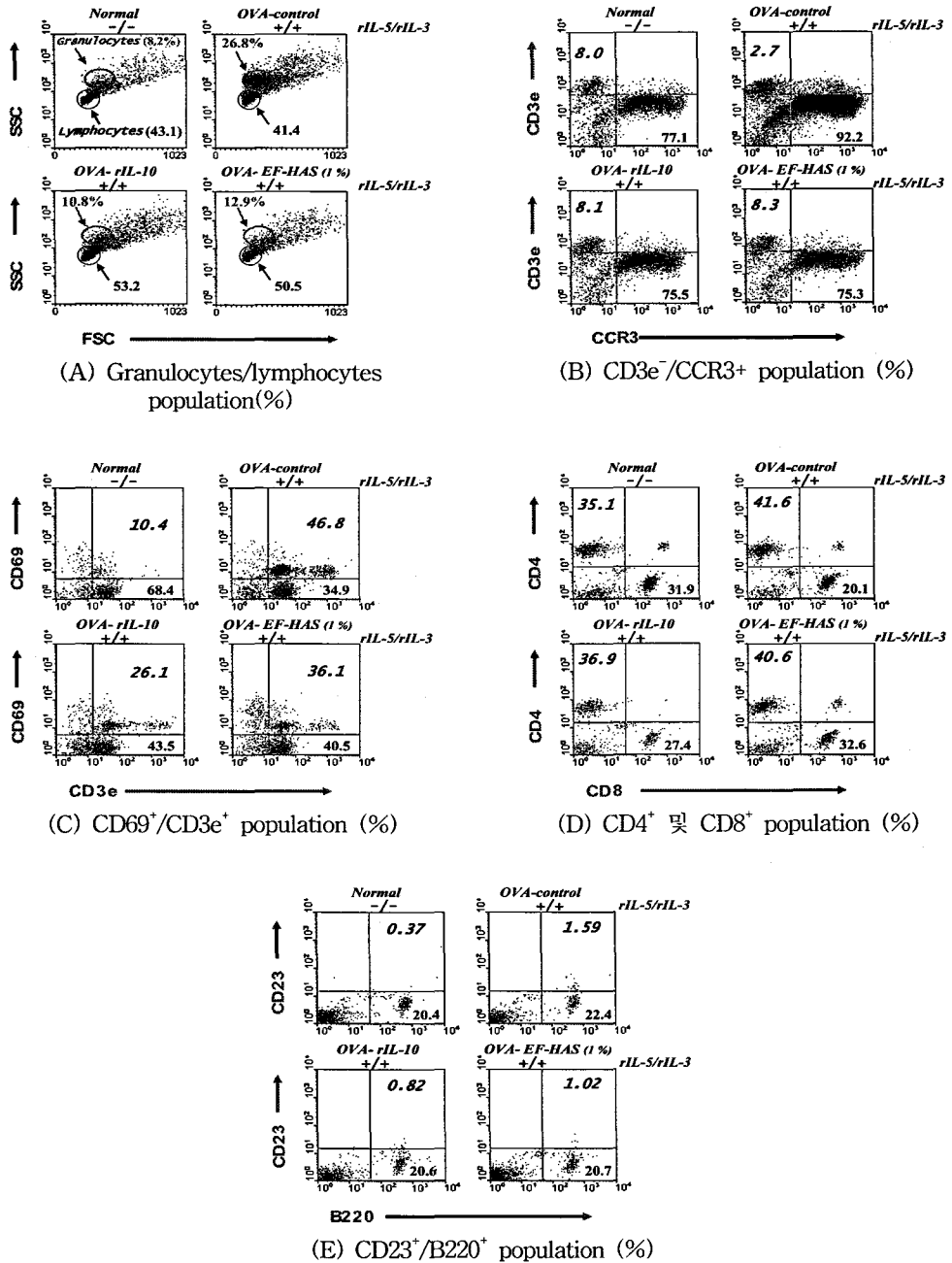
의 10 mM dNTPs, 1 μ l의 random sequence hexanucleotides (25 pmole/25 μ l), RNA inhibitor로서 1 μ l의 RNasin(20 U/ μ l), 1 μ l의 100 mM DTT 및 4 μ l의 5 \times RT buffer(250 mM Tris-Cl, pH8.3, 375mM KCl, 15mM MgCl₂)를 혼합한 후, 1 μ l의 M-MLV RT(200 U/ μ l)를 첨가한 뒤 DEPC 처리된 증류수를 더하여 최종 부피가 20 μ l가 되도록 하였다. 이 20 μ l의 반응 혼합액을 잘 섞은 뒤 원심분리하여 37 $^{\circ}$ C 항온 수조에서 60 분 동안 반응시켜 first-strand cDNA를 합성한 다음, 95 $^{\circ}$ C에서 10 분 동안 방치하여 M-MLV RT를 불활성화시키고 즉시 얼음으로 옮겼다. 이렇게 합성이 완료된 first-strand cDNA는 PCR(Polymerase Chain Reaction)에 사용하였다.

③ cDNA의 PCR 증폭

PCR은 Primus 96 Legal PCR system(MWG, Germany)를 이용하여 수행하였다. 반응은 이미 합성된 1 μ l의 first-strand cDNA를 주형으로 사용하였다. 주형에 대한 β -actin, IL-4, IL-5, IL-13, IL-1 β , TNF- α 에 대한 sense primer (20 pmole/ μ l)와 antisense primer (20 pmole/ μ l)를 혼합하여 1 μ l를 가하고, 다시 3 μ l 2.5 mM dNTPs, 3 μ l 10 \times PCR buffer (100 mM Tris-HCl, pH 8.3, 500 mM KCl, 15 mM MgCl₂) 및 0.18 μ l Taq polymerase (5 U/ μ l)를 첨가한 다음 최종 부피가 30 μ l 되도록 멸균증류수를 가하고 predenaturation; 95 $^{\circ}$ C, 5 분, denaturation; 74 $^{\circ}$ C, 5 분, annealing; 55 $^{\circ}$ C, 1 분, elongation; 72 $^{\circ}$ C, 1 분을 25 cycle한 뒤 postelongation을 72 $^{\circ}$ C에서 3 분 동안의 조건으로 PCR을 수행하였다. 각 PCR products는 20 μ l씩 1.2 % agarose gel에 loading하여 50 V 조건에서 30 분간 전기 영동하여 분석하였다.

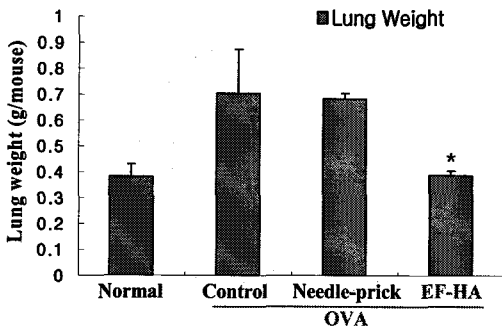
白鼠의 足三리에 시술한 枇杷葉藥鍼이 천식억제 및 면역조절효과에 미치는 영향

Fig. 2. FACS analysis



Normal : Normal C57BL/6 mice.
 OVA-Control : OVA-induced asthma lung cells.
 OVA-EF-HAS(1%) : OVA inhalation and EF-HAS(1%).
 OVA-rIL-10 : Positive control.

Fig. 3. Lung weight



3. 통계처리

통계는 Student's t-test로 하였다.

III. 결 과

1. In vitro

1) FACS analysis

① Granulocytes/lymphocytes population(%)

폐 세포 중 granulocytes의 비율이 Normal군에서는 8.2 %이었으나 Control군에서는 26.8 %로 증가하였고 EF-HAS군에서는 12.9 %로 감소하였다(Fig.2).

② CD3e⁻/CCR3⁺

CD3e⁻/CCR3⁺ 세포의 비율이 Normal군에서는 77.1 %이었으나 Control군에서는 92.2 %로 증가하였고 EF-HAS군에서는 75.3 %로 감소하였다(Fig.2).

③ CD69⁺/CD3e⁺

폐 세포 중 CD69⁺/CD3e⁺의 비율이 Normal군에서는 10.4 %이었으나 Control군에서는 46.8

%이었고 EF-HAS군에서는 36.1 %로 감소되었고, CD69⁺/CD3e⁺의 비율은 Normal군에서는 68.4 %이었으나 Control군에서는 34.9 %이었고 EF-HAS군에서는 40.5 %로 증가했다(Fig.2).

④ CD4⁺ 및 CD8⁺

폐세포 중 CD4⁺ 세포의 비율이 Normal군에서는 35.1 %이었으나 Control군에서는 41.6 %이었고 EF-HAS군에서는 32.6 %로 감소하였다. CD8⁺의 비율은 Normal군에서는 31.9 %이었으나 Control군에서는 20.1 %이었고 EF-HAS군에서는 32.6 %로 증가 했다(Fig.2).

⑤ CD23⁺/B220⁺

폐세포 중 CD23⁺/B220⁺의 비율이 Normal군에서는 0.37 %이었으나 Control군에서는 1.59 %이었고 EF-HAS군에서는 1.02 %로 감소되었다(Fig.2).

2. In vivo

1) Lung weight

폐의 무게를 측정한 결과 Control군은 Normal군에 비해 증가하였고, EF-HA군에서는 Control군보다 유의성(p<0.05) 있게 감소하였다(Fig.3).

2) Cell count

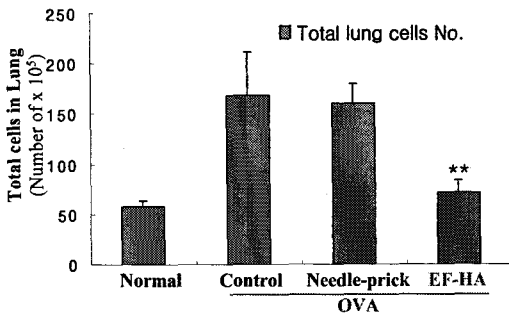
① Total cells in lung

Control군은 Normal군에 비해 증가하였고, EF-HA군은 Control군보다 총세포수가 유의하게(p<0.01) 감소했다(Fig.4).

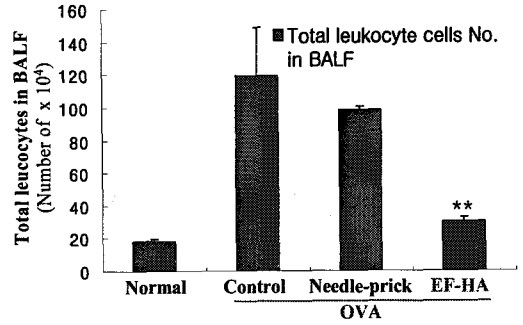
② Total leukocyte in BALF

Control군은 Normal군에 비해 leukocyte의 수가 증가하였고, EF-HA군은 Control군에 비해

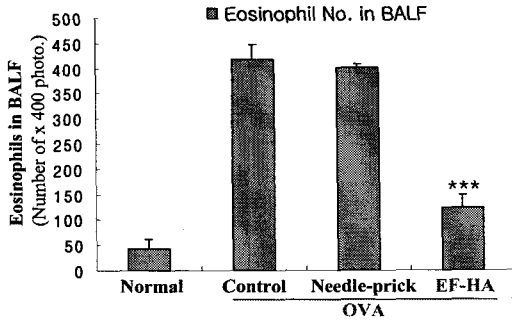
Fig. 4. Cell count



(A) Total cells in lung



(B) Total leukocytes in BALF



(C) Eosinophils in BALF

현저하게($p < 0.01$) 감소하였다(Fig.4).

③ Eosinophils in BALF

BALF에 함유된 Eosinophils의 수는 Control군은 Normal군에 비해 증가했고, EF-HA군은 Control군에 비하여 유의하게($p < 0.001$) 감소했다(Fig.4).

3) Photomicrographs of eosinophil in BALF

Control군에서는 Eosinophil이 다량으로 관찰되었으며 EF-HA군에서 얻은 BALF에서는 Eosinophil이 현저하게 감소하였다(Fig.5).

4) Histological analysis of lung section

Control군에서는 collagen이 조직에 다량으로 부착되어 있는 것이 관찰되었으며 EF-HA군에서는 collagen의 부착이 현저하게 감소하였다(Fig.6).

5) ELISA

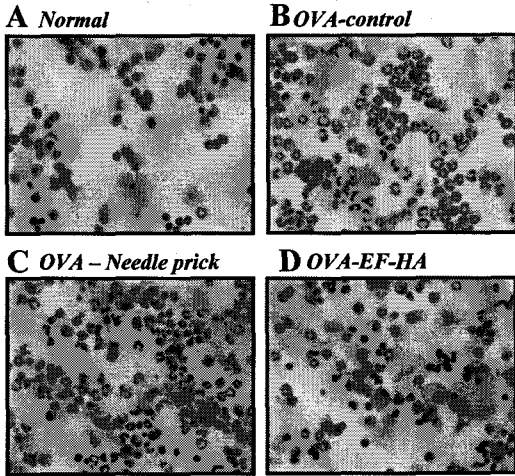
① IgE in BALF

Control군은 Normal군에 비하여 증가하였고, EF-HA군은 Control군에 비하여 유의하게($p < 0.001$) 감소하였다(Fig.7).

② IL-4 in BALF

Control군은 Normal군에 비하여 증가하였고

Fig. 5. Photomicrographs (original magnification, × 400) of BALF cytopins from mice.



Normal : Normal C57BL/6 mice.
 OVA-Control : Ovalbumin exposure(control).
 OVA-Needle prick : OVA exposure and single prick with an injection at ST36.
 OVA-EF-HA : OVA exposure and EF-HA(1%) at ST36.

EF-HA군은 Control군에 비하여 유의하게 ($p < 0.01$) 감소하였다(Fig.7).

③ IL-5 in BALF

Control군은 Normal군에 비하여 증가하였고, EF-HA군은 Control군에 비하여 유의하게 ($p < 0.01$) 감소하였다(Fig.7).

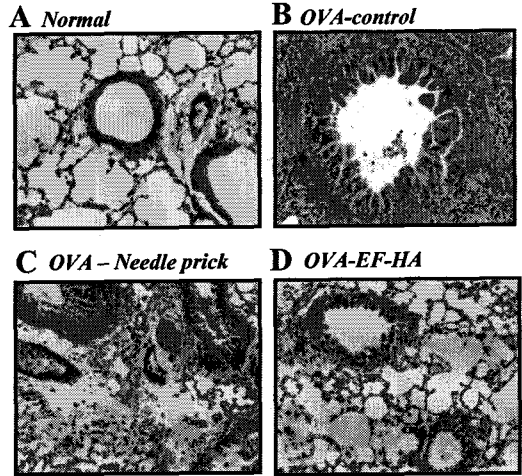
④ IL-4 in Serum

Control군은 Normal군에 비하여 증가하였고, EF-HA군은 Control군에 비하여 유의하게 ($p < 0.001$) 감소하였다(Fig.7).

⑤ IL-5 in Serum

Control군은 Normal군에 비하여 증가하였고, EF-HA군은 Control군에 비하여 유의하게 ($p < 0.01$) 감소하였다(Fig.7).

Fig. 6. Histological analysis of lung sections from mice



⑥ IL-13 in Serum

Control군은 Normal군에 비하여 증가하였고, EF-HA군은 Control군에 비하여 유의하게 ($p < 0.01$) 감소하였다(Fig.7).

6) FACS

FACS분석에 의해 각 세포 수를 측정하였다.

① Gr-1⁺/CD11b⁺

폐내 Gr-1⁺/CD11b⁺와 CD11⁺세포수를 측정된 결과, Control군은 Normal군에 비해 증가했고, EF-HA군은 Control군에 비하여 감소하였다(Fig.8).

② CD3e⁻/CCR3⁺

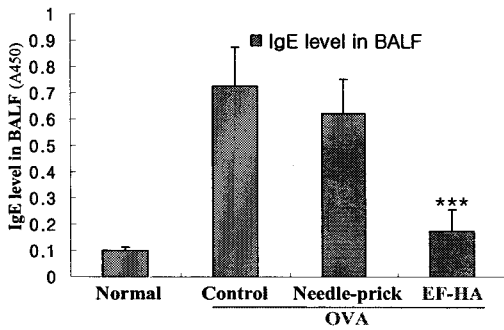
폐내 CD3e⁻/CCR3⁺ 세포 수를 측정된 결과, Control군은 Normal군에 비해 증가했고, EF-HA군은 Control군에 비하여 감소하였다(Fig.8).

③ CD4⁺ 및 CD8⁺

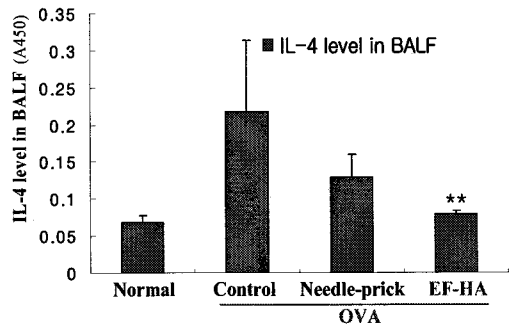
폐내 CD4⁺세포와 CD8⁺세포 수를 측정된 결과, Control군은 Normal군에 비해 증가했고,

白鼠의 足三리에 시술한 枇杷葉藥鍼이 천식억제 및 면역조절효과에 미치는 영향

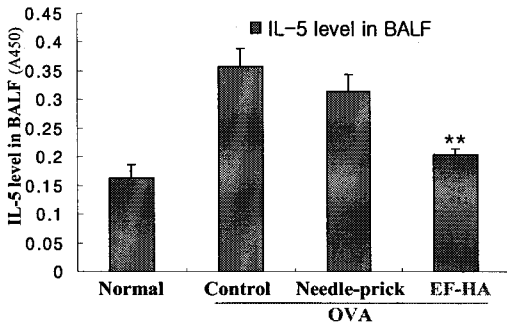
Fig. 7. ELISA analysis



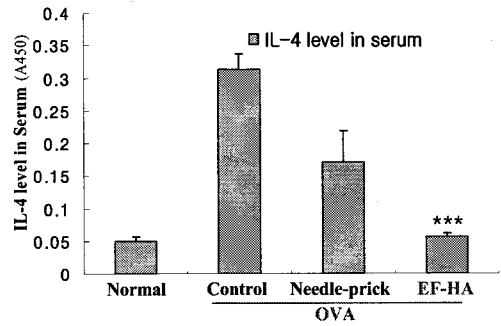
(A) IgE in BALF



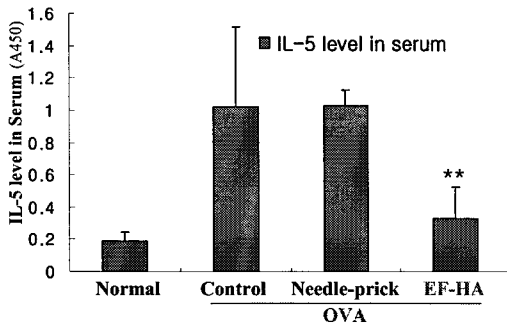
(B) IL-4 in BALF



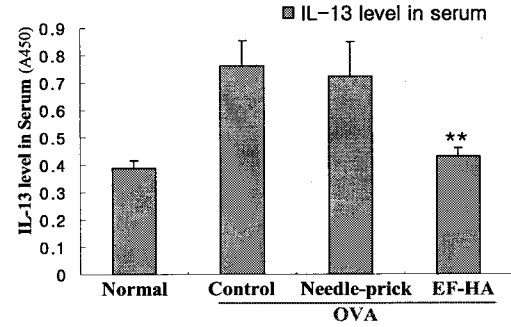
(C) IL-5 in BALF



(D) IL-4 in Serum



(E) IL-5 in Serum



(F) IL-13 in Serum

EF-HA군은 Control군에 비하여 감소하였다 (Fig.8).

Control군은 Normal군에 비해 증가했고, EF-HA군은 Control군에 비하여 감소하였다(Fig.8).

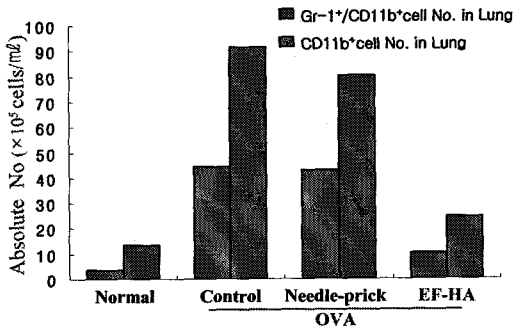
④ CD3e⁺/CD69⁺

폐내 CD3e⁺/CD69⁺ 세포 수를 측정된 결과,

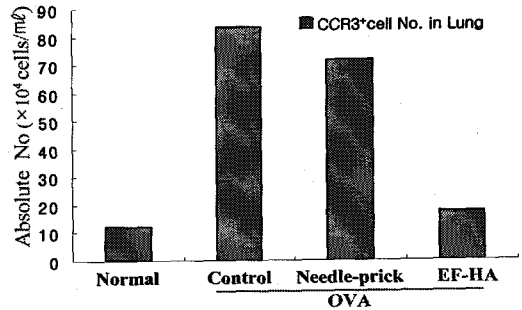
7) RT-PCR

RT-PCR을 이용하여 천식 유발과 관련된 여

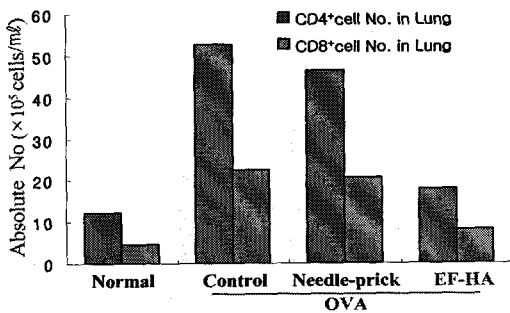
Fig. 8. FACS analysis



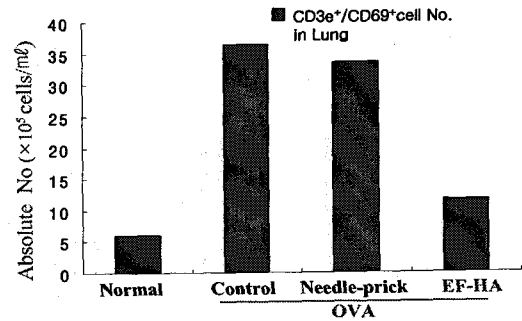
(A) Gr-1⁺/CD11b⁺ cell number



(B) CD3e⁻/CCR3⁺ cell number



(C) CD4⁺ 및 CD8⁺ cell number



(D) CD3e⁺/CD69⁺ cell number

러 cytokine 들의 mRNA 발현을 관찰한 결과 IL-4, IL-5, IL-6, IL-13 등의 mRNA 발현이 Control에 비하여 EF-HA에서 현저히 감소하였다(Fig.9).

IV. 고 찰

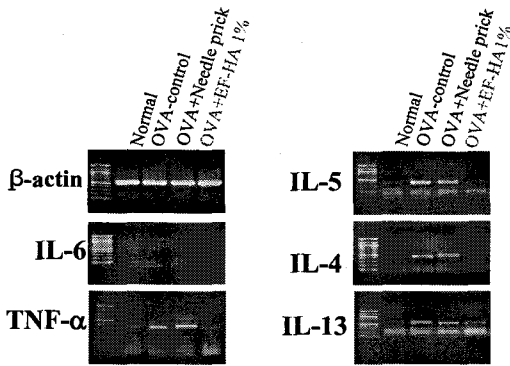
喘息은 咳嗽 喀痰을 동반하면서 주로 呼吸急促 張口擡肩 甚則不能平臥 등의 증상이 나타나며 쉽게 치료되지 않는 만성 질환이다²⁰⁾.

喘息의 정확한 원인은 불명확하나 氣道の炎症細胞의 浸潤이 공통적으로 나타나며 氣道の 평활근 수축, 기도 점막상피의 肥厚, 氣道內의 粘液의 존재 등이 천식의 기도폐색에 관여하는 것으로 고려된다⁵⁾.

서양의학적인 치료는 回避療法, 藥物療法, 免疫療法으로 나눌 수 있다. 回避療法은 喘息의 원인이 되는 알레르기의 접촉을 피하는 것으로 특히, 알레르기성 천식에 효과적이나 일반적으로 약물치료를 동시에 실시하여야 효과적이다. 약물요법은 주로 기관지를 확장시켜 천식증상을 완화시켜주는 기관지확장제를 사용하며, 면역요법은 원인항원의 회피가 불가능하고, 약물치료로 호전이 없을 때 사용하는 방법으로 원인항원에 따라 개개인 환자에 맞는 면역주사를 투여하는 방법이다²¹⁾.

현재까지의 천식치료는 여러 가지 한계와 부작용이 있고, 최근 천식에 대한 정의가 기도의 만성 염증성 질환으로 새롭게 정립되면서 기관지 천식에 관한 연구는 기도의 염증발현에 관여

Fig. 9. RT-PCR analysis



Normal : Normal C57BL/6 mice.
 OVA-Control :Ovalbumin exposure(control).
 OVA-Needle prick :OVA exposure and single prick with an injection needle at ST36.
 OVA-EF-HA1% :OVA exposure and EF-HA (1%) at ST36.

하는 세포와 분자수준의 기전에 초점이 맞추어지고 있다^{4,21)}.

韓醫學에서 喘息은 呼吸急促하고 喘鳴有聲을 特徴인 症候群으로 하는 哮喘證과 유사하다^{5,6)}. 哮喘은 隋代 巢의 《諸病源候論》⁷⁾에서 上氣喉中如水鷄鳴과 呻嗽라는 증상이 처음 기재된 이후에 많은 醫書에 언급되어 왔는데, 明代 이후에 王²²⁾, 吳²³⁾ 등은 哮는 喉中有痰聲響하고, 喘은 呼吸急促한 것이므로 哮와 喘을 구분하였으나, 清代의 葉²⁴⁾이 哮와 喘을 구분하지 않고 단지 증상의 輕重, 緩急이 서로 다르다고 한 이후 哮喘證은 喘鳴有聲, 呼吸急促한 하나의 증후군으로 인식되어왔다²⁵⁾.

천식의 병인병리는 원래 체질이 脾胃不足하고 陽虛不運하여 痰濕內盛한데 外邪가 肺를 傷하면 痰濁이 動하여 肺氣를 沮하거나 或은 疲勞過度하여 거듭 脾陽을 傷하여 痰濕이 더욱 盛함으로 喘이 發生한다 하였다²⁶⁾. 鄭²⁷⁾ 등은 첫째 冷한 飲料나 혹은 鹹, 酸, 甘味를 지나치게 嗜食하게 되면 積痰蘊熱하여 發生하게 되며, 둘째 外

感病邪를 초기에 表散시키지 못하여 餘邪가 肺絡에 潛伏해 있다가 다시 外邪가 침범하면 발병하게 되며, 셋째 內在된 素因을 가지고 있는 사람이 寒冷疲勞 등 어떤 유인을 만나서 발생하게 되며, 넷째 特定の 냄새, 음식에 대한 過敏反應으로도 發生되며, 다섯째 臟器的인 원인으로 肺腎의 호흡기능 저하로 발생하게 된다고 정리하였다.

치료에 있어서는 虛症과 實症으로 구분하고 있는데⁵⁾, 實症의 特徵은 病勢가 急迫하고 呼吸은 深長하며 여유가 있고 呼出이 빠르고 音이 거칠고 크며 脈數하고 有力하고, 虛症은 病勢가 緩慢하고 숨이 차 呼吸이 계속되지 못하며 吸氣가 빠르고 움직이면 呼吸困難이 加重되고 語聲에 힘이 없으며 脈微弱 또는 無力하다. 喘息은 發作性的의 疾患이며 發作後에는 반드시 正氣가 虛해 있으므로 緩解期에는 扶正祛邪를 해야 한다. 實症은 風寒痰濁등의 病邪가 위주가 되므로 外感風寒은 祛風散寒, 宣肺定喘하고, 痰濕은 燥濕化痰, 降氣定喘하고, 寒痰은 溫肺散寒, 定喘化痰의 治法으로 치료하고, 虛症은 肺虛腎虛 등이 위주가 되므로 肺虛는 涼肺定喘하고, 心身虛損은 補益心身, 納氣定喘하고, 上實下虛에는 瀉肺化痰, 補益身元시키는 治法으로 치료한다^{5,27)}.

氣管支喘息에 관한 연구는 氣道の 염증발현에 관여하는 세포와 분자수준의 기전에 초점이 맞추어지고 있다. 氣管支喘息의 병인에 관여하는 세포는 T細胞, B細胞, Macrophage, Eosinophil, Mast cell, 氣道上皮細胞 등 여러 가지가 있지만 이중 T細胞는 cytokine들을 分泌하여 氣道の 炎症反應을 調節하는 重要的 役割을 하고 있다²⁸⁾.

T세포는 CD3를 表面分子로 가지며, 분화된 세포에는 CD4⁺T세포, CD8⁺T세포, cytotoxic T세포, inducer T세포 등이 있는데 이 중 CD4⁺T

세포와 CD8⁺T세포는 면역기전에서 중요한 역할을 담당한다²⁹⁾.

CD4⁺T세포는 활성화되었을 때 분비하는 cytokine에 따라 Th1세포와 Th2세포로 분류된다. Th1세포는 CCR5를 가지고, 주로 IL-2, IL-12, IFN- γ 를 분비하고 지연형 과민반응을 매개하며, 결핵균이나 바이러스에 대한 방어작용, 종양에 대한 숙주반응에 관여한다. Th2세포는 CCR3, CCR4, CCR8를 가지고 IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13을 분비하여 즉시형過敏反應, 體液性 면역반응을 유도하고, 기생충 감염에 대한 방어작용등에 관여한다³⁰⁾. Th1세포와 Th2세포는 상호길항작용을 통해 면역균형을 유지하며³¹⁾, 알레르기성 氣管支喘息患者의 BALF에서는 Th2세포의 기능이 활성화됨이 관찰되고 있다²⁷⁾.

CD8⁺T세포는 class I MHC와 결합하여 suppressor T세포나 cytotoxic T세포로서의 기능을 수행하여 virus나 특정 세균에 의한 감염이나 악성종양에 대하여 신체를 보호하는 역할을 한다³²⁾.

Th2 cytokine인 IL-4, IL-13은 B세포를 자극하여 IgE 형성을 촉진시키고³³⁾, STAT6(Signal Transducers and Activators of Transcription)⁶⁾ 신호활성화경로를 통하여 특정 chemokine의 생산을 야기한다.

이 그룹은 macrophage-derived chemokine (MDC) /CCL22, T-cell activation3(TCA3)/CCL1과 eotaxin/CCL11을 포함하는데 Th2세포의 특정 수용체(각각 CCR4, CCR8, CCR3)를 통한 이동을 야기한다. 이들 chemokine 중 eotaxin은 중요한 Eosinophil 화학주성인자이다³⁴⁾.

항원이 기도를 통해 들어오면 항원제시세포(MHC)에 의해 항원이 제시되어지고 제시된 항원이 T세포에 인식되어지면 T세포가 신호를 받

아서 IL-4, IL-13이 분비되어 B세포를 자극하여 B세포에서 IgE를 대량생산하여 분비하게 된다. 이 IgE는 Mast cell과 결합하여 여러 가지 chemical mediator(이하 CM)들이 세포밖으로 유리되는 현상이 일어난다. 이들 중 이미 형성되어 저장되었던 물질들이나 새로 형성된 물질들으로써 기관지 수축제인 histamine, PGD2(prostaglandin D2) 및 Leukotrien C4, leukotrien D4 등은 수분 내에 기도수축을 일으키고 30~60 분 후에 소실되는 조기천식반응을 일으키며, IL-4, IL-5, IL-13, TNF- α 와 같은 cytokine을 분비하고, 또한 Th2에서도 IL-5, IL-10을 분비하여 염증성 세포들(주로 Eosinophil)을 자극하여 이들을 증식 및 활성화시켜 CM들을 유리하게 되므로 3~4 시간 후에 기관지 수축반응을 나타내기 시작하여 4~8시간에 최고치에 달하며 12~24시간 이후에 소실되는 후기천식반응을 일으킨다^{35,36)}. 천식이 기도내 염증반응에 의한 기도과민성 질환으로 알려지면서 이러한 염증반응을 일으키는 세포에 관한 연구를 통해서 기도내 염증반응은 주로 Eosinophil에 의해 일어난다는 것이 밝혀짐으로써 Eosinophil은 세포독성염증세포로 인식이 전환되었다³⁴⁾.

흡입된 항원은 기도내 Mast cell과 Th2세포를 활성화시켜서 염증을 일으키는 CM과, IL-4, IL-5같은 cytokine을 생산시키고, IL-5는 골수로 이동하여 Eosinophil의 말단분화를 야기한다. 순환하던 Eosinophil은 알레르기 염증지역으로 들어가서 selectin과의 상호작용을 통하여 rolling에 의하여 폐로 이동을 시작하고, 마침내 integrin의 VCAM-1(vascular-cell adhesion molecule 1), ICAM-1(intercellular adhesion molecule 1)같은 부착단백인 immunoglobulin superfamily와 결합을 통하여 내피와 결합한다. Eosinophil이 여러 가지 cytokine과 chemokine

의 영향을 통해 기도조직으로 들어가면 그들의 생존은 IL-3, IL-5, GM-CSF 등에 의해 연장된다. 활성화상태에서 Eosinophil은 leukotrien이나 과립단백 같은 염증 매개물을 방출하여 기도조직에 병변을 일으킨다. 또한 Eosinophil는 GM-CSF를 생산하여 그들의 생명을 연장시키고 지속적인 기도염증반응에 영향을 준다³⁷⁾.

枇杷葉(Eriobotryae Folium)은 薔薇科에 속한 常綠樹喬木인 비파나무의 잎을 건조한 것²²⁾으로 味는 苦하고 性은 微寒하며 清肺肅降, 化痰降氣, 清熱止嘔하여 喘咳, 咯血, 衄血, 口穢, 煩渴 등의 症候에 사용한다³⁸⁾.

枇杷葉은 기관지에 현저한 消炎作用, 鎮咳祛痰平喘作用, 抗菌作用을 지닌 nerolidol, farnesol을 함유하고 있어 천식치료에 이용되고 있다³⁹⁾.

비파엽에 관한 연구로는 윤¹⁹⁾ 등이 비파엽이 IL-1로 유발된 인슐린 의존형 당뇨병에서 glucokinase와 hexokinase의 활성을 증가시키는 것으로 인슐린 의존형 당뇨병 치료에 관한 효과를 보고하였지만 아직까지 비파엽추출물을 이용한 천식에 대한 연구는 접하지 못하였다.

약침요법은 경락학설의 원리에 의거하여 일정한 약물을 원료로 하여 다양한 추출과정을 거쳐 만들어진 제제를 주입기를 이용해 병증에 유관한 혈위, 압통점, 또는 체표의 축진으로 얻어진 양성반응점에 주입하여, 자극과 약물작용을 통하여 생체의 기능을 조정하고 병리상태를 개선시켜, 질병을 치료하는 신침요법이다⁴⁰⁾.

足三里(ST36)는 足陽明胃經의 合土穴로서 주치범위가 광범위하며^{40,41)} 扶正倍元, 通調經絡, 調和氣血 등의 효능이 있어 循環, 呼吸, 消化系統 疾患 등에 사용되고 있다.

이에 저자는 枇杷葉藥鍼의 천식억제 및 면역조절효과를 알아보기 위하여 C57BL/6생쥐에 ovalbumin을 복강주입 및 吸入시켜 알레르기

천식병태를 유발하고, 枇杷葉藥鍼을 足三里(ST36)에 주입한 후 생쥐의 肺質量, 肺內 總細胞數, 組織染色을 통한 collagen 부착 변화를 살펴보고, BALF내 총 Lymphocyte수 및 Eosinophil수, 폐내 Gr-1⁺/CD11b⁺세포수, CD3⁺/CCR3⁺세포수, CD4⁺세포수, CD8⁺세포수, CD3e⁺/CD69⁺세포수, CD23⁺/B220⁺세포수의 변화를 측정하고, 혈청내 IgE, IL-13, IL-4, BALF내 IL-4 등을 정량하였다. 또한 RT-PCR을 이용하여 폐내 β -actin, IL-4, IL-5, IL-6, IL-13 및 TNF- α 의 mRNA 발현을 관찰하였다.

천식에서 폐의 질량증가는 폐의 염증성 변화로 인한 기도 및 기관지의 부종 및 세포침윤을 의미하고, BALF내 총세포수가 높다는 것은 Eosinophil, Lymphocyte, Macrophage 등 천식의 만성 염증성 병리를 일으키는 세포들이 기도에 많이 침착되어 있다는 것을 의미한다. 본 실험에서 폐질량을 측정한 결과 EF-HA군은 Control에 비하여 유의하게 감소하였고(Fig.3), BALF내의 총세포수를 측정한 결과 역시 유의하게 감소하였다(Fig.4). BALF내의 총 Lymphocyte수와 Eosinophil수를 측정한 결과 Control은 Normal에 비해 유의성 있는 증가를 보였으며 EF-HA는 Control에 비하여 유의하게 감소하였다(Fig.4). 따라서 EF-HA이 염증성세포의 응집 및 침윤에 억제효과가 있는 것으로 사료된다.

Masson's Trichrome stain system(Dako Japan)을 이용하여 폐 조직을 염색하여 관찰한 결과 Control에서는 폐와 기관지의 염증으로 인하여 collagen이 조직에 다량으로 부착되고 주변의 Eosinophil도 다량으로 증가되었음이 관찰되었으며, 이에 비해 EF-HA에서는 collagen의 침착 및 Eosinophil이 감소되어 비파엽약침의 폐, 기관지내 collagen 침착 및 Eosinophil 이동에 대한 억제효과가 있다고 사료된다(Fig.6).

IL-4, IL-13은 B세포를 자극하여 IgE 형성을 촉진시키며 Eosinophil의 응집을 야기하고, Th2 세포의 생성을 돕는다. IL-5는 Eosinophil의 성장을 촉진한다³³⁾. IL-4는 B세포 활성화와 isotype switching, 특히 IgE 항체의 발생에 있어서 중요한 역할을 한다. 기능성 IL-4 유전자가 결핍된 생쥐는 IgE를 생산할 수 없다. 면역반응 초기단계에서 IL-4의 출현은 반응의 성질에 중요한 영향을 준다. IL-4는 T세포에 의한 IL-4의 보다 많은 생산을 도와주며 항체 형성을 증진시키고, 지연형 과민성 반응을 억제하는 IFN- γ 의 생산을 억제한다³⁵⁾. IL-13은 Th2세포에서 주로 생산하며 IL-4와 기능적으로 유사하고, Th2세포의 생성 및 IgE의 생산을 촉진한다. 이에 대한 수용체는 Macrophage, Eosinophil, Basophil, Mast Cell, Endotheliocyte 등에 발현되며, T세포에는 발현되지 않는다³⁵⁾. 혈청 IgE는 주로 IL-4, IL-13, IFN- γ 에 의해 조절되고, Mast Cell이나 Basophil의 세포표면에 강력히 결합하여 있으며 Mast Cell과 Basophil에서 히스타민과 세로토닌 등 독성을 가진 아민화합물이 분비되게 되어 심한 과민증상을 일으키게 되므로⁴²⁾ 알레르기 반응에서 혈청 IgE의 양은 중요한 요건이 된다⁴³⁾. 본 실험에서 혈청내 IL-4, IL-5, IL-13을 측정한 결과 EF-HA는 Control에 비해 유의하게 감소하였고(Fig.7), BALF내 IgE, IL-4, IL-5 양을 측정한 결과 EF-HA는 Control에 비해 유의하게 감소하였다(Fig.7). 따라서 IL-4, IL-5, IL-13, IgE의 감소를 볼 때 EF-HA가 IL-4, IL-5, IL-13의 생산을 억제함으로써 B세포의 활성화, IgE 생산, Eosinophil의 성장을 억제시키는 작용을 하여 기관지천식에 효과가 있을 것으로 사료된다.

Gr-1은 Granulocyte에 많고, CD11b는 세포유착분자(Mac-1)로서²¹⁾ Lymphocyte, Macrophage

의 표면에서 발현되며 Eosinophil이 표적장기로 유입할 때 Rolling 후 두 번째 단계에서 내피에 발현되어 있는 ICAM-1, 2(intercellular adhesion molecule 1,2) 등과 유착하여 Endotheliocyte와 강하게 유착하여 이후 PAF LTB₄, eotaxin(CCL11), RANTES 등의 화학주성인자 등에 의해 경피내 이동이 일어나 결체조직으로 유입하게 된다²¹⁾. 본 실험의 In vitro와 In vivo에서의 FACS 분석을 통하여 살펴볼 때 Gr-1⁺/CD11b⁺세포수를 측정한 결과 Control은 Normal에 비해 유의성 있는 증가를 보였으며, EF-HA는 Control에 비하여 유의하게 감소하였다(Fig.8). 따라서 EF-HA가 Eosinophil의 내피세포유착에 의한 경피내 이동을 감소시키는 것으로 생각된다.

CCR3는 Eosinophil에서 가장 높게 나타나고, Basophil, Th2세포, 천식환자의 기도상피세포에서 보이며, Eosinophil의 활성화와 탈과립화에 관여하는 것으로 보인다³⁴⁾. CD3e는 T세포에서 발현되는 표면분자이다⁴⁵⁾. 본 실험의 FACS 분석을 통하여 살펴보면 CD3e⁻/CCR3⁺세포수를 측정한 결과 EF-HA는 Control에 비해 유의하게 감소하였다(Fig.8). 따라서 EF-HA가 Eosinophil수를 감소시키는 것으로 사료된다.

CD4⁺T세포는 여러 종류의 cytokine을 생산하여 B세포가 효율적으로 항체를 생산하도록 도와주고 면역반응의 행동세포를 활성화시키는 역할을 하므로 CD4⁺T세포의 비율은 일반적으로 면역력의 지표로도 광범위하게 응용되고 있다³²⁾. FACS 분석을 통하여 살펴보면 CD4⁺, CD8⁺T세포수를 측정한 결과 EF-HA는 Control에 비해 유의하게 감소하였다(Fig.8). 따라서 EF-HA의 자입에 의한 CD4⁺T세포수의 감소를 통해 과민한 면역반응을 조절하는 효과가 있음을 알 수 있었다.

CD3e는 T세포 결정표지인자로, T세포 항원 수용체에 항원이 결합된 신호를 세포 안으로 전달하고²¹⁾, CD69⁺는 활성화된 B세포와 T세포, Macrophage, NK Cell에 분포한다⁴⁵⁾. In vitro와 In vivo의 FACS 분석을 통하여 살펴볼 때, CD3e⁺/CD69⁺세포수를 측정한 결과 Control은 Normal에 비해 유의성 있는 증가를 보였으며, EF-HA는 Control에 비하여 유의하게 감소하였다(Fig.8). 따라서 EF-HA가 T세포의 활성화를 감소시키는 것으로 사료된다.

RT-PCR을 이용하여 천식 유발과 관련된 여러 cytokine들의 mRNA 발현을 관찰한 결과 β -actin, TNF- α , IL-4, IL-5, IL-6, IL-13 등의 mRNA 발현이 Control에 비해 EF-HA에서 현저히 감소하였다(Fig.9). TNF- α 는 중앙괴사인자로서 Macrophage의 활동을 향진시키며 항바이러스작용이 있고, IL-5는 활성화된 B세포를 증식시키고 IgM과 IgA의 생산을 촉진한다³²⁾. 이들은 모두 염증과 알레르기 반응과 관계있는 cytokine으로 이들의 mRNA 발현의 감소는 천식유발인자의 감소로 나타난다.

이상의 실험결과를 종합하면 비파열약침이 T세포의 활성화를 억제하고, 염증유발 cytokine인 IL-4, IL-13의 발현을 감소시켜 B세포의 활성화와 IgE의 생산을 억제하고, Eosinophil의 성장과 세포유착에 의한 조직 및 기관지내로의 이동 및 침윤을 억제하는데 효과가 있으므로 향후 이에 대한 지속적인 연구가 필요할 것으로 사려 된다.

V. 결 론

알레르기 천식모델 생쥐에 대해 枇杷葉 약침의 천식억제 및 면역조절효과를 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 肺의 質量과 총세포수는 EF-HA에서 Control에 비해 유의하게 감소하였다.

2. BALF內的 총 Lymphocyte수와 Eosinophil 수는 EF-HA가 Control에 비하여 유의하게 감소하였다.
3. 폐조직을 염색하여 조직에 collagen의 부착을 관찰한 결과 EF-HA가Control에 비해 유의하게 감소하였다.
4. BALF內的 Ig-E, IL-4, IL-5를 측정한 결과 EF-HA가 Control에 비해 유의하게 감소하였다.
5. 혈청내 IL-4, IL-5, IL-13을 측정한 결과 EF-HA가 Control에 비해 유의하게 감소하였다.
6. 폐내의 Gr-1⁺/CD11b⁺, CD3⁺/CCR3⁺, CD4⁺, CD8⁺T, CD3e⁺/CD69⁺의 세포수를 측정한 결과 EF-HA가 Control에 비하여 유의하게 감소하였다.
7. β -actin, TNF- α , IL-4, IL-5, IL-6, IL-13 등의 mRNA 발현이 EF-HA가 Control에 비하여 현저히 감소하였다.

참 고 문 헌

1. 전국의과대학 임상교수편. 임상진단학. 서울 : 한미의학. 2002 : 392-3.
2. 朴炳昆. 韓方臨床四十年. 서울 : 書苑堂. 1996 : 69.
3. 催容泰 外. 鍼灸學(上下). 서울 : 集文堂., 1988 : 214-34, 382-4, 730-2.
4. 韓용철. 임상호흡기학. 서울 : 일조각. 1995 : 208-25.
5. 李珩九, 鄭昇杞. 東醫肺系內科學. 서울 : 아트동방. 1999 : 162-202.
6. 許浚. 東醫寶鑑. 서울 : 南山堂. 1989 : 145.
7. 巢元方. 諸病源候論(卷13,14). 서울 : 大星文化社. 1992 : 106-17.
8. 金珍珠. 麥門冬湯과 定喘化痰降氣湯이 알레르

- 기喘息 모델 흰쥐의 BALF內 免疫細胞 및 血清 IgE에 미치는 影響. 경희대학교 대학원 박사학위논문. 2001.
9. 李俊雨. 小青龍湯이 알레르기喘息 모델 흰쥐의 BALF內 免疫細胞에 미치는 影響. 경희대학교 대학원 석사학위논문. 2001.
 10. 허태석. 瀉白散과 甘草가 asthma 모델내의 Cytokine IL-4, IL-5, IL-6에 미치는 영향. 경희대학교 대학원 석사학위논문. 2000.
 11. 조영민, 정희재, 정승기, 이형구. 小青龍湯이 allergy喘息의 呼吸樣相과 氣管組織에 미치는 影響. 경희의학. 1999 ; 15(1) : 78-89.
 12. 차은수, 정희재, 정승기, 이형구. 小青龍湯이 Asthma model 내의 Cytokine에 미치는 影響. 경희한의대논문집. 2000 ; 23(1) : 71-88.
 13. 이동생, 정희재, 정승기, 이형구. 麥門冬과 五味子が Asthma model內의 Cytokine IL-4, IL-5, IL-6에 미치는 影響. 경희의학 2000 ; 16(2) : 69-80.
 14. 백동진, 정희재, 이형구, 정승기. 解表二陳湯加減方이 Asthma model內의 Cytokine에 미치는 影響, 대한한의학회지. 2000 ; 21(3) : 3-13.
 15. 정옥, 정희재, 정승기, 이형구. 杏仁과 桔梗이 Asthma model 내의 Cytokine IL-4, IL-5, IL-6에 미치는 影響. 대한한방내과학회지. 2000 ; 21(1) : 31-8.
 16. 李成桓, 李潤浩, 申舜植. 五拗湯 藥針이 알레르기喘息 흰쥐의 肺氣管支 洗滌液內 免疫細胞 및 血清 IgE에 미치는 影響. 대한침구학회지. 2001 ; 18(1) : 30-9.
 17. 김재홍, 조명래, 유충열, 채우석. 冬蟲夏草藥鍼과 口腔投與가 ovalbumin으로 誘發된 asthma에 미치는 影響. 대한침구학회지. 2002 ; 19(2) : 39-50.
 18. 康秉秀, 高雲彩, 金先熙 外 編著. 本草學. 서울 : 永林社. 1998 : 476.
 19. 윤철호, 신현철, 정지천. IL-1 처리 당뇨병 마우스에 齧齧 glucokinase활성에 대한 비파업의 영향. 내과학회지. 1999 ; 19(1) : 466-76.
 20. 安世榮. 東醫臨床內科學. 서울 : 법인문화사. 1999 : 677.
 21. 천식과 알레르기질환. 대한 천식 및 알레르기학회. 서울 : 군자출판사. 2002 ; 31-44, 59-67, 237-326.
 22. 王肯堂. 證治準繩(一). 北京 : 人民衛生出版社. 1991 : 229-31.
 23. 吳謙. 醫宗金鑒(中). 서울 : 大星文化社. 1991 : 390-1.
 24. 葉天士. 臨證指南醫案. 서울 : 成輔社. 1982 : 299-300.
 25. 吉村永星, 黃義玉, 鄭昇杞, 李珩九. 알레르기性喘息에 關한 文獻의 考察(東西醫學的比較考察). 大韓韓醫學會誌. 1990 ; 11(1) : 39-70.
 26. 上海中醫學院編. 中醫內科學. 上海 : 商務印書館. 1983 : 223-30.
 27. 鄭昇杞, 李珩九. 哮喘의原因 및 治法에 關한 研究. 大韓韓醫學會誌. 1986 ; 7(1) : 60-7.
 28. Corrigan CJ, Hamid Q, North J, Barkans J, Moqbel R, Durhams S, Gemou-Engesaeth V, Kay AB. Peripheral Blood CD4 but not CD8 T-lymphocytes in patients with exacerbation of asthma transcribe and translate messenger RNA encoding cytokines which prolong eosinophil survival in the context of a Th2-type pattern. Effect of glucocorticoid therapy. Am J Respir Cell Mol Biol. 1995 ; 12 : 567.
 29. 황상의 역. 면역의 의미론. 서울 : 한울. 1998 : 143-55.
 30. Bacharier LB, Jabara H, Geha RS. Molecular

- mechanisms of IgE regulation. *Int Arch Allergy Immunol.* 1998 ; 115 : 257-69.
31. Kasakura S. A role for T-helper type 1 and 2 cytokines in the pathogenesis of various human diseases. *Rinsho Byori.* 1998 ; 46(9) : 915-21.
32. Roitt IM. *Roitt's Essential Immunology.* Blackwell Science. 1997 : 95, 201-21, 363-7.
33. Ferreira MB, Palma Carlos AG. Cytokines and asthma. *J of investigational allergology and clinical immunology.* 1998 ; 8(3) : 141-8.
34. Lukacs NW. Role of chemokines in the pathogenesis of asthma. *Nature review. immunology.* 2001(1) ; 108-16.
35. Chung KF, Barnes PJ. Cytokines in asthma. *Thorax.* 1999 ; 54(9) : 825-57.
36. Roberston DG, Kerigan AT, Hargreave FE. Late asthmatic responses induced by ragweed pollen allergen. *J Allergy Clin Immunol.* 1974 ; 54 : 244-57.
37. Busse WW, Lemanske RF Jr. Asthma. *N Engl J Med.* 2001 ; 344(5) : 350-62.
38. 徐富一. 催胡榮. *臨床韓方本草學.* 서울 : 행림사. 2004 : 676-7.
39. 임종설. *本草生理學.* 서울 : 신일상사. 2003 : 303-4.
40. 催容泰 외. *鍼灸學(上,下).* 서울 : 集文堂. 1988 : 214-34, 382-4, 730-2.
41. 오계홍. 足三里에 대하여. *韓國의鍼灸社. 韓國의鍼灸.* 1995 : 19-25.
42. 하대유 외. 그림으로 본 면역학. 서울 : 고문사. 1994 : 279-300.
43. Mehlhop PD, Van De Pijn M, Goldberg AB, Brewer JP, Kurup VP, Martin TR, Oettgen HC. Allergen-induced bronchial hyperreactivity and eosinophilic inflammation occur in the absence of IgE in a mouse model of asthma. *Immunology.* 1997 ; 94 : 1344-9.
44. 김세중. 면역학. 서울 : 고려의학. 1994 : 3, 8, 25, 26, 28, 31, 32, 134.