

紫河車 약침이 천식모델 생쥐의 면역세포 및 사이토카인에 미치는 영향

임지택 · 박양춘*

대전대학교 한의과대학 내과학교실

Effect of Hominis Placenta Herbal Acupuncture on immune cells and cytokines in OVA-induced asthmatic mice

Ji Taek Lim, Yang Chun Park*

Department of Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Daejeon University

This experiment was designed to investigate the effect of Mominis Placenta herbal acupuncture solution(HP-HAS) on immune cells and cytokines in murine asthma model. *In vivo* C57BL/6 mice were sensitized and challenged with OVA for 12 weeks. The experimental group was treated with Hominis Placenta herbal acupuncture solution(HP-HAS) at P'yesu(BL13) for the later 8 weeks(3 times a week) and analyzed by ELISA, flow cytometer. The results were obtained as follows Eosinophils in BALF(bronchoalveolar lavage fluid) of HP-HAS group decreased significantly compared with that of control group. IL-4, IL-5, IL-13, IgE in BALF of HP-HAS group decreased significantly compared with that of control group. Number of CD3e⁺/CCR3⁺, CD69⁺/CD3e⁺, CD11b⁺/Gr-1⁺ cells in the HP-HAS group decreased compared with that of control group.

Key words : Hominis Placenta herbal acupuncture solution(HP-HAS), immune cells, cytokines, asthmatic mouse

서 론

기관지천식(이하 천식)은 임상적으로 가역적인 기도폐쇄 증상을 보이면서, 병태생리학적으로 기도과민반응을 나타내고, 조직병리학적으로는 기도의 염증소견이 관찰되는 염증성 기도질환으로 정의되는데¹⁾ 기관지내시경으로 가벼운 천식에서 기관지 생검을 했을 때에도 기도 염증이 있음을 알게 되어서 천식의 정의에 기도의 만성염증성질환이라는 표현이 추가되었다²⁾. 즉 항원, 비만세포 및 IgE가 관여하여 분비되는 화학매체의 직접적인 악리작용에 의하거나, 화학매체, 사이토카인, 유착분자가 관여하여 기관지로 모여온 염증세포에 의해서 발생하는 기도의 만성 알레르기 염증성 질환으로 이해되고 있다³⁾.

천식은 한의학에서 呼吸急促, 喉中有聲하는 哮喘證의 범주에 해당하는데 그 원인에 대하여는 寒冷說, 心因說, 痰因說, 素因說, 感染說, 過敏性反應 등으로 정리하고 있다^{4,5)}. 치료는 實證은

外感風寒, 痰濕內盛으로 나누어 宣肺定喘, 化痰定喘하는 치법을 사용하고, 虛證은 肺虛, 心腎虛損, 上實下虛로 나누어 養肺定喘, 補益心腎 納氣定喘, 瀉肺化痰 補益腎元하는 치법을 사용한다⁴⁾. 紫河車(Hominis Placenta)는 건강한 사람의 태반을 烘製하여 건조한 것으로⁶⁾, 性은 溫 無毒하고 味는 甘鹹하며 肺肝腎經에 들어가 補氣, 養血, 益精하여 虛損羸瘦, 勞熱骨蒸, 咳喘, 咯血, 盜汗, 遺精, 陽痿 등의 증상을 치료하는 효능이 있어 폐결핵, 신경쇠약, 빈혈, 기관지천식 등에 응용되고 있다^{6,7)}.

紫河車 약침에 대한 기존의 연구로 장 등⁸⁾은 골다공증에 대한 효과를, 염 등⁹⁾은 관절염에 대한 효과를, 이 등¹⁰⁾은 말초성안면신경마비에 대한 효과를, 육 등¹¹⁾은 체포온도변화에 미치는 영향을 보고하였으나, 기관지천식과 관련된 면역세포 및 관련 사이토카인에 대한 영향을 관찰한 연구는 접하지 못하였다. 이에 저자는 천식 상태의 개선에 있어 肺俞(BL13)에 대한 紫河車 약침 치료가 면역세포 및 사이토카인에 미치는 영향을 규명하고자 *in vivo* 실험으로 기관지폐포세척액(Bronchoalveolar lavage fluid; 이하 BALF)내의 호산구수, IL-4, IL-5, IL-13, IgE의 분비, 폐세포의 CD3e⁺/CCR3⁺, CD3e⁺/CD69⁺, Gr-1⁺/CD11b⁺에 미치는 영향

* 교신저자 : 박양춘, 청주시상당구용담동 대전대부속 청주한방병원 1내과

· E-mail : omdpyc@dju.ac.kr, · Tel : 043-229-3705

· 접수 : 2005/01/21 · 수정 : 2005/02/24 · 채택 : 2005/03/24

을 측정하고 결과 유의한 결과를 얻어 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 동물

본 실험에 사용된 실험용 쥐는 체중 18~25g의 C57BL/6 (한국화학연구소) 쥐를 향한 항습 장치가 부착된 사육장에서 사료와 물을 충분히 공급하면서 2주일간 실험실 환경에 적응시킨 후 체중 변화가 일정하고 건강한 동물만을 선별하여 실험에 사용하였다.

2. 약물

실험에 사용된 紫河車(Hominis Placenta)는 대전대학교 부속한방병원에서 구입한 것을 정선하여 사용하였다.

3. 시약

Chicken egg albumin(ovalbumin : OVA; grade), aluminum potassium sulfate(alum), diethyl pyrocarbonate(DEPC), ethidium bromide(EtBr), Dulbecco's phosphate buffered saline(D-PBS), RPMI-1640 medium, collagenase 등은 Sigma사(U.S.A.)에서 구입하여 사용하였으며 기타 일반시약은 특급시약을 사용하였다.

4. 약침액의 제조

紫河車 55g을 분쇄기를 이용하여 분말로 만들어 원형 삼각 flask에 넣고 증류수 500ml을 가하여 3시간 동안 shaking water bath에서 유출하고 여과하였다. 이 침전물을 여과지로 3회 여과한 후 rotary evaporator에 감압농축 하였다. 紫河車 농축액에 95% ethyl alcohol 30ml을 가하여 실온에서 교반한 후 방치하였다. 생성된 침전물을 여과하여, 여액을 다시 rotary evaporator로 감압 농축하고, 생성된 침전물을 여별 하였다. 여액에 다시 85% ethyl alcohol 30ml를 가하여 잠시 교반 후 방치하여 생성된 침전물을 여별하고, 다시 여액에 75% ethyl alcohol 30ml를 가한 후 같은 조작을 2회 반복한 다음, 여액 중 ethyl alcohol을 감압 제거하여 잔사건량을 20g이 되게 하고, 1N NaOH로 pH6.8로 조절하여 저온에서 12시간 방치한 후, 미량의 부유액을 여별하고 멸균하여 약침액을 PBS로 1%와 5%로 희석하여 사용하였다.

5. Asthma mouse model

실험 1주째 200 μ l의 OVA/alum(500 μ g/ml)을, 2와 3주째에는 100 μ l OVA/alum(500 μ g/ml)을 생쥐의 복강에 투여(I.P.)하였다. 4주째에는 마취 후에 100 μ l의 OVA/alum(500 μ g/ml)을 기도 투여(I.T.)하였다. 5~8주째까지는 2.5mg/ml의 OVA/PBS 40 μ l을, 9~12주째까지는 5mg/ml의 OVA/PBS 40 μ l을 air compressor를 이용하여 30분간 주 3회 노출시켰다. 5주째부터 12주째까지 8주간 주 3회, 肺俞(BL13)에 1%와 5%의 紫河車 약침액(100 μ l)을 주입하였다. 생쥐를 마취한 후 표피를 열고 기도에 10% FBS/DMEM medium을 넣은 주사기를 삽입하고 끈으로 묶어 고정 후 3회 순환 시켜 BALF(Bronchoalveolar lavage fluid)를 분

리하여 호산구수와 각 cytokine량을 측정하였다. 각 cytokine량은 시판의 각 ELISA kit을 사용하여 측정하였다. 생쥐에서 분리한 폐 조직을 잘게 자른 후 collagenase를 가하고 incubation하여 분리해 낸 세포에 표식항체를 반응시켜 flow cytometer로 분석하였다.

6. 통계처리

통계는 Student's t-test로 하였다

결 과

1. Eosinophils in BALF

BALF내 호산구의 수를 측정하고 결과, 정상군은 9.58 \pm 5.73개, 대조군은 133.03 \pm 22.43개, 생리식염수 투여군은 129.12 \pm 9.87개, 단순 자침군은 130.24 \pm 13.38개, HP-HAS를 5, 1% 주입한 실험군은 각각 37.18 \pm 5.81, 35.37 \pm 3.64개로 나타나 대조군에 비하여 유의성있게 감소하였다(Fig. 1).

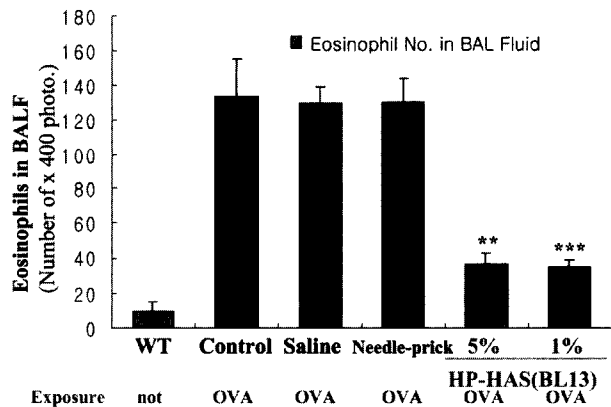


Fig. 1. The number of eosinophil in bronchoalveolar lavage fluid (BALF). C57BL/6 mice were injected, inhaled and sprayed with OVA for 12 weeks for asthma sensitization and challenge. Two experimental groups were treated with different concentrations of HP-HAS at P'yesu(BL13) for the later 8 weeks (3times/week). At the end of the total experimental procedure, BALF was obtained from each group of mice and the number of eosinophil in BALF was calculated. WT : Normal C57BL/6 mice. OVA-Control : OVA-induced asthma lung cells. OVA-Saline : OVA-inhalation and Saline injection at BL13. OVA-Needle prick : OVA inhalation and single prick with a needle at BL13. OVA-HP-HAS(5%) : OVA inhalation and HP-HAS(5%) at BL13. OVA-HP-HAS(1%) : OVA inhalation and HP-HAS(1%) at BL13. Values represent the means \pm SEM of 5-7mice(**p<0.01,***p<0.001).

2. IL-4 in BALF

BALF내 IL-4 분비를 측정하고 결과, 정상군은 0.054 \pm 0.007, 대조군은 0.241 \pm 0.032, 생리식염수 투여군은 0.236 \pm 0.035, 단순 자침군은 0.199 \pm 0.052, HP-HAS를 5, 1% 주입한 실험군은 각각 0.089 \pm 0.017, 0.091 \pm 0.012로 나타나 대조군에 비하여 유의성있게 감소하였다(Fig. 2).

3. IL-5 in BALF

BALF내 IL-5 분비를 측정하고 결과, 정상군은 0.085 \pm 0.002, 대조군은 0.554 \pm 0.167, 생리식염수 투여군은 0.438 \pm 0.085, 단순 자침

군은 0.416±0.112, HP-HAS를 5, 1% 주입한 실험군은 각각 0.128±0.010, 0.136±0.009로 나타나 대조군에 비하여 유의성있게 감소하였다(Fig. 3).

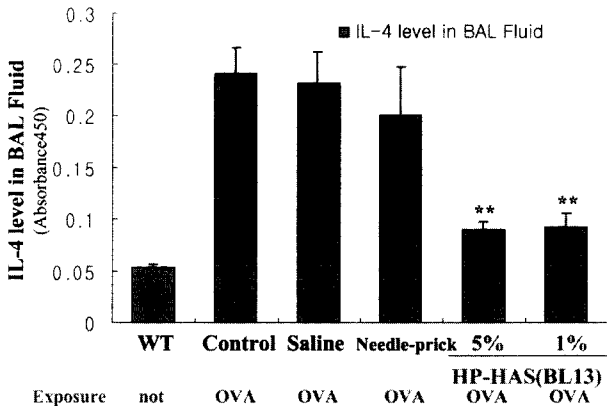


Fig. 2. The level of IL-4 in bronchoalveolar lavage fluid(BALF). C57BL/6 mice were injected, inhaled and sprayed with OVA for 12 weeks for asthma sensitization and challenge. Two experimental groups were treated with different concentrations of HP-HAS at P'yesu(BL13) for the later 8 weeks(3times/ week). At the end of the total experimental procedure, BALF was obtained from each group of mice. The concentration of IL-4 in mice BALF was measured using ELISA. WT : Normal C57BL/6 mice, OVA-Control : OVA-induced asthma lung cells, OVA- Saline : OVA-inhalation and Saline injection at BL13, OVA- Needle prick : OVA inhalation and single prick with a needle at BL13, OVA- HP-HAS(5%) : OVA inhalation and HP-HAS(5%) at BL13, OVA-HP-HAS(1%) : OVA inhalation and HP- HAS(1%) at BL13. Values represent the means ± SEM of 4 mice in each group (**p<0.01).

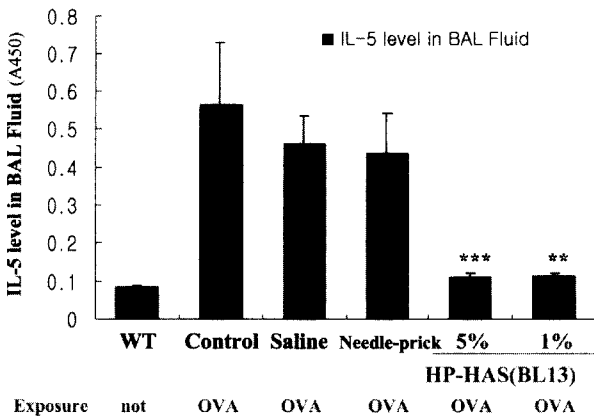


Fig. 3. The level of IL-5 in bronchoalveolar lavage fluid (BALF). C57BL/6 mice were injected, inhaled and sprayed with OVA for 12 weeks for asthma sensitization and challenge. Two experimental groups were treated with different concentrations of HP-HAS at P'yesu(BL13) for the later 8 weeks(3times/week). At the end of the total experimental procedure, the mice BALF was isolated from each mouse group. The concentration of IL-5 in mice BALF was measured using ELISA. WT : Normal C57BL/6 mice, OVA-Control : OVA-induced asthma lung cells, OVA-Saline : OVA-inhalation and Saline injection at BL13, OVA-Needle prick : OVA inhalation and single prick with a needle at BL13, OVA-HP-HAS(5%) : OVA inhalation and HP-HAS(5%) at BL13, OVA-HP-HAS(1%) : OVA inhalation and HP-HAS(1%) at BL13. Values represent the means ± SEM of 4 mice in each group(**p<0.01,***p<0.001).

4. IL-13 in BALF

BALF내 IL-13 분비를 측정된 결과, 정상군은 0.105±0.024, 대조군은 0.207±0.014, 생리식염수 투여군은 0.214±0.027, 단순 자침군은 0.201±0.016, HP-HAS를 5, 1% 주입한 실험군은 각각

0.112±0.010, 0.135±0.015로 나타나 대조군에 비하여 유의성있게 감소하였다(Fig. 4).

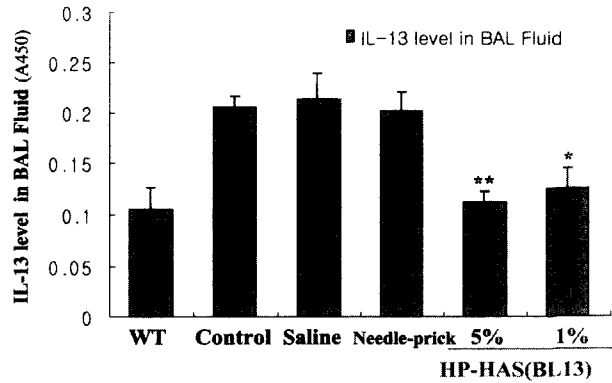


Fig. 4. The level of IL-13 in bronchoalveolar lavage fluid(BALF). C57BL/6 mice were injected, inhaled and sprayed with OVA for 12 weeks for asthma sensitization and challenge. Two experimental groups were treated with different concentrations of HP-HAS at P'yesu(BL13) for the later 8 weeks (3times/week). At the end of the total experimental procedure, the mice BALF was isolated from each mouse group. The concentration of IL-13 in mice BALF was measured using ELISA. WT : Normal C57BL/6 mice, OVA-Control : OVA-induced asthma lung cells, OVA-Saline : OVA-inhalation and Saline injection at BL13, OVA-Needle prick : OVA inhalation and single prick with a needle at BL13, OVA-HP-HAS(5%) : OVA inhalation and HP-HAS(5%) at BL13, OVA-HP-HAS(1%) : OVA inhalation and HP-HAS(1%) at BL13. Values represent the means ± SEM of 4 mice in each group(*p<0.05 **p<0.01).

5. IgE in BALF

BALF내 IgE 분비를 측정된 결과, 정상군은 0.092±0.009, 대조군은 0.289±0.051, 생리식염수 투여군은 0.246±0.042, 단순 자침군은 0.261±0.046, HP-HAS를 5, 1% 주입한 실험군은 각각 0.140±0.021, 0.137±0.007로 나타나 대조군에 비하여 유의성있게 감소하였다(Fig. 5).

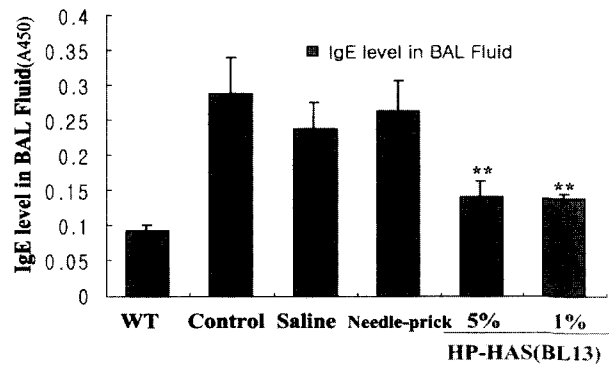


Fig. 5. The level of IgE in bronchoalveolar lavage fluid(BALF). C57BL/6 mice were injected, inhaled and sprayed with OVA for 12 weeks(3times a week) for asthma sensitization and challenge. Two experimental groups were treated with different concentrations of HP-HAS at P'yesu(BL13) for the later 8 weeks (3times/week). At the end of the total experimental procedure, BALF was isolated from each mouse group. The concentration of IgE in mice BALF was measured using ELISA. WT : Normal C57BL/6 mice, OVA-Control : OVA-induced asthma lung cells, OVA-Saline : OVA-inhalation and Saline injection at BL13, OVA-Needle prick : OVA inhalation and single prick with a needle at BL13, OVA-HP-HAS(5%) : OVA inhalation and HP-HAS(5%) at BL13, OVA-HP-HAS(1%) : OVA inhalation and HP- HAS(1%) at BL13. Values represent the means ± SEM of 4 mice in each group (**p<0.01).

6. CD3e⁺/CCR3⁺ in lung cells

CCR3⁺세포는 대조군에 비하여 약침군에서 감소하였다(Fig. 6).

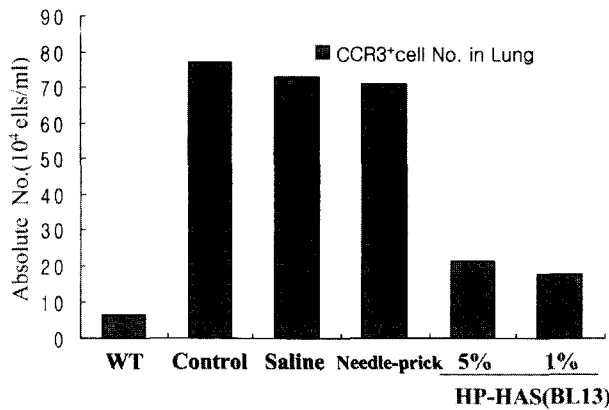


Fig. 6. Effect of HP-HAS on CCR3⁺ cell number in OVA-induced asthmatic mouse lung. C57BL/6 mice were injected, inhaled and sprayed with OVA for 12 weeks. Two experimental groups were treated with different concentrations of HP-HAS at P'yesu(BL13) for the later 8 weeks (3times/ week). At the end of the experiment, the mice lungs were removed and analyzed by flow cytometer and the number of CCR3⁺ cells was calculated. Two groups treated with HP-HAS showed lower numbers of CCR3⁺ cells than that in the control group. WT : Normal C57BL/6 mice. OVA-Control : OVA-induced asthma lung cells. OVA-Saline : OVA-inhalation and Saline injection at BL13. OVA-Needle prick : OVA inhalation and single prick with a needle at BL13. OVA-HP-HAS(5%) : OVA inhalation and HP-HAS(5%) at BL13. OVA-HP-HAS(1%) : OVA inhalation and HP-HAS(1%) at BL13.

7. CD3e⁺/CD69⁺ in lung cells

CD3e⁺/CD69⁺세포는 대조군에 비하여 약침군에서 감소하였다(Fig. 8).

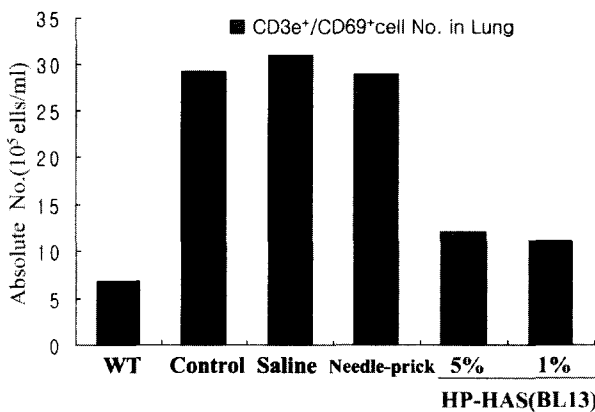


Fig. 7. Effect of HP-HAS on CD3e⁺/CD69⁺ cell number in OVA-induced asthmatic mouse lung. C57BL/6 mice were injected, inhaled and sprayed with OVA for 12 weeks. Two experimental groups were treated with different concentrations of HP-HAS at P'yesu(BL13) for the later 8 weeks (3times/ week). At the end of the experiment, the mice lungs were removed and analyzed by flow cytometer. The number of CD3e⁺/CD69⁺ co-stimulated cells was calculated. The numbers of CD3e⁺/CD69⁺ cells in the groups treated with HP-HAS decreased compared with that in the control group. WT : Normal C57BL/6 mice. OVA-Control : OVA-induced asthma lung cells. OVA-Saline : OVA-inhalation and Saline injection at BL13. OVA-Needle prick : OVA inhalation and single prick with a needle at BL13. OVA-HP-HAS(5%) : OVA inhalation and HP-HAS(5%) at BL13. OVA-HP-HAS(1%) : OVA inhalation and HP-HAS(1%) at BL13.

8. Gr-1⁺/CD11b⁺ in lung cells

Gr-1⁺/CD11b⁺세포와 CD11b⁺세포는 대조군에 비하여 약침군에서 감소하였다(Fig. 9).

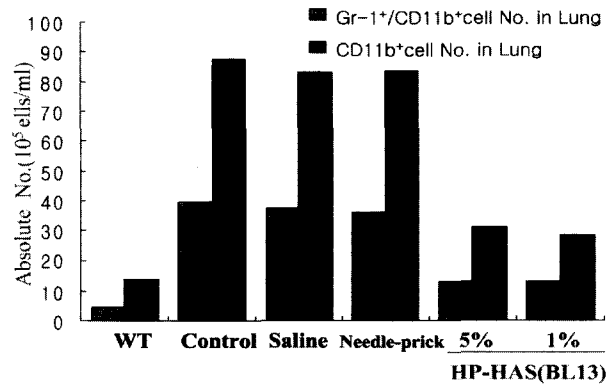


Fig. 8. Effect of HP-HAS on Gr-1⁺/CD11b⁺ cell number in OVA-induced asthmatic mouse lung. C57BL/6 mice were injected, inhaled and sprayed with OVA for 12 weeks. Two experimental groups were treated with different concentrations of HP-HAS at P'yesu(BL13) for the later 8 weeks (3times/ week). At the end of the experiment, the mice lungs were removed and analyzed by flow cytometer. The numbers of Gr-1⁺/CD11b⁺ cells and CD11b⁺ cells were measured. WT : Normal C57BL/6 mice. OVA-Control : OVA-induced asthma lung cells. OVA-Saline : OVA-inhalation and Saline injection at BL13. OVA-Needle prick : OVA inhalation and single prick with a needle at BL13. OVA-HP-HAS(5%) : OVA inhalation and HP-HAS(5%) at BL13. OVA-HP-HAS(1%) : OVA inhalation and HP-HAS(1%) at BL13.

고찰

경증의 천식 환자에서도 기도 염증 반응이 존재한다는 것이 밝혀지고 천식의 염증은 일반 염증과 달리 호산구와 림프구의 침윤이 뚜렷하고 천식의 중증도에 따라서 기도 염증 반응이 심해지며 기도 상피세포의 탈락, 상피세포 기저막하 콜라겐 침착, 기도평활근 및 점액선의 증식 등의 소견을 보인다¹²⁾.

이러한 과정에는 여러 가지 사이토카인들과 염증세포들이 관여하는데 특히 호산구는 천식환자의 혈액, 기관지폐포액, 기도 상피 그리고 객담에 많이 존재하면서 천식의 병태생리에 중요하게 작용한다¹³⁾. 기관지에 모여든 호산구는 활성화되어 있고 자사(apoptosis)가 억제된 상태로 major basic protein(MBP), eosinophil cationic protein(ECP), eosinophil derived neurotoxin(EDN), eosinophil peroxidase(EPO) 등의 세포독성단백을 분비하여 기도 상피의 섬모운동을 억제하고 상피세포를 탈락시키며 기도 과민증을 초래한다. 또 활성화된 호산구는 지질 대사물질들을 새로 형성하고 합성하는데 즉 arachidonic acid, leukotrien C4(LTC4), 혈소판 활성화 인자(platelet activating factor, PAF) 등을 유리하여 혈관과 기도 평활근에 작용함으로써 알레르겐 흡입 유발시에 조기반응과 후기반응을 일으킨다¹⁴⁾.

기관지천식의 병인에 중요하게 관여하는 T조력세포(이하 Th세포)는 Th1, Th2 세포로 나뉘는데 Th1 세포는 주로 IL-2, IL-12, IFN-γ를 생산하며 지연형 과민반응, 바이러스에 대한 방어작용, 종양면역 등에 관여하고, Th2 세포는 IL-4, IL-5, IL-6, IL-13 등을 생산하며 기생충과 같은 세포의 항원에 대한 방어작

용과 IgE와 관련된 알레르기 질환에 관여한다¹⁵⁾. Th1 림프구와 Th2 림프구는 서로 길항작용을 나타내어 기능이 억제되는 현상이 관찰되며 알레르기성 기관지천식환자의 기관지 폐포세척액에서는 Th2 림프구의 기능이 활성화됨이 관찰되고 있다¹⁶⁾.

紫河車(Hominis Placenta)는 건강한 사람의 태반을 烘製하여 건조한 것으로⁶⁾, 性은 溫 無毒하고 味는 甘鹹하며 肺肝腎經에 들어가 補氣, 養血, 益精하여 虛損羸瘦, 勞熱骨蒸, 咳喘, 咯血, 盜汗, 遺精, 陽痿 등의 증상을 치료하는 효능이 있어 폐결핵, 신경쇠약, 빈혈, 기관지천식 등에 쓰이며 약침제제도 동일한 병증에 응용되고 있다^{6,7,17)}. 肺俞(BL13)는 足太陽膀胱經의 제3흉추극돌기 하 양방 1寸5분에 위치하며 調肺氣, 補虛損, 消虛熱, 和營血하는 穴性이 있어 폐렴, 폐결핵, 해수, 천식, 기관지염에 사용된다¹⁸⁾.

紫河車 약침에 대한 기존의 연구로 장 등⁹⁾은 난소추출물 유발된 흰쥐의 골소주 면적 감소를 억제하고 골흡수를 억제한다고 하였고, 염 등⁹⁾은 흰쥐의 adjuvant 관절염에서 염증 반응을 억제한다고 하였고, 이 등¹⁰⁾은 말초성안면신경마비에서 자하거 약침의 병행치료가 호전도를 높인다고 하였고, 육 등¹¹⁾은 생리식염수를 주입한 대조군에 비하여 체표온도가 상승된다고 보고하였으나, 기관지천식과 관련된 면역세포 및 관련 사이토카인에 대한 영향을 관찰한 연구는 접하지 못하였다. 이에 저자는 천식 상태의 개선에 있어 肺俞(BL13)에 대한 紫河車 약침 치료가 면역세포 및 사이토카인에 미치는 영향을 규명하고자 *in vitro* 실험으로 천식을 유발시킨 생쥐의 폐세포에서 호산구의 활성화를 유도한 후 면역세포의 발현양상에 미치는 영향을 측정하고, *in vivo* 실험으로 BALF내의 호산구수, IL-4, IL-5, IL-13, IgE의 분비, 폐세포에서의 면역세포 발현양상에 미치는 영향을 측정하였다.

BALF내 호산구의 수의 변화에서 대조군은 정상군에 비해 분비량이 증가하였던 반면, 대조군에 비하여 실험군에서 유의성 있게 감소하였다(Fig. 1). 천식 후기반응이 있는 환자의 6시간 후 BALF와 조직에서 호산구가 주로 관찰되는데¹⁹⁾, 실험군에서 호산구수가 감소되었다는 것은 紫河車 약침이 호산구의 기도내 유입을 억제하여 천식 염증반응에 효과가 있음을 보여주는 것이라고 생각된다.

ELISA 분석결과를 살펴보면, BALF 내 IL-4, IL-5, IL-13, IgE는 대조군에서 정상군에 비해 분비량이 증가하였고 실험군에서 대조군에 비하여 유의성 있게 감소하였다(Fig. 2-5). Th1 경로의 IL-4, IL-5, IL-13은 천식병리에서 중요한 역할을 한다. IL-4는 B세포의 성장과 분화에 작용하여 IgE 분비를 항진시키고 vascular cell adhesion molecule(VCAM)을 발현시켜 내피세포를 통한 호산구의 유입을 조장한다^{20,21)}. IL-5는 IL-4의 B세포 분화 및 성장작용을 상승시키고, 호산구의 분화, 활성화, 생존 연장에서 중요한 역할을 한다²²⁻²⁵⁾. IL-13은 B세포의 증식, 세포표면의 integrin, MHC class II항원 및 CD23의 증가, IL-6의 분비증가, 항체의 class switching으로 IgE와 IgG4의 생산 등의 작용을 한다. 또한 IL-13은 혈관내피세포의 VCAM-1 발현을 선택적으로 유도시킬 수 있다²⁶⁻²⁸⁾. IgE 항체는 제일형 과민반응에서 중심역할을 하는데 항원에 노출되어 생산된 IgE 항체는 비만세포 표면에 결합하게 되고 같은 항원에 재노출하게 되면 비만세포 표면에서 부착

된 IgE 항체와 항원이 결합하여 비만세포로부터 여러 화학매체들을 분비하게 된다²⁹⁾. 따라서 紫河車 약침이 IL-4, IL-5, IL-13, IgE의 분비를 감소시킴으로써 천식의 알레르기 염증반응을 억제하는 효과를 나타낼 수 있다고 생각된다.

천식을 유발시킨 생쥐에 紫河車 약침을 주입한 후 폐세포를 유세포분석하여 CD3e⁺/CCR3⁺, CD3e⁺/CD69⁺, CD11b⁺/Gr-1⁺ 세포의 수를 측정할 결과 대조군에서는 정상군에 비하여 증가하였고 실험군에서는 대조군에 비하여 모든 항목이 감소하였다(Fig. 6-8).

케모카인은 화학주성을 갖는 사이토카인을 말하는데 CCR3는 주로 호산구에서 발하는 케모카인 수용체로 호산구가 혈관 내피세포와 결합한 후 조직내로 침투하도록 한다³⁰⁾. 따라서 실험군에서 CCR3의 비율이 대조군에 비하여 감소하는 것은 紫河車 약침이 호산구의 활성화를 억제하여 호산구의 기도조직내 유입을 감소시킴으로써 천식에 대한 효과를 나타낼 수 있다는 가능성을 보여준다고 할 수 있다.

CD3는 T세포 표면분자이고 CD69는 활성화된 B세포 및 T세포 및 대식세포, 세포독성 세포에 존재하는 표면분자로 T세포의 초기 활성화를 나타내며, 활성화된 호산구에서 분비되므로 천식 환자의 기도에서 호산구침윤의 표지로 사용될 수 있다²⁰⁾. 실험군에서 CD69의 비율이 대조군에 비하여 감소하는 것은 紫河車 약침이 호산구의 기도내 침윤을 억제하는 작용이 있음을 시사하는 것으로 볼 수 있다.

Gr-1은 과립구의 표지자이고 CD11b는 세포유착분자로 순환 호산구의 표면에 발현하여 내피에 발현되어 있는 ICAM-1 (intercellular adhesion molecule 1)와 유착하고 이후 PAF, LTB4, eotaxin, RANTES 등의 화학주성인자 등에 의해 표적장기로 유입하게 된다³¹⁾. 따라서 紫河車 약침이 호산구의 내피세포유착을 통한 경내피이동을 억제함으로써 천식에 효능을 발휘한다고 생각할 수 있다.

이상을 종합하면 紫河車 약침은 호산구를 비롯한 면역세포의 활성화와 조직내 침윤을 억제하고, Th2 경로의 면역반응을 조절하는 IL-4, IL-5, IL-13의 분비를 감소시키며 IgE의 분비를 억제하는 효과를 나타내 천식의 치료에 많은 활용이 가능할 것으로 생각된다.

결론

紫河車 약침의 알레르기 천식모델 생쥐에서 천식 및 면역에 미치는 효과를 알아보기 위한 실험에서 자하거 약침은 BALF내에서 호산구수와 IL-4, IL-5, IL-13, IgE의 분비를 감소시켰고, 폐세포의 CD3e⁺/CCR3⁺, CD3e⁺/CD69⁺, CD11b⁺/Gr-1⁺ 세포의 수를 감소시켰다. 이러한 결과는 자하거 약침이 호산구를 비롯한 면역세포와 알레르기 관련 사이토카인의 분비를 조절하여 천식에 효과를 나타낼 수 있음을 시사한다고 사료된다.

참고문헌

1. 박성화 : 기관지천식-진단, 결핵 및 호흡기 질환 42(5):635-

- 645, 1995.
2. 최인선 : 천식의 병리, 대한 천식 및 알레르기학회, 천식과 알레르기 질환, 서울, 군자출판사, pp.257-264, 2002.
 3. 홍천수, 김규언 : 기관지천식-병인 및 역학, 대한 천식 및 알레르기학회, 천식과 알레르기 질환, 서울, 군자출판사, pp.244-245, 2002.
 4. 전국한의과대학폐계내과학교실 : 동의폐계내과학, 서울, 한문회사, pp.329-331, 2002.
 5. 정승기, 이형구. 효천의 원인 및 치료에 관한 연구. 대한한의학회지. 7(1):60-67, 1986.
 6. 장종범 : 자하거에 대한 고찰, 대한한의학회지 3(5):36-38, 1965
 7. 全國韓醫科大學本草學教授 공편 : 本草學, 서울, 永林社, pp. 567-568, 1991.
 8. 장수진, 이창현, 육태한 : 홍화자·녹용·자하거 약침이 난소적출로 골다공증을 유도한 흰쥐에 미치는 영향, 대한한의학회지 19(1):5-18, 1998.
 9. 염민정, 강지은, 박희준, 이은주, 심인섭, 이혜정 : 흰쥐의 Adjuvant 관절염에 대한 자하거약침의 효과, 대한약침학회지 5(1):91-103, 2002.
 10. 이정현, 이은용, 김영호, 육태한, 김이화 : 자하거약침이 말초성안면신경마비에 미치는 영향에 관한 임상적 고찰, 대한침구학회지 19(1):11-23, 2002.
 11. 육태한, 신민섭 : 자하거약침이 체표온도변화에 미치는 영향, 대한침구학회지 19(3):88-94, 2002.
 12. Haley, K.J., Drazen, J.M. Inflammation and airway function in asthma: what you see is not necessarily what you get. *Am J Respir Crit Care Med* 157(1):1-3, 1998.
 13. 이상근 : 호산구와 천식, 결핵 및 호흡기질환 46(1):5-16, 1999.
 14. 안강모, 김미경, 조상헌, 박춘식, 이민걸 : 알레르기 염증반응에 관여하는 세포, 대한 천식 및 알레르기학회, 천식과 알레르기 질환, 서울, 군자출판사, pp.34-38, 2002.
 15. Kidd, P. Th1/Th2 balance: the hypothesis, its limitations, and implications for health and disease. *Altern Med Rev* 8(3):223-246, 2003.
 16. Kasakura, S. A role for T helper type 1 and type 2 cytokine in the pathogenesis of various human diseases. *Rinsho Byori Symp* 46(9):915-921, 1998.
 17. 이상길, 이재동, 고희균, 박동석, 이윤호, 강성길 : 자하거 약침 제제에 대한 고찰. 대한침구학회지 17(1):67-74, 2000.
 18. 전국한의과대학침구경혈학교실 : 침구학(상), 서울, 집문당, pp.478-479, 1993.
 19. Makino, S., Fukuda, T. Eosinophils and allergy in asthma. *Allergy Proc* 16(1):13-21, 1995.
 20. Hartnell, A., Robinson, D.S., Kay, A.B., Wardlaw, A.J. CD69 is expressed by human eosinophils activated in vivo in asthma and in vitro by cytokines. *Immunology* 80(2):281-286, 1993.
 21. 김세종 : 면역학, 서울, 고려의학, pp.31-33, 150-153, 263-265, 1994.
 22. Constant, S.L., Bottomly, K. Induction Th1 and Th2 CD4⁺ T cell responses : The alternative approaches. *Annu Rev Immunol* 15:297-322, 1997.
 23. Huang, T.J., MacAry, P.A., Kemeny, D.M., Chung, K.F. Effect of CD8⁺ T-cell depletion on bronchial hyper-responsiveness and inflammation in sensitized and allergen-exposed Brown-Norway rats. *Immunology* 96(3):416-423, 1999.
 24. Suzuki M., Taha, R., Ihaku, D., Hamid, Q., Martin, J.G. CD8⁺ T cells modulate late allergic airway responses in Brown Norway rats. *J Immunol* 163(10):5574-5581, 1999.
 25. Sad, S., Marcotte, R., Mosmann, T.R. Cytokine-induced differentiation of precursor mouse CD8⁺ T cells into cytotoxic CD8⁺ T cells secreting Th1 or Th2 cytokines. *Immunity* 2(3):271-279, 1995.
 26. Schwarze, J., Cieslewicz, G., Joethamm A., Ikemuram T., Hamelmann, E., Gelfand, E.W. CD8 T cells are essential in the development of respiratory syncytial virus-induced lung eosinophilia and airway hyperresponsiveness. *J Immunol* 162(7):4207-4211, 1999.
 27. 이숙영, 윤형규, 신윤, 이상화, 김석찬, 김관형, 문화식, 송정섭, 박성화 : 기관지천식 환자의 기관지폐포세척액내 T 세포 아형과 임상양상과의 관계. 천식 및 알레르기 19(6):904-911, 1999.
 28. Booth, B.W., Newcomb, D.C., McKane, S.A., Crews, A.L., Adler, K.B., Bonner, J.C., Martin, L.D. Proliferation of the airway epithelium in asthma: are inflammatory cells required? *Chest* 123(3 Suppl):384S-385S, 2003.
 29. Elias, J.A., Zhu, Z., Chupp, G., Homer, R.J. Airway remodeling in asthma. *J Clin Invest* 104(8):1001-1006, 1999.
 30. Murdoch, C., Finn, A. Chemokine receptors and their role in inflammation and infectious diseases. *Blood* 95(10):3032-3043, 2000.
 31. Spoelstra, F.M., Hovenga, H., Noordhoek, J.A., Postma, D.S., Kauffman, H.F. Changes in CD11b and L-selectin expression on eosinophils are mediated by human lung fibroblasts in vitro. *Am J Respir Crit Care Med* 158(3):769-777, 1998.