

# 白花蛇舌草가 ovalbumin으로 유도된 천식동물모델에서 Eosinophil의 수, IgE 및 IL-4에 미치는 영향

김상찬<sup>#</sup>, 변성희<sup>\*</sup>

대구한의대학교 한의학과, 한방생명자원연구센터

## The Effects of Oldenlandiae Diffusae Herba Extract on Eosinophil, IgE and IL-4 in Experimental Asthma induced by Ovalbumin

Sang-Chan Kim<sup>#</sup>, Sung-Hui Byun<sup>\*</sup>

Research Center for Biomedical Resources of Oriental Medicine & College of Oriental  
Medicine, Daegu Haany University, Korea.

### ABSTRACT

**Objective** : This study was performed to investigate the effect of oral administration of Oldenlandiae Diffusae Herba (ODH) on eosinophil, immunoglobulin-E and interleukin-4 in the experimental asthma induced by ovalbumin.

**Methods** : Asthma was induced to Balb/c mouse by i.p. injection and aerosol immunization with ovalbumin. It was observed the change of the eosinophil number in the BALF. And, it was observed the change of the concentrations of IL-4 in BALF and splenocyte, IgE in serum by ELISA.

#### Results :

1. The number of eosinophil in BALF was significantly decreased in ODH group compared with control group.
2. Concentration of IL-4 in serum, BALF and splenocyte was significantly decreased in ODH group compared with control group, respectively.
3. Level of IgE in serum was significantly decreased in ODH group compared with control group.

**Conclusion** : We found that the effect of ODH extract in asthma was implicated in reductions of IL-4 released from Th2 cell, and decreases of IgE from plasma cell. These findings suggest that ODH extract can produce anti-asthmatic effect, which may play a role in allergen-induced asthma therapy.

**Key Words** : Oldenlandiae Diffusae Herba, Eosinophil, Interleukin-4, Immunoglobulin E.

\*교신저자 : 변성희, 대구시 수성구 상동 165, 대구한의대학교 한의과대학

E-mail: shbyun@dhu.ac.kr, phone: 053-770-2244; fax: 053-768-6340

<sup>#</sup>제1저자 : 김상찬, 대구시 수성구 상동 165, 대구한의대학교 한의과대학

E-mail: sckim@dhu.ac.kr, phone: 053-770-2247; fax: 053-768-6340

· 접수 : 2005년 3월 12일 · 수정 : 2005년 6월 14일 · 채택 : 2005년 6월 20일

## 서론

천식은 기도가 광범위하게 수축되어 좁아지고 기도의 수축이 수분내지 며칠 동안 지속되는 기관지 폐쇄, 기관지염증을 일으키는 질환이다. 천식은 병리학적으로 기도의 eosinophilic inflammation, bronchospasm과 비특이적 항원흡입에 대한 hyperreactivity로 특징지어질 수 있다<sup>1)</sup>. 임상적으로는 기침,喘鳴, 호흡곤란등의 증후를 보이면서, 호산구(Eosinophil)를 위시한 다양한 염증세포들이 기도 내로의 침윤을 나타낸다<sup>2)</sup>. 또한, 천식은 알러지성 질환으로 Th1과 Th2 cell간의 imbalance로 인하여 유발되며, 특히 Th2-type의 면역반응이 현저하여 발생된다<sup>3)</sup>. Interleukine(IL)-4, IL-5, IL-10등의 Th2-type cytokine들은 eosinophil과 mast cell, B cell등을 활성화시켜 천식의 진행에 연관된다<sup>4)</sup>. 역학적 연구에 의하면 미국에서 천식은 인구의 10%내외에서 발생하며, 천식의 발병율 및 사망율은 최근 20년간 2배나 증가하고 있다<sup>5)</sup>. 喘息은 발작성의 호흡곤란, 천명, 기침, 나음(rales)을 특징으로 하는 증후군으로<sup>5)</sup>, 원인의 대부분을 차지하는 알레르기 외에도 상기도 감염, 정서적 스트레스, 기후변화, 약물, 운동 등이 천식을 유발할 수 있다<sup>6)</sup>.

천식은 한의학적으로 哮喘證에 해당되는데<sup>7)</sup> 喉中有聲響한 것을 哮라하고 呼吸急促한 것을 喘이라하여 구분하기도 하나, 청대이후로는 哮喘證에는 喘促症이 겸하여 나타난다고 하여 哮喘證을 하나의 증후로 보고 있다<sup>8)</sup>

현재까지 천식에 대한 한의학적 연구로 이<sup>9)</sup>가 五拗湯의 鎮咳, 항Histamin 및 기관지평활근 이완효과를, 정<sup>10,11)</sup>은 加味清上補下湯과 定喘湯을 이용하여 폐기관지와 면역기능의 변화를, 박<sup>12)</sup>은 千緝導痰湯의 항알레르기 반응과 면역기능에 대한 연구를 보고하였다.

본 연구는 백화사설초가 천식에 미치는 효과를 알아보기 위하여, Balb/c mouse에 ovalbumin으로 알레르기성 천식을 유발한 후 BALF(기관폐포세척액, Bronchoalveolar avage fluid)에 존재하는 eosinophil, IL-4의 변화, 혈청 중 IgE, IL-4의 변화, splenocyte의 IL-4의 분비량을 관찰하여 유의성 있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험동물의 사육

실험동물은 female BALB/c mouse(오리엔트, 대구)를 사용하였으며, 천식을 유도하지 않고 PBS를 투여한 Normal군, 천식을 유도하고 PBS만을 투여한 Control군, 천식을 유도하고 백화사설초를 투여한 ODH군으로 나누어 각 군당 5마리씩 총15마리를 사용하였다. 실험동물은 5마리씩 분리하여 polycarbonate cage에 수용하고, 온도 20~25℃ 및 습도 30~35%로 조절된 항온항습 및 공기청정시스템(동물사육시스템, 한국)에서 사육하였으며, 명암주는 12/12시간으로 조절하였다. 사료(한란, 한국)및 음용수는 자유롭게 섭취할 수 있도록 공급하였다.

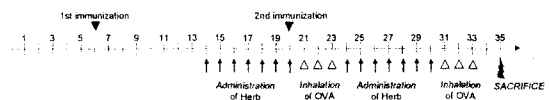
### 2. 한약액의 제조 및 투여

백화사설초 300g을 정제수 2000ml로 3시간 가열 추출한 후, 추출물을 여과지로 1차 여과한 다음, 여과액을 rotary evaporator로 감압농축하여 점조성 추출물을 얻었다. 이 점조성 추출물을 다시 동결건조하여 44.1g(수율 14.7%)의 추출물을 얻어 실험에 사용하였다.

검액의 투여는 6mg/20g를 1회/1일 투여량으로 하여, 철제 경구주입기(명진사, 서울)를 사용하여 경구투여하였다.

### 3. 면역반응의 유도

면역반응을 유도하기 위하여 10mg (ovalbumin, Sigma, USA)/ml(PBS) 5 $\mu$ l와 Alum (Imject<sup>®</sup> Alum, Pierce, USA) 50 $\mu$ l, PBS 45 $\mu$ l를 복강주사로 immunize하였다. 1차 면역 유도 후, 면역 boosting을 위하여 14일 후 동일한 방법으로 2차 면역을 유도하였다.



Scheme 1. Experimental Design.

#### 4. Inhalation

1.0% ovalbumin in PBS를 Nebulizer(Omron, Japan)로 분무하여 30분간 흡입시킨 후, 기도알러지를 유도하였다.

#### 5. 혈액의 채취

Heparinized capillary tube(Superior, Germany)를 이용하여 mouse의 눈외자를 찔러 채혈한 다음, 1.5 ml tube에 넣어 8,000rpm으로 10분간 원심분리하였다. 상등액은 실험전까지 -70°C에 보관하였다.

#### 6. 실험동물의 희생 및 BALF채취

Mouse의 꼬리와 경추부분을 당겨 경추를 탈구시킨 후, BALF를 취하였다. 즉, 목부위와 흉부의 피부를 절개하고, 기관지에 24G needle(Becton Dickinson, Korea)을 삽입하고 봉합사(원산업, 한국)로 단단히 묶은 후, 1ml syringe에 EDTA (Ethylenediaminetetraacetic acid)용액을 500 $\mu$ l 넣은 후 기관지내로 삽입하여 up & down하여 BALF를 얻었다. 이를 6회 반복하여 각기 다른 3개의 tube에 BALF 1ml씩 취한 후, 가장 먼저 채취한 1ml의 BALF를 4,000rpm으로 3분간 원심분리하고, 상등액을 취하였다. 이 상등액은 cytokine측정을 위해 -70°C에 보관하였고, pellet은 나머지 BALF와 합쳐 사용전까지 냉동보관하였다.

#### 7. Spleen의 적출 및 splenocyte채취

BALF를 채취한 뒤, mouse의 횡경막을 절개하여 spleen을 적출한 다음, 5ml의 RPMI 1640에 spleen을 넣은 다음, 이물질을 제거하고 cell strainer(10 $\mu$ m, Falcon, USA)를 사용하여 곱게 mash하였다. 이를 4,000rpm으로 3분간 원심분리한 후, 상등액을 제거한 pellet에 RBC lysis buffer 2ml을 넣고 2분간 방치 후, 8ml의 RPMI 1640을 넣은 후 4,000rpm으로 3분간 원심분리하고 상등액은 제거하였다. 각 pellet에 10ml의 RPMI 1640을 넣은 후, cell counting하여 최종 5 $\times$ 10<sup>5</sup>개로 24 well plate에 분주하여 배양하였다.

#### 8. Eosinophil측정

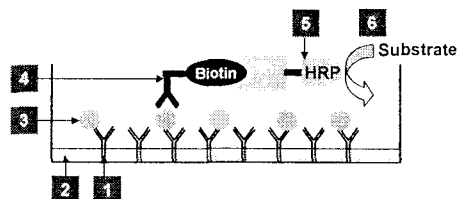
BALF를 4,000rpm으로 3분간 원심분리하여 상등액은 버리고 pellet에 RBC lysis buffer를 200 $\mu$ l넣고

vortex 후 얼음에 2분간 방치하였다. 여기에 800 $\mu$ l의 RPMI 1640을 넣은 후, 4,000rpm으로 3분간 원심분리하여, 상등액은 버리고, pellet에는 1ml의 PRMI 1640을 넣어 잘 흔들어 준 후 20 $\mu$ l를 취하고, 여기에 다시 trypan blue(Sigma, USA) 60 $\mu$ l를 더하여 cell counting하였다. 최종적으로 각 실험개체당 4 $\times$ 10<sup>4</sup>개의 cell을 취하여 cytocentrifuge(Wesor, USA)에 옮겨, 550rpm으로 5분간 원심분리한 다음, Diff-Quick staining(Sysmax, Japan)으로 염색하고 fixer(Biomedica, Canada)를 10 $\mu$ l떨어 뜨린 후, 현미경상에서 eosinophil의 수를 측정하였다.

#### 9. Antibody측정

- 1) Microtiter plate (96-well)에 ovabumin(Sigma, USA) 5 $\mu$ l/ml, PBSN(PBS+sodium azide 0.02%)을 well당 100 $\mu$ l씩 넣고 4°C에서 overnight하여 coating하고, PBSN 으로, 3차례 세척하였다.
- 2) 96-well plate에 1% BSA in PBSN을 150 $\mu$ l/well을 넣은 뒤, 37°C에서 1시간 배양한 후, PBSN으로, 3차례 세척하였다.
- 3) 실험방법 6에서 준비한 혈액의 상등액 sample을 dilution buffer (0.1% BSA in PBSN)로 희석한 (1/20, 1/80, 1/320, 1/1280) 후 37°C에서 3시간 이상 반응시킨 후, PBSN으로 3차례 세척하였다.
- 4) IgE의 antibody를 dilution buffer로 희석하여 well당 100 $\mu$ l를 가하고, 37°C에서 2시간 배양한 후, PBSN으로 3차례 세척하였다.
- 5) 기질인 pNPP(p-nitrophenyl-phosphate)를 carbonate buffer(pH 9.6)에 1mg/ml로 녹여 각 well당 100 $\mu$ l를 가한 후, 12시간(IgE) 배양하고, spectrophotometer (Tecan, Austria)로 OD(Optical Density)값을 측정하였다. (405nm-492nm)

#### 10. Cytokine측정



Scheme 2. Procedure for Cytokine Measurement.

- 1) capture antibody를 plate에 coating하기 위하여, 96-well plate에 IL-4 capture antibody(Parmigen, USA) 2 $\mu$ g을 1ml의 PBS에 녹여 각 well당 50 $\mu$ l씩 넣고, 실온에서 overnight 하고, PBS로 3차례 세척하였다.
- 2) 1%의 BSA(Sigma, USA)를 각 well당 200 $\mu$ l씩 넣고, 37 $^{\circ}$ C에서 1시간 배양하여 blocking한 후, PBS로 3차례 세척하였다.
- 3) 실험방법 7에서 준비한 BALF의 상등액 sample 은 100,000배로 희석하여 각 well당 50 $\mu$ l씩 넣어 3시간 배양한 후, PBS tween으로 3차례 세척하였으며, 실험방법 8에서 준비한 Splenocyte는 -/+ovalbumin 1% in RPMI 1640에 72시간 배양한 배지를 각 well당 50 $\mu$ l씩 넣어 3시간 배양한 후, PBS tween으로 3차례 세척하였다.
- 4) IL-4의 detection antibody(Parmigen, USA) 2 $\mu$ g을 1ml의 PBS에 녹여 각 well당 50 $\mu$ l씩 넣고, 37 $^{\circ}$ C에서 1시간 배양하고, PBS tween으로 3차례 세척하였다.
- 5) Biotin에 특이성을 갖는 avidin-HRP(Pierce, USA) 10 $\mu$ g을 삼차증류수 10ml에 녹여 well당 100 $\mu$ l를 넣어서 30분 배양한 후 PBS tween으로 3회, 그리고 PBS로 3회씩 세척하였다.
- 6) 효소의 기질인 OPD peroxidase substrate (Sigma, USA) 2 different tablets을 20ml의 삼차 증류수에 녹여, 각 well당 100 $\mu$ l씩 넣고, 15분 후 spectrophotometer (Tecan, Austria)로 OD값을 측정하였다. (405nm-492nm)

## 결 과

### 1. BALF에서의 eosinophil의 수적 변화에 미치는 영향

BALF에서 eosinophil의 수는 normal군에서는  $13.33 \pm 2.08$ 개, control군에서는  $167.00 \pm 18.03$ 개, ODH군에서는  $96.33 \pm 16.92$ 개로 나타났다. Control군은 normal군에 비교하여 유의성 있게 증가하였으며, ODH군은 control군에 비교하여 유의성 있는 감소를 나타내었다 (Fig. 1).

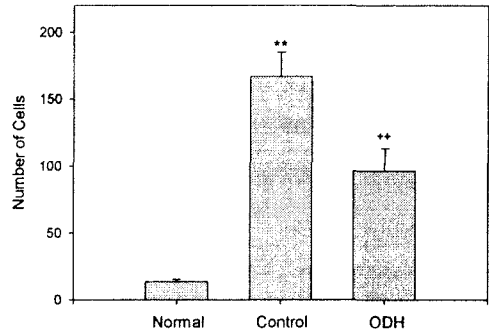


Fig. 1. Eosinophil counts in BALF of each studied groups. Mouse was immunized i.p. with 50  $\mu$ g of OVA at days 8 and 20, and challenged via the airway with OVA (0.1% ovalbumin in PBS) on days 21, 22, 23, 31, 32 and 33. Data are presented as the mean  $\pm$  SD of three separate experiments (n = 5 for each group) \*\* $P < 0.01$  compared with normal, \*\* $P < 0.01$  compared with control.

### 2. 혈청 interleukin-4의 변화에 미치는 영향

혈청에서의 IL-4의 함량은 normal군에 대한 비율로 산정하였다. 실험결과 normal군은  $1.000 \pm 0.021$ , control군에서는  $1.052 \pm 0.011$ , ODH군에서는  $1.002 \pm 0.009$ 이었다. Control군은 normal군에 비교하여 유의성 있게 IL-4의 수준을 증가시켰으며, ODH군은 control군에 비교하여 유의성 있는 감소를 나타내었다. (Fig. 2).

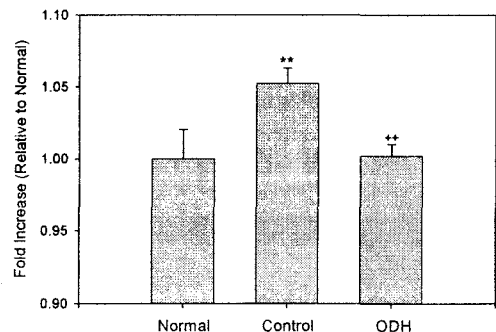


Fig. 2. Interleukin-4 concentration in serum of each studied groups. Mouse was immunized i.p. with 50  $\mu$ g of OVA at days 8 and 20, and challenged via the airway with OVA (0.1% ovalbumin in PBS) on days 21, 22, 23, 31, 32 and 33. Data are presented as the mean  $\pm$  SD of three separate experiments (n = 5 for each group) \*\* $P < 0.01$  compared with normal, \*\* $P < 0.01$  compared with control.

3. BALF interleukin-4의 변화에 미치는 영향

BALF에서의 IL-4의 함량은 normal군에 대한 비율로 산정하였다. 실험결과 normal군은  $1.000 \pm 0.026$ , control군에서는  $1.086 \pm 0.009$ , ODH군에서는  $0.990 \pm 0.026$ 이었다. Control군은 normal군에 비교하여 유의성있게 IL-4의 수준을 증가시켰으며, ODH군은 control에 비교하여 유의성있는 감소를 나타내었다. (Fig. 3).

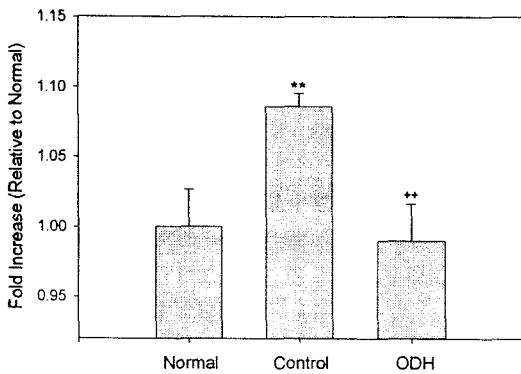


Fig. 3. Interleukin-4 concentration in BALF of each studied groups. Mouse was immunized i.p. with 50 µg of OVA at days 8 and 20, and challenged via the airway with OVA (0.1% ovalbumin in PBS) on days 21, 22, 23, 31, 32 and 33. Data are presented as the mean ± SD of three separate experiments (n = 5 for each group) \*\*;  $P < 0.01$  compared with normal,  $^{*}P < 0.01$  compared with control.

4. 비장세포의 Interleukin-4에 미치는 영향

Splenocyte를 배양한 배지에서의 IL-4의 함량은 normal군에 대한 비율로 산정하였다. 실험결과 normal군은  $1.000 \pm 0.039$ , control군에서는  $1.436 \pm 0.074$ , ODH군에서는  $1.072 \pm 0.057$ 이었다. Control

군은 normal군에 비교하여 유의성있게 IL-4의 수준을 증가시켰으며, ODH군은 control에 비교하여 IL-4의 수준을 유의성있게 감소시켰다 (Fig. 4).

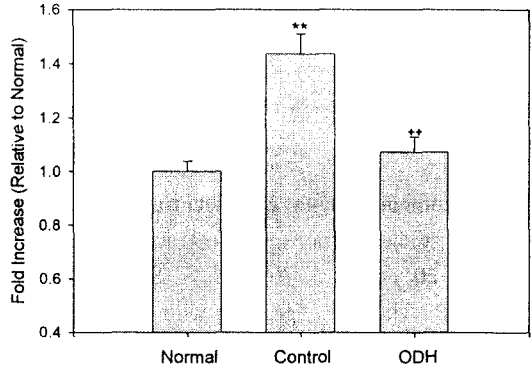


Fig. 4. Interleukin-4 concentration in culture supernatant of splenocyte each studied groups. Mouse was immunized i.p. with 50 µg of OVA at days 8 and 20, and challenged via the airway with OVA (0.1% ovalbumin in PBS) on days 21, 22, 23, 31, 32 and 33. Data are presented as the mean ± SD of three separate experiments (n = 5 for each group). \*\*;  $P < 0.01$  compared with normal,  $^{*}P < 0.01$  compared with control.

5. 혈청 immunoglobulin E의 변화에 미치는 영향

혈청중 IgE의 함량은 normal군에 대한 비율로 산정하였다. 실험결과 normal군은 1/20, 1/80, 1/320, 1/1280에서 각각  $1.00 \pm 0.20$ ,  $0.78 \pm 0.13$ ,  $0.72 \pm 0.07$ ,  $0.61 \pm 0.05$ 로 나타났으며, control군에서는 각각  $20.3 \pm 1.83$ ,  $11.61 \pm 1.11$ ,  $4.57 \pm 0.65$ ,  $1.73 \pm 0.22$ 로 나타나, normal군 보다는 유의성있게 증가하였다. ODH군에서는 각각  $14.57 \pm 1.64$ ,  $7.83 \pm 1.30$ ,  $2.65 \pm 0.98$ ,  $1.14 \pm 0.09$ 로 나타나 control군에 비하여 유의성 있는 감소를 나타내었다 (Fig. 5).

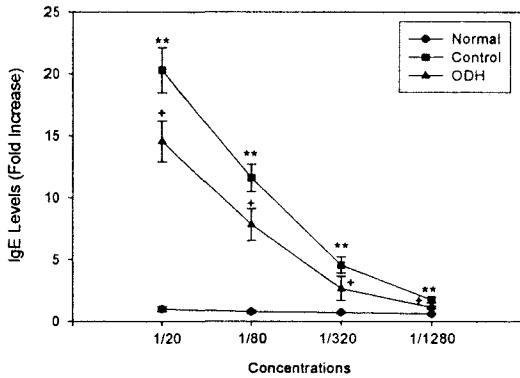


Fig. 5. Immunoglobulin E concentration in serum of each studied groups. Mouse was immunized i.p. with 50  $\mu$ g of OVA at days 8 and 20, and challenged via the airway with OVA (0.1% ovalbumin in PBS) on days 21, 22, 23, 31, 32 and 33. Data are presented as the mean  $\pm$  SD of three separate experiments (n = 5 for each group) \*\* $P < 0.01$  compared with normal, \* $P < 0.05$  compared with control.

## 고찰

喘息을 일으키는 원인으로는 알러젠의 흡입, 호흡기감염, 일상의 스트레스에 대한 심인성 생리반응, 공기오염, 기후, 약물, 운동 등이 있으며, 이 중喘息發作的 원인이 대부분 알러르기(allergy)성으로 받아들여지고 있다. 특징적인 증상으로는 발작성의 호기성호흡곤란, 천명, 과호흡, 기침, 나음(rales)을 들 수 있다<sup>6)</sup>.

哮喘證의 原因으로 朱<sup>13)</sup>는 寒冷說, 心因說을 主張하였고, 楊等<sup>14-17)</sup>은 痰因說을 主張하였고, 沈等<sup>17,18)</sup>은 痰火內鬱의 誘因으로 飲食物의 偏食을 主張하였고, 張<sup>20)</sup>은 素因說을 主張하였다. 葉<sup>21)</sup>은 一種의 感染說을 主張하였고, 近來에는 臟器의 機能不調를 原因으로 보기도 한다<sup>8)</sup>.

본 연구에서는 백화사설초가 천식에 미치는 효과를 알아보고자, Balb/c mouse에 ovalbumin으로 알러르기성 천식을 유발한 후 BALF에 존재하는 eosinophil, IL-4, 혈청중 IgE와 IL-4, splenocyte의 IL-4의 양을 관찰하였다.

많은 염증질환은 호산구증다증(eosinophilia)와 관련성이 많다. 예를 들면, 천식(asthma), 알러지성비염(allergic rhinitis), 아토피성 피부질환(atopic skin disease) idiopathic hypereosinophilic

syndrome(HES) 그리고, 염증성장질환(inflammatory bowel disease) 등이다<sup>22)</sup>. 호산구는 천식 기도내에서 흔히 관찰되며, 호산구성 기도염증은 천식의 가장 특징적인 소견중의 하나이다. Green<sup>23,24)</sup>등은 최근의 연구에서 객담 호산구증을 줄이는 치료 전략이 표준임상 가이드라인에 의한 치료 전략보다 천식발작을 줄이는데 훨씬 효과적이라 주장하였으며, 김<sup>25)</sup>등은 객담 호산구증은 전형적인 천식의 예측지표가 될 수 있음을 시사한 바 있다. 따라서 호산구의 기도내 유입기전에 대한 연구는 천식의 병리상태를 밝히고 그에 대한 치료를 고안하는데 중요하다고 할 수 있다.

호산구는 천식의 후기반응시 기도 내로 유입되어 세포막으로부터 PAF, PGF2 $\alpha$ , LTC4, LTD4 등을 생성하여 이들에 의해 강력하게 기관지를 수축시키고, 혈관투과성을 증가시켜 피하조직부종등을 유발시켜 이에 의해 이차적인 기도수축을 유발시키며, 또한 이들의 화학주성능에 의해 호산구 자신과 다른 염증반응세포를 유입시켜 천식반응을 지속시키면서, MBP, ECP등의 세포독성단백을 분비시켜 기도점막을 손상시키고 점막박탈등을 초래함으로써 기도과민성을 증가시킨다<sup>26,27)</sup>.

본 실험에서의 BALF에서 eosinophil의 수는, control군에서 normal군에 비교하여 유의성 있게 증가하였으며, ODH군은 control군에 비교하여 유의성 있는 감소를 나타내었다.

한편, 천식에서 기도내의 dendritic cell(수지상세포)은 naive T cell을 Th2 cell로 generation하는 데에 중추적인 역할을 한다<sup>28)</sup>. 수지상세포는 각 조직에서 주변의 항원(antigen)을 채집해서 림프기관으로 가서 T 림프구에 항원을 제시하는 역할을 한다<sup>28-30)</sup>. 분화된 Th2 cell은 항원제시세포와 만나 알러젠의 peptide를 공유받게 되면 IL-4, IL-5, IL-13등의 cytokine을 분비하여 알러르기 염증을 발생시키는데 있어 중심적인 역할을 담당한다<sup>31)</sup>.

IL-4는 IgE항체의 생성 및 미감작 CD4<sup>+</sup> Th cell을 Th2 cell로 발생시키는 주요자극제이다<sup>32)</sup>. T 림프구에서 유래된 다른 종류의 cytokine들은 각각 특정 Ig동형으로의 전환을 유도한다. 이 중 IL-4는 시험된 종에서는 모두 IgE에 대한 중요한 전환인자이다. 즉 IL-4는 B cell을 plasma cell로의 발달을 이끌어 IgE, IgG등의 생성을 유발시킨다<sup>33)</sup>. 이렇게 생성된 IgE는 mast cell에 작용하여 granule방출을 유도함으로써 과민반응을 일으킨다<sup>32, 35)</sup>.

본 실험에서는 BALF와 혈청 및 splenocyte에서

IL-4의 량을 측정하여 normal군에 대한 비율로 나타내었다. BALF와 혈청 및 splenocyte에서의 IL-4의 함량은 control군이 normal군에 비교하여 유의성있게 IL-4의 수준을 증가시켰으며, ODH군은 모든 경우에 유의성있게 IL-4의 수준을 감소시켰다.

IgE는 plasma cell에서 분비되는 것으로, IgE는 조직내에서 FcεR I 이라 불리는 고친화성 표면수용체를 매개로 mast cell에 강하게 결합한다. 항원이 IgE에 결합하면 이들 수용체들이 교차결합(cross-links)하게 되고, 이는 mast cell의 granule로부터 화학적 매개 물질들의 분비를 유발하게 되어 제1형 과민반응(type I hypersensitivity reaction)의 발생에 이르게 된다. 또 basophils(호염구) 및 activated eosinophil(활성화된 호산구)에도 FcεR I가 발견되는데, IgE는 여기에도 결합하여 제1형 과민반응을 일으키는데 관여할 수 있다<sup>36)</sup>. 화학적 매개물질들은 주로, histamine과 chymase, tryptase, serine esterase 등의 효소로 이러한 물질들은 조직의 기질단백질을 파괴하고, 조직의 파괴를 유도한다<sup>36)</sup>. 또한 IgE는 hay fever, asthma, hives(발진), anaphylatic shock 등의 증후와 관계되는 즉각적인 과민반응을 매개한다고 알려져 있다<sup>37,38)</sup>.

본 실험에서의 혈청 중 IgE의 함량은 control군이 normal군에 비교하여 유의성있게 IgE의 수준을 증가시켰으며, ODH군은 control군에 비교하여 유의성있는 감소를 나타내었다.

## 결 론

백화사설초가 천식에 미치는 효과를 알아보기 위하여, Balb/c mouse에 ovalbumin으로 알레르기성 천식을 유발한 후 BALF에 존재하는 eosinophil, IL-4, 혈청 중 IL-4, IgE, splenocyte의 IL-4의 량을 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. BALF에서 eosinophil의 수는 control군에서는 normal군에 비하여 유의성있게 증가하였고,白花蛇舌草투여군에서는 control군에 비하여 유의성있게 감소하였다.
2. Splenocyte를 배양한 배지 및 serum, BALF에서의 IL-4는白花蛇舌草투여군이 control에 비교하여 IL-4의 수준을 유의성있게 감소시켰다.

3. Serum에서의 IgE는 control군에서는 normal군에 비하여 유의성있게 증가하였고,白花蛇舌草투여군에서는 control군에 비하여 유의성있게 감소하였다.

이상의 결과는 백화사설초가 Th2 cell이 매개되는 천식에 유효하게 사용될 수 있는 가능성을 시사하는 것으로 사료된다.

## Acknowledgment

This work was supported by grant R12-2003-002-03002-0 from the basic research program of the Korea Science and Engineering Foundation.

## 참고문헌

1. Cohn L, Elias JA, Chupp GL. Asthma: mechanisms of disease persistence and progression. *Annu Rev Immunol.* 2004;22:789-815.
2. 공중보건편집위원회. 예방의학과 공중보건. 서울:계축문화사. 1992:129-145.
3. Chiang DJ, Ye YL, Chen WL, Lee YL, Hsu NY, Chiang BL. Ribavirin or CpG DNA sequence-modulated dendritic cells decrease the IgE level and airway inflammation. *Am J Respir Crit Care Med.* 2003;168(5):575-80.
4. Corrigan CJ, Haczku A, Gemou-Engesaeth V, Doi S, Kikuchi Y, Takatsu K, Durham SR, Kay AB. CD4 T-lymphocyte activation in asthma is accompanied by increased serum concentrations of interleukin 5. *Am Rev Respir Dis.* 1993;147:540-547.
5. 李珩九, 鄭昇杞. 東醫肺系內科學. 9. 서울:民瑞出版社. 1999:187-202, 426, 460-461, 468.
6. 전국의과대학교수역. 오늘의 진단 및 치료. 1. 서울:한우리. 1999:287-297.
7. 安徽中醫學院編. 中醫臨床手冊. 1. 서울:成輔社. 1983:115-116.
8. 上海中醫學院編. 中醫內科學. 1. 香港:商務印書館香港分館. 1975:17-23.
9. 李珩九. 五拗湯이 咳嗽 喘息에 미치는 영향. 경희대학교 대학원. 1982.

10. 鄭昇杞. 定喘湯이 喘息에 미치는 영향에 관한 實驗的 研究. 경희대학교 대학원. 1985.
11. 鄭昇杞. 加味清上補下湯이 喘息에 미치는 영향에 관한 實驗的 研究. 대한한의학회지. 1991; 12(1):118-138.
12. 朴光恩. 千縉導痰湯이 喘息에 미치는 영향에 관한 實驗的 研究. 경희대학교 대학원. 1993.
13. 朱橐. 普濟方(4). 1. 北京:人民衛生出版社. 1982: 1900.
14. 楊禮壽. 醫林撮要. 1. 서울:黑潮社. 1968:182.
15. 朱震亨. 丹溪心法附餘. 2. 서울:大星文化社. 1989: 339-340.
16. 龔延賢. 增補萬病回春(上). 1. 서울:一中社. 1991: 127-128.
17. 李梴. 原本編註醫學入門(下). 1. 서울:南山堂. 1985:1563-1564.
18. 沈金鰲. 沈氏尊生書(上). 1. 臺北:自由出版社. 1979:59.
19. 王肯堂. 六科准繩(準繩). 1. 서울:大星文化社. 1992:152.
20. 張介賓. 景岳全書. 2. 北京:中國中醫藥出版社. 1996:238.
21. 葉天士. 臨證指南醫案. 1. 上海:上海科學技術出版社. 1993: 298-300.
22. Lampinen M, Carlson M, Hakansson LD, Venge P. Cytokine-regulated accumulation of eosinophils in inflammatory disease. *Allergy*. 2004;59(8):793-805.
23. R H Green, C E Brightling, G Woltmann, D Parker, A J Wardlaw, I D Pavord. Analysis of induced sputum in adults with asthma: identification of subgroup with isolated sputum neutrophilia and poor response to inhaled corticosteroids. *Thorax*. 2002;57(10):875-879.
24. Ruth H Green, Christopher E Brightling, Susan McKenna, Beverley Hargadon, Debbie Parker, Peter Bradding, Andrew J Wardlaw, Ian D Pavord. Asthma exacerbations and sputum eosinophil counts: a randomised controlled trial. *Lancet*. 2002;360(9347):1715-1721.
25. 김창근, 유진호, 고영률, Hirohito Kita. 기도 내 호산구성 염증에서 IL-5와 Eotaxin의 역할. 천식 및 알레르기학회지. 2004;24(1):127-136.
26. 김미경. Biology of eosinophil, 대한천식및 알레르기학회 추계학술대회 초록집, 1997:409-417.
27. Garlisi CG, Kung TT, Wang P, Minnicozzi M, Umland SP, Chapman RW, Stelts D, Crawley Y, Falcone A, Myers JG, Jones H, Billah MM, Kreutner W, Egan RW. Effects of chronic anti-interleukin-5 monoclonal antibody treatment in a murine model of pulmonary inflammation. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 1999;20(2):248-255.
28. van Rijt LS, Vos N, Willart M, Kleinjan A, Coyle AJ, Hoogsteden HC, Lambrecht BN. Essential role of dendritic cell CD80/CD86 costimulation in the induction, but not reactivation, of TH2 effector responses in a mouse model of asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2004;114(1):166-173.
29. Hart DM. Dendritic cells. Unique leukocyte populations which control the primary immune response. *Blood*. 1997;90(9):3245-3287.
30. Banchereau J, Steinman RM. Dendritic cells and the control of immunity. *Nature*. 1998;392(6673):245-252.
31. 조상현, 장윤석. CpG-ODNs를 이용한 천식의 새로운 면역조절요법. 천식 및 알레르기. 2002; 22(1):43-53.
32. 강제성 외. 세포분자면역학. 4. 서울:법문사. 2002:198. 258.
33. 최인선. 동물 천식모형에서 선택적 면역 조절 요법. 천식 및 알레르기. 2002;22(4):663-668.
34. Paul M. O'Byrne, Mark D. Inman and Ellinor Adelroth. Reassessing the Th2 cytokine basis of asthma. *TRENDS in Pharmacological Sciences*. 2004;25(5):244-248.
35. Douglas S. Robinson. New Therapies for Asthma: Where Next? *Pediatric Pulmonology*. 2003;36:369-375.
36. Charles A Janeway, Paul Travers, Mark Walport, Mark Shlomchik. *Immuobiology*. New York:Gerald. 2001:473. 481.
37. S.I. Mayr, R.I. Zuberi, F.-T. Liu. Role of immunoglobulin E and mast cells in murine models of asthma. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 2003;36:821-827.
38. Douglas S. Robinson. T-cell cytokines: what we have learned from human studies. *Paediatric Respiratory Reviews*. 2004;5(Suppl A):S53-58.