

원저

前胡藥鍼이 Ovalbumin-induced Asthma Mouse Model에 미치는 영향

노홍표 · 설인찬 · 김윤식

대전대학교 한의과대학 심계내과학교실

Abstract

The Effects of Peucedani Radix Herbal Acupuncture at St36 on Ovalbumin-induced Asthma in C57BL Mouse

Roh Hong-pyo, Seol In-chan and Kim Yoon-sik

Department of Cardiovascular & Neurologic Disease, College of Oriental Medicine,
Dae-Jeon University

Objectives : The aim of this study was to investigate the effect of Peucedani Radix herbal acupuncture(PR-HA) at St36(joksamni) on ovalbumin-induced asthma in mice.

Methods : C57BL/6 mice were sensitized and challenged with OVA(ovalbumin) for 12 weeks(once a week) C57BL/6 mice were injected, inhaled and sprayed with OVA for 12 weeks (3times a week). One of the two experimental groups was just treated with needle-prick on St36 and the other group was treated with 1% concentrations of PR-HAS at St36, for the later 8 weeks (3times /week).

Results : 1. The weight and total cells of lung of the mice group treated with PR-HA decreased significantly compared with those of control group.

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

3. Eosinophils in BALF of the mice group treated with PR-HA in Photomicrographs decreased significantly compared with those of control group.

4. According to Histological analysis of lung sections, it decreased significantly adhesion of collagen in PR-HA than those of control group

· 접수 : 2005년 8월 1일 · 수정 : 2005년 11월 18일 · 채택 : 2005년 11월 18일
· 교신저자 : 김윤식, 대전광역시 중구 대흥동 22-5번지 대전대학교 부속한방병원 순환기내과
Tel. 042-229-6806 Fax. 042-254-3403 E-mail : yoonsik@dju.ac.kr

5. The concentration of IgE, IL-4, IL-5, in BALF and IL-4, IL-5, IL-13 in serum of the mice group treated with PR-HA decreased significantly compared with that of control group.

6. The number of Gr-1+/CD11b+, CD11b+, CD3-/CCR3+, CD4+, CD3e+/CD69+, CD23+/B220+ cells in the lungs of the mice group treated with PR-HA decreased significantly compared with those of control group.

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

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

Key words : OVA-induced asthma, PR(Peucedani Radix), herbal acupuncture

I. 緒 論

喘息은 여러 세포와 다양한 매체들이 관여하는 기도의 慢性 알레르기성 염증성 질환으로 기도의 염증은 기도과민증의 원인이 되고, 반복적인 喘鳴, 呼吸困難, 가슴 답답함, 기침 등의 증상을 일으킨다¹⁾.

喘息은 전 세계적으로 그 유병률이 5-10%정도에 달하며 우리나라의 몇몇 역학조사 결과도 이와 일치하며¹⁾, 産業社會의 發達, 環境公害 특히 大氣汚染의 擴散, 吸煙人口의 增加로 인해 증가되고 있는 질환이다²⁻³⁾.

喘息의 原因에 대해서는 알레르기, 感染, 日常의 스트레스에 對한 心因性生理反應, 空氣汚染, 自律神經失調 등을 들고 있으나, 아직까지는 알레르기로 대부분 받아들여지고 있고, 氣道の 炎症細胞의 浸潤이 共通의으로 나타나며 氣道の 平滑筋 收縮, 氣道 粘膜炎上皮的 肥厚, 氣道內的 粘液의 存在 등이 喘息의 氣道閉塞에 關與한다³⁻⁴⁾. 1980년대 이후 喘息의 생리적 특징인 기도과민증이 기도의 알레르기성 염증반응에 기인한다는 학설이 정립되었고, 2003년 한국 기관지천식 치료지침이 발표되어 우리나라 喘息의 중증도 분류와 그에 따른 단계별 약물치료 원칙 등이 발표되었다¹⁾.

韓醫學的으로 喘息은 呼吸急促, 喘鳴有聲을 特徵的인 症候群으로 하는 哮喘證과 類似하며³⁾, 韓醫學界에서는 최근 단일약제인 羌活⁵⁾, 細辛⁶⁾, 桑葉⁷⁾, 升麻⁸⁾, 沙蔘⁹⁾, 桑白皮¹⁰⁾, 熊膽¹¹⁾, 冬蟲夏草¹²⁾ 등을 藥鍼으로, 또한 복합방형식의 五拗湯¹³⁻¹⁴⁾, 清上補下湯¹⁵⁾, 升麻葛根湯加味方¹⁶⁾, 桂薑棗草黃辛附湯¹⁷⁾ 등을 이용하여 喘息 및 면역 등에 관한 研究결과들에 대해

보고되고 있으나, 前胡藥鍼液이 喘息에 대한 抑制效果를 알레르기 喘息이 誘發된 실험동물을 통해 검증하여 보고된 바는 없었다.

이에 著者는 C57BL/6생쥐에 ovalbumin을 吸入시켜 알레르기 喘息病態를 誘發시키고 降氣祛痰, 宣散風熱하는 藥物인 前胡¹⁸⁾藥鍼을 足三里(St36)에 刺入한 후 BALF 및 血清檢査를 통하여 喘息抑制 및 免疫調節에 대한 영향을 확인한 바 有意性있는 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

II. 實 驗

1. 材料

1) 動物

動物은 雌性인 4~5週齡의 C57BL/6생쥐를 대한 실험센터에서 공급받아 實驗 當日까지 固型飼料(抗生劑 無添加, 삼양사료)와 물을 充分히 供給하고, 室溫 22±2℃를 維持하여 2週日 間 實驗室環境에 適應시킨 後 實驗에 使用하였다.

2) 藥材

實驗에 使用된 前胡(Peucedani Radix ; 以下 PR 이라 表現함)은 大田大學校 附屬韓方病院에서 구입한 것을 精選하여 使用하였다.

3) 藥鍼液의 製造

前胡 55g을 粉碎機를 利用해서 粉末로 하여 圓形

三角 flask에 넣고 蒸溜水 500ml을 가하여 3時間 동안 shaking water bath에서 流出하고 濾過하였다. 이 沈澱物을 濾過 paper로 3回 濾過한 후 rotary evaporator에 降壓 濃縮 하였다. 前胡 濃縮液에 95% ethyl alcohol 30ml을 가하여 室溫에서 攪拌한 후 放置하여 生成된 沈澱物을 濾過하였다. 濾液을 다시 rotary evaporator로 强壓 농축하여 生成된 침전물을 餘別 하였다. 餘液을 다시 85% ethyl alcohol 30ml을 가하여 잠시 攪拌 후 放置하여 生成된 沈澱物을 餘別하고 다시 餘液을 75% ethyl alcohol 30ml를 加한 후 같은 操作을 2回 反覆한 다음 餘液 中 ethyl alcohol을 減壓 除去하였다. 殘渣全量을 20g이 되게 하고 1N NaOH로 pH6.8로 調節하여 低溫에서 12時間 放置한 후 微量의 浮游液을 餘別한 후 滅菌하여 藥鉞液을 PBS로 1%로 稀釋하여 使用하였다

2. 方法

1) In vitro

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

2) In vivo

① Asthma mouse model

실험 1주째 200ul의 OVA/alum(500ug/ml)을, 2,3주째에는 100ul OVA/alum (500ug/ml)을 생쥐의 복강에 투여(I.p)하였다. 4주째에는 마취 후에 100ul의 OVA/alum (500ug/ml)을 기도투여(I.t)하였다. 5-8주째까지는 2.5mg/ml의 OVA/PBS 40ul을, 9-12주째까지는 5mg/ml의 OVA/PBS 40ul을 air compressor를 이용하여 20분간 주3회 노출시켰다. 5주째부터 12주째까지 8주간 주 3회. Needle-prick群은 足三里에 주사기를 刺入 後 즉시 제거하였고, 藥鉞群은 足三里에 1%의 前胡藥鉞液(100ul)을 注入하였다.

② 4가지 실험군의 分類

a. 正常群(normal)-인공적 처리를 하지 않은 실험군.

b. 對照群(OVA-control)-인공적으로 喘息을 유발시킨 실험군.

c. Needle-Prick群(OVA-rIL-10)-인공적으로 喘息을 유발시키고 足三里(St36)에 刺鉞한 실험군.

d. 藥鉞群(OVA-PR-HAS)-인공적으로 喘息을 유발시키고 足三里(St36)에 前胡藥 針液을 刺鉞한 실험군.

③ Bronchoalveolar-lavage fluid(BALF) 分離

생쥐를 癡醉한 후 表皮를 열고 氣道에 10% FBS/DMEM medium을 넣은 注射器를 삽입하고 끈으로 묶어 固定한 후 10% FBS/DMEM medium 3회 循環시켜 分離하였다.

④ Photomicrographs

분리된 BALF를 세척해서 Cytospin centrifuge에 1000rpm으로 5분간 원심 분리하여 고정시킨 후 blood smears staining set (Merck, Germany)를 사용하여 염색 하였다. 공기 중에서 건조시킨 후 bright microscope (Nikon, Japan; ×400)로 測定하였다.

⑤ Histological analysis

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

⑥ Fluorescence activated cell sorter(FACS) Analysis

생쥐에서 分離해낸 폐 조직을 잘게 절단한 후 collagenase를 가하여 incubation 통해 分離해 낸 細胞에 標式抗體를 反應시켜 Flow cytometer로 分析하였다.

⑦ Enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA) Analysis

ELISA Kit를 使用하여, 생쥐에서 分離한 BALF와 serum에서 各 cytokine량을 測定하였다. 抗 cytokine 抗體가 코팅된 96well plate에 BALF 또는 serum을 加하여 反應 시킨 后 4번 洗滌하였다. 그 후 biotin이 標式된 抗cytokine 抗體를 加하여 反應 시킨 后 4번 洗滌하고 여기에 straptavidin-HRP를 加하여 Elisa-reader를 利用하여 測定하였다.

⑧ RT-PCR

a. Total RNA의 抽出

各 실험군의 생쥐에서 떼어낸 폐 組織을 homogenizer 를 이용하여 분쇄한 後 RNAzolB(Tel-Test, USA) 를 利用하여 total RNA를 抽出하였다. 抽出한 RNA 는 DEPC(Diethyl Pyrocarbonate)를 處理한 20 μ l의 蒸溜水에 溶解시켜 精량하고, RNA를 확인하기 위하여 RNA 4 μ g을 EtBr이 들어있는 formaldehyde buffer와 섞어 70 $^{\circ}$ C에서 10分間 denaturation 시킨 後, formaldehyde를 넣은 1.5% agarose gel에 loading dye와 함께 loading 하여 그 量을 確認하였다. 確認 한 RNA는 RT-PCR(Reverse Transcription- Polymerase Chain Reaction)에 使用하였다.

b. cDNA 合成

逆轉寫 反應은 準備된 total RNA 3 μ g에 該當하는 量을 75 $^{\circ}$ C에서 10分 동안 denaturation시키고, 이 denaturated total RNA 3 μ g에 2.5 μ l의 10mM dNTPs, 1 μ l의 random sequence hexanucleotides (25pmole/25 μ l), RNA inhibitor로서 1 μ l의 RNasin(20U/ μ l), 1 μ l의 100mM DTT 및 4 μ l의 5 \times RT buffer(250mM Tris-Cl, pH8.3, 375mM KCl, 15mM MgCl₂)를 混合한 後, 1 μ l의 M-MLV RT(200U/ μ l)를 添加한 後 DEPC 處理된 蒸溜水를 더하여 最終 부피가 20 μ l가 되도록 하였다. 이 20 μ l 의 反應 混合液을 잘 섞은 後 遠心分離하여 37 $^{\circ}$ C 恒

溫 水槽에서 60分 동안 反應시켜 first-strand cDNA 를 合成한 다음, 95 $^{\circ}$ C에서 10分 동안 放置하여 M-MLV RT를 不活性化시키고 즉시 얼음으로 옮겼다. 이렇게 合成이 完了된 first-strand cDNA는 PCR(Polymerase Chain Reaction)에 使用하였다.

c. cDNA의 PCR 增幅

PCR은 Primus 96 Legal PCR system(with high pressure lid, MWG in Germany)를 利用하여 수행 하였다. 反應은 이미 合成된 1 μ l의 first-strand cDNA를 主型으로 使用하였다. 主型에 대한 β -actin, IL-4, IL-5, IL-13, IL-1 β , TNF- α 에 대한 sense primer (20pmole/ μ l)와 antisense primer(20pmole/ μ l)를 混合하여 1 μ l를 加하고, 다시 3 μ l 2.5mM dNTPs, 3 μ l 10 \times PCR buffer(100mM Tris-HCl, pH 8.3, 500mM KCl, 15mM MgCl₂) 및 0.18 μ l Taq polymerase(5U/ μ l)를 添加한 다음 최종 부피가 30 μ l 되도록 멸균증류수를 加하고 predenaturation; 95 $^{\circ}$ C, 5분, denaturation; 74 $^{\circ}$ C, 5분, annealing; 55 $^{\circ}$ C, 1분, elongation; 72 $^{\circ}$ C, 1분을 25cycle한 後 postelongation 을 72 $^{\circ}$ C에서 3분 동안의 條件으로 PCR을 수행하였다. 각 PCR products는 20 μ l씩 1.2% agarose gel에 loading하여 50V 條件에서 30분간 전기영동을 통하여 分析하였다. Oligonucleotide의 염기배열은 Table. 1과 같다.

Table 1. Oligonucleotide의 염기배열

| | | |
|----------------|---------------------------|---------------------------------|
| β -actin | sense oligonucleotide | 5'-TGGAATCCTGATCCATGAAC-3' |
| | antisense oligonucleotide | 5'-TAAAACGCAGCTCAGTAGTCCG-3' |
| IL-4 | sense oligonucleotide | 5'-AGCCATATCCACGGATGCGAC-3' |
| | antisense oligonucleotide | 5'-GCATGGTGGCTCAGTACTACG-3' |
| IL-5 | sense oligonucleotide | 5'-GCTCCTTCAGGAATCTGTTC-3' |
| | antisense oligonucleotide | 5'-GGCTCATGTACTTTCATGAG-3' |
| IL-13 | sense oligonucleotide | 5'-GCCGGGATGGGCATTCCACGTGTG-3' |
| | antisense oligonucleotide | 5'-GGACGCCAAGGTCAAGAACAGTTG-3' |
| IL-1 β | sense oligonucleotide | 5'-CCTCTTCTTGAGCTTGCAAC-3' |
| | antisense oligonucleotide | 5'-AGCCCATGAGTTCCATTCAC-3' |
| TNF- α | sense oligonucleotide | 5'-AGCGGCTGACTGTCAGATTGTTAG-3' |
| | antisense oligonucleotide | 5'-GTCACAGTTTTTCAGCTGTATAGGG-3' |

⑨ 統計處理

통계는 student's t-test로 하였다

Ⅲ. 結果

1. In vitro screening

1) FACS analysis

① Granulocytes/lymphocytes population(%)

肺細胞中 Granulocytes/lymphocytes의 比率이 對照群에서는 26.8%이었고, PR-HAS에서는 15.3%로 對照群에 比하여 減少하였다(Fig. 1-1).

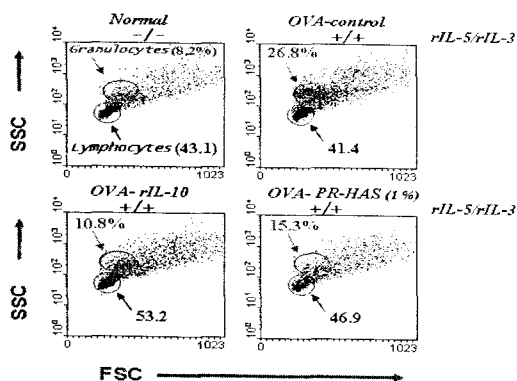


Fig. 1-1. Effect of PR-HAS on granulocytes/lymphocytes population (%) in mouse OVA-induced asthma lung cells

② CD3e-/CCR3+

肺細胞中 CD3e-/CCR3+ 細胞의 比率이 對照群에서는 92.2%이었고 PR-HAS에서는 84.6%로 낮아졌다(Fig. 1-2).

③ CD69+/CD3e+

肺細胞中 CD69+/CD3e+의 比率이 對照群에서는 46.8%이었고 PR-HAS에서는 39.8%로 對照群에 比하여 抑制되었다(Fig. 1-3).

④ CD4+ 및 CD8+

肺細胞中 CD4+ 細胞의 比率이 對照群에서는 41.6%이었고 PR-HAS에서는 43.2%로 增加했고, CD8+의 比率은 對照群이 20.1%이었고 PR-HAS에서는 32.1%로 增加했다(Fig. 1-4).

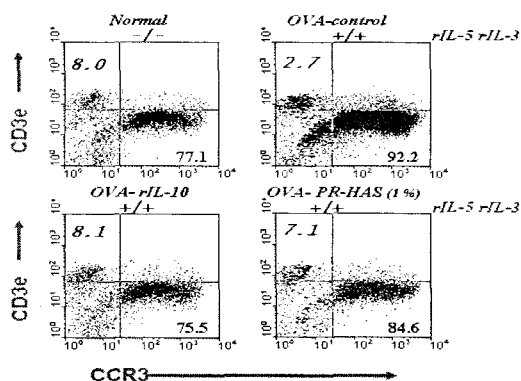


Fig. 1-2. Effect of PR-HAS on the percentage of CD3e-/CCR3+ population (%) in mouse OVA-induced asthma lung cells

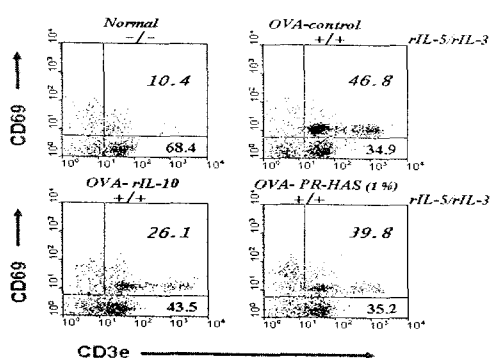


Fig. 1-3. Effect of PR-HAS on the percentage of CD69+/CD3e+ population (%) in mouse OVA-induced asthma lung cells

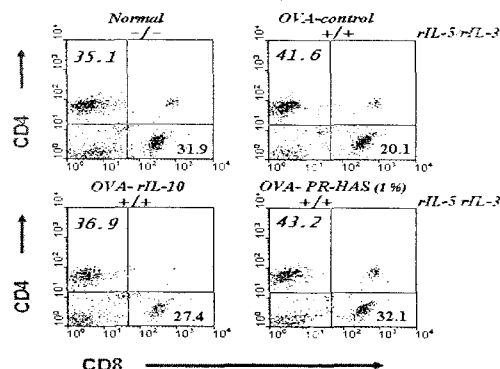


Fig. 1-4. Effect of PR-HAS on the percentage of CD4+ and CD8+ population(%) in mouse OVA-induced asthma lung cells

⑤ CD23+/B220+

肺細胞中 CD23+/B220+의 비율이 對照群에서는 1.59% 이었고 PR-HAS에서는 1.04%로 抑制되었다(Fig. 1-5).

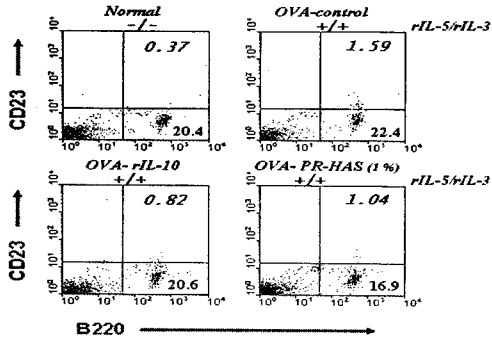


Fig. 1-5. Effect of PR-HAS on the percentage of CD23+/B220+ population (%) in mouse OVA-induced asthma lung cells

2. In vivo

1) Lung weight

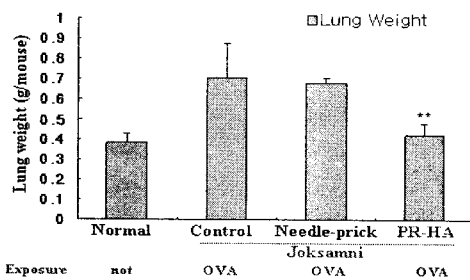


Fig. 2-1. Effect of PR-HA on lung weight in mice with OVA-induced asthmatic mouse lung weight

Values represent the means±SEM of 7mice(*: p<0.01).

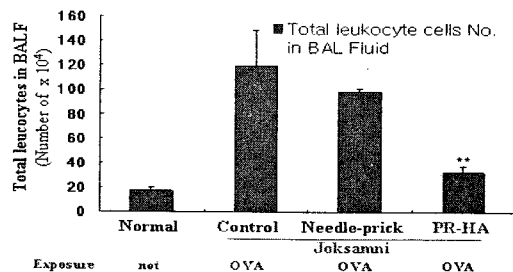


Fig. 2-3. The number of Total leukocytes in bronchoalveolar lavage fluid(BALF)

Values represent the means±SEM of 7mice(**: p<0.01).

생쥐의 폐 무게를 測定한 結果 PR-HA에서는 對照群보다 무게가 有意性있게 減少하였다(Fig. 2-1).

2) Cell count

① Total cells in Lung

생쥐의 폐에서 적혈구를 제거한 후 細胞數를 측정한 結果 PR-HA에서는 총세포수가 對照群에서 보다 有意性있게 減少했다(Fig. 2-2).

② Total Leukocyte in BALF

BALF에서 적혈구를 제거한 후 細胞數를 count하였다. 그 結果 對照群에 비하여 PR-HA에서 백혈구가 有意性있게 減少하였다(Fig. 2-3).

③ Eosinophils in BALF

BALF內 호산구 수를 count한 結果, PR-HA에서 對照群에 비하여 호산구가 有意性있게 減少했다(Fig. 2-4).

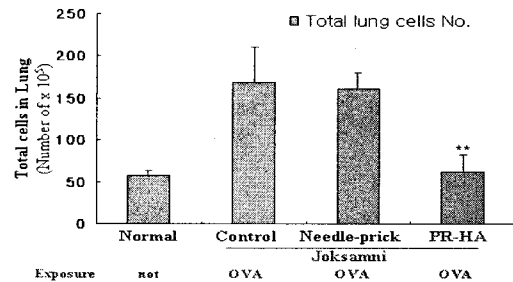


Fig. 2-2. The number of total cells in OVA-induced asthmatic mouse lung tissue

Values represent the means±SEM of 7mice(**: p<0.01).

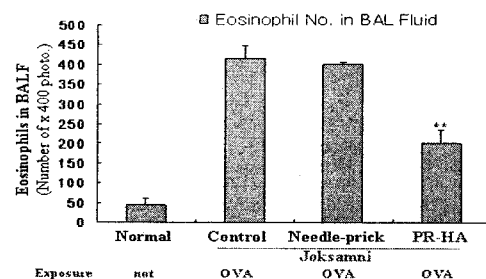


Fig. 2-4. The number of Eosinophil in bronchoalveolar lavage fluid(BALF)

Values represent the means±SEM of 7mice(**: p<0.01).

3) Photomicrographs of Eosinophil in BALF

BALF를 염색하여 관찰한 결과 BALF內 對照群에서는 호산구가 다량으로 관찰되었으며 PR-HA에서는 호산구가 현저하게 減少하였다(Fig. 2-5)

4) Histological analysis of lung sections

폐 조직을 염색하여 관찰한 결과 對照群에서는 collagen이 조직에 다량으로 부착되어 있는 것이 관찰되었으며 前胡藥鉞群(PR-HA)에서는 collagen의 부착이 현저하게 減少하였다(Fig. 2-6).

5) ELISA

① IgE in BALF

생쥐의 폐에서 분리한 BALF를 이용하여 分析한

結果, 對照群에 비하여 PR-HA에서 IgE의 分泌가 유의성있게 抑制되었다(Fig. 2-7).

② IL-4 in BALF

생쥐의 폐에서 분리한 BALF를 이용하여 分析한 結果, 對照群에 비하여 PR-HA에서 IL-4의 分泌가 유의성있게 抑制되었다(Fig. 2-8).

③ IL-5 in BALF

생쥐의 폐에서 분리한 BALF를 IL-5 ELISA kit를 이용하여 分析한 結果, 對照群에 비하여 PR-HA에서 IL-5의 分泌가 유의성있게 抑制되었다(Fig. 2-9).

④ IL-4 in Serum

생쥐로부터 분리한 serum을 IL-4 ELISA kit를 이용하여 分析한 結果, 對照群에 비하여 PR-HA에서 IL-4의 分泌가 현저하게 抑制되었다(Fig. 2-10).

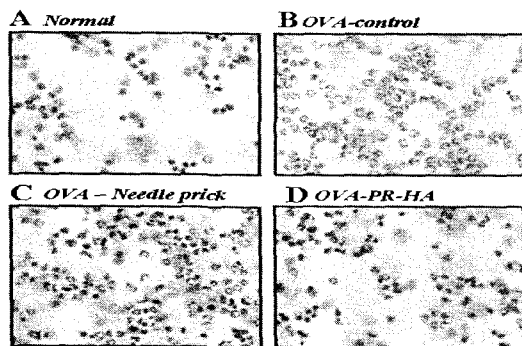


Fig. 2-5. Photomicrographs of BALF cytopins from mice

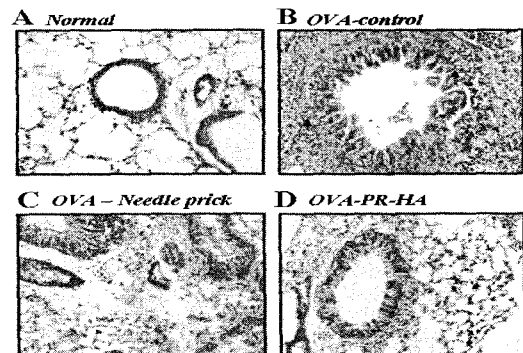


Fig. 2-6. Histological analysis of lung sections from mice

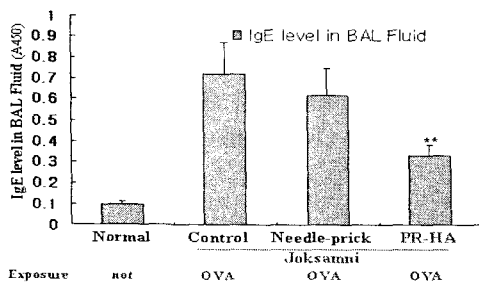


Fig. 2-7. The level of IgE in bronchoalveolar lavage fluid(BALF)

Values represent the means±SEM of 5mice(**: p<0.01).

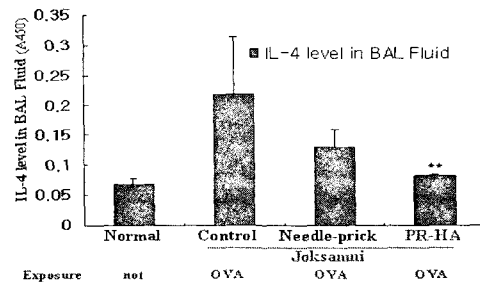


Fig. 2-8. The level of IL-4 in bronchoalveolar lavage fluid(BALF)

Values represent the means±SEM of 5mice(**: p<0.01).

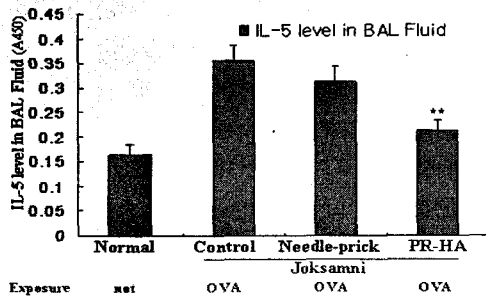


Fig. 2-9. The level of IL-5 in bronchoalveolar lavage fluid(BALF)

Values represent the means±SEM of 5mice(**: p<0.01).

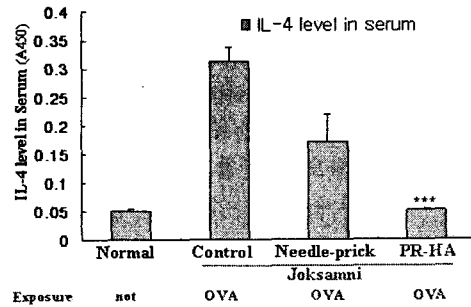


Fig. 2-10. The level of IL-4 in C57BL/6 mouse Serum

Values represent the means±SEM of 5mice(***: p<0.001).

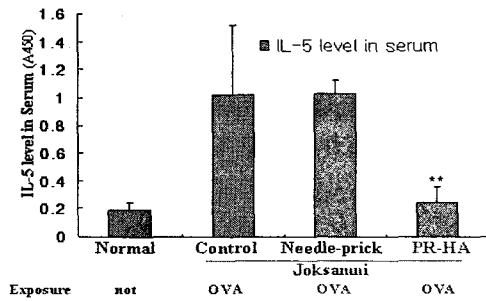


Fig. 2-11. The level of IL-5 in C57BL/6 mouse Serum

Values represent the means±SEM of 5mice(**: p<0.01).

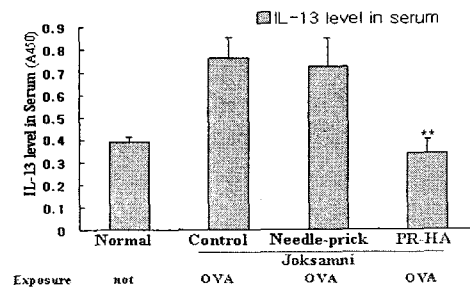


Fig. 2-12. The level of IL-13 in C57BL/6 mouse Serum

Values represent the means±SEM of 5mice(**: p<0.01).

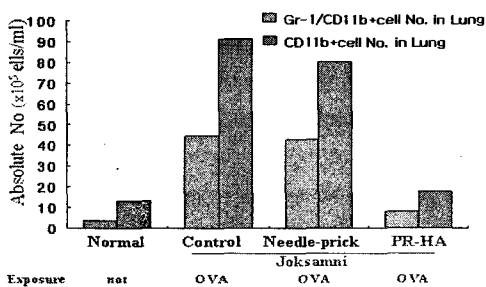


Fig. 2-13. Effect of PR-HA on Gr-1+/CD11b+ cell number in OVA-induced asthmatic mouse lung

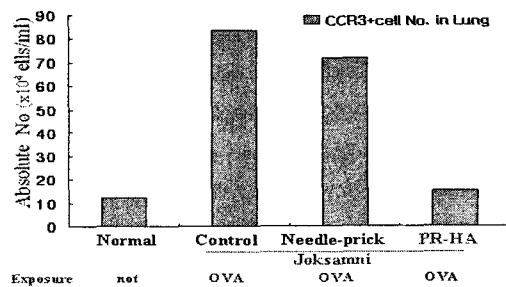


Fig. 2-14. Effect of PR-HA on CCR3+ cell number in OVA-induced asthmatic mouse lung

⑤ IL-5 in Serum

생쥐로부터 분리한 serum을 시판 IL-5 ELISA kit(Biosource, U.S.A)를 이용하여 분석한 결과, 對照群에 비하여 PR-HA에서 IL-5의 分泌가 有意性있게 抑制되었다(Fig. 2-11).

⑥ IL-13 in Serum

생쥐로부터 분리한 serum을 시판 IL-13 ELISA kit(Biosource, U.S.A)를 이용하여 분석한 결과, 對照群에 비하여 PR-HA에서 IL-13의 分泌가 有意性있게 抑制되었다(Fig. 2-12).

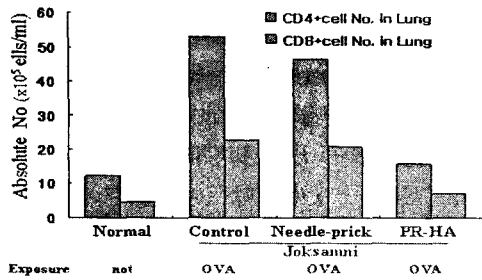


Fig. 2-15. Effect of PR-HA on CD4 and CD8 cell number in OVA-induced asthmatic mouse lung

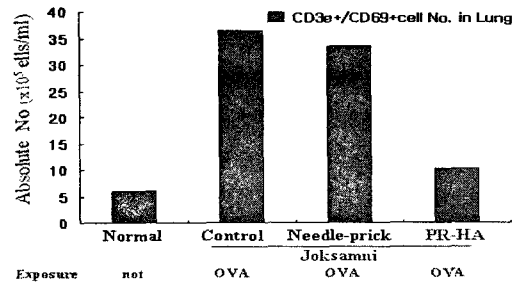


Fig. 2-16. Effect of PR-HA on CD3e+/CD69+ cell number in OVA-induced asthmatic mouse lung

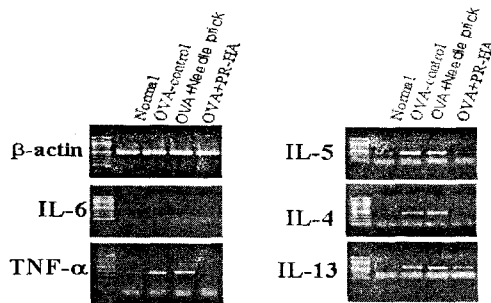


Fig. 2-17. mRNA expression of β -actin, IL-5, IL-6, IL-4, TNF- α and IL-13 in the lung

7) RT-PCR

RT-PCR을 이용하여喘息 유발과 관련된 여러 cytokine 들의 mRNA 發顯을 관찰한 結果, IL-5, IL-4, TNF- α , IL-13등의 mRNA 發顯이 對照群에 비하여 PR-HA에서 현저히 減少하였다(Fig. 2-17).

IV. 考 察

6) FACS

FACS分析에 의해 생쥐의 肺에서 각 細胞의 수를 測定하였다.

① Gr-1+/CD11b+

Gr-1+/CD11b+細胞와 CD11+細胞는 對照群에 비하여 PR-HA에서 減少하였다(Fig. 2-13).

② CD3-/CCR3+

CCR3+細胞는 對照群에 비하여 PR-HA에서 減少하였다(Fig. 2-14).

③ CD4+ 및 CD8+

CD4+細胞는 對照群에 비하여 PR-HA에서 減少하였으나, CD8+細胞는 對照群에 비하여 有意性있는 減少를 보이지 않았다(Fig. 2-15).

④ CD3e+/CD69+

CD3e+/CD69+細胞는 對照群에 비하여 PR-HA에서 減少하였다(Fig. 2-16).

喘息이란 다양한 자극에 대한 기관지의 반응성 증가를 특징으로 하는 기도 질환으로, 생리적으로 공기 통로의 광범위한 수축을 나타내고 이는 자연적으로 또는 치료의 결과로 해소되기도 하며, 또한 임상적으로 발작적인 호흡 곤란, 기침,喘鳴音 등의 소견을 보인다¹⁹⁾.

喘息의 病因에 대해서는 아직까지 충분히 규명되어 있지 않지만, 일차적으로 기도의 아급성 염증질환으로 간주하는 경향이며, 또한 조직비만세포, 호산구, T 림프구, 대식세포와 다른 폐세포에서 유래한 많은 사이토카인이 천식반응의 시작과 지속에 중대한 역할을 한다. 감각된 조직비만세포는 탈과립되어 히스타민, 브라디키닌, 화학유주인자, PAF(platelet activating factor)와 아라키돈산의 대사물인 프로스타글란딘과 류코트리엔 등의 매개체를 분비함으로써 천식반응에서 중추적 역할을 한다. 신경인자가 이 과정에서 반응을 증폭시키고, 이런 매개체가 국소적으로 작용하여 기관지수축, 세포침윤, 혈소관 활성화, 혈관투과성 증가, 부종 및 점액분비 증가 등이 일어나게 된다. 비만세포 외에도 호산구, 호중구, 림프구 등의 다른

폐세포들도 천식에서 기도염증의 면역병인론에서 중요한 역할을 하고, 기도의 협착은 평활근 경련, 기도의 부종과 염증 및 점액감입에 의해 복합적으로 발생한다¹⁹⁻²⁰.

喘息의 症狀는 重證보다 輕證이 많아서 發作的인 기침, 呼吸困難 및 喘鳴의 전형적인 3대 증상이 나오는 경우보다 지속적인 기침, 胸部壓迫感, 咽喉의 異物感 같은 단순한 증상만을 호소하는 경우가 더 많다. 통상 달리기 등의 운동 후에 喘鳴이 나타나거나 上氣道痰 후에 呼吸困難이 發生하는 경우가 많다. 그러나 生命을 위협하는 심한 急性 喘息發作으로 즉각적인 應急治療 및 入院이 絕對的으로 필요한 경우도 적지 않다²¹.

韓醫學에서의 喘息은 呼吸急促, 喘鳴有聲이 特異 症狀로 나타나는 哮喘증에 該當되며³, 隋 時代 巢의 《諸病原候論》²²에 呻嗽라 하여 그 特徵의 症狀이 記述된 以後 많은 醫書들에 言及되고 있다. 歷代 醫家들 중 明代 이후에는 哮喘 喉中有痰聲한 것을 말하며, 喘이란 呼吸急促한 것을 말한다고 하여 그들을 구분하였으나, 近來에 와서는 哮喘이라 並稱하여 喘鳴有聲하고 呼吸急促한 것을 特徵으로 하는 症候群으로 인식하고 있다²³. 우리나라에서는 許²⁴가 喘證을 寒喘, 痰喘, 氣喘, 火喘, 水喘, 久喘, 胃虛喘, 陰虛喘의 8종으로 구분하였고, 현재는 주로 寒冷, 심리적인, 유전적소질, 痰, 과민반응, 그리고 脾, 肺, 腎 등의 호흡장부의 기능장애로 보고 있다^{4,25}.

近來 韓醫學에서 哮喘의 病因病理는 원래 體質이 脾腎不足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함으로 哮喘이 發生하고, 或은 疲勞過度하여 거둑 脾陽을 傷하여 痰濕이 더욱 盛함으로 哮喘이 發生한다 하였다²⁶⁻²⁹.

免疫은 生體가 自己와 非自己를 識別하는 機構로 外部로부터 侵入하는 微生物, 同種의 組織이나 體內에서 생긴 突然變異產物 等과 特異하게 作用하여 非自己를 除去함으로써 個體의 恒常性을 維持하는 現象을 말하는 것이며, 免疫反應은 非自己를 抗原으로 認識하고 特異하게 抗體를 生産하여 이에 對處하고 處理하는 連鎖的 反應으로 大食細胞, 림프구, 中性球 등의 免疫細胞와 抗體, 補體 등이 주로 關與한다³⁰⁻³¹.

免疫細胞 中 림프구는 末梢 血液 白血球 중 약 20%를 차지한다. 機能上 림프구의 細胞膜 表面에 存在하는 수용체에 따라 크게 T 및 B 림프구로 區分되며, 免疫을 림프구를 中心으로 區分하면, T 림프구를 中心으로 한 細胞相互 關係에 의한 細胞性 免疫

反應(cell mediated immune response)과 B림프구로부터 形成된 免疫反應에 의한 體液性 免疫反應(humoral immune response)으로 區分되어진다³².

韓醫學的으로 免疫의 概念은 《素問·刺法論》³³의 “正氣存內, 邪不可干”, 《素問·上古天眞論》³³의 “眞氣從之, 精神內守, 病安從來”, 《素問·評熱病論》³⁴의 “邪氣所溘, 其氣必虛”, 《靈樞·口問》³⁴의 “邪氣所在, 皆爲不足”, 《靈樞·百病始生》³⁴의 “風雨寒熱不得虛, 邪不能獨傷人” 등에 나타나며, 이들은 疾病의 發生 및 進行을 正邪의 抗爭의 過程으로 認識하고 疾病發生을 正氣의 虛弱으로 보았다. 즉, 正氣는 人體 內에서 一切의 疾病에 抵抗하는 免疫과 類似한 概念으로 邪氣는 一切의 疾病을 일으키는 原因要素의 總稱으로 보아, 疾病을 豫防하고 健康한 狀態를 維持함에 있어서 가장 重要한 것은 正氣를 調養하는 것이라고 하였다. 그러므로 治法은 人體의 抵抗力을 調節하고 安定性을 增強하는 扶正法과 免疫機能을 破壞하는 要素를 除去하는 去邪法이 重要視되고 있다³⁵.

前胡(PEUCEDANI RADIX)는 繖形科(미나리과; Umbelliferae)에 속한 바다나물의 뿌리를 건조한 것으로 nodakenin을 약 1.61% 함유하는 외에 spongesterol, mannitol, 精油를 含有하며, 性은 微寒 無毒하고, 味는 苦辛한 藥材이다¹⁸.

이에 著者는 ovalbumin을 흡입시켜 감작된 생쥐의 알레르기 천식 병태모델에서 降氣祛痰, 宣散風熱하여 風熱咳嗽痰多를 치료하는 效能¹⁸을 지니고 있는 前胡로 藥鍼液을 製造한 후 足三里³⁶⁻³⁷에 자침하여 생쥐의 폐 무게, 폐의 총세포수, BALF內 leukocyte 수, BALF內 eosinophil수, BALF內 IgE, IL-4, IL-5의 분비량, serum內 IL-4, IL-5, IL-13의 분비량을 측정하고, 또한 Gr-1+/CD11b+세포수, CD3-/CCR3+세포수, CD4+ 및 CD8+세포수, CD3e+/CD69+세포수의 변화, RT-PCR을 이용한 mRNA의 발현을 측정함으로 前胡가 천식 및 면역조절에 미치는 영향을 확인하고자 하였다.

In vivo에서 폐의 무게를 측정한 결과, 對照群에 비하여 PR-HA에서 무게가 감소하였다(Fig. 2-1). 폐의 질량증가는 폐와 기관지의 염증으로 collagen의 합성이 이루어진 결과로 인한 것으로 폐와 기관지의 병리학적인 변화를 의미하고, 폐의 질량증가가 前胡藥鍼으로 폐의 질량이 감소하였다는 말은 collagen의 합성이 줄었음을 나타낸다. 따라서 前胡藥鍼이 폐와 기관지의 염증의 감소에 효과가 있는 것을 나타낸다.

폐의 총 세포수를 살펴보면, 對照群에 비하여

PR-HA에서 현저하게 감소하였다(Fig. 2-2). 세척액 내 총세포수가 높다는 것은 비만세포, 호산구, 림프구, 대식세포 등의 천식을 일으키는 면역세포들이 증식이나 활성화되어 기관지 및 폐에 침착, 침윤되어 있음을 의미하며, 기관지 세척액내 세포수증가가 前胡藥鉞으로 억제 된 것으로 보아 前胡藥鉞이 면역세포의 침착 및 침윤과 염증에 있어서 억제효과가 있는 것으로 보인다.

또한 BALF內的 백혈구의 수와 호산구의 수를 살펴본 결과, 對照群에 비하여 PR-HA에서 현저하게 감소하였다(Fig. 2-3, 4). 기관지 세척액내 림프구 수의 감소나 호산구 수의 감소는 肺의 염증이나 기관지 천식반응의 감소를 뜻하므로, 前胡藥鉞으로 인해서 염증감소 및 喘息調節에 효과가 있음을 시사하는 것이라 사료된다.

또한 BALF內的 호산구를 관찰한 결과 對照群에서 호산구가 다량으로 관찰 되었으며 PR-HA처치한 생쥐에서 얻은 BALF에서는 현저하게 감소하였다(Fig. 2-5). BALF內的 호산구 수가 대조군에서 현저하게 감소하였다는 것은 폐와 기관지의 염증의 반응의 감소를 나타내고, 前胡藥鉞이 염증 및 알러지 반응에 있어서 효과가 있음을 나타내는 결과로 사료된다.

폐의 조직학적 분석 결과, 對照群에서는 collagen이 조직에 다량 부착되어 있는 것에 반해, PR-HA에서는 collagen이 현저하게 감소하였다(Fig.2-6). 이러한 결과는 폐의 질량증가에서도 언급했듯이 염증반응의 증가로 형성된 collagen이 前胡藥鉞實驗群에서는 감소하였다는 것을 의미하며 이것은 폐의 염증이 감소하였다는 것을 말한다.

前胡藥鉞의 喘息 및 免疫에 미치는 영향을 알기 위하여, *in vitro*에서 FACS를 분석하여, granulocytes/lymphocytes population(%)에 미치는 영향을 살펴보면, 肺細胞 中 과립구의 비율이 對照群에서는 26.8%이었으나 PR-HA에서는 15.3%로 억제되었다(Fig. 1-1).

과립구는 건조후의 염색성에 따라서 호산성, 호중성, 호염기성으로 나눌 수 있다. 호중구는 백혈구 중 식균작용이 강력하여 식세포(食細胞)라고도 하며, 호산구는 기생충의 감염이나 알레르기성 질환일 경우에 증가하고, 호염기구는 혈액내에서 혈액이 응고하는 것을 막아준다. 따라서 폐 세포내의 과립구의 감소는 염증이나 알러지 반응의 감소를 나타낸다³⁸⁾.

CD3e⁻/CCR3⁺의 비율을 살펴보면, 肺細胞 中

CD3e⁻/CCR3⁺ 세포의 비율이 對照群에서는 92.2%이었으나 PR-HA에서는 84.6%로 낮아졌다 (Fig.1-2).

CD3는 T세포의 決定標識因子로, T림프구의 抗原受容體에 抗原이 結合된 信號를 細胞안으로 전달하는 역할을 하고, CCR3는 호산구의 활성화와 탈과립화에 관여하는 것으로 보인다³⁹⁾. 따라서 CD3e⁻/CCR3⁺의 비율의 감소는 염증과 알러지 반응 중의 호산구의 감소를 나타낸다.

다음으로 CD69⁺/CD3e⁺세포의 비율을 살펴보면, 肺細胞 中 CD69⁺/CD3e⁺ 세포의 비율이 對照群에서는 46.8%이었으나 PR-HA에서는 39.8%로 억제되었다(Fig. 1-3).

CD69는 활성화된 B세포, T세포, 대식세포에 분포하는 것으로, 림프구의 신호전달에 관여하고, CD3는 T세포에 분포하여, T세포의 신호전달을 하는 역할을 하므로, CD69⁺/CD3e⁺의 비율의 감소는 염증과 알러지 반응 중의 T세포의 감소를 나타낸다⁴⁰⁾.

또한 CD4⁺ 및 CD8⁺의 비율을 살펴보면, 肺細胞 中 CD4⁺세포의 비율이 對照群에서는 41.6%이었으나 PR-HAS에서는 43.2%로 유의성 없는 증가를 보였고, CD8⁺세포의 비율은 對照群이 20.1%이었으나 PR-HAS에서는 32.1%로 증가했다(Fig. 1-4).

CD4는 보조 T세포와 단구일부, 피질가슴샘세포 일부에 발현하는 것으로, TCR과 함께 MHC class II를 인지하는 기능을 하고, CD8는 세포독성, 억제 T 세포, NK세포일부, 피질가슴샘세포의 일부에 발현하는 세포로 TCR과 함께 MHC class I를 인지하는 기능을 한다. 따라서 CD4⁺ 및 CD8⁺의 비율의 감소는 염증과 알러지 반응중의 T세포의 감소를 나타낸다. 따라서 염증과 알러지 반응이 T세포에 의해 점차 감소하고 있다는 것을 나타낸다⁴¹⁾.

또한 CD23⁺/B220⁺의 비율을 살펴보면, 肺細胞 中 CD23⁺/B220⁺ 세포의 비율이 對照群에서는 1.59%이었으나 PR-HA에서는 1.04%로 억제되었다(Fig. 1-5).

CD23은 B세포일부, 단구, 수상돌기세포, 호산구, 혈소판에 발현하는 세포로, 대식세포와 호산구에 의한 세포독성을 매개한다. B220은 쥐의 B세포 표면에 있는 표식자로, B세포의 면역증가를 의미한다. 따라서 CD23⁺/B220⁺의 비율의 감소는 염증과 알러지 반응 중의 B세포의 감소를 나타낸다. 전반적으로 과립구, CD3e⁻/CCR3⁺, CD69⁺/CD3e⁺, CD4⁺ 및 CD8⁺, CD23⁺/B220⁺의 비율이 前胡藥鉞 實驗群이 對照群에 비해 억제되고, 감소한 것으로 보아, 喘息 및 免疫機能을 조절하는 중요한 생체방어의 역할에 있어서 前

胡藥鍼이 의의를 가진다고 할 수 있다⁴¹⁾.

ELISA 분석결과, BALF內 IgE는 對照群은 정상군에 비해 유의하게 분비양이 증가하였던 반면, 前胡藥鍼實驗群에서는 對照群보다 유의하게 분비양이 억제되었다(Fig. 2-7).

IgE는 특정 항원 분자와 반응하는 항체 특성을 가진 혈청 글로불린으로, 항원이 기도내에 들어오면, 생성되어 비만세포나 호염기구 등의 수용체에 달라붙어서 과민면역반응(알러지 반응)에 중요하게 관여하는 면역글로불린이다. 따라서 혈청에서 IgE의 감소는 염증과 알러지 반응의 감소를 나타낸다.

IL-4 in BALF는 對照群은 정상군에 비해 유의하게 분비양이 증가하였던 반면, 前胡藥鍼實驗群에서는 對照群보다 유의하게 분비양이 억제되었다(Fig. 2-8).

IL-4은 Th2를 분비하고 세포간의 정보를 전달하는 사이토카인으로, Th림프구에서 생성하여 B림프구의 분화와 증식을 촉진하는 사이토카인이다⁴²⁾. 따라서 BALF에서 IL-4의 감소는 염증과 알러지 반응의 감소를 나타낸다.

본 實驗藥材인 前胡에서 羌活藥鍼⁵⁾, 細辛藥鍼⁶⁾, 桑葉藥鍼⁷⁾, 升麻藥鍼⁸⁾의 경우와 다르게 IL-4의 減少가 두드러지게 나타났는데, 前胡가 降氣祛痰, 宣散風熱의 효과 외에도 소염 및 항염에 관한 치료 작용을 가지고 있을 것으로 판단되며, 다른 藥材에 비해 염증성 질환에 의한 祛痰에 우수한 효과를 기대할 수 있다고 사료된다.

IL-5 in BALF는 對照群은 정상군에 비해 유의하게 분비양이 증가하였던 반면, 前胡藥鍼實驗群에서는 對照群보다 유의하게 분비양이 억제되었다(Fig. 2-9).

IL-5는 骨髓로 移動하여 好酸球의 末端分化를 惹起한다. 循環하던 好酸球는 알레르기 炎症地域으로 들어가서 selectin과의 相互作用을 통하여 rolling에 의하여 肺로 移動을 始作하고, 마침내 integrin의 VCAM-1(vascular-cell adhesion molecule 1), ICAM-1(intercellular adhesion molecule 1)같은 附着蛋白 immunoglobulin superfamily와 結合을 통하여 內皮와 結合한다. 호산구가 여러 가지 사이토카인과 chemokine의 影響을 통해 氣道組織으로 들어가면, 그들의 生存은 IL-3, IL-5, GM-CSF 등에 의해 延長된다. 活性化狀態에서 호산구는 leukotrien이나 顆粒蛋白같은 炎症媒介物을 放出하여 氣道組織에 病變을 일으킨다. 또한 호산구는 GM-CSF를 生産하여 그들의 生命을 延長시키고 持續的인 氣道炎症反應에 影響을 준다. 이러한 IL-5의 감소는 기도조직의 병변과

기도염증반응이 감소하였다는 것을 알 수 있다.

혈청내 IL-4, IL-5, IL-13은 對照群에서 正常群에 비해 유의하게 分泌量이 增加하였던 반면, 羌活藥鍼實驗群에서 對照群보다 유의하게 分泌量이 抑制되었다(Fig. 2-10, 2-11, 2-12).

IL-4, IL-13은 細胞間의 情報를 傳達하는 사이토카인으로, IL-4은 Th림프구에서 生成하여 B림프구의 분화와 증식을 촉진하는 사이토카인이고, IL-13도 또한 Th림프구에서 生成하여 大食細胞를 標的으로 하여, 炎症誘發 사이토카인을 活成化하는 면역글로불린이다. IL-4, IL-13와 같은 사이토카인과 IgE이 前胡藥鍼實驗群에서는 對照群보다 유의하게 분비양이 억제되었다는 것은 前胡藥鍼液이 喘息으로 인한 炎症性 細胞의 增殖과 活成化가 抑制되어 喘息抑制 및 免疫調節에 있어서 效果가 있음을 나타낸다고 할 수 있다.

혈청內에서 또한 BALF內에서와 마찬가지로 IL-4의 감소가 羌活藥鍼⁵⁾, 細辛藥鍼⁶⁾, 桑葉藥鍼⁷⁾, 升麻藥鍼⁸⁾에 비하여 현저하게 나타났지만 IL-13는 위의 藥鍼에 비해 감소정도가 적은 것으로 나타났다. 따라서 前胡는 B림프구의 분화에는 효과적인 작용을 하지만, 대식세포의 탐식작용에는 보다 적은 관련이 있다고 사료된다.

또한 FACS 분석한 결과, Gr-1⁺/CD11b⁺세포수와 CD11b⁺세포수는 對照群에 비하여 PR-HAS에서 감소하였다(Fig. 2-13).

Gr-1은 과립구에서 발현하는 분자이고, CD11b는 과립구, 단구, NK세포, 대식세포에 발현하는 분자로, Mac-1의 복합체의 일부로서, Gr-1⁺/CD11b⁺세포수의 감소는 알러지 반응을 나타내는 과립구의 감소를 의미한다⁴³⁾.

Gr-1⁺/CD11b⁺세포수는 羌活藥鍼⁵⁾, 細辛藥鍼⁶⁾, 桑葉藥鍼⁷⁾, 升麻藥鍼⁸⁾ 논문과 동일한 결과를 보였고, CD11b⁺세포수는 羌活藥鍼⁵⁾, 桑葉藥鍼⁷⁾의 경우 有意性 있는 減少를 보였으나, 본 實驗藥材인 前胡와 細辛藥鍼⁶⁾, 升麻藥鍼⁸⁾의 경우는 有意性 없는 減少나 增加를 보였다.

또한 CD3⁺/CCR3⁺세포수는 對照群에 비하여 PR-HAS에서 감소하였다(Fig. 2-14).

CCR3는 호산구의 활성화와 탈과립화에 관여하는 것으로, CCR3⁺세포수의 감소는 알러지 반응을 나타내는 면역세포 중 호산구의 감소로 나타낸다.

또한 CD4⁺세포수는 對照群에 비하여 PR-HAS에서 減少하였으나, CD8⁺세포수는 有意性 있는 減少를

보이지 않았다(Fig. 2-15).

CD4와 CD8는 모두 세포유착 분자 기능과 세포자극의 전달 등의 두 가지 중요한 기능을 가지는데, 모두 T세포의 활성화 및 억제를 나타내는 표지가 되는 세포로, CD4⁺세포수의 감소는 알러지 반응을 일으키는 면역세포 중의 T세포의 감소를 나타낸다.

羌活藥鉞⁵⁾, 細辛藥鉞⁶⁾, 桑葉藥鉞⁷⁾, 升麻藥鉞⁸⁾의 모든 경우에서 공통적으로 CD8⁺세포수의 有意性있는 減少를 보이지 못했는데, 喘息의 경우 CD4⁺가 주관하는 Th cell의 역할이 喘息의 症狀抑制에 더욱 유효하므로 CD8⁺의 增減으로 喘息에 대한 效果를 판단하기는 어렵다는 공통적인 결과를 얻었다.

다음으로 CD3e⁺/CD69⁺세포수는 對照群에 비하여 PR-HAS에서 감소하였다(Fig. 2-16).

CD3는 T세포에 발현하여 TCR과 함께 CD3복합체를 이루고, T세포의 신호전달을 하는 기능을 나타내고⁴³⁾, CD69는 활성화된 B세포, T세포, 대식세포에 분포하는 것으로, 림프구의 신호전달에 관여한다⁴⁴⁾. 따라서, CD3e⁺/CD69⁺세포수의 비율감소도 또한 알러지 반응을 나타내는 면역세포 중의 T세포의 감소를 의미한다고 할 수 있다.

羌活藥鉞⁵⁾, 升麻藥鉞⁸⁾의 경우에서 보다 細辛藥鉞⁶⁾, 桑葉藥鉞⁷⁾과 본 實驗藥材인 前胡에서 두드러진 감소를 보였는데, 前胡藥鉞이 細辛藥鉞⁶⁾, 桑葉藥鉞⁷⁾과 함께 알러지 반응에 대해 보다 유의한 효과를 가지고 있다고 사료된다.

RT-PCR을 살펴보면, RT-PCR을 이용하여 천식 유발과 관련된 여러 사이토카인들의 RNA발현을 관찰한 결과, IL-5, IL-4, TNF- α , IL-13 등의 mRNA 발현이 PR-HAS에서 對照群에 비하여 현저히 감소하였다(Fig. 2-17).

IL-5, IL-4, TNF- α , IL-13 등의 mRNA 발현은 모두 천식의 유발과 알러지 반응과 관계있는 cytokine인데, 이들의 감소는 염증과 알러지 반응의 감소를 나타낸다.

실험결과를 살펴보면, 전반적으로 Gr-1⁺/CD11b⁺세포수, CD3⁺/CCR3⁺세포수, CD4⁺세포수, CD3e⁺/CD69⁺세포수, IgE⁺/B220⁺세포수가 對照群은 정상군에 비해 유의하게 증가하였던 반면, 前胡藥鉞 實驗群이 對照群에 비해 감소했다. 喘息 및 免疫機能을 조절하는 중요한 생체방어의 역할을 前胡藥鉞이 하고 있음을 알 수 있고, RT-PCR을 이용하여 천식 유발과 관련된 여러 사이토카인들의 mRNA발현을 관찰한 결과도 前胡藥鉞의 喘息 및 免疫에 미치는 效果에 있어

서 유의성이 있음을 나타내고 있다.

以上을 綜合하여 보면 前胡藥鉞은 喘息에 效果가 有效한 것으로 나타났으며, 아울러 免疫機能增進에 效果가 있는 것으로 나타나, 向後 持續的인 研究와 臨床에서 前胡藥鉞治療의 積極적 活用이 필요하다고 사료된다.

V. 結 論

C57BL/6생쥐에 ovalbumin을 吸入시켜 알레르기 喘息病態를 誘發시키고, 前胡藥鉞(PR-HA)을 足三里(St36)에 刺入한 후 BALF 및 血清檢査를 통해 喘息抑制 및 免疫에 미치는 영향에 대한 실험결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 폐의 무게를 측정한 결과 前胡藥鉞處置群에서 유의하게 감소하였다.
2. 폐의 총 세포수, BALF內的 총 백혈구의 수와 호산구의 수를 측정한 결과 前胡藥鉞處置群에서 유의하게 감소하였다.
3. Photomicrographs에서 BALF內 호산구의 수가 前胡藥鉞處置群에서 유의하게 감소하였다.
4. BALF內 IL-E, IL-4, IL-5 분비양, 혈청內 IL-4, IL-5, IL-13 분비양을 측정한 결과 前胡藥鉞處置群은 유의하게 감소하였다.
5. BALF內的 Gr-1⁺/CD11b⁺세포수를 측정한 결과 Gr-1⁺/CD11b⁺, CD11⁺세포수는 前胡藥鉞處置群에서 유의하게 감소하였다.
6. BALF內的 CCR3⁺세포수, CD4⁺세포수, CD3e⁺/CD69⁺세포수를 측정한 결과 前胡藥鉞處置群은 유의하게 감소하였다.
7. RT-PCR을 이용하여 천식 유발과 관련된 여러 cytokine들의 mRNA발현을 관찰한 결과, IL-5, IL-4, TNF- α , IL-13 등의 mRNA 발현이 前胡藥鉞處置群에서 유의하게 감소하였다.

VI. 參考文獻

1. 울산의대 서울 중앙병원내과편. 내과학의 최신

1. 지견6 2003 한국 기관지천식 치료지침. 서울 : 한국의학. 2003 : 267-268.
2. 김유영. 氣管支喘息의 최신 치료전략. 결핵 및 호흡기질환. 1996 ; 43(1) : 1.
3. 李珩九, 鄭昇杞. 東醫肺系內科學. 서울 : 아트동방. 1999 : 105-112, 162-165.
4. 康晰榮. 알레르기 疾患의 診斷과 治療. 서울 : 一潮閣. 1987 : 129-151.
5. 박영수. OVA-induced Asthma Mouse Model 을 이용한 羌活藥鍼의 喘息에 관한 影響. 대전대학교 대학원 석사학위논문. 2004.
6. 김일구. 細辛藥鍼의 喘息抑制 및 免疫調節效果에 對한 實驗的 研究. 대전대학교 대학원 석사학위논문. 2004.
7. 신성찬. 桑葉藥鍼의 喘息抑制效果에 對한 實驗的 研究. 대전대학교 대학원 석사학위논문. 2004.
8. 김보균. 升麻藥鍼의 喘息 및 免疫에 미치는 實驗的 研究. 대전대학교 대학원 석사학위논문. 2004.
9. 송민식. 沙蔘藥鍼의 喘息抑制 및 免疫調節效果에 대한 실험적 연구. 대전대학교 대학원 석사학위논문. 2004.
10. 김대겸. 桑白皮가 제 I 형 알레르기 喘息 모델 環쥐의 BALF내 免疫細胞 및 血清 IgE에 미치는 影響. 경희대학교 대학원 석사학위논문. 2002.
11. 정재환. 熊膽 및 우루소데옥시콜린산의 抗알레르기효과에 관한 實驗的 研究. 大韓小兒科學會誌. 1994 ; 10(1) : 299-312.
12. 김재홍. 冬蟲夏草 藥鍼과 口腔投與가 Ovalbumin 으로 유발된 Asthma에 미치는 영향. 대한침구학회지. 2002 ; 19(2) : 39-50, .
13. 李珩九. 五拗湯이 咳嗽, 喘息에 미치는 影響. 서울, 慶熙大學校大學院, 1982 : 175-190.
14. 權純湖. 五拗湯이 알레르기 喘息의 呼吸 樣相과 氣管 組織에 미치는 影響. 大韓韓醫學會誌. 1999 ; 20(2) : 98-107.
15. 鄭昇杞. 加味清上補下湯이 喘息에 미치는 影響에 관한 實驗的 研究. 大韓韓醫學會誌. 1991 ; 12(1) : 118-138.
16. 김남권. 升麻葛根湯加味方이 마우스의 抗알레르기 및 免疫反應에 미치는 영향. 大韓外官科學會誌. 1995 ; 7(1) : 1-19.
17. 백경룡. 桂薑棗草黃辛附湯의 抗알레르기 작용에 대한 研究. 大韓韓醫學會誌. 1998 ; 19(2) : 87-99.
18. 全國韓醫科大學 本草學教授. 本草學. 서울 : 永林社. 2000 : 458-460.
19. 해리슨 번역 편찬위원회. HARRISON'S 내과학. 서울 : 정담. 1997 : 1258-1264.
20. Lawrence M. 外. 오늘의 진단과 치료. 서울 : 한우리 2000 : 287-297.
21. 한용철. 臨床呼吸器學. 서울 : 일조각 1994 : 208-209.
22. 巢元方. 諸病源候論(卷13,14). 서울 : 大星文化社. 1992 : 106-117.
23. 이성환, 김창환, 이윤호. 천식의 침구치료에 관한 문헌적 고찰. 대한침구학회지. 2000 ; 17(3) : 37.
24. 許浚. 東醫寶鑑. 서울 : 南山堂. 1998 : 474-480.
25. 白東鎭, 鄭熙才, 鄭昇杞, 李珩九. Allergy性 呼吸器疾患에 對한 文獻的 考察. 大韓韓方內科學會誌. 1998 ; 19(1) : 338-339.
26. 上海中醫學院編. 中醫內科學. 上海 : 商務印書館. 1983 : 223-230.
27. 정승기, 이형구. 哮喘의 原因 및 治法에 관한 研究. 大韓韓醫學會誌. 1986 ; 7(1) : 60-67.
28. 김영태, 권혁성, 정승기, 이형구. 水喘, 火喘 및 心臟性 喘息의 治法, 處方에 관한 東西醫學的 文獻 考察. 大韓韓醫學會誌. 1995 ; 16(1) : 172-183.
29. 권혁성, 정희재, 정승기, 이형구. 清上補下湯이 알레르기 천식의 호흡양상과 기관조직에 미치는 영향. 慶熙韓醫大論文集. 1999 ; 22(1) : 203-215.
30. 채우석. 면역질환의 한방개념과 치료에 대한 문헌적 고찰. 大韓韓醫學會誌. 1990 ; 11(25) : 55.
31. 李淵台. 最新免疫學. 서울 : 集文堂. 1985 : 1-35, 52-53, 76, 81, 88.
32. 성호경. 생리학 5판. 서울 : 醫學文化社. 1991 : 94-106.
33. 洪元植. 精校黃帝內經素門. 서울 : 東洋醫學研究院出版部. 1985 : 11, 124, 285.
34. 洪元植. 精校黃帝內經靈樞. 서울 : 東洋醫學研究院出版部 1985 : 159, 211, 249, 286-287,

- 317, 331.
35. 安德均. 免疫과 韓方. 서울 : 열린책들. 1992 : pp.45-48.
 36. 安榮基. 經穴學叢書. 서울 : 成輔社. 1986 : 196-197.
 37. 蔡禹錫. 經穴集成. 서울 : 大星文化社. 1995 : 83-84, 404-405.
 38. 新谷太 저, 고윤웅 역. Pathophysiology로 이해하는 내과학, part1 혈액질환. 서울 : 정담 2002 : 69-71.
 39. Nicholas W.Lukacs. Role of chemokines in the pathogenesis of asthma. Nature review:immunology. 2001 ; 108-116.
 40. 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, 12:567, 1995.
 41. 이귀녕, 권오현. 임상병리파일 제 3판. 서울 : 의학문화사. 2003 :1530-1538.
 42. Ferreira MB, Palma Carlos AG. Cytokines and asthma. J. of investigational allergology and clinical immunology. 1998 ; 8(3) : 141-148.
 43. 대한 천식 및 알레르기학회. 천식과 알레르기 질환. 서울 : 군자출판사. 2002 : 21-24, 31-44, 59-67, 237-256, 279-291.
 44. 김세종. 면역학. 서울 : 고려의학. 1994 : 3, 8, 25-26, 28, 31-32, 134.