

# 新鼻煎의 항알레르기 효과

김경렬 · 김상태<sup>1</sup> · 이종화<sup>2\*</sup>

원광대학교 한의과대학 신경정신과교실, 1: 이화여자대학교 생명약학부, 2: 원광대학교 의과대학 소아과교실

## Anti-allergic Effects of Shinbijen

Kyung Yeol Kim, Sang Tae Kim<sup>1</sup>, Jong Hwa Lee<sup>2\*</sup>

*Department of Neuropsychiatry, College of Oriental Medicine, Wonkwang University,*

*1: Division of Science and Pharmaceutical, Ewha Womans University, 2: Department of Pediatrics, College of Medicine, Wonkwang University*

The discovery of drugs on the treatment of rhinitis and allergic disease is a very important subject in human health. The Shinbijen has been used for centuries as a traditional medicine in Korea and is known to have an anti-inflammatory effect. However, its specific mechanism of action is still unknown. In this report, we investigated the effect of hot water extract from Shinbijen on OVA-mediated allergic reaction and studied its possible mechanism of action using fluorescence microscopy and RT-PCR analysis. Shinbijen inhibited OVA-induced rhinitis, total cells in BFA and lymphocyte related to inflammation in mice. Shinbijen decreased immuno response, which activated by IL-4, COX-2 and iNOS expression. in tissue. Shinbijen reduced inflammatory molecule release from mice lung tissue and CD4/CD8 cells activated by cardiac blood. Shinbijen decreased OVA-induced IL-4 and iNOS levels in pulmonary alveoli. Our findings provide evidence that Shinbijen inhibits OVA-induced allergic reactions, and also demonstrate the involvement of inflammation and allergic disease in these effects.

Key words : Shinbijen, allergy, RT-PCR, inflammation, immuno response, pulmonary alveoli

### 서 론

알레르기 반응은 생체조직 세포와 결합되어 있는 항체와 의 부에서 침입해온 항원과의 항원항체 반응을 이룬 결과 여러 가지 화학적 매개물질로 유리되는데 이와 같은 화학물질의 작용에 의해서 모세혈관벽의 기능 이상과 평활근 연축 등을 일으키게 되는 것이다<sup>1)</sup>. 알레르기 질환은 histamine, serotonin 등에 의해 혈관이 확장되거나 점액의 분비, 평활근이 수축되면서 염증을 일으키는 질환으로 가장 많은 비율을 차지하는 것이 알레르기성 비염, 아토피성 피부염이다<sup>2,3)</sup>.

한편 알레르기 반응을 일으키는 비만세포(mast cell)는 즉시형 과민성 반응을 유발하는 가장 강력한 생리 활성물질로 알려져 있는 히스타민 분비에 중요한 역할을 하고, 활성화되면 탈과립, IL-6, TNL- $\alpha$ 등과 같은 사이토카인을 분비하는 것으로 알려져 있다<sup>4,5)</sup>. 특히 비만세포의 탈과립 반응은 IgE 수용체를 통한 자극 이외에도 칼슘, Compound 48/80과 같은 약리학적 복합물에 의한 자극이

있는데, Compound 48/80은 비만세포내의 칼슘 수준을 증가시키거나 필락시 반응을 일으키는데 가장 많이 사용되고 있다<sup>6)</sup>.

비만세포의 활성화 후 유발되는 탈과립 과정의 신호전달 경로에 대해서는 지금까지 많은 연구가 진행되었는데, 특히 tyrosinase kinase의 인산화와 칼슘의 세포내 유입이 중요하다. 또한 비만세포에서의 히스타민의 유리에는 cAMP가 중요한 역할을 한다고 알려져 있다<sup>7)</sup>.

韓藥은 체내에서 여러 가지 기능이 서로 협동하여 항원 항체 반응을 정상적인 면역반응으로 촉진시킬 뿐 아니라 호르몬계와 자율신경계의 기능조절을 나타내는 등 생체리듬의 항상성을 유지하기 위한 表裏, 寒熱, 虛實, 陰陽의 밸런스를 조절하는 치료수단으로 前漢時代의 內經에서부터 임상적으로 널리 활용되어 왔다<sup>8)</sup>.

최근 알레르기 질환에 대한 주요 처방 연구로는 麗澤通氣湯<sup>9)</sup>, 辛夷散<sup>10)</sup>, 辛夷清肺陰<sup>11)</sup>, 葛根湯<sup>12)</sup>, 加味清鼻飲<sup>13)</sup>, 補中益氣湯<sup>14,15)</sup>, 小青龍湯<sup>16)</sup> 등이 연구되어있고, 본 처방과 같은 임상경험의 創方에 의한 효과 검증은 없었다.

新鼻煎은 비전환의원 創方으로 특허등록(특허 제0527834호) 및 미국 식품의약안전청(FDA) 승인 획득하여 안정성이 입증된 알러지질환의 한약치료제로 주요 구성 약물로는 薏苡仁, 桑白皮,

\* 교신저자 : 이종화, 경기도 군포시 산본동1126-1 산본병원 소아과교실

· E-mail : titedios67@naver.com, · Tel : 031-390-2352

· 접수 : 2007/11/13 · 채택 : 2007/11/26

魚醒草, 桔梗, 生地黃, 金銀花, 三白草, 生薑, 陳皮, 白朮, 蒼朮, 甘草, 薄荷, 赤芍藥, 蘇子, 蔥白, 大棗이다.

이에 저자는 OVA로 비염을 유도된 세포로부터 Anti-Rat CD4<sup>+</sup> Monoclonal Antibody 와 PE Anti-Rat CD8<sup>+</sup> Monoclonal Antibody으로 新鼻煎을 경구투여한 후 염증반응에 관여하는 Ovalbumin(OA)에 의한 NO생성과 Broncho-alveolar lavage(BAL)과 BAL fluid(BALF)내의 총세포수 및 lymphocyte 수를 측정하고 분자생물학적으로 iNOS, COX-II 그리고 IL-4 mRNA양을 RT-PCR로 정량화하여 분석하였으며 이들의 작용기전을 검토하여 약간의 지견을 얻었기에 이에 보고하는 바이다.

## 재료 및 방법

### 1. 재료

#### 1) 실험동물

본 연구는 실험동물은 (주)중앙실험동물에서 분양받은 체중 200~250 g의 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐 대상으로 실험에 실시하였다. 실험 당일까지 고형사료(항생제 무첨가, 삼양사)와 물을 충분히 공급하고 사육실 내를 실온 20±2℃, 습도 40~60 %로 유지하면서 낮과 밤의 주기는 각각 12시간으로 하였다. 2주일간 실험실 환경에 적응시킨 후 실험에 사용하였다.

#### 2) 시약

Anti-Rat CD4<sup>+</sup> Monoclonal Antibody 와 PE Anti-Rat CD8<sup>+</sup> Monoclonal Antibody는 Cedarlane사 (Ontario, Canada)로부터 구입하였으며(St Louis, MO), IL-4와 iNOS 는 R&D Systems Inc. (Minneapolis, MN)에서 구입하였고 그 외 시약은 일급시약으로 구입하여 사용하였다.

#### 3) 新鼻煎의 조제

본 실험에 사용된 新鼻煎 처방내용과 구성은 Table 1과 같다. Shinbijen의 한약제 총건조중량이 3,128 g되게 중량하여 3차 증류수(또는 정제수)로 5~10배의 부피로 배합하여 80℃ 조건하에 2~12시간동안 서서히 열을 가하여 최종적인 부피가 1,000 ml이 되게 한 다음, 이를 감압 농축하여 동결 건조시켜 500 g의 동결건조 중량을 얻었다(이하 “신비전 or shinbijen”이라 명명)(Fig. 1).

Table 1. Herb composition of Shinbijen(新鼻煎)

한약명	생약명	용량(g)
薏苡仁	COCICIS SEMEN	300
桑白皮	MORI COTEX RADICIS	300
魚醒草	HOUTTUYNIA CORDATA	224
桔 梗	PLATYCODI RADIX	224
生地黃	REHMANNIAE RADIX	150
金銀花	LONICERAE FLOS	150
三白草	SAURURUS CHINESIS(LOUR BAIL	150
生 薑	ZINGIBER OFFICINALE ROSCOE	150
陳 皮	AURANTII NOBILIS PERICARPIMUM	150
白 朮	ATRACTYLOADES MACROCEPHALE KOIDZ	150
蒼 朮	ATRACTYODIS RHIZOMA	150
甘 草	GLYCYRRHIZA URALENSIS	150
薄 荷	MENTHA ARVENSIS VAR. PIPERASCENS	120
赤芍藥	PAEONIAE RADIX RUBR	120
蘇 子	PERILLAE SEMEN	300
蔥 白	ALLII RADIX	240
大 棗	ZIZYPHI FRUCTUS	100
	합계	3,128



Fig. 1. Shinbijen의 추출과정에 따르는 건조중량을 회수하는 방법

### 2. 실험방법

#### 1) Ovalbumin(OA)로 알레르기 비염 유발

본 연구의 방법에 따라 수득된 新鼻煎 물추출물 10 mg/Kg/day처리로부터 알레르기 비염효능을 검증하기 위해서 비염유발은 Bellofiore등의 변형에 준해서 첫째 날 Ovalbumin(OA) 1 mg을 0.9% saline 1 ml에 녹여 피하 주사하고, 6×10<sup>9</sup> B. pertussis bacilli를 포함한 0.9% saline 1 ml를 비강 내로 주입하여 immunization을 시켰다. 전신적인 immunization 후 14일째, 동물들은 2% (wt/vol) OA를 함유한 0.9% saline aerosol을 흡입시킴으로써 항원감작에 의한 알레르기성 비염을 유발시켰다. Aerosol은 ultrasonic nebulizer에 의해 만들어졌고, 20분간 흡입시켰다. 비염 유발 24시간 후인 15일째 클로로포름으로 마취시킨 다음 심장천자하여 혈액을 EDTA (Ethylene Diamine Tetraacetic Acid Dipotassium Salt)가 들어 있는 시험관에 넣고 잘 섞어 응고를 방지한 뒤 원심분리기로 3000 rpm으로 5분간 원심분리후 상등액을 NO생성도를 확인하기 위해 96 well에 50 μl씩 옮기고 여기에 발색시약인 Griess 시약(1% sulphanilamide, 0.1% naphlethyendiamine dihydrochloride, 4% phosphoric acid) 50 μl정도 처리하여 NO생성도의 농도를 570 nm에서 ELISA reader로 측정하였다.

#### 2) Broncho-alveolar lavage(BAL)과 BAL fluid(BALF) 내의 세포관찰

비염과 기관지의 염증반응을 조사하기 위해서 신비전 물추출물 10 mg/Kg/day처리로부터 OA aerosol 흡입 다음날에 기관지세척을 시행하였다. 0.1% EDTA 2Na를 포함한 PBS (Phosphate buffered saline; Sodium Chloride 8 g, Pottassium Chloride 0.2 g, Disodium Hydrogen Phosphate 1.15 g, Calcium Chloride 0.0005 g, Magnesium Chloride 0.0005 g) 4 ml를 3번 주입하여 기관지를 세척한 후에 BALF를 얻었다. 부피는 원래 부피의 대략 평균 80%로 전체세포수는 hemocytometer를 사용해서 측정하였다. 임파구수는 BALF에 lymphoprep (1.077±0.0001 g/ml, Nycomed PharmaAs, Oslo, Norway)를 첨가하여 25분 동안 2,000 rpm에서 원심 분리한 후 상층을 버리고, 중간에 하얗게 부유해 있는 lymphocyte를 분리한 다음 PBS에 부유시켜 200 x g에서 10분간 3회 원심 세척한 후, RPMI medium에 부유시키고, 광학 현미경을 이용하여 Trypan blue exclusion으로 세

포수를 측정하였다.

3) 면역세포 화학분석법에 의한 T세포의 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 수적증가 확인

기도세척액내의 T-cell측정을 위해 RPMI 배지에 부유시킨 임파구 세포를 media A(pH 7.2 PBS+ 5% FBS with RPMI + 2M sodium azide)에 2×10<sup>7</sup> cells/ml의 세포수를 재부유시키고, 시험관에 세포부유액 50 μl씩 넣어서 시험관마다 1×10<sup>6</sup>개의 세포가 존재하게 하였다. 각 시험관에 Anti-Rat CD4<sup>+</sup> Monoclonal Antibody (Cedarlane, Ontario, Canada)와 PE Anti-Rat CD8<sup>+</sup> Monoclonal Antibody(Cedarlane, Ontario, Canada)를 각각 0.5 μg씩 가하고, Vortex mixer로 잘 섞은 다음 이 혼합액을 빛이 차단되도록 알루미늄 호일로 싸우고 4℃에서 30분간 배양한 뒤, 4℃에서 PBS로 2회 세척하고, 50 μl의 ice cold media B(pH 7.2 PBS + 0.5% Bovine serum albumin + 2M sodium azide)에서 cell pellet을 재부유시킨 후 형광현미경을 이용하여 임파구에 대한 CD4<sup>+</sup> 및 CD8<sup>+</sup> T세포율을 측정하였다.

4) 비염을 유도한 심장혈액내 T세포의 감소 유무

본 연구에 따라 신비전 물추출물 100 μg/ml처리로부터 비염을 유도한 흰쥐의 심장혈액내 T세포의 감소유무를 조사하기 위해 세포를 5% RPMI medium에 penicilin/streptomycin이 함유된 배지상에 10<sup>4</sup> 세포를 둥근 유리판(slimb cover glass)가 들어 있는 6 well culture dish에 분주하고 37℃에서 24시간 배양하는데 상기 추출물을 100 μg/ml이 되게 첨가하여 반응을 관찰하였으며 폐액을 제거 한 후 세포를 한번 PBS로 세척한 다음 세포를 metanol로 세포 위에 떨어지게 고정시킨 다음 PBS로 세척을 실시하고 3회 실행한 다음 0.2% BSA(bovine serum albumin)로 blocking후 1차항체인 Anti-mouse-CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>로 2차항체인 anti-mouse-conjugated된 FITC용액으로 표지하여 호일로 빛을 차광하여 이를 1시간정도 방치한 다음 이를 형광현미경에서 관찰하였다.

5) 면역조직화학분석법

본 연구에 의해 비염 유발쥐내 폐기관지의 iNOS와 IL-4를 발현효과를 조사하기 위해 shinbijen 물추출물 (10 mg/Kg/day) 처리에 대하여 코점막 주변조직을 분리한 후 4% formaldehyde에 넣어서 고정한 후 paraffin embedded된 블록을 제작하여 microtome으로 5 μm으로 절단하여 glass slide에 놓은 다음 건조시킨 후 paraffin을 제거하기 위해 xylen용액에 넣은 다음 EtOH(100 → 95 → 75%)농도에 순차적으로 1시간씩 담가서 탈수와 건조를 반복하여 최종적인 과정인 hematoxylin/eosin 염색을 통해 현미경하에서 200x로 관찰하여 사진 촬영을 실시하였다.

면역조직 화학염색법을 위해 상기 방법에서 탈수, 건조과정의 slide를 peroxidase를 제거하기 위해 3% 과산화수소수와 메탄올을 1 : 4로 혼합한 용액속에 slide를 담가 약 20분간 서서히 진탕하여 세포내에서 이 효소를 제거한 다음 흐르는 물에 약 5분간 세척한다. PBS로 약 5분간 세척후 PBS로 5분간 다시 세척하고 2% 염소 혈청을 조직위에 떨구고 물에 적신 흡착지를 바닥에 깔아 건조를 방지한 조직 배양접시에 넣어 30분간 실온에 방치한다. 염소혈청을 깨끗한 흡수지로 흡수하여 내고 1차 항체인

iNOS, IL-4를 500 : 1의 비율로 희석하여 1시간정도 실온에 방치한 다음 PBS에 2% BSA (bovine serum albumin)를 녹인 blocking 용액을 떨어 뜨린 후 이를 30분간 실온에서 유지하고 2차 항체인 anti avidin-biotin enzyme complex (ABC)으로 1시간 표지하고 이 혼합체에 붙여 있는 효소인 HRP(horseradish peroxidase)를 과산화수소수와 DAB(3, 3'-diaminobenzidine)의 혼합액을 조직위에 떨구고 5 ~ 20분간 방치한다. 흐르는 물에 5분간 세척한 다음 mount solution으로 떨어 뜨린 후 커버슬립을 덮어 slide 제작한 후 현미경하에서 관찰하였다.

6) RT-PCR분석법에 의한 iNOS, COX-II 그리고 IL-4 mRNA 발현 분석

shinbijen 물추출물 (10 mg/Kg/day)에 대하여 혈액내 임파구 iNOS, COX-II 그리고 IL-4 mRNA 발현의 억제에 미치는 영향을 알아보기 위해 기도점막 주변세포 세척액으로부터 PBS로 2회 세척한 다음 이를 RNAzol 용액을 가하여 이를 세포내 핵산과 단백질을 분리한 다음 이를 15,000 rpm으로 15분간 원심분리하여 상등액과 isopropanol 200 μl을 가해 혼합한 후 냉장고 -20℃에 15분간 방치한 다음 이를 원심분리하여 total RNA를 분리하여 이를 RT-PCR를 실시한다음 1% agarose gel에서 확인하였다.

7) 통계처리

모든 실험은 최소한 3회 수행하였으며 세포의 대조군은 백분율로 (% Control)로 표시하였으며 통계학적 유의성은 Student's t-test에 의한 P<0.05를 기준으로 유의성 여부를 판정하였다.

## 결 과

1. Ovalbumin(OA)로 알레르기 비염 유발

Shinbijen 물추출물에 대하여 알레르기 비염효능을 검증하기 위해서 OVA로 비염을 유도된 세포로부터 新鼻煎을 경구투여한 후 염증반응에 관여하는 Ovalbumin(OA)에 의한 NO생성도의 농도를 측정한 결과, 정상군은 4.0±1.82 μM이고 대조군은 78.2±2.9 μM정도이었으나 shinbijen은 23.1±3.5 μM로 대조군에 비해 유의한 차이를 나타내었다(Table 2).

Table 2. NO formation in Fluid of Ovalbumin induced rhinitis rat

Samples	NO formation ratio(μM/well)
NOR	4.0±1.82
CON	78.2±2.9
Shinbijen	23.1±3.5 *

Values represents the means ± S.D of performed experiments in triplicants wells var control. p<0.05

2. Broncho-alveolar lavage(BAL)과 BAL fluid(BALF) 내의 세포 관찰

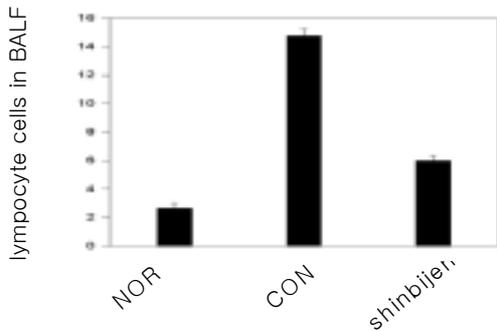
상기방법에 의해 수행한 신비전 물추출물 10 mg/Kg/day을 처리한 비염과 기관지의 염증반응에 관여하는 총세포수와 lymphocyte수를 측정하기 위해 OA aerosol 흡입 다음날에 기관지세척을 시행한 후 Broncho-alveolar lavage(BAL)과 BAL fluid(BALF)내의 총세포수 및 lymphocyte수를 측정하였다. 기관지 세척액내의 총세포수에서 정상군은 6.34±1.25 (x10<sup>5</sup>/ml)이

고 대조군은 27.43±1.53 정도이었으나 shinbijen은 10.63±0.34 μM 인데 대조군에 비해 유의한 감소효과를 나타내었으며(Table 3), 임파구 수에서 정상군은 2.23±1.45 (x10<sup>5</sup>/ml)이고 대조군은 14.53±1.01 정도이었으나 shinbijen은 5.71±2.45 μM인데 대조군에 비해 p<0.05 범위 내에서 유의성에 있게 약 60%정도 감소하는 효과를 나타내었다(Fig. 2, 3).

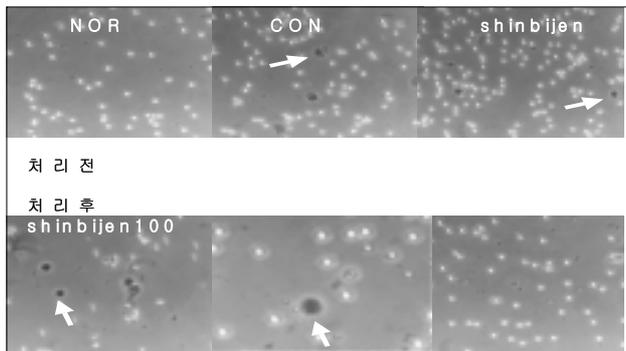
**Table 3. Effect of shinbijen extracts on the Total cell in Fluid of Ovalbumin-induced rhinitis rat**

Group	No. of animal	Total cells in BALF(x10 <sup>5</sup> )
NOR	6	6.34±1.25
CON	6	27.43±1.53
Shinbijen	6	10.63±0.34 *

Shinbijen extracts decreased total cell levels in BAL fluids of OVA-induced rhinitis rat. The cells were harvested and analyzed via hemocytometer. Sampling was performed at 72 h after the last challenge in saline-inhaled rat administered saline (Con), OVA-induced rhinitis rat administered saline (OVA), and OVA-induced rat administered shinbijen extract 10 mg/kg/day (OVA + shinbijen). Total cells in the BAL fluids were stained with trypan blue exclusion. Data represent means ± S.E.M. from three independent experiments. Total cells were 5 × 10<sup>5</sup> cells in each group. This experiment used five mice (n = 5). \*P < 0.005 vs OVA.



**Fig. 2. Effects of shinbijen extracts on the lymphocyte in fluid of ovalbumin-induced rhinitis rat.** Effect of shinbijen extracts on lymphocyte of BAL fluids of OVA-induced rats. Rats were treated in saline-inhaled rat administered saline (Con), OVA-induced rhinitis rat administered saline (OVA), and OVA-induced rat administered shinbijen extract 10 mg/kg/day (OVA + shinbijen), respectively. The BAL cells were collected 1 day after the OVA challenge. The different cell types were enumerated. The results were from one representative experiment out of three performed. This experiment used five rat (n = 5). \*P < 0.005 vs. OVA.



**Fig. 3. Effect of shinbijen extracts on lymphocyte cell levels in BAL fluids of OVA-induced rhinitis rat.** The cells were harvested and analyzed via hemocytometer. Sampling was performed at 72 h after the last challenge in saline-inhaled rat administered saline (NOR), OVA-induced rhinitis rat administered saline (CON), and OVA-induced rat under before (upper panel) or after (bottom panel) shinbijen extract 100 μg/ml (shinbijen 100). Lymphocyte cells in the BAL fluids were stained with trypan blue exclusion. Data represent with inverted microscopy. (X 200).

3. 면역세포 화학분석법에 의한 T세포의 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 수적증가 확인  
 기도세척액내의 T-cell측정을 위해 RPMI 배지에 부유시킨 임파구 세포를 media A(pH 7.2 PBS+ 5% FBS with RPMI + 2 M sodium azide)에 2×10<sup>7</sup> cells/ml의 세포수를 재부유시키고, 시험관에 세포부유액 50 μl씩 넣어서 시험관마다 1×10<sup>6</sup>개의 세포가 존재하게 하였다. OVA로 비염을 유도된 세포로부터 Anti-Rat CD4<sup>+</sup> Monoclonal Antibody 와 PE Anti-Rat CD8<sup>+</sup> Monoclonal Antibody으로 新鼻煎을 경구투여한 후 형광현미경을 이용하여 임파구에 대한 CD4<sup>+</sup> 및 CD8<sup>+</sup> T세포율을 측정하였다. 세포수는 산출된 lymphocyte에 CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>의 비율을 곱하여 계산하였는데 기도세척액내의 CD4<sup>+</sup> 임파구 수에서 정상군은 1.34±0.21 (x10<sup>4</sup>/ml)이고 대조군은 6.13±1.53 정도이었으나 shinbijen은 3.65±2.34(x10<sup>4</sup>/ml)인데 대조군에 비해 상당히 Th2에서 유래한 CD4<sup>+</sup>의 수가 유의한 감소효과를 나타내었으며, CD8<sup>+</sup>에서는 정상군은 1.12±0.52 (x10<sup>4</sup>/ml)이고 대조군은 5.02±0.56 (x10<sup>4</sup>/ml)정도이었으나 shinbijen은 1.62±0.75 (x10<sup>4</sup>/ml)인데 대조군에 비해 약 62%정도 감소하는 효과를 나타내었으며 비염유도에 의한 T임파구의 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>의 증가를 억제하는 유의성이 있었다(Table 4).

**Table 4. Effect of shinbijen extracts on the CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> in cardiac blood of Ovalbumin induced rhinitis rat**

Group	No. of animal	CD4 <sup>+</sup> (x10 <sup>4</sup> /ml)	CD8 <sup>+</sup> in BALF (x10 <sup>4</sup> /ml)
NOR	6	1.34±0.21	1.12±0.52
CON	6	6.13±1.53	5.02±0.56
Shinbijen	6	3.65±2.34	1.62±0.75

Shinbijen decreased CD4/CD8 cell levels in cardiac blood of OVA-induced rat. Sampling was performed at 72 h after the last challenge in saline-inhaled mice administered saline (Con), OVA-sensitized mice administered saline (OVA), and OVA-sensitized mice administered shinbijen 10 mg/kg/day (OVA + shinbijen 10). The cells were harvested and analyzed via two-color flow cytometry. Data represent means ± S.E.M. from three independent experiments.

4. 비염을 유도한 심장혈액내 T세포의 감소 유무

Shinbijen이 비염을 유도한 흰쥐의 심장혈액내 T세포의 감소유무를 조사하기 위해 세포를 5% RPMI medium에 penicilin/streptomycin이 함유한 배지상에 10<sup>4</sup> 세포를 등근 유리판(slimb cover glass)가 들어 있는 6 well culture dish에 분주하고 37℃에서 24시간 배양하는데 상기 추출물을 50 μg/ml이 되게 첨가하여 반응을 관찰하였으며 폐액을 제거 한 후 세포를 한번 PBS로 세척한 다음 세포를 metanol로 세포 위에 떨어지게 고정시킨 다음 PBS로 세척을 실시하고 3회 실행한 다음 0.2% BSA(bovine serum albumin)로 blocking후 1차항체인 Anti-mouse-CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>로 2차항체인 anti-mouse-conjugated된 FITC용액으로 표지하여 호일로 빛을 차광하여 이를 1시간정도 방치한 다음 이를 형광현미경에서 관찰하였다. 정상군은 약한 반응을 보이나 대조군은 강한 녹색형광의 수가 증가하는 경향을 보인 반면 shinbijen은 형광 발현이 크게 감소하고 수적으로 대조군에 비해 많이 감소하는 경향을 나타냄을 알 수 있었다(Fig. 4).

5. 면역조직화학 분석법에 의한 단백질발현에 미치는 영향

Shinbijen이 비염 유발쥐내 폐기관지의 iNOS와 IL-4를 발현 효과를 조사하기 위해 코점막 주변조직을 분리한 후 4% formaldehyde에 넣어서 고정한 후 paraffin embedded된 블록을

제작하여 Microtome으로 5  $\mu$ m으로 절단하여 glass slide에 놓은 다음 건조시킨 후 paraffin을 제거하기 위해 xylen용액에 넣은 다음 EtOH(100 -> 95 -> 75%)농도에 순차적으로 1시간씩 담가서 탈수와 건조를 반복하여 최종적인 과정인 hematoxylin/eosin 염색을 통해 현미경하에서 200 x로 관찰하여 사진 촬영을 실시하였는데 코점막 조직을 H/E염색으로 한 결과 정상군은 코점막의 주변부분에 임파구의 존재가 미미한 편이지만 대조군은 코점막 및 폐의 기관지 폐상피조직이 침파구의 심홍색이 많이 존재하고 상피세포의 수축이 강하게 나타내고 있으며 세망조직이 많이 손상받은 상태이나 shinbijen은 코점막이 보호내지 회복된 상태이며 정상과 동일하게 회복되는 경향을 보였고, 정상군은 평활근과 탄력결합조직이 잘 발달되어 있으나 대조군은 비염 유발물질에 의해 조직손상으로 이들 조직의 구성분들이 많이 파괴되어 있는데 shinbijen경우 정상과 유사한 결과를 나타내었다(Fig. 5, 6).

면역조직 화학염색법을 위해 상기 방법에서 탈수, 건조과정의 slide를 peroxidase를 제거하기 위해 3% 과산화수소수와 메탄올을 1 : 4로 혼합한 용액속에 slide를 담가 약 20분간 서서히 진탕하여 세포내에서 이 효소를 제거한 다음 흐르는 물에 약 5분간 세척하였다. PBS로 약 5분간 세척후 PBS로 5분간 다시 세척하고 2% 염소 혈청을 조직위에 떨구고 물에 적신 흡착지를 바닥에 깔아 건조를 방지한 조직 배양접시에 넣어 30분간 실온에 방치하고, 염소혈청을 깨끗한 흡수지로 흡수하여 내고 1차 항체인 iNOS, IL-4를 500 : 1의 비율로 희석하여 1시간정도 실온에 방치한 다음 PBS에 2% BSA (bovine serum albumin)를 녹인 blocking 용액을 떨어 뜨린 후 이를 30분간 실온에서 유지하고 2차 항체인 anti avidin-biotin enzyme complex (ABC)으로 1시간 표지하고 이 혼합체에 붙여 있는 효소인 HRP(horseradish peroxidase)를 과산화수소수와 DAB(3, 3'-diaminobenzidine)의 혼합액을 조직위에 떨구고 5 ~ 20분간 방치하였다. 흐르는 물에 5분간 세척한 다음 mount solution으로 떨어 뜨린 후 커버슬립을 덮어 slide 제작한 후 현미경하에서 관찰한 결과 코점막조직 주변 단백질에 iNOS경우 대조군은 상피조직 부근에서 더 잘 발현된 상태였으며 염증으로 인한 수축이 증가된 양상인 반면 정상군과 shinbijen경우 상피조직부근에서 발현량이 감소되었다(Fig. 7).

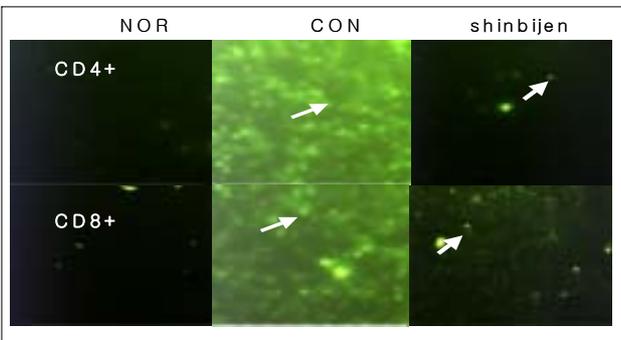


Fig. 4. Shibijen decreased CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> cell levels in cardiac blood of OVA-induced rat. Sampling was performed at 72 h after the last challenge in saline-inhaled mice administered saline (Con), OVA-sensitized mice administered saline (OVA), and OVA-sensitized mice administered shinbijen 10 mg /kg/day (OVA + shinbijen 10). The cells were harvested and analyzed via fluorescence microscopy.

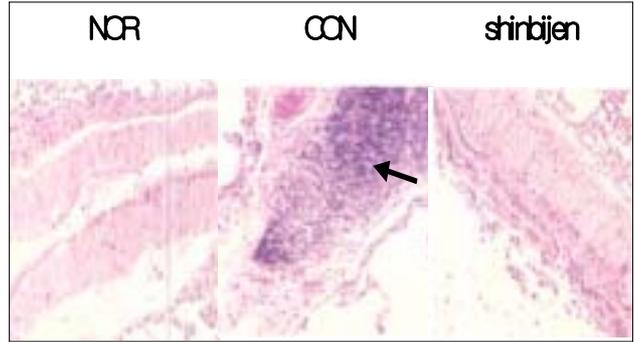


Fig. 5. Histological features of nasal epithelium of OVA-induced rat. Cryosections of nasal tissues from sensitized rat with PBS challenge (left), OVA challenge (middle), and OVA challenge plus shinbijen (right) administration were stained to detect Hematoxylin/eosin. (x 200 magnification)

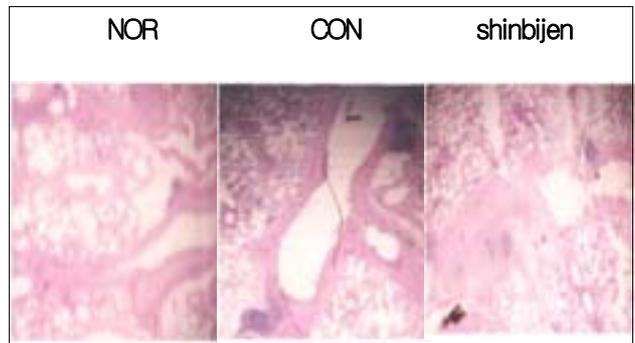


Fig. 6. Histological features of pulmonary alveoli of OVA-induced rat. Cryosections of lung tissues from sensitized rat with PBS challenge (left), OVA challenge (middle), and OVA challenge plus shinbijen (right) administration were stained to detect Hematoxylin/eosin. (x 200 magnification)

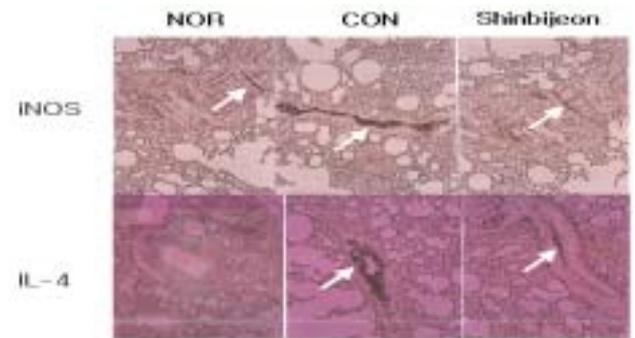


Fig. 7. Immunohistological features of IL-4 and iNOS expression on pulmonary alveoli of OVA-induced rat. Cryosections of lung tissues from sensitized rat with PBS challenge (left), OVA challenge (middle), and OVA challenge plus shinbijen (right) administration were stained to detect ABC stain. (x200 magnification) Paraffin- sections were obtained and stained with biotinylated anti-HRP antibody and antibody iNOS and IL-4.

#### 6. RT-PCR분석법에 의한 iNOS, COX-II 그리고 IL-4 mRNA 발현 분석

Shinbijen 물추출물 (10 mg/Kg/day)에 대하여 혈액내 임파구 iNOS, COX-II 그리고 IL-4 mRNA 발현의 억제에 미치는 영향을 알아보기 위해 기도점막 주변세포 세척액으로부터 PBS로 2회 세척한 다음 이를 RNAzol 용액을 가하여 이를 세포내 핵산과 단백질을 분리한 다음 이를 15,000 rpm으로 15분간 원심분리하여 상등액과 isopropanol 200  $\mu$ l을 가해 혼합한 후 냉장고 -2

0°C에 15분간 방치한 다음 이를 원심분리하여 total RNA를 분리하여 이를 RT-PCR를 실시한 다음 1% agarose gel에서 확인한 결과 iNOS, COX-II, IL-4 mRNA 전사발현에서 대조군에서는 강하게 전사발현이 유도되는 양상을 보인 반면 shinbijen에서는 iNOS, COX-II, IL-4 mRNA가 점진적으로 전사발현이 감소하는 경향을 보였다(Fig. 8).

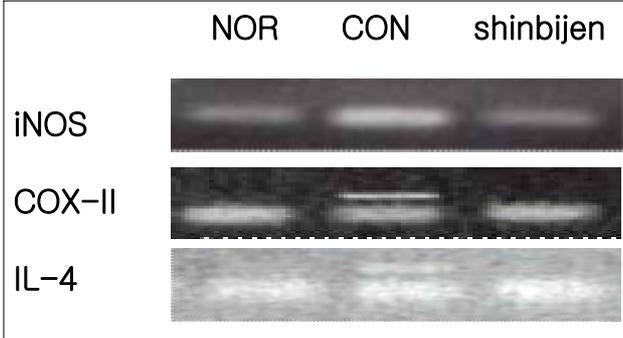


Fig. 8. Shinbijen attenuates the co-expression of iNOS and COX-2 with IL-4 stimulation. Lymphocyte cells were induced with OVA challenge and were then collected. Total cellular RNA was then extracted, and RT-PCR was performed for the detection of iNOS, COX-2 and IL-4 mRNA expression.

## 고찰

인간은 자연환경에 따라 영향을 받으며 생활하기 때문에 서로가 불가분의 관계에 있다. 그러므로 외부 변화에 따라 생체가 반응을 일으키게 된다. 그중 간단하고 미세한 물질일 때는 생화학적 반응에 의하여 처리되지만 보다 큰 세포와 같은 물질일 경우 면역반응에 의하여 처리되는데, 면역반응의 결과가 숙주에 대하여 유익할 때를 면역성이라 하고 해로운 때를 과민성(hypersensitivity) 혹은 알레르기라 한다<sup>17,18)</sup>.

알레르기 반응은 시간적 경과와 초기의 주요한 양상에 따라 즉시형, 면역 복합체형 및 지연형 반응 등 몇 가지로 분류되며, 보통 알레르기라고 불리는 제 I형 anaphylaxis는 일정한 항원에 대하여 이미 감작된 개체에 부착되어 있는 항체에 항원이 결합한 후 수분 내에 일어나는 즉시형 반응이다<sup>19)</sup>.

알레르기 반응으로 발병되는 질환으로는 알레르기 비염, 두드러기, 식품알레르기, 곤충알레르기, 접촉성 피부염, 아토피피부염, 알레르기 안질환 등이 대표적이며, 가장 많은 비율을 차지하는 것이 알레르기성 비염, 아토피성 피부염이다<sup>3)</sup>. 알레르기 반응에 영향을 주는 요인들로는 유전 및 특이체질, 자율신경, 호르몬, 심리적으로, 연령, 대기오염과 기후 및 계절 등이 있으며<sup>20,21)</sup>, 우리나라 인구의 약 12~20% 정도가 알레르기 반응을 보이는 것으로 알려져 있다<sup>22)</sup>.

알레르기성 비염은 비폐색, 수양성 비루, 재채기 및 코나 눈의 소양감을 특징으로 하는 면역질환으로 흡인성 항원과 식이성 항원에 대한 민감한 반응이 주된 원인이며 온도나 습도 중의 외부 기후조건, 비강내의 해부학적 구조 및 정신적 스트레스 등이 중요한 유발인자로 작용하고 있다<sup>23)</sup>. 이러한 알레르기성 비염은 IgE에 의해 유발되는 면역반응으로 생각되고 계절성 알레르기성

비염과 통년성 알레르기성 비염으로 분류되며 세계적으로 증가되는 추세이다<sup>24)</sup>.

알레르기 비염은 한의학적 병명으로 鼻飢, 噴嚏, 鼻涕 등에 해당하며<sup>8,25)</sup> 《東醫寶鑑》<sup>26)</sup>에서의 개념규정을 보면 “飢者 鼻流涕也”, “傷風, 則決然鼻流涕”, “鼻流涕者, 屬肺寒也”라 하여 맑은 콧물이 나오는 병을 鼻飢라 하였고 이는 風邪에 傷하거나, 肺가 차기 때문이라 하였으며, 처방으로는 二陳湯 加味方, 川椒散, 細辛膏 등을 소개하였다. 한의학적 병인을 보면 肺氣가 허약하여 腠理가 不密한 상태에서 寒邪가 침범하여 內鬱되었거나 生冷한 음식물에 손상을 받아 寒邪가 속에 쌓여서 유발되는 것이다<sup>1)</sup>.

최근 한의학에서는 麗澤通氣湯<sup>9)</sup>, 등 辛夷散<sup>10)</sup>, 辛夷清肺陰<sup>11)</sup>, 葛根湯<sup>12)</sup>, 加味清鼻飲<sup>13)</sup>, 補中益氣湯<sup>14,15)</sup>, 小青龍湯<sup>16)</sup> 등의 항알레르기 효과에 대한 실험적 연구를 활발히 하고 있고<sup>10-20)</sup>, 임상에서도 한약으로 우수한 효과를 보는 것으로 알려져 있으나 제품화 및 상용화에는 제약이 많았다.

아토피피부염은 홍반, 부종, 심한 소양증, 삼출과 부스럼 딱지를 특징으로 하고 급성기에는 표피 내에 수포를 형성하며 만성기에는 인설과 피부의 비후가 생기는 피부염증을 말하는 것으로<sup>27,28)</sup>, 한의학에서는 胎熱, 奶癬, 小兒濕疹, 胎胎瘡, 四彎風이 속한다<sup>8)</sup>.

한편 비만세포(mast cell)는 피부, 호흡기, 림프관 주위, 혈관 주위, 위장관의 점막, 뇌 등 전신의 장기에 분포하고 있으며 천식이나 알레르기성 비염과 같은 알레르기 반응을 매개하는 중요한 세포이다. 비만세포로부터 히스타민의 유리는 즉시형 알레르기 반응의 병리학적 진행과정에서 필수적인 단계인데 비만세포 표면에 존재하는 면역글로블린 E (IgE)의 수용체인 FcεRI에 항원이 결합하여 유발되는 비만세포 활성화에 의해 히스타민이 유리된다.

비만세포가 활성화되면 비만세포는 탈과립 되고 또한 아라키돈산 대사물질과 염증반응을 유발하는 다양한 사이토카인이 분비된다<sup>4)</sup>. 비만세포에서 분비되는 다양한 염증 유발물질 중 히스타민은 즉시형 과민성 반응을 유발하는 가장 강력한 생리 활성물질로 알려져 있다<sup>5)</sup>. 특히 비만세포의 탈과립 반응은 IgE 수용체를 통한 자극 이외에도 칼슘 ionophore, codeine, 합성 부신 피질호르몬, compound 48/80과 같은 약리학적 복합물에 의한 자극 등이 있다<sup>5)</sup>.

Compound 48/80은 비만세포내의 칼슘 수준을 증가시켜 아나필락시 반응을 일으키는데 가장 많이 사용되고 있으며<sup>6)</sup>, 이러한 비만세포의 탈과립을 유도하는 자극에 의해 세포내 과립에 저장되어 있는 히스타민 등의 화학적 매개물질이 유리되고 그 결과 말초혈관에 대한 투과성 항진과 확장작용, 점막작용에 대한 선세포의 분비 항진작용, 기관지 평활근에 대한 수축작용 등을 일으켜 알레르기 반응이 발현된다<sup>29)</sup>. 비만세포의 활성화 후 유발되는 탈과립 과정의 신호전달경로에 대해서는 지금까지 많은 연구가 진행되었는데 특히 tyrosinase kinase의 인산화와 칼슘의 세포내 유입이 중요하다. 또한 비만세포에서의 히스타민의 유리에는 cAMP가 중요한 역할을 한다고 알려져 있다<sup>7)</sup>.

아나필락시는 비만세포로부터 히스타민, 헤파린, 염증 유발성 사이토카인과 같은 염증 매개물질이 급격하게 전신적으로 유리됨으로써 발생하는 증상이다. Compound 48/80이나 IgE에 의

한 비만세포가 활성화되면 다음 단계의 신호전달 경로가 활성화되어 과립내에 저장되어 있는 히스타민이 유리된다. Compound 48/80 및 다염기성 화합물들은 직접적으로 G-protein을 활성화시킬 수 있으며 이 활성화는 benzalkonium chloride에 의해 억제될 수 있다. 최근의 연구는 비만세포가 활성화 되는 동안 칼슘 유입에 대한 염소 채널 (Cl channel)의 활성화로 염소의 유입과 전도성이 증가하여 과분극이 약간 일어나 활동전위를 방해함으로써 염소 채널의 개방회수를 증가시킨다는 중요성을 강조하고 있다. 항알레르기 약물인 neocromil sodium이 배양 점막형 비만세포에서 염소 채널을 차단할 수 있음이 밝혀져 있으며 염소 채널은 비만세포로부터 화학적 매개물질의 유리를 위한 촉발인자가 될 수 있다. 결국 compound 48/80은 비만세포의 세포질 내로 칼슘의 유입을 증가시켜 혈관 작동성 아민을 유리하는 물질이므로 전신성 아나필락시스 이러한 기전과 관계가 깊은 것으로 사료되며 신호전달 과정의 활성화 기전은 compound 48/80이 직접 G-protein을 활성화 한다는 이론이 증명되고 있다<sup>30)</sup>.

본 실험에 사용된 新鼻煎은 오랜 임상경험에 의한 비전환의원 비염, 아토피, 천식 등의 알레르기 질환 처방으로, 특허등록 (특허 제0527834호) 및 미국 식품의약안전청(FDA) 승인 획득하여 안정성이 입증된 알레르기 질환의 한약치료제이다. 구성 약물 중 薏苡仁, 桑白皮, 桔梗은 潤肺清腸하고, 生地黃은 生血涼血하고, 魚腥草, 金銀花, 三白草는 清熱解毒하며, 陳皮, 白朮, 蒼朮, 甘草, 薄荷, 赤芍藥, 蘇子, 蔥白, 大棗, 生薑은 健脾益氣하여 全身氣血循環을 돕고 後天之氣인 脾胃와 腸을 돕고 기력을 올려주는 처방이다. 따라서 新鼻煎은 肺, 脾, 腎, 胃, 大腸에 작용하여 알레르기 질환의 근본적인 치료가 가능하고, 장기간 계속 사용하더라도 소화장애, 어지러움증 및 속쓰림 등의 부작용이 없으며, 알레르기성 질환이 염증반응으로 진행되어 유발되는 알레르기성 비염, 아토피성 피부염, 만성 천식 및 면역 과민반응 증상 등의 알레르기성 질환을 치료하는 효과가 있는 처방이다.

이에 저자는 新鼻煎의 항알레르기 효과를 연구하기 위하여 OVA로 비염을 유도된 세포로부터 Anti-Rat CD4<sup>+</sup> Monoclonal Antibody 와 PE Anti-Rat CD8<sup>+</sup> Monoclonal Antibody으로 新鼻煎을 경구투여한 후 염증반응에 관여하는 Ovalbumin(OA)에 의한 NO생성과 Broncho-alveolar lavage(BAL)과 BAL fluid(BALF) 내의 총세포수 및 lymphocyte수를 측정하고 분자생물학적으로 iNOS, COX-II 그리고 IL-4 mRNA양을 RT-PCR로 정량화하여 분석하여 그 효과를 검증하였다.

Shinbijen 물추출물에 대하여 알레르기 비염효능을 검증하기 위해서 Ovalbumin(OA)로 알레르기 비염 유발한 후 NO생성도의 농도 측정된 결과, 정상군은 4.0±1.82 μM이고 대조군은 78.2±2.9 μM정도이었으나 shinbijen은 23.1±3.5 μM인데 대조군에 비해 유의한 차이를 나타내었다(Table 2).

비염과 기관지의 염증반응을 조사하기 위해서 Broncho-alveolar lavage(BAL)과 BAL fluid(BALF) 내의 세포관찰한 결과, 기관지 세정액내의 총세포수에서 정상군은 6.34±1.25 (x10<sup>5</sup>/ml)이고 대조군은 27.43±1.53 정도이었으나 shinbijen은 10.63±0.34 μM인데 대조군에 비해 유의한 감소효과를 나타내었

으며(Table 3), 임파구 수에서 정상군은 2.23±1.45 (x10<sup>5</sup>/ml)이고 대조군은 14.53±1.01 정도이었으나 shinbijen은 5.71±2.45 μM인데 대조군에 비해 약 60%정도 감소하는 효과를 나타내었으며 비염 및 천식유도에 의한 T임파구의 이상 증가를 억제하는 유의성이 있었다(Fig. 2, 3).

면역세포 화학분석법에 의한 T세포의 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 수적증가 확인한 결과, CD4<sup>+</sup> 임파구 수는 정상군에서 1.34±0.21 (x10<sup>4</sup>/ml)이고 대조군은 6.13±1.53 정도이었으나 shinbijen은 3.65±2.34 (x10<sup>4</sup>/ml)인데 대조군에 비해 상당히 Th2에서 유래한 CD4<sup>+</sup>의 수가 유의한 감소효과를 나타내었으며, CD8<sup>+</sup>에서는 정상군은 1.12±0.52 (x10<sup>4</sup>/ml)이고 대조군은 5.02±0.56(x10<sup>4</sup>/ml)정도이었으나 shinbijen은 1.62±0.75 (x10<sup>4</sup>/ml)인데 대조군에 비해 약 62%정도 감소하는 효과를 나타내었으며 비염유도에 의한 T임파구의 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>의 증가를 억제하는 유의성이 있었다(Table 4).

Shinbijen이 비염을 유도한 흰쥐의 심장혈액내 T세포의 감소유무를 형광현미경으로 관찰한 결과, 정상군은 약한 반응을 보이나 대조군은 강한 녹색형광의 수가 증가하는 경향을 보인 반면 shinbijen은 형광 발현이 크게 감소하고 수적으로 대조군에 비해 많이 감소하는 경향을 나타냄을 알 수 있었다(Fig. 4).

Shinbijen이 비염 유발쥐내 폐기관지의 iNOS, IL-4를 발현효과를 조사한 결과, 대조군은 코점막 및 폐의 기관지 폐상피조직이 침파구의 심홍색이 많이 존재하고 상피세포의 수축이 강하게 나타나고 있으며 세망조직이 많이 손상받은 상태이나 shinbijen은 코점막이 보호내지 회복된 상태이며 정상과 동일하게 회복되는 경향을 보였고, 정상군은 평활근과 탄력결합조직이 잘 발달되어 있으나 대조군은 비염 유발물질에 의해 조직손상으로 이들 조직의 구성분들이 많이 파괴되어 있는데 shinbijen경우 정상과 유사한 결과를 나타내었다(Fig. 5, 6).

코점막조직 주변 단백질에 iNOS경우 대조군은 상피조직 부근에서 더 잘 발현된 상태였으며 염증으로 인한 수축이 증가된 양상인 반면 정상군과 shinbijen경우 상피조직부근에서 발현량이 감소되어 있는데 이는 정상적인 호흡상태에서 오는 상피세포내의 전사과정에서의 전사인자 발현양이 기본적인 양으로 발현되고 대조군경우 결합조직 주변에 존재하는 혈관, 림프관, 림프구 그리고 macrophage에서 주로 단백질 발현이 많이 유도되나 shinbijen경우 감소하는 경향을 보였고 IL-4경우 대조군은 결합조직 부근에서 더 잘 발현된 상태였으며 염증으로 인한 수축이 증가된 양상을 뒷받침해주고 있으며 반면 shinbijen경우 결합조직부근에서 발현량이 감소되어 있다(Fig. 7).

Shinbijen 물추출물에 대하여 혈액내 임파구 iNOS, COX-II 그리고 IL-4 mRNA 발현의 억제에 미치는 영향을 알아보기 위해 total RNA를 분리하여 이를 RT-PCR를 실시한 결과 iNOS, COX-II, IL-4 mRNA 전사발현에서 대조군에서는 강하게 전사발현이 유도되는 양상을 보인 반면 shinbijen에서는 iNOS, COX-II, IL-4 mRNA가 점진적으로 전사발현이 감소하는 경향을 보였는데 기도 주변의 macrophage, T임파구에 의해 분비되는 IL-4 그리고 macrophage에 의해 발현되는 iNOS와 COX-II전사 발현은 곧 코점막 상피세포를 자극하여 수축을 유도하기 때문에

shinbijen에 의해 전사발현을 억제하는 것으로 사료된다. 이는 상기 약물이 알레르기성 유발원에 의해 기도세포(조직)내 oxidative stress에 의해 iNOS, COX-II의 발현으로 NO생성이 기도수축을 야기하여 재채기 및 비염으로 인한 콧물생성을 유발하는 경향을 억제하므로 알레르기 비염 억제효과를 나타냄을 알 수 있었다(Fig. 8).

이와 같이 新鼻煎 물추출물이 TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6, Prostaglandin, Luecotriene 및 NO와 같은 염증유발물질에 관여하는 인자에 효과적으로 작용하고, 장기간 계속 복용하더라도 소화장애, 어지러움증 및 속쓰림 등의 부작용이 없어 알레르기성 비염, 아토피성 피부염, 만성 천식 및 면역 과민반응 증상 등의 알레르기성 질환의 한약 치료제로서 효과가 있는 것으로 나타나, 향후 지속적인 보완 연구로 제품화가 가능할 것으로 사료된다.

## 결 론

新鼻煎의 항알레르기 효과를 연구한 결과는 다음과 같은 결론을 얻었다.

新鼻煎은 Ovalbumin(OA)로 알레르기 비염 유발한 후 NO 생성도를 측정된 결과, 대조군에 비해 유의성있게 억제하였다. 新鼻煎은 Broncho-alveolar lavage(BAL)과 BAL fluid(BALF) 내에서 기관지 세정액내의 총세포수와 임파구 수에서 대조군에 비해 유의한 감소효과를 나타내었다. 新鼻煎은 비염유도에 의한 T 임파구의 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>의 증가를 p<0.05 범위내에서 유의성있게 억제하였다. 新鼻煎은 비염을 유도한 심장혈액내 T세포 형광 발현이 크게 감소하고 수적으로 대조군에 비해 많이 감소하는 경향을 나타냈다. 新鼻煎은 면역조직화학 분석법에 의한 단백질발현에서 코점막이 보호내지 회복된 상태이며 정상과 동일하게 회복되는 경향을 보였고, iNOS, IL-4 발현을 감소시켰다. 新鼻煎은 RT-PCR분석법에 의한 iNOS, COX-II 그리고 IL-4 mRNA 전사 발현이 대조군에 비해 감소하는 경향을 보였다.

이상의 결과와 같이 新鼻煎은 탁월한 알레르기성 비염, 아토피성 피부염 및 천식치료의 약학적 효능을 가진 것으로 나타나, 임상적으로 유용하게 사용될 수 있을 것으로 사료되며, 향후 이에 대한 심층적이고 체계적인 연구가 뒤따라야 할 것으로 생각된다.

## 감사의 글

이 논문은 2007년도 원광대학교의 교비 지원에 의해서 수행됨.

## 참고문헌

1. 채병윤. 한방안이비인후과학. 집문당, 서울, pp 45-252, 321-326, 1989.
2. 타다 토미오 저, 황상의 역: 면역의 의미론. 서울, 한울, pp 145-148, 1998.
3. 이계희. 알레르기 질환에 관한 유병률 조사. 대구산업전문대학 논문집 11집, pp 95-105, 1997.

4. Metcalfe, D.D., Kaliner, M. and Donlon, M.A. The mast cell. Crit. Rev. Immunol. 3: 23, 1981.
5. Peterson, L.J., Mosbech, H. and Skov, P.S. Allergen-induced histamine release in intact human skin in vivo assessed by skin microdialysis technique: Characterization of factors influencing histamine releasability., J. Allergy Clin. Immunol. 97: 672-679, 1996.
6. Lagunof, D., Martin, T.W. and Read, G. Agents that release histamine from mast cells. Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 23: 331-351, 1983.
7. Alm, P.E. Modulation of mast cell cAMP levels. A regulatory function of calmodulin, Int. Arch. Allergy Appl. Immunol. 75: 375, 1984.
8. 강병수. 한방임상 알레르기, 성보사, pp 10, 19, 22-23, 189-210, 1988.
9. 박진구. 여택통기탕과 여택통기탕가미방의 항알레르기 효과에 대한 실험적 연구. 경희대학교대학원(석사), 2000.
10. 최은성, 채병윤. 신이산과 신이산 가미방의 항알레르기 효과에 대한 실험적 연구. 동의학회지 3(1):31-47, 1999.
11. 이영규, 채병윤: 신이청폐음의 항알레르기 효과에 관한 실험적 연구. 대한외관과학회지 13(2):165-181, 2000.
12. 양태규, 김윤범, 채병윤. 갈근탕과 가미갈근탕의 항알레르기 및 소염 해열 진통작용에 대한 실험적 연구. 대한외관과학회지 15(1):76-95, 2002.
13. 은재순, 이동희, 전용근, 권영안, 권진. 가미청비음이 면역반응에 미치는 영향. 동의생리병리학회지 18(5):1391-1396, 2004.
14. 이태영, 강희, 명유진, 심범상, 최승훈, 김성훈, 안규석. The effect of Bojungigkitang-Chunbang on Activity of CD4<sup>+</sup> Tcell. 동의생리병리학회지 18(2):580-585, 2004.
15. Suzuki, T., Takano, I., Nagai, F., Ushiyama, K., Okubo, T., Seto, T., Ikeda, S., Kano, I. Suppressive effects of Hochu-ekki-to, a traditional Chinese medicine on IgE production and histamine release in mice immunized with ovalbumin. Biol. Pharm. Bull. 22: 1180-1184, 1999.
16. 김경렬, 이종화, 김영준, 최성열, 김태현, 류영수, 강형원. RBL-2H3 비만세포와 동물병태모델에서 小青龍湯의 항알레르기 효과. 동의생리병리학회지 21(5):1260-1270, 2007.
17. 이기영. 알레르기의 진료. 서울, 한국의학사, pp 26-28, 41-53, 182-230, 268-340, 502-525, 1992.
18. 이문호 외. 내과학. 서울, 박애출판사, pp 1989-2059, 1977.
19. 문희범. 알레르기 질환의 임상과 실제, 서울, 여문각, pp 2-11, 170-185, 1995.
20. 허충림. 피부알레르기. 경희의학, 12(2):108-116, 1996.
21. 염석영. 임상알레르기학. 서울, 여문각, pp 10-19, 1984.
22. 최옥범. 머위(Petasites Japonicum) 추출물의 항알레르기 효과. 한국식품영양학회, 15(4):382-385, 2002.
23. 임현호. 알레르기성 비염의 통계적 관찰. 대한이비인후과학회지 27(3):247-253, 1984.

24. 백만기. 최신이비인후과학. 서울, 일조각, pp 192-195, 1999.
25. 채병운. Allergy性 鼻炎(噴嚏)에 대한 臨床的 研究. 대한한의학회지 3: 1, 1982.
26. 허준 著. 동의보감국역위원회 譯. 법인문화사, 서울, p 591, 1999.
27. 서울대학교 의과대학 피부과학 교실. 의대생을 위한 피부과학. 고려의학, 서울, pp 32-37, 2001.
28. 김정희. 아토피피부염의 최신 지견. 소아알레르기 및 호흡기과학회지 14(1):12-23, 2004.
29. Alfonso, A., Cabado, A.G., Vieytes, M.R. and Botana, L.M. Functional compartments in rat mast cells for cAMP and calcium on histamine release. Cell Signal. 12: 343, 2000.
30. Weston, M.C. and Peachell, P.T. Regulation of human mast cell and basophil function by cAMP. Gen. Pharmacol. p 31, 715, 1998.