

# 定喘湯과 淸上補下湯이 asthma model 內的 cytokine에 미치는 影響

김영우, 정희재, 이형구, 정승기

경희대학교 한의과대학 폐계내과학교실

## The Effects of Jeongcheon-tang and Cheongsangboha-tang on IL-4, IL-5, IL-6 and IL-10 in Asthma Model

Young-Woo Kim, Hee-Jae Jung, Hyung-Koo Rhee, Sung-Ki Jung

Division of Respiratory System, Department of Internal Medicine,  
College of Oriental Medicine, Kyung-Hee University, Seoul, Korea

**Objectives** : We aimed to identify the effect of Jeongcheon-tang(定喘湯) and Cheongsangboha-tang(淸上補下湯) on the transcriptional activities of cytokine IL-4, IL-5, IL-6 and IL-10 involved in asthma model.

**Materials and Methods** : RBL-2H3 cell lines were used. Cells were stimulated with calcium inophore(2 $\mu$ M : Sample group 1, 4 $\mu$ M : Sample group 2) for maximal gene expression. After 3rd treatment of samples and incubation(per 24hours), total cellular RNAs were collected using Trizol solution method. Then transcriptional activities of IL-4, IL-5, IL-6 and IL-10 were measured by RT-PCR with electrophoresis.

**Results** : In IL-4 study, Jeongcheon-tang treated group showed 82.76%(Sample group 1) of transcriptional activities compared to the control group and Cheongsangboha-tang treated groups showed 85.77% (Sample group 1), 89.42% (Sample group 2) of transcriptional activities compared to the control groups. In IL-5 study, Jeongcheon-tang treated groups showed 88.24%(Sample group 1), 98.83%(Sample group 2) of transcriptional activities compared to the control groups and Cheongsangboha-tang treated group showed 73.66%(Sample group 2) of transcriptional activities compared to the control group. In IL-6 study, Jeongcheon-tang treated group showed 92.95%(Sample group 2) of transcriptional activities compared to the control group and Cheongsangboha-tang treated group showed 77.40%(Sample group 2) of transcriptional activities compared to the control group. In IL-10 study, Jeongcheon-tang treated group showed 118.46% (Sample group 2) of transcriptional activities compared to the control group.

**Conclusions** : This study shows that Jeongcheon-tang has the inhibitory effect on the transcription of IL-4, IL-5 및 IL-6 gene expression and the increasing effect on the transcription of IL-10 gene expression, and Cheongsangboha-tang has the inhibitory effect on the transcription of IL-4, IL-5 and IL-6 gene expression in RBL-2H3 cell lines. Advanced studies are required to investigate the mechanisms of inhibition or increase by herbal medicine in asthma model.

**Key Word** : Jeongcheon-tang(Dingchuan-tang), Cheongsangboha-tang (Qingshangbuxia-tang), IL-4, IL-5, IL-6, IL-10.

## 1. 緒 論

定喘湯은 徐의 古今醫統大畧에 처음으로 수록된 처방으로 宣肺平喘 淸熱化痰 淸降肺氣 定喘化痰하는 효능이 있어 諸喘久不愈 哮喘 哮喘 喘急 哮喘痰盛

등 症의 치료에 응용되며, 이에 대한 연구로 鄭 등은 定喘湯이 천식에 미치는 영향에 대한 실험적 연구를 보고하였고, 王 등은 천식발작 시 나타나는 호흡양상과 기관조직에 미치는 영향을 관찰하였다.

淸上補下湯은 龔의 壽世保元에 최초

로 수록된 淸上補下丸을 탕제로 복용가능하도록 용량을 조절한 처방으로 補陰潤肺化痰 淸熱降氣<sup>6</sup>시키는 효능이 있어 上氣 喘息 咳嗽 痰涎上壅 등 症이 있는 폐질환의 치료에 응용되고 있으며, 이에 대한 연구로 權 등은 淸上補下湯이 Allergy천식의 호흡양상과 기관조직에 미치는 영향에 대하여 보고하였고, 鄭 등은 加味淸上補下湯이 천식에 효과가 있음을 실험적 연구와 임상적 관찰을

접수: 2001년 9월 18일 채택: 2001년 10월 19일  
교신저자: 김영우 (서울시 동대문구 회기동 1번지 경희의료원 부속한방병원 5내과의사실, 전화: 02-958-9147, 팩스: 02-958-9148, E-mail: carpalis@netian.com)

통하여 보고한 바 있다.

기관지천식(이하 천식)은 기관지 내의 가변적 혹은 간헐적 협착에 의한 호흡곤란, 기침, 천명의 증상이 반복되는 증후군으로, 한의학에서는 呼吸急促하고 喘鳴有聲한 증상을 主症으로 하는 哮喘症에 해당되며, 발병원인으로는 寒冷, 心因, 痰, 素因, 感染, 過敏反應 및 肺腎의 호흡기능장애 등이 있다.<sup>7</sup> 최근에는 천식을 아급성 염증질환으로 인식하여 병인론적인 면에서 기도의 염증반응이 중요하게 인식되고 있다.<sup>9</sup>

천식에 있어서 기도염증반응이 중요하게 인식됨에 따라, 최근 천식에 대한 연구는 분자생물학적인 기법을 통하여 기도염증반응에 관여하는 세포나 분자 수준의 기전을 규명하는 것에 집중되고 있다. 특히, 면역반응에 있어서 매개물질인 cytokine, chemokine에 대한 연구가 활발히 진행되고 있어, Ferreira 등<sup>10</sup>은 T helper(이하 Th)2에서 분비되는 cytokine인 interleukin(이하 IL)-1, 3, 5, 6, 13 및 TNF(tumor necrosis factor)- $\alpha$ , GM-CSF(ganulocyte/macrophage-colony stimulating factor)의 작용기전을 보고하였고, Carlos 등<sup>11</sup>은 세포활성에 관여하는 cytokine, chemokine의 주요기능에 대하여 보고하였으며, Griffiths-Johnson 등<sup>12</sup>은 동물실험 model을 구체화시키는 방법으로 각종 cytokine, chemokine의 작용 mechanism을 종합적으로 보고한 바 있다.

천식에 관여하는 cytokine들의 생성을 억제하거나 촉진하는 것은 천식치료에 대한 새로운 접근방식이 될 수 있으며, 각종 천식치료제의 객관적인 효능검증도 이를 통하여 가능할 것이다. 천식에 관여하는 cytokine 중 IgE의 합성에 관여하는 IL- 4, 호산구(eosinophil)의

활성화를 주도하는 IL-5, 기도점막의 과증식과 이상분비물증가에 관여하는 IL-6 및 각종 cytokine 생성을 억제하고, IgE 항체형성을 억제하는 IL-10 등은 천식치료에 있어서 중요한 지표가 될 것으로 생각된다.<sup>13</sup> 이와 관련된 연구로는 白 등<sup>14</sup>은 解表二陳湯加減方이, 車 등<sup>15</sup>은 小青龍湯이 asthma model 내에서 IL-1, IL-4, IL-5, IL-10, IL-13 및 TNF- $\alpha$ 전사에 미치는 영향에 대하여 보고하였다. 또한 李 등<sup>16</sup>은 麥門冬과 五味子가, 鄭 등<sup>17</sup>은 杏仁과 桔梗이, 許 등<sup>18</sup>은 瀉白散과 甘草가 IL-4, IL-5 및 IL-6 전사에 미치는 영향을 보고하였다.

이에 저자는 rat basophil leukemia-2H3(이하 RBL-2H3)세포주를 이용하여, 천식치료에 있어 임상적 효과가 인정되는 定喘湯과 淸上補下湯이 천식기전에 중요한 역할을 하는 것으로 알려진 cytokine IL-4, IL-5, IL-6 및 IL-10의 전사에 미치는 영향을 실험적으로 관찰한 결과를 보고하는 바이다.

## II. 實驗

### 1. 재료

#### 1) 세포주 (Cell line)

Rat의 blood(basophil)에서 유래하였고 chemically induction 된 leukemia cell인 RBL-2H3(from the

KCLB # 22256) 세포를 사용하였다.

#### 2) 배지

DMEM(Dulbecco's modified Eagle Medium)에 3.7g/L sodium bicarbonate, 2.5g/L HEPES buffer, 10% fetal bovine serum(FBS), 그리고 1% pencillin-streptomycin(10000U/ml)을 첨가하여 사용하였다.

#### 3) 약재

본 실험에 사용한 定喘湯 및 淸上補下湯의 약재는 경희의료원 한방병원에서 구입하여 정선한 후 사용하였으며 定喘湯 1첩의 구성(Table I)과, 淸上補下湯 1첩의 구성(Table II)은 다음과 같다.

#### 4) 검액(한약추출물) 조제

멸균된 3차 증류수 30ml에 약재 엑기스 3.0g을 넣고 12시간동안 magnetic stirrer로 저어주면서 녹였다. 이후 12,000rpm으로 15분간 원심분리하여 상층액만 10 $\mu$ m filter (Polycarbonate membranes, Poretics, Co., U.S.A.)로 여과하고, 이 여과액을 15,000 rpm으로 15분간 원심분리하여 상층액을 5 $\mu$ m filter(ADVANTEC MFS, Inc., U.S.A.)로 여과한다. 이 여과액을 20,000rpm으로 15분간 원심분리하여 상층액을 1 $\mu$ m filter (Polycarbonate membranes, Poretics, Co., U.S.A.)로 여과하고, 다시 이 여과액을 0.22 $\mu$ m syringe filter(HT Acrodisc, Gelman,

Table 1. Composition and Dosage of Jeongcheon-tang

Herb	Scientific Name	Dose(g)
麻 黃	<i>Ephedrae Herba(Ephedra sinica Stapf)</i>	12.0
杏 仁	<i>Ansu Semen(Prunus armeniaca L. var. ansu Maxim.)</i>	6.0
黃 芩	<i>Scutellariae Radix(Scutellaria baicalensis Georgi)</i>	4.0
半 夏	<i>Pinelliae Rhizoma(Pinellia ternata(Thunb.) Breit.)</i>	4.0
桑白皮	<i>Mori Cortex(Morus alba L.)</i>	4.0
蘇 子	<i>Perillae Semen(Perilla frutescens var. acuta Kudo)</i>	4.0
款冬花	<i>Farfarae Flos(Tussilago farfara L.)</i>	4.0
甘 草	<i>Glycyrrhizae Radix(Glycyrrhiza wralensis Fisch.)</i>	4.0
銀杏(炒黃)	<i>Ginkgo Semen(Broiled Ginkgo biloba L.)</i>	15.0
Total amount		57.0g

**Table 2.** Composition and Dosage of Cheongsangboha-tang

Herb	Scientific Name	Dose(g)
熟地黄	<i>Rehmannia Radix Vaporata(Rehmannia glutinosa (Gaertner) Libosch.)</i>	4.0
山藥	<i>Discoreae Radix(Dioscorea japonica Thurb.)</i>	4.0
山茱萸	<i>Corni Fructus(Cornus officinalis Sieb. et. Zucc.)</i>	4.0
白茯苓	<i>Hoelen(Poria cocos(Schw.) Wolf)</i>	4.0
牡丹皮	<i>Moutan Cortex Radicis(Paeonia suffruticosa Andr.)</i>	4.0
澤瀉	<i>Alismatic Radix(Alisma plantago-aquatica var. orientale Samuels)</i>	4.0
五味子	<i>Maximowicziae Fructus(Schizandra chinensis(Turcz.) Baill.)</i>	3.0
天門冬	<i>Asparagi Radix(Asparagus cochinchinensis Merr.)</i>	3.0
麥門冬	<i>Liripis Tuber(Liriope platyphylla Wang et Tang)</i>	3.0
貝母	<i>Fritillariae Rhizoma(Fritillaria cirrhosa D. Don.)</i>	3.0
瓜蒌仁	<i>Trichosanthis Semen(Trichosanthes kirilowii Maxim.)</i>	3.0
杏仁	<i>Ansu Seman(Prunus armeniaca L. var. ansu Maxim.)</i>	3.0
半夏(薑製)	<i>Pinelliae Rhizoma(Pinellia ternata(Thunb.) Breit.)</i>	3.0
枳實	<i>Aurantii Immaturus Fructus(Citrus aurantium L.)</i>	3.0
桔梗	<i>Platycodi Radix(Platycodon gradiflorus(Jacq.) A. DC.)</i>	3.0
黃芩	<i>Scutellariae Radix(Scutellaria baicalensis Georgi)</i>	3.0
黃連	<i>Coptidis Rhizoma(Coptis chinensis Franch.)</i>	3.0
甘草	<i>Glycyrrhizae Radix(Glycyrrhiza walenis Fisch.)</i>	2.0
Total amount		59.0g

Co., U.S.A)로 여과하여 검액(한약 추출물)으로 사용하였다.

**2. 방법**

**1) 세포배양(Cell culture)**

100mm culture dish (TPP, Switzerland)에 rat leukemia cell line RBL-2H3 세포를 접종한 후 DMEM (Dulbecco's modified Eagle Medium)에 3.7g/L sodium bicarbonate, 2.5g/L HEPES buffer, 10%의 fetal bovine serum(FBS) 그리고, 1% penicillin-sterptomycin(10000U/ml)을 첨가한 배양배지를 사용하여 배양하였다. FBS는 사용하기 전에 56℃로 30분간 heat-inactivated시켜 사용하였다. 또한 5% CO<sub>2</sub>와 95% 습도조건이 유지되는 CO<sub>2</sub> incubator를 이용하여 37℃에서 배양하였다. 배지는 7~10ml씩 주 2회 교체해 주었고, 주 1~2회 계대배양을 해주었다. 세포배양에 사용한 모든 시약은 GIBCO BRL, Co., U.S.A 제품을 사용하였다.

**2) 검액 처리**

배양된 세포가 100mm tissue culture dish에서 약 80~90% 정도 군집을 보이면 0.25% trypsin-EDTA (GIBCO BRL, Co., U.S.A)를 500μl 처리하여 세포를 100mm culture dish로부터 떼어낸 후 7~10ml 배양배지로 trypsin-EDTA를 중화시켜 세포현탁액(cell suspension)을 만든다. 이 세포현탁액(cell suspension)에서 20μl를 취한 다음 0.4% trypan blue(in Phosphate buffered saline)에 염색한 후 hemocytometer를 이용하여 세포수를 계산하였다.

약 1×10<sup>5</sup>개의 세포를 새로운 100mm culture dish에 접종하여 부착하게 한다. 여러 cytokine의 전사를 통한 발현도를 극대화시키기 위하여 A23187 calcium inophore(Sigma, Co., U.S.A)를 각각 2μM, 4μM 처리하였다. 세포를 접종한지 24시간이 경과한 후, 검액의 최종 농도가 0.1%, 1%

되도록 1번째 처리한 후 5% CO<sub>2</sub>와 95% 습도조건이 유지되는 37℃ CO<sub>2</sub> incubator에서 24시간 배양한 후 배지를 교체한다. 2번째로 검액의 최종 농도가 0.1%, 1% 되도록 처리한 후 5% CO<sub>2</sub>와 95% 습도조건이 유지되는 37℃ CO<sub>2</sub> incubator에서 24시간 배양하고 배지를 교체한다.

다시 검액의 최종 농도가 0.1%, 1% 되도록 3번째 처리한 후 5% CO<sub>2</sub>와 95% 습도조건이 유지되는 37℃ CO<sub>2</sub> incubator에서 24시간 배양한 후, total RNA를 추출한다. 검액의 최종 농도 1%처리군은 세포가 사멸하여 RNA추출에 실패하였다. 이때 약재를 처리한 실험군(Treatment group)에 대한 대조군으로 PBS 완충용액(Phosphate buffered saline, pH 7.4, without Ca, Mg)을 같은 농도로 처리해 준다. 실험군은 다음과 같이 분류한다

**(A) Control : 대조군**

한약재를 처리하지 않고, A23187 calcium inophore(Sigma, Co., U.S.A) 각각 2μM, 4μM과 PBS(Phosphate buffered saline) 완충용액을 약재와 같은 농도로 처리 배양하였다.

**(B) Treatment 1 : A23187 calcium inophore(2μM)+한약재 처리군**

A23187 calcium inophore(2μM)과 한약재를 0.1% 농도로 처리하여 배양하였다.

**Sample 1 : A23187 calcium inophore(2μM)+Jeongcheon-tang 0.1%**

**Sample 2 : A23187 calcium inophore(2μM)+Cheongsangboha-tang 0.1%**

**(C) Treatment 2 : A23187 calcium inophore(4μM)+한약재 처리군**

A23187 calcium inophore(4μM)과 한약재를 0.1% 농도로 처리하여 배양

하였다

Sample 3 : A23187 calcium inophore(4μM)+Jeongcheon-tang 0.1%

Sample 4 : A23187 calcium inophore(4μM)+Cheongsangboha-tang 0.1%

3) RNA의 추출

Total cellular RNA는 trizol solution(Gibco BRL, Co., U.S.A)을 이용하여 분리하였다. 1ml의 trizol solution을 처리하여 cell을 용해시킨 후 Cell Scraper(TPP, switzerland)로 채취하여 세포 추출물을 1.5ml microtube에 모은 후 18~21G 주사기로 균질화(syringe homogenize)한다. 세포 추출물은 4℃ 12,000rpm으로 10분간 원심분리를 통하여 상층액을 수거한 후, 이 상층액과 phenol : chloroform : isoamyl alcohol이 25 : 24 : 1로 혼합되어 있는 용액의 상층액 200μl를 첨가한 다음 5~15분 정도 상온에 두었다가 맑은 상층액만 수거하여, 4℃ 12,000rpm으로 15분 동안 원심분리한다. RNA층만 떼서 새로운 microtube에 옮기고, 동량의 100% isopropanol alcohol을 혼합한 뒤 5~15분 정도 상온에 두었다가 4

℃ 12,000rpm으로 15분 동안 원심분리한다. 상층액을 제거하고 RNA pellet에 1.5ml 75% ethanol로 세척하고 4℃ 12,000rpm으로 5분 동안 원심분리한다. 5~10분간 상온에서 완전히 건조시킨 후, 100μl DEPC(diethylpyrocabonate) water에 RNA를 녹인 다음 spectrophotometer(Hewlett-Packard, Co., U.S.A.)를 사용하여 정량하였다. 분리방법은 다음과 같다.

remove media and PBS washing→ add 1ml TRI-reagent→scrap(with sterile cell lifter)→into microtube→homogenize (use 18~21G syringe)→12,000rpm, 10min 4℃→supernatant→stand 5min room temperature→200μl chloroform→vortex (turn to pink)→stand 10min room temperature→12000rpm, 15min, 4℃→supernatant→add 100% 500μl isopropanol

4) Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction(RT-PCR) cDNA 합성(reverse transcription)은 M-MLV reverse transcriptase (GIBCO BRL, Co., U.S.A.)를, PCR

에는 Taq polymerase(TaKaRa, Co., Japan)를 사용하였다. 1μg RNA를 65℃에서 15분 동안 처리하여 denature시킨 후 반응용액(5×Buffer 4μl, 10mM deoxynucleotide mixture 1μl, 20μM oligo(dt)15 primer 1μl, 200U/μl M-MLV reverse transcriptase 0.2μl, 0.1M dithiothreitol 2μl, DEPC water로 최종부피 20μl로 만듦)과 혼합한 후, 37℃ 60분, 72℃ 15분으로 cDNA 합성(Reverse Transcription)했다. PCR은 위에서 합성한 cDNA 1μl를 반응액(10×Buffer 2.5μl, 2.5mM deoxynucleotide mixture 2μl, 5U/μl Taq polymerase 0.2μl, 10μM sense primer 1μl, 10μM anti-sense primer 1μl, DEPC water로 최종부피 25μl로 만듦)과 혼합하여 PCR(Perkin Elmer 9800, U.S.A.)했다. PCR에 사용된 primer는 다음과 같다(Table III).

5) 전기영동

1.5% agarose gel(Sigma, Co., U.S.A)로 RT-PCR 반응물 10μl를 전기영동하여 분석하였다. 전기영동은 100V에서 30분 동안 수행하였으며 1X TAE buffer를 사용하였다. Gel은 Et-Br(ethidium bromide Sigma, Co., U.S.A) 용액으로 20분간 염색을 한 후 다시 3차 증류수에 20분간 탈염색을 하였다. 자외선을 통하여 전기영동 결과를 관찰한 후 GEL-DOC (photodoc system, Bio-Rad Co. LTD., U.S.A)을 사용하여 확인하고 사진으로 제작하였다.

6) 전사도의 계산(Calculation of transcriptional rate)

전사율의 결과는 3회의 독립적인 실험결과를 house keeping gene인 GAPDH 유전자의 전사능과 비교하여 나타내었다.

Table 3. Sequence of Primers Used for Quantitative RT-PCR

Primers	Sequences
IL-4 : 351 bp	
IL-4-sens	5'-ACC TTG CTG TCA CCC TGT TC-3'
IL-4-anti-sens	5'-TTG TGA GCG TGG ACT CAT TC-3'
IL-5 : 326 bp	
IL-5-sens	5'-ATG CTT CTG TGC TTG AAC G-3'
IL-5-anti-sens	5'-CTG GTC TTC CGC CTC TCT TC-3'
IL-6 : 509 bp	
IL-6-sens	5'-GAC TGA TGT TGT TGA CAG CCA CTG C-3'
IL-6-anti-sens	5'-TAG CCA CTC CTT CTG TGA CTC TAA CT-3'
2IL-10 : 346 bp	
IL-10-sens	5'-TGC CTT CAG TCA AGT GAA GAC-3'
IL-10-anti-sens	5'-AAA CTC ATT CAT GGC CTT GTA-3'
GAPDH : 307 bp	
GAPDH-S	5'-CGG AGT CAA CGG ATT TGG TCG TAT-3'
GAPDH-A	5'-AGC CTT CTC CAT GGT GGT GAA GAC-3'

### III. 結果

#### 1. IL-4 전사에 대한 定喘湯, 淸上補下湯의 효과

定喘湯과 淸上補下湯의 IL-4 전사에 미치는 영향을 알아보기 위하여 대조군과 0.1%약물 투여군으로 나누어, 대조군 · 0.1%약물 투여군 모두 2μM(Treatment 1)과 4μM(Treatment 2) A23187 calcium inophore로 각각

induction시킨 후 24시간씩 3회에 걸쳐 검액처리, 배양하여 RNA를 추출한 후 IL-4의 primer로 RT-PCR을 실시하였다. RT-PCR product를 1.5% sigma agarose로 전기영동한 후 GEL-DOC로 정량분석하였으며, 모든 분석은 house keeping gene인 GAPDH의 양과 비교하여 측정하였다.

실험 결과 Treatment 1에서는 대조군에 비하여 定喘湯과 淸上補下湯 투여군이 각각 82.76%, 85.77% 발현되어,

17.24%, 14.23%의 전사억제효과를 나타내었고, Treatment 2에서는 定喘湯과 淸上補下湯 투여군이 각각 146.92%, 89.42%발현되어 淸上補下湯 투여군에서만 10.58%의 전사억제효과를 나타내었다(Table IV).

#### 2. IL-5 전사에 대한 定喘湯, 淸上補下湯의 효과

대조군과 0.1%약물 투여군으로 나누어, 대조군 · 0.1%약물 투여군 모두 2μM(Treatment 1)과 4μM(Treatment 2) A23187 calcium inophore로 각각 induction시킨 후 24시간씩 3회에 걸쳐 검액처리, 배양하여 RNA를 추출한 후 IL-5의 primer로 RT-PCR을 실시하였다. RT-PCR product를 1.5% sigma agarose로 전기영동하여 GEL-DOC로 정량분석하였으며, 모든 분석은 house keeping gene인 GAPDH의 양과 비교하여 측정하였다.

실험 결과 Treatment 1에서는 대조군에 비하여 定喘湯과 淸上補下湯 투여군이 각각 84.61%, 98.57%발현되어, 定喘湯과 淸上補下湯 투여군이 각각 15.39%, 1.43%의 전사억제효과를 나타내었고, Treatment 2에서는 定喘湯과 淸上補下湯 투여군이 각각 98.40%, 73.17%발현되어 1.60%, 26.83%의 전사억제효과를 나타내었다(Table V).

#### 3. IL-6 전사에 대한 定喘湯, 淸上補下湯의 효과

대조군과 0.1%약물 투여군으로 나누어, 대조군 · 0.1%약물 투여군 모두 2μM(Treatment 1)과 4μM(Treatment 2) A23187 calcium inophore로 각각 induction시킨 후 24시간씩 3회에 걸쳐 검액처리, 배양하여 RNA를 추출한 후 IL-6의 primer로 RT-PCR을 실시하였

**Table 4.** The Effect of Jeongcheon-tang and Cheongsangboha-tang against IL-4 Gene Expression

Expression(%)	Control	Treatment 1		Treatment 2	
		Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 4
IL-4/GAPDH	100	82.76	85.77	146.92	89.42

Control : A23187 calcium inophore(2μM for Treatment 1, 4μM for Treatment 2) + PBS(Phosphate buffered saline)

Sample 1 : A23187 calcium inophore(2μM) + Jeongcheon-tang 0.1%  
 Sample 2 : A23187 calcium inophore(2μM) + Cheongsangboha-tang 0.1%  
 Sample 3 : A23187 calcium inophore(4μM) + Jeongcheon-tang 0.1%  
 Sample 4 : A23187 calcium inophore(4μM) + Cheongsangboha-tang 0.1%

**Table 5.** The Effect of Jeongcheon-tang and Cheongsangboha-tang against IL-5 Gene Expression

Expression(%)	Control	Treatment 1		Treatment 2	
		Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 4
IL-5/GAPDH	100	84.61	98.57	98.40	73.17

Control : A23187 calcium inophore(2μM for Treatment 1, 4μM for Treatment 2) + PBS(Phosphate buffered saline)

Sample 1 : A23187 calcium inophore(2μM) + Jeongcheon-tang 0.1%  
 Sample 2 : A23187 calcium inophore(2μM) + Cheongsangboha-tang 0.1%  
 Sample 3 : A23187 calcium inophore(4μM) + Jeongcheon-tang 0.1%  
 Sample 4 : A23187 calcium inophore(4μM) + Cheongsangboha-tang 0.1%

**Table 6.** The Effect of Jeongcheon-tang and Cheongsangboha-tang against IL-6 Gene Expression

Expression(%)	Control	Treatment 1		Treatment 2	
		Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 4
IL-6/GAPDH	100	126.93	128.91	92.76	77.24

Control : A23187 calcium inophore(2μM for Treatment 1, 4μM for Treatment 2) + PBS(Phosphate buffered saline)

Sample 1 : A23187 calcium inophore(2μM) + Jeongcheon-tang 0.1%  
 Sample 2 : A23187 calcium inophore(2μM) + Cheongsangboha-tang 0.1%  
 Sample 3 : A23187 calcium inophore(4μM) + Jeongcheon-tang 0.1%  
 Sample 4 : A23187 calcium inophore(4μM) + Cheongsangboha-tang 0.1%

다. RT-PCR product를 1.5% sigma agarose로 전기영동하여 GEL-DOC로 정량분석하였으며, 모든 분석은 house keeping gene인 GAPDH의 양과 비교하여 측정하였다.

실험 결과 Treatment 1에서는 대조군에 比하여 定喘湯과 淸上補下湯 투여군이 각각 126.93%, 128.91% 발현되어, 전사억제효과가 나타나지 않았고, Treatment 2에서는 定喘湯과 淸上補下湯 투여군이 각각 92.76%, 77.24% 발현되어 7.26%, 22.76%의 전사억제효과를 나타내었다(Table VI).

#### 4. IL-10 전사에 대한 定喘湯, 淸上補下湯의 효과

대조군과 0.1%약물 투여군으로 나누어, 대조군·0.1%약물 투여군 모두 2μM(Treatment 1)과 4μM(Treatment 2) A23187 calcium inophore로 각각 induction시킨 후 24시간씩 3회에 걸쳐 검액처리, 배양하여 RNA를 추출한 후 IL-10의 primer로 RT-PCR을 실시하였다. RT-PCR product를 1.5% sigma agarose로 전기영동하여 GEL-DOC로 정량분석하였으며, 모든 분석은 house keeping gene인 GAPDH의 양과 비교하여 측정하였다.

실험 결과 Treatment 1에서 定喘湯과 淸上補下湯 투여군은 전사에 영향을

미치지 않은 것으로 나타났으며, Treatment 2에서 대조군에 比하여 定喘湯과 淸上補下湯 투여군이 각각 124.62%, 94.36% 발현되어 定喘湯이 24.62%의 전사촉진효과를 나타내었다(Table VII).

### IV. 考 察

천식은 천명(wheezing), 해수(cough), 호흡곤란(dyspnea) 등 기관지 증상들이 주증상을 이루는 증후군으로, 呼吸急促하고 喘鳴有聲한 증상을 主症으로 하는 哮喘症에 해당된다.<sup>7</sup> 哮喘症은 喘症과 哮症으로 구분되는데, 喘이란 호흡이促急한 것이고, 哮란 喉中에 水鷄聲 拽鋸拉鋸와 같은 聲響이 있는 것을 말하며 吼라고도 한다.<sup>7</sup>

哮喘의 원인에 관하여 鄭 등<sup>9</sup>은 첫째 冷한 음료나 혹은 鹹, 酸, 甘味를 지나치게 嗜食하게 되면 積痰溫熱하여 발생하게 되며, 둘째 外感病邪를 초기에 表散시키지 못하여 餘邪가 肺絡에 잠복해 있다가 다시 外邪가 침범하면 발병하게 되며, 셋째 내재된 소인을 가지고 있는 사람이 한랭, 피로 등 어떤 유인을 만나서 발생하게 되며, 넷째 모종의 냄새, 음식에 대한 과민반응으로도 발생되며, 다섯째 臟器的인 원인으로 肺, 腎의 호흡기능 저하로 발생하게 된다 하였다.

哮喘의 치료에 관하여 朱 등<sup>20</sup>은 마땅히 吐法을 사용해야 하며, 虛者는 吐法이 不可하니 祛痰, 導痰한다 하였다. 樓 등<sup>21</sup>은 哮喘을 中外皆寒 寒包熱의 二症으로 구분하여, 中外皆寒은 溫肺 祛寒痰하고, 寒包熱은 發表한다고 하였으며, 朱 등<sup>20</sup>은 약물은 涼藥은 피하고, 表散하는 약물을 사용한다 하였다. 樓 등<sup>21</sup>은 痰火鬱於內하고 風寒屬其外寒하니 八九月未寒之時에 用大承氣湯하여 下其熱하면 至冬寒時에 無熱可包라 하였고, 張<sup>22</sup>은 病既發時에는 攻邪氣하고 病未發時에는 扶正氣하고 陰虛者 補其陰하고 陽虛者 補其陽한다 하였다. 黃 등<sup>23</sup>은 哮喘을 발작기와 완해기로 구분하고, 발작기에는 寒熱을 구분하고 완해기에는 臟腑病機에 따라 치료한다 하였다.

이상에서 보면, 哮喘症을 치료함에 있어서는 痰을 중요한 인자로 인식하기 때문에 吐法을 기본으로 하고, 불가피한 경우에는 祛痰 導痰하며, 약물의 선택은 涼藥을 피한다. 그리고 虛實을 감별하여, 實症에는 攻邪氣를, 虛症에는 扶養正氣하며, 寒熱을 감별하여 冷哮에는 溫肺散寒 化痰平喘, 熱哮에는 宣肺降逆 淸熱化痰하는 처방을 응용한다. 또 발작시와 미발작시로 나누어 발작시에는 邪氣(風寒 肺熱 痰濁 등)를 제거함을, 미발작시에는 正氣(肺氣 脾氣 腎氣 등)를 扶養함을 목표로 한다.

定喘湯은 哮喘症에 대응되는 처방으로 1556년에 저술된 徐의 古今醫統大畧에 처음으로 수록된 처방으로 三拗湯을 기초로 이에 桑白皮 黃芩 蘇子 款冬花 銀杏을 배합하여 이루어진 방제이다. 효능은 宣肺平喘 淸熱化痰 淸降肺氣 定喘化痰이므로 주치증에는 諸喘久不愈 哮喘 哮喘急 哮喘痰盛 등이 있어 많은 醫家들에 의해 임상에 활용되어 왔다.<sup>3</sup> 본방은 手太陰肺經의 主藥으로 外

Table 7. The Effect of Jeongcheon-tang and Cheongsangboha-tang against IL-10 Gene Expression

Expression(%)	Control	Treatment 2	
		Sample 3	Sample 4
IL-10/GAPDH	100	124.62	94.36

Control : A23187 calcium inophore(2μM for Treatment 1, 4μM for Treatment 2) + PBS(Phosphate buffered saline)

Sample 1 : A23187 calcium inophore(2μM) + Jeongcheon-tang 0.1%

Sample 2 : A23187 calcium inophore(2μM) + Cheongsangboha-tang 0.1%

Sample 3 : A23187 calcium inophore(4μM) + Jeongcheon-tang 0.1%

Sample 4 : A23187 calcium inophore(4μM) + Cheongsangboha-tang 0.1%

感으로 인한 기관지에 염증이 초래하게 되는 동시에 痰聲 發熱 咳嗽 喘息 등 증을 수반하는 경우에 사용하며, 처방구성 약물 중 麻黃 杏仁 桑白皮 黃芩은 肺熱을 除하고 外感을 發散키며, 銀杏 款冬花는 溫肺 收斂의 작용을 하며, 蘇子は 降氣시키고, 半夏는 祛痰 健胃作用을 하며, 甘草는 諸藥을 中和시킨다.

淸上補下湯은 1615년에 저술된 龔의 壽世保元에 최초로 수록된 淸上補下丸을 탕제로 복용가능하도록 용량을 조절한 처방이다. 효능은 補陰 潤肺化痰 淸熱降氣이므로 上氣 喘息 咳嗽 痰涎上壅 등 증이 있는 폐질환에 여러 醫家들이 응용하였다. 처방구성 약물 중 熟地 黃山藥 山茱萸는 補腎滋陰하고, 麥門冬 天門冬은 潤肺養陰하며, 瓜蒌仁 貝母 桔梗 杏仁 半夏는 祛痰止咳하고, 枳實은 下氣平喘하며, 黃芩 黃蓮 牡丹皮는 淸熱瀉肺하고, 白茯苓은 滲濕利水며, 五味子是 收斂의 효능이 있다.<sup>6</sup>

한약물의 천식, 면역기능 및 allergy 반응에 미치는 효능에 관한 연구로 李 등<sup>24</sup>의 五拗湯이 해수 천식에 미치는 영향에 대한 보고를 비롯하여 다수가 있다. 또한 定喘湯에 대한 연구로 鄭 등은 천식치료에 있어서 鎮痙, 鎮痛, 鎮靜, 抗 histamine, 氣管平滑筋弛緩 및 鎮咳효과가 있음을 보고하였으며, 王 등<sup>4</sup>은 천식발작 시 나타나는 호흡양상과 기관조직에 미치는 영향에 대하여 관찰하였다. 權 등<sup>8</sup>은 淸上補下湯의 allergy천식의 호흡양상과 기관조직에 미치는 영향에 대하여 보고하였고, 鄭 등<sup>6</sup>은 加味淸上補下湯이 천식에 효과가 있음을 실험적 연구와 임상적 관찰을 통하여 보고한 바 있다.

또한 한약물이 asthma model 내에서 천식의 병태생리와 관련된 cytokine 전사에 미치는 영향에 대한 연구로 白 등<sup>14</sup>

은 解表二陳湯加減方이, 車 등<sup>15</sup>은 小靑龍湯이 IL-1, IL-4, IL-5, IL-10, IL-13 및 TNF- $\alpha$ 전사에 미치는 영향에 대하여 보고하였다. 또한 李 등<sup>16</sup>은 麥門冬과 五味子が, 鄭 등<sup>17</sup>은 杏仁과 桔梗이, 許 등<sup>18</sup>은 瀉白散과 甘草가 IL-4, IL-5 및 IL-6 전사에 미치는 영향을 보고하였다.

천식은 폐기관지 내의 가변적 혹은 간헐적 협착에 의한 호흡곤란, 기침, 천명의 증상이 반복되는 증후군이나, 최근의 정의는 임상적으로 가변적인 기도의 폐색이 보이고, 병태생리학적으로 기도의 과민성이 존재하며, 병리학적으로 기도의 염증반응이 보이는 질환을 의미한다.<sup>25</sup> 천식의 병인론적인 규명은 아직 불충분하지만, 아급성 염증질환으로 인식되므로 병인론적인 면에서 기도의 염증반응이 중요하게 인식되고 있다.<sup>9</sup> 따라서 최근 천식연구의 경향은 기도염증에 관여하는 세포나 분자수준의 기전을 규명하는 것에 집중되고 있다.

천식의 mechanism에 있어서 매우 중요한 매개물질인 cytokine은 활성화 자극에 반응해서 T임파구나 다른 종류의 세포에서 분비되는 용해성 단백질로서, 생산한 세포의 실행기능 중 많은 부분을 매개하며, 면역세포와 염증세포간의 정보전달기작이 되며, 비특이적이고, 항원과 결합하지도 않는다.<sup>25</sup> T임파구에서 분비되는 cytokine은 B임파구를 자극하여 IgE 형성을 촉진시키는 IL-4, IL-13과 LT, prostanoids 등을 분비하여 eosinophil 침윤 및 활성화하는 IL-3, IL-5, GM-CSF 및 mast cell 증식에 관여하는 IL-3, IL-9 등이 있다. 이외에도 각종 염증세포의 이동, 염증매개물질의 분비, 유착물질 발현하는 IL-1, TNF- $\alpha$ , IL-6 및 IL-8 등이 있다.<sup>26</sup>

Allergy성 천식에 작용하는 중요한 cytokine은 주로 Th2임파구에서 분비

되는데, IL-4, IL-5, IL-6 및 IL-10 등이 그것이다. IL-4는 천식의 발병에 있어서 핵심적인 역할을 하는 cytokine으로 분자량은 20kD이고 CD4양성 T임파구와 활성화된 mast cell에서 분비되며, 주로 B임파구의 증식 및 분화인자로 작용, B임파구에서 MHC (major histocompatibility complex) class II 항원의 발현증진, mast cell의 증식인자 및 B임파구와 대식세포에서 CD23(IgE의 Fc에 대한 수용체)의 발현을 유도하는 작용을 한다.<sup>27</sup> 즉, IL-4는 IgE 및 mast cell, eosinophil 매개성 면역의 조절자이며, 휴지기 상태의 B임파구에서 항원의 발현을 증진시키고, 나아가 즉시형 과민반응의 매개물질인 IgE의 생성을 촉진시키는 기능을 한다.<sup>13,25</sup>

IL-4와 IgE의 상관성에 관한 실험적 연구에서, theophylline은 IL-4의 분비를 억제함으로써 천식치료에 가능성이 있음을 보고되었으며<sup>28</sup>, anti-IL-429와 selective type IV phosphodiesterase inhibitors<sup>30</sup>는 IL-4 induced IgE의 생성을 억제하는 것으로 보고되었고, inhaled IL-431는 천식발현을 활성화 시킴이 확인되었다.

IL-5는 분자량 20kD의 단백질로서 활성화된 CD4양성 T임파구와 mast cell에서 유래하며, eosinophil의 증식, 분화유도, 성숙 및 활성화작용과 IL-2, IL-4와 함께 B임파구의 증식 및 분화에 상승작용을 한다.<sup>13</sup>

In vitro 연구에서는 eosinophil의 생산, 성숙 및 활성화에 IL-3, GM-CSF, IL-5가 함께 관여하는 것으로 나타났으나, in vivo에서는 IL-5가 가장 중추적인 cytokine으로 밝혀졌으며<sup>32</sup>, IL-5에 의한 기도내 eosinophil의 침윤과 활성화 실험적으로 증명되었다.<sup>33</sup> 그 외, 다수의 연구에서 IL-5와 eosinophil은 밀

접한 관련이 있는 것으로 보고되었으며, 특히 dexamethasone과 cyclosporin A34, T-440 (selective type IV phosphodiesterase inhibitor)<sup>35</sup> 및 anti-IL-5 antibody<sup>36</sup> 등은 IL-5의 생성을 억제함으로써 천식치료의 가능성이 있음이 보고되었다.

IL-6은 분자량 26kD의 단백질자로 단핵식세포, 혈관내피세포, 섬유아세포, 활성화된 T임파구 및 IL-1이나 TNF에 자극받은 세포로부터 분비되며, 알려진 기능은 간에서 fibrinogen 합성증진, B 임파구의 증식 및 분화증진, hybridoma cell(암세포와 정상세포를 융합하여 만든 잡종세포, 단클론 항체를 산출함)의 증식증진, 말초 T임파구 및 흉선 T임파구의 co-stimulator로 작용 및 초기 조혈근간세포 증식의 co-factor로 작용 등이 있다.<sup>13,27</sup> 또 IL-6은 IL-1, TNF- $\alpha$  등과 함께 inflammatory cytokine으로 분류되며, mast cell을 자극하여, 천식의 일반적인 특징인 기도점막의 과증식과 이상분비물 증가에 관여한다.<sup>37</sup>

IL-10의 분자량은 18kD이며 그 유래는 활성화된 대식세포 및 임파구이며, Th1임파구, Th2임파구, mast cell, NK cell 및 단핵식세포에서의 cytokine 생성을 억제하므로 cytokine 합성저해요소로 알려져 있다.<sup>13,27</sup> IL-10은 Th1임파구에서 IFN- $\gamma$ , IL-2의 생성을 억제하고, 단핵식세포에서 IL-1, IL-6, IL-8 등의 염증성 cytokine의 생성을 억제하며, Th2임파구에서는 IL-4, IL-5, IL-13의 분비를 억제시키므로 allergy성 염증반응을 방해하고, 또 IgE의 형성을 억제한다. 따라서, 천식에 있어서 IL-10의 증가는 천식치료에 효과적이며, 실제로 천식환자에 있어서 IL-10의 생성은 감소하며, inhaled corticosteroid는 IL-

10의 생성을 증가시키므로 천식치료에 효과가 있음이 보고되었다.<sup>38</sup>

이와 같이 cytokine은 면역반응에 있어서, 관여하는 세포의 활성을 조절하는 작용을 하는 것이므로, cytokine의 작용 mechanism과 그 생리적 효과를 규명하는 것은 면역반응연구에 있어서 매우 중요한 일이다. 나아가 cytokine의 생성을 억제하거나 촉진하는 것은 관련된 질병의 치료에 대한 새로운 접근방식이 될 수 있으며, 뿐만 아니라 각종 치료제의 효능검증도 이를 통하여 가능할 것이다. 특히, IgE의 합성에 관여하는 IL-4, 11, 13, 25, 33와 eosinophil의 활성화를 주도하는 IL-5, 13와 inflammatory cytokine으로 기도점막의 과증식과 이상분비물증가에 관여하는 IL-6, 37 및 IgE 항체형성을 억제하고 각종 cytokine 생성을 억제하는 IL-10 등<sup>13</sup>은 천식치료에 있어서 중요한 지표가 될 것으로 생각된다.

이에 저자는 임상에서 효천의 치료에 효과가 입증되어 다용되고 있는 定喘湯과 淸上補下湯이 천식 mechanism에 있어서 중요한 작용을 하는 cytokine인 IL-4, IL-5, IL-6 및 IL-10의 전사에 미치는 영향을 관찰하였다. 본 실험에 사용된 세포주는 RBL-2H3이며, 여러 가지 cytokine의 전사를 통한 발현도를 극대화하기 위하여 A23187 calcium inophore를 각각 2 $\mu$ M(Treatment 1)과 4 $\mu$ M(Treatment 2)로 처리하였으며, 대조군은 PBS(Phosphate buffered saline)완충용액을 같은 농도로 처리했다. 각각의 실험은 검액최종농도가 0.1%, 1%되게 처리 후 incubator(5%CO<sub>2</sub>, 95%습도, 37 $^{\circ}$ C)에서 24시간동안 배양하고, 다시 두 번의 동일한 처리와 배양을 한 후 RNA를 추출하여 PCR을 실시하였다. 검액 1%처리

군은 세포가 사멸하여 RNA추출에 실패하였다. PCR product를 1.5% sigma agarose로 전기영동하여 GEL-DOC로 정량분석하였으며, 모든 분석은 house keeping gene인 GAPDH의 양과 비교하여 측정하였다.

IL-4전사에 있어서 Treatment 1에서는 定喘湯과 淸上補下湯 투여군이 대조군에 비하여 82.76%, 85.77%발현되어 각각 17.24%, 14.23%의 전사억제효과가 나타났으며, Treatment 2에서는 淸上補下湯 투여군이 대조군에 비하여 89.42%발현되어 10.58%의 전사억제효과를 나타내었다(Table IV). IL-4의 기능은 B임파구를 자극하여 IgE의 생성을 촉진하며<sup>11,13,25,33</sup>, IgE가 항원과 반응하면 mast cell에서 histamine, LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub> 등 기관지수축 매개물질이 분비된다.<sup>25,27</sup> 따라서 定喘湯과 淸上補下湯은 조기천식반응에서 지질매개물질인 histamine, LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub> 등의 분비를 차단함으로써 발작성 기도폐색을 억제하는 효과를 기대할 수 있다. 한 약물의 IL-4 전사에 미치는 영향에 대한 실험적 보고에서, 祛痰潤肺 解表利氣 止咳平喘하는 解表二陳湯加減方<sup>14</sup>은 12%, 解表散寒 溫肺化痰 止咳平喘하는 小青龍湯<sup>15</sup>은 22-27%, 養陰潤肺 淸心除煩 益胃生津하는 麥門冬<sup>16</sup>은 53.2%, 斂肺 滋腎 生津 收汗 滋精하는 五味子<sup>16</sup>는 49.1%, 宣肺化痰 止咳平喘하는 杏仁<sup>17</sup>은 51.6%, 開膈滯氣 宣肺祛痰하는 桔梗<sup>17</sup>은 54.6%, 淸瀉肺熱 止咳平喘하는 瀉白散<sup>18</sup>은 56.4%, 補脾益氣 潤肺 止咳 祛痰 解百藥毒하는 甘草<sup>18</sup>는 52.5%의 전사억제효능이 있는 것으로 보고되었다.

IL-5전사에 있어서 Treatment 1에서는 定喘湯과 淸上補下湯 투여군이 대조군에 비하여 84.61%, 98.57%발현되어



각각 15.39%, 1.43%의 전사억제효과가 나타났으며, Treatment 2에서는 定喘湯과 淸上補下湯 투여군이 대조군에 비하여 98.40%, 73.17%발현되어 각각 1.60%, 26.83%의 전사억제효과를 나타내었다(Table V). IL-5는 eosinophil의 증식과 분화유도, 성숙, 활성화에 관여하는 cytokine이다.<sup>39</sup> 그러므로 定喘湯과 淸上補下湯은 IL-5전사를 억제함으로써 천식의 후기반응에서 나타나는 eosinophil이 주도하는 염증성 침윤 및 기관지 상피조직의 손상으로 인한 염증반응을 억제하는 효능이 있을 것으로 생각된다. IL-5전사에 대하여 解表二陳湯加減方<sup>14</sup>은 2%, 小青龍湯<sup>15</sup>은 1-5%, 麥門冬<sup>16</sup>은 50.6%, 五味子<sup>16</sup>는 45.3%, 桔梗<sup>17</sup>은 39.8%, 杏仁<sup>17</sup>은 47.3%, 瀉白散<sup>18</sup>은 53.1%, 甘草<sup>18</sup>은 33.9%의 전사억제효능이 있음이 보고되었다.

IL-6전사에 있어서 定喘湯과 淸上補下湯 투여군은 Treatment 1에서는 전사억제효과가 관찰되지 않았고, Treatment 2에서는 대조군에 비하여 각각 92.76%, 77.24%발현되어 각각 7.24%, 22.76%의 전사억제효과를 나타내었다(Table VI). 이는 定喘湯과 淸上補下湯이 inflammatory cytokine의 일종으로 천식에 있어서 일반적인 특징인 기도점막의 과증식과 이상분비물의 분비를 증가시키는 IL-6의 전사를 억제함으로써, 천식에 있어서 염증반응을 억제하는 효능이 있을 것으로 기대된다. IL-6전사에 대하여 麥門冬<sup>16</sup>은 52.8%, 五味子<sup>16</sup>는 52.2%, 杏仁<sup>17</sup>은 57.7%, 桔梗<sup>17</sup>은 30.9%, 瀉白散<sup>18</sup>은 58.6%, 甘草<sup>18</sup>은 50.2%의 전사억제효과가 있음이 보고되었다.

IL-10전사에 있어서 定喘湯과 淸上補下湯 투여군은 Treatment 1에서 전

사에 영향을 미치지 않은 것으로 나타났으며, Treatment 2에서 定喘湯 투여군이 대조군에 비하여 124.62%발현되어 24.62%의 전사촉진효과를 나타내었다(Table VII). IL-10은 각종 cytokine 합성저해요소로 알려져 있으며, eosinophil과 IgE의 생성을 억제한다. 따라서 천식반응에 있어 IL-10의 증가는 후기천식반응을 감소시키므로, 定喘湯은 IL-10전사를 촉진시켜 천식을 유발하는 각종 cytokine이나 IgE, eosinophil의 생성을 억제함으로써 후기천식반응을 감소시키는 효능이 있을 것으로 생각된다. IL-10의 전사에 대하여 解表二陳湯加減方<sup>14</sup>과 小青龍湯<sup>15</sup>은 영향을 미치지 않은 것으로 보고되었다.

본 연구에서는 천식치료에 있어서 임상적 효과가 인정되어 다용되고 있는 定喘湯과 淸上補下湯이 천식 mechanism에 관여하는 cytokine 중 IL-4, IL-5, IL-6 및 IL-10의 전사에 어떠한 영향을 미치는가를 알아보기 위하여 분자생물학적 기법을 통하여 살펴본 바, 定喘湯은 cytokine IL-4, IL-5 및 IL-6의 전사를 억제할 뿐만 아니라, IL-10의 전사를 촉진하는 것으로 나타났으며, 淸上補下湯은 cytokine IL-4, IL-5 및 IL-6전사를 억제하는 효능이 있음이 관찰되었다. 이상에서 定喘湯과 淸上補下湯은 천식의 조기반응과 후기반응에 있어 cytokine의 생성을 억제 혹은 촉진함으로써 천식치료에 유효함을 나타내는 것으로 생각되며, 나아가 이러한 cytokine의 생성을 억제, 촉진하는 mechanism을 규명하기 위한 심도있는 후속연구가 이어져야 할 것으로 생각된다.

## V. 結 論

RBL(rat basophilic leukemia)-2H3 세포주를 이용하여 定喘湯, 淸上補下湯이 천식 mechanism에 관여하는 cytokine 중 IL-4, IL-5, IL-6 및 IL-10의 전사에 미치는 영향을 알아보기 위하여 Treatment 1(2 $\mu$ M A23187 calcium inophore+0.1% 한약재로 처리 배양)과 Treatment 2(4 $\mu$ M A23187 calcium inophore+0.1% 한약재로 처리 배양)로 나누어 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. IL-4전사에 있어서 Treatment 1에서 定喘湯, 淸上補下湯 투여군은 대조군에 비하여 발현도가 각각 82.76%, 85.77%로 定喘湯이 17.24%, 淸上補下湯이 14.23%의 전사억제효과를 나타내었다.

2. IL-4전사에 있어서 Treatment 2에서 定喘湯, 淸上補下湯 투여군은 대조군에 비하여 발현도가 각각 146.92%, 89.42%로 淸上補下湯이 10.58%의 전사억제효과를 나타내었다.

3. IL-5전사에 있어서 Treatment 1에서 定喘湯, 淸上補下湯 투여군은 대조군에 비하여 발현도가 각각 84.61%, 98.57%로 定喘湯이 15.39%, 淸上補下湯이 1.43%의 전사억제효과를 나타내었다.

4. IL-5전사에 있어서 Treatment 2에서 定喘湯, 淸上補下湯 투여군은 대조군에 비하여 발현도가 각각 98.40%, 73.17%로 定喘湯이 1.60%, 淸上補下湯이 26.83%의 전사억제효과를 나타내었다.

5. IL-6전사에 있어서 Treatment 1에서 定喘湯, 淸上補下湯 투여군은 대조군에 비하여 발현도가 각각 126.93%,

128.91%로 전사억제효과가 나타나지 않았다.

6. IL-6전사에 있어서 Treatment 2에서 定喘湯, 淸上補下湯 투여군은 대조군에 비하여 발현도가 각각 92.76%, 77.24%로 定喘湯이 7.24%, 淸上補下湯이 22.76%의 전사억제효과를 나타내었다.

7. IL-10전사에 있어서 Treatment 1에서 定喘湯, 淸上補下湯 투여군은 전사에 영향을 미치지 않은 것으로 나타났으며, Treatment 2에서 定喘湯, 淸上補下湯 투여군은 대조군에 비하여 발현도가 각각 124.62%, 92.51%로 定喘湯이 24.62%의 전사촉진효과를 나타내었다.

### 參考文獻

1. 徐春甫. 古今醫統大典. 北京: 人民衛生出版社; 1991, 上冊 pp.1312-3.
2. 上海中醫學院編. 方劑學. 香港: 商務印書館; 1975, pp.196-7.
3. 정승기, 이형구. 定喘湯이 천식에 미치는 영향에 관한 실험적 연구. 경희의학 1987;3(1):91-102.
4. 왕중권, 정희재, 정승기, 이형구. The Effects of Jeongcheon-tang on respiratory pattern and tracheal tissues in allergic asthma. The 10th International Congress of Oriental Medicine abstract 1999; p.102.
5. 龔廷賢. 壽世保元. 北京: 人民衛生出版社; 1994, pp.169-70.
6. 정승기. 加味淸上補下湯이 천식에 미치는 영향에 관한 실험적 연구. 대한한의학회지 1991;12(1):118-38.
7. 이형구, 정승기. 동의폐계내과학. 서울: 아트동방; 1999, pp.187-201.
8. 권혁성, 정희재, 정승기, 이형구. 淸上補下湯이 알레르기 천식의 호흡양상과 기관조직에 미치는 영향. 경희한의대논문집 1999;22(1):203-15.
9. 전국의과대학교수 편. Current Medical Diagnosis & Treatment. 서울: 한우리; 1999, pp.287-90.
10. Ferreira MB, Carlos AG. Cytokines and asthma. J Investig Allergol Clin

- Immunol 1998;8(3):141-8.
11. Carlos AG, Carlos ML, Conceisao SM, Alcinda M. Cytokines and asthma. J Investig Allergol Clin Immunol 1997;7(5):270-3.
12. Griffiths-Johnson DA, Collins PD, Jose PT, Williams TJ. Animal models of asthma: role of chemokines. Methods Enzymol 1997;288:241-66.
13. 김세종. 면역학. 서울: 고려의학; 1994, pp.58-9,147-61,260-5.
14. 백동진, 정희재, 정승기, 이형구. 解表二陳湯加減方이 asthma model 內的 cytokine에 미치는 영향에 대한 분자생물학적 연구. 대한한의학회지 2000; 21(3):3-13.
15. 차은수, 정희재, 정승기, 이형구. 小青龍湯이 asthma model 內的 cytokine에 미치는 영향. 경희한의대논문집 2000;23(1): 71-88.
16. 이동생, 정희재, 정승기, 이형구. 麥門冬과五味자가 asthma model 內的 cytokine IL-4, IL-5, IL-6에 미치는 영향. 경희의학 2000;16(2):69-80.
17. 정옥, 정희재, 정승기, 이형구. 杏仁과桔梗이 asthma model 內的 cytokine IL-4, IL-5, IL-6에 미치는 영향. 대한한방내과학회지 2000;21(1):31-8.
18. Heo TS, Jung HJ, Kim HY, Jung SK, Rhee HK. The Effects of Sabaek-San and Glycyrrhizae Radix on IL-4, IL-5 and IL-6 in asthma model. Journal of Oriental Medicine 2000;5(1):1-13.
19. 정승기, 이형구. 哮喘의 원인 및 치료에 관한 연구. 大韓韓醫學會誌 1986;7(1): 60-7.
20. 朱震亨. 丹溪心法附餘. 서울: 大星文化社; 1993, pp.328-30.
21. 樓英. 醫學綱目. 北京: 中醫藥出版社; 1996, pp.601-4.
22. 張介賓. 景岳全書. 台北: 台聯國風出版社; 1974, pp.344-8.
23. 黃文東. 實用中醫內科學. 서울: 一中社; 1986, pp.156-63.
24. 이형구, 장인규. 五拗湯이 해수 천식에 미치는 영향. 경희한의대논문집 1982;5: 175-90.
25. 한용철. 임상호흡기학. 서울: 일조각; 1998, pp.208-25.
26. Umetsu DT, DeKruyff RH. Th1 and Th2 CD4+ cells in the pathogenesis of allergic diseases. Proc Soc Exp Biol Med 1997;215(1):11-20.
27. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. Cellular and molecular immunology. Philadelphia: Saunders; 1997, pp.240-77.
28. Tohda Y, Nakahara H, Kubo H, Muraki M, Fukuoka M, Nakajima S. Theophylline suppresses the release of interleukin-4 by peripheral blood mononuclear cells. Int Arch Allergy Immunol 1998;115(1):42-6.
29. Zhou CY, Crocker IC, Koenig G, Romero FA, Townley RG. Anti-interleukin-4 inhibits immunoglobulin E production in a murine model of atopic asthma. J Asthma 1997;34(3): 195-201.
30. Coqueret O, Boichot E, Lagente V. Selective type IV phosphodiesterase inhibitors prevent IL-4-induced IgE production by human peripheral blood mononuclear cells. Clin Exp Allergy 1997;27(7):816-23.
31. Shi HZ, Deng JM, Xu H, Nong ZX, Xiao CQ, Liu ZM et al. Effect of inhaled interleukin-4 on airway hyperreactivity in asthmatics. Am J Respir Crit Care Med 1998;157(6Pt1): 1818-21.
32. Bagley CJ, Lopez AF, Vadas MA. New frontiers for IL-5. J Allergy Clin Immunol 1997;99(6Pt1):725-8.
33. Shi H, Qin S, Huang G, Chen Y, Xiao C, Xu H et al. Infiltration of eosinophils into the asthmatic airways caused by interleukin 5. Am J Respir Cell Mol Biol 1997;16(3):220-4.
34. Kazteru W, Akio M, Aya N, Koji O, Hideo K, Katsuo I et al. IL-5-producing T cells that induce airway Eosinophilia and Hyperresponsiveness are suppressed by Dexamethasone and Cyclosporin A in mice. Int Arch Immunol 1998;117:24-7.
35. Kaminuma O, Mori A, Suko M, Kikkawa H, Ikezawa K, Okudaira H. Interleukin-5 production by peripheral blood mononuclear cells of asthmatic patients is suppressed by T-440: relation to phosphodiesterase inhibition. J Pharmacol Exp Ther 1996; 279(1):240-6.
36. Hamelmann E, Oshiba A, Loader J, Larsen GL, Gleich G, Lee J, Gelfand

- EW. Antiinterleukin-5 antibody prevents airway hyperresponsiveness in a murine model of airway sensitization. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;155(3):819-25.
37. Bradding P, Okayama Y, Howarth PH, Church MK, Holgate ST. Heterogeneity of human mast cells based on cytokine content. *J Immunol* 1995; 155(1):297-307.
38. John M, Lim S, Seybold J, Jose P, Robichaud A, O'connor B et al. Inhaled Corticosteroids increase IL-10 but reduce macrophage inflammatory protein-1 $\alpha$ , granulocyte/macrophage colony-stimulating factor, and Interferon- $\gamma$  release from alveolar macrophages in asthma. *Am J Respir Crit care Med* 1998;157:256-62.
39. 이양근. 호산구와 천식. *결핵및호흡기질환* 1999;46(1):5-16.