

원저

加味清金降火湯 및 加味六味地黃湯이 Allergy 喘息 모델 흰쥐의 BALF內 免疫細胞 및 血清 IgE에 미치는 影響

조영민, 정희재, 정승기, 이형구
경희대학교 한의과대학 내과학교실

The Effects of *Gamichunggumgangwha-tang* (加味清金降火湯, *Jiaweiqingjinjianghuo-tang*) and *Gamiyukmigiwhang-tang* (加味六味地黃湯, *Jiaweiliuweidihuang-tang*) on Immune Cell & Serum OA-specific IgE in BALF in a Rat Asthma Model

Young-Min Cho, Hee-Jae Jung, Hyung-Koo Rhee, Sung-Ki Jung

Department of Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Kyunghee University.

Background: Asthma is a chronic inflammatory disorder under immunological influence. *Gamichunggumgangwha-tang* (CG, *Jiaweiqingjinjianghuo-tang*) and *Gamiyukmigiwhang-tang* (YM, *Jiaweiliuweidihuang-tang*) are herbal tonics for asthma from traditional herbal medicine.

Objective : To evaluate the effect of CG and YM on immune cell & serum OA-specific IgE in broncho-alveolar lavage fluid (BALF) in a rat asthma model.

Materials and Methods : Rats were sensitized with OA; at day 1 sensitized group and CG and YM groups were systemically immunized by subcutaneous injection of 1mg OA and 300mg of Al(OH)₃ in a total volume of 2ml. At the same time, 1 ml of 0.9% saline containing 6 × 10⁹ B. pertussis bacilli was injected by i.p. 14 days after the systemic immunization, rats received local immunization by inhaling 0.9% saline aerosol containing 2% (wt/vol) OA. A day after local immunization, BALF was collected from the rats. Rats were orally administered with each of CG and YM extract for 14 days since the day after local immunization. Lymphocyte, CD4+ T cell and

CD8+T cell counts, CD4+/CD8+ ratio in BALF, change of serum OA-specific IgE level, CD4+T cell and CD8+T cell percentages in the peripheral blood were measured and evaluated.

Results : CG and YM showed an alleviating effect on asthmatic responses of rats. CG decreased total cell, lymphocyte, CD4+T cells in BALF, and serum OA-specific IgE level as compared with the control group. YM decreased lymphocytes as compared with the control group. CD4+/CD8+ ratio in BALF from the CG and YM groups and serum OA-specific IgE level from the YM group didn't show any significant variation from the control group.

Conclusion : CG alleviated asthmatic hyperreactivity of the immune system through CD4+ T cells and serum IgE. Further the study of this immune system modulating mechanism is expected. (*J Korean Oriental Med 2003;24(3):1-10*)

Key Words: Asthma, *Gamichunggumgangwha-tang* (*Jiaweiqingjinjianghuo-tang*), *Gamiyukmigiwhang-tang* (*Jiaweiliuweidihuang-tang*), Broncho-alveolar lavage fluid (BALF), CD4+ T cells, CD8+ T cells, IgE

· 접수 : 2003년 3월 21일 · 논문심사 : 2003년 4월 11일 · 채택 : 2003년 5월 26일
· 교신저자 : 이형구, 서울시 동대문구 회기동 1번지 경희의료원 한방병원 5내과 의사실
(Tel. 02-958-9147, Fax. 02-958-9148, E-mail: matiss@freechal.com)

서론

喘息은 臨床的으로 多樣하게 吸引된 氣管支 收縮 刺戟에 대한 氣道過敏성과 可逆的인 氣道狹窄 및 發作性的 呼氣性 呼吸困難, 喘鳴, 肺의 過吸氣, 기침, 羅音(rales)등의 特徵的인 症狀으로 記述되어 있다¹⁻⁷⁾. 喘息의 治療에는 心理的 安靜, 環境 改善이 필요하며 藥物로는 氣管支 擴張劑와 더불어 anti-IgE를 投與하는 免疫療法이 使用되어 Th2 抑制 效果와 氣道內 好酸球 減少를 目的으로 治療한다^{8,9)}.

지금까지 哮喘證, 喘息 및 allergy 疾患에 대하여 文獻的¹⁰⁻¹⁴⁾, 實驗的¹⁵⁻²¹⁾, 臨床的²²⁻²⁶⁾ 研究가 지속되어 왔으며 cytokine의 轉寫效果를 觀察한 分子生物學的²⁷⁻³⁰⁾ 研究도 報告되고 있다.

이에 著者는 加味淸金降火湯(Jiaweiqingjinjianghuo-tang)과 加味六味地黃湯(Jiaweiliuweidihuang-tang)의 allergy 喘息 및 免疫에 대한 效能을 알아보기 위하여 감작된 흰쥐에 ovalbumin을 吸入시켜 allergy 喘息의 病態를 誘發시키고 加味淸金降火湯과 加味六味地黃湯을 각각 經구투여한 후 흰쥐의 肺氣管支洗滌液(bronchoalveolar lavage fluid, BALF)내 total cell수, lymphocyte 수, CD4+ T세포수, CD8+ T세포수, CD4+/CD8+ 비율의 變化를 測定하고, 血清 IgE 양의 變化 및 말초혈액내의 CD4+ T세포수, CD8+ T세포수의 變化를 測定하였던 바 有意한 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

실험

1. 動物 및 藥材

1) 動物 - 체중 200±20g의 Sprague-Dawley계 흰쥐(대한바이오링크, 한국)를 사용하였으며, 고형사료와 물을 충분히 공급하면서 실험실환경에서 2주 이상 적응시킨 후 사용하였다.

2) 藥材 - 藥材는 慶熙醫療院 韓方病院에서 구입 정선하여 사용하였다.

(편의상 앞으로 加味淸金降火湯을 CG로, 加味六味地黃湯을 YM로 약기하겠다.)

2. 方法

(1) 實驗群 設定 - 實驗群은 正常群(Normal), 對照群(Control), 加味淸金降火湯群(GCG), 加味六味地黃湯群(GYM)의 4군으로 나누어 평균체중이 유사하게 각군당 10마리씩 임의배치하였다. 正常群은 고형사료와 물만을 공급하였고, 對照群은 正常群과 동일한 환경에서 allergy 喘息을 유발하였고, GCG과 GYM은 對照群과 동일한 방법으로 allergy 喘息을 유발 후 각각 CG 煎湯液과 YM 煎湯液을 經구투여하였다.

(2) Allergy 喘息 誘發 - Allergy 喘息 誘發은 Bellofiore등의 방법⁴⁾에 따라서 첫째 날 ovalbumin(OA) 1mg과 Al(OH)₃ 300mg의 0.9% saline 2ml에 녹여 피하주사하고, 6×10⁹ B. pertussis를 포함한 0.9% saline 1ml를 복막내로 주입하여 immunization시켰다. 전신적인 immunization 후 14일째, 동물들은 2% (w.t/vol) OA를 함유한 0.9% saline aerosol을 흡입시킴으로써 항원감작에 의한 喘息을 유발시켰다.

(3) 檢液의 準備 - CG와 YM 각각 10첩 분량인 750g과 660g을 5,000cc의 둥근 플라스크에 3,000cc의 증류수와 함께 넣은 다음 냉각기를 부착하고 3시간 동안 煎湯하여 0.2 μ m filter로 여과한 여액을 rotary vacuum evaporator(Eyela, Japan)에서 감압농축하였다. 이 농축액을 -80℃ deep freezer(Sanyo, Japan)에서 한시간 방치한 후 freezer dryer(Eyela, Japan)로 24시간 동안 동결건조하여 CG 엑기스 112.0g과 YM 132.0g을 얻어 이를 실험에 필요한 농도로 증류수에 녹여 조정하여 50ml cornical tube(Falcon, USA)에 넣어 2-4℃의 냉장고에 보관하였으며, 사용할 때 water bath에 넣어 gel상태를 완전히 녹여 사용하였다.

(4) 檢液 投與 - Allergy 喘息을 誘發한 후 이틀째 되는 날부터 CG 抽出物은 148.0mg/200g의 비율로, YM 抽出物은 176.0mg/200g의 비율로 검액을 증류수로 희석하여 실험군의 흰쥐에 14일간 일정시각에 1ml씩 經구투여하였다. 對照群은 동량의 식염수를 經구투여하였다.

(5) 採血 - 실험시작 15일째 클로로포름으로 마취시킨 다음 심장천자하여 혈액을 EDTA가 들어 있는 병에 넣고 잘 섞어 응고를 방지한 뒤 사용하였다.

(6) 肺氣管支洗滌液 內의 細胞觀察 - 기관지의 염증반응을 조사하기 위해서 OA aerosol을 흡입시킨 다음날에 폐기관지세척을 시행하였다. 0.1% EDTA 2Na를 포함한 PBS(phosphate buffered saline) 4ml를 3번 주입하여 폐기관지를 세척한 후에 BALF를 얻었다. 부피는 원래 부피의 대략 평균 80%로 전체 세포수는 hemocytometer를 사용해서 측정하였다. 임파구수는 BALF에 lymphoprep (1.077 ± 0.0001 g/ml, Nycomed Pharma As, Norway)를 첨가하여 25분 동안 550G에서 원심 분리(Hermle, Germany)한 후 상층을 버리고, 중간에 하얗게 부유해 있는 lymphocyte를 분리한 다음 PBS에 부유시켜 220G에서 10분간 3회 원심세척 후, RPMI 1640 medium에 부유시키고, 광학현미경 (Olympus, Japan)을 이용하여 trypan blue exclusion으로 세포수를 측정하였다.

(7) BALF內의 CD4+ T-cell과 CD8+ T-cell 測定

RPMI 1640에 부유시킨 각 임파구 세포를 media A (pH 7.2 PBS + 5% normal serum of host species + 2 M sodium azide)에 2×10^7 cells/ml의 농도로 세포를 재부유시키고, 시험관에 세포부유액 50 μ l씩 넣어서 시험관마다 1×10^6 개의 세포가 존재하게 하였다. 각 시험관에 FITC anti-rat CD4+ monoclonal antibody (Cedarlane, Canada)와 PE anti-rat CD8+ monoclonal antibody (Cedarlane, Canada)를 각각 0.5 μ g씩 가하고, Vortex mixer로 잘 섞은 다음 이 혼합액을 빛이 차단 되도록 알루미늄 호일로 싸우고 4 $^{\circ}$ C에서 30분간 실험실에서 배양한 뒤, 4 $^{\circ}$ C에서 PBS로 2회 세척하고, 50 μ l의 ice cold media B (pH 7.2 PBS + 0.5% bovine serum albumin + 2 M sodium azide)에서 cell pellet을 재부유시킨 후 형광현미경을 이용하여 임파구에 대한 CD4+ 및 CD8+ T 세포율을 측정하였다. 세포수는 산출된 lymphocyte에 CD4+, CD8+의 비율을 곱하여 계산하였다.

(8) 末梢 血液內 CD4+ T-cell 比의 變化

심장채혈된 혈액을 EDTA tube에 담고, 12 \times 75 시험관에 100 μ l를 넣었다. FITC anti-rat CD3 monoclonal antibody를 1 μ l 가하고, PE anti-rat CD4 monoclonal antibody 5 μ g을 가한 후 vortex mixer로 잘

섞고 암소에서 30분 방치한 후, lysing solution(FACS lysing solution, Becton dickinson, USA) 2ml를 가하여 섞은 후 15분 암소에 방치하였다. Lysis를 확인하고 원심분리기에서 1000rpm 5분 원심분리 후 상층액을 버리고 2ml의 washing solution(PBS)을 가한 후 다시 1000rpm, 5분간 원심분리 후 상층액을 버리고 500 μ l의 PBS를 가하여 vortex mixer로 섞은 후 flow cytometer(Becton dickinson, USA)로 분석하였다.

(9) 末梢 血液內 CD8+ T-cell 比의 變化

위 (8)과 같은 방법으로 CD4+ T-cell 대신 CD8+ T-cell을 대상으로 실험하였다.

(10) OA-specific IgE Ab assay

Serum은 15일째에 심장천자를 통해 얻었다. Microtiter plates는 24시간 동안 4 $^{\circ}$ C에서 100 μ l/well of anti-rat IgE monoclonal Ab (Zymed, USA, 5 μ g/ml in 0.05 M carbonate-bicarbonate buffer, pH 9.5)로 coating 한 후에 0.05% tween 20 (PBSTW)을 함유한 PBS로 4번 세척하였고, 그 다음 1% bovine serum albumin (BSA)을 포함한 PBSTW로 실온에서 1시간동안 2-fold serial dilution 100 μ l의 standard serum이나 적절하게 희석된 sample serum과 함께 배양하였다. PBSTW로 세척한 후에, PBSTW (with 1% BSA)에 100 μ l biotinylated OA(5 μ g/ml)를 녹여 각각의 well에 가해서 1시간 동안 실온에서 배양하였다. 세척 후에 100 μ l horseradish peroxidase-streptavidin(0.5 μ g/ml in PBSTW with 1% BSA, Zymed, USA)은 각 well에 plate하였다. PBSTW로 마지막 세척을 한 후에, 0.035% H₂O₂를 포함한 100 μ l o-phenylenediamine solution (1.5mg/ml in citrate-phosphate buffer, pH 5.0, Zymed, USA)을 각 well에 가하였다. 효소 반응은 50 μ l 4N H₂SO₄를 가함으로써 정지되고, 490nm에서 흡광도를 측정하였다. Titer는 standard curve로 결정하였다. 1:100으로 희석된 standard serum의 흡광도는 임의로 1U/ml로 하였다.

3. 統計分析

통계분석은 윈도우용 SPSS를 이용하여 실시하였다. 기술통계학적 분석을 통해 각 집단에서의 측정값

을 평균±표준편차로 요약하였으며, 각 집단간의 유의성은 ANOVA test with multiple comparisons (Duncan's method)으로 분석하였고. 유의수준은 0.05 이하로 하였다.

성적

1. 폐기관지 세척액(BALF)내 총세포 수의 변화

폐기관지 세척액(BALF)내의 총세포 수를 측정된 결과 正常群은 $9.13 \pm 1.32 (\times 10^5/ml)$, 對照群은 $26.42 \pm 1.54 (\times 10^5/ml)$, GCG은 $18.17 \pm 1.42 (\times 10^5/ml)$, GYM은 $24.83 \pm 1.82 (\times 10^5/ml)$ 개로 집단 간 총세포 수는 통계적으로 有意한 차이가 있었으며($F=26.132, p=0.0001, ANOVA test$), 다중 비교(Duncan's method)를 통하여 각 집단간 차이의 有意성을 검정한 결과 GCG은 對照群에 비해 有意한 감소효과를 보였으나 GYM은 對照群에 비해 有意한 차이가 나타나지 않았다.

2. 폐기관지 세척액(BALF)내 lymphocyte 수의 변화

폐기관지 세척액(BALF)내의 lymphocyte 수를 측정된 결과 正常群은 $5.33 \pm 1.03 (\times 10^4/ml)$, 對照群은 $15.00 \pm 1.01 (\times 10^4/ml)$, GCG은 $10.33 \pm 0.98 (\times 10^4/ml)$, GYM은 $11.34 \pm 0.88 (\times 10^4/ml)$ 개로 집단 간 lymphocyte 수는 통계적으로 有意한 차이가 있었으며($F=16.804, p=0.0001, ANOVA test$), 다중 비교(Duncan's method)를 통하여 각 집단간 차이의 有意성을 검정한 결과 GCG과 GYM은 對照群에 비하여

유의한 감소효과를 나타내었다.

3. 폐기관지 세척액내 CD4+ T-cell 수의 변화

폐기관지 세척액(BALF)내의 CD4+ T-cell 수를 측정된 결과 正常群은 $3.83 \pm 0.81 (\times 10^4/ml)$, 對照群은 $12.66 \pm 1.02 (\times 10^4/ml)$, GCG은 $9.10 \pm 0.88 (\times 10^4/ml)$, GYM은 $11.36 \pm 0.96 (\times 10^4/ml)$ 개로 집단 간 CD4+ T-cell 수는 통계적으로 有意한 차이가 있었으며($F=17.809, p=0.0001, ANOVA test$), 다중 비교(Duncan's method)를 통하여 각 집단간 차이의 有意성을 검정한 결과 GCG은 對照群에 비하여 有意한 감소효과를 나타내었고 GYM은 감소하는 경향은 보였으나 통계적으로 有意하지는 않았다(Fig. 1).

4. 폐기관지 세척액(BALF)내 CD8+ T-cell 수의 변화

폐기관지 세척액(BALF)내의 CD8+ T-cell 수를 측정된 결과 正常群은 $8.86 \pm 0.86 (\times 10^3/ml)$, 對照群은 $10.00 \pm 0.92 (\times 10^3/ml)$, GCG은 $10.83 \pm 0.84 (\times 10^3/ml)$, GYM은 $10.68 \pm 1.01 (\times 10^3/ml)$ 개로 집단 간 CD8+ T-cell 수는 有意한 차이가 없었다($F=0.975, p=0.415, ANOVA test$)(Fig. 2).

5. 폐기관지 세척액내 CD4+/CD8+ 비율의 변화

폐기관지 세척액(BALF)내 CD4+/CD8+의 비율을 계산한 결과 正常群은 5.04 ± 1.30 , 對照群은 10.36 ± 1.13 , GCG은 8.11 ± 0.95 , GYM은 9.12 ± 0.89 로 나타났으며($F=4.408, p=0.010, ANOVA test$), 다중 비교



Fig. 1. Effects of CG & YM on CD4+ T cell in bronchoalveolar lavage fluid of ovalbumin induced asthmatic rat.

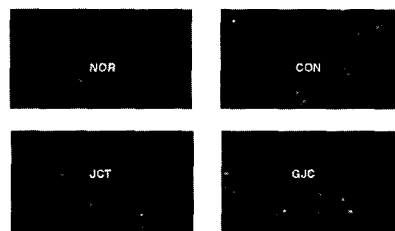


Fig. 2. Effects of CG & YM on CD8+ T cell in bronchoalveolar lavage fluid of ovalbumin induced asthmatic rat.

(Duncan's method)를 통하여 각 집단간 차이의 有意性을 검정한 결과 GCG과 GYM은 對照群에 비하여 감소하는 경향은 보였으나 통계적으로 유의하지는 않았다.

6. 혈청내 IgE 量的 변화

혈청내 IgE 量を 측정 한 결과 正常群은 $1.13 \pm 0.16(\text{U/ml})$, 對照群은 $3.64 \pm 0.60(\text{U/ml})$, GCG은 $2.10 \pm 0.41(\text{U/ml})$, GYM은 $2.85 \pm 0.34(\text{U/ml})$ 로 집단 간 혈청내 IgE 量은 통계적으로 有意한 차이가 있었으며($F=6.778, p=0.001, \text{ANOVA test}$), 다중 비교(Duncan's method)를 통하여 각 집단간 차이의 有意性을 검정한 결과 GCG은 有意한 감소효과를 나타내었고 GYM은 감소경향은 보였으나 통계적으로 유의하지는 않았다.

7. 말초혈액내 CD4+ T-cell 比의 변화

말초혈액내의 CD4+ T-cell 比를 측정 한 결과 正常群은 $38.90 \pm 2.31(\%)$, 對照群은 $43.07 \pm 3.25(\%)$, GCG은 $38.49 \pm 2.16(\%)$, GYM은 $41.30 \pm 1.66(\%)$ 로 나타나 각 群 간에 통계적으로 有意한 차이는 없었다($F=0.791, p=0.507, \text{ANOVA test}$).

8. 말초혈액내의 CD8+ T-cell 比의 변화

말초혈액내의 CD8+ T-cell 比를 측정 한 결과 正常群은 $15.49 \pm 1.51(\%)$, 對照群은 $17.67 \pm 1.83(\%)$, GCG은 $16.11 \pm 1.28(\%)$, GYM은 $19.48 \pm 0.87(\%)$ 로 나타나 각 群 간의 통계적 차이는 관찰되지 않았다($F=1.586, p=0.210, \text{ANOVA test}$).

고 찰

Allergy 또는 過敏性(hypersensitivity)이라 불리는 用語는 正常的인 免疫反應이 多様な 機轉으로 allergen의 攻撃을 除去하기 위해서 效果分子들을 刺戟시켜 숙주의 組織에는 損傷없이 異物質을 除去하거나 局所炎症反應을 일으키지만 條件에 따라서 免疫反應이 지나치게 增加되거나 원하지 않는 反應으

로 進行되어 人體에 害를 줄때 使用된다. Cooke는 “allergy 반응은 항원에 감작된 개체 단독으로 증상을 발현하는 것이 아닌 어떤 외부 단백질에 생화학적인 비특이적인 반응을 보이는 것이다.” 라고 定義했다.

世界的으로 allergy 疾患의 有病률이 增加하고 罹患年齡이 낮아지는 것은 最近에 들어서 生活 便易性이 向上되고 人間의 肉體의 活動은 점차 줄어들어 反面, 精神的인 緊張은 더욱 增加되고 있는 것과 關聯이 있다. Allergy 喘息의 發病誘因으로서 外部因子인 寒冷, 呼吸器疾患, 運動, 냄새, 꽃가루등은 점차 增加되고 있고 內部的으로는 肉體의 活動量이 점차 減少하여 人體의 正氣는 점차 약해지고, 精神的인 過勞(七情傷)는 점차 늘고 있다. 이러한 條件下에서 發生하는 疾病 중의 하나가 慢性呼吸器疾患의 일종인 allergy 喘息이다.

氣管支喘息은 여러 가지 刺戟에 대한 氣管支 過敏性을 그 特徵으로 하는 질환이며 氣道의 廣範圍한 狹窄에 의한 臨床症狀이 자연히 혹은 治療에 의해 可逆的으로 好轉되는 疾患이라고 定義되었다^{15,6)}. 臨床的으로 多様하게 吸引된 氣管收縮 刺戟에 대한 氣道 過敏성과 可逆的인 氣道 狹窄 및 發作性的인 呼吸性 呼吸困難, 喘鳴, 肺의 過吸氣, 기침, 蘿音(rales) 등의 特徵的인 症狀으로 記述되어지고 있다¹⁷⁾.

喘息을 단순한 氣道平滑筋(airway smooth muscle, ASM)의 機能이 低下된 疾患으로 認識하는 것처럼 單純하지는 않다. 感作된 氣道平滑筋은 正常 氣道平滑筋보다 더 빠르게 더 심하게 收縮하며, 깊이 숨을 들이마시는 것만으로도 伸張에 대한 myogenic response 때문에 持續的인 氣管支痙攣이 發生할 수 있다. 비록 輕微한 喘息에서도 전혀 症狀이 없을지라도 持續的인 炎症이 확인되고 있다. 炎症은 氣道平滑筋의 收縮特性和 自律神經 調節樣相에 變化를 초래하는 것으로 알려져 있다.

病理學的으로 氣道反應은 收縮因子에 노출 후 좁아지는 氣道の 作用을 說明하는 用語이다. 喘息에서는 氣道の 炎症이 필수적인 병리과정이며 炎症反應은 氣道の 過敏성과 氣道閉鎖를 加速化 시키는 촉진제 역할을 한다. 症狀의 輕重에 관계없이 喘息의 모

든 시기에 氣道平滑筋에 活性化된 好酸球과 비만세포의 확인이 가능하며 이런 炎症細胞의 存在는 氣道內的 增加된 cytokine의 存在로 확인가능하다. 炎症細胞는 histamine이나 leukotriene, platelet activating factor 그리고 여러 protease등의 매개물질을 방출하며 분자생물학적인 측면에서 cytokine이나 chemokine등을 방출하여 거리가 먼 곳까지 기관지의 re-modeling을 초래할 수 있다⁶⁾.

T 림프구의 helper T Cell인 CD4+ T cell에도 서로 다른 Th1과 Th2의 아형이 존재하며 분류기준은 CD4+ T cell이 活性化 되었을 때 分泌하는 lymphokine에 따라 달라지며 Th1은 주로 IL-2(interleukin-2), IFN-γ(interferon gamma)등의 cytokine을 分泌하고 遲延型 過敏反應을 매개하며 Th2는 IL-3(interleukin-3), IL-4(interleukin-4), IL-5(interleukin-5), IL-10(interleukin-10) 등의 cytokine을 分泌하여 體液性 免疫反應을 유도한다^{28,29)}. Th1, Th2 림프구는 상호길항작용을 통해 균형을 유지하며 IL-4는 Th1 세포의 반응을 억제하고 IFN-γ는 Th2 세포의 반응을 억제한다. Allergy 喘息患者의 肺泡洗滌液 內에서는 Th2림프구의 기능이 活性化됨이 觀察된다. CD8+ T cell은 suppressor T cell이나 cytotoxic T cell의 기능을 수행하여 virus나 특정세균에 의한 感染이나 炎症反應에서 保護役割을 수행한다³⁰⁾.

喘息은 韓醫學의으로 呼吸急促하고 喘鳴有聲한 哮喘證, 哮喘證에 해당하며¹⁾, 哮喘, 哮喘, 吼 등의 名稱으로 使用되었다. 그의 上氣 喉中如水鷄鳴이라 하기도 하고, 呼吸急促한 喘證과 類似하나 입을 벌리고 出氣가 많으며 喉中에서 痰聲이 나는 것이라 하기도 하며, 清代에는 喘證에는 哮喘이 兼하지 않으나 哮喘證에는 喘證이 항상 포함되어 나타난다고 하였다.

哮喘證의 原因으로는 風寒이나 飲冷水에 의한 寒冷說, 神經過敏, 驚恐 등에 의한 心因說, 痰火鬱內한데 風寒外束하거나 坐臥寒濕한데 積火熏蒸한 경우 혹은 偏食 특히 鹹酸甘味를 지나치게 嗜食한 것으로 인한 痰因說, 특수하게 內在된 素因에 의한 素因說, 初發外邪를 表散하지 못하여 邪氣留肺한 感染說, 鹹哮喘, 糖哮喘, 魚腥哮喘 등의 過敏性 反應說, 肺腎의 呼

吸機能障礙說 등이 提示되고 있다¹⁾.

哮喘證의 治療는 虛症과 實證으로 辨證하여 治療한다. 實症의 特徵은 病勢가 急迫하고 呼吸은 深長하며 餘有가 있고 呼出이 빠르고 音이 거칠고 크며 脈數하고 有力하고, 虛症은 病勢가 緩慢하고 숨이 차 呼吸이 계속되지 못하며 吸氣가 빠르고 움직이면 呼吸困難이 加重되고 語聲에 힘이 없으며 脈微弱 또는 無力하다. 哮喘은 發作性的 疾患이며 發作後에는 반드시 正氣가 虛해 있으므로 緩解期에는 扶正祛邪를 해야한다.

喘息의 治療는 適切한 治療方針을 決定하는 것이 重要하다. 喘息發作의 症狀를 抑制 또는 調節함으로써 患者로 하여금 正常活動을 可能케 하고난 後 喘息發作을 豫防하고 可能한 한 肺機能을 正常置에 가깝게 維持하는데 있다. 治療期間中에 여러 가지의 合併症을 誘發하는 境遇가 있다. 이러한 合併症은 單純한 消化障礙, 頭痛, 鼻炎, 便秘, 眩暈 등의 症狀부터 感染症, 스트레스나 藥物에 對한 副作用등 多樣한 形態로 나타날 수 있다³¹⁾.

淸金降火湯은 《古今醫鑑》에 瀉肺胃中之火 火降則痰消咳止라고 記錄되어 있으며 宣肺化痰, 止咳平喘의 作用을 가지고 있다³⁾. 增補山林經濟 救急篇³²⁾에서는 小兒에게 있어서 癩疹, 喉痛, 失音의 適應症에 應用되었으며 尹³³⁾은 淸金降火湯의 實驗的研究에서 咯痰의 排出을 용이하게 하여 損傷된 肺를 回復시키는 機能과 肺疾患治療效果를 報告하였고 신³⁴⁾은 白鼠의 靜脈에 Paraquat를 주사하여 誘發시킨 肺水腫에 淸金降火湯이 有意한 效果가 있다고 報告하였다.

構成藥物 中 陳皮는 理氣調中, 燥濕化痰하며 血管內 抗菌作用, 血壓降下作用이 있고, 杏仁은 降氣止咳平喘하며 呼吸中樞의 鎮靜作用이 있으며, 赤茯苓은 行水, 利濕熱하며 免疫調節, 抗癌, T 淋巴球 細胞毒性 增強作用, 鎮靜作用이 있으며, 半夏는 燥濕化痰, 降逆止嘔하며 鎮咳 祛痰作用이 있고, 桔梗은 宣肺利咽, 祛痰하며 氣管支內 分泌作用을 促進하며 排膿, 祛痰, 溶血作用이 있고, 貝母는 淸熱潤肺, 化痰止咳하며, 前胡는 降氣祛痰, 宣肺하며 氣管支 分泌作用, 祛痰作用이 있으며, 瓜蒌仁은 潤肺和痰하며 瓜蒌仁은 抗菌, 抗癌,

祛痰作用이 있고, 石膏는 除煩止渴, 淸熱하며, 枳殼은 行痰消積하며, 甘草는 潤肺和中하며 生薑은 溫中止嘔하고 위점막, 肝 보호작용, 消炎抗菌作用, 炭素缺乏 抵抗作用이 있다^{40,41)}.

CG은 淸金降火湯에 麥門冬, 酸棗仁을 添加한 처방으로 麥門冬은 潤肺, 淸心除煩하며 祛痰, 鎮咳, 強心, 利尿作用이 있으며, 酸棗仁은 生津, 斂肺하며 鎮靜 催眠作用, 血壓 降下作用 등이 있어서, 鎮靜, 祛痰, 氣管支 呼吸中樞의 鎮靜作用, 免疫調節作用, 神經調節作用 등을 통해 喘息에 治療效果를 나타내는 것으로 생각되며 CG은 痰火內鬱한데 風寒外束하거나 坐臥寒濕한데 積火熏蒸한 경우 혹은 偏食 특히 鹹酸甘味를 지나치게 嗜食한 것으로 인한 痰을 治療하는 藥物에 肺機能을 增大하는 藥物로 構成된 處方이다.

六味地黃湯은 宋代 錢乙이 著述한 《小兒藥證直訣》에 수록된 處方으로 腎怯失音 顛開不合 神不足 目中白睛多 面色胱白 등을 治療한다고 하였다⁴⁾. 그 이후 小兒뿐만 아니라 廣範圍한 腎陰을 滋補하는 基本的 處方으로 使用되었다. 六味地黃湯의 效能에 관한 研究로는 腎臟疾患³⁵⁾, 糖尿病³⁶⁾ 등의 方面으로 研究되어 있으며, 最近에 金 等³⁷⁾은 六味地黃湯 投與가 血中 cortisol 量을 增加 시킨다고 報告 하였으며 한 등³⁸⁾은 六味地黃湯이 腹腔大食細胞의 活性을 增加시킨다고 報告하였는데 이는 六味地黃湯이 喘息, 炎症反應과 관련된 면역세포에도 作用할것이라는 가능성을 열어 주었으며 朱³⁹⁾등에 의해 六味地黃湯合瀉白散을 이용한 연구에서 喘息의 病態生理에서 炎症을 誘發하는 cytokine인 IL-8과 GM-CSF를 抑制하여 喘息 治療效果를 가졌다는 것이 報告되었다.

構成藥物中 熟地黃은 滋腎填靜하며 血壓降下, 鎮靜, 抗菌作用이 있으며, 山藥은 補益脾胃, 固精하며 山茱萸는 肝腎滋養, 澀精하며 皮膚 外側에 抗菌作用, 血壓 降下作用이 있으며, 澤瀉는 腎火淸泄하며 동물 시험에서 신세뇨관의 利尿作用 促進과 血壓 降下作用이 있으며, 牡丹皮는 肝火淸泄하며 利尿作用, 抗菌作用이 있고, 白茯苓은 脾濕을 滲濕하며 신세뇨관에서의 利尿作用 促進과 血糖低下作用이 있다^{40,41)}.

YM은 六味地黃湯에 荊芥, 防風, 五味子, 鹿茸을 添

加한 處方으로 荊芥는 發表散風하며 解熱作用, 血管內 結핵균억제 작용, 담분비 증가촉진, 항경련작용등이 있으며, 防風은 解表散風, 勝濕하며 皮膚의 抗菌作用, 鎮痛作用을 하며, 五味子는 滋腎斂肺하며 抗菌作用, 血管內 血液循環作用, 祛痰作用이 있으며, 鹿茸은 壯元陽, 補氣血하며 혈색소 증가, 자궁내 탄력증가, 심박동상승, 발한효과등이 있다^{40,41)}.

YM은 肺腎機能虛弱證에 使用되는 六味地黃湯에 기존의 補腎作用을 強化하고 表邪를 祛하는 藥物이 添加되어 祛痰, 利尿作用, 血管內 循環增大, 發汗作用, 神經調節作用을 통하여 喘息에 治療效果를 나타내는 것으로 생각된다.

이에 著者는 CG와 YM의 allergy 喘息 및 免疫機能의 變化에 대한 效能을 알아보기 위해 感作된 흰쥐에 ovalbumin을 吸入시켜 allergy 喘息 病態를 유발시키고 CG와 YM을 각각 148.0mg/200g과 176.0mg/200g을 경구투여한 후 흰쥐의 肺氣管支洗滌液(bronchoalveolar lavage fluid, BALF)내 total cell수, lymphocyte 수, CD4+ T세포수, CD8+ T세포수, CD4+/CD8+ 비율의 變化를 측정하고, 혈청 IgE 양의 變化 및 말초혈액내의 CD4+ T세포수, CD8+ T세포수의 變化를 측정하였다.

氣管支內의 炎症定度を 살펴보기 위해 氣管支 肺胞洗滌液內의 total cell을 측정한 결과 GCG만 對照群에 비하여 有意한 減少效果를 나타내었고, lymphocyte 수는 GCG과 GYM 모두 對照群에 비하여 有意性있는 減少效果를 나타내었다. 이로 보아 GCG은 통계적으로 GYM보다 有意性있게 氣管支內에서 일어나는 기도염증반응을 억제하는 효과가 있다고 할 수 있다. BALF內에서 총세포수가 많다는 의미는 氣道炎症反應을 일으키는 호산구나 비만세포의 비율이 높다는 것을 의미한다. 따라서 이들 處方의 喘息에 對한 治療效果 機轉은 炎症細胞의 抑制일 것으로 推定할 수 있다.

BALF內의 CD8+ T세포수는 對照群, GCG, GYM 모두 유의한 차이가 없었던 반면, BALF內의 CD4+ T세포수에서는 GCG이 對照群보다 有意한 減少效果를 보였고 GYM은 감소하는 경향을 보였으나 통계

적으로는 유의하지는 않았다. BALF內的 CD4+ /CD8+ 비율은 GCG과 GYM에서 對照群에 비하여 감소하는 경향은 보였으나 통계적으로 유의하지는 않았다. 즉, CD4+ T세포에 대한 선택적 억제효과는 GCG이 뚜렷하였다.

喘息의 氣道內 炎症에 관한 機轉에는 T cell이 炎症細胞를 끌어모으고 活性化시키는데 그 중에서 Th2 type의 cytokine을 분비하는 CD4+ T cell이 決定的 役割을 하는 것으로 밝혀지고 있으며 따라서 喘息의 治療에 있어서도 CD4+ T cell을 抑制시키는 方法이 주요 과제중의 하나라 할 수 있다. 실제로 SIT (allergen-specific immunotherapy)에서 anti-IgE를 投與하여 Th2와 Th1의 拮抗作用을 이용한 allergy 喘息의 治療가 免疫學的인 觀點에서 사용되어 지고 있고 여기서 CD4+ T cell의 선택적 억제 효과는 중요하다⁹⁾. 이러한 SIT의 궁극의 목적은 病理學的으로 Th2 細胞로의 分化를 억제하고 cytokine을 中和하며 免疫反應 傾向을 Th2로부터 Th1으로 전환시키는 면역조절 方法을 anti-IgE의 투여를 통해 이루는 것이다⁹⁾.

T림프구의 아형중에서 Th2세포는 IL-4, IL-13, IL-5 등의 cytokine을 분비한다. IL-4는 T세포를 Th2 cytokine을 분비하는 세포로 分化하도록 하고 이러한 세포가 폭발적으로 늘어나도록 하는 역할을 하며 IgG가 IgE로 전환되도록 하고, IL-5는 골수로부터 호산구가 分化하여 혈류를 통해 모이도록 하는 역할을 하고 IL-13은 B cell, eosinophil, airway smooth muscle 등 effector cell을 모아 활성화시키는 역할을 한다. B cell이 활성화되면 IgE 등을 생성하여 분비하며 비만 세포가 탈과립된다. 이러한 병리의 결과로 천식에 있어서 기관지 평활근의 경련성 수축, 기도의 부종, 염증 등 천식증상이 나타나게 되는 것이다^{30,43,45)}.

혈청내 IgE 양은 GCG이 對照群에 비해 有意性 있는 減少效果를 보였으나 GYM은 對照群에 비해 減少하는 경향을 보였으나 통계적으로 有意하지는 않았다. 혈청 IgE의 양은 allergy 질환의 판단에 있어서 지표로 삼는 단위이다. SIT의 anti-IgE 投與를 통한 治療방법도 또한 allergy 疾患에서 Th2 抑制效果를 이용하여 T cell의 길항작용에 영향을 주는 方法을

이용하는 것이다. 증가된 Th2 세포에 의한 IL-4의 증가는 IgE의 상승을 야기하여 진단에 큰 도움을 주고 있다. 마찬가지로 allergy 喘息에서의 혈청 IgE의 상승은 진단적 가치로서 중요한 요건이 된다. 본 실험에서 對照群에서는 正常群보다 혈청 IgE 양은 높았고 GCG이 對照群에 비해 有意性있는 減少效果를 보였는데 이는 GCG이 T 임파구의 免疫調節을 통해 IgE 형성을 抑制하여 氣管支喘息의 炎症反應을 抑制하는 효과가 있다고 보여진다.

말초혈액내 CD4+ T세포비나 CD8+ T세포비는 對照群, GCG, GYM에서 모두 有意한 差異는 없었으며, 이것은 기존 報告書와 一致하는 樣相이었다¹⁴⁾. 즉 GCG과 GYM의 免疫調節效果는 말초혈액내에서는 그 영향이 미미하고 氣管支肺胞內에서 선택적 작용을 하는 것으로 보인다.

본 연구에서 GCG과 GYM은 喘息反應을 抑制시키는 作用을 하는 것으로 나타났고 肺氣管支에서의 CD4+ T cell 증가를 억제하는 것은 CG이 더욱 有效했고 혈청 내의 IgE 증가를 抑制하는 것도 CG이 더욱 有效한 것으로 나타났다.

CG와 YM은 臨床的으로 각각 痰因說에 근거한 實證哮喘과 肺腎의 機能虛弱으로 인한 虛證哮喘에 각각 使用되어지는 藥物이다. 實驗結果에서 CG은 CD4+ T cell 增加를 抑制할뿐만 아니라 血清 內的 IgE 增加를 抑制하여 喘息治療에 對한 臨床的 效能 이 있는 것으로 나왔으나 YM은 통계적으로 有意한 結果가 나오지 않았다. 그러나, 臨床的으로 慢性的인 腎陰虛로 인한 哮喘證에 多用되고 있는데 이는 臟腑辨證論的인 면에서 더욱 의의를 두고 연구해야 할 것으로 생각된다. 차후에는 이러한 韓醫學的인 辨證論을 뒷받침하기 위한 對照群을 腎陰虛를 유발시키는 方法論적인 연구와 六味地黃湯에 加味되는 藥物들을 선별해서 研究를 해야 할 것으로 思慮된다.

결론

CG과 YM이 Allergy 喘息모델 흰쥐의 BALF내 免疫細胞 및 血清 IgE에 미치는 影響을 考察한 바 다음

과 같은 結論을 얻었다.

1. BALF內 총세포수는 對照群에 비해 GCG에서는 有意한 減少效果가 있었으나 GYM에서는 有意한 效果는 없었다.
2. BALF內 lymphocyte수는 對照群에 비해 GCG과 GYM 모두 有意한 減少效果가 있었다.
3. BALF內 CD4+ T세포수는 對照群에 비하여 GCG에서는 有意한 減少效果가 있었으나 GYM에서는 減少하는 傾向은 보였으나 有意한 效果는 없었다.
4. BALF內 CD8+ T세포수는 對照群, GCG과 GYM 모두 有意한 效果는 없었다.
5. BALF內 CD4+/CD8+ 比率은 對照群에 비하여 GCG과 GYM에서 減少하는 傾向은 보였으나 有意한 效果는 없었다.
6. 혈청내 IgE양은 對照群에 비해 GCG에는 有意한 減少가 있었으나 GYM에는 없었다.
7. 말초혈액내 CD4+ T세포비는 對照群, GCG, GYM 모두 有意한 效果는 없었다.
8. 말초혈액내 CD8+ T세포비는 對照群, GCG, GYM 모두 有意한 效果는 없었다.

참고문헌

1. 전국한의과대학 폐계내과학교실. 동의폐계내과학. 서울: 한출판사. 2002: 192-9.
2. 정승기, 이형구. 효천의 원인 및 치법에 관한 연구. 대한 한의학회지. 1986; 7(1): 60-7.
3. 龔信. 古今醫鑑. 北京: 中國中醫藥出版社. 1997: 283,314.
4. 錢乙. 小兒藥證直訣. 서울: 의성당. 1994: 47.
5. O' Byrne PM. Airway inflammation and asthma. Aliment Pharmacol Ther. 1996;10 Suppl 2:18-24.
6. 조상현. 천식과 상기도 감염, 천식 및 알레르기. 1999; 19(1): 3-15.
7. Wray BB. Asthma: best treatment options. Ann Allergy Asthma Immunol. 2001 Jul;87(1 Suppl 1):9-12
8. Portnoy JM. Immunotherapy for asthma: unfavorable studies. Ann Allergy Asthma Immunol. 2001 Jul;87(1 Suppl 1):28-32.

9. Lanier B. New treatments and the juture role of immunotherapy: anti-IgE. Ann Allergy Asthma Immunol. 2001 Jul;87(1 Suppl 1):68-9.
10. 吉村永星, 崔錫鳳, 鄭昇杞, 李珩九. 알레르기성 喘息에 관한 문헌적 고찰. 대한한학회지. 1990; 11(1): 39-70.
11. 박동일, 정승기. 喘息의 원인에 대한 고찰(황제내경중심). 동의논집(자연과학편). 1992;19:203-10.
12. 백동진, 정희재, 정승기, 이형구. Allergy성 呼吸器疾患에 對한 文獻的 考察. 대한한방내과학회지. 1998; 19(1): 331-42.
13. 정승기. Allergy질환의 한방요법(喘息을 중심으로). 대한한학회지. 1990; 11(2): 11-5.
14. 김진주, 정희재, 정승기, 이형구. 麥門冬湯과 定喘化痰降氣湯이 allergy 喘息 모델 흰쥐의 BALF內 免疫세포 및 혈청 IgE에 미치는 영향. 대한한학회지. 2002; 23(1): 37-49.
15. 권순호, 정희재, 정승기, 이형구. 五拗湯이 allergy 喘息의 呼吸양상과 기관조직에 미치는 영향. 대한한학회지. 1999; 20(2): 98-107.
16. 권혁성, 정희재, 정승기, 이형구. 淸上補下湯이 allergy 喘息의 呼吸양상과 기관조직에 미치는 영향. 경희한의대논문집. 1999; 22(1): 203-15.
17. 김승수, 정희재, 정승기, 이형구. 解表二陳湯이 allergy 喘息의 呼吸양상과 기관조직에 미치는 영향. 대한한방내과학회지. 1999; 19(2): 59-73.
18. 이준우, 정희재, 정승기, 이형구. 小青龍湯이 allergy 喘息 모델 흰쥐의 BALF內 免疫세포에 미치는 영향. 경희의학. 2001; 17(2): 242-53.
19. 김승수, 정희재, 정승기, 이형구. 신비탕과 가미신비탕이 알레르기 천식 모델 흰쥐의 BALF內 면역세포 및 혈청 IgE에 미치는 영향. 경희대학교 대학원 박사학위논문. 2002.
20. 정승기. 加味淸上補下湯이 喘息에 미치는 영향에 관한 실험적연구. 대한한학회지. 1991; 12(1): 118-138
21. 조영민, 정희재, 정승기, 이형구. 小青龍湯이 allergy 喘息의 呼吸양상과 기관조직에 미치는 영향. 경희의학. 1999; 15(1): 78-89.
22. 박광은, 차은수, 조영민, 허승철, 정희재, 정승기, 이형구. 脾胃虛證을 兼한 哮喘證에 對한 臨牀的 觀察. 제3회 한중비위병학술대회논문집. 1996: 283-308.
23. 박광은, 허승철, 정희재, 정승기, 이형구. 哮喘證에 대한 淸上補下湯의 임상적 관찰. 제8회국제동양의학학술대회 발표논문 초록집. 1995: 288-9.

24. 조영민, 이경기, 조일현, 차은수, 정희재, 정승기, 이형구. 哮喘證에 관한 임상적 연구. 제 19회 전국한의학 학술대회 발표논문집. 1997; 141-51.
25. 주창엽, 허태석, 한동하, 정희재, 정승기, 이형구. 알레르기 질환 및 한방치료에 대한 일반인의 인식 조사. 대한한방내과학회지. 2000; 21(4): 565-73.
26. 한동하, 주창엽, 허태석, 정희재, 정승기, 이형구. 한방 치료에 따른 喘息환자의 삶의 질에 대한 임상적 평가. 대한한방내과학회지. 2000; 21(4): 575-81.
27. 차은수, 정희재, 정승기, 이형구. 소청룡탕이 Asthma model내의 Cytokine에 미치는 영향. 경희한의대논문집. 2000; 23(1): 71-88.
28. 이동생, 정희재, 정승기, 이형구. 맥문동과 오미자가 Asthma model 내의 Cytokine IL-4, IL-5, IL-6에 미치는 영향. 경희의학. 2000; 16(2): 69-80.
29. Heo Tae-Seok, Jung Hee-Jae, Jung Sung-Ki, Rhee Hyung-Koo. 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): 19-20.
30. 김형민. 면역과 알레르기. 서울: 신일상사. 1998: 179-203.
31. Michael T Newhouse, Peter J Barnes. Conquering Asthma. 서울: 고려의학사: 1996: 64-79.
32. 유중임. 증보산림경제. 서울: 대성문화사. 1991: 245.
33. 윤석운, 정승기, 이형구. 청금강화탕과 인삼사폐탕의 효능에 관한 실험적연구. 경희대논문집. 1995; 18(1): 45-54.
34. 신조영. 청금강화탕이 Paraquat로 유발시킨 백서의 폐수종에 미치는 영향. 원광대논문집. 1992; 2(1): 34-50.
35. 김시영, 이인선. 한방부인과영역에서 육미지황탕과 부익지황환의 효능에 관한 문헌적 고찰. 대한한방부인과학회지. 1997; 10(1): 133-50.
36. 이원석, 박선동. 육미지황탕에 대한 문헌적 고찰. 동국대논문집. 1996; 5(1): 149-66.
37. 김영권, 류봉하, 박동원, 류기원. 육미지황탕이 생리활성지표와 임파구세포수에 미치는 영향. 대한한방중앙학회지. 1998; 4(1): 89-110.
38. 한일수, 김철중. 육미지황탕, 팔미지황탕 및 가미지황탕이 생쥐의 복강대식세포 활성화에 미치는 영향. 대전대학교 한의대논문집. 1997; 6(1): 331-47.
39. 주창엽, 정희재, 정승기, 이형구. 육미지황탕합사백산과 상백피가 BEAS-2B 인간기관지상피세포의 IL-6, IL-8, GM-CSF mRNA level에 미치는 영향. 대한한방내과학회지. 2001; 22(3): 415-22.
40. 이상인. 本草學. 서울: 영림사. 1991: 127, 131, 136, 160, 193, 219, 302, 305, 347, 351, 448, 458, 460, 461, 463, 493, 537, 540, 545, 580, 588, 622, 626.
41. 上海中醫學院. 中草藥學. 香港: 商務印書官香港分官. 1983: 45, 47, 49, 58.
42. Bellofiore S, Di Maria GU, Martin JG. Changes in upper and lower airway resistance after inhalation of antigen in sensitized rats. The American Review of Respiratory Disease. 1987; 136(2): 363-8.
43. Jean Bousquet. Immunotherapy is clinically indicated in the management of allergic asthma. Am J Respir Crit Care Med. 2001; 164: 219-2142.
44. Avni O, Rao A. T cell differentiation - a mechanistic view. Current Opinion in Immunology. 2000; 12: 654-9.
45. Cohn L, Ray A. T-helper type 2 cell-directed therapy for asthma. Pharmacology & Therapeutics. 2000; 88: 187-196.