

## 冬蟲夏草 藥鍼이 白鼠의 氣管支平滑筋 張力과 炎症 및 免疫 反應에 미치는 影響

尹大煥<sup>1</sup> · 崔寬峻<sup>2</sup> · 蔡禹錫<sup>2</sup> · 羅昌洙<sup>1</sup>

동신대학교 한의과대학 <sup>1</sup>경혈학교실, <sup>2</sup>침구학교실

### Effects of Cordyceps militaris Mycelia(CMM) herbal acupuncture at BL13, LU4 on airway smooth muscle, airway inflammation, IgE and Interleukin-4 in mouse model of allergic bronchial asthma

Dae-Hwan Youn<sup>1</sup>, Gwan-Jun Choi<sup>2</sup>, Woo-Seok Chae<sup>2</sup>, Chang-Su Na<sup>1</sup>

Dept. of <sup>1</sup>Meridian & Acupoint, <sup>2</sup>Acupuncture & Moxibustion, College of Oriental Medicine, Dongshin University

#### Abstract

**Objectives** : It has been reported that Cordyceps militaris Mycelia(CMM) has an effect on deficiency allergic asthma(虛喘) clinically. The aim of this study was to determine an appropriate oriental treatment and the doses of CMM to treat asthma.

**Methods** : In order to study the effect of herbal acupuncture solution of the CMM on allergic asthma, the mouse were pretreated by CMM herbal acupuncture at BL13, LU4 before antigen sensitization. 2 days later Mice were actively sensitized with a subcutaneous injection of ovalbumin(OA) and 13 days later they were provoked with OA aerosols. IL-4, lymphocyte, macrophage in bronchoalveolar lavage fluid(BALF), IgE in serum, WBC, RBC, HGB in blood, and in vitro isometric contractile responses of the isolated tracheal smooth muscle(TSM) to acetylcholine(ACh, 0.1-1000  $\mu$ M), KCl were measured.

**Results** : Contractile responses of TSM to ACh were significantly increased in CMM herbal acupuncture 1 group (ACh 1000  $\mu$ M), CMM herbal acupuncture 2 group (ACh 1, 10  $\mu$ M), CMM herbal acupuncture 3 group (ACh 0.3, 1, 30, 300  $\mu$ M). The sensitivity of TSM to ACh was significantly decreased in CMM herbal acupuncture 3 group. The maximal contractile response of TSM to ACh was significantly decreased in CMM herbal acupuncture 1, 3 group. The maximal contractile response of TSM to KCl was significantly decreased in CMM herbal acupuncture 1, 2, 3 group. The counts of lymphocytes in BALF was significantly increased in CMM herbal acupuncture 3 group. The counts of macrophages in BALF was significantly decreased in CMM herbal acupuncture 3 group. Interleukin-4 level in BALF was significantly increased in CMM herbal acupuncture 1,3 group. and it was increased in CMM herbal acupuncture 2 group, but there was no significance. Serum IgE level was significantly decreased in CMM herbal acupuncture 1, 2, 3 group. The counts of WBC in blood was significantly increased in CMM herbal acupuncture 1, 3 group

• 교신저자: 나창수, 전남 나주시 대호동 252 동신대학교 한의과대학  
경혈학교실, Tel. 061-330-3522, Fax. 061-330-2990,  
Email : namuci@hanmail.net

• 접수 : 2004/05/31 • 수정 : 2004/06/14 • 채택 : 2004/6/16

**Conclusion :** Based on the above results it is assumed that CMM herbal acupuncture at BL13, LU4 can help the treatment of deficiency allergic Asthma

**Key words :** allergic bronchial asthma, ordyceps militaris Mycelia(CMM), herbal acupuncture, airway inflammation, IgE, Interleukin-4

## I. 서 론

천식은 哮喘證, 喘證, 痰飲의 범주로 간주하고 있으며<sup>1)</sup>, 喘이란 呼吸急促한 것을 말하고 哮喘喉中有痰聲響한 것을 말하며 임상상 통칭 哮喘이라 하는데<sup>1-2)</sup>, 한의학에서는 心因, 痰因, 飮食, 素因, 感染, 臟器의 機能不調, 過敏反應등을 원인으로 보고 있으며, 가장 많이 언급된 것은 痰因이다<sup>3)</sup>. 서양의학에서는 다양한 자극에 대한 기관지의 반응성 증가를 특징으로 하는 기도의 만성 염증성 질환으로 기도염증은 비만세포, 호산구, 식세포, T 림프구 등의 세포들과 이들로부터 유리되는 여러 화학 매개물질에 의하여 일어난다고 알려져 있다<sup>4-6)</sup>.

증상은 가역적인 기도수축에 의해 발작적 호흡곤란, 천명, 기침, 객담 등을 나타내고 그 발생기전은 기관지평활근의 수축이나 경련, 기관지점막의 부종과 점액분비의 증가에 의해서이며, 이중에서도 기관지 평활근 수축을 주된 발생기전으로 보고 있다<sup>7-8)</sup>.

치료에 있어서 許<sup>9)</sup>는 원인에 따라 8種喘으로 나누고 원인에 따라 반하, 인삼, 행인, 진피 등의 약물을 사용하였는데<sup>10)</sup>, 근래 천식에 관한 연구로는 안<sup>11)</sup>은 定喘化痰降氣湯이 ovalbumin으로 유발된 천식에 미치는 영향을, 김<sup>12)</sup>은 麥門冬湯과 定喘化痰降氣湯이 알레르기 천식 모델 흰쥐의 BALF내 면역세포 및 혈청 IgE에 미치는 영향을, 이<sup>13)</sup>는 五拗湯藥針이 알레르기 천식 흰쥐의 말초혈관내 T-cell과 혈청 IgE에 미치는 영향을, 박<sup>14)</sup>은 氣管支 喘息 생쥐 모형에서 麥門冬藥針이 抗알레르기 및 免疫反應에 미치는 영향

을 각각 보고한 바 있다.

喘息의 治法은 定喘化痰, 補益腎元 등이며, 치료수단으로는 藥物, 鍼灸, 藥鍼 療法 등이 多用되고 있다.

冬蟲夏草는 補肺滋腎, 止咳化痰의 효능이 있어서 痰飲, 喘嗽, 虛喘, 勞嗽, 自汗, 盜汗, 陰陽痿, 遺精, 腰膝痛 및 病後久虛不復에 사용되어 왔다<sup>15-20)</sup>.

동충하초에 대한 실험연구로는 최 등<sup>21-23)</sup>은 면역 기능이 증진되고 항암작용이 있다고 하였고, 김 등<sup>24-26)</sup>은 독성에 대한 항산화작용이 있다고 보고하였으며, 김 등<sup>27)</sup>은 동충하초 약침과 경구투여가 항천식 작용이 있음을 보고하였다.

이에 저자는 동충하초 약침이 기관지평활근장력과 염증 및 면역반응에 미치는 영향을 실험적으로 규명하고자 동충하초를 용량별로 약침시술한 경우에 ovalbumin으로 감작 유발된 천식에 대하여 기관지평활근의 등장성 장력에 대한 최대반응, 민감성 반응을 관찰하였고, 동시에 기관지폐포세척술을 시행하여 얻은 세척액내 염증반응 세포 및 사이토카인 IL-4를 관찰하였으며, 또한 말초혈액내 특이적 면역반응 IgE 및 혈액학적 변화 등을 관찰한 바 다음과 같은 지견을 얻었다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 재료

#### 1) 동물

체중이 약 35±10 g인 ICR계 mouse를 사육장(실내온도 24~26 °C)내에서 물과 사료(삼양사

료)를 충분히 섭취하게 하면서 일주일동안 실험실 환경에 적응시킨 후 실험에 사용하였다.

## 2) 약재 및 약침액

본 실험에 사용된 약재인 동충하초 (*Cordyceps militaris* Mycelia(CMM)는 죽향 동충하초(전남 담양군 대전면 대치리 소재 까치마을 재배)를 엄선하여 사용하였다. 根莖부위를 제거한 동충하초 12.16 g을 증류수 1,000 ml과 함께 24 시간 동안 증류수를 계속 보충해가며 끓인 다음 여과지로 여과한 후, 고속원심분리기(Centricon T-42K, Italy)로 5,000 rpm에서 30분간 원심분리하여 상등액을 취하였다. 상등액은 rotary vacuum evaporator(Buchi, Netheland)로 수분을 증발시켜 100 ml로 감압농축하였으며, 농축된 검액을 동결건조기(삼원, 한국)로 -70 °C에서 동결건조시켜 최종적으로 4.01 g의 시료를 얻었다. 최종적으로 얻어진 시료는 약침시술을 위하여 각 농도별로 PBS에 희석하여 사용하였다.

## 2. 방법

### 1) 실험군 분류

군의 분리는 생리식염수로 시술한 군(대조군, Control), 동충하초 0.089 mg/kg 농도로 약침시술한 군(약침시술1군, HA-D1), 동충하초 0.445 mg/kg 농도를 약침시술한 군(약침시술2군, HA-D2), 동충하초 2.225 mg/kg 농도를 약침시술한 군(약침시술3군, HA-D3)으로 나누었다.

### 2) 取穴 및 약침시술

肺俞는 背部 견갑골 내측 胸椎傍에서, 尺澤은 상지 肘關節에서 각각 인체에 상응하는 부위를 취하였으며, 시술은 양측이 시행되었다. 약침시술은 해당 농도별로 혈위당 50  $\mu$ l씩(양측 4개 혈위 200  $\mu$ l) 2일에 1회씩 총 3회(1일, 3일, 5

일째)가 시술되었다.

### 3) 감각, 유발 및 채혈

감작은 약침시술 3회 시행 2일 후(7일째)에 시행되었으며, 1 ml의 PBS에 용해된 1 mg/30 g의 ovalbumin(OA)에 200 mg의 aluminum hydroxide adjuvant에 흡착시켜 皮下에 주사하였다.

유발은 감작 시행 13일 후(20일째)에 시행되었는데, 50 ml PBS에 용해된 0.5 g의 OA를 희석하여 이를 연무기로 분무하면서 30분간 흡입시켜 1차 유발시켰고, 다음 날(21일째) 같은 방법으로 2차 유발시켰다. 2차 유발 후 즉시 마취하여 심장천자로 약 1 ml의 혈액을 얻었다.

### 4) 혈액 검사 및 혈청 분리

채혈에 의하여 얻어진 혈액 중 약 100  $\mu$ l를 EDTA-bottle에 넣은 후 곧바로 혈구측정기(K-800, Sysmax, Japan)에 주입하여 백혈구(WBC), 적혈구(RBC), hemoglobin(HGB) 등을 각각 측정하였다. 나머지 혈액은 혈청 분리에 사용하였는데, 고속원심분리기(Centricon T-42K, Italy)에서 5,000 rpm으로 10분간 시행하여 혈청을 얻었다.

### 5) 기관지폐포세척술 및 혈구 조사

채혈 후 기관지 주위의 근육을 정리하여 기관을 노출시켜, 기관상단부를 통해 polyethylene 도관을 삽입하여 고정시키고, 4 °C의 생리식염수 4 ml(0.5 ml씩 8회)로 기관지폐포세척술(bronchoalveolar lavage fluid, BALF)을 시행하였다. 회수된 세척액 양을 기록하고, 바로 4 °C 1500 rpm으로 10분간 원심분리하여 상층액은 IL-4를 측정하였고, 하층액은 PBS와 10 %FBS를 9 : 1 비율로 혼합된 용액을 1 ml의 양으로 녹인 다음, 20  $\mu$ l를 Hemacytometer(Superior,

Germany)를 사용하여 현미경( $\times 100$ )아래에서 총세포수를 세었다. 표본에 남아있는 세포수가 1 ml당  $1 \times 10^6$ 개가 되도록 PBS로 희석한 후 400  $\mu$ l의 양을 4  $^{\circ}$ C, 800 rpm으로 5분간 cytopspin하여 2개의 슬라이드를 만들었으며, 이것을 Diff-Quick 염색하여 400배 현미경하에서 각 슬라이드의 백혈구 수를 100개씩 세어 림프구와 폐포 대식세포의 비율을 구하였다.

#### 6) 기관지평활근 장력 측정

기관지폐포세척술 직후 기관지를 적출하여 Krebs-Henseleit용액(115.5 NaCl, 4.16 KCl, 2.5 CaCl, 1.16 MgSO<sub>4</sub>, 1.6 NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 21.9 NaHCO<sub>3</sub>, 11.1 mM Glucose)에 담그고, 기관에 붙어 있는 결체조직과 지방 등을 제거한 다음 37  $^{\circ}$ C Krebs용액 10 ml가 들어있고 95 %산소와 5 %이산화탄소가 나오는 기관 욕조에 수직으로 매달았으며, 하단의 갈고리로 기관절편을 고정시키고 상단 갈고리는 전사로 force transducer(Havard, England)에 연결하였다. 기초 예비장력에서 결정된 휴지기 장력인 0.7 g으로 평형을 이루기 위해 1시간 30분 동안 20-30분 간격으로 기관절편을 Krebs용액으로 관류시켰으며, 등장성 수축반응은 isometric transducer(Havard, England)로 측정하여 oscillograph(Havard, England)에 기록하였다.

안정시킨 후 KCl(5 M), OA(1 M)를 각각 기관 욕조내에 투여하여 근육의 수축반응을 측정하였으며, 그 사이에는 Krebs용액으로 관류시키고 난 후 30분동안 안정기를 가졌다. OA에 대한 수축반응을 관찰하고 난후 다시 30분동안의 안정기를 가진 다음 acetylcholine(ACh, Sigma)을 기관 욕조내에 0.1, 0.3, 1, 3, 10, 30, 100, 300, 1000  $\mu$  M이 되도록 누적 투여하여 각 기관 절편의 수축반응을 측정하였다.

실험 후 검사한 절편을 1일 동안 실온에서 건

조시킨 뒤 그 무게를 측정하였으며, 반응 결과는 절편의 g당 힘mg(mg/g)과 고농도의 KCl에 대한 최대 반응을 보인 값에 대한 상대적인 수축력(%)으로 표시하였고, 비선형 회귀분석을 이용한 프로그램을 이용하여 최대반응의 50 %를 초래하는 ACh의 누적용량(ACh-EC50)을 구하였다.

#### 8) IL-4 측정

IL-4 측정은 IL-4 KIT(R&D Systems, USA)를 사용하여 측정하였다. mouse IL-4가 coating된 microplate에 assay diluent RD1-18 50  $\mu$ l를 넣고 mouse IL-4 standard, mouse IL-4 control, BALF 상층액 50  $\mu$ l를 첨가하고 plate cover로 tapping한 후에 1분간 mixing하고 실온에 2시간 방치한다. Wash buffer 400  $\mu$ l로 5회 세척한 후 mouse IL-4 conjugate 100  $\mu$ l를 첨가하고 plate cover를 덮고 실온에 2시간 방치한다. Wash buffer 400  $\mu$ l로 5회 세척한 후 substrate solution 100  $\mu$ l를 첨가하고 어두운 곳에서 30분간 실온에 방치한다. Stop solution 100  $\mu$ l를 plate에 넣고 발색반응을 중지시킨 후 microplate reader(Molecular Devices, USA)로 450 nm에서 OD를 측정하였다.

#### 9) IgE 측정

OA를 0.05 % NaN<sub>3</sub>가 포함된 PBS에 녹여서 100  $\mu$ l/ml의 농도가 되도록 한 다음, 50  $\mu$ l씩을 ELISA plate에 넣고 24시간 동안 실온에 방치하며, 증류수로 3회 세척한 다음 blocking buffer(0.05 % Tween 20, 0.25 % bovine serum albumin in PBS)를 50  $\mu$ l씩을 넣고 30분 동안 방치한 후 증류수로 3회 세척한다. 혈청을 blocking buffer를 사용하여 1:8로 희석하여 50  $\mu$ l씩 plate에 넣고 3시간 동안 실온에 방치하여 반응시키며, 증류수로 3회 세척한 후 1 : 500으로 희석된 HRP-Mouse Anti-rat IgE(Zymed)를

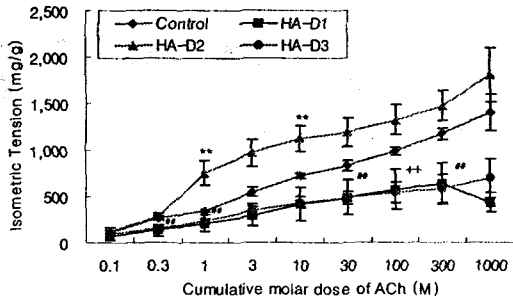


Fig. 1. Effects of herbal acupuncture according to dosage on the maximal contractile responses of the tracheal smooth muscle to ACh in asthma rats induced by ovalbumin. Control, injected saline at the BL13-LU4 acupoints bilaterally of the rats. HA-D1, HA-D2 and HA-D3, injected 0.089mg/kg, 0.445mg/kg and 2.225mg/kg per acupoint of the CMM(Cordyceps militaris Mycelia) at the BL13-LU4 acupoints bilaterally of the rats. \*, Statistically different compared with control (\*, P<0.05). \*\*, Statistically different compared with control (\*\*, P<0.01)

50  $\mu$ l씩 첨가하고 실온에서 3시간 동안 반응시킨다. 증류수로 3회 세척 후에 O-Phenylenediamine Dihydrochloride를 70  $\mu$ l씩 넣어 30분 동안 방치하고 2M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>을 30  $\mu$ l씩 넣어 발색반응을 중지시킨 후, microplate reader (Molecular Devices, USA)로 490 nm에서 optical density(OD)를 측정하였다.

### 3. 통계처리

실험 결과에 대한 통계적 처리는 Excel statistic program, SPSS, Microcal Origin에 의하여 각 실험군 별로 평균치와 표준오차를 계산하였고, ACh의 누적투여에 대한 변화는 repeated ANOVA test를 시행하였고, IgE와 백혈구수 등의 비교는 one-way ANOVA를 시행하였고, ACh누적용량에 대한 EC50은 Microcal

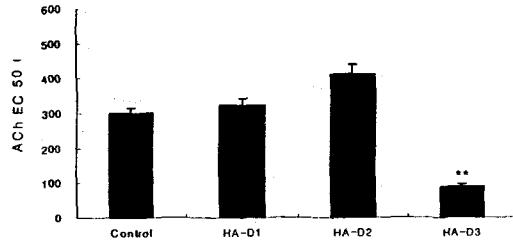


Fig. 2. Effects of and herbal acupuncture on ACh EC50 of the tracheal smooth muscle in asthma rats induced by ovalbumin. Control, injected saline at the BL13-LU4 acupoints bilaterally of the rats. HA-D1, HA-D2 and HA-D3, injected 0.089mg/kg, 0.445mg/kg and 2.225mg/kg per acupoint of the CMM(Cordyceps militaris Mycelia) at the BL13-LU4 acupoints bilaterally of the rats. \*\*, Statistically different compared with control (\*\*, P<0.01)

Origin을 이용하여 P<0.05이하인 경우를 유의한 것으로 검정하였으며, 단 0.05<P<0.1인 경우는 한계적으로 유의한 것으로 간주하였다.

## III. 결 과

### 1. ACh 누적투여에 따른 TSM 수축반응

ACh의 누적용량에 대한 기관지 평활근의 수축반응을 비교 관찰한 결과, 대조군에 비해 약침시술2군이 1, 10  $\mu$  M에서 유의하게 증가하였고(P<0.05), 약침시술1군이 1000  $\mu$  M, 약침시술3군이 0.3, 1, 30, 300  $\mu$  M에서 유의하게 감소하였다(P<0.05, P<0.01) (Fig. 1).

### 2. ACh에 대한 TSM 등장성 민감수축반응

ACh에 대한 민감성을 관찰하기 위해 등장성 민감수축반응을 비교한 결과, 대조군에 300.0  $\pm$ 14.7  $\mu$  M을 나타내었으며, 이에 비해 약침시술3군이 89.0 $\pm$ 7.8  $\mu$  M로 유의하게 감소하였다(P<0.01) (Fig. 2).

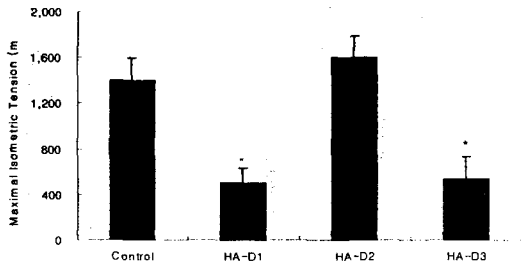


Fig. 3. Effects of herbal acupuncture on maximal contractile responses of the tracheal smooth muscle to ACh in asthma rats induced by ovalbumin. Control, injected saline at the BL13-LU4 acupoints bilaterally of the rats. HA-D1, HA-D2 and HA-D3, injected 0.089 mg/kg, 0.445 mg/kg and 2.225 mg/kg per acupoint of the CMM(Cordyceps militaris Mycelia) at the BL13-LU4 acupoints bilaterally of the rats. \*, Statistically different compared with control (\*, P<0.05)

### 3. ACh에 대한 TSi의 최대수축반응

ACh 농도에 대한 기관지 평활근의 최대 수축 반응을 비교 관찰한 결과, 대조군이 1,401.5±191.2 (mg force/g tissue)를 나타내었으며, 이에 비해 약침시술1군이 505.7±129.3 (mg force/g tissue), 약침시술2군이 533.7±195.8 (mg force/g tissue)로 유의성있게 감소하였다(P<0.05) (Fig. 3).

### 4. KCl에 대한 TSM 최대수축반응

5M의 KCl에 대한 기관지 평활근의 최대 수축 반응을 비교 관찰한 결과, 대조군이 582.1±38.2 (mg force/g tissue)를 나타내었으며, 이에 비해 약침시술1군이 164.5±56.9 (mg force/g tissue), 약침시술2군이 369±28.07 (mg force/g tissue), 약침시술3군이 303.9±47.9 (mg force/g tissue)로 모두 유의성있게 감소하였다(P<0.01) (Fig. 4).

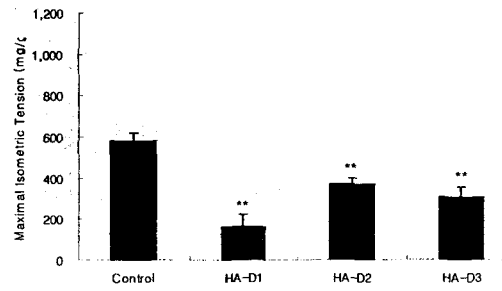


Fig. 4. Effects of herbal acupuncture on maximal contractile responses of the tracheal smooth muscle to KCl in asthma rats induced by ovalbumin. Control, injected saline at the BL13-LU4 acupoints bilaterally of the rats. HA-D1, HA-D2 and HA-D3, injected 0.089 mg/kg, 0.445 mg/kg and 2.225 mg/kg per acupoint of the CMM(Cordyceps militaris Mycelia) at the BL13-LU4 acupoints bilaterally of the rats. \*\*, Statistically different compared with control (\*\*, P<0.01)

### 5. 기관지폐포세척액내 Lymphocyte 변화

BALF 내 lymphocyte를 비교 관찰한 결과, 대조군은 7.00±2.59 (10<sup>6</sup>/lavage)를 나타내었으

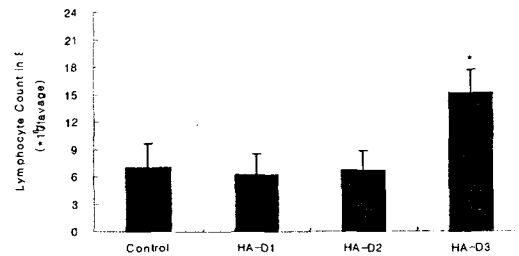


Fig. 5. Effects of herbal acupuncture on BALF (bronchoalveolar lavage fluid) lymphocyte in asthma rats induced by ovalbumin. Control, injected saline at the BL13-LU4 acupoints bilaterally of the rats. HA-D1, HA-D2 and HA-D3, injected 0.089 mg/kg, 0.445 mg/kg and 2.225 mg/kg per acupoint of the CMM(Cordyceps militaris Mycelia) at the BL13-LU4 acupoints bilaterally of the rats. \*, Statistically different compared with control (\*, P<0.05)

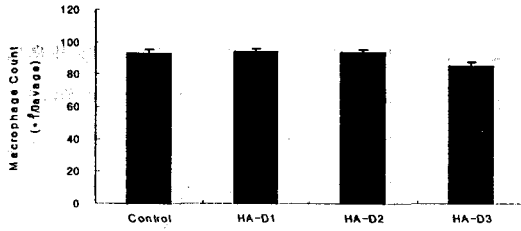


Fig. 6. Effects of herbal acupuncture on BALF (bronchoalveolar lavage fluid) macrophage in asthma rats induced by ovalbumin. Control, injected saline at the BL13-LU4 acupoints bilaterally of the rats. HA-D1, HA-D2 and HA-D3, injected 0.089 mg/kg, 0.445 mg/kg and 2.225 mg/kg per acupoint of the CMM(Cordyceps militaris Mycelia) at the BL13-LU4 acupoints bilaterally of the rats.

\*, Statistically different compared with control (\*, P<0.05).

며, 이에 비해 약침시술3군에서는 15.10±2.58 (10<sup>6</sup>/lavage)로 유의하게 증가하였다(P<0.05) (Fig. 5).

#### 6. 기관지폐포세척액내 Macrophage 변화

BALF 내 macrophage를 비교 관찰한 결과, 대조군이 93.00±2.59 (10<sup>6</sup>/lavage)를 나타내었으며, 이에 비해 약침시술3군이 84.90±2.58 (10<sup>6</sup>/lavage)로 유의하게 감소하였다(P<0.05) (Fig. 6).

#### 7. 기관지폐포세척액내 IL-4 변화

BALF 내 IL-4 변화를 비교 관찰한 결과, 대조군이 0.113±0.002 (OD value)를 나타내었으며, 이에 비해 약침시술1군이 0.126±0.004 (OD value)로 유의성있게 증가하였으며(P<0.05), 약침시술2군이 0.120±0.003 (OD value)로 한계적으로 유의한 증가를 나타내었고(0.05<P<0.1), 약침시술3군이 0.130±0.004 (OD value)로 유의성 있는 증가를 보였다(P<0.01) (Fig. 7).

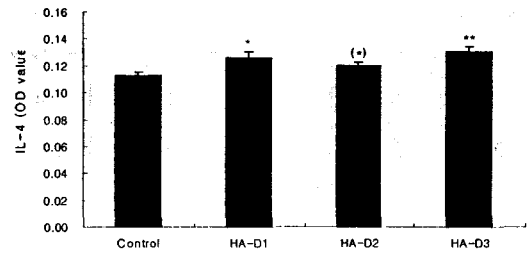


Fig. 7. Effects of herbal acupuncture on BALF IL-4 in asthma rats induced by ovalbumin. Control, injected saline at the BL13-LU4 acupoints bilaterally of the rats. HA-D1, HA-D2 and HA-D3, injected 0.089 mg/kg, 0.445 mg/kg and 2.225 mg/kg per acupoint of the CMM(Cordyceps militaris Mycelia) at the BL13-LU4 acupoints bilaterally of the rats. (\*), Statistically different compared with control [(\*)], 0.05<P<0.1).

\*, Statistically different compared with control (\*, P<0.05). \*\*, Statistically different compared with control (\*\*, P<0.01)

#### 8. 혈청 IgE 변화

혈청 IgE를 비교 관찰한 결과, 대조군이 0.210±0.002 (OD value)을 나타내었으며, 이에 비해 약침시술1군이 0.190±0.002 (OD value),

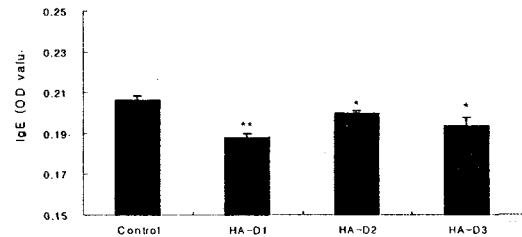


Fig. 8. Effects of herbal acupuncture on serum IgE in asthma rats induced by ovalbumin. Control, injected saline at the BL13-LU4 acupoints bilaterally of the rats. HA-D1, HA-D2 and HA-D3, injected 0.089 mg/kg, 0.445 mg/kg and 2.225 mg/kg per acupoint of the CMM(Cordyceps militaris Mycelia) at the BL13-LU4 acupoints bilaterally of the rats. \*, Statistically different compared with control (\*, P<0.05). \*\*, Statistically different compared with control (\*\*, P<0.01)

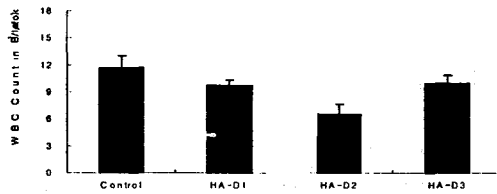


Fig. 9. Effects of herbal acupuncture on blood WBC in asthma rats induced by ovalbumin.

Control, injected saline at the BL13-LU4 acupoints bilaterally of the rats. HA-D1, HA-D2 and HA-D3, injected 0.089 mg/kg, 0.445 mg/kg and 2.225 mg/kg per acupoint of the CMM(Cordyceps militaris Mycelia) at the BL13-LU4 acupoints bilaterally of the rats. \*, Statistically different compared with control (\*, P<0.05)

약침시술2군이 0.200±0.001 (OD value), 약침시술3군이 0.190±0.004 (OD value)로 유의성있는 감소를 보였다(P<0.01, P<0.05, P<0.05) (Fig. 8).

### 9. 혈액내 WBC 변화

WBC를 비교 관찰한 결과, 대조군이 4.96±1.09 (10<sup>3</sup>/μl)을 나타내었고, 이에 비해 약침시술1군이 9.72±1.61 (10<sup>3</sup>/μl)로 유의성있는 증가(P<0.01)를 보였고, 약침시술3군이 10.00±0.86 (10<sup>3</sup>/μl)로 유의성있는 증가를 보였다(P<0.01) (Fig. 9).

## IV. 고 찰

喘息은 呼吸急促, 喘鳴有聲한 哮喘症에 해당하는 질환으로<sup>1)</sup> 明代 이후에 吳<sup>28)</sup>은 哮는 喉中有痰聲響하고 喘은 呼吸急促한 것이므로 哮와 喘을 구분하였으나, 清代의 葉<sup>29)</sup>이 哮와 喘을 구분하지 않고 단지 증상의 경중, 완급이 서로 다르다고 한 이후, 哮喘症은 喘鳴有聲, 呼吸急促한

하나의 증후군으로 인식되고 있다<sup>1)</sup>.

喘息의 원인은 寒冷心因痰因·감염·과민성반응 등으로 다양한데, 정<sup>30)</sup>은 哮喘의 원인에 대하여 冷한 음료나 혹은 鹹, 酸, 甘味를 지나치게 嗜食하여 積痰蘊熱한 경우, 病邪를 초기에 모두 表散시키지 못하여 餘邪가 肺絡에 잠복해 있다가 外邪에 침습된 경우, 내재된 素因을 가지고 있는 사람이 寒冷, 疲勞 등 어떤 誘因을 만난 경우, 某種의 냄새 음식에 대하여 과민하게 반응한 경우, 臟器의 원인으로 주로 肺, 腎의 호흡기능이 저하된 경우 등으로 정리하였다.

哮喘의 치료는 虛證과 實證으로 변증하여 치료한다. 實證은 風寒, 痰濁 등의 病邪가 위주가 되므로 外感風寒은 祛風散寒, 宣肺定喘, 痰濕은 燥濕化痰, 降氣定喘, 寒痰은 溫肺散寒, 定喘化痰의 治法으로 치료하고 虛證은 補虛가 위주가 되므로 肺虛는 養肺定喘, 心腎虛損은 補益心腎 納氣定喘, 上實下虛에는 瀉肺化痰, 補益腎元의 治法으로 치료한다<sup>1)</sup>.

冬蟲夏草는 益腎補肺, 止咳化痰, 補虛損 등의 효능으로 感氣, 肺結核, 만성 기침, 천식발작 등의 호흡기 계통의 질환과 빈혈, 허약, 남성의 성적기능장애, 고혈압 등의 쇠약질환에 응용되며<sup>15-20)</sup>, 冬蟲夏草素(Cordycepin)에 의한 항암작용에 의해 폐암, 폐전이암, 전립선암 등에 응용된다<sup>19-20)</sup>.

동충하초에 대한 실험연구로 최<sup>21)</sup>는 동충하초 추출물이 암세포에 대하여 전이억제효과와 면역증강효과가 있음을 보고하였고, 정<sup>22)</sup>은 동충하초가 면역조절작용과 항암력을 보유하고 있는 것으로 추정된다고 보고하였으며 김<sup>23)</sup>은 奔豚丸 合冬蟲夏草 전탕액이 급성백혈구세포주, 피부암 세포주, 간세포주에서 유의한 항종양효과를 나타내며 100 ℃에서 추출한 奔豚丸合冬蟲夏草 전탕액이 흉선 및 비장세포의 증식을 억제한다고



보고하였다. 김<sup>24)</sup>은 백화사설초 추출액과 동충하초 추출액 모두 CCL<sub>4</sub>에 의한 간독성을 억제하는 효과가 있다고 보고하였고 박<sup>25)</sup>은 동충하초가 생체내에서 세포독성 유발인자인 free radical의 생성을 억제시키며, free radical의 해독 반응을 촉진시켜 세포손상과 지질의 산화를 방지하는 효과가 있다고 보고하였다. 민<sup>26)</sup>은 동충하초가 직접적인 free radical의 강한 소거작용을 지니고 있으며 생체내에서는 free radical의 생성을 억제시키고 동시에 해독을 촉진시킴으로써 free radical에 의해서 생길 수 있는 간독성을 예방할 수 있을 것이라고 보고하였다. 김<sup>27)</sup>은 동충하초의 경구투여와 약침시술이 혈청 IgE의 감소와 산소소비량의 증가 등 호흡기질환에 유효하다고 보고하였다.

약침요법은 穴位注射療法이라고도 하며, 환자의 질병을 근거로 穴位의 치료작용과 약물의 약리작용을 살핀 다음 경락학설에 근거한 經穴 혹은 양성반응점, 압통점에 주사하는 新鍼療法으로 약물의 흡수가 빠르고 경구투여가 불가능한 경우에 처치할 수 있으며 患處에 처치할 수 있는 등의 장점이 있다<sup>31)</sup>.

肺俞는 足太陽膀胱經의 13번째 혈로서 肺의 背俞穴이며 調肺氣, 補勞損, 清虛熱, 和營血의 효능이 있고, 尺澤은 手太陰肺經의 5번째 穴로서 肺經의 合水穴이며 泄肺熱, 降逆氣, 清上焦之熱의 효능이 있다<sup>31)</sup>. 肺俞는 喘息에 多用되는 穴이며<sup>32)</sup>, 尺澤은 肺經의 合水穴로서<sup>27)</sup> 五行의 속성상 肺腎虛로 인한 喘息에 적합하리라 사료되어 選穴하였다.

이에 본 연구에서는 동충하초를 용량별로 肺俞尺澤 약침시술한 후 OA로 감각 유발된 천식에 대하여 기관지평활근의 등장성 장력에 대한 최대반응, 민감성 반응을 관찰하였고, 동시에 기관지폐포세척술을 시행하여 얻은 세척액내 염증

반응 세포 및 사이토카인 IL-4를 관찰하였으며, 또한 말초혈액내 특이적 면역반응 IgE 및 혈액학적 변화 등을 관찰하였다.

천식은 기도과민반응(airway hyperresponsiveness, AHR)을 나타내는 특징이 있는데, AHR은 물리적, 화학적 및 약물학적 자극에 대한 기도의 수축반응이 정상보다 증가되어 있는 것을 의미한다<sup>33)</sup>. AHR의 기전은 기도의 염증에 의한 기도 직경의 감소, 기도점막의 투과성 증가, 기도벽 비후화, 신경계 변화와 platelet-activating factor 등 체액성 매개물의 분비, 기도 평활근 이상 등인데<sup>34)</sup>, 작용기전이 다른 여러 가지 자극들에 대해 AHR이 나타난다는 것은 결국 기도 근육 자체에 이상이 있을 가능성이 있다는 것을 시사한다<sup>35)</sup>. 그러므로 생체내에 주입되어 기관지수축을 유발시키거나 기도 조직 절편의 수축반응을 일으키는 대표적인 항진제 중의 하나인 ACh를 이용하여<sup>36)</sup> 기관지평활근의 등장성 장력에 대한 최대반응, 민감성 반응이 관찰되고 있다.

본 연구에서 ACh 누적투여에 따른 TSM 수축반응에서 모든 약침시술군이 유의한 감소를 나타내었으며, ACh에 대한 TSM 등장성 민감수축반응에서는 약침시술3군이 유의한 감소를 보였다. 또한 ACh에 대한 TSM 최대수축반응에서 약침시술1군, 약침시술3군이 유의한 감소를 보였으며, KCl에 대한 TSM 최대수축반응에서 약침시술군 모두가 유의한 감소를 보였다. 이로 보아 동충하초의 약침시술은 기관지 평활근의 수축력을 감소시켜 AHR를 줄일 것으로 생각되며, 투여용량에 따라 수축력의 정도가 증가 또는 감소하는 것으로 보아 적절한 투여용량과 투여방법에 대한 실험적 연구가 뒤따라야 할 것으로 사료된다.

AHR를 유발한 후 기관지 폐포세척액 및 말

초혈액을 조사하면 기관지폐포세척액에서는 호산구, 호중구 및 림프구의 현저한 증가를 관찰할 수 있고, 말초혈액에서는 호산구의 현저한 증가를 관찰할 수 있는데<sup>37)</sup> 이는 OA에 의하여 활성화된 비만세포들로부터 유리된 ECF(eosinophilic chemotactic factor), NCF(neutrophil chemotactic factor), LTB<sub>4</sub> 등의 화학주화성 물질들에 의하여 호산구, 호중구, 호염구, 단핵구 등이 기관지 내로 이동함으로써 일어난다고 생각된다<sup>38-40)</sup>.

본 연구에서 lymphocyte는 약침시술3군에서는 증가하는 경향을 나타내었고, Macrophage는 약침시술3군에서 유의한 감소를 보였으며, WBC는 약침시술2군에서 유의한 감소를 보였다.

IgE는 Gell과 Coombs에 의한 과민반응의 분류중 제1형 과민반응에 관여하며, 레아긴 항체(reaginic antibody), 피부감작항체(skin sensitizing antibody), 또는 세포친화성 항체(homocytotropic antibody)라고도 불리운다. IgE는 二價이면서 補體를 고착화시키지 아니하며 태반을 통과하지 아니한다. 이의 생물학적 특성은 호염기구와 비만세포를 감작시키는 것이다. IgE의 Fc portion은 물리적 친화성에 의하여 비만세포표면에 부착하게 된다. 알레르기 반응은 항원이 과거에 비만세포에 부착된 二分子의 IgE와 결합함으로써 시작된다. 이때 항원항체반응은 세포내 효소반응을 유발시키며 세포질 과립을 통하여 화학적 매개체를 분비하여 알레르기 반응을 일으키게 된다. IgE를 생성하는 세포들은 기관, 기관지, 장점막 등의 임파조직에 현저하게 존재해 있고 atopy 환자의 비강분비물, 객담 등에 대하여 고도의 친화력을 지니고 있다. IgE의 차단항체는 IgE의 활성을 저하시키고 반응후 사라지지만, IgE는 수일 또는 수주동안 남아있게

된다. IgE는 수용체와 느린 속도로 결합하므로 주사 후 72시간 동안에 혈청내에서 발견될 수 있다<sup>41)</sup>.

본 연구에서 肺俞·尺澤 약침시술이 모두 유의한 감소를 나타내었고, 특히 약침시술1군이 현저한 감소를 나타내었다. 천식의 중요한 진단지표인 혈청 IgE의 감소는 동충하초가 천식에 유의한 치료효과가 있음을 나타내며, 대량보다는 소량의 경구투여 및 肺俞·尺澤 약침시술이 감소를 나타내는 것으로 사료된다.

염증이 발생한 기관지 점막에는 호산구(eosinophils)와 Th2 아형의 CD4+T 림프구의 숫자가 증가하게 되는데 특히 호산구는 알레르기 질환에서 특징적으로 말초혈액과 표적장기내에서 증가되는 염증세포로서 기도 상피세포에 손상을 일으키며, 기도 이완물질의 형성을 억제시켜 기도과민반응을 유발한다<sup>42,43)</sup>.

IL-4는 B세포 활성화와 isotype switching, 특히 IgE 항체의 발생에 있어서 중요한 역할을 한다. 기능성 IL-4 유전자가 결핍된 mice는 IgE를 생산할 수 없다. 면역반응 초기단계에서 IL-4의 출현은 반응의 성질에 중요한 영향을 준다. IL-4는 T세포에 의한 IL-4의 보다 많은 생산을 도와주며, 항체 형성을 증진시키고, 지연형 과민성 반응을 억제하는 IFN- $\gamma$ 의 생산을 억제한다<sup>44)</sup>.

IL-4는 박<sup>14)</sup>, 홍<sup>45)</sup> 등의 연구에서 천식의 호전 여부를 알기 위해 측정된 지표로 본 연구에서 모든 약침시술군에서는 혈청 IL-4가 유의한 증가를 보였다. 호산구가 골수에서 만들어지고 기도로 이동하여 활성화되는 과정에서 중요한 역할을 하는 IL-4의 증가는 위의 혈액내 백혈구의 증가경향과 어느 정도 일치된 결과로 사료된다.

## V. 결 론

동충하초의 약침시술이 기관지평활근장력과 염증 및 면역반응에 미치는 영향을 실험적으로 규명하고자 TSM의 등장성 장력에 대한 최대반응, 민감성 반응, 기관지폐포세척액내 염증반응세포 및 사이토카인 IL-4, 말초혈액내 특이적 면역반응 IgE, 혈액학적 변화 등을 관찰한 바 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. ACh 누적투여에 따른 TSM 수축반응에서 약침시술1군의 1000  $\mu$  M, 약침시술2군의 1, 10  $\mu$  M, 약침시술3군의 0.3, 1, 30, 300  $\mu$  M이 각각 유의한 감소를 나타내었다.
  2. ACh에 대한 TSM 등장성 민감수축반응에서 약침시술3군이 유의한 감소를 보였다.
  3. ACh에 대한 TSM 최대수축반응에서 약침시술1군, 약침시술3군이 유의한 감소를 보였다
  4. KCl에 대한 TSM 최대수축반응에서 약침시술군 모두가 유의한 감소를 보였다
  5. 기관지폐포세척액내 lymphocyte 변화에서 약침시술3군은 유의한 증가를 각각 나타내었다.
  6. 기관지폐포세척액내 macrophage 변화에서 약침시술3군은 유의한 감소를 각각 나타내었다
  7. 기관지폐포세척액내 IL-4 변화에서 약침시술군 모두 유의한 증가를 보였다.
  8. 혈청 IgE 변화에서 약침시술군 모두가 유의한 감소를 보였다.
  9. 혈액내 WBC 변화에서 약침시술1군, 약침시술3군이 유의한 증가를 나타내었다.
- 판아트동방 1993 : 105-12, 162-5.
2. 백동진, 정희재, 정승기, 이형구. Allergy성 호흡기 질환에 대한 문헌적 고찰. 대한한방내과학회지. 1998 ; 19(1) : 338-9.
  3. 김윤자, 김장현. 천식에 관한 문헌적 고찰. 대한한방소아과학회지. 1995 ; 9(1) : 1-14.
  4. Kurt J, Isselbacher. 해리슨 내과학. 서울 : 정담. 1997 : 1258-64.
  5. Lawrence M, Tierney Jr, Stephen J McPhee, Maxine A, Papadakis. 오늘의 진단과 치료. 서울 : 한우리. 2000 : 287-97.
  6. Beasley R, Roche WR, Roberts JA, Holgate ST. Cellular events in the bronchi in mild asthma and after bronchial provocation. Am Rev Respir Dis. 1989 ; 139(3) : 806-17.
  7. 대한병리학회. 병리학. 서울 : 고문사. 1990 : 604-6.
  8. 권순호, 정희재, 정승기, 이형구. 五拗湯이 알레르기 천식의 호흡양상과 기관조직에 미치는 영향. 대한한의학회지. 1999 ; 20(2) : 98-107.
  9. 허준. 동의보감. 서울 : 남산당. 1976 : 469, 474-9.
  10. 이형구. 천식에 사용된 약물의 문헌적 고찰. 대한한의학회지. 1982 ; (2) : 70-96.
  11. 안태호, 황희정, 김대준, 박지현, 최해윤, 김종대. 定喘化痰降氣湯이 Ovalbumin으로 유발된 천식에 미치는 영향. 방제학회지. 2000 ; 8(1) : 191-211.
  12. 김진주, 정희재, 정승기, 이형구. 麥門冬湯과 定喘化痰降氣湯이 알레르기 천식 모델 흰쥐의 BALF내 면역세포 및 혈청 IgE에 미치는 영향. 한의학회지. 2002 ; 23(1) : 37-49.
  13. 이성환, 신순식, 이운호. 五拗湯藥針이 알레르기 천식 흰쥐의 말초혈관내 T-cell과 혈청 IgE에 미치는 영향. 대한침구학회지. 2001 ; 18(1)

## 참 고 문 헌

1. 이형구, 정승기. 東醫肺系內科學. 서울 : 도서출

- : 29-39.
14. 박영환, 박희수. 氣管支 喘息 생쥐 모형에서 麥門冬 藥針이 抗알레르기 및 免疫反應에 미치는 영향. 제1회 대한약침학회 국제학술대회 논문집. 2001 ; 4(1) : 65-81.
  15. 上海中醫學院. 新編中醫學教材 中草藥學. 香港 : 商務印書館有限公司. 1994 : 547-8.
  16. 全國韓醫科大學本草學教室. 本草學. 서울 : 永林社. 1998 : 564-5.
  17. 辛民教. 臨床本草學. 서울 : 永林社. 2000 : 207-8.
  18. 申佶求. 申氏本草學. 서울 : 壽文社. 1981 : 143-4.
  19. 常敏毅. 抗癌本草. 서울 : 一中社. 1992 : 118-9.
  20. 鬱仁存. 中醫腫瘤學(下). 北京 : 北京科學出版社. 1997 : 213-4.
  21. 최우진, 유화승, 이용연, 서상훈, 조정효, 이연일, 손창규, 조종관. 동충하초의 항진이와 면역증진에 관한 연구. 혜화의학. 2000 ; 9(2) : 196-209.
  22. 정한술, 권진, 이태규, 이광규, 오찬호. 동충하초의 면역조절 및 항암효과. 동의생리병리학회지. 2002 ; 16(2) : 327-31.
  23. 김양중, 김강산. 奔豚丸合冬蟲夏草 추출액이 암세포주 및 L1210세포가 이식된 마우스의 면역계에 미치는 영향. 대한침구학회지. 1999 ; 16(3) : 401-21.
  24. 김미려. Carbon tetrachloride와 백화사설초 및 동충하초의 병용투여가 간장 및 혈청성분에 미치는 영향. 동서의학. 1994 ; 19(3) : 5-14.
  25. 박종혁, 이구형, 민건우, 윤철호, 서운교, 정지천, 한영환, 신억섭. 동충하초가 hydrocortisone으로 유발시킨 양허 동물모형에서 항산화 작용에 미치는 영향. 내과학회지. 2001 ; 22(1) : 63-71.
  26. 민건우, 박종혁, 신상국, 윤철호, 서운교, 정지천, 한영환, 신억섭. CCl4 유도 간독성에 대한 동충하초의 항산화 효과. 한의학회지. 2001 ; 22(3) : 31-41.
  27. 김재홍, 조명래, 유충열, 채우석. 동충하초 약침과 구강투여가 Ovalbumin으로 유발된 Asthma에 미치는 영향. 침구학회지. 2002 ; 19(2) : 39-50.
  28. 吳謙. 醫宗金鑑(중). 서울 : 대성문화사. 1991 : 390-1.
  29. 葉天士. 臨証指南醫案. 서울 : 성보사. 1982 : 299-300.
  30. 정승기, 이형구. 효천의 원인 및 치법에 관한 연구. 대한한의학회지. 1986 ; 7(1) : 60-7.
  31. 전국한 의과대학 침구경혈학교실. 침구학. 서울 : 집문당. 1993 : 306-7, 478-9, 1457-8.
  32. 洪權義, 蔡禹錫. 喘息의 針灸治療에 대한 文獻的 考察. 大田大論文集 1996 ; 4(2) : 129-40.
  33. Cockcroft DW, Hargreave FE. Airway hyperresponsiveness: definition, measurement and clinical relevance. In Kaliner MA, Barnes PJ, Persson CGA(eds.): Asthma: Its Pathology and Treatment. New York : Marcel Dekker. 1991 : 51-72.
  34. Cockcroft DW, O'Byrne PM. Mechanism of airway hyperresponsiveness. In Weiss EB, Stein M(eds.): Bronchial Asthma: Mechanisms and Therapeutics. 3rd ed. Toronto : Little Brown & Co. 1993 : 32-42.
  35. 고영일, 최인선, 장안수, 나현주, 이종은, 이현철, 이미경. 쥐의 기도 평활근을 이용한 알레르기성 천식모형의 개발. 알레르기학회지. 1997 ; 17(3) : 227-49.
  36. 최인선. 동물천식모형. 알레르기학회지. 1997 ; 17(1) : 7-17.

37. 이무삼, 강경진, 채옥희, 김봉천, 정순용, 이양근. 기니픽의 후기 천식반응에 미치는 상백피의 억제효과. 대한 면역학회지. 1994 ; 16 : 375-85.
38. Sanjar S, Aoki S, Kristersson A, Smith D, Morley J. Antigen challenge induces pulmonary airway eosinophil accumulation and airway hyperreactivity in sensitized guinea-pigs : the effect of anti-asthma drugs. Br J Pharmacol. 1990 ; 99(4) : 679-86.
39. Roitt I, Brostoff J, Male D. Immunology 2nd edition. Gower medical Publishing. 1989 : 1911-20.
40. Robertson DG, Kerigan AT, Hargreave FE, Chalmers R, Dolovich J. Late asthmatic responses induced by ragweed pollen allergen. J Allergy Clin Immunol. 1974 ; 54(4) : 244-54.
41. 조영준, 김열자, 이종석, 이학중. 정상인과 기관지천식환자에 있어서의 혈청 IgE의 진단적 의의. 알레르기학회지. 1983 ; 3(1) : 23-9.
42. Frigas E, Loegering DA, Gleich GJ. Cytotoxic effects of the guinea pig eosinophil major basic protein on tracheal epithelium. Lab Invest. 1980 ; 42(1) : 35-43.
43. Vanhoutte PM. Epithelium-derived relaxing factor(s) and bronchial reactivity. Am Rev Respir Dis. 1988 ; 138 (6 Pt 2) : S24-30.
44. Seder RA, Paul WE. Acquisition of lymphokine-producing phenotype by CD4+ T cells. Annu Rev Immunol. 1994 ; 12 : 635-73.
45. 홍수중, 김봉성. 집먼지진드기 항원을 이용한 고식적인 면역요법이 천식 환자 말초혈액 T세포의 IL-4와 IFN- $\gamma$  생산에 미치는 효과. 천식 및 알레르기. 2000 ; 20(5) : 741-8.