

# 麻黃 藥鍼液이 사람 기관지 상피세포의 TARC 분비에 미치는 효과

주유적<sup>1</sup> · 서정철<sup>1</sup> · 임성철<sup>1</sup> · 정태영<sup>1</sup> · 한상원<sup>1</sup>

<sup>1</sup>대구한의대학교 한의과대학 침구학교실

## Effect of Ephedrae Herbal Acupuncture Solution(EHS) on the Release of Thymus and Activation-Regulated Chemokine (TARC) in Human Bronchial Epithelial Cell

Yu-Shih Chou<sup>1</sup>, Jung-Chul Seo<sup>1</sup>, Seong-chul Lim<sup>1</sup>, Tae-Young Jung<sup>1</sup>, Sang-Won Han<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Acupuncture & Moxibustion, College of Oriental Medicine,  
Daegu Haany University

### Abstract

Chemokines are important for the recruitment of leukocytes, which is essential in host defense to the sites of infection. The thymus and activation-regulated chemokine (TARC) is a CC chemokine which potentially plays a role via a paracrine mechanism in the development of allergic respiratory diseases.

**Objectives** : The objective of this study is to investigate the effect of Ephedrae Herba Herbal Acupuncture Solution(EHS) on the secretion of TARC of human bronchial epithelial cell

**Methods** : Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was performed to detect the secretion of TARC. The cytotoxicity was measured by MTT assay.

**Results** : EHS significantly inhibited the secretion of TARC with a dose-dependant manner. The effective dosage did not have the cytotoxicity on human bronchial epithelial cell.

**Conclusion** : Results of our study imply that EHS would play an important role in modulation of TARC in human bronchial epithelial cells by MTT assay.

**Key words** : Ephedrae Herba Herbal Acupuncture Solution(EHS), thymus and activation-regulated chemokine (TARC), Human bronchial epithelial cells, A549

## I. 緒 論

천식은 발작성의 호흡곤란, 천명, 기침, 나음(rales)을 특징으로 하는 증후군으로, 알레르기가 대부분의 원인이 되며, 그 외에도 상기도 감염, 정서적 스트레스, 기후변화, 약물, 운동 등으

로 유발될 수 있다<sup>1-4)</sup>.

韓醫學에서 천식은 哮喘證에 該當되는데, 喉中有聲響한 것을 哮라 하고 呼吸急促한 것을 喘이라 하여 구분하기도 하나, 清代 이후로는 哮와 喘이 兼한다고 하여 哮喘證을 하나의 證候로 보고 있다<sup>3)</sup>.

CC Chemokine에는 thymus and activation-regulated cytokine (TARC), monocyte chemo-

·교신저자: 한상원, 대구시 수성구 상동 165, 대구한의대학교 부속대구 한방병원 침구과, Tel. 053-770-2236,  
E-mail : chinguhan@hanmail.net

·접수 : 2005/01/18 ·수정 : 2005/03/20 ·채택 : 2005/03/22

tactic protein-1 (MCP), MCP-2, MCP-3, MCP-4, macrophage inflammatory protein (MIP)-1 $\alpha$ , MIP-1 $\beta$ , regulated on activation normal T-cell-expressed and secreted (RANTES), eotaxin 등이 있다.<sup>6)</sup> Chemokine은 감염된 곳에 위치한 백혈구의 동원반응을 위해 중요하며, 숙주의 방어에 필수적이다. 이 중 TARC는 알러지성 호흡기 질환의 발생에서 paracrine 메카니즘의 잠재적 역할을 하는 CC chemokine이다. 따라서 기관지 상피세포에서 TARC 분비를 억제하는 것이 치료 및 예방을 위해 매우 중요하다고 할 수 있다.<sup>7)</sup>

藥鍼療法은 新鍼療法의 하나로, 경락학설의 원리에 의거하여 약물을 선택해서, 유관한 穴位, 壓通點 혹은 체표의 축진으로 얻어진 陽性反應點에 주입하여, 刺針과 藥物作用을 통하여 생체의 기능을 조정하고 병리상태를 개선시켜, 질병을 치료한다<sup>8)</sup>.

麻黃 (Ephedrae Herba)은 麻黃科 (Ephedraceae)에 속한 多年生 草木狀의 小灌木인 草麻黃 (Ephedra sinica STAPF), 中麻黃 (E. intermedia SCHRENK et C.A MEY) 혹은 木賊麻黃 (E. equisetina BGE)의 草質莖을 건조시킨 것으로 性味는 溫, 無毒하고 辛微苦하며, 肺, 膀胱經으로 歸經하며, 發汗散寒, 宣肺平喘, 利水消腫의 효능으로 發熱惡寒無汗, 頭痛, 鼻塞, 骨節疼痛, 咳嗽氣喘, 風水浮腫, 小便不利, 皮膚不仁, 風疹瘙癢 등의 症狀을 치료한다<sup>9)</sup>. 麻黃의 효능과 麻黃이 포함된 處方들의 효능에 관한 기존의 실험적, 문헌적 연구로는 김 등<sup>10)</sup>의 마황의 면역작용에 미치는 효능에 관한 연구, 탁 등<sup>11)</sup>의 加味麻黃湯이 흰쥐의 기관지 평활근 수축성에 미치는 영향에 대한 연구, 최 등<sup>12)</sup>의 麻黃湯 엑기스와 aspirin의 병용 처리가 항염 및 진통작용에 미치는 영향에 대한 연구 등이 있으나, 麻黃 藥鍼을

이용한 연구는 윤 등<sup>13)</sup>의 연구를 제외하곤 거의 없는 실정이다.

이에 저자는, 기존의 부<sup>14)</sup>의 麻黃이 사람 기관지 상피세포주의 TARC분비에 대한 효과 연구에서 유의한 결과를 보고한데 착안하여, 哮喘의 治療에 사용되는 處方에 빈용되는 麻黃이 藥鍼으로도 유사한 효능이 있는지 규명하고자 사람 기관지 상피세포에 알러지환경을 유발하고자 사이토카인을 처리하여 TARC의 분비를 유도하고, 이 Chemokine 분비에 麻黃 藥鍼液(Ephedrae Herba Herbal Acupuncture Solution, EHS)이 미치는 효과에 대하여 TARC 분비를 측정하고 결과 유의성이 있었기에 보고하는 바이다.

## II. 材料 및 方法

### 1. 材料

#### 1) 藥材

본 實驗에서 사용된 麻黃은 大邱韓醫大學校 附屬 大邱韓方病院 藥劑科에서 구입하여 嚴選한 것을 사용하였으며, 試料의 生藥名과 學名은 다음과 같다(Table 1).

Table 1. The Botanical Name of MA-WHANG (麻黃)

Oriental Crude Drug	Crude Drug	Scientific Name
麻黃	Ephedrae Herba	<i>Ephedra sinica</i> STAPF <i>E. intermedia</i> SCHRENK et C.A MEY <i>E. equisetina</i> BGE

### 2. 方法

#### 1) 麻黃 藥鍼液의 製造

實驗에 사용한 麻黃藥鍼液은 麻黃 350g을 取

麻黃 藥鉞液이 사람 기관지 상피세포의 TARC 분비에 미치는 효과

Table 2. Preparation of Ephedre Herba Herbal-Acupuncture Solution

<b>麻黃 350g</b>	
.....	蒸溜水 2,000ml를 加한다.
.....	3시간동안 끓인다.
.....	濾過한다.
<b>찌꺼기</b>	<b>여과액</b>
.....	減壓濃縮하고 蒸溜水를 加하여 200ml로
.....	만들고 室温까지 冷却한다.
.....	ethanol을 첨가하여 75% ethanol용액으로
.....	만들고 低温에서 방치하여 沈澱시킨다.
.....	濾過한다.
<b>침전물</b>	<b>여과액</b>
.....	減壓濃縮한 濃縮液에 蒸溜水 100ml을 加한
.....	다.
.....	ethanol을 첨가하여 85% ethanol용액으로
.....	만들고 低温에서 방치하여 沈澱시킨다.
.....	濾過한다.
<b>침전물</b>	<b>여과액</b>
.....	減壓濃縮한 濃縮液에 蒸溜水 100ml을 加한다.
.....	ethanol을 첨가하여 95% ethanol용액으로
.....	만들고 低温에서 방치하여 沈澱시킨다.
.....	濾過한다.
<b>침전물</b>	<b>여과액</b>
.....	減壓濃縮한 濃縮液에 생리식염수를 加하여
.....	총량을 1,000ml로 만든다.
.....	1N NaOH로 pH 6~7로 조절한다.
.....	低温에서 24시간 방치한다.
.....	nuclepore filter paper(0.45µm)로 濾過.
<b>침전물</b>	<b>여과액</b>
.....	加壓滅菌한다.
<b>麻黃 藥鉞液</b>	

해 粗末하여 圓底 flask에 넣고, 蒸溜水 2000ml를 加한 後, 3時間 煎湯하여 抽出하고 濾過하였다. 濾液은 rotary evaporator로 減壓濃縮하고 濃縮液에 蒸溜水를 加하여 全量을 200ml이 되도록 한 다음, 室温까지 冷却하고 ethanol을 加하여 75% ethanol 溶液으로 되게 한 다음, 攪拌하고 低温에서 放置하여 生成된 沈澱物을 濾別하였다. 濾液을 다시 rotary evaporator로 減壓濃縮한 濃縮液에 蒸溜水 100ml를 加하고 溶解시킨 後, ethanol을 加하여 85% ethanol 溶液으로 되게 한 다음 攪拌하고 低温에서 放置하여 生成된

沈澱物을 濾別하였다. 濾液을 다시 rotary evaporator로 減壓濃縮한 濃縮液에 蒸溜水 100ml를 加하고 溶解시킨 後, ethanol을 加하여 95% ethanol 溶液으로 되게 한 다음 攪拌하고 低温에서 放置하여 生成된 沈澱物을 濾別하였다. 濾液을 다시 rotary evaporator로 減壓濃縮하여 生成된 濃縮液에 生理食鹽水를 加하고 3% NaOH로 pH 6~7로 調節하여 全量이 1,000ml가 되게 한 다음, 低温에서 24時間 放置한 後 nuclepore filter (0.45µm, 직경 25mm, Millipore Corp, Pleasanton, California, U.S.A.)로 濾過하고 加壓滅菌하여 試料의 원액으로 使用하였다. 이상의 과정을 도식화하면 다음과 같다(Table 2.).

2) 세포주

사람 기관지 상피세포 A549 (a human type II bronchial epithelial cell line)를 경희대학교 의과대학 미생물학교실에서 분양받아 사용하였다.

3) 세포배양 및 실험조건

FBS (10% fetal bovine serum, Gibco BRL, Grand Island, NY, USA)와 항생제가 들어있는 DMEM (Dulbecco's modified Eagle's medium, Gibco BRL, Grand Island, NY, USA)으로 2-3일 마다 배지를 교환하였다. 이를 24 well plate에 분주한 후 각각 Interleukin-4 (10ng/ml), TNF (Tumer Necrosis Factor)-α (10ng/ml), INF-γ (10ng/ml) 및 Interleukin-1β (1ng/ml)를 단독 처리하고, IL-4 (10ng/ml)와 TNF-α (10ng/ml)를, TNF-α (10ng/ml)와 INF-γ (10ng/ml)를, INF-γ (10ng/ml)와 IL-1β (1ng/ml)를 병용 처리하여 24시간 처리한 후 TARC의 양을 측정하여 TARC 분비량이 최고인 조건을 확립하였다. 2차 실험에는 麻黃 藥鉞液을 10µg/ml, 50µg/ml, 및 100µg/ml의 농도로 전처리한 후 12시간 후에

IL-4 (10ng/ml)와 TNF- $\alpha$  (10ng/ml)를 처리하고 48시간동안 배양하면서 12, 24 및 48시간 경과 시 TARC의 양을 측정하였다.

#### 4) TARC 측정

TARC의 양은 ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay)법으로 측정하였다. 측정에는 capture 항체와 detection 항체 (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA)를 별도로 구입하여 ELISA plate를 준비하였다. Nunc-ELISA plate를 각각의 cytokine capture 항체로 coating하여 4℃에서 16시간 처리하였다. Plate 바닥에 고정되지 않은 여분의 capture 항체를 씻어낸 다음 각 plate를 2% BSA-PBS (Bovine Serum Albumin-Phosphate Buffered saline, Gibco BRL, Grand Island, NY, USA)로 blocking 하였다. Blocking이 끝난 다음 plate를 PBS-Tween20 (0.05%; v/v)으로 씻어내고 검체를 100 $\mu$ l씩 가하였다. 2시간 후 각 plate들을 철저히 세척한 다음 biotin을 결합시킨 polyclonal rabbit 항-사이토카인 항체를 가하였다. 30분 후 세척하였으며 streptavidin-peroxidase를 가한 다음 30분간 더 처리하였다. 다시 충분히 세척한 다음 발색 기질 TMB (tetra methyl benzidine)를 sodium citrate에 녹인 후 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 약간 첨가한 용액 100 $\mu$ l씩 첨가하여 발색시켰다. 그 후 발색을 2M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>을 50 $\mu$ l 첨가하여 반응을 정지시키고 450nm 파장에서 ELISA reader(Rockford, IL, USA)로 측정하였다. 재조합 TARC를 125 pg/ml부터 순차적으로 희석하여 표준용액으로 사용하였다. 모든 기준치는 duplicate로 측정하였고 결과는 3회에 걸친 독립적인 실험치의 평균값±표준오차로 나타내었다.

#### 5) MTT assay

麻黃 藥碱液의 세포독성 유무를 확인하기 위

해 MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) assay법을 사용하였다. MTT를 각 세포배양액에 0.1mg/ml의 농도로 처리한 후 4시간 동안 37℃ CO<sub>2</sub> incubator에서 배양하였다. 이후에 DMSO (Dimethylsulfoxide)를 첨가하여 690nm를 대조파장으로 하고 595nm에서 흡광도를 측정하여 세포독성을 환산하였다.

#### 6) 통계

통계처리는 SPSS 10.0 for Windows program을 이용하였고, 麻黃 藥碱液의 효과를 판정하기 위해 각 One-way ANOVA test를 수행하였고, 사후검정으로 Dunnetts multiple comparison test를 사용하여 대조군과 비교하였다. 유의수준은 P<0.05로 하였다.

### Ⅲ. 成 績

#### 1. 표준곡선 및 선형회귀분석

재조합 TARC를 이용하여 chemokine 정량을 위해 흡광도에 따른 TARC 표준곡선을 작성하였다. 그 결과 TARC 농도가 각각 1.0, 2.0, 3.9, 7.8, 15.6, 31.3, 62.5 및 125.0 pg/ml일 경우에 흡광도는 각각 0.183, 0.212, 0.236, 0.293, 0.391, 0.587, 0.947, 및 1.483이었다. 이를 선형회귀분석을 수행하여 수식을 산출하였고, 이를 흡광도로부터 TARC를 정량하였다 (Figure. 1).

#### 2. A549 세포의 사이토카인에 의한 TARC 분비 측정

사람의 기관지 상피 세포에 각각 IL-4, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-1 $\beta$ 를 각각 처리하는 경우와 IL-4와 TNF- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ 와 IFN- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ 와 IL-1 $\beta$ 를 병용 처리할 경우의 TARC 분비량을

麻黃 藥鍼液이 사람 기관지 상피세포의 TARC 분비에 미치는 효과

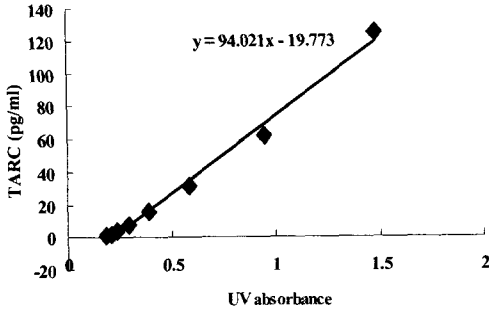


Figure 1. Standard curve between ultra-violet (UV) absorbance at 450 nm and the concentration of thymus and activation-regulated chemokine (TARC). A simple linear regression analysis of TARC concentration on the UV absorbance was calculated and graphed. We used this formula for TARC quantification in further experiments.

측정하였다. 그 결과 IL-4와 TNF- $\alpha$  를 병용 처리하는 경우 (1481.1 $\pm$ 73.3 pg/ml, p<0.05)와 TNF- $\alpha$  와 IFN- $\gamma$  를 병용 처리하였을 경우 (247.7 $\pm$ 0.4 pg/ml, p<0.05)에만 TARC 분비가 유의하게 증가하였다 (Figure. 2). 그 외의 경우에는 아무것도 처리하지 않은 군에서 1.0 $\pm$ 0.0pg/ml의 분비를 보였고, IL-4, TNF- $\alpha$  , IFN- $\gamma$  , IL-1 $\beta$  단독처리시와, IFN- $\gamma$  와 IL-1 $\beta$  를 병용 처리시에는 각각 1.5 $\pm$ 0.0, 49.7 $\pm$ 0.1, 1.4 $\pm$ 0.0, 25.1 $\pm$ 0.0, 및 9.5 $\pm$ 0.1pg/ml의 분비량을 보여 큰 차이를 관찰할 수 없었다. 따라서 A549 세포는 여러 사이토카인 중 IL-4와 TNF- $\alpha$  또는 TNF- $\alpha$  와 IFN- $\gamma$  가 함께 존재할 경우에만 세포내 신호전달체계가 흥분하여 TARC를 분비하는 것을 알 수 있었다. 이 중 가장 높은 TARC 분비를 보인 IL-4와 TNF- $\alpha$  병용 처리를 TARC 유도를 위한 조건으로 사용하였다.

### 3. 시간대별 TARC 분비 양상 측정

시간대별로 TARC의 분비 양상을 측정한 결

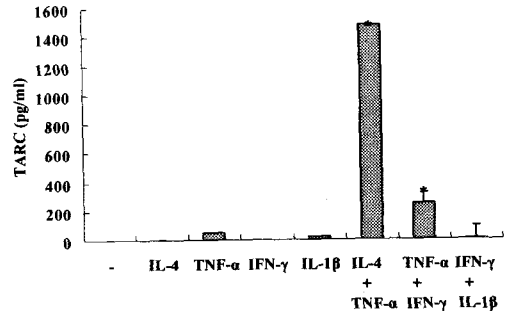


Figure 2. TARC released into the culture media of human bronchial epithelial cell exposed to IL-4, TNF- $\alpha$  , IFN- $\gamma$  IL-1 $\beta$  , both IL-4 and TNF- $\alpha$  , both TNF- $\alpha$  and IFN- $\gamma$  , or both IFN- $\gamma$  and IL-1 $\beta$  . (\* represents P < 0.05 compared to the control).

과 대조군은 0, 6, 12, 24 및 48시간에서 각각 0.0 $\pm$ 0.0, 5512.1 $\pm$ 1536.5, 101486.2 $\pm$ 1775.6, 268256.8 $\pm$ 27089.1 및 494797.8 $\pm$ 76999.0 pg/ml의 TARC분비를 나타내었다. 농도별로 麻黃 藥鍼液 10 $\mu$ g/ml을 처리한 군에서는 시간별로 각각 0.0 $\pm$ 0.0,

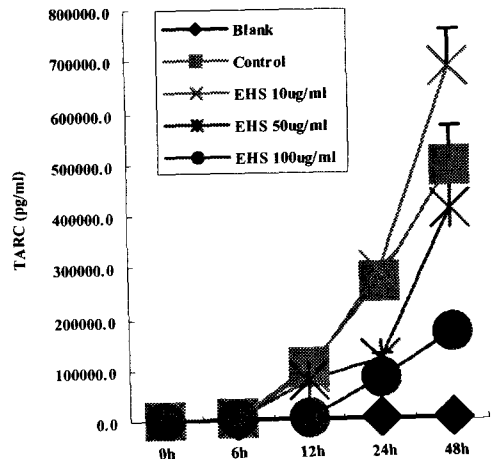


Figure 3. Time course response of TARC secretion in human bronchial epithelial cell at 48h after cytokine and EHS (Ephedrae Herba Herbal Acupuncture Solution-10, 50 and 100 $\mu$ g/ml) treatment. Each value is the mean $\pm$ SEM. (n=3).

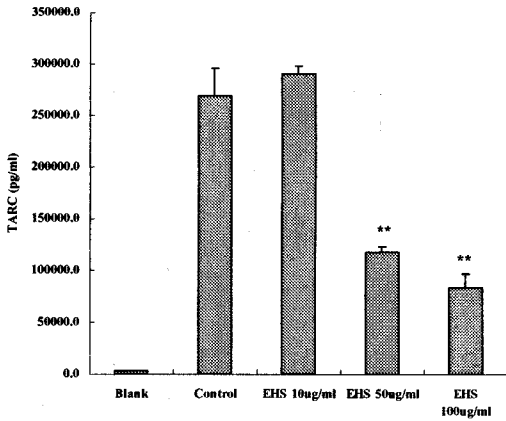


Figure 4. Effects of EHS (Ephedrae Herba Herbal Acupuncture Solution-10, 50 and 100 $\mu$ g/ml) on a secretion of TARC in human bronchial epithelial cell at 24h after cytokine treatment. Each value is the mean $\pm$ SEM. (n=3). (\*\* represents P < 0.01 compared to the control).

5952.4 $\pm$  1726.5, 91454.4 $\pm$ 1173.7, 290636.0 $\pm$ 7011.7 및 686463.2 $\pm$ 348210.4 pg/ml의 TARC 분비를 나타내었고, 50  $\mu$ g/ml을 처리한 군에서는 시간별로 각각 0.0 $\pm$ 0.0, 3400.9 $\pm$ 195.5, 78927.8 $\pm$ 3162.1, 117569.0 $\pm$ 4908.8 및 410188.5 $\pm$ 70041.0 pg/ml의 TARC 분비를 나타내었으며, 100 $\mu$ g/ml을 처리한 군에서는 시간별로 각각 0.0 $\pm$ 0.0, 2836.4 $\pm$ 333.7, 6130.7 $\pm$ 623.5, 82908.7 $\pm$ 13757.4 및 170808.3 $\pm$ 109136.6 pg/ml의 TARC 분비를 나타내었다.

이상의 결과에서 麻黃 藥鍼液 50  $\mu$ g/ml 및 100  $\mu$ g/ml 처리군의 24시간에서 통계적으로 유의한 감소를 관찰할 수 있었다(p<0.01, Figure. 3). 24시간 처리군의 경우를 자세히 나타내면 다음과 같다(Figure. 4).

#### 4. MTT assay 결과

대조군의 생존률을 100.0 $\pm$ 20.9 %로 계산하였을 때 麻黃 藥鍼液을 처리한 후의 세포생존률은 10, 50 및 100  $\mu$ g/ml 각각 134.7 $\pm$ 2.9, 110.6 $\pm$ 11.0

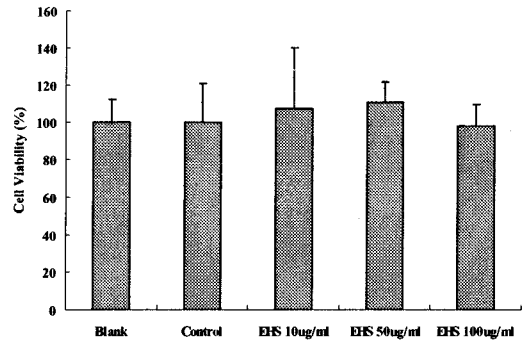


Figure 5. Influence of EHS (Ephedrae Herba Herbal Acupuncture Solution) on the viability of A549. The cell viability was determined using the MTT assay. There was no significant change in the number of living cells between the control and EHS groups. Each value is the mean $\pm$ SEM. (n=3).

및 97.7 $\pm$ 11.4 %로 유의한 세포독성은 관찰되지 않았다 (Figure. 5).

## IV. 考 察

천식은 어린이와 청소년에게 호발하는 질환 중 하나로 이환률이 증가하고 있다. 서양에서도 최근 20년동안 천식 이환률이 2배로 증가하여 최근 유병률이 10-20 % 사이인 것으로 알려져 있다<sup>15)</sup>. 기관지 천식은 기관지의 반응성의 증가를 특징으로 하며 여러 가지 자극에 의해 기도의 점막에 염증반응을 일으키고 기관지 평활근을 수축시켜 기도폐색을 일으키게 된다. 특징적인 증상으로 발작성의 호기성 호흡곤란, 천명, 과호흡, 기침, 나음(rales)을 들 수 있다. 천식을 일으키는 원인으로는 항원의 흡입, 호흡기감염, 스트레스, 공기오염, 기후, 약물, 운동 등이 있으며, 이 중 항원성이 대부분으로 받아들여지고 있다<sup>1-4)</sup>.

韓醫學의으로 천식은 哮喘證에 해당되는데,

喉中有聲響한 것을哮라 하고 呼吸急促한 것을喘이라 하여 구분하기도 하나, 近來에는哮와喘이兼한다고 하여哮喘證을 하나의證候로 보고 있다<sup>1)</sup>.

哮喘證의 原因으로는 虛實로 나누어, 實證은 주로 風寒, 痰濁· 등의 病邪로 因하며, 虛證은 주로 肺虛, 腎虧 등으로 因한다고 보고 있다. 哮喘證의 通治方으로는 奪命丹, 立安散, 解表二陳湯, 五虎二陳湯, 三白丸, 清上補下湯, 定喘湯, 三拗湯, 五拗湯, 加味鎮咳湯, 小青龍湯 등을 주로 사용한다<sup>1)</sup>.

어린이와 청소년 천식환자 중 항원에 대한 IgE 합성이 증가하는 특징을 가지는 아토피성 피부염과 밀접한 관련이 있는 것은 잘 알려져 있다<sup>16)</sup>. 결과적으로 이들 환자에게 특정한 공기 중에 포함된 항원에 대한 노출은 과민반응으로 이어져 결국 기도 내 염증유발로 이어진다. 기도 내 염증유발은 조직내 백혈구침윤 반응이 특징적인 현상인데, 이로써 기도 상피세포의 손상 및 기도 폐색을 일으킨다<sup>16)</sup>. 이 백혈구를 혈액에서 조직내로 끌어오는 것이 chemokine이다.

Chemokine은 염증 반응에서 백혈구의 선택적인 점증반응을 조절하는 중요한 역할을 하는 물질로 interleukin 생산, angiogenesis, 및 collagen 생산에도 영향을 끼친다고 알려져 있다<sup>17-8)</sup>. Chemokine은 다양한 종류의 세포에서 형성되며, 특히 T세포, 대식세포, 섬유아세포, 상피세포가 CC chemokine을 분비한다고 알려져 있다<sup>19)</sup>. 최근 많은 종류의 chemokine 및 그 수용체들이 계속해서 밝혀짐에 따라 이들이 수행하는 기능들의 영역도 확대되어 화학주성 이외에 조절 기능의 조절<sup>20)</sup>, 혈관 신생의 조절<sup>21)</sup>, 창상 치유<sup>22)</sup> 등이 입증되었으며 특히 사람 면역 바이러스의 병인에도 관여하고 있음이 밝혀졌다<sup>23-4)</sup>.

이 중 TARC는 흉선과 림프절에서 백혈구가 활성화되면서 분비되는 CC chemokine이다. TARC는 CCR4 (CC Chemokine Receptor 4)에 선택적으로 발현하는 활성화된 T세포와 선택적인 면역반응을 하게 된다. 항원제공세포 (Antigen-Presenting Cell, APC)들이 TARC를 분비함으로써 Th2 면역 반응에 중요한 역할을 수행한다. TARC의 Th2 T cell subset에서의 화학면역효과 때문에 Th2의 반응이 필요한 면역관련 질병 모델 예방법으로 활용될 것으로 생각되고 있다<sup>25)</sup>.

麻黃은 解表發汗, 宣肺平喘, 利水消腫, 調血脈, 通腠理, 利九竅하는 效能으로 口咽痺痛, 痰喘氣喘, 目赤腫痛, 頭痛, 傷寒感冒, 風疹瘙癢, 咳逆, 胸悶喘咳, 皮肉不仁 등의 증상을 치료하는 약물로<sup>9,26)</sup>, 임상적으로 氣管支 平滑筋의 痙攣을 완화시켜 三拗湯, 麻杏甘石湯, 小青龍湯, 定喘湯 등의 主藥으로 사용되어 咳嗽喘息, 寒飲咳嗽, 熱邪癰肺로 인한 咳嗽 등에 다용된다<sup>27)</sup>.

麻黃의 주성분은 l-ephedrine이며, 현대약리학적으로 發汗, 平喘, 利尿, 消炎, 鎮咳, 祛痰, 解熱, 抗菌, 抗바이러스, 血壓上昇, 利膽의 효능이 있다<sup>28)</sup>. 麻黃에 관한 연구로는 處方 구성중 麻黃이 포함된 藥들에 대한 실험적 연구들이 보고되고 있으며, 麻黃의 效能에 관한 연구는 김 등<sup>10)</sup>이 麻黃이 면역증가에 유의한 효과가 있음을 보고하였고, 부<sup>14)</sup>가 麻黃이 사람 기관지 상피세포 주의 TARC 분비의 감소 효과가 있음을 보고하였으며, 윤 등<sup>13)</sup>이 麻黃 藥鍼液이 면역성을 증가시키고, 發熱성이 있으며, 低用量에서는 溶血성이 없으나, 高用量에서는 溶血성이 있음을 보고하였다.

藥鍼療法은 경락학설의 원리에 의거하여 약물을 선택해서, 유관한 穴位, 壓通點 혹은 체표의 축진으로 얻어진 陽性反應點에 주입하여, 刺

鍼과 藥物作用을 통하여 생체의 기능을 조정하고 병리상태를 개선시켜, 질병을 치료하는 新鍼療法の 일종으로<sup>8)</sup> 현재 한의계에서 질병치료 및 증상의 완화에 다용되고 있으며, 활발한 연구가 진행되고 있다.

이에 부<sup>14)</sup>의 연구에 착안하여 哮喘의 治療에 사용되는 處方에 반응되는 麻黃이 藥鍼으로도 유사한 효능이 있는지 규명하고자, 麻黃 藥鍼液이 사람 기관지 상피세포에 알러지환경을 유발하기 위한 목적으로 사이토카인을 처리하여 TARC 분비에 미치는 효과를 알아본 결과는 다음과 같다.

우선 TARC 분비 유도를 위한 최선의 조건을 알아보기 위해 사람의 기관지 상피 세포에 각각 IL-4, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-1 $\beta$  를 처리하는 경우와 IL-4와 TNF- $\alpha$ , TNF- $\alpha$  와 IFN- $\gamma$ , IFN- $\gamma$  와 IL-1 $\beta$  를 병용 처리할 경우 TARC의 분비량을 측정하였다. 그 결과 IL-4와 TNF- $\alpha$  를 병용 처리하는 경우와 TNF- $\alpha$  와 IFN- $\gamma$  를 병용 처리하였을 경우에 TARC 분비가 유의하게 증가하였으며 그 중 IL-4와 TNF- $\alpha$  를 병용 처리하는 경우가 가장 높은 TARC 분비를 보였으며 이는 부<sup>14)</sup>의 연구와 동일한 결과를 나타내었다. 따라서 A549 세포는 여러 사이토카인 중 IL-4와 TNF- $\alpha$ , 또는 TNF- $\alpha$  와 IFN- $\gamma$  가 함께 존재할 경우에 세포내 신호전달체계가 흥분하여 TARC를 분비하는 것을 알 수 있었다. 이 중 가장 높은 TARC 분비를 보인 IL-4와 TNF- $\alpha$  병용 처리를 TARC 유도를 위한 조건으로 사용하였다.

시간대별로 TARC의 분비 양상을 麻黃 藥鍼液 처리군과 대조군으로 나누어 측정한 결과 대조군은 0, 6, 12, 24 및 48시간에서 각각 0.0 $\pm$ 0.0, 5512.1 $\pm$ 1536.5, 10148.2 $\pm$ 1775.6, 268256.8 $\pm$ 27089.1 및 494797.8 $\pm$ 76999.0 pg/ml의 TARC 분

비를 나타내었고, 麻黃 藥鍼液 10  $\mu$ g/ml을 처리한 군에서는 시간별로 각각 0.0 $\pm$ 0.0, 5952.4 $\pm$ 1726.5, 91454.4 $\pm$ 1173.7, 290636.0 $\pm$ 7011.7 및 686463.2 $\pm$ 348210.4 pg/ml의 TARC 분비를 나타내었고, 50  $\mu$ g/ml을 처리한 군에서는 시간별로 각각 0.0 $\pm$ 0.0, 3400.9 $\pm$ 195.5, 78927.8 $\pm$ 3162.1, 117569.0 $\pm$ 4908.8 및 410188.5 $\pm$ 70041.0 pg/ml의 TARC 분비를 나타내었으며, 100  $\mu$ g/ml을 처리한 군에서는 시간별로 각각 0.0 $\pm$ 0.0, 2836.4 $\pm$ 333.7, 6130.7 $\pm$ 623.5, 82908.7 $\pm$ 13757.4 및 170808.3 $\pm$ 109136.6 pg/ml의 TARC 분비를 나타내었다. 이상의 결과 중 麻黃 藥鍼液 50 및 100  $\mu$ g/ml 처리군의 24시간에서 통계적으로 유의한 감소를 관찰할 수 있었다. 또한 麻黃 藥鍼液이 농도의존적으로 TARC 분비를 감소시키는 것을 알 수 있었다.

麻黃 藥鍼液을 MTT assay를 이용하여 농도에 따라 세포내에서 독성을 일으키는지를 실험하였다. 대조군의 생존률을 100.0 $\pm$ 20.9 %로 계산하였을 때 麻黃 藥鍼液을 처리한 후의 세포 생존률은 10, 50 및 100  $\mu$ g/ml 각각 134.7 $\pm$ 2.9, 110.6 $\pm$ 11.0 및 97.7 $\pm$ 11.4 %로 나타나 서로 세포 독성은 관찰되지 않았으며, 부<sup>14)</sup>의 연구에서도 대조군의 생존률을 100.0 $\pm$ 8.9 %로 계산하였을 때 세포생존률은 10, 50 및 100  $\mu$ g/ml 각각 101.2 $\pm$ 8.1, 97.5 $\pm$ 9.1 및 102.7 $\pm$ 8.6 %로 세포독성이 관찰되지 않아 麻黃 및 麻黃 藥鍼液 모두 100  $\mu$ g/ml이하의 농도에서 세포독성을 일으키지 않음을 알 수 있었다.

이상의 결과로 미루어 보아 麻黃 藥鍼液은 麻黃과 마찬가지로 기관지 상피세포에서 발현하는 TARC의 분비를 억제하여 여러 원인으로 유발된 기관지 과민반응 혹은 염증반응 상태를 호전시킬 수 있을 것으로 기대되며, 이는 기관지염 및 천식환자에 대한 麻黃 藥鍼液의 임상활용 및



농도 선택에 기초자료로 활용이 가능할 것으로  
사려된다.

## V. 結 論

사람 기관지 상피세포에 알려지 환경을 유발  
하고자 사이토카인을 처리하여 TARC의 분비를  
유도하고, 이 chemokine 분비에 麻黃 藥鍼液이  
미치는 효과를 실험한 결과 다음과 같은 결론을  
얻었다.

1. 사람의 기관지 상피 세포주에 각각 IL-4,  
TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  및 IL-1 $\beta$  를 각각 처리  
하는 경우와 IL-4와 TNF- $\alpha$ , TNF- $\alpha$  와  
IFN- $\gamma$ , IFN- $\gamma$  와 IL-1 $\beta$  를 병용 처리할  
경우 TARC의 분비량을 측정된 결과 IL-4  
와 TNF- $\alpha$ , TNF- $\alpha$  와 IFN- $\gamma$  를 병용 처  
리하였을 경우 TARC의 분비량이 유의하  
게 증가하였다.
2. 麻黃 藥鍼液 50 및 100  $\mu\text{g/ml}$  처리군의 24  
시간에서 통계적으로 유의한 감소를 관찰  
할 수 있었다.
3. 麻黃 藥鍼液에 의한 TARC 분비억제를 관  
찰한 결과 농도의존적인 분비 감소 효과를  
관찰할 수 있었다.
4. MTT assay법을 이용한 세포 독성 측정에  
선 대조군과 麻黃 藥鍼液 처리군에 유의  
한 차이가 없으므로 10, 50 및 100  $\mu\text{g/ml}$ 의  
농도에서는 세포독성이 없음을 관찰할 수  
있었다.

이러한 결과로 보아 麻黃 藥鍼液은 천식 등  
기관지의 과민반응 및 염증반응으로 인한 질환  
에 TARC chemokine 억제를 통한 치료효과를  
나타낼 수 있을 것으로 사려된다.

## 參 考 文 獻

1. 李珩九, 鄭昇杞. 東醫肺系內科學. 서울 : 民端出  
版社. 1999 : 187-202, 426, 460-1, 468.
2. 유세화. 氣管支喘息의 診斷. 결핵 및 호흡기질  
환. 1983 ; 30(2) : 57.
3. 해리슨내과학편찬위원회. 해리슨 내과학( I ).  
서울 : 정담. 1997 : 1258-64.
4. 전국의과대학교수역. 오늘의 진단 및 치료. 1.  
서울 : 한우리. 1999 : 287-97.
5. 李珩九, 鄭昇杞. 東醫肺系內科學. 서울 : 民端出  
版社. 1999 : 187-202, 426, 460-1, 468.
6. Baggiolini M, Dewald B, Moser B. Inter-  
leukin-8 and related chemotactic cytokines  
-CXC and CC chemokines. Adv Immunol.  
1994 ; 55 : 97-179.
7. Sekiya T, Miyamasu M, Imanishi M, Yamada  
H, Nakajima T, Yamaguchi M, Fujisawa T,  
Pawankar R, Sano Y, Ohta K, Ishii A, Morita  
Y, Yamamoto K, Matsushima K, Yoshie O,  
Hirai K. Inducible expression of a Th2-type  
CC chemokine thymus- and activation-regu-  
lated chemokine by human bronchial epithelial  
cells. J Immunol. 2000 ; 165(4) : 2205-13.
8. 최용태. 鍼灸學(下). 서울 : 集文堂. 1993 : 1457.
9. 全國韓醫科大學 本草學教授 共著. 本草學. 서  
울 : 永林社. 1995 : 448-9.
10. 김태희, 양기숙, 황은진, 박성배. 마황의 면역작  
용에 미치는 효과. 생약학회지. 1991 ; 22(3)  
: 183-91.
11. 卓宜洙, 姜允皓. 加味麻黃湯이 흰쥐의 氣管支  
平滑筋 收縮性에 미치는 影響. 한의학연구소  
논문집. 1995 ; 4(3) : 211-36.
12. 崔貞淑, 金一赫. 醫藥品の 併用 投與 效果에  
관한 研究(2)-麻黃湯 액기스와 Aspirin의 併用  
投與가 抗炎 및 鎮痛作用에 미치는 影響. 생약  
학회지. 1985 ; 16(1) : 12-7.

13. 윤계숙, 남상영, 이재동, 최도영, 안병철, 박동석, 이운호, 최용태. 약침용 마황 추출액의 면역, 발열 및 용혈독성시험에 관한 실험적 연구. 대한침구학회지. 1997 ; 14(1) : 361-83.
14. 부영민. 麻黃이 사람 기관지 상피세포주의 TARC 분비에 대한 효과. 대한본초학회지. 2003 ; 18(4) : 53-8.
15. Worldwide variation in prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis, and atopic eczema: ISAAC. The International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) Steering Committee. Lancet. 1998 ; 351(9111) : 1225-32.
16. Teran LM, Carroll MP, Frew AJ, Redington AE, Davies DE, Lindley I, Howarth PH, Church MK, Holgate ST. Leukocyte recruitment after local endobronchial allergen challenge in asthma. Relationship to procedure and to airway interleukin-8 release. Am J Respir Crit Care Med. 1996 ; 154(2 Pt 1) : 469-76.
17. Mantovani A. The chemokine system: redundancy for robust outputs. Immunol Today. 1999 ; 20 : 245-57.
18. Karpus WJ, Lukacs NW, Kennedy KJ, Smith WS, Hurst SD, Barrett TA. Differential CC chemokine-induced enhancement of T helper cell cytokine production. J Immunol. 1997 ; 158 : 4129-36.
19. Schall TJ. Biology of the RANTES/SIS cytokine family. Cytokine. 1991 ; 3 : 165-83.
20. Goede V, Brogelli L, Ziche M, Augustin HG. Induction of inflammatory angiogenesis by monocyte chemoattractant protein-1. Int J Cancer. 1999 ; 82 : 765-70.
21. Tachibana K, Hirota S, Lizasa H, Kawabata K, Kataoka Y, Kitamura Y, Matsushima K, Yoshida N, Nishikawa S, Kishimoto T, Nagasawa T. The chemokine receptor CXCR4 is essential for vascularization of the gastrointestinal tract. Nature. 1998 ; 393 : 591-4.
22. DiPietro LA, Burdick M, Low QE, Kunkel SL, Strieter RM. MIP-1alpha as a critical macrophage chemoattractant in murine wound repair. J Clin Invest. 1998 ; 101 : 1693-8.
23. Alkhatib G, Combadiere C, Broder CC, Feng Y, Kennedy PE, Murphy PM, Berger EA. CC CKR5:A RANTES, MIP-1 $\alpha$ , MIP-1 $\beta$  receptor as a fusion cofactor for macrophage-tropic HIV-1. Science. 1996 ; 272 : 1955-8.
24. Choe H, Farzan M, Sun Y, Sullivan N, Rollins B, Ponath PD, Wu L, Mackay CR, LaRosa G, Newman W, Gerard N, Gerard C, Sodroski J. The  $\beta$ -chemokine receptors CCR3 and CCR5 facilitate infection by primary HIV-1 isolates. Cell. 1996 ; 85 : 1135-48.
25. Imai T, Nagira M, Takagi S, Kakizaki M, Nishimura M, Wang J, Gray PW, Matsushima K, Yoshie O. Selective recruitment of CCR4-bearing Th2 cells toward antigen-presenting cells by the CC chemokine thymus and activation-regulated chemokine and macrophage-derived chemokine. Int Immunol. 1999 ; 11(1) : 81-8.
26. 서울大學敎 天然物科學研究所 文獻情報學研究室 編. 東洋醫藥科學大全. 서울 : 학술편수관. 2003 : 431.
27. 金載益. 臨床本草學講座. 서울 : 대성의학사. 2001 : 694-700.
28. 金護哲. 韓藥藥理學. 서울 : 집문당. 2001 : 63-6.