

麻黃의 기도과민반응의 효과

이성철[#], 박성주, 서상완, 황상욱, 김영우, 송달수, 채영석, 신민교, 송호준^{*}

원광대학교 한의과대학 본초학교실

Effect of Herba Ephedrae on Airway hyperreactivity

Seong Cheol Lee[#], Sung-Joo Park, Sang-Wan Seo, Sang-Wook Hwang, Yong-Woo Kim,
Dal-Soo Song, Younh-Seok Chae, Min-Kyo Shin, Ho-Joon Song^{*}

Dept. of Herbology, College of Oriental Medicine, Wonkwang University

Abstract

Objectives : HERBA EPHEDRAE (HE) has been used cough and asthma for long time in korea. In the present study, we examined the effect HE on the ovalbumin (OVA)-induced airway hyper-reactivity (AHR).

Methods : To examine the effect of HE on AHR, mice were sensitized with 100 mg of OVA and 1mg of alum intraperitoneally on day 0 and 14. On day 28, mice were challenged on 3 consecutive days with 3% OVA and AHR was assessed 24 h after the last challenge. To examine severity of airway hyper-reactivity, we examined eosinophil population and cytokine production in bronchoalveolar lavage fluid(BALF) and stained with hematoxylin and eosin in lung.

Results : HE potently inhibited the development of airway hyper-reactivity and also reduced the number of eosinophil during OVA-induced airway hyper-reactivity. HE also inhibited cytokines production such as IL-4, IL-5, IL-13 in BALF. Furthermore, HE inhibited proliferation of eosinophil in a dose dependent manner.

Conclusions : These results suggest that HE may be beneficial oriental medicine for AHR.

Key words : Herba Ephedrae(HE), airway hyper reactivity(AHR), bronchoalveolar lavage fluid(BALF), ovalbumin (OVA)

*교신저자 : 송호준, 전북 익산시 신용동 344-2 원광대학교 한의과대학 본초학교실
· Tel : 063-850-6844 · E-mail : songhj@wonkwang.ac.kr
#제1저자 : 이성철, 대전시 동구 소제동 7284-2 이성철한의원 · Tel : 042-672-1353
· 접수 : 2005년 10월 21일 · 수정 : 2005년 12월 15일 · 채택 : 2005년 12월 20일

서론

기관지 천식은 다양한 특이적인 자극이나 비특이적인 자극에 의해 기도에 나타나는 과민반응으로 기관지 폐포액과 환자의 조직 검사 결과 기도에 만성적인 염증을 보이고 있다^{1, 3)}. 아울러 병태생리학적으로 가장 뚜렷한 변화는 기도의 편평상피의 손상과 기도 벽에 호산구의 침착^{2, 4, 10)}으로 호산구는 기관지 천식 시 기도에서 많이 발현하며, 호산구의 수는 과민반응과 임상적 중증도와 밀접하게 연관되어있다^{2, 4, 11)}. 호산구는 다양한 염증성 물질들을 생산해서 기관지 천식에 관여하고 있다. 최근의 보고에 의하면 호산구는 기관지 천식에 절대적으로 중요한 세포라고 보고하고 있으며, 호산구가 결핍된 마우스는 기관지 천식이 유발되지 않을 뿐 아니라, 메타콜라민에 의한 기도저항에도 반응을 보이지 않고 있다. 또한 다양한 기관지 천식의 지표, 조직상태, 콜라겐 침착도 보이지 않고 있다¹²⁾.

호산구에 의한 조직 손상을 동반하는 기관지 천식은 비정상적인 T 세포의 면역 반응과 일반인에겐 반응을 보이지 않은 다양한 종류의 알러젠에 의해서 발생한다^{3, 8, 13-15)}. 아토피 환자로부터 분리한 T 세포주의 세포활성물질 발현은 Th2 세포의 발현 양상을 보이고 있으며^{16, 17)}, Th2 세포에서 생산된 IL-4, IL-5, IL-13은 기관지 천식에 있어서 호산구 유도성 염증을 매개하는데 중요한 역할을 하는 것으로 보고 하고 있다^{1, 18-20)}.

특히 IL-5는 호산구의 생리적 변화에 밀접하게 연관된 것으로, IL-5는 호산구의 증식, 분화, 활성을 조절하는 데 중요한 역할을 한다. IL-4는 Th2 세포에서 유리되는 세포활성물질로 B 세포에서 알러젠에 특이적인 immunoglobulin E (IgE)을 유도한다²¹⁾. IL-13도 Th2 세포에서 유리되는 세포활성 물질로 기관지 천식을 유발하는데 중요한 역할을 한다. 이 두 세포활성물질은 비슷한 기능을 하는데, 알러지, 기관지 천식을 유도하며, 자가면역질환을 억제한다. 그러나 IL-4는 Th2세포의 분화를 조절하는데 효과적인 반면에, IL-13은 기도의 과민반응과 점액의 과분비를 조절하는데 효과적이다²²⁾.

마황은 마황과에 속한 다년생초본의 소관목인 초마황, 목적마황 및 중마황의 지상부 草質莖이다. 성미는 辛, 微苦, 溫 無毒하며, 효능과 주치는 發汗解表, 宣肺平喘으로 外感風寒의 表實證 및 風寒外束의 肺氣壅遏咳喘에 응용한다²³⁾.

이에 본 연구에서는 임상에서 호흡기질환 및 기관지천식에 사용되어 온 마황을 OVA 유도성 기관지천식 동물모델에 미치는 효과를 알아보고자 실험한바 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 재 료

1) 試藥 및 機器

① 試藥 : 본 실험에 사용된 시약은 complete adjuvant, chloroform, collagenase, RPMI-1640 培養液, isopropanol, 적혈구용혈액 (RBC lysis solution), ethidium bromide (EtBr), dulbecco's phosphate buffered saline (D-PBS), formaldehyde, lamide, magnesium chloride (MgCl₂)는 Sigma 사 (U.S.A) 제품을 사용하였으며, 牛胎兒血清(fetal bovine serum, FBS)은 Hyclone 사 (Logan, U.S.A) 제품을, anti-CD3-PE(phycoerythrin)는 Pharmingen 사 (Torreyana, U.S.A) 제품을, rmIL-3, rmIL-5는 R&D system 社 (Minneapolis, U.S.A) 제품을 사용하였다.

② 機器 : 본 실험에 사용된 기기는 熱湯抽出器 (대웅, Korea), rotary vacuum evaporator (Büchi B-480, Switzerland), freeze dryer (EYELA FDU-540, Japan), CO₂ incubator (Forma scientific Co., U.S.A), clean bench (Vision scientific Co., Korea), autoclave (Sanyo, Japan), micro-pipet (Gilson, France), water bath (Vision scientific Co., Korea), vortex mixer (Vision scientific Co., Korea), spectrophotometer (Shimadzu, Japan), centrifuge (Sigma, U.S.A), deep-freezer (Sanyo, Japan), thermocycler system (MWGBiotech., Germany), ice-maker (Vision scientific Co., Korea), homogenizer (OMNI, U.S.A), plate shaker (Lab-Line, U.S.A) 및 ELISA reader (Molecular Devices, U.S.A), FACScan(BD Biosciences) 등을 사용하였다.

2) 藥材

본 實驗에 사용한 마황(HERBA EPHEDRAE, HE)는 원광대학교 익산 부속한방병원에서 구입하여 원광대학교 韓醫科大學 本草學 教室에서 精選하여 사용하였다.

3) 動物

동물은 자성인 4-5주령의 C57BL/6NTacSam 생쥐를 샘타코 (주)에서 공급받아 실험 당일까지 고형 사료(항생제 무첨가, 삼양 사료)와 물을 충분히 공급하고, 실온 22±2℃를 유지하여 2주일 간 실험실 환경에 적응시킨 후 實驗에 사용하였다.

4) 마황 추출물 분리

마황 200g에 증류수 2,000 ml를 가하여 열탕 추출기에서 3시간 추출하여 얻은 액을 흡입 여과한후 이를 감압 증류장치 (Rotary evaporator, BUCHI B-480, Switzerland)로 농축하였고, 이를 다시 동결건조기 (Freeze dryer, EYELA FDU-540, Japan)를 이용하여 완전 건조한 마황분말 30g을 냉동 (-84℃) 보관하면서 적당한 농도로 희석하여 사용하였다.

2. 방 법

1) 기관지 천식 생쥐 모델

100 µg의 난알부민 (OVA, chicken egg ovalbumin: Grade IV)과 1mg aluminum potassium sulfate (Alum: Sigma) 혼합하여 0.2 ml을 복강내로 주사하여 전신 감작을 시킨다. 2주 후에 다시 한번 더 감작한 후 28일째 3일 연속 3% OVA를 분무하였다. 마지막 OVA로 분무한 후 24시간 후에 마우스를 분석하였다. 이때 대조군은 PBS 또는 Alum 만을 주사하였다.

2) 마황 추출물 경구 투여

OVA/Alum로 전신 감작 시킨 후 3주째부터 마황 추출물 (450 mg/kg, 45 mg/kg)을 일주일에 5회 경구 투여 하였다. 대조군에는 증류수를 동량 경구 투여 하였다.

3) 폐와 기관지 폐포 세척액 (BALF)으로부터 세포의 분리

기관지천식 생쥐의 눈에서 혈액을 분리한 후 목부분을 해부하여 폐포 세척액으로부터 세포를 분리하기 위해 10%FBS/DMEM 배양액 1ml을 넣은 주사기를 기관지에 주입시키고 끈으로 묶어 고정한 후 3회 순환 시켜 분리한 후 ACK 용액을 37℃에서 5분 동안 처리하여 적혈구를 용해시키고 다시 배지로 세척한 후 0.04% trypan blue로 염색한 후 세포수를 측정하였다.

4) Cytospin에 의한 호산구 분석

기관지 폐포 세척액 (BALF)으로부터 세포를 분리한 후 cytospin (한일과학)에서 1000 rpm에서 5분간 원심분리한 후 slide를 건조하였다. 건조된 슬라이드는 Diff-Quick 용액 (Baxter Healthcare, Miami, FL)을 이용하여 염색하였다. 이 슬라이드로부터 세포의 모양과 염색특징 등으로 면역세포의 type을 결정하였다. 광학현미경(Nikon, japan) 400x에서 관찰하여 침윤된 호산구의 수를 측정하였다.

5) 유세포 분석 (flow cytometry analysis)

폐와 폐포 세척액으로부터 분리한 세포로부터 다양한 세포표면 분자들에 대한 항체를 이용하여 면역염색하기 위하여 2~5×10⁵ 세포로 조정하여 염색 완충용액 (1% 우태아 혈청, 0.01% NaN₃가 포함된 인산염 완충용액, pH 7.4)으로 1회 세척하였다. 이를 FITC (fluoresceinated isothiocyanate) 또는 PE (phycoerythrin) 형광물질이 결합된 CD3, CCR3등의 항체를 시료에 가하여 4℃에서 40분간 반응시키고 염색 완충용액으로 2회 세척한 후 세포표면 분자들의 발현을 유세포분석기(FACScan, BD Biosciences)로 분석하였다

6) ELISA

생쥐에서 분리한 폐포 세척액에서 각 세포활성물질을 측정하기 위해 IL-4, IL-5, IL-13는 ELISA kit (R&D system)으로 생산량을 측정하였다. 각 항체 (antibody)를 coating 완충용액에 희석하여 microwell에 coating한 후 4℃에서 overnight하였다. 각 well을 3회 세척 완충용액으로 세척한 후 폐포 세척액을 100 µl씩 분주하였다. 1 시간 동안 실온에서 방치한 후 2회 세척 완충용액으로 세척한 다음 antibody Avidin-HRP conjugated 100 µl를 처리하고 1 시간 실온에서 방치한 후 다시 세척하였다. TMB 기질을 100 µl씩 분주하고 暗所에서 30 분간 방치한 후 50 µl의 stop 용액을 처리한 후ELISA leader 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

7) 조직병리검사

폐를 떼어내어 즉시 10% 포르말린에 고정시키고 파라핀으로 포매한 후 3 µm 두께의 block을 제작하여 hematoxyline/eosin(H & E)염색을 시행하였다.

8) 統計處理

多様な 實驗으로부터 얻은 結果는 mean±standard

error로 기록하였고, 有意性 檢證은 Student's T-test 分析方法을 利用하여 決定하였다.

결 과

1. OVA로 유도한 기관지 천식 폐조직에 대한 마황의 효과.

마우스를 OVA와 alum으로 면역한 후에 OVA로 감작하고 24시간 후에 폐조직을 H&E 염색을 한 결과이다. Figure 1A에서 보는 바와 같이 정상군에서는 기도가 선명하게 보이고, 염증세포의 침착은 보이지 않고 있다. 그러나 OVA로 면역하고 다시 OVA로 감작한 대조군에서는 기도의 협착과 기도벽의 두께가 증가했으며, 염증세포의 침착이 현저하게 증가되어 있다 (Figure 1B). 마황 450 mg/kg, 45 mg/kg을 각각 투여한 실험군에서는 농도 의존적으로 기관지 협착이 감소하였다 (Figure 1C, 1D). 또한 염증 세포의 침착도 OVA로 면역한 대조군과 비교할 때 현저히 감소하였다.

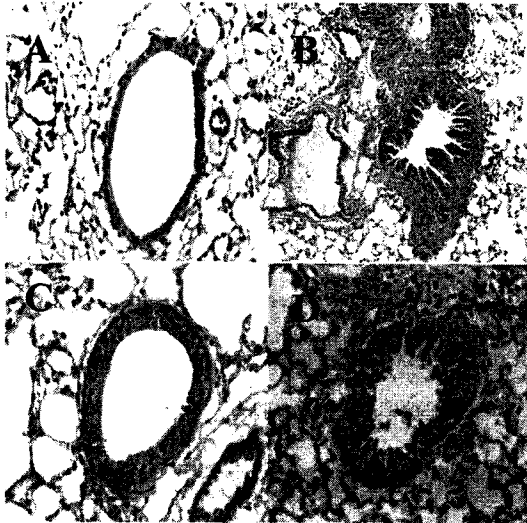


Figure 1 HE inhibits airway inflammation. Lung tissues were sectioned and stained with hematoxylin and eosin (H&E). Mice (B, C, D) were immunized and challenged to OVA. Detail methods were described with materials and methods. A, non immunized mice, B, mice that were immunized and challenged 3 consecutive days with OVA were sacrificed 24 h after last challenge. C, D, mice that were immunized and treated with HE (C: 450 mg/kg, D: 45 mg/kg) before challenge 3 consecutive days with OVA were sacrificed 24 h after last challenge. Original magnification, x400. Images

are representative sections of five mice per group.

2. OVA로 유도한 기관지 천식에서 호산구 유입에 관한 마황의 효과

OVA로 유도한 기관지 천식 모델에서 기관지 폐포 세척액 호산구의 수를 측정하였다. Figure 2A에서 본 바와 같이 기관지 천식을 유발한 마우스의 기관지 폐포 세척액에서는 호산구가 증가되어 있으나, 마황을 처리한 군에서는 현저하게 호산구의 수가 감소되었다. 특히 450 mg/kg을 처리한 군에서는 면역억제제를 처리한 군과 같이 현저하게 호산구의 수가 감소되었다. 또한 폐에서 마황이 호산구의 침윤을 억제하는가를 조사하기 위하여 유식세포분리기를 이용하여 호산구의 비율을 조사하였다. 그 결과 기관지 천식을 유발한 마우스의 폐에서 호산구가 50.3% 정도 차지하였으나 마황을 투여한 군에서는 30.2% (HE: 450 mg/kg), 42.3% (HE: 45 mg/kg)로 농도 의존적으로 호산구의 비율이 감소하였다 (Figure, 2B).

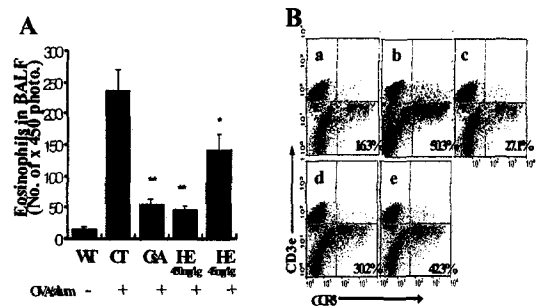


Figure 2. HE inhibits eosinophil infiltration in OVA-induced airway inflammation. A: BALF was performed at 24 h after last aerosol challenge. Mice were anesthetized and lungs were lavaged by means of the tracheal tube with PBS. Cytospin preparations of BALF cells were stained with Diff-Quick and cell differentials were enumerated based on morphology and staining profile. B: Lungs were removed 24 h after last aerosol challenge and analyzed by flow cytometry. a: non treated group, b: OVA-induced airway inflammation group, c: OVA-induced airway inflammation group plus cyclosporin A (10mg/kg), d: OVA-induced airway inflammation group plus HE (450mg/kg) e: OVA-induced airway inflammation group plus HE (45mg/kg). Results are from one experiment representative of three.

3. OVA로 유도한 기관지폐포 세척액에서 세포활성물질에 관한 마황의 효과

본 실험에서는 기관지폐포 세척액에서 Th2 타입의

세포활성물질인 IL-4, IL-13의 농도를 조사하였다 (Figure 3A, 3C). Figure 3A에서 보는 바와 같이 기관지 천식이 유도된 마우스에서 IL-4는 대조군에서 87 ± 15 pg/ml 로 증가하였으나 마황을 투여한 군에서 각각 45 ± 10 pg/ml (450 mg/kg), 58 ± 15 pg/ml (45 mg/kg)로 감소하는 양상을 보였으며, Figure 3C에서도 마황 농도 의존적으로 IL-13의 생성을 억제하였다.

또한 IL-5의 농도도 마황을 투여한 군에서 농도 의존적으로 현저하게 억제하였다 (Figure 3B).

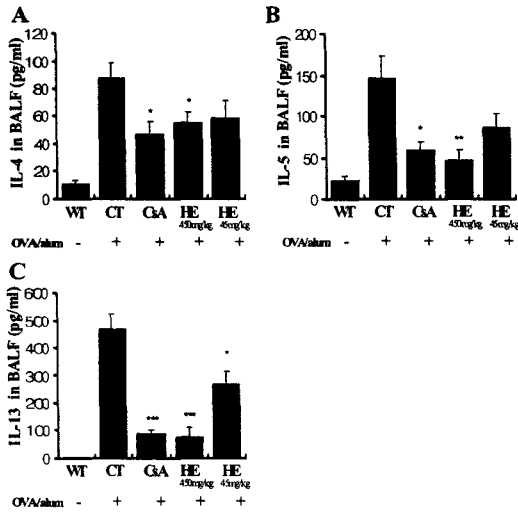


Figure 3. HE inhibits cytokine levels in BALF. A : IL-4, B : IL-5 and C : IL-13 levels in BALF. Conditions are the same as in Figure 2A. Results are representative of three independent experiments (n=5 in each group)

4. 마황의 호산구 증식에 미치는 영향

기관지 천식에서 호산구는 천식의 유발에 중요한 역할을 한다고 알려져 있다. 따라서 천식 유발 마우스 폐에서 호산구를 순수 분리한 후 rIL-5와 rIL-3로 동시 자극하여 호산구를 활성화 시켰다. Figure 4는 호산구 세포증식의 음성 대조군, rIL-5와 rIL-3로 동시 자극한 대조군, rIL-5와 rIL-3로 동시 자극하고 ES (100, 50, 10 μ g/ml)를 동시 배양한 실험군으로 나누어 48시간 배양한 결과이다. Figure 4에서 나타난바 천식 유발 마우스의 폐세포 (A)에서 CD3e⁺/CCR3⁺인 호산구의 활성화와 증식은 rIL-3/rIL-5 처리한 대조군(B)에서 67.8%로 증가하였고, rIL-3/rIL-5와 rIL-10을 처리한 실험군(C)은 39.7%로 억제되었다. 그리고 rIL-3/rIL-5

와 마황 (100 (D), 50 (E), 10 (F) μ g/ml)를 동시 처리한 실험군에서 49.3%, 52.3%, 그리고 62.9%로 농도 의존적으로 억제되었다.

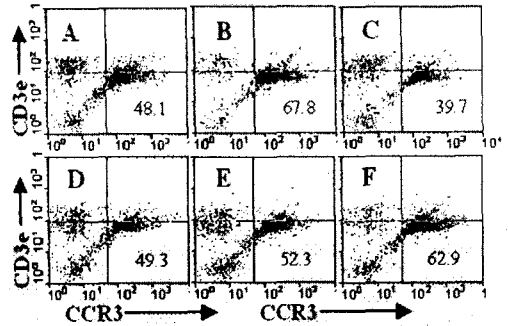


Figure 4. HE inhibits CD3e⁺/CCR3⁺ cells from OVA-induced lung cell in the presence of IL-3+ IL-5. C57BL/6 mice were immunized and then challenged 3 consecutive days with OVA and lung cells were harvested 24h after the last challenge. The detail methods were described material and methods. The cells were stimulated with IL-3 + IL-5 in the presence/absence of HE for 48 h and then analyzed by flow cytometry. A : none, B : IL-3+ IL-5, C : IL-3 +IL-5+ IL-10, D : IL-3 +IL-5+ HE (100 mg/ml), E : IL-3 +IL-5+ HE (50 mg/ml), F : IL-3 +IL-5+ HE (10 mg/ml). Results are from one experiment representative of three.

고찰

마황은 한의학에서 發汗解表, 宣肺平喘, 利水通淋, 溫散寒邪 등의 효능으로 傷寒表實, 咳嗽氣喘, 風水浮腫, 小便不利, 風疹瘙癢 등증을 치료하는 약물로 알려져 있으며, 현대 약리연구로 發汗, 平喘, 利尿, 항알러지, 항바이러스, 強心 등의 효능이²³⁻²⁴⁾ 있다고 하였다. 이로서 咳嗽緊拍, 胸悶, 氣喘 등의 병증에 임상에서 흔히 응용되어 왔으므로 이런 효과를 OVA 유도성 기관지 천식모델에서 실험적으로 확인하고자 연구를 수행하였다.

본 실험결과 Figure 1. 에서 보는 바와 같이 마황이 기관지 천식을 억제하는 것으로 나타난바 이는 마황이 기도의 편평상피세포의 증식을 억제하여 기도벽의 두께를 현저하게 감소하였으며 또한 염증성세포의 기관지로의 유입을 억제했을 가능성이 크다고 보여진다. 염증세포의 유입은 여러 가지 세포활성물질, 접착분자(ICAM-1등)등이 관여하는데 특히 이 과정에서 마황이 염증성 세포가 폐에 침윤되는 것을 억제했을 가능성이 있다고 생각된다.

기관지 천식은 Th2타입의 자가면역질환이라고 알려져 있다. 즉 CD4 T세포가 절대적으로 중요하다는 것이다. 그러나 만성 기관지천식에는 염증성세포가 폐와 기관지에 침윤되어 있으며 특히 호산구는 기관지 천식에 가장 많은 비율을 차지하고 있다. 최근의 보고에서 호산구가 기관지천식에 가장 중요한 세포임을 제시하고 있으며, 호산구결핍 마우스에서 기관지 천식 및 기관지 염증에 저항성을 보이고 있다²¹⁾. 특히 마우스는 T세포의 분포와 기능이 정상이다라도 호산구가 결핍되어있으면 기관지천식이 유도되지 않는다는 것을 의미한다. 본 논문에서 마황이 기관지 천식 유도시 호산구 유입 (Figure 2, Figure 4) 및 호산구의 증식 및 활성을 억제한다는 것을 보였다. 이에 대해 그 기전은 정확히 알 수 없으나 in vitro의 결과를 토대로 생각해 볼 때 마황이 호산구의 활성화 및 증식을 억제 해서 기관지 및 폐의 호산구 수를 감소 했을 가능성이 있다고 본다. 왜냐하면 IL-5는 호산구의 증식 및 활성에 영향을 미치는 인자로서 Figure 3c에서 기관지 폐포세척액에서 IL-5의 농도가 현저하게 감소되어 있기 때문으로 생각된다. 그러나 마황이 IL-5에 의한 신호전달을 억제해서 호산구의 증식 및 활성을 억제 할 수도 있기 때문에 또 다른 가능성을 배제할 수 없다.

기관지 천식은 세포활성물질이 중요한 역할을 한다. 특히 IL-4, IL-5, IL-13는 기관지 천식의 유발에 절대적으로 중요한 역할을 하는 것으로 보고하고 있으며^{21, 22)} 이 과정은 IL-4, -5, -13를 생산하는 Th2 세포가 관여한다.

본 논문에서 마황이 기관지 천식을 농도 의존적으로 억제하였는데, 이런 세포활성물질들의 생산을 억제해서 기관지 천식을 억제했을 가능성이 있다 (Figure 3)고 생각되지만 아직까지 정확한 기전은 알 수 없다. 왜냐하면 IFN- γ 가 CD4 T 세포를 Th2 세포로 분화되는 것을 억제하는데, 마황이 IFN- γ 의 생산을 유도하여 Th2 세포로의 분화를 억제 할 수 있기 때문이다. 이러한 과정을 밝히기 위해서는 계속해서 마황이 CD4 T 세포의 분화에 미치는 효과를 조사할 필요가 있다고 본다.

이상의 실험결과로 보아 마황이 OVA 유도성 기관지 천식모델에서 효과가 있음을 알 수 있었으며 아울러 기관지 천식에 응용 할 수 있을 가능성을 시사한다.

결 론

OVA 유도성 기관지 천식 모델에서 마황의 효과를 실험적으로 알아보기 위하여, 폐 조직의 염색, 호산구의 변화, 세포활성 물질을 조사한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 마황 투여군이 폐조직에서 기도협착과 염증성 세포의 침윤을 억제하였다.
2. 마황 투여군이 폐포 세척액에서 호산구 수를 유의성있게 억제하였다.
3. 마황 투여군이 폐포 세척액에서 IL-4, IL-5, IL-13의 생성을 억제하였다.
4. 마황이 IL-3와 IL-5에 의한 호산구의 활성을 억제하였다.

이상의 결과로 임상에서 마황이 기관지 천식에 응용 할 수 있음을 시사하고 있다.

감사의 글

이 논문은 2005년도 원광대학교 교비에 의하여 수행되었으므로 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Hamid, Q., M. Azzawi, S. Ying, R. Moqbel, A.J. Wardlaw, C.J. Corrigan, B. Bradley, S.R. Durham, J.V. Collins, P.K. Jeffery, et al. 1991. Expression of mRNA for interleukin 5 in mucosal bronchial biopsies from asthma. *J. Clin. Invest.* 87 : 1541 - 1546.
2. Walker, C., M.K. Kaegi, P. Braun, and K. Blaser. 1991. Activated T cells and eosinophilia in bronchoalveolar lavages from subjects with asthma correlated with disease severity. *J. Allergy Clin. Immunol.* 88 : 935 - 942.
3. Robinson, D.S., Q. Hamid, S. Ying, A. Tsicopoulos, J. Barkans, A.M. Bentley, C. Corrigan, S.R. Durham, and A.B. Kay. 1992. Predominant TH2-like bronchoalveolar T-lymphocyte population in atopic asthma. *N. Engl. J. Med.* 326 : 298 - 304.
4. de Monchy, J.G.R., H.F. Kaufmann, P. Venge,

- G.H. Koeter, H.M. Jansen, H.J. Sluiter, and K. de Vries. 1985. Bronchoalveolar eosinophilia during allergen-induced late asthmatic reactions. *Am. Rev. Respir. Dis.* 131 : 373 - 376.
5. Gleich, G.J., N.A. Flavahan, T. Fujisawa, and P.M. Vanhoutte. 1988. The eosinophil as a mediator of damage to respiratory epithelium : a model for bronchial hyperreactivity. *J. Allergy Clin. Immunol.* 81 : 776 - 781.
 6. Frick, W.E., J.B. Sedgwick, and W.W. Busse. 1989. The appearance of hypodense eosinophils in antigen-dependent late phase asthma. *Am. Rev. Respir. Dis.* 139 : 1401 - 1406.
 7. Bousquet, J., P. Chanez, J.Y. Lacoste, G. Barneon, N. Ghavanian, I. Enander, P. Venge, S. Ahlstedt, J. Simony-Lafontaine, P. Godard, and F.B. Michel. 1990. Eosinophilic inflammation in asthma. *N. Engl. J. Med.* 323 : 1033 - 1039.
 8. Azzawi, M., B. Bradley, P.K. Jeffrey, A.J. Frew, A.J. Wardlaw, G. Knowles, B. Asoufi, J.V. Collins, S. Durham, and A.B. Kay. 1990. Identification of activated T lymphocytes and eosinophils in bronchial biopsies in stable asthmatics. *Am. Rev. Respir. Dis.* 142 : 1407 - 1413.
 9. Djukanovic, R., J.W. Wilson, K.M. Britten, S.J. Wilson, A.F. Walls, W.R. Roche, P.H. Howarth, and S.T. Holgate. 1990. Quantitation of mast cells and eosinophils in the bronchial mucosa of symptomatic atopic asthmatics and healthy control subjects using immunohistochemistry. *Am. Rev. Respir. Dis.* 142 : 863 - 871.
 10. Broide, D.H., G.J. Gleich, A.J. Cuomo, D.A. Coburn, E.C. Federman, L.B. Schwartz, and S.I. Wasserman. 1991. Evidence of ongoing mast cell and eosinophil degranulation in symptomatic asthma airway. *J. Allergy Clin. Immunol.* 88 : 637 - 648.
 11. Dahl, R., P. Venge, and I. Olsson. 1978. Variations of blood eosinophils and eosinophil cationic protein in serum in patients with bronchial asthma. *Allergy.* 33 : 211 - 215.
 12. Lee, J., Dimina, D., Macias, M. P., Ochkur, S.I., McGarry, M.P., O'Neill, K. R., Protheroe, C., Pero, R., Ngugen, T., Cormier, S. A., Lenkiewicz, E., Colbert, D., Rinaldi, L., Ackerman, S. J., Irvin, C. G., and Lee, N. A. 2004. Defining a link with asthma in mice congenitally deficient in eosinophils. *Science* : 305 : 1773-6.
 13. Corrigan, C.J., A. Hartnell, and A.B. Kay. 1988. T lymphocyte activation in acute severe asthma. *Lancet.* 1 : 1129 - 1132
 14. Walker, C., J. Virchow, P.L.B. Bruijnzeel, and K. Blaser. 1991. T cell subsets and their soluble products regulate eosinophilia in allergic and nonallergic asthma. *J. Immunol.* 146 : 1829 - 1835.
 15. Ying, S., S.R. Durham, J. Barkans, K. Masuyama, M. Jacobson, S. Rak, O. Lowhagen, R. Moqbel, A.B. Kay, and Q.A. Hamid. 1993. T cells are the principal source of interleukin-5 mRNA in allergen-induced rhinitis. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 9 : 356 - 360.
 16. Maggi, E., and S. Romagnani. 1994. Role of T cells and T-cell-derived cytokines in the pathogenesis of allergic diseases. *Ann. NY Acad. Sci.* 725 : 2 - 12.
 17. Umetsu, D.T., and R.H. DeKruyff. 1997. Th1 and Th2 CD41 T cells in the pathogenesis of allergic diseases. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 215 : 11 - 20.
 18. Coffman, R.L., B.W.P. Seymour, S. Hudak, J. Jackson, and D. Rennick. 1989. Antibody to interleukin-5 inhibits helminth-induced eosinophilia in mice. *Science.* 245 : 308 - 310.
 19. Foster, P.S., S.P. Hogan, A.J. Ramsay, K.I. Matthaei, and I.G. Young. 1996. Interleukin-5 deficiency abolishes eosinophilia, airways hyperreactivity, and lung damage in mouse asthma model. *J. Exp. Med.* 183 : 195 - 201.
 20. Kopf, M., F. Brombacher, P.D. Hodgkin, A.J. Ramsay, E.A. Milbourne, W.J. Dai, K.S. Ovington, C.A. Behm, G. Kohler, I.G. Young, et al. 1996. IL-5 deficient mice have a development defect in CD45 B-1 cells and lack eosinophils but have normal antibody and cytotoxic T cell responses. *Immunity.* 4 : 15 - 24.
 21. Holt, P. G., Macaubas, C., Stumbles, P. A., and Sly, P.D., 1999. The role of allergy in the development of asthma. *Nature.* 402 : B12-17.
 22. Kelly-Welch, A. E., Hanson, E. M., Boothby, M.

- R., and Keegan, A. D., 2003. Interleukin-4 and interleukin-13 signaling connections maps. *Science*. 300 : 1527-8.
23. 신민교 : 임상본초학, 서울, 영림사. pp. 322-324, 2002.
24. 강소신의학원편 : 중약대사전, 下冊, 香港, 상해과학기술출판사, pp. 2221-2224, 1978.