

원저

絲瓜絡 藥鍼의 喘息抑制 및 免疫調節效果에 對한 實驗的 研究

남세현 · 이현 · 홍권의

대전대학교 한의과대학 침구학교실

Abstract

Effect of *Fasciculus Vascularis Luffae* Herbal-Acupuncture at St36 on OVA-induced Asthma in Mice

Nam Se-hyeon, Lee Hyun and Hong Kwon-eui

Dept. of Acupuncture & Moxibustion, College of Oriental Medicine, Daejeon University

Objectives : The purpose of this study is to confirm the suppression effect of Asthma and Immune response improvement of *Fasciculus Vascularis Luffae* Herbal-acupuncture into Chok-samni(St36) on ovalbumin-induced asthma in mice.

Methods : C57BL/6 mice were sensitized and challenged with OVA(ovalbumin) for 12 weeks. Two experimental groups were treated with different concentrations(1%, 0.1%) of FVL-HA at Chok-samni(St36) for the later 8 weeks(3times/week).

Results : 1. Lung weight of the mice group treated with FVL-HA decreased significantly compared with that of control group.
2. Total cells of lung, total Leukocytes and Eosinophils in BALF of the mice group treated with FVL-HA decreased significantly compared with those of control group.
3. Eosinophils in BALF of the mice group treated with FVL-HA in Photomicrographs decreased significantly compared with those of control group.
4. The concentration of IL-13, IgE, IL-4 in serum and IL-4 in BALF of the mice group treated with FVL-HA decreased significantly compared with that of control group.
5. The number of Gr-1+/CD11b+, CD3-/CCR3+, CD4+, CD8+, CD3e+/CD69+, IgE+/B220+ cells in the lungs of the mice group treated with FVL-HA decreased significantly compared with those of control group.
6. The cytokine's manifestation of mRNA of the mice group treated with FVL-HA with RT-PCR decreased significantly compared with that of control group.

· 접수 : 2005년 6월 27일 · 수정 : 2005년 7월 23일 · 채택 : 2005년 7월 23일
· 교신저자 : 이현, 대전광역시 동구 용운동 96-3 대전대학교 한의과대학 침구학교실
Tel. 042-280-2641 Fax. 042-280-2610 E-mail : lh2000@dju.ac.kr

Conclusion : These result suggests that *Fasciculus Vascularis Luffae* Herbal-acupuncture at Chok-samni(St36) in C57BL/6mice may be an effective part to OVA-induced asthma in C57BL/6 mice.

Key words : OVA-induced asthma, FVL(*Fasciculus Vascularis Luffae*) Herbal acupuncture, Chok-samni(St36)

I. 緒 論

産業發達에 따른 大氣汚染의 增加, 密閉된 大形建物 및 地下生活圏의 擴大 등 生活環境이 複雜多端해짐으로 인하여 각종 呼吸器 刺戟因子들도 多樣해지고 있다. 이들 다양한 呼吸器 刺戟因子들은 抗原으로 작용하여 反復的인 呼吸器疾患을 發生시키는 要因으로 作用하고 있다.

그 原因의 대부분이 알레르기인 喘息은 發作的인 呼吸困難, 喘鳴, 기침, 囉音を 특징으로 하는 症候群으로¹⁻³⁾ 抗原이나 肥滿細胞 및 IgE가 關與하여 分泌되는 化學媒體와 cytokine, 癒着分子 등이 關與하여 氣管支로 모여진 炎症細胞에 의해서 發病되는 氣道の 慢性 알레르기 炎症性 疾患으로 理解되고 있다⁴⁾. 喘息에 대한 西洋醫學的 治療로는 기관지 확장제, 부신피질호르몬제 등이 사용되며 速效性이 뛰어나 급한 症狀을 治療하는 데는 有效하나 完治나 豫防에는 限界가 있고 副作用이 심각하게 나타나기도 한다⁵⁾.

韓醫學에서 喘息은 呼吸急促, 喘鳴有聲을 特徵的인 症候群으로 하는 哮喘證과 類似하며¹⁾, 治療는 주로 虛實을 구분하여 實證에는 祛風濕, 燥濕, 清熱, 潤肺, 化痰, 降氣宣肺, 定喘의 治法으로 虛症에는 補肺, 益心腎을 기본으로 하여 化痰, 定喘의 治法을 加하여 治療한다^{1,6)}.

최근 喘息의 韓方治療에 대한 實驗的 연구가 韓藥, 鍼, 藥鍼 등 다방면으로 활발하게 보고되고 있으나⁷⁻¹⁹⁾ 絲瓜絡에 관한 研究는 아직까지 보고된 바 없는 실정이다. 絲瓜絡는 性이 平하고 肺로 歸經하여 通經活絡, 清熱化痰의 效能으로 胸脇疼痛, 痰多咳嗽 등을 主治하여²⁰⁾ 喘息에도 尤호한 效果가 있으리라 생각되었다. 이에 著者는 絲瓜絡 藥鍼의 喘息抑制 效果를 알아보기 위하여 실험동물에 알레르기 喘息을 誘發시키고, 문헌적으로 喘息 治療에 多用되는 經穴이며²¹⁾ 通調經絡, 調和氣血, 扶正培元의 穴性을 가진 足三里(St36)²²⁾에 絲瓜絡 藥鍼을 施術하여 喘

息抑制 및 免疫調節效果에 대해 尤의한 結果를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 實 驗

1. 材料

1) 動物

動物은 雌性인 4~5週齡의 C57BL/6 mouse를 大韓實驗센터에서 供給받아 實驗 當日까지 固型飼料(抗生劑 無添加, 三養飼料)와 물을 充分히 供給하고, 室溫 22±2℃를 維持하여 2週日間 實驗室環境에 適應시킨 後 實驗에 使用하였다.

2) 藥材

實驗에 使用된 絲瓜絡(*Fasciculus Vascularis Luffae*)은 大田大學校 附屬韓方病院에서 購入한 것을 精選하여 使用하였다.

3) 藥鍼液의 製造

분쇄기를 이용하여 絲瓜絡 55g을 분쇄하여 粉末로 만들어, 원형삼각플라스크에 넣고, 蒸溜水 500ml을 加하여 3시간 동안 shaking water bath에서 流出汗 후, 流出液을 濾過하였다. 이 濾過液을 濾過紙로 3회 濾過한 후, rotary evaporator로 減壓濃縮 하였다. 이 濃縮液에 95% ethyl alcohol 30ml을 가하고, 室溫에서 攪拌한 후 방치하여, 沈澱物이 생성되게 한 후 濾過하였다. 이 濾過液을 rotary evaporator로 減壓濃縮한 후, 濃縮液을 다시 濾過하였다. 이 濾過液에 85% ethyl alcohol 30ml를 加하고 잠시 攪拌한 후 방치하여, 沈澱物이 생성되게 한 후 濾過하였다. 濾過液에 75% ethyl alcohol 30ml를 가하고 攪拌한 후 방치하였다가 濾過하는 조작을 2회 반복하였다.

濾過液중의 ethyl alcohol 성분을 rotary evaporator 로 減壓 제거하고, 남은 濃縮液이 20ml가 되게 하였다. 1N NaOH를 이용하여 濃縮液을 pH6.8이 되도록 조절하고, 저온에서 12시간 방치한 후 滅菌하였다. 滅菌된 濃縮液에 PBS를 가하여 1%, 0.1%로 희석하여 藥鍼液으로 사용하였다.

2. 方法

1) *In vitro*

喘息이 誘發된 생쥐에서 分離한 肺組織을 잘게 切斷한 후 collagenase를 가하여 shaking incubation 을 통해 細胞를 分離하였다. 分離해 낸 細胞에 rIL-3/rIL-5를 가하고 incubation하여 活性化 시켰다. 活性化된 細胞에 藥鍼液을 가하고 48시간 동안 培養 시킨 후 표식抗體를 반응시켜 FACS 分析하였다.

2) *In vivo*

① Asthma mouse model

실험 1주째 200 μ l의 OVA/alum(500 μ g/ml)을, 2,3주째에는 100 μ l OVA/alum(500 μ g/ml)을 생쥐의 복강에 투여(i.p)하였다. 4주째에는 마취 후에 100 μ l의 OVA/alum(500 μ g/ml)을 기도투여(i.t)하였다. 5-8주째까지는 2.5mg/ml의 OVA/PBS 40 μ l을, 9-12주째까지는 5mg/ml의 OVA/PBS 40 μ l을 air compressor를 이용하여 30분간 주 3회 노출시켰다.

② Classification of experimental animal groups

正常群(normal), 對照群(control), 實驗群(OVA)으로 나누어 正常群(normal)은 아무런 處置도 하지 않았고, 對照群(control)은 喘息유발 후 아무런 處置도 하지 않았으며 實驗群(OVA-FVL-HA)은 5주째부터 12주째까지 8주간 주 3회 足三里(St36)에 1%와 0.1%의 絲瓜絡 藥鍼液(100 μ l)을 주입하였다(Fig. 1).

③ Bronchoalveolar lavage fluid(BALF) isolation

생쥐를 마취한 후 표피를 열고 氣道에 주사기를 삽입하고 끈으로 묶어 固定한 후, 10% FBS/DMEM medium을 3회 循環시켜 分離하였다.

④ Photomicrographs

分離된 BALF를 洗滌해서 1,000rpm으로 5분간 cytopspin한 후, Hemacolor rapid staining set (Merck, Germany)를 사용하여 染色하였다. 공기 중에서 乾

燥시킨 후 bright microscope (Nikon, Japan ; $\times 400$)로 測定하였다.

⑤ FACS analysis

생쥐에서 分離해낸 肺組織을 잘게 자른 후 collagenase를 가하여 incubation을 통해 分離해 낸 細胞에 標式抗體를 反應시켜 flow cytometer로 分析하였다.

⑥ ELISA analysis

ELISA kit를 사용하여, 생쥐에서 分離한 BALF와 serum에서 각 cytokine량을 測定하였다. 抗cytokine 抗體가 코팅된 96well plate에 BALF 또는 serum을 가하여 反應시킨 후 4번 洗滌하였다. 그 후 biotin이 標式된 抗cytokine 抗體를 가하여 反應시킨 후 4번 洗滌하고 여기에 straptavidin-HRP를 가하여 ELISA-reader를 이용하여 測定하였다.

⑦ RT-PCR analysis

a. Total RNA의 抽出

각 實驗群의 생쥐에서 떼어낸 肺組織을 homogenizer를 이용하여 분쇄한 후 RNAzol^B(Tel-Test, USA)를 이용하여 total RNA를 抽出하였다. 抽出한 RNA는 DEPC(diethyl pyrocarbonate)를 처리한 20 μ l의 蒸溜水에 溶解시켜 정량하고, RNA를 확인하기 위하여 RNA 4 μ g을 EtBr이 들어있는 formaldehyde buffer와 섞어 70 $^{\circ}$ C에서 10분간 denaturation 시킨 후, formaldehyde를 넣은 1.5% agarose gel에 loading dye와 함께 loading하여 그 양을 확인하였다. 확인한 RNA는 RT-PCR(Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction)에 사용하였다.

b. cDNA 合成

逆轉寫 反應은 준비된 total RNA 3 μ g에 해당하는 양을 75 $^{\circ}$ C에서 10분 동안 denaturation시키고, 이 denaturated total RNA 3 μ g에 2.5 μ l의 10mM dNTPs, 1 μ l의 random sequence hexanucleotides (25pmole/25 μ l), RNA inhibitor로서 1 μ l의 RNasin (20U/ μ l), 1 μ l의 100mM DTT 및 4 μ l의 5 \times RT buffer(250mM Tris-Cl, pH8.3, 375mM KCl, 15mM MgCl₂)를 혼합한 후, 1 μ l의 M-MLV RT(200U/ μ l)를 添加한 뒤 DEPC 처리된 蒸溜水를 더하여 최종 부피가 20 μ l가 되도록 하였다. 이 20 μ l의 反應 混合液을 잘 섞은 뒤 遠心分離하여 37 $^{\circ}$ C 恒溫 水槽에서 60분 동안 反應시켜 first-strand cDNA를 合成한 다

음, 95°C에서 10분 동안 放置하여 M-MLV RT를 不活性化시키고 즉시 얼음으로 옮겼다. 이렇게 合成이 완료된 first-strand cDNA는 PCR(Polymerase Chain Reaction)에 사용하였다.

c. cDNA의 PCR 增幅

PCR은 Primus 96 Legal PCR system(MWG, Germany)을 이용하여 수행하였다. 反應은 이미 合成된 1 μ l의 first-strand cDNA를 주형으로 사용하였다. 주형에 대한 β -actin, IL-4, IL-5, IL-6, IL-13, 및 IL-1 β 에 대한 sense primer (20pmole/ μ l)와 antisense primer (20pmole/ μ l)를 混合하여 1 μ l를 가하고, 다시 3 μ l 2.5mM dNTPs, 3 μ l 10 \times PCR buffer (100mM Tris-HCl, pH 8.3, 500mM KCl, 15mM MgCl₂) 및 0.18 μ l Taq polymerase (5U/ μ l)를 첨가한 다음 최종 부피가 30 μ l 되도록 滅菌蒸溜水를 가하고 predenaturation; 95°C, 5분, denaturation; 74°C, 5분, annealing; 55°C, 1분, elongation; 72°C, 1분을 25cycle한 뒤 postelongation을 72°C에서 3분 동안의 條件으로 PCR을 修行하였다. 각 PCR products는 20 μ l씩 1.2% agarose gel에 loading하여 50V 條件에서 30분간 전기영동하여 分析하였다.

3. 統計處理

統計는 Student's t-test로 하였다.

III. 成 績

1. In vitro screening

1) FACS analysis

① Granulocytes/lymphocytes population (%)

폐 세포 중 과립구의 比率이 正常群에서는 8.2%이었으나 對照群에서는 26.8%로 增加하였고, FVL-HAS群에서는 9.0%로 減少하였다(Fig. 2).

② CD3e⁻/CCR3⁺ population (%)

폐 세포 중 CD3e⁻/CCR3⁺ 세포의 比率이 正常群에서는 77.1%이었으나 對照群에서는 92.2%로 增加

하였고, FVL-HAS群에서는 76.1%로 減少하였다(Fig. 2).

③ CD69⁺/CD3e⁺ population (%)

폐 세포 중 CD69⁺/CD3e⁺ 세포의 比率이 正常群에서는 10.4%이었으나 對照群에서는 46.8%로 增加하였고, FVL-HAS群에서는 34.5%로 減少하였다(Fig. 2).

④ CD4⁺ 및 CD8⁺ population (%)

폐 세포 중 CD4⁺ 세포의 比率이 正常群에서는 35.1%이었으나 對照群에서는 41.6%로 增加하였고, FVL-HAS群에서는 39.1%로 減少하였다. CD8⁺ 세포의 比率은 正常群에서는 31.9%이었으나 對照群에서는 20.1%로 減少하였고, FVL-HAS群에서는 26.9%로 增加하였다(Fig. 2).

⑤ CD23⁺/B220⁺ population (%)

폐 세포 중 CD23⁺/B220⁺ 세포의 比率이 正常群에서는 0.37%이었으나 對照群에서는 1.59%로 增加하였고, FVL-HAS群에서는 0.9%로 減少하였다(Fig. 2).

2. In vivo

1) Lung weight

생쥐에서 폐를 摘출하여 측정한 결과 對照群에서는 正常群에 비하여 增加하였고, FVL-HA群에서는 對照群에 비하여 폐 무게가 有意하게 減少하였다(p<0.05)(Fig. 3).

2) Cell count

① Total cells in lung

총 폐 세포수를 측정한 결과, 對照群에서는 正常群에 비하여 增加하였고, FVL-HA群에서는 對照群에 비하여 총 폐 세포수가 有意하게 減少하였다(p<0.01)(Fig. 4).

② Total leukocytes in BALF

BALF內 leukocyte 수를 측정한 결과, 對照群에서는 正常群에 비하여 增加하였고, FVL-HA群에서는 對照群에 비해 leukocyte의 수가 有意하게 減少하였다(p<0.01)(Fig. 4).

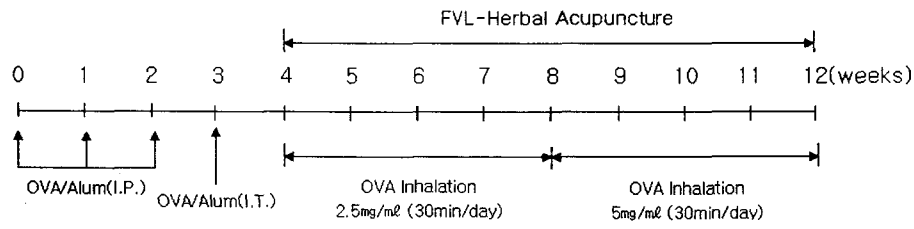
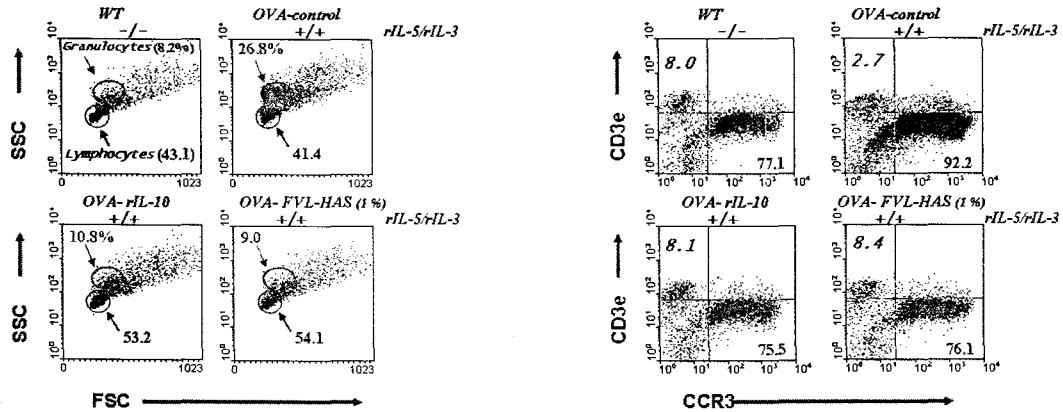
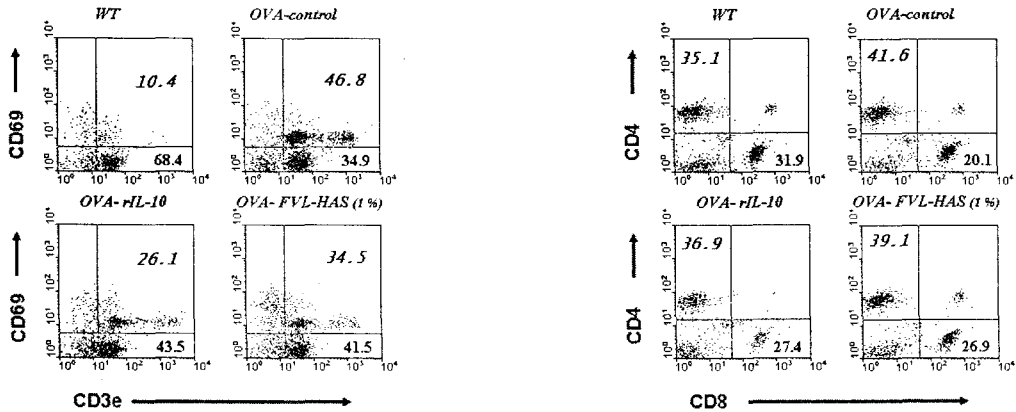


Fig. 1. OVA-induced asthma mouse model



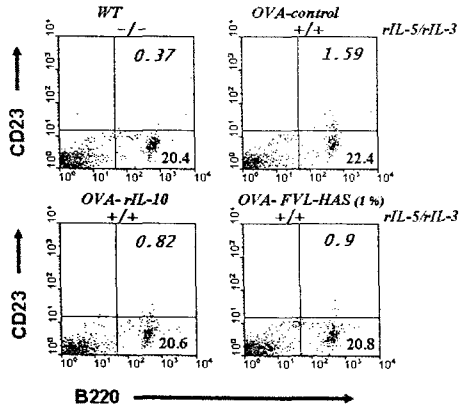
(A) Granulocytes/lymphocytes population (%)

(B) CD3e-CCR3+ population (%)



(C) CD69+CD3e+ population (%)

(D) CD4+ 및 CD8+ population (%)



(E) CD23+B220+ population (%)

Fig. 2. FACS analysis

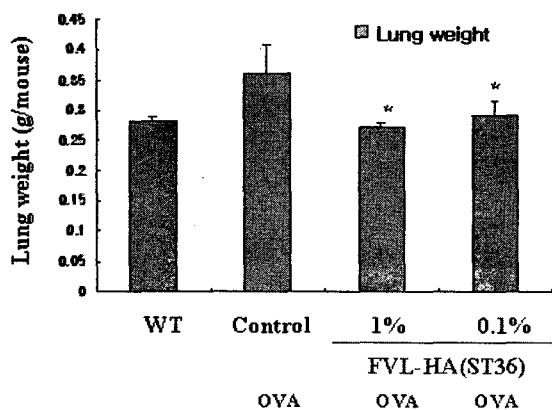


Fig. 3. Lung weight

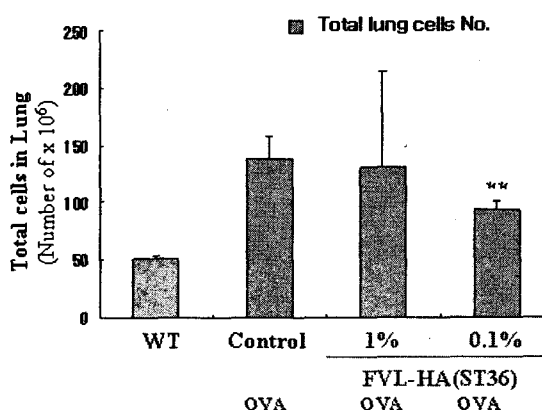


Fig. 4-A. Total cells in lung

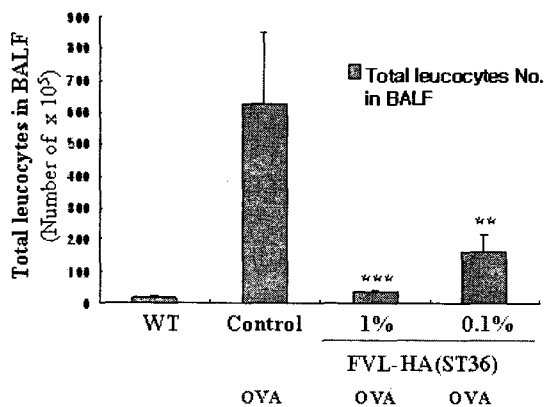


Fig. 4-B. Total leucocytes in BALF

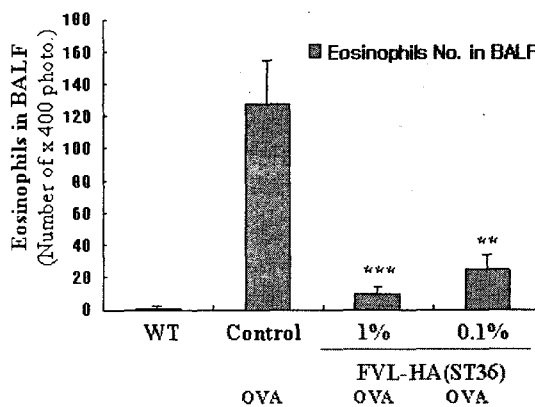


Fig. 4-C. Eosinophils in BALF

Fig. 4. Cell count

③ Eosinophils in BALF

BALF內 好酸球 수를 측정한 결과, 對照群에서는 正常群에 비하여 增加하였고, FVL-HA群에서는 對照群에 비하여 有意하게 減少하였다(p<0.001)(Fig. 4).

3) Photomicrographs of eosinophils in BALF

對照群에서는 好酸球가 다량으로 관찰되었으며 FVL-HA群에서 얻은 BALF에서는 好酸球가 현저하게 減少하였다(Fig. 5).

4) ELISA analysis

① IL-13 in serum

Serum內 IL-13의 양을 측정한 결과, 對照群에서

는 正常群에 비하여 增加하였고, FVL-HA群에서는 對照群에 비하여 有意하게 減少하였다(p<0.01)(Fig. 6).

② IgE in serum

Serum內 IgE의 양을 측정한 결과, 對照群에서는 正常群에 비하여 增加하였고, FVL-HA群에서는 對照群에 비하여 有意하게 減少하였다(p<0.01)(Fig. 6).

③ IL-4 in serum

Serum內 IL-4의 양을 측정한 결과, 正常群에서는 對照群에 비하여 增加하였고, FVL-HA群에서는 對照群에 비하여 有意하게 減少하였다(p<0.01)(Fig. 6).

④ IL-4 in BALF

BALF內 IL-4의 양을 측정한 결과, 對照群에서는 正常群에 비하여 增加하였고, FVL-HA群에서는 對照群에 비하여 有意하게 減少하였다(p<0.01)

(Fig. 6).

5) FACS analysis

FACS분석에 의해 각 Cell을 count하였다.

① Gr-1⁺/CD11b⁺ cell number

肺內 Gr-1⁺/CD11b⁺ 세포수를 측정 한 결과, 對照群에서는 正常群에 비하여 增加하였고, FVL-HA群에서는 對照群에 비하여 減少하였다(Fig. 7).

② CD3e⁻/CCR3⁺ cell number

肺內 CD3e⁻/CCR3⁺ 세포수를 측정 한 결과, 對照群에서는 正常群에 비하여 增加하였고, FVL-HA群에서는 對照群에 비하여 減少하였다(Fig. 7).

③ CD4⁺ cell number 및 CD8⁺ cell number

肺內 CD4⁺세포수와 CD8⁺세포수를 측정 한 결과, 對照群에서는 正常群에 비하여 增加하였고, FVL-HA群에서는 對照群에 비하여 減少하였다(Fig. 7).

④ CD3e⁺/CD69⁺ cell number

肺內 CD3e⁺/CD69⁺ 세포수를 측정 한 결과, 對照群에서는 正常群에 비하여 增加하였고, FVL-HA群에서는 對照群에 비하여 減少하였다(Fig. 7).

⑤ IgE⁺/B220⁺ cell number

肺內 IgE⁺/B220⁺ 세포수를 측정 한 결과, 對照群에서는 正常群에 비하여 增加하였고, FVL-HA群에서는 對照群에 비하여 減少하였다(Fig. 7).

6) RT-PCR analysis

RT-PCR을 이용하여 천식 유발과 관련된 여러 cytokine들의 mRNA 발현을 관찰한 결과, IL-4, IL-5, IL-13의 mRNA 발현이 FVL-HA群에서 對照群에 비하여 현저히 減少하였다(Fig. 8).

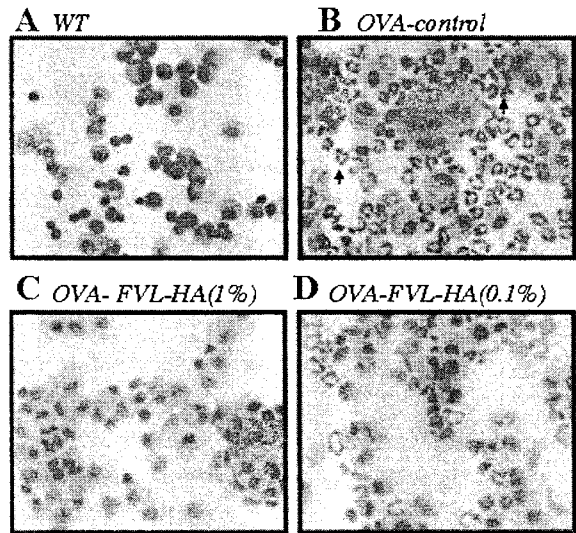
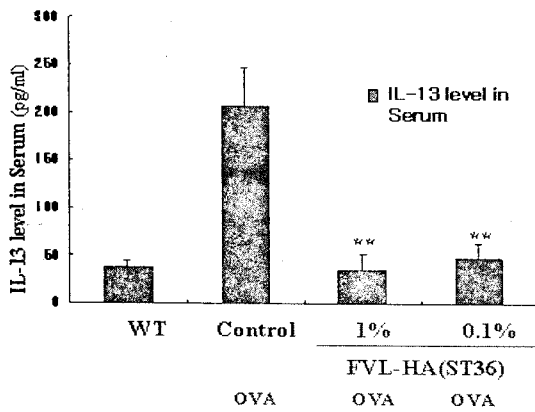
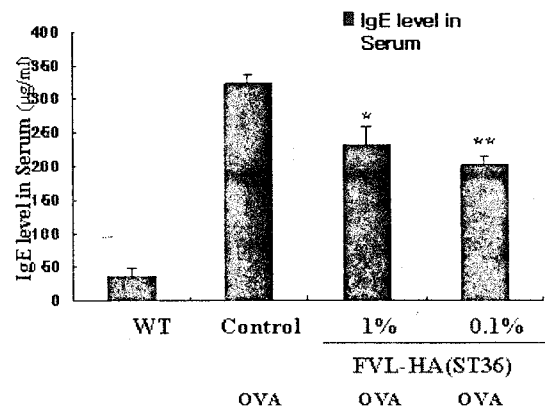


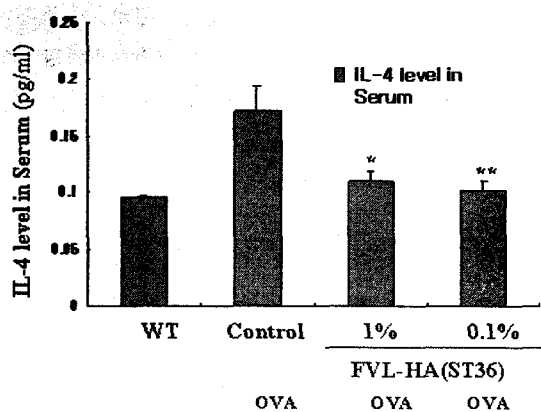
Fig. 5. Photomicrographs of eosinophils in BALF



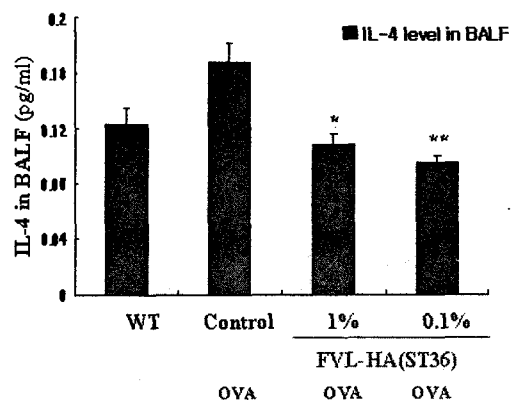
(A) IL-13 in serum



(B) IgE in serum

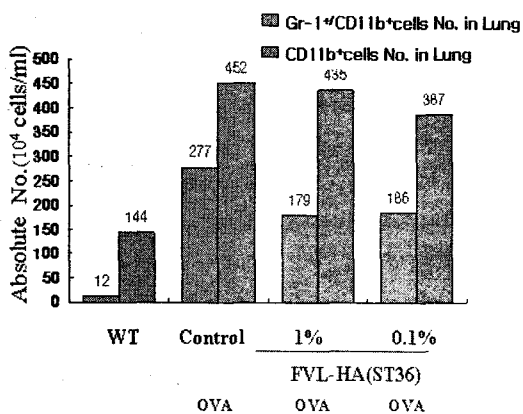


(C) IL-4 in serum

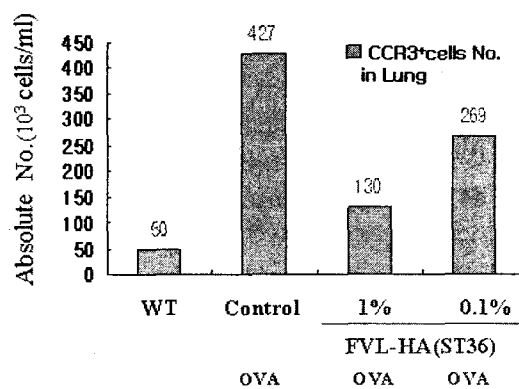


(D) IL-4 in BALF

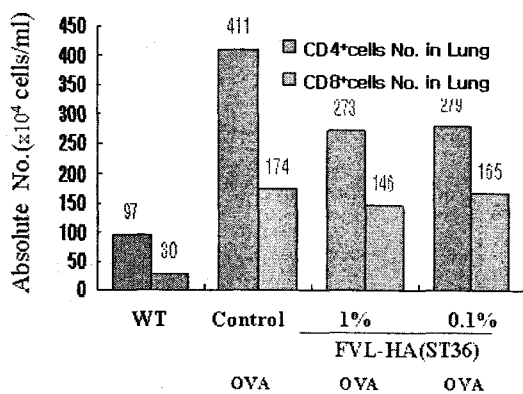
Fig. 6. ELISA analysis



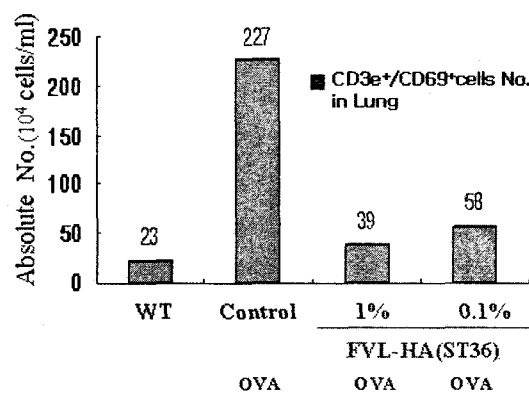
(A) Gr-1⁺/CD11b⁺ cell number



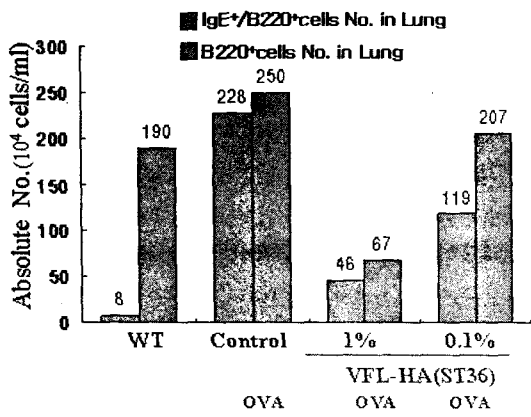
(B) CD3e⁻/CCR3⁺ cell number



(C) CD4⁺ 및 CD8⁺ cell number



(D) CD3e⁺/CD69⁺ cell number



(E) IgE⁺/B220⁺ cell number

Fig. 7. FACS analysis

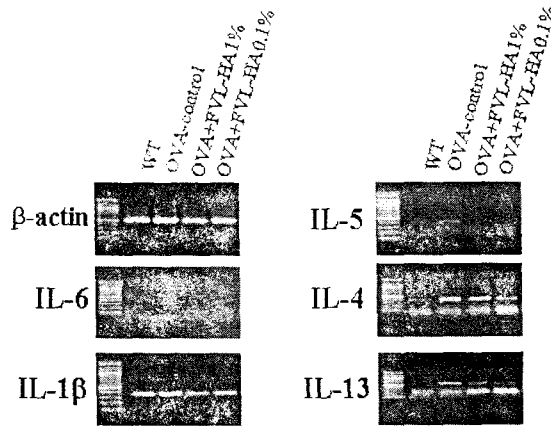


Fig. 8. RT-PCR analysis

IV. 考 察

氣管支 喘息은 肺內氣道의 可變的 혹은 間歇的인 狹窄에 의해 呼吸困難, 기침 혹은 喘鳴의 症狀이 反復的으로 發生하는 疾病으로 臨床的으로 可變的인 氣道閉塞의 症狀을 보이고, 病態生理學적으로는 氣道의 過敏性이 存在하며, 病理學的으로 氣道의 炎症性 反應을 보이는 疾患으로 氣管支 喘息으로 표현하거나²³⁾, 可逆的인 氣道閉塞과 氣管支 過敏性외에 慢性 好酸球性 氣道炎症疾患으로 정의할 수 있다²⁴⁾. 氣管支 喘息 患者에게는 刺戟에 노출될 때 氣管支 收縮이 정상인 보다 예민하고 甚하게 일어나는데, 이러한 現象을 氣管支過敏性 또는 氣道過敏性이라 한다⁴⁾.

氣管支過敏性을 일으키는 原因을 살펴보면 外因性의 吸引 알레르겐(allergen)에 대한 過敏反應, 呼吸器 感染, 일상의 스트레스에 대한 心因性 生理反應, 空氣汚染 등을 들고 있으며 그 외에도 反射, 自律神經異狀, 遺傳的素因, 內分泌 異狀 등이 있으나 알레르기說이 가장 유력시되고 있다. 아직까지 확실히 밝혀지지는 않았지만 지금까지 알려진 喘息의 病因論은 氣道의 收縮, 浮腫, 粘液分泌 및 炎症細胞의 浸潤 등의 現象이 특징적으로 나타난다고 알려졌다^{1,24)}.

治療는 原因 알레르겐 및 악화 인자를 回避하는 環境療法, 原因 알레르겐을 少量씩 皮下注射로 反復施行하여 原因 알레르겐에 대한 感受性을 弱화시켜 症狀의 好轉을 誘導하는 免疫療法이 있다. 藥物療法은 段階別로 施行하는데 처음에는 β2 agonist를 必要時 吸入시키고, 2段階로 낮은 濃度의 steroid를 添

加해 흡입시키다가 3段階로 高濃度の steroid를 쓰거나 낮은 濃度の 吸入用 steroid에 作用時間이 긴 β_2 agonist 또는 낮은 濃度の theophylline 또는 leukotriene 조절제를 追加 投與하고 마지막 4段階는 고용량의 吸入用 steroid와 持續性 吸入 β_2 agonist에 必要時 서방형 theophylline이나 leukotriene 조절제나 持續性 경구용 β_2 agonist 追加하다가 最終 段階로 steroid를 經口 投與한다⁴⁾.

喘息은 韓醫學에서 呼吸急促하고 喘鳴有聲을 特徵인 症候群으로 하는 哮喘證과 유사하다¹⁾. 哮喘은 隋代 巢의 《諸病源候論》²⁵⁾에서 上氣喉中如水鷄鳴과 呻嗽라는 症狀이 처음 기재된 이후에 많은 醫書에 언급되어 왔는데, 明代 이후에 王²⁶⁾, 吳²⁷⁾ 등은 哮은 喉中有痰聲響하고, 喘은 呼吸急促한 것이므로 哮와 喘을 區分하였으나, 清代의 葉²⁸⁾이 哮와 喘을 구분하지 않고 단지 症狀의 輕重, 緩急이 서로 다르다고 한 이후, 哮喘證은 喘鳴有聲, 呼吸急促한 하나의 症候群으로 認識되고 있다²⁹⁾.

喘息의 原因은 寒冷, 心因, 痰因, 素因, 感染, 過敏性 反應 등 다양하다. 巢⁶⁾, 朱³⁰⁾, 樓³¹⁾ 등은 痰飲을 哮喘의 原因이라 하였고, 張³²⁾은 夙根이라 하여 遺傳이나 臟腑의 機能低下 등의 內在의 素因을 가지고 있는 사람이 寒冷, 疲勞 등을 만나면 發生된다고 하였다.

哮喘은 虛症과 實症으로 나누어 治療한다¹⁾. 實症의 特徵은 病勢가 急迫하고 呼吸은 深長하며 여유가 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 해야 한다. 實症은 風寒痰濁 등의 病邪가 爲主가 되므로 外感風寒은 祛風散寒, 宣肺定喘하고, 痰濕은 燥濕化痰, 降氣定喘하고, 寒痰은 溫肺散寒, 定喘化痰의 治法으로 治療하고, 虛症은 肺虛腎虛 등이 爲主가 되므로 肺虛는 涼肺定喘하고, 心身虛損은 補益心身, 納氣定喘하고, 上實下虛에는 瀉肺化痰, 補益身元시키는 治法으로 治療한다¹⁾.

最近에는 喘息에 效果가 있다고 記錄된 方劑 및 本草를 利用한 實驗的, 臨床的 研究가 報告되고 있다. 김⁷⁾ 등은 加味淸上補下湯이 喘息에 미치는 影響에 관한 實驗的 研究를 報告하였고, 권⁸⁾ 등은 五拗湯이, 권⁹⁾ 등은 淸上補下湯이, 김¹⁰⁾ 등은 解表二陳湯

이, 조¹¹⁾ 등은 小青龍湯이 allergy喘息의 呼吸樣相과 氣管組織에 미치는 影響을 報告하였고, 허¹²⁾ 등은 瀉白散과 甘草가, 차¹³⁾ 등은 小青龍湯이, 이¹⁴⁾ 등은 麥門冬과 五味子가, 백¹⁵⁾ 등은 解表二陳湯加減方이, 정¹⁶⁾ 등은 杏仁과 桔梗이 Asthma model 내의 cytokine에 미치는 影響을 報告하였고, 김¹⁷⁾ 등은 麥門冬湯과 定喘化痰降氣湯이, 이¹⁸⁾ 등은 小青龍湯이, 김¹⁹⁾ 등은 桑白皮가 BALF內 免疫細胞들에 미치는 影響을 報告하였다.

藥鍼療法은 經絡學說의 原理에 依據하여 選擇된 藥物을 疾病과 有關한 穴位, 壓通點 및 陽性反應點에 注入하여 刺鍼과 藥物作用을 통하여 生體의 機能을 調定하고 疾病을 治療하는 新鍼療法으로 體液系統, 免疫系統, 神經系統의 調節作用, 神經傳導, 協調陰陽, 疏通經絡, 調和榮衛氣血 등의 效果가 있다³⁵⁾. 疾病에 따라 選擇된 藥物의 藥液을 經絡學說에 依하여 有關한 穴位 또는 壓通點에 注入하여 鍼과 藥物의 併合된 效果를 통하여 生體의 機能을 調整하고 病理形態를 變化시켜 鎮痛, 腫瘍誘發抑制 등의 治療效果가 있는 것으로, 藥物의 吸收가 빠르고, 經口投與가 不可能한 境遇에 處置할 수 있으며, 患處에 處置할 수 있는 등의 長點이 있다³⁶⁾.

絲瓜絡(Fasciculus Vascularis Luffae)은 葫蘆科(박과;Cucurbitace-ae)에 속한 一年生 덩굴성식물인 수세미이 *Luffa cylindrica* (L.) R-oem의 成熟한 果實을 採集하여 外皮와 果肉을 除去한 網狀의 纖維質을 乾燥한 것으로 性은 平 無毒하고, 味는 甘하다. 歸經은 肺, 胃, 肝經이고 通經活絡, 淸熱化痰의 效能으로 胸脇疼痛, 肺熱痰咳, 등을 主治한다²⁰⁾.

足三里(St36)는 足陽明胃經의 合土穴로 臨床에서 가장 많이 活用되는 穴로서 主治範圍가 廣範圍하며²²⁾, 通調經絡, 調和氣血, 扶正培元 등의 效能이 있어 消化系統 疾患 뿐 아니라 循環 呼吸 및 全身系統에 良好한 效果를 나타내어 喘息에 대응되었던 經穴이다²¹⁾.

이에 著者는 絲瓜絡 藥鍼(FVL-HA)이 알레르기 喘息모델 생쥐의 喘息抑制 및 免疫調節效果를 알아보기 위하여 C57BL/6생쥐에 ovalbumin을 腹腔注入 및 吸入시켜 알레르기 喘息病態을 誘發시키고, 絲瓜絡 藥鍼液을 足三里(St36)에 注入한 후, 각기 正常群과 對照群으로 나누어 아래의 6가지 항목으로 實驗群과 비교하여 分析하였다.

첫째, 생쥐의 肺 質量, 둘째, 肺內 總細胞 數, BALF內 總림프구 數, BALF內 總好酸球 數의 細胞

數 分析, 셋째, BALF內 好酸球의 현미경사진 분석, 넷째, ELISA를 이용한 血清내 IL-13, IgE, IL-4, BALF內 IL-4의 定量 분석, 다섯째, FACS를 이용한 肺內 Gr-1⁺/CD11b⁺, CD3⁺/CCR3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD3e⁺/CD69⁺, IgE⁺/B220⁺細胞數의 變化 분석, 여섯째, RT-PCR을 이용한 喘息誘發과 관련된 여러 cytokine 들의 mRNA 發現 觀察을 시행하였다.

첫째, 肺 質量 分析에서 FVL-HA群이 對照群에 비하여 肺 質量이 有意하게 減少하였는데(Fig. 4), 喘息에서 肺 質量의 增價는 肺의 炎症性變化로 인한 氣道 및 氣管支의 浮腫 및 細胞浸潤, 粘液分泌의 增價 등으로 인한 것이므로 實驗群의 肺 質量 減少는 絲瓜絡藥鍼이 氣管支의 浮腫, 粘液 및 炎症減少 등의 有效한 效果를 미쳤을 것으로 생각할 수 있다.

둘째, 細胞數 分析에서 肺內 總細胞 數, BALF內 總림프구 數, BALF內 總 好酸球 數가 FVL-HA群에서 對照群에 비하여 有意하게 減少하였는데(Fig. 4(A)~Fig. 4(C)), 喘息에서 BALF內 總細胞數가 높다는 것은 好酸球, 림프구, 大食細胞등 喘息의 慢性 炎症性 病理를 일으키는 細胞들이 氣道에 많이 沈着 되어있다는 것을 意味하며 특히 好酸球는 가장 중요한 알레르기 炎症 細胞인데 이들 細胞數의 減少로 絲瓜絡藥鍼이 氣管支 內에서 喘息과 有關한 炎症細胞들의 凝集 및 浸潤에 抑制效果가 있는 것으로 料된다.

셋째, BALF內 好酸球의 현미경사진 分析에서 FVL-HA群이 對照群에 비해 有意하게 好酸球가 줄어들었으며, 이 또한 絲瓜絡藥鍼이 氣管支 內에서 好酸球의 凝集 및 浸潤을 抑制시키는 것으로 料할 수 있다(Fig. 5).

넷째, ELISA를 이용한 血清내 IL-13, IgE, IL-4, BALF內 IL-4의 定量 分析에서 모두 FVL-HA群이 對照群 보다 有意하게 減少하였는데(Fig. 6(A)~Fig. 6(D)), IL-4, IL-13은 B細胞를 刺戟하여 IgE 形成을 促進시키고, 好酸球의 凝集을 惹起하고, Th2細胞의 生成을 돕는다³⁴⁾. IL-4는 B 細胞 活性化와 isotype switching, 특히, IgE 抗體의 發生에 있어서 重要的 役割을 한다. 機能性 IL-4 遺傳子가 缺乏된 생쥐는 IgE를 生産할 수 없으니 免疫反應 初期段階에서 IL-4의 出現은 反應의 性質에 重要的 影響을 준다. IL-4는 T細胞에 의한 IL-4의 보다 많은 生産을 도와주며, 抗體 形成을 增進시키고, 遲延型 過敏性 反應을 抑制하는 IFN- γ 의 生産을 抑制한다³⁷⁾. IL-13은 Th2細胞에서 주로 生産하며, IL-4와 機能적으로 類

似하고, Th2細胞의 生成 및 IgE의 生産을 促進한다. 이에 대한 受容體는 大食細胞, 好酸球 好鹽基球, 肥滿細胞, 內皮細胞등에 發顯되며, T細胞에는 發顯되지 않는다³⁷⁾. 血清 IgE는 주로 IL-4, IL-13, IFN- γ 에 의해 調節되고, 肥滿細胞나 好鹽基球의 細胞表面에 강력히 結合하여 있으며, 肥滿細胞와 好鹽基球에서 히스타민과 세로토닌 등 毒性을 가진 아민化合物이 分泌되게 되어 심한 過敏症狀을 일으키게 되므로³⁸⁾ 알레르기反應에서 血清IgE의 양은 重要的 要件이 된다³⁹⁾. 따라서 IL-13, IL-4, IgE의 減少를 볼 때 絲瓜絡藥鍼이 IL-4, IL-13의 生産을 抑制함으로써 B細胞의 活性化抑制와 IgE의 生産을 抑制하는 效能을 하여 氣管支喘息에 效果가 있을 것으로 料된다.

다섯째, FACS를 이용한 肺內 Gr-1⁺/CD11b⁺, CD3⁺/CCR3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD3e⁺/CD69⁺, IgE⁺/B220⁺細胞數의 分析에서 모두 FVL-HA群이 對照群보다 有意하게 減少하였다(Fig. 7(A)~Fig. 7(E)). 各各의 의미를 자세히 살펴보면, Gr-1은 顆粒球에 많고, CD11b는 細胞癒着分子(Mac-1)로서⁴⁾, 림프구, 大食細胞의 表面에서 發顯되며, 好酸球가 標的臟器로 流入할 때 Rolling 후 두 번째 단계에서 內皮에 發顯되어 있는 ICAM-1, 2(intercellular adhesion molecule 1, 2) 등과 癒着하여 內皮細胞와 강하게 癒着하여 이후 PAF LTB₄, eotaxin(CCL11), RANTES 등의 化學走性因子 등에 의해 徑皮內 移動이 일어나 結締組織으로 流入되게 된다⁴⁾. 따라서 BALF內의 Gr-1⁺/CD11b⁺細胞數의 減少는 絲瓜絡藥鍼이 好酸球의 內皮細胞癒着에 의한 徑皮內 移動을 減少시키는 것으로 料된다.

CCR3는 好酸球에서 가장 높게 나타나고, 好鹽基球, Th2細胞, 喘息환자의 氣道上皮細胞에서 보이며, 好酸球의 活性化와 脫顆粒化에 關여하는 因子로³⁸⁾, CCR3가 活性化되면 好酸球, 好鹽基球, 肥滿細胞, Th2細胞의 활성화로 조직에 damage를 주고, 이중 Th2細胞는 IL-5, IL-3을 分泌하여 好酸球를 活性化시킨다. CD3는 T細胞의 決定 標式 因子로 T림프구의 抗原 受容體에 抗原이 결합된 信號를 細胞안으로 전달하는 역할을 한다⁴⁾. 따라서 BALF內의 CD3⁺/CCR3⁺細胞數 減少는 絲瓜絡藥鍼이 好酸球數를 減少시켜 喘息抑制 效果가 있을 것으로 料된다.

CD4는 Th細胞와 單球一部, 皮質 가슴샘 細胞 一部에 發顯하는 것으로 TCR과 함께 MHC class-II를 認知하는 機能을 하고, Th2細胞를 인식하여 IL-4, IL-5, IL-13을 發顯하고, CD8은 Tc細胞, Ts細胞

胞, NK 細胞 一部, 皮質 가슴샘 細胞의 一部에 發現하는 細胞로 TCR과 함께 MHC class-I을 認知하는 機能을 한다. 따라서 CD4와 CD8의 減少는 絲瓜絡藥鍼이 喘息에 의한 염증과 알러지 반응에 중요한 역할을 담당하는 T細胞의 減少에 영향을 미쳐 과민한 免疫反應을 調節하는 效果가 있음을 알 수 있다.

CD3는 T細胞에 분포하여, Th細胞의 신호전달 역할을 하고, CD69는 活性化된 B細胞와 T細胞, 大食細胞, NK細胞에 分布하며⁴⁰⁾, 림프구의 신호 전달에 關與한다. 따라서 BALF內의 CD3e⁺/CD69⁺細胞數가 有意하게 減少하여 絲瓜絡藥鍼이 Th-2細胞의 減少로 喘息에 의한 염증과 알러지 반응을 減少시키는 것으로 나타났다.

B220은 쥐의 B細胞 表面에 있는 표식자로¹⁹⁾ 抗原에 刺戟을 받으면 Th2細胞는 IL-4를 分泌하여 B細胞에 IgE의 生産을 促進시킨다⁴¹⁾. IgE는 抗原이 氣道內에 들어오면, 생성되어 肥滿細胞나 好鹽基球 등의 受容體에 달라붙어서 알레르기 반응에 중요하게 關여하는 면역글로불린으로, IgE의 減少는 B細胞에서 알레르기 반응의 減少를 나타낸다³³⁾. 따라서 IgE⁺/B220⁺細胞數의 減少는 알레르기 반응을 일으키는 B細胞의 減少를 의미한다. 따라서 絲瓜絡藥鍼이 IgE를 減少시키고 喘息抑制 效果를 나타냄을 알 수 있다.

여섯째, RT-PCR을 이용한 여러 cytokine 들의 mRNA 發現을 관찰한 결과, 喘息誘發과 關連된 IL-4, IL-5, IL-13의 mRNA 發現이 FVL-HA群에서 對照群에 비해 減少하여 絲瓜絡藥鍼이 喘息에 의한 炎症과 알러지 반응을 減少시킴을 알 수 있었다 (Fig. 8).

以上の 實驗結果를 綜合하여 보면 絲瓜絡藥鍼이 喘息억제 및 免疫機能調節에 有效한 것으로 나타나 향후 이에 대한 지속적인 研究와 活用이 필요하리라 思料된다.

V. 結 論

알레르기 喘息 모델 생쥐의 실험을 통해 絲瓜絡藥鍼의 喘息抑制 및 免疫調節效果를 관찰한 결과 다

음과 같은 結論을 얻었다.

1. 肺의 질량은 FVL-HA群에서 對照群에 비해 有意하게 減少하였다.
2. 肺內 總細胞 數, BALF內 總림프구 數, BALF內 總好酸球 數가 모두 FVL-HA群에서 對照群에 비하여 有意하게 減少하였다.
3. BALF內 好酸球의 현미경사진 分析에서 FVL-HA群에서 對照群에 비해 有意하게 好酸球가 減少하였다.
4. 血清內 IL-13, IgE, IL-4, BALF內 IL-4의 定量 分析에서 모두 FVL-HA群이 對照群 보다 有意하게 減少하였다.
5. 肺內 Gr-1⁺/CD11b⁺, CD3⁻/CCR3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD3e⁺/CD69⁺, IgE⁺/B220⁺細胞數의 分析에서 모두 FVL-HA群이 對照群 보다 有意하게 減少하였다.
6. 喘息誘發과 關連된 여러 cytokine들의 mRNA 발현을 관찰한 결과, IL-4, IL-5, IL-13 등의 mRNA 발현이 FVL-HA群에서 對照群에 비하여 有意하게 減少하였다.

VI. 參考文獻

1. 전국한외과대학 폐계내과학교실. 東醫肺系內科學. 서울 : 한문화사. 2002 : 178-99.
2. 丁奎萬. 알레르기와 한방. 서울 : 第一路. 1990 : 15-61.
3. 劉世和. 氣管支喘息의 診斷. 결핵 및 호흡기 질환. 1983 ; 30(2) : 57.
4. 대한 천식 및 알레르기학회. 천식과 알레르기 질환. 서울 : 군자출판사. 2002 : 13-33, 244-50.
5. Nathan Rabinovitch, Erwin W. Gelfand. New approaches to the treatment of childhood asthma. 1998 : 243-9.
6. 上海中醫學院. 中國內科學. 上海 : 商務印書館香港分館. 1983 : 17-23.
7. 김진일. 加味清上補下湯이 알러지성 기관지천식에 미치는 영향. 동의병리학회지. 2002 ; 16(6) : 1217-22.
8. 권순호, 정희재, 정승기, 이형구. 五拗湯이 allergy

- 喘息의 呼吸樣相과 氣管組織에 미치는 影響. 대한한의학회지. 1999 ; 20(2) : 98-107.
9. 권혁성, 정희재, 정승기, 이형구. 淸上補下湯이 allergy喘息의 呼吸樣相과 氣管組織에 미치는 影響. 경희한의대논문집. 1999 ; 22(1) : 203-15.
 10. 김승수, 정희재, 정승기, 이형구. 解表二陳湯이 allergy喘息의 呼吸樣相과 氣管組織에 미치는 影響. 대한한방내과학회지. 1999 ; 19(2) : 59-73.
 11. 조영민, 정희재, 정승기, 이형구. 小青龍湯이 allergy喘息의 呼吸樣相과 氣管組織에 미치는 影響. 경희의학. 1999 ; 15(1) : 78-89.
 12. 허대석. 瀉白散과 甘草가 asthma모델내의 Cytokine IL-4, IL-5, IL-6에 미치는 영향. 경희대학교 대학원 석사학위논문. 2000.
 13. 차은수, 정희재, 정승기, 이형구. 小青龍湯이 Asthma model 내의 Cytokine에 미치는 影響. 경희한의대논문집. 2000 ; 23(1) : 71-88.
 14. 이동생, 정희재, 정승기, 이형구. 麥門冬과五味子가 Asthma model內的 Cytokine IL-4, IL-5, IL-6에 미치는 影響. 경희의학. 2000 ; 16(2) : 69-80.
 15. 백동진, 정희재, 이형구, 정승기. 解表二陳湯加減方이 Asthma model內的 Cytokine에 미치는 影響. 대한한의학회지. 2000 ; 21(3) : 3-13.
 16. 정욱, 정희재, 정승기, 이형구. 杏仁과 桔梗이 Asthma model 내의 Cytokine IL-4, IL-5, IL-6에 미치는 影響. 대한한방내과학회지. 2000 ; 21(1) : 31-8.
 17. 金珍珠. 麥門冬湯과 定喘化痰降氣湯이 알레르기 喘息 모델 環쥐의 BALF內 免疫細胞 및 血清 IgE에 미치는 影響. 경희대학교 대학원 박사학위논문. 2001.
 18. 李俊雨. 小青龍湯이 알레르기 喘息 모델 環쥐의 BALF內 免疫細胞에 미치는 影響. 경희의학. 2001 ; 17(2) : 242-53.
 19. 김대겸. 桑白皮가 제 I 형 알레르기 喘息 모델 環쥐의 BALF內 免疫細胞 및 血清 IgE에 미치는 影響. 경희대학교 대학원 석사학위논문. 2002.
 20. 전국한의학대학 본초학교수 공편. 本草學. 서울 : 永林社. 1998 : 278-9.
 21. 이성환, 김장환, 이운호. 천식의 침구치료에 관한 문헌적 고찰. 대한침구학회지. 2000 ; 17(3) : 36-44.
 22. 全國韓醫科大學 鍼灸經穴學敎室. 鍼灸學(上,下). 서울 : 集文堂. 1991 : 214-34, 382-4, 699-701, 730-2, 1457-67.
 23. 한용철. 臨床呼吸器學. 서울 : 일조각. 1998 : 208-15.
 24. 전국의과대학교수. 오늘의 진단 및 치료. 서울 : 한우리 1999 : 287.
 25. 巢元方. 諸病源候論(卷13,14). 서울 : 大星文化社 1992 : 106-17.
 26. 王肯堂. 證治準繩(一). 北京 : 人民衛生出版社. 1991 : 229-31.
 27. 吳謙. 醫宗金鑒(中). 서울 : 大星文化社. 1991 : 390-1.
 28. 葉天士. 臨證指南醫案. 서울 : 成輔社. 1982 : 299-300.
 29. 吉村永星, 黃義玉, 鄭昇杞, 李珩九. 알레르기性 喘息에 關한 文獻的 考察 (東西醫學的比較考察). 大韓韓醫學會誌. 1990 ; 11(1) : 39-70.
 30. 朱 橐. 普濟方. 北京 : 人民衛生出版社. 1982 : 1789.
 31. 樓 英. 醫學綱目. 北京 : 中國中醫藥出版社. 1996 : 598.
 32. 張介賓. 景岳全書. 台北 : 台聯國風出版社. 1973 : 429.
 33. Roitt IM. Roitt's Essential Immunology Blackwell Science. 1997 : 95, 201-21, 363-7.
 34. Ferreira MB, Palma Carlos AG. Cytokines and asthma, J. of investigational allergology and clinical immunology. 1998 ; 8(3) : 141-8.
 35. 金定濟 외. 最新鍼灸學. 서울 : 成輔社. 1979 : 405.
 36. 崔岐燮. 水鍼療法에 關한 考察. 大韓韓醫學會誌. 1990 ; 11(1) : 315-6, 324-6.
 37. Chung KF, Barnes PJ. Cytokines in asthma. Thorax. 1999 ; 54 : 825-57.
 38. 하대유 외 25인 편역. 그림으로 본 면역학. 서울 : 고문사. 1994 : 279-300.
 39. Mehlhop PD, Van De Pijn M, Goldberg AB, Brewer JP, Kurup VP, Martin TR, Oett gen HC. Allergen-induced bronchial hyperreactivity and eosinophilic inflammation occur in the absence of IgE in a mouse model of asthma. Immunology. 1997 ; 94 : 1344-9.
 40. 김세종. 면역학. 서울 : 고려의학. 1994 : 3, 8, 25, 26, 28, 31, 32, 134.