

# 百部根 藥鍼의 喘息抑制 및 면역조절효과에 대한 실험적 연구

허 민 · 오영선<sup>1</sup> · 조현경 · 유호룡 · 김윤식 · 설인찬\*

대전대학교 한의과대학 내과학교실, 1: 대전대학교 혜화병원

## Experimental Study on the Suppression Effect of Asthma and Immune Response Improvement of Stemonae Radix Herbal-acupuncture

Min Heo, Young-seon Oh<sup>1</sup>, Hyun-kyung Jo, Ho-rhyong Yoo, Yoon-sik Kim, In-chan Seol\*

*Department of Internal Medicine, College of Oriental Medicine, 1: Hyehwa Hospital, Daejeon University*

The aim of this study was to investigate the effect of SR-HA(Stemonae Radix-herbal acupuncture) at Joksamni(ST36) on ovalbumin-induced asthma in mice. C57BL/6 mice were sensitized and challenged with OVA(ovalbumin) for 12 weeks(once a week). One of the two experimental groups was just treated with needle-prick on Joksamni(ST36) and the other group was treated with 1% concentrations of SR-HA at Joksamni(ST36) for the later 8 weeks (3times/week). The weight of lung of the mice group treated with SR-HA decreased significantly compared with those of control group, and significantly increased compared with those of normal group. The total cells of lung of the mice group treated with SR-HA decreased significantly compared with those of control group. Total leukocytes and eosinophils in BALF of the mice group treated with SR-HA decreased significantly compared with those of control group. Eosinophils in BALF of the mice group treated with SR-HA in Photomicrographs decreased significantly compared with those of control group. According to histological analysis of lung sections, adhesion of collagen in SR-HA decreased significantly compared with that of control group. The concentration of IgE, IL-4, IL-5 in BALF of the mice group treated with SR-HA decreased significantly compared with that of control group, and significantly increased compared with those of normal group. The concentration of IL-4, IL-5, IL-13 in serum of the mice group treated with SR-HA decreased significantly compared with that of control group, and significantly increased compared with those of normal group. The number of Gr-1+/CD11b+, CD3-/CCR3+, CD4+, CD8+, CD3e+/CD69+ cells in the lungs of the mice group treated with SR-HA decreased significantly compared with those of control group. These results suggest that Stemonae Radix Herbal-acupuncture at Joksamni(ST36) in C57BL/6mice may be an effective part to OVA-induced asthma in C57BL/6 mice.

**Key words :** SR(Stemonae Radix), herbal acupuncture, Asthma

### 서 론

喘息은 여러 가지 자극에 대한 氣道의 과민반응을 특징으로 하는 질환으로서 발작성 호흡곤란, 喘鳴, 離氣의 過吸氣, 기침, 라음(rale)이 나타나며 임상적으로는 可變的인 氣道閉塞를 보이는 질환이고, 病態生理學의 으로는 氣道의 과민성을 특징으로 하는 질환이며, 病理學의 으로는 氣道의 염증성 반응을 보이는 질환으로 정의되고 있다<sup>1)</sup>.

喘息의 정확한 원인은 불명확하나 氣道에 Th2세포, 호산구, 비만세포 등의 염증세포 浸潤이 공통적으로 나타나며 氣道의 平滑筋 收縮, 氣道 粘膜上皮의 肥厚, 氣道內의 粘液의 존재 등이 나타난다<sup>2)</sup>.

喘息은 韓醫學의 哮喘證과 유사한 질환이다. 氣息이 연속적으로 促急하여 호흡곤란 한 것을 哮이라 하고, 喉中에서 소리가 나는 것을 哮라고 하는데, 哮症, 哮症, 痰飲의 병주로 간주하고 있으며, 임상적으로 哮는 喘을 반드시 겸하므로 哮喘이라 한다<sup>3,4)</sup>.

喘症의 원인은 隋代 巢의 《諸病源候論》<sup>5)</sup>에 처음 기술된 이 후 寒冷說, 心因說, 痰因說, 素因說, 感染說, 過敏性反應, 肺腎의 呼吸機能障礙 등으로 분류하여 潤肺 祛痰, 定喘補陰해야 하며<sup>6)</sup> 그간 五拗湯<sup>7,8)</sup>, 加味清上補下湯<sup>9)</sup>, 解表二陳湯<sup>10)</sup> 등이 보고되었다.

\* 교신저자 : 설인찬, 대전시 종구 대흥동 22-5 대전대학교 부속 한방병원

· E-mail : seolinch@dju.ac.kr · Tel : 042-229-6805

· 접수 : 2006/04/10 · 수정 : 2006/05/10 · 채택 : 2006/05/31

百部根(Stemonae Radix)은 百部根科에 속한 多年生 本草로 性味가 微溫 甘苦 肺經에 歸經하여 潤肺下氣止咳하는 效能으로 新久咳嗽, 肺勞咳嗽, 百日咳 등에 사용된다<sup>11)</sup>.

이에 저자는 百部根藥錫이 allergy 喘息모델 생쥐의 喘息抑制 및 免疫調節效果를 알아보기 위하여, 생쥐에 ovalbumin을 吸入시켜 알레르기 喘息病態를 誘發시키고, 百部根藥錫을 足三里(ST36)에 刺入한 후 BALF (bronchoalveolar-lavage fluid) 및 血清検査를 통하여 喘息抑制效果에 有意性있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

## 실험

### 1. 재료

#### 1) 동물

동물은 雌性인 4~5週齡의 C57BL/6생쥐를 대한실험센터에서 공급받아 실험 당일까지 固型飼料(抗生素 無添加, 삼양사료)와 물을 충분히 공급하고, 실온 22±2°C를 유지하여 2주일 간 실험실환경에 적응시킨 후 실험에 사용하였다.

#### 2) 약재

실험에 사용된 百部根(Stemonae Radix ; 以下 SR이라 표기)은 대전대학교 부속한방병원에서 구입한 것을 精選하여 사용하였다.

#### 3) 약침액의 제조

百部根 55g을 분쇄기를 이용해서 분말로 하여 원형 삼각 flask에 넣고 증류수 500ml를 가하여 3시간 동안 shaking water bath에서 유출하고, 유출액을 여과하였다. 이 여과액을 여과자로 3회 여과한 후, rotary evaporator로 減壓濃縮하였다. 이 농축액에 95% ethyl alcohol 30ml를 가하고,攪拌한 후 실온에 방치하여, 침전물이 생성되게 한 후 여과하였다. 이 여과액을 rotary evaporator로 減壓濃縮한 후, 농축액을 다시 여과하였다. 이 여과액에 85% ethyl alcohol 30ml를 가하고 잠시攪拌한 후 방치하여, 침전물이 생성되게 한 후 여과하였다. 여과액에 75% ethyl alcohol 30ml를 가하고 攪拌한 후 방치하였다가 여과하는 조작을 2회 반복하였다. 여과액중의 ethyl alcohol 성분을 rotary evaporator로 減壓 제거하고, 남은 농축액이 20ml가 되게 하였다. 1N NaOH를 이용하여 농축액을 pH6.8이 되도록 조절하고, 저온에서 12시간 방치한 후 滅菌하였다. 滅菌된 농축액에 PBS를 가하여 1%로 희석하여 약침액으로 사용하였다.

### 2. 방법

#### 1) Asthma mouse model 작성

실험 1주째 200μl의 OVA/alum(500μg/ml)을, 2.3주째에는 100μl OVA/alum (500μg/ml)을 생쥐의 복강에 투여(i.p.)하였다. 4주째에는 마취 후에 100μl의 OVA/alum (500μg/ml)을 기도투여(i.t.)하였다. 5-8주째까지는 2.5mg/ml의 OVA/PBS 40μl을, 9-12주째까지는 5mg/ml의 OVA/PBS 40ml을 air compressor를 이용하여 30분간 주 3회 노출시켰다.

#### 2) Classification of experimental animal groups

실험군은 7마리를 1군으로 하여, 정상군(normal), 대조군(OV A-control), N.P군(OVA-Needle prick), 百部根藥錫군

(OVA-SR-HA) 등 4군으로 나누었다. 정상군(normal)은 아무런 처치도 하지 않았고, 대조군(OVA-control)은 喘息만 유발하고 다른 처치는 하지 않았다. N.P군(OVA-Needle prick)은 喘息을 유발하고 우측 족삼리(ST36)에 주사기를 刺入한 후 즉시 제거하였다. 百部根藥錫군(OVA-SR-HA)은 喘息 유발 후 우측 족삼리(ST36)에 1%의 百部根藥錫液(100μl)을 주입하였다. N.P刺戟 및 百部根藥錫은 5주째부터 12주째까지 8주간 주 3회 시행하였다.

#### 3) Bronchoalveolar-lavage fluid(BALF) isolation

생쥐를 마취한 후 表皮를 열고 氣道에 10% FBS/DMEM medium을 넣은 주사기를 삽입하고 끈으로 묶어 고정한 후 10% FBS/DMEM medium 3회 순환시켜 분리하였다.

#### 4) Photomicrographs

분리된 BALF를 세척해서 cytocentrifuge에 1,000r.p.m으로 5分간 원심 분리하여 고정시킨 후 blood smears staining set를 사용하여 염색하였다. 공기 중에서 건조시킨 후 bright microscope로 측정하였다.

#### 5) Histological analysis

조직은 Masson's trichrome 염색을 하였다. 폐조직의 일부 cryotome를 이용하여 절편을 한 후, Masson's trichrome stain system을 사용하여 염색하였다.

#### 6) Fluorescence activated cell sorter(FACS) analysis

생쥐에서 분리해낸 폐 조직을 잘게 절단한 후 collagenase를 가하여 incubation 통해 분리해 낸 세포에 標式抗體를 반응시켜 flow cytometer로 분석하였다.

#### 7) Enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA) analysis

ELISA Kit를 사용하여, 생쥐에서 분리한 BALF와 serum에서 각 cytokine량을 측정하였다. 抗cytokine 抗體가 코팅된 96well plate에 BALF 또는 serum을 가하여 반응시킨 후 4번 세척하였다. 그 후 biotin이 標式된 抗cytokine 抗體를 가하여 반응시킨 후 4번 세척하고 여기에 streptavidin-HRP를 가하여 ELISA-reader를 이용하여 측정하였다.

#### 8) 통계처리

본 실험에서 얻은 실험군간의 결과에 대하여 ANOVA multi t-test로 분석하여 p값을 구했다. 百部根藥錫군을 control군 및 Needle prick군과 비교하여 p<0.05 일 때 유의성이 있다고 판정하였다.

## 결과

### 1. Lung weight

足三里 百部根藥錫이 천식에 미치는 영향을 알아보기 위하여 실험동물의 폐 무게를 측정한 결과, control군의 폐 무게는 normal군에 비하여 증가하였고, 百部根藥錫(SR-HA)군에서는 control군에 비하여 유의하게(p<0.05) 감소하였다. (Fig. 1).

### 2. Cell count

#### 1) Total cells in lung

Control군에서 normal군에 비하여 총세포수가 증가하였으며, 百部根藥錫(SR-HA)군에서는 control군 및 needle-prick군에 비하여 매우 유의하게(p<0.01) 감소하였다(Fig. 2).

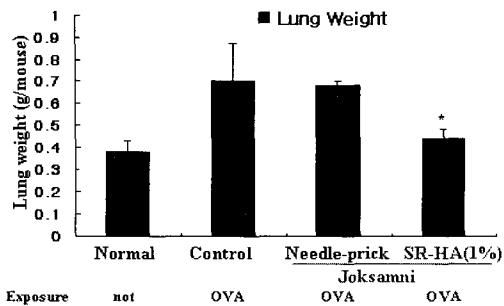


Fig. 1. Effect of SR-HA on lung weight in mice with OVA-induced asthmatic mouse lung weight. \*P<0.05 compared to the control group.

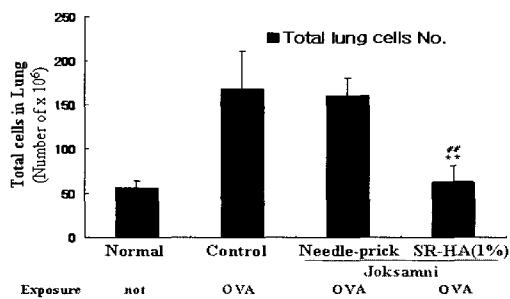


Fig. 2. The number of total cells in OVA-induced asthmatic mouse lung tissue. \*\*P<0.01 compared to the control group, ##P<0.01 compared to the needle-prick group.

## 2) Total Leukocyte in BALF

Control군에서는 BALF내 leukocyte 수가 증가하였고, 百部根藥鍼(SR-HA)군에서는 control군 및 needle-prick군에 비하여 매우 유의성 있게(p<0.01) 감소하였다(Fig. 3).

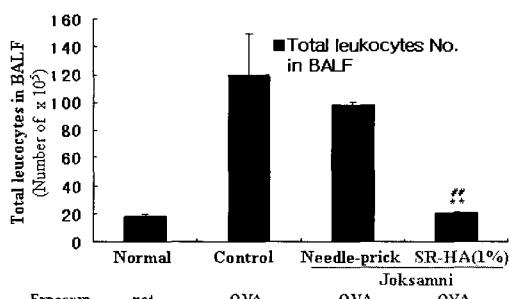


Fig. 3. The number of Total leucocytes in bronchoalveolar lavage fluid(BALF). \*P<0.01 compared to the control group, # compared to the needle-prick group.

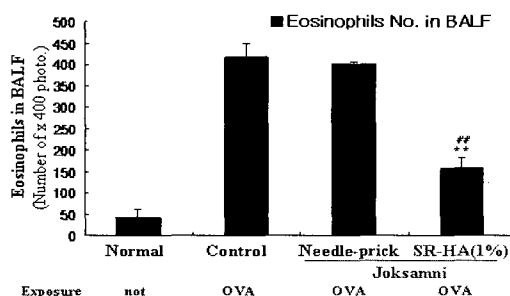


Fig. 4. The number of Eosinophil in bronchoalveolar lavage fluid(BALF). \*P<0.01 compared to the control group, ##P<0.01 compared to the needle-prick group.

## 3) Eosinophils in BALF

Control군에서 normal군에 비하여 BALF내 Eosinophils 수가 증가하였으며, 百部根藥鍼(SR-HA)군에서는 control군 및 needle-prick 군에 비하여 매우 유의성 있게(p<0.01) 감소하였다(Fig. 4).

## 3. Photomicrographs of Eosinophil in BALF

足三里 百部根藥鍼이 천식 유발에 의한 BALF내 호산구 증가에 미치는 영향을 관찰하기 위해, BALF내 세포를 Hemacolor rapid staining set (Merck Germany)로 염색하여 관찰한 결과, control군에서는 다양한 호산구가 관찰되었으나, 百部根藥鍼(SR-HA)군에서는 그 수가 normal군에 가깝게 감소되었다(Fig. 5).

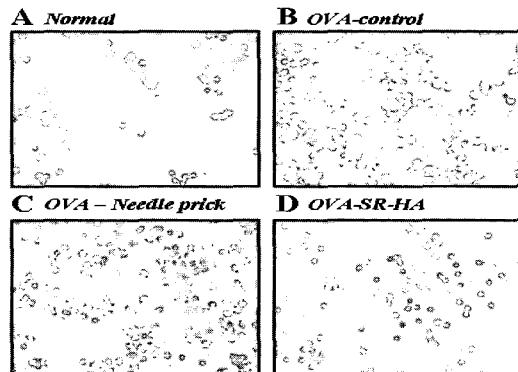


Fig. 5. Photomicrographs (original magnification,  $\times 400$ ) of BALF cytopsins from mice.

## 4. Histological analysis of lung sections

足三里 百部根藥鍼이 천식 유발에 의한 폐조직의 변화에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 masson's trichrome 염색법을 이용하여 폐조직을 염색한 결과, control군에서는 세포의 침윤과 collagen 부착의 증가가 관찰되었으나, 百部根藥鍼(SR-HA)군에서는 이들이 현저하게 감소되었다(Fig. 6).

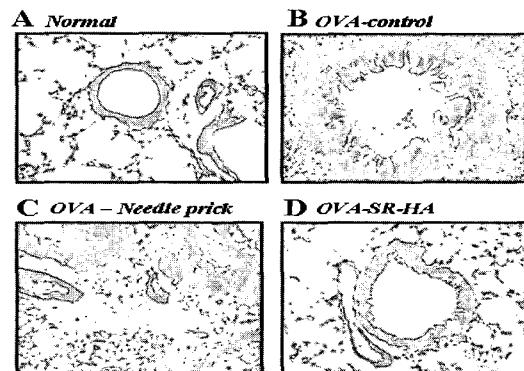


Fig. 6. Histological analysis of lung sections from mice

## 5. ELISA

### 1) IgE in BALF

Control군에서는 normal군에 비하여 BALF내 IgE의 양이 증가하였으나, 百部根藥鍼(SR-HA)군에서는 control군에 비하여 유의하게(p<0.05) 감소하였다 (Fig. 7).

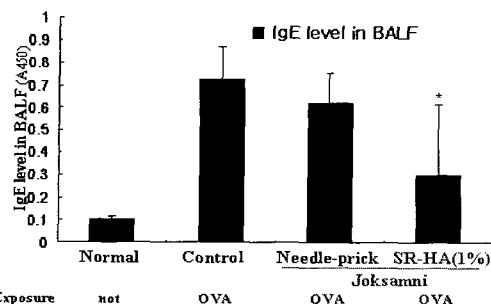


Fig. 7. The level of IgE in bronchoalveolar lavage fluid (BALF). Values represent the means  $\pm$  SEM of 5 mice. \*P<0.05 compared to the control group.

## 2) IL-4 in BALF

Control군에서 normal군에 비하여 BALF내 IL-4의 양이 증가하였으나, 百部根藥錠(SR-HA)군에서는 control군에 비하여 매우 유의하게( $p<0.01$ ) 감소하였다(Fig. 8).

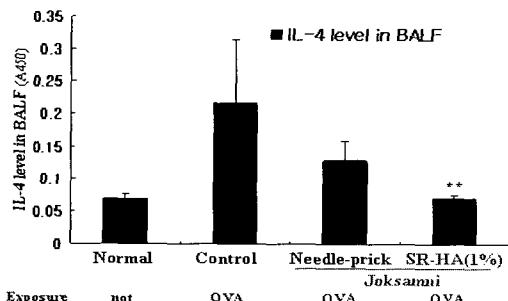


Fig. 8. The level of IL-4 in bronchoalveolar lavage fluid (BALF). \*\*P<0.01 compared to the control group.

## 3) IL-5 in BALF

Control군에서 normal군에 비하여 BALF내 IL-5의 양이 증가하였으나, 百部根藥錠(SR-HA)군에서는 control군에 비해 매우 유의하게( $p<0.01$ ) 감소하였다(Fig. 9).

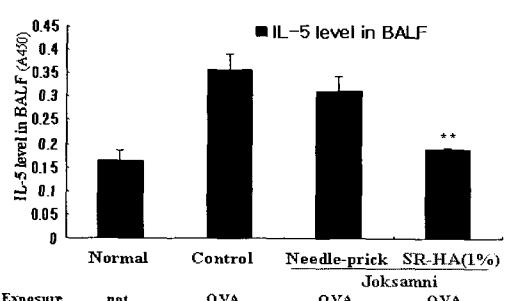


Fig. 9. The level of IL-5 in bronchoalveolar lavage fluid (BALF). \*\*P<0.01 compared to the control group.

## 4) IL-4 in Serum

Control군에서는 normal군에 비하여 Serum내 IL-4의 양이 증가하였으나, 百部根藥錠(SR-HA)군에서는 control군 및 needle-prick 군에 비해 유의하게(각각  $p<0.001$  및  $p<0.05$ ) 감소하였다(Fig. 10).

## 5) IL-5 in Serum

Control군에서는 normal군에 비하여 Serum내 IL-5의 양이 증

가하였으나, 百部根藥錠(SR-HA)군에서는 control군 및 needle-prick 군에 비해 매우 유의하게( $p<0.01$ ) 감소하였다(Fig. 11).

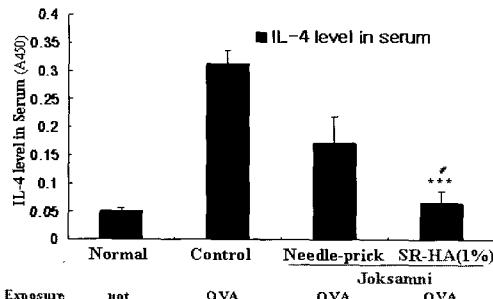


Fig. 10. The level of IL-4 in C57BL/6 mouse Serum. \*\*P<0.001, compared to the control group, #P<0.05 compared to the needle-prick group.

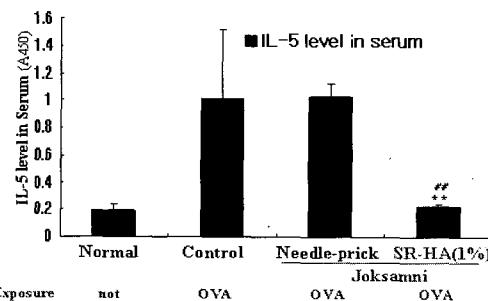


Fig. 11. The level of IL-5 in C57BL/6 mouse Serum. \*\*P<0.01 compared to the control group, ##P<0.01 compared to the needle-prick group.

## 6) IL-13 in Serum

Control군에서는 normal군에 비하여 Serum내 IL-13의 양이 증가하였으나, 百部根藥錠(SR-HA)군에서는 control군에 비하여 매우 유의하게( $p<0.01$ ) 억제되었다 (Fig. 12).

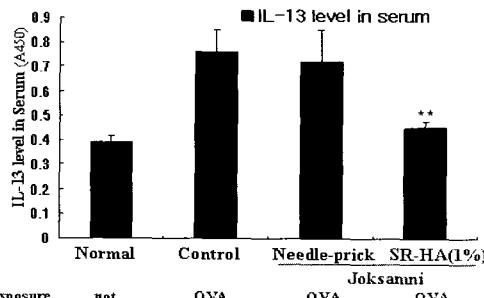


Fig. 12. The level of IL-13 in C57BL/6 mouse Serum. \*\*P<0.01 compared to the control group.

## 6. FACS Analysis

### 1) Gr-1+/CD11b+ cell number

CD11b+세포수와 Gr-1+/CD11b+세포수 모두 control군에서는 normal군에 비하여 증가하였으나, 百部根藥錠(SR-HA)군에서는 control군에 비하여 현저하게 감소되었다(Fig. 13).

### 2) CD3-/CCR3+ cell number

足三里 百部根藥錠이 천식 폐내의 호산구수에 미치는 영향을 알아보기 위하여, 실험동물의 폐내 CD3e-/CCR3+세포수를

측정한 결과 control군에서는 normal군에 비하여 증가하였으나, 百部根藥鍼(SR-HA)군에서는 control군에 비하여 현저하게 감소되었다(Fig. 14).

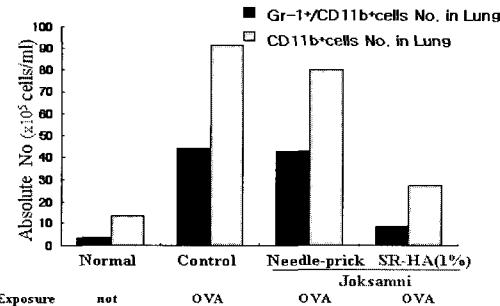


Fig. 13. Effect of SR-HA on Gr-1+/CD11b+ cell number in OVA-induced asthmatic mouse lung.

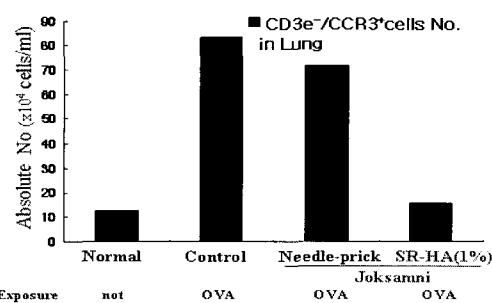


Fig. 14. Effect of SR-HA on CCR3+ cell number in OVA-induced asthmatic mouse lung.

### 3) CD4+ 및 CD8+ cell number

足三里 百部根藥鍼에 의한 폐내 보조 T 세포 및 억제/세포독성 T 세포수의 변화를 관찰하기 위하여, 실험동물의 폐내 CD4+세포수와 CD8+세포수를 측정한 결과, control군에서 normal군에 비하여 증가하였으나, 百部根藥鍼(SR-HA)군에서는 control군에 비하여 현저하게 감소되었다(Fig. 15).

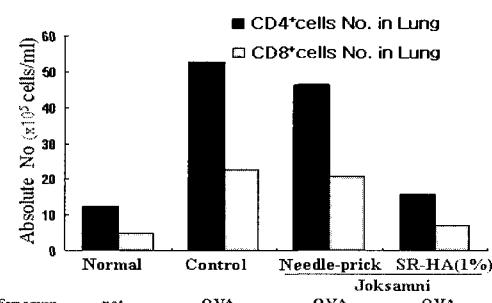


Fig. 15. Effect of SR-HA on CD4+ and CD8+ cell number in OVA-induced asthmatic mouse lung.

### 4) CD3e+/CD69+ cell number

足三里 百部根藥鍼에 의한 肺內 활성 T 세포수의 변화를 관찰하기 위하여, 실험동물의 肺內 CD3e+/CD69+세포수를 측정한 결과, control군에서 normal군에 비하여 肺內 CD3e+/CD69+세포수가 증가하였으나, 百部根藥鍼(SR-HA)군에서는 control군에

비하여 증가가 억제되었다 (Fig. 16).

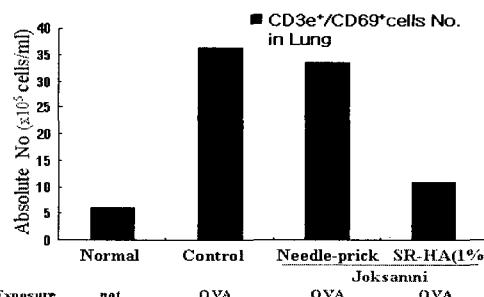


Fig. 16. Effect of SR-HA on CD3e+/CD69+ cell number in OVA-induced asthmatic mouse lung.

## 고찰

최근에 氣管支喘息의 발병률이 세계적으로 증가하고 있으며, 喘息에 의한 사망률도 증가하고 있는 추세이다. 그 이유는 확실히 밝혀져 있지 않으나 적어도 喘息의 심한 정도에 대한 정확한 진단과 그에 따른 적절한 치료를 하지 않은 것이 한 원인으로 추측되고 있다. 고도의 산업화에 따른 새로운 환경의 출현 및 환경공해 특히 대기오염, 흡연인구의 증가 등으로 인해 喘息의 有病率은 증가하고 있으며 이에 따른 최근 10년간 喘息으로 인한 사망률도 증가하고 있는 추세이다<sup>1)</sup>.

氣管支喘息은 입상적으로는 가역적인 기도폐쇄, 병리학적으로는 광범위한 기도염증, 생리학적으로는 기관자과민성으로 특징되는 대표적인 만성 호흡기질환이다. 氣管支喘息의 病態生理는 염증세포와 각종 화학매개체, cytokine들이 관여하는 복합적 기도염증으로 이해되고 있다<sup>12)</sup>. 천식의 기도염증에는 eosinophil, mast cell, 림프구뿐만 아니라 macrophage, neutrophil 및 기도상피세포 등의 다양한 염증세포가 관여하며 또한 천식에서 관찰되는 allergy성 염증으로 인한 기도 구조변형 때문에 폐기능의 지속적인 이상소견이 초래될 수 있다<sup>13)</sup>.

천식의 증상은 重證보다 輕證이 많아서 발작적인 기침, 호흡곤란 및 喘鳴의 전형적인 3대 증상이 다 나오는 경우보다 지속적인 기침, 흉부압박감, 인후의 이물감 같은 단순한 증상만을 호소하는 경우가 더 많다. 통상 달리기 등의 운동 후에 喘鳴이 나타나거나 上氣道炎 후에 호흡곤란이 발생하는 경우가 많다. 그러나 생명을 위협하는 심한 급성 천식발작으로 즉각적인 응급치료 및 입원이 절대적으로 필요한 경우도 적지 않다. 천식환자에서의 호흡곤란은 기도협착에 기인한 것인데 그 협착의 정도에 따른 호흡곤란의 반응이 환자마다 다양하다<sup>14)</sup>.

韓醫學에서 哮喘은 일반적으로 呼吸急促, 喘鳴有聲한 것을 치칭하며 그 원인은 痰火鬱於內, 특수한 素因, 모종의 냄새나 맛, 음식물에 대한 과민성반응, 肺腎의 호흡기능 장애 등에 풍한, 음식, 칠정 등이 함께 작용하여 발생하는데 許<sup>15)</sup>는 風寒喘, 痰喘, 氣喘, 火喘, 水喘, 久喘, 胃虛喘, 陰虛喘의 8종으로 구분하였다<sup>1)</sup>.

哮喘은 虛症과 實症으로 나누어 實症은 風寒痰濁등의 痘邪가 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 為主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한다<sup>1)</sup>.

면역은 생체가 自己와 非自己를 식별하는 기구로 외부로부터 침입하는 미생물, 동종의 조직이나 체내에서 생긴 돌연변이산물 등과 특이하게 작용하여 非自己를 제거함으로써 개체의 항상성을 유지하는 현상을 말하는 것이며, 면역반응은 非自己를 항원으로 인식하고 특이하게 항체를 생산하여 이에 대처하고 처리하는 연쇄적 반응으로 대식세포, 림프구, 중성구 등의 면역세포와 항체, 보체 등이 주로 관여한다<sup>16,17)</sup>.

면역세포 중 림프구는 말초 혈액 백혈구 중 약 20%를 차지한다. 기능상 림프구의 세포막 표면에 존재하는 수용체에 따라 크게 T 및 B림프구로 구분되며, 면역을 림프구를 중심으로 구분하면, T림프구를 중심으로 한 세포상호 관계에 의한 세포성 면역반응(cell mediated immune response)과 B림프구로부터 형성된 면역반응에 의한 체액성 면역반응(humoral immune response)으로 구분되어진다<sup>18)</sup>.

기관지천식의 痘因에 關與하는 세포는 T cell, B cell, macrophage, eosinophil, mast cell, 氣道上皮細胞 等 여러 가지가 있지만 이중 Th림프구는 cytokine을 분비하여 기도의 염증반응을 조절하는 중요한 역할을 하고 있다<sup>19)</sup>.

百部根(Stemonae Radix)은 百部根科에 속한 多年生 本草로 性味가 甘潤苦降하고 性平不燥하여 비교적 양호한 潤肺止咳하는效能으로 肺癆咳嗽를 치료하는 要藥이 되어 新久咳嗽, 寒熱咳嗽 및 百日咳 등 證에 사용된다<sup>11)</sup>.

足三里의 穴性은 疏風化濕, 通調經絡, 調和氣血, 扶正培元, 祛邪防病이며, 主治는 氣脹, 食慾不振, 便秘, 偏頭痛, 眩暉, 下肢痛, 浮腫, 貧血, 高血壓, 精神衰弱, 嘔氣, 喘亂, 水氣, 鼻塞, 身重脚痛 등이다<sup>20)</sup>. 陳 등<sup>21)</sup>은 哮喘證에 足三里 免疫療法를 연구한 결과 혈청 IgE의 감소와 IgA의 상승, 호산구의 감소효과를 보고하였다.

藥鍼療法은 經絡學說의 원리에 의거하여 일정한 약물을 원료로 하여 다양한 추출과정을 거쳐 만들어진 제제를 注入器를 이용해 痘證에 유관한 穴位, 壓通點, 또는 體表의 促進으로 얻어진 陽性反應點에 注入하여, 刺戟과 약물작용을 통하여 生體의 기능을 調定하고 痘病狀態를 개선시켜, 질병을 치료하는 新鍼療法<sup>20)</sup>으로 국내에서도 動物實驗의인 연구보고가 활발하게 진행되고 있는 주제이며 천식에 관한 藥鍼의 연구로는 송<sup>22)</sup>, 신<sup>23)</sup>, 박<sup>24)</sup>, 김<sup>25)</sup>, 김<sup>26)</sup> 등이 있다.

이에 저자는 百部根藥鍼이 알레르기천식모델 생쥐에서 足三里刺戟으로 인한 喘息 및 免疫에 미치는 영향을 알아보기 위하여, 百部根으로 藥鍼液을 製造한 후, 理脾胃, 調中氣, 和腸消滯, 消風化濕, 通調經絡, 調和氣血, 扶正培元, 强健脾胃 등의效能이 있는 足三里를 이용하여, ovalbumin을 흡입시켜 감작된 생쥐에 알레르기 천식 병태를 유발시키고, 百部根藥鍼液을 足三里刺入하였다.

In vivo 실험에서 肺의 무게, 肺의 총세포수, BALF내 총림프구수와 호산구수는 百部根藥鍼(SR-HA)군에서 control군에 비해 유의성 있게 감소하였다(Fig. 1-4). 또한, blood smears staining set을 이용하여 BALF를 염색하여 현미경으로 관찰한 결과 eosinophil

이 百部根藥鍼(SR-HA)군에서 현저하게 감소했다(Fig. 5). 肺의 질량증가는 기도 및 기관지의 浮腫을 의미하고, 세척액내 총세포수가 높다는 것은 호산구, 림프구, 대식세포 등 喘息의 만성 염증성 병리를 일으키는 세포들이 기도에 많이 침착되어있다는 것을 의미한다. 百部根藥鍼(SR-HA)군에서 폐질량, 총세포수, 총림프구수, 호산구수가 억제된 것으로 보아 百部根藥鍼이 면역세포의 기도내 응집 및 침윤에 억제효과가 있는 것으로 보인다.

다음으로 천식 유발에 의한 폐조직의 변화에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 masson's trichrome 염색법을 이용하여 폐조직을 염색한 결과, control군에서는 세포의 침윤과 collagen 부착의 증가가 관찰되었으나, 百部根藥鍼(SR-HA)군에서는 이들이 유의성 있게 감소되었다(Fig. 6). 폐의 질량증가는 폐와 기관지의 염증에 의한 collagen의 합성에 기인한 것으로 폐와 기관지의 병리적 변화를 의미하는데, SR-HA군에서 collagen의 합성 감소는 염증반응의 감소를 나타낸다.

足三里 百部根藥鍼이 천식이 유발된 생쥐의 BALF내 IgE, IL-4, IL-5의 양에 미치는 영향을 관찰한 결과, control군에서는 normal군에 비하여 BALF내 IgE, IL-4, IL-5의 양이 증가하였으나, 百部根藥鍼(SR-HA)군에서는 control군에 비하여 유의하게 감소하였다(Fig. 7-9).

IgE는 특정 항원 분자와 반응하는 항체 특성을 가진 혈청 글로불린으로, 항원이 기도내에 들어오면, 생성되어 mast cell이나 basophil 등의 수용체에 달라붙어서 allergy반응에 중요하게 관여하는 면역글로불린이다. IL-4는 세포간의 정보를 전달하는 cytokine으로, Th림프구에서 생성하여 B 림프구의 분화와 증식을 촉진하며<sup>29,30)</sup>, B세포를 자극하여 IgE 형성을 촉진시키고, eosinophil의 응집을 야기하고, Th2세포의 생성을 돋는다<sup>19)</sup>. 한편, IL-5는 Th2세포 및 활성화된 mast cell에 의해 생산되며 eosinophil의 성장과 분화를 자극하고 성숙한 eosinophil을 활성화한다<sup>27,31)</sup>. 따라서 control에 비해 SR-HA군에서 IgE, IL-4, IL-5 분비량이 감소한 것은 百部根藥鍼이 기관지천식으로 인한 염증성 세포의 증식과 활성화를 억제시키는 것으로 생각된다.

ELISA분석에서는 血清內의 IL-4, IL-5, IL-13의 분비량이 百部根藥鍼(SR-HA)군에서 control군에 비해 유의성 있게 억제되었다(Fig. 10-12). IL-4, IL-5, IL-13은 세포간의 정보를 전달하는 cytokine으로, IL-13은 Radix림프구에서 생성하여 대식세포를 표적으로 하여, 염증유발 사이토카인을 활성화하며, IL-5는 Th림프구에서 생성하여 B림프구의 증식과 분화를 유도하며, 또 Killer T Cell과 호산구의 분화를 유도한다. IL-4도 또한 Th림프구에서 생성하여 B림프구의 분화와 증식을 촉진하는 사이토카인이다. IL-13, IL-5, IL-4와 같은 사이토카인이 百部根藥鍼(SR-HA)군에서는 control군보다 유의하게 분비양이 억제되었다는 것은 百部根藥鍼液이 천식으로 인한 염증성 세포의 증식과 활성화가 억제되어 천식억제 및 면역조절에 있어서 효과가 있음을 나타낸다고 할 수 있다.

In vivo 실험을 통한 FACS분석에서 肺內 Gr-1+/CD11b+세포수가 control군에 비하여 百部根藥鍼(SR-HA)군에서 유의성 있게 감소하였다(Fig. 13). Gr-1은 과립구에 많고, CD11b는 세포유

착분자(Mac-1)로서, 림프구, 대식세포의 표면에서 발현되며, 호산구가 표적장기로 유입할 때 내피세포와 강하게 유착하여 결체조직으로 유입되는데 Gr-1+/CD11b+ cell 과 CD11b cell의 감소로 볼 때 百部根藥鍼이 호산구의 내피세포유착에 의한 결체조직으로 유입되는 것을 감소시키는 것으로 사료된다.

CD3-/CCR3+세포수는 control군에 비하여 百部根藥鍼(SR-HA)군에서 유의성 있게 감소하였다(Fig. 14). CD3는 T세포에서 발현되는 표면분자이고, CCR3 수용체는 호산구의 활성화와 탈파립화에 관여하는 것으로 호산구에서 가장 높게 나타나고, 호염기구, Th2세포, 喘息환자의 기도상피세포에서도 보인다. 따라서 CD3-/CCR3+의 비율이 낮아졌다는 것은 百部根藥鍼이 면역반응을 억제한 것을 나타낸다.

CD4+ 및 CD8+세포수는 control군에 비하여 百部根藥鍼(SR-HA)군에서 유의성 있게 감소하였다(Fig. 15). CD4+세포는 여러 종류의 cytokine을 생산하여 B림프구가 효율적으로 항체를 생산하도록 도와주고 면역반응의 행동세포를 활성화시키는 역할을 하므로 CD4+세포의 비율은 일반적으로 면역력의 지표로도 광범위하게 응용되고 있다<sup>28)</sup>. 따라서 百部根藥鍼의 자작에 의한 CD4+세포수 및 CD8+세포수의 감소를 통해 면역반응을 조절하는 효과가 있음을 알 수 있었다.

CD3e+/CD69+세포수는 control군에 비하여 百部根藥鍼(SR-HA)군에서 유의성 있게 감소하였다(Fig. 16). CD3는 T세포에 발현하여 TCR과 함께 CD3복합체를 이루고, T세포의 신호전달을 하는 기능을 나타내고, CD69는 활성화된 B세포, T세포, macrophage에 분포하는 것으로, 림프구의 신호전달에 관여한다<sup>29,30)</sup>. 따라서, CD3e+/CD69+세포수의 비율 감소는 알레르기 반응을 나타내는 면역세포 종의 T세포의 감소를 의미한다고 할 수 있으며 SR-HA가 T세포의 활성화를 감소시키는 것으로 사료된다.

이상의 실험 결과를 종합하여 보면 생쥐의 폐무게, 폐의 총세포수, BALF內 leukocyte수, BALF內 eosinophil수의 유의성 있는 감소와 ELISA분석에서 BALF內 IgE의 양, BALF內 IL-4의 양, BALF內 IL-5의 양, serum內 IL-4, IL-5, IL-13의 분비량의 유의성 있는 감소 그리고 FACS분석에서 Gr-1+/CD11b+ 세포수, CD3-/CCR3+ 세포수, CD4+ 및 CD8+ 세포수, CD3e+/CD69+ 세포수의 유의성 있는 감소를 통해 百部根藥鍼이 천식의 병태생리에서 중요한 역할을 하는 T세포의 활성화를 억제하고, 염증유발 cytokine인 IL-4, IL-5, IL-13의 발현을 억제함으로써 B림프구의 활성화를 억제하여 IgE의 생산을 억제하고, 호산구의 세포유착에 의한 조직 및 기관지내로의 이동 및 침윤을 막아 천식을 억제시키고, 면역기능을 조절하는 중요한 생체방어의 역할을 강화시키고 있음을 알 수 있다.

이상의 결과로, 百部根藥鍼은 천식억제 및 면역증진에도 효과가 있는 것으로 생각되며 임상적으로도 일정한 효과를 기대할 수 있을 것으로 사료된다.

## 결 론

百部根藥鍼이 알레르기천식모델 생쥐에서 喘息 및 免疫에 미

치는 효과를 알아보기 위한 실험에서 다음과 같은 결론을 얻었다.

폐의 무게를 측정한 결과 control군은 normal군에 비해 유의성 있는 증가를 보였으며 百部根藥鍼(SR-HA)군은 normal군에 비하여 유의성 있게 감소하였다. 폐의 총세포수는 百部根藥鍼(SR-HA)군에서 control군에 비하여 매우 유의성 있게 감소하였다. BALF內의 총 lymphocyte수와 eosinophil수는 百部根藥鍼(SR-HA)군에서 control군에 비하여 통계적으로 매우 유의성 있게 감소하였다. Photomicrographs에서 control군에서는 호산구가 다량으로 관찰되었으며 百部根藥鍼(SR-HA)군에서는 호산구가 현저하게 감소하였다. 폐 조직을 염색하여 관찰한 결과, control군에서는 collagen이 조직에 다량으로 부착되어 있는 것 이 관찰되었으며 百部根藥鍼(SR-HA)군에서는 collagen의 부착이 현저하게 감소하였다. BALF內 IgE, IL-4, IL-5의 분비량은 control군에서는 normal군에 비하여 현저하게 증가하였으나, 百部根藥鍼(SR-HA)군에서는 control군에 비하여 유의하게 감소하였다. 혈청내의 IL-4, IL-5, IL-13의 분비량은 control군에서는 normal군에 비하여 현저하게 증가하였으나, 百部根藥鍼(SR-HA)군에서는 control군에 비해 유의하게 감소하였다. 肺內 Gr-1+/CD11b+세포수, CD3-/CCR3+세포수, CD4+ 및 CD8+세포수, CD3e+/CD69+세포수가 control군에 비하여 百部根藥鍼(SR-HA)군에서 유의성 있게 감소하였다.

## 참 고 문 헌

- 全國韓醫科大學肺系內科學校室編著. 東醫肺系內科學. 서울, 흥문화사, p 320-346, 2002.
- 김유영. 氣管支喘息의 최신 치료전략, 결핵 및 호흡기질환. 43(1):1, 1996.
- 전국의과대학 임상교수편. 임상진단학. 서울, 한미의학, pp 392-393, 2002.
- 이동생, 정희재, 정승기, 이형구. 麥門冬과 五味子가 Asthma model內의 Cytokine IL-4, IL-5, IL-6에 미치는 影響. 경희의학. 16(2):69-80, 2000.
- 巢元方. 諸病源候論(卷13,14). 서울, 大星文化社, pp 106-117, 1992.
- 鄭昇杞, 李珩九. 哮喘의 原因 및 治法에 關한 研究. 大韓韓醫學會誌. 7(1):60-67, 1986.
- 李珩九. 五拗湯이 咳嗽, 喘息에 미치는 影響. 서울, 慶熙大學校大學院, p 175-190, 1982.
- 權純湖. 五拗湯이 allergy 喘息의 呼吸 樣相과 氣管 組織에 미치는 影響, 서울, 大韓韓醫學會誌, 20(2):98-107, 1999.
- 鄭昇杞. 加味清上補下湯이 喘息에 미치는 影響에 關한 實驗的研究. 서울, 大韓韓醫學會誌. 12(1):118-138, 1991.
- 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. 19(2):59-73, 1999.
- 全國韓醫科大學本草學教授編著. 本草學. 서울, 永林社, p 480, 1999.
- 고영률. 천식의 병태생리. 소아알레르기 및 호흡기. 10(4):255-

- 262, 2000.
13. Executive summary. Guidelines for the diagnosis and management of asthma. National Asthma Education Program Expert Panel Report II. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service National Institutes of Health. 1997.
  14. 한용철. 臨床呼吸器學. 서울, 일조각, pp.208-209, 1994.
  15. 許浚. 東醫寶鑑. 서울, 南山堂, p.145, 474-480, 1998.
  16. 채우석. 면역질환의 한방개념과 치료에 대한 문헌적 고찰. 大韓醫學會誌. 11(25):55, 1990.
  17. 李淵台. 最新免疫學. 서울, 集文堂, pp 1-35, 52-53, 76, 81, 88, 1985.
  18. 성호경. 生理학. 5판. 서울, 醫學文化社, pp 94-106, 1991.
  19. Corrigan, C.J., Hamid, Q., North, J., Barkans, J., Moqbel, R., Durhams, S., Gemou-Engesaeth, V., Kay, A.B : Peripheral Blood CD4 but not CD8 T-lymphocytes in patients with exacerbation of asthma transcribe and translate messenger RNA encoding cytokines which prolong eosinophil survival in the context of a Th2- type pattern : Effect of glucocorticoid therapy. Am. J. Respir. Cell Mol Biol, 12, 567, 1995.
  20. 全國韓醫科大學 鍼灸經穴學教室. 鍼灸學(上,下). 서울, 集文堂, pp 214-234, 382, 384, 730-732, 1988. 1991.
  21. 陳良良, 李安生, 陶建寧, 陳衛星, 唐蓉芳. 足三里穴位免疫療法治過敏性哮喘臨床及實驗研究, 中國中西醫結合雜誌 16(12): 32-35, 1996.
  22. 송민식. 沙蔘藥鍼의 喘息抑制 및 免疫調節效果에 對한 實驗的研究. 대전대학교 대학원 석사학위논문. 2004.
  23. 신성찬. OVA-induced Asthma Model을 利用한 桑葉藥鍼의 喘息抑制效果에 對한 研究. 대전대학교 대학원 석사학위논문. 2004.
  24. 박영수. OVA-induced Asthma Mouse Model을 이용한 羌活藥鍼의 喘息에 관한 影響. 대전대학교 대학원 석사학위논문. 2004.
  25. 김보균. 升麻藥鍼의 喘息 및 免疫에 미치는 實驗的 研究. 대전대학교 대학원 석사학위논문. 2004.
  26. 김일구. 細辛藥鍼의 喘息抑制 및 免疫調節效果에 對한 實驗的研究. 대전대학교 대학원 석사학위논문. 2004.
  27. Nicholas, W. Lukacs. Role of chemokines in the pathogenesis of asthma. Nature review:immunology. pp 108-116. 2001.
  28. 김세종. 면역학. 서울, 고려의학, p 3, 8, 28, 134, 25-26, 31-32, 1994.
  29. Ivan Roitt 외. Immunology 6th. Mosby, Newyork, pp 125-127, 2002.
  30. Ivan Roitt. Essential immunology 9th, Blackwell science, U.S.A. pp 179-200, 151-167, 1994.
  31. Abul, K. Abbas, Andrew H. Lichtman. 세포분자면역학. 강재성譯. 서울, 범문사, pp 477-522, 2004.