

반하가 난황으로유발된 생쥐의 알레르기성 천식에 미치는 영향

정동환 · 김종한 · 박수연 · 최정화
동신대학교 한의과대학 안이비인후피부과학교실

Effects of Pinelliae Rizoma (PR) on asthma induced intra-nasal instillation of ovalbumin in mice

Dong-Hwan Jeong · Jong-Han Kim · Su-Yeon Park · Jeong-Hwa Choi

Objective : This study was designed to investigate effects of Pinelliae Rizoma (PR) on asthma

Methods : Detecting antigen specific antibody isotypes, cytokines in serum and bronchoalveolar lavage fluid (BALF). In addition, the present author also investigated changes in weight of spleen and proliferation rates of splenocytes. Finally, histopathological observation of the lung tissue was also investigated.

Results : Oral administration of PR lowered OVA specific IgE levels in serum, IgG1 levels in serum and BALF. PR also decreased production levels of IL-4 in BALF. In addition, total cells in BALF were decreased by oral administration of PR effectively. In histopathological observation, PR group showed downward tendency of inflammatory cell infiltration around small vessels.

Conclusion : PR is useful to treat patients with asthma and the mechanisms are related in suppression of Th2 skewing reactions.

Key words : Pinelliae Rizoma (PR)

1. 緒 論

기관지 천식은 可逆的인 氣道 收縮에 의해 발작

적 呼吸困難, 喘鳴, 咳嗽, 肺의 過吸氣, 囉音 등의 증상을 나타내고¹⁾, 세계 인구의 약 7.2%를 차지하는 흔한 질환이다²⁾. 병태생리적으로는 기도의 만성 염증성 질환으로 인식되는데, 이러한 기도내의 염증반응은 천식반응 시 기도내로 유입되는 여러 가지 염증세포들의 활성화에 의해 이들로부터 유리되는 여러 화학매개체들에 의해 이루어진다³⁾.

교신저자 : 최정화, 동신대학교부속광주한방병원,
안이비인후피부과학교실
(Tel, 062-350-7217, E-mail, mining32@daum.net)
• 접수 2008/02/25 • 수정 2008/03/18 • 채택 2008/04/11

천식을 일으키는 원인으로는 알레르겐의 흡입, 호흡기 감염, 스트레스, 공기오염, 기후, 약물, 운동 등이 있으며, 이 중 알레르기성 반응이 주된 원인으로 받아들여지고 있다⁴⁾.

천식의 치료는 원인 알레르겐 및 악화 인자를 회피하는 환경요법, 원인 알레르겐을 소량씩 피하 주사로 반복 시행하여 원인 알레르겐에 감수성을 약화시켜 증상의 호전을 유도하는 면역요법, 약물 요법 등이 있으며, 최종적으로 스테로이드를 경구 투여한다⁵⁾.

韓醫學에서 喘息은 呼吸急促하고 喘鳴有聲을 특징으로 하는 哮喘證과 유사하다고 할 수 있다¹⁾.

喘息의 原因은 寒冷, 心因, 痰因, 素因, 感染, 過敏性反應 등 다양하며,⁶⁾ 喘息의 治療는 實證과 虛證으로 나누어 지는데 實證은 祛風散寒, 宣肺定喘 燥濕化痰, 降氣定喘, 溫肺散寒, 定喘化痰의 治法으로 치료하고, 虛證은 養肺定喘, 補益心身, 納氣定喘, 瀉肺化痰, 補益身元 시키는 治法을 사용한다¹⁾.

半夏(Pinelliae Rhizoma)는 天南星科(Araceae)에 속한 다년생 본초인 半夏의 塊莖을 건조한 것으로 性味는 辛, 溫, 有毒하고 脾, 胃, 肺經으로 歸經하며 燥濕化痰, 降逆止嘔, 消痞散結의 效能이 있어 痰多喘咳, 痰飲眩暈, 痰厥頭痛, 嘔吐反胃, 胸脘痞悶 등의 증상을 치료한다⁷⁾.

半夏에 대한 실험적 연구로는 張⁸⁾등의 肥滿에 관한 연구, 金⁹⁾등의 妊娠惡阻에 관한 연구, 洪¹⁰⁾의 半夏藥鍼의 기관지 상피세포 TARC 분비에 관한 연구 등이 있으며,半夏가 사용된 처방들에 관해서도 많은 연구¹¹⁻¹⁶⁾가 보고되었다.

이에 저자는 임상적으로는 강력한 止咳化痰의 效能이 있어 호흡기에 질환에 많이 사용되는 반하가 생쥐에 유발된 천식의 각종 지표들을 개선해 줄 수 있을 것이라는 가설을 세우고 본 실험을 기획하여 난황의 비강 내 점적으로 천식을 유발하고 반하 추출물을 투여한 다음, 생쥐의 기관지 폐포 세척액과 혈청으로부터 항원 특이적인 면역 글로

불린의 함량과 Cytokine을 측정하고, 비장세포 증식율을 측정 후, 폐 조직을 현미경적으로 관찰하여 변화가 있었기에 보고하는 바이다.

II. 材料 및 方法

1. 재료

1) 동물

8주령된 암컷 Balb/c 생쥐를 샘타코 (서울, 한국)에서 구입하여, 일주일간 실험실환경에 적응시킨 후 온도와 습도가 조절되는 환경 (24 ± 3 ℃, 12-hr light-dark cycle) 에서 고형사료와 물을 마음껏 섭취하게 하며 실험에 사용하였다.

2) 약재

본 실험에 사용된 半夏는 전남성파에 속한 다년생 초목인 芫芩 (Pinellia ternata Breitenbach)의 코르크 층을 제거한 괴경으로 조합 법인 전남생약(화순, 한국)으로부터 구입한 法半夏를 동신대학교 본초학 교실에서 정제하여 사용하였다.

3) 시약 및 기기

천식 유발 및 항원 특이 항체 측정을 위한 난황 (OVA, Ovalumin, Grade V)은 Sigma (St. Louis, USA)로부터 Aluminum hydroxide (Alum, Imject Alum, Pierce)은 진텍(광주, 한국)를 통하여 구입하였다. 항원 특이 전체 항체 측정을 위한 Goat anti-mouse polyvalent immunoglobulin은 Sigma (St. Louis, USA)에서, IgE, IgG1, IgG2a에 대한 항원 특이 항체 검출을 위하여 Goat anti-mouse IgG1 antibody, goat anti-mouse IgG2a antibody 와 rat anti-mouse IgE antibody는 Southern Biotech (Birmingham, USA)에서 구입하였다. 기관지 폐포 세척액 및 혈청 내의 Cytokine 측정을 위하여 mouse IL-4 및 mouse IFN-g detection

Kit은 eBioscience (San Diego, USA)에서 구입하였다. Optical Density (OD) 값의 측정을 위하여 microplate reader (Bio-rad, CA)를 사용하였고, 폐조직의 조직병리학적 소견 관찰을 위하여 형광 현미경(Olympus, Japan)을 사용하였다.

2. 방법

1) 약물의 준비

세척된 상태로 구입된 半夏 200 g을 증류수 1,500 ml과 함께 전기약탕기(대웅, 한국)를 이용하여 3시간 동안 전탕하여 한 후, 거즈로 걸러 전탕액을 얻었다. 얻어진 전탕액을 5,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 찌꺼기는 버리고 상청액을 얻은 다음 加溫減壓乾燥法으로 70 ℃를 유지하면서 건조 분말을 얻었다. 이렇게 하여 얻어진 추출물(PR)은 16 g으로 수득율은 8 % 였다.

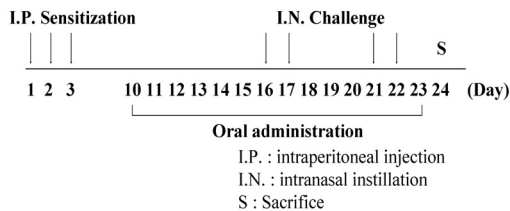


Fig. 1 Experimental schedule All experimental groups, except normal control group, were sensitized intra-peritoneally on days 1, 2, and 3 and challenged intra-nasally at days 16,17,21, and 22. Animals were treated with PR from days 10 until 23. All animals were sacrificed on day 24.

2) 천식 유발과 실험군 선정

100 μ g의 난황(OVA, Sigma)을 100 μ l의 용매(PBS, phosphate buffer saline)에 녹인 다음, 3일간 생쥐에 복강주사 하여 감작(Sensitization)하였다. 2주 뒤 생쥐를 케타민 (100 mg/kg)과 림폰 (10 mg/kg)으로 마취 시킨 후, 비강 내 점적

(Intra-nasal instillation)^{17,18)}의 방법으로 천식을 유발(Challenge)하였다. 비강 내 점적을 위하여 25 μ g의 난황을 30 μ l의 PBS에 녹인 다음, 1일 1회씩 2일간 비강 내 점적을 시행하였다. 다시 3일 뒤 같은 방법으로 1일 1회씩 2일간에 걸쳐 비강 내 점적을 시행하여 총 4번의 비강 내 점적을 시행하였다. 자세한 실험의 스케줄은 Fig. 1에 제시하였다. PR의 구강 투여를 위하여 일반 고형사료에 반하 추출물을 1 g/kg 분량으로 섞어 반하식이를 제작하여 동물로 하여금 자유로이 섭취케 하였으며, 약물의 투여기간은 총 2주였다 (Fig. 1). 실험군은 아래와 같으며 각각의 군의 n값은 8이다.

- (1) 정상군(Normal group, n=8) : 천식을 유발하지 않고 용매(D/W, 증류수)만 투여한 군
- (2) 천식 대조군(Experimental control group, n=8) : 천식을 유발시키고, 용매(D/W, 증류수)만 투여한 군.
- (3) 반하군(PR group, n=8) : 천식을 유발시키고 PR을 구강투여한 군.

3) 기관지폐포 세척액 (BALF)

실험 마지막 날, 과도한 용량의 케타민과 림폰을 주사하여 생쥐를 희생시킨 후, 경부를 절개하고 기관지의 연결사이를 절개하여 개방 시킨 후, 연결과 연결사이로 도관 (Insyte, BD) 을 삽입하며 기관지 폐포 세척액을 얻었다. 1회 세척당 1.8 ml의 PBS를 조심스럽게 밀어넣어 최소한 1.5 ml 이상의 세척액을 확보한 것만을 data로 사용하였다. 하룻밤의 Blocking이 끝난 후, 완충용 세척액으로 세 번 수세하고, BALF(원액)와 세척용 완충액으로 25배 희석한 혈청을 각 well당 100 μ l씩 분주하고 4℃에 하룻밤 동안 방치하였다. 얻어진 세척액 중 일부는 염증세포의 수를 측정하는데 사용되었고, 일부는 원심분리로 찌꺼기를 없앤 후, 냉장하였다가 cytokine 측정에 사용하였다.

4) 항원 특이 항체의 측정

상기한 방법으로 얻어진 기관지폐포 세척액 및 심장 천자로 얻은 혈청으로부터 항원 특이 전체 항체 (Total antibody), IgE, IgG1과 IgG2a의 함량을 측정하기 위하여 ELISA(Enzyme Linked Immunosorbent Assay) 방법을 사용하였다. 심장 천자로 얻어진 혈액은 5,000 rpm에서 10분간 원심분리 한 후, 찌꺼기는 버리고 혈청을 얻었다. ELISA를 위하여 96-well plate (Nunc, Rochester, USA)를 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도의 난황을 세척용 완충액 (PBST, 0.05 % Tween 20 in PBS)에 녹인 다음 각 well 당 100 μl 씩 분주하고 4 $^{\circ}\text{C}$ 에 하룻밤을 방치하였다. 하룻밤 동안의 항원 부착이 끝나고, 세척용 완충액으로 3회 수세한 다음, 비특이적인 결합을 방지하기 위하여 Blocking을 시행하였다. Blocking 용액은 세척용 완충액에 1 %의 탈지 분유 (Skim milk)를 섞어 사용하였으며, 각 well당 100 μl 씩 분주하고 4 $^{\circ}\text{C}$ 에서 하룻밤을 방치하였다. 하룻밤의 Blocking이 끝난 후, 완충용 세척액으로 세 번 수세하고, 세척용 완충액으로 25배 희석한 혈청을 각 well당 100 μl 씩 분주하고 4 $^{\circ}\text{C}$ 에 하룻밤 동안 방치하였다. 하룻밤의 1차 항체 결합이 끝난 후, 완충용 세척액으로 세 번 수세하고, Alkaline phosphatase가 부착되어있는 2차 항체를 부착시켰다. 이때, 사용한 2차 항체로는 goat anti-mouse polyvalent antibody (Sigma, Cat#A0162, 1:1000), goat anti-mouse IgG1 antibody (Southern Biotech, Cat#1070-04, 1:1000), goat anti-mouse IgG2a antibody (Southern Biotech, Cat#1080-04, 1:1000), 과 rat anti-mouse IgE antibody (Southern Biotech, Cat#1130-04,

1:1000) 였고, 각각의 2차 항체를 PBS에 상기한 비율로 희석한 후, 각 well당 100 μl 씩 분주하고 실온에서 4시간 방치하여 부착시켰다. 2차 항체 부착이 끝난 후, 완충용 세척액으로 5번 세척하고, p-NPP (Sigma, USA) 용액을 각 well당 75 μl 씩 분주한 다음 차광 상태에서 30분간 반응시켰다. 결과값은 Microplate spectrophotometer를 이용하여 405 nm에서 측정하였다. 결과값의 분석을 위하여 정상군을 제외한 나머지 군에서 임의로 선정된 8개의 혈청을 모아 Standard로 사용하였고, 모든 결과값은 Standard와 비교하여 Arbitrary Unit (A.U.)¹⁾로 나타내었다.

5) Cytokine 측정

상기한 방법으로 얻어진 기관지폐포 세척액으로부터 IL-4 및 IFN-g의 함량을 ELISA 방법으로 측정하였다. Cytokine 함량 측정은 mouse IL-4 detection kit 및 mouse IFN-g detection Kit을 사용하였고, 실험 진행 과정은 kit과 함께 제공된 지침에 따라 시행되었다.

6) 비장 세포 증식을 측정

실험 마지막 날, 생쥐를 희생시킨 후 비장을 적출하여 미량 저울로 무게를 측정한 후, 비장 세포를 Wysocki¹⁹⁾ 및 Mizel²⁰⁾ 등의 방법에 의하여 분리하였다. 분리된 비장세포 부유액을 RPMI 1640 배지로 희석하고 96-well plate에 1.0×10^6 cells/well 의 농도로 분주하고, 37 $^{\circ}\text{C}$ 의 5 % CO₂ 환경에서 48시간 동안 방치한 다음 MTT 법²⁾으로 증식을 측정한 후 대조군의 흡광도와 비교하여 세포 증식을 백분율로 환산하였다.

- 1) 본 실험에서 사용한 단위는 Arbitrary Unit (A.U.)인데, 일종의 “임의 단위” 이다. 본 연구에 kit 시약을 사용한 것이 아니라 bulk (측정에 필요한 약물을 하나하나 따로따로 구입하여 사용하는 것)로 측정 했기 때문에 Standard가 없어서 “임의 단위” 를 사용하게 된 것이다. 본 연구에서 각각의 항체 측정에 각각의 “임의단위” 를 사용했기 때문에 다른 항체들과의 총합은 의미가 없다. 다만 의미 있는 것은 같은 임의 단위를 사용한 것들이다.
- 2) 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide를 사용하여 세포의 증식을 측정한 것으로 세포의 성장을 알아보는 것.

7) 폐 조직의 조직병리학적 소견 관찰

2주간의 PR 투여가 끝난 후 기관지폐포 세척액을 얻은 다음, 폐조직을 적출하였다. 적출된 폐조직은 10 % 포르말린에 3일 동안 담가둔 후, Xylen을 이용하여 탈수 시켰다. 탈수된 조직으로 파라핀 블록을 만들고, 다시 박절하여 슬라이드 글라스에 부착 시키고 hematoxylin 과 eosin으로 염색 한 후 광학 현미경으로 관찰하였다.

3. 통계 처리

실험 자료에 대한 통계적 분석은 통계 패키지인 Sigma plot (Sigma plot for Windows, ver. 9.0, U.S.A.)를 이용하였다. 실험 성적은 평균±표준편차(mean±SD)로 나타내었으며, 실험군 간 평균의 차이를 검정할 때에는 student's t-test로 검정하여 p-값이 0.05 미만일 때 유의한 차이가 있는 것으로 판정하였다.

Ⅲ. 成 積

1. 체중 변화에 미치는 영향

체중 변화를 관찰한 결과 천식 유발군과 PR군 모두에서 정상군과 특별한 체중 변화의 차이를 관찰 할 수 없었다 (Fig. 2).

2. 혈청 내 항원 특이 항체 총량에 미치는 영향

혈청 내, 항원 특이 항체의 총량 변화를 관찰한 결과 천식 유발군에서 정상군에 비하여 항원 특이 항체 총량의 증가가 관찰되었다. (Fig. 3).

3. 혈청 내 항원 특이 IgE level에 미치는 영향

혈청 내, 항원 특이 IgE 항체의 level변화를 관찰한 결과 천식 유발군에서 항원 특이 IgE 항체 level의 증가가 관찰되었고, 이러한 증가는 PR투여

에 의하여 감소를 보였다. 이때, 천식 유발군은 1.76 ± 0.35 A.U., PR군은 0.88 ± 0.37 A.U. 이었다 (Fig. 4).

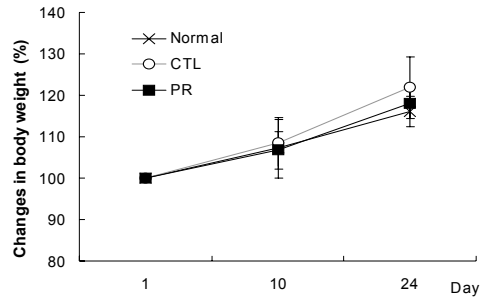


Fig. 2. Effects of PR on changes in body weights. Body weights were measured at the beginning (day 1), day 10 and end (day 24) of experiment. Changes in body weight were represented as average weights on indicated days, which were expressed as percentages of weight on day 1. Normal : naive group, CTL : Asthma induced group, PR : PR treated asthma group. Results are presented as mean±SD (n=8).

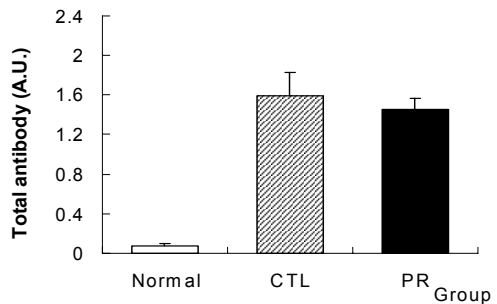


Fig. 3. Effects of PR on levels of OVA-specific total antibody in serum. Production levels of OVA-specific total antibody in serum were measured using ELISA method. All data were represented as arbitrary Units (A.U.) calculated using reference serum. Normal : naive group, CTL : Asthma induced group, PR : PR treated asthma group. Results are presented as mean±SD (n=8).

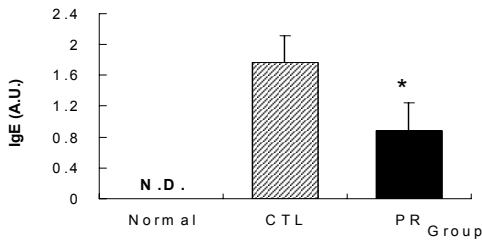


Fig. 4. Effects of PR on levels of OVA-specific IgE in serum, Production levels of OVA-specific IgE in serum were measured using ELISA method. All data were represented as arbitrary Units (A.U.) calculated using reference serum.

Normal : naive group, CTL : Asthma induced group, PR : PR treated asthma group. Results are presented as mean±SD. *P < 0,05 compared to CTL (n=8). N.D.(not detectable).

4. 혈청 내 항원 특이 IgG1 level에 미치는 영향

혈청 내 항원 특이 IgG1 항체의 level변화를 관찰한 결과 천식 유발군에서 정상군에 비하여 항원 특이 IgG1 항체 level의 증가가 관찰되었고, 이러한 증가는 PR투여에 의하여 감소를 보였다. 이때, 천식 유발군은 1.24 ± 0.08 A.U., PR군은 1.02 ± 0.09 A.U. 였다 (Fig. 5).

5. 혈청 내 항원 특이 IgG2a level에 미치는 영향

천식이 유발된 생쥐의 혈청에서 항원 특이 IgG2a 항체의 level변화를 관찰한 결과 모든 실험군에서 변화는 관찰되지 않았다 (Fig. 6).

6. 기관지 폐포 세척액 내 항원 특이 항체 총량에 미치는 영향

기관지폐포 세척액(BALF) 내의 항원 특이 항체의 총량 변화를 관찰한 결과 천식 유발군에서 정상군에 비하여 항원 특이 항체 총량의 증가가 관

찰되었고, PR투여군에서 천식 유발군의 항원 특이 항체 level과 차이는 관찰되지 않았다 (Fig. 7).

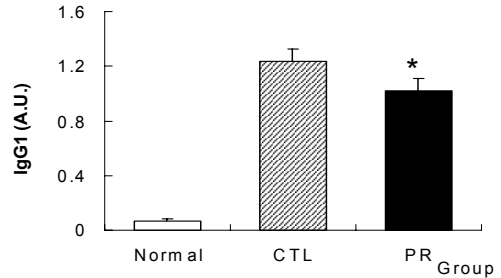


Fig. 5. Effects of PR on levels of OVA-specific IgG1 in serum, Production levels of OVA-specific IgG1 in serum were measured using ELISA method. All data were represented as arbitrary Units (A.U.) calculated using reference serum.

Normal : naive group, CTL : Asthma induced group, PR : PR treated asthma group. Results are presented as mean±SD. *P < 0,05 compared to CTL (n=8).

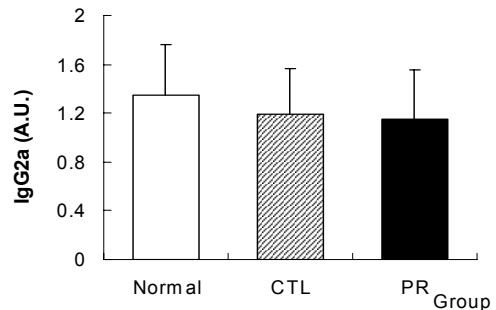


Fig. 6. Effects of PR on levels of OVA-specific IgG2a in serum, Production levels of OVA-specific IgG2a in serum were measured using ELISA method. All data were represented as arbitrary Units (A.U.) calculated using reference serum.

Normal : naive group, CTL : Asthma induced group, PR : PR treated asthma group. Results are presented as mean±SD (n=8).

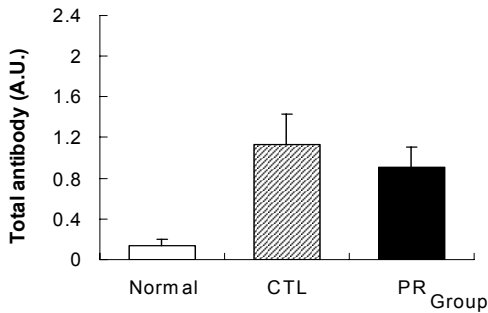


Fig. 7. Effects of PR on levels of OVA-specific total antibody in BALF. Production levels of OVA-specific total antibody in BALF were measured using ELISA method. All data were represented as arbitrary Units (A.U.) calculated using reference serum.

Normal : naive group, CTL : Asthma induced group, PR : PR treated asthma group. Results are presented as mean±SD (n=8).

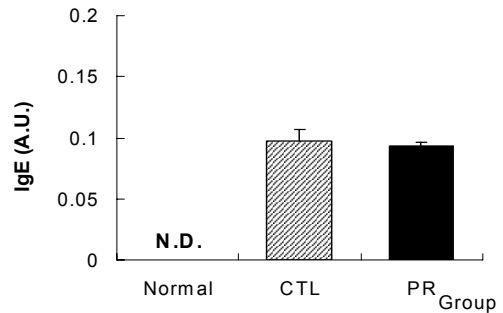


Fig. 8. Effects of PR on levels of OVA-specific IgE in BALF. Production levels of OVA-specific IgE in BALF were measured using ELISA method. All data were represented as arbitrary Units (A.U.) calculated using reference serum.

Normal : naive group, CTL : Asthma induced group, PR : PR treated asthma group. Results are presented as mean±SD (n=8).

7. 기관지 폐포 세척액 내 항원 특이 IgE level 에 미치는 영향

기관지폐포 세척액(BALF) 내의 항원 특이 IgE 항체의 level변화를 관찰한 결과 정상군에서는 항원 특이 IgE가 발견되지 않았고, 천식 유발군에서 항원 특이 IgE 항체 level의 증가가 관찰되었다. PR군은 천식 유발군과 유사한 수준의 항원 특이 IgE level을 보였다 (Fig. 8).

8. 기관지 폐포 세척액 내 항원 특이 IgG1 level에 미치는 영향

천식이 유발된 생쥐의 기관지폐포 세척액에서 항원 특이 IgG1 항체의 level 변화를 관찰한 결과 천식 유발군에서 정상군에 비하여 유의한 항원 특이 IgG1 항체 level의 증가가 관찰되었고, 이러한 증가는 PR투여에 의하여 유의한 감소를 보였다. 이때, 천식 유발군은 1.15 ± 0.19 A.U., PR군은 0.77 ± 1.74 A.U. 였다 (Fig. 9).

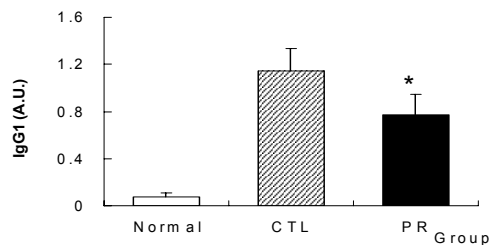


Fig. 9. Effects of PR on levels of OVA-specific IgG1 in BALF. Production levels of OVA-specific IgG1 in BALF were measured using ELISA method. All data were represented as arbitrary Units (A.U.) calculated using reference serum.

Normal : naive group, CTL : Asthma induced group, PR : PR treated asthma group. Results are presented as mean±SD. *P < 0.05 compared to CTL (n=8).

9. 기관지 폐포 세척액 내 항원 특이 IgG2a level에 미치는 영향

천식이 유발된 생쥐의 기관지폐포 세척액에서

항원 특이 IgG2a 항체의 level 변화를 관찰한 결과 모든 실험군에서 변화는 관찰되지 않았다 (Fig. 10).

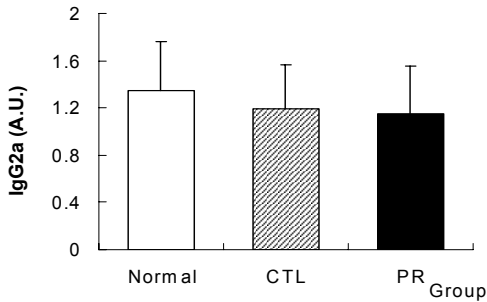


Fig. 10. Effects of PR on levels of OVA-specific IgG2a in BALF. Production levels of OVA-specific IgG2a in BALF were measured using ELISA method. All data were represented as arbitrary Units (A.U.) calculated using reference serum.

Normal : naive group, CTL : Asthma induced group, PR : PR treated asthma group. Results are presented as mean±SD (n=8).

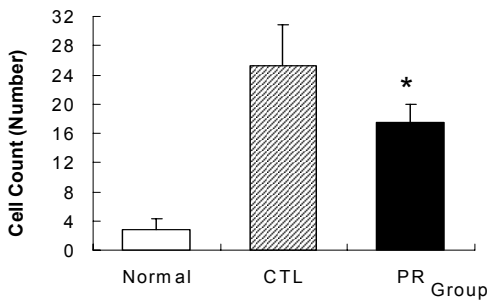


Fig. 11. Effects of PR on immune Cell number in BALF. As being described in materials and methods, Immune Cell numbers in BALF were measured using hemacytometer.

Normal : naive group, CTL : Asthma induced group, PR : PR treated asthma group. Results are presented as mean±SD. *P < 0.05 compared to CTL (n=8).

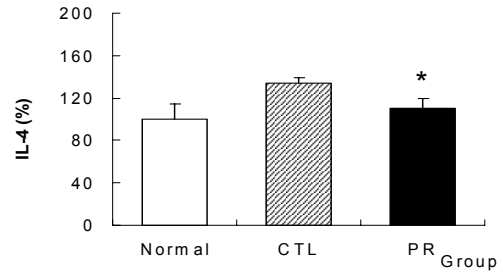


Fig. 12. Effects of PR on levels of IL-4 in BALF. Production levels of IL-4 in BALF were measured using ELISA method. All data were represented as percentage of IL-4 levels in normal group.

Normal : naive group, CTL : Asthma induced group, PR : PR treated asthma group. Results are presented as mean±SD. *P < 0.05 compared to CTL (n=8).

10. 기관지 폐포 세척액 내의 염증 세포수에 미치는 영향

천식이 유발된 생쥐의 기관지 폐포 세척액 내의 염증 세포수에 미치는 영향을 관찰한 결과 천식 유발군에서 정상군에 비하여 유의한 세포수의 증가가 관찰되었고, 이러한 증가는 PR 투여에 의하여 유의한 수준으로 감소되었다. 천식유발군에서는 평균 25.17±5.74개, PR군에서는 17.50±2.43개의 염증 세포가 관찰되었다 (Fig. 11).

11. 기관지 폐포 세척액 내 IL-4 level에 미치는 영향

천식이 유발된 생쥐의 기관지폐포 세척액에서 IL-4 level의 변화를 관찰한 결과 천식 유발군에서 정상군에 비하여 유의한 IL-4 level의 증가가 관찰되었고, 이러한 증가는 PR투여에 의하여 유의한 감소를 보였다. 정상군의 IL-4 level을 100 %로 하였을 때, 천식 유발군은 134.34±5.21 %, PR군은 109.81±9.77 %였다 (Fig. 12).

12. 기관지폐포 세척액 내 IFN-g level에 미치는 영향

천식이 유발된 생쥐의 기관지폐포 세척액에서 IFN-g level의 변화를 관찰한 결과 모든 군에서 IFN-g level 변화는 관찰되지 않았다 (Fig. 13).

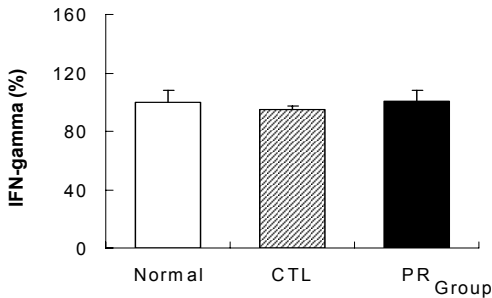


Fig. 13. Effects of PR on levels of IFN-g in BALF. Production levels of IFN-g in BALF were measured using ELISA method. All data were represented as percentage of IFN-g levels in normal group.

Normal : naive group, CTL : Asthma induced group, PR : PR treated asthma group. Results are presented as mean±SD (n=8).

13. 비장/체중 비율에 미치는 영향

비장을 적출하여 비장/체중의 비율을 관찰한 결과 천식 유발군에서 경미한 비장/체중의 비율의 증가가 관찰되었으나, 통계적으로 유의하지는 않았다. PR군은 천식 유발군과 유사한 수준의 비장/체중의 비율을 보였다 (Fig. 14).

14. 비장세포 증식율에 미치는 영향

비장세포 증식율을 관찰한 결과 천식 유발군에서 유의한 비장세포 증식율의 증가가 관찰되었고, PR군은 천식 유발군과 유사한 수준의 비장세포 증식율을 보였다 (Fig. 15).

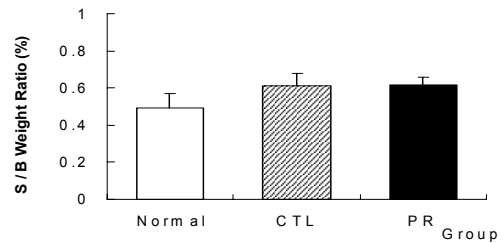


Fig. 14. Effects of PR on Spleen / Body weight ratio in asthmatic mice. Weights of body and spleen of mice were measured on day 24. All data were represented as percentage of body weights in each mice.

Normal : naive group, CTL : Asthma induced group, PR : PR treated asthma group. Results are presented as mean±SD (n=8).

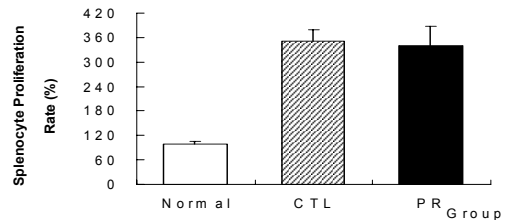


Fig. 15. Effects of PR on Splenocyte proliferation in asthmatic mice. 1×10^6 of splenocytes were seeded in 96-well plate and incubated for 48 hr. After incubation, Optical Density of each wells were measured using micro-plate reader. All data were represented as percentage of that in normal group. Values are represented as mean±SD (n=8).

15. 폐 조직의 조직병리학적 소견에 미치는 영향

천식 유발군에서 염증 소견이 발견되었고, PR은 염증소견을 억제하였다. 정상군에서는 기관지 주변 및 혈관 주변에 염증세포의 침윤 및 조직의 손상과 같은 염증 소견이 관찰되지 않았다 (Fig. 16A). 천식 대조군에서는 미세혈관 주위에 염증 세포들

이 다량 침윤되어 있는 것을 관찰 할 수 있었다 (Fig. 16B). PR군의 혈관 주위 및 폐 조직에서는 천식 대조군에서 보이던 다량의 염증 세포 침윤을 찾아 볼 수 없었다 (Fig. 16C).

IV. 考 察

기관지 천식은 可逆的인 氣道 收縮에 의해 발작적 呼吸困難, 喘鳴, 咳嗽, 肺의 過吸氣, 囉音(rales) 등의 증상을 나타내며¹⁾, 세계 인구의 약 7.2%에 달하는 것으로 추정되며(약 1억명), 성인의 약 6%, 소아의 약 10%에 달한다. 전 세계적으로 최소한 1년에 4만 명이 천식에 의해 사망하는 것으로 추정된다²⁾.

과거에 기관지 천식은 단순히 氣管支 平滑筋의 異常收縮에 의한 질환으로 생각하였으나, 최근에는 기관지 천식에 대한 개념이 기도내의 만성 염증성 질환으로 새로이 정립되었다. 이러한 기도내의 염증반응은 천식반응 시 기도내로 유입되는 여러 가지 염증세포들의 활성화에 의해 이들로부터 유리되는 여러 화학매개체들에 의해 이루어진다³⁾.

천식을 일으키는 원인으로는 알레르겐(allergen)의 흡입, 호흡기 감염, 스트레스, 공기오염, 기후, 약물, 운동 등이 있으며, 이중 알러지성 반응이 주된 원인으로 받아들여지고 있다⁴⁾.

천식의 주요증상은 삼화성 천명, 가슴의 답답한 느낌 그리고 기침이 특징이다. 천식 발작의 빈도는 아주 다양하다. 어떤 환자들은 드물게 그리고 아주 짧은 동안 발작이 있지만, 다른 환자들은 거의 지속적인 증상으로 힘들어 한다. 천식은 흔히 밤에 악화된다. 야간 천식은 대개 새벽 3-4시에 심한데 이 시간이 기관지 근육 긴장도와 기관지 반응성의 일중 변동으로 기관지수축이 잘 오기 때문이다²¹⁾.

천식의 치료법은 원인 알레르겐 및 악화 인자를 회피하는 환경요법, 원인 알레르겐을 소량씩 피하 주사로 반복 시행하여 원인 알레르겐에 대한 감수성을 약화시켜 증상의 호전을 유도하는 면역요법 등이 있다. 약물요법은 단계별로 시행하는데 처음에는 1단계로 $\beta 2$ agonist를 필요시 흡입시키고, 2단계로 낮은 농도의 steroid를 첨가해 흡입시키다가, 3단계로 고농도의 steroid를 쓰거나 낮은 농도의 흡입용 steroid에 작용시간이 긴 $\beta 2$ agonist 또는 낮은 농도의 theophylline 또는 leukotriene 조절제를 첨가 투여하고, 마지막 4단계는 고용량의 흡입용 steroid와 지속성 $\beta 2$ agonist에 필요한 경우 서방형 theophylline이나 leukotriene 조절제나 지속성 경구용 $\beta 2$ agonist를 추가하며, 최종 단계로 steroid를 경구 투여하는 방법을 사용한다⁵⁾.

韓醫學에서 喘息은 呼吸急促, 喘鳴有聲을 특징으로 하는 哮喘證과 유사하다고 할 수 있다. 氣息이

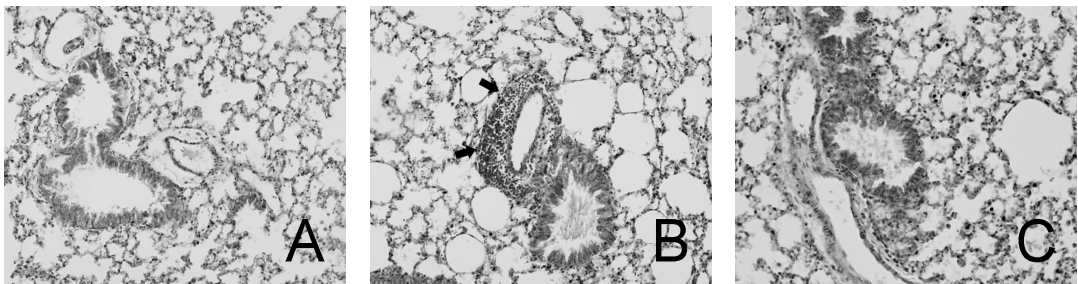


Fig. 16. Effects of PR on histopathological changes of the lung tissue in asthmatic mice. The tissues were stained with hematoxylin and eosin. Sections were examined under the light microscope. (A) Normal group, (B) CTL group, (C) PR group (x200).

연속적으로 促急하여 呼吸困難한 것을 ‘喘’ 이라 하고, 喉中에서 소리가 나는 것을 ‘哮’ 라고 하는데, 哮證, 喘證, 痰飲의 범주로 간주하고 있으며, 통칭 ‘哮喘’ 이라 한다¹⁾.

喘息의 原因은 寒冷, 心因, 痰因, 素因, 感染, 過敏性反應 등 다양하다⁶⁾. 巢²²⁾, 朱²³⁾, 樓²⁴⁾ 등은 痰飲을 哮喘의 原因이라고 하였고, 張²⁵⁾은 “夙根” 이라 하여 遺傳이나 臟腑의 機能低下 등의 내재적 소인을 가지고 있는 사람이 寒冷, 疲勞 등으로 인해 발생한다고 하였다.

喘息의 治療法은 虛證과 實證으로 나누어진다. 實證의 특징은 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, 虛證은 病勢가 緩慢하고 숨이 차 呼吸이 계속되지 못하며 吸氣가 빠르고 움직이면 호흡곤란이 가중되고 語聲에 힘이 없으며 脈微弱 또는 無力하다. 哮喘은 發作性的인 질환이며 發作 後에는 반드시 正氣가 虛해 있으므로 緩解期에는 扶正祛邪를 해야 한다. 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 치료하고, 虛證은 肺虛腎虛 등이 위주가 되므로 肺虛는 養肺定喘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을 사용하는데 實證과 虛證 모두 治痰을 겸하게 되며 半夏가 다용되고 있다.¹⁾

半夏(Pinelliae Rhizoma)는 天南星科(Araceae)에 속한 다년생 본초인 半夏의 塊莖을 건조한 것으로 性味는 辛, 溫, 有毒하고 脾, 胃, 肺經으로 歸經하며 燥濕化痰, 降逆止嘔, 消痞散結의 效能이 있어 痰多喘咳, 痰飲眩暈, 痰厥頭痛, 嘔吐反胃, 胸脘痞悶 등의 증상을 치료한다⁷⁾. 文獻의 神農本草經²⁶⁾ 下品에 “味辛平, 主傷寒, 寒熱, 心下堅, 下氣, 咽喉腫痛, 頭眩風瘡, 咳逆腸鳴, 止汗” 이라고 처음 기재된 후, 韓醫學에서 가장 頻用되는 약물중

의 하나이며 氣管支의 分泌液을 증가시키고 痰液을 배제하는 작용이 있어 急慢性咳嗽, 痰多, 胸悶氣急, 咳喘 등의 症에 多用된다²⁷⁾. 半夏의 주성분은 괴근에는 소량의 지방, 전분, nocotine, 점액질, asparagin산, glutamine산, aragine, β -amino산 등의 amino산, β -sitosterol, choline, β -sitosterol- β -*D*-glucoside, 3,4-dihydroxybenzaldehyde 등이 함유되어 있다. 또 약리작용은 coniine, nicotine에 흡사한 alkaloid로서 prptoanemonin에 유사한 피부자극물질이 함유되어 있다²⁸⁾.

半夏에 대한 실험적 연구로는 張⁸⁾ 등의 肥滿에 관한 연구, 金⁹⁾ 등의 妊娠惡阻에 관한 연구, 洪¹⁰⁾의 半夏藥鍼의 기관지 상피세포 TARC 분비에 관한 연구 등이 있으며, 半夏가 사용된 처방들에 관해서도 많은 연구¹¹⁻¹⁶⁾가 보고되었다.

천식에 관한 최근 연구를 살펴보면 남²⁹⁾은 絲瓜絡藥鍼을, 최³⁰⁾는 款冬花藥鍼을, 임³¹⁾은 葶藶子藥鍼을 이용하여 천식과 면역억제에 관한 연구를 하였고, 박³²⁾은 천식의 鍼治療에 대한 연구 동향에서 최근의 천식치료가 안전하고 부작용이 적으면서 삶의 질을 개선해주는 방향으로 형성되고 있으므로 한의학적인 천식 치료에 대한 수요가 점차 증가할 것이라고 내다보았다. 이에 저자는 steroid에 의존하는 서양의학적인 치료법에 비해 비교우위를 보일 수 있는 한의학적인 여러 가지 치료법 중 임상적으로 강력한 止咳化痰의 效能이 있어 호흡기계 질환에 상용약으로 사용되는 반하가 천식을 개선해 줄 수 있을 것이라는 가설을 세우고 본 실험을 기획하였다.

이번 연구에서는 비강 내 점적법 (Intra-nasal instillation)을 사용하여 천식을 유발 하였다. 비강 내 점적법은 비교적 최근에 알려진 방법으로 종래의 분무법이 각각의 동물에게 동일한 양의 항원을 공여할 수 없다는 단점을 보완하여 개발된 방법이다¹⁷⁾.

체중 변화는 실험 동물의 일반적인 정황을 유추

할 수 있는 지표로서, 동물을 이용한 많은 연구에서 체중 변화는 부작용으로 간주되고 있다^{33,34}. 본 연구에서는 천식 유발군 뿐만 아니라 PR군에서도 정상군과 특별한 체중의 변화를 관찰 할 수 없었는데 (Fig. 2), 이러한 결과는 본 논문에서 사용한 PR의 용량이 생쥐의 일반적인 건강상태에 위해를 끼칠 만큼 다량으로 사용된 것은 아닌 것으로 해석된다.

면역반응은 두 가지 형태로 분류할 수 있는데 하나는 체액성 면역반응이고 다른 하나는 세포성 면역반응이다. 체액성 면역반응은 주로 B-cell에 의한 항체생산을 통한 면역반응이고, 세포성 면역반응은 T-cell에 의한 사이토카인에 의한 면역 반응이다³⁵. 때문에 항원 특이 항체(Antigen specific antibody)의 level 및 기능성은 체액성 면역기능을 평가할 수 있는 중요한 요소 중의 하나이다³⁶. 일반적인 경우, 항원 특이 항체 전체의 저하는 면역기능 자체의 저하나 최소한 체액성 면역 기능 자체의 저하를 의미하는 경우가 많다³⁷. 실제로 스테로이드에 의해 유발된 면역기능 저하의 지표로서 항원 특이 항체 총량의 저하는 매우 중요한 의미를 갖는다는 사실이 알려져 있다^{38,39}. 본 논문의 결과를 살펴보면, 천식 유발에 의해 유의한 항원 특이 항체 총량의 상승이 있었지만, PR 투여군 역시 대조군과 비교할 때 항원 특이 항체 총량의 수준과 유의한 차이가 발견되지 않았다. (Fig. 3). 이러한 경향은 혈청 뿐 만 아니라 기관지 폐포 세척액(BALF)에서도 동일하게 나타났는데(Fig 7), 이것으로 미루어 볼 때 PR이 스테로이드와 같이 전반적인 면역기능이나 체액성 면역 기능에 영향을 끼치지 않는다는 것을 알 수 있다.

면역반응에 의하여 세포나 조직에 손상을 일으키는 과민반응은 I, II, III, IV형으로 분류되어 사용되고 있는데, 이 중 I, II, III형은 항체가 관여하는 체액성 면역반응이고, IV형은 주로 대식세포와 T 세포가 관여하는 세포매개 면역반응으로 항원에

노출된 후 대체로 수일 후에 증상이 나타나는 지연형 반응이다. 기관지 천식의 주요 발생 기전은 제 I형 과민 반응에 해당되며⁵, 제 I형 과민 반응은 IgE에 의해 매개되는 반응이다⁴⁰. 기관지 천식의 경우 대기의 항원이 항원전달세포(antigen presenting cell)인 수지상세포(dendritic cell)에 들어오면⁴¹ 림프내의 Th0가 Th1과 Th2로 분화되는데 Th2는 IL-3,4,5,6,9,13등의 사이토카인을 분비한다. 이들은 각종 세포들을 자극하여 IgE 및 염증매개 물질들을 분비시켜 기관지 과민성과 기도 폐쇄를 일으켜 천식증상을 발생시킨다^{42,43}. 이렇게 분비된 IgE는 비만세포와 결합하여 비만 세포가 자극 받았을 때, 여러 가지 천식 증상과 관련된 인자들을 배출시키는데 중요한 역할을 한다. 따라서 이전부터 천식의 치료에 있어서 IgE의 생성 level은 매우 중요한 치료적인 목표로 여겨져 왔다³⁸.

본 논문의 결과에 의하면 PR은 천식 유발에 의하여 상승된 혈중 IgE level을 감소시켰는데(Fig 4), 이러한 결과는 PR이 천식의 치료에 있어서 중요한 역할을 할 가능성이 높다는 사실을 의미한다. 이에 반해, 기관지 폐포 세척액 내에서의 IgE의 생성level은 PR 투여에 의하여 특별한 영향을 받지 않았는데 (Fig. 8), 이것은 기관지 폐포 세척액 내의 IgE level이 미미하여 명확한 변화를 관찰 할 수 없었던 것으로 생각된다. 실제로 기관지 폐포 세척액 내의 IgE level은 혈청의 300분의 1 수준이었다.

천식환자는 가역적인 기도의 과민반응을 보이고, Th2 반응에 의한 만성 염증 상태가 지속된다⁴⁴. 항원 특이 항체의 종류 중에서 IgG1은 Th2 반응에 관계가 깊고, IgG2a는 Th1 반응과 관계가 깊다³⁶. 본 논문의 결과를 살펴보면, 천식을 유발시킨 대조군에서 IgG1은 유의한 상승을 보였으나, IgG2a에는 특별한 영향을 미치지 않았다. 반면 PR군에서는 IgG1은 유의하게 감소하였고 (Fig. 5,

Fig 9), IgG2a는 특별한 변화가 없었다. (Fig. 6, Fig 10) 이러한 결과 역시 혈중 IgE level의 감소와 마찬가지로 PR이 생체 내의 면역 반응 중 Th2 반응을 억제하는 쪽으로 작용하는 것으로 해석되며, PR이 Th2 세포 매개로 이루어지는 알레르기성 천식을 억제하는 중요한 기전으로 생각된다.

천식 환자의 기관지 폐포 세척액, 가래 등에서 Th2에서 분비되는 사이토카인인 IL-4의 level은 정상인에 비해 올라가 있다. 반면에 Th1에서 분비되는 사이토카인인 IFN-g level은 천식환자와 정상인에서 차이가 없으며, 이에 대하여서는 다소 논란의 여지가 있다.⁴⁵⁻⁴⁷⁾ IL-4는 세포간의 정보를 전달하는 사이토카인으로 Th세포에서 생성하여 B-cell의 분화와 증식을 촉진시키고 Th2세포를 자극하여 IgE 생성을 증가시키며, 천식의 주요 증상인 기도 과민반응을 일으키는데 매우 중요한 역할을 한다⁹⁾. 이런 이유로 인하여 IL-4는 오랫동안 천식치료의 주요 인자로 여겨져 왔는데⁴⁸⁾, 본 논문의 결과를 살펴보면, 천식 유발에 의하여 기관지 폐포 세척액 내의 IL-4는 유의하게 상승하였고, 이러한 상승이 PR투여로 효과적으로 억제되었다 (Fig. 12). 그러나, IFN-g 레벨은 모든 군에서 특별한 변화를 관찰할 수 없었다 (Fig. 13). 그러나 본 연구와 유사한 이전 연구⁴⁹⁾를 살펴보면 PR 투여로 IL-4 수준은 유의하게 감소하였으나, IFN-g 레벨은 유의하게 증가한다는 사실이 보고된 바 있어, 본 논문의 결과와 IL-4에 대한 영향은 일치하였지만, IFN-g 레벨에 대한 영향은 서로 달랐다. 이러한 결과의 상이점은 첫째, 두 실험의 천식유발 방법이 다르고, 송은 BALF 중 IFN-g 와 IgE만을 측정하였기 때문이며, 둘째, 천식 연구에서 IFN-g 레벨이 미치는 영향이 명확하게 밝혀져 있지 않고 그 결과 또한 일관되지 않은 것에 기인하는 것으로 생각된다. 이러한 결과 역시 PR이 IL-4의 생성을 감소시킴으로써 Th2 반응을 억제하는 기전으

로, 혈중 IgE level, IgG1에 대한 결과와 일치하고 있다.

생체 내에서 B 세포는 주로 비장 내에서 활성화되어 형질세포 (plasma cell)가 된 다음 항체 (antibody)를 생산한다. B 세포는 IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IFN 등 T 세포가 분비하는 사이토카인에 민감하게 반응하여 항체를 생산하는 세포로 증식, 분화하여 항체를 생산한다. 항원농도가 증가함에 따라 사이토카인 생산이 증가되고, 이에 따라 B 세포의 활성화도 점진적으로 증가된다³⁵⁾. 따라서 일부 체액성 면역 기능 항진성 질환에서는 비장중대로 인한 비장의 무게 증가가 관찰된다^{36,50)}. 본 논문의 결과를 살펴보면, 천식 유발에 의하여 비장/체중 무게 비율이 상승하는 경향을 보였으나 유의하지는 않았다. 또한, PR의 투여도 비장/체중 비율에 특별한 영향을 미치지 않았다 (Fig. 14). 비장 세포의 증식율은 천식 유발에 의하여 유의한 증가를 보였지만, PR 투여에 의하여 특별한 변화를 보이지 않았다 (Fig. 15). 이러한 결과들은 PR이 스테로이드와 같은 전반적인 체액성 면역에 대한 억제 작용을 가지는 것은 아니라는 사실을 뒷받침하는 증거로 해석해 볼 수 있겠다.

천식 환자의 폐 조직 내에서는 Th2 반응에 입각한 염증 상태가 지속된다. 이러한 염증 상태는 호산구 (eosinophil)와 같은 면역 세포들의 침윤으로 대별되는데⁵¹⁾, 호산구의 혈관 내 방출을 증가시키고 생존을 증가시키는 것은 Th2 반응에 의해 생성되는 사이토카인인 IL-5에 의하므로 Th2 반응을 억제하는 PR이 호산구의 침윤을 억제할 것이라는 사실을 유추할 수 있다. 이에 폐 조직의 조직 병리학적 소견을 관찰한 결과, 천식 유발군은 미세 혈관 주위로 염증 세포들이 다량 침윤되었고, 이러한 염증 세포의 침윤은 PR의 투여에 의하여 방지되는 경향을 보인다는 사실을 알 수 있었다 (Fig. 16). 이러한 경향은 기관지 폐포 세척액 내에 존재하는 면역 세포의 개수의 감소에서도 확인

되는 것과 같이(Fig. 11), PR이 천식환자에게 있어서 기도 및 폐 조직 내의 염증을 효과적으로 감소시키며, 이것 역시 PR이 기도내의 Th2 세포의 반응을 억제하기 때문이라고 유추해 볼 수 있다.

이상의 내용을 정리해 살펴보면 PR은 혈청 및 기관지 폐포 세척액 내의 항원 특이 항체의 총량과 비장/체중 비 및 비장 세포 증식율에는 특별한 영향을 미치지 않았는데, 이는 PR이 체액성 면역에는 별다른 영향을 보이지 않다는 것을 의미한다. 반면 혈청 내 항원 특이 IgE, 혈청 및 기관지 폐포 세척액 내의 IgG1, 기관지 폐포 세척액내의 IL-4 함량, 기관지폐포 세척액 내의 염증 세포 수, 폐 조직의 염증세포 침윤을 유의하게 감소시켰는데, 이러한 결과는 PR이 천식의 주 기전인 Th2 반응을 억제한다는 것을 의미하며 이를 통해 기도의 만성염증을 억제하여 發作的 呼吸困難, 喘鳴, 肺의 過吸氣, 기침, 囉音, 喀痰등과 같은 천식의 제반 증상을 호전시키는 것이라고 사료된다. 또한 앞으로 PR이 알레르기성 천식과 같은 제 I 형 과민 반응으로 인해 발생하는 알레르기성 비염뿐만 아니라 유사한 면역계통의 이상으로 인해 발생하는 아토피나, 건선과 같은 다른 질환에도 사용할 수 있는지에 대한 지속적인 研究와 임상적인 활용도 필요하리라 생각된다.

V. 結 論

반하 추출물이 비강 내 점적으로 유발된 생쥐의 천식에 미치는 영향을 실험한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 혈청 및 기관지 폐포 세척액 내의 항원특이 전체 항체의 양에는 영향을 미치지 않았다.
2. 혈청 내의 항원 특이 IgE level을 유의하게 감소시켰다.
3. 혈청 및 기관지 폐포 세척액 내의 IgG1 level

을 유의하게 감소시켰다.

4. 혈청 및 기관지 폐포 세척액 내의 IgG2a level에는 영향을 미치지 않았다.
5. 기관지 폐포 세척액 내의 IL-4 level을 유의하게 감소시켰고, IFN-g 함량에는 영향을 미치지 않았다.
6. 비장/체중 비 및 비장 세포 증식율에는 영향을 미치지 않았다.
7. 기관지 폐포 세척액 내의 염증 세포 수를 유의하게 감소시켰다.
8. 폐 조직의 염증세포 침윤을 감소하였다.

參考文獻

1. 李珩九, 鄭昇杞. 東醫肺系內科學. 서울:아트동방. 1999;187-202.
2. 全국의과대학 임상 교수 편. Color Atlas 임상 의학. 서울:한우리. 2000;180.
3. 全국의과대학 임상교수편. 임상진단학. 서울:한미의학. 2002;392-393.
4. 韓鏞徹. 臨床呼吸器學. 서울:一潮閣. 1995;208-25.
5. 대한 천식 및 알레르기학회. 천식과 알레르기 질환. 서울:군자출판사. 2002;13-33,244-50.
6. 吉村永星, 黃義玉, 李珩九, 鄭昇杞. 알레르기성 천식에 관한 문헌적 고찰(동서의학적 비교고찰). 大韓韓醫學會誌. 1990;11(1):39-70.
7. 全國韓醫科大學 本草學教室 共著. 本草學. 서울:永林社. 1995;448-9.
8. 張炳秀, 鄭錫熙, 李鐘秀, 金性洙, 申鉉大. 半夏가 肥滿誘導 흰쥐의 體重, 脂肪組織, 血液 및 遺傳子 變化에 미치는 영향. 한방재활의학회지. 1999;9(1):103-28.
9. 김규섭, 강효신. 生半夏 薑半夏 및 靑半夏가 T3로 유발된 白鼠의 妊娠惡阻에 미치는 영향. 제한동의학술원논문집. 1997;2(1):83-99.

10. 홍재화, 서정철, 임성철, 정태영, 한상원. 반하 약침액이 사람 기관지 상피세포와 TARC 분비에 미치는 효과. 대한침구학회지. 2005;4(1):155-64.
11. 이영자, 신조영.杏仁半夏湯이 GUINEA PIG의 氣管支 平滑筋에 미치는 영향. 대한한방내과학회지. 1992;13(1):124-34.
12. 조영민, 정희재, 정승기, 이형구. 小青龍湯이 알레르기 천식의 호흡양상과 기관조직에 미치는 영향. 경희의학. 1999;5(1):78-89.
13. 주왕석, 박현주, 윤병국, 정성이, 박선동. 半夏寫心湯이 CC14로 유도된 간 중독 흰쥐에 미치는 영향. 대한본초학회지. 1999;14(2):51-60.
14. 김영훈, 김병운, 半夏芍朮湯의 진통, 소염에 관한 실험적 연구. 경희의학. 1985;1(1):111-5.
15. 권현, 정승기, 이형구. 柴梗清肺湯과 柴梗半夏湯이 Xylene으로 인한 흰쥐의 폐부종에 미치는 영향. 경희의학. 1989(3):337-46.
16. 황우석, 이재성, 최준용, 정희재, 이형구, 정승기. 小青龍湯으로 호전된 천식을 동반하는 만성부비동염 2례. 대한한의학회지. 2003;24(1):207-12.
17. Tsitoura DC, Blumenthal RL, Berry G, Dekruyff RH, Umetsu DT. Mechanisms preventing allergen-induced airways hyperreactivity: role of tolerance and immune deviation. The Journal of Allergy Clinical Immunology. 2000 Aug;106(2):239-46.
18. 김형우, 조수진, 김부여, 백진웅, 정현우, 조수인. 蔘蘇飲이 천식이 유발된 생쥐의 Cytokine 분비에 미치는 영향. 대한본초학회지. 2007;22(2):175-180.
19. Wysocki, L.J. and Sato, V.L.:"Planning" for lymphocytes;A method for cellselection Proc. Natl. Acad. Sci, USA, 1978;75(6):2844-2848.
20. Mizel, S.B., Rosenstreich, D.L.:Regulation of lymphocyte-activating factor (LAF) production and secretion in P388D1 cells; identific ation of high molecular weight precursors of LAF. The Journal of Immunology, 1979;122(6):2173-2179.
21. 전국의과대학교수 역. 오늘의 진단 및 치료, 서울:한우리. 1999;287.
22. 巢元方. 諸病源候論(卷13,14). 서울:대성문화사. 1992;106-17.
23. 朱 橐. 普濟方. 北京:人民衛生出版社. 1982;1789.
24. 樓 英. 醫學綱目. 北京:中國中醫藥出版社. 1996;598.
25. 張介賓. 景岳全書. 台北:台聯國風出版社. 1973;429.
26. 神農本草經. 北京: 科學技術文獻出版社. 1996;92-3.
27. 金載益. 臨床本草學講座. 서울:대성의학사. 2001;828-9.
28. 신민교 외. 도해향약생약대사전. 서울:永林社. 1998;286
29. 남세현, 이현, 홍권의. 絲瓜絡藥鍼의 喘息抑制 및 免役調節效果에 대한 실험적 연구. 대한침구학회지. 2005;22(4):73-85.
30. 최가원, 이현, 홍권의. 款冬花藥鍼의 喘息抑制 및 免役調節效果에 대한 실험적 연구. 대한침구학회지. 2007;24(1):195-207.
31. 임성철, 이현. 葶藶子藥鍼의 喘息抑制 및 免役調節效果에 대한 실험적 연구. 대한침구학회지. 2007;24(3):39-62.
32. 박연철, 백용현, 박동석. 喘息의 鍼治療에 대한 최근 연구동향. 대한침구학회지. 2007;24(1):217-225.
33. LI Man Chim Albert Martin, Tsang wing Tai, Chan Fung Ying, Sung Yn Tz Rita, Fok Tai Fai. Induced sputum in childhood asthma. Hong Kong Med J. 2005;

- 11:289-294.
34. Smith JG Jr, Wehr RF, Chalker DK. Corticosteroid-induced cutaneous atrophy and telangiectasia. Experimental production associated with weight loss in rats. *Archives of Dermatology*. 1976 Aug;112(8): 1115-1117.
 35. 서울대학교 의과대학편. 면역학, 서울:서울대학교 출판부. 1993;3.
 36. Thomas Kindt, Richard Glodsky, Barbara Osborn. *Kuby immunology*. New York:W. H. Freeman and Company. 2006;6:289-291.
 37. Fedor ME, Rubinstein A. Effects of long-term low-dose corticosteroid therapy on humoral immunity. *Ann Allergy Asthma Immunology*. 2006 Jul;97(1): 113-116.
 38. Kawano T, Matsuse H, Obase Y, Kondo Y, Machida I, Tomari S, Mitsuta K, Fukushima C, Shimoda T, Kohno S. Hypogammaglobulinemia in steroid-dependent asthmatics correlates with the daily dose of oral prednisolone. *International Archives of Allergy and Immunology*. 2002 Jul;128(3):240-243.
 39. Balzar S, Strand M, Rhodes D, Wenzel SE. IgE expression pattern in lung: Relation to systemic IgE and asthma phenotypes. *Journal of Allergy Clinical Immunology*. 2007 Feb 22;119(4):855-862.
 40. Burrows B, Martinez FD, Halonen M, Barbee RA, Cline MG. Association of asthma with serum IgE levels and skin-test reactivity to allergens. *The New England Journal of Medicine*. 1989;320:271-277.
 41. Noah TL, Becker S. chemokines in nasal secretions of normal adults experimentally infected with respiratory syncytial virus. *Clinical Immunology*. 2000;97:43-49.
 42. Punnonen J, Aversa G, Cocks BG, de Vries JE. Role of interleukin-4 and interleukin-13 in synthesis of IgE and expression of CD23 by human B cells. *Allergy*. 1994;49(8):576-586.
 43. Steinke JW, Borish L. Th2 cytokines and asthma. Interleukin-4:its role in the pathogenesis of asthma, and targeting it for asthma treatment with interleukin-4 receptor antagonists. *Respir Res*. 2001; 2(2):66-70.
 44. Chakir J, Shannon J, Molet S, Fukakusa M, Elias J, Laviolette M, et al. Airway remodeling-associated mediators in moderate to severe asthma: effect of steroids on TGF-beta, IL-11, IL-17, and type I and type III collagen expression. *Journal of Allergy Clinical Immunology*. 2003;111: 1293-1298.
 45. Wen MC, Wei CH, Hu ZQ, Srivastava K, Ko J, Xi ST, et al. Efficacy and tolerability of anti-asthma herbal medicine intervention in adult patients with moderate-severe allergic asthma. *Journal of Allergy Clinical Immunology*. 2005;116: 517-524.
 46. Lynch EL, Little FF, Wilson KC, Center DM, Cruikshank WW. Immunomodulatory cytokines in asthmatic inflammation. *Cytokine Growth Factor Review*. 2003 Dec;14(6): 489-502.
 47. Medoff BD, Sauty A, Tager AM, Maclean JA, Smith RN, Mathew A, Dufour JH,

- Luster AD. IFN-g-inducible protein 10 (CXCL10) contributes to airway hyperreactivity and airway inflammation in a mouse model of asthma. *Journal of Immunology*. 2002 168;5278-5286.
48. Corry DB, Folkesson HG, Warnock ML, Erle DJ, Matthay MA, Wiener- Kronish JP, Locksley RM. Interleukin 4, but not interleukin 5 or eosinophils, is required in a murine model of acute airway hyperreactivity. *Journal of Experimental Medicine*. 1996 Jan 1;183(1):109-117. Published Erratum appears in: *Journal of Experimental Medicine*. 1997 May 5;185(9):1715.
49. 송재진. 반하가 천식모델 생쥐의 면역세포 및 사이토카인에 미치는 영향. *대한한방내과학회지*. 2005;26(1):156-168.
50. Kurt J. Isselbacher, Eugene Braunwald, Jean D. Wilson, Joseph B. Martin, Anthony S. Fauci, Dennis L. Kasper: Harrison TR. *Principles of Internal Medicine, Diabetes Mellitus* 1987;11:1757-1777.
51. Magnan A, Vervloet D. Role of eosinophilia in atopic pathology. *Med Trop*. 1998 Mars;58:444-446.