

# 黃芪의 栽培年差에 따른 喘息의 면역학적 치료효과에 대한 비교연구

이민형<sup>1#</sup>, 노성수<sup>2</sup>, 서영배<sup>1\*</sup>

1: 대전대학교 한의과대학 본초학교실, 2: 대구한의대학교 한의과대학 본초학교실

## Comparative Study of the Effect in Immune Cure Against Asthma of Astragali Radix by Culturing Year

Min-Hyung, Lee<sup>1#</sup>, Seong-Soo Roh<sup>2</sup>, Young-Bae Seo<sup>1\*</sup>

1: Dept. of Herbology, College of Oriental Medicine, Daejeon University

2: Dept. of Herbology, College of Oriental Medicine, Daegu Haany University

### ABSTRACT

**Objectives :** The present study was carried out to investigate the effects of Astragali radix on the asthma treatment. EAR-I is an extract of astragali radix cultured for one year and EAR-III is an extract of astragali radix cultured for three years.

**Methods :** Two asthma-induced groups mice group was treated respectively with EAR-I and EAR-III. The other group was not. Each group was analyzed in vivo and in vitro experiments.

**Results :** In asthma-induced mice by OVA treatment, the weight of lung, total cell number of leukocyte and eosinophil in BALF, both EAR-I and EAR-III treated groups were significantly decreased compared to control group.

IL-4, IL-5, IL-13, histamine, IgE in BLAF of group treated with both EAR-I and EAR-III were significantly decreased compared to control group.

In FACS analyzing, granulocytes, CD3e<sup>-</sup>/CCR3<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>/CD19<sup>-</sup>, CD3e<sup>+</sup>/CD69<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup> and Gr-1<sup>+</sup>/CD11b<sup>+</sup> were significantly increased in asthma induced mice group by OVA treatment compared to control group, and decreased in group treated with both EAR-I and EAR-III.

**Conclusions :** The present data proves that extract of astragali radix has an effect on the inhibiting asthma. Moreover, astragali radix cultured for three years was proved to be superior to the one cultured for one year.

**Key words :** Astragali radix, Asthma, OVA, culturing year, FACS, ELISA

\* 교신저자 : 서영배, 대전시 동구 용운동 96-3 대전대학교 한의과대학 본초학교실

· Tel : 042-280-2625 · E-mail : genin@dju.ac.kr

#제1저자 : 이민형, 대전시 동구 용운동 96-3 대전대학교 한의과대학 본초학교실

· Tel : 042-280-2640 · E-mail : Omdleemh@daum.net

· 접수 : 2008년 5월 16일 · 수정 : 2008년 6월 12일 · 채택 : 2008년 6월 20일

## 서론

黃芪는 황기 *Astragalus membranaceus* Bunge (콩과 Leguminosae)의 周皮를 벗긴 뿌리이며<sup>1)</sup>, 봄, 가을에 채취하여 鬚根과 根頭를 제거하고 曬乾하여 사용한다<sup>2)</sup>.

性味는 甘微溫하며 無毒, 脾·肺 二經으로 入하고 生用하면 補氣固標하는 效能이 있어 止汗하고 陽氣를 溫運케하여 利水消腫하는 效能을 나타내며 아울러 精氣를 鼓舞시켜 托毒生肌시킨다. 炙用하면 補脾益氣하면서 陽氣를 承舉시키고 肌表에 作用하여 補氣承陽하므로 元氣가 下陷된 것을 承舉케하고 補氣함으로써 生血한다<sup>2)</sup>.

현대적인 약리 작용으로는 면역 계통에 작용하여 면역 억제에 대한 대항작용, 면역 활성 증강 작용, 세포 면역증강작용, 체액면역에 대한 증강 작용, 자연살해 세포에 대한 작용, 항노화작용, 항산화작용, 적혈구생성증강작용, 항암작용 등이 연구보고 되고 있다<sup>3)</sup>.

본 연구는 이러한 黃芪가 肺經에 들어가 補肺益氣하고, 托毒生肌하는 효능으로, 肺虛咳嗽에 사용되며<sup>4)</sup>, 각종 피부염증 질환에 작용하여 염증을 소거하는 작용이 있으므로, 이를 이용하여 면역능력의 저하로 유발되는 기관지 천식과 천식에서 유발되는 만성적인 염증에 대한 황기의 유효성을 살펴보고자 한다.

뿐만 아니라 재배 연차에 따른 그 약리 작용에 대한 차이가 있는지를 비교, 대조하여 황기의 표준 한약 기준 설정에 근거가 될 수 있을 것이다.

알레르기 천식을 C57BL/6 mouse에 ovalbumin (OVA)으로 감작시켜, 기관지 천식을 유발시킨 뒤 *in vitro*, *in vivo* 실험을 수행한 결과 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

## 재료 및 방법

### 1. 재료

#### 1) 시약 및 기기

##### ① 시약

본 실험에 사용된 시약으로 diethyl pyrocarbonate (DEPC), NH<sub>4</sub>Cl, KHCO<sub>3</sub>, Na<sub>2</sub> EDTA, mgcomplete adjuvant, chloroform, collagenase IV, RPMI-1640 배양액, isopropanol, 적혈구용혈액(ACK lysis solution), ethidium bromide (EtBr), dulbecco's phosphate buffered saline (D-PBS),

dulbecco's minimum essential medium (DMEM), formaldehyde, magnesium chloride (MgCl<sub>2</sub>)는 Sigma 사(USA) 제품, 우태아혈청(fetal bovine serum, FBS)을 사용하였으며, anti-CD28과 anti-CD3는 Serotec사 (Kidlington, UK)제품, anti-CD3-PE(phycoerythrin), anti-CD4-FITC(fluorescein isothiocyanate), anti-Gr1-PE, anti-CD8-FITC, anti-CD19-FITC, anti-CD11b-FITC, propidium iodide (PI)는 Pharmingen사(Torreyana, U.S.A) 제품을 사용하였고, 기타 시약은 특급 시약을 사용하였다.

##### ② 기기

본 실험에 사용된 기기는 열탕추출기(대웅, Korea), rotary vacuum evaporator (Büchi B-480, Switzerland), freeze dryer (EYELA FDU-540, Japan), CO<sub>2</sub> incubator (Forma scientific Co, USA), 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, USA), deep freezer (Sanyo, Japan), thermocycler system (MWG Biotech., Germany), ice-maker (Vision scientific Co., Korea), homogenizer (OMNI, USA), plate shaker (Lab-Line, USA) 및 ELISA reader (Molecular Devices, USA) 등을 사용하였다.

##### 2) 동물

웅성 6주령의 C57BL/6 생쥐 20수를 한국생명공학 연구원에서 공급받았고, 실험당일까지 고형사료(항생제 무첨가, 삼양사료)와 물을 충분히 공급하고 실온 22±2°C, 습도 50~70%, 조도 200 lux, 그리고 조명 12시간(8시 점등, 20시 소등)을 계속 유지하면서 2주일간 실험실 환경에 적응시킨 후 동물실험에 대한 윤리규정을 준수하여 실험하였다.

##### 3) 약물

실험에 사용된 황기(*Astragali radix*)는 강원도 태백 농협에서 구입한 것으로 1년생 황기와 3년생 황기로 구분하여 대전대학교 본초학교실에서 대한약전 기준에 부합하는 것들을 선별검사한 후 합격된 것만을 정선하여 사용하였다.

##### 4) 황기 추출물 분리

1년생 황기 추출물(Extracts of *Astragali radix*-I; 이하 EAR-I로 칭함)과 3년생 황기 추출물

(Extracts of Astragali Radix-III; 이하 EAR-III로 칭함) 분리 방법은 각각 황기 200 g에 각각 증류수 2,000 ml를 가하여 열탕 추출기에서 3시간 추출하여 얻은 액을 흡입 여과하여 이를 감압 증류장치(Rotary evaporator)로 농축하여, 이를 다시 동결 건조기(Freeze dryer)를 이용하여 완전 건조된 황기 추출물을 냉동 (-84℃) 보관하면서 적당한 농도로 희석하여 사용하였다.

## 2. 방법

### 1) In vitro 실험

(1) 천식모델 생쥐의 폐에서 호산구 세포 분리  
500 µg/ml의 난알부민(OVA, chicken egg ovalbumin; Grade IV)과 10%(w/v) aluminum potassium sulfate (Alum; Sigma)를 0.2 ml (100 µg)을 복강내로 주사하여 전신감작을 시킨 후 2주째에 생쥐를 마취한 후 OVA (500 µg/ml) 100 µl를 기도투여(i.t)하였다. 3주째부터 분무기를 이용하여 2.5 mg/ml OVA 용액을 하루에 30분씩 일주일에 3회씩 6주 동안 비강 및 기도내로 흡입시켰다. 천식이 유발된 생쥐의 폐를 적출하여 폐 조직을 잘게 절편 한 후 2 % 우태아 혈청 (fetal bovine serum, FBS)이 포함된 RPMI 1640 배지에 1 mg/ml의 collagenase IV를 가한 용액 15 ml로 37℃, shaking 배양기에서 30분 동안 5회 이상 조직을 분해(digestion) 하여 폐 세포를 분리하였다. 분리된 폐세포는 배지로 세척한 후 cell strainer에 통과시켜 세포 이외의 분해되지 않은 조직이나 불순물을 제거하였다. 이들 세포들로부터 적혈구 용혈액 (ACK solution, 0.15 M NH<sub>4</sub>Cl 8.29 g, 1.0 mM KHCO<sub>3</sub> 1 g, 0.1 mM Na<sub>2</sub> EDTA 37.2 mg)을 37℃에서 5분 동안 처리하여 적혈구를 용해시키고 다시 배지로 세척한 후 0.04% trypan blue로 염색한 후 세포수를 측정하였다.

### (2) 폐 호산구 세포 배양 및 호산구 세포증식

호산구 세포( $\times 10^6$  cells/ml)는 96-well과 flat-bottom과 microtiter 접시에 분주하고 rmIL-5(recombinant mouse interleukin-5, 10 µg/ml)와 rIL-3(recombinant interleukin-3, 30 U/ml)로 활성화 시키고, 72시간 동안 황기추출물(100, 10, 1 µg/ml)과 동시배양하였다. 양성대조군으로 cyclosporin A(10 µg/ml)를 처리하였다. 동시배양 64시간 배양 후 50 µCi/ml의 [methyl-<sup>3</sup>H] Thymidine (Amersham, USA)을 첨가한 후 최종 72시간 배양하였다. 세포내로 흡수된 방사선 동위원소

의 양을 측정하기 위하여 세포만을 세포수집기(Cell Harvester, USA)를 사용하여 유리섬유여지(Glass microfiber filter, Whatman) 위에 포획하고, 건조한 후 방사선 측정기(Liquid Scintillation Counter, LKB)를 이용하여 방사선 동위원소의 양을 측정하였다.

### (3) Lymphokine assay

비장세포( $2 \times 10^6$ /ml)는 anti-CD28 (1 µg/ml) 항체 (Pharmingen)와 anti-CD3(1 µg/ml)으로 24-well Costar 접시(Corning Inc, Cambridge, Mass)에서 coating하였다. 황기추출물(100 µg/ml)과 48시간 동안 동시배양하였고, 양성대조군으로 cyclosporin A (10 µg/ml)을 처리하였다. 그리고 IL-4, 그리고 IFN-γ 는 ELISA (Pharmingen)를 가지고 측정하였다.

### 2) In vivo 실험

#### (1) 기관지 천식 생쥐 모델

500 µg/ml의 난알부민(OVA, chicken egg ovalbumin; Grade IV)과 10%(w/v) aluminum potassium sulfate (Alum; Sigma)를 PBS로 용해한 후 혼합한다. 이 혼합물을 10 N NaOH로 pH를 6.5로 조정하여 상온에서 1시간 동안 방치하고 750 x g에서 5분 동안 원심 분리한다. 이 OVA/Alum 침전물(pellet)을 증류수를 가하여 원래의 양으로 용해한 후 100 µg OVA를 0.2 ml로 조정하여 복강 내로 주사하여 전신감작을 시킨다. 이후 2주째에 생쥐를 마취한 후 난알부민(500 µg/ml) 100 µl를 기도투여(i.t.)한다. 3주째부터 분무기를 이용하여 2.5 mg/ml 난알부민 용액을 하루에 30분씩 일주일에 3회씩 6주 동안 비강 및 기도내로 흡입시킨다. 이때 대조군으로 PBS 또는 Alum만을 주사, 흡입시킨다.

#### (2) EAR-I 과 EAR-III 경구 투여

OVA/Alum로 전신감작 시킨 후 3주째부터 EAR-I 과 EAR-III (150 mg/kg)을 일주일에 5회 경구 투여하였다. 대조군에는 증류수를 동량 경구투여 하였다. 또한 양성대조군으로 1일 1회 cyclosporin A (CsA, 20 mg/kg)를 4주간 복강주사 하였다.

#### (3) 폐와 기관지 세척액 (BAL fluid : BALF)으로 부터 세포의 분리

6주후 기관지천식 생쥐의 눈에서 혈액을 분리한 후 목 부분을 해부하여 폐포 세척액(BALF)으로부터 세포를 분리하기 위해 10% FBS/DMEM 배양액 1 ml을 넣은 주사기를 기관지(trachea)에 주입시키고 끈으로 묶어 고정한 후 3회 순환 시켜 분리한 후 ACK 용

액을 37°C에서 5분 동안 처리하여 적혈구를 용해시키기고 다시 배지로 세척한 후 0.04% trypan blue로 염색한 후 세포수를 측정한다.

#### (4) Cytospin에 의한 호산구 분석

기관지 폐세척액(BALF)으로부터 세포를 분리한 후 cytospin (한일과학)에서 1,000 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 infiltration된 호산구의 수자를 측정하였다.

#### (5) 폐 적출 및 호산구 세포 분리

BALF에서 세포를 분리한 후 폐의 무게를 측정하고 폐 조직을 잘게 절편한 후 2% 우태아 혈청(fetal bovine serum, FBS)이 포함된 RPMI 1640 배지에 1 mg/ml의 collagenase IV를 가한 용액 3 ml로 37°C, shaking 배양기에서 30분 동안 5회 이상 조직을 분해하여 호산구 세포를 분리하였다. 분리된 호산구 세포는 배지로 세척한 후 cell strainer에 통과시켜 세포외의 분해되지 않은 조직이나 불순물을 제거하였다. 이들 세포들로부터 ACK 용액을 37°C에서 5분 동안 처리하여 적혈구를 용해시키고 다시 배지로 세척한 후 0.04% trypan blue로 염색한 후 세포수를 측정하였다.

#### (6) 유세포 분석 (flow cytometry analysis)

폐와 BALF으로부터 분리한 세포로부터 다양한 세포표면 분자들에 대한 항체를 이용하여 면역염색하기 위하여  $2^5 \times 10^5$  세포로 조정하여 염색 완충용액 (1% 우태아 혈청, 0.01% Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>가 포함된 인산염 완충용액, pH 7.4)으로 1회 세척하였다. 이를 FITC (fluoresceinated isothiocyanate) 또는 PE (phycoerythrin) 형광물질이 결합된 CD3, CD4, CD8, CD19, CCR3, CD11a, CD11b, Gr-1등의 항체를 시료에 가하여 4°C에서 40분간 반응시키고 염색 완충용액으로 2회 세척한 후 세포표면 분자들의 발현을 유세포분석기 (FACScan, BD Biosciences)로 분석하였다.

#### (7) ELISA analysis

생쥐에서 분리한 폐포 세척액과 혈청에서 각 사이토카인량을 측정하기 위해 IL-4, IL-5 enzyme-linked immuno-sorbent assay (ELISA, Endogen, USA)와 IL-13는 ELISA kit (R & D system)으로

생산량을 측정하였다. 각 항체(antibody)를 coating 완충용액에 희석하여 microwell에 coating한 후 4°C에서 overnight하였다. 각 well을 3회 washing 완충용액으로 세척한 후 폐포 세척액과 혈청(100배 희석)을 100  $\mu$ l 씩 분주하였다. 1시간 동안 실온에서 방치한 후 2회 washing 완충용액으로 세척한 다음 antibody Avidin-HRP conjugated 100  $\mu$ l를 처리하고 1시간 실온에서 방치한 후 다시 세척하였다. TMB 기질을 100  $\mu$ l 씩 분주하고 암소에서 30분간 방치한 후 50  $\mu$ l의 stop 용액을 처리한 후 ELISA reader 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

#### (8) 조직병리검사

폐를 떼어내어 즉시 10% 포르말린에 고정시키고 파라핀으로 포매한 후 3  $\mu$ m 두께의 block을 제작하여 hematoxyline, eosin과 Masson/trichrome 염색을 시행하였다.

#### (9) 통계처리

다양한 실험으로부터 얻은 결과는 mean  $\pm$  standard error로 기록하였고, 유의성 검증은 Student's unpaired t-test 분석방법을 이용하여 결정하였다.

## 결 과

### 1. *In vitro* 실험

#### 1) 호산구 세포 증식에 미치는 영향

rIL-3와 rIL-5를 함께 처리한 대조군은  $18847 \pm 1527$ (cpm)이었고, CsA 양성대조군은  $4676 \pm 972$ (cpm)로 대조군에 비해 유의성있게 억제되었다. EAR-I을 100, 10, 1  $\mu$ g/ml 씩 처리한 실험군은  $8964 \pm 779$ (cpm),  $9357 \pm 415$ (cpm),  $10668 \pm 794$ (cpm)으로 유의성있게 억제되었고, EAR-III를 100, 10, 1  $\mu$ g/ml 씩 처리한 실험군은 각각  $6649 \pm 344$ (cpm),  $6695 \pm 462$ (cpm),  $7752 \pm 461$ (cpm)로 유의성있게 억제되었다. EAR-I과 EAR-III의 비교는 EAR-III이 1  $\mu$ g/ml 농도에서도 EAR-I보다 현저하게 억제되는 결과를 관찰할 수 있었다(Table 1).

#### 2) Lymphokine assay

rIL-3와 rIL-5를 함께 처리한 대조군의 IL-4 분비량은  $57.4 \pm 0.5$ (pg/ml)이었고, EAR-I 처리군에서는  $15.1 \pm 1.1$ (pg/ml)으로 3.5배 이상 감소를 나타내었고, EAR-III 처리군에서는  $10.7 \pm 1.7$ (pg/ml)으로 5배 이상 감소를 나타내었다. 대조군의 IFN- $\gamma$  분비량은  $107.9 \pm$

2.15(pg/ml)이었고, EAR-I 처리군에서는 119±2.1(pg/ml)으로 증가를 나타내었고, EAR-III 처리군에서는 127.7±0.9 (pg/ml)으로 현저히 증가를 나타내었다 (Fig. 1).

Table 1. Effect of EAR-I and EAR-III on the Eosinophil Proliferation from OVA-induced Asthma Mouse Lung Eosinophil Cells

Group	Drug (mg/ml)	mIL-3 +IL-3	Eosinophil proliferation (cpm)
Eosinophils	-	-	968±91
Control	-	+	18847±1327
Cyclosporin A	10	-	4676±972 <sup>**</sup>
	100	-	8961±779 <sup>**</sup>
EAR-I	10	-	9357±415 <sup>**</sup>
	1	+	10658±794
	100	+	6649±344 <sup>**</sup>
EAR-III	10	-	6685±462 <sup>**</sup>
	1	+	7732±461

C57BL/6 mice were injected, inhaled and sprayed with OVA three times a week for 6 weeks for asthma induction. Lung eosinophils were isolated OVA-induced asthma mouse lung tissue. Two experimental groups were treated with different concentrations of extract of astragal radix (EAR-I and EAR-III) for 48 hrs. and CsA (20 mg/kg). At the end of the experiment, eosinophil proliferation was measured by 3H-up-date and b-counter. The results are expressed the mean ± S.E.M. (N=6). Comparisons between control and test groups were analyzed using Student's paired test, and differences were considered significant when the degree of confidence in significance was 99% or higher(\*\*p < 0.01).

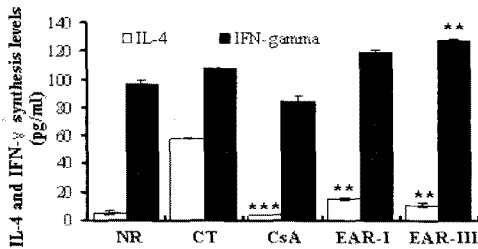


Fig. 1. Levels of IL-4 and IFN-gamma synthesis by splenocytes treated with EAR-I and EAR-III

Splenocytes from C57BL/6 mice at 8 weeks of age were stimulated with anti-CD3 (1 µg/ml) plus anti-CD28 (1 µg/ml) antibody for 48hrs. Two experimental groups were treated with different concentrations of extract of astragal radix (EAR-I and EAR-III), CsA (20 mg/kg per day) for the later 48hrs). levels of IL-4 and IFN-γ in the culture supernatants were measured by ELISA. The results are expressed the mean ± S.E.M. (N=6). Comparisons between control and test groups were analyzed using Student's paired test, and differences were considered significant when the degree of confidence in significance was 99% and 99.9% or higher(\*\*p<0.01, \*\*\*p < 0.001). NR: Normal C57BL/6 mice.

CT: anti-CD3 (1 µg/ml) plus anti-CD28 (1 µg/ml) antibody coated plate.  
 CsA: anti-CD3 plus anti-CD28 plus cyclosporin A (20 µg/ml)  
 EAR-I: anti-CD3 plus anti-CD28 plus EAR-I (100 µg/ml)  
 EAR-III: anti-CD3 plus anti-CD28 plus EAR-III (100 µg/ml)

## 2. In vivo 실험

### 1) 천식 유발 및 폐조직 검사

H&E의 염색에서 WT(Wild type)에 비해 OVA를 스프레이한 대조군에서 폐포 주위에 호산구 같은 천식 유발 염증세포의 침윤이 다량으로 존재하는 것이 관찰되었다. 그러나 양성대조군인 CsA 투여군, EAR-I 투여군, EAR-III 투여군에서는 폐포 주위에 침윤된 염증 세포들이 현저히 감소되어 나타났다. M-T 염색은 폐포조직의 주위에 collagen이 침착된 것을 자주색으로 염색하여 조직의 손상정도를 관찰하는 것으로 대조군에 비하여 CsA, EAR-I과 EAR-III 투여군의 조직손상이 현저히 감소된 것을 관찰할 수 있었다(Fig. 2).

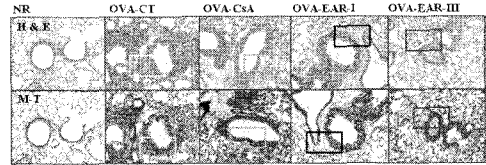


Fig. 2. Histology of lung tissue (H&E and Masson trichrome staining) in murine OVA- induced asthma lung cells

NR: Normal C57BL/6 mice  
 OVA-CT: Ovalbumin inhalation (control)  
 OVA-CsA: OVA + CsA (20 mg/kg)  
 OVA-EAR-I: OVA + EAR-I (200 mg/kg)  
 OVA-EAR-III: OVA + EAR-III (200 mg/kg)

### 2) 폐 무게에 미치는 영향

정상군에 비해 OVA로 감작시켜 천식을 유발시킨 대조군의 폐 무게는 현저하게 증가되었고, 양성대조군인 CsA 투여군은 대조군에 비하여 유의성 있게 감소되었고, EAR-I 투여군과 EAR-III 투여군에서의 폐 무게는 대조군에 비하여 유의성 있게 감소되었다 (Fig. 3).

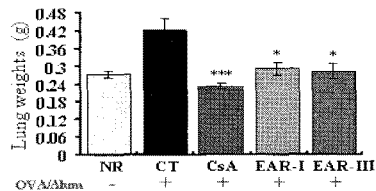


Fig. 3. Effect of EAR-I and EAR-III extract on lung weight in murine OVA-induced asthma

Normal: Normal C57BL/6 mice  
 CT: Ovalbumin inhalation (control)  
 EAR-I: OVA + EAR-I (200 mg/kg)  
 EAR-III: OVA + EAR-III (200 mg/kg)

The results are expressed the mean ± S.E.M. (N=5). Comparisons between control and test groups were analyzed using Student's paired test, and differences were considered significant when the degree of confidence in significance was 99.9% or higher(\*\*p < 0.001).

3) 폐와 BALF 내의 세포수 분석

(1) 총 폐 세포수

정상군에 비해 OVA로 감작시켜 천식을 유발시킨 대조군의 폐 세포수는 현저하게 증가되었고, 양성대조군인 CsA 투여군은 대조군에 비하여 유의성 있게 감소되었으며, EAR-I 투여군과 EAR-III 군에서의 폐 무게는 대조군에 비하여 유의성 있게 감소되었다. EAR-III 투여군이 EAR-I 투여군 보다 감소량이 약간 크게 나타났다(Fig. 4).

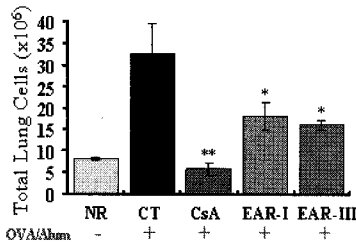


Fig. 4. Effect of EAR-I and EAR-III extract on total lung cells in murine OVA-induced asthma

The results are expressed the mean ± S.E.M. (N=5). Comparisons between control and test groups were analyzed using Student's paired test, and differences were considered significant when the degree of confidence in significance was 95% or 99% or higher(\*p < 0.05, \*\*p < 0.01).

(2) BALF 내의 총 백혈구 수

정상군에 비해 OVA를 감작하여 천식을 유발시킨 대조군에서 BALF 내 백혈구의 수가 현저히 증가되었다. 양성대조군인 CsA 투여군은 대조군에 비하여 유의성 있게 감소되었고, EAR-I 투여군과 EAR-III 투여군에서의 BALF 내 백혈구의 수가 대조군에 비하여 유의성 있게 감소되었다. EAR-III 투여군이 EAR-I 투여군 보다 감소량이 크게 나타났다(Fig. 5).

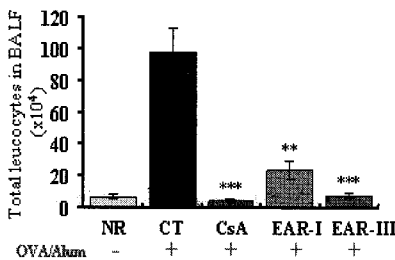


Fig. 5. Effect of EAR-I and EAR-III on total leucocytes in BALF in murine OVA-induced asthma

The results are expressed the mean ± S.E.M. (N=5). Comparisons between control and test groups were analyzed using Student's paired test, and differences were considered significant when the degree of confidence in significance was 99% or 99.9% or higher(\*\*p < 0.01, \*\*\*p < 0.001).

(3) BALF 내의 총 호산구 수

정상군에 비해 BALF 내 호산구의 수가 OVA를 감작하여 천식을 유발시킨 대조군에서 현저히 증가하였다. 양성대조군인 CsA 투여군은 대조군에 비하여 유의성 있게 감소하였고, EAR-I 투여군과 EAR-III 투여군에서의 BALF 내 호산구의 수는 대조군에 비하여 유의성 있게 감소되었다. EAR-III 투여군이 EAR-I 투여군 보다 감소량이 크게 나타났다(Fig. 6).

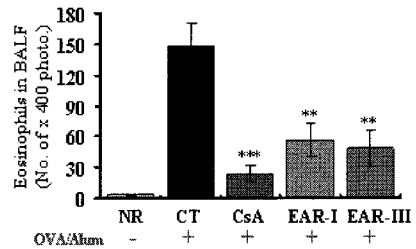


Fig. 6. Effect of EAR-I and EAR-III on eosinophils in BALF in murine OVA-induced asthma

The results are expressed the mean ± S.E.M. (N=5). Comparisons between control and test groups were analyzed using Student's paired test, and differences were considered significant when the degree of confidence in significance was 99% or 99.9% or higher(\*\*p < 0.01, \*\*\*p < 0.001).

4) 혈청과 BALF 내의 ELISA 측정

정상군에 비해 OVA를 감작하여 천식을 유발시킨 대조군의 BALF 내 IL-4 수준이 현저히 증가되었다. 양성대조군인 CsA 투여군은 대조군에 비하여 유의성 있게 감소되었고, EAR-I 투여군과 EAR-III 투여군에서의 BALF 내 IL-5 수준이 대조군에 비하여 유의성 있게 감소되었다.

정상군에 비해 OVA로 천식을 유발시킨 대조군의 BALF 내 IL-5 수준이 현저히 증가되었다. 양성대조군인 CsA 투여군은 대조군에 비하여 유의성 있게 감소되었고, EAR-I 투여군과 EAR-III 투여군의 BALF 내 IL-5 수준이 대조군에 비하여 유의성 있게 감소되었다.

정상군에 비해 OVA를 감작하여 천식을 유발시킨 대조군의 BALF 내 IL-13 수준이 현저히 증가되었다. 양성대조군인 CsA 투여군은 대조군에 비하여 유의성 있게 감소되었고, EAR-I 투여군과 EAR-III 투여군에서의 BALF 내 IL-13 수준이 대조군에 비하여 유의성 있게 감소되었다. BALF 내 IL-4, IL-5, IL-13 발현량이 EAR-III 투여군에서 EAR-I 투여군 보다 감소되었다(Fig. 7).

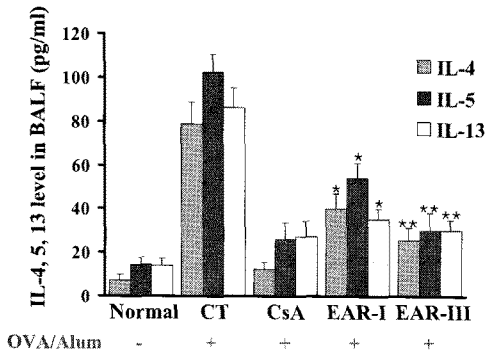


Fig. 7. Effect of EAR-I and EAR-III on interleukin-4, 5, 13 levels in BALF of murine OVA-induced asthma

The results are expressed the mean ± S.E.M. (N=5). Comparisons between control and test groups were analyzed using Student's paired test, and differences were considered significant when the degree of confidence in significance was 95 % or 99 % or higher(\*p < 0.05, \*\*p < 0.01).

5) 유세포 형광염색 분석

(1) 과립구와 림프구 세포수 분석

폐조직 내의 과립구는 정상군이 7.7±1.24%이었고, OVA로 감작시켜 천식을 유발시킨 대조군에서의 과립구의 비율은 32.8±1.31%로 증가되었다. 양성대조군인 CsA 투여군은 15.4±1.48%로 대조군에 비하여 유의성 있게 약 2배 감소되었고, EAR-I 투여군과 EAR-III 투여군에서의 폐조직 내 과립구는 각각 19.3±1.52%와 16.4±1.71%로 대조군에 비하여 유의성 있게 감소되었다(Fig. 8).

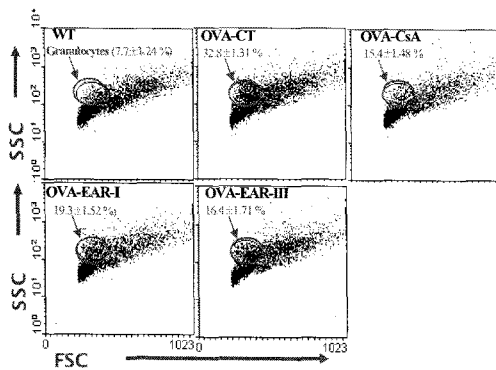


Fig. 8. Effect of EAR-I and EAR-III on the ratio of granulocytes (%) population in murine OVA-induced asthma lung cells

(2) 폐조직 내 CD3e<sup>-</sup>/CCR3<sup>+</sup>, CD3e<sup>+</sup>/CD19<sup>-</sup>, CD3e<sup>-</sup>/CD19<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, Gr-1<sup>+</sup>/CD11b<sup>+</sup> 세포수 분석  
폐조직 내의 CD3e<sup>-</sup>/CCR3<sup>+</sup> 세포수는 정상군이

15.9±4.3%이었고, OVA로 감작시켜 천식을 유발시킨 대조군에서의 CD3e<sup>-</sup>/CCR3<sup>+</sup>의 비율은 35.0±4.1%로 증가되었다. 양성대조군인 CsA 투여군은 19.9±2.7%로 대조군에 비하여 유의성 있게 감소되었고, EAR-I 투여군과 EAR-III 투여군에서의 폐조직 내 CD3e<sup>-</sup>/CCR3<sup>+</sup>는 각각 23.8±4.0%와 20.7±2.7%로 대조군에 비하여 유의성 있게 감소되었다(Table 2).

정상군의 T 세포 CD3e<sup>+</sup>/CD19<sup>-</sup> 비율은 36.9±4.2%인 반면, OVA로 감작시켜 천식을 유발시킨 대조군에서의 비율은 65.1±4.4%로 증가되었다. 양성대조군인 CsA 투여군은 42.5±3.7%로 대조군에 비해 유의성 있게 감소되었고, EAR-I 투여군과 EAR-III 투여군의 폐조직 내 CD3e<sup>+</sup>/CD19<sup>-</sup> 세포는 각각 42.8±4.9%와 43.1±3.5%로 대조군에 비해 유의성있게 감소되었다.

CD4<sup>+</sup>의 수는 정상군이 6.8±1.1%이었고, OVA로 감작시켜 천식을 유발시킨 대조군에서의 CD4<sup>+</sup>의 수는 28.6±3.7%로 현저히 증가되었다. 양성대조군인 CsA 투여군은 10.4±2.5%로 대조군에 비하여 유의성 있게 감소되었고, EAR-I 투여군과 EAR-III 투여군에서의 폐조직내 CD4<sup>+</sup>는 각각 14.8±3.7%와 12.1±2.5%로 대조군에 비하여 유의성 있게 감소되었다(Table 2).

CD8<sup>+</sup>의 수는 정상군이 9.7±1.9%이었고, 대조군에서의 CD8<sup>+</sup>의 수는 7.1±0.87%로 감소되었다. 양성대조군인 CsA 투여군은 12.1±2.0%로 대조군에 비하여 유의성 있게 증가되었고, EAR-I 투여군과 EAR-III 투여군에서의 CD8<sup>+</sup>는 각각 7.9±1.6%와 9.7±2.4%로 대조군에 비하여 증가되었다(Table 2).

Table 2 Effects of EAR-I and EAR-III on Ratios of CD3e<sup>-</sup>/CCR3, CD3e<sup>+</sup>/CD19, CD3e<sup>-</sup>/CD19<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup> and Gr-1<sup>+</sup>/CD11b<sup>+</sup>(%) Population in Lung Cells of OVA-induced Asthma Mouse

%	NR	CT	CsA	EAR-I	EAR-III
CD3e <sup>-</sup> /CCR3 <sup>+</sup>	15.9 ± 4.3	35.0 ± 4.1	19.9 ± 2.7	23.8 ± 4.0	20.7 ± 2.7
CD3e <sup>+</sup> /CD19 <sup>-</sup>	36.9 ± 4.2	65.1 ± 4.4	42.5 ± 3.7	42.8 ± 4.9	43.1 ± 3.7
CD3e <sup>-</sup> /CD19 <sup>+</sup>	29.4 ± 3.0	37.9 ± 4.6	29.9 ± 3.0	33.4 ± 3.6	30.2 ± 3.1
CD4 <sup>+</sup>	6.8 ± 1.1	28.6 ± 3.7	10.4 ± 2.5	14.8 ± 3.7	12.1 ± 2.5
CD8 <sup>+</sup>	9.7 ± 1.9	7.1 ± 0.87	12.1 ± 2.0	7.9 ± 1.6	9.7 ± 2.4
Gr 1 <sup>+</sup> /CD11b <sup>+</sup>	2.7 ± 0.5	11.2 ± 2.6	3.6 ± 0.7	5.6 ± 1.2	4.0 ± 0.8

NR: Normal C57BL/6 mice.  
CT: Ovalbumin inhalation (control).  
EAR-I: OVA+EAR-I (200 mg/kg).  
EAR-III: OVA+EAR-III (200 mg/kg)

Gr-1<sup>+</sup>/CD11b<sup>+</sup> 세포수는 정상군에 2.7±0.5%이었고, OVA로 감작시켜 천식을 유발시킨 대조군에서의 Gr-1<sup>+</sup>/CD11b<sup>+</sup>의 비율은 11.2±2.6%로 증가되었다. 양성대조군인 CsA 투여군은 3.6±0.7%로 대조군에 비하여 유의성 있게 감소되었고, EAR-I 투여군과 EAR-III 투여군에서의 폐 조직내 Gr-1<sup>+</sup>/CD11b<sup>+</sup>는 각각 5.6±1.2%와 4.0±0.8%로 대조군에 비하여 유의성 있게 감소되었다(Table 2).

## 고 찰

喘息 치료에 대한 최근의 경향은 면역학적 치료 기법이 도입되어, 기관지의 염증 발현에 관여하는 세포와 분자 수준의 기전에 초점이 맞추어지고 있으며, 이러한 의미에서 각종 사이토카인이 어떻게 관여하고 있으며, 역할을 하고 있는 것에 대한 메카니즘에 변화를 초래함으로써 알레르기 질환치료의 새로운 방향을 모색하고 있다<sup>5,6)</sup>.

천식과 관련한 한약물이 미치는 실험적 연구로는 李<sup>7)</sup> 등이 五拗湯의 진정, 진통, 진해, 항histamine, 기관지 평활근 이완효과를 보고하였고, 權<sup>8)</sup> 등이 五拗湯이 알레르기 천식의 호흡 양상과 기관 조직에 미치는 영향을 보고하였으며, 姜<sup>9)</sup> 등이 소엽의 천식 억제 효과를 연구 보고 하였으며, 金<sup>10)</sup> 등이 冬蟲夏草 약침과 구강투여가 OVA 감작으로 유발된 천식에 효과가 있음을 보고하였고, 金<sup>11)</sup> 등이 conalbumin으로 유도된 알레르기성 염증 반응에 억제 효과가 있음을 보고하였으며, 杏仁 추출물이 BALF내에 존재하는 총 세포수, 호산구수, IgE 항체 등을 대조군에 비해 감소시킨다는 연구 보고<sup>12)</sup>와 忍冬 추출물이 과민 반응에 의한 적혈구관지 수축, 비만세포에서의 histamine 유리 그리고 폐기관지내의 총 백혈구 수 및 호산구 증가를 억제시킨다는 연구 보고<sup>13)</sup>가 있다.

이에 저자는 황기의 補肺益氣 효능을 가지고 喘息과 관련된 효과를 면역학적으로 살펴보기 위해 *in vitro*, *in vivo* 실험을 하였으며, 1년생 황기와 3년생 황기의 천식에 대한 약리 효능을 서로 비교해 보았다.

喘息에 있어서 기도내의 호산구 침윤 양상은 Ellis<sup>14)</sup>가 처음 보고하였는데, 호산구가 喘息에서 기도 염증을 일으키는데 가장 중요한 세포이며 喘息 발생에 있어서 중요한 역할을 한다고 알려져 있다<sup>15)</sup>. Th2 세포는 호산구를 기도 내로 주유하며, IL-5, IL-3 및 GM-CSF를 분비하여 호산구의 분화, 성숙, 활성화 및 생존을 증가에 관계한다<sup>16)</sup>.

호산구 증식 억제 작용에 관한 결과를 분석해보면, EAR-I와 EAR-III의 농도별 호산구 증식 억제 작용이 유의성 있게 작용됨을 볼 수 있다(Table 1). 뿐만 아니라 EAR-I과 EAR-III의 비교해 보면 EAR-I보다 EAR-III의 호산구 증식 억제 작용이 뛰어난 것을 알 수 있다.

Lymphokine assay를 살펴보면, 대조군에 비해 EAR-I과 EAR-III를 투여한 실험군에서 IL-4는 유의성있게 감소되었고, 특히 EAR-III의 감소가 현저하다. IFN- $\gamma$ 의 발현은 대조군에 비해 EAR-I과 EAR-III를 투여한 실험군에서 유의성 있게 증가되었다(Fig. 1). 이는 황기 추출물이 면역 세포가 작용하여, 알레르기 반응을 억제시킨다고 볼 수 있다.

황기 추출물을 투여한 생쥐의 histological analysis in lung section을 살펴보면, 정상군에 비해 OVA를 스프레이한 대조군에서 collagen이 다량으로 부착되어 있는 것을 볼 수가 있다(Fig. 2). 반면에 황기 추출물을 투여한 실험군에서는 대조군에 비해 collagen의 부착이 감소되어 있는 것을 볼 수가 있다. EAR-I과 EAR-III의 차이는 그다지 보이지 않는다. 이는 황기가 폐의 만성적인 염증 반응을 억제하여 remodelling 과정이 억제되었음을 의미한다.

황기 추출물이 폐 무게에 미치는 영향을 살펴보면, 정상군에 비해 대조군의 폐 무게가 유의성 있게 증가되었고, 황기 추출물 투여군에서는 폐무게가 감소되었다. 이는 기관지 및 기관의 만성 염증으로 인한 각종 면역세포의 존재의 다소와 유관하며, 이는 곧 EAR이 염증작용을 억제한다고 생각된다. EAR-I과 EAR-III를 비교해 보면, EAR-III가 EAR-I에 비해 폐 무게가 감소했음을 볼 수 있다(Fig. 3).

황기 추출물이 total 폐 세포수에 미치는 영향을 살펴보면, 정상군에 비해 대조군에서 세포수가 현저하게 증가되었고, 황기 추출물을 투여한 실험군에서는 유의성 있게 세포수가 감소되어 억제효과가 있었다. 이는 폐 내 호산구, 림프구, 대식세포, 비만세포, mast cell 등 喘息의 만성염증성 병리를 일으키는 세포들이 기도에 많이 침착되어 있다는 것과 기도 및 기관지의 부종 및 점액 분비 과다를 의미하는데, 이를 황기가 유의성 있게 감소시켜 천식 치료에 유의성이 있다고 생각된다. EAR-I과 EAR-III를 비교해 보면, EAR-III 투여군에서의 세포수가 더욱 감소되어 있다(Fig. 4).

황기 추출물이 BALF 내 total 백혈구 수에 미치는 영향을 살펴보면, 폐 내 세포수와 마찬가지로 양상을 보이고 있으며, 이는 폐 자체의 염증과 관련한 면



역세포의 수가 증가했음을 의미한다. 황기 추출물을 투여한 실험군에서 유의성 있게 대조군에 비해 백혈구가 감소되었는데, 이는 기관지 喘息으로 인한 기도 내 염증세포의 증가를 억제하고, 기도 및 기관지의 부종 및 염증 작용을 억제하는 작용이 있다고 생각된다(Fig. 5).

황기 추출물이 BALF 내 호산구 수에 미치는 영향을 살펴보면, 정상군에 비해 OVA를 투여한 대조군에서 현저한 호산구 수 증가를 관찰할 수 있으며, 황기추출물 투여군에서는 대조군에 비해 현저한 호산구 수 감소가 관찰되었다. 이는 황기가 알레르기 반응에 억제하는 작용이 있음을 시사하며, 이로 인해 호산구 수가 감소된 것으로 보여진다(Fig. 6).

1986년 Mosmann 등<sup>17)</sup>은 설치류의 T-림프구 클론에서 IL-2와 IFN- $\gamma$ 를 생성하는 Th1 세포와 IL-5, IL-6 및 IL-10 등을 생성하는 Th2 세포가 존재함을 보고하였고, 기관지 喘息의 병인에 관계되는 T 세포는 Th2 세포로 IL-4, 5, 6, 9, 10, 13 등을 생산하며 즉시형 과민반응, 기생충 감염에 대한 방어작용에 관여한다<sup>18, 20)</sup>. Th1 세포와 Th2 세포는 서로 길항 작용을 나타내어 기능이 억제되는 현상이 관찰되며 알레르기성 喘息 환자의 BALF에는 Th2 세포의 기능이 활성화됨이 관찰되고 있다<sup>21)</sup>.

BALF 내의 ELISA 분석 결과, BALF 내 IL-4, IL-5, IL-13가 정상군에 비해, OVA로 천식을 유발시킨 대조군에서 현저하게 증가되는 것이 관찰되었고, 황기 추출물(EAR-I과 EAR-III)을 투여한 실험군에서는 유의성있게 모두 감소되었다(Fig. 7). 이는 황기 추출물의 알레르기 반응 억제 작용을 반영한다고 볼 수 있다. EAR-I와 EAR-III를 비교해 보면, EAR-III가 EAR-I에 비해 감소폭이 더 큰 것으로 관찰되었다.

형광유세포 분석을 살펴보면, 황기 추출물 EAR-I과 EAR-III를 투여한 실험군에서 대조군에 비해 각각 19.3%, 16.4%로 유의성 있게 granulocytes의 숫자가 감소되었다. 이는 황기가 기관지 및 기도에서 발생하는 만성염증을 억제하는 작용이 있음을 나타낸다(Fig. 8).

喘息 유발 생쥐의 기관지 폐포 세척액에서 FACS 분석 결과 CD3e<sup>-</sup>/CCR3<sup>+</sup>는 정상군에서 그 수가 15.9%를 보였고, 대조군에서는 유의성 있게 증가하여 35.0%를 보이고 있다. 이에 비해 황기 추출물 EAR-I와 EAR-III를 투여한 실험군에서는 각각 23.8%, 20.7%로 유의성있게 세포 숫자가 현저하게 감소되었다(Table 2). 이는 황기가 과민성 알레르기 반응에 주요하게 관여하는 Th2 세포의 분포양상이 황기 추출물 투여군에서 유의성있게 감소되었음을 의미한다.

CD3e<sup>-</sup>/CD19<sup>+</sup>의 비율은 곧 T 세포와 B 세포의 비율로 볼 수 있으며, 대조군에서는 T 세포가 활성화되어 75.0% : 15.5%로 증가되었으며, EAR-I과 EAR-III를 투여한 실험군에서는 각각 38.3% : 42.8%, 43.6% : 43.1%로 정상군과 유사한 비율을 나타내고 있다(Table 2). 이는 황기 추출물이 T 세포로의 분화를 억제하며, 활성을 감소시킨다고 볼 수 있다.

喘息 유발 생쥐의 BLAF의 FACS 분석에서 CD4<sup>+</sup> T 세포가 대조군에서 28.6%로 유의성있게 증가되었고, 황기 추출물 EAR-I과 EAR-III를 투여한 실험군에서는 각각 14.8%, 12.1%로 나타나 알레르기 반응을 촉진시키는 CD4<sup>+</sup>의 감소를 보였다(Table 2).

喘息 유발 생쥐의 BALF 분석에서 CD11b<sup>-</sup>/Gr-1<sup>(%)</sup>는 대조군에서 10.5%인데 비해 황기 추출물 EAR-I과 EAR-III를 투여한 실험군에서는 각각 5.6%, 4.0%로 감소하여 황기 추출물이 호산구의 내피세포유착에 의한 경피내 이동을 감소시키는 것으로 사료된다(Table 2).

이상의 연구를 통하여, OVA를 감작시켜 천식을 유발시킨 생쥐에 *in vitro*, *in vivo* 실험을 수행한 결과, OVA를 유발시킨 대조군에서의 BALF와 폐의 총 세포수, 폐 무게, 호산구 수, IL-4, IL-5, IL-13, Ig E가 증가되었고, 황기 추출물 병용 투여한 실험군에서는 모두 유의성 있게 감소되었는데, 이는 기관지 喘息을 유발시키는 면역관련 세포와 염증세포의 감소를 의미한다고 볼 수 있으며 특히 EAR-I보다는 EAR-III의 억제 작용이 현저함을 볼 수 있다.

FACS 분석에서, Granulocytes, CD3e<sup>-</sup>/CCR3<sup>+</sup>, CD3e<sup>-</sup>/CD19<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, Gr-1<sup>-</sup>/CD11b<sup>-</sup> 세포수가 대조군에서는 유의성있게 증가되었고, EAR-I과 EAR-III 투여군에서는 유의성있게 감소되었는데, 이는 Th2 세포의 비율의 감소, B 세포 활성화의 억제, 염증관련 세포, 호산구의 감소를 의미한다. 림프조직내 B 세포, 호산구, Th2 세포의 비율이 대조군에서는 정상군에 비해 감소되었으나 EAR-I과 EAR-III 투여군에서는 증가되었는데, 이는 황기가 천식 반응을 억제하여 면역세포가 폐로 유주되는 것이 감소되었음을 의미한다.

이와 같은 결과로 인해 황기의 추출물이 기관지 천식에 유의한 효능이 있음이 확인되었으며, 이를 임상과 관련하여 좀 더 자세한 연구가 필요하다고 사료된다. 뿐만 아니라 황기를 사용함에 있어 1년 재배된 황기보다는 3년 재배된 황기가 천식에 대한 약리 효능면에서 우수하다는 것이 밝혀진바 이를 바탕으로 약용 황기에 대한 연차에 따른 기준 마련에 토대가 이루어져야 할 것으로 생각된다.

## 結 論

천식 치료에 유의성이 있을 것으로 사료되는 황기를 가지고 OVA로 천식을 유발시킨 대조군과 황기 추출물(EAR-I, EAR-III)를 병용 투여한 실험군에서의 *in vivo*, *in vitro* 실험을 수행하여 분석하여 다음과 같은 결과를 얻을 수 있었다.

1. OVA를 유발시킨 대조군에서의 폐 무게, BALF 내 총 세포 수, 총 백혈구 수, 호산구 수가 정상군에 비해 유의성 있게 증가되었다. EAR-I, EAR-III를 병용 투여한 실험군에서의 폐무게, BALF 내 총 세포수, 총 백혈구수, 호산구 수가 유의성 있게 감소되었다. EAR-I 보다는 EAR-III의 감소폭이 더 유의성이 있었으며, 이는 EAR-III가 EAR-I보다 억제 작용이 현저함을 볼 수 있다

2. OVA를 유발시킨 대조군에서의 BALF 내 IL-4, IL-5, IL-13, Ig E가 정상군에 비해 유의성 있게 증가되었다. EAR-I, EAR-III를 병용 투여한 실험군에서의 IL-4, IL-5, IL-13, Ig E가 유의성 있거나 현저하게 감소되었다. EAR-I 보다는 EAR-III의 감소폭이 더 유의성이 있었으며, 이는 EAR-III가 EAR-I보다 억제 작용이 현저함을 볼 수 있다.

3. FACS 분석에서, Granulocytes, CD3e<sup>+</sup>/CCR3<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>/CD19<sup>-</sup>, CD4<sup>+</sup>, Gr-1<sup>+</sup>/CD11b<sup>+</sup> 세포수가 대조군에서는 정상군에 비해 유의성있게 증가되었으며, EAR-I, EAR-III를 병용 투여한 실험군에서는 현저하게 감소되었다. EAR-I 보다는 EAR-III의 감소폭이 더 유의성이 있었으며, 이는 EAR-III가 EAR-I보다 억제 작용이 우수함을 볼 수 있다.

이와 같은 결과로 인해, 황기의 추출물이 기관지 천식에 유의한 효능이 있음이 확인되었으며, 이를 임상과 관련하여 좀더 자세한 연구가 필요하다고 생각된다. 뿐만 아니라 황기를 사용함에 있어 1년 재배된 황기보다는 3년 재배된 황기가 약리 효능면에서 우수하다는 것이 밝혀졌다. 이를 바탕으로 약용 황기에 대한 연수에 따른 기준 마련에 토대가 이루어져야 할 것이다.

## 參考文獻

1. 지형준. 대한약전 및 대한약전의 한약 규격 주해. 서울 : 한국메디칼인덱스사. 1998 ; 688-90.

2. 全國韓醫科大學 共同教材編纂委員會 編著. 本草學. 서울 : 永林社. 2004 ; 580.

3. 肖培根 主著. 新編中藥志. 北京 : 化學工業出版社. 2002 ; 876-93.

4. 中華本草編委會. 中華本草 4卷. 上海 : 上海科學技術出版社. 1999 ; 349.

5. Barnes PJ. Cytokine-directed Therapies for The treatment of chronic airway diseases. Cytokine Growth Factor Rev. 2003 ; 14(6) : 511-22.

6. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. Cellular and molecular immunology. Philadelphia : Saunders. 1997 : 250-77.

7. 李珩九. 五拗湯이 해수·천식에 미치는 영향. 서울 : 경희대학교 대학원. 1982.

8. 權純湖. 五拗湯이 알레르기 천식의 호흡상과 기관조직에 미치는 영향. 대한한의학회지. 1999 ; 20(2) : 98-107.

9. 강영성, 이성철, 신호동, 신민교, 김재홍, 송호준. 소엽에 의한 알레르기 천식효과에 대한 연구. 대한본초학회지. 2004 ; 19(3) : 25-34.

10. 김재홍. 동충하초 약침과 구강투여가 Ovalbumin으로 유발된 asthma에 미치는 영향. 대한 침구학회지. 2002 ; 19(2) : 39-50.

11. 김성수, 이성철, 신호동, 신민교, 김재홍, 송호준. 길경에 대한 알레르기 천식 효과에 대한 연구. 대한본초학회지. 2004 ; 19(2) : 61-70.

12. 황대룡.杏仁의 알레르기 천식 효과에 대한 연구. 대한본초학회지. 2003 ; 18(2) : 201-8.

13. 류근호. 忍冬 추출물의 항천식 효과. 생약학회지. 1999 ; 30(4) : 377-83.

14. Ellis AG. The PaThological anatomy of bronchial acthma. An J. Med Sci. 1908 : 136 : 407-29.

15. Bousquet J et al. Eosinophilic inflammation in asthma. N Engl J Med. 1990 : 323 : 1033-9.

16. Corrigan CJ, Hartnell A, Kay AB. T-lymphocyte activation in acute severe asthma. Lancet. 1988 : 1129-32.

17. Mosmann TR, Cherwinski H. Bond MW, Gieldin MA, Coffman RL. Two types of murine helper T cell clones. J Immunol. 1986 : 136 : 2348-57.

18. 조상헌, 송숙희, 김윤근, 지영구, 최동철, 윤호주. 아토피 환자에서의 IgE항체 생성조절기전: 말초혈액림프구의 IL-4, IFN- $\gamma$  생성의 불균형. 알러지.

1995 : 15(2) : 210-2.

19. 어수택, 정성환, 이상우, 김현태, 김용훈, 박춘식. 喘息환자의 기도 내 cytokines 표현에 대한 연구. 결핵 및 호흡기질환. 1995 : 42(1) : 2, 3.

20. 박수영, 조영주. 내인성 喘息 및 외인성 喘息환자의 CD8양성세포에서 interleukin4 및 interferon gamma

생산. 喘息 및 알레르기. 2001 : 21(1) : 66-7.

21. Kasakura S. A role for T helper type 1 and type 2 cytokine in the pathogenesis of various human diseases. Rinsho Byori Symp. 6(9). 1998 : 915-21.