

## ELISA를 이용한 IL-5 분비조절 한약물 Screening

박기복, 정승기, 정희재  
경희대학교 한의과대학 폐계내과학 교실

---

### Interleukin-5 Inhibition Assay of the Oriental Materia Medica Treatment by Sandwich ELISA on Mouse Splenocytes

Ki-bok Park, Sung-ki Jung, Hee-jae Jung  
Division of Allergy, Immune & Respiratory System, Department of Internal Medicine,  
College of Oriental Medicine, Kyung-Hee University

#### ABSTRACT

**Background and Objective** : Allergy is defined as an altered reactivity to an antigen, which can result in pathologic reactions upon subsequent exposure to that particular antigen. This study was to evaluate the effect of oriental materia medica on IL-5 secretion in the mouse spleen cell.

**Methods** : We used the splenocytes of mouse 8 weeks after its birth, and then cultivated those into the 2 experimental groups and a control group for 48 hours. The culture media of the experimental groups were made of 1 $\mu$ g/ml, 10 $\mu$ g/ml oriental materia medica, representative. And the culture media of control group was given no oriental materia medica. Then, we assayed the quantity of cytokine-expression by the sandwich ELISA. The quantities of cytokine-expression of the experimental groups were compared with that of the control group, which was standardized. These methods were used for all of the oriental materia medica treated.

**Results** : Some oriental materia medica inhibit the secretion of IL-5 in both 1 $\mu$ g/ml and 10 $\mu$ g/ml culture media. These were Acori Rhizoma, Luffae Fasciculus Vascularis, Amomi Rotundi Fructus, Schisandrae Fructus, Biotae Semen, Clematis arandii, Dioscoreae Sativa Rhizoma, Coicis Semen, Sophorae Flos, Oroxyli Semen, Aurantii Semen, Pini Nodi Lignum.

**Conclusion** : This study indicates that some oriental materia medica inhibit the secretion of IL-5 and are beneficial for allergic disease.

*Key words* : Oriental materia medica, IL-5, Allergy

---

## 1. 서론

알레르기의 일반적인 개념은 여러 가지 면역반응에 의하여 일어나는 바람직하지 않은 생리적 반응을 말한다. 대표적인 알레르기 질환으로는 아토피피부

염, 천식, 알레르기성 비염 등이 있으며, 이들 질환은 유전적인 소인에 영향을 받으며 다른 종류의 알레르기 질환을 앓고 있는 경우에서 보다 발생 확률이 높은 것으로 보고되고 있다. 특히 아토피피부염, 천식, 알레르기성 비염이 수 년 동안 차례로 발병하는 경우가 있는데 이를 알레르기 행진이라고 한다<sup>1</sup>.

알레르기 질환의 발병기전에 대하여 1980년대 이후부터 현재까지 여러 연구들이 진행되어왔으며, 그 중에서 T helper(Th) 세포와 관련한 가설이 주

---

· 교신저자: 정희재 서울시 동대문구 회기동 1번지  
경희의료원 부속한방병원 한방5내과 의사실  
TEL: 02-958-9147 FAX: 02-958-9148  
E-mail: hanfish@khmc.or.kr

목 받고 있고, 이러한 연구에서는 Th1/Th2 세포의 면역반응의 불균형이 알레르기 질환과 관련하여 핵심적인 요인이라고 설명하고 있다. 그 중에서 Th2 세포는 IL-4, IL-5 등의 cytokine을 분비하고, IL-4는 IgE 항체 생산을 증가시키며, IL-5는 호산구의 분화 및 성숙에 중요한 역할을 하게 된다<sup>2</sup>. 호산구는 천식, 알레르기성 비염, 호산구성 폐렴 등에서 기도, 장관 및 기타 조직에 염증을 유발하는 작용을 하며, 특히 천식에서 기도평활근의 수축, 기도 과민성 반응, 다른 염증세포의 침윤을 현저하게 유발하는 것을 볼 수 있다<sup>3</sup>. 따라서 알레르기 염증 반응과 관련된 호산구의 분화 및 성숙을 유도하는 IL-5 분비와 관련한 연구는 알레르기 질환의 치료에 중요한 것으로 생각된다.

현재까지의 IL-5와 관련한 한약 실험 연구는 처방과 본초 두 분야에서 연구가 이루어져 왔으며, 李<sup>4</sup> 등은 蒼朮에서, 朴<sup>5</sup> 등은 木賊草 등의 약물과 淸熱藥(白薇, 山豆根, 瓜蒌根, 牡丹皮, 白薇, 密蒙花, 白鮮皮, 射干), 化痰止咳平喘藥(冬瓜子, 杏仁, 枇杷葉, 旋覆花, 百部), 補益藥(蛇床子, 白扁豆, 百合, 天門冬, 白芍藥, 白朮, 石斛, 玉竹, 熟地黃, 白朮) 군에서, 鄭<sup>6</sup> 등은 金銀花에서, 文<sup>7</sup> 등은 牡丹皮에서 IL-5 발현 억제 효능을 관찰하였다. 또한 손<sup>8</sup> 등은 加味四君子湯에서 IL-4, IL-5 발현 억제 효능을 관찰하였고, 이전의 여러 연구에서 小青龍湯<sup>9</sup>, 定喘湯<sup>10</sup>, 淸上補下湯<sup>10</sup>, 瀉白散<sup>11</sup>, 解表二陳湯加減方<sup>12</sup>에서도 IL-5 발현 억제 효능을 관찰하였다.

이에 저자는 알레르기 질환의 염증 반응과 관련된 IL-5 발현 억제 효능을 가진 한약을 찾아보기 위하여, 백서의 비장세포를 배양하여 本草學<sup>13</sup>의 분류에 따른 한약재를 투여한 뒤 Sandwich ELISA를 이용하여 IL-5 분비량 감소를 관찰하여, 그에 따른 결과를 보고하는 바이다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 동물 및 재료

#### 1) 동 물

생후 8주된 BALB/c 雌性 마우스이며 멸균 상태로 관리되어 온 것을 중앙실험동물(주)에서 구입하였다. 사료는 방사선 멸균 처리한 실험동물용 사료를 퓨리나(주)에서 구입하여 공급하였으며 음용수는 멸균 처리한 증류수를 사용하였다. 사료와 음용수는 충분히 공급하여 자유롭게 섭취시켰다.

#### 2) 한약재

대만 썬텐사(Taopei, Taiwan)에서 생산된 엑스제제를 구입하여 1%가 되도록 물을 넣고 24시간 동안 실온에서 추출하였다. 수집된 추출액은 3000rpm에서 10분간 원심 분리한 후 상층액을 filter paper (whatman, No.2, U.S.A)를 이용하여 여과하여 -20°C에서 보관하였다(Table 1-13).

#### 3) 시 약

anti-CD3e (clone:145-2C11), IL-5 ELISA set (Bethyl Laboratories, Inc, U.S.A), URiSCAN (영동제약(주), Korea) 등이 사용되었다.

본 실험에서 세포배양을 위하여 사용된 media는 10% FBS (JRH Bioscience, U.S.A), 1% penicillin/streptomycin (BD Bioscience, U.S.A) 10mM HEPES (JRH Bioscience, U.S.A), 2g sodium bicarbonate (JRH Bioscience, U.S.A)가 포함된 RPMI-1640 (BD Bioscience, U.S.A)를 사용하였다.

Table 1. Herbs for Aromatic Stimulants

Herb Group	Herbs	Scientific Name
開竅藥	石菖蒲石菖蒲	Acori Rhizoma

Table 2. Herbs for Antirheumatics

Herb Group	Herbs	Scientific Name
祛風濕藥	獨活	Angelicae Tuhuo Radix
	木瓜	Chaenomelis Fructus
	絲瓜絡	Luffae Fasciculus Vascularis
	桑寄生 (黃寄生)	Loranthi Ramulus
	桑枝	Mori Ramulus
五加皮	Acanthopanax Radicis Cortex	
威靈仙	Clematidis Radix	

Table 3. Herbs for Anthelmintics

Herb Group	Herbs	Scientific Name
驅蟲藥	檳榔	Arecae Semen

Table 4. Herbs for Dampness-Resolving with Fragrant Odor

Herb Group	Herbs	Scientific Name
芳香化濕藥	藿香	Agastache Rugosa Herba
	白豆蔻	Amomi Rotundi Fructus
	蒼朮	Atractylodis Lanceae Rhizoma
	縮砂仁	Amomi Fructus
	厚朴(川)	Magnoliae Officinalis Cortex

Table 5. Herbs for Purgative

Herb Group	Herbs	Scientific Name
瀉下藥	牽牛子	Pharbitis Semen
	大黃	Rhei Rhizoma
	芒硝	Natrii sulfas

Table 6. Herbs for Stomachics and Evacuants

Herb Group	Herbs	Scientific Name
消食藥	萊菔子	Raphni Semen
	麥芽	Hordei Germinatus Fructus
	山楂	Crataegi Fructus

Table 7. Herbs for Astringent

Herb Group	Herbs	Scientific Name
收澀藥	訶子	Chebulae Fructus
	芡實	Euryalis Samen
	大金櫻	Rosae Laevigatae Fructus
	麻黃根	Ephedrae Radix
	覆盆子	Rubi Fructus
	浮小麥	Tritici Fructus
	山茱萸	Corni Fructus
	石榴皮	Granati Pericarpium
	五味子	Schisandrae Fructus
	五倍子	Galla Rhois
肉豆蔻	Myristicae Semen	

Table 8. Herbs for Sedatives and Tranquilizers

Herb Group	Herbs	Scientific Name
安神藥	柏子仁	Biotae Semen
	酸棗仁(川)	Zizyphi Spinosi Semen
	夜交藤	Polygoni Multiflori Caulis
	遠志	Polygalae Radix

Table 9. Herbs for Warming the Interior

Herb Group	Herbs	Scientific Name
溫裏藥	乾薑	Zingiberis Siccatum Rhizoma
	桂皮	Cinnamomi Cortex
	高良薑	Alpiniae Officinarum Rhizoma
	小茴香	Foeniculi Fructus
	吳茱萸	Evodiae Fructus
	肉桂	Cortex Cinnamomi
	炮附子	Aconiti Carmichaeli Praeparata Radix

Table 10. Herbs for Removing Dampness and Promoting Diuresis

Herb Group	Herbs	Scientific Name
利水滲濕藥	瞿麥	Dianthi Herba
	冬葵子	Abutili Semen
	燈心草	Junci Caulis Medulla
	木通	Clematis armandii
	茯苓	Poria cocos
	萆薢	Dioscoreae Sativa Rhizoma
	薏苡仁	Coicis Semen
	茵陳(棉)	Artemisia capillaris Thunb.
	澤瀉	Alismatis Rhizoma

Table 11. Herbs for Arresting Bleeding

Herb Group	Herbs	Scientific Name
止血藥	槐花	Sophorae Flos
	大小蓟	Cirsii Rhizoma et Radix
	白芨	Bletillae Tuber
	白茅根	Imperatae Rhizoma
	仙鶴草	Agrimoniae Herba
	艾葉	Artemisiae Argyi Folium

Table 12. Herbs for Liver-Regulating

Herb Group	Herbs	Scientific Name
平肝藥	決明子	Cassiae Torae Semen
	天麻(川)	Gastrodiae Rhizoma

Table 13. Unclassified Herbs

Herb Group	Herbs	Scientific Name
未分類	降眞香	Acronychiae Lignum
	粳米	Oryzae Semen
	雞骨草	Abri Herba
	雞香藤	Paederiae Caulis
	故紙花	Oroxyli Semen
	九層塔	Ocimi Herba
	橘核	Aurantii Semen
	橘紅	Citri Exocarpium Rubrum
	大丁廣	Cudraniae Lignum
	倒地蜈蚣	Helminthostachytis Rhizoma
	路路通	Liquidambaris Fructus
	馬蹄金	Dichondrae Herba
	萬點金	Illicis Asprellae Radix
	半枝蓮	Scutellariae Barbatae Herba
	白雞冠花	Celosiae Cristatate Flos
	白花蓮	Rauwolfiae Verticillatae Radix
	鳳尾草	Pteris Herba
	番瀉葉	Sennae Folium
	佛手	Citri Sarcodactyli Fructus
	小金櫻	Rosae Cymosae Fructus
松節	Pini Nodi Lignum	
水丁香	Jussiaeae Herba	
鵝不食草 (石胡荽)	Centipedaе Herba	
蓮子心	Nelumbinis Embryo	
龍眼花	Longanae Flos	
蕤仁	Prinsepiae Semen	
蓮葉(荷葉)	Nelumbinis Folium	

2. 방법

1) 脾臟淋巴球 준비

적출한 BALB/c 마우스의 비장을 멸균된 주사기로 파쇄한 후 cell strainer (BD Bioscience, U.S.A)로 걸러낸 후, 균질화된 비장세포에 적혈구

제거를 위하여 5ml Pharm Lyse (BD Bioscience, U.S.A)를 넣고 5분간 반응시켰다. Cell이 부유되어 있는 tube에 5ml의 media를 첨가한 후 1,000rpm에서 10분간 원심분리하고 상층액을 제거하였다. 남은 cell pellet에 다시 5ml의 media를 첨가한 후 1/100로 희석하여 현미경으로 세포 수를 측정하였다.

2) 脾臟淋巴球 배양 및 한약재 투여

비장 임파구를 분리 한 후  $1 \times 10^6$  cells/ml의 농도로 1ml씩 24-well plate에 seeding하되, 추출된 각 한약재를 1, 10µg/ml의 두 가지 농도로 희석한 배지를 사용하였다. 2µg/ml anti-CD3e (clone:145-2C11, BD Bioscience, U.S.A)가 coating된 plate에 이상의 혼합물을 48시간 동안 37°C, 5% CO2 incubator (Nuair, U.S.A)에서 배양한 후 상층액을 얻어서 -20°C 보관하여 실험에 이용하였다. 단, 매 seeding 시 1개 well에는 한약재를 넣지 않은 배지를 사용하여 대조군으로 이용하였다.

3) Sandwich ELISA를 이용한 Cytokine 발현량 측정

처리된 상층액에서 IL-5 발현량을 측정하기 위하여 OptEIA Mouse IL-5 Set (BD Bioscience, U.S.A)의 protocol을 이용하되 capture antibody (anti-mouse IL-5)를 coating buffer (0.1M Carbonate, pH 9.5)로 희석하여 96-well plate에 100µl 씩 분주한 후 4°C에 overnight하여 coating 하였다. Coating한 plate를 wash buffer (PBS/Tween-20 0.05%)로 3번 washing 한 후 assay diluent (BD Bioscience, U.S.A)를 200µl/well씩 분주한 후 실온에서 1시간 동안 blocking 하였다. 다시 wash buffer로 3번 washing 하고 standard와 sample을 100µl씩 분주한 후 실온에서 2시간 반응시켰다. Wash buffer로 5번 washing 하고 Working Detector (Detection antibody + Avidin-HRP) 100µl씩을 각 well에 첨가하였다. 실온에서 1시간 반응 후 wash buffer로 10번 washing 한 후 substrate solution (TMB Substrate Reagent; Pharmingen, BD Bioscience, U.S.A) set을 각 well 마다 100µl씩 첨가하였다. 실온의 어두운 곳에서

30분 동안 반응 한 후 2N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>를 50μl 첨가 한 후 30분 안에 microplate reader (Molecular Devices, U.S.A)로 450nm/570nm에서 읽었다. 측정된 값은 각각의 대조군을 기준(100)으로 표준화하였다.

### III. 결 과

#### 1. 開竅藥

開竅藥의 石菖蒲에서는 IL-5의 분비가 약간 감소하였다.

Table 14. IL-5 Inhibition Assay of Herbs for Aromatic Stimulants from Stimulated Splenocytes of BALB/c Mouse

Herb Group	Herbs	1μg/ml	10μg/ml
開竅藥	石菖蒲	94.0	86.5

#### 2. 祛風濕藥

祛風濕藥의 경우 전반적으로 IL-5의 분비가 증가하는 경향을 보였으나, 絲瓜絡의 경우 1μg/ml, 10 μg/ml 농도 모두에서 IL-5 분비량 감소를 보였으며, 木瓜의 경우 10μg/ml의 농도에서 IL-5 분비량이 감소하였다.

Table 15. IL-5 Inhibition Assay of Herbs for Antirheumatics from Stimulated Splenocytes of BALB/c Mouse

Herb Group	Herbs	1μg/ml	10μg/ml
祛風濕藥	獨活	266.4	254.7
	木瓜	184.3	68.4
	絲瓜絡	62.6	62.8
	桑寄生(黃寄生)	176.5	109.5
	桑枝	307.6	113.7
	五加皮	290.6	599.6
	威靈仙	134.3	124.6

#### 3. 驅蟲藥

驅蟲藥에서 檳榔의 경우 IL-5의 분비량이 오히려 증가하였다.

Table 16. IL-5 Inhibition Assay of Herbs for Anthelmintics from Stimulated Splenocytes of BALB/c Mouse

Herb Group	Herbs	1μg/ml	10μg/ml
驅蟲藥	檳榔	205.9	189.0

#### 4. 芳香化濕藥

芳香化濕藥 군에서 白豆蔻는 1μg/ml, 10μg/ml 농도 모두에서, 蒼朮과 厚朴은 1μg/ml 농도에서 IL-5 분비량이 감소하였다. 반면에 藿香과 縮砂仁에서는 IL-5 분비량은 증가하였다.

Table 17. IL-5 Inhibition Assay of Herbs for Dampness-Resolving with Fragrant Odor from Stimulated Splenocytes of BALB/c Mouse

Herb Group	Herbs	1μg/ml	10μg/ml
芳香化濕藥	藿香	355.6	261.4
	白豆蔻	91.2	99.2
	蒼朮	91.7	112.8
	縮砂仁	426.7	408.2
	厚朴(川)	97.6	105.2

#### 5. 瀉下藥

瀉下藥 중 大黃의 경우 10μg/ml의 농도에서 IL-5 분비량이 약간 감소하였다.

Table 18. IL-5 Inhibition Assay of Herbs for Purgative from Stimulated Splenocytes of BALB/c Mouse

Herb Group	Herbs	1μg/ml	10μg/ml
瀉下藥	牽牛子	127.7	168.7
	大黃	355.6	89.5
	芒硝	257.2	107.1

#### 6. 消食藥

消食藥에서 麥芽의 경우는 분비량 증가를 보여 주었고, 山楂의 경우는 10μg/ml 농도에서만 IL-5 분비량이 감소하였다.

Table 19. IL-5 Inhibition Assay of Herbs for Stomachics and Evacuants from Stimulated Splenocytes of BALB/c Mouse

Herb Group	Herbs	1 $\mu$ g/ml	10 $\mu$ g/ml
消食藥	萊菔子	212.2	855.4
	麥芽	171.0	196.3
	山查	276.9	84.3

7. 收澁藥

收澁藥에서 전체적으로 IL-5 분비량이 증가하였으나, 五味子에서는 1 $\mu$ g/ml과 10 $\mu$ g/ml 농도 모두에서 분비량이 감소하였고, 覆盆子의 경우는 1 $\mu$ g/ml 농도에서만 분비량이 감소하였다.

Table 20. IL-5 Inhibition Assay of Herbs for Astringent from Stimulated Splenocytes of BALB/c Mouse

Herb Group	Herbs	1 $\mu$ g/ml	10 $\mu$ g/ml
收澁藥	訶子	109.5	130.7
	芡實	143.6	173.7
	大金櫻	168.0	249.5
	麻黃根	171.4	197.5
	覆盆子	95.0	209.4
	浮小麥	111.0	114.7
	山茱萸	109.7	119.0
	石榴皮	219.4	127.5
	五味子	82.7	81.7
	五倍子	240.5	105.3
	肉豆蔻	151.2	158.8

8. 安神藥

安神藥 중 柏子仁은 1 $\mu$ g/ml과 10 $\mu$ g/ml 농도 모두에서 감소하였고, 酸棗仁은 10 $\mu$ g/ml 농도에서, 夜交藤은 1 $\mu$ g/ml 농도에서 대조군에 비하여 IL-5 분비량이 감소하였다.

9. 溫裏藥

溫裏藥에서는 대체적으로 IL-5 분비량을 증가시키는 경향을 보여주었다. 하지만 桂皮의 경우 1 $\mu$ g/ml 농도에서 분비량 감소를, 吳茱萸, 炮附子의 경

우 10 $\mu$ g/ml 농도에서 분비량 감소를 나타내었다.

Table 21. IL-5 Inhibition Assay of Herbs for Sedatives and Tranquilizers from Stimulated Splenocytes of BALB/c Mouse

Herb Group	Herbs	1 $\mu$ g/ml	10 $\mu$ g/ml
安神藥	柏子仁	49.5	51.2
	酸棗仁(川)	162.8	98.7
	夜交藤	98.3	204.3
	遠志	173.5	142.5

Table 22. IL-5 Inhibition Assay of Herbs for Warming the Interior from Stimulated Splenocytes of BALB/c Mouse

Herb Group	Herbs	1 $\mu$ g/ml	10 $\mu$ g/ml
溫裏藥	乾薑	1125.5	350.1
	桂皮	93.5	102.5
	高良薑	144.3	143.8
	小茴香	158.6	163.3
	吳茱萸	125.9	89.4
	肉桂	165.2	158.8
	炮附子	158.4	90.3

10. 利水滲濕藥

木通, 萆薢, 薏苡仁에서만 1 $\mu$ g/ml, 10 $\mu$ g/ml 농도 모두에서 IL-5 감소가 관찰되었다.

Table 23. IL-5 Inhibition Assay of Herbs for Removing Dampness and Promoting Diuresis from Stimulated Splenocytes of BALB/c Mouse

Herb Group	Herbs	1 $\mu$ g/ml	10 $\mu$ g/ml
利水滲濕藥	瞿麥	292.4	306.8
	冬葵子	104.9	235.6
	燈心草	100.4	163.4
	木通	76.7	99.3
	茯苓	121.0	113.7
	萆薢	90.8	96.5
	薏苡仁	90.3	81.5
	茵陳(棉)	717.4	230.3
	澤瀉	129.4	171.7

11. 止血藥

止血藥 중 槐花에서 1 $\mu$ g/ml, 10 $\mu$ g/ml 농도 모두에서 IL-5 분비량이 감소하였으며, 大小薊의 경우 10 $\mu$ g/ml 농도에서 약간 감소하였다.

Table 24. IL-5 Inhibition Assay of Herbs for Arresting Bleeding from Stimulated Splenocytes of BALB/c Mouse

Herb Group	Herbs	1 $\mu$ g/ml	10 $\mu$ g/ml
止血藥	槐花	59.9	80.3
	大小薊	106.0	97.8
	白芨	127.9	144.2
	白茅根	101.3	125.1
	仙鶴草	100.7	102.5
	艾葉	287.2	189.6

12. 平肝藥

平肝藥의 決明子와 天麻의 경우, 오히려 IL-5 분비량이 증가하였다.

Table 25. IL-5 Inhibition Assay of Herbs for Liver-Regulating from Stimulated Splenocytes of BALB/c Mouse

Herb Group	Herbs	1 $\mu$ g/ml	10 $\mu$ g/ml
平肝藥	決明子	102.7	200.4
	天麻(川)	355.8	358.0

13. 기타 약

기타 약은 本草學 교재 상의 효능분류에 의해서 분류되지 못한 한약재를 모아놓은 집단이다. 이는 특별히 효능군의 경향성을 볼 수는 없지만 각 한약재의 특성을 비교해 볼 수 있기에 따로 모아서 살펴보았다. 그 중 故紙花, 橘核, 松節은 1 $\mu$ g/ml과 10 $\mu$ g/ml 두 농도 모두에서 IL-5 분비량 감소 효과를 보였으며, 半枝蓮 등은 1 $\mu$ g/ml 농도에서, 雞骨草, 雞香藤 등은 10 $\mu$ g/ml 농도에서 분비량 감소를 보여주었다.

Table 26. IL-5 Inhibition Assay of Unclassified Herbs from Stimulated Splenocytes of BALB/c Mouse

Herb Group	Herbs	1 $\mu$ g/ml	10 $\mu$ g/ml
未分類	降眞香	364.0	388.0
	粳米	221.1	151.3
	雞骨草	170.8	81.0
	雞香藤	168.4	93.9
	故紙花	90.0	83.3
	九層塔	182.2	135.9
	橘核	56.2	83.0
	橘紅	137.9	193.6
	大丁廣	81.0	161.8
	倒地蜈蚣	245.6	202.7
	路路通	284.7	235.3
	馬蹄金	188.9	137.2
	萬點金	131.8	162.9
	半枝蓮	59.6	149.4
	白雞冠花	530.9	174.1
	白花蓮	271.2	597.8
	鳳尾草	159.6	146.1
	番瀉葉	68.9	293.7
	佛手	274.4	310.4
	小金櫻	176.0	121.5
松節	78.6	87.2	
水丁香	152.3	259.8	
鵝不食草(石胡荽)	90.4	117.7	
蓮子心	230.3	170.4	
龍眼花	139.4	131.9	
葵仁	189.3	216.4	
蓮葉(荷葉)	230.7	135.5	

IV. 고찰

알레르기라는 용어는 Alos(changed)와 Rrgon (reactivity)의 합성어에서 기원한 것으로 1908년 오스트리아 의사인 Pirquet가 diphtheria 환자를 치료하기 위하여 antitoxin을 사용하던 중 기존의 병과 상관없는 현상이 생긴 것을 관찰하여 최초로 사용한 용어이다<sup>14</sup>.

아토피피부염, 천식, 알레르기성 비염 등의 알레

르기 질환은 최근 전 세계적으로 유병률이 급속히 증가하면서 이에 대한 관심도 증가하고 있다. 이 중 아토피피부염은 산업화된 국가의 10~20% 정도의 소아유병률을 가지며 현재에도 유병률은 증가하고 있는 추세이다<sup>15</sup>. 천식에 대한 2006년의 보고에 따르면 국내 인구의 3.9%가 천식을 앓고 있으며, 우리나라의 2002년 사망 원인 중 5위를 차지하고 있다<sup>16</sup>. 알레르기성 비염은 2002년 미국의 보고에 따르면, 미국의 20~40만명의 인구 유병률을 가지며, 그에 따른 직간접적인 사회적 비용이 79억 달러에 이른다고 한다<sup>17</sup>. 한 연구에 따르면 6세 이하의 42%에서 알레르기성 비염을 진단 받은 적이 있는 것으로 나타났다<sup>18</sup>.

알레르기 반응은 크게 즉시형 반응과 후기 반응으로 나눌 수 있는데, 즉시형 반응은 비만세포의 탈 과립화에 의해 수초에서 30분 이내에 일어나게 된다. 이는 비만세포 및 호염기구 표면에 결합되어 있는 항원 특이 IgE 항체에 알레르기 항원이 반응함으로써 분비되는 히스타민, leukotriene 등의 염증성 화학매체에 의해 발생하고, 조직학적으로 부종과 혈관확장이 나타나게 된다. 후기 반응은 이러한 과정이 지난 후에 일어나게 되며, 6~12시간 이후 가장 활발하게 나타나며 경우에 따라서는 수일 동안 지속되기도 한다. 후기 반응에서는 호산구, T helper(Th) 2 세포, 호중구의 유입이 특징이며, 이는 천식과 같은 심각한 만성병의 주요 원인이 된다<sup>19,20</sup>.

알레르기 질환에 대한 면역학적인 기전에 대하여 1980년대 등장한 Th1/Th2에 대한 이론은 Th2 세포의 항진 또는 Th1 세포의 감소로 인한 Th1/Th2 세포 면역반응의 불균형이 천식의 병인에 중요한 요인이라고 설명하였으며, 현재까지 가장 인정받는 가설이다<sup>21-23</sup>.

Th1 세포는 IL-2, INF- $\gamma$  등을 분비하며 대식세포의 활성화에 중요한 역할을 하며, 바이러스 및 세균 감염에 대한 방어기전에 관여한다. 반면에 Th2 세포는 IL-4, IL-5, IL-9, IL-13 등을 분비하

며 B 세포를 활성화 시키며, IgE 생산, 비만세포의 분화, 호산구의 성숙, 이동, 활성화 등을 유도하는 cytokine을 매개로 알레르기 염증 반응의 기전에 관여 한다<sup>2</sup>. Th1과 Th2 면역반응은 서로 길항적인 작용을 하는 것으로 알려져 있어 Th1/Th2 세포 면역반응의 불균형이 알레르기 질환의 병인과 관련하여 핵심적인 요인으로 생각되고 있다<sup>2</sup>.

IL-5는 T 세포에서 유래된 cytokine으로, 활성화된 B 세포 및 호산구의 분화, 성숙시키는 기능을 가진다<sup>28,29</sup>. 천식 환자와 정상 대조군과 관련한 기존의 연구<sup>30</sup>에서는, 천식 환자의 기관지 조직 검사상 IL-5 mRNA의 발현이 정상인과 비교했을 때 증가되어 있으며, 김 등<sup>31</sup>의 연구에서도 만성 기침 환자에서 기도 내 호산구 수와 IL-5 수치가 증가한 것으로 밝혀졌다. 호산구는 비만세포의 활성화와 생존에 관여하여 알레르기 염증반응을 지속시키는데, 최근의 연구에 의하면 섬유아세포(fibroblast)의 속성 및 조직세포의 개형과 섬유화에 관여하여 간질성 폐질환의 발병과도 관련이 있고, 혈관내피성장인자(vascular endothelial growth factor; VEGF)의 저장, 방출을 조절하여 혈관생성에도 영향을 줄 수 있는 것으로 밝혀지고 있다<sup>32</sup>.

IL-5와 관련된 최근의 한약 실험 논문을 살펴보면, 李<sup>4</sup> 등은 蒼朮 1 $\mu$ g/ml 농도가 마우스의 비장 임파구의 IL-5 분비량을 유의하게 감소 시키는 것을 관찰하였고, 朴<sup>5</sup> 등은 High through screening (HTS)을 이용한 IL-5 분비조절 한약물 스크리닝 실험에서 白扁豆 등의 약물과 清熱藥, 化痰止咳平喘藥, 補益藥 군에서 IL-5 분비량 감소를 보인 것을 확인하였다. 또한 손<sup>8</sup> 등은 OVA로 유도한 기관지 천식 모델에서 加味四君子湯이 IL-4, IL-5 생성을 감소시키고, INF- $\gamma$ 의 생성을 증가시키는 등의 결과를 보고하였다. 鄭<sup>6</sup> 등의 연구에서는 100 $\mu$ g/ml 고농도 金銀花의 chemoattractant에 대한 저해 효과를 확인하였으며, 또한 文<sup>7</sup> 등은 고농도 牡丹皮의 chemoattractant에 대하여 저해 효과가 있는 것을 확인하였다.



그 외 梔角刺, 半夏를 대상으로 천식 모델 마우스 연구에서도 梔角刺, 半夏 모두 IL-5 분비를 유의성 있게 감소시키는 결과를 보고하였다<sup>33,34</sup>.

본 연구에서는 백서의 비장 임파구를 준비, 배양 및 각 한약재를 투여하여, Sandwich ELISA를 이용하여 IL-5 분비량을 감소시키는 한약재를 찾아 보았으며, 本草學의 분류에 따른 각 약재 집단군과 IL-5 분비량의 변화 관계를 살펴보았다.

開竅藥은 開竅醒神시키는 작용을 하며, 熱邪가 心包에 陷入하거나 혹은 痰濁이 清竅를 막아 생긴 神昏證과 驚癇中風 등에 昏厥이 갑자기 나타나는 證에 사용한다<sup>13</sup>. 본 실험에서 石菖蒲는 1 $\mu$ g/ml, 10  $\mu$ g/ml 농도 모두에서 IL-5 분비량 감소를 보여주었다.

祛風濕藥은 肌肉과 經絡 및 筋骨간의 風濕을 제거하여 風濕痺痛을 치료하는 작용을 하며, 風寒濕痺와 肢體疼痛, 麻木不仁, 關節不利, 筋脈拘急 혹은 腰膝痠痛 등 증상에 적용하여 치료한다<sup>13</sup>. 본 실험에서 전반적으로 IL-5 분비가 증가하는 경향을 보였으나, 絲瓜絡에서는 1 $\mu$ g/ml와 10 $\mu$ g/ml 농도 모두에서 IL-5 분비량이 감소하였으며, 木瓜에서는 10  $\mu$ g/ml의 농도에서 IL-5 분비량이 감소하는 결과를 나타내었다.

驅蟲藥은 腸内の 기생충을 驅除하거나 殺蟲시키는 작용을 하는 약물로<sup>13</sup>, 본 실험에서는 檳榔만을 실험하였으며 IL-5 감소효과가 없는 것으로 나타났다.

芳香化濕藥은 氣味가 芳香性이며 그 性이 溫燥에 편향되어 있고 化濕健脾작용이 있는 약물로, 醒脾化濕, 燥濕健脾 등의 효능이 있다<sup>13</sup>. 본 실험 결과에서 白豆蔻는 1 $\mu$ g/ml, 10 $\mu$ g/ml 농도 모두에서, 蒼朮, 厚朴은 1 $\mu$ g/ml 농도에서 IL-5 분비량 감소를 보여주었으나, 전체적인 芳香化濕藥 군에서는 대체로 증가하는 경향이였다.

瀉下藥은 大便을 通利시켜 胃腸의 積滯를 排除하고 혹은 實熱을 清熱導下시키고, 水飲을 攻逐하는 작용을 가지고 있다<sup>13</sup>. 본 실험에서 瀉下藥은 1

$\mu$ g/ml의 경우에는 IL-5 분비량이 모두 증가하였으나, 10 $\mu$ g/ml의 농도에서 大黃의 경우 대조군에 비하여 IL-5 분비량이 약간 감소하였다.

消食藥은 飲食積滯를 消化시키는 약물로<sup>13</sup>, 본 실험에서는 麥芽와 山楂의 두 가지 약물로 실험을 하였다. 麥芽의 경우는 분비량 증가를 보여주었고, 山楂의 경우는 1 $\mu$ g/ml의 농도에서는 증가가 있었으나, 10 $\mu$ g/ml 농도에서는 대조군에 비하여 IL-5 분비량이 감소하였다.

收澁藥은 收斂固澁하여 각종 滑脫不禁한 증후를 치료하는데 사용하는 약이다<sup>13</sup>. 본 실험에서는 收澁藥에서 전체적으로 IL-5 분비량이 증가하였으나, 五味子에서는 1 $\mu$ g/ml과 10 $\mu$ g/ml 농도 모두에서 분비량이 감소하였고, 覆盆子の 경우는 1 $\mu$ g/ml 농도에서 분비량이 감소하였다.

安神藥은 鎮靜安神的 효능이 있어, 心神不寧, 心悸怔忡, 失眠多夢, 驚風, 癲, 癇, 狂 등의 證에 주로 사용한다<sup>13</sup>. 본 실험에서 安神藥 중 柏子仁에서는 1  $\mu$ g/ml과 10 $\mu$ g/ml 농도 모두에서 IL-5 분비량이 감소하였고, 酸棗仁은 10 $\mu$ g/ml 농도에서, 夜交藤은 1  $\mu$ g/ml 농도에서 IL-5 분비량이 감소하였다.

溫裏藥은 溫裏祛寒 하는 효능이 있어 裏寒證候를 치료하는 약물로<sup>13</sup>, 본 실험에서는 대체적으로 IL-5 분비량을 증가시키는 경향을 보여주었다. 하지만 桂皮의 경우 1 $\mu$ g/ml 농도에서 분비량 감소를, 吳茱萸, 炮附子の 경우 10 $\mu$ g/ml 농도에서 분비량 감소를 나타내었다.

利水滲濕藥은 水濕을 滲除시키는 약물로 水濕이 체내에 停蓄되어 일어난 水腫, 小便不利 및 濕邪로 인한 질환 혹은 濕熱로 인한 증후에 적용된다<sup>13</sup>. 본 실험에서는 木通, 萹薢, 薏苡仁에서 1 $\mu$ g/ml, 10 $\mu$ g/ml 농도 모두에서 IL-5 감소가 관찰되었으나, 다른 약물에서는 오히려 증가하는 소견을 보여주었다.

止血藥은 凝血過程을 빠르게 하거나 혹은 血液이 循經하지 못한 원인을 제거하여 체내외의 출혈을 신속하게 제지하는 약물이다<sup>13</sup>. 본 실험 결과에서는 槐花 1 $\mu$ g/ml, 10 $\mu$ g/ml 농도에서 IL-5 분비량

이 감소하였으며, 大小薊의 경우 10 $\mu$ g/ml 농도에서 약간의 감소를 보여주었다.

平肝藥은 平肝熄風 혹은 平肝潛陽시키는 작용을 가진 약물로<sup>13</sup>, 본 실험에서 決明子와 天麻의 두 가지 약물로 실험을 하였으나, IL-5 분비량을 감소시키지 못하는 것으로 나타났다.

그 밖의 기타 약물에서는 故紙花, 理氣, 止痛하는 橘核, 祛風濕, 舒筋하는 松節이 1 $\mu$ g/ml과 10 $\mu$ g/ml 두 농도 모두에서 IL-5 분비량 감소 효과를 보였으며, 祛風濕, 解毒하는 大丁廣, 清熱, 解毒, 止血, 止痛하는 半枝蓮, 瀉熱導滯하는 番瀉葉, 祛風散寒하는 鵝不食草는 1 $\mu$ g/ml 농도에서, 清熱解毒, 舒肝散瘀하는 雞骨草, 祛風, 活血, 止痛하는 雞香藤은 10 $\mu$ g/ml 농도에서 분비량 감소를 보여주었다.<sup>35,36</sup>

본 연구에서는 Sandwich ELISA를 이용하여 알레르기 질환의 염증 반응과 관련된 cytokine 중 하나인 IL-5 분비량을 감소시키는 한약재를 스크리닝 검사하였으며, 本草學의 분류에 따른 각 약재 집단군과 IL-5 분비량의 변화 관계를 살펴보았다. 이상의 실험 결과에서 1 $\mu$ g/ml과 10 $\mu$ g/ml 농도 모두에서 IL-5의 분비량 감소를 보인 약물은 石菖蒲, 白豆蔻, 五味子, 柏子仁, 木通, 萆薢, 薏苡仁, 槐花, 故紙花, 橘核, 絲瓜絡, 松節 12종으로 나타났으며, 그 중 石菖蒲, 柏子仁, 槐花, 橘核, 絲瓜絡은 뛰어난 효과가 있는 것으로 보여 점진적인 실험연구와 적극적인 임상활용을 해야 할 것으로 생각된다. 또한 본 연구의 결과는 향후 아토피피부염, 천식, 알레르기성 비염 등의 알레르기 질환의 치료와 관련한 한약재의 선택과 사용에 의의가 있을 것으로 생각된다.

그러나 약물 농도에 따라 IL-5 분비량이 감소하거나 증가한 약물의 경우에는, 농도에 따라 IL-5 분비량이 변화한 이유와 임상에서 사용할 수 있는 적정 약물 용량과 관련하여서도 추가적인 연구가 필요할 것으로 생각된다.

## V. 결 론

한약재들의 IL-5의 분비에 미치는 영향을 알아보기 위해 백서의 비장세포를 배양하여 한약재를 투여한 뒤 48시간 후 상층액을 거두어 sandwich ELISA를 이용한 IL-5 분비량을 알아보는 in vitro 실험을 실시한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 開竅藥 에서 石菖蒲는 1 $\mu$ g/ml, 10 $\mu$ g/ml 농도 모두에서 IL-5 분비량이 감소하였다.
2. 祛風濕藥 에서 絲瓜絡은 1 $\mu$ g/ml, 10 $\mu$ g/ml 농도 모두에서, 木瓜는 10 $\mu$ g/ml 농도에서 IL-5 분비량이 감소하였다.
3. 芳香化濕藥 에서 白豆蔻는 1 $\mu$ g/ml, 10 $\mu$ g/ml 농도 모두에서, 蒼朮, 厚朴은 1 $\mu$ g/ml 농도에서만 IL-5 분비량이 감소하였다.
4. 瀉下藥 에서 大黃은 10 $\mu$ g/ml 농도에서만 IL-5 분비량이 감소하였다.
5. 消食藥 에서 山楂는 10 $\mu$ g/ml 농도에서만 IL-5 분비량이 감소하였다.
6. 收澀藥 에서 五味子是 1 $\mu$ g/ml, 10 $\mu$ g/ml 농도 모두에서, 覆盆子是 1 $\mu$ g/ml 농도에서만 IL-5 분비량이 감소하였다.
7. 安神藥 에서 柏子仁은 1 $\mu$ g/ml, 10 $\mu$ g/ml 농도 모두에서, 酸棗仁은 10 $\mu$ g/ml 농도만에서, 夜交藤은 1 $\mu$ g/ml 농도에서만 IL-5 분비량이 감소하였다.
8. 溫裏藥 에서 桂皮는 1 $\mu$ g/ml 농도에서만, 吳茱萸, 炮附子是 10 $\mu$ g/ml 농도에서만 IL-5 분비량이 감소하였다.
9. 利水滲濕藥 에서 木通, 萆薢, 薏苡仁은 1 $\mu$ g/ml, 10 $\mu$ g/ml 농도 모두에서 IL-5 분비량이 감소하였다.
10. 止血藥 에서 槐花는 1 $\mu$ g/ml, 10 $\mu$ g/ml 농도 모두에서, 大小薊는 10 $\mu$ g/ml 농도에서만 분비량이 감소하였다.
11. 기타 약에서 故紙花, 橘核, 絲瓜絡, 松節은 1 $\mu$ g/ml, 10 $\mu$ g/ml 두 농도 모두에서, 大丁廣, 半枝蓮, 番瀉葉, 鵝不食草는 1 $\mu$ g/ml 농도에서만, 雞骨草, 雞香藤은 10 $\mu$ g/ml 농도에서만 IL-5 분비량이

감소하였다.

### 참고문헌

1. Wahn U. What drives the allergic march? *Allergy*. 2000 Jul;55(7):591-9.
2. 김태규, 박수정, 서영훈, 신동건, 엄현석, 이정림 외. 면역생물학(5판). 서울: 라이프사이언스; 2002, p. 327, 411.
3. 정일엽, 박춘식. 호산구와 관련된 chemokine에 대한 새로운 조명. 천식 및 알레르기. 2001; 21(2):161-72.
4. 이정우, 이형구, 정희재. 蒼朮이 천식 관련 Th1/Th2 세포 분비 cytokine에 미치는 영향. 대한한방내과학회지. 2007;28(4):681-93.
5. 박동희, 이형구, 정승기, 정희재. High through screening(HTS)를 이용한 白鼠의 脾臟細胞에서의 IL-5 분비 조절 韓藥物 Screening. 대한한방내과학회지. 2006;27(2):394-406.
6. 정광진, 정희재, 정승기, 이형구. 金銀花가 천식 유발 cytokine 분비와 호산구 chemotaxis에 미치는 영향. 대한한방내과학회지. 2005;26(1):129-42.
7. 문성훈, 정희재, 정승기, 이형구. 牧丹皮가 천식 유발 cytokine 분비와 호산구 chemotaxis에 미치는 영향. 대한한방내과학회지. 2005;26(1):199-212.
8. 손지우, 신조영, 이시형. 加味四君子湯이 OVA로 유발된 천식 마우스에 미치는 영향. 대한한방내과학회지. 2008;29(2):456-68.
9. 차은수, 정희재, 정승기, 이형구. 小青龍湯이 Asthma model 내의 Cytokine에 미치는 영향. 경희한의대논문집. 2000;23(1):71-88.
10. 김영우, 정희재, 이형구, 정승기. 定喘湯과 淸上補下湯이 Asthma Model 내의 Cytokines에 미치는 영향. 대한한방내과학회지. 2001;22(2):367-78.
11. 조일현, 정희재, 이형구, 정승기. 瀉白散이 천식에 미치는 효능에 관한 분자생물학적 연구. 경희의학. 2001;17(2):214-29.
12. 백동진, 정희재, 이형구, 정승기. 解表二陳湯加減方이 Asthma model 내의 Cytokine에 미치는 영향. 대한한의학회지. 2000;21(3):3-13.
13. 전국한의과대학 본초학교수. 본초학. 서울: 영림사; 1999, p. 241, 259, 289, 301, 331, 369, 376, 384, 489, 501, 520, 607.
14. Bukantz SC. Clemens von Pirquet and the concept of allergie. *J Allergy Clin Immunol*. 2002 Apr; 109(4):724-6.
15. Buggiani G, Ricceri F, Lotti T. Atopic dermatitis. *Dermatologic Therapy*. 2008 Mar-Apr;21(2): 96-100.
16. Cho SH, Park HW, Rosenberg DM. The current status of asthma in Korea. *JKoreanMedSci*. 2006Apr;21(2):181-7.
17. D'Alonzo GE, Jr. Scope and impact of allergic rhinitis. *Journal of the American Osteopathic Association*. 2002 Jun;102(6 Suppl 2):S2-6.
18. Wright AL, Holberg CJ, Martinez FD, Halonen M, Morgan W, Taussig LM. Epidemiology of physician-diagnosed allergic rhinitis in childhood. *Pediatrics*. 1994 Dec;94(6Pt1):895-901.
19. Cohn L, Elias JA, Chupp GL. Asthma: mechanisms of disease persistence and progression. *Annu Rev Immunol*. 2004;22:789-815.
20. Kay AB. Allergy and allergic diseases. First of two parts. *N Engl J Med*. 2001 Jan 4;344(1): 30-7.
21. Mosmann TR, Coffman RL. TH1 and TH2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. *Annu Rev Immunol*. 1989;7:145-73.
22. Dent LA, Strath M, Mellor AL, Sanderson CJ. Eosinophilia in transgenic mice expressing interleukin 5. *J Exp Med*. 1990 Nov 1;172(5):1425-31.
23. Novak N, Bieber T, Leung DY. Immune mechanisms leading to atopic dermatitis. *J Allergy Clin*

- Immunol. 2003 Dec;112(6 Suppl):S128-39.
24. Iwamoto I, Nakajima H, Endo H, Yoshida S. Interferon gamma regulates antigen-induced eosinophil recruitment into the mouse airways by inhibiting the infiltration of CD4+ T cells. *J Exp Med*. 1993 Feb 1;177(2):573-6.
  25. Marsella R, Olivry T. Animal models of atopic dermatitis. *Clin Dermatol*. 2003 Mar-Apr;21(2):122-33.
  26. Pilewski JM, Albelda SM. Cell adhesion molecules in asthma: homing, activation, and airway remodeling. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 1995 Jan;12(1):1-3.
  27. 이양근. 알레르기 질환에서의 유착분자. *중앙의학*. 1995;60(7):568-72.
  28. Nakajima H, Takatsu K. Role of cytokines in allergic airway inflammation. *Int Arch Allergy Immunol*. 2007;142(4):265-73.
  29. Takatsu K, Nakajima H. IL-5 and eosinophilia. *Curr Opin Immunol*. 2008 Jun;20(3):288-94.
  30. Robinson DS, Hamid Q, Ying S, Tsicopoulos A, Barkans J, Bentley AM, et al. Predominant TH2-like bronchoalveolar T-lymphocyte population in atopic asthma. *N Engl J Med*. 1992 Jan 30;326(5):298-304.
  31. 김성근, Hirohito K, 유진호, 고영률. 기도내 호산구성 염증에서 IL-5와 Eotaxin의 역할. *천식 및 알레르기*. 2004;24(1):127-36.
  32. Munitz A, Levi-Schaffer F. Eosinophils: 'new' roles for 'old' cells. *Allergy*. 2004 Mar;59(3):268-75.
  33. 송상진, 박양춘. 皂角刺가 천식모델 생쥐의 면역세포 및 사이토카인에 미치는 영향. *대한한방내과학회지*. 2005;26(1):143-55.
  34. 송재진, 박양춘. 半夏가 천식모델 생쥐의 면역세포 및 사이토카인에 미치는 영향. *대한한방내과학회지*. 2005;26(1):156-68.
  35. 김창미, 신민교, 안덕균 외. *中藥大辭典*. 서울: 도서출판정담; 1998, p. 225, 249, 691, 1292, 1956, 3223, 3476.
  36. 동양의학대사전편찬위원회. *동양의학대사전*. 서울: 경희대학교출판국; 1999, p. 84.