

Original Article / 원저

마황 추출물 투여가 Ovalbumin으로 유발된 마우스 알레르기성 천식에 미치는 영향

조은희¹⁾ · 조일주²⁾ · 박성주²⁾ · 조소현³⁾ · 박민철³⁾

¹⁾ 원광대학교 한의과대학 침구과

²⁾ 원광대학교 한의과대학 본초학교실

³⁾ 원광대학교 한의과대학 안이비인후피부과

Effects of *Ephedra sinica* (ES) Extract on the Ovalbumin-Induced Allergic Asthma in Mice

Eun-Hee Jo¹⁾ · Il-Joo Jo²⁾ · Seong-Ju Park²⁾ · So-Hyun Jo³⁾ · Min-Cheol Park³⁾

¹⁾ Dep. of Acupuncture and Moxibustion, Wonkwang University

²⁾ Dep. of Herbology, Wonkwang University

³⁾ Dep. of Oriental Ophthalmology and Otolaryngology and Dermatology, Wonkwang University

Abstract

Objective : *Ephedra sinica* (ES) has been used as remedy of allergic diseases for a long time in Korea. In the present study, we investigated the anti-allergic effects of ES on experimental allergic asthma mouse model using ovalbumin (OVA).

Methods : BALB/c mice were sensitized and challenged with 100 ug of OVA and 1 mg of aluminum potassium sulfate of 0.2 ml phosphate-buffered saline(PBS) intraperitoneally on day 1 and 15. mice were challenged on 3 consecutive days with 5% OVA and AHR was assessed 24 h after the last challenge. we examined the lung histology, airway hyper sensitivity, total inflammatory cell count in bronchoalveolar lavage fluid(BALF), Th2-associated cytokines production and IgE production.

Results : ES potently inhibited the lung damage and the development of Penh. ES also reduced the number of BAL cells during OVA-induced allergic asthma. Furthermore, ES inhibited cytokines production such as IL-4, IL-13 productions, and IgE level of serum.

© 2014 the Society of Korean Medicine Ophthalmology & Otolaryngology & Dermatology

This is an Open Access journal distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Conclusion : These results suggest that ES may inhibit the production of IL-4, IL-13, IgE and infiltration of inflammatory cell and be beneficial oriental medicine for allergic asthma.

Key word : allergic asthma; ovalbumin; Th2 cytokines; Ephedra sinica

1. 서 론

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등의 증상을 나타내고 세계인구의 약 10%를 차지하는 흔한 질환이다¹⁾. 병태생리학적으로 많은 세포와 세포성 요소들이 역할을 하는 만성 염증성 기도질환으로, 만성 염증은 기도의 과민성을 야기하게 한다²⁾. 호흡기계 질환의 하나인 알러지성 천식은 기도내 염증에 의한 기도 과민성과 점액 과분비를 동반한 가역적인 기도 폐쇄를 나타내는 질환으로, 염증반응은 T 세포, B 세포, 호중구, 비만세포 및 호산구 등의 염증세포와 사이토카인, 케모카인과 같은 화학 매개체들에 의해 유발된다³⁾. 천식 관련 주된 염증 세포들은 림프구, 호산구, 비만세포, 항원제시세포 등으로 점액의 과분비, 상피하 그물층의 비후, 평활근의 비후등과 같은 기도에서의 병리학적 변화는 기도 조직에서 이러한 염증 세포들의 직접적인 영향 때문이다. 비만세포는 항원에 노출된 후 즉각적으로 여러 매개체들을 생산할 뿐 아니라, 다양한 cytokine을 생산하여 알레르기 염증반응에 중요한 역할을 한다⁴⁾. 현재 임상에서 시행되고 있는 천식의 치료방법으로는 원인인 알레르겐 및 악화 인자를 회피하는 환경요법, 원인 알레르겐을 소량씩 피하 주사로 반복 시행하여 원인 알레르겐을 소량씩 피하 주사로 반복 시행하여 원인 알레르겐에 감수성을 약화시켜 증상의 호전을 유도하는 면역요법, 약물요법 등이 있으며, 최종적으로 스테로이드를 경구 투여한다⁵⁾.

알레르기성 천식은 IgE와 관련되어 있다. 대기 중의 알레르기항원이 기도로 들어와서 IgE를 생성하는 과정은 알레르기항원이 항원전달세포(antigen presenting cell)인 수지상세포(dendritic cell)와 결합하여 림프질로 이동하는 것으로부터 시작된다³⁾. 항원과 결합된 항원전달세포가 림프질 내의 naïve T-helper cell (Th0)에 작용하여 Th0가 분화되는 과정은 확실히 밝혀져 있지 않다. 천식의 기도염증에서는 type 2 helper T(Th2)세포가 우세한데 그 기전은 확실히 규명되지 않았지만 Th0세포의 일차 분화시기에 알레르기항원에 의해 자극된 전구 CD4 T-세포에서 분비되는 IL-4에 의해 Th2 세포로 분화된다⁴⁾. 반면 바이러스, 세균 등의 항원에 의해서 대식세포로부터 분비되는 IL-12에 의해 type 1 helper T(Th1)세포로 분화된다고 알려져 있다. 또한 같은 항원이라도 항원의 양이 많으면 Th2 세포로 분화되며 적당량의 항원에는 Th1 세포로 분화된다고 알려져 있다.

마황은 마황과에 속한 다년생초본의 소관목인 초마황, 목적마황 및 중마황의 지상부 草質莖이다. 성미는 辛, 微苦, 溫, 無毒하며, 효능과 주치는 發汗解表, 宣肺平喘으로 外感風寒의 表實證 및 風寒外束의 肺氣壅遏咳嗽에 응용한다⁶⁾. 마황은 한방에서 널리 사용하는 약재로 중풍, 상한, 두통, 발한, 해열, 진해 및 항염증 등에 응용되고 있다⁷⁾. 약리적인 면에서는 adrenaline과 유사한 작용을 하는 ephedrine에 의하여 증추흥분작용, 진해작용, 발한작용, 항염증작용, 이담, 항알레르기 등에 대한 효과를 나타낸다고 보고되었다⁸⁻¹⁴⁾.

마황에 대한 다양한 연구가 있어왔으나 마황 추출물의 ovalbumin으로 유도한 알레르기성 천식에 대한 연구는 되어있지 않았다. 이에 본 논문에서 저자는 ovalbumin(OVA)을 항원으로 유도한 기관지 천식 모

교신저자 : 박민철, 전북 익산시 신원동 344-2
 원광대학교 부속 한방병원 안이비인후과
 (Tel : 063-859-2821, E-mail : spinx11@wonkwang.ac.kr)
 • 접수 2014/7/2 • 수정 2014/8/7 • 채택 2014/8/14

텔에서 폐조직의 조직학적 변화와 기도과민성, 기관지폐포세척액 내의 총 세포수 변화와 폐조직 내 사이토카인의 생성 변화 및 IL-4에 의해 유도되는 항원 특이 항체인 IgE의 생성에 미치는 효과를 관찰하여 마황을 통하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 재료 및 방법

1. 재료

1) 동물

본 실험에 사용된 실험동물은 6주령된 암컷 Balb/c 생쥐를 (주)오리엔트바이오(성남, 한국)에서 공급받아 실험 당일까지 고형사료와 물을 충분히 공급하고, 실온 22±2 °C를 유지하였다.

2) 약재

실험에 사용된 마황(*Ephedra sinica*, ES)은 음니허브(영천, 한국)에서 구입하여 원광대학교 한의과대학 본초학 교실에서 정선하여 사용하였다.

3) 시약 및 기기

(1) 시약

본 실험에 사용된 시약은 난알부민 (OVA, chicken egg ovalbumin, Grade V)는 Sigma (St. Louis, USA)에서, Alum (Aluminium potassium sulfate)은 Pierce(Rockford, IL, USA)에서, Diff-Quik Kit는 Green Cross (Osaka, Japan)에서 구입하여 사용하였다.

(2) 기기

Freeze dryer (EYELA FDU-540, Japan), clean bench, vortex mixer (Vision scientific Co, Korea), autoclave (Sanyo, Japan) micropipet (Gilson, France), centrifuge (Sigma, U.S.A), homogenizer (OMNI, U.S.A) 등을 사용하였다.

2. 방법

1) 마황 추출물 분리

마황 추출물을 얻기 위하여 감초 100g 에 증류수 1 l 를 가하여 열탕 추출기에서 3시간 추출하여 얻은 액을 흡입 여과한 후 얼렸고, 이를 다시 동결건조기 (Freeze dryer EYELA FDU-540, Japan)를 이용하여 완전 건조한 마황분말을 냉동(-80 °C) 보관하면서 3차 증류수에 녹여 filter (0.2 μm syringe filter)로 여과 한 후 필요한 농도로 사용하였다.

2) 기관지 천식 생쥐 모델

100 μg의 OVA과 1 mg Alum를 PBS (phosphate buffered saline, pH 7.4) 0.2 ml에 혼합하여 복강내로 주사하였다. 1차 전신 감작(sensitization) 후, 15일째에 동일한 방법으로 2차 감작을 통해 면역boosting을 유도 한 후, 5% OVA in PBS 20 ml를 분무하여 30분씩 22, 23, 24일에 3일 연속 흡입 (Challenge)시켜 알러지성 천식을 유도하였다. 마지막 OVA을 분무한 24시간 후에 마우스를 분석하였다.

실험은 6마리를 한 군으로 하여 정상군 (control group, Con), 천식 유발군 (positive group, OVA), 실험군으로 나누었으며, 실험군은 ES 100 mg/kg group (천식 유발 후 ES 100 mg/kg 투여군), ES 200 mg/kg group (천식 유발 후 ES 200 mg/kg 투여군)으로 나누었다. 정상군은 아무런 처치를 하지 않았고, 실험군은 분석 전 1주일간 (18-24일) ES를 경구 투여하였으며, 천식 유발군은 실험군과 같은 시간에 같은 양의 생리식염수를 투여하였다(Fig. 1).

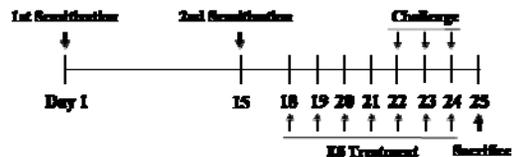


Fig. 1. Experimental protocol.

3) 기관지폐포세척액 (Bronchoalveola Lavage Fluid; BALF) 검사

BALF는 마지막 분무 24시간 후에 마우스에 Ketamine(Ketamine Hydrochloride 50 mg/ml, 유한양행) 1 ml과 Rompun 주사액(바이엘) 1 ml을 혼합하여 마우스 복강내에 100 μ l를 주사하여 마취시킨 후 기관지를 절개하고 카테타를 이용하여 기도 내로 멸균된 PBS 1 ml를 주입하여 기관지폐포세척액(BALF) 약 700 μ l를 채취하여 Cytospin을 사용 2000 rpm에서 5분간 원심분리한 후 슬라이드를 건조하였다. 건조된 슬라이드는 Diff-Quick 용액을 이용하여 염색하였다. 이 슬라이드로부터 세포의 모양과 염색을 특징으로 면역세포의 type을 결정하였다. 광학현미경 $\times 400$ 배율에서 관찰하여 단핵구(monocyte), 호산구(eosinophil), 호중구(neutrophil), 림프구(lymphocyte) 등의 총 세포 수를 측정하였다.

4) 조직병리검사

마우스에서 폐조직을 떼어내어 10% 포르말린에 고정시키고, 파라핀으로 embedding 한 후 4 μ m 두께로 조직을 잘라 슬라이드에 붙인뒤 Hematoxylin/eosin (H&E) 염색하여 $\times 400$ 배율로 관찰하였다.

5) 기도과반응성 (Airway hyper-reactivity; AHR) 측정

실험방법은 Peebles RS Jr¹⁵⁾의 방법을 약간 변형하였다. 마지막 분무 24시간 후, methacholine (Sigma, USA)을 PBS로 희석하여 2.5 mg/ml, 10 mg/ml, 20 mg/ml, 및 50 mg/ml의 농도로 각각 5분간 분무하여 노출시킨 후 동물용 체적 변동 측정기를 사용하여 Penh (enhanced pause) 값을 5초 간격으로 3분간 측정하여 평균을 대표값으로 취하였다.

6) RNA 추출

적출한 폐조직을 TRI-zol 1 ml를 넣고 용해될 때까지 분쇄한다. 이 혼합 부유액에 100 μ l chloroform

(CHCl₃) 용액을 가한후 잘 섞어준 뒤 15,000 rpm에서 20분간 원심분리하여 맨 위의 상층액을 취한다. 2-propanol을 회수한 상층액과 동량 혼합해 섞어준 뒤 15,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 위에 상층액은 버리고 남은 침전물에 80% EtOH로 수세하고 침전물을 건조시켰다. 추출한 RNA는 diethyl pyrocarbonate (DEPC)를 처리한 200 μ l의 증류수에 녹여 RNA를 용해시키고 정량하였다.

7) 정량적 중합 효소 반응

기관지 천식 생쥐에서 적출한 폐 조직내의 IL-4, IL-13의 mRNA의 발현을 정량적으로 표현하기 위하여 정량 중합 효소 반응을 측정하였다. 합성된 cDNA 1 μ l, Real time PCR master mix 4 μ l (Roche), primer 및 probe를 넣고 PCR 조건으로 반응시켰다.

8) Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) analysis

천식 유발에 따른 Th2 사이토카인의 양을 측정하기 위하여 적출한 폐조직에서 IL-4, IL-13의 양을 측정하고, 심장 천자로 얻은 혈청으로부터 IL-4의 영향으로 나타나는 항원 특이 항체 IgE의 양을 측정하기 위하여 IgE kit를 사용하여 ELISA 방법을 사용하였다. 심장 천자로 얻어진 혈액은 5000 rpm에서 5분간 원심분리 한 후, 상청액을 취해 혈청을 얻었다.

9) 통계 처리

실험결과와 통계적 처리는 SPSS(ver. 8.0)를 이용하였으며, 기술통계학적 분석을 통해 각 집단 간의 유의성은 ANOVA test 방법으로 분석하였으며, 그 값이 0.05 이하일 경우 유의 수준으로 인정하였다. 실험치의 표현은 평균 \pm 표준편차 (mean \pm SD)로 하였다.

III. 결 과

1. OVA로 유도한 기관지 천식에서 폐조직의 조직학적 변화에 대한 ES의 효과

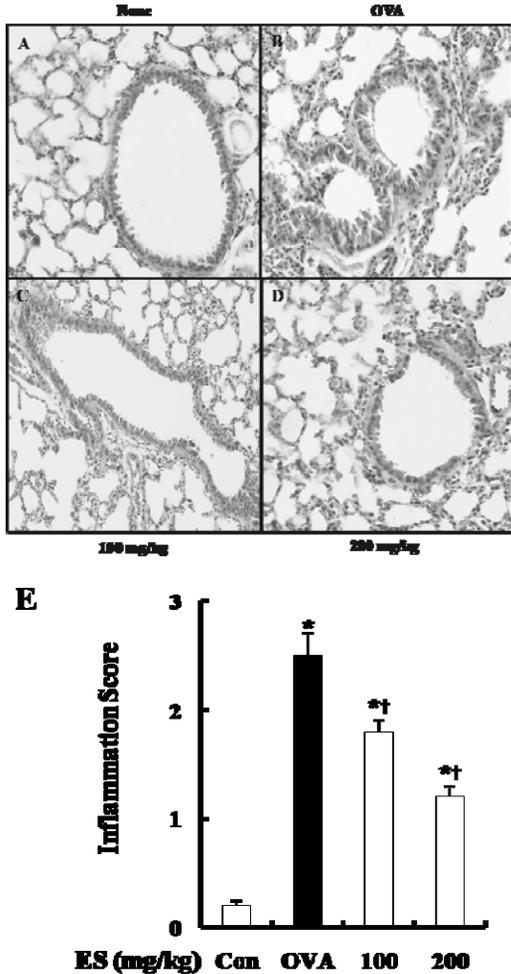


Fig. 2. Effect of ES on the lung histological structure in OVA-induced asthma.

Lung tissues were sectioned and stained with hematoxylin and eosin(H&E) (Fig. 2A-D) and the severity was scored (Fig. 2E). Mice were immunized and challenged to OVA. Fig. 2A, none immunized mice, Fig. 2B, 2C, 2D mice that were immunized and challenged 3 consecutive days with OVA were sacrificed 24 hours after last challenge. Fig. 2C, 2D, mice that were immunized and treated with ES (2C; 100 mg/kg; 2D; 200 mg/kg) before challenge 3 consecutive days with OVA were sacrificed 24 hours after last challenge. Original magnification, x400. Images are representative section of six mice per group. *p < 0.05 vs, control; †p < 0.05 vs, OVA positive group.

기관지 천식 유발 마우스의 폐조직에 미치는 ES의 효과를 확인하기 위하여 OVA 마지막 24시간 후에 폐조직을 H&E 염색해 관찰하였다(Fig. 2). 정상군에서는 기도가 선명하고 염증세포의 침윤이 보이지 않으나(Fig. 2A), 천식유발군에서는 기도의 협착과 기도벽의 두께가 증가되어 있고 염증세포의 침착이 현저하게 증가되어 있다(Fig. 2B). ES 100, 200 mg/kg 군에서는 기도의 협착과 기도벽의 두께가 대조군에 비해 감소하였는데, 실험군 Fig. 2C에서 보다 Fig. 2D에서 더욱 감소되는 것을 확인할 수 있었다. 폐조직 내의 염증 수준을 양적분석방법을 통하여 평가한 결과 정상군에 비해 천식유발군의 염증정도가 확연하게 증가하였으며, 실험군 ES 100, 200 mg/kg에서 농도에 따라 농도 의존적으로 폐의 염증이 감소하였다(Fig. 2E).

2. OVA로 유도한 기관지 천식의 기관지 수축에 대한 ES의 효과

알레르기성 과민반응에 의해 나타나는 기관지 수축에 미치는 ES의 효과를 확인하기 위하여 정상군, 천식유발군과 실험군에 methacholine을 농도별로 노출시켜 그에 대한 기도저항값(Penh)을 조사한 결과 methacholine의 농도가 높을수록 Penh값이 상승하는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 3). 각 그룹간의 차이를 조사한 결과 0 mg/ml, 2.5 mg/ml의 methacholine 농도에 노출시켰을 때는 모든 군에서 비슷한 정도의 Penh 값을 보였다. 10 mg/ml 이상의 농도부터는 천식유발군의 Penh 값이 가장 높게 나왔고, 정상군의 Penh 값이 가장 낮았으며, 실험군의 Penh 값은 ES 100, 200 mg/kg 농도 의존적으로 감소하는 것을 확인할 수 있었다.

3. OVA로 유도한 기관지 천식의 BALF 내 총 세포 수 변화에 미치는 ES의 효과

알레르기성 기관지천식 유발은 폐의 염증유도에 의한 백혈구, 림프구 등 염증성세포 수의 증가를 초래하

는 것으로 알려져 있다¹⁶⁾. 천식유발군과 실험군의 염증성 세포 수의 변화를 비교하기 위하여 OVA 마지막 분무 24시간 후 마우스의 BALF를 수거하여 세포 수를 측정하였다. 그 결과 BALF 내 전체 세포 수는 천식유발군에 비하여 실험군 ES 100, 200 mg/kg 에서 농도 의존적으로 유의성 있게 감소하는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 4).

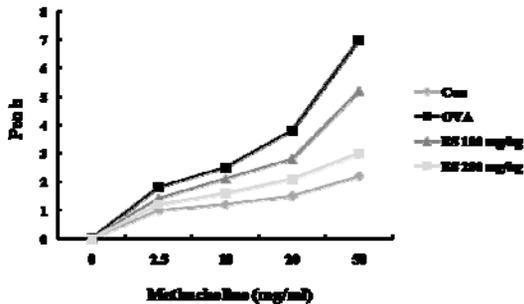


Fig. 3. Effect of ES on airway hyper-reactivity (AHR) in OVA-induced asthma.

Mice that were immunized and treated with ES(100 mg/kg, 200 mg/kg) before challenge 3 consecutive days with OVA were sacrificed 24 hours after last challenge. AHR was measured by enhanced pause (Penh) under exposure to indicated doses of methacholine. These results are representative of three independent experiments (n=6 in each group).

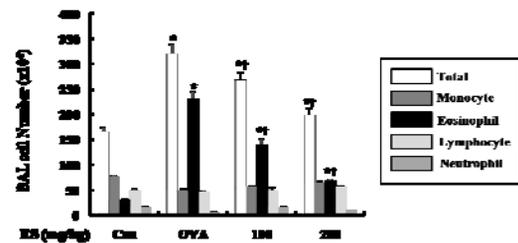


Fig. 4. Effect of ES on the Bronchoalveolar Lavage cell (BAL cell) in OVA-induced asthma.

BAL cell were separated using a cytopsin, and then stained with Diff-Quik. Differential cell counting was performed using standard morphological criteria. Values are represented as mean±SD (n=6). *p < 0.05 vs, control; †p < 0.05 vs, OVA positive group.

4. OVA로 유도한 기관지 천식의 폐조직 및 BALF 내 Th2 사이토카인 생성에 따른 ES의 효과

본 실험에서는 폐조직과 BALF에서 Th2 타입의 사이토카인인 IL-4, IL-13의 농도를 조사하였다. 항원을 인지한 T 림프구는 림프절에서 활성화하여 염증조직으로 이동하게 된다. 알레르기성 항원인 OVA에 특이적으로 작용한 T림프구들은 다수가 염증부위인 폐조직으로 이동하여 Th-2 반응을 통하여 사이토카인을 생산하기 때문에 폐조직과 BALF 내에서 발현되는 사이토카인양을 조사하였다¹⁷⁻⁸⁾. T 세포의 체액성 면역을 유도하는 사이토카인으로 알려진 IL-4와, 혈관과 생성을 증가시켜 호산성백혈구의 기관지 및 폐조직 내로 침윤을 증가시키고 점액을 생산하는 배상세포를 증가시키는 사이토카인인 IL-13¹⁹⁾을 폐조직의 mRNA 레벨에서 확인하였으며(Fig. 5A), BALF 내 상청액을 따 Protein 레벨에서 확인하였다(Fig. 5B). IL-4는 천식 유발군에서 정상군에 비하여 확연하게 증가하는 것을 확인할 수 있었으며, 실험군인 ES 100, 200 mg/kg에서 농도 의존적으로 유의하게 억제되었다. IL-13 또한 IL-4와 마찬가지로 천식유발군에 비해 실험군인 ES 100, 200 mg/kg에서 농도 의존적으로 유의하게 감소하는 것을 확인할 수 있었다.

5. OVA로 유도한 기관지 천식의 혈청내 IgE 생성에 미치는 ES의 효과

IL-4, IL-13은 Th2에서 분비되는 사이토카인으로 IgE의 생성을 유도하여 알레르기성 염증 반응의 병인에 관여한다고 알려져 있다²⁰⁾. 알레르기성 기관지천식 유발 마우스의 혈청내에서 IgE의 양을 관찰한 결과 정상군에 비하여 천식 유발군에서 IgE의 양이 확연하게 증가하는 것을 확인할 수 있었으며, 실험군인 ES 100, 200 mg/kg에서 농도 의존적으로 유의하게 감소하는 것을 확인할 수 있었다.

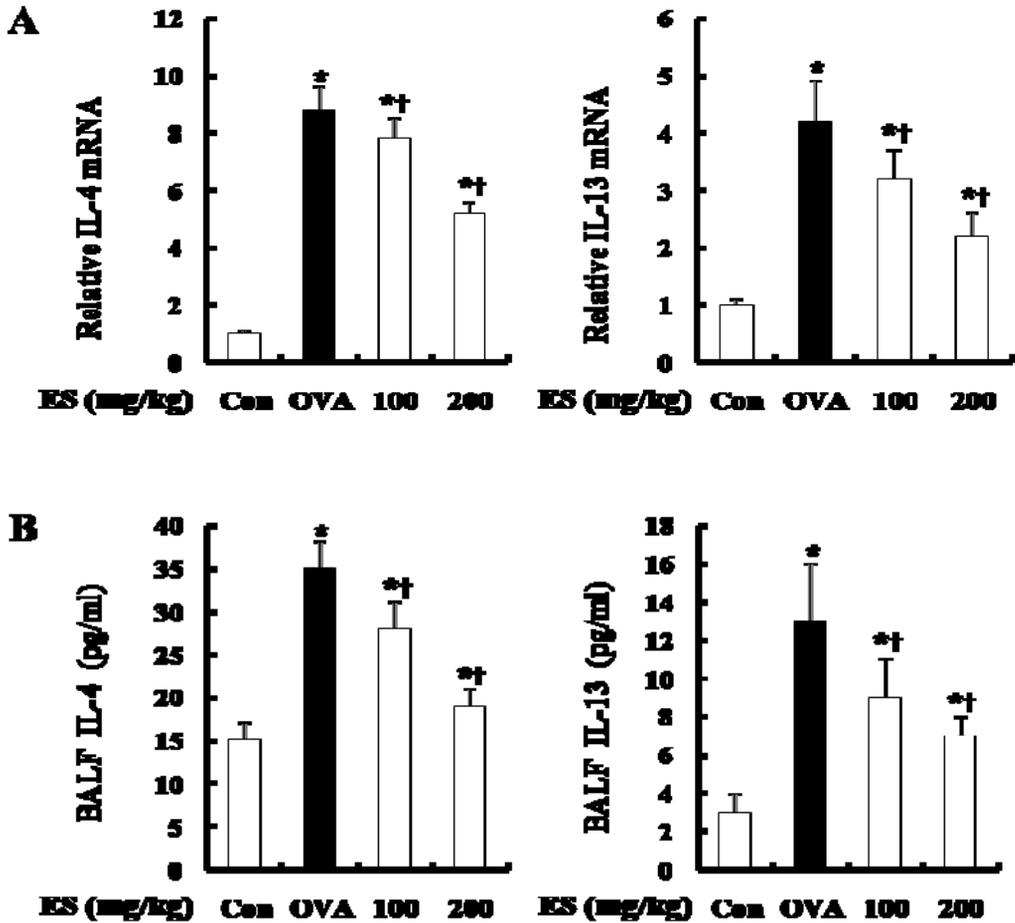


Fig. 5. Effect of ES on Th2 cytokine expression in OVA-induced asthma.

Mice were sensitized and challenged by OVA as described in the Materials and methods, mice that were immunized and challenged 3 consecutive days with OVA were sacrificed 24 hours after last challenge. The expression of indicated genes in tissues were determined by real-time RT-PCR (A), also BALF sup were determined by ELISA (B). Values are represented as mean±SD (n=6). *p < 0.05 vs, control; †p < 0.05 vs, OVA positive group.

IV. 고 찰

천식은 기관지의 만성 재발성 염증질환으로 다양한 종류의 자극에 과민반응하여 발작성 수축을 일으키는 것을 특징으로 하며²¹⁾ 이러한 증상이 저절로 혹은 치료로 호전되는 가역성 기류 폐쇄를 나타내는 질환이다. 주로 어릴 때 많이 발생하는데 성인의 약 5%, 소아의 7~10%가 앓고 있다²²⁾.

한의학에서 喘息은 哮喘症에 해당하는 질환으로, 哮와 喘은 구분할 수 있어 喉中有聲響한 것을 哮라 하고 呼吸急促한 것을 喘이라 말한다²³⁾. 따라서 哮喘은 일반적으로 呼吸急促하고 喘鳴有聲한 것을 지칭하는 것이다²⁴⁾. 哮喘은 隋代 巢²⁵⁾의 《巢氏諸病源候論》에서 “上氣鳴息”, “呻嗽”라고 칭하는 것에서 그 유래를 찾아볼 수 있으며, 그 병인을 肺의 장기적인 기능실조로 보았다. 喘息의 원인으로는 巢, 朱²⁶⁾, 樓²⁷⁾ 등은 痰飲을 原因이라고 하였고 張²⁸⁾은 “夙根”이라 하여 遺

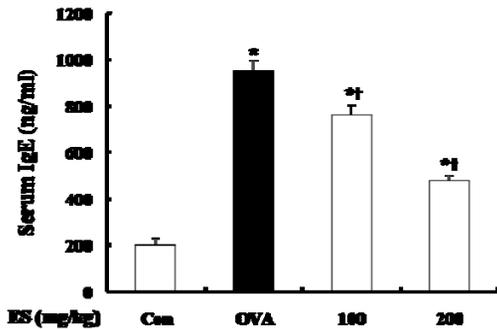


Fig. 6. Effect of ES on serum IgE level in OVA-induced asthma.

Production levels of OVA specific IgE in serum were measured using ELISA method. All data were represented as calculated using reference serum. Values are represented as mean±SD (n=6). *p < 0.05 vs, control; †p < 0.05 vs, OVA positive group.

傳이나 臟腑의 機能低下 등의 내재적 素因을 가지고 있는 사람이 過寒과 過勞시 발생한다고 하였다. 그리고 정²⁹⁾은 哮喘의 原因을 첫째 冷한 음료나 혹은 鹹, 酸, 甘味를 지나치게 嗜食하게 되면 積痰 蘊熱하여 발생하게 되고, 둘째 外感病邪를 초기에 表散시키지 못하여 餘邪가 肺絡에 잠복해 있다가 다시 外邪가 침범하면 발병하게 되며, 셋째 내재된 素因을 가지고 있는 사람이 寒冷, 疲勞 등 어떤 誘因을 만나서 발생하게 되고, 넷째 특정의 냄새에 대한 과민반응으로 발생되며, 다섯째 肺, 腎의 呼吸機能 低下로 발생하게 된다고 정리하였다. 哮喘의 치료는 朱³⁰⁾의 補陰, 降心火, 降痰下氣의 治법과 王³¹⁾의 外邪와 攝生에 대한 주의 그리고 張의 虛實辨別에 의한 扶正氣, 攻邪氣의 治法을 기본으로 하였다. 최근에는 小青龍湯^{32,33)}, 定喘化痰降氣湯, 麥門冬湯³⁴⁾, 神祕湯³⁵⁾, 定喘湯³⁶⁾과 清上補下湯³⁷⁾, 瀉白散³⁸⁾ 등이 천식에 효과가 있다는 연구보고가 있었고, 임상에서 활용되고 있다.

알레르기성 기관지천식은 항원, 비만세포 및 IgE가 관여하여 분비되는 화학매체의 직접적인 약리작용에 의해서 그리고 화학매체와 cytokine, 유착분자가 관여하여 기관지로 모여온 염증세포에 의해서 발병하는 기도의 만성 알레르기 염증성 질환으로 이해되고 있

다³⁹⁾. 기관지천식의 특징적인 병리소견은 기관지속에 호산구의 수가 증가되어 있는 것인데 기도내로 유입된 호산구가 활성화되면, 세포막으로부터 생성되는 혈소판활성인자, leukotriens 등의 화학매체들은 기도수축, 객담 생성, 혈관투과성 증가, 부종 등을 발생시키고, 더불어 화학주성이 있어 지속적으로 호산구를 비롯한 염증세포들을 기도내로 유입시킬 뿐 아니라 기도과민성을 생성하거나 증가시키며, 세포질로부터 유리된 세포독성단백은 기도상피를 박탈시킨다^{40,41)}.

본 연구에서 저자는 마황의 알레르기성 기관지 천식에 대한 효과를 알아보기 위하여 마우스 천식 모델을 이용하여, Balb/c 마우스에 ovalbumin으로 알레르기성 천식을 유발한 마황이 이에 미치는 효과를 확인하였다. 기관지 과민반응은 폐조직에서 기관지의 수축과 염증세포의 침착을 수반하게 된다. 마황이 이에 미치는 효과를 확인하기 위하여 폐조직의 조직학적 검사를 통하여 비후된 기도벽의 두께와 함께 염증세포 침착정도를 확인하고 또한 기관지 수축정도를 확인하였다. 기도벽의 두께와 염증세포의 침윤정도를 확인한 결과 천식 유발군에서 기도의 협착과 기도벽의 두께가 증가하였으며, 염증세포의 침착이 현저하게 증가되는 것을 확인할 수 있었으며, 실험군인 마황 100, 200 mg/kg를 처리하였을 때 천식 유발군에 비해 기도의 협착과 기도벽의 두께, 염증세포의 침착정도가 유의성 있게 감소하였다(Fig. 2). 또한 기관지 천식의 특징적인 증상인 기도 과민성을 측정하는 Penh 값에서 천식 유발군은 정상군에 비해 심한 기도수축이 나타났으나, 실험군인 마황 경구 투여군에서는 농도 의존적인 억제 효과를 보였다(Fig. 3). 이와 같은 결과로 보아 마황이 기관지 평활근 증식을 억제하여 기도 두께를 감소했을 가능성이 있으며, 또한 호산구나 염증성세포의 기관지로 유입, 침윤을 막음으로서 기도 과민성을 줄일 수 있었을 것으로 사료된다.

천식모델에서 기관지세포세척액(BALF) 내의 BAL 세포를 연구하는 것은 천식 병리기전에 있어서 중요한 연구방법으로 여겨지고 있으며, 다른 염증매개인

자들을 제외하더라도 OVA로 유발된 이들 염증매개 인자들은 BAL 세포에서 분비된다. 또한 이들 세포는 천식의 병리기전에 있어 결정적인 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 현재까지 연구결과에 의하면 호산구는 천식에서 기도염증을 일으키는데 가장 중요한 역할을 담당하는 세포이며, Th2 세포에 의해 매개되는 염증 및 IL-13을 활성화시켜 천식발생에 있어서 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다⁴²⁻⁴⁴. 기관지폐포 세척액에 존재하는 총 세포수와 호산구(eosinophil) 세포수의 변화를 확인한 결과 마황 100, 200 mg/kg를 처리하였을 때 천식 유발군에 비해 유의성 있게 총 세포수와 호산구의 증식이 억제되었다. 이는 감초가 호산구 증식 억제를 통하여 천식 억제에 유의한 효과를 가진다는 것으로 사료된다(Fig. 4).

면역 반응 시 다른 세포에게 영향을 줄 수 있는 분비성 단백질인 사이토카인은 세포간의 상호작용을 매개하는 중요한 역할을 담당한다. 특히 알레르기성 기관지 천식의 경우 Th2 형의 사이토카인인 IL-4, IL-5, IL-13의 level은 정상인에 비해 올라가있다. 이들 사이토카인은 알레르기 반응에 관여하는 여러 백혈구들의 이동에 중요한 역할을 하는 것으로 보고되어 있으며 IL-4는 세포간의 정보를 전달하는 사이토카인으로 Th2 세포에서 생성하여 B-cell의 분화와 증식을 촉진시키고 Th2세포를 자극하여 IgE 생성을 증가시키며, 천식의 주요 증상인 기도 과민반응을 일으키는데 매우 중요한 역할을 한다. 특히 IL-13과 IL-5는 백혈구가 염증 부위 주변에 집합하는데 주된 역할을 담당한다⁴⁵. 따라서 마황 경구투여가 폐조직 및 기관지폐포 세척액 내의 사이토카인의 생성에 양적 변화를 초래하는지 확인한 결과, 정상군에 비해 천식 유발군에서 IL-4, IL-13의 생산이 증가되었으나, 마황 100, 200 mg/kg에서 IL-4, IL-13의 생산이 농도 의존적으로 유의하게 감소하는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 5).

면역반응에 의하여 세포나 조직에 손상을 일으키는 과민반응은 I, II, III, IV형으로 분류되어 사용되고 있는데, 이 중 I, II, III형은 항체가 관여하는 체액성 면

역반응이고, IV형은 주로 대식세포와 T세포가 관여하는 세포매개 면역반응으로 항원에 노출된 후 대체로 수일 후에 증상이 나타나는 지연형 반응이다. 기관지 천식의 주요 발생 기전은 제 I 형 과민 반응에 해당되며⁵, 제 I 형 과민 반응은 IgE에 의해 매개되는 반응이다⁴⁶. 기관지 천식의 경우 대기의 항원이 항원전달 세포(antigen presenting cell)인 수지상세포(dendritic cell)에 들어오면⁴⁷ 림프구의 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 기도폐쇄를 일으켜 천식증상을 발생시킨다^{48,49}. 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 왔다⁵⁰. 본 논문의 결과에 의하면 마황은 천식 유발에 의하여 상승된 혈청 내 IgE level을 감소시켰는데(Fig. 6), 이러한 결과는 마황이 천식 치료에 있어서 중요한 역할을 할 가능성이 높다는 사실을 의미한다. 따라서 IL-4, IL-13, IgE의 감소로 볼 때 마황추출물이 IL-4, IL-13을 억제함으로써 B세포의 활성화억제와 IgE의 생산을 억제하는 역할을 함으로서 기관지의 염증 및 기도저항을 억제해 기관지 천식을 유의하게 억제할 수 있다는 것을 의미한다.

이상의 결과로 마황이 알레르기성 기관지 천식 억제에 유효하다는 것을 확인 할 수 있었으며, 향후 이에 대한 지속적인 연구와 활용이 필요하리라 사료된다.

V. 결 론

OVA로 유도한 기관지 천식 모델에서 마황의 효과를 실험적으로 알아보기 위하여 폐조직, 기도과민성,

기관지폐포세척액, Th2 사이토카인인 IL-4, IL-13 및 혈청 내 IgE의 생산 정도를 조사한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 마황은 폐조직에서 기도협착과 기도 벽의 두께, 염증세포의 침윤을 유의하게 억제하였다.
2. 마황은 기도과민성을 유의하게 억제하였다.
3. 마황은 기관지폐포세척액에서 총 세포수와 호산구의 생성을 유의하게 억제하였다.
4. 마황은 폐조직 및 BALF내 IL-4, IL-13의 생성을 유의하게 감소시켰다.
5. 마황은 혈청내 IgE의 생성을 유의하게 감소시켰다.

이상의 결과, 마황이 호산구의 활성화·증식 억제, Th2 세포의 분화 및 사이토카인 생성 감소, IgE의 생성 감소에 의하여 천식억제 효과를 보인 것으로 사료된다.

감사의 글

이 논문은 2014년도 원광대학교의 교내 연구비 지원에 의해서 수행됨.

Reference

1. Lee HG, Jeong HG. Donguiipyogyonaeg-wahak. Seoul:Art Dongbang. 1999;187-202.
2. Bateman ED, Hurd SS, Barnes PJ, Bousquet J, Drazen JM, FitzGerald M, Gibson P, Ohta K, O'Byrne P, Pedersen SE, Pizzichini E, Sullivan SD, Wenzel SE, Zar HJ. Global strategy for asthma management and prevention: GINA executive summary. Eur Respir J. 2008;31(1):143-78.
3. Busse WW, Lemanske RF Jr. Asthma, N.

- Engl. J. Med. 2001;344(5):350-62.
4. Okayama Y, Hagaman DD, Metcalfe DD. A comparison of mediators released or generated by IFN-gamma-treated human mast cells following aggregation of Fc gamma RI or Fc epsilon RI. J Immunol. 2001;166(7):4705-12.
5. Asthma and Allergic Disease. Seoul: Koonja publishment co. 2002:13-33, 244-50.
6. Shin MG. Clinical Traditional Herbology. Seoul: Younglimsa. 2002:322-4.
7. Association of studying herbs. Pharmacognosy. Korea Teaching and books co. 1985:292-94.
8. Lee SI, Ahn DK, Shin MG. Clinical application of herbal medicine. Seoul:Seoungbosa. 1982:44-52.
9. Chae IS. Shanghanlunyeokgeon. Seoul: Komunsa. 1987:298-9.
10. Wang BM, Wang I, Shinnongbonchogyeeong-jojeung. Gillim: Gillimgwahakgisul Pub. 1988:316-7.
11. Yong JC. Clinical Chinese pharmacy. Beijing:Inminwisang Pub. 1989:109-10.
12. Jo GJ. Treatment of Poisoning of Chinese medicine. Sichuan:Seongdojeonpagongjeong-hakwon Pub. 1989:274-5.
13. Yeo MC, Yu MB. Poising and treatment of Chinese medicine. Junggwang Uni. Pub. 1993:27-9.
14. Mun GS. Component and Utilization of medicinal herb. Seoul:Ilwolseogak. 1994.:124-5.
15. Peebles RS Jr, Sheller JR, Johnson JE, Mitchell DB, Graham BS. Respiratory Syncytial Virus Infection Prolonges Methacholine-Induced Airway Hyperresponsiveness in Ovalbumin-Sensitized Mice. J Med Viro. 1999;57(2):186-92.

16. Bousquet J, Chanez P, Lacoste JY, Barnéon G, Ghavanian N, Enander I, Venge P, Ahlstedt S, Simony-Lafontaine J, Godard P. Eosinophilic inflammation in asthma. *N Engl J Med*. 1990;323(15):1033-9.
17. Beasley R, Roche WR, Roberts JA, Holgate ST. Cellular events in the bronchi in mild asthma and after bronchial provocation. *Am Rev Respir Dis*. 1989;139(3):806-17.
18. Romagnani S. The role of lymphocytes in allergic disease. *J Allergy Clin Immunol*. 2000;105(3):399-408.
19. Lee SY, In KH. Immunopathogenesis of Asthma. *Tuberculosis and Respiratory Diseases*. 2006;60(4):379-90.
20. Lee SJ, Lee JS, Lee KS. The Effect of Allergen-Specific Immunotherapy on IL-10 and IL-13 mRNA Expression in Peripheral Blood Mononuclear Cells from Patients with Atopic Asthma. *Pediatr Allergy Respir Dis(Korea)*. 1999;9(1):40-55.
21. Pathology. The Korean Society of Pathologist. Seoul:Komunsa, 2004:458.
22. Harrison internal medicine. The Korean Association of Internal medicine. Vol.2. MIP. 2003:150.
23. Chinese internal medicine. Shanghai Traditional Chinese Medicine series. Vol. 1. Hongkong:Shangwuyinshu,1975:17-23.
24. Jeongukhanuigwadaehak Pyegyenaegwahak-gyosil, Donguiipyogyonaegwahak, Seoul: Gukjin. 2004:486.
25. Chao YF, Chao Shi Zhy bing Yuan Hou Lun, Seoul: Daesungmunhwasa, 1992:106-17.
26. Zhu S, Puji Fang. Beijing:Inminwisang Pub. 1982:1789.
27. Lou Y. Yixuegangmu. Beijing:Chinese herbal Pub.1996:598.
28. Zhang GB. Translated Gyeongakjeonseo. Vol 2. Seoul: Iljungsa,1992:354-64.
29. Jung SK, Lee HK. A review study of Wheezing asthma. *The journal of K.O.M.S*. 1986;7(1):60-7.
30. Zhu ZH. Dangyesimbubbuje. Seoul:Daesungmunhwasa, 1993:328-33.
31. Wang KT. Zhèng zhì zhǔnshéng. Vol.1. Beijing:Inminwisang Pub. 1991:229-31.
32. Hwang WS, Lee JS, Choi JY, Jung HJ, Rhee HK, Jung SK. Two cases of Chronic Sinusitis with Asthma Improved by Socheongryong-Tang. *The journal of K.O.M.S*. 2003;24(1): 207-12.
33. Lee JU, Jeong HJ, Jeong SG, Lee HG. The Effects of Socheongryong-Tang on Lymphocytes in BALF of rat. *K.H.M*. 2001;17(2):242-53.
34. Kim JJ, Jeong HJ, Jeong SG, Lee HG. The Effects of Maekmoondong-tang and Jeongcheonhwadamgangki-tang on Immune Cell and Serum OA-specific IgE in BALF in Rat Asthma Model. *The Journal of Korean Oriental Medicine*. 2002;23(1):7-49.
35. Kim SS, Jeong HJ, Jeong SG, Lee HG. The Effects of Shinbi-tang and Gamishinbi-tang on Immune Cell and Serum OA-specific IgE in BALF in Rat Asthma Model. *The Journal of Korean Oriental Medicine*. 2002;23(2):198-210.
36. Yeom JH, Jung HJ, Jung SG, Lee HG. The Effects of Jungchun-tang and Jungchun-tanggagambang on Immune Cell & Serum IgE in BALF in a Rat Asthma Model. *The Journal of Korean Oriental Medicine*. 2003;24(1):

- 169-80.
37. Jeong SG, Joo CY, Hwang WS, Lee JS, Jo IH, Jeong HJ. The Journal of Korean Oriental Medicine, The Journal of Korean Oriental Medicine, 2002;23(4):151-60.
 38. Jo IH, Jeong HJ, Lee HG, Jeong SG).The Effects of Sabaek-san on Asthma in view of molecular biologic methods. K,H,M, 2001;17 (2):214-29.
 39. Hong CS, Kim KU. Bronchial Asthma-Pathogenesis and Epidemiology. Allergy Asthma Respir Dis, Asthma and Allergic Disease, Seoul: Koonja publishment co, 2002:237-56.
 40. Frigas E, Gleich GJ. The eosinophil and the pathophysiology of asthma. J Allergy Clin Immunol. 1986;77(4):527-37.
 41. Rhee YK. Eosinophils in Asthma, Tuberculosis and Respiratory Diseases. 1999;16(1):5-16.
 42. Lee JJ, Dimina D, Macias MP, Ochkur SI, McGarry MP, O'Neill KR, Protheroe C, Pero R, Nguyen T, Cormier SA, Lenkiewicz E, Colbert D, Rinaldi L, Ackerman SJ, Irvin CG, Lee NA. Defining a Link with Asthma in Mice Congenitally Deficient in Eosinophils. Science. 2004;305(5691):1773-6.
 43. Humbles AA, Lloyd CM, McMillan SJ, Friend DS, Xanthou G, McKenna EE, Ghiran S, Gerard NP, Yu C, Orkin SH, Gerard C. A critical role for eosinophils in allergic airways remodeling. Science. 2004;305(5691):1776-9.
 44. Zhu Z, Zheng T, Homer RJ, Kim YK, Chen NY, Cohn L, Hamid Q, Elias JA. Acidic mammalian chitinase in asthmatic Th2 inflammation and IL-13 pathway activation. Science. 2004;304(5677):1678-82.
 45. Jinquan T, Quan S, Jacobi HH, Reimert CM, Millner A, Hansen JB, Thygesen C, Ryder LP, Madsen HO, Malling HJ, Poulsen LK. Cutting edge: expression of the NF of activated T cells in eosinophils: regulation by IL-4 and IL-5. J Immunol. 1999;163(1):21-4.
 46. Burrows B, Martinez FD, Halonen M, Barbee RA, Cline MG. Association of asthma with serum IgE levels and skin-test reactivity to allergens. N Engl J Med. 1989;320(5):271-7.
 47. Noah TL, Becker S. Chemokines in nasal secretions of normal adults experimentally infected with respiratory syncytial virus. Clin Immunol. 2000;97(1):43-9.
 48. 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):576-86.
 49. 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.
 50. Kawano T, Matsuse H, Obase Y, Kondo Y, Machida I, Tomari S, Mitsuta K, Fukushima C, Shimoda T, Kohno S. Hypogammaglobulinemia in steroiddependent asthmatics correlates with the daily dose of oral prednisolone. Int Arch Allergy Immunol. 2002;128(3):240-3.