

난알부민으로 유발된 생쥐의 알레르기 비염에 연교, 유근피, 좌귀음이 미치는 영향

김빛나래

동신대학교 한의과대학 소아과학교실

Abstract

Effects of Forsythiae Fructus, Ulmi Cortex and JwaGwiEum in Allergic Rhinitis Induced by Ovalbumin in Mice

Kim Bit Na Rae

Department of pediatrics, College of Oriental Medicine, Dongsbin University

Objectives

In the past, studies have been shown that *Forsythiae Fructus* (FF), *Ulmi Cortex* (UC) and JwaGwiEum (JGE) are effective in treating allergic reactions. However, no report shows the difference in effects of FF, UC and JGE in allergic rhinitis (AR). Therefore, the purpose of this study was to differentiate the effects of FF, UC and JGE in AR induced by ovalbumin (OVA) in mice.

Methods

From this experiment, the effects of FF, UC and JGE were several - changes in body weight, hematologic changes such as WBC, RBC, Hb and PLT counts, immunological changes such as levels of histamine, IgE, IL-4 and expressions of iNOS & COX-2 mRNA. Moreover, histological change of nasal mucosa was also investigated.

Results

FF administration group and JGE administration group significantly inhibited level of IgE compared to the control group. Also, FF administration group, UC administration group and JGE administration group inhibited IL-4 and expressions of iNOS & COX-2 mRNA. In histological assessment, FF administration group, UC administration group and JGE administration group showed reduced amount of subepithelial edema, desquamated mucosa and hyperplasia of basement membrane from OVA.

Conclusions

In conclusion, these data suggest that FF, UC and JGE can treat the symptoms of AR.

Key words: Allergic rhinitis, *Forsythiae fructus*, *Ulmi cortex*, Jwagwieum, Ovalbumin (OVA)

Received: April 10, 2017 • Revised: May 15, 2017 • Accepted: May 19, 2017

Corresponding Author: Kim BitNaRae

Department of pediatrics, College of Oriental Medicine, Dongshin University, 185, Geonjae-ro, Naju, Jeonlanamdo, Republic of Korea

Tel: +82-62-330-3501

E-mail: 0opjs0@naver.com

© The Association of Pediatrics of Korean Medicine. All rights reserved. This is an open-access article 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.

I. Introduction

알레르기 비염 (allergic rhinitis, AR)은 콧물, 코막힘, 재채기, 코 및 눈의 가려움증 등의 증상이 나타나는 코의 IgE 매개 염증 질환이다. AR은 다인자성 질환으로 유전적 요인과 환경적 요인이 질병의 발생에 관여하는데, 대부분의 유발 항원은 집 먼지 진드기, 동물 털, 꽃가루, 곰팡이 등 대기 항원이다¹⁾.

특히 소아는 대기 오염, 주거 환경 변화로 인한 항원 노출 등 환경적 요인의 변화로 알레르기 질환의 유병률이 증가하고 있는 현대 사회에서²⁾ 생체의 구조와 기능이 미숙하여 항원의 침입을 받기 쉽다. 또한 모친의 태반을 거친 항원 외에는 항원에 노출될 기회가 적었던 신생아 때와 다르게, 성장하며 점차 항원이 많은 환경에 살게 되어 여러 가지 항원에 접촉하기 때문에 성인에 비해 알레르기 질환에 취약하다³⁾.

대한 소아 알레르기 호흡기학회에서 1995년, 2000년 두 차례에 걸쳐 시행한 ‘한국 어린이, 청소년의 알레르기 질환에 관한 전국적 역학조사 (Nationwide Study of Asthma and Allergies in Korean Children)’에 따르면 평생 AR을 진단받은 초등학생은 15.5%에서 20.4%로, 중학생은 7.7%에서 13.6%로 증가하였다. 또한 국민건강보험관리공단의 자료에 따르면 2010년 한 해 동안 AR로 진료를 받은 1-18세 소아청소년은 2,042,680명으로 전체 인구 환자의 37.3%이고, 이들이 지출한 의료비는 1,318억 원으로 AR로 진료를 받은 전체 인구 의료비의 60.1%에 해당하는 것으로 나타났다⁴⁾.

AR의 증상은 생명에 지장을 줄 정도로 심하지는 않으나 학습 능력의 저하, 주간 피로감, 수면 장애, 성장 장애 등 증상에 따른 고통과 불편함으로 삶의 질이 저하될 수 있고 동반 질환 또한 악화될 수 있다. 소아청소년의 AR 유병률이 계속해서 증가하는 추세로 아이는 물론 가족의 고통과 가계의 부담도 증가하고 있는 만큼 질환을 조기에 차단할 수 있는 적극적인 치료와 예방이 필요하다^{5,6)}.

서양의학에서는 AR의 치료를 위해 원인 항원에 대한 회피요법, 약물요법, 면역요법 등을 이용한다. 회피요법은 원인 항원을 제거하거나 회피하는 것이 원칙이나 현실적으로는 적용하기 어렵고, 비강 내 스테로이드제 분무, 항히스타민제, 항류코트리엔제, 비충혈 제거제 복용 등의 약물요법은 소아 연령에서 성장에 따른 신체의 변화가 약물의 흡수와 분포, 대사와 배출에

영향을 끼칠 수 있으므로 성장 장애와 인지 발달 저하 등 부작용에 주의가 필요하다. 면역요법은 원인 항원의 양을 점차적으로 증가시켜 체내에 투여함으로써 면역 체계의 관용을 유도하는 치료이나 대개 3-5년의 치료 기간이 걸리는 번거로움이 있다^{1,3,7)}.

이러한 서양의학적 치료의 문제점을 보완하기 위해 다양한 한의학적 연구가 활발하게 이루어지고 있으며 그 일환으로 AR 유발 모델에 단일 제제⁸⁻¹¹⁾ 또는 혼합 제제¹²⁻²⁰⁾를 경구 투여하여 효능을 알아 본 실험 연구가 다수 있다.

본 연구에서 사용된 連翹 (*Forsythiae Fructus*, FF)는 몰루레나무과 (木犀科, Oleaceae)에 속하는 落葉灌木인 개나리 *Forsythia koreana* Nakai.와 의성개나리 *Forsythia viridissima* Lindl.의 과실을 건조한 것으로, 약성이 微寒하고 苦味를 가지고 있다. FF는 열을 내리고 해독하며 울결을 풀고 부기를 가라앉히는 효능이 있으며²¹⁻²⁾, 이²³⁾와 곡 등²⁴⁾의 연구에서 혈청 내 IgE의 농도를 감소시키고 Th2 cytokine 분비를 억제하는 작용이 있음이 밝혀졌다.

榆根皮 (*Ulni Cortex*, UC)는 느릅나무과 (榆科, Ulmaceae)에 속한 落葉喬木인 느릅나무 *Ulmus pumila* L.의 根皮 및 樹皮를 건조한 것으로, 약성이 平하고 甘味를 가지고 있다. UC는 소변을 잘 나오게 하고 痰을 없애며 부기를 가라앉히고 해독하는 효능이 있으며²¹⁻²⁾, 박 등²⁵⁾과 조 등²⁶⁾의 연구에서 iNOS, COX-2의 생성과 Th2 cytokine 분비에 영향을 미쳐 면역 반응 조절 작용이 있음이 밝혀졌다.

左歸飲 (JwaGwiEum, JGE)은 《景岳全書》²⁷⁾에 “此壯水之劑也。凡命門之陰衰陽勝者。宜此方加減主之。”라고 기록된 방제로, 六味地黃元에서 三瀉하는 약제 중 牡丹皮와 澤瀉를 去하고 枸杞子와 炙甘草를 加하여 六味地黃元보다 滋補의 역량을 증강시킨 처방이다. JGE는 瀉하지 않고 오로지 補하는 효능으로 腎中의 元陰을 補하며²⁸⁾, 박 등²⁹⁾의 연구에서 면역 능력을 증강시키는 세포 활성 물질의 분비를 촉진하고 세포 내 염증 반응 물질의 분비를 억제하는 작용이 있음이 밝혀졌다.

FF, UC 및 JGE 모두 면역 반응을 조절하는데 긍정적인 역할을 한다는 것이 실험 연구를 통해 밝혀졌으나, 각각의 약물이 AR로 인한 알레르기 반응에 미치는 영향을 알아본 실험 연구는 아직까지 보고된 바 없다. 이에 본 연구에서는 Ovalbumin (OVA)으로 AR을 유발한 생쥐에 각각의 약물을 경구 투여하여 약물 투여에

다른 체중 변화와 WBC, RBC, Hemoglobin (Hb), Platelet (PLT) 함량 측정을 통한 혈액학적 변화, 혈청 내 histamine, IgE, IL-4 농도 및 iNOS, COX-2 mRNA 발현 정도 측정을 통한 면역학적 변화를 관찰하고 비강 점막의 조직검사를 통한 조직학적 관찰을 시행하여 AR에 FF, UC 및 JGE가 미치는 영향을 입증하고자 하였다.

II. Materials and methods

1. 재료

1) 실험동물

본 실험에 사용된 동물은 생후 9주령 된 Balb/C계 수컷 생쥐 (mouse)로, 실험동물 공급업체 (Samtako, Korea)에서 구매하였다. 반입 후 항온항습 환경의 사육장 (온도 24-26 °C, 습도 40-60%) 내에서 사료 (Pellet, GMO, Korea)와 물을 충분히 공급하며 7일 동안 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 동물실험은 동신대학교 동물실험윤리위원회의 승인 (승인번호: 2016-07-02) 후 실시되었다.

2) 약제

본 실험에 사용한 FF, UC 및 JGE는 동신대학교 광주한방병원에서 공급 받아 사용하였다.

복합처방인 JGE의 처방 구성과 용량은 《景岳全書》²⁷⁾의 기준에 준하였으며 처방 내용과 1첩 용량은 Table 1과 같다 (Table 1).

Table 1. Prescription of JwaGwiEum

Herbal name	Pharmacognostic name	Dose (g)
熟地黄	<i>Rebmanniae Radix Preparata</i>	11.25
山藥	<i>Dioscoreae Rhizoma</i>	7.5
枸杞子	<i>Lycii Fructus</i>	7.5
白茯苓	<i>Hoelen</i>	5.625
山茱萸	<i>Corni Fructus</i>	3.75
炙甘草	<i>Glycyrrhizae Radix</i>	3.75
JGE total amount		39.375

2. 방법

1) 시료의 제조 및 투여

FF 200 g을 증류수 2,000 ml와 함께 100 °C에서 2시간 동안 煎湯한 후 抽出液을 10분간 3,000 rpm에서 원

심 분리하여 상층액을 얻었다. 얻어진 상층액을 rotary vacuum evaporator로 감압 농축하고, 이를 -84 °C deep freezer에서 24시간 동안 방치한 후 freeze dryer로 동결 건조한 결과, 9.92 g의 건조분말을 획득하였고 수득률은 4.9%이었다. 이후 실험에 사용할 때는 증류수를 이용하여 필요한 농도로 용해시켜 시료로 사용하였다.

UC도 위와 같은 방법으로 추출하였으며 동결 건조한 결과, 7.7 g의 건조분말을 획득하였고 수득률은 3.8%이었다. 이후 실험에 사용할 때는 증류수를 이용하여 필요한 농도로 용해시켜 시료로 사용하였다.

복합 처방인 JGE는 4첩 분량 158 g을 동일한 방법으로 추출한 후 동결 건조한 결과, 38.57 g의 건조분말을 획득하였고 수득률은 24.4%이었다. 이후 실험에 사용할 때는 증류수를 이용하여 필요한 농도로 용해시켜 시료로 사용하였다.

2) 알레르기 비염의 감작 · 유발

AR을 유발시키기 위해 생쥐를 사육환경에서 7일간 적응시킨 후, 100 µg의 OVA (chicken egg albumin, Grade III, Sigma, USA)를 2 mg의 aluminum hydroxide (Sigma, USA)에 흡착시켜 인산완충용액 (PBS: phosphate buffered saline)에 용해시킨 후 복강에 주사하여 1차 감작시켰다. 1차 감작에서 7일 경과 후 다시 100 µg의 OVA를 2 mg의 aluminum hydroxide에 흡착시켜 PBS에 용해시킨 후 복강에 주사하여 2차 감작시켰다. 2차 감작 후 7일째 (14일째)에 10 ml PBS에 용해시킨 0.1 g의 OVA를 1%의 비율로 희석하여 연무기 (MESMED, NEB-300, Korea)로 분무하면서 30분간 흡입시켜 7일간 매일 유발하였다.

3) 실험군 설정

생쥐 10마리씩을 한 군으로 하여 아무 처치를 하지 않은 정상군 (Normal), OVA로 AR을 유발시킨 후 무처리한 대조군 (OVA), OVA로 AR을 유발시킨 후 FF 250 mg/kg의 약물을 투여한 군 (OVA+FF), OVA로 AR을 유발시킨 후 UC 250 mg/kg의 약물을 투여한 군 (OVA+UC), OVA로 AR을 유발시킨 후 JGE 250 mg/kg의 약물을 투여한 군 (OVA+JGE)으로 구분하였다.

4) 약물 투여

2차 감작 후 7일째 (14일째)부터 Normal군과 OVA군에는 250 mg/kg/day의 saline을 경구 투여하였고, OVA+FF군과 OVA+UC군, OVA+JGE군에는 각 약물

별 250 mg/kg/day의 용량으로 saline에 타서 경구 투여 하였다.

5) 체중의 측정

OVA와 각각의 시료의 투여가 체중에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 각 실험군의 체중을 OVA 1차 감작, 2차 감작 그리고 2차 감작 후 7일 (14일째)과 10일 (17일째), 13일 (20일째)에 전자저울 (CAS, SV-02, Korea)을 사용하여 측정하였다.

6) 혈액 및 혈청학적 검사

생쥐를 희생시킨 후 심장천자로 혈액을 채집하여 약 100 μ l를 EDTA-bottle에 넣어 Multispecies Hematology Analyzer (950, Hemavet, USA)로 WBC, RBC, Hb, PLT를 측정하였다.

7) 혈청 내 histamine 측정

histamine 측정은 Histamine Elisa Kit (Abnova, Taiwan)를 사용하여 측정하였다. 실험동물로부터 수집한 혈액에서 분리한 혈청을 96-well plate에 넣고, 각 well에 standard, control, serum을 각각 25 μ l를 넣은 후 acylation buffer 25 μ l를 넣고, acylation solution 25 μ l를 첨가한 다음 실온에서 45분간 방치하였다. 그 후 D/W 100 μ l를 각 well에 넣고 15분 동안 실온에서 방치하여 sample을 준비하였다. histamine 측정을 위해 acylated standard, control, serum 25 μ l씩을 각 well에 넣고 histamine antiserum 100 μ l를 첨가한 후 호일로 덮어 2-8 $^{\circ}$ C에 20-25시간 incubation 시켰다. 각 well을 1x wash buffer 300 μ l로 4회 세척 후 enzyme conjugate 100 μ l를 넣고 실온에서 30분간 방치한 다음 1x wash buffer 300 μ l로 4회 세척 후 substrate 100 μ l를 넣고 실온에서 20-30분간 방치하였다. stop solution 100 μ l를 plate에 넣어 발색 반응을 중지시키고 Microplate Reader (Bio-Rad, USA)로 450 nm에서 optical density (OD)값을 측정하였다.

8) 혈청 내 IgE 측정

IgE 측정은 Mouse IgE Elisa Kit (Abcam, UK)를 사용하여 측정하였다. 실험동물로부터 수집한 혈액에서 분리한 혈청을 96-well plate에 넣고, 각 well에 standard, zero control, serum을 각각 100 μ l를 넣은 후 cover를 덮고 1분간 mixing한 다음 실온에서 30분간 방치하

였다. 이를 1x wash buffer로 4회 세척 후 1x enzyme-antibody conjugate 100 μ l를 첨가하고 plate cover를 덮어 실온에서 30분간 방치한 다음 1x wash buffer로 4회 세척 후 TMB substrate solution 100 μ l를 첨가하고 cover를 덮어 실온에서 10분간 방치하였다. stop solution 100 μ l를 plate에 넣어 발색 반응을 중지시키고 Microplate Reader (Bio-Rad, USA)로 450 nm에서 OD값을 측정하였다.

9) 혈청 내 IL-4 측정

IL-4 측정은 Mouse IL-4 (R&D, USA)를 사용하였다. 실험동물로부터 수집한 혈액에서 분리한 혈청을 96-well plate에 넣고, 각 well에 assay diluent RD1-18 50 μ l를 넣고 standard, control, serum을 각각 50 μ l를 첨가한 후 cover를 덮어 1분간 mixing하고 2시간 동안 실온에서 방치하였다. 이를 1x wash buffer 400 μ l로 5회 세척 후에 mouse IL-4 conjugate 100 μ l를 첨가하고 cover를 덮어 실온에서 2시간 방치한 다음 1x wash buffer 400 μ l로 5회 세척 후 substrate solution 100 μ l를 첨가하고 cover를 덮어 실온에서 30분간 방치하였다. stop solution 100 μ l를 plate에 넣고 발색 반응을 중지시킨 후 Microplate Reader (Bio-Rad, USA)로 450 nm에서 OD값을 측정하였다.

10) RT-PCR (Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction) 관찰

① Total RNA 분리

적출된 비강 조직은 급속 냉동시키고 분석할 때까지 -70 $^{\circ}$ C에서 보관하였다.

Total RNA의 분리는 비강 조직을 BioZol (Biosolution, Korea)로 균질화 하고 균질액에 대해 Chloroform (Sigma, USA)을 가하여 15초 동안 흔들어 혼합한 후, 4 $^{\circ}$ C, 13,200 rpm에서 5분 동안 원심 분리하였다. 원심 분리로 얻어진 상층액에 Isopropanol (Sigma, USA)을 첨가하여 RNA pellet을 얻기 위해 4 $^{\circ}$ C, 13,200 rpm에서 5분 동안 원심 분리하였다. 원심 분리 후 생긴 pellet에 70% ethanol과 DEPC-treated water (Biosolution, Korea)를 넣어 4 $^{\circ}$ C, 13,200 rpm에서 5분 동안 원심 분리한 후 pellet만 남기고 모두 제거하고 실온에서 5분간 방치시켜 건조한 후 DEPC-treated water에 녹여 Spectrophotometer (Eppendorf, Germany)에서 OD 260 값을 읽어 RNA의 순도 및 농도를 정량하였다.

② RT-PCR에 의한 iNOS, COX-2 측정

분리된 Total RNA와 Oligo DT (Sigma, USA), DEPC-treated water를 RT-premix (Bioneer, Korea)에 넣고 Mastercycler Gradient (Eppendorf, Germany)를 이용하여 50 µl cDNA를 합성하여 PCR 증폭을 위한 template으로 사용하였다.

Reverse transcription temperature cycle은 42 °C에서 60분 동안 cDNA synthesis, 94 °C에서 5분 동안 denaturation, 4 °C에서 5분 동안 cooling시키는 단계를 거쳤다.

Polymerase chain reaction은 cDNA, iNOS와 COX-2의 sense primer와 antisense primer, DEPC-treated water를 PCR premix (Bioneer, Korea)에 넣었다. PCR temperature cycle은 cDNA의 증폭을 위하여 95 °C에서 5분 동안 pre-denaturation, 94 °C에서 40초 동안 melting, 55 °C에서 40초 동안 annealing, 72 °C에서 1분 30초 동안 extension하는 과정을 30회 반복하였다.

증폭된 RT-PCR 산물은 1.5% agarose gel을 통해 전기영동 후 Gel Imaging System (Davinch-K, Korea)에서 관찰 후 촬영하였으며, AlphaEase FC StandAlone software (Alpha Innotech, USA)를 이용하여 측정하였다. 이때 사용한 GAPDH의 전자증폭은 primer (Forward: 5'-ATC CCA TCA CCA TCT TCC AG-3', Reverse: 5'-CCT GCT TTC ACC ACC TCC TTG-3')를 이용하였고, iNOS의 유전자 증폭은 primer (Forward: 5'-CCT CCT CCA CCC TAC CAA GT-3', Reverse: 5'-CAC CCA AAG TGC TTC AGT CA-3')를 이용하였으며, COX-2의 유전자 증폭은 primer (Forward: 5'-AAG ACT TGC CAG GCT GAA CT-3', Reverse: 5'-CTT CTG CAG TCC AGG TTC AA-3')를 이용하였다.

11) 조직학적 검사

희생시킨 생쥐의 비강 점막 조직을 적출한 후 10% formalin에 24시간 고정하고 Tissue Processor (Tissue-Text II, Japan)를 사용하여 paraffin block을 만들었다. Microtome (Pika, Japan)으로 6 µm 간격으로 잘라서 슬라이드 위에 놓은 다음 Hematoxylin (Sigma, USA) & Eosin (Sigma, USA)으로 염색한 후 광학현미경 (Nikon Mokel 80i, Japan)으로 관찰하였다 (×200).

3. 통계처리

실험 결과를 수합한 후 이들에 대한 통계처리는 IBM SPSS Statistics 22 program을 사용하였다. 군 간의

통계적 유의성 검증은 ANOVA를 시행하였으며 통계적으로 유의한 경우 사후검정은 Tukey 방법을 시행하였고, p-value가 0.05 미만인 경우 유의한 것으로 인정하였다.

III. Results

1. 체중 변화에 미치는 영향

OVA 투여와 FF, UC 및 JGE의 투여가 체중 변화에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 OVA 1차 감작, 2차 감작 그리고 2차 감작 후 7일 (14일째)과 10일 (17일째), 13일 (20일째)에 체중을 측정하였다.

UC를 투여한 군에서 대체로 체중이 감소하는 경향을 보였으나 통계적으로 유의하지는 않았다 (Table 2, Fig. 1).

Table 2. The Changes of Body Weight in Mice (g)

		1 st induction	2 nd induction	14 days	17 days	20 days
Normal	mean	24.8	24.8	25.0	25.7	26.0
	SD	0.65	1.18	1.17	1.18	1.52
OVA	mean	24.7	25.2	25.3	26.1	25.7
	SD	1.24	0.74	0.75	1.21	1.01
OVA+FF	mean	24.8	25.1	25.5	26.1	26.2
	SD	1.14	1.09	1.27	1.27	1.36
OVA+UC	mean	25.1	24.7	24.6	25.1	25.5
	SD	1.18	1.13	0.84	1.41	1.17
OVA+JGE	mean	24.8	24.9	25.3	25.8	25.8
	SD	1.45	1.51	1.37	1.66	1.53

Normal: naive mice, OVA: OVA-induced mice, OVA+FF: *Forsythiae Fructus* (250 mg/kg) administered to OVA-induced mice, OVA+UC: *Ulmi Cortex* (250 mg/kg) administered to OVA-induced mice, OVA+JGE: *JwaGwiEum* (250 mg/kg) administered to OVA-induced mice. Values are represented as mean.

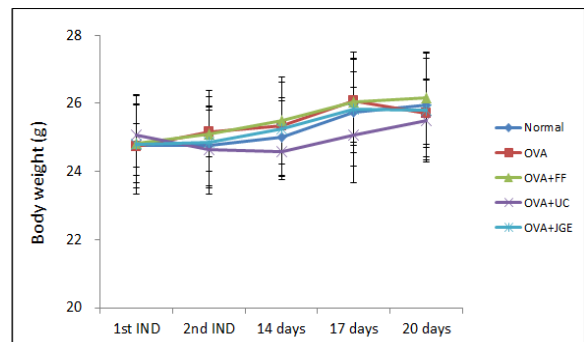


Fig. 1. The changes of body weight in mice (n=10)

Normal: naive mice, OVA: OVA-induced mice, OVA+FF: *Forsythiae Fructus* (250 mg/kg) administered to OVA-induced mice, OVA+UC: *Ulmi Cortex* (250 mg/kg) administered to OVA-induced mice, OVA+JGE: *JwaGwiEum* (250 mg/kg) administered to OVA-induced mice. Values are represented as mean.

2. WBC 변화에 미치는 영향

OVA 투여와 각각의 약물 투여가 WBC 함량에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 모든 약물을 투여한 후 WBC 함량을 측정하였다. 측정된 결과 대조군에 비해 유의한 차이가 관찰되지는 않았다 (Table 3, Fig. 2).

Table 3. The Changes of WBC in Mice

	WBC (K/ μ L)	
	mean	SD
Normal	2.38	0.64
OVA	1.90	0.61
OVA+FF	2.79	0.55
OVA+UC	2.95	0.61
OVA+JGE	2.62	0.62

Normal: naive mice, OVA: OVA-induced mice, OVA+FF: *Forsythiae Fructus* (250 mg/kg) administered to OVA-induced mice, OVA+UC: *Ulmii Cortex* (250 mg/kg) administered to OVA-induced mice, OVA+JGE: *JwaGwiEum* (250 mg/kg) administered to OVA-induced mice. Values are represented as mean.

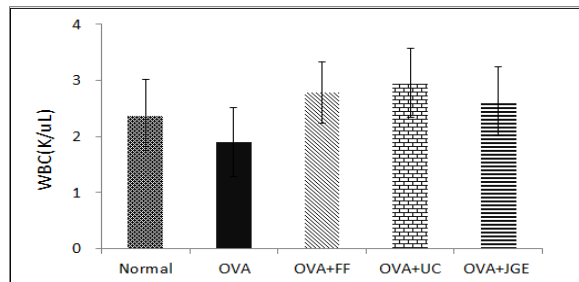


Fig. 2. The changes of WBC in mice (n=10)

Normal: naive mice, OVA: OVA-induced mice, OVA+FF: *Forsythiae Fructus* (250 mg/kg) administered to OVA-induced mice, OVA+UC: *Ulmii Cortex* (250 mg/kg) administered to OVA-induced mice, OVA+JGE: *JwaGwiEum* (250 mg/kg) administered to OVA-induced mice. Values are represented as mean.

3. RBC 변화에 미치는 영향

OVA 투여와 각각의 약물 투여가 RBC 함량에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 모든 약물을 투여한 후 RBC 함량을 측정하였다. 측정된 결과 대조군에 비해 유의한 차이가 관찰되지는 않았다 (Table 4, Fig. 3).

Table 4. The Changes of RBC in Mice

	RBC (M/ μ L)	
	mean	SD
Normal	9.21	0.32
OVA	9.06	0.22
OVA+FF	8.97	0.20
OVA+UC	9.22	0.36
OVA+JGE	9.01	0.25

Normal: naive mice, OVA: OVA-induced mice, OVA+FF: *Forsythiae Fructus* (250 mg/kg) administered to OVA-induced mice, OVA+UC: *Ulmii Cortex* (250 mg/kg) administered to OVA-induced mice, OVA+JGE: *JwaGwiEum* (250 mg/kg) administered to OVA-induced mice. Values are represented as mean.

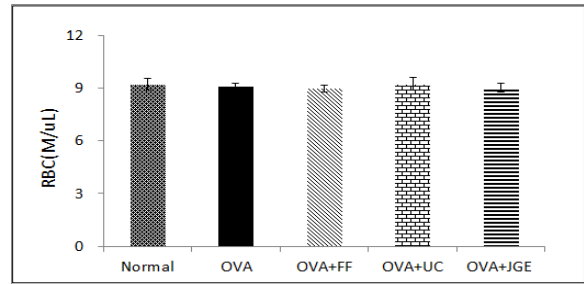


Fig. 3. The changes of RBC in mice (n=10)

Normal: naive mice, OVA: OVA-induced mice, OVA+FF: *Forsythiae Fructus* (250 mg/kg) administered to OVA-induced mice, OVA+UC: *Ulmii Cortex* (250 mg/kg) administered to OVA-induced mice, OVA+JGE: *JwaGwiEum* (250 mg/kg) administered to OVA-induced mice. Values are represented as mean.

4. Hb 변화에 미치는 영향

OVA 투여와 각각의 약물 투여가 Hb 함량에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 모든 약물을 투여한 후 Hb 함량을 측정하였다. 측정된 결과 대조군인 OVA군에 비해 통계적으로 유의한 차이가 관찰되지는 않았다 (Table 5, Fig. 4).

Table 5. The Changes of Hb in Mice

	Hb (g/dL)	
	mean	SD
Normal	13.36	1.30
OVA	13.18	0.26
OVA+FF	13.54	0.23
OVA+UC	14.00	0.58
OVA+JGE	13.39	0.42

Normal: naive mice, OVA: OVA-induced mice, OVA+FF: *Forsythiae Fructus* (250 mg/kg) administered to OVA-induced mice, OVA+UC: *Ulmii Cortex* (250 mg/kg) administered to OVA-induced mice, OVA+JGE: *JwaGwiEum* (250 mg/kg) administered to OVA-induced mice. Values are represented as mean.

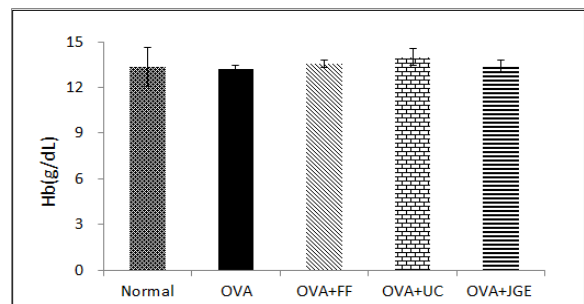


Fig. 4. The changes of Hb in mice (n=10)

Normal: naive mice, OVA: OVA-induced mice, OVA+FF: *Forsythiae Fructus* (250 mg/kg) administered to OVA-induced mice, OVA+UC: *Ulmii Cortex* (250 mg/kg) administered to OVA-induced mice, OVA+JGE: *JwaGwiEum* (250 mg/kg) administered to OVA-induced mice. Values are represented as mean.

5. PLT 변화에 미치는 영향

OVA 투여와 각각의 약물 투여가 PLT 함량에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 모든 약물을 투여한 후 PLT 함량을 측정하였다. 측정된 결과 대조군인 OVA 군에 비해 통계적으로 유의한 차이가 관찰되지는 않았다 (Table 6, Fig. 5).

Table 6. The Changes of PLT in Mice

	PLT (K/ μ L)	
	mean	SD
Normal	665.86	97.36
OVA	776.80	68.77
OVA+FF	705.29	112.28
OVA+UC	687.50	75.14
OVA+JGE	759.50	116.36

Normal: naive mice, OVA: OVA-induced mice, OVA+FF: *Forsythiae Fructus* (250 mg/kg) administered to OVA-induced mice, OVA+UC: *Ulmi Cortex* (250 mg/kg) administered to OVA-induced mice, OVA+JGE: *JwaGwiEum* (250 mg/kg) administered to OVA-induced mice. Values are represented as mean.

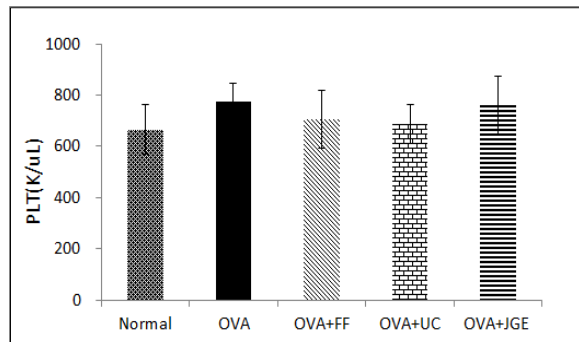


Fig. 5. The changes of PLT in mice (n=10)

Normal: naive mice, OVA: OVA-induced mice, OVA+FF: *Forsythiae Fructus* (250 mg/kg) administered to OVA-induced mice, OVA+UC: *Ulmi Cortex* (250 mg/kg) administered to OVA-induced mice, OVA+JGE: *JwaGwiEum* (250 mg/kg) administered to OVA-induced mice. Values are represented as mean.

6. 혈청 내 histamine 변화에 미치는 영향

OVA 투여와 각각의 약물 투여가 혈청 내 histamine 함량에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 모든 약물을 투여한 후 희생시킨 생쥐에서 혈청을 분리하여 histamine의 함량을 측정하였다. 측정된 결과 대조군인 OVA군에 비해 약물을 투여한 실험군에서 감소하는 경향을 보였으나 통계적으로 유의하지는 않았다 (Table 7, Fig. 6).

Table 7. The Changes of Histamine in Mice

	Histamine (ng/mL)	
	mean	SD
Normal	8.07	0.45
OVA	8.80	0.90
OVA+FF	8.27	0.73
OVA+UC	8.34	0.62
OVA+JGE	8.17	0.87

Normal: naive mice, OVA: OVA-induced mice, OVA+FF: *Forsythiae Fructus* (250 mg/kg) administered to OVA-induced mice, OVA+UC: *Ulmi Cortex* (250 mg/kg) administered to OVA-induced mice, OVA+JGE: *JwaGwiEum* (250 mg/kg) administered to OVA-induced mice. Values are represented as mean.

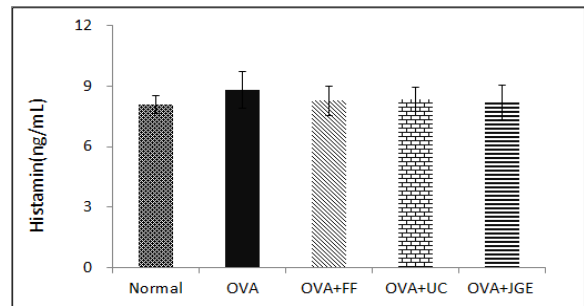


Fig. 6. The changes of histamine in mice (n=10)

Normal: naive mice, OVA: OVA-induced mice, OVA+FF: *Forsythiae Fructus* (250 mg/kg) administered to OVA-induced mice, OVA+UC: *Ulmi Cortex* (250 mg/kg) administered to OVA-induced mice, OVA+JGE: *JwaGwiEum* (250 mg/kg) administered to OVA-induced mice. Values are represented as mean.

7. 혈청 내 IgE 변화에 미치는 영향

OVA 투여와 각각의 약물 투여가 혈청 내 IgE에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 모든 약물을 투여한 후 희생시킨 생쥐에서 혈청을 분리하여 IgE의 함량을 측정하였다. 측정된 결과 대조군인 OVA군에 비해 OVA+FF군과 OVA+JGE군은 통계적으로 유의한 감소 ($P < 0.05$)를 보였으며 OVA+UC군에서도 통계적으로 유의하지는 않았지만 감소하는 경향을 관찰할 수 있었다 (Table 8, Fig. 7).

Table 8. The Changes of IgE in Mice

	IgE (ng/mL)	
	mean	SD
Normal	0.312	0.035
OVA	1.007	0.113
OVA+FF	0.711 *	0.241
OVA+UC	0.733	0.131
OVA+JGE	0.685 *	0.234

Normal: naive mice, OVA: OVA-induced mice, OVA+FF: *Forsythiae Fructus* (250 mg/kg) administered to OVA-induced mice, OVA+UC: *Ulmi Cortex* (250 mg/kg) administered to OVA-induced mice, OVA+JGE: *JwaGwiEum* (250 mg/kg) administered to OVA-induced mice. Values are represented as mean.

: Statistically significance compared with OVA (control group) (; $P < 0.05$)

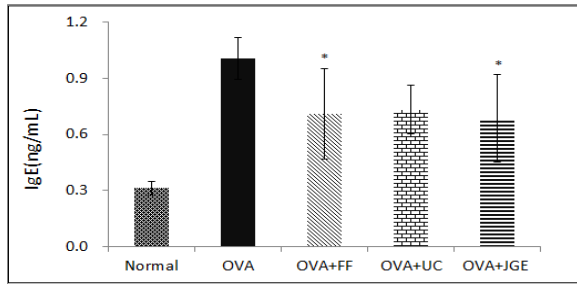


Fig. 7. The changes of IgE in mice (n=10)

Normal: naive mice, OVA: OVA-induced mice, OVA+FF: *Forsythiae Fructus* (250 mg/kg) administered to OVA-induced mice, OVA+UC: *Ulmi Cortex* (250 mg/kg) administered to OVA-induced mice, OVA+JGE: *JwaGwiEum* (250 mg/kg) administered to OVA-induced mice. Values are represented as mean.
: Statistically significance compared with OVA (control group) (; P<0.05)

8. 혈청 내 IL-4 변화에 미치는 영향

OVA 투여와 각각의 약물 투여가 혈청 내 IL-4에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 모든 약물을 투여한 후 희생시킨 생쥐에서 혈청을 분리하여 IL-4의 함량을 측정하였다. 측정된 결과 대조군인 OVA군에 비해 모든 실험군에서 통계적으로 유의한 차이 (P<0.01)의 감소가 관찰되었다 (Table 9, Fig. 8).

Table 9. The Changes of IL-4 in Mice

	IL-4 (ng/mL)	
	mean	SD
Normal	0.675	0.026
OVA	0.788	0.079
OVA+FF	0.679 **	0.019
OVA+UC	0.684 **	0.063
OVA+JGE	0.677 **	0.028

Normal: naive mice, OVA: OVA-induced mice, OVA+FF: *Forsythiae Fructus* (250 mg/kg) administered to OVA-induced mice, OVA+UC: *Ulmi Cortex* (250 mg/kg) administered to OVA-induced mice, OVA+JGE: *JwaGwiEum* (250 mg/kg) administered to OVA-induced mice. Values are represented as mean.
: Statistically significance compared with OVA (control group) (; P<0.01)

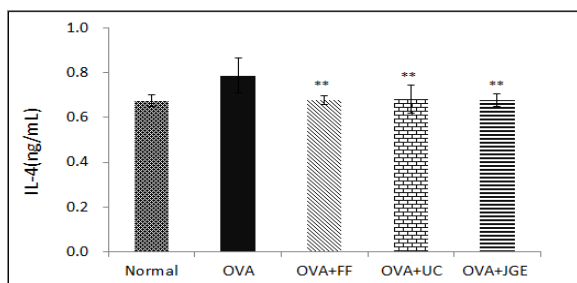


Fig. 8. The changes of IL-4 in mice (n=10)

Normal: naive mice, OVA: OVA-induced mice, OVA+FF: *Forsythiae Fructus* (250 mg/kg) administered to OVA-induced mice, OVA+UC: *Ulmi Cortex* (250 mg/kg) administered to OVA-induced mice, OVA+JGE: *JwaGwiEum* (250 mg/kg) administered to OVA-induced mice. Values are represented as mean.
: Statistically significance compared with OVA (control group) (; P<0.01)

9. iNOS 변화에 미치는 영향

OVA 투여와 각각의 약물 투여가 비강 조직의 iNOS 변화에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 PCR을 이용하여 iNOS의 mRNA 발현 정도를 측정하였다. OD값의 평균값으로 비교해 보면 대조군인 OVA군 (1032)에 비해 OVA+FF군은 798.5로 22.6%, OVA+UC군은 642.3으로 37.8%, OVA+JGE군은 833.8로 19.2% 감소한 것으로 관찰되었다 (Fig. 9-10).

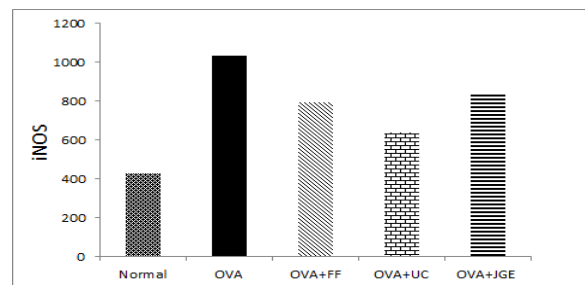


Fig. 9. The changes of iNOS mRNA

Normal: naive mice, OVA: OVA-induced mice, OVA+FF: *Forsythiae Fructus* (250 mg/kg) administered to OVA-induced mice, OVA+UC: *Ulmi Cortex* (250 mg/kg) administered to OVA-induced mice, OVA+JGE: *JwaGwiEum* (250 mg/kg) administered to OVA-induced mice. Values are represented as mean.

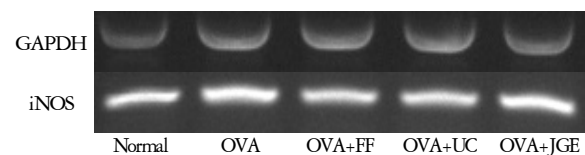


Fig. 10. Representative gel electrophoresed band of iNOS

10. COX-2 변화에 미치는 영향

OVA 투여와 각각의 약물 투여가 비강 조직의 COX-2 변화에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 PCR을 이용하여 COX-2의 mRNA 발현 정도를 측정하였다. OD값의 평균값으로 비교해보면 대조군인 OVA군 (1357.8)에 비해 OVA+FF군은 1314.3으로 3.2%, OVA+UC군은 1103.5로 18.7%, OVA+JGE군은 984.5로 27.5% 감소한 것으로 관찰되었다 (Fig. 11-12).

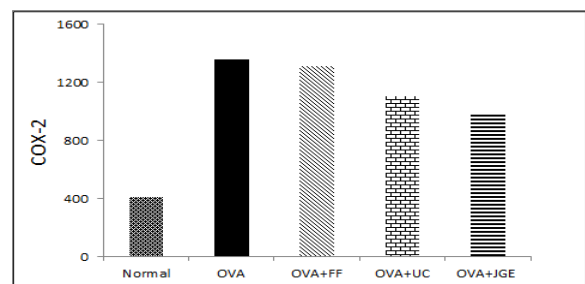


Fig. 11. The changes of COX-2 mRNA

Normal: naive mice, OVA: OVA-induced mice, OVA+FF: *Forsythiae Fructus* (250 mg/kg) administered to OVA-induced mice, OVA+UC: *Ulmi Cortex* (250 mg/kg) administered to OVA-induced mice, OVA+JGE: *JwaGwiEum* (250 mg/kg) administered to OVA-induced mice. Values are represented as mean.

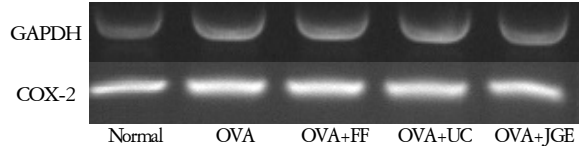


Fig. 12. Representative gel electrophoresed band of COX-2

11. 비강 점막의 조직학적 검사 결과

각각의 약물 투여에 따른 비강 조직 손상 억제 효과를 확인하기 위해 희생시킨 생쥐의 비강 점막 조직을 H&E 염색한 후 관찰하였다. 그 결과 OVA군에서는 Normal군에 비해 상피세포 하 부종 (subepithelial edema)이 상당히 진행된 것을 관찰할 수 있었으며, 상피세

포층 점막의 탈락과 손상 및 기저막 두께의 비후를 관찰할 수 있었다.

반면 실험군인 OVA+FF군, OVA+UC군, OVA+JGE군 모두에서 OVA군과 비교하여 상피세포 하 부종, 점막의 탈락, 기저막의 비후 등의 현저한 감소가 관찰되었다 (Fig. 13).

IV. Discussion

AR은 특정 항원에 대한 비강 점막의 과민 반응으로 인하여 촉발된 IgE 항체의 작용으로 나타나는 제 I형 알레르기이다^{13,30}.

제 I형 알레르기는 조기 반응과 후기 반응으로 나뉘는데, 조기 반응은 IgE와 비만세포가 일으키는 매우 빠른 혈관과 평활근의 반응으로서 항원에 노출 후 10

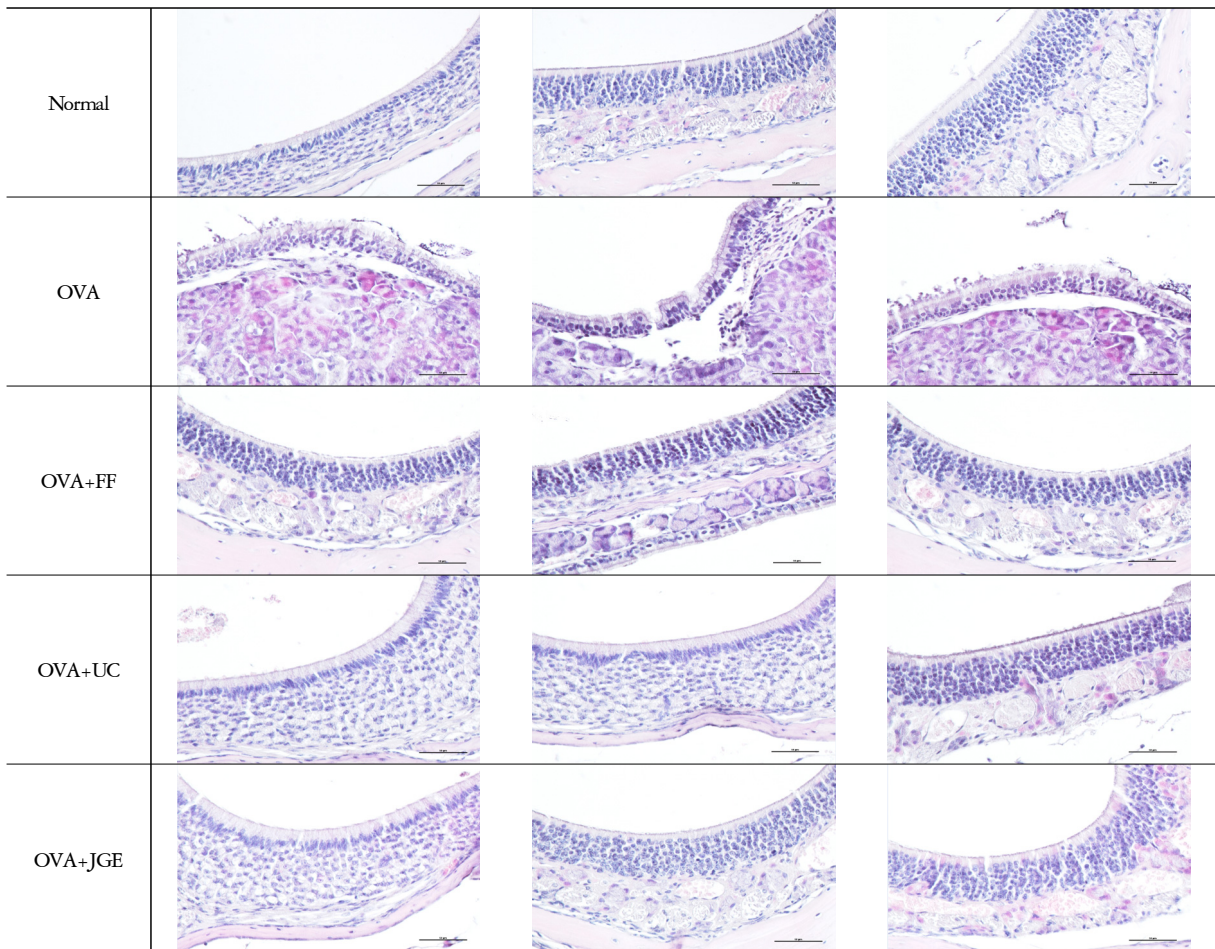


Fig. 13. The effects on nasal mucosa damage in OVA-induced allergic rhinitis model of mice (×200)

Normal: naive mice, OVA: OVA-induced mice, OVA+FF: *Forsythiae Fructus* (250 mg/kg) administered to OVA-induced mice, OVA+UC: *Ulmi Cortex* (250 mg/kg) administered to OVA-induced mice, OVA+JGE: *JwaGwiEum* (250 mg/kg) administered to OVA-induced mice. Values are represented as mean.

분 이내에 나타나 1-3시간 후 사라지게 된다. 처음 항원에 노출되면 Th2 cytokine인 IL-4, IL-5, IL-13 등에 의해 B세포가 형질세포로 분화되어 항원에 특이적인 IgE를 생산하고, IgE가 비만세포의 Fc 수용체에 결합함으로써 감작상태가 된다. 이후 다시 침입한 항원과 IgE가 결합하면 세포 내 신호전달이 발생해 비만세포에서 histamine, leukotrience (LT), prostaglandins (PGs), platelet activating factor (PAF), cytokine, chemokine 등 화학매개체가 유리되고, 이들이 모세혈관 확장, 모세혈관 투과성 항진, 혈류량 증가, 분비물 증가 등을 일으켜 콧물, 재채기, 코 가려움증 등의 증상이 발생한다. 항원에 노출된 지 4-8시간 후에 후기 반응이 발생하는데, 초기 반응에서 발생한 histamine과 LT 등의 증가가 지속되며 호중구와 호산구를 비롯한 호염기구, 단핵구, 대식세포, Th2 세포 등의 염증 세포들이 조직 내로 유입돼 염증 세포의 침윤과 활성화가 일어나 코막힘, 코의 과민 반응 상태 등이 초래된다^{4,14,30}.

AR은 한의학적으로 鼻鼽, 噴嚏 등의 범위에 해당한다. 역대 문헌에는 鼻鼽를 鼻出清涕, 時出清涕不止의 병증으로 언급하였고 嚏를 鼻中因癢而氣噴作于聲의 병증으로 표현하여 AR의 주요 증상인 水樣性 鼻漏, 발작성 재채기와 유사해 AR과의 유사성을 보인다. 역대 의가들은 AR의 원인을 風寒邪와 火熱 등의 外因과 肺脾腎 허약의 內因으로 설명하였는데, 여기서 外因인 風寒邪와 火熱 등은 온도나 습도 등의 기후조건이 AR의 중요한 유발인자로 작용한다는 것과 유사하고, 內因인 肺脾腎의 허약은 AR의 과민성 소질이 유전적 경향이 있다는 것과 유사하다³¹.

AR의 한의학적인 치료로는 辛溫한 약물들로 散寒祛風시키는 것이 대부분이고, 병발되는 증상에 따라 苦瀉, 溫腎, 清金降火, 通氣의 방제들을 사용한다. 하지만 소아의 경우에는 대부분 肺脾氣 허약으로 인해 발생하고 체질이 연약하므로 辛溫한 약물보다는 扶正祛邪로 正氣를 회복함으로써 邪氣에 대한 방어력을 증강시키는 것이 효과적일 것이라 생각된다³¹⁻².

AR의 한의학적인 치료에 대한 실험적인 연구는 다양하게 이루어지고 있는데, 단일 제제의 효능을 알아본 연구로는 荊芥⁸, 유산균 발효 辛夷⁹, 防風¹⁰, 白蒺藜¹¹ 등이 있고, 혼합 제제의 효능을 알아본 연구로는 當歸補血湯¹², 防風通聖散¹³, 神朮散¹⁴, 小青龍湯¹⁵, 荊芥蓮翹湯¹⁶, 補中益氣湯加味方 合 麻黃辛夷散¹⁷, 通竅湯¹⁸⁻⁹, 蒼甘薑味辛夏仁湯²⁰ 등이 있다. 선행 연구들은 OVA로 AR을 유발한 실험 모델에서 cytokine 및 효

소 등을 분석하는 면역학적 관찰과 비강 점막의 형태학적 변화를 관찰하는 조직학적 관찰, WBC, RBC 등을 평가하는 혈액학적 검사, 코를 비비는 횡수나 재채기 횡수를 파악하는 육안적 관찰 등으로 구성되어 시행되었다.

본 연구에서 사용된 FF는 癰疽, 癩癧, 乳癰, 丹毒, 風熱感冒, 溫病初期, 高熱煩渴 등 염증성 병변으로 발생하는 염증과 호흡기 질환, 급성 열병을 치료하는 데 쓰이고^{21,24}, 실험 연구를 통해 항산화 작용³³⁻⁴, 항균 작용³⁵, 항우울 효과³⁶ 등이 있음이 밝혀졌다. 또한 이²³가 아토피 피부염에 대한 FF의 효능을 알아보기 위해 시행한 in vitro, in vivo 실험에서 FF가 백혈구와 histamine, IgE의 농도, CD4+의 총 절대 세포수를 감소시키고 IL-4, IL-5, IL-13, IL-31, TNF- α 의 cytokine을 유의하게 억제한다는 것을 밝혔고, 곽 등²⁴이 LPS로 활성화된 Raw 264.7 cell에서 FF가 COX-2 및 NOS2 등의 염증매개물질들을 생성 억제하여 NO의 생성을 감소시킨다는 것을 확인하는 등 여러 실험 연구에서 알레르기 반응에 대한 FF의 효과가 입증되었다.

UC는 水腫, 小便不利, 帶下, 咳喘痰多, 失眠, 癰疽, 癩癧 등을 치료하고²¹, 실험 연구를 통해 항암 효과³⁷⁻⁹, 항산화 작용⁴⁰⁻¹, 항균 작용⁴² 등이 있음이 밝혀졌다. 박 등²⁵의 연구에서는 UC가 RBL-2H3 비만세포 탈과립 인자인 β -hexosaminidase를 억제하고 IL-4와 TNF- α 를 감소시키며 후기 Th2 cytokine mRNA의 발현을 억제한다는 것을 확인하였고, 조²⁶는 LPS로 활성화된 rat의 혈관내피세포에서 UC가 NF- κ B의 활성화와 염증촉진인자인 COX-2, iNOS의 발현을 억제한다는 것을 보고하는 등 다양한 실험 연구를 통해 UC의 알레르기 반응에 대한 효과 또한 입증되었다.

JGE는 만성 신염, 고혈압, 당뇨병, 갑상선 기능 항진증 등 각종 만성 질환 및 열성 질환의 회복기에 肝腎陰虛의 증상이 나타나는 경우 응용되는 처방이다⁴³. JGE는 성호르몬 조절작용⁴⁴과 혈장 알도스테론 조절 작용⁴⁵ 등이 있으며 박 등²⁹의 연구에서 알레르기의 후기 염증 반응을 유도하는 TNF- α 와 IL-6의 분비를 억제하고 대식세포에서 NO의 생성을 유도하여 면역 능력 증강 작용이 있음이 보고되었다.

알레르기로 인한 면역 반응에 효과가 입증된 FF, UC 및 JGE가 AR로 인한 알레르기 반응에 미치는 영향을 알아보기 위해, 본 연구에서는 OVA로 AR을 유발한 생쥐에 FF, UC 및 JGE를 경구 투여하여 약물 투여에 따른 체중 변화와 WBC, RBC, Hb, PLT 함량 측정

을 통한 혈액학적 변화, 혈청 내 histamine, IgE, IL-4 농도 및 iNOS, COX-2 mRNA 발현 정도 측정을 통한 면역학적 변화를 관찰하고 비강 점막의 조직검사를 통한 조직학적 관찰을 시행하였다.

동물을 이용한 실험에서 체중의 급격한 증가나 감소는 일반적으로 부작용의 가능성으로 인식된다⁴⁵⁾. 본 연구에서 5회에 걸쳐 각 군의 체중을 측정된 결과, OVA+UC군에서 체중이 감소하는 경향을 보였으나 통계적으로 유의하지는 않았다 (Table 2, Fig. 1). 조 등²⁶⁾의 연구에서 UC가 세포 독성이 있을 수 있다는 점을 시사한 바 있으므로 이와 관련한 추가 연구가 필요할 것으로 생각된다.

약물 투여에 의한 혈액학적 변화를 관찰하기 위해, 채집된 혈액의 WBC, RBC, Hb, PLT의 함량을 측정하였다. WBC는 과립구, 단핵구, 림프구로 이루어져 있고, 외부 항원에 대한 면역 기능을 수행해 우리 몸을 방어하는 작용을 한다고 알려져 있다²³⁾. RBC는 산소와 이산화탄소를 운반하는 기능뿐만 아니라 백혈구가 면역 목표에 밀접하게 접근하도록 조종하고, 혈액으로부터 항원과 항체의 집합체를 제거하는 데 역할을 한다는 보고가 있어 RBC와 Hb의 변화도 함께 측정하였다⁴⁶⁾. 또한 PLT는 알레르기 염증 반응에서 백혈구와 함께 상호작용을 통하여 다양한 염증세포의 유입을 유도할 뿐 아니라 염증매개체를 유리시켜 직접적으로 염증반응을 유발하는데 관여한다고 알려져 있다⁴⁾. 본 연구에서는 모든 혈액 지표에서 실험군들 간에 통계적인 유의성을 관찰할 수 없었다 (Table 3-6, Fig. 2-5).

histamine은 비만세포에서 유리되는 화학적 매개물질 중 가장 빠르게 유리되고 가장 많은 양을 차지하며 강력한 혈관 확장 작용을 가지고 있어 알레르기 반응에서 중요한 작용을 한다. IL-4는 B세포를 분화, 증식시키고 IgE를 생산하는데 기여하여 알레르기 반응을 유발하는 cytokine으로 알레르기 비염의 발생에 중요한 역할을 한다¹⁰⁾. 본 연구에서 혈청 내 histamine의 함량을 측정된 결과, 약물을 투여한 실험군에서 OVA군에 비해 감소하는 경향을 보였으나 통계적으로 유의하지는 않았다 (Table 7, Fig. 6). 혈청 내 IgE의 함량은 OVA군에 비해 OVA+FF군과 OVA+JGE군이 통계적으로 유의한 감소를 보였으며 ($P < 0.05$), OVA+UC군에서도 통계적으로 유의하지는 않았지만 감소하는 경향을 관찰할 수 있었다 (Table 8, Fig. 7). 혈청 내 IL-4의 함량은 OVA군에 비해 모든 실험군에서 통계적으로 유의한 차이의 감소가 관찰되었다 ($P < 0.01$) (Table 9, Fig. 8). 이

상의 결과를 보았을 때, FF, UC 및 JGE가 혈청 내 IgE와 IL-4 농도를 억제하여 AR의 알레르기 반응에 작용한다는 것을 짐작할 수 있다.

iNOS와 COX-2는 염증 반응을 유도하는 유전자로, cytokine, lipopolysaccharide (LPS) 등이 관여하는 염증 반응에서 활성화된 NF- κ B에 의해 발현이 촉진된다. iNOS는 산화질소 (NO)의 생성 반응을 촉매하는 효소로, iNOS에 의해 일시적으로 과량 생산되는 NO는 세균, 바이러스, 종양세포 등 외부로부터 생체를 방어하는 반응을 담당한다. 그러나 iNOS의 과잉 유도로 과도하게 생성된 NO는 혈관 확장, 세포 독성, 조직 손상 등의 인체에 유해한 작용을 나타내며 AR 유발 실험에서 iNOS 양성반응세포 분포의 증가가 보고된 바 있다²⁶⁾. COX (cyclooxygenase)는 염증 상태에서 arachidonic acid를 PGs로 전환시키는 유도성 동종효소로 1형과 2형의 두 가지가 존재하는데, 그 중 COX-2는 성장인자와 mitogen에 유도되어 PGs 분비를 지속해 류마티스성 관절염, 크론병, 궤양성 대장염 등 다양한 만성 염증 질환의 유발에 관여하며^{26,47)}, AR에 의한 COX-2 양성반응세포 분포의 증가가 보고된 바 있다²⁰⁾. 본 연구에서 적출된 비강 조직의 iNOS mRNA 발현 정도를 측정된 결과, Normal군에 비해 OVA군에서 증가된 유전자 발현이 관찰되었고, OVA군 (1032)에 비해 OVA+FF군은 798.5로 22.6%, OVA+UC군은 642.3으로 37.8%, OVA+JGE군은 833.8로 19.2% 발현이 감소되었다 (Fig. 9-10). COX-2의 mRNA 발현 정도도 Normal군에 비해 OVA군에서 증가되었고, OVA군 (1357.8)에 비해 OVA+FF군은 1314.3으로 3.2%, OVA+UC군은 1103.5로 18.7%, OVA+JGE군은 984.5로 27.5% 발현이 감소된 것으로 관찰되었다 (Fig. 11-12). 이상의 결과로, FF, UC 및 JGE가 AR의 염증 반응을 억제한다는 것을 알 수 있다.

비강 조직의 손상 억제에 대한 효과를 확인하기 위해 희생시킨 생쥐의 비강 점막 조직을 H&E 염색한 후 관찰한 결과, OVA군에서는 Normal군에 비해 상피세포 하 부종 (subepithelial edema)이 상당히 진행되었고 상피세포층 점막의 탈락과 손상 및 기저막 두께의 비후가 나타났다. OVA군에 비해 OVA+FF군, OVA+UC군, OVA+JGE군 모두에서는 OVA로 인한 비강 점막 조직의 손상이 현저하게 감소하였고, 특히 OVA+JGE군이 Normal군과 흡사한 것을 관찰할 수 있었다 (Fig. 13). 이를 통하여 FF, UC 및 JGE가 비강 조직 내 염증 반응을 억제하는데 효과가 있음을 알 수 있고, JGE 투여 시 더 큰 효과를 기대할 수 있을 것이라 사료된다.

본 연구에서는 혈액학적 변화와 혈청 내 histamine의 함량 측정에서 Normal군과 OVA군, 그리고 OVA군과 약물을 투여한 실험군 사이에 유의한 차이를 관찰할 수 없었다. 그리고 백혈구 내 호중구와 호산구, 단핵구, 림프구를 각각 측정하지 못해 아쉬움이 남는다. 향후 조금 더 정밀한 설계와 실험을 통하여 FF, UC 및 JGE의 AR에 대한 효능과 기전에 대한 연구가 필요할 것으로 생각한다.

이상의 실험 결과, FF, UC 및 JGE는 Th2 cytokine인 IL-4의 분비를 억제해 IgE 생산을 감소시켜 AR의 초기 반응에 중요한 역할을 하고, iNOS와 COX-2의 발현을 감소시켜 AR의 후기 염증 반응을 억제하여 비강 점막의 손상을 방지하는 것을 알 수 있다. 이에 FF, UC 및 JGE를 AR의 치료에 사용하고 증상에 따라 적절하게 활용할 수 있는 근거가 될 것으로 생각한다.

V. Conclusion

OVA로 유발된 알레르기 비염에 連翹, 榆根皮, 左歸飲이 미치는 영향을 관찰한 결과, 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. OVA+FF, OVA+UC 및 OVA+JGE군에서 유의한 체중의 변화는 관찰되지 않았다.
2. OVA+FF, OVA+UC 및 OVA+JGE군에서 유의한 WBC, RBC, Hb, PLT의 변화는 관찰되지 않았다.
3. OVA+FF, OVA+UC 및 OVA+JGE군에서 유의한 혈청 내 histamine의 변화는 관찰되지 않았다.
4. OVA+FF 및 OVA+JGE군에서 혈청 내 IgE가 유의하게 억제되었다.
5. OVA+FF, OVA+UC 및 OVA+JGE군에서 혈청 내 IL-4가 유의하게 억제되었다.
6. OVA+FF, OVA+UC 및 OVA+JGE군에서 iNOS, COX-2의 mRNA 발현이 억제되었다.
7. OVA+FF, OVA+UC 및 OVA+JGE군에서 OVA로 유발된 비강 점막의 상피세포 하 부종, 점막의 탈락, 기저막의 비후가 현저하게 감소되었다.

이상의 결과로부터 連翹, 榆根皮, 左歸飲이 알레르기 비염에 유효한 영향을 미쳐 알레르기 비염의 치료에 다양하게 활용될 수 있을 것으로 생각한다.

References

1. Hong CE. Textbook of pediatrics. 11th ed. Seoul: Mirae N. 2016:1232-40.
2. The Korean Academy of Asthma, Allergy and Clinical Immunology. Asthma and allergic diseases. Seoul: Ryo Moon Gak Publishing Co. 2012:27.
3. Kim KB, Kim DG, Kim YH, Kim JH, Min SY, Park EJ, Baek JH, Sung HK, Yu SA, Lee SY, Lee JY, Chang GT, Jeong MJ, Chae JW, Cheon JH, Han YJ, Han JK. Pediatrics of Korean Medicine. 1st ed. Seoul: Eui Sung Dang Publishing Co. 2015:224-30.
4. Lee KS. Analysis of epidemiology and risk factors of allergic diseases among children and adolescents in the Korea. The graduate school of Kyunghee University. 2012.
5. Korean Academy of Pediatric Allergy and Respiratory Disease. Pediatric Allergy Immunology Pulmonology, 2nd ed. Seoul: Ryo Moon Gak Publishing Co. 2013:13-5, 26-8, 41-2, 89-98, 155-71.
6. Kim CW. Current update on allergic rhinitis. J Korean Med. 2012;82(3):298-303.
7. Jo HR, Hwangbo M. Oral administration of the herbal medicines in animal models for treatment of allergic rhinitis: a review of animal study reports published in Korea. J Korean Med Ophthalmol Otolaryngol Dermatol. 2016;29(1):131-44.
8. Song DU, Heo J, Lee SY, Kim JH, Lee BN, Min JH, Kim EY, Sohn YJ, Jung HS. Effects of Schizonepeta Spica water extract on the OVA-induced BALB/c mice model of allergic rhinitis. Kor J Herbol. 2015;30(6):39-46.
9. Song MK, Hong SU. The effects of probiotics-fermented Magnolia Denudata in ovalbumin induced allergic rhinitis animal model. J Korean Med Ophthalmol Otolaryngol Dermatol. 2013;26(1):35-49.
10. Jung JK, Park YK. Effects of Saposhnikovia Radix on allergic responses in OVA-induced allergic rhinitis mice. Kor J Herbol. 2012;27(5):85-91.
11. Chou CY, Kim YB. The effects of Tribulus Terrestris on model of allergic rhinitis. J Korean Med Ophthalmol Otolaryngol Dermatol. 2011;24(2):28-34.

12. Hong SW. The inhibitory effect of Dangguibohyul-tang on allergic rhinitis. The graduate school of Kyunghee University. 2016.
13. Kim DH, Hong SU. The effect of Bangpungtongsungsan on allergic rhinitis of obese mouse fed high fat diet. J Korean Med Ophthalmol Otolaryngol Dermatol. 2016;29(1):1-15.
14. Bae HJ, Jo GW, Heo ES, Hwang CY. The effect of Shinchulsan on the rat model with allergic rhinitis. J Korean Med Ophthalmol Otolaryngol Dermatol. 2015;28(3):76-87.
15. Kim IH, Ku JM, Hur HS, Na CH, Jang BH, Shin YC, Ko SG. Anti-allergic effects of Socheongryong-tang in ovalbumin-induced allergic rhinitis model. Kor J Orient Prev Med. 2014;18(3):69-80.
16. Park JH, Hong SU. The effects of Hyunggaeyungyo-tang of suppression of iNOS production on mice with allergic rhinitis. J Korean Med Ophthalmol Otolaryngol Dermatol. 2012;25(1):12-21.
17. Yun CS, Hong SH, Park MC, Hwang CY. The effects of Bojungkigtang-gamibang administration along with Mahwangshingungsan on the rat model with allergic rhinitis. J Korean Med Ophthalmol Otolaryngol Dermatol. 2008;21(3):111-23.
18. Lee KJ, Nam HJ, Kim YB. Effect of Tongqiao-tang on OVA induced allergic rhinitis mouse model. J Korean Orient Med. 2008;29(5):96-103.
19. Ryu HK. The effect of Gamitongkyutang distillate in mice with allergic rhinitis. J Korean Orient Med. 2006;27(2):196-210.
20. Park SE, Hong SU. The treatment effect of Younggamgangmishinayin-tang through control of Th2 cell differentiation in allergic rhinitis. J Korean Med Ophthalmol Otolaryngol Dermatol. 2008;21(1):83-95.
21. Hanuigwadaehak Bonchohak Pyeonchanwiwonhoe. Bonchohak. Seoul: Yeong Rim Sa Publishing Co. 2011:242-3, 733.
22. Kim CM, Sin MK, An DK, Lee KS. Jungyakdaesajeon. Jung Dam Publishing Co. 1997:2934-8, 3348-50.
23. Lee JH. The effects of Forsythiae Fructus n-BuOH fraction on atopic dermatitis. The graduate school of Daejeon University. 2016.
24. Chu CK, Jung SK, Jung HJ, Kim JJ. Research on anti-inflammatory effects of Forsythiae Fructus. Korean J Orient Intern Med. 2010;31(2):242-53.
25. Park SB, Kang KH, Yoon HJ, Ko WS. Inhibitory effect of Ulmus Davidiana on β -hexosaminidase release and cytokine production in RBL-2H3 cells. J Korean Med Ophthalmol Otolaryngol Dermatol. 2011;24(1):86-95.
26. Jo EY, Jeong JC. The inhibitory effects of Ulmus Davidiana on the reactive species and proinflammatory proteins. Korean J Orient Intern Med. 2008;29(2):421-31.
27. Jang JB. Gyeongakjeonseo. Shanghai: Shanghaiwahakgisul Publishing Co. 1984:979.
28. Choi JK, Yoo DY. Bibliographical studies on the effect of Joa-guiem. Daejeon J Orient Med Ins. 2005;14(1):101-12.
29. Park YJ, Park EJ, Lee HJ, Park JI. Regulatory effects of allergic bronchial asthma responses by Kaganjwagwium. J Korean Orient Pediatr. 2004;18(2):31-48.
30. Hong CS. Steps to Internal Medicine - Immunity & Allergy. Seoul: Jung Dam Publishing Co. 2008:51-2, 4104.
31. Lee KI, Kim YH, Kim YJ. A literature study of allergic rhinitis for children. J Korean Orient Pediatr. 2002;16(2):111-28.
32. Kim YJ, Kim JH. A literature study on allergic rhinitis. J Korean Orient Pediatr. 1996;10(1):17-34.
33. Jang MJ. Antioxidant compounds from the fruits of Forsythia Suspensa. The graduate school of Catholic University of Daegu. 2008.
34. Kim MJ, Kim JY, Jung TK, Choi SW, Yoon KS. Skin anti-aging effect of Forsythia Viridissima L. extract. Korean J Biotechnol Bioeng. 2006;21(6):444-50.
35. Zhang KH. In vitro activities of Moutan Cortex Radicis, Caesalpiniae Lignum, Houttuyniae Herba, Forsythiae Fructus, Prunellae Herba, Scrophulariae Radix against Gardnerella Vaginalis. The graduate school of Semyung University. 2004.
36. Kim HJ, Lee TH. Effects of Forsythiae Fructus on CRF, c-Fos and TH in the forced swimming test. Korean J Orient Med Prescription. 2010;18(1):155-67.
37. Yang WH. Inhibitory effect of Ulmus Davidiana Planch extracts on lung tumorigenesis progression. The graduate school of Dongshin University. 2013.

38. Kim HS, Cho JH, Lee JM, Lee CH, Jang JB, Lee KS. Experimental studies on antimetastatic and immunomodulating effects of *Ulmus Davidiana*. *J Korean Obstet Gynaecol.* 2010;23(1):1-11.
39. Yang YL, Kim YJ, Kim KH, Oh EG. Separation of glycoprotein and its anticancer immunostimulating activity from dried barks of Slippery Elm (*Ulmus Parvifolia*). *Korean J Biotechnol Bioeng.* 2001;16(6): 547-53.
40. Jeong JJ. Antioxidant effect of *Ulmus Davidiana* ethanol extract on Nrf2 activation. The graduate school of Sangji University. 2012.
41. Jung CJ. Effect of *Ulmus Davidiana* var. *Japonica* Nakai ethanol extract on antioxidative system and lipid metabolism of rats. The graduate school of Chosun University. 2006.
42. Yun JH, Lee JH, Kim TH, Lyu YS, Kang HW. Study on antigastric and anti *Helicobacter pylori* effects from water extract of *Ulmus Davidiana* var. *Japonica* Nakai. *Korean J Orient Physiol Pathol.* 2008;22(1):108-14.
43. Choi WJ, Lee EJ, Kim HK, Lee KS, Lee DY, Jung DY. Effect of Choakwiyeum and Yukmijihwang-tang water extract on the renal aldosterone concentration in rabbits. *Korean J Orient Physiol Pathol.* 2002;16(6): 1263-9.
44. Choi KB, Park JS, Kwon KB, Lee HS, Park KH, Kim BR, Ryu DG. Effects of Choakwiyeum on the sexual behavior and serum testosterone concentration in male rats. *J Korean Orient Med.* 1999;20(1):22-9.
45. de Blaauw I, Schols AM, Koerts-deLang E, Wouters EF, Deutz N EP. De novo glutamine synthesis induced by corticosteroids in vivo in rats is secondary to weight loss. *Clin Nutr.* 2004;23(5):1035-42.
46. Garvey JS. Immunity and the red blood-cell. *Lancet.* 1982;319(8265):223.
47. Park MC, Hong SU. The effects of Sunbanghwalmyung-eum extract on acute sinusitis-induced mouse. *J Korean Orient Med.* 2009;30(2):133-44.