

## 구미강활탕(九味羌活湯)의 호흡기 염증 완화효과

권보인<sup>1),2)</sup> · 김주희<sup>1),3)#</sup>

<sup>1)</sup> 상지대학교 한의학연구소 운영위원

<sup>2)</sup> 상지대학교 한의과대학 병리학교실 교수

<sup>3)</sup> 상지대학교 한의과대학 침구학교실 교수

### Relieving effect for respiratory inflammation of *Gumiganghwal-tang*

Bo-In Kwon<sup>1),2)</sup>, Joo-Hee Kim<sup>1),3)#</sup>

<sup>1)</sup> Research Institute of Korean Medicine, Sangji University

<sup>2)</sup> Department of Pathology, College of Korean Medicine, Sangji University

<sup>3)</sup> Department of Acupuncture & Moxibustion, College of Korean Medicine, Sangji University

#### Abstract

**Objectives :** *Gumiganghwal-tang* and its main components have been used for treatment of cough, headache, joint pain and fever. Using a respiratory inflammatory model, we intend to demonstrate the its anti-inflammatory effect and immune mechanism of *Gumiganghwal-tang*.

**Methods :** We induced the respiratory inflammation mouse model by papain treatment. Female BALB/C mice (8 weeks old) were divided into three groups as follows: saline control group, papain treatment group (vehicle), papain and *Gumiganghwal-tang* (200 mg/kg) treatment group (n=4). To verify the anti-inflammatory effect of *Gumiganghwal-tang* extracts, we measured the infiltration of inflammatory cells in bronchoalveolar lavage fluid (BALF) and nasal lavage fluid (NALF). Additionally, the efficacy of *Gumiganghwal-tang* extracts on Th2 cell population and alveolar macrophage in lung were analyzed by using flow cytometry.

**Results :** *Gumiganghwal-tang* extracts administration decreased inflammatory cell infiltration in BALF and NALF, especially of eosinophils. Furthermore, interleukin-5 level was reduced in lung by drug administration. Interestingly, *Gumiganghwal-tang* extracts treatment also decreased the Th2 cell (CD4<sup>+</sup>GATA3<sup>+</sup>) population and increased the alveolar macrophage (CD11b<sup>+</sup>CD11c<sup>+</sup>) population in lung.

**Conclusions :** Our findings indicate that *Gumiganghwal-tang* extracts have anti-inflammatory effects by mediating Th2 cell and alveolar macrophage cell activation.

**Key words :** *Gumiganghwal-tang*, Respiratory inflammation, Th2 cell, Alveolar macrophage

• 접수 : 2023년 12월 3일 • 수정접수 : 2023년 12월 15일 • 채택 : 2023년 12월 17일

• 연구비 지원기관: 본 결과물은 2023년도 교육부의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 지자체-대학 협력 기반 지역혁신 사업의 결과입니다(2022RIS-005).

#Corresponding author : Acupuncture & Moxibustion, College of Korean Medicine, 83 Sangjidae-gil, Wonju-si, Gangwon-do, 26339, Republic of Korea

전화 : 82-33-730-8162, 팩스 : +82-33-730-0653, 전자우편 : jhkim712@sangji.ac.kr

## I. Introduction

알레르기성 기도 염증은 간헐적인 기류 폐쇄 및 과민반응을 특징으로 하는 기도의 염증성 장애이다<sup>1)</sup>. 천식 및 기관지염의 유병률과 이와 관련된 경제적 부담은 전 세계적으로 증가하고 있다<sup>2)</sup>. 현재의 서양 의학적 치료법은 증상과 병리학적 염증을 개선하지만, 많은 환자는 여전히 심각한 부작용을 경험하거나 치료에 불응한다<sup>3,4)</sup>. 환자는 종종 기존 치료법과 보완적인 대체 의약품(한약 포함)으로 치료를 받으며<sup>5)</sup>, 많은 연구에서 그러한 접근법의 효능이 입증되었다<sup>6,7)</sup>. 선천 및 적응 면역 체계에 관여하는 다양한 세포 유형은 알레르기 항원에 반응하여 기관지 과민 반응, 점액 과잉 생산 및 기도 리모델링을 유발한다<sup>8)</sup>. 2형 보조T(Th2)세포는 천식의 시작과 악화에 중요한 역할을 한다. 구체적으로, 활성화된 Th2 세포는 인터루킨(IL)-4, -5 및 -13과 같은 사이토카인을 분비한다<sup>9)</sup>. IL-5는 호산구 침윤을 기도로 유도하며<sup>10,11)</sup>, 이는 세포독성 과립과 사이토카인 분비를 통해 천식 발병에 기여 한다<sup>12-14)</sup>.

최근 국내에서도 미세먼지, 초미세먼지, 황사로 인한 건강 문제에 대한 관심이 높아지고 있다. 특히 황사에 의한 호흡기 건강 악화 우려는 수십 년 동안 지속되어 왔다. 그러나 2013년부터 미세먼지와 초미세먼지에 대한 대중의 인식이 급속도로 높아졌다<sup>15)</sup>. 아시아 국가들, 특히 한국과 중국에서는 미세먼지와 초미세먼지로 인한 건강 위협으로 인해 대기오염에 대한 관심이 높아지고 있다. 흡입된 미세먼지는 폐 조직 변화, 산화 스트레스, 면역 반응을 유발한다<sup>16)</sup>. 호산구는 기도 염증의 특히 중요한 병리학적 구성 요소로 간주되며 천식 중증도를 반영한다<sup>17)</sup>. 호산구의 활성화는 사이토카인, 케모카인 및 MHC II 및 CD11c와 같은 표면 표지의 기타 매개체 및 상향 조절제의 생산을 수반한다<sup>18,19)</sup>. 또한 일부 연구에서는 호산구가 항원 제시 세포(APC) 자체로 작용할 뿐만 아니라 수지상 세포를 제어하여 2형 보조T(Th2)세포 면역 반응을 시작한다고 보고하였다<sup>20)</sup>. 그 결과, 기도 내 호산구의 감소는 천식 치료의 주요 목표가 되어 왔으며, 호산구 활성화에 핵심적인 역할을 하는 인터루킨(IL)-5를 차단하기 위한 임상시험이 진행되었다<sup>21)</sup>.

폐에서 가장 풍부한 면역 세포인 대식세포는 기도 염증 과정에서 선천 면역 체계와 후천 면역 체계를 연결한다. 폐 대식세포는 위치에 따라 폐포 대식세포와 간질성 대식세포로 분류될 수 있다<sup>22)</sup>. 대식세포는 또한 기능적 표현형, 즉 고전적으로 활성화된 대식세포(M1)와 대안적으로 활성화된 대식세포(M2)에 따라 분류된다<sup>23)</sup>. M2 대식세포는 M2a, M2b 및 M2c의 세 가지 하위 유형으로 분류된다. M1 세포는 TNF $\alpha$  생산을 통해 Th1 세포를 활성화 한다. M2a 세포는 IL-4 및 IL-13 생산을 통해 Th2 세포를 활성화하고 M2c 세포는 IL-10 및 TGF $\beta$  생산을 통해 Treg 세포를 활성화한다<sup>24)</sup>. 폐의 간질 영역에 국한된 대식세포는 M1 또는 M2a 표현형 쪽으로 분극화되는 경향이 덜한 것으로 보인다. 이는 이들 세포가 주로 IL-10을 발현하고 M2c 표현형과 유사한 면역억제 특성을 나타내기 때문이다<sup>25)</sup>.

그간 구미강활탕을 비롯한 한약처방 유효성 연구에서, 폐 대식세포의 조절을 통한 호흡기 염증완화에 대한 연구는 부족하다. 따라서 본 연구를 통해 구미강활탕의 호흡기 염증 완화효과를 확인하고 그 약리기전을 확인하고자 한다.

## II. Methods

### 1. 처방 재료 및 추출과정

구미강활탕의 구성 본초인 강활(羌活), 방풍(防風), 천궁(川芎), 백지(白芷), 창출(蒼朮), 황금(黃芩), 지황(地黃), 세신(細辛) 및 감초(甘草) 9종은 모두 Omniherb(영천, 대한민국) 또는 HMAX(충청북도, 대한민국)에서 구입하였다. 9종 본초를 혼합하여 전기추출기(COSMOS-660; Kyungseo E&P, 인천, 대한민국)을 사용하여 98kPa 압력에서 2시간 동안 100°C 증류수에서 추출하였다. 추출 후 표준여과망(no.270, 53 $\mu$ m, Chung Gye Sang Gong Sa, 서울, 대한민국)을 이용하여 여과하고 동결 건조하여 분말을 제조하였다. 얻어진 동결건조 분말의 수율은 22.76%이다. 또한 증표 표본(표본번호: 2008-KE16-1~KE16-9)은 한국한의학연구원 한의과학연구부에 기탁되어 있다. 각 본초의 원산지, 구입처 및 혼합 비율은 별도로 Table 1에 기재하였다.

Table 1. Composition of *Gumiganghwal-tang*

본초명	원산지	구입처	비율(%)
강활(羌活)	중국	HMAX	15
방풍(防風)	중국	HMAX	15
천궁(川芎)	대한민국(영천)	Omnierb	12
백지(白芷)	대한민국(영천)	Omnierb	12
창출(蒼朮)	중국	HMAX	12
황금(黃芩)	대한민국(정선)	HMAX	12
지황(地黃)	대한민국(군위)	Omnierb	12
세신(細辛)	중국	HMAX	5
감초(甘草)	중국	HMAX	5
총			100

## 2. 동물 실험

### 1) 호흡기 염증 유도 및 약물 투여

BALB/C mouse 암컷 8주령을 대한바이오링크(충청북도, 대한민국)에서 구입하였다. 모든 실험쥐에게 살균된 음식과 물을 공급하였으며, 병원균이 없는 조건에서 사육하였다. 쥐는 그룹 당 4마리씩 3개 그룹으로 다음과 같이 나누었다. 생리식염수 투여군(Saline control; SC), 파파인 투여 호흡기 염증 유도군(Papain), 호흡기 염증 유도 및 구미강활탕 투여군(구미강활탕)으로 구분하였다. 호흡기 염증 유도를 위해 Papain (Sigma, P4762)을 비강(Intranasal)으로 매일 25 µg을 5일 동안 투여하였다(Fig. 1). Papain 투여 30분 후 구미강활탕 물 추출물을 200 mg/kg의 용량으로 5일 동안 경구 투여하였다. 모든 실험 절차 및 동물 관리는 상지대학교 동물실험윤리위원회의 승인을 받아 수행되었으며 상지대학교의 규정 및 지침에 따라 진행하였다(승인번호 2019-1).

### 2) 기관지 폐포 세척액(Bronchoalveolar lavage fluid; BALF) 및 비강 세척액(Nasal lavage fluid; NALF)의 획득 및 면역세포 분석

기관지 폐포 세척액 및 비강 세척액의 획득은 최종 약물 투여 후 약 18시간 뒤 수행되었다. BALF 및 NALF를 수집하기 위해 카테터(Jelco, St. Paul, 미네소타, 미국)를 기관 및 비강 내 삽관하여 PBS (Welgene, 대구, 대한민국) 1.0 ml로 각각 세척하였다. BALF 및 NALF는 평균 0.8ml 획득하였다. 각 세척액에서 획득한 세포는 HEMA3 용액(Fisher HealthCare, 피츠버그, 미국)으로 고정한 후 cytopsin (Shadon Cytopsin4, Thermo Fisher Scientific, Waltham, 메사추세츠, 미국)을 이용하여 분리하였다. 자연 건조 후 Wright-Giemsa 염색법을 이용하여 염색 후 도립 현미경(Zeiss, 오버코헨, 독일) 관찰을 통해 면역세포의 수 및 종류를 분석하였다. 백혈구는 호산구, 호중구, 대식세포 및 림프구로 구분하였다. 전체 세포수에 각 세포의 비율을 곱하여 최종 각 세포의 수를 확인하였다. 계산 시 연구원은 각 실험군에 대해 블라인드 처리된 상태에서 진행하였다.

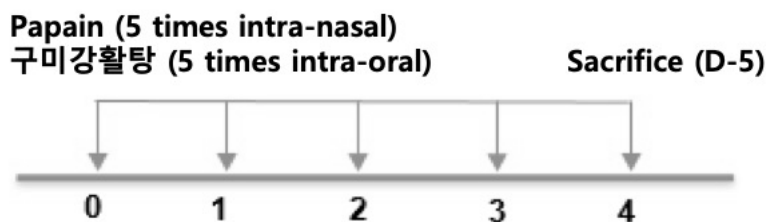


Fig. 1. Experiment protocol for respiratory inflammation induction and drug administration

3) Interleukin(IL)-5 분석

IL-5 분석은 폐 조직을 배양하여 그 상층액을 획득한 후 ELISA 기법을 이용하여 진행하였다. 간략히 설명하자면,  $0.2 \times 10^6$ 의 세포를 24 well plate에 배양하면서 anti-CD3 and anti-CD28 항체(BD Bioscience, 캘리포니아, 미국)를 이용하여 자극하였다. 96시간 이후 그 상층액을 TRFK5 항체와 TRFK4 항체(BD bioscience)를 이용하여 cytokine 수준을 측정하였다.

4) 유세포 분석(Flowcytometry analysis)

유세포 분석은 이전 연구에서 수행한 방법으로 진행하였다<sup>26)</sup>. FITC conjugated anti-CD11b, PE conjugated anti-CD11c, PE conjugated anti-GATA3, Texas Red conjugated anti-CD4(all from Biolegend, 캘리포니아, 미국)을 이용하여 세포에 항체를 부착하였다. CantoII LSRFortessa X-20(BD Bioscience)를 이용하여 데이터를 획득하였고 FlowJo software (Treestar, 오리건, 미국)를 이용하여 데이터를 분석하였다.

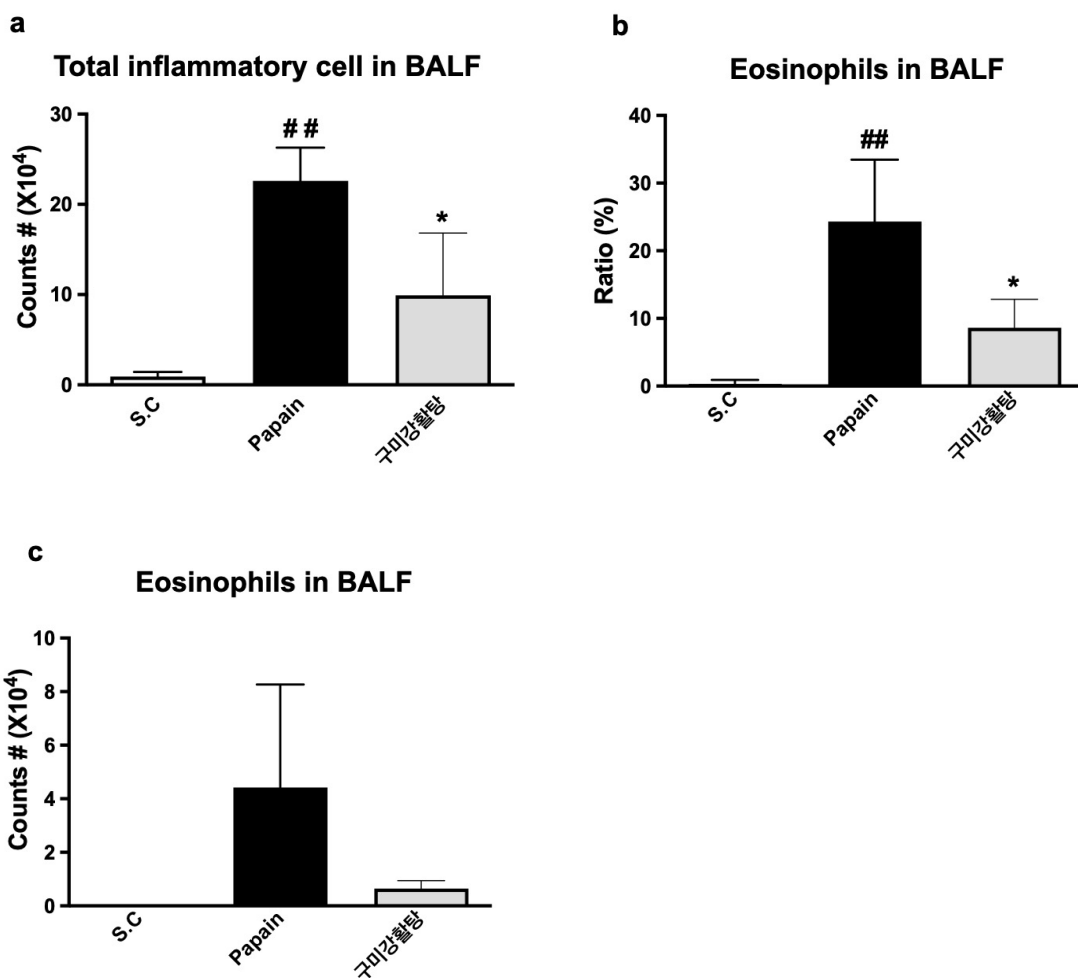


Fig. 2 Effect of *Gumiganghwal-tang* on total inflammatory cell and eosinophil counts in BALF

(a) Effect of *Gumiganghwal-tang* on total cell counts (number) in BALF cells

(b) Effect of *Gumiganghwal-tang* on proportion of eosinophils in BALF cells

(c) Effect of *Gumiganghwal-tang* on counts (number) of eosinophils in BALF cells

SC, saline control group; Papain, papain induced respiratory inflammation with vehicle group;

구미강활탕, papain induced respiratory inflammation with 구미강활탕 group

Data are expressed as the mean  $\pm$  SEM (n=4). ##P < 0.01 compared with the SC group,

\*P < 0.05 compared with the Papain group.

### 3. 통계분석

데이터는 평균 ± SEM으로 표시하였고 생리 식염수 그룹과 papain 그룹 간 차이 및 papain 그룹과 구미강활탕 그룹 간 차이는 일원배치 분산분석(one way analysis of variance; one way ANOVA) 검정을 이용하였다. 사후 검정 방법으로 던넛 검정(Dunnett's test)을 이용하였다.  $P < 0.05$ 의 경우 통계적으로 유의한 것으로 간주하였다. 또한 Prism v.10 software (GraphPad Inc., 캘리포니아, 미국)을 사용하여 분석을 수행하였다.

### III. Results

구미강활탕의 염증 완화 효과를 확인하기 위해, 기관지 폐포 세척액(BALF)와 비강세척액(NALF)에서 총 면역세포의 수와 giemsa 염색 후 호산구, 호중구, 대식세포 및 백혈구를 구분하여 세포의 비율과 수를 확인하였다. BALF에서 식염수 투여 대조군에 비해 papain 유도 실험군에서 총 면역세포의 수가 통계적으로 유의

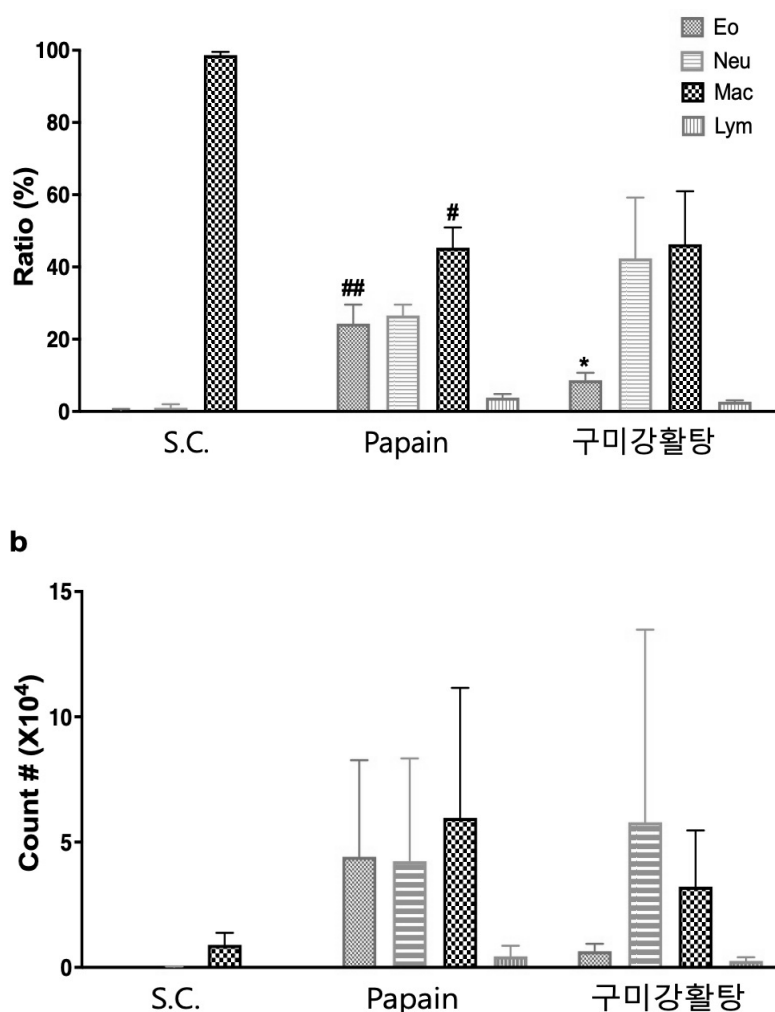


Fig. 3 Effect of *Gumiganghwal-tang* on differential cell counts in BALF

(a) Effect of *Gumiganghwal-tang* on proportion of differential cell in BALF cells

(b) Effect of *Gumiganghwal-tang* on counts (number) of differential cell in BALF cells

SC, saline control group; Papain, papain induced respiratory inflammation with vehicle group; 구미강활탕, papain induced respiratory inflammation with 구미강활탕 group  
Data are expressed as the mean ± SEM (n=4). # $P < 0.05$ , ## $P < 0.01$  compared with the SC group, \* $P < 0.05$  compared with the Papain group.

하게 증가한 것을 확인하였다(Fig. 2a). 또한 papain 유도 실험군과 비교하여 구미강활탕 투여군에서 총 면역세포의 수가 통계적으로 유의하게 감소한 것을 확인하였다(Fig. 2a). 이를 통해, 구미강활탕 투여가 폐기도 내 염증세포의 침윤을 감소시키는 것을 확인할 수 있었다. 추가적으로, giemsa 염색법을 통해 침윤된 면역세포의 종류를 구분하였다. 급성 호흡기 염증의 핵심적인 세포인 호산구의 비율과 수를 BALF에서 분석하였을 때, 대조군에서는 호산구가 거의 관찰되지 않았다. 반면, papain 유도 군에서는 그 비율이 통계적으로 유의하게 증가한 것을 확인할 수 있었으며 구미강활탕 투여군에서는 호산구 비율이 통계적으로 유의하게 감소한 것을 확인하였다(Fig. 2b). 또한, 호산구의 수 역시 구미강활탕 투여에 의해 감소되는 경향이 있는 것을 확인하였다(Fig. 2c). 따라서 구미강활탕의 투여는 총 면역세포의 수뿐만 아니라 급성 염증의 주요 세포인 호산구의 비율과 수 역시 감소시키는 것을 확인할 수 있었다. Giemsa 염색을 통해 폐 기도에 침윤된 면역세포의 종류 별 비율과 수를 분석한 결과 대조군에서는 면역관용을 유도하는 대식세포의 비율이 대부분을 차지하는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 3a). 이는 많은 선행 연구와 일치하는 결과로서<sup>27,28)</sup>, 염증 미 유도상황에서는 호

흡기계의 불필요한 염증반응이 발생하지 않아야 하는데, 이는 대식세포가 염증억제 및 조직복구에 주로 기능을 하는 M2 type의 대식세포이기 때문으로 판단할 수 있다. Papain 투여에 의해 호산구의 비율과 수가 증가한 것을 확인 하였으며 구미강활탕 투여에 의해 그 비율과 수가 감소하였다(Fig. 3a, b). 이 결과를 종합해보면, 대조군에서 호산구 또는 호중구가 검출되지 않는 것을 고려할 때, 비 특이적 염증이 유발되지 않는 상황에서 쥐가 사육되는 것을 확인할 수 있었다. 또한, 선행 연구결과와 같이 papain유도에 의해 호산구를 비롯한 염증이 효과적으로 유도된 것을 확인할 수 있었다. 결과적으로, 구미강활탕 투여에 의해 호산구를 비롯한 염증세포의 침윤이 감소한 것을 구체적으로 확인할 수 있다(Fig. 2, 3). 비강세척액 역시 기관지 폐기도 세척액과 같이 구미강활탕 투여에 의해 호산구 침윤이 감소한 것을 확인할 수 있다(Fig. 4, 5).

IL-5를 분비하여 호산구 생존 및 분화를 증진하는 Th2 세포의 분포를 확인하기 위해 폐조직에서 형광 항체를 붙인 후 유세포 분석법을 활용하여 그 비율과 수를 확인하였다. 생리식염수 투여 대조군 대비 Papain 유도 실험군에서는 Th2 세포(CD4<sup>+</sup>GATA3<sup>+</sup>)의 비율과 수가 증가하는 것을 확인하였으며, 구미강활탕 투여에

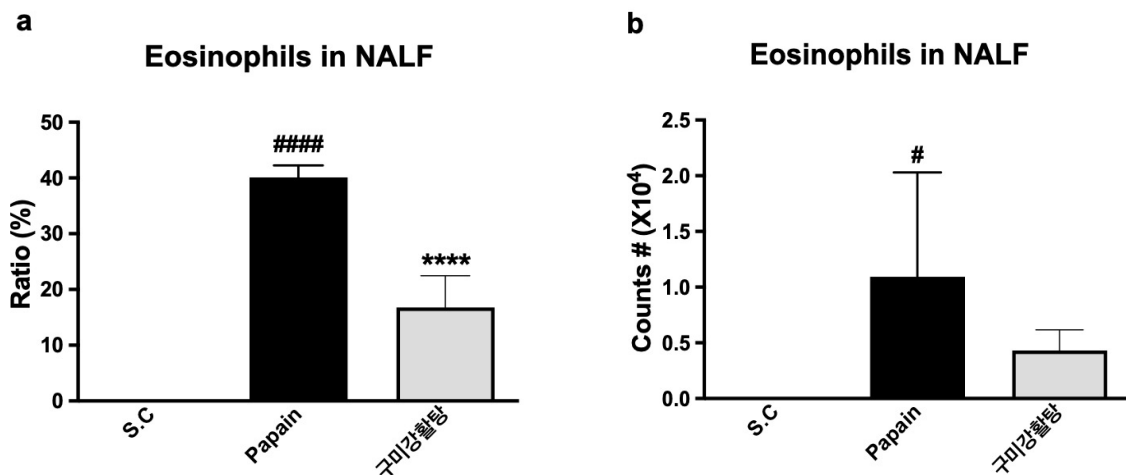


Fig. 4 Effect of *Gumiganghwal-tang* on total inflammatory cell and eosinophil counts in NALF

(a) Effect of *Gumiganghwal-tang* on proportion of eosinophils in NALF cells

(b) Effect of *Gumiganghwal-tang* on counts (number) of eosinophils in NALF cells

SC, saline control group; Papain, papain induced respiratory inflammation with vehicle group;

구미강활탕, papain induced respiratory inflammation with 구미강활탕 group

Data are expressed as the mean  $\pm$  SEM (n=4). # $P < 0.05$ , #### $P < 0.0001$  compared with the SC group,

\*\*\*\* $P < 0.0001$  compared with the Papain group.

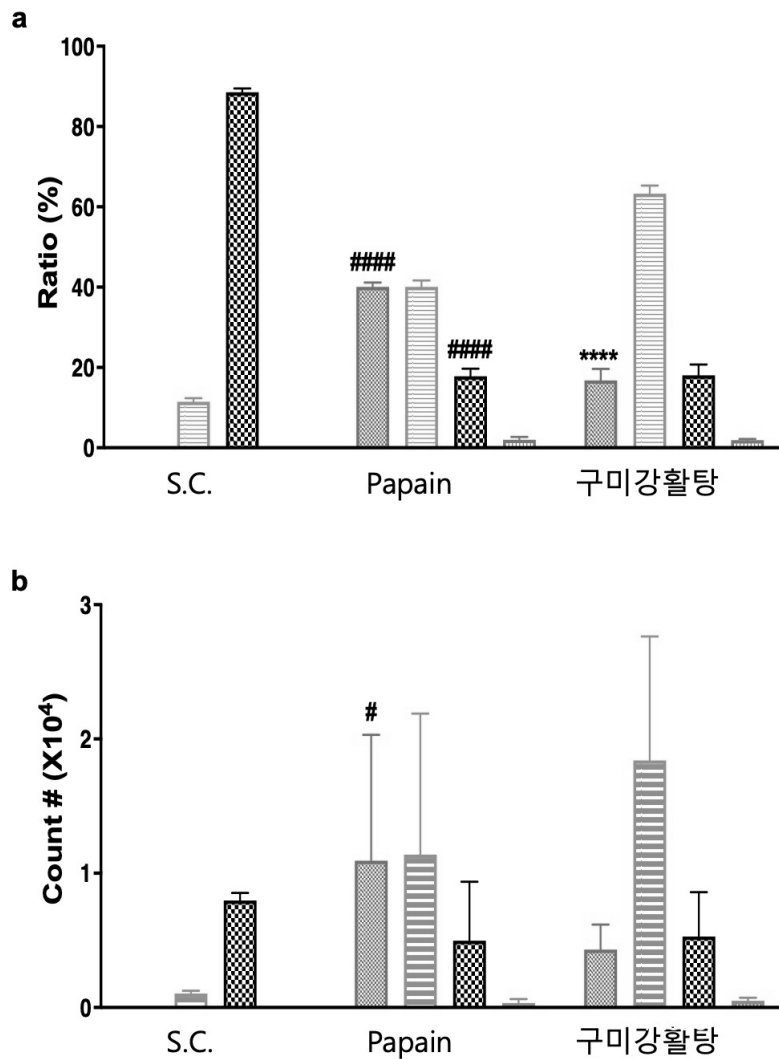


Fig. 5 Effect of *Gumiganghwaltang* on differential cell counts in NALF

(a) Effect of *Gumiganghwaltang* on proportion of differential cell in NALF cells

(b) Effect of *Gumiganghwaltang* on counts (number) of differential cell in NALF cells

SC, saline control group; Papain, papain induced respiratory inflammation with vehicle group;

구미강활탕, papain induced respiratory inflammation with 구미강활탕 group

Data are expressed as the mean  $\pm$  SEM (n=4). # $P$ <0.05, #### $P$ <0.0001 compared with the SC group, \*\*\*\* $P$ <0.0001 compared with the Papain group.

의해 그 비율과 수가 감소하는 것을 확인할 수 있었다 (Fig. 6a-c). 또한, IL-5를 폐세포 배양액에서 측정된 결과 대조군 대비 papain 투여군에서 증가하는 경향을 확인할 수 있으며, 구미강활탕 투여에 의해 cytokine 양이 감소한 경향을 확인할 수 있었다. 본 결과를 고려할 때, 구미강활탕의 투여에 의해 Th2세포의 분포 및 활성을 감소시켜 IL-5의 생산 및 분비를 감소시키는 작용 기전이 주요 선천 염증세포인 호산구의 침윤을 감

소한 것으로 설명할 수 있다.

본 연구에서는 추가적으로 평소 항염증 효과를 통해 폐기도의 불필요한 염증반응을 억제하는 것으로 알려진 폐포 대식세포, alveolar macrophage (CD11b<sup>+</sup>CD11c<sup>+</sup>)를 확인하기 위해 역시 폐조직을 이용해 유세포 분석법을 활용하여 그 비율과 수를 확인하였다. 생리식염수 대조군에 비해 papain 투여 실험군에서는 그 비율과 수가 통계적으로 유의하게 감소한 것을 확인할 수 있었

다. 이 결과는 염증 유발의 주요 세포인 호산구의 비율과 수가 papain 유도 그룹에서 증가하는 것과 상반된 것이다. 이는 폐 대식세포가 염증을 유발하는 M1 type

이 아닌 항염증 및 조직손상을 복구하는 M2 type의 세포인 것으로 설명할 수 있다. 구미강활탕 투여군에서 폐포 대식세포의 비율과 수가 증가하는 경향성을 확인

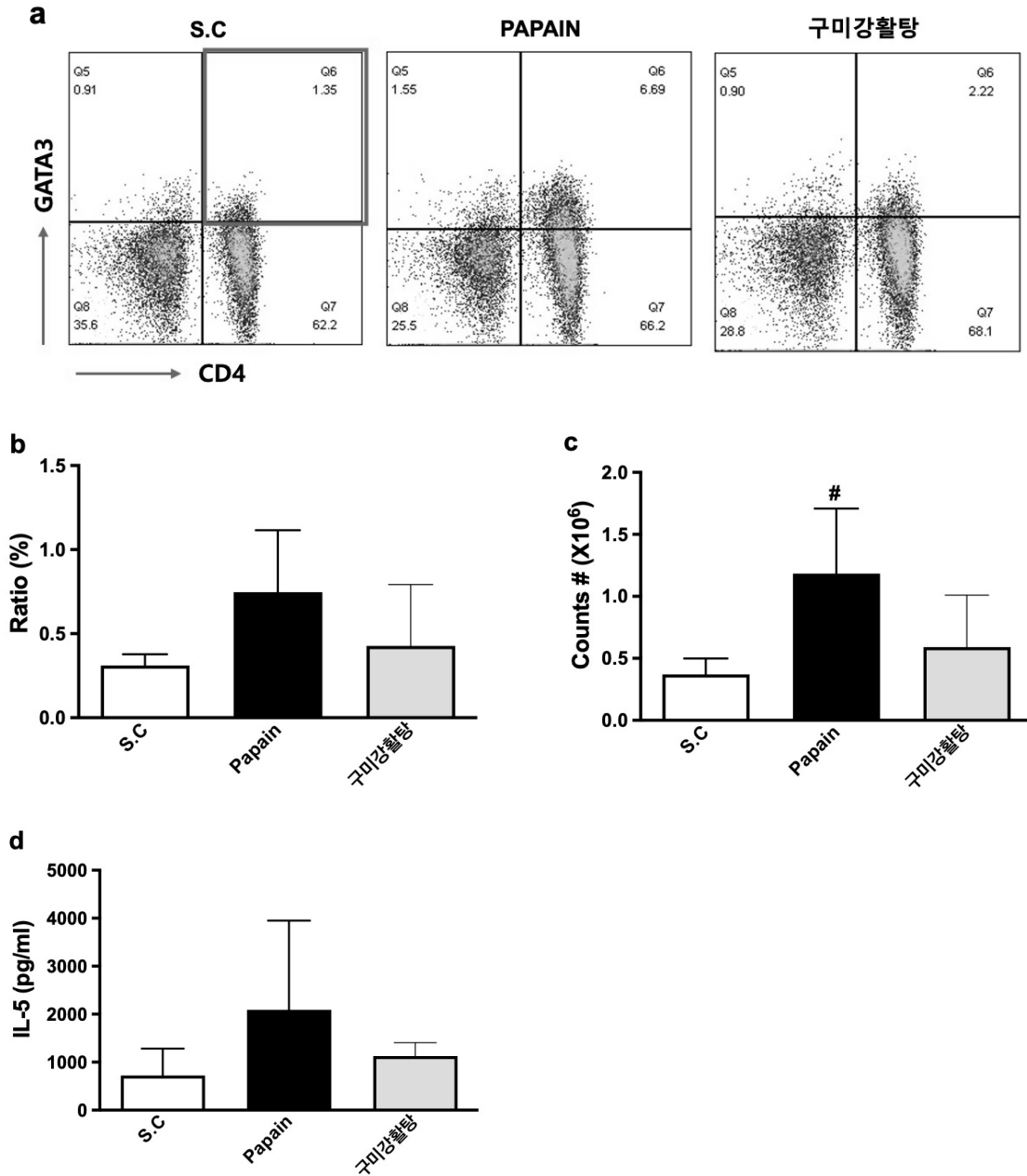


Fig. 6 Effect of *Gumiganghwal-tang* on Th2 cell and IL-5 in the lung

(a) Representative plots of a single individual from each group. The number inside the plots indicate the frequency of CD4<sup>+</sup>GATA3<sup>+</sup> cells.

(b) Effect of *Gumiganghwal-tang* on proportion of Th2 cells in lung

(c) Effect of *Gumiganghwal-tang* on counts (number) of Th2 cells in lung

(d) Effect of *Gumiganghwal-tang* on IL-5 in lung

SC, saline control group; Papain, papain induced respiratory inflammation with vehicle group;

구미강활탕, papain induced respiratory inflammation with 구미강활탕 group

Data are expressed as the mean ± SEM (n=4). #P<0,05 compared with the SC group.



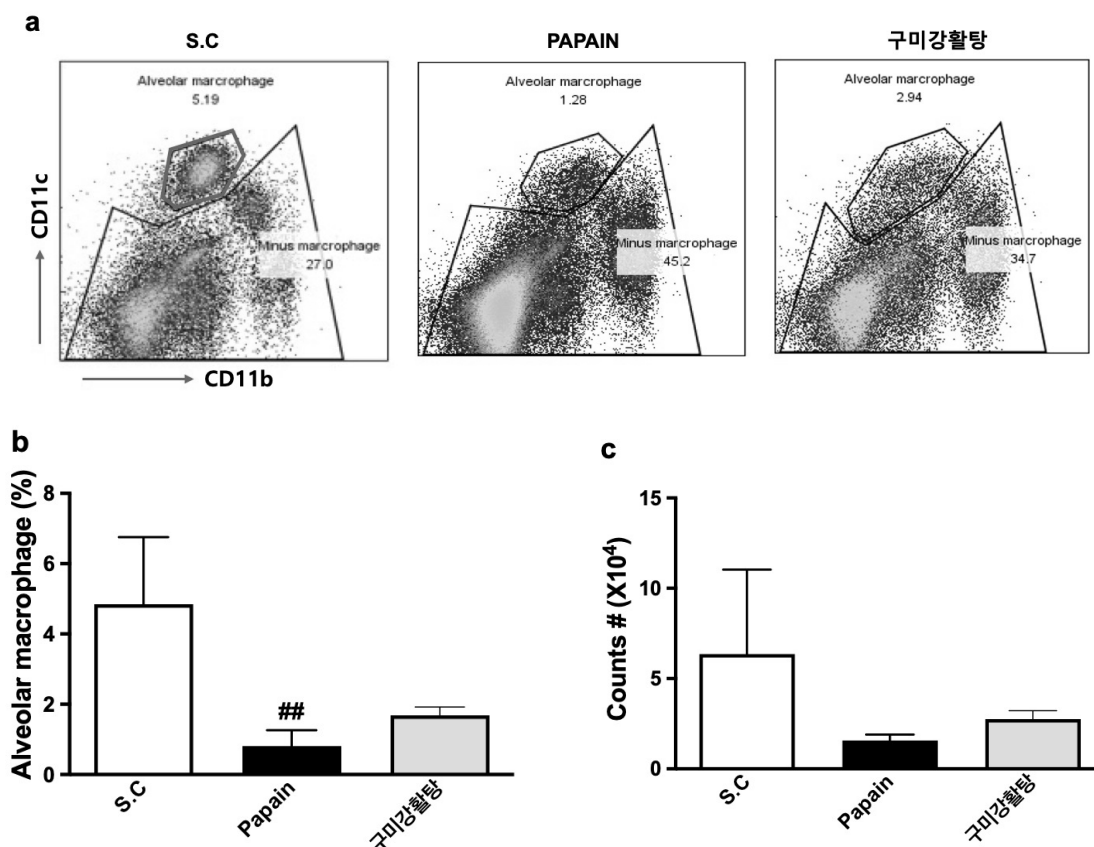


Fig. 7 Effect of *Gumiganghwal-tang* on alveolar macrophage in the lung

(a) Representative plots of a single individual from each group. The number inside the plots indicate the frequency of CD11c<sup>(hi)</sup> CD11b<sup>(mid)</sup> cells.

(b) Effect of *Gumiganghwal-tang* on proportion of alveolar macrophage in lung

(c) Effect of *Gumiganghwal-tang* on counts (number) of alveolar macrophage cells in lung

SC, saline control group; Papain, papain induced respiratory inflammation with vehicle group; 구미강활탕, papain induced respiratory inflammation with 구미강활탕 group

Data are expressed as the mean ± SEM (n=4). <sup>##</sup> P<0.01 compared with the SC group.

할 수 있었으며, 이는 역시 구미강활탕 투여에 의해 염증 유발 세포인 호산구, Th2 세포(CD4<sup>+</sup>GATA3<sup>+</sup>)의 비율과 수, 나아가 IL-5를 감소시키는 것과 별개의 메커니즘인 것을 확인할 수 있었다.

#### IV. Discussion

최근 미세먼지 및 자동차 배기가스등 환경성 미세물질로 인해 호흡기 염증이 증가하고 있다. 이로 인해 기침, 객담증가 및 호흡곤란의 증상이 유발 될 수 있으며 이는 비강부터 기관지까지 이르는 호흡기의 염증이 그 원인이 된다. 이로 인해 비염, 기관지염의 유병률이 증가

되며 나아가 천식(Asthma)이나 만성폐쇄성폐질환(COPD)으로 인한 사회, 경제적 비용이 증가하고 있다. 이는 한의학적으로 肺脹證에 해당된다. 이는 肺의 肅降기능장애에 의해 風寒, 痰과 瘀血이 挾하여 발생하는 것으로 氣機가 阻滯하여 咳而上氣, 煩躁而喘의 증후가 발생한다.

의학정전(醫學正傳) 및 동의보감(東醫寶鑑) 수록된 구미강활탕은 강활, 방풍, 천궁, 백지, 창출, 황금, 지황, 세신 및 감초 아홉가지 약재로 구성되어 “不問四時 但有頭痛 骨節痛 發熱惡寒 無汗 脈浮緊 宜用此”인 경우 사용하는 것으로 설명하였다. 이는 風寒 또는 風濕의 邪氣가 침입하여 호흡기 염증, 관절통에 사용할 수 있다고 설명한 것이다.

이전 연구결과를 살펴보면, 구미강활탕의 독성에 대한 연구 및 관찰과피를 완화시키는 실험 연구결과가 보고되었다. 또한, 신경보호 효과 및 인지기능 증진에 대한 실험 연구 효과 역시 보고된 바 있다. 호흡기 감염의 관련 연구로는 만성 천식(chronic asthma) 실험 모델에서 폐 섬유화(pulmonary fibrosis) 완화 효과에 대한 결과가 보고 된 바 있다. 이처럼 선행 연구에 의하면 만성 호흡기 및 근골격계 질환의 항염증 소염제 역할을 하는 구미강활탕의 급성 호흡기 염증에서 완화효과는 밝혀져 있지 않다.

면역학적으로 폐포 거주 대식세포의 경우 기존에 알려진 탐식성 대식세포와 그 기능이 다른 것으로 알려져 있다. 감염상황에서 탐식능을 통해 염증반응을 유도하는 대식세포를 고전 대식세포, classical macrophage 또는 1형 대식세포라 부르는 반면, 폐포에 거주하는 대식세포의 경우 대체활성 대식세포, alternative activated macrophage 또는 2형 대식세포라 명명한다. 폐포 대식세포의 경우 환경성 항원에 대해 불필요한 염증반응이 발생하지 않도록 염증을 억제하며, 조직을 복구하는 역할을 담당한다. 본 연구에서 구미강활탕 투여에 의해 폐포 대식세포의 분포가 증가한 것을 확인하였다. 이는 구미강활탕이 호흡기의 염증반응 또는 외부 환경항원에 대한 감수성을 낮추는 효과가 있는 것을 설명할 수 있다. 또한, 급성 호흡기 염증의 경우 Th2세포가 IL-5를 분비하여 호산구 생존과 활성을 증가시키는 것이 잘 알려져 있다. 활성화된 호산구는 MBP 및 ECP와 같은 granule을 분비하여 염증을 유발한다. 본 연구에서 구미강활탕 투여 후 Th2 세포 및 호산구의 분포가 감소한 것을 확인하였다.

이번 연구결과를 통해 급성 호흡기 염증에서 핵심적인 선천세포로 알려진 호산구의 분포가 BALF와 NALF에서 감소한 것을 확인하였다. 또한 이는 대표적인 후천 면역세포인 Th2 세포의 분포 감소 및 IL-5의 분비 감소로 인한 것으로 보인다. 뿐만 아니라, 면역학적 항상성을 유지하는 것으로 알려진 폐포 대식세포의 분포가 구미강활탕 투여를 통해 증가되는 경향성을 확인한 것이 특징적이라 할 수 있다. 추후 좀더 세포내 signaling을 비롯한 구체적인 매개체 및 구미강활탕 구성 품 중 핵심 분초 또는 화합물을 규명하는 연구가 추가적으로 이뤄지길 기대해본다.

## V. Conclusions

- 1) 구미강활탕 투여는 papain으로 유도된 호흡기 염증모델에서 기관지 폐포 세척액 및 비강세척액의 호산구의 침윤을 완화한다.
- 2) 구미강활탕 투여는 papain으로 유도된 호흡기 염증모델에서 폐 조직 내 Th2 세포의 분포를 감소시킨다.
- 3) 구미강활탕 투여는 papain으로 유도된 호흡기 염증모델에서 폐 조직 내 alveolar macrophage 세포의 분포를 증가시킨다.

## Acknowledgement

본 결과물은 2023년도 교육부의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 지자체-대학 협력 기반 지역혁신 사업의 결과입니다(2022RIS-005).

## Conflicts of Interest

본 논문의 출판과 관련하여 연구비 지원기관은 연구의 설계, 자료 수집과 분석, 출판결정, 원고 작성에 어떠한 영향도 없었음을 밝힙니다.

## References

1. Holgate, S.T. Innate and adaptive immune responses in asthma. *Nature Medicine*. 2012; 18:673-683.
2. Pawankar, R. Allergic diseases and asthma: a global public health concern and a call to action. *World Allergy Organ*. 2014.
3. Cates, C.J., Jaeschke, R., Schmidt, S., Ferrer, M. Regular treatment with formoterol and inhaled steroids for chronic asthma: serious adverse events. *Cochrane Database Systemic Review*. 2013.
4. Wener, R.R., Bel, E.H. Severe refractory asthma: an update. *European Respiratory Review*. 2013;22:227-235.
5. Slader, C.A., Reddel, H.K., Jenkins, C.R.,

- Armour, C.L., Bosnic-Anticevich, S.Z. Complementary and alternative medicine use in asthma: who is using what?. *Respirology*. 2006;11:373-387.
6. Li, X.M. Treatment of asthma and food allergy with herbal intervention from traditional Chinese medicine. *Mount Sinai Journal of Medicine: A Journal of Traditional and Personalized Medicine*. 2011;78:697-716.
  7. Zhang, T., Srivastava, K., Wen, M.C., Yang, N., Cao, J., Busse, P., Birmingham, N., Goldfarb, J., Li, X.M. Pharmacology and immunological actions of a herbal medicine ASHMI on allergic asthma. *Phytotherapy Research*. 2010;24(7):1047-1055
  8. Lambrecht, B.N., Hanmmad, H. The immunology of asthma. *Nature Immunology*. 2015; 16:45-56.
  9. Kim, H.Y., Dekruyff, R.H., Umetsu, D.T. The many paths to asthma: phenotype shaped by innate and adaptive immunity. *Nature Immunology*. 2010;11:577-584.
  10. Foster, P.S., Mould, A.W., Yang, M., Mackenzie, J., Mattes, J., Hogan, S.P., Mahalingam, S., Mackenzie, A.N., Rothenberg, M.E., Young, I.G., Matthaei, K.I., Webb, D.C. Elemental signals regulating eosinophil accumulation in the lung *Immunological Reviews*. 2001;179(1):173-181.
  11. Rosenberg, H.F., Dyer, K.D., Foster, P.S. Eosinophils: changing perspectives in health and diseases. *Nature Reviews Immunology*. 2012;13:9-22.
  12. Isobe, Y., Kato, T., Arita, M. Emerging roles of eosinophils and eosinophil-derived lipid mediators in the resolution of inflammation. *Frontiers in Immunology*. 2012;3:270.
  13. Kato, M., Suzuki, M., Hayashi, Y., Kimura, H. Role of eosinophils and their clinical significance in allergic inflammation. *Experimental Review Clinical Immunology*. 2006;2: 121-133.
  14. Uhm, T.G., Kim, B.S., Chung, I.Y. Eosinophil development, regulation of eosinophil-specific genes, and role of eosinophils in the pathogenesis of asthma. *Allergy, Asthma Immunology Research*. 2012;4:68-79.
  15. Kang, D., Kim, J.E. Fine, ultrafine, and yellow dust: emerging health problems in Korea. *Journal of Korean Medical Science*. 2014;29 (5):621-622.
  16. Kim, H.-S., Kim, D.-S., Yi, S.-M. Relationship between mortality and fine particles during Asian dust, smog-Asian dust, and smog days in Korea. *International Journal of Environmental Health Research*. 2012;22 (6):518-530.
  17. Walford, H.H., Doherty, T.A. Diagnosis and management of eosinophilic asthma: a US perspective. *Journal of Asthma and Allergy*. 2014;7:53-65.
  18. Kay, A.B. Allergy and allergic disease. First of two parts. *New England Journal of Medicine*. 2001;344(1):30-37.
  19. Rose Jr., C.E., Lannigan, J.A., Kim, P., Lee, J.J., Fu, S.M., Sung, S.S. Muring lung eosinophil activation and chemokine production in allergic airway inflammation. *Cell and Molecular Immunology*. 2010;7:361-374.
  20. Chu, D.K., Jimenez-Saiz, R., Verschoor, C.P., Walker, T.D., Goncharova, S., Llop-Guevara, A., Shen, P., Gordon, M.E., Barra, N.G., Bassett, J.D., Kong, J., Fattouh, R., McCoy, K.D., Bowdish, D.M., Erjefalt, J.S., Pabst, O., Humbles, A.A., Kolbeck, R., Wasserman, S., Jordana, M. Indigenous enteric eosinophils control DCs to initiate a primary Th2 immune response in vivo. *Journal of Experimental Medicine*. 2014;211(8):1657-1672.
  21. Lim, H.F., Nair, P. Efficacy and safety of reslizumab in patients with moderate to severe eosinophilic asthma. *Expert Review of Respiratory Medicine*. 2015;9(2):135-142.
  22. Saradna, A., Do, D.C., Fu, Q.-L., Gao, P.

- Macrophage polarization and allergic asthma, *Translational Research*. 2017;191:1-14.
23. Jiang, Z., Zhu, L. Update on the role of alternatively activated macrophages in asthma, *Journal of Asthma and Allergy*. 2016;9:101-107.
24. Song, X., Xie, S., Lu, K., Wang, C. Mesenchymal stem cells alleviate experimental asthma by inducing polarization of alveolar macrophages. *Inflammation*. 2015;38:483-492.
25. Tan, H.Y., Wang, N., Li, S., Hong, M., Wang, X., Feng, Y. The Reactive Oxygen Species in Macrophage Polarization: Reflecting its dual role in progression and treatment of human disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2016;2795090.
26. Kwon, B.-I., Hong, S.C., Shin, K., Choi, E.-H., Hwang, J.-J., Lee, S.-H. Innate type2 Immunity is Associated with Eosinophilic Pleural Effusion in Primary Spontaneous Pneumothorax. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2013;188:577-585.
27. Kwon, B.-I., Kim, T.W., Shin, K., Kim, Y. H., Yuk, C.M., Yuk, J.-M., Shin, D.-M., Jo, E.-K., Lee, C.-H., Lee, S.-H. Enhanced Th2 cell differentiation and function in the absence of Nox2. *Allergy*. 2017;72(2):252-265.
28. Shin, K., Kataru, R.P., Park, H.J., Kwon, B.-I., Kim, T.W., Hong, Y.K., Lee, S.-H. Th2 cells and their cytokines regulate formation and function of lymphatic vessels. *Nature communications*. 2017;DOI:10.1038/ncomms7196.