

## 神秘湯 및 加味神秘湯이 Allergy 천식 모델 흰쥐의 BALF내 면역세포 및 혈청 IgE에 미치는 영향에 관한 연구

김승수, 정희재, 정승기, 이형구  
경희대학교 한의과대학 내과학교실

### The Effects of *Shinbi-tang* and *Gamishinbi-tang* on Immune Cell and Serum OA-specific IgE in BALF in Rat Asthma Model

Seung-Soo Kim, Hee-Jae Jung, Sung-Ki Jung, Hyung-Koo Rhee

Department of Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Kyunghee University.

**Background** : Asthma is a chronic inflammatory disorder under immunological influence. *Shinbi-tang* and *Gamishinbi-tang* are herbal decoctions used for treating asthma in traditional herbal medicine.

**Objective** : To evaluate the effects of *Shinbi-tang* and *Gamishinbi-tang* on immune cell & serum OA-specific IgE in broncho-alveolar lavage fluid (BALF) in rat asthma model.

**Material and Methods** : Rats were sensitized with ovalbumin (OA); at day 1 sensitized group and *Shinbi-tang* and *Gamishinbi-tang* groups were systemically immunized by subcutaneous injection of 1mg OA and 300mg of Al(OH)<sub>3</sub> in a total volume of 2ml. At the same time, 1ml of 0.9% saline containing  $6 \times 10^8$ B. pertussis bacilli was injected by i.p. 14 days after the systemic immunization, rats received local immunization by inhaling 0.9% saline aerosol containing 2%(wt/vol) OA. A day after local immunization, BAL fluid was collected from the rats. Rats were orally administered with each of *Shinbi-tang* and *Gamishinbi-tang* extract for 14 days from the day after local immunization. Lymphocyte, CD4+T cell CD8+T cell counts, CD4+/CD8+ ratio in BALF, change of serum OA-specific IgE level, CD4+T cell CD8+T cell percentages in the peripheral blood were measured and evaluated.

**Results** : *Shinbi-tang* and *Gamishinbi-tang* showed an alleviating effect on asthmatic responses of rats. *Shinbi-tang* decreased total cell, lymphocyte, CD4+T cell in BALF, serum OA-specific IgE level as compared with the control group. *Gamishinbi-tang* decreased total cell, lymphocyte, CD4+T cell, and CD4+/CD8+ ratio in BALF as compared with the control group. CD4+/CD8+ ratio in BALF from *Shinbi-tang* group and serum OA-specific IgE level from *Gamishinbi-tang* group didn't show any significant variation from control group. CD8+ T cell in BALF, CD3+CD4+ T cell and CD3+CD8+ T cell percentages in peripheral blood showed no significant variation among groups.

**Conclusion** : *Shinbi-tang* and *Gamishinbi-tang* alleviated asthmatic hyperreactivity of the rat immune system through CD4+ T cell and serum IgE. Further the study of immune system modulating mechanism is expected. (*J Korean Oriental Med* 2002;23(2):198-210)

**Key Words**: Asthma, *Shinbi-tang*(shenmitang), *Gamishinbi-tang*(jiaweishenmitang), Broncho- alveolar lavage fluid(BALF), CD4+T cell, CD8+T cell, IgE

## 서 론

지금까지 한의학에서 哮喘證, 기관지천식 및 allergy 질환에 대하여 문헌적<sup>1-4)</sup> 실험적<sup>5-11)</sup> 임상적<sup>12-16)</sup> 연구가 지속되어 왔으며 최근의 실험 연구에는 小青龍湯<sup>9)</sup>, 五拗湯<sup>6)</sup>, 解表二陳湯<sup>8)</sup>, 清上補下湯<sup>7)</sup> 등으로 천식 유발된 흰쥐에 대한 호흡양상의 변화를 관찰하였고, 麥門冬湯으로는 천식 유발된 흰쥐의 폐기관지세척액에서 allergy와 관련된 면역물질인 lymphocyte, CD4+ T세포, CD8+ T세포의 변화를 관찰하였고<sup>5)</sup> 분자생물학적 연구도 보고된 것이 있다<sup>17-21)</sup>. 임상적으로는 哮喘證에 투여한 한약에 대한 임상결과<sup>12-14)</sup> 외에도, 스테로이드 의존적 환자에서 스테로이드 투여용량을 감소시키거나 조기에 중지하는 효과도 보고되었고<sup>22)</sup>, 천식에 대한 침구치료의 유효성도 알려져 있다<sup>23)</sup>.

神秘湯은 東醫寶鑑<水喘><sup>24)</sup>에서 上氣喘急, 不得臥, 臥則喘者에 사용된다고 하였으며, 紫蘇葉, 陳皮, 桑白皮, 人蔘, 赤茯苓, 半夏, 木香, 生薑으로 구성된 처방으로 疏風清熱 定喘瀉肺 등의 작용을 가지고 있다. 加味神秘湯은 神秘湯에서 木香을 增量하고 蒼朮, 香附子, 桔梗, 麻黃, 杏仁, 貝母, 當歸, 川芎, 乾地黃, 白芍藥, 金銀花, 遠志를 첨가하여 神秘湯의 定喘瀉肺 효능을 증대시키기 위하여 구성된 처방으로 이들 처방에 대한 연구는 아직 없었다.

이에 저자는 神秘湯과 加味神秘湯의 allergy 천식 및 면역에 대한 효능을 알아보기 위하여 감각된 흰쥐에 ovalbumin을 흡입시켜 allergy천식 병태를 유발

시키고 神秘湯과 加味神秘湯을 경구투여한 후 흰쥐의 폐기관지세척액(bronchoalveolar lavage fluid, BALF)내 total cell수, lymphocyte 數, CD4+ T세포수, CD8+ T세포수, CD4+/CD8+ 비율의 변화를 측정하고, 혈청 IgE 량의 변화 및 末梢혈액내의 CD4+ T세포수, CD8+ T세포수의 변화를 측정하였던 바 유의한 결론을 얻었기에 보고하는 바이다.

## 실 험

### 1. 동물 및 재료

#### 1) 동물

체중 200±20g의 Sprague-Dawley계 흰쥐를 사용하였으며, 고형사료(구성성분: 조단백질 21.1% · 조지방 3.5% · 조섬유 5.0% · 조회분 8.0% · 칼슘 0.6% · 인 0.6%)와 물을 충분히 공급하면서 실험실 환경에서 2주 이상 적응시킨 후 사용하였다.

#### 2) 재료

##### (1) 약재

약재는 경희의료원 약제과에서 구입하였으며, 東醫寶鑑에 수록된 神秘湯<sup>25)</sup> 및 加味神秘湯으로 한 칩의 내용과 분량은 다음과 같다(Table I, II).

##### (2) 시약

Ovalbumin(OA, grade V, salt-free, crystallized and lyophilized)은 Sigma Chemical Co.(U.S.A)제품을 사용하였으며, Aluminum hydroxide(Al(OH)<sub>3</sub>)은 Aldrich Chemical Co.(U.S.A)제품을, Bordetella pertussis

Table 1. Composition and Dosage of Shinbi-tang(神秘湯)

Herbs	Scientific Name	Dose(g)
紫蘇葉	<i>Liripois Tuber</i>	8.0
桑白皮	<i>Mori Cortex Radicis</i>	8.0
陳皮	<i>Aurantii Nobilis Pericarpium</i>	8.0
人蔘	<i>Ginseng Radix</i>	4.0
赤茯苓	<i>Poria</i>	4.0
半夏	<i>Pinelliae Tuber</i>	4.0
木香	<i>Aucklandiae Radix</i>	2.0
生薑	<i>Zingiberis Rhizoma Recens</i>	6.0
Total amount(g)		44.0

**Table 2.** Composition and Dosage of *Gamishinbi-tang*(加味神秘湯)

Herbs	Scientific Name	Dose(g)
紫蘇葉	<i>Perillae Folium</i>	8.0
桑白皮	<i>Mori Cortex Radicis</i>	8.0
陳皮	<i>Citri Pericarpium</i>	8.0
蒼朮	<i>Atractylodis Rhizoma</i>	8.0
香附子	<i>Cyper Rhizoma</i>	4.0
白芍藥	<i>Paeoniae Radix Alba</i>	4.0
人參	<i>Ginseng Radix</i>	4.0
赤茯苓	<i>Poria</i>	4.0
半夏	<i>Pinelliae Rhizoma</i>	4.0
木香	<i>Aucklandiae Radix</i>	4.0
桔梗	<i>Platycodi Radix</i>	4.0
麻黃	<i>Ephedrae Herba</i>	4.0
杏仁	<i>Ansu Semen</i>	4.0
貝母	<i>Fritillariae Cirrhosae Bulbus</i>	4.0
當歸	<i>Angelicae gigantis Radix</i>	4.0
川芎	<i>Cnidii Rhizoma</i>	4.0
乾地黃	<i>Rehmanniae Radix</i>	4.0
金銀花	<i>Lonicerae Flos</i>	4.0
遠志	<i>Polygalae Radix</i>	4.0
生薑	<i>Zingiberis Rhizoma Recens</i>	6.0
Total amount(g)		98.0

vaccine(containing  $2 \times 10^{11}$  killed bacilli/ml)는 Wako Pure Chemical Industries(Japan)제품을 사용하였다. T 임파구 표면항원에 대한 monoclonal 항체는 FITC(Fluoresceinisothiocyanate) anti-rat CD4+ monoclonal antibody 및 PE(Phycoerythria) anti-rat CD8+ monoclonal antibody는 Cedarlane Laboratories(Ontario, Canada)제품을, Mouse IgG1-PE, Mouse IgG1-FITC, Rat CD4-PE, Rat CD8-PE는 Immunotech(U.S.A)제품을, Rat CD3-FITC는 Pharmingen(U.S.A)제품을, monoclonal antibody to rat B-cell은 Caltag laboratories(U.S.A)제품을 사용하였고, lymphoprep은 Nycomed pharma(Norway)제품을 사용하였다. IgE monoclonal antibody는 Zymed(Calif. U.S.A)제품을, Carbonate-bicarbonate buffer 와 Bovine-biotin labeled albumin은 Sigma Chemical Co.(U.S.A)제품을 Horseradish peroxidase-streptavidin 과 o-phenylenediamine solution은 Zymed(Calif. U.S.A)제품을 사용하였다.

## 2. 방법

### (1) 실험군 설정

실험군은 한 군에 10마리씩 배정하여 정상군(Normal), 대조군(Control), 神秘湯투여군(SB) 및 加味神秘湯투여군(GSB)으로 설정하였다. 정상군은 고형 사료와 물만을 충분히 공급하였고, 대조군은 정상군과 동일한 환경에서 allergy 천식을 유발하였고, 神秘湯투여군과 加味神秘湯투여군은 대조군과 동일한 방법으로 allergy 천식을 유발한 후 각각 神秘湯과 加味神秘湯을 투여하였다.

### (2) Allergy 천식 유발

Allergy 천식 유발은 Bellofiore등의 방법에 따라 첫째 날 ovalbumin(OA) 1mg과 Al(OH)<sub>3</sub> 300mg의 0.9% saline 2ml에 녹여 피하 주사하고,  $6 \times 10^9$  B. pertussis bacilli를 포함한 0.9% saline 1ml를 복막내로 주입하여 immunization을 시켰다. 전신적인 immunization 후 14일째, 동물들은 2% (wt/vol) OA를 함유한 0.9% saline aerosol을 흡입시킴으로써 항원감작에 의한 천식을 유발시켰다. Aerosol은 ultrasonic nebulizer에 의해 만들어졌고, 20분간 흡입시켰다.

### (3) 검액의 준비

상기한 神秘湯과 加味神秘湯 10척 분량을 각각 5,000cc의 등근 플라스크에 3,000cc의 증류수와 함께 넣은 다음 냉각기를 부착하고 3시간 동안 전당하여 0.2 $\mu$ m filter로 여과한 여액을 rotary vacuum evaporator(EYELA, Japan)에서 감압 농축하였다. 이 농축액을 -80 $^{\circ}$ C deep freezer(SANYO, Japan)에서 한시간 방치한 후 freezer dryer(EYELA, Japan)로 24시간 동안 동결건조하여 神秘湯 59.0g과 加味神秘湯 90.0g의 분말을 얻었다. 이를 실험에 필요한 농도로 증류수에 녹여 조정하여 50ml conical tube(Falcon, U.S.A)에 넣어 2-4 $^{\circ}$ C의 냉장고에 보관하였으며, 사용할 때 water bath에 넣어 gel상태를 완전히 녹여 사용하였다.

### (4) 검액 투여

Allergy 천식을 유발한 다음 이틀째 되는 날부터 神秘湯과 加味神秘湯 추출물 각각 118mg/200g, 180mg/200g 검액을 증류수로 희석하여 실험군의 흰쥐에 1일 1회 14일간 일정한 시각에 1ml씩 경구 투여하였다. 대조군은 동량의 식염수를 경구 투여하였다.

### (5) 채혈

천식유발 24시간 후인 15일째 클로로포름으로 마취시킨 다음 심장을 천자하여 혈액을 EDTA (Ethylene Diamine Tetraacetic Acid Dipotassium Salt)가 들어 있는 병에 넣고 잘 섞어 응고를 방지한 뒤 사용하였다.

### (6) Broncho-alveolar lavage(BAL)과 BAL fluid(BALF) 내의 세포관찰

기관지의 염증반응을 조사하기 위해서 OA aerosol 흡입 다음날에 폐기관지세척을 시행하였다. 0.1% EDTA 2Na를 포함한 PBS(Phosphate buffered saline; Sodium Chloride 8g, Pottassium Chloride 0.2g, Disodium Hydrogen Phospate 1.15g, Pottassium Dihydrogen Phospate 0.2g, Calcium Chloride 0.0005g, Magnesium Chloride 0.0005g) 4ml를 3번 주입하여 폐기관지를 세척한 후에 BALF를 얻었다. 부피는 원래 부피의 대략 평균 80%로 전체 세포수는 hemocytometer를 사용해서 측정하였다. 임파구수는 BALF에 lymphoprep (1.077 $\pm$ 0.0001 g/ml, Nycomed

Pharma As, Oslo, Norway)를 첨가하여 25분 동안 2000 rpm에서 원심 분리한 후 상층을 버리고, 중간에 하얗게 부유해 있는 lymphocyte를 분리한 다음 PBS에 부유시켜 220G에서 10분간 3회 원심 세척한 후, RPMI 1640 medium에 부유시키고, 광학 현미경을 이용하여 trypan blue exclusion으로 세포수를 측정하였다.

### (7) 폐기관지세척액(BALF) 내의 CD4+ T cell과 CD8+ T cell 측정

RPMI 1640에 부유시킨 각 임파구 세포를 media A (pH 7.2 PBS + 5% normal serum of host species + 2 M sodium azide)에 2 $\times$ 10<sup>7</sup> cells/ml의 농도로 세포를 재부유시키고, 시험관에 세포부유액 50  $\mu$ l씩 넣어서 시험관마다 1 $\times$ 10<sup>6</sup>개의 세포가 존재하게 하였다. 각 시험관에 FITC anti-rat CD4+ monoclonal antibody (Cedarlane, Ontario, Canada)와 PE anti-rat CD8+ monoclonal antibody (Cedarlane, Ontario, Canada)를 각각 0.5  $\mu$ g씩 가하고, vortex mixer로 잘 섞은 다음 이 혼합액을 빛이 차단되도록 알루미늄 호일로 싸우고 4 $^{\circ}$ C에서 30분간 배양한 뒤, 4 $^{\circ}$ C에서 PBS로 2회 세척하고, 50  $\mu$ l의 ice cold media B (pH 7.2 PBS + 0.5% Bovine serum albumin + 2 M sodium azide)에서 cell pellet을 재부유시킨 후 형광현미경을 이용하여 임파구에 대한 CD4+ 및 CD8+ T 세포율을 측정하였다. 세포수는 산출된 lymphocyte에 CD4+, CD8+의 비율을 곱하여 계산하였다.

### (8) 말초 혈액내 CD4+ T cell 비의 변화

심장에서 채혈된 혈액을 EDTA tube에 담고, 12 $\times$ 75mm 시험관에 100 $\mu$ l를 넣었다. FITC anti-rat CD3 monoclonal antibody를 1 $\mu$ l 가하고, 다시 PE anti-rat CD4 monoclonal antibody를 5  $\mu$ g 가한 다음 vortex mixer로 잘 섞고 암소에서 30분간 방치한 후, lysing solution(FACS lysing solution, Becton dickinson, U.S.A) 2ml를 가하여 잘 섞은 다음 다시 15분간 암소에 방치하였다. Lysis를 확인하고 원심분리기에서 1000rpm, 5분간 원심분리 한 뒤 상층액을 버리고 2ml의 washing solution(PBS)을 가한 후 다시 1000rpm, 5분간 원심분리한 다음 상층액을 버리고 500 $\mu$ l의 PBS를 가하여 vortex mixer로 잘 섞은 후 flow

cytometer(Becton dickinson, U.S.A)로 분석하였다.

(9) 말초 혈액내 CD8+ T cell 비의 변화

심장에서 채혈된 혈액을 EDTA tube에 담고, 12×75mm 시험관에 100μl을 넣었다. FITC anti-rat CD3 monoclonal antibody를 0.1μl 가하고, 다시 PE anti-rat CD8 monoclonal antibody를 0.5 μg 가한 다음 vortex mixer로 잘 섞고 암소에서 30분간 방치한 후, lysing solution(FACS lysing solution, Becton dickinson, U.S.A) 2ml를 가하여 잘 섞은 다음 다시 15분간 암소에 방치하였다. Lysis를 확인하고 원심분리기에서 1000rpm, 5분간 원심분리 한 뒤 상층액을 버리고 2 ml의 washing solution(PBS)을 가한 후 다시 1000rpm, 5분간 원심분리한 다음 상층액을 버리고 500μl의 PBS를 가하여 vortex mixer로 잘 섞은 후 flow cytometer(Becton dickinson, U.S.A)로 분석하였다.

(10) OA-specific IgE Ab Assay

Serum은 15일째에 심장천자를 통해 얻었다. Microtiter plates (Maxisorp, Nunc, Roskilde, Denmark)는 24시간 동안 4℃에서 100μl/well of anti-rat IgE monoclonal Ab(Zymed, Calif., U.S.A, 5μg/ml in 0.05 M carbonate-bicarbonate buffer, pH 9.5)로 coating한 후에 0.05% Tween 20 (PBSTW)를 함유한 PBS로 4번 세척하였고, 그 다음 1% bovine serum albumin (BSA)를 포함한 PBSTW로 실온에서 1시간동안 2-fold serial dilution 100μl의 standard serum이나 적절하게 희석된 sample serum과 함께 배양하였다. PBSTW

로 세척한 후에, PBSTW(with 1% BSA)에 100μl biotinylated OA(50μg/ml)를 녹여 각각의 well에 가해서 1시간 동안 실온에서 배양하였다. 세척 후에 100μl horseradish peroxidase-streptavidin(0.5μg/ml in PBSTW with 1% BSA, Zymed)은 각 well에 plate하였다. PBSTW로 마지막 세척을 한 후에, 0.035% H2O2를 포함한 100μl o-phenylenediamine solution (1.5mg/ml in citrate-phosphate buffer, pH 5.0, Zymed, Calif., U.S.A)을 각 well에 가하였다. 효소 반응은 50μl 14N H2SO4를 가함으로써 정지되고, 490nm에서 흡광도는 automater plate reader로 읽었다. Ab titer는 standard curve로 결정하였다. 1:100으로 희석된 standard serum의 흡광도는 임의로 1U/ml로 하였다.

3. 통계분석

모든 통계분석은 윈도우용 SPSS(ver. 8.0)를 이용하여 실시하였다. 기술통계학적 분석을 통해 각 집단에서의 측정값을 평균±표준오차로 요약하였으며, 각 집단간의 유의성은 ANOVA test with multiple comparisons(Duncan's method)으로 분석하였고, 유의수준은 0.05로 하였다.

성 적

1. 폐기관지세척액(BALF)내 총세포 수의 변화

폐기관지세척액내의 총세포수(total cell)는 정상군은

Table 3. Effects of Shinbi-tang and Gamishinbi-tang on the Total Cell in Broncho-Alveolar Lavage Fluid of Ovalbumin Induced Asthmatic Rat

Group	No. of animal	Total cells in BALF(× 105/ml)	Duncan Grouping
Normal	10	9.16 ± 1.47 <sup>1)</sup>	A <sup>2)</sup>
Control	10	29.21 ± 3.49	C
SB	10	22.76 ± 2.00	B
GSB	10	20.06 ± 2.20	B

F-value: 11.994 \*

1) Mean ± Standard Error

2) Means with the same letter(A, B, C) are not significantly different at α=0.05 level by Duncan test.

\* calculated by ANOVA test

Normal: Non-treated group

Control: Group sensitized with ovalbumin

SB: Group treated with Shinbi-tang for 14 days

GSB: Group treated with Gamishinbi-tang for 14 days

9.16±1.47 (×10<sup>6</sup>/ml), 대조군은 29.21±3.49 (×10<sup>6</sup>/ml), 神秘湯투여군은 22.76±2.00 (×10<sup>6</sup>/ml), 加味神秘湯투여군은 20.06±2.20 (×10<sup>6</sup>/ml)개로 유의한 차이가 있었으며(F=11.994, P=0.0001), 神秘湯투여군과 加味神秘湯투여군에서는 총세포수가 대조군에 비하여 유의성 있는 증가억제 효과가 나타났다(Table III).

2. 폐기관지세척액(BALF)내 lymphocyte 수의 변화  
폐기관지세척액내의 lymphocyte 수는 정상군은 4.74±1.41 (×10<sup>5</sup>/ml), 대조군은 16.80±2.69 (×10<sup>5</sup>/ml), 神秘湯투여군은 11.01±1.21 (×10<sup>5</sup>/ml) 加味神秘湯투여군은 9.84±1.37 (×10<sup>5</sup>/ml)개로 유의한 차이가 있었으며(F=7.774, P=0.0001), 神秘湯투여군과 加味神秘湯투여군에서는 lymphocyte 수가 대조군에 비하여 유의

성 있는 증가억제 효과가 나타났다(Table IV).

3. 폐기관지세척액(BALF)내 CD4+ T cell 수의 변화  
폐기관지세척액내의 CD4+ T cell 수는 정상군은 4.00±1.30 (×10<sup>5</sup>/ml), 대조군은 13.53± 2.03 (×10<sup>5</sup>/ml), 神秘湯투여군은 9.12±1.08 (×10<sup>5</sup>/ml), 加味神秘湯투여군은 7.87±1.15 (×10<sup>5</sup>/ml)개로 유의한 차이가 있었으며(F=7.347, P=0.001), 神秘湯투여군과 加味神秘湯투여군에서는 CD4+ T cell 수가 대조군에 비하여 유의성 있는 증가억제 효과가 나타났다(Table V).

4. 폐기관지세척액(BALF)내 CD8+ T-cell 수의 변화  
폐기관지세척액내의 CD8+ T cell 수는 정상군은 8.81±1.47 (×10<sup>5</sup>/ml), 대조군은 17.02±2.61 (×

**Table 4.** Effects of *Shinbi-tang* and *Gamishinbi-tang* on Lymphocytes in Broncho-Alveolar Lavage Fluid of Ovalbumin Induced Asthmatic Rat

Group	No. of animal	lymphocytes in BALF(×10 <sup>4</sup> /ml)	Duncan Grouping
Normal	10	4.74±1.41 <sup>1)</sup>	A <sup>2)</sup>
Control	10	16.80±2.69	C
SB	10	11.01±1.21	B
GSB	10	9.84±1.37	B

F-value: 7.774 \*

1) Mean±Standard Error  
2) Means with the same letter are not significantly different at α=0.05 level by Duncan test.  
\* calculated by ANOVA test  
Normal: Non-treated group  
Control: Group sensitized with ovalbumin  
SB: Group treated with Shinbi-tang for 14 days  
GSB: Group treated with Gamishinbi-tang for 14 days

**Table 5.** Effects of *Shinbi-tang* and *Gamishinbi-tang* on Lymphocytes in Broncho-Alveolar Lavage Fluid of Ovalbumin Induced Asthmatic Rat

Group	No. of animal	lymphocytes in BALF(×10 <sup>7</sup> /ml)	Duncan Grouping
Normal	10	4.74±1.41 <sup>1)</sup>	A <sup>2)</sup>
Control	10	16.80±2.69	C
SB	10	11.01±1.21	B
GSB	10	9.84±1.37	B

F-value: 7.774 \*

1) Mean±Standard Error  
2) Means with the same letter are not significantly different at α=0.05 level by Duncan test.  
\* calculated by ANOVA test  
Normal: Non-treated group  
Control: Group sensitized with ovalbumin  
SB: Group treated with Shinbi-tang for 14 days  
GSB: Group treated with Gamishinbi-tang for 14 days

10<sup>6</sup>/ml)개, 神秘湯투여군은 15.18±2.31 (×10<sup>6</sup>/ml)개, 加味神秘湯투여군은 13.65±1.78 (×10<sup>6</sup>/ml)개로 유의한 차이가 인정되지 않았다(F=2.816, P=0.053)(Table VI).

5. 폐기관지세척액내 CD4+/CD8+ 비율의 변화

폐기관지세척액내의 CD4+/CD8+의 비율은 정상군은 4.38±1.23, 대조군은 10.31±1.35, 神秘湯투여군은 7.22±1.33 加味神秘湯투여군은 6.26±0.91개로 유의한 차이가 있었으며(F=4.108, P=0.013), 神秘湯투여군에서는 유의한 차이가 없었고, 加味神秘湯투여군에서는 유의성 있는 증가억제 효과가 나타났다(Table VII).

6. 혈청내 IgE 량의 변화

혈청내 IgE 량을 측정 한 결과 정상군은 1.42±0.24

(U/ml), 대조군은 3.79±0.39 (U/ml), 神秘湯투여군은 2.70±0.32 (U/ml), 加味神秘湯투여군은 2.87±0.30 (U/ml)로 집단 간 혈청내 IgE 량은 통계적으로 유의한 차이가 있었으며(F=9.217, P=0.0001), 神秘湯투여군에서는 대조군에 비하여 유의성있는 감소효과가 나타났으나, 加味神秘湯투여군에서는 대조군과 유의성 있는 감소효과가 나타나지 않았다(Table VIII).

7. 말초혈액내 CD3+CD4+ T cell 비의 변화

말초혈액내의 CD3+CD4+ T cell 비를 측정 한 결과 정상군은 38.63±2.40 (%), 대조군은 41.21±1.97 (%), 神秘湯투여군은 39.64±2.17 (%), 加味神秘湯투여군은 37.79±2.26 (%)로 나타나 유의한 차이가 인정되지 않았다(F=0.441, P=0.725)(Table IX).

**Table 6.** Effects of *Shinbi-tang* and *Gamishinbi-tang* on CD4+ T Cell in Broncho-Alveolar Lavage Fluid of Ovalbumin Induced Asthmatic Rat

Group	No. of animal	CD4+ T-cell in BALF(×10 <sup>6</sup> /ml)	Duncan Grouping
Normal	10	4.00±1.30 <sup>1)</sup>	A <sup>2)</sup>
Control	10	13.53±2.03	C
SB	10	9.12±1.08	B
GSB	10	7.87±1.15	AB
F-value: 7.347 *			

1) Mean±Standard Error

2) Means with the same letter are not significantly different at α=0.05 level by Duncan test.

\* calculated by ANOVA test

Normal: Non-treated group

Control: Group sensitized with ovalbumin

SB: Group treated with Shinbi-tang for 14 days

GSB: Group treated with Gamishinbi-tang for 14 days

**Table 7.** Effects of *Shinbi-tang* and *Gamishinbi-tang* on CD8+ T Cell in Broncho-Alveolar Lavage Fluid of Ovalbumin Induced Asthmatic Rat

Group	No. of animal	CD8+ T-cell in BALF(×10 <sup>6</sup> /ml)
Normal	10	8.81±1.47 <sup>1)</sup>
Control	10	17.02±2.61
SB	10	15.18±2.31
GSB	10	13.65±1.78
F-value: 2.816 *		

1) Mean±Standard Error

\* calculated by ANOVA test

Normal: Non-treated group

Control: Group sensitized with ovalbumin

SB: Group treated with Shinbi-tang for 14 days

GSB: Group treated with Gamishinbi-tang for 14 days

**Table 8.** Effects of *Shinbi-tang* and *Gamishinbi-tang* on CD4+/CD8+ Cell Ratio Broncho-Alveolar Lavage Fluid of Ovalbumin Induced Asthmatic Rat

Group	No. of animal	CD4+/CD8+ ratio in BALF	Duncan Grouping
Normal	10	4.38 ± 1.23 <sup>1)</sup>	A <sup>2)</sup>
Control	10	10.31 ± 1.35	B
SB	10	7.22 ± 1.33	AB
GSB	10	6.26 ± 0.91	A
F-value: 4.108 *			

1) Mean ± Standard Error

2) Means with the same letter are not significantly different at α=0.05 level by Duncan test.

\* calculated by ANOVA test

Normal: Non-treated group

Control: Group sensitized with ovalbumin

SB: Group treated with *Shinbi-tang* for 14 days

GSB: Group treated with *Gamishinbi-tang* for 14 days

**Table 9.** Effects of *Shinbi-tang* and *Gamishinbi-tang* on IgE Level in Serum of Ovalbumin Induced Asthmatic Rat.

Group	No. of animal	OA-specific IgE levels(U/ml)	Duncan Grouping
Normal	10	1.42 ± 0.24 <sup>1)</sup>	A <sup>2)</sup>
Control	10	3.79 ± 0.39	C
SB	10	2.70 ± 0.32	B
GSB	10	2.87 ± 0.30	BC
F-value: 9.217 *			

1) Mean ± Standard Error

2) Means with the same letter are not significantly different at α=0.05 level by Duncan test.

\* calculated by ANOVA test

Normal: Non-treated group

Control: Group sensitized with ovalbumin

SB: Group treated with *Shinbi-tang* for 14 days

GSB: Group treated with *Gamishinbi-tang* for 14 days

**Table 10.** Effects of *Shinbi-tang* and *Gamishinbi-tang* on CD3+CD4+ T Cell in Blood of Ovalbumin Induced Asthmatic Rat.

Group	No. of animal	CD3+CD4+ T-cell in Blood(%)
Normal	10	38.63 ± 2.40 <sup>1)</sup>
Control	10	41.21 ± 1.97
SB	10	39.64 ± 2.17
GSB	10	37.79 ± 2.26
F-value: 0.441 *		

1) Mean ± Standard Error

\* calculated by ANOVA test

Normal: Non-treated group

Control: Group sensitized with ovalbumin

SB: Group treated with *Shinbi-tang* for 14 days

GSB: Group treated with *Gamishinbi-tang* for 14 days

8. 말초혈액내 CD3+CD8+ T cell 비의 변화  
말초혈액내의 CD3+CD8+ T cell 비를 측정 한 결과 정상군은 17.84 ± 2.13 (%), 대조군은 20.86 ± 1.19 (%),

神秘湯투여군은 18.10 ± 1.39 (%), 加味神秘湯투여군은 19.63 ± 1.65 (%)로 나타나 유의한 차이가 인정되지 않았다(F=0.748, P=0.530)(Table X).



**Table 11.** Effects of *Shinbi-tang* and *Gamishinbi-tang* on CD3+CD8+ T Cell in Blood of Ovalbumin Induced Asthmatic Rat

Group	No. of animal	CD3+CD8+ T-cell in Blood(%)
Normal	10	17.84±2.13 <sup>1)</sup>
Control	10	20.86±1.19
SB	10	18.10±1.39
GSB	10	19.63±1.65

F-value: 0.748 \*

1) Mean ± Standard Error

\* calculated by ANOVA test

Normal: Non-treated group

Control: Group sensitized with ovalbumin

SB: Group treated with Shinbi-tang for 14 days

GSB: Group treated with Gamishinbi-tang for 14 days

## 고찰

기관지 천식은 가역적인 기도폐색, 기도 과민성, 기도 염증을 특징으로 하는 만성염증성 질환으로<sup>23)</sup>, 처음에 천식의 정의로는 '자연적 혹은 치료적으로 가역적인 기도폐쇄'가 강조되었으나 1960년대에 '기도과민성'이 정의에 포함되었고 1970년대, 1980년대를 거치며 기도염증의 해부병리적 소견이 알려지면서 '기도의 만성염증성질환'으로 정의되고 있다<sup>25)</sup>. 근래에는 천식의 유전적 특성도 알려지고 연구되고 있다<sup>26)</sup>. 천식의 염증반응은 기도벽에 비만세포, 임파구, 호산구가 침착되는 특징이 있고 type 2 cytokine이 증가되어 있다<sup>27)</sup>. 천식환자에서는 염증성 cytokine 생산을 줄이려는 자동조절기전에 의해 기도에 nitric oxide가 증가되어 있다<sup>28)</sup>. 천식의 만성염증에서는 조직학적으로 기도의 모든 layer가 비후되는 airway remodeling이 일어나며 이것은 천식의 기도협착, 만성경과와 질병진행에 중요한 비가역적 요인이 될 수 있고 단순히 염증을 가라앉히는 것만으로 지속적인 효과를 보지 못하는 원인이 되기도 한다. 또한 천식 발작에서는 기도 민부근(airway smooth muscle, ASM)의 수축이 핵심적 요인이 되는데 감각된 ASM은 정상 ASM보다 더 빠르게 더 심하게 수축하며, 깊이 숨을 들이마시는 것만으로도 신장에 대한 myogenic response 때문에 지속적인 기관지경련이 발생할 수 있다. 기관지천식의 특징인 염증은 ASM의

수축특성과 자율신경 조절양상에 변화를 초래하는 것으로 알려져 있다<sup>29)</sup>. 천식의 기도과민성은 처음에는 IL-5/eotaxin에 유도되어 eosinophil이 침착되고 활성화되며 이후에는 eosinophil에서 나온 염증매개물에 의해 감각 신경 펩타이드가 분비되어 기도과민성이 나타나는 기전을 밟는다. 천식 환자들에서는 superoxide와 hydroxyl radical이 증가되어 있고 그 증가된 정도가 질병의 중증도와 상관관계를 보이며, 이러한 산소대사 이상도 기도염증에 영향을 미치는 것으로 생각되고 있다<sup>30)</sup>. 천식을 유발시킨 동물모형을 이용한 연구에서도 기도과민성이 증가하고 염증, 점막증식이 나타나며 IgE, TNF $\alpha$ , IL-4, IL-5가 증가해 있고 천식병리에 T cell, 관련 cytokine 그리고 IgE가 주로 관여하는 것으로 보고되었다<sup>31)</sup>.

神祕湯은 東醫寶鑑<水喘><sup>24)</sup>에서 上氣喘急, 不得臥, 臥則喘者를 적응증으로 응용되었다. 構成藥物 중 紫蘇葉은 祛風定喘下氣하고, 陳皮는 利氣消痰, 定嘔止嗽하며, 桑白皮는 定喘止嗽, 下氣行水한다<sup>32)</sup>. 人蔘은 補氣消痰하며, 赤茯苓은 理氣行水하고, 半夏는 除濕平喘下氣한다<sup>32)</sup>. 木香은 理氣解鬱하고 生薑은 行氣調中消痰한다<sup>32)</sup>. 약리작용을 살펴보면 紫蘇葉은 解熱, 항균, 鎮靜작용이 있고 陳皮는 祛痰, 平喘, 肝 保護작용, 염증과 과민성에 대한 저항작용이 있으며 桑白皮는 鎮靜, 鎮痛, 항균, 利尿작용이 있다. 人蔘은 神經系의 興奮性조절 작용, 면역, 내분비조절작용, 抗酸化작용, 抗老衰작용이 있으며, 赤茯苓은 면역조절, 抗癌,

T림파구세포독성 증강작용, 鎮靜작용 등이 있고, 半夏는 鎮咳祛痰작용이 있다. 木香은 기관지痙攣에 대한 抵抗, 기관지擴張, 항균작용이 있고, 生薑은 胃積막, 肝 保護작용, 消炎, 항균작용, 酸素缺乏 抵抗작용이 있다. 따라서 神祕湯은 鎮靜, 祛痰, 기관지擴張, 면역조절작용, 신경조절작용을 통해 천식이나 鼻炎에 치료효과를 나타내는 것으로 생각된다.

加味神祕湯은 神祕湯의 定喘瀉肺 효능을 증대시키기 위하여 構成된 처방으로, 神祕湯에서 木香을 增量하고 蒼朮, 香附子, 桔梗, 麻黃, 杏仁, 貝母, 當歸, 川芎, 乾地黃, 白芍藥, 金銀花, 遠志를 添加하였다. 構成藥物中 蒼朮, 香附子는 燥濕理氣하고, 桔梗, 麻黃, 杏仁, 貝母는 止咳平喘한다. 當歸, 川芎, 乾地黃, 白芍藥은 補血潤燥하고, 金銀花는 宣散解毒, 遠志는 祛痰止咳한다<sup>32)</sup>. 藥理작용을 살펴보면 蒼朮은 酸素缺乏 抵抗, 健胃, 肝損傷 豫防작용이 있고, 香附子는 麻醉促進, 解熱鎮痛, 消炎항균 작용이 있다<sup>32)</sup>. 桔梗은 祛痰鎮咳, 抗潰瘍, 消炎작용이 있으며, 麻黃은 發汗解熱, 過敏性抑制, 鎮咳祛痰 작용이 있다<sup>32)</sup>. 杏仁은 鎮咳, 平喘작용이 있으며, 貝母는 鎮咳祛痰작용이 있다<sup>32)</sup>. 金銀花는 消炎解熱, 항균, 貪食細胞 促進작용이 있고, 遠志는 祛痰, 鎮靜, 利尿, 항균抗癌작용이 있다<sup>32)</sup>. 當歸는 면역조절작용, 肝 保護, 消炎鎮痛, 鎮靜작용, 抗酸化작용이 있으며, 川芎은 平滑筋 痙攣 抑制, 鎮靜작용이 있다<sup>32)</sup>. 乾地黃은 鎮靜, 면역조절, 利尿, 肝 保護, 심근 혈류 증가, 항염작용이 있으며, 白芍藥은 鎮靜, 鎮痛, 解熱, 면역조절 작용이 있다.

이에 저자는 神祕湯과 加味神祕湯의 allergy 천식 및 면역기능의 변화에 대한 효능을 알아보기 위하여 감각된 흰쥐에 ovalbumin을 흡입시켜 allergy 천식 病態를 誘發시키고 神祕湯과 加味神祕湯을 경구투여한 후 흰쥐의 폐기관지세척액(bronchoalveolar lavage fluid, BALF)내 total cell數, lymphocyte 數, CD4+ T세포수, CD8+ T세포수, CD4+/CD8+ 비율의 변화를 측정하고, 血清 IgE 量의 변화 및 말초혈액내의 CD4+ T세포수, CD8+ T세포수의 변화를 측정하였다.

폐기관지세척액내 총세포수와 lymphocyte 數를 살펴보면 대조군은 정상군에 비해 유의하게 증가하였

던 반면 神祕湯투여군과 加味神祕湯투여군에서 모두 대조군보다 유의하게 낮아 억제 효과가 있었다.

폐기관지세척액내 총세포수가 높다는 것은 eosinophil, lymphocyte, macrophage 등 천식의 만성염증성 병리를 일으키는 세포들이 기도에 많이 침착되어 있다는 것을 의미하며, 폐기관지세척액내 세포수 증가가 神祕湯과 加味神祕湯 투여로 억제되었다는 것으로 보아 이들 처방의 천식에 대한 치료효과 기전은 염증세포의 억제일 것으로 추정할 수 있다. 실제로 기관지폐포 세척액 검사상 천식환자에서는 총세포수와 eosinophil이 상승되어 있으며 alveolar macrophage에서 분비되는 과산화 음이온과 총산소 유리기도 보통사람보다 높은 것으로 알려져 있다<sup>33)</sup>. 그리고 천식은 만성 염증성 질환이므로 천식의 치료법 중에는 抗酸化劑<sup>34)</sup>를 사용하거나 염증을 억제시키는<sup>35)</sup> 것이 중요한 요소로 되어 있다.

폐기관지세척액내 CD8+ T세포수는 정상군, 대조군, 神祕湯투여군과 加味神祕湯투여군에서 모두 유의한 차이가 없었던 반면 폐기관지세척액내 CD4+ T세포수는 神祕湯投與과 加味神祕湯투여군에서 모두 대조군보다 유의하게 낮았다. 특히 폐기관지세척액내 CD4+/CD8+ 비율은 加味神祕湯투여군이 대조군에 비해 유의하게 낮아 억제 효과가 있었다. 즉 CD4+ T세포에 대한 선택적 억제효과는 加味神祕湯투여군이 뚜렷하였다.

중등도, 중증군 천식환자에서는 기관지폐포 세척액 검사상 CD4+ 세포의 비율이 상승되어 있으며 천식에서는 기관지 세척액의 CD3+ cell, CD4+ cell, CD4+/CD8+ 비율이 증가한다<sup>22)</sup>. 활성화된 T세포는 기관지과민성의 증가와 관련되어 있고 호산구수의 증가와도 밀접한 관련이 있다. 특히 CD8+ T suppressor 세포는 비아토피성 천식환자에서 증가되며, CD4+ Th세포는 아토피 및 비아토피성 천식에서 활성화된 상태로 발견된다<sup>36)</sup>. 한약 투여에 의해 염증세포가 전반적으로 억제되었고 염증세포 중 T cell의 아형 중에는 CD8+ T cell에는 영향이 없었던 반면 CD4+ T세포에 대해서는 억제효과가 있었던 것으로 보아 CD4+ T세포에 대한 억제효과를 통해 천식에서

효과를 보이는 것으로 추정된다.

말초혈액내 CD3+CD4+ T세포비나 CD3+CD8+ T세포비는 정상군, 대조군, 神祕湯투여군, 加味神祕湯투여군에서 모두 유의한 차이가 없었으며 이것은 기존보고에서와 일치하는 양상이었다<sup>37)</sup>.

즉 神祕湯과 加味神祕湯의 면역조절효과는 말초혈액내에서는 그 영향이 미미하고 기관지폐포내에서 다소 선택적인 작용을 하는 것으로 보인다. 이것은 이들 처방이 肺로 歸經하여 병소에 선택적으로 작용을 나타내는 것으로 생각할 수 있다.

혈청내 IgE 양은 神祕湯투여군이 대조군에 비해 유의하게 감소하여 억제 효과가 있었던 반면, 加味神祕湯투여군은 대조군과 유의한 차이가 없었다.

천식에서는 혈청 IgE가 증가되는 것으로 알려져 있는데, IgE가 B cell로부터 분비되고 eosinophil을 자극하는 데에는 IL-4, IL-5 등 type 2 cytokine이 결정적 역할을 하고 천식의 중증도는 기도 세척액의 T림프구와 eosinophil, 관련 cytokine과 잘 대응한다<sup>38)</sup>. 그리고 allergy 질환의 일련의 생화학적 반응에 있어서 IgE가 일종의 방아쇠 역할을 한다는 것은 잘 알려져 있다. 비만세포나 basophil 표면의 IgE가 항원과 결합되면 탈과립되면서 histamine, leukotriene, platelet activating factor 등 즉시형 과민반응 물질들이 나오고 그 결과로 부종, 발적, 민무늬근 수축 등 천식발작 증상이 유발된다. IgE는 천식의 지속적 기도수축 발작과도 밀접히 연관되어 있다<sup>39)</sup>. 따라서 IgE를 억제하는 것은 치료의 중요한 목표 중 하나라 할 수 있다. 혈류를 타고 전신을 순환하는 IgE를 억제시키는 효과는 神祕湯투여군이 加味神祕湯投與에 비하여 유의하게 관찰되었다.

본 연구에서 神祕湯과 加味神祕湯은 천식반응을 억제시키는 작용을 하는 것으로 나타났고 肺기관지에서의 CD4+ T cell 증가를 억제하는 것은 加味神祕湯이 보다 유효했고 혈청 내의 IgE 증가를 억제하는 것은 神祕湯에서 유효한 것으로 나타났다.

이후에는 면역조절 기전으로서 좀더 상세히 Th1 response와 Th2 response에 미치는 영향을 분석하여 神祕湯과 加味神祕湯의 천식 치료기전이 면역반응을

어떻게 조절하는지에 대한 연구가 필요하리라고 생각되며 아울러 病期나 체질적 소인에 따라 약물의 작용이 달라질 수 있는지를 검토하여 변증에 따라 처방을 나누어 응용할 수 있도록 하는 연구가 필요하리라고 생각된다.

## 결론

神祕湯과 加味神祕湯의 allergy 천식에 미치는 영향을 알아보기 위하여 감작된 흰쥐에 ovalbumin을 흡입시켜 allergy 천식 병태를 유발시키고 神祕湯과 加味神祕湯을 경구투여한 후 흰쥐의 폐기관지세척액 (bronchoalveolar lavage fluid, BALF)내 total cell 수, lymphocyte 수, CD4+ T세포수, CD8+ T세포수, CD4+/CD8+ 비율의 변화를 측정하고, 혈청 IgE 량의 변화 및 말초혈액내의 CD4+ T세포수, CD8+ T세포수의 변화를 측정하였던 바 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 폐기관지세척액내 총세포수는 神祕湯투여군과 加味神祕湯투여군에서 모두 대조군보다 유의성 있는 증가억제효과를 보였다.
2. 폐기관지세척액내 lymphocyte 수는 神祕湯투여군과 加味神祕湯투여군에서 모두 대조군보다 유의성 있는 증가억제효과를 보였다.
3. 폐기관지세척액내 CD4+ T세포수는 神祕湯투여군과 加味神祕湯투여군에서 모두 대조군보다 유의성 있는 억제효과를 보였다.
4. 폐기관지세척액내 CD8+ T세포수는 정상군, 대조군, 神祕湯투여군과 加味神祕湯투여군에서 모두 유의한 차이를 보이지 않았다.
5. 폐기관지세척액내 CD4+/CD8+ 비율은 加味神祕湯투여군에서만 대조군에 비해 유의성 있는 증가억제효과를 보였다.
6. 혈청내 IgE 양은 神祕湯투여군에서만 대조군에 비해 유의성 있는 증가억제효과를 보였다.
7. 말초혈액내 CD3+CD4+ T세포비는 정상군, 대조군, 神祕湯투여군, 加味神祕湯투여군에서 모두 유의

한 차이를 보이지 않았다.

8. 말초혈액내 CD3+CD8+ T세포비는 정상군, 대조군, 神秘湯투여군, 加味神秘湯투여군에서 모두 유의한 차이를 보이지 않았다.

## 참고문헌

1. 吉村永星, 崔錫鳳, 鄭昇杞, 李珩九. 알레르기성 천식에 관한 문헌적 고찰. 대한한의학회지. 1990;11(1):39-70.
2. 박동일, 정승기. 천식의 원인에 대한 고찰(황제내경 중심). 동의논집(자연과학편). 1992;19:203-210.
3. 백동진, 정희재, 정승기, 이형구. Allergy성 呼吸器疾患에 대한 文獻的 考察. 대한한방내과학회지. 1998;19(1):331-342.
4. 정승기. Allergy질환의 한방요법(천식을 중심으로). 대한한의학회지. 1990;11(2):11-15.
5. 김진주. 麥門冬湯과 定喘化痰降氣湯이 allergy 천식 모델 흰쥐의 BALF내 면역세포 및 혈청 IgE에 미치는 영향. 경희대학교 대학원 박사학위논문. 2001.
6. 권순호, 정희재, 정승기, 이형구. 五拗湯이 allergy 천식의 呼吸양상과 기관조직에 미치는 영향. 대한한의학회지. 1999;20(2):98-107.
7. 권혁성, 정희재, 정승기, 이형구. 淸上補下湯이 allergy 천식의 呼吸양상과 기관조직에 미치는 영향. 경희한의대논문집. 1999;22(1):203-215.
8. 김승수, 정희재, 정승기, 이형구. 解表二陳湯이 allergy 천식의 呼吸양상과 기관조직에 미치는 영향. 대한한방내과학회지. 1999;19(2):59-73.
9. 이준우. 小青龍湯이 allergy 천식 모델 흰쥐의 BALF내 면역세포에 미치는 영향. 경희대학교 대학원 석사학위논문. 2001.
10. 정승기. 加味淸上補下湯이 천식에 미치는 영향에 관한 실험적연구. 대한한의학회지. 1999;12(1):118-138.
11. 조영민, 정희재, 정승기, 이형구. 小青龍湯이 allergy 천식의 呼吸양상과 기관조직에 미치는 영향. 경희의학. 1999;15(1):78-89.
12. 박광은, 차은수, 조영민, 허승철, 정희재, 정승기, 이형구. 脾胃虛證을 兼한 哮喘證에 對한 臨床的 觀察. 제3회 한중비위병학술대회논문집. 1996:283-308.
13. 박광은, 허승철, 정희재, 정승기, 이형구. 哮喘證에 대한 淸上補下湯의 임상적 관찰. 제8회국제동양의학 학술대회 발표논문 초록집. 1995:288-289.
14. 조영민, 이경기, 조일현, 차은수, 정희재, 정승기, 이형구. 哮喘證에 관한 임상적 연구. 제19회 전국한의학회 학술대회 발표논문집. 1997:141-151.
15. 주창엽, 허태석, 한동하, 정희재, 정승기, 이형구. 알레르기 질환 및 한방치료에 대한 일반인의 인식 조사. 대한한방내과학회지. 2000;21(4):565-573.
16. 한동하, 주창엽, 허태석, 정희재, 정승기, 이형구. 한방 치료에 따른 천식환자의 삶의 질에 대한 임상적 평가. 대한한방내과학회지. 2000;21(4):575-581.
17. 차은수, 정희재, 정승기, 이형구. 小青龍湯이 Asthma model 내의 Cytokine에 미치는 영향. 경희한의대논문집. 2000;23(1):71-88.
18. 이동생, 정희재, 정승기, 이형구. 麥門冬과 五味子가 Asthma model 內의 Cytokine IL-4, IL-5, IL-6에 미치는 영향. 경희의학. 2000;16(2):69-80.
19. Heo TS, Jung HJ, Jung SK, Rhee HK. The Effects of Sabaek-San and Glycyrrhizae Radix on IL-4, IL-5 and IL-6 in Asthma Model. Journal of Oriental Medicine. 2000;5(1):34-37.
20. 백동진, 정희재, 이형구, 정승기. 解表二陳湯加減方이 Asthma model 內의 Cytokine에 미치는 영향. 대한한의학회지. 2000;21(3):3-13.
21. 정옥, 정희재, 정승기, 이형구. 杏仁과 桔梗이 Asthma model 내의 Cytokine IL-4, IL-5, IL-6에 미치는 영향. 대한한방내과학회지. 2000;21(1):31-38.
22. Egashira Y, Nagano H. A multicenter clinical trial of TJ-96 in patients with steroid-dependent bronchial asthma. Ann N Y Acad Sci. 1993;685:580-583.
23. Leake R, Broderick JE. Treatment efficacy of acupuncture. a review of the research literature. Integrative Medicine. 1998;1(3):107-115.
24. 허준. 동의보감. 서울:남산당. 1991:477.
25. 김봉성, 홍수중. 소아천식의 자연경과. 천식 및

- Allergy. 2000;20(6):866-876.
26. Passali D, Lauriello M, Mezzedimi C, Passali GC, Bellussi L. Natural history of allergic rhinitis a review. *Clinical and Applied Immunology Reviews*. 2001;1:207-216.
  27. Hopfenspirger MT, Parr SK, Hopp RJ, Townley RG, Agrawal DK. Mycobacterial antigen attenuate late phase response, airway hyperresponsiveness, and bronchoalveolar lavage eosinophilia in a mouse model of bronchial asthma. *International Immunopharmacology*. 2001;1:1743-1751.
  28. Thomassen MJ, Kavuru MS. Human alveolar macrophages and monocytes as a source and target for nitric oxide. *International Immunopharmacology*. 2001;1:1479-1490.
  29. Crimi E, Milanese M, Phngfang S, BrU.S.Asco V. Allergic inflammation and airway smooth muscle function. *The Science of the Total Environment*. 2001;270:57-61.
  30. Shanmugasundaram KR, Kumar SS, Rajajee S. Excessive free radical generation in the blood of children suffering from asthma. *Clinica Chimica Acta*. 2001;305:107-114.
  31. Haile S, Lefort J, Huerre M, Vargaftig BB. Bronchopulmonary hyperreactivity, inflammation and mucosal meraplasia in a murine model of asthma. *Research in Immunology*. 1998;149(3-4):269.
  32. 이상인. 本草學. 서울:영림사. 1991:123, 125, 136, 302, 348, 460, 463, 479, 481, 484, 540.
  33. 이숙영, 최영미, 김치홍, 권순석, 김영균, 김관형, 문화식, 송정섭, 박성학. 기관지천식의 기관지폐포세척액 소견과 기도과민반응. *대한알레르기학회 춘계학술대회 초록집*. 1993:427.
  34. Aoki Y, Ishiwaru M, Koda A, Takagaki H. Inhibitory effect of a novel quinolinone derivative, TA-270, on asthmatic inflammatory responses in sensitized quinea pigs. *European Journal of Pharmacology*. 2000;409:325-330.
  35. Kawalski H, Polanowicz U, Jonderko G, Kucharz EJ, Krol W, Klimmek K, Gina AR, Pieczyrak R, Slifirski J, Shani J. Immunological parameters and respiratory functions in patients suffering from atopic bronchial asthma after intravenous treatment with salmon calcitonin. *Immunology Letters*. 1999;70:15-19.
  36. 최병휘. 천식의 동물모델. 천식 및 알레르기. 1999;19(1):16-18.
  37. Haczku A, Chung KF, Sun J, Barnes PJ, Kay AB, Moqbel R. Airway hyperresponsiveness, elevation of serum-specific IgE and activation of T cells following allergen exposure in sensitized Brown-Norway rats. *Immunology*. 1995;85(4):598-603.
  38. Vargaftig BB. Correlation between eosinophils and bronchopulmonary hyperreactivity in animal models: role of cytokines in hyper Ig-E mice. *Research in Immunology*. 1998;149:205-208.
  39. Fick Jr. RB, Fox JA, Jardieu PM. Immunotherapy approach to allergic disease. *Immunopharmacology*. 2000;48:307-310.