대한한방내과학회지 제25권 3호(2004년 9월)
Korean J.Orient.Int. Med. 2004;25(3):427-439

保肺養營煎이 흰쥐의 氣管支平滑筋 張力과 면역에 미치는 影響

이강녕, 김희철

동신대학교 한의과대학 간계내과학 교실

Effects of *Bopheyangyoungjeon*(BYJ) on airway smooth muscle, airway inflammation, IgE and Interleukin-4 in mouse model of allergic bronchial asthma

Kang-Nyoung Lee, Hee-Chul Kim

Department of Hepatic Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Dongshin University

It has been reported that *Bopheyangyoungjeon*(BYJ) has an effect on deficiency allergic asthma(虛喘) clinically. The aim of this study was to determine an appropriate dosage of BYJ to treat asthma. In order to study the effects of orally administered BYJ on allergic asthma, mice were pretreated with three oral doses of the herbal solution of BYJ before antigen sensitization.

2 days later Mice were actively sensitized with a subcutaneous injection of ovalbumin and 13 days later ovalbumin aerosols were used to provoke asthmatic reaction.

Serum level of IgE, IL-4, WBC, RBC, HGB, cell numbers in bronchoalveolar lavage fluid(BALF), and in vitro isometric contractile responses of the isolated tracheal smooth muscle(TSM) to acetylcholine(ACh, 0.1-1000μM), KCl were measured.

The results were as follows ;

1. Contractile responses of TSM to ACh significantly increased in C group at Ach 0.3, 1, 3, 10, 30, 100, 300, 1000μM($P<0.05$, $P<0.01$) and increased in D at 0.1, 0.3, 3, 30, 100, 300, 1000μM.
2. The sensitivity of TSM to Ach increased more in A, B group, but it was not significant.
3. The maximal contractile response of TSM to ACh decreased more significantly in C group($P<0.01$) and D group($P<0.05$) than in the control group.
4. The maximal contractile response of TSM to KCl decreased more significantly in B group and C group($P<0.001$) than in the control group.
5. The counts of lymphocytes in BALF decreased more significantly in B group and D group($P<0.05$) than in the control group.
6. The counts of macrophages in BALF decreased more significantly in B group, C($P<0.05$) than in the control group.
7. Interleukin-4 in BALF decreased more significantly in A group and C group($P<0.05$) than in the control group.
8. Serum IgE level increased more significantly in B group and C group($P<0.05$) than the control group.
9. The counts of WBC, RBC, HGB in blood increased more significantly in A group than the control group.

The above results support a role for BYJ orally administered in treatment of deficiency allergic Asthma.

Key Words: *Bopheyangyoungjeon*, IgE, Interleutin-4, Bronchial asthma

· 접수 : 2004년 7월 5일 · 채택 : 2004년 8월 2일
· 교신저자 : 이강녕, 전남 순천시 해룡면 상삼리 661번지 207호
(Tel. 061-725-7582, H.P. 011-642-9767, E-mail : lkn88@yahoo.co.kr)

I. 緖 論

喘息은 韓醫學에서 哮喘證에 該當하는데, 喘이란 呼吸急促한 것을, 哮란 喉中有痰聲響한 것으로[1] 淸代 以後로는 哮證에 喘證이 兼하여 나타난다고 하여 哮喘이라 하였다[2-4]. 喘證은《素問》[5]에 "氣有餘則喘咳上氣", "肺病者 喘咳逆氣"라 하였으며《靈樞》[6]에 "肺病者 喘息鼻張"이라 하여 喘息의 症狀과 病名을 記述하였다. 喘證의 원인은 평소 身體가 虛弱하거나, 혹은 肺에 伏痰이 있거나, 또는 風寒에 外感되어서 表散되지 못하거나, 風寒에 外感된 후 七情 및 飮食 등의 失節이 겹쳐 발생한다[1,7-9].

西洋醫學에서는 다양한 자극에 대한 기관지의 반응성 증가를 특징으로 하는 기도의 만성 염증성 질환으로 기도염증은 비만세포, 호산구, 식세포, T 림프구 등의 세포들과 이들로부터 유리되는 여러 화학매개물질에 의하여 일어난다고 알려져 있다[10-12]. 증상은 가역적인 기도수축에 의해 발작적 호흡곤란, 천명, 기침, 객담 등을 나타내고 그 발생기전은 기관지평활근의 수축이나 경련, 기관지 점막의 부종과 점액분비의 증가에 의해서발생하며, 이중에서도 기관지평활근 수축을 주된 발생기전으로 보고 있다[13].

喘息의 治療에 관한 實驗的 硏究로는 권[14]의 '五拗湯이 알레르기 喘息의 호흡양상과 기관조직에 미치는 영향', 권[15]의 '淸上補下湯이 알레르기喘息의 호흡양상과 기관점막의 호산구변화에 미치는 영향', 백[16]의 '解表二陳湯加減方이 喘息 모델내의 Cytokine에 미치는 영향' 등이 있고, 기관지평활근에 대한 연구로는 한[17]의 '款冬花散 및 그 구성약물이 기관지평활근에 미치는 영향', 이[18]의 '柴胡枳桔湯이 GUINEA PIG의 기관지평활근에 미치는 영향', 이[19]의 '杏仁半夏湯이 GUINEA PIG의 기관지평활근에 미치는 영향' 등이 있다.

保肺養營煎은 四物湯合二陳湯의 變方으로 淸熱祛痰과 滋補津液하여 喘息 등의 呼吸器障碍를 改善할 目的으로 臨床에서 자주 活用되는 處方이다[20].

이에 著者는 保肺養營煎이 기관지평활근 장력과 염증 및 면역반응에 미치는 영향을 실험적으로 규명하고자 하여 保肺養營煎을 投與한 경우에 oval-bumine으로 감작유발된 喘息에 대하여 기관지평활근의 등장성 장력에 대한 최대반응, 민감성 반응을 관찰하였고, 기관지폐포세척술을 시행하여 얻은 세척액내 염증반응세포 및 사이토카인 IL-4를 관찰하였으며, 혈액내 특이적 면역반응 IgE 및 혈액학적 변화 등을 관찰한 바 다음과 같은 知見을 얻었다.

II. 材料 및 方法

1. 재료

1) 동물

體重이 약 35±10g인 흰쥐를 사육장(실내온도 24~26℃)내에서 물과 사료(삼양사료)를 충분히 섭취하게 하면서 일주일동안 실험실 환경에 적응시킨 후 실험에 사용하였다.

2) 약재

本 實驗에 使用된 藥材인 保肺養營煎은 東新大學校 附屬韓方病院에서 嚴選하여 使用하였다.

保肺養營煎 1貼 分量은 다음과 같다(Table. 1).

2. 방법

1) 검액의 조제

保肺養營煎 2첩분량을 증류수 1,000㎖과 함께 24시간 동안 증류수를 계속 보충해가며 끓인 다음 여과지로 여과한 후, 고속원심분리기(Centricon T-42K, Italy)로 5,000rpm에서 30분간 원심분리하여 상등액을 취하였다. 상등액은 rotary vaccum evaporator(Buchi, Netheland)로 수분을 증발시켜 100㎖로 감압농축하였으며, 농축된 검액을 동결건조기(삼원, 한국)로 -70℃에서 동결건조시켜 최종적으로 59.7g의 시료를 얻었다. 최종적으로 얻어진 시료는 경구투여를 위하여 각 농도별로 증류수에 희석하여 사용하였다.

2) 실험군 분류

군의 분리는 생리식염수를 대조군(Control, Con), 保肺養營煎 0.19g/kg 농도로 경구투여한 군(0.2배 투여군, A), 保肺養營煎 0.99g/kg 농도로 경구투여한 군

Table 1.

韓藥名	生藥名	用量
乾地黃	Rhizoma Rehmanniae	5.625g
白芍藥	Radix Paeoniae Lactiflorae	5.625g
沙蔘	Radix Adenophorae	5.625g
當歸	Radix Angelicae Gigagantis	3.750g
麥門冬	Radix Ophiopogonis	3.750g
白茯苓	Poria	3.750g
橘皮	Pericarpium Citri Nobilis	3.750g
貝母	Bulbus Fritillariae	3.750g
桔梗	Radix Platycodi	3.750g
杏仁	Semen Armeniacaf	3.750g
五味子	Fructus Schizandrae	2.625g
甘草	Radix Glycyrrhizae	1.875g
生薑	Rhizoma Zingiberis	3.750g
大棗	Fructus Zizyphi Jujubae	3.000g
	Total Amount	54.375g

(1배 투여군, B), 保肺養營煎 4.95g/kg 농도로 경구투여한 군(5배 투여군, C), 保肺養營煎 9.90g/kg 농도로 경구투여한 군(10배 투여군, D)으로 분류하였다.

3) 경구투여

保肺養營煎 경구투여는 해당 농도별로 200㎕씩 2일에 1회씩 1주간 총 3회가 시행되었다.

4) 감작, 유발 및 채혈

감작은 경구투여 3회 시행 2일 후(7일째)에 시행되었으며, 1㎖의 PBS에 용해된 1㎎/30g의 ovalbumin(OA)에 200㎎의 aluminum hydroxide adjuvant에 흡착시켜 皮下에 주사하였다.

유발은 감작 시행 13일 후(20일째)에 시행되었는데, 50㎖ PBS에 용해된 0.5g의 OA를 희석하여 이를 연무기로 분무하면서 30분간 흡입시켜 1차 유발시켰고, 다음 날(21일째) 같은 방법으로 2차 유발시켰다. 2차 유발 후 즉시 마취하여 심장천자로 약 1㎖의 혈액을 얻었다.

5) 혈액 검사 및 혈청 분리

채혈에 의하여 얻어진 혈액 중 약 100㎕를 EDTA-bottle에 넣은 후 곧바로 혈구측정기(K-800, Sysmax, Japan)에 주입하여 백혈구(WBC), 적혈구(RBC), hemoglobin(HGB) 등을 각각 측정하였다. 나머지 혈액은 혈청 분리에 사용하였는데, 고속원심분리기(Centricon T-42K, Italy)에서 5,000 rpm으로 10분간 시행하여 혈청을 얻었다.

6) 기관지폐포세척술 및 혈구 조사

채혈 후 기관지 주위의 근육을 정리하여 기관을 노출시켜, 기관상단부를 통해 polyethylene 도관을 삽입하여 고정시키고, 4℃의 생리식염수 4㎖(0.5㎖씩 8회)로 기관지폐포세척술(bronchoalvelar lavage fluid, BALF)을 시행하였다. 회수된 세척액 양을 기록하고, 바로 4℃ 1500rpm으로 10분간 원심분리하여 상층액은 Interlukin-4(IL-4)를 측정하였고, 하층액은 PBS와 10%FBS를 9:1 비율로 혼합된 용액을 1㎖의 양으로 녹인 다음, 20㎕를 Hemacytometer(Superior, Germany)를 사용하여 현미경(×100)아래에서 총세포수를 세었다. 표본에 남아있는 세포수가 1㎖당 1×10^6개가 되도록 PBS로 희석한 후 400㎕의 양을 4℃, 800rpm으로 5분간 cytospin하여 2개의 슬라이드를 만들었으며, 이것을 Diff-Quick 염색하여 400배 현미경하에서 각 슬라이드의 백혈구 수를 100개씩 세어 림프구와 폐포대식세포의 비율을 구하였다.

7) 기관지평활근(Trachial smooth muscle; TSM) 장력 측정

기관지폐포세척술 직후 기관지를 적출하여 Krebs-Henseleit용액(115.5 NaCl, 4.16 KCl, 2.5 CaCl, 1.16 $MgSO_4$, 1.6 NaH_2PO_4, 21.9 $NaHCO_3$, 11.1 mM Glucose)에 담그고, 기관에 붙어 있는 결체조직과 지방 등을 제거한 다음 37℃ Krebs용액 10㎖가 들어있고 95%산소와 5%이산화탄소가 나오는 기관 욕조에 수직으로 매달았으며, 하단의 갈고리로 기관절편을 고정시키고 상단 갈고리는 견사로 force transducer(Havard, England)에 연결하였다. 기초예비장력에서 결정된 휴지기 장력인 0.7g으로 평형을 이루기 위해 1시간 30분동안 20-30분 간격으로 기관절편을 Krebs용액으로 관류시켰으며, 등장성 수축반응은 isometric trans- ducer(Havard, England)로 측정하여 oscillograph(Havard, England)에 기록하였다.

안정시킨 후 KCl(5M), OA(1M)를 각각 기관 욕조 내에 투여하여 근육의 수축반응을 측정하였으며, 그

사이에는 Krebs용액으로 관류시키고 난 후 30분동안 안정기를 가졌다. OA에 대한 수축반응을 관찰하고 난후 다시 30분동안의 안정기를 가진 다음 Aethylcholine(ACh, Sigma)을 기관 욕조내에 0.1, 0.3 1, 3, 10, 30, 100, 300, 1000㎛M이 되도록 누적 투여하여 각 기관 절편의 수축반응을 측정하였다.

실험후 검사한 절편을 1일동안 실온에서 건조시킨 뒤 그 무게를 측정하였으며, 반응 결과는 절편의 g당 힘㎎(㎎/g)과 고농도의 KCl에 대한 최대 반응을 보인 값에 대한 상대적인 수축력(%)으로 표시하였고, 비선형 회귀분석을 이용한 프로그램을 이용하여 최대 반응의 50%를 초래하는 ACh의 누적용량(ACh-EC50)을 구하였다.

8) IL-4 (Interlukin-4) 측정

IL-4 측정은 IL-4 KIT(R&D Systems, USA)를 사용하여 측정하였다. mouse IL-4가 coating된 microplate에 assay diluent RD1-18 50㎕를 넣고 mouse IL-4 standard, mouse IL-4 control, BALF 상층액 50㎕를 첨가하고 plate cover로 tapping한 후에 1분간 mixing하고 실온에 2시간 방치한다. Wash buffer 400㎕로 5회 세척한 후 mouse IL-4 conjugate 100㎕를 첨가하고 plate cover를 덥고 실온에 2시간 방치한다. Wash buffer 400㎕로 5회 세척한 후 substrate solution 100㎕를 첨가하고 어두운 곳에서 30분간 실온에 방치한다. Stop solution 100㎕를 plate에 넣고 발색반응을 중지시킨 후 microplate reader(Molecular Devices, USA)로 450㎚에서 OD(Optical density)를 측정하였다.

9) IgE 측정

OA를 0.05% NaN3가 포함된 PBS에 녹여서 100㎕/㎖의 농도가 되도록 한 다음, 50㎕씩을 ELISA plate에 넣고 24시간 동안 실온에 방치하며, 증류수로 3회 세척한 다음 blocking buffer(0.05% Tween 20, 0.25% bovine serum albumin in PBS)를 50㎕씩을 넣고 30분 동안 방치한 후 증류수로 3회 세척한다. 혈청을 blocking buffer를 사용하여 1:8로 희석하여 50㎕씩 plate에 넣고 3시간 동안 실온에 방치하여 반응시키며, 증류수로 3회 세척한 후 1:500으로 희석된 HRP-Mouse Anti-rat IgE(Zymed)를 50㎕씩 첨가하고 실온에서 3시간 동안 반응시킨다. 증류수로 3회 세척 후에 O-Phenylenediamine Dihydrochloride를 70㎕씩 넣어 30분 동안 방치하고 2M H_2SO_4을 30㎕씩 넣어 발색반응을 중지시킨 후, microplate reader (Molecular Devices, USA)로 490㎚에서 optical density(OD)를 측정하였다.

3. 통계처리

실험 결과에 대한 통계적 처리는 Excel statistic program, SPSS, Microcal Origin에 의하여 각 실험군별로 평균치와 표준오차를 계산하였고, ACh의 누적투여에 대한 변화는 repeated ANOVA test를 시행하였고, IgE와 백혈구수 등의 비교는 one-way ANOVA를 시행하였고, ACh누적용량에 대한 EC50은 Microcal Origin(Ver8.0, Microcal software, USA)을 이용하여 $P<0.05$이하인 경우를 유의한 것으로 검정하였으며, 단 $0.05<P<0.1$인 경우는 한계적으로 유의한 것으로 간주하였다.

III. 成 績

1. ACh 누적투여에 따른 TSM 수축반응

ACh의 누적용량에 대한 기관지 평활근의 수축반응을 비교 관찰한 결과, 대조군에 비해 C군이 0.3, 1, 3, 10, 30, 100, 300, 1000㎛M에서 유의하게 감소하였고($P<0.05$, $P<0.01$), D군에서는 0.1, 0.3, 3, 30, 100, 300, 1000㎛M에서 유의하게 감소하였다($P<0.05$, $P<0.01$)(Fig. 1).

2. ACh에 대한 TSM 등장성 민감수축반응

ACh에 대한 민감성을 관찰하기 위해 등장성 민감수축반응을 비교한 결과, 대조군이 21.6±6.92㎛M을 나타내었으며, 이에 비해 A군이 28.0±9.10㎛M, B군이 21.9±7.4㎛M, C군이 19.2±8.73㎛M, D군이 16.5±6.46㎛M를 나타내었다.

각 군별의 변화 비교에서 A군, B군이 대조군에 비하여 증가경향을 보였으나 유의성을 나타내지는 못했다(Fig. 2).

3. ACh에 대한 TSM 최대수축반응

ACh 농도에 대한 기관지 평활근의 최대 수축반응을 비교 관찰한 결과, 대조군이 1299.7±193.28(㎎ force/g tissue)을 나타내었으며, 이에 비해 A군이 674.3±186.69(㎎ force/g tissue), B군이 885.5±234.40(㎎ force/g tissue), C군이 300.8±21.61(㎎ force/g tissue), D군이 578.1±68.85(㎎ force/g tissue)를 나타내었다.

각 군별의 변화 비교에서 대조군에 비하여 C군(P<0.01), D군(P<0.05)이 유의한 감소를 보였다(Fig. 3).

4. KCl에 대한 TSM 최대수축반응

5M의 KCl에 대한 기관지 평활근의 최대 수축반응을 비교 관찰한 결과, 대조군이 498.0±25.78(㎎ force/g tissue)을 나타내었으며, 이에 비해 A군이 445.6±53.95(㎎ force/g tissue), B군이 207.6±23.55(㎎ force/g tissue), C군이 175.2±13.612(㎎ force/g tissue), D군이 358.0±70.5(㎎ force/g tissue)를 나타내었다.

각 군별의 변화 비교에서 대조군에 비하여 B군, C군(P<0.001)이 유의한 감소를 보였다(Fig. 4).

5. 기관지폐포세척액내 Lymphocyte 변화

기관지폐포세척액(BALF) 내 lymphocyte를 비교 관찰한 결과, 대조군이 6.2±0.94(106/lavage)을 나타내었다.

이에 비해 A군이 5.2±0.50(10^6/lavage), B군이 2.7±0.74(10^6/lavage), C군이 5.0±0.54(10^6/lavage), D군이 3.0±0.76(10^6/lavage)를 나타내었다.

각 군별의 변화 비교에서 대조군에 비하여 B군, D군(P<0.05)이 유의한 감소를 보였다(Fig. 5).

6. 기관지폐포세척액내 Macrophage 변화

기관지폐포세척액(BALF) 내 macrophage를 비교 관찰한 결과, 대조군이 91.5±2.06(10^6/lavage)을 나타내었다.

이에 비해 A군이 89.3±1.39(10^6/lavage), B군이 83.8±1.52(10^6/lavage), C군이 80.8±2.28(10^6/lav-age), D군이88.6±2.75(10^6/lavage)를 나타내었다.

각 군별의 변화 비교에서 대조군에 비하여 B군, C군(P<0.05)이 유의한 감소를 보였다(Fig. 6).

7. 기관지폐포세척액내 IL-4 변화

BALF 내 IL-4 변화를 비교 관찰한 결과, 대조군이 0.265±0.0053(OD value)을 나타내었으며, 이에 비해 A군이 0.244±0.004(OD value), B군이 0.258±0.0039(OD value), C군이 0.243±0.0042(OD value), D군이 0.266±0.0106(OD value)를 나타내었다.

각 군별의 변화 비교에서 대조군에 비하여 A군, C군(P<0.05)이 유의한 감소를 보였다(Fig. 7).

8. 혈청 IgE 변화

혈청 IgE를 비교 관찰한 결과, 대조군이 0.264±0.0047(OD value)을 나타내었으며, 이에 비해 A군이 0.279±0.0058(OD value), B군이 0.285±0.0056(OD value), C군이 0.289±0.0074(OD value), D군이 0.272±0.0016(OD value)를 나타내었다.

각 군별의 변화 비교에서 대조군에 비하여 B군, C군(P<0.05)이 유의한 증가를 보였다(Fig. 8).

9. 혈액내 WBC, RBC, HGB 변화

WBC를 비교 관찰한 결과, 대조군이 10.0±1.05(103/㎕)을 나타내었으며, 이에 비해 A군이 11.6±1.63(OD value), B군이 5.8±1.61(OD value), C군이 6.6±1.19(OD value), D군이 8.5±1.30(OD value)를 나타내었다(Fig. 9 : upper).

RBC를 비교 관찰한 결과, 대조군이 8.3±0.27(106/㎕)을 나타내었으며, 이에 비해 A군이 9.5±0.20(106/㎕), B군이 8.7±0.25(106/㎕), C군이 8.7±0.10(106/㎕), D군이 8.4±0.18(106/㎕)를 나타내었다(Fig. 9 : middle).

HGB를 비교 관찰한 결과, 대조군이14.4±0.20(g/dl)을 나타내었으며, 이에 비해 A군이 15.4±0.27(g/dl), B군이 14.1±0.44(g/dl), C군이 14.4±0.13(g/dl), D군이 14.0±0.28(g/dl)를 나타내었다(Fig.

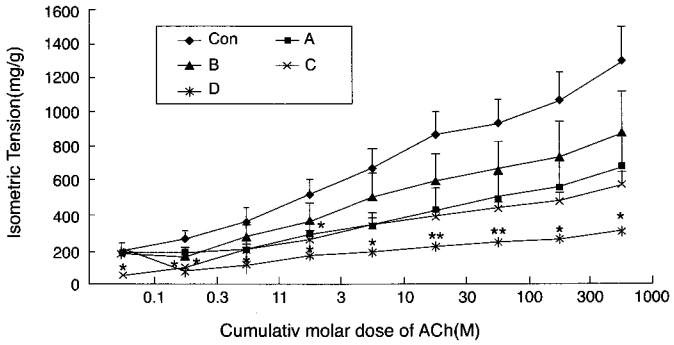

Fig. 1. Effects of oral adminstration according to dosage on the maximal contractile responses of the tracheal smooth muscle to ACh in asthma rats induced by ovalbumin. Con, administered saline orally in the rats. A, B, Cand D, administered 0.19g/kg, 0.99g/kg, 4.95g/kg and 9.90g/kg of the BJY(Bopheyoungyangjen) orally in the rats.Results are shown as mean±S.E. *, P<0.05, **, P<0.01 as compared with the corresponding data of control group.

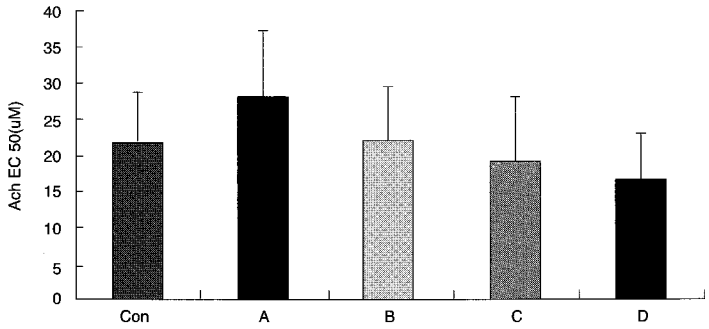

Fig. 2. Effects of oral adminstration according to dosage on ACh EC50 of the tracheal smooth muscle to ACh in asthma rats induced by ovalbumin. Con, administered saline orally in the rats. A, B, Cand D, administered 0.19g/kg, 0.99g/kg, 4.95g/kg and 9.90g/kg of the BJY(Bopheyoungyangjen) orally in the rats.Results are shown as mean±S.E.

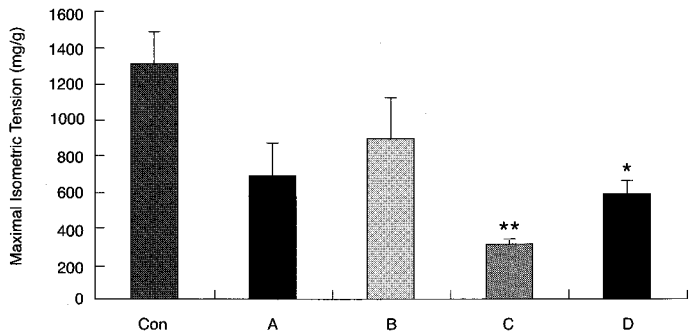

Fig. 3. Effects of oral adminstration according to dosage on maximal contractile responses of the tracheal smooth muscle to ACh in asthma rats induced by ovalbumin. Con, administered saline orally in the rats. A, B, Cand D, administered 0.19g/kg, 0.99g/kg, 4.95g/kg and 9.90g/kg of the BJY(Bopheyoungyangjen) orally in the rats.Results are shown as mean±S.E. *, P<0.05, **, P<0.01 as compared with the corresponding data of control group.

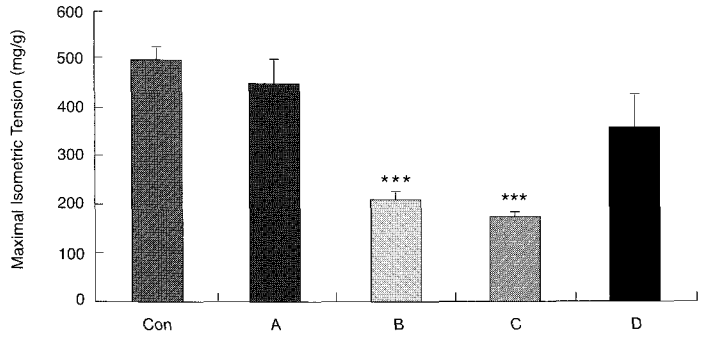

Fig. 4. Effects of oral adminstration according to dosage on the tracheal smooth muscle to KCl in asthma rats induced by ovalbumin. Con, administered saline orally in the rats. A, B, C and D, administered 0.19g/kg, 0.99g/kg, 4.95g/kg and 9.90g/kg of the BJY(Bopheyoungyangjen) orally in the rats.Results are shown as mean±S.E. ***, P<0.001 as compared with the corresponding data of control group.

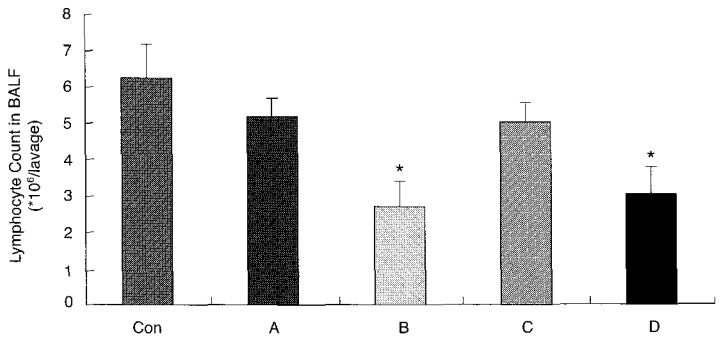

Fig. 5. Effects of oral adminstration according to dosage on BALF(bronchoal-velar lavage fluid) lymphocyte in asthma rats induced by ovalbumin. Con, administered saline orally in the rats. A, B, C and D, administered 0.19g/kg, 0.99g/kg, 4.95g/kg and 9.90g/kg of the BJY(Bopheyoungyangjen) orally in the rats.Results are shown as mean±S.E. *, P<0.05 as compared with the corresponding data of control group.

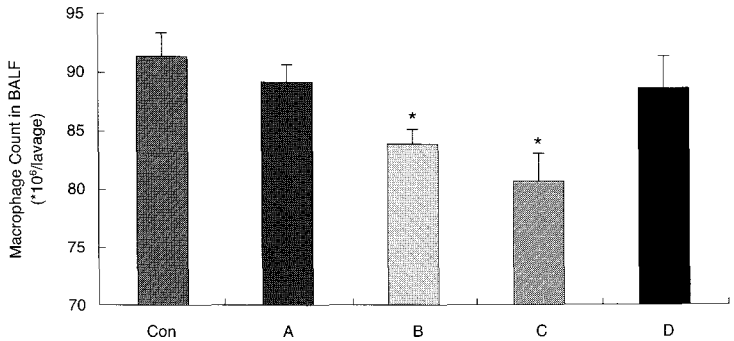

Fig. 6. Effects of oral adminstration according to dosage on BALF(bronchoalv-elar lavage fluid) macrophage in asthma rats induced by ovalbumin. Con, administered saline orally in the rats. A, B, C and D, administered 0.19g/kg, 0.99g/kg, 4.95g/kg and 9.90g/kg of the BJY(Bopheyoungyangjen) orally in the rats.Results are shown as mean±S.E. *, P<0.05 as compared with the corresponding data of control group.

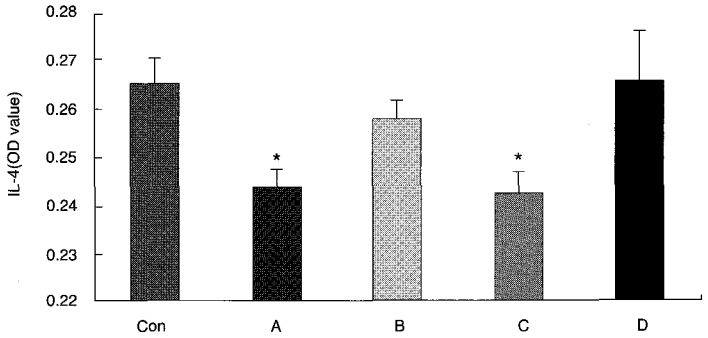

Fig. 7. Effects of oral adminstration according to dosage on BALF(bronchoalv-elar lavage fluid) IL-4 in asthma rats induced by ovalbumin. Con, administered saline orally in the rats. A, B, C and D, administered 0.19g/kg, 0.99g/kg, 4.95g/kg and 9.90g/kg of the BJY(Bopheyoungyangjen) orally in the rats.Results are shown as mean±S.E. *, P<0.05 as compared with the corresponding data of control group.

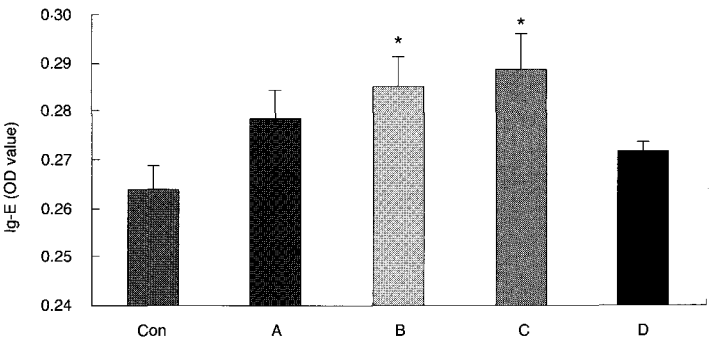

Fig. 8. Effects of oral adminstration according to dosage on serum IgE in asthma rats induced by ovalbumin. Con, administered saline orally in the rats. A, B, C and D, administered 0.19g/kg, 0.99g/kg, 4.95g/kg and 9.90g/kg of the BJY(Bopheyoungyangjen) orally in the rats.Results are shown as mean±S.E. *, P<0.05 as compared with the corresponding data of control group.

9 : lower).

각 군별의 변화 비교에서 대조군에 비하여 A군이 WBC, RBC, HGB의 유의한 증가를 보였다(P<0.05).

IV. 考 察

喘息은 呼吸急促, 喘鳴有聲한 哮喘症에 해당하는 질환으로 明代 이후에 吳 등[21]은 哮는 喉中有痰聲響하고 喘은 呼吸急促한 것이므로 哮와 喘을 구분하였으나, 淸代의 葉[22]이 哮와 喘을 구분하지 않고 단지 症狀의 輕重, 緩急이 서로 다르다고 한 以後, 哮喘症은 喘鳴有聲, 呼吸急促한 하나의 症候群으로 認識되고 있다[1].

喘證은 黃帝內經에 言及되어 있는데《素問》[5]에 "氣有餘則喘咳上氣", "肺病者 喘咳逆氣"라 하였으며《靈樞》[6]에 "肺病者喘息鼻張"이라 하여 喘息의 症狀과 病名을 記述하였다.

喘證의 原因으로는 張[23]은 水飮이 喘을 發한다 하

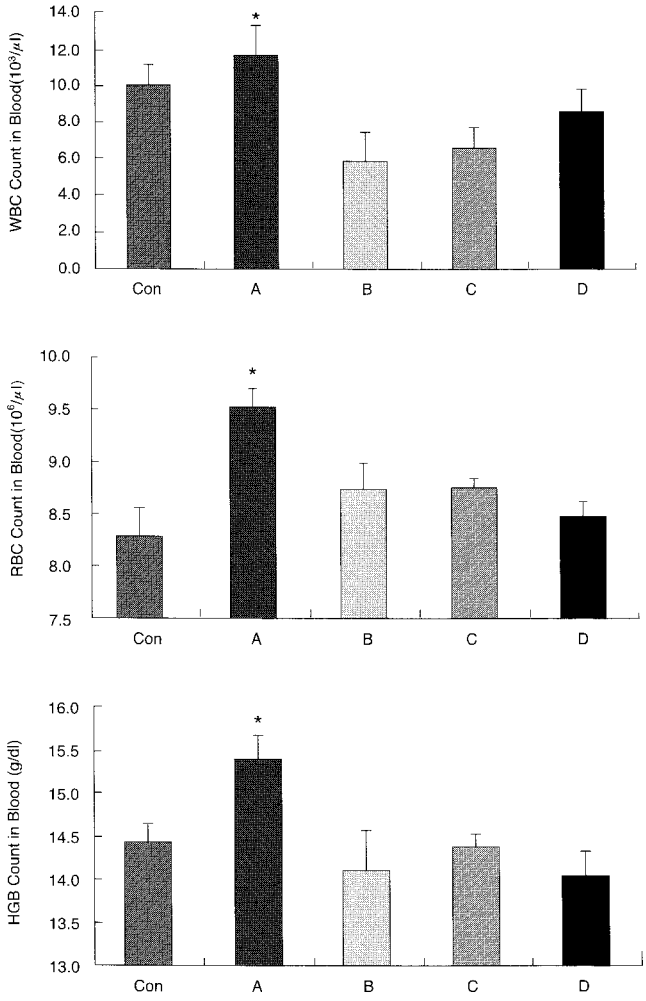

Fig. 9. Effects of oral adminstration according to dosage on blood WBC(upper), RBC(middle) and HGB(lower) in asthma rats induced by ovalbumin. Con, administered saline orally in the rats. A, B, C and D, administered 0.19g/kg, 0.99g/kg, 4.95g/kg and 9.90g/kg of the BJY(Bopheyoungyangjen) orally in the rats.Results are shown as mean±S.E. *, $P<0.05$ as compared with the corresponding data of control group.

였고, 張[24]은 虛喘과 實喘으로 나누고 氣虛, 風寒, 火邪가 原因이라 하였다. 朱[25]는 "痰在肺胃間"이하 하여 痰을, 李[8]는 風寒과 七情을, 李[26]는 "發喘者 氣有餘也"라 하여 氣有餘를, 林[27]은 "諸病喘滿皆屬於熱"이라 하여 熱을, 虞[28]는 痰火內鬱, 風寒外束, 陰虛, 氣虛 等을, 王[29]은 久病으로 肺弱하여 喘促한다하여 肺虛를, 徐[30]는 風寒, 痰, 火, 七氣, 肺氣虛弱, 陰虛를 主張하였으며, 許[7]는 원인에 따라 風寒喘, 痰喘, 氣喘, 火喘, 水喘, 久

喘, 胃虛喘, 陰虛喘의 8가지로 나누었으며, 최근에는 外邪에 感觸되거나, 痰濁, 七情, 虛衰, 水飮, 瘀血, 調攝失宜 등의 原因을 주장하였다.

哮喘의 辨證治療는 虛證과 實證으로 구분하여, 實證은 風寒, 痰濁 등의 病邪가 위주가 되므로 外感風寒은 祛風散寒과 宣肺定喘, 痰濕은 燥濕化痰과 降氣定喘, 寒痰은 溫肺散寒과 定喘化痰의 治法으로 치료하고 虛證은 補虛가 위주가 되므로 肺虛는 養肺定喘, 心腎虛損은 補益心腎과 納氣定喘, 上實下虛에는 瀉肺化痰과 補益腎元의 治法으로 치료한다[1].

西洋醫學에서 喘息은 가역적인 기도폐색과 기관지 과민성외에 만성 호산구성 기도염증질환으로 정의된다[34]. 알레르기 염증반응에서 중요한 세포는 T-림프구와 호산구로 T-림프구는 알레르기성 염증 반응의 양상을 결정하는 조정자의 역할을 담당하는데 주로 T-림프구에서 생성되는 cytokine을 통해서 이루어지고 활성화된 호산구에서는 여러 가지 화학매체를 분비하여 기관지의 손상을 유도한다[35-36].

喘息의 기도점막 조직소견을 보면 輕證 喘息에서도 기도점막내 염증세포, 특히 호산구와 림프구가 증가된다. 이외에도 비만세포, 대식세포, 형질세포의 증가와 활성화가 기도염증의 근간이 되며 조기 喘息에서도 같은 염증소견이 관찰된다[37].

保肺養營煎은 四物湯合二陳湯에 麥門冬, 貝母, 桔梗, 杏仁, 五味子 등을 加味한 것으로 淸熱祛痰과 滋補津液하여 喘息 및 慢性長期咳嗽를 비롯한 呼吸器障碍를 개선할 목적으로 응용되는 處方인데, 肺虛하여 虛熱로 인한 痰嗽가 그치지 않고 津液이 枯渴하여 身乾口燥한데 쓰는 處方이다[20].

喘息의 治療에 관한 實驗的 硏究에서 保肺養營煎에 관한 기존의 硏究는 없었으나, 根幹이 되는 處方인 四物湯에 대한 硏究로는 김[38]의 '四物湯 構成藥物이 貧血 및 飢餓에 미치는 影響에 관한 硏究'와 박[39]의 '四物湯과 四物湯 構成藥物이 혈구감소증에 미치는 影響에 관한 硏究' 등이 있었는데 WBC, RBC, HGB, Hematocrit의 증가 효과를 보고하였다. 處方構成面에서 類似한 淸上補下湯, 麥門冬湯, 解表二陳湯, 五拗湯 등에 관한 硏究들이 試圖되었는데, 권[14]은 '五拗湯이 알레르기 喘息의 호흡양상과 기관조직에 미치는 영향'에서 五拗湯의 투여군이 대조군에 비해 이상호흡빈도, 기관 점막내 호산구수, 기관 상피층의 부종 소견과 박리현상의 유의성 있는 감소를 보고하였다. 권[15]은 '淸上補下湯이 알레르기 喘息의 호흡양상과 기관점막의 호산구변화에 미치는 영향'에서 淸上補下湯의 투여군이 대조군에 비해서 이상호흡빈도, 기관조직내 호산구침윤의 감소를 보고하였다. 백[16]은 '解表二陳湯加減方이 喘息 모델내의 cytokine에 미치는 영향'에서 解表二陳湯加減方 수전 액기스를 RPMI 배지내에서 10%, 1%, 0.1%, 0.01% 농도별로 점적한 결과 IL-4의 轉寫度는 대조군에 비해서 10% 검액에서는 83%, 1% 검액에서는 98%, 0.01% 검액에서는 96%가 억제되었고, 0.1% 검액에서는 차이가 없었고 IL-5의 전사도는 대조군에 비해서 10% 검액에서는 97%, 1%, 0.1%, 0.01% 검액에서는 99%의 경미한 轉寫 억제 효과가 있다고 보고하였다. 안[36]은 '定喘化痰降氣湯이 Ovalbumin으로 유발된 喘息에 미치는 영향'에서 定喘化痰降氣湯 투여군이 대조군에 비해 기관내강이 증가되고, 호산구와 호중구를 포함한 염증세포, 기관과 기관지의 점막의 비후, 내강내 점액성 분비물이 유의성있게 감소되었다고 보고하였다. 김[37]은 '麥門冬湯과 定喘化痰降氣湯이 알레르기 喘息 모델 흰쥐의 BALF내 면역세포 및 혈청 IgE에 미치는 영향'에서 기관지 폐포세척액내의 total cell과 혈청IgE양은 麥門冬湯과 定喘化痰降氣湯투여군이 대조군에 비해 유의성있는 증가억제 효과가 있었고, 기관지 폐포세척액내의 CD4+ T세포수와 CD8+ T세포수도 증가억제효과가 있다고 보고하였다. 정40은 '杏仁과 桔梗이 Asthma model 내의 Cytokine IL-4, IL-5, IL-6에 미치는 영향'에서 桔梗과 杏仁의 투여군에서 IL-4, IL-5, IL-6의 전사억제효과를 보고하였다.

이에 본 연구에서는 保肺養營煎의 喘息 예방 및 억제 작용을 알아보고자 검액을 용량별로 투여후 기관지평활근의 수축반응과 기관지폐포세척액내의 Lymphocyte, IL-4, Macrophage를 관찰하였으며, Ovalbumin으로 천식이 감작유발된 흰쥐의 혈액을 채취하여 IgE와 WBC, RBC, Hemoglobin을 檢査하였다.

喘息은 기도과민반응(airway hyperresponsiveness, AHR)을 나타내는 특징이 있는데[41], 생체내에 주입되어 기관지수축을 유발시키거나 기도 조직 절편의 수축반응을 일으키는 대표적인 항진제 중의 하나인 ACh를 이용하여[42] 기관지평활근의 등장성 장력에 대한 최대반응, 민감성 반응을 관찰해서 保肺養營煎의 구강투여가 氣管支平滑筋과 呼吸器系에 미치는 영향을 알아보았다.

본 연구에서 ACh의 누적용량에 대한 기관지 평활근의 수축반응 실험에서 0.1M에서부터 1000M의 ACh를 투여하고 관찰한 결과 C군과 D군이 유의한 수축력억제를 나타내었다. ACh에 대한 기관지 평활근의 등장성 민감수축반응에서는 대조군이 21.6±6.92㎛M을 나타내었으며, 이에 비해 A군이 28.0±9.10㎛M을 나타내 증가성향을 보였으나 나머지 군에서는 유의성이 없었다. ACh에 대한 기관지 평활근의 최대 수축반응에서는 대조군이 1299.7±193.28(㎎ force/g tissue)을 나타내었으며, C군이 300.8±21.61(㎎ force/g tissue), D군이 578.1±68.85(㎎ force/g tissue)를 나타내어 유의성 있는 성적을 보였다. KCl에 대한 기관지평활근 최대수축반응 실험에서는 대조군이 498.0±25.78(㎎ force/g tissue)을 나타내었고 이에 비해 C군이 175.2±13.612(㎎ force/g tissue), B군이 207.6±23.55(㎎ force/g tissue)를 나타내 유의한 감소를 보였다.

본 연구에서 기관지폐포세척액 내 Lymphocyte는 대조군이 6.2±0.94(10^6/lavage)을 나타내었으며, B군이 2.7±0.74(10^6/lavage), D군이 3.0±0.76(10^6/lavage)를 나타내 유의한 감소경향을 보였다. 기관지폐포세척액 내 Macrophage는 대조군이 91.5±2.06(10^6/lavage)을 나타내었으며, B군이 83.8±1.52(10^6/lavage), C군이 80.8±2.28(10^6/lavage)를 나타내 유의한 감소를 보였다. 기관지폐포세척액내의 IL-4는 대조군이 0.265±0.0053(OD value)을 나타내었으며, 이에 비해 A군이 0.244±0.004(OD value), C군이 0.243±0.0042(OD value)를 나타내 유의한 감소를 보였다.

혈청내 IgE는 대조군이 0.264±0.0047(OD value)을 나타내었으며, 이에 비해 B군이 0.285±0.0056(OD value), C군이 0.289±0.0074(OD value)를 나타내 유의한 증가를 보였다.

혈액내 WBC, RBC, HGB 수치는 BJY-0.2군이 증가를 보였고 나머지 군에서는 유의한 결과를 나타내지 못했다.

위의 결과를 종합해보면 保肺養營煎의 經口投與는 기관지평활근의 수축력을 감소시켜 기도과민반응(AHR)을 감소시키고 喘息의 중요한 진단지표인 혈청 IL-4 및 기관지폐포세척액 내 Lymphocyte, Macrophage를 유의하게 감소시켜 기관지 염증을 해소시킬 것으로 추측된다. 또한 IgE의 증가와 WBC, RBC, HGB 증가를 보여 면역력 증강의 효과도 예상된다. 혈액내 WBC, RBC, HGB 검사에서 A군이 유의한 증가를 보이고 나머지 실험군에서는 유의성이 나타나지 않았는데, 이는 保肺養營煎의 補血효과와 면역력 증강효과가 약물의 농도와 비례하지 않고 유효한 농도수준이 존재한다고 사료된다.

따라서 기관지 염증을 해소하고 기관지평활근의 수축을 감소시키며 면역력 증강의 효과도 있어서, 呼吸困難을 緩和시키고 기관지 분비물을 감소시켜 虛證의 喘息의 治療에 有效할 것으로 思料된다.

V. 結 論

保肺養營煎의 경구투여가 기관지평활근장력과 염증 및 면역반응에 미치는 영향을 실험적으로 규명하고자 흰쥐에 경구투여한 후 TSM의 등장성 장력에 대한 최대반응, 민감성 반응, 기관지폐포세척액내 염증반응 세포 및 IL-4, 말초혈액내 특이적 면역반응 IgE, 혈액학적 변화 등을 관찰한 바 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. ACh 누적투여에 따른 TSM 수축반응에서 대조군에 비해 C군이 0.3, 1, 3, 10, 30, 100, 300, 1000 ㎛M에서 유의하게 감소하였고($P<0.05$, $P<0.01$), D군에서는 0.1, 0.3, 3, 30, 100, 300, 1000㎛M에서 유의하게 감소하였다.
2. ACh에 대한 TSM 등장성 민감수축반응에서 A

군이 증가경향을 보였으나 유의성을 나타내지는 못하였다.

3. ACh에 대한 TSM 최대수축반응에서 대조군에 비하여 C군($P<0.01$), D군($P<0.05$)이 유의한 감소를 보였다.
4. KCl에 대한 TSM 최대수축반응에서 대조군에 비하여 B군, C군($P<0.001$)이 유의한 감소를 보였다.
5. 기관지폐포세척액내 lymphocyte 변화에서 대조군에 비하여 B군, D군($P<0.05$)이 유의한 감소를 보였다.
6. 기관지폐포세척액내 macrophage 변화에서 대조군에 비하여 B군, C군($P<0.05$)이 유의한 감소를 보였다.
7. 기관지폐포세척액내 IL-4 변화에서 대조군에 비하여 A군, C군($P<0.05$)이 유의한 감소를 보였다.
8. 혈청 IgE 변화에서 대조군에 비하여 B군, C군($P<0.05$)이 유의한 증가를 보였다.
9. 혈액내 WBC 변화에서 대조군에 비하여 A군이 유의한 증가를 보였으나 나머지 세 군에서는 감소경향을 나타내었다.
10. 혈액내 RBC, HGB 변화에서 대조군에 비하여 A군이 모두에서 유의한 증가를 보였다.

參考文獻

1. 이형구, 정승기. 東醫肺系內科學. 서울:아트동방; 1993, p.105-12, 162-5.
2. 上海中醫學院編. 中醫內科學. 香港:商務印書館香港分館; 1975, p.17-23.
3. 北京中醫院編. 韓醫學臨床病理. 서울:成輔社; 1983, p.180-6, 291.
4. 채인식, 권현덕, 변원구. 漢方醫學用語大辭典. 서울:癸丑文化社; 1983, p. 746-7.
5. 楊維傑. 黃帝內經素問譯解. 서울:成輔社; 1980, p.202,457.
6. 楊維傑. 黃帝內經靈樞譯解. 서울:成輔社; 1980, p.301.
7. 許浚. 東醫寶鑑. 서울:南山堂; 1976, p.469. 474-9.
8. 李梴. 醫學入門. 서울:한성사; 1983, p.494-609.
9. 上海科學技術出版社. 實用中醫內科學. 上海:上海科學技術出版社; 1986, p. 163-71.
10. 해리슨내과학편찬위원회. 해리슨내과학. 서울:정담; 1997, p.1258-64.
11. Lawrence M. Tierney, Jr., Stephen J McPhee, Maxine A. Papadakis. 오늘의 진단과 치료. 서울: 한우리; 2000, p.287-97.
12. Beasley R, Roche WR, Roberts GA and Holgate ST. Cellular events in mild asthma and after bronchial provocation. AmRev Respir Dis; 1989, p.129, 806-17.
13. 대한병리학회. 병리학. 서울:고문사; 1990, p.604-6.
14. 권순호, 정희재, 정승기, 이형구. 五拗湯이 알레르기 喘息의 호흡양상과 기관조직에 미치는 영향. 대한한의학회지. 1999;20(2):98-107.
15. 권혁성, 정희재, 정승기, 이형구. 淸上補下湯이 알레르기천식의 호흡양상과 기관점막의호산구변화에 미치는 영향. 경희대논문집. 1999;22(1):203-15.
16. 백동진, 정희재, 이형구, 정승기. 解表二陳湯加減方이 喘息 모델내의 Cytokine에 미치는 영향. 대한한의학회지. 2000;21(3):57-67.
17. 한대길, 한상환. 款冬花散 및 그 구성약물이 기관지평활근에 미치는 영향. 대한한방내과학회지. 1992;13(1):1-20.
18. 이민섭. 柴胡枳桔湯이 GUINEA PIG의 기관지평활근에 미치는 영향. 대한한방내과학회지. 1992;13(1):34-45.
19. 이영자, 신조영. 杏仁半夏湯이 GUINEA PIG의 기관지평활근에 미치는 영향. 1992;13(1):124-34.
20. 金永勳. 晴崗醫鑑. 서울:成輔社; 2001, p.105-06.
21. 吳謙. 醫宗金鑑(中). 서울:大星文化社; 1991, p.390-91.
22. 葉天士. 臨証指南醫案. 서울:成輔社; 1982, p.299-300.
23. 蔡仁植. 傷寒論譯詮. 서울:高文社; 1991, p.197-9.
24. 張介賓. 景岳全書. 서울:一中社; 1992, p.344-8.
25. 朱丹溪. 丹溪心法. 서울:杏林書院; 1965, p.110.
26. 李東垣. 東垣十種醫書(此事難知卷下). 臺北:五州出版社; 1981, p.18.
27. 林珮琴. 類證治裁. 臺北:旋風出版社; 1979, p.113.
28. 虞搏. 醫學正傳. 서울:成輔社; 1986, p.208, 221, 230-1, 503.

29. 王肯堂. 六科證治準繩. 서울:大星文化社; 1992, p.152-3.
30. NHLBI/WHO Workshop Report. Global strategy for Asthma Management and Prevention. NIH Publication, No 95-3695, January.1995.