

# 감초(*Glycyrrhiza uralensis* Fisch, GLU)가 천식모델 생쥐의 BALF 내 면역세포 및 Cytokine에 미치는 효과

한영주, 박양춘

대전대학교 한의과대학 내과학교실

## Effects of *Glycyrrhiza uralensis* Fisch on Immunocyte and Cytokine Production in Asthma Model Mouse

Young-Joo Han, Yang-Chun Park

Department of Internal Medicine College of Oriental Medicine, Daejeon University, Daejeon, Korea

**Objective :** The aim is to identify the effects of *Glycyrrhiza uralensis* Fisch on immunocyte and cytokine production in asthmatic laboratory mice. This experiment was designed to investigate the antiallergic and antiinflammatory effects of *Glycyrrhiza uralensis* Fisch on asthma.

**Materials and Methods :** We measured the eosinophil, IL-4, IL-5, IL-13, IFN- $\gamma$ , CD4, CD8, CD69, CCR3, CD11b, Gr-1 in bronchoalveolar lavage fluid of ovalbumin induced asthmatic mice.

**Results :** *Glycyrrhiza uralensis* Fisch increased the proliferation of eosinophils, IL-4, IL-5, IL-13, IgE, granulocyte, CCR3, CD4, IgE, CD69. *Glycyrrhiza uralensis* Fisch increased the proliferation of IFN- $\gamma$ .

**Conclusion :** Results suggest that *Glycyrrhiza uralensis* Fisch extract is useful in treatment and prevention allergic asthma.

**Key Words:** *Glycyrrhiza uralensis* Fisch, cytokine, antiallergy

## I. 緒 論

기관지 천식은 임상적으로 가역적인 기도폐쇄 증상을 보이면서, 병태생리학적으로 기도과민반응을

나타내고, 조직병리학적으로는 기도의 염증소견이 관찰되는 염증성 기도질환이다<sup>1,2</sup>. 기관지천식의 발병에는 여러 위험인자들이 관여하고 있으며, 위험인자는 소인, 유발물질, 기여인자로 나뉘는데, 특히 경제 성장에 따른 공업화, 도시화에 따라 실내생활의 확대, 대기오염의 증가, 흡연 인구의 증가 등에 의해 유발물질과 기여인자가 늘어남으로써 기관지천식의 유병율이 증가하고 있다<sup>3</sup>.

기관지천식은 한의학에서 呼吸急促하며 喉中有聲

· 접수 : 2004년 6월 12일 · 채택 : 2004년 6월 30일  
· 교신저자 : 박양춘, 충북 청주시 용담동 173-9 대전대 부속 한방병원 5 내과  
(Tel. 043-229-3704, Fax : 043-253-8757, E-mail : omdpyc@dju.ac.kr)

響한 증상을 나타내는 哮喘證의 범주에 속하는 질환으로 치료에 있어서는 實證과 虛證으로 나누어 實證은 크게 外感風寒, 痰濕內盛으로 나누어 祛風散寒, 祛痰化濕, 宣肺平喘의 治法을 사용하였고, 虛證은 肺虛, 心腎虛損, 上實下虛로 구분하여 養肺, 補益心腎, 瀉肺化痰, 補益腎元의 治法을 사용하였다.

甘草는 《神農本草經》에 처음 기재된 약물로 그 性味는 甘平하며 脾胃肺經으로 歸經하고 和中緩急, 潤肺, 解毒, 調和諸藥의 效能이 있다<sup>6</sup>. 약리적으로 부신피질 호르몬양 작용, 항염증 및 항알레르기 작용, 소화기에 대한 작용, 해독작용, 실험성 황달에 대한 영향, 진해 작용, 진통 및 항경련 작용, 등이 있다고 하였다<sup>7</sup>. 김8은 감초가 호산구 및 호중구의 유착능을 억제하여 항염증작용이 있다고 하였고, Wang 등<sup>9</sup>은 천식환자의 기도 과민성을 감소시킨다고 하였다.

이에 저자는 감초의 천식에 대한 항염증 및 항알레르기 효능을 실험적으로 규명하고자 생쥐의 기관지 폐포세척액에서 얻은 호산구, IL-4, IL-5, IL-13, IgE, IFN- $\gamma$ , CD4, CD8, CD69, CCR3의 생성에 미치는 효과를 관찰하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

## II. 實 驗

### 1. 재 료

#### 1) 동물

본 실험에 사용된 실험용 쥐는 체중 18~25g의 C57BL/6(한국화학연구소) 쥐로, 실험 당일까지 고형 사료(조단백질 22.1% 이상, 조지방 8.0% 이하, 조섬유 5.0% 이하, 조회분 8.0% 이하, 칼슘 0.6% 이상, 인 0.4% 이상 삼양사 배합 사료 Co.)와 물을 충분히 공급하고, 실온 22±2℃, 상대 습도 50±10%, 조명 시간 12시간(07:00~19:00), 조도 150~300Lux로 설정하여 2주일간 실험실 환경에 적응시킨 후 체중 변화가 일정하고 건강한 동물만을 선별하여 실험에 사용하였다.

#### 2) 약재

실험에 사용된 감초(*Glycyrrhiza uralensis*: 이하

GLU)는 대전대학교 부속한방병원에서 구입한 것을 정선하여 사용하였다.

## 2. 방법

### 1) 감초 추출물 분리

감초는 200g에 각각 증류수 2,000ml를 가하여 열탕 추출기에서 3시간 추출하여 얻은 액을 흡입 여과하여 이를 감압 증류장치(Rotary evaporator, BUCHI B-480, Switzerland)로 농축하였다. 이를 다시 동결 건조기(Freeze dryer, EYELA FDU-540, Japan)를 이용하여 완전 건조한 감초를 냉동(-84℃) 보관하면서 적당한 농도로 희석하여 사용하였다.

### 2) 기관지 천식 생쥐 모델

500 $\mu$ g/ml의 난알부민(OVA, chicken egg ovalbumin; Grade IV)과 10% (w/v) aluminum potassium sulfate (Alum; Sigma)를 PBS로 용해한 후 혼합하였다. 이 혼합물을 10N NaOH로 pH를 6.5로 조정하여 상온에서 1시간 동안 방치하고 750 $\times$ g에서 5분 동안 원심 분리 하였다.

이 OVA/Alum 침전물(pellet)을 증류수를 가하여 원래의 양으로 용해한 후 100 $\mu$ g OVA를 0.2ml로 조정하여 복강 내로 주사하여 전신 감각을 시켰다. 이후 2주째에 생쥐를 마취한 후 난알부민(500 $\mu$ g/ml) 100 $\mu$ l를 기도로 투여하였다. 실험군은 3주째부터 분무기를 이용하여 2.5mg/ml 난알부민 용액을 하루에 30분씩 일주일에 3회씩 6주 동안 비강 및 기도내로 흡입시켰으며, 대조군은 PBS 또는 Alum만을 흡입, 주사시켰다.

### 3) 감초 추출물 경구 투여

OVA/Alum로 전신 감각 시킨 후 3주째부터 감초 추출물(150mg/kg)을 일주일에 5회 경구 투여하였다. 대조군은 증류수를 동량 경구투여 하였다.

4) 기관지 폐포세척액(broncho-alveolar lavage fluid: 이하 BALF)으로부터 세포의 분리

6주 후 기관지 천식 생쥐의 눈에서 혈액을 분리한 후 목부분을 해부하였다. 폐포 세척액으로부터 세포를 분리하기 위해 10% FBS/DMEM 배양액 1ml을 넣은 주사기를 기관(trachea)에 주입시키고, 끈으로 묶

어 고정 한 후 3회 순환 시켜 분리하였다. 여기에 ACK 용액을 37°C에서 5분 동안 처리하여 적혈구를 용해시키고 다시 배지로 세척한 후 0.04% trypan blue로 염색한 후 세포수를 측정하였다.

5) 호산구 분리 및 측정

BALF로부터 세포를 분리한 후 cytospin(한일과학)에서 1,000 rpm에서 5분간 원심 분리한 후 slide를 건조하였다. 건조된 슬라이드는 Diff-Quick 용(Baxter Healthcare, U.S.A.)을 이용하여 염색하였다. 이 슬라이드로부터 세포의 모양과 염색 특징 등으로 면역세포의 type을 결정하였으며, 광학현미경(Nikon, japan) 400×에서 관찰하여 infiltration된 호산구 수를 측정하였다.

6) ELISA analysis

생쥐에서 분리한 폐포세척액에서 IL-4, IL-5, IgE, IFN-γ의 양을 측정하기 위하여 enzyme-linked immuno-sorbent assay(ELISA, Endogen, USA)를 실시하였고, IL-13은 ELISA kit(R&D system)로 생산량을 측정하였다.

7) 유세포 분석(flow cytometry analysis)

기관지 폐포 세척액으로부터 분리한 세포를 2~5×105 세포로 조정 한 후, 항체를 이용하여 면역 염색하기 위하여 염색 완충용액(1% 우(牛)태아 혈청, 0.01% NaN3가 포함된 인산염 완충용액, pH 7.4)으로 1회 세척하였다. 그리고 FITC(fluorescein-isothiocyanate) 또는 PE(phycoerythrin) 형광 물질이 결합된 CD3, CD4, CD8, CD69, CCR3, B220 등의 항체를 시료에 가하여 4°C에서 40분간 반응시키고 염색 완충용액으로 2회 세척한 후 세포 표면 분자들의 발현을 유세포분석기(FACScan, BD Biosciences)로 분석하였다.

III. 成 績

1. BALF내 호산구 수에 미치는 영향

천식 유발에 따른 호산구의 수(No. of ×400 photo)를 보면 정상군은 1.05±0.58, 대조군은 127.7±26.8, GLU 투여군은 17.3±2.91로 나타나 대조군에 비해 GLU 투여군에서 유의성(p<0.001) 있는 감소 효과가 나타났다(Fig. 1).

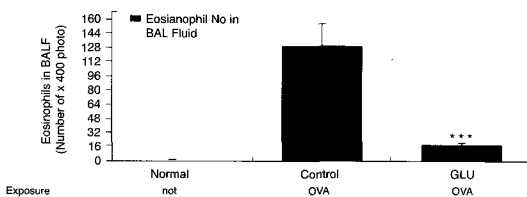


Fig. 1. Effect of GLU extract drug on eosinophil in BALF of OVA-induced asthma murine.

WT : Normal C57 BL/6mice  
 OVA-control : Ovalbumin inhalation(control)  
 OVA-GLU : OVA + GLU(150mg/kg)  
 The results are expressed the mean ± S.E (N=10).  
 Statistically significant value compared with control group data by T test (\*p < 0.01, \*\*\*p < 0.01)

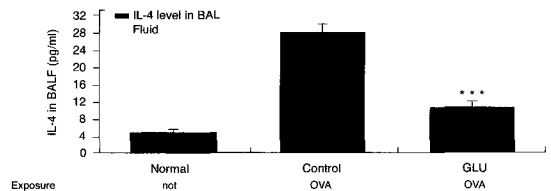
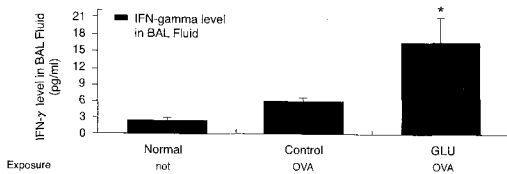


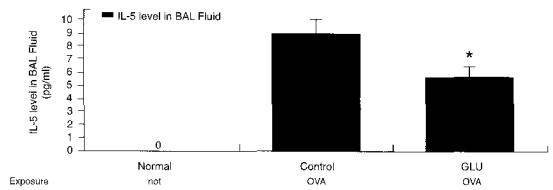
Fig. 2. Effect of GLU extract drug on IL-4level in murine OVA - induced asthma of BAL fluid.

WT : Normal C57 BL/6mice  
 OVA-control : Ovalbumin inhalation(control)  
 OVA-GLU : OVA + GLU(150mg/kg)  
 The results are expressed the mean ± S.E (N=10).  
 Statistically significant value compared with control group data by T test (\*p < 0.05, \*\* p < 0.01, \*\*\*p < 0.001)



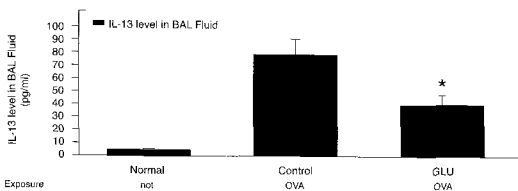
**Fig. 3.** Effect of GLU extract drug on IFN- $\gamma$  level in murine OVA - induced asthma of BAL fluid.

WT : Nomal C57 BL/6mice  
 OVA-control : Ovalbumin inhalation(control)  
 OVA-GLU : OVA + GLU(150mg/kg)  
 The results are expressed the mean  $\pm$  S.E (N=10).  
 Statistically significant value compared with control group data by T test (\*p < 0.05, \*\*p < 0.01, \*\*\*p < 0.001)



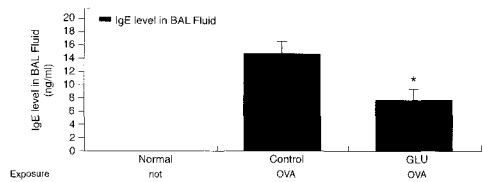
**Fig. 4.** Effect of GLU extract drug on IL-5 level in murine OVA - induced asthma of BAL fluid.

WT : Nomal C57 BL/6mice  
 OVA-control : Ovalbumin inhalation(control)  
 OVA-GLU : OVA + GLU(150mg/kg)  
 The results are expressed the mean  $\pm$  S.E (N=10).  
 Statistically significant value compared with control group data by T test (\*p < 0.05, \*\*p < 0.01, \*\*\*p < 0.001)



**Fig. 5.** Effect of GLU extract drug on IL-13 level in murine OVA - induced asthma of BAL fluid.

WT : Nomal C57 BL/6mice  
 OVA-control : Ovalbumin inhalation(control)  
 OVA-GLU : OVA + GLU(150mg/kg)  
 The results are expressed the mean  $\pm$  S.E (N=10).  
 Statistically significant value compared with control group data by T test (\*p < 0.05, \*\*p < 0.01, \*\*\*p < 0.001)



**Fig. 6.** Effect of GLU extract drug on IgE level in murine OVA - induced asthma of BAL fluid.

WT : Nomal C57 BL/6mice  
 OVA-control : Ovalbumin inhalation(control)  
 OVA-GLU : OVA + GLU(150mg/kg)  
 The results are expressed the mean  $\pm$  S.E (N=10).  
 Statistically significant value compared with control group data by T test (\*p < 0.05, \*\*p < 0.01, \*\*\*p < 0.001)

## 2. BALF내 IL-4 양에 미치는 영향

천식유발에 따른 IL-4 양(pg/ml)을 측정한 결과, 정상군은 4.7 $\pm$ 0.3, 대조군은 27.9 $\pm$ 2.1, GLU 투여군은 10.6 $\pm$ 1.3으로 나타나 대조군에 비해 GLU 투여군에서 유의성(p<0.001) 있는 감소 효과가 나타났다(Fig. 2).

## 3. BALF내 IFN- $\gamma$ 양에 미치는 영향

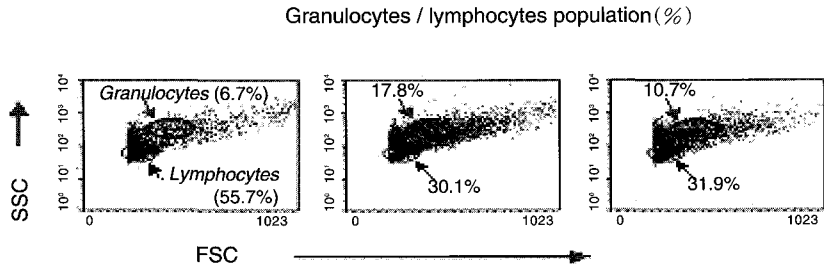
천식유발에 따른 IFN- $\gamma$  양(pg/ml)을 측정한 결과,

정상군은 2.4 $\pm$ 0.5, 대조군은 5.7 $\pm$ 0.9, GLU 투여군은 16.4 $\pm$ 4.6으로 대조군에 비해 GLU 투여군에서 유의성(p<0.05) 있는 증가 효과가 나타났다(Fig. 3).

## 4. BALF내 IL-5 양에 미치는 영향

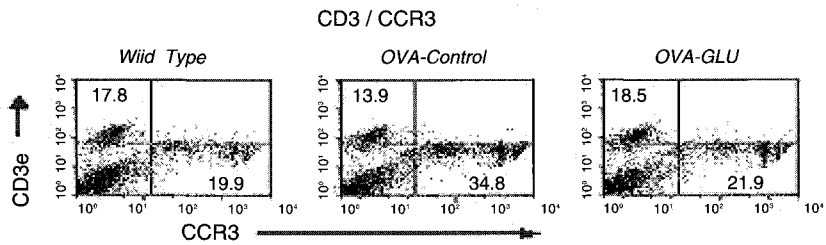
천식유발에 따른 IL-5 양(pg/ml)을 측정한 결과, 정상군은 0 $\pm$ 0, 대조군은 8.7 $\pm$ 1.1, GLU 투여군은 5.5 $\pm$ 0.8로 나타나 대조군에 비해 GLU 투여군에서 유

감초(Glycyrrhiza uralensis Fisch, GLU)가 천식모델 생쥐의 BALF내 면역세포 및 Cytokine에 미치는 효과



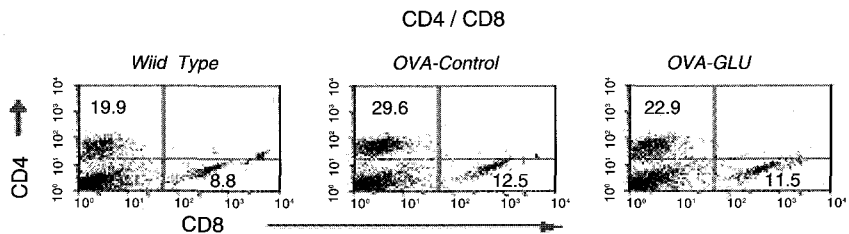
**Fig. 7.** Effect of GLU extract drug on Granulocytes / lymphocytes population (%) in murine OVA-induced asthma lung cells

WT : Normal C57 BL/6 mice  
 OVA-control : Ovalbumin inhalation(control)  
 OVA-GLU : OVA + GLU(150mg/kg)



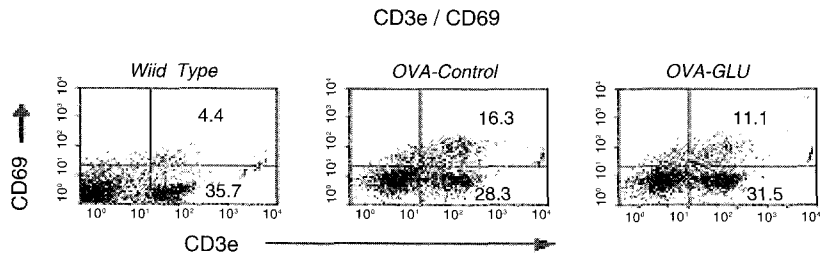
**Fig. 8.** Effect of GLU extract drug on CD 3e/CCR3(%) in murine OVA- induced asthma lung cells.

WT : Normal C57 BL/6mice  
 OVA-control : Ovalbumin inhalation(control)  
 OVA-GLU : OVA + GLU(150mg/kg)



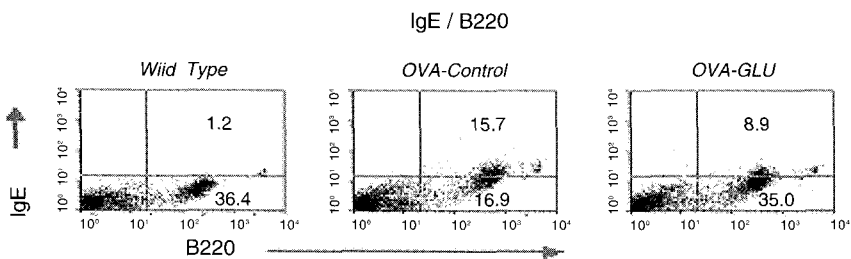
**Fig. 9.** Effect of GLU extract drug on CD4/CD8(%) in murine OVA- induced asthma lung cells.

WT : Normal C57 BL/6mice  
 OVA-control : Ovalbumin inhalation(control)  
 OVA-GLU : OVA + GLU(150mg/kg)



**Fig. 10.** Effect of GLU extract drug on CD3e/CD69 in murine OVA- induced asthma lung cells.

WT : Normal C57 BL/6mice  
 OVA-control : Ovalbumin inhalation(control)  
 OVA-GLU : OVA + GLU(150mg/kg)



**Fig. 11.** Effect of GLU extract drug on IgE/B220(%) in murine OVA- induced asthma lung cells.

WT : Normal C57 BL/6mice  
 OVA-control : Ovalbumin inhalation(control)  
 OVA-GLU : OVA + GLU(150mg/kg)

의성( $p < 0.05$ ) 있는 감소 효과가 나타났다(Fig. 4).

#### 5. BALF내 IL-13 양에 미치는 영향

천식유발에 따른 IL-13 양( $pg/ml$ )을 측정 한 결과, 정상군은  $4.3 \pm 0.9$ , 대조군은  $76.4 \pm 13$ , GLU 투여군은  $38.8 \pm 7.6$ 으로 나타나 대조군에 비해 GLU 투여군에서 유의성( $p < 0.05$ ) 있는 감소 효과가 나타났다(Fig. 5).

#### 6. BALF내 IgE 양에 미치는 영향

천식유발에 따른 IgE 양( $ng/ml$ )을 측정 한 결과, 정상군은  $0 \pm 0$ , 대조군은  $14.3 \pm 2.1$ , GLU 투여군은 7.6

$\pm 1.8$ 로 나타나 대조군에 비해 GLU 투여군에서 유의성( $p < 0.05$ ) 있는 감소 효과가 나타났다(Fig. 6).

#### 7. BALF내 면역 유세포 분석

FACS를 통하여 유세포를 분석한 결과, 과립구/림프구(%)는 정상군에서는 6.7/55.7, 대조군에서는 17.8/30.1, GLU 투여군에서는 10.7/31.9로 나타나 대조군에 비하여 과립구의 감소가 나타났다(Fig. 7).

CD3e/CCR3(%)는 정상군에서는 17.8/19.9, 대조군에서는 13.9/34.8, GLU 투여군에서는 18.5/21.9로 나타나 대조군에 비하여 CCR3의 감소가 나타났다(Fig. 8).

CD4/CD8(%)는 정상군에서는 19.9/8.8, 대조군에서는 29.6/12.5, GLU 투여군에서는 22.9/11.5로 나타나 대조군에 비하여 CD4의 감소가 나타났다(Fig. 9).

CD69/CD3e(%)는 정상군에서는 35.7/4.4, 대조군에서는 16.3/28.3, GLU 투여군에서는 11.1/31.5로 나타나 대조군에 비하여 CD69의 감소가 나타났다(Fig. 10).

IgE/B220(%)는 정상군에서는 1.2/36.4, 대조군에서는 15.7/16.9, GLU 투여군에서는 8.9/35.0으로 나타나 대조군에 비하여 IgE의 감소가 나타났다(Fig. 11).

#### IV. 考 察

기관지천식은 항원, 비만세포 및 IgE가 관여하여 분비되는 화학매체의 직접적인 악리작용에 의해서 그리고 화학매체와 cytokine, 유착분자가 관여하여 기관지로 모여온 염증세포에 의해서 발병하는 기도의 만성 알레르기 염증성 질환으로 이해되고 있다<sup>4</sup>.

기관지천식의 특징적 병리소견은 기관지속에 호산구의 수가 증가되어 있는 것인데 기도내로 유입된 호산구가 활성화되면, 세포막으로부터 생성되는 혈소판활성인자, leukotriens 등의 화학매체들은 기도 수축, 객담 생성, 혈관투과성 증가, 부종 등을 발생시키고, 더불어 화학중성이 있어 지속적으로 호산구를 비롯한 염증세포들을 기도내로 유입시킬 뿐 아니라 기도과민성을 생성하거나 증가시키며, 세포질로부터 유리된 세포독성단백은 기도상피를 박탈시킨다<sup>10</sup>.

기관지천식의 병인에 관여하는 세포 중 T조력(이하 Th) 림프구는 cytokine의 분비양상에 따라 Th1, Th2 림프구로 나뉜다. Th1 림프구는 주로 IL-2, IL-12, IFN- $\gamma$ 를 생산하며 지연형 과민반응, 결핵균이나 바이러스에 대한 방어작용, 종양에 대한 숙주반응에 관여하고, Th2 림프구는 IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 등을 생산하며 즉시형 과민반응, 기관지천식과 같은 알레르기성 질환, 기생충감염에 대한 방어작용에 관여한다<sup>11</sup>. Th1 림프구와 Th2 림프구는 서로 길항작용을 나타내어 기능이 억제되는 현상이 관찰되며 알레르기성 기관지천식자의 기관지 폐포세척액에서는 Th2 림프구의 기능이 활성화됨이 관찰되고 있다<sup>12</sup>.

감초는 《神農本草經》에 처음 기재된 약물로 그 성미는 甘平하며 脾 胃 肺經으로 歸經하고 和中緩急, 潤肺, 解毒, 調和諸藥의 效能이 있다<sup>6</sup>. 약리적으로 부신피질호르몬양 작용, 항염증 및 항알레르기 작용, 소화계통에 대한 작용, 해독작용, 실험성 황달에 대한 영향, 진해 작용, 진통 및 항경련 작용 등이 있다고 하였다<sup>7</sup>.

감초의 효능에 대한 기존의 실험연구로 알레르기 및 호흡기에 대한 효능에 대하여 김<sup>8</sup>은 감초가 호산구 및 호중구의 유착능을 억제하여 항염증작용이 있다고 하였고, Wang 등<sup>9</sup>은 천식환자의 기도 과민성을 감소시킨다고 하였다.

이에 저자는 감초의 천식에 대한 항염증 및 항알레르기 작용에 대한 실험적 규명을 위해 생쥐의 기관지 폐포세척액에서 얻은 호산구, IL-4, IL-5, IL-13, IgE, IFN- $\gamma$ , CD4, CD8, CD69, CCR3의 생성에 미치는 영향을 측정하였다.

호산구는 기생충 감염시 기생충을 죽이거나 알레르기 반응시 arylsulphatase, histaminase, phospholipase D 등을 분비하여 비만세포나 호염기구로부터 유리되는 히스타민을 비롯한 화학매체 등을 분해함으로써, 비만세포나 호염기구와 길항작용을 하여 항산성을 유지시키는 유익한 세포로 알려졌으나, 알레르기 질환이 호산구에 의한 염증반응에 발생하는 과민성 질환임이 규명되면서 세포독성 염증반응세포로 역할이 전환되었다<sup>13</sup>.

천식 유발 생쥐의 기관지 폐포 세척액에서 호산구의 수를 관찰한 결과 대조군에 비해 GLU 투여군에서 유의성 있는 감소 효과가 나타났다(Fig. 1)

IL-4는 Th2에서 방출되어 활성화된 B 세포, T 세포 및 thymocyte의 증식을 유도하며, monocyte의 증식을 유도하고, monocyte의 활성화 및 비만세포의 증식과 성숙을 촉진한다. 특히 B 세포의 분화에 관한 작용으로 IgE의 생성과 분비를 유도하고, II형 IgE 수용체인 Fc $\epsilon$ R II의 발현을 증가시킨다. 이러한 IL-4의 기능은 알레르기 반응의 주요절인자로서 중요하다<sup>4</sup>.

천식 유발 생쥐의 기관지 폐포 세척액에서 IL-4의 양을 관찰한 결과 대조군에 비해 GLU 투여군에서

유의성 있는 감소 효과가 나타났다(Fig. 2).

IFN- $\gamma$ 는 세포매개 Th1 면역 반응의 유도에서 결정적 매개인자로 작용하고 B 세포의 분화와 증식을 억제하는데 Th1과 Th2 분화의 주요 조절 인자이다. IL-4에 대해 길항작용을 하여 IL-4에 의한 IgE 생성을 억제한다<sup>15</sup>.

천식 유발 생쥐의 기관지 폐포 세척액에서 IFN- $\gamma$ 의 양을 관찰한 결과 대조군에 비해 GLU 투여군에서 유의성 있는 증가 효과가 나타났다(Fig. 3).

IL-5는 IL-4와 유사하게 B 세포의 증식과 분화를 자극하는 기능을 가진 사이토카인으로 활성화된 CD4+ T 세포와 비만세포가 분지한다. IL-5는 IL-2 또는 IL-4의 B 세포 분화 성장작용을 상승시키며 성숙 B 세포에 작용하여 IgA 생성을 항진시킨다. 또한 호산구의 분화증식을 항진시켜 호산구매개염증반응 조절에 관여하므로 IL-5의 억제제가 알레르기성 호흡기 질환의 치료에 유용할 것으로 보고되고 있다<sup>16</sup>.

천식 유발 생쥐의 기관지 폐포 세척액에서 IL-5의 양을 관찰한 결과 대조군에 비해 GLU 투여군에서 유의성 있는 감소 효과가 나타났다(Fig. 4).

IL-13은 Th2에서 분비되는 사이토카인으로 IgE의 생성을 유도하여 알레르기성 염증 반응의 병인에 관여한다고 하였다<sup>17</sup>.

천식 유발 생쥐의 기관지 폐포 세척액에서 IL-13의 양을 관찰한 결과 대조군에 비해 GLU 투여군에서 유의성 있는 감소 효과가 나타났다(Fig. 5).

IgE 항체는 제1형 과민반응의 중심역할을 한다. 항원에 노출되어 생산된 IgE 항체는 비만세포 표면에 결합하게 되고 같은 항원에 재노출하게 되면 비만세포 표면에서 부착된 IgE 항체와 항원이 결합하여 비만세포로부터 여러 화학매체들을 분비하게 된다<sup>18</sup>.

천식 유발 생쥐의 기관지 폐포 세척액에서 IgE의 양을 관찰한 결과 대조군에 비해 GLU 투여군에서 유의성 있는 감소 효과가 나타났다(Fig. 6).

이상의 BALF내 실험결과 대조군에 비해 GLU 투여군에서 호산구, IL-4, IL-5, IL-13은 유의성 있는 감소를 보였고, IFN- $\gamma$ 는 유의성 있는 증가를 보임으로써 감초가 Th2 관련 cytokine의 생산을 줄이고 Th1

관련 cytokine의 생산을 늘려 항알레르기 효과가 있는 것으로 생각된다.

면역 유세포를 분석한 결과 림프구는 대조군에서 30.1%, GLU 투여군에서 31.9% 정도의 비슷한 수준을 유지한 반면 과립구는 대조군에서 17.8%, GLU 투여군에서 10.7%로 감소가 나타났다(Fig. 7).

T세포 표면 항원수용체를 T세포수용체(T cell receptor : 이하 TCR)라 하며 TCR은 항원전달세포가 처리하여 항원전달세포 표면에 주요조직적합항원분자(major histocompatibility complex : 이하 MHC)와 결합시켜 내놓은 폴리펩타이드 조각과만 반응한다. TCR은 면역글로불린과는 달리 항원 뿐 아니라 MHC 분자와도 결합을 하게 되며 TCR이 이들과 효율적으로 결합하도록 도와주는 보조 기구로 T 림프구는 CD4, CD8, CD3분자가 있으며 CD3분자는 T 림프구 항원수용체에 항원이 결합된 신호를 세포안으로 전달하는 기능을 맡아보고 있는데 이 CD3는 Th1 림프구와 Th2림프구 모두에 존재한다<sup>18</sup>. Chemokine은 cytokine 중에 화학주성을 갖는 cytokine을 말하며 CCR3는 chemokine과 반응하는 세포표면표식인자로서 호산구, 호염기구, Th2림프구의 세포표식인자이다<sup>18</sup>. 천식 유발 생쥐의 기관지 폐포 세척액에서 면역 유세포를 분석한 결과 CCR3는 대조군에서 34.8%이었으나 GLU 투여군에서 21.9%로 감소되어(Fig. 8) 전반적으로 알레르기 관련 세포의 감소를 의미하며 따라서 알레르기 반응을 감소시키는 것으로 생각된다.

아토피 환자의 생검에서 호산구와 CD4+ T 세포의 침윤이 특징적이고 이들 T 세포에서 Th2-type의 cytokine이 분비된다고 하며 천식에서는 기관지세척액의 CD3+ 세포, CE4+ 세포, CD4+/CD8+의 비율이 증가한다. 정상인에서 CD4와 CD8의 비율은 대체로 1.5~2:1의 비율을 유지한다고 한다<sup>19</sup>. 천식 유발 생쥐의 기관지 폐포 세척액 면역 유세포 분석에서 CD4/CD8(%)는 대조군에서 29.6/12.5, GLU 투여군에서는 22.9/11.5로 나타나(Fig. 9) 알러지반응을 촉진시키는 CD4의 감소를 보였다.

CD3는 T 세포표면분자이고 CD69는 활성화된 B 세포 및 T 세포 및 대식세포, 세포독성 세포에 존재



하는 표면분자로 T 세포의 초기 활성화를 나타내며, 활성화된 호산구에서 분비되므로 천식환자의 기도에서 호산구침윤의 표지로 사용될 수 있다<sup>20</sup>. 천식 유발 생쥐의 기관지 폐포 세척액 면역유세포 분석에서 CD69의 활성화세포 발현(%)을 관찰한 결과 대조군에서 16.3인데 비해 GLU 투여군에서 11.1로 감소하여(Fig. 10) 앞의 실험(Fig. 1)에서 호산구수의 감소를 보인 것과 일치하였다.

B220은 B 세포의 표지분자이고 아토피질환의 발생에서 중요한 역할을 하는 IgE 항체는 B 림프구에 의해 생성 된다<sup>18</sup>. 천식 유발 생쥐의 기관지 폐포 세척액 면역유세포 분석에서 IgE/B220(%)는 대조군에서 15.7/16.9인데 비해 GLU 투여군에서는 8.9/35.0으로 감소하여(Fig. 11) 앞의 실험(Fig. 6)에서 IgE의 양이 감소를 보인 것과 일치하였다.

종합하면 BALF내 실험결과에서 대조군에 비해 GLU 투여군에서 알러지 반응을 촉진시키는 호산구, IL-4, IL-5, IL-13은 유의성 있는 감소를 보였고 알러지 반응을 억제시키는 IFN- $\gamma$ 는 유의성 있는 증가를 보였으며, 면역유세포 검사에서 알러지 반응이 활발할 때 증가하는 과립구, CCR3, CD4, IgE, CD69은 감소하는 결과를 보여 감초가 항알러지 및 항염증의 효능이 있어 기관지천식에 유효한 것으로 사료된다.

## V. 結論

감초의 천식에 대한 항알러지 및 항염증 작용을 규명하기 위해 기관지 폐포세척액에서 호산구, IL-4, IFN- $\gamma$ , IL-5, IL-13, IgE의 분비, CCR3, CD4, CD8, CD69, IgE의 유세포 분석 등을 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 감초는 호산구, IL-4, IL-5, IL-13, IgE의 생성을 유의성 있게 감소시켰다.
2. 감초는 IFN- $\gamma$ 의 생성을 유의성 있게 증가시켰다.
3. 감초는 면역 유세포 분석에서 과립구, CCR3, CD4, IgE, CD69의 생성을 감소시켰다.

以上の結果로 보아 甘草는 염증 및 allergy 반응을

억제시키는 효과가 있는 것으로 사료되며 앞으로 이에 대한 持續的인 研究가 필요하리가 사료된다.

## 參考文獻

1. 한용철. 임상호흡기학. 서울:일조각; 1990,p.208,215.
2. 박성학. 기관지천식-진단, 결핵 및 호흡기 질환. 1995; 42(5):635-45.
3. 전국한의과대학폐계내과학교실 편저. 동의폐계내과학. 서울:한문회사; 2002,p.162-202.
4. 홍천수, 김규언. 기관지천식-병인 및 역학. 대한 천식 및 알레르기학회. 천식과 알레르기 질환. 서울:군자출판사; 2002p.237-56.
5. Lee SI. Prevalences of Symptoms of Asthma and Other Allergic Diseases in Korean Children: A Nationwide Questionnaire Survey. J Korea Med Sci. 2001;16(2):155-64.
6. 전국한의과대학 본초학교수 공편. 본초학. 서울:영림사; 1991,p.540-1.
7. 과학백과사전출판사 엮음. 약초의 성분과 이용. 서울: 일월서각; 1999,p.387-93.
8. 김미경. 감초가 selectin-매개성 호산구 및 호중구의 유착에 미치는 길항능. 천식 및 알레르기. 1998;18(1):61-8.
9. Wang H, Chang B, Wang B. The effect of herbal medicine including astragalus membranaceus (fisch) bge, codonopsis pilosula and glycyrrhiza uralensis fisch on airway responsiveness. Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi. 1998;21(5):287-8.
10. 이양근. 호산구와 천식. 결핵 및 호흡기질환. 1999;46(1):5-16.
11. 어수택, 정성환, 이상우, 김현태, 김용훈, 박춘식. 천식환자의 기도내 cytokines표현에 대한 연구. 결핵 및 호흡기질환. 1995;42(1):2-3.
12. Kasakura S. A role for T helper type 1 and type 2 cytokine in the pathogenesis of various human diseases. Rinsho Byori, Symp. 1998;46(9):915-21.
13. 안강모, 김미경, 조상현, 박춘식, 이민걸. 알레르기 염증반응에 관여하는 세포. 대한 천식 및 알레르기학회. 천식과 알레르기 질환. 서울:군자출판사; 2002,p.31-53.

14. 김세종. IMMUNOLOGY. 서울:고려의학; 2000,p.1,65, 154-6,260-5.
15. 김관형, 김석찬, 김영균, 권순석, 김치홍, 문화식, 송정섭, 박성학, 이춘은, 변광호. 기관지천식에서 Interferon-Gamma 치료의 효과. 결핵 및 호흡기질환. 1997;44(4): 822-35.
16. Greenfeder S, Umland SP, Cuss FM, Chapman RW, Egan RW. Th2 cytokines and asthma. The role of interleukin-5 in allergic eosinophilic disease. Respir Res. 2001;2(2):71-9.
17. 이수중, 이준성, 이경수. 아토피성 천식환자에서 특이 적 면역요법이 말초혈액 단핵구의 IL-10과 IL-13 mRNA 발현에 미치는 영향. 소아알레르기 및 호흡기. 1999;9(1):41-55.
18. Allison JP, Lanier LL. Structure, function and serology of the T-cell antigen receptor complex. Annu Rev Immunol. 1987;5:503-40.
19. Krug N, Erpenbeck VJ, Balke K, Petschallies J, Tschernig T, Hohlfeld JM, Fabel H. Cytokine profile of bronchoalveolar lavage-derived CD4(+), CD8(+), and gammadelta T cells in people with asthma after segmental allergen challenge. Am J Respir Cell Mol Biol. 2001;25(1):125-31.
20. Hartnell A, Robinson DS, Kay AB, Wardlaw AJ. CD69 is expressed by human eosinophils activated in vivo in asthma and in vitro by cytokines. Immunology. 1993;80(2):281-86.