

加味蘇子降氣湯이 천식 유발 병태 모델에서 분자 및 조직병리학적 변화에 미치는 영향

안황용 · 김동희*

대전대학교 한의과대학 병리학교실

Suppressive Effects of Gamisojaganggi-tang on Immunopathogenesis in OVA-induced Asthma Model

Hwang Yong An, Dong Hee Kim*

Department of Pathology, College of Oriental Medicine, Daejeon University

This study was done to investigate the effects of Gamisojaganggi-tang(GSGT) on immunopathologic changes in OVA-induced asthma model of mice. Pathologic indicators associated with this immune disease, which include cytokines, the number of immune-cells, immunoglobulin E (IgE), were examined, and histological changes of bronchial tissues were also examined. The administration of GSGT significantly reduced the lung weight compared with control mice of OVA-induced asthma model. The administration of GSGT significantly reduced the number of total cells in BALF compared with control mice of OVA-induced asthma model. The administration of GSGT significantly reduced the number of eosinophil in BALF compared with control mice of OVA-induced asthma model. The administration of GSGT insignificantly increased the number of monocyte in BALF compared with control mice of OVA-induced asthma model. The administration of GSGT significantly reduced the number of lymphocyte in BAL compared with control mice of OVA-induced asthma model. The administration of GSGT significantly reduced the gene expression of eotaxin in lung tissue compared with control mice of OVA-induced asthma model. The administration of GSGT insignificantly reduced the IL-4 and IL-5 production in BALF compared with control mice of OVA-induced asthma model. The administration of GSGT insignificantly reduced the levels of total IgE and ovalbumin-specific IgE in BALF. The administration of GSGT significantly reduced the levels of ovalbumin-specific IgE whereas the serum levels of total IgE were insignificantly reduced compared with control mice of OVA-induced asthma model. The administration of GSGT moderately reduced bronchial alveolar narrowing, bronchiovascular edema and increase in the size of alveolar space, which shown in control mice of OVA-induced asthma model, in a dose dependent manner. Furthermore, GSGT reduced invasion of inflammatory cells, and proliferation of smooth muscle cells in bronchial tissue. These results suggested that GSGT has suppressive effects on pathologic changes associated with disease progression in asthma through the modulation of immune system. GSGT has potential to use as an anti-asthmatic agents.

Key words : Gamisojaganggi-tang(GSGT), asthma, cytokines, immune-cells, immunoglobulin E, histological changes

서론

加味蘇子降氣湯은 二陳湯을 기본방으로 降氣, 消痰, 平喘作用이 있는 수종의 약물을 가미하여 痰壅氣逆으로 인한 咳逆上氣와 胸膈滿悶을 치료한다. 임상에서는 주로 實證性 咳嗽, 喘息에

* 교신저자 : 김동희, 대전시 동구 용운동 96-3 대전대학교 한의과대학

· E-mail : dhkim@dju.ac.kr, · Tel : 042-280-2623

· 접수 : 2006/08/25 · 수정 : 2006/09/25 · 채택 : 2006/10/09

응용되고 있다.

기관지천식은 호흡 통로의 차단, 기관지 주변의 섬유화, 호산구 침윤, 기관지 과반응 등을 나타내는 만성 호흡기 염증성 질환으로서, 喘鳴을 발하는 呼吸性 呼吸 困難이 특징이다¹⁾.

산업화된 국가일수록 기관지천식의 유병율은 날로 급증하는 추세로, WHO에서는 2005년부터 '慢性呼吸器疾患 世界同盟(GAARD)'을 구성해 각국 정부의 인식제고를 위한 활동을 펼치고 있다. 국내에서도 사회적 비용만 2조700여억원으로 추산될

정도로 국가적으로 막대한 경제적 손실을 초래하고 있어, 정확하고 객관화된 한국형 천식 치료를 위한 다각적인 노력이 이루어지고 있다.

현재 사용되고 있는 약물 치료는 크게 항염증치료제, 소염제, 기관지확장제 및 항히스타민제 등이 있으나²⁾, 이들 대부분은 근본 원인에 대한 치료보다는 증상 완화에 치중되어 있으며, 다양한 부작용^{2,3)}이 표출됨으로써 치료의 한계를 나타내고 있다.

韓醫學에서도 천식에 대한 치료제 개발을 위하여 '咳嗽' '喘息' '喘促' '咳逆' '喘逆' '咳喘' '肺脹' 등에서 제시된 다양한 처방과 약물을 중심으로 많은 실험적 연구⁴⁻¹⁰⁾가 이루어져 왔으며, EBM 구축을 위한 임상적 실험¹¹⁾ 역시 중소형 병원을 중심으로 이루어지고 있다.

최근 보고된 단일 약물에 대한 실험적 연구로 주⁴⁾는 '杏仁'을, 정⁵⁾은 '金銀花'를, 송⁶⁾은 '皂角刺'를, 곽⁷⁾은 '款冬花'를 이⁸⁾는 '靑皮'를 시료로 천식 관련 면역세포, chemokine, chemotaxis, VEGF 등에 미치는 영향을 각각 보고한 바가 있으며, 조¹¹⁾는 천식 환자의 TNF- α 의 유전자 다형성과 한약치료 효과의 상관성에 대한 임상적 연구를 통하여 유의성있는 결과를 보고하였다.

본 실험과 같은 처방에 대한 연구로는 김⁹⁾이 "麻黃潤肺湯이 ovalbumin으로 유발된 C57BL/6 마우스의 천식 모델에 미치는 영향"을, 염¹⁰⁾이 "마우스 모델을 이용한 二母湯 및 구성 약물의 알러지성 천식 억제 효과"를, 정¹²⁾이 "加味清上補下湯 열수 및 에탄올 추출물이 천식 관련 cytokine 분비에 미치는 영향"을, 김¹³⁾은 "마우스 천식 모델에서 청상비음의 기도 과민 반응 및 염증 억제 효과"를 각각 보고한 바가 있으나, 加味蘇子降氣湯에 대한 연구는 보고된 바가 없다.

이에 본 연구에서는 신규 천식 치료제 개발을 위하여 실시한 in vitro 실험에서 유의성있는 결과가 나타난 加味蘇子降氣湯(GSGT)을 시료로 ovalbumin과 alum을 사용한 동물 병태를 통하여 분자 및 조직병리학적 변화를 살펴보았다.

재료 및 방법

1. 재료

1) 동물

본 실험에 사용된 실험용 쥐는 체중 18~25 g의 암컷 BALB/c 마우스로, 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., korean)와 물을 충분히 공급하고, 실온 22±2℃, 상대 습도 50 ± 10%, 조명 시간 12시간 (07:00~19:00), 조도 150~300 Lux로 설정하여 2주일 간 실험실 환경에 적응시킨 후 체중 변화가 일정하고 건강한 동물만을 선별하여 실험에 사용하였다.

2) 약재

본 실험에 사용한 加味蘇子降氣湯 (Gamisojaganggi-tang:이하 GSGT로 표기)의 구성 약물은 대전대학교 부속한방병원에서 구입한 후 정선하여 사용하였고, 처방 1첩의 내용과 분량은 다음과 같다(Table 1).

Table 1. The composition of Gamisojaganggi-tang : GSGT

韓藥名	生藥名	(g)
소 자	<i>Perillae fructus</i>	12
반 하	<i>Pinelliae rhizoma</i>	6
진 피	<i>Citri pericarpium</i>	6
백복령	<i>Poria</i>	6
나복자	<i>Raphani semen</i>	6
당 귀	<i>Angelicae gigantis radix</i>	4
황 금	<i>Scutellariae radix</i>	4
전 호	<i>Peucedani radix</i>	4
상백피	<i>Mori cortex</i>	4
후 박	<i>Magnoliae cortex</i>	4
지 각	<i>Peucedani radix</i>	4
행 인	<i>Armeniaca amarum semen</i>	4
백개자	<i>Sinapis semen</i>	3
감 초	<i>Glycyrrhizae radix</i>	3
생 강	<i>Zingiberis rhizoma recens</i>	4
조각자	<i>Gleditsiae spina</i>	4
관동화	<i>Farfarae flos</i>	3
Total amount		

3) 시약 및 재료

본 실험에 사용된 OVA, chicken egg ovalbumin, aluminum potassium sulfate (Alum; Sigma. Co., U.S.A), trichloroacetic acid, SRB, amphotericin, antibiotics, DNase, collagenase, chloroform, collagenase, RPMI-1640 배양액, isopropanol, 적혈구 용혈액 (RBC lysis solution), ethidium bromide (EtBr), dulbecco's phosphate buffered saline (D-PBS), formaldehyde, magnesium chloride (MgCl₂)는 Sigma 사 (U.S.A) 제품을 사용하였으며, 우태아혈청 (fetal bovine serum, FBS)는 Hyclone 사 (U.S.A) 제품을, IL-4, IL-5는 R&D system 사 (Minneapolis U.S.A) 제품을 사용하였으며, 기타 일반 시약은 특급 시약을 사용하였다.

기기는 열탕추출기 (대웅 Co., Korea), rotary vacuum evaporator (Büchi B-480 Co., Switzerland), freeze dryer (EYELA FDU-540 Co., Japan), CO₂ incubator (Forma scientific Co., U.S.A), clean bench (Vision scientific Co., Korea), autoclave (Sanyo Co., Japan), micro-pipet (Gilson Co., France), water bath (Vision scientific Co., Korea), vortex mixer (Vision scientific Co., Korea), spectrophotometer (Shimadzu Co., Japan), centrifuge (Sigma Co., U.S.A), deep-freezer (Sanyo Co., Japan), thermocycler system (MWG Biotech Co., Germany), ice-maker (Vision scientific Co., Korea), homogenizer (OMNI Co., U.S.A), plate shaker (Lab-Line Co., U.S.A), ELISA reader (Molecular Devices Co., U.S.A) 등을 사용하였다.

2. 추출물 분리

GSGT 4첩 분량을 각각 증류수 2,000 ml를 가하여 열탕 추출기에서 3시간 추출하였다. 추출액을 흡입 여과한 후 감압 증류장치 (Rotary evaporator, BUCHI B-480 Co., Switzerland)로 농축하고, 다시 동결건조기 (Freeze dryer, EYELA FDU-540 Co., Japan)를 이용하여 23.4 g의 분말을 얻었다. 완전 건조한 GSGT를 냉동 (-84℃) 보관하면서 적당한 농도로 희석하여 사용하였다.

3. 마우스에서의 천식 유발 실험 모식도

실험군은 정상군, 대조군, 천식 유발 후 GSGT 투여한 GSGT 실험군으로 나누었으며, 각 군마다 6 - 8주령 암컷 BALB/c 마우스를 5마리씩 사용하였다. 천식 유발군은 ovalbumin 20 µg 과 allum hydroxide 1 mg를 PBS 200 µl에 녹여서 복강 내 주사하였고, 14일 후에 boosting 하였다. 21일부터 27일까지 5% ovalbumin 용액을 ultrasonic nebulizer를 사용하여 매일 1시간씩 흡입시켰다. GSGT 투여군은 14일부터 27일까지 매일 1마리당 GSGT를 PBS에 1 mg을 녹여서 경구투여 하였다(Fig. 1).

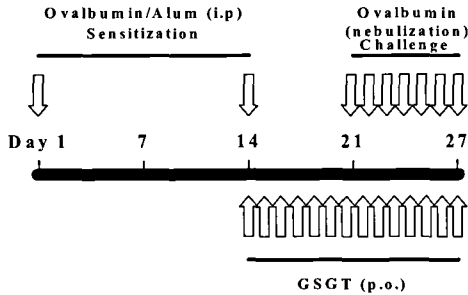


Fig. 1. Schematic diagram of experimental protocol in mice.

2) RT-PCR

Total RNA는 Trizol을 사용하여 폐조직에서 추출한 후, cDNA synthesis kit (Promega, Madison, WI)를 사용하여 37°C에서 90분 동안 cDNA를 제조하였다. 사용된 primer sequence는 다음과 같다. eotaxin은 5'-AGA GGC TGA GAT CCA AGC AG-3' 와 5'-CAG ATC TCT TTG CCC AAC CT-3', β-actin은 5'-AGG CTG TGC TGT CCC TGT ATG C-3' 와 5'-ACC CAA GAA GGA AGG CTG GAA A-3'이다. PCR은 94°C에서 5분 동안 denaturation한 후에 94°C에서 1분 동안 denaturation, 60°C에서 1분 동안 annealing, 72°C에서 1분 동안 extension을 30 cycles로 하였고, 마지막 extension은 72°C 10분 동안 시행하였다. PCR 산물은 ethidium bromide가 들어있는 1% 아가로스 젤에서 전기영동하였다. Quantity One software (Bio-rad Laboratories, Hercules, CA)를 사용하여 band의 density를 측정하였다.

4. 조직염색

마우스에서 조직을 떼어낸 후에 10% neutral buffered formalin에 고정하였다. 조직은 탈수, paraffin 포매, 절편 과정을 거친 후 hematoxylin과 eosin으로 염색하였다.

5. 통계처리

통계적 수치는 평균 ± 표준편차 (means ± S.D.)로 나타냈으며, Student's t-test를 사용하여 유의성을 분석하였다. P<0.05를 유의있는 수치로 간주하였다.

결 과

1. 폐무게에 미치는 영향

폐무게는 정상군이 175.0 ± 49.5 mg, 대조군이 298.3 ± 17.6 mg으로 나타나 대조군에서 정상군에 비하여 유의하게 증가하였다(P<0.05)(Fig. 2). 반면 GSGT 투여군은 220.0 ± 20.0 mg로 나타나 대조군에 비하여 폐무게를 현저하게 감소시켰다(P<0.01).

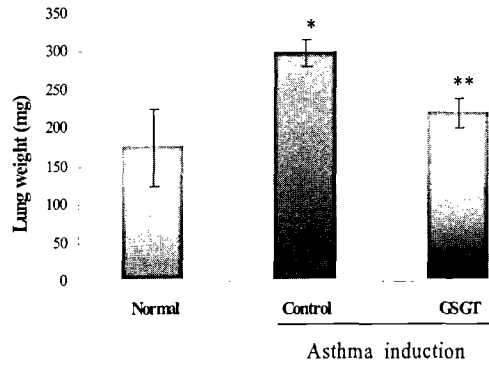


Fig. 2. Effect of GSGT on lung weight.

2. BALF내 전체 세포수에 미치는 영향

폐세척액에서의 세포수는 정상군이 0.9 ± 0.6(×10⁴/ml), 대조군이 20.0 ± 0.0(×10⁴/ml)으로 나타나 대조군에서 현저하게 증가하였다(P<0.01)(Fig. 3). GSGT 투여군은 13.5 ± 1.1(×10⁴/ml)로 나타나 대조군에 비하여 유의하게 감소하였다(P<0.01).

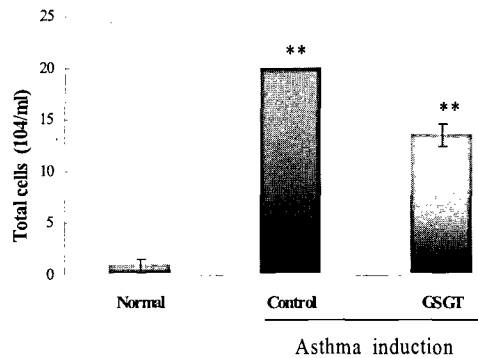


Fig. 3. Effect of GSGT on total cells in BAL fluid.

3. BALF내 백혈구에 미치는 영향

호산구는 정상군에서는 나타나지 않았으나, 대조군에서 15.2 ± 0.2(×10⁴/ml)로 나타나 현저하게 증가하였다(P<0.01). 이에 비해 GSGT 투여군은 대조군에 비하여 유의하게 감소하였다(P<0.01)(Fig. 4). 단핵구는 정상군이 0.7 ± 0.4(×10⁴/ml), 대조군이 1.3 ± 0.8(×10⁴/ml)으로 나타나 대조군에서 정상군에 비하여 약간 증가하였으며, GSGT 투여군은 2.3 ± 0.8(×10⁴/ml)로 나타나 대조군과 정상군에 비하여 증가하였다(Fig. 4). 림프구는 정상군이 0.2 ± 0.2(×10⁴/ml), 대조군이 2.6 ± 0.6(×10⁴/ml)로 나타나 이 역시 대조군에서 정상군에 비하여 약간 증가하였으며, GSGT 투여군은 4.1 ± 1.3(×10⁴/ml)로 나타나 대조군에 비하여 크게 증가하였다(P<0.05)(Fig. 4). 이 밖에 중성구는 유의성이 있는 실험군이 있지만, 백혈구에서 가장 적은 수를 나타냈다(Fig. 4).

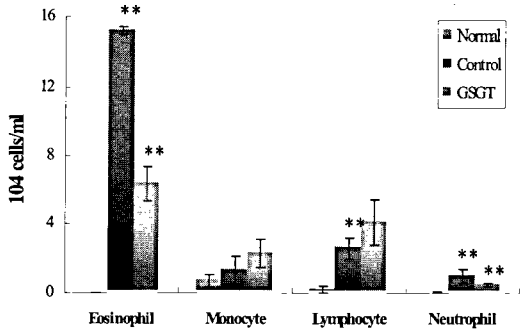


Fig. 4. Effect of GSGT on differential leukocytes in BAL fluid.

4. 폐에서의 eotaxin mRNA 발현에 미치는 영향

호산구의 유주 운동에 핵심적인 chemokine인 eotaxin의 mRNA 발현을 RT-PCR로 확인한 결과(Fig. 5A), 정상군에 비하여 대조군에서 증가하였으며, GSGT 투여군에서는 증가된 eotaxin mRNA가 유의하게 감소하였다(P<0.05). Fig. 5B는 densitometry로 측정된 결과이다.

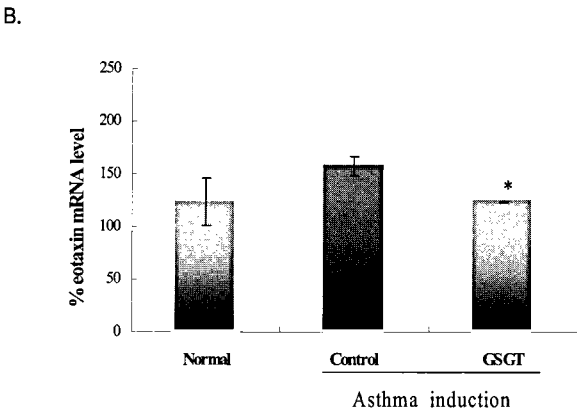
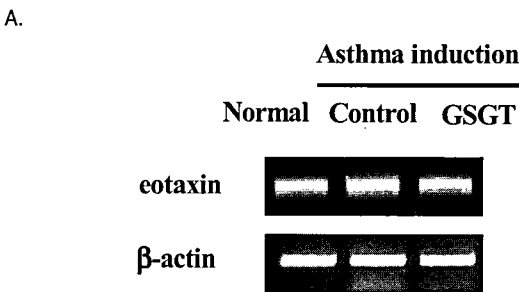


Fig. 5. Effect of GSGT on mRNA expression of eotaxin in lung tissues.

5. 폐세척액내 IL-4와 IL-5 단백질 발현에 미치는 영향

대조군의 폐세척액 IL-4와 IL-5 농도는 각각 40.2 ± 7.5 , 33.9 ± 4.9 pg/ml로 나타났으며, 정상군은 각각 42.3 ± 10.2 , 37.6 ± 19.4 pg/ml로 나타나 오차 범위가 커서 유의한 증가폭이 나타나지 않았다. GSGT 투여군에서는 각각 26.2 ± 13.2 , 41.3 ± 13.8 pg/ml로 나타나 감소한 경향을 나타냈으나 유의성은 나타나지 않았다(Fig. 6). 혈청 IL-4와 IL-5는 극소량이었어서 검출되지 않았다.

6. 폐세척액내 total IgE 와 ovalbumin-specific IgE에 미치는 영향

폐세척액에서의 IgE와 ovalbumin-specific IgE는 정상군이 각각 2.7 ± 1.7 , 3.5 ± 2.9 ng/ml로 나타난 반면, 대조군은 49.3 ± 6.2 , 36.4 ± 9.1 ng/ml로 나타나 정상군에 비하여 크게 증가하였다(P < 0.01). 그러나 GSGT 투여군은 대조군과 큰 차이가 나지 않았다(Fig. 7).

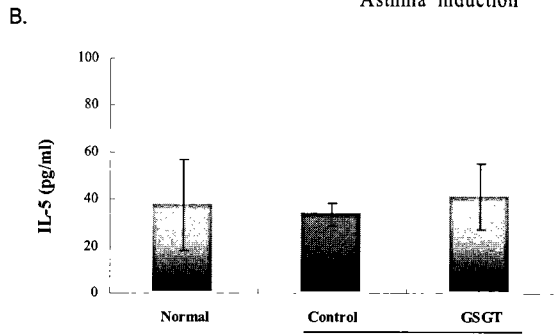
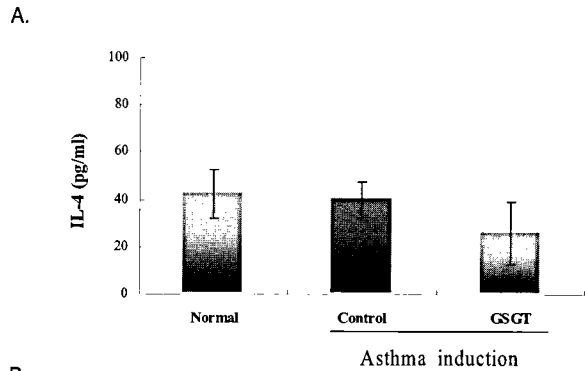


Fig. 6. Effect of GSGT on protein expression of IL-4 and IL-5 in BAL fluid.

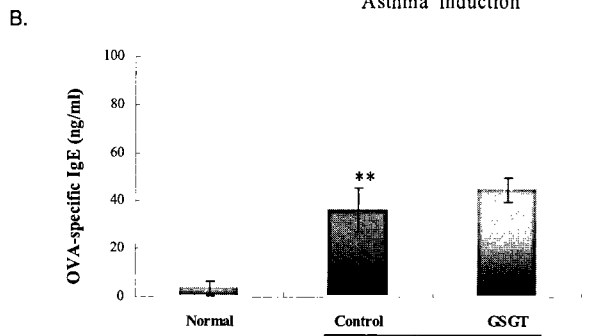
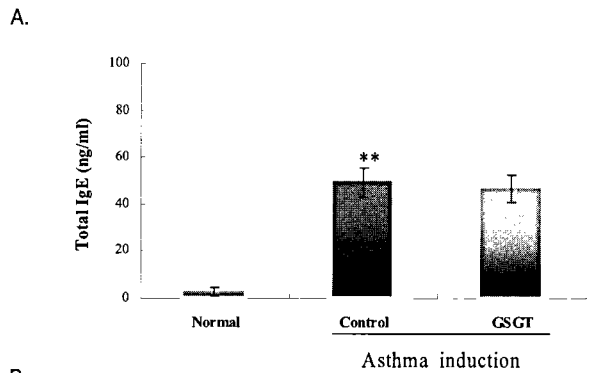


Fig. 7. Effect of GSGT on total IgE and ovalbumin-specific IgE levels in BAL fluid.

7. 혈청내 total IgE 와 ovalbumin-specific IgE에 미치는 영향
 혈청 total IgE와 ovalbumin-specific IgE는 정상군이 각각 0.9 ± 0.3 , $0.0 \pm 0.0 \mu\text{g/ml}$ 으로 나타난 반면, 대조군은 각각 12.2 ± 0.8 , $0.4 \pm 0.1 \mu\text{g/ml}$ 나타나 정상군에 비하여 크게 증가하였다 ($P < 0.01$) (Fig. 8). Total IgE는 대조군에 비하여 GSGT 투여군에서 어떠한 변화가 없었으나, ovalbumin-specific IgE는 $0.2 \pm 0.1 \mu\text{g/ml}$ 로 나타나 유의하게 감소하였다($P < 0.05$).

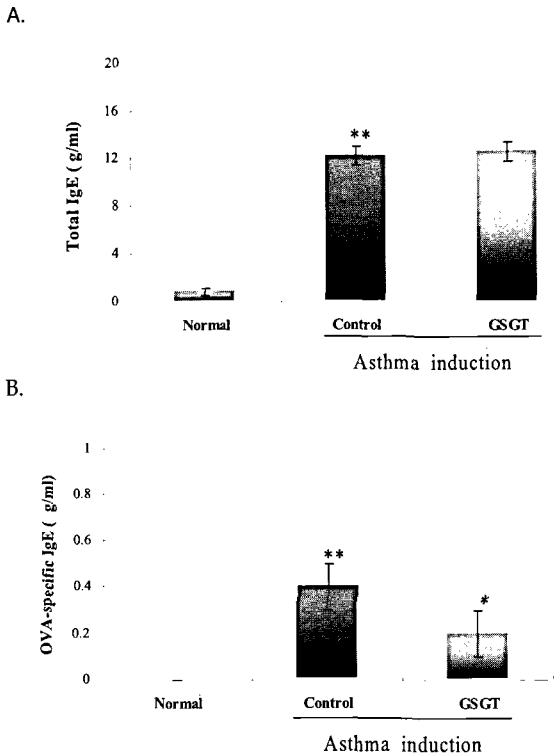


Fig. 8. Effect of GSGT on total IgE and ovalbumin-specific IgE levels in serum.

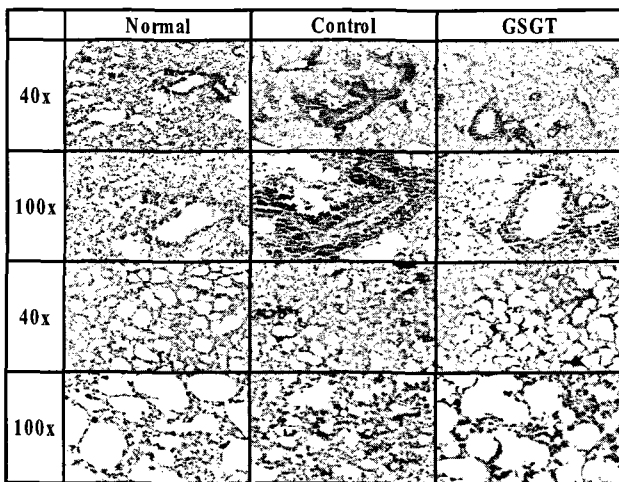


Fig. 9. Effect of GSGT on histopathologic alternation in lung tissues.

8. 폐의 조직병리학적 변화에 미치는 영향
 정상적인 조직에서는 상피세포와 같은 조직세포의 규칙적인

배열로 세기관지 및 폐포의 내강이 잘 보이며, 염증세포의 침투와 같은 이상소견은 보이지 않았다(Fig. 9). 이에 비해 대조군은 염증세포들의 침투와 상피세포의 비정상적인 증가 및 이로 인한 세기관지와 폐포의 심각한 협착과 같은 병변을 보였다. GSGT 투여군은 백혈구의 침투 및 내강의 좁아짐과 같은 협착이 정상에 가깝게 회복되었으며, 기관지 및 폐포의 형태도 정상군과 거의 유사하였다.

고찰

기관지喘息은 呼吸 通路의 遮斷, 氣管支 攣縮, 狹小, 粘膜腫脹으로 인하여 發作的 呼吸 困難이 발생되고, 이로 인하여 喘鳴을 발하는 炎症性 疾患이다¹⁾.

世界保健機構(WHO)에서는 最近 30年間 喘息 등의 알레르기성 疾患 有病率이 3-4배 增加한 것으로 推定하고 있다. 그럼에도 불구하고 現在 喘息에 대한 確實한 治療藥은 開發되지 않고 있는데, 이는 아직까지 正確한 發病 機轉 研究가 되어 있지 않고, 또한 西洋醫學에 偏重된 新藥 開發 過程도 그 原因이라 할 수 있다.

따라서 韓藥과 같은 天然物에서의 治療劑 研究는 無한한 可能性을 내포하고 있다. 특히 지금의 治療劑가 안고 있는 副作用을 최대로 줄이면서, 效능을 극대화할 수 있다는 장점이 있어 매력적인 研究 대상이 되고 있다.

2004년 이후에 보고된 한약의 항천식에 관한 실험 연구로 주⁴⁾는 쑤인이 천식 관련 chemokine 분비와 호산구 chemotaxis에 미치는 영향을, 정⁵⁾은 金銀花가 喘息유발 cytokine 분비와 호산구 chemotaxis에 미치는 영향을, 송⁶⁾은 皂角刺가 천식모델 생쥐의 면역세포 및 사이토카인에 미치는 영향을, 곽⁷⁾은 款冬花가 천식모델 생쥐의 BALF내 면역세포 및 사이토카인에 미치는 영향을, 이⁸⁾는 靑皮가 천식유발 백서에서 VEGF에 미치는 영향 각각 보고한 바가 있다.

아울러 복합 약물로 구성된 한방 천식 처방은 이미 안정성이 확보된 상태에서 임상에서 활용되고 있어 이들의 객관적인 효능 검색은 한의학의 EBM 구축과 더불어 향 후 복합 물질로써 다양한 치료 기전을 발휘할 수 있는 처방 검색에 기초적 자료가 될 수 있다.

지금까지의 한의학적 실험 결과¹⁴⁻²⁰⁾는 전체적으로 볼 때 모두 면역 조절작용을 통한 항알러지 효과를 나타내었으나, 아직까지는 현재 사용되고 있는 양약에 비하여 실험 및 임상에서 비교 우위를 점하고 있지 못하고, 주로 급성으로 나타나는 다양한 병증에 대하여 신속한 효과를 나타내지 못하는 단점을 보여주고 있다.

반면 대부분 만성 혹은 장기 복용시 유의성있는 결과와 더불어 부작용이 적은 장점을 지니고 있어 임상에서의 치료제로써 다양한 가능성을 제시해왔다. 또한 이러한 천연물에서의 지속적인 연구는 지금까지 양약 위주 연구의 단점을 보완함과 동시에 새로운 치료제 개발의 기초를 제공할 수 있다는 점에서 매우 의미있는 연구가 될 수 있다. 또한 EBM 구축을 통하여 한, 양방 병용 치료시 기초적 자료로 제공될 수 있다는 점 역시 간과해서는 안 될 것이다.

本 研究에서는 新規 喘息 治療劑 開發을 위하여 20여종의

처방을 중심으로 염증과 알러지 관련 사이토카인과 면역세포를 중심으로 *in vitro* 실험한 결과 加味蘇子降氣湯(GSGT)이 타 처방 詩料에 비해 유의성있는 결과가 도출되어 이를 *in vivo*에서 확인하고자 하였다.

실험은 실험 방법에서 제시된 바와 같이 ovalbumin과 alum을 사용한 동물 병태²¹⁾를 통하여 分子 및 組織病理學的 變化를 살펴보았다. 이미 기존에 많은 한약과 처방들이 본 실험 방법과 동일하거나 유사한 방법으로 항천식 효과를 검색한 바가 있다.

본 실험에서는 천식 유발을 위하여 BALB/c 마우스를 사용했으며, 일반적으로 장기간 유발 시키는 것과는 달리 4주간의 짧은 유발기간을 통하여 좀 더 빠르게 치료 효과에 대한 실험을 할 수 있었다(Fig. 1)

동물 병태에서의 천식 유발군은 정상군에 비하여 폐무게, 폐세척액의 전체 세포 수 및 호산구 수, 혈청 ovalbumin-specific IgE, eotaxin mRNA 발현이 현저히 증가하였다. 천식 유발 후 마우스의 폐무게가 증가되며, 폐로의 면역세포 침윤이 일어났는데 (Fig. 2 & 3), GSGT 투여군에서는 이러한 증상이 유의하게 감소하였다(Fig. 2 & 3). 특히 천식 유발의 핵심세포인 호산구²²⁾의 침윤이 현저하게 감소된 점을 발견할 수 있었다(Fig. 4).

GSGT 투여군에서의 호산구 감소에 대한 분자적 기전을 알기 위해서 eotaxin의 mRNA 발현²³⁾ 정도를 조사하였는데, Fig. 5에서 보는 바와 같이 GSGT 투여군이 천식 유발군보다 eotaxin의 mRNA 발현이 유의하게 감소되었다. 그러나, 폐세척액에서의 IL-4와 IL-5의 변화는 나타나지 않았으며, 정상군의 발현양의 오차가 커서 실질적으로 천식 유발군에서도 IL-4와 IL-5의 증가를 유의하게 확인할 수 없었다. 혈청에서는 농도가 낮아서 ELISA 방법으로 측정할 수 없었다.

IgE는 비만세포를 활성화시켜서 천식 병변을 진행시키는데, 중요한 역할을 하는 항체^{24,25)}로서 일반적으로 천식 질환에서 증가된다. 본 실험에서 total IgE 및 ovalbumin-specific IgE는 천식 유발 마우스의 혈청 및 폐세척액에서 정상군에 비하여 크게 증가하였다(Fig. 7 & 8). GSGT 투여군의 폐세척액 IgE 변화는 보이지 않았으며, 혈청 total IgE에도 변화가 없었다. 그러나, 혈청 ovalbumin-specific IgE는 유의하게 감소하였다. 혈청에서보다 폐세척액에서의 IgE의 중요성이 강조되는 것에 비하여 본 실험에서는 혈청의 ovalbumin-specific IgE가 감소하여 실질적으로 혈청 IgE와 폐세척액의 IgE 관계에 대한 명확한 해석이 앞으로 연구되어야 할 것이다.

GSGT 투여군이 실질적인 병변에 어떠한 효과가 있는지를 알아보기 위해서 hematoxylin과 eosin 염색으로 조직학적 검사를 실시하였는데(Fig. 9), 천식 유발군에서는 세기관지 및 폐포의 이상 형태 및 협착과 심한 염증 소견을 보였다. 이에 비하여 GSGT 투여군은 상기한 바와같은 이상 병변의 소견이 없는 정상적인 폐조직을 나타냄으로써 유의적인 결과가 도출되었다.

이상의 결과로 보아, 4주간의 천식 유발 마우스는 정상군에 비하여 천식 유발 증상을 나타냄으로써 적절한 동물 병태 모델이 형성되었으며, GSGT 투여군은 이러한 질환에 대한 유의성있는 효과를 보여주었다. 혈청에서의 ovalbumin-specific IgE 감소

와 eotaxin mRNA 감소와 같은 분자생물학적 기전을 통하여 호산구의 감소 및 전체 백혈구 수의 감소를 일으켜서 조직병리학적 이상 소견을 감소시킴으로써, 항 후 본 방의 구성 개별 약물에 대한 검색과 다양한 용량 변화를 통한 신규 처방에 대한 연구의 가능성을 제시하였다. 특히 기본방인 이진탕과 구성 약물중 조각자⁶⁾, 관동화⁷⁾는 이미 실험적으로 항천식 효과가 인정된 바가 있어, 이들의 용량 변화에 따른 다양한 조합은 매우 유의성있는 결과가 도출될 것으로 사료된다.

결론

新規 喘息 治療劑 開發을 위하여 實施한 *in vitro* 實驗에서 有意性있는 結果가 나타난 加味蘇子降氣湯(GSGT)을 詩料로 ovalbumin과 alum을 사용한 動物 病態 모델을 통하여 分子 및 組織病理學的 變化를 살펴본 結果 다음과 같은 結論을 얻었다.

加味蘇子降氣湯은 對照群에 비하여 폐 무게를 有意性있게 減少시켰다. 加味蘇子降氣湯은 對照群에 비하여 BALF내 全體 細胞數를 有意性있게 減少시켰다. 加味蘇子降氣湯은 對照群에 비하여 BALF내 好酸球를 有意性있게 減少시켰다. 加味蘇子降氣湯은 對照群에 비하여 BALF내 單核球를 增加시켰으나 有意性은 나타나지 않았다. 加味蘇子降氣湯은 對照群에 비하여 BALF내 립프구를 有意性있게 增加시켰다. 加味蘇子降氣湯은 對照群에 비하여 폐에서의 eotaxin mRNA 發顯을 有意性있게 減少시켰다. 加味蘇子降氣湯은 對照群에 비하여 BALF내 IL-4와 IL-5 蛋白質 發顯을 減少시켰으나 有意性은 나타나지 않았다. 加味蘇子降氣湯은 對照群에 비하여 BALF내 total IgE와 ovalbumin-specific IgE를 減少시켰으나 有意性은 나타나지 않았다. 加味蘇子降氣湯은 對照群에 비하여 血清내 total IgE를 減少시켰으나 有意性은 나타나지 않는 반면, ovalbumin-specific IgE는 有意性있게 減少시켰다. 加味蘇子降氣湯은 對照群에 비하여 肺의 組織 變化에서 白血球의 浸透 및 內腔의 좁아짐과 같은 狹窄을 正常群에 가깝게 回復시켰으며, 氣管支 및 肺胞의 形態도 正常群과 거의 類似하게 維持시켰다.

이상의 結果로 보아 加味蘇子降氣湯의 抗喘息 效果가 認定되어 항 후 韓藥材를 이용한 新藥 開發에 基礎的 資料로 活用 可能할 것으로 思料되며, 이러한 客觀的인 結果를 통하여 臨床에서의 活用度가 더욱 增加할 것으로 期待된다.

감사의 글

본 연구는 한국산업기술평가원에서 지원하는 지역혁신연구센터 과제인 대전대학교 난치성 면역질환의 동서생명의학 연구센터(TBRC, RRC04700, 2005)의 지원에 의해 수행되었음을 밝히며 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. 대한 천식 및 알레르기 학회. 천식과 알레르기 질환, 군자출

- 관사, pp 244-254, 2002.
2. 전국의과대학교수 역. *오늘의 진단 및 치료*, 도서출판한우리, pp 287-296, 1999.
 3. 김영호 외. 소아 천식 유지법 실태와 천식 환자와 가정 생활에 미치는 영향에 대한 조사, *소아 알레르기 및 호흡기 학회지*, 15(4), 2005.
 4. 朱昌葉. 杏仁이 천식관련 chemokine 분비와 호산구 chemotaxis에 미치는 영향, *경희대학교대학원 박사학위논문*, 2006.
 5. 丁光鎮. 金銀花가 喘息유발 cytokine 분비와 호산구 chemotaxis에 미치는 영향, *경희대학교대학원 박사학위논문*, 2005.
 6. 宋相眞. 皂角刺가 천식모델 생쥐의 면역세포 및 사이토카인에 미치는 영향, *대전대학교대학원 박사학위논문*, 2005.
 7. 郭相教. 款冬花가 천식모델 생쥐의 BALF내 면역세포 및 사이토카인에 미치는 영향, *대전대학교대학원 박사학위논문*, 2004.
 8. 李亥子. 靑皮가 천식유발 백서에서 VEGF에 미치는 영향, *원광대학교대학원 박사학위논문*, 2004.
 9. 金榮美. 麻黃潤肺湯이 ovalbumin으로 유발된 C57BL/6 마우스의 천식모델에 미치는 영향, *대구의대학교대학원 박사학위논문*, 2006.
 10. 廉賢植. 마우스 모델을 이용한 二母湯 및 溝成 藥物的 알러지성 喘息 抑制 效果, *상지대학교대학원, 박사학위논문*, 2005.
 11. 趙一賢. 喘息 患者의 Tumour Necrosis Factor alpha(TNF- α)의 遺傳子 多形性和 韓藥治療 效果의 相關性 研究, *경희대학교대학원 박사학위논문*, 2005.
 12. 鄭丞娟. 加味滿上補下湯 열수 및 에탄올 추출물이 천식 관련 cytokine 분비에 미치는 영향, *경희대학교대학원 석사학위논문*, 2006.
 13. 金 山. 마우스 천식모델에서 청상비음의 기도 과민반응 및 염증의 억제 효과, *원광대학교대학원 박사학위논문*, 2006.
 14. 羌永成. 蘇葉에 의한 알레르기 천식 효과에 대한 연구, *원광대학교대학원, 박사학위논문*, 2004.
 15. 朴榮主. 加減左歸飲의 알레르기성 氣管支喘息 反應 調節 效果, *원광대학교대학원 박사학위논문*, 2004.
 16. 林弘珍. 마우스 모델을 이용한 상백피 추출물의 알러지성 천식 억제 효과, *원광대학교대학원 박사학위논문*, 2004.
 17. 金性秀. 桔梗에 의한 알레르기 천식 효과에 대한 연구, *원광대학교대학원 박사학위논문*, 2004.
 18. 李學宰. 마우스 모델을 이용한 二冬湯 및 溝成 藥物的 알러지성 喘息 抑制에 미치는 영향, *상지대학교대학원 박사학위논문*, 2006.
 19. 李嶺龍. 地耳草 추출물이 OVA로 유발된 생쥐의 천식 폐세포에 미치는 영향, *대전대학교대학원 석사학위논문*, 2004.
 20. 韓尙燁. 人蔘 물추출물이 ovalbumin으로 유도된 천식에 미치는 영향, *대구의대학교대학원 석사학위논문*, 2005.
 21. Nassenstein, C., Dawbarn, D., Pollock, K., Allen, S.J., Erpenbeck, V.J., Spies, E., Krug, N., Braun, A. Pulmonary distribution, regulation, and functional role of Trk receptors in a murine model of asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 118(3):597-605, 2006.
 22. Kopriva, F., Sztokowska, J., Ordeltova, M., Zapalka, M. Percentage of eosinophils with surface CD44 and levels of eosinophil cationic protein in the peripheral blood in children with bronchial asthma and their changes after montelukast therapy. *Allergy Asthma Proc.* 27(4):378-382, 2006.
 23. Li, S.H., Luo, Y.L., Lai, W.Y. Expression of eosinophil major basic protein mRNA in bronchial asthma. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao.* 26(9):1330-1333, 2006.
 24. Batra, J., Singh, T.P., Mabalirajan, U., Sinha, A., Prasad, R., Ghosh, B. Association of Inducible Nitric Oxide Synthase (iNOS) with Asthma Severity, Total Serum IgE and Blood Eosinophil Levels. *Thorax.* 2006.
 25. Lee, D.H., Kim, S.H., Eun, J.S., Shin, T.Y. Mosla dianthera inhibits mast cell-mediated allergic reactions through the inhibition of histamine release and inflammatory cytokine production. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2006.