

# 강황이 난황의 비강내 점적을 통하여 유발된 생쥐의 천식에 미치는 영향

이준현 · 김종한 · 박수연 · 최정화  
동신대학교 한의과대학 안이비인후피부과교실

## Effects of Curcuma longa Rhizoma on Asthma induced intra-nasal instillation of Ovalbumin in Mice

*Jun-Hun Lee · Jong-Han Kim · Su-Yeon Park · Jeong-Hwa Choi*

**Objective** : This study was designed to investigate the effects of Curcuma longa Rhizoma(CLR) on asthma.

**Methods** : Detecting splenocyte proliferation rates, cytokines and antigen specific antibody isotypes in bronchoalveolar lavage fluid (BALF). In addition, the present author I also investigated changes in spleen and histopathological changes of lung tissues.

**Results** : Oral administration of CLR lowered spleen weight and splenocyte proliferation rates. In addition, levels of IL-4, IL-17A and Granulocyte/Macrophage Colony-Stimulating Factor(GM-CSF), Th2 driven cytokines, were lowered respectively and IFN-g, and Th1 driven cytokine, were elevated by CLR. Levels of Ovalbumin(OVA) specific IgE and IgG1 in BALF were also lowered by oral administration of CLR too.

**Conclusion** : CLR is useful to treat patients with asthma and the mechanisms are related to the in suppression of Th2 skewing reactions.

**Key word** : Curcuma longa Rhizoma, Asthma

### 1. 서론

喘息은 呼吸急促, 喘鳴有聲을 특징으로 하는 哮喘證과 유사하다고 할 수 있다. 氣息이 연속적으로 促急하여 呼吸困難한 것을 '喘'이라 하고, 喉中에서 소리가 나는 것을 '哮'라고 하는데, 哮喘證, 喘證, 痰

교신저자 : 최정화, 동신대학교부속광주한방병원,  
안이비인후피부과학교실  
(Tel, 062-350-7217, E-mail, mining32@daum.net)  
• 접수 2008/11/04 • 수정 2008/11/25 • 채택 2008/12/04

飲의 범주로 간주하고 있으며, 통칭 '哮喘'이라 한다<sup>1)</sup>. 기관지 천식은 알러지 반응의 하나로 임상적으로 발작적인 호흡곤란을 나타내며, 기도염증, 기도내 호산구 증가, 점액 과분비를 동반한 점액세포의 과증식등의 여러 증상을 동반하게 된다<sup>2-4)</sup>.

薑黃은 性은 溫하고 味는 辛苦하며 破血行氣, 通經止痛 등의 효능이 있어 心腹胸悶脹痛, 經閉, 癥瘕, 風濕肩臂疼痛, 打撲腫痛 등을 치료하고, turmerone, zingerene, curcumin 등을 함유하고 있다. 또한 혈압강하, 항균등의 약리작용을 가지고 있는 것으로 알려져 있다<sup>5)</sup>.

천식과 관련한 최근 연구로 정<sup>6)</sup>은 半夏가 천식에 미치는 영향을 연구한 바가 있고 薑黃에 관한 최근 연구로는 정<sup>7)</sup>등이 薑黃으로부터 초임계 유체 추출한 curcumin의 생리활성 등을 보고하였다. 최근 薑黃의 생리활성물질인 curcumin이 항산화성, 항돌연변이성, 항암, 항염증 등의 효과가 주목을 받고 있으나, 이에 관한 한의학적 접근이 미미한 상태였다.

이에 저자는 薑黃의 항염증, 항균작용에 주목, 만성 염증성 질환의 일종인 천식에도 효능이 있을 것이라 생각하여 난황(Ovalbumin)의 비강 내 점적(Intra-nasal instillation)을 통하여 유발된 생쥐의 천식에 薑黃이 미치는 영향을 관찰하여 유의한 결과가 있었기에 보고하는 바이다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 재료

#### 1) 동물

8주령된 암컷 Balb/c 생쥐를 샘타코(서울, 한국)에서 구입하여, 일주일간 실험실환경에 적응시킨 후 온도와 습도가 조절되는 환경 (24 ± 3℃, 12-hr light-dark cycle)에서 고형사료와 물을 마음

껏 섭취하게 하며 실험에 사용하였다.

#### 2) 약재

본 실험에 사용된 薑黃(CLR, Curcuma longa Rhizoma)은 동신대 광주 한방병원에서 구입한 후 동신대학교 본초학 교실에서 정선하여 사용하였다.

#### 3) 시약 및 기기

천식 유발 및 항원 특이 항체 측정을 위한 난황(OVA, Ovalumin, Grade V)은 Sigma (St. Louis, USA)로부터, Aluminum hydroxide(Alum, Imject Alum, Pierce)는 진택(광주, 한국)를 통하여 구입하였다. 항원특이 전체항체측정을 위한 Goat anti-mouse polyvalent immunoglobulin은 Sigma(St. Louis, USA)에서, IgE, IgG1, IgG2a에 대한 항원 특이 항체검출을 위하여 Goat anti-mouse IgG1 antibody, goat anti-mouse IgG2a antibody 와 rat anti-mouse IgE antibody는 Southern Biotech (Birmingham, USA)에서 구입하였다. 기관지 폐포 세척액 및 혈청 내의 Cytokine 측정을 위하여 mouse IL-4, IL-17A, GM-CSF 및 mouse IFN-g detection Kit 은 eBioscience (San Diego, USA)에서 구입하였다. Optical Density (OD) 값의 측정을 위하여 microplate reader (Bio-rad, CA)를 사용하였고, 폐조직의 조직병리학적 소견 관찰을 위하여 형광 현미경(Olympus, Japan)을 사용하였다.

### 2. 방법

#### 1) 실험약의 준비

세척된 상태로 구입된 薑黃 200g을 증류수 1,500 ml과 함께 전기약탕기(대웅, 한국)를 이용하여 3시간 동안 전탕한 후, 거즈로 걸러 전탕액을 얻었다. 얻어진 전탕액을 5,000xg에서 10 분간 원심분리하여 찌꺼기는 버리고 상청액을 얻은 다음,

加溫減壓乾燥法으로 70℃를 유지하면서 건조 분말을 얻었다. 이렇게하여 얻어진 추출물은 13.2g으로 수율은 6.5%였다.

## 2) 천식 유발과 실험군 선정

100 $\mu$ g의 난황을 100 $\mu$ l의 용매(PBS, phosphate buffer saline)에 녹인 다음, 3일간 생쥐에 복강주사하여 감작(Sensitization)하였다. 2주 뒤 생쥐를 Ketamine(100mg/kg)과 Rompun(10mg/kg)으로 마취시킨 후, 비강 내 점적<sup>8-9)</sup>의 방법으로 천식을 유발(Challenge)하였다. 비강 내 점적을 위하여 25 $\mu$ g의 난황을 30 $\mu$ l의 PBS에 녹인 다음, 하루 1회 씩 2일간 비강 내 점적을 시행하였다. 다시 3일 뒤 같은 방법으로 2번에 걸쳐 비강 내 점적을 시행하여서 총 4 번의 비강 내 점적을 시행하였고, 자세한 실험 스케줄은 Fig. 1에 제시하였다. CLR의 구강투여를 위하여 일반 고형사료에 CLR을 1g/kg 분량으로 섞어 강황식이를 제작하여 동물로 하여금 자유로이 섭취케 하였으며, 약물의 투여기간은 총 2주였다(Fig. 1).

실험군은 아래와 같다.

- ① 정상군(Normal group) : 천식을 유발하지 않고 일반식이만 투여한 군
- ② 천식 대조군(CTL group) : 천식을 유발시키고 일반식이만 투여한 군.
- ③ 강황군(CLR group) : 천식을 유발시키고 강황식이를 투여한 군.

## 3) 기관지폐포 세척액 (BALF)

실험 마지막 날, 과도한 용량의 Ketamine과 Rompun을 주사하여 생쥐를 희생시킨 후, 경부를 절개하고 기관지의 연결사이를 절개하여 개방시킨 후, 연골과 연골사이로 도관 (Insyte, BD)을 삽입하여 기관지 폐포 세척액을 얻었다. 1회 세척당 1.8ml의 PBS를 조심스럽게 밀어넣어 최소한 1.5ml 이상의 세척액을 확보한 것만을 data로 사

용하였다. 얻어진 세척액 중 일부는 염증세포의 수를 측정하는데 사용되었고, 일부는 원심분리로 찌꺼기를 없앤 후, 냉장 하였다가 cytokine 측정에 사용하였다.

## 4) 항원 특이 항체의 측정

상기한 방법으로 얻어진 기관지폐포 세척액으로부터 항원 특이 전체 항체 (Total antibody), IgE, IgG1과 IgG2a의 함량을 측정하기 위하여 ELISA 방법을 사용하였다. ELISA를 위하여 96-well plate(Nunc, Rochester, USA)를 100 $\mu$ g/ml 농도의 난황을 세척용 완충액(PBST, 0.05%Tween 20 in PBS)에 녹인 다음 각 well 당 100 $\mu$ 씩 분주하고 4℃에 하룻밤을 방치하였다. 하룻밤 동안의 항원 부착이 끝나고, 세척용 완충액으로 3회 수세한 다음, 비특이적인 결합을 방지하기 위하여 Blocking을 시행하였다. Blocking용액은 세척용 완충액에 1%의 탈지분유(Skim milk)를 섞어 사용하였으며, 각 well당 100 $\mu$ 씩 분주하고 4℃에서 하룻밤을 방치하였다. 하룻밤의 Blocking이 끝난 후, 완충용 세척액으로 세 번 수세하고, 세척용 완충액으로 25배 희석한 혈청을 각 well당 100 $\mu$ 씩 분주하고 4℃에 하룻밤 동안 방치하였다. 하룻밤의 1차 항체 결합이 끝난 후, 완충용 세척액으로 세 번 수세하고, Alkaline phosphatase가 부착되어있는 2차 항체를 부착시켰다. 이때, 사용한 2차 항체로는 goat anti-mouse polyvalent antibody, goat anti-mouse IgG1 antibody, goat anti-mouse IgG2a antibody, 와 rat anti-mouse IgE antibody였고, 각각의 2차 항체를 PBS에 상기한 비율로 희석한 후, 각 well당 100 $\mu$ 씩 분주하고 실온에서 4시간 방치하여 부착시켰다. 2차 항체 부착이 끝난 후, 완충용 세척액으로 5번 세척하고, p-NPP(Sigma, USA) 용액을 각 well당 75 $\mu$ 씩 분주한 다음 차광 상태에서 30분간 반응시켰다. 결과값(OD, Optical density)은 Microplate spectrophotometer(Bio-rad,

CA)를 이용하여 405nm에서 측정하였다. 결과값의 분석을 위하여 정상군을 제외한 나머지 군에서 임의로 선정된 8개의 혈청을 모아 Standard로 사용하였고, 모든 결과값은 Standard와 비교하여 Arbitrary Unit (A.U.)로 나타내었다.

### 5) Cytokine 측정

상기한 방법으로 얻어진 기관지폐포 세척액으로부터 IL-4, IL-17A, GM-CSF 및 IFN-g의 함량을 ELISA방법으로 측정하였다. Cytokine 함량 측정은 mouse IL-4, IL-17A, GM-CSF detection kit 및 mouse IFN-g detection Kit(eBioscience, USA)을 사용하였고, 실험 진행과정은 kit와 함께 제공된 지침에 따라 시행되었다.

### 6) 비장 세포 증식을 측정

실험 마지막 날, 생쥐를 희생시킨 후 비장을 적출하여 미량 저울(MW-1200, (주)카스, 한국)로 무게를 측정한 후, 비장 세포를 Wysocki<sup>10)</sup> 및 Mizel<sup>11)</sup> 등의 방법에 의하여 분리하였다. 분리된 비장세포 부유액을 RPMI 1640 배지로 희석하고 96-well plate에  $1.0 \times 10^6$  cells/well의 농도로 분주하고, 37°C의 5% CO<sub>2</sub> 환경에서 48시간 동안 방치한 다음 MTT 법으로 증식율을 측정한 후 대조군의 흡광도와 비교하여 세포 증식율을 백분율로 환산하였다.

### 7) 폐 조직의 조직병리학적 소견 관찰

2 주간의 CLR 투여가 끝난 후 기관지폐포 세척액을 얻은 다음, 폐조직을 적출하였다. 적출된 폐조직은 10% 포르말린에 3일 동안 담가둔 후, Xylen을 이용하여 탈수시켰다. 탈수된 조직으로 파라핀 블록을 만들고, 다시 박절하여 슬라이드 글라스에 부착 시키고 hematoxyl In과 eosin으로 염색 한 후 광학 현미경(Olympus, Japan)으로 관찰하였다.

## 3. 통계 처리

실험 자료에 대한 통계적 분석은 통계 패키지인 Sigma plot(Sigma plot for Windows, ver. 9.0, U.S.A.)를 이용하였다. 실험 성적은 평균±표준편차(mean±SD)로 나타냈으며, 실험군 간 평균의 차이를 검정할 때에는 student's t-test로 검정하여 p-값이 0.05 미만일 때 유의한 차이가 있는 것으로 판정하였다.

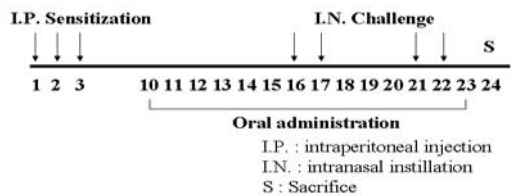


Fig. 1 Experimental schedule All experimental groups, except normal control group, were sensitized intra-peritoneally on days 1, 2, and 3 and challenged intra-nasally at days 16,17,21, and 22. Animals were treated with CLR from days 10 until 23. All animals were sacrificed on day 24.

## III. 성 적

### 1. 체중 변화에 미치는 영향

체중 변화를 관찰한 결과 CTL군과 CLR군 모두에서 Normal군과 특별한 체중 변화의 차이를 관찰할 수 없었다(Fig. 2).

### 2. 비장 무게에 미치는 영향

비장 무게의 변화를 관찰한 결과, CTL군에서 유의한 비장 무게의 증가가 관찰되었다. CRL의 투여는 이러한 비장 무게의 증가를 유의한 수준으로

억제 하였다. Normal군은  $112.3 \pm 13.1$ mg, CTL 군은  $142.5 \pm 7.4$ mg, CLR 군은  $113.7 \pm 4.9$ mg이었다 (Fig. 3)

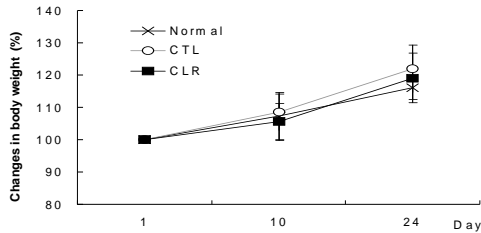


Fig. 2. Effects of CLR on changes in body weights  
Body weights were measured at the beginning (day 1), day 10 and end (day 24) of experiment. Changes in body weight were represented as average weights on indicated days, which were expressed as percentages of weight on day 1. Normal : naive group, CTL : Asthma induced group, CLR : CLR treated asthma group. Results are represented as mean  $\pm$  SD (n=8).

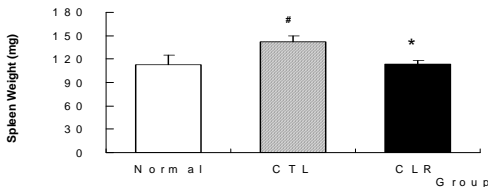


Fig. 3. Effects of CLR on Spleen weight in asthmatic mice

Spleen weights of mice were measured on day 24 using microbalance. Normal group : naive group, CTL group : Asthmatic induced group, CLR : CLR treated asthma group. Results are presented as mean  $\pm$  SD.  $^{\#}P < 0.05$  compared to normal,  $^{*}P < 0.05$  compared to CTL (n=8).

### 3. 비장세포의 증식율에 미치는 영향

Normal군의 증식율을 100%로 하였을 때, CTL 군은  $351.8 \pm 26.9\%$ , CLR군은  $303.1 \pm 10.1\%$ 였다 (Fig. 4).

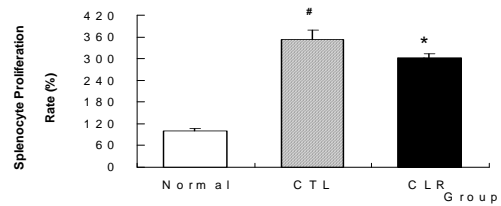


Fig. 4. Effects of CLR on Splenocyte proliferation in asthmatic mice

$1 \times 10^6$  of splenocytes were seeded in 96-well plate and incubated for 48 hr. After incubation, Optical Density of each wells were measured using micro-plate reader. All data were represented as percentage of that in normal group. Values are represented as mean  $\pm$  SD.  $^{\#}P < 0.05$  compared to normal,  $^{*}P < 0.05$  compared to CTL (n=8).

### 4. 기관지폐포 세척액 내 IL-4 함량에 미치는 영향

Normal군의 IL-4수준을 100%로 하였을 때, CTL군은  $134.3 \pm 5.2\%$ , CLR군은  $119.9 \pm 7.4\%$ 였다 (Fig. 5).

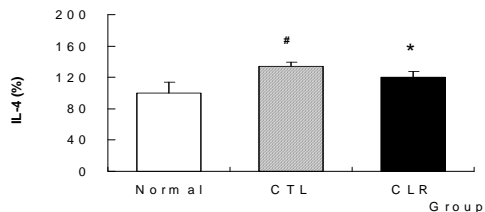


Fig. 5. Effects of CLR on levels of IL-4 in BALF

Production levels of IL-4 in BALF were measured using ELISA method. All data were represented as percentage of IL-4 levels in normal group. Normal : naive group, CTL : Asthma induced group, CLR : CLR treated asthma group. Results are presented as mean  $\pm$  SD.  $^{\#}P < 0.05$  compared to normal,  $^{*}P < 0.05$  compared to CTL (n=8).

### 5. 기관지폐포 세척액 내 IFN-g 함량에 미치는 영향

Normal군의 IFN-g 수준을 100%로 하였을 때, CTL군은 96.8±1.4%, CLR군은 114.7±12.0%였다 (Fig. 6).

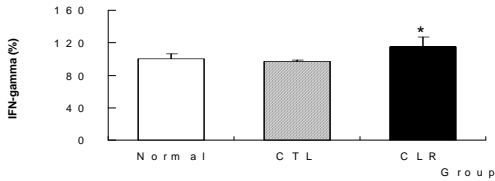


Fig. 6. Effects of CLR on levels of IFN-g in BALF  
Production levels of IFN-g in BALF were measured using ELISA method. All data were represented as percentage of IFN-g levels in normal group. Normal : naive group, CTL : Asthma induced group, CLR : CLR treated asthma group. Results are presented as mean±SD. \*P < 0.05 compared to CTL (n=8).

### 6. 기관지폐포 세척액 내 IL-17A 함량에 미치는 영향

Normal군의 IL-17A 수준을 100%로 하였을 때, CTL군은 124.5±5.6%, CLR군은 106.0±11.0%였다 (Fig. 7).

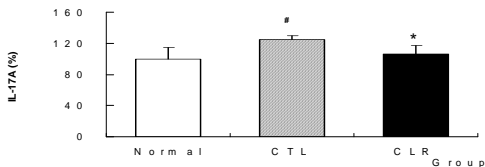


Fig. 7. Effects of CLR on levels of IL-17A in BALF  
Production levels of IL-17A in BALF were measured using ELISA method. All data were represented as percentage of IL-17A levels in normal group. Normal : naive group, CTL : Asthma induced group, CLR : CLR treated asthma group. Results are presented as mean±SD. #P < 0.05 compared to normal, \*P < 0.05 compared to CTL (n=8).

### 7. 기관지폐포 세척액 내 GM-CSF 함량에 미치는 영향

Normal군의 GM-CSF 수준을 100%로 하였을 때, CTL군은 100.4±6.9%, CLR군은 89.5±4.9%였다 (Fig. 8).

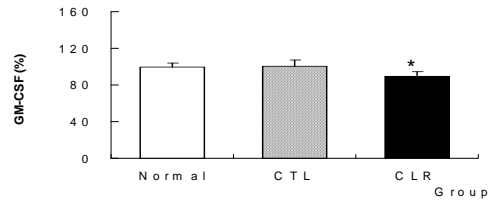


Fig. 8. Effects of CLR on levels of GM-CSF in BALF

Production levels of GM-CSF in BALF were measured using ELISA method. All data were represented as percentage of GM-CSF levels in normal group. Normal : naive group, CTL : Asthma induced group, CLR : CLR treated asthma group. Results are presented as mean±SD. \*P < 0.05 compared to CTL (n=8).

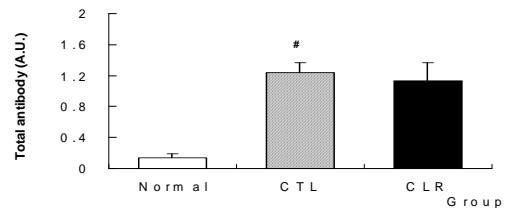


Fig. 9. Effects of CLR on levels of OVA-specific total antibody in BALF  
Production levels of OVA-specific total antibody in BALF were measured using ELISA method. All data were represented as arbitrary Units (A.U.) calculated using reference serum.

Normal : naive group, CTL : Asthma induced group, CLR : CLR treated asthma group. Results are presented as mean±SD. #P < 0.05 compared to normal. (n=8).

8. 기관지폐포 세척액 내 항원 특이 항체 총량에 미치는 영향

기준 혈청의 측정값을 이용하여 임의단위(arbitrary Units)로 환산한 결과 CTL군은  $1.24 \pm 0.13$ , CLR군은  $1.13 \pm 0.23$ 이었다(Fig. 9).

9. 기관지폐포 세척액 내 항원 특이 IgE 함량에 미치는 영향

기준 혈청의 측정값을 이용하여 임의단위(arbitrary Units)로 환산한 결과 CTL군은  $0.98 \pm 0.09$ , CLR군은  $0.58 \pm 0.02$ 였다(Fig. 10).

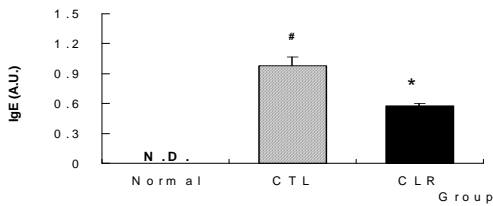


Fig. 10. Effects of CLR on levels of OVA-specific IgE in BALF

Production levels of OVA-specific IgE in BALF were measured using ELISA method. All data were represented as arbitrary Units (A.U.) calculated using reference serum.

Normal : naive group, CTL : Asthma induced group, CLR : CLR treated asthma group. N.D.: Not detectable. Results are presented as mean  $\pm$  SD. #P < 0.05 compared to normal, \*P < 0.05 compared to CTL (n=8).

10. 기관지폐포 세척액 내 항원 특이 IgG1 함량에 미치는 영향

기준 혈청의 측정값을 이용하여 임 단위(arbitrary Units)로 환산한 결과 Normal군은  $0.39 \pm 0.02$ ,

CTL군은  $0.53 \pm 0.11$ , CLR군은  $0.08 \pm 0.01$ 이었다(Fig. 11).

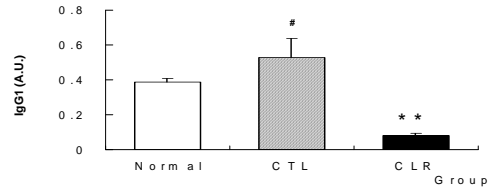


Fig. 11. Effects of CLR on levels of OVA-specific IgG1 in BALF

Production levels of OVA-specific IgG1 in BALF were measured using ELISA method. All data were represented as arbitrary Units (A.U.) calculated using reference serum.

Normal : naive group, CTL : Asthma induced group, CLR : CLR treated asthma group. Results are presented as mean  $\pm$  SD. #P < 0.05 compared to normal, \*\*P < 0.01 compared to CTL (n=8).

11. 기관지폐포 세척액 내 항원 특이 IgG2a 함량에 미치는 영향

Normal군은  $0.08 \pm 0.03$ , CTL군은  $1.15 \pm 0.19$ , CLR군은  $1.30 \pm 0.25$ 였다(Fig. 12).

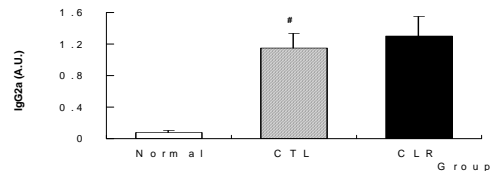


Fig. 12. Effects of CLR on levels of OVA-specific IgG2a in BALF

Production levels of OVA-specific IgG2a in BALF were measured using ELISA method. All data were represented as arbitrary Units (A.U.) calculated using reference serum.

Normal : naive group, CTL : Asthma induced group, CLR : CLR treated asthma group. Results are presented as mean  $\pm$  SD. #P < 0.05 compared to normal, (n=8).

## 12. 기관지폐포 세척액 내의 염증 세포수에 미치는 영향

Normal군에서는 평균  $2.75 \pm 1.49$ 개, CTL군에서는 평균  $25.17 \pm 5.74$ 개, CLR군에서는  $16.83 \pm 1.72$ 개의 염증 세포가 관찰되었다(Fig. 11).

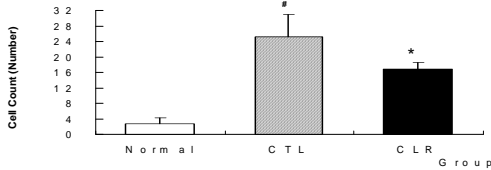


Fig. 13. Effects of CLR on immune Cell number in BALF

As being described in materials and methods, Immune Cell numbers in BALF were measured using hemacytometer.

Normal : naive group, CTL : Asthma induced group, CLR : CLR treated asthma group. Results are presented as mean  $\pm$  SD. \*P < 0.05 compared to normal, \*P < 0.05 compared to CTL (n=8).

## 13. 폐 조직의 조직병리학적 소견에 미치는 영향

관찰 결과 CTL군에서 유의할만한 염증 소견이

발견되었고, 이러한 염증 소견을 CLR은 유의성 있게 억제하였다. Normal군에서는 기관지주변 및 혈관주변에 염증세포의 침윤 및 조직의 손상과 같은 염증 소견은 관찰되지 않았다(Fig. 14A), CTL군에서는 미세혈관주위에 염증 세포들이 다량 침윤되어 있는 것을 관찰할 수 있었다(Fig. 14B). CLR군의 혈관주위 및 폐 조직에서는 CTL군에서 보이던 다량의 염증세포침윤이 감소하는 경향을 보였다(Fig. 14C).

## IV. 고찰

기관지 천식은 문명이 발달하고 환경오염이 심각한 오늘날, 유전적인 원인보다는 대기오염 등 외부환경의 변화, 주거환경의 변화, 식이변화, 사회경제 및 의료여건의 변화, 흡연 등 환경의 변화로 인해 전세계적으로 소아 뿐 아니라 성인에서도 천식의 유병율이 실제로 증가하고 있다<sup>12)</sup>.

천식의 原因은 寒冷, 心因, 痰因, 素因, 感染, 過敏性反應 등 다양하다<sup>13)</sup>. 巢<sup>14)</sup>, 朱<sup>15)</sup>, 樓<sup>16)</sup> 등은 痰飲을 哮喘의 原因이라고 하였고, 張<sup>17)</sup>은 “夙根”이라 하여 遺傳이나 臟腑의 機能低下 등의 내재적 소인을 가지고 있는 사람이 寒冷, 疲勞 등으로 인해 발생한

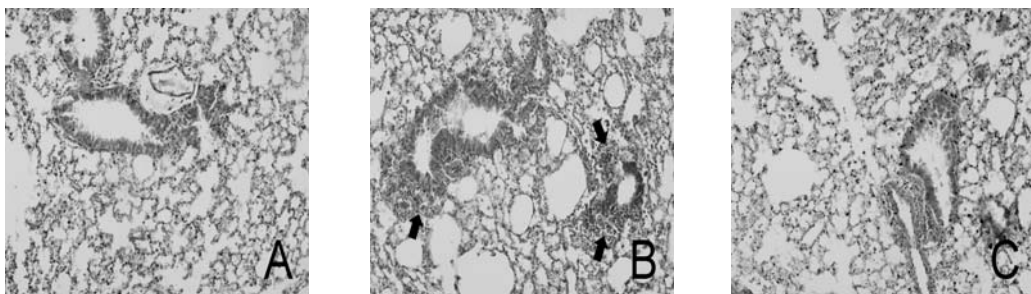


Fig. 14. Effects of CLR on histopathological changes of the lung tissue in asthmatic mice

The tissues were stained with hematoxylin and eosin. Sections were examined under the light microscope at the magnifications of 200.

(A) Normal group, (B) CTL group, (C) CLR group.

↑ indicates inflammatory site involved in immune cell infiltration.



다고 하였다.

천식은 주로 肺腎과 관계되는데 《素問·大奇論》<sup>18)</sup> “肺之壅，喘而兩脇滿”，《靈樞·本神論》<sup>19)</sup> “肺臟氣……實則喘滿胸盈仰息”이라 하였고, 또한 《素問·臟氣法時論》<sup>18)</sup> “腎病者 喘咳身重” 이라고 언급된 이래로 喘證은 혼한 호흡기 질환의 하나로 인식되었다. 이후 金元시대의 朱丹溪에 이르러서 喘證을 虛實로 구분하여 인식하기 시작하였다. 實喘은 氣實肺盛과 아울러 痰, 火, 水氣가 유관하다고 하였으며 虛喘은 腎虛로 말미암고, 또한 肺虛와도 유관하다고 보았다. 그래서 實喘은 瀉肺위주로, 虛喘은 補肺腎 위주로 치법을 세웠다<sup>20)</sup>. 實證의 특징은 病勢가 急迫하고 呼吸은 沈長하며 余유가 있고 呼出이 빠르고 音이 거칠고 脈數有力하고, 虛症은 病勢가 緩慢하고 숨이 차 呼吸이 계속되지 못하며 吸氣가 빠르고 움직이면 呼吸困難이 가중되고 語聲에 힘이 없으며 脈微弱 또는 無力하다<sup>21)</sup>.

천식과 관련한 최근 연구로는 남<sup>22)</sup> 은 絲瓜絡약침을, 최<sup>23)</sup> 는 款冬花약침을 임<sup>24)</sup> 은 葶藶子약침을 이용하여 천식과 면역억제에 관한 연구를 하였고 정<sup>6)</sup> 은 半夏가 천식에 미치는 영향을 연구하였으며 박<sup>25)</sup> 은 천식의 鍼治療에 대한 연구동향에서 최근의 천식치료가 안전하고 부작용이 적으면서 삶의 질을 개선해주는 방향으로 형성되고 있으므로 한의학적인 천식치료에 대한 수요가 점차 증가할 것이라고 내다보았다.

薑黃은 생강과에 속한 다년생 속식본초인 薑黃의 根莖을 건조한 것으로, 겨울에 根葉이 시들었을 때 채취하여 깨끗이 씻은 다음, 삶거나 찌서 건조하여 사용한다. 열대 아시아가 원산지로서 중국의 복건, 황동 등지에 분포하며, turmerone, zingerene, curcumin 등을 함유하고 있다. 性은 溫하고 味는 辛苦하며 肝脾로 歸經하여 破血行氣, 通經止痛 등의 효능이 있어 心腹胸悶脹痛, 經閉, 癥瘕, 風濕肩臂疼痛, 打撲腫痛 등을 치료하며, 혈압강하, 항균 등의 약리작용을 가지고 있는 것으로 알려져 있다<sup>5)</sup>.

최근 강황의 생리활성물질인 curcumin이 항산화성, 항돌연변이성, 항암, 항염증 등 여러 가지 가능성이 밝혀지면서 의학분야를 중심으로 간장염, 담도염, 담석증, 카타르성 황달, 소화기 및 심혈관계에 대한 작용, 항 혈소판 응집, 혈중 지질 강하, 항산화, 항돌연변이, 항종양, 항균작용 등에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다<sup>26-28)</sup>.

薑黃에 관한 최근 연구로는 정<sup>7)</sup> 등이 薑黃으로부터 초임계 유체 추출한 curcumin의 생리활성을, 최<sup>29)</sup> 가 우리나라 남부지역에서 薑黃의 생육특성을 보고하였고, 조<sup>30)</sup> 등이 薑黃 추출물이 유방암 세포주 MCF-7 증식 억제에 미치는 영향 등을 보고하였다. 최근 薑黃의 생리활성물질인 curcumin이 항산화성, 항돌연변이성, 항암, 항염증 등의 효과에 주목을 받고 있으나 이에 관한 한의학적 접근이 미미한 상태였다. 이에 저자는 薑黃의 항염증, 항균작용에 주목, 만성 염증성 질환의 일종인 천식에 사용할 수 있을 것이라 생각하여 본 연구를 시행하게 되었다. 본 연구에서는 비강 내 점적법 (Intra-nasal instillation)을 사용하여 천식을 유발하였다. 종래의 항원 분무법은 그 특성상, 여러 개체에 동시에 항원을 분무하는 방식을 택하기 때문에, 각각의 동물에게 동일한 양의 항원을 제공할 수 없다는 단점을 지니고 있는데 반해, 비강 내 점적법은 개개의 동물에게 정확한 양의 항원을 개별적으로 투여함으로써 상기한 단점을 보완하여 개발된 방법이다<sup>31)</sup>.

체중 변화는 실험 동물의 일반적인 정황을 유추할 수 있는 지표로서, 동물을 이용한 많은 연구에서 체중 변화는 부작용으로 간주되고 있다<sup>32-33)</sup>. 본 연구의 결과에서 천식 유발군 뿐만 아니라 CLR군에서도 특별한 체중의 변화를 관찰할 수 없었다 (Fig. 2). 이러한 결과는 본 논문에서 사용한 CLR의 용량에서는 생쥐의 일반적인 건강상태에 위해를 끼칠 만큼 다량으로 투여된 것은 아닌 것으로 해석된다.

본 연구에서 CLR은 일반사료에 1:1000 비율로 섞여서 구강 투여되었다. 본 연구의 결과에 제시하지는 않았지만, 연구가 진행되는 동안 측정된 식이량은 마리당 평균 5.06g/day였다. 따라서, 생쥐 1마리가 1일 섭취한 CLR의 양은 5.06mg에 해당한다고 할 수 있다. 본 연구에 사용된 생쥐의 평균 몸무게가 23.8g임을 감안 할 때, CLR의 1일 투여량은 0.21g/day라고 할 수 있다. 이는 체중 60kg 성인 1일 용량으로 환산 하면 12.76g/day에 해당한다. 1일 체중의 4분의 1가량을 섭취하고, 인간에 비해 10배정도 빠른 생쥐의 대사속도를 감안 할 때, 본 연구에서 사용된 용량은 적절하였다고 판단된다.

생체 내에서 B세포는 주로 비장 내에서 활성화되어 형질세포가 된 다음 항체를 생산한다. 따라서, 일부 체액성 면역 기능 항진성 질환에서는 비장종대로 인한 비장의 무게 증가가 관찰된다<sup>34,35</sup>. 본 실험의 결과를 살펴보면, CTL군에서 Normal군에 비하여 유의하게 증가된 비장무게를 관찰할 수 있었다. 이러한 증가는 CLR의 투여에 의하여 효과적으로 억제되었다 (Fig. 3). 이는 상기한 바대로 각 군간의 유의한 체중의 차이가 없다는 것을 감안 할 때, B 세포의 활성화에 의한 염증 반응을 억제할 가능성을 보인 것으로 생각된다.

상기한 결과를 바탕으로 비장세포를 분리하여 증식율을 측정된 결과, CTL군에서 Normal 군의 3 배를 넘는 증식율의 증가를 보였다. CLR의 투여는 이러한 증식율의 증가를 효율적으로 억제하였다(Fig. 4). 이러한 결과는 비장의 무게에 관한 영향과 일맥상통하며, CLR이 B세포에 의한 염증 반응을 효율적으로 억제할 수 있다고 생각해 볼 수 있다.

천식의 병리소견은 기도내의 T 세포에 의하여 이루어지는 Th1/Th2 반응의 불균형에서 발생한다<sup>36</sup>. 또한, 천식은 만성 기도 염증으로 T 세포, 비만 세포, 호염기구, 대식세포 특히 호산구의 침윤

을 그 특징으로 한다<sup>37</sup>.

천식에 관여하는 세포 중 Th세포는 cytokine의 분비양상과 기능에 따라 Th1 과 Th2 세포로 나눈다<sup>38-40</sup>. 천식의 병리소견은 기도내에서 일어나는 면역 반응에 관여하는 T세포의 Th1/Th2 불균형과 관련이 깊다<sup>41</sup>. 이러한 불균형에 의하여 Th2쪽으로 치우친 염증이 발생하고, T 세포, 비만세포, 특히 호산구의 침윤이 발생하게 된다<sup>42</sup>. 천식에서 T 세포는 일반적으로 Th2 계열에 속하는 염증 cytokine에 의하여 활성화되며, Th1계열에 속하는 cytokine에 의하여 불활성화 된다. 인터루킨 4(IL-4, Interleukin-4), IL-5, IL-6, IL-13 그리고 IL-17A 는 Th2 계열에 속하며, IFN-g는 이들에 대하여 길항작용을 하는 가장 대표적인 Th1계열 cytokine이다<sup>43</sup>. 종합하자면, Th1과 Th2세포는 길항작용을 나타내어 면역반응을 억제하는데, 천식 환자의 기관지폐포 세척액에서는 주로 Th2세포가 생산하는 cytokine이 과다분비되어 Th2세포의 활성이 증가하는 것으로 관찰되고 있다<sup>44</sup>.

천식 환자의 기관지폐포 세척액, 가래 등에서 Th2 driven cytokine인 IL-4의 레벨은 정상인에 비해 올라가 있는 것이 사실이지만, Th1 driven cytokine인 IFN-g레벨에 대하여서는 다소 논란의 여지가 있다<sup>45-47</sup>.

IL-4 는 IgE 의 생성을 촉진하고, Th2반응을 진행시킨다는 사실이 알려져 있고<sup>48</sup>, 천식의 주요 증상인 기도 과민반응을 일으키는데 매우 중요한 역할을 한다는 사실 또한 알려져 있다<sup>49</sup>. 이런 이유로 인하여 IL-4는 오랫동안 천식치료의 주요 인자로 여겨져 왔다<sup>48</sup>. 본 연구의 결과를 살펴보면, 천식 유발에 의하여 기관지폐포 세척액내의 IL-4는 유의하게 상승하였고, 이러한 상승을 CLR투여로 유의성있게 억제 하였다(Fig. 5). 이러한 결과는 CLR의 천식 치료 기전이 IL-4의 생성을 감소시킴으로써 Th2반응을 억제하는 것과 밀접한 관계가 있는 것으로 해석된다.

IFN-g는 가장 대표적인 Th1계열의 cytokine 으로 천식환자의 체내 농도에 관해서는 다소 논란의 여지가 있다<sup>45-47</sup>. 본 연구의 결과를 살펴보면, 천식이 유발된 생쥐의 기관지폐포 세척액내에서 Normal군과 비교하여 유의할 만한 IFN-g농도의 변화는 관찰되지 않았다. 그러나 CLR군에서는 CTL군과 비교하여 유의할 만한 IFN-g농도의 상승이 관찰되었다(Fig. 6). 이러한 결과는 CLR이 면역계의 반응을 Th1반응 쪽으로 기울게 할 가능성이 있는 것으로 해석된다.

상기한 IL-4와 IFN-g의 생체 내 농도에 CLR이 미치는 영향으로부터 CLR은 생체 내에서 Th1/Th2의 밸런스를 조절하는 효능이 있고, 특히 천식에 있어서 Th2쪽으로 기운 면역 반응을 회복시킬 수 있다는 생각을 해 볼 수 있다.

천식을 포함한 각종 알러지반응에서 T세포는 전염증 cytokine (pro-inflammatory cytokines)에 의하여 활성화되는데<sup>50</sup>, IL-17A는 호중성구의 기도 내 침윤에 관여하며, 기도 염증이 지속되는 동안 대식세포의 침윤에 관여할 뿐만 아니라 대식세포를 활성화 시키고 수명 연장에도 관여함으로써 천식을 악화 시키는 주요 요인 중의 하나로 작용한다<sup>51</sup>. 일반적으로 천식 환자의 기관지폐포 세척액 및 객담과 혈액 내에서도 증가된 농도의 IL-17A를 관찰 할 수 있다<sup>52</sup>. 이에 부가하여 IL-17A는 섬유아세포와 대식세포를 자극하여 과립구/대식세포 군집 활성화 인자(GM-CSF, granulocyte/macrophage colony-stimulating factor)를 분비시킨다<sup>53</sup>. 본 연구의 결과에서, 천식 유발에 의하여 기관지폐포 세척액 내의 IL-17A는 유의하게 상승하였고, 이러한 상승을 CLR투여로 유의성 있게 억제 하였다(Fig. 7). 이러한 결과는 CLR의 천식 치료 기전이 IL-17A의 생성을 감소시킴으로써 Th2관련 면역반응을 억제 시키고, 각종 면역 세포들의 기도 내 침윤을 방지한 것과 관련 있는 것으로 생각된다.

과립구와 대식세포의 활성화 인자로 처음 알려

진 GM-CSF는 호산구가 염증반응을 일으키는데 매우 중요한 역할을 하며<sup>54</sup>, 천식환자의 기도 내에서 높아진 GM-CSF농도를 확인할 수 있다<sup>55-56</sup>. 본 연구의 결과를 살펴보면, CTL군에서 Normal군과 유의할 만한 GM-CSF의 농도 변화를 관찰 할 수 없었다. 이는 Normal군에서 GM-CSF의 농도가 과다하게 측정된 것으로 보여지며, GM-CSF자체가 비교적 분비량이 많지 않은 Cytoine이기 때문인 것으로 생각된다. 그러나 CLR군에서는 CTL군과 비교하여 유의할 만한 GM-CSF농도의 감소가 관찰되었다(Fig. 8). 비록 본 연구의 결과에서 알려진 내용과는 다르게 천식 유발에 의하여 농도가 상승하지 않았지만, CLR 투여에 의하여 그 농도가 감소하였고, GM-CSF를 분비 시킨다고 알려진 IL-17A가 감소한 것 등을 감안하면, 상기한 결과도 역시 CLR의 천식 치료 기전 중의 하나로 해석할 수 있다.

항원 특이 항체 (Antigen specific antibody)의 함량 및 기능성은 체액성 면역기능을 평가할 수 있는 중요한 요소 중의 하나이다<sup>34</sup>. 일반적인 경우, 항원 특이 전체 항체의 저하는 면역기능 자체의 저하, 최소한 체액성 면역 기능 자체의 저하를 의미하는 경우가 많다<sup>56</sup>.

본 연구의 결과를 살펴보면, 천식 유발에 의하여 유의한 항원 특이 전체 항체의 상승이 있었지만, CLR의 투여는 이러한 상승된 항원 특이 전체 항체의 함량에 거의 영향을 미치지 않았다(Fig. 9). 이러한 결과는 CLR이 스테로이드제와 같이 전반적인 면역 기능이나 체액성 면역 기능에 영향을 끼치지 않는 것으로 생각해 볼 수 있다.

천식의 악화와 호전에 있어서 IgE의 생성 레벨은 매우 중요한 인자 중 하나이다. IgE는 비만세포와 결합하여 비만 세포가 자극 받았을 때, 여러 가지 천식 증상과 관련된 인자들을 배출시키는데 중요한 역할을 한다. 따라서 이전부터 천식의 치료에 있어서 IgE의 생성레벨은 매우 중요한 치료적

인 목표로 여겨져 왔다<sup>57)</sup>. 본 논문의 결과에서 천식 유발에 의하여 상승된 IgE 수준을 유의하게 감소시켰다(Fig 10). 이러한 결과로부터 CLR은 천식의 치료에 있어서 매우 중요한 역할을 할 가능성이 매우 높을 것으로 생각된다. 또한, 상기한 결과에서 IL-4의 농도 역시 감소하였는데, 기존에 알려진 IL-4가 IgE의 생성에 관여한다는 사실과 부합되는 결과이다.

천식환자는 가역적인 기도의 과민반응을 보이고, Th2반응에 의한 만성염증상태가 지속된다<sup>58)</sup>. 항원 특이 항체의 종류 중에서 IgG1은 Th2반응에 관계가 깊고, IgG2a는 Th1반응과 관계 깊다<sup>59)</sup>. 본 논문의 결과를 살펴보면, 천식 유발에 의하여 IgG1, IgG2a 모두 유의한 상승을 보였다. 천식 유발에 의하여 상승된 IgG1은 CLR투여에 의하여 유의하게 감소하였고 (Fig. 11), IgG2a에는 특별한 영향을 미치지 않았다(Fig. 12). 이러한 결과로부터 CLR은 생체 내의 면역 반응 중, Th2 반응을 감소시킬 가능성이 매우 높은 것으로 해석되며, 이는 CLR의 천식치료 기전의 하나로 생각된다.

천식 환자의 폐 조직 내에서는 Th2반응에 입각한 염증 상태가 지속된다. 이러한 염증 상태는 호산구와 같은 면역 세포들의 침윤으로 대별된다<sup>60)</sup>. 폐 조직의 조직 병리학적 소견 관찰을 통하여, 천식 유발군은 미세혈관주위로 염증 세포들이 다량 침윤된다는 것을 확인하였고, 이러한 염증 세포의 침윤은 CLR의 투여에 의하여 방지되는 경향을 보인다는 사실을 알 수 있었다(Fig. 14). 이러한 경향은 기관지폐포 세척액 내에 존재하는 면역 세포의 개수에서도 확인할 수 있었다(Fig. 13). 본 논문의 이러한 결과는 CLR이 천식환자에게 있어서 기도 및 폐조직 내의 염증을 효과적으로 감소시킬 수 있는 가능성으로 해석될 수 있다.

이상의 결과들을 정리하면 薑黃추출물은 비강내 점적으로 유발된 생쥐의 천식에서 유발된 비장 무게 증가를 효과적으로 억제하였고, 비장 세포 증식

을 또한 효과적으로 억제하여 B 세포와 관련된 염증에 대한 억제작용의 가능성을 보였다. 또한, 폐 조직의 면역세포 침윤을 효과적으로 방지하였음을 육안으로 확인하였고, 이를 기관지폐포 세척액 내의 염증 세포수를 관찰함으로써 확인하였다. 이에 대한 심층적 기전을 살펴보기 위하여 관련 cytokine 및 항원 특이 항체의 아종의 농도를 관찰한 결과, Th2 관련 cytokine인 IL-4, IL-17A, GM-CSF를 감소시키며, Th1관련 cytokine인 IFN-g는 상승시켰고, Th2 반응 관련 항체인 IgE 및 IgG1타입을 효과적으로 감소시켰으나, Th1 반응 관련 항체인 IgG2a 및 전체 항체에는 특별한 영향을 미치지 않았다.

이러한 결과로부터 저자는 CLR이 천식치료에 유효할 수 있으며, 그 기전은 전반적인 면역기능 억제에 기인하기 보다는 Th2 관련 반응을 억제함으로써 전반적인 체액성 면역 반응을 조절함에 의한 것으로 생각된다.

## V. 결 론

薑黃 추출물이 비강 내 점적으로 유발된 생쥐의 천식에 미치는 영향을 실험적으로 확인한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 실험동물의 체중에는 특별한 영향을 미치지 않았다.
2. 상승된 비장의 무게, 비장 세포 증식율을 유의한 수준으로 감소시켰다.
3. 상승된 IL-4, IL-17A의 농도를 유의한 수준으로 감소시켰다.
4. IFN-g의 농도를 유의한 수준으로 상승시켰고, GM-CSF의 농도를 유의한 수준으로 감소시켰다.
5. 상승된 항원 특이 전체 항체의 함량에는 특별한 영향을 미치지 않았다.

6. 상승된 항원 특이 IgE, IgG1의 함량을 유의하게 감소시켰다.
7. 상승된 항원 특이 IgG2a 함량에는 특별한 영향을 미치지 않았다.
8. 기관지폐포 세척액 내의 염증 세포 수를 유의하게 감소시켰고, 폐 조직의 염증세포 침윤을 효과적으로 방지하였다.

### 참고문헌

1. 李珩九, 鄭昇杞. 東醫肺系內科學. 서울:아트동방. 1999;187-202.
2. Adelroch, E, Hargreave, FE, and Ramsdale, EH: Do physicians need objective measurements to diagnose asthma? Am. Rev. Respir. Dis, 1986;134:704-7.
3. Palmerio, EM, Hopp, RJ, Bivev, RE, Bewtra, AK, Nair, NN, and Tomwnley, RG: Probability of asthma based on mechacholine challenge, chest, 1992;01:630-3.
4. Kay, AB, Asthma and Inflammation. J. Allergy. Chin. Immunol, 1991;87:893-910.
5. 한의과 대학 본초학 편찬위원회. 본초학. 서울:영림사. 2004:457-8.
6. 정동환. 박수연. 김종한. 최정화. 반하가 난황으로 유발된 생쥐의 알레르기성 천식에 미치는 영향. 대한한방안이비인후피부과학회지. 2008;21(1):38-54.
7. 정승현, 장규섭, 고경희. 강황(Curcuma longa L.)으로부터 초임계 유체 추출한 curcumin의 생리활성. 한국식품과학회지. 2004;36(2):317-20.
8. Tsitoura DC, Blumenthal RL, Berry G, Dekruyff RH, Umetsu DT. Mechanisms preventing allergen-induced airways hyperreactivity: role of tolerance and immune deviation. J Allergy Clin Immunol, 2000; 106(2):239-46.
9. 김형우, 조수진, 김부여, 백진웅, 정현우, 조수인. 蔘蘇飲이 천식이 유발된 생쥐의 Cytokine 분비에 미치는 영향. 대한본초학회지. 2007;22(2):175-80
10. Wysocki, L.J. and Sato, V.L. : "Planning" for lymphocytes ; A method for cell selection. Proc. Natl. Acad. Sci., USA., 1978;75(6):2844-8.
11. Mizel, SB, Rosenstreich, DL : Regulation of lymphocyte-activating factor (LAF) production and secretion in P388D1 cells ; identification of high molecular weight precursors of LAF. J. Immunol. Methods, 1979;122(6):2173-9.
12. Upon MN, McConnachie A, McSharry C, Hart CL, Smith GD, Gills CR Watt GCLM. Intergeneration 20year trends in the prevalence of ashma and hay fever in adult:the Midspan family study surveys of parents and offspring. BMJ. 2000;321: 88-92.
13. 吉村永星, 黃義玉, 李珩九, 鄭昇杞. 알레르기성 천식에 관한 문헌적 고찰(동서의학적 비교고찰). 大韓韓醫學會誌. 1990;11(1):39-70.
14. 巢元方. 諸病源候論(卷13,14). 서울:대성문화사. 1992;106-17.
15. 朱 櫛. 普濟方. 北京:人民衛生出版社. 1982;1789.
16. 樓 英. 醫學綱目. 北京:中國中醫藥出版社. 1996; 598.
17. 張介賓. 景岳全書. 台北:台聯國風出版社. 1973; 429.
18. 박찬국. 黃帝內經素問注釋. 서울:집문당. 200: 455, 813
19. 영추연구집성간행위원회. 靈樞研究集成(上). 서

- 을:청운인쇄, 2006:229
20. 전국 한의과대학 폐계내과학 교실. 東醫肺係內科學. 서울:한문화사,2002:178-9.
  21. 楊思澍, 張樹生, 傅景華. 중의임상대진. 서울:의성당. 1993:87-100.
  22. 남세현, 이현, 홍권의. 絲瓜絡藥鍼의 喘息抑制 및 免役調節效果에 대한 실험적 연구. 대한침구학회지. 2005;22(4):73-85.
  23. 최가원, 이현, 홍권의. 款冬花藥鍼의 喘息抑制 및 免役調節效果에 대한 실험적 연구. 대한침구학회지. 2007;24(1):195-207.
  24. 임성철, 이현. 葶藶子藥鍼의 喘息抑制 및 免役調節效果에 대한 실험적 연구. 대한침구학회지. 2007;24(3):39-62.
  25. 박연철, 백용현, 박동석. 喘息의 鍼治療에 대한 최근 연구동향. 대한침구학회지. 2007;24(1): 217-25.
  26. Osman, A. and Musa, S. Effects of turkish spice extracts at various concentrations on the growth of *Escherichia coli* 0157:H7. *J. Microbiol.* 2002;19:473-80.
  27. Jayaprakasha GK, Japan, M, Rao, L. and Sakariah KK. Chemistry and biological activities of *C. longa*. *Trend Food Sci, Technol.* 2005;16:533-48.
  28. Ryu GY, No, KH, Ryu, SR, and Yang, HS. Study of seperation and analysis method an effective component from UIGeum(*Curcuma longa*) and a cantained curcumin as product of national and partial region cultures. *Appl. Chem.* 2005; 9:57-60.
  29. 최성규. 우리나라 남부지역에서 강황(*Curcuma longa* L.)의 생육특성. *한국약용작물학회지.* 2004;12(1):85-8.
  30. 조수인, 정선, 김형우, 박지은, 김영균. 강황추출물이 유방암 세포주 MCF-7증식 억제에 미치는 영향. *대한본초학회지.*2006;21(1):71-7.
  31. Tsitoura DC, Blumenthal RL, Berry G, Dekruyff RH, Umetsu DT. Mechanisms preventing allergen-induced airways hyperreactivity: role of tolerance and immune deviation. *J Allergy Clin Immunol.* 2000 Aug;106(2):239-46.
  32. Li AM, Tsang TW, Chan DF, Sung RY, Fok TF. Induced sputum in childhood asthma. *Hong Kong Med J.* 2005;11: 289-94.
  33. Smith JG Jr, Wehr RF, Chalker DK. Corticosteroid-induced cutaneous atrophy and telangiectasia. Experimental production associated with weight loss in rats. *Arch Dermatol.* 1976;112(8):1115-7.
  34. Thomas Kindt, Richard Glodsbys, Barbara Osborn. *Kuby immunology.* New York:W. H. Freeman and Company. 2006:289-91.
  35. Kurt J. Isselbacher, Eugene Braunwald, Jean D. Wilson, Joseph B. Martin, Anthony S. Fauci, Dennis L. Kasper: Harrison TR. *Principles of Internal Medicine, Diabetes Mellitus* 1987;11:1757-77.
  36. Spina D, Shah S, HarrisonS. Modulation of sensory nerve function in the airways. *Trends Pharmacol Sci* 1998;19:460-5.
  37. Fahy JV, Kim KW, Liu J, Boushey HA. Prominent neutrophilic inflammation in sputum from subjects with asthma exacerbation. *J Allergy Clin Immunol* 1995; 95:843-52.
  38. Mosmann TR, Cherwinski H, Bond MW, Giedlin MA, and Coffman RL. Two types of murine helper T cell clone. I Definition

- according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. *J. Immunol.* 1986; 136:2348-57.
39. Mosmann TR, Coffman RL. TH1 and TH2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. *Annu. Rev. Immunol.* 1989;7: 45-73.
40. Coffman RL, Seymour BW, Leberman DA, Hiraki DD, Christiansen JA, Shrader B, Cherwinski HM, Savelkoul HF, Finkelman FD, and Bond MW, The role of helper T cell products in mouse B cell differentiation and isotype regulation. *Immunol. Rev.* 1998;138:3688-94.
41. Spina D, Shah S, Harrison S. Modulation of sensory nerve function in the airways. *Trends Pharmacol Sci* 1998;19:460-5.
42. Fahy JV, Kim KW, Liu J, Boushey HA. Prominent neutrophilic inflammation in sputum from subjects with asthma exacerbation. *J Allergy Clin Immunol* 1995; 95:843-52.
43. Welgus HG, Campbell EJ, Bar-Shavit Z, Senior RM, Teitelbaum SL. Human alveolar macrophages produce a fibroblast-like collagenase and collagenase inhibitor. *J Clin Invest* 1985;76:219-24.
44. Kasakura S. A role for T-helper type 1 and type 2 cytokines in the pathogenesis of various human disease. *Rinsho Byori.* 1998;46:915-21.
45. Wen MC, Wei CH, Hu ZQ, Srivastava K, Ko J, Xi ST, et al. Efficacy and tolerability of anti-asthma herbal medicine intervention in adult patients with moderate-severe allergic asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2005;116:517-24.
46. Lynch EL, Little FF, Wilson KC, Center DM, Cruikshank WW. Immuno- modulatory cytokines in asthmatic inflammation. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2003;14(6):489-502. Review.
47. Medoff BD, Sauty A, Tager AM, Maclean JA, Smith RN, Mathew A, Dufour JH, Luster AD. IFN-gamma-inducible protein 10 (CXCL10) contributes to airway hyperreactivity and airway inflammation in a mouse model of asthma. *J Immunol.* 2002.
48. Corry DB, Folkesson HG, Warnock ML, Erle DJ, Matthay MA, Wiener- Kronish JP, Locksley RM. Interleukin 4, but not interleukin 5 or eosinophils, is required in a murine model of acute airway hyperreactivity. *J Exp Med.* 1996;183(1):109-17. Erratum in: *J Exp Med* 1997;185(9):1715.
49. Wardlaw AJ, Brightling CE, Green R, Woltmann G, Bradding P, Pavord ID. New insights into the relationship between airway inflammation and asthma. *Clin Sci (Lond).* 2002;103(2):201-11.
50. Welgus HG, Campbell EJ, Bar-Shavit Z, Senior RM, Teitelbaum SL. Human alveolar macrophages produce a fibroblast-like collagenase and collagenase inhibitor. *J Clin Invest* 1985;76:219-24.
51. Sergejeva S, Ivanov S, Lotvall J, Linden A. Interleukin-17 as a recruitment and survival factor for airway macrophages in allergic airway inflammation. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2005;33(3):248-53.

52. Barczyk A, Pierzchala W, Sozanska E. Interleukin-17 in sputum correlates with airway hyperresponsiveness to methacholine. *Respir Med*. 2003;97(6):726-33.
53. Molet S, Hamid Q, Davoine F, Nutku E, Taha R, Page N, Olivenstein R, Elias J, Chakir J. IL-17 is increased in asthmatic airways and induces human bronchial fibroblasts to produce cytokines. *J Allergy Clin Immunol*. 2001;108(3):430-8.
54. Ip WK, Wong CK, Wang CB, Tian YP, Lam CW. Interleukin-3, -5, and granulocyte macrophage colony-stimulating factor induce adhesion and chemotaxis of human eosinophils via p38 mitogen-activated protein kinase and nuclear factor kappaB. *Immunopharmacol Immunotoxicol*. 2005;27(3):371-93.
55. Alam R, York J, Boyars M, Stafford S, Grant JA, Lee J, Forsythe P, Sim T, Ida N. Increased MCP-1, RANTES, and MIP-1 $\alpha$  bronchoalveolarlavage fluid of allergic asthmatic patients. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;153:1398-404.
56. Bodey KJ, Semper AE, Redington AE, Madden J, Teran LM, Holgate ST, Frew AJ. Cytokine profiles of BAL T cells and T-cell clones obtained from human asthmatic airways after local allergen challenge. *Allergy* 1999;54:1083-93.
57. Fedor ME, Rubinstein A. Effects of long-term low-dose corticosteroid therapy on humoral immunity. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2006;97(1):113-6.
58. Balzar S, Strand M, Rhodes D, Wenzel SE. IgE expression pattern in lung: Relation to systemic IgE and asthma phenotypes. *J Allergy Clin Immunol*. 2007 Apr;119(4):855-62.
59. Chakir J, Shannon J, Molet S, Fukakusa M, Elias J, Laviolette M, et al. Airway remodeling-associated mediators in moderate to severe asthma: effect of steroids on TGF-beta, IL-11, IL-17, and type I and type III collagen expression. *J Allergy Clin Immunol* 2003;111:1293-8.
60. Magnan A, Vervloet D. Role of eosinophilia in atopic pathology. *Med Trop*. 1998;58:444-6.