

Original Article / 원저

감초 추출물 투여가 Ovalbumin으로 유발된 마우스 알레르기성 천식에 미치는 영향

조은희¹⁾ · 조일주²⁾ · 박성주²⁾ · 조소현³⁾ · 박민철³⁾

¹⁾ 원광대학교 한의과대학 침구과

²⁾ 원광대학교 한의과대학 본초학교실

³⁾ 원광대학교 한의과대학 안이비인후피부과

Effects of *Glycyrrhiza uralensis* Fisch (GUF) Extract on the Ovalbumin-Induced Allergic Asthma in Mice

Eun-Hee Jo¹⁾ · Il-Joo Jo²⁾ · Seong-Ju Park²⁾ · So-Hyun Jo³⁾ · Min-Cheol Park³⁾

¹⁾ Dep. of Acupuncture and Moxibustion, Wonkwang University

²⁾ Dep. of Herbology, Wonkwang University

³⁾ Dep. of Oriental Ophthalmology and Otolaryngology and Dermatology, Wonkwang University

Abstract

Objective : *Glycyrrhiza uralensis* Fisch (GUF) has been used as remedy of allergic diseases for a long time in Korea. In the present study, we investigated the anti-allergic effects of GUF on experimental allergic asthma mouse model using ovalbumin (OVA).

Methods : BALB/c mice were sensitized and challenged with 100 ug of OVA and 1 mg of aluminum potassium sulfate of 0.2 ml phosphate-buffered saline (PBS) intraperitoneally on day 1 and 15. Mice were challenged on 3 consecutive days with 5% OVA and AHR was assessed 24 hrs after the last challenge. We examined total inflammatory cell number in bronchoalveolar lavage fluid (BALF), Th2-associated cytokine productions and lung histology.

© 2014 the Society of Korean Medicine Ophthalmology & Otolaryngology & Dermatology

This is an Open Access journal distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Results : GUF potently inhibited the development of airway hypersensitivity and also reduced the number of BAL cells during OVA-induced allergic asthma. GUF also inhibited cytokine productions such as IL-4, IL-13 in lung tissue. Furthermore, GUF treatment inhibited allergic airway inflammation.

Conclusion : These results suggest that GUF may inhibit the production of IL-4, IL-13 and infiltration of inflammatory cell and be beneficial oriental medicine for allergic asthma.

Key word : allergic asthma; ovalbumin; Th2 cytokines; Glycyrrhiza uralensis Fisch (GUF)

1. 서 론

기관지 천식은 전 세계적으로 인구의 약 10%가 앓고 있는 흔한 질환이며 천식의 발생빈도는 여러 약물의 사용에도 불구하고 전 세계적으로 그 발생률이 증가하고 있는 추세이다. 기관지 천식은 임상적으로 가역적인 기도 폐색을 보이며, 병태 생리학적으로 기도 과반응성을 나타내고, 조직 병리학적으로는 기도 염증을 특징으로 하는 기도의 만성 염증성 질환이다¹⁻³⁾. 기관지 천식에 걸리게 되면 호기성 천명음 (숨을 내쉴 때 쉼쉼거리는 호흡음), 기침, 호흡 곤란이 일어나게 된다. 이러한 증상들은 정도가 다양하여 평소에는 아무 증상 없이 지내다가, 감기만 걸리면 호흡곤란과 천명음을 나타내는 사람도 있고, 어떤 경우는 운동만 하면 증상을 나타내는 경우가 있어서 치료 및 예방에 곤란함이 많다.

기관지 천식의 염증반응은 T 세포, B 세포, 호중구, 비만세포 및 호산구 등의 염증 세포와 사이토카인, 특히 케모카인과 같은 화학 매개체들에 의해 유발된다⁴⁾. 특히 T 세포 중 CD4+ Th2 세포들이 생성하는 사이토카인인 IL-4, IL-5 및 IL-13이 알레르기성 천식의 기도 과민성과 호산성 염증반응에 중요한 매개역할을 수행하는 반면^{5,6)}, Th1 세포들이 분비하는 IFN- γ 는 Th2 세포들의 분화를 억제하는 것으로 알려져 있다^{7,8)}.

호산구(Eosinophil)는 과립구의 일종으로 특수한 면

역 업무를 담당한다. 즉 기생충 감염이나 알러지 질환 등에서 호산구는 조직에 침투하여 세포성 매개 면역에 주로 관여하는 세포이다. 알레르기성 염증부위에 선택적으로 모여들어 많은 독성 물질을 분비하여 염증을 지속시킨다는 것이 잘 알려져 있다⁹⁾. 일반적으로 정상인 말초혈액에서 호산구 수는 전체 과립구의 3~5%이하를 차지한다. 호산구 수가 유지 되지 않고 호산구 수가 증가하는 것을 호산구 증가증 (Eosinophilia)이라 하며, 호산구 증가증은 흔히 아무 증상이 없고 정기 검진에서 발견되는 경우가 많아서 큰 위험성이 있다. 호산구 증가증에 의한 조직 침윤과 손상과 같은 알레르기성 염증 반응은 중요한 천식의 병리이다.

그러나 기관지 천식과 알레르기는 많은 세포들이 관여하는 복잡한 기전이기 때문에 어느 한가지만을 target으로 하였을 때 치료실패로 이어질 수 있다. 한약은 어느 하나의 단일 세포나 기전을 차단하는 것이 아니라 다면적으로 두루 작용할 수 있다고 생각되어지며 이러한 성질 때문에 한약이 천식 치료제로서의 개발 가능성을 높여 주고 있다.

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 中和緩急, 潤肺, 解毒, 調和諸藥 效能이 있다¹⁰⁾. 약리적으로 부신피질 호르몬 조절 작용, 항염증 및 항알레르기 작용, 소화계통에 대한 작용, 해독작용, 지질대사에 대한 영향, 실험성 황달에 대한 영향, 진해 작용, 진통 및 항경련 작용, 비뇨 생식기계통에 대한 영향, 항종양 작용 등이 있으며¹¹⁾, 감초에 대한 다양한 연구¹²⁻¹⁴⁾가 있어왔으나 감초 추출물 투여가 ovalbumin으로 유발된 마우스 알레르기성 천식에 미치는 영향에 대한 연

교신저자 : 박민철, 전북 익산시 신용동 344-2

원광대학교 부속 한방병원 안이비인후과

(Tel : 063-859-2821, E-mail : spinx11@wonkwang.ac.kr)

• 접수 2014/7/2 • 수정 2014/8/8 • 채택 2014/8/15

구는 되어있지 않았다. 본 논문에서 저자는 ovalbumin (OVA)을 항원으로 유도한 기관지 천식 모델에서 감초의 투여가 bronchoalveolar lavage (BAL) 세포 수 변화와 폐조직의 조직학적 변화, 기도의 과민성 정도 및 폐 조직 내 사이토카인의 생성의 변화에 미치는 효과를 관찰하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 재료 및 방법

1. 재료

1) 동물

본 실험에 사용된 실험동물은 6주령된 암컷 Balb/c 생쥐를 (주)오리엔트바이오(성남, 한국)에서 공급받아 실험 당일까지 고형사료와 물을 충분히 공급하고, 실온 22±2 °C를 유지하였다.

2) 약재

실험에 사용된 감초(*Glycyrrhiza uralensis* Fisch, GUF)는 옴니허브(영천, 한국)에서 구입하여 oo대학교 한의과대학 oo학 교실에서 정선하여 사용하였다.

3) 시약 및 기기

(1) 시약

본 실험에 사용된 시약은 난알부민 (OVA, chicken egg ovalbumin, Grade V)는 Sigma (St. Louis, USA)에서, Alum (Aluminium potassium sulfate)은 Pierce(Rockford, IL, USA)에서, Diff-Quik Kit는 Green Cross (Osaka, Japan)에서 구입하여 사용하였다.

(2) 기기

Freeze dryerm (EYELA FDU-540, Japan), clean bench, vortex mixer (Vision scientific Co, Korea), autoclave (Sanyo, Japan) micro-pipet (Gilson, France), centrifuge

(Sigma, U.S.A), homogenizer (OMNI, U.S.A) 등을 사용하였다.

2. 방법

1) 감초 추출물 분리

감초 추출물을 얻기 위하여 감초 100g 에 증류수 1 l 를 가하여 열탕 추출기에서 3시간 추출하여 얻은 액을 흡입 여과한 후 얼렸고, 이를 다시 동결건조기 (Freeze dryerm EYELA FDU-540, Japan)를 이용하여 완전 건조한 감초분말을 냉동(-80 °C) 보관하면서 3차 증류수에 녹여 filter (0.2 µm syringe filter)로 여과 한 후 필요한 농도로 사용하였다.

2) 기관지 천식 생쥐 모델

100 µg의 OVA과 1 mg Alum를 PBS (phosphate buffered saline, pH 7.4) 0.2 ml에 혼합하여 복강내로 주사하였다. 1차 전신 감작(sensitization) 후, 15일 째에 동일한 방법으로 2차 감작을 통해 면역 boosting을 유도 한 후, 5% OVA in PBS 20 ml를 분무하여 30분씩 22, 23, 24일에 3일 연속 흡입 (Challenge)시켜 알려지성 천식을 유도하였다. 마지막 OVA을 분무한 24시간 후에 마우스를 분석하였다.

실험은 6마리를 한 군으로 하여 정상군 (control group, Con), 대조군 (positive group, OVA; 천식 유발군), 실험군으로 나누었으며, 실험군은 GUF 150 mg/kg group (천식 유발 후 GUF 150 mg/kg 투여군), GUF 300 mg/kg group (천식 유발 후 GUF 300 mg/kg 투여군)으로 나누었다. 정상군은 아무런 처치를 하지 않았고, 실험군은 분석 전 1주일간 (18-24일) GUF

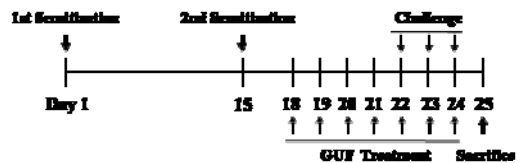


Fig. 1. Experimental protocol.

를 경구 투여하였으며, 대조군은 실험군과 같은 시간에 같은 양의 생리식염수를 투여하였다(Fig. 1).

3) 기관지폐포세척액 (Bronchoalveola Lavage Fluid; BALF) 검사

BALF는 마지막 분무 24시간 후에 마우스에 Ketamine(Ketamine Hydrochloride 50 mg/ml, 유한양행) 1 ml과 Rompun 주사액(바이엘) 1 ml을 혼합하여 마우스 복강내에 100 μ l를 주사하여 마취시킨 후 기관지를 절개하고 카테타를 이용하여 기도 내로 멸균된 PBS 1 ml를 주입하여 기관지폐포세척액(BALF) 약 700 μ l를 채취하여 Cytospin을 사용 2000 rpm에서 5분간 원심분리한 후 슬라이드를 건조하였다. 건조된 슬라이드는 Diff-Quick 용액을 이용하여 염색하였다. 이 슬라이드로부터 세포의 모양과 염색을 특징으로 면역세포의 type을 결정하였다. 광학현미경 $\times 400$ 배율에서 관찰하여 단핵구(monocyte), 호산구(eosinophil), 호중구(neutrophil), 림프구(lymphocyte) 등의 총 세포 수를 측정하였다.

4) 조직병리검사

마우스에서 폐조직을 떼어내어 10% 포르말린에 고정시키고, 파라핀으로 embedding 한 후 4 μ m 두께로 조직을 잘라 슬라이드에 붙인 뒤 Hematoxylin/eosin (H&E) 염색하여 $\times 400$ 배율로 관찰하였다.

5) 기도과반응성 (Airway hyper-reactivity; AHR) 측정

실험방법은 Peebles RS Jr¹⁵⁾의 방법을 약간 변형하였다. 마지막 분무 24시간 후, methacholine (Sigma, USA)을 PBS로 희석하여 2.5 mg/ml, 10 mg/ml, 20 mg/ml, 및 50 mg/ml의 농도로 각각 5분간 분무하여 노출시킨 후 동물용 체적 변동 측정기를 사용하여 Penh (enhanced pause) 값을 5초 간격으로 3분간 측정하여 평균을 대표값으로 취하였다.

6) RNA 추출

적출한 폐조직을 TRIzol 1 ml를 넣고 용해될 때까지 분쇄한다. 이 혼합 부유액에 100 μ l chloroform (CHCl₃) 용액을 가한후 잘 섞어준 뒤 15,000 rpm에서 20분간 원심분리하여 맨 위의 상층액을 취한다. 2-propanol을 회수한 상층액과 동량 혼합해 섞어준 뒤 15,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 위에 상층액은 버리고 남은 침전물에 80% EtOH로 수세하고 침전물을 건조시켰다. 추출한 RNA는 diethyl pyrocarbonate (DEPC)를 처리한 200 μ l의 증류수에 녹여 RNA를 용해시키고 정량하였다.

7) 정량적 중합 효소 반응

mRNA의 발현을 정량적으로 표현하기 위하여 정량 중합 효소 반응을 측정하였다. 합성된 cDNA 1 μ l, Real time PCR master mix 4 μ l (Roche), primer 및 probe를 넣고 PCR 조건으로 반응시켰다.

8) 통계 처리

실험결과와 통계적 처리는 SPSS(ver. 8.0)를 이용하였으며, 기술통계학적 분석을 통해 각 집단간의 유의성은 ANOVA test 방법으로 분석하였으며, 그 값이 0.05 이하일 경우 유의 수준으로 인정하였다. 실험치의 표현은 평균 \pm 표준편차 (mean \pm SD)로 하였다.

III. 결 과

1. OVA로 유도한 기관지폐포세척액(BALF) 내의 총 세포 수 변화

마우스의 알레르기성 천식 유발은 폐의 염증유도에 의한 백혈구, 림프구 등 염증성세포 수의 증가를 초래하는 것으로 알려져 있다¹⁶⁾. 대조군과 실험군의 염증성 세포 수의 변화를 비교하기 위하여 OVA 마지막 분무 24시간 후 마우스의 BALF를 수거하여 세포의 수를 측정하였다. 그 결과 BALF 내 전체 세포수는

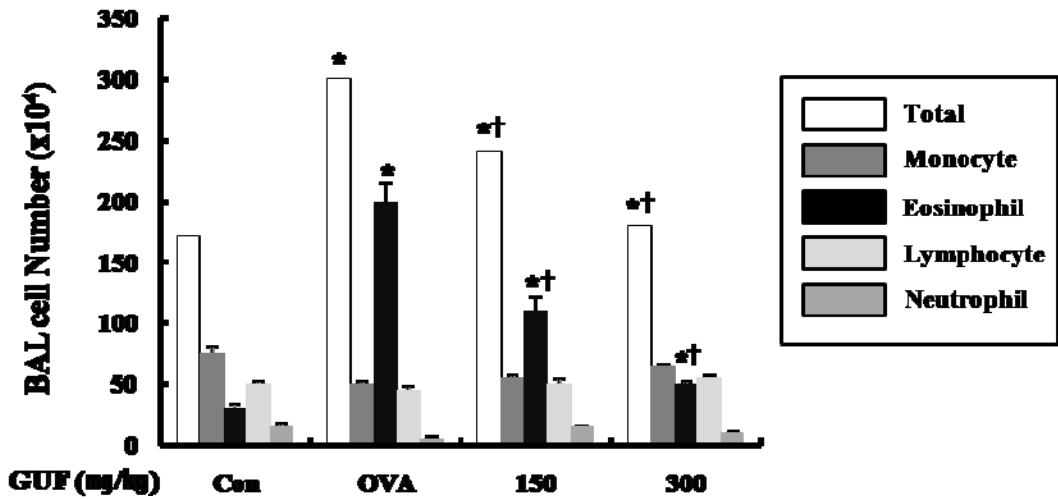


Fig. 2. Effect of *Glycyrrhiza uralensis* Fisch (GUF) on the Bronchoalveola Lavage cell (BAL cell) in OVA-induced Asthma. BAL cell were separated using a cytospin, and then stained with Diff-Quik. Differential cell counting was performed using standard morphological criteria. Values are represented as mean±SD (n=6). * p < 0.05 vs, control; †p < 0.05 vs, OVA positive group.

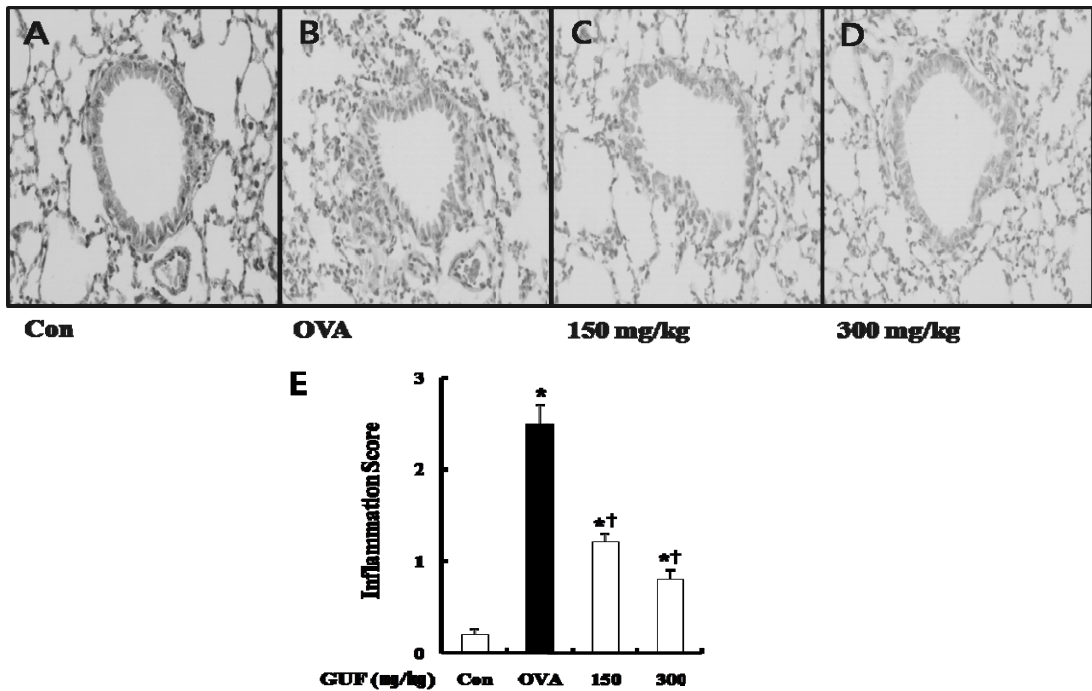


Fig. 3. Effect of GUF on the lung histological structure in OVA-induced Asthma.

Lung tissues were sectioned and stained with hematoxylin and eosin(H&E) (Fig. 3A-D) and the severity was scored (Fig. 3E). Mice were immunized and challenged to OVA. Fig. 3A, non immunized mice, Fig. 3B, mice that were immunized and challenged 3 consecutive days with OVA were sacrificed 24 hours after last challenge. Fig. 3C, and 3D mice that were immunized and treated with GUF (2C; 150 mg/kg; 2D; 300 mg/kg) before challenge 3 consecutive days with OVA were sacrificed 24 hours after last challenge. Original magnification, x400. Images are representative section of six mice per group. * p < 0.05 vs, control; †p < 0.05 vs, OVA positive group.

대조군에 비하여 실험군(GUF 150, 300 mg/kg)에서 유의성 있게 감소하는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 2).

2. OVA로 유도한 기관지 천식에서 폐조직의 조직학적 변화

기관지 천식 유발 마우스에 GUF의 투여가 폐조직의 변화에 미치는 영향을 확인하기 위하여 OVA 마지막 24시간 후에 폐조직을 H&E 염색해 관찰하였다(Fig. 3). 정상군에서는 기도가 선명하고 염증세포의 침윤이 보이지 않으나(Fig. 3A), 대조군에서는 기도의 협착과 기도벽의 두께가 증가되어 있고 염증세포의 침착이 현저하게 증가되어 있다(Fig. 3B). GUF 150, 300 mg/kg 군에서는 기도의 협착과 기도벽의 두께가 대조군에 비해 농도 의존적으로 감소되는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 3C, 3D). 폐조직 내의 염증 수준을 양적분석방법을 통하여 평가한 결과 정상군에 비해 대조군의 염증정도가 확연하게 증가하였으며, 실험군에서 GUF 농도에 따라 농도 의존적으로 폐의 염증이 감소하였다(Fig. 3E).

3. OVA로 유도한 기관지 천식에서 기도과민성의 변화

알레르기성 과민반응에 의해 나타나는 기도과민성의 변화를 확인하기 위하여 정상군, 대조군과 실험군에 methacholine을 농도별로 노출시켜 그에 대한 기도저항값 (Penh)을 조사한 결과 methacholine의 농도가 높을수록 Penh값이 상승하는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 4). 각 그룹간의 차이를 조사한 결과 0 mg/ml, 2.5 mg/ml의 methacholine 농도에 노출시켰을 때는 모든 군에서 비슷한 정도의 Penh 값을 보였다. 10 mg/ml 이상의 농도부터는 대조군의 Penh 값이 가장 높게 나왔고, 정상군의 Penh 값이 가장 낮았으며, 실험군의 Penh 값은 150 mg/kg, 300 mg/kg 농도 의존적으로 감소하는 것을 확인할 수 있었다.

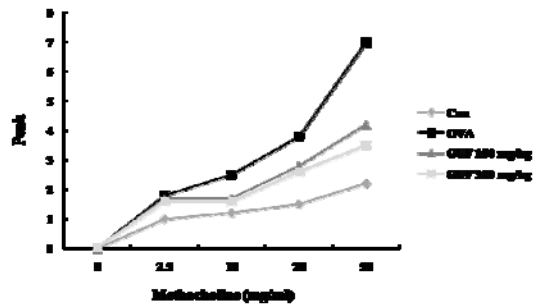


Fig. 4. Effect of GUF on airway hyper-reactivity (AHR) in OVA-induced Asthma.

Mice that were immunized and treated with GUF(150 mg/kg, 300 mg/kg) before challenge 3 consecutive days with OVA were sacrificed 24 hours after last challenge. AHR was measured by enhanced pause (Penh) under exposure to indicated doses of methacholine. These results are representative of three independent experiments (n=6 in each group).

4. OVA로 유도한 기관지 천식의 폐 조직에서 Th2 사이토카인 생성에 따른 변화

항원을 인지한 T 림프구는 림프절에서 활성화하여 염증조직으로 이동하게 된다. 알레르기성 항원인 OVA에 특이적으로 작용한 T림프구들은 다수가 염증 부위인 폐조직으로 이동하여 Th-2 반응을 통하여 사이토카인을 생산하기 때문에 폐조직 내에서 발현되는 사이토카인양을 조사하였다¹⁷⁻⁸⁾. T 세포의 체액성 면역을 유도하는 사이토카인으로 알려진 IL-4와, 혈관투과성을 증가시켜 호산성백혈구의 기관지 및 폐조직 내로 침윤을 증가시키고 점액을 생산하는 배상세포를 증가시키는 사이토카인인 IL-13¹⁹⁾을 mRNA 레벨에서 확인하였다(Fig. 5). IL-4는 대조군에서 정상군에 비하여 확연하게 증가하는 것을 확인할 수 있었으며, 실험군인 GUF 150 mg/kg, 300 mg/kg에서 농도 의존적으로 유의하게 억제되었다. IL-13 또한 IL-4와 마찬가지로 대조군에 비해 실험군인 GUF 150 mg/kg, 300 mg/kg에서 농도 의존적으로 유의하게 감소하는 것을 확인할 수 있었다.

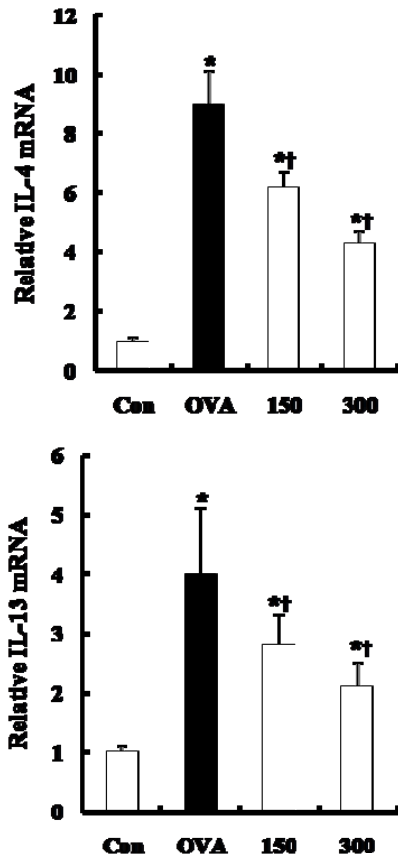


Fig. 5. Effect of GUF on Th2 Cytokine expression in lung tissue in OVA-induced Asthma.

Mice were sensitized and challenged by OVA as described in the Materials and methods. mice that were immunized and challenged 3 consecutive days with OVA were sacrificed 24 hours after last challenge. The expression of indicated genes in tissues were determined by real-time RT-PCR. Values are represented as mean±SD (n=6). *p < 0.05 vs, control; †p < 0.05 vs, OVA positive group.

IV. 고 찰

천식은 기도염증반응이 중요한 기전으로 알려져 있으며, 면역학적 병인과 관련하여 TH1 사이토카인인 IL-2, IFN- γ 등과 Th2 사이토카인인 IL-4, IL-5, IL-13 등의 불균형이 핵심적인 요인으로 인식되고 있다²⁰⁻¹⁾. 한편, 기도과민성은 천식증상의 발현에 다른 질환과 구별되는 대표적인 표현형으로서 이를 증가시

키는 원인으로서는 기관지 평활근의 수축이 중요한 것으로 여겨진다. 즉 기관지벽의 부종, 염증세포의 침윤 및 기관지내강의 점액물질 분비로 기도상피세포의 손상에 의한 기관지 수축 반사가 증가되고, 점액 분비선의 증가, 점막과 점막하 부종, 호산구 및 염증세포의 침윤 등으로 기도 저항이 증가되어 천식이 유발되어 기침, 호흡곤란, 천명의 3대 증상이 나타나는 것으로 알려져 있다²¹⁻²⁾.

본 연구에서 저자는 감초의 알레르기성 기관지 천식에 대한 효과를 알아보기 위하여 마우스 천식 모델을 이용하여, Balb/c 마우스에 ovalbumin으로 알레르기성 천식을 유발한 후 기관지폐포세척액(BALF)에 존재하는 총 세포수와 호산구(eosinophil), 호중구(neutrophil), 단핵구(monocyte), 림프구(lymphocyte)의 세포수를 측정하였다. 천식모델에서 BAL 세포를 연구하는 것은 천식 병리기전에 있어서 중요한 연구 방법으로 여겨지고 있으며, 다른 염증매개인자들을 제외하더라도 OVA로 유발된 이들 염증매개인자들은 BAL 세포에서 분비된다. 또한 이들 세포는 천식의 병리기전에 있어 결정적인 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 현재까지 연구결과에 의하면 호산구는 천식에서 기도염증을 일으키는데 가장 중요한 역할을 담당하는 세포이며, Th2 세포에 의해 매개되는 염증 및 IL-13을 활성화시켜 천식발생에 있어서 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다²³⁻⁵⁾. BAL 세포 측정 후 총 세포수와 호산구 세포수의 변화를 확인한 결과 감초 150, 300 mg/kg를 처리하였을 때 대조군에 비해 유의성 있게 총 세포수와 호산구의 증식이 억제되었다. 이는 감초가 호산구 증식의 억제를 통하여 천식 억제에 유의한 효과를 가진다는 것을 확인할 수 있었다 (Fig. 2).

기관지 과민반응은 폐의 조직학적 검사에서 기관지의 수축과 함께 염증세포의 침착을 수반하게 된다. 감초가 이에 미치는 효과를 확인하기위하여 폐조직의 조직학적 검사를 통하여 기도벽의 두께와 염증세포의 침윤정도, 기관지의 수축 정도를 확인한 결과 대조군

에서 기도의 협착과 기도 벽의 두께가 증가하였으며, 염증세포의 침착이 현저하게 증가되는 것을 확인할 수 있었다. 실험군인 감초 150, 300 mg/kg를 처리하였을 때 대조군에 비해 기도의 협착과 기도벽의 두께, 염증세포의 침착정도도 유의성 있게 감소하였다(Fig. 3). 또한 기관지 천식의 특징적인 증상인 기도과민성을 측정하는 Penh 값에서 대조군은 정상군에 비해 심한 기도수축이 나타났으나, 실험군인 감초 경구 투여군에서는 농도 의존적인 억제효과를 보였다(Fig. 4). 이와 같은 결과로 보아 감초가 기의 평활근 증식을 억제하여 기도 두께를 감소했을 가능성이 있고, 또한 호산구나 염증성세포의 기관지로 유입, 침윤을 막음으로서 기도과민성을 줄일 수 있었을 것으로 사료된다.

면역 반응시 다른 세포에게 영향을 줄 수 있는 분비성 단백질인 사이토카인은 세포간의 상호작용을 매개하는 중요한 역할을 담당한다. 특히 알레르기성 기관지 천식의 경우 Th2 형의 사이토카인인 IL-4, IL-5, IL-13 등이 알레르기 반응에 관여하는 여러 백혈구들의 이동에 중요한 역할을 하는 것으로 보고되어 있으며 특히 IL-13과 IL-5는 백혈구가 염증 부위 주변에 집합하는데 주된 역할을 담당한다²⁶⁾. 또한 염증 조직으로 모여든 CD4+ helper T cell은 항원에 의해 활성화되어 IL-4를 생산하며, IL-4는 B림프구의 IgE 생성에 필수적인 신호를 전달한다²⁷⁾. 따라서 감초 경구 투여가 폐조직 내의 사이토카인의 생성에 양적 변화를 초래하는지 확인한 결과, OVA으로 천식을 유발한 대조군에서 IL-4, IL-13의 생산이 증가되었으나, 감초 150, 300 mg/kg에서 IL-4, IL-13의 생산이 농도의존적으로 유의하게 감소하는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 5).

면역학의 발전으로 기관지 천식이 Th2 면역반응의 항진 혹은 Th1 면역반응의 감소에 의해 발생한다는 Th2 가설이 나오게 되었고²⁸⁾, 천식의 면역학적 병인 기전이 Th2 면역반응에 초점을 맞추게 되었다. 또한 IFN- γ 가 호산구 침윤을 억제함이 밝혀지면서 천식의

발생에 Th1과 Th2 면역반응이 서로 길항작용을 하고²⁹⁾ Th1과 Th2 면역반응의 불균형이 천식의 병인과 관련해서 중요한 요인이라고 인식되고 있다. 기관지 천식과 같은 알레르기성 질환은 비정상적으로 Th2 세포의 기능이 항진되므로 기관지 천식환자에서는 Th2 세포의 기능이 증가되어 Th1 세포의 기능은 감소될 것으로 추정된다. 따라서 본 실험에서 감초 경구 투여로 Th2 세포에서 주로 생산되는 사이토카인인 IL-4, IL-13의 생산을 폐조직 내에서 유의하게 억제하였기 때문에 감초가 Th1 사이토카인인 INF- γ 의 생성을 증가시켜 INF- γ 에 의해서 IL-4, IL-13의 생성을 억제했을 가능성이 있다. 이 가설을 증명하기 위해서는 실험이 필요하다. 하지만 감초가 기관지의 염증 및 기도 저항을 억제한 것과 IL-4와 IL-13의 생성이 억제된 것은 감초가 기관지 천식을 유의하게 억제할 수 있다는 것을 의미한다.

이상의 결과는 감초가 알레르기성 기관지 천식 억제에 유효하다는 것을 확인 할 수 있었으며, 향후 이에 대한 지속적인 연구와 활용이 필요하리라 사료된다.

V. 결 론

OVA로 유도한 기관지 천식 모델에서 감초의 효과를 실험적으로 알아보기 위하여 기관지폐포세척액, 폐조직, 기도과민성, Th2 사이토카인의 생산 정도를 조사한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 감초는 기관지폐포세척액에서 총 세포수와 호산구의 생성을 유의하게 억제하였다.
2. 감초는 폐조직에서 기도협착과 기도 벽의 두께, 염증세포의 침윤을 유의하게 억제하였다.
3. 감초는 기도과민성을 유의하게 억제하였다.
4. 감초는 폐조직 내의 IL-4, IL-13의 생성을 유의하게 감소시켰다.

이상의 결과, 감초가 Th2 세포의 분화 억제 및 호산구의 활성화, 증식 억제에 의하여 천식억제 효과를 보인 것으로 사료된다.

감사의 글

이 논문은 2014년도 원광대학교의 교내 연구비 지원에 의해서 수행됨.

Reference

1. Han YC. Clinical Respiratory. Seoul:Iljogak, 1990:208-15.
2. Bak SH. Diagnosis of Bronchial Asthma, Tuberculosis and Respiratory Diseases, 1995;42(5):635-45.
3. Jeongukhanuigwadaehak Pyegyenaegwahakgyosil, Donguiipyegyonaegwahak, Seoul:Hannunhwasa, 2002:162-202.
4. Busse WW, Lemanske RF Jr. Asthma, N Engl J Med. 2001;344(5):350-62.
5. Robinson DS, Hamid Q, Ying S, Tsicopoulos A, Barkans J, Bentley AM, Corrigan C, Durham SR, Kay AB. Predominant Th2-like bronchoalveolar T-lymphocyte population in atopic asthma, N Engl J Med. 1992;326(5):298-304.
6. Walker C, Bode E, Boer L, Hansel TT, Blaser K, Virchow JC Jr. Allergic and nonallergic asthmatics have distinct patterns of T-cell activation and cytokine production in peripheral blood and bronchoalveolar lavage. Am Rev Respir Dis. 1992;146(1):109-15.
7. Aronica MA, McCarthy S, Swaidani S, Mitchell D, Goral M, Sheller JR, Boothby M, Recall Helper T Cell Response: T Helper 1 Cell-resistant Allergic Susceptibility without Biasing Uncommitted CD4 T Cells. Am J Respir Crit Care Med. 2004;169(5):587-95.
8. Barnes PJ. Endogenous inhibitory mechanisms in asthma. Am J Respir Crit Care Med. 2000;161(3 Pt 2):176-781.
9. Asthma and Allergic Disease. Seoul: Koonja pub. 2002:55-8, 245-7.
10. Jeongukhanuigwadaehak Bonchohakgyosu. Herbology. Seoul: Younglimsa, 1991:540-41.
11. Mun GS. Component and Utilization of medicinal herb. Seoul:Ilwolseogak, 1999: 387-93.
12. Kim MK. Antagonism of licorice on selectin-mediated eosinophil and neutrophil adhesion. The Korean J Asthma Allergy Clin Immunol, 1998;18(1):61-8.
13. Wang H, Chang B, Wang B. The effect of herbal medicine including astragalus membranaceus (fish) bge, codonopsis pilosula and glycyrrhiza uralensis fish on airway responsiveness. Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi. 1998;21(5):287-8.
14. Liu LM, Yu ZF, Wu CY. Studies of the spasm-relieving effect of Glycyrrhiza uralensis Fisch.--Aster tataricus L.F. pulvis mixture on the trachea in guinea pigs. Zhongguo Zhong Yao Za Zhi. 1993;18(9):566-7, 575.
15. Peebles RS Jr, Sheller JR, Johnson JE, Mitchell DB, Graham BS. Respiratory Syncytial Virus Infection Prolongs Methacholine-Induced Airway Hyperresponsiveness in Ovalbumin-Sensitized Mice. J Med Viro. 1999;57(2):186-92.
16. Bousquet J, Chanez P, Lacoste JY, Barnéon

- G, Ghavanian N, Enander I, Venge P, Ahlstedt S, Simony-Lafontaine J, Godard P. Eosinophilic inflammation in asthma. *N Engl J Med*. 1990;323(15):1033-9.
17. Beasley R, Roche WR, Roberts JA, Holgate ST. Cellular events in the bronchi in mild asthma and after bronchial provocation. *Am Rev Respir Dis*. 1989;139(3):806-17.
18. Romagnani S. The role of lymphocytes in allergic disease. *J Allergy Clin Immunol*. 2000;105(3):399-408.
19. Lee SY, In KH. Immunopathogenesis of Asthma, Tuberculosis and Respiratory Diseases. 2006;60(4):379-90.
20. Busse WW, Rosenwasser LJ. Mechanisms of asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2003;111(3):799-804.
21. Kim YG. Th1/Th2 imbalance vs. T cell priming in asthma immunopathogenesis. *BioWave*. 2005;7(4):1-13.
22. Factor P. Gene Therapy for Asthma. *Mol Ther*. 2003;7(2):148-52.
23. Lee JJ, Dimina D, Macias MP, Ochkur SI, McGarry MP, O'Neill KR, Protheroe C, Pero R, Nguyen T, Cormier SA, Lenkiewicz E, Colbert D, Rinaldi L, Ackerman SJ, Irvin CG, Lee NA. Defining a Link with Asthma in Mice Congenitally Deficient in Eosinophils. *Science*. 2004;305(5691):1773-6.
24. Humbles AA, Lloyd CM, McMillan SJ, Friend DS, Xanthou G, McKenna EE, Ghiran S, Gerard NP, Yu C, Orkin SH, Gerard C. A critical role for eosinophils in allergic airways remodeling. *Science*. 2004;305(5691):1776-9.
25. Zhu Z, Zheng T, Homer RJ, Kim YK, Chen NY, Cohn L, Hamid Q, Elias JA. Acidic mammalian chitinase in asthmatic Th2 inflammation and IL-13 pathway activation. *Science*. 2004;304(5677):1678-82.
26. Jinquan T, Quan S, Jacobi HH, Reimert CM, Millner A, Hansen JB, Thygesen C, Ryder LP, Madsen HO, Malling HJ, Poulsen LK. Cutting edge: expression of the NF of activated T cells in eosinophils: regulation by IL-4 and IL-5. *J Immunol*. 1999;163(1):21-4.
27. Keane-Myers A, Gause WC, Linsley PS, Chen SJ, Wills-Karp M. B7-CD28/CITLA-4 costimulatory pathways are required for the development of T helper cell 2-mediated allergic airway responses to inhaled antigens. *J Immunol*. 1997;158(5):2042-9.
28. Kim YG. New paradigm of Immunological pathogenesis mechanism of Bronchial Asthma. *The Korean J Asthma Allergy Clin Immunol*. 2007;27(2):77-82.
29. Iwamoto I, Nakajima H, Endo H, Yoshida S. Interferon gamma regulates antigen-induced eosinophil recruitment into the mouse airways by inhibiting the infiltration of CD4+ T cells. *J Exp Med*. 1993;177(2):573-6.