

麻杏甘石湯加減方이 천식모델생쥐의 면역세포 및 사이토카인에 미치는 영향

박길병 · 박양춘*

대전대학교 한의과대학 폐계내과학교실

Effects of Mahaenggamseok-tang-gagambang on Immune Cells and Cytokines in OVA-Induced Asthmatic Mice

Gil Byeong Park, Yang Chun Park*

Division of Respiratory System, Department of Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Daejeon University

The purpose of this research is to evaluate the effect of Mahaenggamseok-tang-gagambang (MGTG) on airway hyper-responsiveness (AHR), immune cells, cytokines and lung tissue in OVA-induced asthmatic mice. C57BL/6 mice were injected, inhaled and sprayed with OVA for 12 weeks (3times a week) for asthma sensitization and challenge. Two experimental groups were treated with different concentrations of MGTG (400 mg/kg and 200 mg/kg) extract and cyclosporin A (10 mg/kg) for the later 8 weeks. Enhanced pause (Penh) levels were measured by whole body plethysmography. Immune cells were analyzed by flow cytometer in peripheral blood monocyte cell (PBMC) and lung cells. The IL-1b, IL-12, IFN- γ , OVA-IgE, IL-4, IL-5, TNF- α were analyzed by ELISA kit in serum and splenocyte+a-cCD3/a-CD28. Enhanced pause (Penh) levels of the MGTG groups (400 mg/kg and 200 mg/kg) were decreased significantly compared with that of control group. The numbers of MGTG groups (400 mg/kg and 200 mg/kg) on lung total cells were decreased significantly compared with that of control group. The numbers of MGTG groups (400 mg/kg and 200 mg/kg) on CD3⁺/CD69⁺, B220⁺/CD22⁺, B220⁺/CD23⁺, B220⁺/IgE⁺, CCR3⁺ cells were decreased significantly compared with that of control group. The number of MGTG group (400 mg/kg) on CD3⁺/CD49b⁺ cells was decreased significantly compared with that of control group. The level of MGTG groups (400 mg/kg and 200 mg/kg) on IL-4, IL-5, IL-12, TNF- α , OVA-IgE were decreased significantly compared with that of control group. The level of MGTG group (400 mg/kg) on IL-1b, IL-13, OVA-IgE were decreased significantly compared with that of control group. These results demonstrate that MGTG could be a desirable alternative therapy for allergic asthma by inhibiting the expression of immune cells, the activation of inflammatory mediator.

Key words : Mahaenggamseok-tang-gagambang, asthma, airway hyper-responsiveness, immune cells, cytokines

서론

기관지천식(이하 천식)은 원인 물질이나 어떤 자극에 의한 일시적으로 일어나는 기관지 경련에 의한 수축뿐 아니라, 병리적으로 기도의 만성적 염증을 동반한 기도 개형, 병태생리적으로 기관지 과민성과 임상적으로 가역적인 기도폐색이 특징인 질환으로 정의된다¹⁾. 천식의 치료에서 단순히 기관지확장제만 투여

하는 것이 아니라 항염증 치료를 초기단계부터 시행하여 기도의 염증 및 기도 개형을 치료하는 것으로 치료법의 커다란 변화가 이루어졌음은 이미 잘 알려져 있다²⁾.

천식은 韓醫學에서 呼吸急促하며 喉中有聲響한 증상을 나타내는 哮喘證의 범주에 해당한다. 哮喘의 원인설 중 하나인 素因說에 의하면 夙根이라는 특수하게 내재된 素因을 가진 사람이 寒冷을 만나거나, 疲勞 혹은 勞力할 때 哮喘을 발한다고 하였는데 이는 알레르기에 의하여 천식이 발생하는 것과 유사하다고 할 수 있다³⁾. 천식의 기본적인 병리기전은 항원, 비만세포 및 IgE가 관여하여 분비되는 다양한 화학매체, 사이토카인 및 유착분자가 관

* 교신저자 : 박양춘, 충북 청주시 상당구 용담동 173-9 대전대학교 청주한방병원

· E-mail : omdpyc@dju.ac.kr, · Tel : 043-229-3704

· 접수 : 2008/06/27 · 수정 : 2009/04/21 · 채택 : 2009/04/30

여하여 기관지로 모여온 염증세포에 의하여 발생하는 기도의 만성 알레르기 염증과 이에 따른 기도의 개형으로 이해되고 있다⁴⁾. 따라서 천식발병에 관여하는 면역세포와 관련 사이토카인에 미치는 영향을 평가하는 것은 한약처방의 천식 치료효과를 연구하는데 있어 중요한 목표가 된다^{5,6)}.

麻杏甘石湯加減方은 麻杏甘石湯⁷⁾에서 石膏를 빼고 魚腥草, 羅菴子, 葶藶子, 瓜蒌仁, 杏仁, 地龍, 黃芩, 款冬花, 紫菀, 蘇子, 山楂肉, 山楂, 砂仁을 가한 처방으로 기관지천식을 비롯한 호흡기 질환에 임상적으로 사용하고 있는 처방이다. 麻杏甘石湯에 대하여는 진통, 해열, 소염, 거담, 적출장관 및 혈압과 호흡에 미치는 영향에 대한 연구⁸⁾, SO₂에 의한 호흡기 손상에 미치는 영향에 대한 연구⁹⁾와 인간기관지 상피세포의 cytokine에 미치는 영향에 대한 연구¹⁰⁾는 있었으나 본 연구에 사용한 麻杏甘石湯加減方에 대한 연구는 없었다.

이에 저자는 麻杏甘石湯加減方의 천식에 대한 효능을 실험적으로 규명하고자 천식을 유발시킨 생쥐에서 whole body plethysmography를 이용하여 기도과민성을 측정하고, 총 폐세포수, 말초혈액 단핵구 세포 (peripheral blood mononuclear cell, 이하 PBMC)와 폐에서의 면역세포 및 혈액과 비장세포에서의 천식관련 사이토카인을 측정하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 재료

본 실험에 사용된 실험용 쥐는 체중 18-25 g의 C57BL/6 코아텍 (주) 쥐로, 체중 변화가 일정하고 건강한 동물만을 선별하여 실험에 사용하였다. 본 실험에 사용한 麻杏甘石湯加減方 (Mahaenggamseok-tang-gagambang, 이하 MGTG)의 구성 약물은 대전대학교 부속한방병원에서 구입하여 정선한 후 사용하였고 처방 1첩의 내용과 분량은 다음과 같다.

Table 1. The Compositions of Mahaenggamseok-tang-gagambang (MGTG)

Herbal Name	Pharmaceutical Name	Dose (g)
魚腥草	<i>Houttuyniae Herba</i>	30
羅菴子	<i>Raphani Semen</i>	30
葶藶子	<i>Drabae Semen</i>	20
瓜蒌仁	<i>Trichosanthis Semen</i>	15
杏仁	<i>Armeniaca Arrarum</i>	10
地龍	<i>Lumbricus</i>	10
黃芩	<i>Scutellariae Radix</i>	10
款冬花	<i>Fartarae Flos</i>	10
紫菀	<i>Asteris Radix</i>	10
蘇子	<i>Perillae Fructus</i>	10
山楂	<i>Crataegi Fructus</i>	8
砂仁	<i>Amoni Fructus</i>	8
甘草	<i>Glycyrrhizae Radix</i>	6
麻黃	<i>Ephedrae Herba</i>	3
Total amount		180

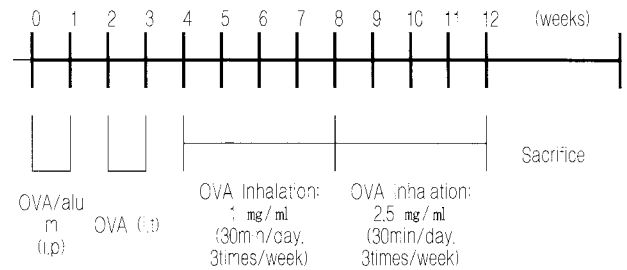
2. 방법

1) 麻杏甘石湯加減方 추출

MGTG 2첩 분량에 증류수 1,500 ml를 가하여 열탕 추출기에서 3시간 추출하였다. 추출액을 흡입 여과한 후 감압 증류장치 (Rotary evaporator, Büchi, Switzerland)로 농축하고, 다시 동결건조기 (Freeze dryer, EYELA, Japan)를 이용하여 27.5 g의 분말을 얻었다. 완전 건조한 MGTG를 냉동 (-84℃) 보관하면서 적당한 농도로 희석하여 사용하였다.

2) 기관지 천식 생쥐 모델

500 µg/ml의 난알부민 (OVA, chicken egg ovalbumin; Grade IV)과 10% (w/v) aluminum potassium sulfate (Alum; Sigma, USA)를 PBS로 용해한 후 혼합하였다. 이 혼합물을 10 N NaOH로 pH를 6.5로 조정하여 상온에서 1시간 동안 방치하고 750 × g 에서 5분 동안 원심분리 하였다. 원심 분리한 OVA/Alum 침전물을 증류수를 가하여 원래의 양으로 용해한 후, 100 µg OVA를 0.2 ml로 조정하여 복강 내로 주사하여 전신 감작시켰다. 이 후 2주째에 생쥐를 마취한 후, 난알부민(500 µg/ml) 100 µl를 기도 투여 (i.t)하였다. 3주째부터 분무기를 이용하여 1 mg/ml을 4주간, 2.5 mg/ml을 4주간 난알부민 용액을 하루에 30분씩 일주일에 3 회씩 8주 동안 비강 및 기도내로 흡입시켰다. 이 때 대조군으로써 PBS 또는 Alum 만을 주사, 흡입시켰다(Scheme 1).



Scheme 1. Asthma OVA-Induce mouse model

$$Penh = Pause - \frac{PEP}{PIP} \quad Pause = \frac{Te - Tr}{Tr}$$

PEP : peak expiratory pressure, PIP : peak inspiratory pressure Te : expiratory time, Tr : relaxation time

3) 약물 투여

OVA/Alum로 전신 감작 시킨 후 4주째부터 MGTG (400, 200 mg/kg)을 일주일에 5회 경구 투여 하였다. 대조군에는 증류수를 동량 경구 투여하였고, 양성대조군에는 cyclosporine(20 mg/kg)을 복강주사 하였다.

4) 기도과민성 측정

기도과민성의 측정은 whole body plethysmography인 Biosystem XA (Buxco Research System, USA) 장비를 사용하여 Finotto 등¹¹⁾의 방법에 따라 실시하였다. 즉 기도과민성의 지표인 enhanced pause (Penh) 값은 다음과 같으며 Biosystem XA software를 이용하여 분석하였다. 기관지 천식 생쥐 모델 (Scheme 1)의 마지막 OVA inhalation 시행 24시간 후에 농도별 methacholine 수용액을 3.125, 6.25, 12.5, 25, 50 mg/ml의 농도로 aerosol하고, 각각의 농도에 대한 기도의 반응성은 10분 동안 연속적으로 모니터링하여 측정하였다.

5) 폐 무게 측정, 폐 세포 및 PBMC 세포분리

총 폐의 무게를 0.01 g 까지 chemical balance로 측정 한 후 폐조직을 잘게 절편하여 2% FBS가 포함된 RPMI 1640 배양액으로 5분간 1,800 rpm배지에서 원심분리한 후 5 ml의 RPMI 1640 배양액에 50 μ l의 collagenase IV (100 μ g/ml)를 가한 후 37°C shaking 배양기에서 30분 동안 배양하였다. 배양 후 2분간 방치하고 상층액을 분리하고 10% FBS가 포함된 RPMI 1640 배양액에 세포를 포집하였다. 이를 5회 이상 조직을 분해 (digestion) 하여 폐 세포를 분리하였다. Peripheral blood mononuclear cell (이하 PBMC)은 heparin이 들어있는 주사기로 심장 천자법으로 채혈하여 혈장을 분리한 후 혈액세포를 분리하였다. 이들 세포들을 ACK 용액 (8.3 g NH₄Cl, 1 g KHCO₃, in 1 l of demineralized water + 0.1 mM EDTA)을 실온에서 5분 동안 처리하여 적혈구를 용해시키고 다시 D-PBS로 2회 세척한 후 0.04% trypan blue로 염색한 후 세포수를 측정하였다. 측정된 PBMC 세포를 5 × 10⁵/ml 세포로 조정 한 후 4°C에서 면역 형광염색 (immuno fluorescence staining)을 실시하여 flow cytometer의 cell Quest 프로그램을 이용하여 백분율 (%)로 분석하였다.

6) 유세포 분석

실험 종료 후 폐를 적출하여 100 mesh로 세포를 분리하여 D-PBS로 5분간 원심분리 (1,700 rpm)하여 2회 세척한 후 cell strainer에 통과시켜 세포 이외의 분해되지 않은 조직이나 불순물을 제거하였다. 그리고 이를 잘게 chopping한 후, collagenase 1 mg/ml (in 2% FBS + RPMI 1640)을 넣고 37°C shaker (180 rpm, 20min.) 배양기에서 배양한 후 상층액을 회수하는 방법으로 4회 반복하였다. 이들 세포들을 ACK 용액 (8.3 g NH₄Cl, 1 g KHCO₃, in 1 l of demineralized water + 0.1 mM EDTA)을 실온에서 5분 동안 처리하여 적혈구를 용해시키고 다시 D-PBS로 2회 세척한 후 0.04% trypan blue로 염색한 후 총 세포수를 측정하였다. 측정된 비장과 폐의 세포를 5 × 10⁵ 세포로 조정 한 후 4°C에서 면역 형광염색 (immunofluorescence staining)을 실시하였다. 각각에 anti-CD3-PE (phycoerythrin), anti-CD49b-PE, anti-B220-PE, anti-IgE-FITC anti-CCR3-PE, anti-CD22-FITC, anti-CD23-FITC, anti-CD69-FITC를 넣고 30 분간 얼음에서 반응시켰다. 반응 후 3회 이상 인산완충 생리식염수로 수세한 후 flow cytometer의 Cell Quest 프로그램을 이용하여 CD3⁺/CD69⁺, CD3⁺/CD49b⁺, B220⁺/CD22⁺, B220⁺/CD23⁺, B220⁺/IgE⁺, CCR3⁺ 세포수를 백분율 (%)로 분석한 후 총세포수를 적용하여 각 조직에서의 절대 세포수 (absolute number)를 산출하였다.

7) ELISA 분석

천식 생쥐에서 분리한 혈청에서는 IL-6, IL-12, IFN- γ , OVA-IgE를, Splenocyte+a-CD3/a-CD28에서는 IL-4, IL-5, IL-13, TNF- α 를 측정하기 위하여 ELISA kit로 생산량을 측정하였다. 각 항체를 coating 완충 용액에 희석하여 microwell에 coating한 후 4°C에서 overnight하였다. 각 well을 3회 washing 완충 용액으로 세척한 후 혈청 (100배 희석)을 100 μ l씩 분주하였다. 1 시간 동안 실온에서 방치한 후 2회 washing 완충 용액으로 세척한 다음

antibody Avidin-HRP conjugated 100 μ l를 처리하고, 1 시간 실온에서 방치한 후 다시 세척하였다. 여기에 TMB 기질을 100 μ l씩 분주하고 암소에서 30 분간 방치한 후 50 μ l의 stop 용액을 처리한 후 ELISA reader 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

8) 통계처리

본 실험에서 얻은 결과를 ANOVA and Bonferroni type multiple t-test (JAVA, Bonferroni Ver 1.1)로 분석하여 p값을 구하였다. 각 대조군을 정상군과, 실험군을 대조군과 비교하여 P<0.05 일 때 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

결 과

1. 기도과민성에 미치는 영향

실험 종료 후 penh 값을 측정 한 결과, 대조군은 모든 농도에서 1.89±0.44, 3.91±0.46, 4.94±0.59, 6.52±0.65, 8.66±0.58로 나타나 정상군에 비하여 유의성 있게 (P<0.01-0.001) 증가하였다.

MGTG200군은 0.98±0.21, 1.56±0.4, 2.19±0.43, 3.23±0.36, 4.19±0.49로 나타나 3.125 mg/ml 농도를 제외하고 유의성 있게 (P<0.01-0.001) 감소하였고, MGTG400군은 0.97±0.77, 1.55±0.28, 1.51±0.32, 2.29±0.22, 2.93±0.25로 나타나 3.125 mg/ml 농도를 제외하고 유의성 있게 (P<0.001) 감소하였다(Fig. 1).

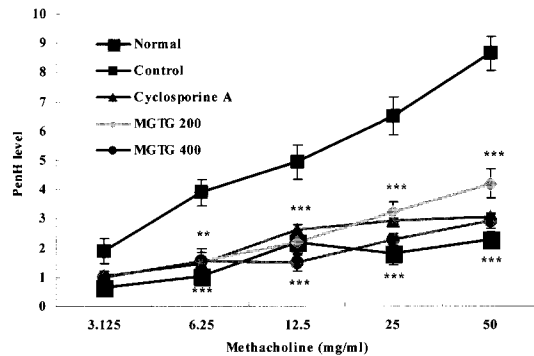


Fig. 1. Effect of MGTG on provocative concentration of methacholine causing a increase in respiratory resistance. Penh level was measured in a Buxco box. C57BL/6 mice were injected, inhaled and sprayed with OVA for 8 weeks (3times a week) for asthma sensitization and challenge. Two experimental groups were treated with MGTG (200, 400 mg/kg) for the 8 weeks (6times /week). Normal: Normal C57BL/6 mice. Control: OVA-induced asthma model mice. CsA: OVA inhalation and injection of CsA (20 mg/kg). MGTG200: OVA inhalation and oral administration of MGTG 200 mg/kg. MGTG400: OVA inhalation and oral administration of MGTG 400 mg/kg. Values are expressed as mean ± SEM. ***, P<0.001, **, P<0.01 compared with control group.

2. 폐 무게와 총 폐 세포수에 미치는 영향

OVA/Alum으로 유발한 기관지 천식 동물 모델에서 폐 무게를 한 결과 MGTG200군과 MGTG400군은 0.23 ± 0.01과 0.24 ± 0.01 g로 나타나 대조군의 0.37 ± 0.01 g에 비하여 유의성 있게 (P<0.05) 감소하였고(Fig. 2 A), 폐 조직에서 분리한 총 세포수를 count 한 결과 MGTG200군과 MGTG400군은 각각 3.92 ± 0.27 (×10⁶ cells)과 3.75 ± 0.27 (×10⁶ cells)로 나타나 대조군의 5.8 ± 0.32 (×10⁶ cells)에 비하여 유의성 있게 (P<0.05) 감소하였다(Fig. 2B).

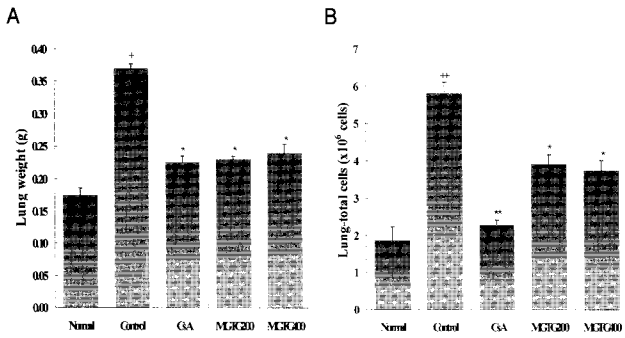


Fig. 2. Effect of MGTG extract on lung weight (A) and total lung cells (B) in murine OVA-induced asthma. C57BL/6 mice were injected, inhaled and sprayed with OVA for 8 weeks (3times a week) for asthma sensitization and challenge. Two experimental groups were treated with MGTG (400,200 mg/kg) for the 8 weeks (6times /week). At the end of the total experimental procedure, the mice lungs were taken out and weighted, chopped and disposed with collagenase. The total number of lung cells was calculated. Normal: Normal C57BL/6 mice. Control: OVA-induced asthma model mice. CsA: OVA inhalation and injection of CsA (20 mg/kg). MGTG200: OVA inhalation and oral administration of MGTG 200 mg/kg. MGTG400: OVA inhalation and oral administration of MGTG 400 mg/kg. Values represent the means \pm SEM. +: $P<0.05$ compared with normal group. *: $P<0.05$ compared with control group.

3. 면역세포에 미치는 영향

1) PBMC 세포에 미치는 영향

PBMC 내 $CD3^+/CD69^+$ 세포수를 count 한 결과, MGTG200 군과 MGTG400군은 각각 3.9 ± 0.3 , $2.9 \pm 0.8\%$ 로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있게 ($P<0.01$, $P<0.05$) 감소하였고(Fig. 3A), $CD3^+/CD49b^+$ 세포수를 count 한 결과, MGTG200군은 $8.6 \pm 1.5\%$ 로 나타나 대조군에 비하여 감소하였으나 유의성은 없었고, MGTG400군은 $6.6 \pm 1.1\%$ 로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있게 ($P<0.05$) 감소하였다(Fig. 3B). PBMC 내 $B220^+/CD22^+$ 세포수를 count 한 결과, MGTG200군과 MGTG400군은 각각 3.9 ± 0.3 와 $3.9 \pm 0.1\%$ 로 나타나 대조군에 비하여 모두 유의성 있게 ($P<0.05$) 감소하였고(Fig. 3C), $B220^+/CD23^+$ 세포수를 count 한 결과, MGTG200군과 MGTG400군은 각각 17.9 ± 1.1 와 $15.5 \pm 0.9\%$ 로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있게 ($P<0.05$, $P<0.01$) 감소하였고(Fig. 3D), $B220^+/IgE^+$ 세포수를 count 한 결과, MGTG200군과 MGTG400군은 각각 3.6 ± 0.6 와 $2.7 \pm 0.1\%$ 로 나타나 대조군에 비하여 모두 유의성 있게 ($P<0.05$, $P<0.01$) 감소하였다(Fig. 3E). PBMC 내 $CCR3^+$ 세포수를 count 한 결과, MGTG200군과 MGTG400군은 각각 2.8 ± 0.7 과 $1.3 \pm 0.3\%$ 로 나타나 대조군에 비하여 모두 유의성 있게 ($P<0.001$) 감소하였다(Fig. 3F).

2) 폐 세포에 미치는 영향

폐 세포 내 $CD3^+/CD69^+$ 세포수를 count 한 결과, MGTG200 군과 MGTG400군은 각각 8.3 ± 0.7 과 4.1 ± 0.9 ($\times 10^4$ cells)로 나타나 대조군에 비하여 모두 유의성 있게 ($P<0.01$) 감소하였고(Fig. 4A), $CD3^+/CD49b^+$ 세포수를 count 한 결과, MGTG200군은 2.3 ± 0.1 ($\times 10^4$ cells)로 나타나 대조군에 비하여 감소하였으나 유의성은 없었고, MGTG400군은 2.2 ± 0.2 ($\times 10^4$ cells)로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있게 ($P<0.05$) 감소하였다(Fig. 4B). 폐 세포 내 $B220^+/CD22^+$ 세포수를 count 한 결과, MGTG200군과

MGTG400군은 각각 2.29 ± 0.41 와 2.30 ± 0.79 ($\times 10^5$ cells)로 나타나 대조군에 비하여 모두 유의성 있게 ($P<0.05$) 감소하였고(Fig. 4C), $B220^+/CD23^+$ 세포수를 count 한 결과, MGTG200군과 MGTG400군은 각각 2.3 ± 0.5 와 1.6 ± 0.2 ($\times 10^4$ cells)로 나타나 대조군에 비하여 모두 유의성 있게 ($P<0.01$) 감소하였고(Fig. 4D), $B220^+/IgE^+$ 세포수를 count 한 결과, MGTG200군과 MGTG400군은 각각 2.1 ± 0.1 과 1.9 ± 0.5 ($\times 10^4$ cells)로 나타나 대조군에 비하여 모두 유의성 있게 ($P<0.05$) 감소하였다(Fig. 4E). 폐 세포 내 $CCR3^+$ 세포수를 count 한 결과, MGTG200군과 MGTG400군은 각각 4.8 ± 1.6 과 3.8 ± 0.5 ($\times 10^4$ cells)로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있게 ($P<0.05$, $P<0.01$) 감소하였다(Fig. 4F).

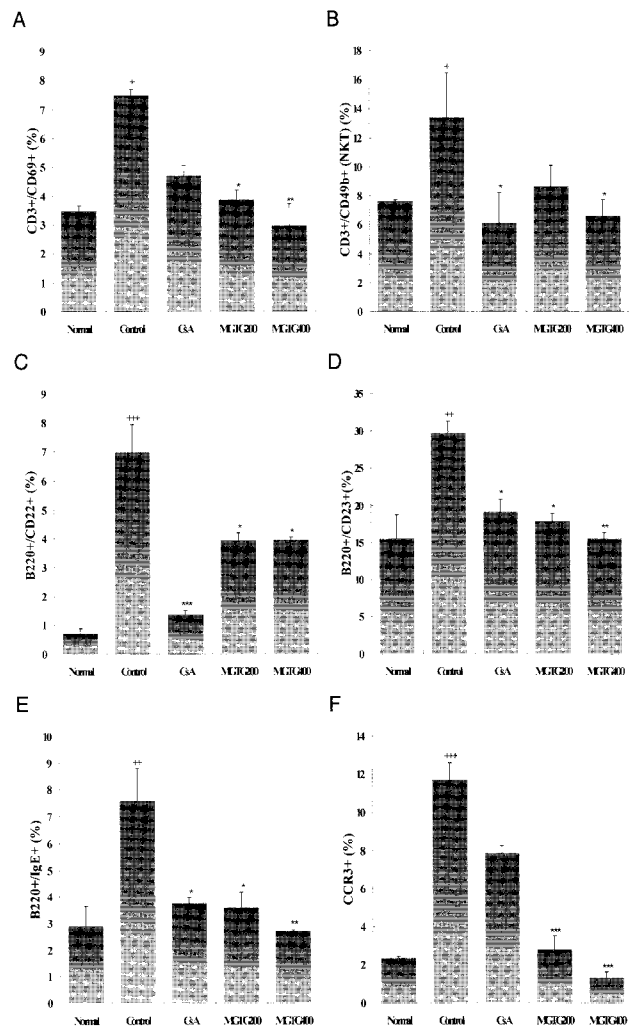


Fig. 3. Effect of MGTG on the percentage of $CD3^+/CD69^+$ (A), $CD3^+/CD49b^+$ (B), $B220^+/CD22^+$ (C), $B220^+/CD23^+$ (D), $B220^+/IgE^+$ (E), and $CCR3^+$ (F) population in mouse OVA-induced asthma PBMC cells. C57BL/6 mice were injected, inhaled and sprayed (3 times a week) with OVA for 12 weeks for asthma sensitization and challenge. Two experimental groups were treated with MGTG200 and MGTG400 for the 8 weeks (6 times a week). Normal: Normal C57BL/6 mice. Control: OVA-induced asthma model mice. CsA: OVA inhalation and injection of CsA (20 mg/kg). MGTG200: OVA inhalation and oral administration of MGTG 200 mg/kg. MGTG400: OVA inhalation and oral administration of MGTG 400 mg/kg. Values represent the means \pm SEM. +: $P<0.05$, ++: $P<0.01$, +++: $P<0.001$ compared with normal group. *: $P<0.05$, **: $P<0.01$, ***: $P<0.001$ compared with control group.

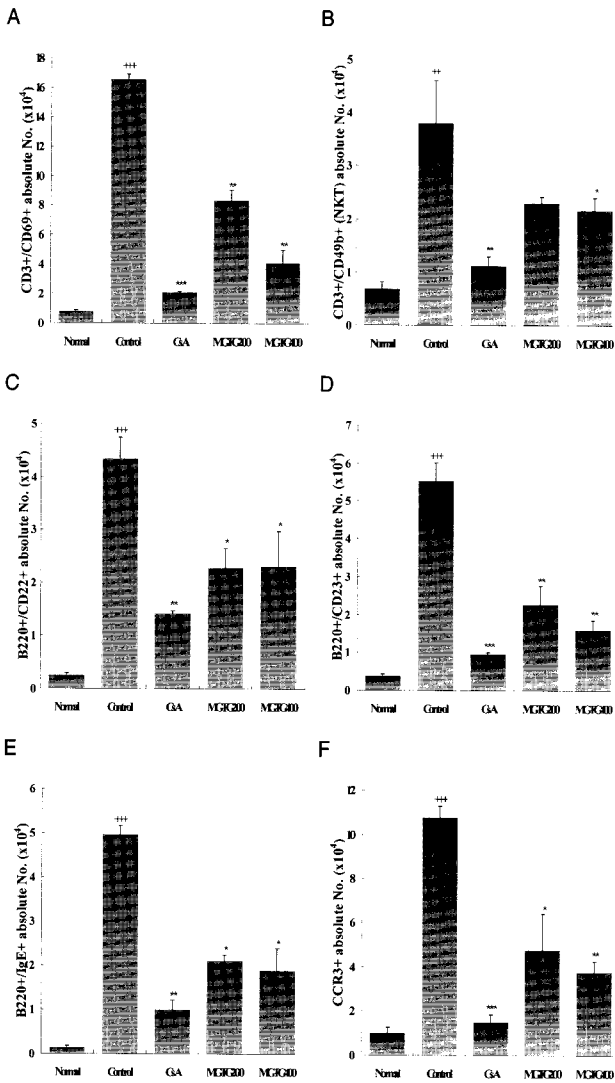


Fig. 4. Effect of MGTG on the CD3⁺/CD69⁺ (A), CD3⁺/CD49b⁺ (B), B220⁺/CD22⁺ (C), B220⁺/CD23⁺ (D), B220⁺/IgE⁺ (E), and CCR3⁺ (F) absolute No. in mouse OVA-induced asthma lung cells. C57BL/6 mice were injected, inhaled and sprayed (3 times a week) with OVA for 12 weeks for asthma sensitization and challenge. Two experimental groups were treated with MGTG200 and MGTG400 for the 8 weeks (6 times a week). Normal: Normal C57BL/6 mice. Control: OVA-induced asthma model mice. CsA: OVA inhalation and injection of CsA (20 mg/kg). MGTG200: OVA inhalation and oral administration of MGTG 200 mg/kg. MGTG400: OVA inhalation and oral administration of MGTG 400 mg/kg. Values represent the means ± SEM. +: P<0.05, ++: P<0.01 compared with normal group. *: P<0.05, **: P<0.01, ***: P<0.001 compared with control group.

4. 천식관련 사이토카인에 미치는 영향

1) 혈청 내 사이토카인에 미치는 영향

혈청 내 IL-1b 양을 측정된 결과, MGTG200군은 245.4 ± 55.7 pg/ml로 나타나 감소하였으나 유의성은 없었고, MGTG400군은 142.9 ± 72.1 pg/ml로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있게 (P<0.05) 감소하였고(Fig. 5A), IL-12 양을 측정된 결과, MGTG200군과 MGTG400군은 각각 37.6 ± 22.2와 37.4 ± 22.2 pg/ml로 나타나 대조군에 비하여 모두 유의성 있게 (P<0.001) 감소하였으며 (Fig. 5B), IFN-γ 양을 측정된 결과, MGTG200군과 MGTG400군은 각각 20.4 ± 0.9와 26.6 ± 1.2 pg/ml로 나타나

대조군에 비하여 증가하였으나 유의성은 없었으며(Fig. 5C), Anti-OVA IgE 양을 측정된 결과, MGTG400군은 224.5 ± 7.5 μg/ml로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있게 (P<0.05) 감소하였다(Fig. 5D).

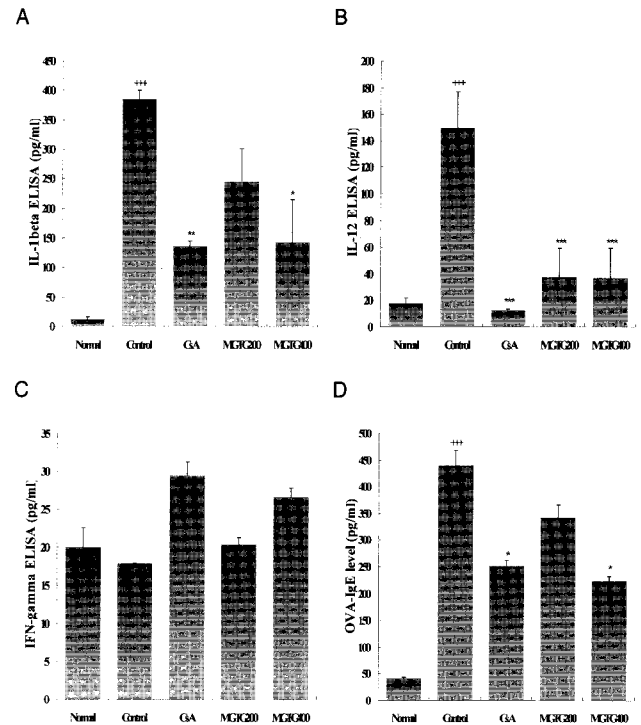


Fig. 5. Effect of MGTG on IL-1b (A), IL-12 (B), IFN-γ (C), and Anti-OVA IgE (D) level in serum of OVA-induced asthma mouse. C57BL/6 mice were injected, inhaled and sprayed (3 times a week) with OVA for 12 weeks for asthma sensitization and challenge. Two experimental groups were treated with MGTG200 and MGTG400 for the 8 weeks (6 times a week). Normal: Normal C57BL/6 mice. Control: OVA-induced asthma model mice. CsA: OVA inhalation and injection of CsA (20 mg/kg). MGTG200: OVA inhalation and oral administration of MGTG 200 mg/kg. MGTG400: OVA inhalation and oral administration of MGTG 400 mg/kg. Values represent the means ± SEM. +++: P<0.001 compared with normal group. *: P<0.05, **: P<0.01, ***: P<0.001 compared with control group.

2) Splenocyte+a-CD3/a-CD28 배양액 내 사이토카인에 미치는 영향

Splenocyte+a-CD3/a-CD28 배양액 내 IL-4 양을 측정된 결과, MGTG200군과 MGTG400군은 각각 55.1 ± 8.1과 42.5 ± 6.5 pg/ml로 나타나 대조군에 비하여 모두 유의성 있게 (P<0.05, P<0.01) 감소하였고(Fig. 6A), IL-5 양을 측정된 결과, MGTG200군과 MGTG400군은 각각 46.9 ± 20.3과 38.1 ± 11.6 pg/ml로 나타나 대조군에 비하여 모두 유의성 있게 (P<0.05, P<0.01) 감소하였으며(Fig. 6B), IL-13 양을 측정된 결과, MGTG200군은 3981.5 ± 219.6 pg/ml로 나타나 대조군에 비하여 감소하였으나 유의성은 없었고, MGTG400군은 3598.5 ± 116.5 pg/ml로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있게 (P<0.05) 감소하였고(Fig. 6C), TNF-α의 양을 측정된 결과, MGTG200군과 MGTG400군은 각각 75.2 ± 12.9와 71.8 ± 4.3 pg/ml로 나타나 대조군에 비하여 모두 유의성 있게 (P<0.01) 감소하였다(Fig. 6D).

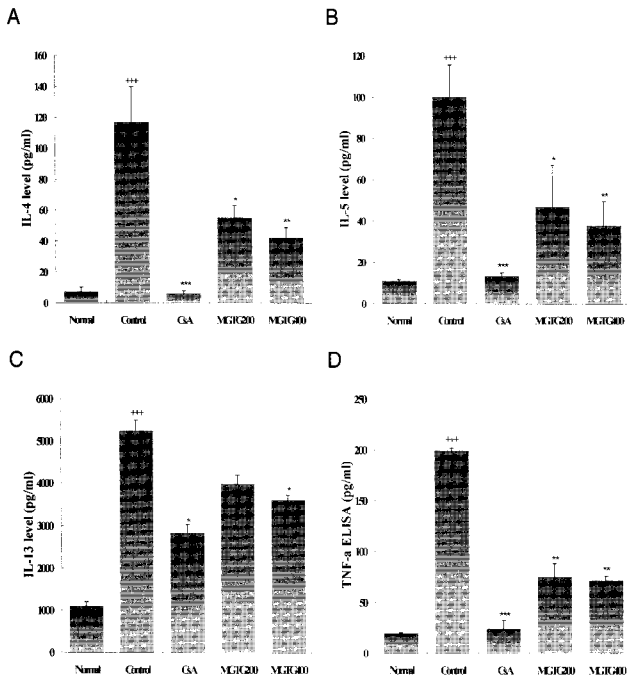


Fig. 6. Effect of MGTG on IL-4 (A), IL-5 (B), IL-13 (C), and TNF- α (D) level in culture supernatant. Splenocyte cultured with a-CD3/a-CD28 for 48 hour. Normal: Normal C57BL/6 mice. Control: OVA-induced asthma model mice. CsA: OVA inhalation and injection of CsA (20 mg/kg). MGTG200: OVA inhalation and oral administration of MGTG 200 mg/kg. MGTG400: OVA inhalation and oral administration of MGTG 400 mg/kg. Values represent the means \pm SEM. +++: P<0.001 compared with normal group. *: P<0.05, **: P<0.01, ***: P<0.001 compared with control group.

고찰

천식은 전 세계적으로 유병률이 증가하고 이에 따른 사회경제적 부담이 증가하고 있는 질환이다¹²⁾. 한국에서도 천식환자가 지난 2001년에 비하여 2006년에는 26.9%인 488,977명이 증가한 것으로 조사되었다¹³⁾. 이에 따라 천식을 포함한 하기도 질환에 의한 인구 100,000명당 사망률도 1992년의 12.9명에서 2002년에는 22.6명으로 증가하였다¹⁴⁾.

천식은 기존의 가역적인 기도폐쇄와 기관지 과민성 이외에 만성염증질환이라는 개념으로 인식되고 있다¹⁵⁾. 천식의 기도염증조건은 처음에는 천식으로 사망한 환자의 부검소견으로 확인하였으나 기관지내시경을 이용한 기도조직 검사와 기관지 폐포세척술이 가능해지면서 활성화 된 비만세포, 대식세포, 호산구, T 세포 등의 염증세포가 증가되어 있음을 알게 되었다. 이러한 염증세포들은 대부분 활성화되어 있으며 각종 매개물질들을 분비함으로써 천식을 유발한다¹⁶⁾. 따라서 천식의 면역학적 기전에 대한 한약처방의 영향을 평가하는 것은 천식치료제로서의 한약처방을 연구하는데 있어 매우 중요하다고 할 수 있다^{5,6)}.

천식의 면역 기전을 정리하면, 대기의 항원이 항원전달세포인 가지세포 (dendritic cell)에 들어오면 림프관의 Th0 세포가 Th1 세포와 Th2 세포로의 분화에서 주로 Th2 세포로 분화되어 IL-3, 4, 5, 13 등의 사이토카인을 분비하고, 이들은 각종 세포들을 자극하여 IgE 및 염증매개 물질들을 분비시켜 기관지과민성

과 기도폐쇄를 일으켜 천식증상을 발생시킨다^{17,18)}.

이때 관여하는 T 세포 이외의 다른 염증세포들을 살펴보면, 골수에서 기원하여 혈관내에서 CD34⁺ 단핵 형태로 순환하는 비만세포는 기도내의 점막 및 점막하로 이동하여 성숙하게 된다.

비만세포에 부착되어 있는 IgE에 알레르기항원이 붙으면 비만세포는 histamine, leukotrien 등의 염증매개 물질들을 방출하고 IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, GM-CSF, IFN- γ , TNF- α 등도 생산하여 천식의 급성 반응을 유발할 뿐만 아니라 알레르기 염증반응을 지속시켜 만성염증에도 기여한다^{19,20)}.

호산구는 골수에서 IL-3, 5, GM-CSF에 의해 조절되어 생성되고 IL-5는 미성숙한 호산구를 성숙한 세포로 분화시킨다. 천식환자의 혈액, 기관지폐포액, 기도상피 그리고 객담에 많이 존재하고 있으며 자체에서 여러 가지 사이토카인들을 분비하여 다른 세포들을 활성화시켜 천식의 병태생리에 중요하게 작용한다²¹⁾.

기관지에 모여든 호산구는 세포독성단백을 분비하여 기도상피의 섬모운동을 억제하고 상피세포를 탈락시키며 기도과민증을 초래한다. 또 활성화된 호산구는 arachidonic acid, leukotrien C4(LTC4), 혈소판 활성화 인자(platelet activating factor, PAF) 등을 유리하여 혈관과 기도 평활근에 작용함으로써 알레르기 흡입 유발시에 조기반응과 후기반응을 일으킨다²²⁾.

대식세포는 정상인에서는 T 세포의 생성을 억제하지만 천식에서 알레르기 항원에 폭로되면 T 세포 생성의 억제 작용이 감소한다²³⁾. 천식에서 알레르기 항원이 대식세포 표면의 low affinity IgE receptor에 붙으면 대식세포가 활성화되어 IL-1, TNF- α , IL-6 등이 분비되어 기도 상피세포에 작용한다. 기도상피세포는 이 영향으로 GM-CSF, IL-8, RANTES 등의 매개물질을 분비하여 기도염증을 일으키는 것으로 추측된다²⁴⁾. 기도상피세포는 또한 PD-GF, TGF- β 등을 분비하여 기도평활근의 증식과 myofibroblast의 증식을 유발시키며, 기저막에 콜라겐을 침착시켜 기도개형에 관여하기도 한다²⁵⁾.

천식은 韓醫學에서 呼吸急促, 喉中有聲하는 哮喘證의 범주에 해당하는데, 그 원인을 寒冷說, 心因說, 痰因說, 素因說, 感染說, 過敏性反應, 肺腎의 呼吸機能障礙 등으로 정리하고 있다³⁾.

哮喘證의 치료에 있어 外感風寒은 祛風散寒, 宣肺定喘하고, 痰濕은 燥濕化痰, 降氣定喘하고, 寒痰은 溫肺散寒, 定喘化痰하고, 痰熱은 清化痰熱, 宣肺平喘하고, 肺虛는 養肺定喘하고, 心腎虛損은 補益心腎 納氣定喘하고, 上實下虛는 瀉肺化痰 補益腎元하는 처방을 사용한다³⁾.

麻杏甘石湯加減方은 麻杏甘石湯⁷⁾에서 石膏를 빼고 痰熱喘咳를 治하는 魚腥草, 下氣定喘하는 羅菴子, 止咳平喘하는 葶藶子, 杏仁, 款冬花, 紫菀, 蘇子, 清化痰熱하는 瓜蒌仁, 清熱平喘하는 地龍, 清熱燥濕하는 黃芩, 消食化濕하는 山楂, 砂仁을 가하여²⁶⁾ 구성된 처방으로 기관지천식을 비롯한 호흡기질환에 사용하고 있으나 이에 대한 기존 연구는 찾아보기 어려웠으며 특히 천식 모델을 대상으로 관련 면역세포 및 사이토카인에 대한 영향을 관찰한 연구는 아직 없었다. 이에 저자는 麻杏甘石湯加減方이 천식과 관련된 면역세포 및 사이토카인에 미치는 영향을 규명하고자 기관지천식 생쥐모델을 대상으로 麻杏甘石湯加減方을 400 mg/

kg과 200 mg/kg로 8주간 투여한 뒤에 whole body plethysmography를 이용하여 기도과민성을 측정하고, 폐무게, 총 폐 세포수, PBMC와 폐에서의 CD3⁺/CD69⁺, CD3⁺/CD49b⁺, B220⁺/CD22⁺, B220⁺/CD23⁺, B220⁺/IgE⁺, CCR3⁺ 세포수를 측정하고, 혈액과 비장세포에서 IL-1b, IL-12, IFN- γ , OVA-IgE, IL-4, IL-5, IL-13, TNF- α 를 측정하였다.

호흡유속과 시간을 비침습적으로 측정하는 방법으로 사용되는 whole body plethysmography를 이용하여 기관지과민성의 정도를 나타내주는 지표인 Penh 값을 측정한 결과, MGTG200군과 MGTG400군 모두에서 3.125 mg/ml 농도를 제외하고 대조군에 비하여 유의성 있게 감소하였다(Fig. 1). 이러한 결과는 항원에 감작된 천식모델 생쥐가 methacholine에 의한 비특이적 자극으로 유발되는 기관지수축 반응을 유의하게 감소시켜 기도폐쇄로 인한 기류제한을 호전시키는 효과를 나타낸다고 할 수 있다.

폐의 무게와 총 폐 세포수의 변화를 측정한 결과, 대조군은 정상군에 비해 증가하였으나 MGTG200군과 MGTG400군 모두에서 대조군에 비하여 유의성 있게 감소하였다(Fig. 2). 폐의 무게와 폐의 총 세포수의 증가는 비만세포, 호산구, 림프구, 대식세포 등의 천식을 일으키는 면역세포들이 증식하거나 활성화됨으로써 나타나는데²⁷⁾, 폐의 무게와 폐의 총세포수의 증가가 麻杏甘石湯加減方의 투여로 감소한 것은 麻杏甘石湯加減方이 폐와 기관지뿐만 아니라 전신적인 알레르기 염증반응을 감소시키는 효과가 있는 것으로 생각할 수 있다.

PMBC와 폐의 면역세포에 미치는 영향을 살펴본 결과 MGTG200군과 MGTG400군 모두에서 PMBC와 폐의 CD3⁺/CD69⁺, B220⁺/CD22⁺, B220⁺/CD23⁺, B220⁺/IgE⁺, CCR3⁺ 세포를 대조군에 비하여 유의성 있게 감소시켰고, MGTG400군은 PMBC와 폐의 CD3⁺/CD49b⁺ 세포를 대조군에 비하여 유의성 있게 감소시켰다(Fig. 3, 4).

CD3는 T세포 표면분자이고 CD69는 활성화된 B세포 및 T세포 및 대식세포, 세포독성 세포에 존재하는 표면분자로 T세포의 초기 활성화를 나타내며, 활성화된 호산구에서 분비되므로 천식 환자의 기도에서 호산구침윤의 표지로 사용될 수 있다²⁸⁾. MGTG를 투여한 실험군에서 PMBC와 폐의 CD3⁺/CD69⁺ 세포의 수가 대조군에 비하여 감소하는 것은 麻杏甘石湯加減方이 T세포의 활성화를 억제하고 호산구의 기도내 침윤을 억제하는 작용이 있음을 시사하는 것으로 생각할 수 있다.

CD22는 B 세포의 co-receptor로 B 세포의 증식에 관여하고, CD23은 low-affinity IgE 수용체로 IL-4에 의하여 B 세포에서의 발현이 상향 조절되며, 항 CD23 항체에 의해서 IgE 생성이 억제되는 것으로 알려져 있다^{29,30)}. 따라서 MGTG를 투여한 실험군에서 B220⁺/CD23⁺ 세포의 수가 대조군에 비하여 감소하는 것은 麻杏甘石湯加減方이 B 세포의 성장조절 및 IgE 항체 생성을 조절하는 작용을 나타낼 수 있다고 볼 수 있다.

B세포에서 생산된 IgE는 비만세포 표면에 결합하게 되고, 같은 항원에 재노출하게 되면 비만세포 표면에 부착된 IgE 항체와 항원이 결합하여 비만세포로부터 여러 화학매체들을 분비하게 되는 제1형 과민반응이 일어난다³¹⁾. 실험군에서 B220⁺/IgE⁺ 세

포의 수가 대조군보다 감소하는 것은 麻杏甘石湯加減方이 IgE 매개 알레르기 반응을 감소시킬 가능성을 보여준다고 할 수 있다.

케모카인은 화학주성을 갖는 사이토카인을 말하는데, eotaxin같은 케모카인에 노출된 백혈구들은 케모카인 수용체를 발현하게 된다. CCR3는 주로 호산구에서 발하는 케모카인 수용체로 호산구가 혈관 내피세포와 결합한 후 조직내로 침투하도록 한다³²⁾. 따라서 CCR3의 발현을 조절함으로써 천식에 효과를 나타내는 치료제의 가능성이 모색되고 있는데³³⁾ 실험군에서 CCR3⁺ 세포의 수가 대조군에 비하여 감소하는 것은 麻杏甘石湯加減方이 호산구의 활성화를 억제하여 호산구의 기도조직내 유입을 감소시킴으로써 천식에 대한 효과를 나타낼 수 있다는 가능성을 보여준다고 생각된다.

천식관련 사이토카인에 대한 영향을 ELISA 분석을 통해 살펴본 결과, MGTG200군과 MGTG400군 모두 혈청 내 IL-12와 splenocyte+a-CD3/a-CD28 배양액 내 IL4, IL-5, TNF- α 를 대조군에 비하여 유의성 있게 감소시켰고, MGTG400군은 혈청 내 IL-1b, OVA-IgE와 splenocyte+a-CD3/a-CD28 배양액 내 IL-13을 대조군에 비하여 유의성 있게 감소시켰다(Fig. 5, 6). 혈청 내 IFN- γ 에 대하여는 MGTG200군과 MGTG400군 모두 대조군에 비하여 증가시켰으나 유의성은 없었다(Fig. 5C).

IL-4는 활성화된 T 세포, 비만세포, 호염기구, 호산구 등에서 분비되어 알레르기 염증 발달에 중요한 역할을 하는 사이토카인이다. IL-4는 Th0 세포를 IL-4, IL-5, IL-9, IL-13 등을 분비할 수 있는 Th2 세포로 분화시키고, IgE 수용체들을 상향 조절하여 IgE 매개성 면역반응들을 더욱 촉진시키며, IgE에 의한 비만세포 활성화를 유도하여 즉각적인 알레르기 반응 발생에 중추적 역할을 할 뿐만 아니라 점액 유전자 발현유도와 점액 과분비로 기도 폐쇄에 관여하며 eotaxin 발현과 섬유아세포로부터 다른 염증 사이토카인들을 증가시켜 천식의 만성 염증과 기도개형에 관여한다³⁴⁾.

IL-5는 IL-4의 B 세포 분화 및 성장작용을 상승시키고, 호산구의 분화, 활성화, 생존 연장에서 중요한 역할을 한다³⁵⁾. IL-13은 B 세포와 단핵구의 작용을 조절하는 Th2 림프구에 의해 주로 생산되는 사이토카인으로서 IL-4와 25%의 구조적 동질성이 있다.

IL-13의 기능은 B 세포의 증식, 세포표면의 integrin, MHC class II 항원 및 CD23의 증가, IL-6의 분비증가, 항체의 class switching으로 IgE와 IgG4의 생산작용이 있다. 또한 IL-13은 혈관내피세포의 VCAM-1 발현을 선택적으로 유도시킬 수 있다³⁶⁾.

TNF- α 는 많은 사이토카인 의존 염증반응에서 중요한 매개체로 알려져 있는데 adhesion molecules를 상향조정하고, 염증세포가 기도벽으로 이입되는 것을 촉진하며, 상피하에서의 섬유화 전단계계를 활성화시킨다³⁷⁾. IL-1b의 생산은 천식과 만성폐쇄성폐질환 환자의 폐에서 증가하는데 기도의 비후와 림프구의 기도 침윤을 유도하고 류신 분비를 증가시킨다³⁸⁾. 항 IL-12 처치가 천식 동물 모델의 IL-4, IL-5, IL-13과 IL-10, eotaxin, RANTES, MCP-1, VCAM-1 등의 mRNA 발현을 감소시키는 것으로 나타났다³⁹⁾ 이는 IFN- γ 를 생산하거나 IFN- γ 의 활성화에 관련되는 세포에 영향을 줌으로써 작용하는 것으로 보고되고 있다³⁹⁾. 따라서 麻杏甘石湯加減方이 Th2 경로의 항진에 관여하는 사이토카인인

IL-4, IL-5, IL-12, IL-13의 분비를 억제하고, IgE의 생산을 감소시키며, 염증세포의 호흡기 유입에 관여하는 TNF- α 의 분비를 억제함으로써 천식의 주요병리기전인 알레르기성 염증반응을 억제하는 작용을 나타낸다고 생각된다.

이상을 종합하면 麻杏甘石湯加減方은 기도폐쇄를 유발하는 기도과민성을 감소시키고, 알레르기 염증반응에 작용하는 각종 면역세포의 발현을 억제하며, 혈청과 폐조직내의 염증매개체의 활성화를 억제하고, 기도손상을 억제하는 효과를 나타내 천식의 치료에 유용하게 활용 가능할 것으로 사료된다.

결 론

麻杏甘石湯加減方이 천식 모델 생쥐의 기도과민성, 면역세포 및 사이토카인에 미치는 효과를 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

MGTG200군과 MGTG400군은 기도과민성을 유의성 있게 감소시켰다. MGTG200군과 MGTG400군은 폐무게, 총 폐 세포수를 유의성 있게 감소시켰다. MGTG200군과 MGTG400군은 PBMC와 폐에서 CD3⁺/CD69⁺, B220⁺/CD22⁺, B220⁺/CD23⁺, B220⁺/IgE⁺, CCR3⁺ 세포수를 유의성 있게 감소시켰고, MGTG400군은 PBMC와 폐에서 CD3⁺/CD49b⁺ 세포를 유의성 있게 감소시켰다. MGTG200군과 MGTG400군은 혈청 내 IL-12와 splenocyte+a-CD3/acd28 배양액 내 IL-4, IL-5, TNF- α 를 유의성 있게 감소시켰고, MGTG400군은 혈청 내 IL-1b, OVA-IgE와 splenocyte+a-CD3/acd28 배양액 내 IL-13을 유의성 있게 감소시켰다.

참고문헌

1. 홍천수, 김규언. 기관지천식-병인 및 역학, 대한 천식 및 알레르기학회, 천식과 알레르기 질환, 서울, 군자출판사, pp 244-245, 2002.
2. Korean Academy of Tuberculosis and Respiratory Disease. Guideline of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) and asthma. Available at: www.lungkorea.com.
3. 전국한의과대학 폐계내과학교실. 東醫肺系內科學. 서울, 한문회사, pp 329-331, 2002.
4. Muro, S., Minshal, E.M., Hamid, Q.A. The pathology of chronic asthma. Clin Chest Med 21(2):225-244, 2002.
5. Fang, S.P., Tanaka, T., Tago, F., Okamoto, T., Kojima, S. Immunomodulatory effects of gyokuheifusan on INF-gamma/IL-4 (Th1/Th2) balance in ovalbumin (OVA)-induced asthma model mice. Biol Pharm Bull 28(5):829-833, 2005.
6. Nagai, T., Arai, Y., Emori, M., Nunome, S.Y., Yabe, T., Takeda, T., Yamada, H. Anti-allergic activity of a Kampo (Japanese herbal) medicine "Sho-seiryu-to (Xiao-Qing-Long-Tang)" on airway inflammation in a

- mouse model. Int Immunopharmacol. 4(10-11):1353-1365, 2004.
7. 張機. 傷寒雜病論. 석가장, 하북과학기술출판사, pp 35-36, 1994.
8. 홍남두, 정규만, 문정호, 주수만. 생약 복합 제제의 약효 연구 -마행감석탕이 진통, 해열, 소염, 거담, 적출장관 및 혈압과 호흡에 미치는 영향-. 생약학회지 17(3):223-231, 1986.
9. 이주희, 정승기, 이형구. 마황행인감초석고탕 및 마황행인감초석고탕가미방이 SO₂ 에 의한 흰쥐의 호흡기손상에 미치는 영향. 경희한의대논문집, 16: 85-105, 1993.
10. 박상현, 정희재, 정승기, 이형구. 마행감석탕과 길경이 인간기관지 상피세포의 Cytokine에 미치는 영향. 경희의학, 17(2):230-241, 2001.
11. Finotto, S., De Sanctis, G.T., Lehr, H.A., Herz, U., Buerke, M., Schipp, M., Bartsch, B., Atreya, R., Schmitt, E., Galle, P.R., Renz, H., Neurath, M.F. Treatment of allergic airway inflammation and hyperresponsiveness by antisense-induced local blockade of GATA-3 expression. J Exp Med 193(11):1247-1260, 2001.
12. Braman, S.S. The global burden of asthma. Chest 130(1 Suppl):4S-12S, 2006.
13. 건강보험심사평가원. 2006년 건강보험통계지표. http://www.hira.or.kr/cms/rg/rgc/pds_02/1186060_1278.html
14. Cho, S.H., Park, H.W., Rosenberg, D.M. The current status of asthma in Korea. J Korean Med Sci 21(2):181-187, 2006.
15. 최병휘. 천식의 병인. 대한결핵 및 호흡기학회. 호흡기학. 서울, 군자출판사, pp 317-347, 2004.
16. Haley, K.J., Sunday, M.E., Wiggs, B.R., Kozakewich, H.P., Reilly, J.J., Mentzer, S.J., Sugarbaker, D.J., Doerschuk, C.M., Drazen, J.M. Inflammatory cell distribution within and along asthmatic airways. Am J Respir Crit Care Med 158(2):565-572, 1998.
17. 이상엽, 인광호. 천식의 면역학적 기전. 결핵 및 호흡기질환. 60(4):1-12, 2006.
18. Schwartz, R.S. A new element in the mechanism of asthma. N Engl J Med 346(11):857-858, 2002.
19. Siraganian, R.P. Biochemical events in basophil or mast cell activation and mediator release. In: Middleton, E. Jr, Reed, C.E., Ellis, E.F., Adkinson, N.F. Jr, Yunginger, J.W., Busse, W.W. editors. Allergy: principles & practice. 5th ed. St. Luis, Mosby-Year Book, pp 204-227, 1998.
20. Lane, S.J., Lee, T.H. Mast cell effector mechanism. J Allergy Clin Immunol 98(5 Pt 2):S67-72, 1996.
21. 이양근. 호산구와 천식. 결핵 및 호흡기질환, 46(1):5-16, 1999.
22. 안강모, 김미경, 조상현, 박춘식, 이민걸. 알레르기 염증반응에 관여하는 세포. 대한 천식 및 알레르기학회. 천식과 알레르기 질환. 서울, 군자출판사, pp 34-38, 2002.
23. Spiteri, M.A., Knight, R.A., Jeremy, J.Y., Barnes, P.J., Chung, K.F. Alveolar macrophage-induced suppression of

- peripheral blood mononuclear cell responsiveness is reversed by in vitro allergen exposure in bronchial asthma. *Eur Respir J* 7(8):1431-1438, 1994.
24. Chung, K.F., Barnes, P.J. Cytokines in asthma. *Thorax* 54(9):825-857, 1999.
 25. Brewster, C.E., Howarth, P.H., Djukanovic, R., Wilson, J., Holgate, S.T., Roche, W.R. Myofibroblasts and subepithelial fibrosis in bronchial asthma. *Am J Respir Cell Mol Biol* 3(5):507-511, 1990.
 26. 전국한의과대학본초학교수. 본초학, 서울, 영림사, pp 178-179, 212-213, 294-295, 369-370, 373-374, 461-462, 478-479, 481-483, 485-486, 509-510, 1991.
 27. Booth, B.W., Newcomb, D.C., McKane, S.A., Crews, A.L., Adler, K.B., Bonner, J.C., Martin, L.D. Proliferation of the airway epithelium in asthma: are inflammatory cells required? *Chest* 123(3 Suppl):384S-385S, 2003.
 28. Hartnell, A., Robinson, D.S., Kay, A.B., Wardlaw, A.J. CD69 is expressed by human eosinophils activated in vivo in asthma and in vitro by cytokines. *Immunology* 80(2):281-286, 1993.
 29. Nitschke, L. The role of CD22 and other inhibitory co-receptors in B-cell activation. *Curr Opin Immunol* 17(3):290-297, 2005.
 30. Harkins, M.S., Moseley, P.L., Iwamoto, G.K. Regulation of CD23 in the chronic inflammatory response in asthma: a role for interferon-gamma and heat shock protein 70 in the TH2 environment. *Ann Allergy Asthma Immunol* 91(6):567-574, 2003.
 31. 조상현. IgE 항체 생성과 조절. *알레르기*, 13: 460-464, 1993.
 32. 김태윤. 알레르기 염증반응에서 사이토카인과 케모카인. 대한 천식 및 알레르기학회. 천식과 알레르기 질환. 서울, 군자출판사, pp 55-58, 2002.
 33. Erin, E.M., Williams, T.J., Barnes, P.J., Hansel, T.T. Eotaxin receptor (CCR3) antagonism in asthma and allergic disease. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy* 1(2):201-214, 2002.
 34. 양은석. 천식에서 IL-4/IL-13 사이토카인 및 수용체. *소아알레르기 및 호흡기학회지* 15(1):1-11, 2005.
 35. Greenfeder, S., Umland, S.P., Cuss, F.M., Chapman, R.W., Egan, R.W. Th2 cytokines and asthma. The role of interleukin-5 in allergic eosinophilic disease. *Respir Res* 2(2):71-79, 2001.
 36. 송소향, 김관형, 문화식, 송정섭, 박성학. 호산구의 혈관내피 세포 접착에 대한 IL-13의 영향. *천식 및 알레르기*, 19(1):31-41, 1999.
 37. Thomas, P.S. Tumour necrosis factor-alpha: the role of this multifunctional cytokine in asthma. *Immunol Cell Biol* 79(2):132-140, 2001.
 38. Lappalainen, U., Whitsett, J.A., Wert, S.E., Tichelaar, J.W., Bry, K. Interleukin-1beta causes pulmonary inflammation, emphysema, and airway remodeling in the adult murine lung. *Am J Respir Cell Mol Biol* 32(4):311-318, 2005.
 39. Meyts, I., Hellings, P.W., Hens, G., Vanaudenaerde, B.M., Verbinen, B., Heremans, H., Matthys, P., Bullens, D.M., Overbergh, L., Mathieu, C., De Boeck, K., Ceuppens, J.L. IL-12 contributes to allergen-induced airway inflammation in experimental asthma. *J Immunol* 177(9):6460-6470, 2006.