

## 血竭散이 抗炎作用에 미치는 影響\*

林樂哲\*\*

### Experimental study on the Anti-inflammatory and wound healing effect of Hyelgalsan.

Im Nak-cheol  
Dept. of Oriental Medicine  
Graduate School, Taejon University

#### Abstract

Hyelgalsan(HGS) is important prescriptions that have been used in oriental medicine for stomatitis and wound healing. The study was done to evaluate the inhibitory effects of cytotoxicity, formation of superoxide on the macrophage and neutrophil, prostaglandins(PGE<sub>2</sub>), interleukins(IL-1 $\beta$ ), collagenase activity and synthesis of collagen and DNA.

The results were obtained as follows:

1. HGS was not showed the proliferation difference of human fibroblast and monocyte in all concentrations to be experimented and in result, it was concluded that they have no cytotoxicity.

2. HGS inhibited the formation of superoxide to 48% at the concentration of 0.01% in the mouse monocyte.

3. HGS was not showed the proliferation difference of human monocyte in all concentrations to be experimented and in result, it was concluded that they inhibited the formation of superoxide..

4. HGS was not showed the proliferation

difference of human neutrophil in all concentrations to be experimented and in result, it was concluded that they inhibited the formation of superoxide..

5. The concentration of inhibiting the production of prostaglandins(PGE<sub>2</sub>) to slight in the human monocyte stimulated with E. coli were 0.01% of HGS.

6. The concentration of inhibiting the production of interleukins(IL-1 $\beta$ ) to slight in the human monocyte stimulated with E. coli were 0.001% and 0.0001% of HGS.

7. HGS didn't influence on collagen synthesis and total protein in fibroblasts.

8. HGS inhibited the collagenase activity to 22% at 0.1%, 45% at 0.2%, 57% at 0.5% respectively.

#### I. 緒 論

血竭散은 方의 《丹溪心法附餘》<sup>1)</sup>에 최초로 收錄되어 있는 處方으로 이후 여러 文獻<sup>2-5)</sup>에서 多樣하게 處方 內容과 主治症이 表現되고 있지만 口舌生瘡 및 惡瘡을 治療하는 代表的인 方劑 중 하나로 活用되어지고 있다.

口舌生瘡은 口瘡으로 頰粘膜, 口脣粘膜, 口蓋, 舌, 口腔 및 齒齦 등에 생기는 局所的 또는 全身的 要因에 의한 口腔粘膜의 炎症<sup>6-13)</sup>인 口內炎을 말하는데, 《素問》<sup>14)</sup> 〈六微旨大論〉에 “歲金不及, 炎火乃行 …… 民病口瘡”, 〈五常政大論〉에서는

\* 이 논문은 대전대학교 교내 학술연구비 지원에 의한 것임

\*\* 大田大學校 韓醫科大學 內科學專攻

“少陽司天, 火氣下臨 …… 咳嚏衄衄鼻窒口瘍, 寒熱附腫”이라고言及된後諸家들에 의하여大人口破<sup>8,15-19</sup>, 口疳<sup>8-11,18-21</sup>, 口瘍<sup>8,14,18-19</sup>이라稱하여져왔으며, 口瘡보다 더甚한狀態를口糜<sup>12,15,17-19</sup>라하였다.

口瘡의病因은實證으로臟腑積熱, 實火, 上焦實熱, 三焦火盛, 心熱, 外感邪熱, 虛證으로는陰虛, 上焦虛熱, 中焦虛, 中焦虛寒, 下焦陰火, 虛火 등으로分類할수 있는데, 특히李<sup>22</sup>)는“赤者心熱, 白者肺熱, 赤白者心肺俱熱”이라하여口瘡를色澤에 따라區別하기도하였다<sup>8-10,18-21</sup>).

口瘡은西洋醫學에서單純性 또는潰瘍性口內炎의範疇에屬하며口腔粘膜에比較的廣範圍하게炎症의病變을일으키며, 原因에 따라크게原發性 및續發性口內炎으로, 病態에 따라서는單純性, 潰瘍性, 壞疽性, 偽膜性, 아프타性으로分類하고原因은感染이 대부분이며이의營養障礙, 貧血, 萎黃症, 胃腸障礙, 發熱 등과機械的, 化學的, 溫熱的인刺戟에 의해發生된다<sup>6-7,13</sup>).

口瘡의治療는內治로實證은瀉心火, 淸脾熱, 涼血解毒으로, 虛證은補心血, 滋陰養脾 등을活用하였고, 外治는消腫止痛, 祛腐生肌, 收斂 등을使用하였다<sup>8-10,18-21,23</sup>).

口內炎의治療方法으로는抗生劑나免疫抑制劑의投與, 洗淨·消毒劑의局所的塗布, 外科的手術, 紫外線照射 등이活用되고 있으나<sup>6,8,13</sup>) 肝이나腎臟에對한副作用과根本的인治療의未備로因한再發, 알레르기나口腔칸디다증의 위험, 부신피질호르몬이나Steroid製劑로因한副作用 등이提起되고 있다.

最近消炎 및 抗菌作用에對한實驗的研究로는蔡<sup>24</sup>)의“癰疽에應用되는仙方活命飲의消炎, 鎮痛, 解熱作用에關한研究”, 宋<sup>25</sup>)의“龍膽瀉肝湯과銀花瀉肝湯의抗炎症, 解熱, 鎮痛, 利尿 및 抗菌效果” 등이 있고, 組織再生에對한研究로는黃<sup>26</sup>)의“艾灸損傷皮膚의治愈過程에關한組織學的研究”, 辛<sup>27</sup>)의“十全大補湯이生肌作用에 미치는影響” 등이 있으나, 血竭散의抗炎症作用, 免疫反應 및 組織再生에對한實驗的研究는 아직接하지 못하였다.

이에著者는血竭散의實驗的研究를 위하여 in vitro 모델로人體의纖維芽細胞, 單核細胞, 中性白血球와 흰쥐의單核細胞를利用한細胞毒性實驗, superoxide 生成抑制效果, immunoassay를利用한prostaglandins(PGE<sub>2</sub>) 및 interleukins(IL-1 $\beta$ ) 生成抑制效果, <sup>14</sup>C-proline를利用한collagen 合成 및 <sup>3</sup>H-thymidine를利用한細胞增殖促進效果인DNA 合成, collagenase 活性抑制效果를測定하는實驗을하여有意性 있는結果를얻었기에報告하는바이다.

## II. 實驗材料 및 方法

### 1. 材料

#### 1) 人體

單核細胞 및 中性白血球의分離培養은全身疾患이 없는成人으로부터구연산을抗凝固劑로使用하여320ml의靜脈血液을採集하였고, 纖維芽細胞分離培養은産婦人科에서生後3日된幼兒의包莖手術時切開된袍皮組織을直徑3.5mm petri dish에서無菌的으로細密하게切開하여使用하였다.

#### 2) 動物

生後8週齡의female hairless mouse(LG화학기술원 바이오텍 연구소) 18마리를溫度24±3°C, 相對濕度55±5%, 換氣回數10-12回/hr, 照明(07:00-19:00), 照度150-200 lux로設定된動物室에서마우스용固形飼料(퓨리나사료(주))를自由給食시켰고飲水는상수도 물을자유롭게攝取시켰다. 動物入手後약1週日間動物室에서順化시켰으며順化期間中一般狀態를觀察하여健康한動物만을實驗에使用하였다.

#### 3) 藥材

實驗에使用한藥劑는大田大學校附屬韓方病院에서購入한後精選하여使用하였고, 處方的內容과用量은《東醫寶鑑》<sup>4)</sup>에準하였다.

Prescription of Hyealgalsan(HGS)<sup>1)</sup>

| 韓藥名          | 生藥名                    | 重量(g) |
|--------------|------------------------|-------|
| 寒水石          | Glauberitum            | 16.0  |
| 蒲黃           | Typhae Pollen          | 8.0   |
| 龍骨           | Fossilia Ossis Mastodi | 4.0   |
| 白礬           | Alumen                 | 4.0   |
| 血竭           | Draconis Resina        | 2.0   |
| Total amount |                        | 34.0  |

2. 方法

1) 檢液調劑

血竭散을 HBSS 緩衝溶液에 溶解시켜 試驗濃度는 各 試驗方法에 따라 0.1, 0.01, 0.001, 0.0001% 濃度を 製造하여 實驗에 使用하였다.

2) 採血 및 血清과 細胞分離培養

① 單核細胞의 分離培養

全身疾患이 없는 健康한 成人으로부터 구연산을 抗凝固劑로 使用하여 320ml의 靜脈血液을 採集하였다. 採集된 靜脈血液을 1200rpm에서 10分 동안 遠心分離한 後에 一次的으로 中層의 白血球 濃縮液을 回收하여 二次的으로 RPMI 1640 培地와 1:1의 比率로 稀釋한 後에 50ml의 遠心分離管에 ficoll-paque(pharmacia biotech) 12ml을 添加한 後에 稀釋된 血液 30ml을 中層이 되도록 주의깊게 添加하여 1600rpm에서 30分 동안 遠心分離한 後에 血清이 包含된 上層을 除去하고 單核細胞가 含有된 中層을 주의깊게 稀釋한 다음에 3배의 RPMI 1640 培地를 添加하고 800rpm에서 10分 동안 遠心分離 시킨 다음 上騰液을 버리고 RPMI 1640 培地를 10ml 添加하고 부드럽게 pipetting한 다음에 800rpm에서 10分 동안 遠心分離한 後에 上騰液을 버리고 RPMI 1640 培地를 添加하여 pipetting한 後에 24-well plate에 10<sup>6</sup> cell/well로 분주하고 95% 공기, 5% CO<sub>2</sub>, 100% 濕度 條件下에서 無菌的으로 培養하였다.

② 中性白血球의 分離培養

全身疾患이 없는 健康한 成人으로부터 구연산을 抗凝固劑로 使用하여 320ml의 靜脈血液을 採集하였다. 採集된 靜脈血液을 1200rpm에서 10分 동안 遠心分離한 後에 一次的으로 中層의 白血球 濃縮液을 回收하여 二次的으로 RPMI 1640 培地와 1:1

의 比率로 稀釋한 後에 50ml의 遠心分離管에 ficoll-paque(pharmacia biotech) 12ml을 添加한 後에 稀釋된 血液 30ml을 中層이 되도록 주의깊게 添加하여 1600rpm에서 30分 동안 遠心分離한 後에 血清이 包含된 上層液과 單核細胞 및 ficoll-paque를 除去하고 沈澱된 赤血球 및 中性白血球에 同一量의 RPMI 1640를 添加하고 PBS 緩衝液에 溶解시킨 3% dextran 20ml을 添加하여 10分 동안 常溫에서 放置시킨 後에 中性白血球가 豊富한 上騰液을 取하여 1200rpm에서 10分 동안 遠心分離 시키고 上騰液을 버린다. 남아있는 赤血球를 除去하기 위하여 먼저 0.2%의 PBS 緩衝液 10ml을 30秒 동안 處理한 後에 1.6% PBS 緩衝液을 즉시 添加하여 等張液으로 回復시킨 後에 細胞浮遊物을 1200rpm에서 10分 동안 遠心分離 시킨 後에 上騰液을 버리는 方法으로 赤血球 溶血을 한번 더 反復한 後에 RPMI 1640 培地를 添加하여 pipetting한 後에 24-well plate에 10<sup>6</sup>cell/well로 분주하고 95% 공기, 5% CO<sub>2</sub>, 100% 濕度 條件下에서 無菌的으로 培養하였다.

③ 纖維芽細胞의 分離培養

産婦人科에서 生後 3日된 乳兒의 包莖手術時 切開된 袍皮組織을 直徑 3.5mm petri dish에서 無菌的으로 細密하게 切開하여 penicillin, streptomycin, fetal bovine serum 10%를 含有하는 DEME 培地에서 2週 동안 培養한 後에, 바닥에 붙은 纖維芽細胞를 trypsin 溶液을 2번 處理하여 버리고 血清含有 培地를 添加하여 여러번 pipetting한 後에 새로운 culture bottle에 細胞를 분주하여 subculture 하였다.

3) Cytotoxicity test

生後 3日된 乳兒의 袍皮로 부터 primary culture한 纖維芽細胞 血液으로부터 純粹分離 培養한 monocyte를 24-well plate에 10<sup>6</sup>cell/well 되도록 분주한 다음 10% FBS가 含有된 DEME 및 RPMI 1640 培地에서 하루동안 培養한 다음날 既存의 培地를 新鮮한 培地로 交替하여 24時間 동안 培養한 後에 HBSS 緩衝溶液으로 바닥에 붙은 細胞層을 洗滌한 다음 血清이 包含되지 않은 MEM 培地 0.9ml를 添加한 다음, 血竭散을 試驗濃度 100

μl를 添加하고 24時間 培養한 後에 HBSS 緩衝溶液에 溶解시킨 MTT(methyl thiazol-2-yl-2,5-diphenyl tetrazolium bromide)溶液 0.5ml을 各 well에 넣고 4時間 동안 培養한 後에 MTT 溶液을 除去하고 formazon 結晶을 溶解시키기 爲하여 DMSO를 500μl씩 添加하였다. Plate를 잘 흔든 後에 microplate reader로 570nm에서 吸光度를 測定하였다. 對照群으로는 每 實驗마다 實驗溶液이 들어있지 않은 MEM 培養液 well을 使用하였다. 모든 實驗結果는 對照群에 對한 百分率로 計算하였다.

4) Macrophage 및 neutrophil의 superoxide 生成 測定

24-well plate를 使用하여 各 well당 HBSS 緩衝溶液에 稀釋시킨 사람의 macrophage 혹은 neutrophil, mouse macrophage(ATCC TIB 67)를 10<sup>6</sup>cell/well 되게 아래와 같이 添加하고 FMLP를 處理하고 37℃에서 15分 동안 培養하여 細胞를 刺戟한 다음에

- \*. macrophage                    10<sup>6</sup>개        0.45ml
- \*. FMLP                            10<sup>-6</sup>M        0.05ml

cytochrome C, superoxide dismutase, HBSS를 다음과 같이 處理 한 後 37℃에서 10分間 保溫하고

- \*. 試驗物質                        ×10 濃縮    0.1ml
- \*. cytochrome C                    80 μM       0.1ml
- \*. superoxide dismutase        30μg        0.1ml
- \*. HBSS solution 1.01ml(總反應液)

刺戟物質인 opsonized zymosan A를 最終濃度 1.3 mg/ml 되게 1ml을 添加하고 振蕩하면서 37℃에서 90分間 保溫한 後에, 4℃에 10分間 넣어 反應을 停止시킨 다음에 4℃, 1500rpm, 10min. 동안 遠心分離한 後 上騰液을 550nm에서 optical density를 測定하고 superoxide anion의 生成量은 다음식에 의하여 計算된다.

$$O^{-2} \equiv \frac{\Delta O.D.}{21.0} \times 10^3 \text{ (nmoles/ } 10^6 \text{ cell. min)}$$

$$\Delta O.D. \equiv (B-D) - (A-C) \equiv (B+C) - (D+A)$$

|                              | A      | B<br>(對照群) | B<br>(藥效劑) | C      | D      |
|------------------------------|--------|------------|------------|--------|--------|
| cells                        | 0.5ml  | 0.45ml     | 0.45ml     | 0.5ml  | 0.45ml |
| cytochrome C                 | 0.1ml  | 0.1ml      | 0.1ml      | 0.1ml  | 0.1ml  |
| SOD                          | -      | -          | -          | 0.1ml  | 0.1ml  |
| FMLP<br>(10 <sup>-6</sup> M) |        | 0.05ml     | 0.05ml     |        | 0.05ml |
| zymosan                      | -      | 0.1ml      | 0.1ml      | -      | 0.1ml  |
| 新規藥效劑                        | -      | -          | 0.1ml      | -      | -      |
| 反應液                          | 0.4ml  | 0.3ml      | 0.2ml      | 0.3ml  | 0.2ml  |
| 總 合                          | 1.00ml | 1.00ml     | 1.00ml     | 1.00ml | 1.00ml |

5) 單核白血球의 prostaglandins(PGE<sub>2</sub>) 生成에 미치는 影響

血液에서 分離한 血液 單核白血球를 24-well plate에 0.8ml 添加하여 10<sup>6</sup>cell/well 되도록 분주하고 RPMI 1640 培地 200μl를 添加한 well을 對照群, E. coli LPS(250 ppm) 100μl와 血竭散(1, 0.1, 0.01, 0.001%) 100μl를 添加한 well을 實驗群으로 하여 24時間 동안 培養한 後, arachidonic acid 50 μl를 添加하여 30分 동안 더 培養한다. 염소의 항-마우스 IgG를 附着시킨 96-well plate의 blank well에 50μl 緩衝溶液(0.9% NaCl, 0.1% 소 血清 albumin, 0.5% kathon을 含有하는 0.1M 磷酸 緩衝溶液)을 添加하고, 標準(0, 1, 2, 4, 8, 16, 32pg/well)well에는 50μl의 適當 濃度의 標準溶液을 添加한 다음 實驗群 well에 上記의 細胞培養液 50μl 添加하고, blank well을 除外한 모든 well에 50μl의 prostaglandins(PGE<sub>2</sub>)에 對한 抗體를 添加한 다음 4℃에서 3時間 동안 維持시킨 後 繼續해서 50μl의 prostaglandins(PGE<sub>2</sub>) conjugate peroxidase를 blank well을 除外한 모든 well에 添加하여 다시 4℃에서 1時間 동안 維持시킨 後 洗滌緩衝溶液(0.05% 트윈 20을 含有하는 磷酸 緩衝溶液: ph7.5)로 4번 洗滌하고 常溫에서 150μl의 酵素機質(20%의 디메틸포르마이드에 溶解된 3, 3', 5, 5' -테트라메틸벤지딘/과산화수소)를 즉시 添加하고 25℃에서 30分 동안 維持시키고 1M 황산 100μl를 添加한 後 microplate reader로 450nm에서 吸光度를 測定하여 實施例 혹은 比較例의 吸光度 값(T)에 blank의 吸光度 값(B)를 나눈 다음 100을 곱하여 % 값으로 標示하여 나타내었다.

6) 單核白血球의 interleukins(IL-1 $\beta$ ) 生成에 미치는 影響

血液에서 分離한 血液 單核白血球를 24-well plate에 0.8ml 添加하여 10<sup>6</sup>cell/well 되도록 분주하고 RPMI 1640 培地 200 $\mu$ l를 添加한 well을 對照群, E. coli LPS(250 ppm) 100 $\mu$ l를 添加한 well 및 LPS(250 ppm) 100 $\mu$ l와 indomethacin, LPS(250ppm) 100 $\mu$ l와 血竭散(1, 0.1, 0.01, 0.001%) 100 $\mu$ l를 添加한 well을 實驗群으로 하여 24時間 동안 培養한 後, arachidonic acid 50 $\mu$ l를 添加하여 30分 동안 더 培養한다. Interleukins(IL-1 $\beta$ )의 抗體가 附着된 96-well plate의 well에 標準溶液(0, 10.24, 25.6, 64, 160, 400pg/well)을 50 $\mu$ l 添加한 다음 實驗群 well에 上記의 細胞 培養液 50 $\mu$ l 添加하고, 모든 well에 50 $\mu$ l의 biotinylated antibody reagent를 添加한 다음 25 $^{\circ}$ C에서 3時間 동안 維持시킨 後 洗滌緩衝溶液으로 3回 洗滌하고, streptavidin-HRP conjugate를 모든 well에 添加하여 다시 25 $^{\circ}$ C에서 30分 동안 維持시킨 後 다시 洗滌緩衝溶液으로 3번 洗滌하고 100 $\mu$ l의 酵素機質을 즉시 添加하고 25 $^{\circ}$ C 暗室에서 plate의 뚜껑을 열어둔 채로 30分 동안 維持시키고 0.18M 황산 100 $\mu$ l를 添加한 後 microplate reader 로 450nm에서 吸光度를 測定하여 標準溶液의 吸光度 값으로 standard curve를 作成하여 實驗群의 interleukins(IL-1 $\beta$ ) 生成量을 算定하였다.

7) 纖維芽細胞의 total protein 및 collagen 合成 測定

生後 3日된 乳兒의 袍皮로부터 primary culture 한 纖維芽細胞를 24-well plate에 10<sup>6</sup>cell/well 되도록 분주한 다음 10% FBS가 含有된 DMEM 培地에서 하루 동안 培養한 다음날 既存의 培地를 新鮮한 培地로 交替하여 24時間 동안 培養한 後에 HBSS 緩衝溶液으로 바닥에 붙은 細胞層을 洗滌한 다음 血清과 proline이 包含되지 않은 MEM 培地 0.8ml를 添加한 다음 藥效劑로 ascorbic acid 및 血竭散을 各各 試驗濃度 添加한 다음 C<sup>14</sup>-proline(10 $\mu$  Ci)100 $\mu$ l를 包含한 培養液으로 細胞를 培養하였다. 24時間이 經過한 後에 總蛋白質과 collagen 蛋白質을 測定하였다. 먼저 細胞外

總蛋白質의 合成量을 測定하기 위하여 各 well의 培養液을 한쪽 끝이 封印된 透石管에 넣고 다른쪽 끝을 封印하여 cold buffer(Tris-Hcl 0.05mol/L, NaCl<sub>2</sub> 0.05mol/L, phenylmethylsulfonyl fluoride 0.3mN)로 24時間 透石을 完了한 다음 各各 100 $\mu$ l를 取하여 counting vial에 담아 10ml의 scintillation cocktail을 넣어 liquid scintillation counter(LSC)로 1分間 방사능을 測定하였다. 細胞內 總蛋白質의 合成量을 測定하기 위하여 細胞培養液을 除去한 各 well에 0.1N NaOH 및 phenylmethylsulfonyl fluoride 0.3mN를 添加한 다음 60 $^{\circ}$ C에서 30分 동안 維持하여 細胞膜을 破壞시킨 後 細胞均質液을 한쪽 끝이 封印된 透石管에 넣고 다른쪽 끝을 封印하여 cold buffer(Tris-Hcl 0.05mol/L, NaCl 0.2mol/L, CaCl<sub>2</sub> 0.05mol/L, phenylmethylsulfonyl fluoride 0.3mN)로 24時間 透石을 完了한 다음 各各 100 $\mu$ l를 取하여 counting vial에 담아 10ml의 scintillation cocktail을 넣어 LSC로 1分間 방사능을 測定하였다. 細胞內·外 collagen 蛋白質의 合成量을 測定하기 위하여 透石을 完了한 細胞培養液 및 細胞均質液을 各各 100 $\mu$ l 取하여 1.5ml microtube에 넣고 collagenase buffer(0.05M Tris-Hcl, 1mM CaCl<sub>2</sub>, 0.3mM phenylmethylsulfonyl fluoride), collagenase酵素(100ppm) 100 $\mu$ l를 添加한 後에 3時間 동안 37 $^{\circ}$ C에서 維持시켜 collagen을 완전히 分解시킨 다음에 分解되지 않은 蛋白質을 除去하기 위하여 50%의 trichloroacetic acid 및 1% tannic acid를 含有하는 溶液을 500 $\mu$ l 添加한 다음에 4 $^{\circ}$ C에서 30分 동안 沈澱시킨 後에 1000xg에서 5分間 遠心分離시킨 다음에 上騰液을 取한 다음에 100 $\mu$ l를 取하여 counting vial에 담아 10ml의 scintillation cocktail을 넣어 LSC로 1分間 방사능을 測定하였다.

8) 細胞의 成長速度 測定

生後 3日된 乳兒의 袍皮로부터 primary culture 한 纖維芽細胞를 24-well plate에 10<sup>6</sup>cell/well 되도록 분주한 다음 10% FBS가 含有된 DMEM 培地에서 하루 동안 培養한 다음날 既存의 培地를 新鮮한 培地로 交替하여 24時間 동안 培養한 後에

HBSS 緩衝溶液으로 바닥에 붙은 細胞層을 洗滌한 다음 血清과 proline이 包含되지 않은 MEM 培地 0.8ml를 添加한 後 藥效劑로 ascorbic acid 및 血竭散을 各各 試驗濃度 100 $\mu$ l를 添加한 다음 H<sup>3</sup>-thymidine(10 $\mu$  Ci) 100 $\mu$ l를 包含한 培養液으로 細胞를 培養하였다. 24時間이 經過한 後에 各 well에 0.1N NaO를 添加한 다음 60 $^{\circ}$ C에서 30分 동안 維持하여 細胞膜을 破壞시킨 後 各各 100 $\mu$ l를 取하여 counting vial에 담아 10ml의 scintillation cocktail을 넣어 LSC로 1分間 방사능을 測定하여 細胞의 成長速度를 測定하였다.

9) Collagenase 活性 測定

25개의 1.5ml 에펜돌프튜브(ependorf)에 2%의 赤色 collagen 機質인 아조콜(azocoll)溶液 100 $\mu$ l를 各各 添加하여 한 개의 에펜돌프튜브는 blank로 使用하고, 標準 活性度 曲線을 作成하기 위하여 3개의 튜브에는 Sigma로부터 購入한 collagenase type I인 標準酵素溶液(collagen 分解活性度: 315 units/mg)을 10, 100, 200ppm되게 添加하고 實驗群으로 tetracycline 및 血竭散을 各各 試驗濃度 100 $\mu$ l씩 處理하고 collagenase(100ppm) 100 $\mu$ l씩 處理한 後 緩衝溶液(0.05M Tris-HCl, 1nM CaCl<sub>2</sub>, 7.8)를 總反應液이 500 $\mu$ l되게 添加하여 37 $^{\circ}$ C 恒溫器에서 18時間 동안 反應시키고 에펜돌프튜브를 10000g에서 5分 동안 遠心分離시켜 分解되지 않은 collagen은 沈澱시키고 分解된 collagen을 含有하는 上騰液을 取하여 520nm에서 吸光度를 測定하여 標準活性度 曲線을 作成하고 標準曲線으로부터 酵素의 活性濃度를 換算하여 實驗群과 對照群의 酵素活性度를 比較評價하였다.

III. 實驗 成績

1. Cytotoxicity test

1) 血竭散의 human fibroblast에 對한 細胞毒性에 미치는 影響

사람의 纖維芽細胞의 增殖에 對한 血竭散의 抑制效果를 研究하기 위하여 各各 0.001, 0.01, 0.1%의 濃度로 24時間 동안 處理한 結果, 實驗群은 모

든 濃度에서 對照群과 纖維芽細胞의 增殖에서 차이가 없는 것으로 나타나 血竭散은 細胞毒性이 없는 것으로 나타났다(Table 1).

Table I. The effect of HGS on the cell cytotoxicity

| Concentration Test Group | 0.1%              | 0.01%             | 0.001%            |
|--------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| control                  | 0.118 $\pm$ 0.028 |                   |                   |
| HGS*                     | 0.111 $\pm$ 0.027 | 0.120 $\pm$ 0.007 | 0.102 $\pm$ 0.006 |

P-value > 0.05

\* HGS : Hyelgalsan

2) 血竭散이 human monocyte의 cytotoxicity에 미치는 影響

사람의 單核細胞 增殖에 對한 血竭散의 抑制效果를 研究하기 위하여 0.001, 0.01, 0.1%의 濃度로 90分 동안 處理한 結果, 實驗群은 모든 濃度에서 對照群과 monocyte의 cell viability에서 차이가 없는 것으로 나타나 血竭散은 細胞毒性이 없는 것으로 나타났다(Table II).

Table II. The effect of HGS on the cell cytotoxicity in the human monocyte

| Concentration Test Group | 0.1%              | 0.01%             | 0.001%            |
|--------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| control                  | 0.286 $\pm$ 0.037 |                   |                   |
| HGS                      | 0.276 $\pm$ 0.008 | 0.340 $\pm$ 0.015 | 0.252 $\pm$ 0.010 |

P-value > 0.05

2. Macrophage 및 neutrophil의 superoxide 生成 測定

1) 血竭散이 mouse monocyte의 superoxide 生成에 미치는 影響

Zymosan A로 刺戟한 mouse monocyte의 superoxide 生成에 對한 血竭散의 效果를 0.01%와 0.001%의 濃度에서 實驗한 結果 0.001%의 濃度에서 48%의 superoxide 生成 抑制效果가 있는 것으로 나타났다(Table III).

Table III. The effect of HGS on the formation of superoxide in mouse monocyte

| NO | Treatment Group(%) | A (O.D.) | B (O.D.) | C (O.D.) | D (O.D.) | superoxide (nmoles) | %   |
|----|--------------------|----------|----------|----------|----------|---------------------|-----|
| 1  | control            | 0.136    | 0.192    | 0.137    | 0.142    | 2.429               | 100 |
| 2  | HGS 0.01           | 0.136    | 0.231    | 0.137    | 0.142    | 4.286               | 176 |
| 3  | HGS 0.001          | 0.136    | 0.168    | 0.137    | 0.142    | 1.286               | 52  |

2) 血竭散이 human monocyte의 superoxide 生成에 미치는 影響

Zymosan A로 刺戟한 human monocyte의 superoxide 生成에 對한 血竭散의 效果를 0.001%와 0.0001%의 濃度에서 實驗한 結果 모든 濃度에서 抑制效果가 없는 것으로 나타났다(Table IV).

Table IV. The effect of HGS on the formation of superoxide in human monocyte

| NO | Treatment Group(%) | A (O.D.) | B (O.D.) | C (O.D.) | D (O.D.) | superoxide (nmoles) | %   |
|----|--------------------|----------|----------|----------|----------|---------------------|-----|
| 1  | control            | 0.566    | 0.692    | 0.540    | 0.488    | 8.476               | 100 |
| 2  | HGS 0.001          | 0.566    | 0.780    | 0.540    | 0.488    | 12.667              | 149 |
| 3  | HGS 0.0001         | 0.566    | 0.751    | 0.540    | 0.488    | 11.286              | 133 |

3) 血竭散이 human neutrophil의 superoxide 生成에 미치는 影響

Zymosan A로 刺戟한 human neutrophil superoxide 生成에 對한 血竭散의 效果를 0.001%와 0.0001%의 濃度에서 實驗한 結果 모든 濃度에서 生成 抑制效果가 없는 것으로 나타났다(Table V).

Table V. The effect of HGS on the formation of superoxide in human neutrophil

| NO | Treatment Group(%) | A (O.D.) | B (O.D.) | C (O.D.) | D (O.D.) | superoxide (nmoles) | %   |
|----|--------------------|----------|----------|----------|----------|---------------------|-----|
| 1  | control            | 0.555    | 0.694    | 0.515    | 0.536    | 5.619               | 100 |
| 2  | HGS 0.001          | 0.555    | 0.777    | 0.515    | 0.536    | 9.571               | 149 |
| 3  | HGS 0.0001         | 0.555    | 0.653    | 0.515    | 0.536    | 3.667               | 133 |

3. 血竭散이 單核白血球의 prostaglandins(PGE<sub>2</sub>) 生成에 미치는 影響

E. coli LPS로 刺戟한 human monocyte의 prostaglandins(PGE<sub>2</sub>)의 生成에 對한 血竭散의 效能·效果를 試驗한 結果 血竭散 0.0001%, 0.001% 濃度에서는 抑制效果를 보이지 않았으며 0.01% 濃度에서는 약간의 抑制效果가 있는 것으로 나타

났다(Table VI).

Table VI. The effect of HGS on prostaglandins of human monocyte stimulated with E. coli LPS

| Treatment Group(%)  | 平均 (O.D.) | 標準偏差 (S.D.) | PGE <sub>2</sub> (pg) | %   |
|---------------------|-----------|-------------|-----------------------|-----|
| blank               | 0.010     | 0.018       | 240.534               | 101 |
| control             | 0.012     | 0.011       | 236.670               | 100 |
| indomethacin 0.01   | 0.187     | 0.030       | 57.223                | 24  |
| indomethacin 0.001  | 0.046     | 0.012       | 179.229               | 76  |
| indomethacin 0.0001 | 0.033     | 0.012       | 199.124               | 84  |
| HGS 0.01            | 0.016     | 0.005       | 229.437               | 96  |
| HGS 0.001           | 0.000     | 0.001       | 260.118               | 109 |
| HGS 0.0001          | 0.003     | 0.013       | 254.905               | 107 |

P-value < 0.0005

4. 血竭散이 單核白血球의 interleukins(IL-1β) 生成에 미치는 影響

E. coli LPS로 刺戟한 human monocyte의 interleukins(IL-1β) 生成에 對한 血竭散의 效能·效果를 試驗한 結果 0.001, 0.0001% 濃度에서 약간의 生成 抑制效果가 있는 것으로 나타났다(Table VII).

Table VII. The effect of HGS on interleukins of human monocyte stimulated with E. coli LPS

| Treatment Group(%)  | 平均 (O.D.) | 標準偏差 (S.D.) | IL-1β (pg) | %   |
|---------------------|-----------|-------------|------------|-----|
| blank               | 0.194     | 0.019       | 624.889    | 33  |
| control             | 0.579     | 0.023       | 1908.222   | 100 |
| indomethacin 0.01   | 0.665     | 0.019       | 2196.000   | 114 |
| indomethacin 0.001  | 0.571     | 0.011       | 1881.556   | 99  |
| indomethacin 0.0001 | 0.530     | 0.011       | 1746.000   | 91  |
| HGS 0.01            | 0.581     | 0.030       | 1916.000   | 102 |
| HGS 0.001           | 0.563     | 0.004       | 1854.333   | 97  |
| HGS 0.0001          | 0.564     | 0.003       | 1859.333   | 97  |

P-value < 0.0005

5. 血竭散이 纖維芽細胞의 total protein 및 collagen 合成에 미치는 影響

人體의 纖維芽細胞에서 total protein 및

collagen 合成에 對한 血竭散의 效能·效果를 研究하기 위하여 <sup>14</sup>C-proline를 包含한 細胞培養液에 血竭散을 0.01, 0.05, 0.2%의 濃度에서 24時間 處理한 結果 모든 濃度에서 合成을 促進시키는 效果가 없는 것으로 나타났다(Table VII).

Table VII. The effect of HGS on the synthesis of total protein and collagen in human fibroblast

| Treatment Group(%) | total protein (cpm/10 <sup>6</sup> cell) | total protein (%) | collagen (cpm/10 <sup>6</sup> cell) | collagen (%) |
|--------------------|--|-------------------|-------------------------------------|--------------|
| control            | 3320                                     | 100               | 266                                 | 100          |
| ascorbic acid 0.01 | 4046                                     | 121               | 324                                 | 121          |
| ascorbic acid 0.05 | 2988                                     | 90                | 247                                 | 92           |
| ascorbic acid 0.2  | 1457                                     | 43                | 124                                 | 40           |
| HGS 0.01           | 1214                                     | 39                | 93                                  | 34           |
| HGS 0.05           | 1555                                     | 44                | 59                                  | 22           |
| HGS 0.2            | 1813                                     | 49                | 61                                  | 22           |

6. 血竭散이 collagenase 活性에 미치는 影響

Collagenase 活性에 對한 抑制效果를 研究하기 위하여 血竭散을 0.01, 0.1, 0.2, 0.5%의 試驗濃度에서 18時間 동안 處理한 結果, positive control로 使用한 tetracycline은 0.1%의 濃度에서 80%의 抑制效果를 나타내어 가장 높았고, 血竭散은 0.5%의 濃度에서 47%, 0.2%의 濃度에서는 44%, 0.1%의 濃度에서는 80%, 0.01%의 濃度에서는 73%의 collagenase 活性에 對한 抑制效果를 나타내었다 (Table IX).

Table IX. The effect of HGS on the viability of collagenase in human fibroblast

| Treatment Group(%) | 平均 (O.D) | 標準偏差 (S.D) | % activity of control | %   |
|--------------------|----------|------------|-----------------------|-----|
| blank              | 0.005    | 0.004      |                       |     |
| control            | 0.134    | 0.002      | 100.00                | 100 |
| tetracycline 0.1   | 0.027    | 0.004      | 38.87                 | 20  |
| tetracycline 0.01  | 0.105    | 0.005      | 73.66                 | 78  |
| HGS 0.5            | 0.064    | 0.002      | 52.74 <sup>a</sup>    | 47  |
| HGS 0.2            | 0.059    | 0.006      | 50.42 <sup>a</sup>    | 44  |
| HGS 0.1            | 0.108    | 0.007      | 75.19 <sup>a</sup>    | 80  |
| HGS 0.01           | 0.098    | 0.004      | 69.55 <sup>c</sup>    | 73  |

a : P-value < 0.0005  
 b : P-value < 0.001  
 c : P-value < 0.01

IV. 考察

韓醫學에서 口瘡과 關係되는 內容으로는 《素問》<sup>14)</sup> 〈六微旨大論〉에 “歲金不及, 炎火乃行 …… 民病口瘡”, 〈五常政大論〉에서는 “少陽司天, 火氣下臨 …… 咳嚔軌衄鼻窒口瘍, 寒熱跗腫”이라하여 歲金不及은 寒에 의한 것이고 少陽司天은 熱에 의한 것으로 모두 口病을 生成한다고 하였는데 이는 口瘡과 運氣와의 關係 및 火를 主된 原因으로 言及하였고, 以後 諸家들에 의하여 大人口破<sup>8,15-19)</sup>, 口疳<sup>8-11,18-21)</sup>, 口瘍<sup>8,14,18-19)</sup>, 口糜<sup>12,15,17-19)</sup> 등 여러 名稱이 混用되었다. 一般적으로 口中瘡瘍의 範圍가 局限되고 病症이 比較的 가벼운 경우를 口瘡, 口中糜爛되고 範圍가 比較적 크며 病症이 口瘡보다 더 甚한 狀態를 口糜라 하였으며, 小兒에 있어 疳積과 關聯이 있으면서 口瘡이 發生할 경우 口疳이라고 하였는데<sup>12,17,19)</sup> 모두 口中에 瘡瘍이 發生한다는 觀點에서 보면 口瘡이라고 總稱할 수 있다고 思慮된다.

口瘡에 對한 病因病理를 살펴보면 隋唐時代 巢<sup>28)</sup>는 手少陰心經의 心氣는 舌과 通하고 足太陰脾經의 脾氣는 口와 通하는데 臟腑熱盛하여 熱乘心脾하면 口舌로 氣가 上衝하게 되어 口舌生瘡이 된다 하여 心脾熱盛이 口瘡의 病因임을 明確하게 밝혔으며, 孫<sup>29)</sup>은 口瘡이 反復 發作하는 特徵이 있다고 하면서 油, 麵, 酒, 醬, 酸, 酢, 鹹, 膩, 乾棗等 內熱을 發生하는 飲食物을 禁하라고 하였고, 王<sup>30)</sup>은 心脾積熱을 原因으로 보았다.

宋代 陳<sup>31)</sup>은 上膈壅毒熱을, 陳<sup>32)</sup>은 胃熱凝滯를, 楊<sup>2)</sup>은 心脾受熱하여 口瘡이 發生한다고 하였고, 趙<sup>3)</sup>는 心脾有熱 뿐만아니라 胃氣가 弱하고 穀氣少하여 發生한 虛陽으로도 口瘡이 發生한다고 하였는데 이는 諸家の 說에다 中氣不足을 主張하여 口瘡을 虛와 實로 區分한 것으로 보다 進一步한 認識이라고 思慮된다.

金元時代 朱<sup>33)</sup>는 上焦熱壅과 涼藥을 服用해도 낫지 않는 것은 中焦土가 虛하기 때문이라 하여 趙<sup>3)</sup>의 說을 따랐고, 羅<sup>34)</sup>는 心脾客熱하여 毒氣上

衝을 原因으로 提示하였다.

明代樓<sup>35)</sup>는 朱<sup>33)</sup>의 說을 따랐고, 虞<sup>36)</sup>는 膀胱移熱于小腸이라 하였으며, 方<sup>37)</sup>은 脾氣凝滯한 狀態에서 風熱이 兼한 것으로 보았는데 口腔은 肺의 門戶이므로 外邪가 侵犯하여 肺胃의 邪熱이 上蒸해서 口瘡이 發한다는 說과도 附合되며 이는 口瘡이 外感邪熱과도 關係가 있다는 것을 말한다. 薛<sup>38)</sup>은 “上焦實熱 中焦虛寒 下焦陰火 各經傳變所致”라 하여 口瘡의 原因을 上·中·下焦로 區分하여 說明하였는데 이는 보다 進歩된 辨證體系이며 以前의 諸家의 說을 綜合했다고 思慮된다. 李<sup>22)</sup>는 熱과 虛로 大別하였으며 “赤者 心熱, 白者 肺熱, 赤白者 心肺俱熱”이라 하여 口瘡의 色澤에 따라서도 區別하였고, 龔<sup>39-40)</sup>은 三焦火盛을 主된 原因으로 보고 方<sup>37)</sup>과 薛<sup>38)</sup>의 說을 따랐지만 薛<sup>38)</sup>이 上焦實熱로 본 反面에 龔<sup>39-40)</sup>은 上焦虛熱로 把握하였다. 王<sup>41)</sup>은 心火上炎과 脾熱生痰을 原因으로 보았고, 陳<sup>16)</sup>은 虛火와 實火로 區分하였으며, 張<sup>42)</sup>은 “上焦之熱”과 “酒色勞倦過度 脈虛而中氣不足”이라 하여 趙<sup>3)</sup>의 中氣不足에 의해서도 口瘡이 發現될 수 있다는 것을 더욱 分明히 하였다.

清代李<sup>43)</sup>는 原因을 크게 脾熱로 보면서 李<sup>22)</sup>의 說을 따라 色澤으로 區別하면서 口瘡이 脾病만이 아니라고 主張하였고, 陳<sup>44)</sup>은 心火鬱熱을, 張<sup>45)</sup>은 心脾二經之火와 膀胱의 熱이 小腸에 미치는 경우를 原因으로 보았으며, 吳<sup>15)</sup>는 陳<sup>16)</sup>의 說을 따랐으나 實火의 原因을 陳<sup>16)</sup>은 心火妄動으로 본데 比하여 吳<sup>15)</sup>는 心脾實火가 妄動한 것으로 把握하였고, 顧<sup>46)</sup>는 方<sup>37)</sup>과 薛<sup>38)</sup>의 說을 따랐다. 周<sup>47)</sup>는 虛實로 區分하여 實證은 五臟의 熱이 모두 口瘡을 發할 수 있다고 提示한 것이 特徵이며 虛證의 原因으로는 龔<sup>39-40)</sup>의 說을 따라 上·中·下焦로 나누어 說明하였다.

以上을 綜合하면 實證은 臟腑積熱, 實火, 上焦實熱, 三焦火盛, 心熱, 心脾受熱, 外感邪熱, 虛證은 陰虛, 上焦虛熱, 中焦虛, 中焦虛寒, 下焦陰火, 虛火 등으로 區分할 수 있는데, 要約하면 口瘡은 心·脾二經의 熱과 中氣不足, 陰虛火旺 및 外感邪熱과 密接한 關聯이 있다고 思慮된다.

症狀에 對하여 살펴보면 口腔內 粘膜의 腫脹,

潮紅, 灼熱, 乾燥, 疼痛과 함께 表在性 潰瘍이 있다. 이것은 齒肉, 舌, 口脣 때로는 口蓋에도 發生하는데 粟粒大 내지 米粒大의 灰白色 혹은 黃色의 圓形에 가까운 모양을 한 斑點으로 纖維素性 滲出物로 덮여 있으며 긁어내기가 어렵고 만약 潰瘍部位를 들어내려면 出血이 되기도 한다. 또한 口瘡의 症狀을 虛證과 實證으로 區別해 보면, 實證은 病程이 短期間內에 빨리 나타나고 瘡潰面이 크고 片狀의 斑點이 보이며 黃白色을 띠고 中央이 陷沒을 보이면서 周圍의 肌肉이 鮮紅하며 微腫과 煩熱, 疼痛이 發生하고 口臭, 口渴, 口燥와 脣赤, 舌質紅, 苔黃膩하며 甚할 경우는 脣舌과 腮頰에 까지 腫痛이 發生한다. 虛證은 反復적으로 長期間 持續되며 瘡潰面이 稀少하고 淡白한 色을 띠며 周圍의 肌肉은 淡紅 或은 不紅하고 舌紅, 少苔와 腫痛은 甚하지는 않으나 食事中에 疼痛이 激烈해진다<sup>8-12,17-21)</sup>.

治療方法으로 孫<sup>29)</sup>은 油麵酒醬酸酢鹹膩乾棗를 禁해야 한다고 하였는데 만약 이를 지키지 않으면 再發하여 難治가 된다 하여 飲食物과의 關係를 言及하였고, 朱<sup>33)</sup>는 虛證과 實證의 治法을 달리하여 實證인 上焦熱壅일 때는 甘桔湯을 使用하였고, 虛證으로 涼藥을 服用해도 낫지 않는 것은 中焦土가 虛하기 때문이라 하여 理中湯을 使用하여 人蔘 白朮 甘草로 補土하고 乾薑으로 散火시키며 甚하면 附子를 加하라고 하였는데 이 說은 歷代 醫家<sup>4,22,33,35,40-42,45-46,48)</sup>들에 의해 尊重되어져 왔다.

張<sup>42)</sup>은 上焦之熱일 때는 淸火시키고 酒色勞倦過度하여 中氣不足한 者는 寒冷藥으로 治療하지 말라고 하면서 補心脾 滋腎水하는 理中湯을 使用하였는데 이는 溫補를 爲主로 治療한 것으로 思慮된다. 龔<sup>40)</sup>은 淸熱瀉火와 服涼藥而不愈者를 中焦虛寒 뿐만 아니라 上焦虛熱 下焦虛火로 上·中·下焦로 細分하여 上焦虛熱에는 補中益氣湯을, 中焦虛寒에는 附子理中湯을, 下焦虛火에는 六味地黃丸을 使用하였다.

以上을 綜合하면 口瘡의 治療法으로 實證일 때에는 淸熱瀉火, 虛證일 때는 滋陰降火 補中益氣를 爲主로 하되, 口腔의 清潔과 飲食物 攝取에도 有

意하여야 할 것으로 思料된다.

口瘡에 使用된 治方으로는 實證으로 臟腑積熱 實火 三焦火盛 心熱일 때 涼膈散, 回春涼膈散, 導赤散, 局方涼膈散, 心脾受熱에 竹葉石膏湯, 外感邪熱에 清胃瀉火湯, 涼膈散을 使用하여 清熱瀉火시켰으며, 虛證으로 陰虛 中焦虛寒 上焦虛熱 虛火口瘡일 때 四物湯加味方, 理中湯, 附子理中湯, 補中益氣湯, 加減八味丸, 補中益氣湯加 麥門冬 五味子 등이 使用되었는데 그 原因에 따라 清熱瀉火, 補中益氣, 滋陰降火 爲主의 治方이 使用되었다(2,4,15-16,22,39-40,42,45,47-49)

外用藥으로는 龍石散, 赴筵散, 綠袍散, 柳花散, 升麻散, 朱黃散 등이 많이 使用되었으며, 單方으로는 含水法으로 薔薇根, 肉桂, 黃連, 白礬, 黃丹 등이 있으며 西瓜를 서서히 마시는 法, 黃連과 乾薑을 茶처럼 服用하는 法, 黃連과 生白礬을 붙이는 法, 黃栢을 蜜炒하여 바르는 法, 附子末이나 生附子를 湧泉穴에 붙이는 法 등이 있었다(3-4,22,29,31-35,39-41,43)

血竭散은 方의 《丹溪心法附餘》<sup>1)</sup>에 最初로 收錄되어 있는 處方으로 이후 여러 文獻<sup>2-5)</sup>에서 多樣하게 處方 內容과 主治症이 表現되고 있지만 口舌生瘡 및 惡瘡을 治療하는 代表的인 方劑 중 하나로 活用되어지고 있다.

血竭散을 構成하고 있는 各 藥物들의 效能을 보면 寒水石은 清熱降火, 利竅, 消腫하여 積熱煩渴, 齒衄, 丹毒 등을 治療하고, 蒲黃은 涼血止血, 活血消瘀하여 瘡癰腫毒, 重舌, 口瘡 등을 治療하며, 龍骨은 鎮驚安神, 止血蕪腸, 生肌斂瘡하는 效能으로 怔忡健忘, 吐衄便血, 潰瘍久不收口 등을 治療한다. 白礬은 消痰, 燥濕, 止血, 解毒, 殺蟲하여 喉痺, 衄血, 口舌生瘡 등을 治療하며, 血竭은 散瘀定痛, 止血生肌하여 外傷出血不止, 瘰癧, 癩瘡潰久不合 등을 治療한다<sup>50-52)</sup>.

以上の 藥物들로 構成된 血竭散은 清熱降火, 消腫, 散瘀定痛, 生肌斂瘡하는 效能 때문에 消炎, 鎮痛, 止血, 組織再生的 效果가 있어 口內炎, 舌炎, 喉痺 등을 治療하는데 活用될 수 있으리라고 思慮된다.

西洋醫學에서 口內炎은 病態와 感染 및 기타 要

因에 따라 여러 가지로 分類하는데 單純性 口內炎(stomatitis simplex)은 感氣의 일부 症狀 또는 모든 口內炎의 前驅症狀이기도 하며 그 외 營養障礙, 貧血, 萎黃症, 胃腸障礙, 發熱 등과 機械的, 化學的, 溫熱的인 刺戟에 의해서도 發生한다. 症狀은 口腔粘膜이 全般的으로 發赤, 腫脹되며 舌面이 두꺼운 白苔로 덮여 있고 口脣이 乾燥하여 痂皮와 龜裂을 보이고 口角에도 糜爛, 表皮脫落이 나타나는 경우도 있다.

潰瘍性 口內炎(stomatitis ulcerosa)은 口腔粘膜에 潰瘍, 糜爛을 보이는 모든 口內炎의 總稱으로 結核, 梅毒과 같이 原因이 明確히 있을 때는 名稱을 붙이나 原因이 不分明할 경우에도 潰瘍性 口內炎이라 한다. 症狀은 口腔粘膜에 潰瘍이 發生하며 口脣은 不規則하게 덮인 痂皮와 龜裂을 나타내기도 한다. 急性的으로 誘發될 때는 發熱이 있으나 慢性에는 熱은 별로 나타나지 않으며 治療는 2-5%의 硝酸銀 溶液과 Logol씨 液을 바르고 紫外線 治療을 하는데 만일 潰瘍性 口內炎에서 好轉이 되지 않으면 特殊한 口內炎을 의심한다.

아프타性 口內炎(stomatitis aphthosa)은 口腔粘膜에 紅葦를 가진 境界가 명료한 圓形 혹은 橢圓形의 直徑 수 mm 정도의 纖維素性 炎症의 變化로 黃白色의 僞膜을 形成하는 것이 特徵이다. 原因은 不分明하나 自律神經 失調 또는 自家免疫 疾患으로 생각되고 있으며 內分泌 障礙, 異常體質 및 新陳代謝 障礙, 消化器 障礙, 中毒, 알레르기, 熱性疾患, 神經질적인 女性의 妊娠, 月經, 授乳期에서도 頻發된다. 症狀은 單純性 口內炎을 前驅症狀으로 하여 주로 口脣粘膜, 舌尖, 頰部粘膜에 直徑이 2-10mm의 圓形 내지 橢圓形의 境界가 명료한 潰瘍이 있고 周圍에는 發赤帶의 紅葦가 있다. 潰瘍의 表面에는 纖維素性의 灰白色 혹은 黃色의 僞膜을 띠고 潰瘍이 發生하기 전에는 小水疱나 赤色の 丘疹이 나타나기도 하는데 이미 潰瘍이 形成되어 있는 경우가 많다. 一般的으로 發病은 急性的이지만 慢性的이고 反復性이라서 數個月 혹은 數年에 걸쳐서 나타나기 때문에 慢性 再發性 아프타(chronic recurrent aphthae)라고도 한다. 아프타性 口內炎과 같은 形態는 주로 Behcet씨 症候群,

Herpes씨 口內炎, Bednar씨 症候群, 多型 滲出性 紅斑(erythema exudativum multiforme), 結節性 紅斑(nodosum) 等에서도 發生이 된다. Behcet씨 病은 口腔粘膜의 아프타性 病變, 生殖器 粘膜의 潰瘍性 變化 및 前房蓄膿性 虹彩炎으로 特徵지워 지는 症候群으로 皮膚에서도 丘疹, 水疱, 膿疱와 같은 皮膚發疹을 同伴하기도 한다. 以上の 3가지 症狀을 모두 갖추고 反復 再發되는 경우도 많지만 전부 다 나타나지 않는 不全型도 頻繁하며 原因은 自家免疫 疾患으로 생각되나 아직까지 正確한 病因論은 定立되어 있지 않다. Herpes씨 口內炎은 herpes simplex virus의 感染으로 發生되고 口脣, 齒齦과 硬口蓋에도 아프타性을 보이며, Bednar씨 症候群은 주로 幼, 小兒에서 齒牙 等과 같은 口腔 粘膜의 機械的, 物理的인 壓迫으로 發生되며 症狀은 아프타性 口內炎의 樣相보다 甚하게 發生된다.

壞疽性 口內炎(stomatitis gangrenosa)은 水癌(cancrum oris)이라고도 하는데 口脣 및 頰部에 組織缺損을 가져오며 2-5歲의 小兒에게 잘 發生한다. 原因은 不分明하나 全身의 抵抗力 및 營養缺乏에서 나타나며 특히 紅疫, 猩紅熱, 百日咳, 장티푸스에 續發되는 경우가 많다. 症狀은 口腔, 齒齦, 頰部粘膜에 靑紫色의 水疱가 생겨 急速히 周圍로 擴大되며 同時에 軟化되어 壞疽을 일으킨다. 潰瘍은 暗赤黑色이고 周圍는 浮腫狀으로 腫脹되는데 이 같은 病變이 急速히 進行되므로 頰部는 穿孔되어 큰 潰瘍이 생기며 齒槽骨, 上顎骨 等이 露出된다. 이의 唾液分泌가 增加되며 甚한 口臭가 있으나 疼痛은 甚하지 않다.

中毒으로 發生되는 口內炎은 주로 水銀, 鉛, 銅, 砒素 等の 金屬을 藥劑로 使用하거나 혹은 職業上 이것들을 取扱함으로써 誘發이 된다. 水銀性 口內炎은 주로 驅梅毒療法에 使用된 水銀에 의해 發生하며 初期에는 金屬味가 있고 口腔內에 灼熱感과 唾液分泌가 甚하게 增加된다. 口腔粘膜과 齒齦이 暗赤色으로 發赤腫脹이 되며 咀嚼時 疼痛이 있고 漸次的으로 進行이 되면 齒齦緣에 潰瘍이 생겨 甚한 口臭와 齒牙가 弛緩된다.

鉛性 口內炎은 蒼鉛이나 亞鉛을 胃腸障礙와 梅毒治療에 使用했을 때 혹은 납이 들어있는 化粧品

을 長期間 使用하거나 職業的으로 납을 많이 取扱하는 사람에게 나타나며 口腔에 金屬味가 있고 切齒의 齒齦에 發赤과 出血되기가 쉬우며 齒齦上緣을 따라 暗紫色, 暗赤色, 灰黃色의 色素沈着帶인 lead line이 나타난다.

砒素性 口內炎은 砒素를 取扱하는 공장이나 害蟲驅除藥, 色素, 硝子 等を 製造하는 공장 종업원에서 보이는 경우가 있고 齒科에서도 齒髓腐蝕用으로 아비산이 使用되는데 이것이 口腔內로 새겨 되면 粘膜에 發赤과 齒牙가 脫落되기도 한다. 症狀은 口腔粘膜과 齒齦에 潰瘍과 褐色의 色素沈着이 일어나고 顔面에 發疹이 나타나기도 한다 (6,9,13,53-56).

炎症(inflammation)은 흔히 볼 수 있는 病變으로 局所에 加해진 炎症誘發性 刺戟과 組織傷害에 對한 血管 및 結合組織系의 自己防禦體系인 免疫過程의 一部分이다. 外部로부터 物理的, 化學的, 生物學的 損傷을 復舊하는 生體의 反應에 의하여 組織의 損傷과 더불어 炎症反應 즉 浮腫, 發熱, 疼痛이 나타나게 된다. 炎症이 일어난 組織에서는 먼저 血管反應이 나타나서 毛細血管이 擴張되고 血流가 增加하며 이어서 血管壁의 透過性이 增加하여 血漿 成分과 蛋白質 成分이 血管壁을 通해 間質組織으로 滲出된다. 이때에 細菌이나 傷害된 局所組織에서 由來하는 化學因子의 誘導에 의해 好中球, 多型核 白血球와 單核球가 아메바 運動을 通해 間質組織으로 나오고 이들에서 遊離된 大食細胞가 滲出되어서 炎症 刺戟物을 貪食하게 되며, 炎症이 오래되면 림프구 및 形質細胞도 많이 나타나게 된다. 이러한 과정은 自然免疫 및 特殊 免疫系 抗體 一種에 의해서 크게 左右되며 炎症의 最終段階에는 傷害된 組織의 缺損을 修復하는 過程에서 局所의 纖維芽細胞 및 毛細血管이 增殖하여 肉芽組織이 形成되며, 組織에 따라서는 實質細胞로 再生되고 점차 癍痕을 남기며 炎症이 終熄된다 (57-59).

炎症을 抑制하기 위해 使用되는 藥劑를 廣義의 抗炎症劑라 하며 嚴密히 細分하여 말한다면 浮腫에 對해 anti-inflammatory, 發熱에 對해 antipyretic, 疼痛에 對해 analgesic drug로 表現되

어진다. 炎症反應時 細胞性 및 體液性 免疫反應이 關與되는데 이때 關與되는 物質에 對해서는 많은 研究가 되어 왔으며 superoxide, prostaglandins (PGE<sub>2</sub>), interleukins(IL-1 $\beta$ ), collagenase 외에 histamin, bradykinin, plateletactivating factor, tumor necrosis factor 등이 關與하는 것으로 알려져 있다(60-63).

炎症 및 免疫反應 誘發物質의 生産 抑制를 위하여 過去에는 스테로이드性 抗炎症劑를 使用한 結果 많은 副作用이 誘發되어 最近에는 비스테로이드性 抗炎症劑가 廣範圍하게 使用되고 있다. 이러한 비스테로이드性 抗炎症劑는 主로 纖維芽細胞 및 單核細胞와 多型核 白血球의 cyclooxygenase 酵素에 의하여 合成되는 prostaglandins(PGE<sub>2</sub>)의 生産을 抑制하는데 基本을 두고 있다<sup>64-67</sup>. Cyclooxygenase는 두 종류의 isozyme인 cyclooxygenase-1과 cyclooxygenase-2가 있으며 細胞內에서 그 機能이 顯著히 다른 것으로 알려져 있다.

Cyclooxygenase-1은 constitutive enzyme으로 胃, 血管, 腎臟의 正常的인 機能을 維持하는데 關與하는 것으로 알려져 있으나, cyclooxygenase-2는 inducible enzyme으로 炎症反應, 細胞分化, 排卵過程에 關聯된 signal transduction에 關與하는 prostaglandins(PGE<sub>2</sub>)를 生成한다. 그리고 이 酵素 遺傳子의 발현은 growth factor, cytokine, hormone 등에 의해 調節되며 이 遺傳子의 발현은 glucocorticoid에 의해 遮斷되는 것으로 알려져 있다<sup>68-70</sup>.

最近의 研究에서는 prostaglandins(PGE<sub>2</sub>)의 生産이 細菌의 內毒素인 lipopolysaccharide에 의하여 誘發되는 interleukins(IL-1 $\beta$ )에 의하여 刺戟되는 것이 알려져 interleukins(IL-1 $\beta$ )의 細胞生産을 抑制하는 研究가 활발히 進行되고 있다<sup>71-73</sup>. 그리고 prostaglandins(PGE<sub>2</sub>)는 大食細胞와 多型核 白血球를 刺戟하여 結合組織의 基質인 collagen 蛋白質을 分解시키는 collagenase의 合成을 誘發시켜 結合組織을 破壞시킨다<sup>74-75</sup>. 또한 炎症進行 過程에서 血管이 擴張되어 上皮組織 아래의 結合組織에 血漿細胞 림프구, 單核細胞, 大食細胞, 中性

白血球 등을 包含하는 炎症細胞가 增加하게 되며, 이중 大食細胞와 單核細胞는 炎症의 媒介體에 의하여 細胞膜에 結合되어 있는 NADPH oxidase에 의하여 superoxide anion을 分泌하여 組織에 損傷을 誘發시킴으로 炎症을 誘發시키는데 중요한 役割을 한다. 이러한 superoxide는 또한 動脈硬化, 癌, 류마티스 關節炎, 老化 등에 關與한다고 알려져 있으며 好氣性 細胞는 細胞內에 superoxide dismutase와 catalase에 의하여 superoxide를 除去하여 自身을 保護하게 된다<sup>76-80</sup>.

炎症發生 過程에서 損傷된 組織의 再生에는 collagen의 合成이 중요한 役割을 하는 것으로 알려져 있는데, collagen 合成은 纖維芽細胞의 活性과 密接한 關聯이 있으며 年齡에 따라 collagen 合成이 減少하게 된다. 즉 어린 年齡의 皮膚에서는 collagen 合成이 활발하게 일어나고 老化된 皮膚에서는 減少하는 것으로 알려져 있다.

Collagen이 合成되는 過程은 먼저 collagen 遺傳子의 발현에 의하여 mRNA가 전사되고, mRNA는 細胞質內에서 procollagen peptide를 만들고 바로 hydroxylation과 glycosylation 過程을 거쳐 triple helix를 形成하게 된다. Procollagen 다발은 細胞 外部로 分泌되어 procollagen peptide 加水分解酵素에 의하여 除去되고 形成된 tropocollagen 分子들은 서로 엇갈린 配列로 組立되어 collagen 纖維를 形成하고, 이 纖維들은 lysin과 hydroxylation 殘期들의 交叉結合에 의하여 強化되어 組織의 再生에 중요한 collagen 蛋白質이 合成된다<sup>81-82</sup>.

Superoxide는 macrophage로 分化되는 monocyte 및 neutrophil의 phagocytosis 過程에서 發生되는 代謝產物로 高度의 反應性임으로 組織內에 많이 存在할 경우에 collagen, hyaluronic acid 및 proteoglycan과 같은 細胞外 基質成分의 depolymerization에 影響을 미칠 뿐만아니라, 細胞의 蛋白質, 核酸, 그리고 細胞膜 脂質 構成分의 破壞에 活性을 나타낼 수 있다<sup>83</sup>. 특히 口腔에서는 細菌에 의해 形成된 프라그가 蓄積되어 10-20일이 經過하면 口內炎이 發生되어 齒齦이 붉어지고 그 結果 浮腫이 發生하며 軟組織에서 出血이 增加되

어 齒齦上皮 아래의 結合組織에 血漿細胞, 림프구, 大食細胞로 分化되는 單核細胞, 中性白血球 등을 包含하는 炎症細胞가 增加하게 된다. 이중 單核細胞 및 中性白血球는 炎症誘發物質에 의하여 活性化되어 superoxide를 細胞外部로 放出하여 生體組織을 破壞시키는 主要한 原因으로 밝혀져 superoxide를 抑制할 수 있는 superoxide dismutase와 같은 抗酸化劑의 開發이 활발하게 進行되고 있다. Kim(1995)과 Duval(1992) 등은 各各 ascorbic acid 와 tocopherol의 誘導體에서 強力한 superoxide 抑制作用을 報告하였다<sup>84-85)</sup>.

血竭散의 細胞毒성을 알아보기 위하여 human fibroblast와 human monocyte 增殖에 대한 抑制效果를 測定하였는데 對照群과 實驗群의 모든 濃度에서 차이가 없는 것으로 나타나 細胞毒성이 없는 것으로 나타났다(Table I, Table II).

Zymosan A로 刺戟한 mouse monocyte의 superoxide 生成에 對한 血竭散의 效果를 0.01%와 0.001%의 濃度에서 實驗한 結果 0.001%의 濃度에서 48%의 superoxide 生成 抑制效果가 있는 것으로 나타났다(Table III). 또한 human monocyte의 superoxide 生成에 對한 血竭散의 效果를 모든 濃度에서 抑制效果가 없는 것으로 나타났다(Table IV), human neutrophil superoxide 生成에 對한 血竭散의 效果를 0.001%와 0.0001%의 濃度에서 實驗한 結果 모든 濃度에서 生成 抑制效果가 없는 것으로 나타났다(Table V).

Prostaglandins(PGE<sub>2</sub>) 중에서 특히 PGE<sub>2</sub>는 細胞膜에 損傷을 입을시 arachidonic acid 代謝物의 一種으로 뼈의 吸收에 깊이 關與하는 物質로 알려져 있다. Aspirin과 indomethacin은 cyclooxygenase-2의 強力한 抑制作用으로 prostaglandins(PGE<sub>2</sub>)의 生成을 抑制하는 것으로 알려져 있다<sup>66-68)</sup>. Indomethacin을 positive control로 血竭散의 prostaglandins(PGE<sub>2</sub>)의 生成 抑制效果를 比較한 結果 血竭散 0.0001%, 0.001% 濃度에서는 抑制效果를 보이지 않았으며 0.01% 濃度에서는 약간의 抑制效果가 있는 것으로 나타났다(Table VI).

Cytokines의 一種인 interleukins(IL-1 $\beta$ )는 炎

症部位의 細胞를 많이 모이게 하며 prostaglandins(PG

E<sub>2</sub>)의 生成을 刺戟하는 것으로 알려져 있어 炎症에 關與하는 主要한 cytokine으로 最近에 interleukins(IL-1 $\beta$ )의 生成을 抑制하는 新規 藥效劑의 開發에 對한 研究가 활발히 進行되고 있으며<sup>71-73)</sup>, 生藥製劑 중에서는 天門冬, 五味子, 五倍子 및 大棗 抽出物이 炎症의 媒介物質인 cytokine의 生成 抑制에 效果가 있다고 報告된 바 있다<sup>86)</sup>. E. coli LPS로 刺戟한 human monocyte의 interleukins(IL-1 $\beta$ )의 生成에 對한 血竭散의 效能·效果를 試驗한 結果 0.001, 0.0001% 濃度에서 약간의 生成 抑制效果가 있는 것으로 나타났다(Table VII).

組織의 再生은 growth factor를 利用하여 細胞의 增殖을 促進하거나 collagen 蛋白質의 合成을 促進시키는 方向으로 研究되고 있다. 그러나 growth factor의 臨床適用段階는 아직 研究가 되어 있지 않으며 다른 副作用에 대해서도 정확히 밝혀지지 않은 實情으로 上皮나 모든 種類의 組織의 成長을 促進시킴으로 組織 特異성이 약간 缺如되고 있다. 이에 長期的인 觀點에서 副作用이 적고 安全한 藥物의 必要性이 要求되고 있는 實情이다<sup>87-88)</sup>. 近來에 生藥에서 가장 널리 알려져 있는 centella asiatica의 asiaticoside로 齒周組織 再生劑로 使用되고 있으며<sup>89)</sup>, 大棗 抽出物이 collagen 蛋白質의 合成을 促進한다는 報告가 있다<sup>90)</sup>.

人體의 纖維芽細胞에서 total protein 및 collagen 合成에 對한 血竭散의 效果를 研究하기 위하여 <sup>14</sup>C-proline를 包含한 細胞培養液에 血竭散을 各各 0.01, 0.05, 0.2%의 濃度에서 24時間 處理한 結果 모든 濃度에서 合成을 促進시키는 效果가 없는 것으로 나타났다(Table VIII).

Collagen 蛋白質을 分解시키는 collagenase는 炎症 뿐만아니라 老化和 關聯이 있으며, 主로 炎症 誘發 物質인 prostaglandins(PGE<sub>2</sub>)에 의하여 collagenase 遺傳子가 活性化 되어 細胞內에서 合成된 後 細胞外部로 分泌되는 collagenase는 metalloprotenase 중의 하나로 炎症部位에서 酵素 活性이 增加되는 것으로 알려져 있으며, 특히 口

腔 및 齒齦에 炎症이 있는 患者의 口腔粘膜炎과 齒齦裂溝液內에 酵素活性이 활발한 것으로 報告되고 있으며, 또한 年齡이 增加함에 따라 collagenase 活性이 增加되는 것으로 알려져 있다<sup>91-93)</sup>. Collagenase 活性 抑制劑로는 抗生劑인 tetracycline이 가장 널리 알려져 있으나<sup>94)</sup>, 長期間 使用할 때 抗生劑 耐性菌株의 出現等 副作用이 報告되어 最近에는 韓方 및 生藥製劑에 對한 研究가 활발히 進行中에 있으며 黃芩에서 collagenase 의 抑制效果가 있는 것으로 나타났<sup>95)</sup>.

Collagenase 活性에 對한 抑制效果를 研究하기 위하여 血竭散을 0.01, 0.1, 0.2, 0.5%의 試驗濃度에서 18時間 동안 處理한 結果 positive control로 使用한 tetracycline은 0.1%의 濃度에서 80%의 抑制效果를 나타내어 가장 높았고 血竭散은 0.5%의 濃度에서 47%, 0.2%의 濃度에서는 44%, 0.1%의 濃度에서는 80%, 0.01%의 濃度에서는 73%의 collagenase 活性에 對한 抑制效果를 나타내었다 (Table IX).

以上の 結果를 綜合해 보면 血竭散은 正常的인 纖維芽細胞에 毒性이 없는 것으로 나타났으며 Mouse monocyte의 superoxide 生成抑制와 interleukins(IL-1 $\beta$ )의 生成을 약간 抑制하는 것으로 보아 여러 가지 化學因子가 放出되어서 血管擴張이나 液性滲出이 일어나는 炎症 I 期과 炎症의 原因物質이나 破壞된 組織等을 除去하기 위해 白血球가 血管外로 滲出되고 免疫系가 活動하기 始作하는 II 期<sup>96)</sup>에 輕微한 效果가 있는 것으로 思慮되며, 또한 血竭散이 total protein 및 collagen 合成을 促進시키는 效果가 없고 collagen protein을 分解시키는 collagenase 活性을 抑制하는 것으로 보아 起炎物質이나 炎症으로 傷害를 입은 組織을 體外로 排出하기 위하여 纖維芽細胞의 增殖이 始作되고 肉芽가 增殖하여 炎症의 局所가 漸次的으로 收復되는 炎症 III 期<sup>96)</sup>에도 약간의 效果가 있는 것으로 思慮된다.

以上の 實驗結果로 血竭散은 清熱瀉火 潤燥生肌 하는 效能이 있으므로 臨床에서 初期의 各種 口腔疾患 治療에 좋은 效果가 있을 것으로 思慮된다. 하지만 炎症末期의 肉芽組織 形成에 對해 뚜렷한

效果를 보이지 않아서 보다 精確하고 客觀化된 實驗的 研究와 口內炎에 對한 韓醫學的 研究가 폭넓게 이루어져야 할 것이다.

#### IV. 結 論

血竭散의 抗炎作用에 미치는 效果를 糾明하기 위해서 in vitro 모델로 人體의 纖維芽細胞, 單核細胞, 中性白血球와 흰쥐의 單核細胞를 利用한 cytotoxicity, superoxide 生成 抑制效果, immunoassay를 利用한 prostaglandins(PGE<sub>2</sub>) 및 interleukins(IL-1 $\beta$ ) 生成 抑制效果, <sup>14</sup>C-proline를 利用한 collagen 合成 및 <sup>3</sup>H-thymidine를 利用한 細胞增殖 促進效果인 DNA 合成, collagenase 活性 抑制效果를 測定하는 實驗을 한 結果 아래와 같은 結論을 얻었다.

1. 血竭散은 모든 濃度에서 細胞毒性이 없는 것으로 나타났.
2. Mouse monocyte의 superoxide 生成에 對하여 血竭散은 0.001%의 濃度에서 48%의 superoxide 生成 抑制效果가 있는 것으로 나타났.
3. Human monocyte의 superoxide 生成에 對하여 血竭散은 모든 濃度에서 抑制效果가 없는 것으로 나타났.
4. Human neutrophil superoxide 生成에 對하여 血竭散은 모든 濃度에서 生成 抑制效果가 없는 것으로 나타났.
5. E. coli LPS로 刺戟한 human monocyte의 prostaglandins (PGE<sub>2</sub>)의 生成에 對하여 血竭散은 0.01% 濃度에서는 약간의 抑制效果가 있는 것으로 나타났.
6. E. coli LPS로 刺戟한 human monocyte의 interleukins(IL-1 $\beta$ )의 生成에 對하여 血竭散은 0.001, 0.0001% 濃度에서 약간의 生成 抑制效果가 있는 것으로 나타났.
7. 血竭散은 纖維芽細胞의 total protein 및 collagen 合成을 促進시키는 效果가 없는 것으로 나타났.

8. Collagenase 活性에 對해 0.1% 濃度에서 血竭散은 22%, 0.2% 濃度에서는 45%, 0.5% 濃度에서는 57%의 抑制效果가 나타났다.

以上の 結果를 綜合해 보면 血竭散은 炎症의 I, II 期の 抗炎作用에 效果가 있으며 臨床에서도 初期의 口腔疾患에 널리 應用될 수 있을 것으로 思慮된다.

## 參 考 文 獻

1. 方廣 編註 : 丹溪心法附餘(下), 서울, 大星文化社, p.499, 1982.
2. 楊士瀛 : 仁濟直指方(中國醫學大系), 서울, 驪江出版社, pp.409-417, 1987.
3. 趙佶 : 聖濟總錄, 서울, 翰成社, p.213, 1977.
4. 許浚 : 東醫寶鑑, 서울, 南山堂, p.262, 1966.
5. 彭怀仁 主編 : 中醫方劑大辭典, 北京, 人民衛生出版社, pp.618-620, 1995.
6. 大韓皮膚科學會 刊行委員會 : 皮膚科學, 서울, 麗文閣, pp.489-491, 1994.
7. 朴鎬湜 氏 : 東醫脾系內科學, 서울, 一中社, p.221-223, 1988.
8. 陳貴廷·楊思澍 : 實用中西醫結合診斷治療學, 서울, 一中社, pp.2014-2020, 1992.
9. 上海中醫學院 : 五官科學, 香港, 商務印書館, pp.149-151, 1982.
10. 顧伯華 : 實用中醫外科學, 上海, 上海科學技術出版社, pp.606-609, 1985.
11. 申天浩 : 問答式 五官外科學, 서울, 成輔社, pp.290-292, 1992.
12. 蔡炳允 : 韓方眼耳鼻咽喉科學, 서울, 集文堂, p.240, 316, 411, pp.86-88, 346-348, 379-380, 1982.
13. 白萬基 : 最新耳鼻咽喉科學, 서울, 一潮閣, pp.258-264, 1995.
14. 洪元植 : 精校 黃帝內經素問, 서울, 東洋醫學研究院 出版部, p.246, 256, 1985.
15. 吳謙 : 醫宗金鑑, 臺北, 大中國圖書公社, pp.130-131, 1973.
16. 陳實功 : 外科正宗, 上海, 上海科學技術出版

社, pp.315-316, 1989.

17. 蔡炳允 : 韓方外科, 서울, 高文社, pp.101-102, 266, 1978.
18. 黃文東 氏 : 實用中醫內科學, 上海, 上海科學技術出版社, pp.264-269, 1986.
19. 中醫研究院 : 中醫症狀鑑別診斷學, 北京, 人民衛生出版社, pp.111-112, 1987.
20. 江蘇新醫學院第一附屬醫院 : 常見中醫臨床手冊, 北京, 衛生出版社, pp.562-565, 1979.
21. 原安徽中醫學院 : 中醫臨床手冊, 서울, 成輔社, p.226, 1983.
22. 李挺 : 醫學入門, 서울, 翰成社, pp.363-364, 1977.
23. 王德鑑 : 中醫耳鼻咽喉口腔科學, 北京, 人民衛生出版社, pp.555-569, 1994.
24. 蔡炳允 : 癰疽에 應用되는 仙方活命飲의 消炎, 鎮痛, 解熱作用에 關한 研究, 서울, 慶熙大學校 大學院 博士學位論文, 1979.
25. 宋炳基 : 龍膽瀉肝湯과 銀花瀉肝湯의 抗炎症, 解熱, 鎮痛, 利尿 및 抗菌 效果, 서울, 慶熙大學校 大學院 博士學位論文, 1980.
26. 黃忠淵 : 艾灸 損傷皮膚의 治愈過程에 關한 組織學的 研究, 이리, 圓光大學校 大學院 碩士學位論文, 1981.
27. 辛美香 : 十全大補湯이 生肌作用에 미치는 影響, 大田, 大田大學校 大學院 碩士學位論文, 1993.
28. 南京中醫學院 校釋 : 諸病源候論校釋, 北京, 人民衛生出版社, pp.815-816, 1982.
29. 孫思邈 : 備急千金要方, 北京, 人民衛生出版社, p.113, 1982.
30. 王燾 : 外臺秘要, 臺北, 國立中國醫藥研究所, p.611, 1964.
31. 陳師文 : 太平惠民和劑局方, 臺北, 旋風出版社, pp.58-59, 1964.
32. 陳言 : 三因方, 臺北, 臺聯出版社, p.13, 1967.
33. 朱震亨 : 丹溪心法心要, 山東, 山東科學技術出版社, p.161, 1985.
34. 羅天益 : 衛生寶鑑, 서울, 金剛出版社,

pp.147-148, 1981.

35. 樓全善 : 醫學綱目, 臺南, 臺南北一出版社, pp.110-114, 1973.

36. 虞搏 : 醫學正傳, 서울, 成輔社, pp.237-239, 1986.

37. 方賢 : 奇效良方, 香港, 商務印書館, pp.1253-1265, 1977.

38. 薛己 : 口齒類要, 北京, 人民衛生出版社, p.352, 1987.

39. 龔廷賢 : 增補 萬病回春, 北京, 世一書局, 下卷 pp.15-16, 1985.

40. 龔廷賢 : 壽世保元, 臺北, 宏業書局, pp.581-582, 1983.

41. 王肯堂 : 六科證治準繩, 서울, 大星文化社, pp.229-231, 1992.

42. 張介賓 : 景岳全書, 서울, 翰成社, pp.492-493, 1983.

43. 李用粹 : 證治匯補, 臺北, 旋風出版社, pp.249-253, 1965.

44. 陳士鐸 : 石室秘錄, 서울, 杏林出版, pp.39-40, 1987.

45. 張璐 : 張氏醫通, 서울, 一中社, pp.435-437, 1992.

46. 顧世澄 : 瘍醫大全, 北京, 人民衛生出版社, pp.550-552, 1992.

47. 周命新 : 醫門寶鑑, 서울, 杏林書院, p.207, 1975.

48. 徐靈胎 : 徐靈胎醫學全書, 臺北, 五洲出版社, pp.193-194, 1989.

49. 唐容川 : 血證論, 서울, 一中社, pp.164-166, 1992.

50. 全國韓醫科大學 本草學教授 : 本草學, 서울, 永林社, p.172, 402, 442, 492, 633, 1994.

51. 新文豐出版公司 : 新編中藥大辭典, 臺北, 新文豐出版公司, p.587, 849, 1968, 2358, 2600, 1972.

52. 李尙仁 : 本草學, 서울, 學林社, p.163, 184, 441, 443, 1986.

53. 申永基 編譯 : 臨床診斷學, 서울, 癸丑文化社, pp.219-222, 1987.

54. 西山茂夫 : 圖解 皮膚科學, 서울, 第一醫學,

p.248, 1991.

55. 임창윤 : 구강병리학, 서울, 고려의학, pp.332-333, 346-348, 1992.

56. 白充基 : 口腔診斷學, 서울, 高文社, pp.310-335, 1983.

57. 白充基 : 病理學, 서울, 高文社, p.23, 1988.

58. 이종달 : 그림으로 설명한 病理學, 서울, 고려의학, pp.27-34, 1990.

59. 李淵台 譯 : 最新免疫學, 서울, 集文堂, pp.355-358, 1989.

60. Socransky SS and Haffajee AD (1991). Microbial mechanisms in the pathogenesis of destructive periodontal diseases: a critical assesment. J. Periodont. Res. 26:195-212.

61. Page RC (1992). Host response tests for diagnosing peridontal diseases. J. Peridontal 63: 356-366.

62. Lamster IB (1992). The host response in gingival crevicular fluid: potential applications in peridontitis clinical trials. J.Peridontol 63: 1117-1123.

63. Polson AM and Goodson JM (1985). Periodontal diagnosis current status and future needs. J. Peridontol 56-1: 25-34.

64. Gerritsen MJP, Rulo HFC, Arnold WP and Van De Kerkhof PCM (1994). Response of the clinically uninvolved skin of psoriatic patients to repeated tape stripping during cyclosporin A treatment. B. J. of Dermatol 130: 181-188.

65. Marx J. (1995). How the glucocorticode sypress immunity. Science 270: 222-233.

66. Lee DH and Choi (1989). The comparative study of immunosuppressive drugs on the peridontal condition in renal transplant patients. J. of Ker Academ. of Peridontol. 19-1: 1-8.

67. Ting PC, Kaminski JJ, Sherlock MH, Tom WC, Lee JF, Bryant RW, Watnick AS and Mcphail AT (1990). Substituted 1,3-dihydro-2h-pyrrolo [2,3-b] pyridin-2-ones as pontential antinflammatory agents. J. Med.

Chem. 33:2697-2706.

68. Seibert K, Zhang Y, Leahy K, Hauser S, Masferrer J, Perkins W, Lee L and Isakson P (1994). Pharmacological and biochemical demonstration of the role of cyclooxygenase 2 in inflammation and pain. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91:12013-12017.

69. Wells I and Marnett LJB (1993). Inactivation of Prostaglandin endoperoxide synthase by acylation derivatives of indomethacin. Biochemistry 32: 2710-2716.

70. Autio P, Oikarinen A, Melkko J, Risteli J and Risteli L (1994). Systemic glucocorticoids decrease the synthesis of type I and type III collagen in human skin in vivo, whereas isotretinoin treatment has little effect. B. J. of Dermatology 131:660-663.

71. Matsuki Y, Yamamoto T and Hara K (1993). Localization of interleukin-1 (IL-1) mRNA-expressing macrophages in human inflamed gingiva and IL-1 activity in gingival crevicular fluid. J. Periodont 28: 35-42.

72. Poore TK, Johnson GK, Reinhardt RA and Organ CC (1995). The effects of smokeless tobacco on clinical parameters of inflammation and gingival crevicular fluid prostaglandin E<sub>2</sub> Interleukin -1  $\alpha$  and Interleukin-1  $\beta$ . J.Periodontal 66: 177-183.

73. Kupper TS and Groves RW (1995). The interleukin-1 axis and cutaneous inflammation. J. of Invest. Derm. 105-1:62s-66s.

74. Uitto VJ, Suomalainen K, Sorsa T (1990). Salivary collagenase. Origin characteristics and relationship to periodontal health. J. Periodontal Res 25: 135-142.

75. Lee W, Aitken S, Sodek J and McCulloch CAG (1995). Evidence of a direct relationship between neutrophil collagenase activity and periodontal tissue destruction in vivo: role of active enzyme in human periodontitis.

J.Periodont. Res 30: 23-33.

76. Richard BJ, Cathleen AG, Zanvil AC (1978). Increased superoxide anion production by immunologically activated and chemically elicited macrophages. J. Exp. Med 148: 115-127.

77. Joseph CF, Peter AW (1982). Role of oxygen-derived free radicals and metabolites in leukocyte-dependent inflammatory reactions. American of J of Pathology 107:397-418.

78. Lovelle B, Blaine LB (1984). The role of oxygen and its derivatives in microbial pathogenesis and host defense. Reviews of microbiology 38: 27-48.

79. Joe MM, Irwin F (1969). Superoxide dismutase. J of biological chemistry 244-22: 6049-6055.

80. William JJ, Philip AM, Robert DS, Dolph OA (1983). Sequential activation of murine mononuclear phagocytes for tumor cytotoxicity: differential expression of markers by macrophages in the several stages of development. Immunol 131: 1038-1043.

81. Clark RAF: Cutaneous tissue repair: basic biologic considerations. I. J. Am Acad Dermatol 13:701-725, 1985.

82. Lynch Se, Colvin RB, Antoniades HN: Growth factors in wound healing: single and synergistic effects on partial thickness porcine skin wounds. J. Clin Invest 84: 640-646, 1989.

83. Shingu M, Isayama T, Yasutake C, et al. (1994). Role of oxygen radicals and IL-6 in IL-1 dependent cartilage matrix degradation. Inflammation 18-6: 613-623.

84. Kim SJ, Han DH, Moon KD and Rhee JS (1995). Measurement of Superoxide dismutase-like activity of natural antioxidants. Biosci. Biotech. Biochem. 59-5:822-826.

85. Duval C, Lange P and Poelman MC (1992). Inhibition of cutaneous inflammation by free radical scavengers. IF SCC p56: 453-459.

86. Cho KY, Lee YM, Choi SM and Chung CP (1995). The effects of herbal extracts on production and activity of interleukin 1  $\beta$ . The J. of Kor. Academy of Periodontol. 25-2: 386-396.

87. Canalis E (1981) Effect of platelet-derived growth factor on DNA and protein synthesis in cultured rat calvaria. Metabolism 30: 970.

88. Matsuda N, Lin WL, Kumar NM, Cho MI and Genco RJ (1992). Mitogenic, chemotatic and synthetic responses of rat periodontal ligament fibroblast cells to polypeptide growth factors in vitro. J. of Periodontol 63: 515.

89. Rush WR, Murray GR and Graham DJM (1993). The comparative steady-state bioavailability of ingredients Madecassol. Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinet. 18-4:323-326.

90. Yang CH, Lee YM, Cho KY, Base KH and Chung CP (1994). Effect of Zizyphi Fructus extract on the biological activity of gingival fibroblast. J. of Kor. Acade. of Periodontol 24: 144-153.

91. Richards D, Rutherford RB (1990). Interleukin-1 regulation of procollagenase mRNA and protein in periodontal fibroblasts in vitro. J. Periodontal Res 25: 222-229.

92. Uitto J, Olsen DR and Fazio MJ (1989). Extracellular matrix of the skin: 50 years of progress. J. of Invest. Dermatol 92: 61s-77s.

93. Phillips CL, Combs SB and Pinnell SR (1994). Effects of ascorbic acid on proliferation and collagen synthesis in relation to the donor age of human dermal fibroblast. J. of Invest. Dermatol 103: 228-232.

94. Gilberston BS, Powers EA Stamp CM, Scott PS, Wallac TL, Copeland J, Petzold G and Mitchell M, Ledbetter S, etal. (1995). The tetracycline analogs minocycline and doxycycline inhibit angiogenesis in vitro by a non-metalloproteinase-dependent mechanism.

CancerChemot her. Pharmacol 36-5: 418-424.

95. Chung CP, Park JB and Bae KH (1995). Pharmacological effects of methanolic extract from the root of *Scutellaria baicalensis* and its Flavonoids on human gingival fibroblast. Plant Med. 61: 150-153.

96. 高本博天, 植木昭和, 岩田平太郎 : 圖解藥理學, 東京, 中外醫學社, pp.161-163, 1979.