

清上防風湯의 아토피성 알레르기 反應 調節 效果

진경선*, 임태형**, 박은정, 이해자*, 한경훈, 나원경

원광대학교 전주한방병원 소아과, *원광대학교 한의과대학 소아과학교실,
**원광대학교 한의과대학

Regulatory Effect of Atopic Allergic Reaction by *Chungsangbangpoong-Tang*

Jin Kyong Son*, Lim Tae Hyung**, Park Eun Jung,
Lee Hai Ja*, Han Kyeung Hoon, Na Won Kyeung

Department of Pediatrics, Jeonju Oriental Hospital, Wonkwang University

*Department of Pediatrics, College of Oriental Medicine, Wonkwang University

**College of Oriental Medicine, Wonkwang University

Objective : To demonstrate of regulatory effect of atopic allergic regulation by *Chungsangbangpoong-Tang*(CBT), This experiment was studied.

Methods : The author investigated a possible effect of CBT on cytokines production using human T cell line (MOLT-4) or human mast cell line (HMC-1). In addition, the author investigated whether CBT has inhibitory effects on compound 48/80- induced histamine release from rat peritoneal mast cells (RPMC) and compound 48/80-induced ear swelling in ICR mice.

Results : CBT (0.01 mg/ml)-containing medium in stimulated culture supernatants significantly increased IL-2 secretion compared with untreated MOLT-4, whereas CBT (0.01-1.0 mg/ml)-containing medium in stimulated culture supernatants significantly decreased IL-4 secretion compared with untreated MOLT-4. Significant reduced levels of IL-6 and TNF- α were observed in the HMC-1 with CBT ($P<0.05$). CBT did not inhibit the histamine release from the RPMC but inhibit ear swelling response.

Conclusion : These results suggest that CBT contributes to the treatment of atopic allergic reactions, such as atopic dermatitis and that its action may be due to regulation of cytokine production.

Key Words : atopic allergic regulation, *Chungsangbangpoong-Tang*, cytokine production

접 수 : 2004년 11월 13일, 채택일자: 2004년 12월 13일

교신저자 : 진경선, 전북 전주시 송천동 송천주공아파트 126동 1501호

(Tel: 063-254-3698, E-mail: aromi31@hanmail.net)

I. 緒 論

淸上防風湯은 《古今醫鑑》^{1,2)}에 “淸上焦火 治頭面生瘡癩 風熱毒”이라 하여 습열성 피부질환, 피부소양증, 습진, 아토피피부염 등 알레르기성 피부질환에 응용되어온 처방이다^{3,4)}.

아토피 피부염은 알레르기성 습진, 소아습진, 범발성신경피부염, Besnier소양증으로 불리우는 염증성 피부질환으로 소양감, 홍반, 삼출, 태선화 등의 증상이 나타나며, 한의학에서 奶癬, 胎斂瘡, 胎熱, 胎癬, 濕疹, 濕瘡에 속한다³⁻⁶⁾. ‘아토피’ 용어는 1923년 Cocar가 처음 사용하였는데, 아토피는 흔한 알레르겐(common allergens)에 대해 Ig E항체를 생산하는 유전적 소인이라 정의된다⁷⁾. 아토피성 피부염은 태선이나 건선 피부박리와 특징적이며 만성적이면서도 재발되는 염증성 피부 질환으로서 건선 피부에서 더 심하게 나타나며 피부 감염이 일어나기도 한다⁶⁾.

Th 세포는 다양한 세포활성물질을 분비하면서 면역반응을 조절하는데 중요한 역할을 한다. 최근 인체의 아토피성 피부염을 Th1과 Th2형의 세포활성물질의 역할과 관련성에 초점을 맞추고 있는데⁸⁾, Th1세포에서 분비하는 IFN- γ , IL-2, IL-12 등의 Th1 세포활성물질은 세포성 매개 면역 반응을 증진시키고 Th2 세포에서 분비하는 IL-4, IL-5과 IL-13 등의 Th2 세포활성물질은 체액성 면역 반응을 증진시켜 IgE 생성과 아토피성 피부염에 특징적인 세포 활성 물질로 알려져 있다^{11,12)}.

비만세포는 아토피성 피부염과 같은 다양한 염증성 피부질환의 병인론에 관여하며 피부에 존재하면서 IL-6와 종양괴사인자(tumor ne-

crisis factor, TNF)- α 와 같은 세포 활성 물질을 분비한다^{11,12)}. 인간 비만 세포는 IL-6와 TNF- α 는 물론이고 IL-8¹³⁾과 IL-13¹⁴⁾을 포함한 다양한 다른 세포활성물질을 분비한다. 이런 세포활성물질의 분비는 많은 염증성 피부 질환의 예후에 결정적인 영향을 미친다¹⁵⁾. 비만세포는 면역학적 또는 비면역학적 자극으로 활성화 된 후 히스타민이나 β -헥사사미니 데이즈, 프로테아제, 아데노신, 가수분해 효소와 프로테오글리칸을 포함한 다양한 매개물질을 분비한다. 히스타민 이외의 비만세포 전달물질들이 아토피성 피부염을 앓고 있는 환자의 경우 compound 48/80에 의해 유도되는 건선과 관련이 있다는 보고가 있다¹⁶⁾. 히스타민은 비만세포에서 중요한 매개물질로서 혈관 투과, 기관지나 장내 근육의 수축 및 조직의 부종과 관련하여 즉각적인 알러지성 염증반응에 중요한 역할을 한다.

최근에는 임 등¹⁷⁾이 소아 아토피 피부염의 병인 중 하나로 알려진 포도상 구균의독소에 대한 IgE의 연구를, 이¹⁸⁾와 김¹⁹⁾은 아토피 피부염 환자에서 IFN- γ 가 유의하게 감소되어 있음을 연구하였고, 고 등²⁰⁾은 아토피 피부염 환자에서 IL-10, TNF- β 유전자 다형성을 분석하여 발생기전을 연구보고하였으며, 이²¹⁾는 加味荊芥蓮翹湯이 중이강 삼출액내 IL-2, 4를 증가시키고 IL-6, TNF- α 의 생성을 감소시켜 알레르기성 체질에 반복되는 재발성 삼출성 중이염 치료에 유효함을 보고하였고, 권³⁾은 加味當歸飲子가 IL-2를 증가시키고 IL-8, 13과 TNF- α 의 분비를 억제하여 아토피 피부염 치료에 유효함을 보고하였다. 그러나 淸上防風湯의 아토피성 알레르기 반응 조절 효과에 미치는 한방적 치료 연구는 아직 보고되지 않았다.

이에 저자는 최근 급격한 경제발전과 산업

화에 따른 주식생활의 변화로 인한 실증의 아토피질환도 많다고 사료되어 본 연구에서는 임상에서 실증의 알레르기성 피부질환에 응용되는 清上防風湯으로 아토피성 알레르기 반응에 미치는 효과를 분석하기 위하여 인간 T 세포주인 MOLT-4 세포에서 phytohemagglutinin (PHA) 자극에 의한 Th1 의존성 세포활성물질인 IL-2와 Th2 의존성 세포활성물질인 IL-4의 분비 변화 및 인간 비만세포주인 HMC-1 세포에서 phorbol myristate acetate (PMA)와 A23187로 유도된 IL-6와 TNF- α 의 분비 변화를 분석하였다. 또한 compound 48/80으로 활성화시킨 쥐의 복강 비만 세포에서 히스타민 분비와 耳介부종반응에 미치는 실험을 통해 유의성 있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 材料 및 方法

1. 藥材

實驗에 사용된 藥材는 원광대학교 부속 전주한방병원에서 구입, 정선하였으며 清上防風湯을 약탕기에 증류수를 넣고 약 3시간 가량 달여 여과했다. 여과액은 freeze dryer를 이용하여 29.52g을 동결건조했다(14%). 處方的 내용과 1첩 분량은 다음과 같다(Table 1).

2. IL-2, IL-4 分泌의 測定

MOLT-4세포의 배양액 내에 분비된 IL-2, IL-4의 측정은 Kim et al²²⁾이 기술한 방법에 준하여 약간 변형된 ELISA(enzyme-linked immunosorbent assay)로 실시했다. 즉 anti-

Table 1. 清上防風湯(Chungsangbangpoong-Tang)

藥名	生藥名	學名	量(g)
防風	Ledebouriellae Radix	<i>Saposhnikovia divaricata Schischkin</i>	3.75
白芷	Angelicae Dahuricae Radix	<i>Angelica dahurica Benth et Hook</i>	3
連翹	Forsythiae Fructus	<i>Forsythia koreana Nakai</i>	3
桔梗	Platycodi Radix	<i>Platycodon grandiflorum A. de Candolle</i>	3
黃芩	Scutellariae Radix	<i>Scutellaria baicalensis Georgi</i>	2.62
川芎	Cnidii Rhizoma	<i>Cnidium officinale Makino</i>	2.62
荊芥	Schizonepetae Herba	<i>Schizonepeta tenuifolia Briquet</i>	1.88
梔子	Gardeniae Fructus	<i>Gardenia jasminoides Ellis</i>	1.88
黃蓮	Coptidis Rhizoma	<i>Coptis japonica Makino</i>	1.88
枳殼	Aurantii Fructus	<i>Citrus aurantium L.</i>	1.88
薄荷	Menthae Herba	<i>Mentha arvensis var. piperascens Malinvaud</i>	1.88
甘草	Glycyrrhizac Radix	<i>Glycyrrhiza glabra L., G. uralensis Fisher</i>	1.13
竹瀝	Bambusac Caulis in Liquamen	<i>Phyllostachys nigra Munro var. henonis Stapf</i>	1 ml
Total amount			29.52

human IL-2, IL-4 capture 단클론 항체를 96-well plate에 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 코팅하고 4°C에서 12시간 방치했다. 코팅 후 비 특이적 결합 부위를 막기 위하여 2% bovine serum albumin (BSA)를 함유한 phosphate-buffered saline (PBS)로 구성된 blocking buffer를 첨가하여 37°C에서 2시간 동안 방치했다. 다시 0.05% tween 20 을 함유한 PBS로 4회 세척 후 재조합 사람 IL-2, IL-4 표준액과 각 검체의 배양 상등액을 각 well 에 100 μl 씩 부가하여 37°C에서 2시간 동안 방치했다. 다시 0.05% tween 20 을 함유한 PBS로 4회 세척 후 biotinylated anti-human IL-2, IL-4는 1% BSA를 함유한 PBS를 이용하여 0.05 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도로 희석한 후 well에 처리하여 37°C에서 2시간 동안 방치했다. 다시 washing buffer로 7회 세척한 후 avidin-conjugated enzyme 을 2.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도로 각 well에 처리한 다음 37°C에서 30분 방치한 후 7회 세척했다. ABTS 기질액을 각 well 에 100 μl 씩 가하여 10 분간 발색을 유도한 다음 ELISA reader를 이용하여 405 nm 파장에서 IL-2와 IL-4의 양을 측정했다.

3. IL-6, TNF- α 分泌의 測定

HMC-1 세포의 배양액 내에 분비된 IL-6, TNF- α 의 측정은 전술한 방법에 준하여 ELISA로 실시했다. 즉 각각의 anti-human IL-6, TNF- α , capture 단클론 항체를 96-well plate 에 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 코팅하고 4°C에서 12시간 방치했다. 코팅 후 비특이적 결합부위를 막기 위하여 2% BSA를 함유한 PBS로 구성된 blocking buffer를 첨가하여 37°C에서 2시간 동안 방치했다. 다시 0.05% tween 20 을 함유한 PBS로 4회 세척 후 재조합 사람

IL-6, TNF- α 표준액과 각 검체의 배양 상등액을 각 well 에 100 μl 씩 부가하여 37°C에서 2시간 동안 방치했다. 다시 0.05% tween 20을 함유한 PBS로 4회 세척 후 biotinylated anti-human IL-6, TNF- α 는 1% BSA를 함유한 PBS를 이용하여 0.05 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도로 희석한 후 well에 처리하여 37°C에서 2시간 동안 방치했다. 다시 washing buffer로 7회 세척한 후 avidin-conjugated enzyme을 2.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도로 각 well에 처리한 다음 37°C에서 30분 방치한 후 7회 세척했다. ABTS 기질액을 각 well 에 100 μl 씩 가하여 10 분간 발색을 유도한 다음 ELISA reader를 이용하여 405 nm 파장에서 IL-6, TNF- α 의 양을 측정했다.

4. RPMC 分離

특이적 병원체가 없는 Wistar 계 흰쥐(대한 실험동물센터, 음성)를 에테르로 마취시켜 해부한 후, 완충액(1x PBS, 1% FBS, 10 U heparin) 20 ml를 주입하여 2분 정도 마사지했다. 완충액을 수거하여 1,500 rpm에서 5분간 원심분리하고 22.5% metrizamide(density, 1.120g/ml)로 비만세포를 분리했다. 세포수를 세어 2×10^5 cells/sample로 분주한 다음 37°C incubator에서 안정화시킨 후 실험했다^{23,24}.

5. Histamine assay

시료 상등액 500 μl , 0.1 N HCl, 60% perchloric acid 50 μl 를 넣어 혼합한 후 1,500 rpm에서 20분 원심 분리했다. 상등액 800 μl 와 5 N NaOH, N-butanol, NaCl을 넣고 20분 이상 섞어준 후, 원심 분리했다. Butanol

총 8 ml, 0.1 N HCl, n-heptane을 섞은 다음 원심 분리하고 밀층 2ml를 채취하여 620nm에서 fluorometer로 읽었다.

6. 耳介浮腫反應 (ear swelling reponse)

Compound 48/80을 PBS에 녹인 후 4~6 주령의 체중 25~35 g인 ICR계 흰쥐를 사용하여 실험하였다. 清上防風湯을 농도별로 (0.01, 0.1, 1g/kg) 경구 투여한 후 1 시간 동안 반응시켰다. 그 후 마취시켜서 흰쥐의 귀 두께를 측정하고 compound 48/80 (100 µg/site)을 미세 주사기를 사용하여 쥐 귀 피하 내부에 주입하였다. 40 분 후에 이개 부종반응이 일어난 부위의 귀 두께를 측정하여 compound 48/80 주입 전후의 두께변화를 조사하였다.

7. 統計學的 分析

실험결과는 mean±S.E.M.으로 표시하였으며 independent t-test를 실시하여 유의성을 검증했다 (*, $p < 0.05$).

Ⅲ. 結 果

1. 清上防風湯의 자극된 MOLT-4 세포에서 IL-2 分泌 調節 效果

清上防風湯에 의한 Th1 의존성 세포활성 물질인 IL-2 분비에 미치는 영향을 분석하기 위해 MOLT-4 세포를 24시간 동안 PHA(10 µg/ml)로 자극하여 분비되는 IL-2의 양을 측정했다. 다양한 농도의 清上防風湯을 PHA 자극 30분전에 처리한 결과, 清上防風湯은 Fig. 1에 나타낸 바와 같이 0.1 mg/ml보다는 0.01 mg/ml의 농도에서 유의성있게 IL-2의 분비를 증가시키는 결과를 얻었다. 이 때 清上防風湯은 (0.01 mg/ml) IL-2의 분비를 약 2 배 증가시켰다. 고농도인 1 mg/ml의 농도에서도 IL-2가 많이 분비되었지만 통계적인 유의성은 없었다.

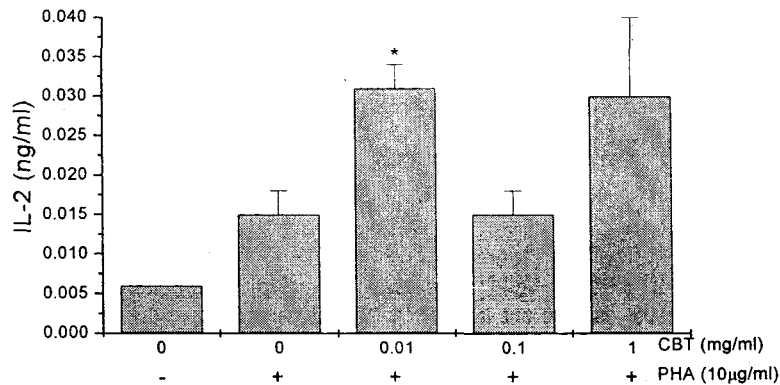


Fig. 1. Effect of CBT on IL-2 secretion from MOLT-4. MOLT-4 (3×10^5 cells/ml) were stimulated with PHA. IL-2 levels in culture supernatant were measured using ELISA. *, $p < 0.05$ is different from PHA treated value.

2. 淸上防風湯의 자극된 MOLT-4세포에서 IL-4 分泌 調節 效果

淸上防風湯이 Th2 의존성 세포활성물질인 IL-4 분비에 미치는 영향을 분석하고자 MOLT-4 세포를 PHA(10 $\mu\text{g/ml}$)로 자극한 후, PHA에 의해 분비되는 IL-4의 양을 측정했다. 다양한 농도의 淸上防風湯을 PHA 자극 30분전에 처리한 결과, 淸上防風湯은 Fig. 2에 나타낸 바와 같이 각 농도에서 유의성있게 IL-4의 분비를 현저하게 감소시키는 결과를 얻었다. 0.1 mg/ml 보다는 0.01 mg/ml의 농도에서 유의성있게 더 감소시키는 결과를 얻었으며 淸上防風湯은 (0.01 mg/ml) IL-4의 분비를 75% 감소시켰으며 각각의 농도에서 IL-2의 분비와 반대 경향을 보였다.

3. 淸上防風湯의 자극된 HMC-1세포에서 IL-6 分泌 調節 效果

HMC-1 세포를 PMA (50 nM)와 칼슘이온 운반체인 A23187 (1 μM)로 자극하여 PMA와 A23187에 의해 유도되는 IL-6의 분비에 미치는 淸上防風湯의 효과를 분석하기 위하여 淸上防風湯을 (0.01 mg/ml, 0.1 mg/ml, 1 mg/ml) 30분간 前 처리했다. Fig. 3에 나타낸 것처럼, 淸上防風湯은 IL-6의 분비를 모두 유의성 있게 억제하는 결과를 나타냈다.

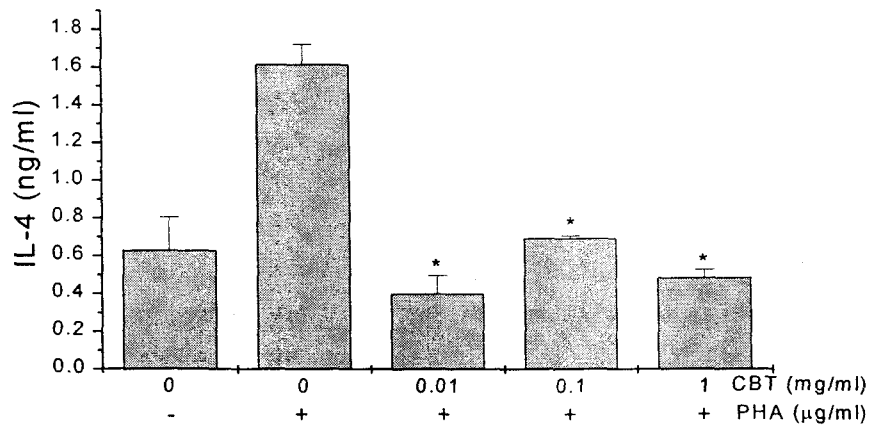


Fig. 2. Effect of CBT on IL-4 secretion from MOLT-4. MOLT-4 (3×10^5 cells/ml) were stimulated with PHA (10 $\mu\text{g/ml}$) IL-4 levels in culture supernatant was measured using ELISA. *, $p < 0.05$ is different from PHA treated value.

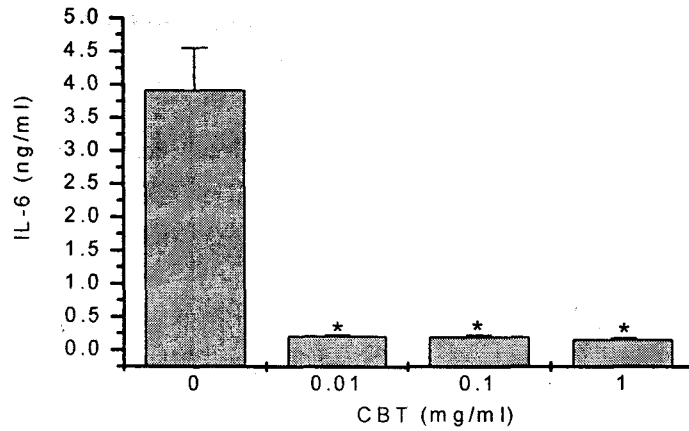


Fig. 3. Effect of CBT on PMA and A23187-induced IL-6 release from HMC-1. Cells (3×10^5 cells/ml) were incubated with or without CBT for 30 min and then stimulated with PMA (50 nM) plus A23187 (1 μ M) for 8 h. Cell free supernatant was measured by ELISA. *, $p < 0.05$ compared to PMA and A23187 stimulation.

4. 清上防風湯의 자극된 HMC-1세포에서 TNF- α 分泌調節效果

HMC-1 세포를 PMA (50 nM)와 칼슘 이온 운반체인 A23187 (1 μ M)로 자극하여 PMA와 A23187에 의해 유도되는 TNF- α 의 분비에 미치는 清上防風湯 (0.01 mg/ml, 0.1

mg/ml, 1 mg/ml)의 효과를 분석하기 위하여 清上防風湯을 30분간 전 처리했다. Fig. 4에 보인 것처럼, 清上防風湯은 농도 의존적으로 TNF- α 의 분비를 억제했으며, 0.1 mg/ml과 1 mg/ml의 농도에서는 TNF- α 의 분비를 각각 38.62%, 70.38%씩 유의성있게 억제하는 결과를 나타냈다.

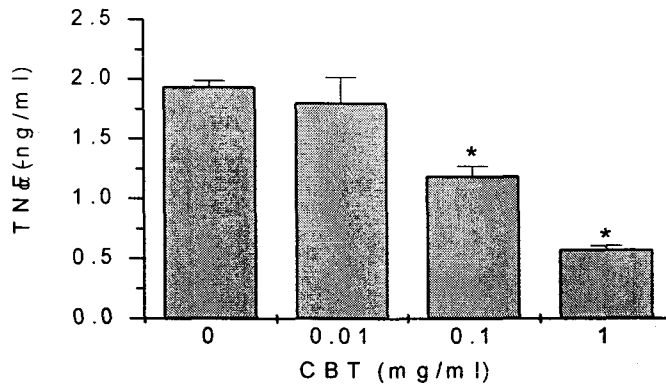


Fig. 4. Effect of CBT on PMA and A23187-induced TNF- α release from HMC-1. Cells (3×10^5 cells/ml) were incubated with or without CBT for 30 min and then stimulated with PMA (50 nM) plus A23187 (1 μ M) for 8h. Cell free supernatant was measured by ELISA. *, $p < 0.05$ compared to PMA and A23187 stimulation.

5. 清上防風湯의 자극된 RPMC에서 히스타민 放出 調節 效果

RPMC에 비 면역학적 자극제인 compound 48/80 처리에 의한 히스타민의 방출에 있어서 清上防風湯의 효과를 분석하기 위하여, 복강 비만세포 (2×10^5 cells/ml)에 清上防風湯을 30분간 전처리 한 후 compound 48/80을 37 °C에서 15분간 처리했다. 그 결과 清上防風湯은 0.01 mg/ml에서 compound 48/80에 의해 유도되는 히스타민의 분비를 13.3% 억제할 뿐, 고 농도에서는 효과를 나타내지 못했다 (Table 2).

6. 清上防風湯의 compound 48/80에 의해 유도되는 耳介 浮腫 反應 調節 效果

마지막으로 compound 48/80 ($100 \mu\text{g}/\text{site}$)을 마우스에 피내 주사하여 이개 부종 반응을 일으켜 清上防風湯의 효과를 관찰하였다. compound 48/80 주입 1시간 전에 清上防風湯을 마우스에 경구 투여한 후 40분 후에 주입 전후의 마우스 귀의 두께 변화를 측정하였다. 清上防風湯 (0.01 g/kg, 0.1 g/kg, 1 g/kg)은 농도 의존적으로 이개 부종 반응을 억제하였다 (Fig. 5). 특히 0.1 g/kg과 1 g/kg 농도에서는 부종 억제 효과가 현저했다($p < 0.05$).

Table 2. Effect of CBT on Compound 48/80-induced Histamine Release from RPMCs.

CBT (mg/ml)	Inhibition rate (%)
None	-
0.01	13.3%
0.1	-
1	-

RPMCs (2×10^5 cells) were pre-incubated with various concentrations of CBT at 37 °C for 10 min prior to incubation with compound 48/80.

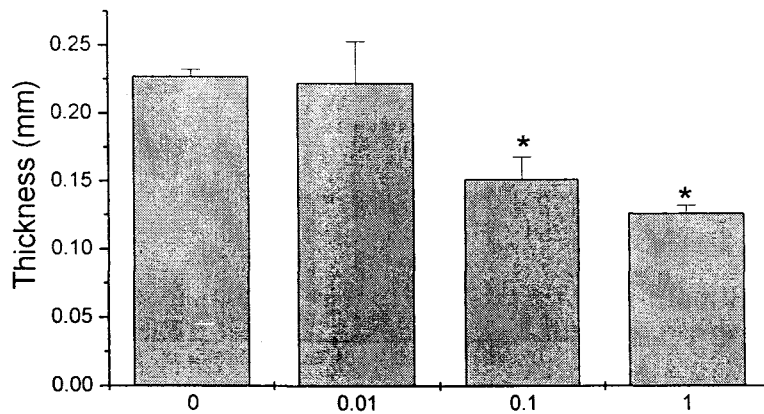


Fig. 5. Effect of CBT on ear swelling response. CBT (0.01, 0.1, 1 g/kg) was orally administered 1h prior to compound 48/80 application. The thickness of ear swelling was determined with a digimatic micrometer within 40 min. *, $p < 0.05$: significantly different from the saline value.

IV. 考 察

아토피 피부염은 영아습진 또는 알레르기성 습진이라고도 하며 영아에서 가장 흔한 알레르기성 질환이며, 홍반, 부종, 심한 소양감, 삼출, 부스럼딱지와 껍질을 특징으로 하는 염증성 피부질환이다²⁵⁾.

아토피란 ‘부적당한’ 또는 ‘특이한’ 의 의미로 1925년 Cocar가 쓰기 시작했으며 Sulzburger가 아토피 피부염이라 이름한 이래 흔히 사용되고 있다²⁶⁾.

유전적인 소인이 관여하며 아토피 피부염을 가진 소아는 31%에서 알레르기성 비염과 천식으로 발전하는 경향이 있다. 영아기에서는 남자보다 여자에서 발생빈도가 높고 유아기에서는 3:2의 비율로 남자에게 더 많다고 한다²⁷⁾. 대개 4세 이후 자연 치유가 되었으나, 최근 산업화로 인한 여러 환경요인과 잘못된 식습관 및 스트레스 등으로 약 50% 정도가 만성화되어 성인형 아토피 피부염으로 진행되고 있다^{28,29)}.

아토피 증상은 일반적으로 연령에 따라 3기로 나뉜다²⁷⁾. 유아기(2개월-2세)는 보통 2-3개월에서 시작하는데 습진 양상으로 뺨, 이마, 두피에 호발한다. 체간이나 사지에도 병변이 올 수 있으며 유아는 흔히 손가락을 빨기 때문에 손가락에 많고 四肢는 屈側보다 伸側에 많다. 그러나 75%는 2세 내에 소실되는 것이 보통이다. 소아기(2세-10세)는 유아기의 25% 정도에서 다시 발병하는데 아급성으로 삼출은 많지 않으나 산재하여 발생하며 안면은 오히려 덜 침범하나 四肢의 屈側 즉 前肘窩와 膝窩부위가 많고 만성화하여 鱗屑과 苔癬化가 특히 겨울에 흔하다. 사춘기 및 성인형(10대 초-20대 초)은 苔癬化나 搔痒이 주증이며 전신

적으로 피부의 굴절부위 및 눈에서 주로 발생하며 항문주위에 소양감을 동반하기도 한다.

치료는 피부의 다형성 변화, 소양감, 아토피성(천식, 알레르기성 비염, 아토피성 비염) 등의 가족력, 혈청 IgE농도의 상승, 호발부위 및 발진양상, 말초혈관내의 호산구 증가소견 등을 참고한다²⁷⁾.

韓醫學에서는 奶癬, 胎斂瘡, 胎熱, 胎癬, 濕疹, 濕瘡 등으로 보았는데 모두 瘡, 癬, 風을 포괄한다³⁰⁾. 巢의 《諸病源候論·小兒雜病諸候》³¹⁾에서 “小兒面上癬皮如甲錯起乾燥, 謂之乳癬”이라고 기록한 이래, 陳의 《外科正宗》³²⁾에서 “因兒在胎中, 母食五辛, 父餐灸燻, 遺熱與兒”가 원인이 되며 그 임상표현은 “頭面遍身發奶癬, 流滋成片, 睡臥不安, 瘙痒不絕”이라고 하였다. 吳의 《醫宗金鑑·外科心法要訣》³³⁾에서 “俱服消風導赤散, 乾者抹潤膚膏, 濕者用嫩黃白頭末, 與滑石等份撒之. 膿痂過厚, 再以潤肌膏潤之. 又有熱極皮膚火熱, 紅暈成片. 遊走狀如火丹, 治法不宜收斂, 只宜外發, 宜服五福化毒丹, 亦以潤肌膏抹之, 痒甚者, 俱用烏雲膏搽之”라 하여 乾, 濕 2종으로 변증하여 內外兼治를 하였다³⁰⁾.

中醫治療에서는 《中醫兒科臨床手冊》³⁴⁾에서 濕熱蘊蒸型和 脾虛血虧型으로 나누어 濕熱蘊蒸型은 清熱利濕祛風하는 萹薺滲濕湯加減과 외용으로 菊花 혹은 蒲公英煎湯을, 脾虛血虧型은 健脾燥濕 養血祛風하는 平胃散合四物湯加減과 외용으로 蛋黃油塗敷 혹은 青黛膏를 응용하였다.

또 《中醫兒科學》³⁵⁾에서는 辨證을 濕熱型, 血熱型, 濕阻型, 血燥型으로 四分하여 각각 清熱利濕, 涼血清熱利濕, 健胃除濕, 養血祛風, 清熱化濕으로 세분하여 치료하였고, 《實用中醫外科學》³⁶⁾에서는 奶癬을 영아습진에 귀속시켰고 기전을 “先天不足 稟性不耐 脾

失健運 濕熱内生 復感風濕熱邪 蘊積肌膚而成”한다고 하여 보다 현대적인 개념과 일치시켰고 養血 祛風 清火 潛鎮하는 처방을 응용하였다²⁶⁾.

종합하여 보면, 아토피 피부염은 발현양상에 따라 乾, 濕 2종으로, 병인병기에 따라 급성기와 만성기로, 발병시기에 따라 유아기, 소아기, 사춘기 및 성인기로, 치료방법에 따라 內治, 外治, 內外兼治로 나누며 內治法은 크게 濕熱俱盛型, 脾虛濕盛型, 血虛風燥型으로 분류된다^{3,27,30)}.

이에 근거하여 血熱, 風濕熱의 병리상태³⁷⁾가 아토피 피부염의 실증 병리에 부합한다고 생각하여 실험연구의 기본처방으로 清上防風湯을 선택하였다.

清上防風湯은 《古今醫鑑》에 “清上焦火 治頭面生瘡癩 風熱毒”^{1,2)}이라 기재된 처방으로 그 구성약물은 防風, 白芷, 蓮翹, 桔梗, 黃芩, 川芎, 荊芥, 梔子, 黃連, 枳殼, 薄荷, 竹瀝으로 습열성 피부질환, 피부소양증, 습진 등에 응용되는데, 防風은 肝脾膀胱經에 작용하여 祛風解表 勝濕解痙하는 효능이 있고, 荊芥는 肺肝經으로 작용하여 祛風解表 宣毒透疹하며, 蓮翹는 心肝膽經에 작용하여 清熱解毒 消癰散結하고, 桔梗은 肺胃經에 작용하여 宣肺祛痰 排膿理氣하는 효능이 있고, 黃芩과 黃連은 清熱燥濕하고 梔子는 瀉火除煩利濕하며, 川芎과 白芷는 각각 活血行氣, 消腫止痛 排膿하는 효능이 있는데 모두 頭面으로 引經하며, 枳殼과 薄荷는 理氣작용을 하고, 甘草는 十二經에 작용하여 調和諸藥하는 효능이 있으며 竹瀝은 清火熱痰하는 효능이 있다³⁸⁾.

이 중 荊芥와 蓮翹는 피부알레르기 반응에 우수한 효과가 있고 히스타민 유리 억제율도 높다는 결과가 알려져 있고³⁹⁾, 다른 실험에서도 蓮翹는 염증성 부종, 혈관투과성, TNF- α

생성을 유의성있게 억제한다고 하였다⁴⁰⁾. 또한 桔梗은 혈청내 IgE항체, IgG2a, IL-4, IL-5, IL-13을 유의성있게 감소시키고 IFN- γ 를 증가시켜 알레르기성 염증 억제 효과가 높다고 하였다⁴¹⁾.

즉, 清上防風湯은 血熱, 風濕熱로 인한 알레르기성 피부질환에 응용하는 기본방으로 아토피성 알레르기반응에 미치는 효과를 실험한 결과 자극된 T 세포에서 IL-2의 분비 증가와 IL-4의 분비 감소를 확인하였으며, 비만세포에서 염증성 세포활성물질인 IL-6와 TNF- α 의 분비는 억제하는 것을 관찰했다. 또한 비만세포에서 히스타민의 분비는 유의성있게 억제하지 않았으나, 이개부종반응을 농도 의존적으로 억제하는 결과를 얻었다. 이런 결과는 상세한 작용 기전은 알 수 없으나 아토피성 알레르기 반응 조절 효과를 인식할 수 있는 분명한 자료임을 의미한다.

아토피성 피부염은 복잡한 면역 조절 능력의 결함을 갖는 병인을 나타내는 만성 염증성 피부질환이다. Th1과 Th2형 세포활성물질의 변화 관찰은 아토피성 피부염의 해석을 위한 중요한 지표이다. 일반적으로 IFN- γ , IL-2, IL-12 및 TNF- α 와 같은 Th1형 세포활성물질들은 주로 세포성 면역 반응에, Th2형 세포활성물질인 IL-4, IL-5, IL-6 및 IL-13은 체액성 면역반응에 의한 IgE 생성 등을 촉진한다. 특히 아토피성 피부 질환은 Th1 세포활성물질의 감소와 IgE의 과량 생성에 의한 과민반응의 증가가 특징인 다인성 질환이다⁴²⁾. 아토피성 피부염 환자들로부터 말초혈액 단핵세포(PBMCs)를 분리하여 PHA와 PMA로 자극 시 IL-2의 감소와 호산구의 활성화 그리고 높은 혈청 IgE 농도는 Th1과 Th2 세포들의 수와 활성도의 불균형이 아토피성 피부염의 병인에 중요 인자인 것을 알 수 있다⁴³⁾. 최근

보고에 따르면 혈청의 IgE 농도와 아토피 피부염과의 밀접한 상관성이 있다는 보고가 있다. 아토피 피부염을 앓고 있는 환자의 혈청에 IgE 농도가 정상인과 비교하여 더 증가되어 있다는 보고가 있으며 소아의 혈청 IgE 농도가 증가되어 있을 시 더 심각한 아토피 피부염의 위험성이 있다는 보고가 있다⁴⁴⁾.

이와 관련하여 Yoshizawa 등의 보고에 따르면 IL-2의 분비와 아토피 환자의 혈청 IgE 농도와는 유의성있게 역의 관계가 성립한다는 보고가 있다. 이러한 IgE 농도와 IL-2의 분비와 관계를 바탕으로 IgE 생성이 IL-2에 의해 억제되는 것이다⁴⁵⁾. 또한 IL-4는 Th2 세포활성물질로서 B 세포에 작용하고 IgE 생성을 자극할 뿐만 아니라 면역 조절 기능을 가지고 있어서 Th1/Th2 불균형인 아토피 피부염에 중요한 역할을 한다⁴⁶⁾. 본 연구에서 清上防風湯은 IL-2의 분비를 증가시키고 IL-4의 분비는 억제하는 것을 확인하여 세포활성물질의 생성 조절에 의한 아토피성 피부 반응 조절에 효과를 나타낼 수 있을 것으로 사료된다. 또한 清上防風湯의 인체적용 실험 등을 통한 IgE 생성 조절에 미치는 효과 등을 연구할 필요성이 있다.

즉각형 알레르기 반응에서 비만세포의 중요성은 잘 알려져 있지만, 비만세포가 아토피성 피부염의 진행 등과의 관여 여부는 분명하지 않다. 하지만 비만세포로부터 다량 분비되어 다른 면역 담당세포들의 활성화 등에 밀접한 영향을 미치는 세포활성물질들이 알려져 그 관련성을 뒷받침하고 있다⁴⁷⁻⁵⁰⁾. 비만세포로부터 분비되는 이들 세포활성물질들의 분비 조절은 각종 알레르기성 염증질환 치료를 위한 유용한 전략이 될 수 있다. 자극된 비만세포에서 방출되는 세포 활성물질들로 IL-1, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, TNF- α , granulo-

cyte-macrophage colony-stimulating factor, IFN- γ 등이 있다. IL-6는 B세포가 Ig 생성을 유발하도록 하는 다면적인 세포활성물질이다⁵¹⁾. IL-6는 IgE의 생성을 증가시키고 알레르기와 관련된 Th2 세포활성물질 환경에 우세하게 직접 혹은 간접적으로 (IL-4의 유도를 경유하여) 작용한다. 또한 McHugh 등은 다량의 IL-6의 생성이 아토피 환자가 특정 항원에 대한 면역 반응을 일으킬 때 특징적으로 나타난다고 보고하고 있다⁵²⁾. 또한 TNF- α 는 아토피성 피부염 환자에서 증가되어 있고, E-selectin, intercellular adhesion molecule-1, vascular cell adhesion molecule-1과 같은 접착분자들의 발현 유도에 의한 염증의 진행에 직접적인 영향을 미친다⁵³⁻⁵⁹⁾. 비만세포는 적절한 자극에 의해 다양한 화학적 매개물질들을 방출한다. 가장 잘 알려진 히스타민에는 단백분해효소 (tryptase, chymase, cathepsin G, carboxypeptidase), adenosine, acid hydrolases, proteoglycans 등이 있다. 비만세포 내에서 빠르게 합성되는 매개물질들로 prostaglandin D2, leukotriene C4와 혈소판 활성화 인자와 같은 대사 산물들도 있다⁶⁰⁾. 히스타민은 비만세포에서 중요한 매개물질로서 혈관 투과, 기관지나 장내 근육의 수축내지는 조직의 부종과 관련하여 즉각적인 알레르기성 염증반응에 중요한 역할을 한다⁶¹⁾. HMC-1 비만 세포주는 세포활성물질의 분비 조절 연구에 유용한 세포로 본 논문에서 규명한 清上防風湯의 효과는 장차 임상적 응용에 중요한 근거 자료가 될 것으로 사료된다. 하지만 지속적인 작용 기전 등에 관한 많은 연구가 필요할 것으로 생각한다.

결론적으로 본 연구에서는 清上防風湯은 MOLT-4 세포에서 낮은 농도에서 Th1형 세포활성물질인 IL-2의 분비를 증가시키고 Th2

형 세포활성물질인 IL-4의 분비를 억제시켰으며, 비만세포에서는 염증성 세포활성물질들인 IL-6와 TNF- α 의 분비를 농도 의존적으로 억제시키는 것을 확인하였다. 따라서 본 논문은 그동안 임상적으로 유용하게 사용되어 온 淸上防風湯이 Th1/Th2 세포활성물질의 균형을 유지하고 비만세포에서 염증성 세포활성물질의 분비를 억제하고 耳介부종을 억제함으로써 실증의 아토피 피부염에 사용하는 근거 자료로서 그 중요성이 있으며 향후 임상치료의 치료율을 제고하기 위하여 淸上防風加味處方이나 辨證에 대한 임상연구가 계속 진행되어야 할 것으로 사료된다.

V. 結 論

본 연구에서는 淸上防風湯의 아토피성 알레르기 반응에 미치는 효과를 분석하기 위하여 인간 T 세포주인 MOLT-4 세포에서 Th1 의존성 세포활성물질인 IL-2와 Th2 의존성 세포활성물질인 IL-4의 분비 변화 및 인간 비만세포주인 HMC-1 세포에서 IL-6와 TNF- α 의 분비 변화를 분석하고, 쥐 비만 세포에서 히스타민 분비와 이개부종반응에 미치는 효과를 실험한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 淸上防風湯은 0.01 mg/ml의 농도에서 자극된 T 세포로부터 IL-2의 분비를 유의성있게 증가시키는 결과를 얻었으며, 고농도인 1 mg/ml의 농도에서도 증가되었으나 통계적인 유의성은 없었다.
2. 淸上防風湯은 각 농도에서 자극된 T 세포로부터 IL-4의 분비를 현저하게 감소

시켰으며, 0.1 mg/ml 보다는 0.01 mg/ml의 농도에서 더욱 감소시키는 결과를 얻었다.

3. 淸上防風湯 (0.01, 0.1, 1 mg/ml)은 자극된 비만세포로부터 IL-6의 분비를 모두 유의성 있게 억제했다.
4. 淸上防風湯은 농도 의존적으로 자극된 비만세포로부터 TNF- α 의 분비를 억제했으며, 0.1과 1 mg/ml의 농도에서는 TNF- α 의 분비를 각각 38.62%, 70.38% 씩 유의성있게 억제하였다.
5. 淸上防風湯은 0.01 mg/ml에서 compound 48/80에 의해 유도되는 히스타민의 분비를 13.3% 억제하였으나 고 농도에서는 효과를 나타내지 못했다.
6. 淸上防風湯 (0.01, 0.1, 1 g/kg)은 농도 의존적으로 마우스 이개 부종 반응을 억제하였다. 특히 0.1과 1 g/kg 농도에서는 부종 억제 효과가 현저했다.

이상의 결과는 淸上防風湯을 임상적으로 아토피성 알레르기 반응 조절에 응용할 수 있음을 의미한다.

參考文獻

1. 공신찬집. 중화의학 집성 제16책 종합류5 고금의감. 북경:중의고적출판사. 1999:149.
2. 허준저. 동의보감. 서울:법민문화사. 1999: 516.
3. 권미원. 가미당귀음자의 세포활성물질 생성조절효과. 원광대학교 대학원. 2002.
4. 구본홍. 새한방처방해설. 서울:보건신보.

- 1985:91-5.
5. 강석영. 알레르기질환 임상학의 실제. 서울: 일조각. 1988:293-7.
 6. Rudikoff D, Lebowitz M. Atopic dermatitis. *Lancet* 3. 1998;351:1715-21.
 7. 대한천식 및 알레르기학회. 천식과 알레르기질환. 서울:군자출판사. 2002:25.
 8. Leung DYM. Atopic dermatitis. new insights and opportunities for therapeutic intervention. *J All Clin Immunol*. 2000;105:860-76.
 9. Abbas AK, Murphy KM, Sher A. Functional diversity of helper T lymphocytes. *Nature*. 1996;383:787-93.
 10. Romagnani S, Parronchi P, DELios MM, Romagnani P, Annuziato F, Piccinni MP, Manetti R, Sampognaro S, Mavilia C, De Carli M, Maggi E, Del Prete GF. An update on human Th-1 and Th-2 cells. *Int Arch All Immunol*. 1997;113:153-6.
 11. Walsh LJ, Trinchieri G, Waldorf HA, Whitaker D, Murphy GF. Human dermal mast cells contain and release tumor necrosis factor α , which induces endothelial leukocyte adhesion molecule 1. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1991;88:4220-4.
 12. Lippert U, Moller A, Welker P, Artuc M, Henz BM. Inhibition of cytokine secretion from human leukemic mast cells and basophils by H1- and H2-receptor antagonists. *Exp Dermatol*. 2000;9:118-24.
 13. Moller A, Lippert U, Lessmann D. Human mast cells produce IL-8. *J Immunol*. 1993;151:3261-6.
 14. Burd PR, Thompson WC, Max EE, Mills FC. Activated mast cells produce interleukin-13. *J Exp Med*. 1995; 181:1373-80.
 15. Ackermann L, Harvima IT. Mast cells of psoriatic and atopic dermatitis skin are positive for TNF- α and their degranulation is associated with expression of ICAM1 in the epidermis. *Arch Dermatol Res*. 1998; 290:353-9.
 16. Rukwied R, Lischetzki G, McGlone F, Heyer G, Schmelz M. Mast cell mediators other than histamine induce pruritus in atopic dermatitis patients. a dermal microdialysis study. *Br J Dermatol*. 2000;142(6):1114-20.
 17. 임용순, 박천옥, 이철현, 송원근. 소아 아토피 피부염에서 포도상구균의 독소 및 혈청 특이 IgE에 관한 연구. *대한피부과학회지*. 2002;49(6):607-15.
 18. 이주홍. 아토피 피부염의 중등도와 혈청 IgE 및 IFN- γ 에 관한 연구. *대한피부과학회지*. 2000;39(10):1067-71.
 19. 김진우. 아토피 피부염 환자에서의 IFN- γ 치료. *대한알레르기학회지*. 1996;16(3): 286-90.
 20. 고보경, 김정수, 한훈, 이권행, 김진우. 아토피 피부염 환자에서 Interleukin-10, Tumor Necrosis Factor-beta(TNF- β) 유전자 다형성에 관한 연구. *대한피부과학회지*, 2002;40(5):488-95.
 21. 이은미. 소아 재발성 삼출성 중이염에 가미형개연교탕이 중이강삼출액내 세포 활성물질에 미치는 영향. *원광대학교 대*

- 학원. 1991.
22. Kim HM, Lee YM. Role of TGF- β 1 on the IgE-dependent anaphylaxis reaction. *J Immunol.* 1999;162:4960-5.
 23. Shin BK, Lee EH, Kim HM. Suppression of L-histidine decarboxylase mRNA expression by methyl-eugenol. *Biochem Biophys Res Commun.* 1997;232:188-91.
 24. Yurt RW, Leid RW, Austen KF. Native heparin from rat peritoneal mast cells. *J Biol Chem.* 1977;252:518-21.
 25. 홍창익. 소아과학. 서울:대한교과서주식회사. 1987;612-4.
 26. 김윤희, 이한철. 아토피성 피부염에 관한 동·서의학적 고찰. *대한한방소아과학회지.* 1993;7(1):121-33.
 27. 이진용, 김덕곤. 아토피 피부염 환자 67명에 대한 임상적 고찰. *대한한방소아과학회지.* 1999;13(2):171-86.
 28. 김정원. 아토피 피부염의 진단과 치료. *대한알레르기학회지.* 1993;13(3):84-90.
 29. 김미정, 이승연. 소아 아토피 피부염에 대한 문헌적 고찰. *대한한방소아과학회지.* 2000;14(2):180.
 30. 박민철, 김진만, 홍철희, 황충연. 아토피 피부염의 동서의학적 문헌 고찰. *대한안이비인후피부과학회지.* 2002;15(1):226-52.
 31. 소원방. 소췌제병원후론. 서울:대성문화사. 1992;251-3.
 32. 진실공. 외과정중. 북경:인민위생출판사. 1983:269.
 33. 오겸. 의종금감. 서울:대성문화사. 1991:459-60.
 34. 상해중의학원부속서광의원. 중의아과임상수책. 상해:상해과학기술출판사. 1986:203-4.
 35. 왕백악, 강육인. 중의아과학. 북경:인민위생출판사. 1984:645.
 36. 고백화. 실용중의외과학. 상해:상해과학기술출판사. 1985:461-4.
 37. 윤용갑. 동의방제와 처방해설. 서울:의성당. 1998:549-50.
 38. 신민교. 임상본초학. 서울:영림사. 1991:249, 279, 308, 310, 322, 385, 393, 507, 521, 523, 528, 639.
 39. 노태석, 노석선. 수종의 한약 추출물이 항 알레르기 반응에 미치는 영향. *대한안이비인후피부과학회지.* 2002;15(1):1-30.
 40. 송운용. 연교의 알레르기성 염증 반응 효과. *원광대학교 대학원.* 2002.
 41. 김성수. 길경에 의한 알레르기 천식 효과에 대한 연구. *원광대학교 대학원.* 2004.
 42. Cooper KD. Atopic dermatitis. Recent trends in pathogenesis and therapy. *J Invest Dermatol.* 1994;102:128-37.
 43. Bunikiwski R, Gerhold K, Brautigam M, Hamelmann E, Renz H, Wahn U. Effect of low-dose cyclosporin A microemulsion on disease severity, interleukin-6, interleukin-8 and tumor necrosis factor alpha production in severe pediatric atopic dermatitis. *Int Arch Allergy Immunol.* 2001;125:344-8.
 44. Laske N, Bunikowski R, Niggemann B. Extraordinarily high serum IgE levels and consequences for atopic phenotypes. *Ann Allergy Asthma Im-*

- munol. 2003;91(2):202-4.
45. Yoshizawa Y, Nomaguchi H, Izaki S, Kitamura K. Serum cytokine levels in atopic dermatitis. *Clin Exp Dermatol.* 2002;27:225-9.
 46. Grewe M, Bruijnzeel-Koomen CAFM, Schopf E, Thepen T, Langeveld-Wildschut AG, Ruzicka T, Krutmann J. A role for Th1 and Th2 cells in the immunopathogenesis of atopic dermatitis. *Immunol Today.* 1998;19:359-61.
 47. Bradding P, Feather IH, Howarth PH. Interleukin 4 is localized to and released by human mast cells. *J Exp Med.* 1992;176:1381-6.
 48. Jaffe JS, Glaum MC, Raible DG. Human lung mast cell IL-5 gene and protein expression. Temporal analysis of upregulation following Ig mediated activation. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 1995;13:665-75.
 49. Walsh LJ, Trinchieri G, Waldorf HA. Human dermal mast cells contain and release tumor necrosis factor α , which induces endothelial leukocyte adhesion molecule 1. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1991;88:4220-4.
 50. Sumito S, Kawai M, Kasajima Y, Hamamoto T. Increased plasma tumor necrosis factor- α concentration in atopic dermatitis. *Arch Dis Child.* 67: 277-9, 1992.
 51. Kishimoto T. The biology of interleukin-6. *Blood.* 1989;74:1-10.
 52. McHugh SM, Wilson AB, Deighton J, Lachmann PJ, Ewan PW. The profiles of interleukin(IL)-2, IL-6, and interferon- γ production by peripheral blood mononuclear cells from housedustmiteallergic patients. A role for IL-6 in allergic disease. *Allergy.* 1994;49:751-9.
 53. Kapp A, Textor A, Krutmann J, Moller A. Immunomodulating cytokines in atopic dermatitis and psoriasis. Production of tumor necrosis factor and lymphotoxin by mononuclear cells in vitro, *Br J Dermatol.* 1990;122:587-92.
 54. Osborn L, Hession C, Tizard R, Vassallo C, Luhowsky S, Chi Rosso G, Lobb R. Direct expression cloning of vascular cell adhesion molecule 1, a cytokine-induced endothelial protein that binds to lymphocytes. *Cell.* 1989;59:1203-11.
 55. Pober JS, Gimbrone MA, Lapierre LA, Mendrick DL, Fiers W, Rothlein R, Springer TA. Overlapping patterns of activation of human endothelial cells by interleukin 1, tumor necrosis factor, and immune interferon. *J Immunol.* 1986;137:1893-6.
 56. Bittlemann D, Casale T. Allergic models and cytokines. *Am J Respir Crit Care Med.* 1994;150:72-6.
 57. de Vries JM, Langeveld-Wildschut EG, van Reijssen FC, Dubios GR, van den Hoek JA, Bihari IC, van Wichen D, de Weger RA, Knol EF, Thepen T, Bruinjeel-koomen CAFM.

- Adhesion molecule expression on skin endothelia in atopic dermatitis: Effects of TNF- α and IL-4. *J Allergy Clin Immunol.* 1998;102:461-8.
58. Baggiolini M, Dewald B, Moser B. Interleukin 8 and related chemotactic cytokines-CXC and CC chemokines. *Adv Immunol.* 1994;55:97-179.
59. Neuber K, Steinbrücke K, Kowalzik L, Kohler I, Ring J. Cytokine-mediated effects of peripheral blood mononuclear cells from patients in a new coculture system. *Br J Dermatol.* 1995;133:750-6.
60. Groves RW, Allen MH, Ross EL, Barker JN, MacDonald DM. Tumor necrosis factor alpha is proinflammatory in normal human skin and modulates cutaneous adhesion molecule expression. *Br J Dermatol.* 1995;132:345-52.
61. Krishnaswamy G, Kelley J, Johnson D, Youngberg G, Stone W, Huang SK, Bieber J, Chi DS. The human mast cell: Functions in physiology and disease. *Front. Biosci.* 2001;6:1109-27.