

흰쥐의 외과적 창상에 대한 黃耆 추출액의 치료효과

한동오 · 김건호 · 최용복¹ · 심인섭 · 이혜정 · 이용근² · 김장현² · 장규태² · 함대현*

경희대학교 동서의학대학원 동서의학과, 1: (주)효성 중앙연구소 BIO연구팀, 2: 동국대학교 분당한방병원 한방소아과학교실

Healing Effects of *Astragali Radix* Extracts on Experimental Open Wounds in Rats

Dong Oh Han, Gun Ho Kim, Yong Bok Choi¹, Insop Shim, Hye Jung Lee, Yong Gheun Lee², Jang Hyun Kim², Gyu Tae Chang², Dae-Hyun Hahm*

Department of East-West Medical Science, Graduate School of East-West Medical Science, Kyung Hee University,

1: Bio Research Team, Central Research Institute, Hyosung Co.,

2: Department of Oriental Pediatrics, Bundang Oriental Hospital, Dongguk University

Inhibition of inflammatory response, acceleration of basal cell growth, and balanced synthesis of extracellular matrix (ECM) are important in healing of cutaneous open wounds. In order to evaluate the healing effects of water extracts of *Radix Astragali* (the root of *Astragalus membranaceus* (Fisch.)) on open wound at early stage, the experimental open wounds were generated on the dorsal sides of SD rats under anesthesia. The boiled-water extracts of *Radix Astragali* (100μl), soaked into an occlusive film dressing were applied once a day for eleven consecutive days. The healing process was assessed by measuring macroscopic appearance and wound areas of the open wounds. The molecular aspects of healing process by *Radix Astragali* extracts were also investigated by Hematoxylin-Eosin (H-E) double staining and immunohistological staining of collagen type I in the healed skin area, implying cell density and linear alignment of the granulation tissue, and ECM synthesis and its remodeling, respectively. The *Astragali radix* extracts were found to significantly accelerate the cutaneous wound healing by suppressing the inflammation and stimulating the basal cell growth in wounded area, as compared to epidermal growth factor (EGF).

Key words : *Astragali Radix*(黃耆), 피부, 창상(創傷), wound repair, healing, collagen type I

서론

산업화의 발달로 인해 평균 수명이 점차 늘어감에 따라 노인성 질환인 욕창과 정맥응혈 등의 만성적인 피부 손상 환자가 증가 할뿐 아니라 빈번한 교통사고나 외부적 요인에 의한 창상 및 화상 환자도 급증하는 실정이다. 피부는 그 면적에 있어 우리 몸에서 가장 크고, 외부환경의 여러 유해 물질로부터 몸을 보호하고, 몸의 온도와 수분을 조절하며, 외부의 변화를 감지하는 등의 기능을 가진 장기로서, 제일 먼저 몸을 보호하기 때문에 가장 손쉽게 상하는 데 이로 인해 피부가 광범위하게 손상되어 기능을 잃게 되면 생명을 유지하는 것도 곤란하게 된다.

이런 피부와 같은 조직의 상처 치유 과정은 크게 세 단계로 나눌 수 있다. 첫 단계는 염증기로서 혈관 수축, 혈소판 응고, 응혈과 형성 등이 일어나며, 다음 단계인 육아기에는 새로운 모세혈관이 형성되며 혈소판유래성장인자 (platelet-derived growth factor, PDGF)¹⁾, 상피성장인자 (epithelial growth factor, EGF)^{2,3)} 섬유아세포성장인자 (fibroblast growth factor, FGF)⁴⁾, 및 TGF-β (transforming growth factor)^{5,7)} 등의 여러 성장인자들이 방출되어 재상피화 (re-epithelialization)와 육아조직 형성을 돕는다. 마지막 과정인 수축기에는 세포질 내의 근육이 수축되어 창상 주위의 정상적인 피부가 피부 결손 부위로 당겨지며, 기능적으로나 미용적으로 환자에게 장애를 남기는 반흔 (scar) 구축을 초래한다.⁸⁾

창상치유는 재상피화를 통한 신생조직의 형성 및 육아조직의 형성⁹⁾에 의해 주로 일어나는 것으로 창상 치유시, 신생조직의 형성에 의해 창연의 면적이 감소하게 되고, 육아조직의 형성에 의해 외부 압력에 의한 파열에 저항력을 갖게 된다.¹⁰⁾ 이러한 신

* 교신저자 : 함대현, 경기도 용인시 기흥읍 서천1 경희대학교 동서의학대학원

· E-mail : dhahm@khu.ac.kr, · Tel : 031-201-2176

· 접수 : 2004/12/06 · 수정 : 2005/01/03 · 채택 : 2005/01/31

생조직 및 육아조직의 형성은 창상 주위 세포에 의해 분비되는 성장 인자들에 의해 민감하게 영향을 받는다.

창상치료 시 발생하는 일반적인 부작용으로는 반흔조직 형성 및 치유 조직간 유착 등이 있으며, 이러한 부작용은 궁극적으로 기능장애를 초래할 뿐만 아니라 통증유발과 같은 병리학적 이상을 초래하기도 한다. 또한 최근에는 이러한 창상치유의 부작용으로 미용에 미치는 우려가 증가하는 추세에 있다. 이러한 반흔 조직의 형성 및 유착현상은 창상치료 과정에서 일어나는 조직의 염증반응¹¹⁾으로 신생조직 및 육아조직의 과형성에 기인하는 것으로 알려져 있다. 새로운 신생조직 형성 단계에서 섬유 조직형성의 시작은 상처부위를 새로운 조직들이 채우는 현상에서부터 시작되는데 이 조직들은 세포간질과 fibronectin, hyaluronic acid 등으로 이루어진다. 일반적으로 넓게 벌어지는 창상 (wide open wound)의 경우 타입 I 과 타입 III 콜라겐의 불균형으로 인해 비대성의 흉터를 이루기 때문에⁹⁾ 성장 인자들의 적절한 분비에 의한 콜라겐의 조직형성은 흉터 형성 억제에 중요한 작용을 한다.

상처 치료과정에서는 상처를 빠르게 치료 하는 것뿐만 아니라 부작용이나 흉터 없이 치료하는 것이 중요하기 때문에 염증의 억제와 성장 인자들의 발현 조절을 통해 조직세포들이 균형 있게 채워져 나가는 것이 더욱 중요하다. 한약재의 일종인 황기(黃耆)는 맛은 달고 氣는 약간 따뜻한 약재로서 응저와 오래 묵어 썩은 상처를 치료하여 배농하고 통증을 멈추고(神農本草經) 갈증과 근육이 오그라짐을 치료하며, 종기와 저창을 치료하는(名醫別錄) 기능을 가지고 있어서 근육을 강하게 하고 피부를 튼튼하게 하며 기혈을 보하는데 사용되어 왔다.¹²⁾

본 연구에서는 창상치료에 대한 황기의 효능을 알아보고자 전층 피부 결손창을 만든 흰쥐 모델에서 상처크기 변화, H-E staining을 통한 조직학적인 관찰과 면역 조직화화법을 이용한 상처재생 과정에서의 콜라겐의 변화 등을 살펴보고자 한다.

재료 및 방법

1. 실험동물

실험동물은 삼육동물센터로부터 구입한 웅성 Sprague-Dawley 계 200g 중량의 흰쥐를 사용하였다. 동물은 일정한 온도 (23±1℃)와 규칙적인 조명(12시간 명/암)이 자동적으로 조절되는 동물실에서 각 케이지당 한마리씩 사육되었고 사료와 음수가 자유롭게 공급되었으며, 일주일간의 적응기간을 거친 후 본 실험에 사용되었다.

2. 황기 추출액 제조

실험에 사용한 황기는 5000ml 규격의 ball flask를 이용하여 동국대 한방병원으로부터 구입한 황기 600g을 증류수 3L에 30분 동안 담가놓은 후, Multiple Roat Mantle (Tops Co., Korea)에서 1.5시간을 끓이고 거즈로 걸러 약액만 용기에 모았다. 황기약액을 플라스크에 담아 65-85℃로 가열하면서 rotatory vacuum evaporator (R-124A, Buchi Co., Switzerland)를 이용하여 감압농

축 하였다. 감압 농축한 황기약액을 식혀 deep freezer (Thermo Electron Co., OH, USA)에 overnight 저장하여 충분히 얼린 후 동결건조기 (Telstar Lioalfa-6, Telstar Co., Spain)에서 72시간동안 동결건조 시켰다. 동결건조 된 황기가루 5g을 50ml의 3차 증류수에 녹인 후 12000rpm으로 20분간 centrifuge 하여, 상층액을 취한 다음 0.45µm filter 로 여과하여 사용하였다.

3. 실험군 분류

실험군은 비처리군(n=5), 대조군A(n=6), 대조군B(n=6), 실험군(n=6)의 4개 그룹으로 나누었다. 비처리군(CON)은 창상 유발 후 아무런 치료를 하지 않았고 대조군A(N.F)는 후시딘산 나트륨 연고제(동화제약, 한국)를 창상에 0.2g씩 발라주었고, 대조군 B(EGF)는 EGF (Upstate Biotech Co., GA, USA) 100ug을 5µg/ml 의 농도로 PBS에 녹여 창상에 100µl씩 도포하였다. 실험군 (A.R)은 황기 추출액 1ml에 3차 증류수 9ml를 가하여 창상에 100µl씩 micro-pipette을 이용하여 도포하였다.

4. 창상 유발

실험동물을 70% N₂ / 30%O₂ 에 혼합된 5% isoflurane을 이용하여 흡입마취 유도를 한 후, 2% isoflurane 으로 마취상태를 계속 유지시켰다. 쥐의 등을 제모기로 깨끗하게 제모한 후 경추와 고관절 정중앙에 2 X 2cm 의 크기로 정사각형을 작도하고 소독된 scissors를 이용하여 근막 위까지 제거 하여 전층 피부 결손창을 만들었다. 창상을 가진 쥐들은 일동제약의 습윤 드레싱제를 사용하여 창상을 덮어 주었으며 각 케이지에 한 마리씩 수용하여 매일 14시에 치료하였다.

5. 육안적 상처 변화의 관찰

상처치료의 진행 과정을 관찰하기 위해 창상 유발 후 1, 4, 8 일째에 digital camera (CAMEDIA™, Olympus Co., Japan)를 이용하여 각 군별로 일정거리에서 촬영하여 상처의 변화를 육안으로 관찰하였다.

6. 창상면적 측정 (Wound Area)

외과적 시술 후 하루 지난 창상의 면적을 최초 창상 면적으로 하였으며 각 치료제의 종류에 따라 창상 수축에 미치는 영향을 측정하기 위해 시술 후 11일간 창상의 면적을 측정 하였다. 창상 면적의 변화는 최초창상에 대한 측정 창상의 면적을 백분율로 환산하여 시간경과에 따른 수축률을 알아보았으며 측정 방법은 창상 부위에 유지를 덧대고 창상 크기에 맞춰 작도한 다음 면적을 squared sheet로 1mm 단위까지 측정하였다.

Relative wound area (%)

$$= \frac{\text{Wound area}_{D_{x+1}} - \text{Wound area}_{D_{x1}}}{\text{Wound area}_{D_{x1}}} \times 100$$

X = The day after injury (1, 2, 3, ..., 11th)

7. 조직학적 관찰 (Histology)

상처 치료 후 11일째 날에 상처부위를 근막 위까지 절개하여 상처 조직절편을 얻었다. 채취한 각 sample을 4% PFA에 담가 4℃에서 12~16시간 동안 고정하였다. 고정된 sample은 70%, 80%, 90%, 95%, 100% ethanol을 이용하여 탈수하고 xylene으로 투명화하고 paraffin용액으로 침윤시킨 후 paraffin으로 포매하였다. 조직은 10µm 두께로 saggital section을 만들어 poly-L-lysine-coated slide에 올려놓았다. H-E staining 은 조직절편을 xylene 으로 탈파라핀화 시킨 다음 100%, 95%, 80%, 70% ethanol을 이용하여 단계별로 탈수과정을 거친 뒤 증류수에 수세시켰다. Hematoxylin 용액에 7분간 담근 후 다시 증류수에 수세과정을 거쳐 1% HCl-alcohol에 분별시키고 다시 수세시켰다. 0.5% ammonia water에서 1분간 담가 음전하(-)를 띤 핵내 인산기(phosphate group)를 청색으로 염색시킨 다음 증류수로 수세하고 1% Eosin으로 양(+)으로 하전되어 있는 세포질이나 결합조직을 분홍색으로 염색시켰다. 증류수로 수세하고 80%, 95%, 100% ethanol로 재탈수 시킨 후 xylene으로 투명화 하고 봉입하여 광학현미경으로 사진을 촬영하였다.

8. 면역조직화학법 (immunohistochemistry, IHC)

면역조직화학법은 immunofluorescence staining을 이용하여 실시하였다. 조직절편을 탈파라핀화하고 함수한 후, Tween-20을 포함한 tris-buffered saline 용액(TBST)으로 세척하였다. 0.3% 과산화수소를 포함한 TBST에 30분간 반응시켜 내재성 peroxidase를 비활성화 시키고, 10% goat serum, 1% bovine serum albumin (BSA) 용액과 반응시켜 항체의 비특이적 결합을 제거하였다. primary antibody인 rabbit polyclonal anti-rat collagen Type I 용액으로 4℃에서 하루 밤 동안 반응시켰다. PBS (phosphate- buffered saline) 용액으로 세척한 다음 secondary antibody인 Alexa Fluor™ 488 goat anti-rabbit IgG (Molecular Probes Co., OR, USA)에서 상온에서 60분간 반응시킨 후 봉입하여 형광현미경으로 관찰하고 사진을 촬영하였다.

9. 통계분석

실험결과는 평균±표준편차로 표시하였고 실험 데이터는 repeated ANOVA를 사용하여 분석하였고 유의수준은 P<0.05 로 하였다. 보다 정확한 검증을 위해 사후검증은 Tukey post hoc test를 사용하였다.

결 과

1. 육안적 상처 변화의 관찰

창상이 유발되면 상처 발생 즉시 염증반응이 시작되어 삼출액이 분비되며 이 과정은 염증이 끝날 때까지 지속된다. 동시에 혈관수축, 혈소판응고, 응혈과 형성이 일어나고, 그 후 육아과정이라고도 불리는 증식과정이 시작되는데 상처발생 2일부터 지속되어 육아조직들이 흠을 채우기 시작한다. 창상 유발 후 치료 4일째에 CON군은 상처 전체적으로 부종이 발견되었으며 EGF

군은 부분적으로만 부종이 발견되었다. A.R군은 CON군에 비해 상처의 면적이 더 많이 수축되었고 부종의 크기도 작았으며 다른 군들에 비해 삼출액의 양이 가장 적게 분비 되었다. 치료 8일째에 CON군은 4일째에 비해 상처는 수축되었으나 삼출액이 아직 분비되었고, A.R군은 삼출액이 분비되지 않았으며 CON군에 비해 상처가 더욱 수축되었다. EGF군은 상처가 가장 수축되었으며 삼출액은 분비 되지 않았다.(Fig. 1)

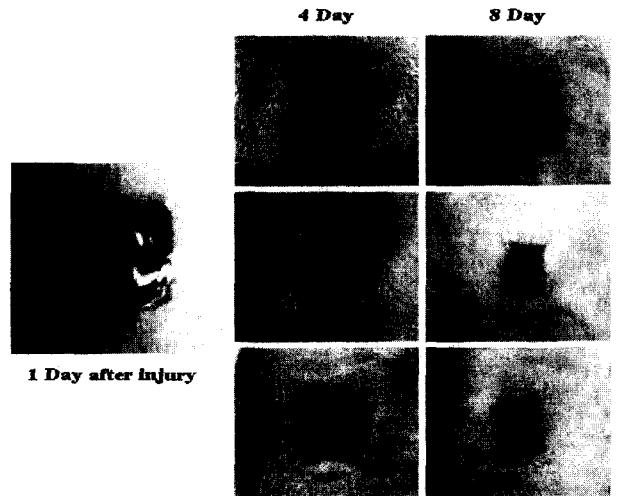


Fig. 1. Macroscopic appearance of wounds on CON, EGF, A.R treated-rats on 1-8th day post-wounding. Appearance of non-treated group(CON), epidermal growth factor-treated group (EGF), and Astragali radix-treated group (ARI) on 4 and 8th day post-wounding.

2. 창상면적 측정

상처치료 과정에서 염증반응이 억제 되고 재생과정이 완료 되면 상처는 수축을 시작하는데 A.R과 EGF군은 2일에서 회복을 보이기 시작하여 5일째에 가장 큰 회복율을 보인 반면 CON군은 4일째부터 증가하기 시작하는 회복율을 나타내었다. CON군은 실험종료일인 11일째에 86%의 상처 회복율을 보였고 상처면적이 50%까지 치료되는데 6.5일이 걸렸다. 이에 비해 A.R군은 11일째에 92%까지 상처가 치료되었으며 50%까지 도달하는데 5일이 경과되었다. CON군에 비해서는 3일째부터 차이를 내기 시작하였으며 5일째에 가장 큰 증가량을 보였으나 7일 이후로는 큰 증가폭을 나타내지는 않았다. 양성대조군인 EGF군은 50%까지 치료되는데 4.5일로서 가장 빠른 회복율을 보였으며 11일째에는 97%로 거의 치료가 완료되었다. 또 다른 대조군은 N.F군은 4일째까지는 CON군과 비슷한 회복율을 보였지만 5일째부터 급격히 증가하여 6일째에 50%까지 치료되고 11일째에는 91%까지 회복되어 A.R군과 비슷해졌다.(Fig. 2)

3. 조직학적 관찰

육안적 상처변화의 관찰로는 상처치료 과정 후반기에 각 군들이 큰 차이를 나타내지 않았으므로 조직 생검을 실시하였다. 치료 11일에 상처부위를 근막 윗부분까지 떼어내어 생검한 피부의 조직학적 소견은 H-E 염색 하에 광학현미경으로 관찰되었다. A.R군의 피부는 표피층 형성이 완료되어 상처부위까지 덮고 있

고 상처부위는 육아조직들이 채우고 있으며 상처 가장자리(화살표) 쪽부터 재형성(remodeling) 과정을 거쳐 신생조직으로 채워지고 있었다. CON군과 N.F군의 피부의 조직학적 소견도 유사하게 표피부근은 신생조직이 채워지고 있었으나 근막층 부근은 아직 재형성 과정이 진행되지 않아 육아조직으로 채워져 있는 것을 볼 수 있었다. EGF군은 A.R군과 비슷한 소견을 보였는데 표피부근과 마찬가지로 근막부위도 육아조직이 신생조직으로 채워져 가는 것을 확인할 수 있었다.(Fig. 3)

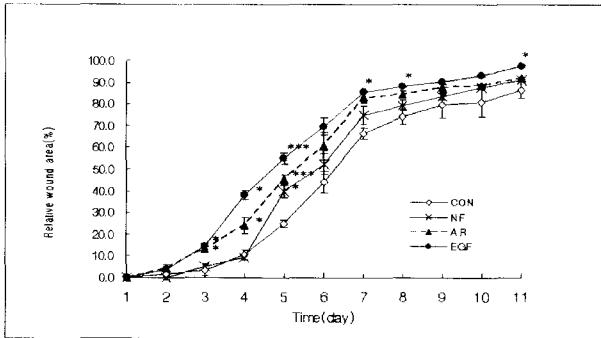


Fig. 2. Effect of *Astragali Radix* (A.R) on wound size of full-thickness wound healing model in rats. CON, NF, A.R and EGF indicate non-treated group (n=5), Na fusidate-treated group (n=6), *Astragali radix*-treated group (n=6), and epidermal growth factor-treated group (n=6) post-wounding, respectively. The treatments to N.F, A.R, and EGF groups were started on 1th day after injury and lasted for 11 days. The data for wound area were calculated and analyzed by repeated ANOVA, followed by the Tukey HSD post hoc test for further confirmation. ***P<0.001, *P<0.05 as compared to CON group.

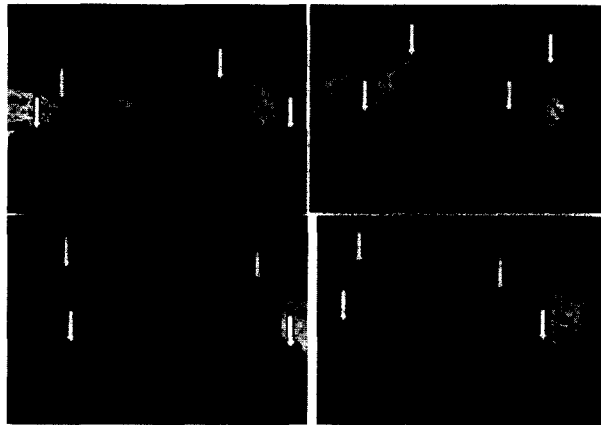


Fig. 3. Representative photographs showing H-E stained dorsal skins of EGF, CON, A.R, and N.F treated-groups on 11th day post-wounding. The arrows indicate the boundary of wounded area. Appearance of non-treated group (CON), epidermal growth factor-treated group (EGF), Na⁺ fusidate-treated group (N.F), and *Astragali radix*-treated group (A.R) on 11th day post-wounding

4. 면역 조직화학법

상처 치료 과정 중 A.R과 EGF군이 가장 높은 회복율을 보인 유발 후 치료 5일째에 흰쥐의 등 피부조직을 면역 조직화학법으로 관찰하였다. A.R군의 상처조직에서 면역 조직화학법에 의해 collagen type I로 표지된 조직들은 표피(화살표)에서 가장 많이 관찰되었으며 진피의 세포들 사이에 평행하게 일자로 늘어 난 모양으로 분포하고 있었고 표피와 진피의 경계면 근처의 세포들에서 가장 많이 나타났다. CON군도 표피에서는 비슷한 발현양상을 보였으나 진피에서는 각 군중 가장 적게 나타났으며

세포 주위에 원형을 이루고 존재 하였다. EGF군은 진피에 전체적으로 가장 많은 나타났으며 평행하게 일직선으로 늘어나는 발현양상을 보이면서 collagen type I 이 가장 고르게 분포 되어있는 것을 알 수 있었다.(Fig. 4)

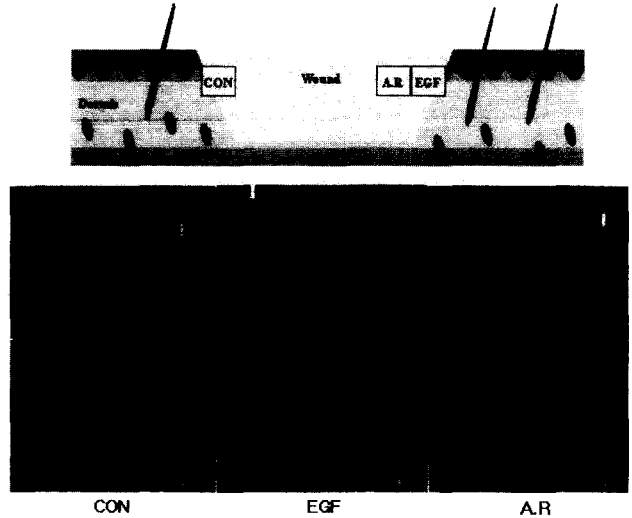


Fig. 4. Representative photographs showing collagen type I express in the dorsal skin of CON, EGF, A.R, treated-groups on 5th day post-wounding. (X200) The white rectangles in upper figures indicated the regions that were taken for higher magnification (X400). The white arrows indicate the boundary between epidermis and dermis. Appearance of non-treated group (CON), epidermal growth factor-treated group (EGF), Na fusidate-treated group (N.F), and *Astragali radix*-treated group (A.R) on 5th day post-wounding

고찰

창상은 크게 폐쇄함(closed wound)과 개방창(open wound)로 나누어지는데 창상연이 접근된 폐쇄창의 경우에는 재상피화(re-epithelialization)가 급속히 일어나 치유과정을 진행하게 되고 창상연이 접근되지 않았을 때에는 육아조직(granulation)으로 상처부위가 채워지고 난 후에 재상피화(re-epithelialization)가 일어나게 된다. 창상 치유 과정은 각자의 정해진 순서대로 진행되는 것이 아니라 동시적으로 일어나는 과정이라 할 수 있다. 조직의 손상 순간부터 치유과정은 보통 염증기(inflammation), 상피화기(epithelialization), 섬유증식기(fibroplasia), 수축기(contraction) 순으로 그 과정을 표현하는데 조직결손이 많은 창상일 경우에는 inflammation, granulation 과정이 진행된 후에 재상피화 과정은 훨씬 나중에 완료되어 지기 때문에 육아조직으로 상처부위가 채워지고 염증반응을 억제하는 과정은 상처치료에 중요한 단계중의 하나이다. 상처치료가 진행되는 동안 다양한 세포들이 상처부위 안으로 유입되어 사이토카인의 조절에 의해 분화와 증식을 통해 세포기질이 형성되며, 창상 후 24시간이면 침입된 섬유아세포가 type I 과type III 콜라겐을 합성하고 분비하여 새로운 기질(matrix)을 형성하기 시작한다. 육아조직은 정상조직보다는 type III 콜라겐이 훨씬 증가하나 치료과정이 진행됨에 따라 type I 콜라겐이 증가하여 주된 성분이 된다¹³⁾. 개방성 창상에서는 주위의 정상적인 피부가 수축과정에 의해서 피부 결손부위로 당겨지는데 섬유아세포와 콜라겐으로 이루어진 창상의 기질성분(matrix components)들도 수축에 기여한다.¹⁴⁾

黃耆는 豆科(콩과, Leguminosae)에 속한 多年生 草本인 황기 (*Astragalus membranaceus*)의 뿌리를 乾燥한 것으로서 本草學에 性味가 甘溫하여 그 效能이 脾肺에 있어 補脾益氣하는 가운데 능히 陽氣를 升擧시키고, 또한 外로 肌表에 達하므로 補氣 升揚하여 元氣가 下陷한 것을 升擧케 하고 補氣固表하는 效能이 있어 止汗하고, 補氣함으로써 生血하며, 또한 正氣를 鼓舞시켜 托毒生肌시키며 陽氣를 溫運케하여 利水消腫하는 효능이 있다. 그러므로 脾肺氣虛로 인한 少氣懶言과 食少便溏을 치료하고, 中氣下陷으로 인한 久瀉脫肛, 子宮下垂, 氣가 攝血하지 못하여 나타나는 崩漏便血, 表虛不固로 인한 自汗盜汗, 氣血不足으로 인한 滄癰內陷과 膿成不潰 혹은 潰久不斂 및 氣虛失運으로 인한 小便不利와 皮膚水腫 등 증에 모두 良好한 效果가 있다.¹⁵⁾ 황기의 약리작용은 기를 보하고 양기를 북돋아주며 피부를 다지고 땀을 멎게 한다. 또 수를 도우며 수종을 가라앉히고 독과 농을 배출시켜¹⁶⁾ 인체의 면역력을 증강하고¹⁷⁾ 단백질의 합성을 촉진한다. 또한 피부를 보호하고 세포의 활성화를 증가시켜서 피부의 노화를 완화하고 피부표면의 광택과 탄력을 증가시켜 준다.

EGF (epidermal growth factor)는 창상에서 섬유아 세포 (fibroblasts)뿐만 아니라 콜라겐 생성과 혈관생성, fibronectins 과 hyaluronic acid 같은 콜라겐 분해효소를 저해하는 물질의 합성을 유도함으로써 콜라겐 구성을 정상피부에 가까운 조직 형성을 유도해¹⁸⁾ 창상을 치료하는 물질로서 창상치료 연구에 많이 사용되고 있다.^{2,3)}

본 실험에서는 전층 피부 결손창 동물모델을 이용하여 육안적 상처 변화의 관찰¹⁹⁾, 창상면적 측정과 조직학적 관찰^{20,21)}, 면역조직화학법²²⁾을 이용하여 EGF 처리군과 비교하여 황기의 창상치료 효능을 알아보았다. 황기는 육안으로 상처 변화를 관찰한 결과 다른 군들에 비해 부종의 크기가 작았고 삼출액의 양이 적었는데 이것은 황기는 면역기능 촉진과 항염증 효능을 가짐으로서 염증기에서 재생피화기로의 과정을 진행시켜 상처 치료 초기 빠른 치유능력을 나타낸 것으로 사료된다. 재생피화가 종료되면 섬유증식기와 수축기를 거치는데 이때 콜라겐들은 세포 주위의 결합조직을 재배치시키기 위해 늘어나며 일직선으로 정렬되는 형태를 가지는데^{23,24)} 면역조직화사진에서 CON군에서는 세포 주위에 콜라겐들이 원형으로 위치하고 있는데 반해 A.R. 과 EGF 군은 콜라겐들이 직선 형태로 늘어나 있는 형태²⁵⁾가 확인되었다. (Fig. 4) 상처 치료 과정 후반에는 상처 가장자리부터 재형성 과정을 가지는데 표피부근은 각 군이 비슷하게 신생조직으로 변화하는 반면 CON군과 N.F군의 근막 부분은 아직 육아조직 상태로 머물러 있는 것으로 미루어 육안으로 관찰시 창상면적이 후반으로 갈수록 차이가 줄어들었지만 조직학적으로 상처의 면적을 비교해 보면^{26,27)} 황기 치료군이 재형성 과정이 빠르게 진행되는 것을 알 수 있었다.

이상의 실험 결과는 황기가 전층 피부 결손창을 유발한 흰쥐 모델에 있어서 염증을 억제하고 콜라겐을 증식시켜 상처치료를 도와주는 효과가 있다는 것을 보여 준다. 이는 각종 피부 손상 환자 치료에 황기를 의학적 외용제로 이용할 수 있다는 사실을 시사하는 것으로서 앞으로도 다양한 in vivo 동물 모델 혹은

임상 실험을 통해 황기의 효능을 재검증하고 의학적 기능의 기능성소재로서 개발하기 위한 다각적인 추가 연구가 지속되어야 할 것으로 판단된다.

결 론

황기의 창상치료에 대한 효능을 알아보기 위하여 흰쥐의 등에 2 X 2cm²의 전층 피부 결손창을 만들고 11일간 치료하고 상처 변화 관찰, 창상면적 측정, 조직학적 관찰, 면역 조직화학법 등의 방법을 시행하여 다음과 같은 결론을 얻었다. 첫째, 상처 치료과정 초기에 CON군에 비해 염증을 억제시켜 삼출액의 분비를 줄여 주었다. 둘째, 재생피화 과정 후 재형성과정을 촉진시켜 육아 조직에서 신생조직으로 변화를 촉진시켰으며 Type I 콜라겐 섬유를 증식시켜 상처를 수축시켰다. 셋째, 황기는 상처치료 과정 초기에 염증반응을 억제하여 빠른 재생피화 과정으로 진행시켜 주고 콜라겐 섬유를 증식시켜 세포 기질의 형성을 촉진해 결합 조직의 재배치와 상처수축에 도움을 주는 것으로 추정된다.

참고문헌

1. H. J. Wang, H. L. Wan, T. S. Yang, D. S. Wang, T. M. Chen, and D. M. Chang, Acceleration of skin graft healing by growth factors. *Burns*, 22(1): 10-16, 1996.
2. Tetsuya Ishikawa, Hiroshi Terai, Takashi Yamamoto, Kazumichi Harada, Takashi Kitajima, Delivery of a growth factor fusion protein having collagen-binding activity to wound tissues. *Artificial Organs*. 27(2): 147-154, 2003.
3. Jane CJ Chao, Kuo-Yu Liu, Sheng-Hsuan Chen, Chia-Lang Fang, and Chih-Wei Tsao, Effect of oral epidermal growth factor on mucosal healing in rats with duodenal ulcer. *World J Gastroenterol* 9(10): 2261-2265, 2003.
4. Tobias A. Beyer, Sabine Werner, Clive Dickson and Richard Grose, Fibroblast growth factor 22 and its potential role during skin development and repair. *Experimental Cell Research*, 287: 228-236, 2003.
5. David Chin, Glen M. Boyle, Peter G. Persons, and William B. Coman, What is transforming growth factor-beta(TGF-β)? *The British Association of Plastic Surgeons* 57: 215-221, 2004.
6. Yoshiko Abe, Kouji Inagaki, Akihiko Fujiwara, and Kiyoshi Kuriyama, Wound healing acceleration of a novel transforming growth factor-beta inducer, SEK-1005. *Eur J Pharmacol*, 408: 213-218, 2000.
7. William R. Tyor, Nicholas Avgeropoulos, George Ohlandt, and Edward L. Hogan, Treatment of spinal cord impact injury in the rat with transforming growth factor-beta. *J Neurol Sci* 200: 33-41, 2002.
8. Hiroshi Ueno, Haruo Yamada, Ichiro Tanaka, Naoki Kaba, Mitsunobu Matsuura, Masahiro Okumura, Tsuyoshi

- Kadosawa, and Toru Fujinaga, Accelerating effects of chitosan for healing at early phase of experimental open wound in dogs. *Biomaterials*. 20: 1407-1414, 1999.
9. Buckley A, Davidson JM, and Kamerath CD, Sustained release of epidermal growth factor accelerates wound repair. *Proc Natl Acad Sci*. 82: 7340-7344, 2000.
 10. Manxi L, Donald JW, and Qin F, Relationships between nerves and myofibroblasts during cutaneous wound healing in the developing rat. *Cell Tissue Res*. 297: 423-433, 1999.
 11. M.J. Muller, M.A. Hollyoak, Z. Moaveni, Tim La H. Brown, D.N. Herndon, and J.P. Heggers, Retardation of wound healing by silver sulfadiazine is reversed by aloe vera and nystatin. *Burns*. 29: 834-836, 2003.
 12. 鄒澍 지음. 임진석 옮김, 本經疏證 上권, 대성의학사, pp.109-114, 2001.
 13. Junge K, Rosch R, Bialasinski L, Klinge U, Klosterhalfen B, and Schumpelick V. Persistent extracellular matrix remodelling at the interface to polymers used for hernia repair. *Eur Surg Res*. 35(6): 497-504, 2003.
 14. Sabiston's textbook of surgery (15th Ed). pp.279-303.
 15. 全國韓醫科大學 本草學教授 共編著, 本草學, 圖書出版 永林社, pp.534-535, 1999.
 16. 田炳薰, Influence of the extract Radix Astragali on the cytotoxicity induced by the chemotherapeutic agents, mitomycin C. *동의생리병리학회지*. 12(1): 55-59, 1998.
 17. 강희, 배현수, 안규석, Astragali Radix increases survival and activity of spleen lymphocytes. *동의생리병리학회지* 15(4): 560-565, 2001.
 18. Kingsnorth A.N, Vowles R, and Nash J.R.G, Epidermal growth factor increases tensile strength in intestinal wounds in pig. *Br. J. Surg* 77: 409-412, 1990.
 19. Zhou LJ, Matsui R, and Ono I. Development of a chronic skin defect model and a study of cytokine secretion using the model. *Wound Repair Regen*. 8(4): 304-318, 2000.
 20. Sugihara A, Sugiura K, Morita H, Ninagawa T, Tubouchi K, Tobe R, Izumiya M, Horio T, Abraham NG, Ikehara S. Promotive effects of a silk film on epidermal recovery from full-thickness skin wounds. *Proc Soc Exp Biol Med*. 225(1): 58-64, 2000.
 21. Wang Z, Inokuchi T, Nemoto TK, Uehara M, and Baba TT. Antisense oligonucleotide against collagen-specific molecular chaperone 47-kDa heat shock protein suppresses scar formation in rat wounds. *Plast Reconstr Surg*, 111(6): 1980-1987, 2003.
 22. Schultze-Mosgau S, Blaese MA, Grabenbauer G, Wehrhan F, Kopp J, Amann K, Rodemann HP, and Rodel F. Smad-3 and Smad-7 expression following anti-transforming growth factor beta 1 (TGF beta1)-treatment in irradiated rat tissue. *Radiother Oncol*. 70(3): 249-259, 2004.
 23. Yusof NL, Wee A, Lim LY, and Khor E. Flexible chitin films as potential wound-dressing materials: wound model studies. *J Biomed Mater Res* 66(2): 224-232, 2003.
 24. Kubo K, Kuroyanagi Y. Spongy matrix of hyaluronic acid and collagen as a cultured dermal substitute: evaluation in an animal test. *J Artif Organs*. 6(1): 64-70, 2003.
 25. Romanos GE, Strub JR. Effect of Tissucol on connective tissue matrix during wound healing: an immunohistochemical study in rat skin. *J Biomed Mater Res*. 39(3):462-468, 1998.
 26. Qiu C, Coutinho P, Frank S, Franke S, Law LY, Martin P, Green CR, and Becker DL. Targeting connexin43 expression accelerates the rate of wound repair. *Curr Biol*. 13(19): 1697-1703, 2003.
 27. Coutinho P, Qiu C, Frank S, Tamber K, Becker D. Dynamic changes in connexin expression correlate with key events in the wound healing process. *Cell Biol Int*. 27(7): 525-541, 2003.
 28. 조직학교재 편찬회. *Histology: A text and Atlas*, 제3판. 고문사. pp85-118, 1997.