

當歸飲子 加減方의 처방별 (A, B) 아토피성 알레르기반응 조절 효과 비교 연구

한경훈, 박은정, 이해자*

원광대학교 전주한방병원 소아과, *원광대학교 한의과대학 소아과학교실

A Comparative Study of Regulatory Effect of Atopic Allergic Reaction by Prescriptions (A, B)

Han Kyeung Hoon, Park Eun Jung, Lee Hai Ja*

Department of Pediatrics, Jeonju Oriental Hospital, Wonkwang University

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

Objective : *Danguieumja-gagambang* (DGEJGB), a traditional Korean prescription, has been used as therapeutics for allergic diseases such as atopic dermatitis (AD). In this study, we compared with regulatory Effect of Atopic Allergic Reaction by Prescriptions A and by Prescriptions B.

Methods : To evaluate and compare the atopic allergic effectiveness of two prescription (A, B) of DGEJGB, the author investigated a possible effect of DGEJGB on mast cell-mediated allergic reaction, cytokine secretion and mRNA expression *in vivo* and *in vitro*.

Results : Mast cells are a potent source of mediators that regulate the inflammatory response in allergic reaction. In mice orally administered A, B of DGEJGB (0.01, 0.1 and 1.0 g/kg) for 1 h, compound 48/80-induced ear swelling was significantly reduced. Significant reduced levels ($P < 0.05$) of tumor necrosis factor (TNF)- α was observed in the human mast cell line (HMC-1) with DGEJGB (A). IL-6 and IL-8 secretion were significantly inhibited by DGEJGB (A, B). In addition, TNF- α and IL-8 mRNA expression were reduced by DGEJGB (A) at the dose of 0.01 mg/ml without cell toxicity.

Conclusions : These results suggest that DGEJGB (A) contributes to the treatment of atopic allergic reactions rather than DGEJGB (B), and that its action may be due to inhibition of cytokine secretion and mRNA expression HMC-1.

Keywords : *Danguieumja-gagambang*(DGEJGB), atopic dermatitis, mast cell, cytokine

접 수 : 2005년 11월 15일, 채택일자: 2005년 12월 17일

교신저자 : 한경훈, 전라북도 전주시 덕진구 덕진동 2가 142-1 원광대 전주한방병원 소아과
(Tel. 063-270-1019, E-mail : joylife76@hanmail.net)

I. 緒 論

當歸飲子は 嚴의 濟生方에 “治心血凝滯 內蘊風熱 發生遍身瘡疥 或腫或痒 或膿水侵淫 或發赤疹痞癩”라하여 처음 기록된 이래 血燥와 風熱로 인한 瘡疥, 피부소양증, 만성 두드러기 등의 치료에 응용되고 있다. 苦蔘을 主藥으로 하는 當歸飲子 加減方(A)는 當歸飲子에 清熱解毒하는 苦蔘 黃芩 草龍膽 金銀花와 祛風止痒하는 白鮮皮 桑白皮 荊芥 防風 등 수종의 약재를 가감한 처방이며, 當歸飲子 加減方 (B)는 當歸飲子에 처방(A)을 합방하고 개별적 약재로 항알레르기 효능이 실험적으로 입증된 浮萍草, 連翹, 升麻, 大靑葉, 天花粉 등¹⁾을 加味한 처방으로, 奶癩, 面疱 및 아토피성 피부염, 지루성 피부염 등의 알레르기성 피부질환의 치료에 활용되어 온 처방이다.

아토피성 피부염은 소아기에서 가장 먼저 나타나는 알레르기 질환으로 紅斑 浮腫 苔癬 皮膚剝離 瘙痒感을 특징으로 하며, 奶癩, 胎斂瘡, 胎熱, 胎癩, 濕疹, 濕瘡 등의 범주에 해당되고²⁾, 濕熱俱盛型, 脾虛濕盛型, 血虛風燥型으로 변증된다³⁾. 최근 산업화로 인한 환경오염, 인스턴트 식품과 육류 위주의 잘못된 식습관, 정신적인 스트레스로 인해 증가추세에 있으며, 초등학생의 24.9%, 중학생의 12.8%가 아토피피부염을 진단받은 것으로 조사되었다^{4,5)}.

비만세포는 과립들을 포함하고 분비하는 단핵구로서 아토피성 피부염과 같은 알레르기성 염증성 피부 병변에 관여하며 만성적인 아토피성 피부염에서 증가되어 나타난다^{6,7)}. 활성화된 비만세포에서는 인터루킨(interleukin) IL-6, IL-8 및 종양괴사인자(tumor necrosis factor:

TNF- α) 와 같은 다양한 여러 세포활성물질들이 분비된다^{8,9)}. 이런 세포활성물질의 분비는 피부 질환의 만성화에 결정적인 영향을 미치는데 비만세포에서 분비되는 사이토카인(cytokine)들에 대한 조절은 곧 아토피성 피부염과 같은 알레르기 질환을 치료할 수 있는 원인요법이 될 수 있다¹⁰⁾.

현재까지 각 개별 약재에 관한 항알레르기 연구 및 단일처방 가미방의 효과에 관한 연구는 있었으나 동일처방에서 가미 약재에 따른 효과 비교연구는 없었다. 이에 저자는 compound 48/80으로 유도시킨 흰쥐의 이개 부종에 미치는 當歸飲子 加減方 (A,B)의 효과를 분석했으며, 또한 비만 세포에서 phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA)와 calcium ionophore (칼슘 이온 운반체) A23187로 자극 시 분비되는 세포활성물질인 IL-6와 IL-8, TNF- α 의 분비 및 mRNA 발현에 미치는 當歸飲子 加減方 (A, B)의 효과를 비교 분석하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 實驗 材料 및 方法

1. 材料

1) 試藥

3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT), Compound 48/80, fetal bovine serum, phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA) 및 A23187은 Sigma (St. Louis, MO)에서 구입했다. human IL-6과 IL-8 항체는 BD PharmMingen (Torreyana

Road, San Diego, California, USA)에서 구입했으며 TNF- α 항체는 R&D Systems (Minneapolis, MN)에서 구입했다.

2) 實驗 動物

ICR계 흰쥐는 대한실험동물센터 (음성)에서 구입했다. 동물 사육장 실내의 명암은 12시간으로 자동 조절시켰으며 물과 사료를 자유롭게 섭취하도록 했다.

3) 細胞培養

흰쥐 복강비만세포 (rat peritoneal mast cells, RPMCs)는 10% FBS와 1% penicillin/streptomycin이 첨가된 α -minimal essential medium에서 배양했으며, 인간 비만세포주인 human mast cells (HMC)-1 세포는 10% FBS와 1%

penicillin/streptomycin이 첨가된 Iscove's modified Dulbecco's medium (IMDM)에서 37°C, 5% CO₂ incubator에서 배양했다.

4) 當歸飲子 加減方 處方

當歸飲子 加減方 (A,B)를 약탕기에 적량의 증류수(100 g/L)를 넣고 약 3 시간 정도 달여 여과했다. 여과액은 freeze dryer를 이용해 동결건조 했으며 시료를 0.22 μ m 필터로 여과하여 4 °C에서 보관하면서 실험에 사용하였다. 각 처방의 내용과 1첩 분량은 다음과 같다.

The Prescription of *Danguieumja-gagambang* (DGEJGB) (A)

Korean Name	Chinese Name	Pharmaceutical Name	Amount(g)
고삼	苦參	<i>Sophorae radix</i>	12
인삼	人參	<i>Ginseng radix</i>	12
황금	黃芩	<i>Scutellariae radix</i>	8
방풍	防風	<i>Ledebouriellae radix</i>	8
목단피	牡丹皮	<i>Moutan cortex</i>	8
당귀	當歸	<i>Angelicae gigantis radix</i>	6
형개	荊芥	<i>Schizonepetae herba</i>	4
금은화	金銀花	<i>Lonicerae flos</i>	4
상백피	桑白皮	<i>Mori cortex</i>	4
초롱담	草龍膽	<i>Gentianae radix</i>	4
백선피	白鮮皮	<i>Dictamnii radices cortex</i>	4
Total Amount			74

The Prescription of *Danguieumja-gagambang* (DGEJGB) (B)

Korean Name	Chinese Name	Pharmaceutical Name	Amount(g)
고삼	苦參	<i>Sophorae radix</i>	12
인삼	人參	<i>Ginseng radix</i>	12
황금	黃芩	<i>Scutellariae radix</i>	8
방풍	防風	<i>Ledebouriellae radix</i>	8
목단피	牡丹皮	<i>Moutan cortex</i>	8
생지황	生地黃	<i>Rehmanniae radix</i>	6
황기	黃芪	<i>Astragali radix</i>	6
연교	連翹	<i>Forsythiae fructus</i>	6
부평초	浮萍草	<i>Spirodela herba</i>	6
승마	升麻	<i>Cimicifugae rhizoma</i>	6
대황	大黃	<i>Rhei radix et rhizoma</i>	6
천화분	天花粉	<i>Tricosanthis radix</i>	6
당귀	當歸	<i>Angelicae gigantis radix</i>	6
백작약	白芍藥	<i>Paeoniae radix alba</i>	4
백질려	白蒺藜	<i>Tribuli fructus</i>	4
백하수오	白何首烏	<i>Polygoni multiflori radix</i>	4
천궁	川芎	<i>Cnidii rhizoma</i>	4
감초	甘草	<i>Glycyrrhizae radix</i>	4
형개	荊芥	<i>Schizonepetae herba</i>	4
금은화	金銀花	<i>Lonicerae flos</i>	4
상백피	桑白皮	<i>Mori cortex</i>	4
초롱담	草龍膽	<i>Gentianae radix</i>	4
백선피	白鮮皮	<i>Dictamni radices cortex</i>	4
Total Amount			136

2. 方法

1) Ear Swelling Test(이개부종반응)

Compound 48/80을 PBS (phosphate-buffered saline)에 녹인 후 4~6 주령의 체중 25~35 g인 ICR계 흰쥐를 사용하여 반복 실험

하였다. 먼저 충분히 섭식시킨 후 24 시간 경과한 상기 흰쥐를 대상으로 하였다. 當歸飮子 加減方 (A, B)를 농도별로 (0.01, 0.1 및 1 g/kg) 경구 투여한 후 1시간 동안 반응시켰다. 그 후, 마취시켜 흰쥐의 귀 두께를 측정하고 compound 48/80 (100 µg/site)을 미세 주사기

를 사용하여 쥐 귀 피하 내부에 주입하였다. 40 분 후 이개 부종반응이 일어난 부위의 귀 두께를 측정하여 compound 48/80 주입 전후의 두께변화를 조사하였다.

2) IL-6, IL-8 및 TNF- α 분비의 측정

HMC-1 세포 배양액 내에 분비된 IL-6, IL-8 및 TNF- α 의 측정은 Scuderi 등¹¹⁾이 기술한 방법에 준해 약간 변형된 ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay)로 실시했다. 즉 anti-human capture IL-6, IL-8 및 TNF- α 단클론 항체를 96-well plate 에 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 코팅하고 4 $^{\circ}\text{C}$ 에서 12시간 방치했다. 코팅 후 비 특이적 결합부위를 막기 위해 2% bovine serum albumin (BSA) 를 함유한 PBS로 구성된 blocking buffer를 첨가해 37 $^{\circ}\text{C}$ 에서 2시간 동안 방치했다. 다시 0.05% tween 20 을 함유한 PBS로 4회 세척 후 재조합 Human IL-6, IL-8, TNF- α 를 각각 표준액과 각 검체의 배양 상등액을 각 well 에 100 μl 씩 부가해 37 $^{\circ}\text{C}$ 에서 2시간 동안 방치했다. 다시 0.05% tween 20 을 함유한 PBS로 4회 세척 후 biotinylated anti-Human IL-6, IL-8, TNF- α 를 1% BSA를 함유한 PBS를 이용해 0.05 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도로 희석한 후 well에 처리해 37 $^{\circ}\text{C}$ 에서 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 $^{\circ}\text{C}$ 에서 40분 방치한 후 7회 세척했다. ABTS 기질액을 각 well 에 100 μl 씩 가해 10분간 발색을 유도한 다음 ELISA reader를 이용해 405 nm 파장에서 IL-6, IL-8, TNF- α 양을 측정했다.

3) MTT assay

세포의 증식을 측정하기 위해서 Scudiero

등¹²⁾의 방법에 따라 MTT assay를 수행했다. 10% FBS과 1% penicillin/streptomycin이 함유된 RPMI 1640에 4×10^5 세포를 96 well plate에 seeding하고 當歸飲子 加減方 (A, B) 를 24시간 동안 처리한 후 배양된 배지를 버리고 난 다음 신선한 배지를 넣고 MTT (10 $\mu\text{l}/\text{well}$: 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 용액을 첨가해 4시간 동안 다시 배양한 다음 DMSO 100 μl 로 MTT를 녹인 다음 540 nm에서 ELISA reader로 분석했다.

4) RT-PCR analysis

Total RNA는 Easy-blue를 사용하여 사람 비만세포주인 HMC-1세포로부터 분리하였다. TNF- α primer는 5'CGG GAC GTG GAG CTG GCC GAG GAG3' 5'CAC CAG CTG GTT ATG GTT ATC TCT CAG CTC3'이고 IL-8 primer는 (5' CGA TGT CAG TGC ATA AAG ACA 3'; 5' TGA ATT CTC AGC CCT CTT CAA AAA 3'), IL-6 primer는 (5' ATG AAC TCC TTC TCC ACA AGC GC 3' 5' GAA GAG CCC TCA GGC TGG ACT G 3'), 그리고 GAPDH primer는 (5'CAA AAG GGT CAT CAT CTC TG 3'; 5'CCT GCT TCA CCA CCT TCT TG 3')로 하였다. IL-6의 PCR을 위한 annealing 온도는 56 $^{\circ}\text{C}$, TNF- α , IL-8, 그리고 GAPDH의 PCR을 위한 annealing 온도는 60 $^{\circ}\text{C}$ 이며 생성물은 1.5% agrose gel에 전기 영동하여 ethidium bromide로 염색하여 관찰하였다.

5) 통계학적 처리

실험결과는 mean \pm S.E.M.으로 표시했으며 student's *t*-test를 실시해 유의성을 검증했다.

IV. 實驗 成績

1. 當歸飲子 加減方 (A, B)의 Compound 48/80으로 유도된 이개 부종 반응 억제 효과

Compound 48/80을 피내 주사하면 이개 부종 반응을 유도한다는 사실은 실험적으로 이미 확인되었기에¹³⁾, 저자는 이개 부종 반응을 유도할 수 있는 Compound 48/80의 농도를 100 $\mu\text{g}/\text{site}$ 로 하여 이개 부종을 40분 동안 유도시

켰다. Compound 48/80으로 유도시키기 전후의 귀 두께 변화를 측정하였다. Table 1에서와 같이 當歸飲子 加減方 (A, B)는 0.1 g/kg 농도를 1 시간동안 전처리 한 후 Compound 48/80으로 유도시킨 이개부종반응을 유의성있게 43.18% (A)와 50.23% (B)로 억제하였다 ($P < 0.05$).

Table 1. Effect of DGEJGB (A, B) on compound 48/80-induced ear swelling response in mice

A (g/kg)	Compound 48/80 (100 $\mu\text{g}/\text{site}$)	Thickness of ear (mm)	Inhibition (%)
None (saline)	+	0.308 \pm 0.012	
0.01	+	0.267 \pm 0.021	3.15
0.1	+	0.175 \pm 0.014	43.18*
1.0	+	0.176 \pm 0.003	42.85*
B (g/kg)	Compound 48/80 (100 $\mu\text{g}/\text{site}$)	Thickness of ear (mm)	Inhibition (%)
None (saline)	+	0.308 \pm 0.012	
0.01	+	0.298 \pm 0.065	14.17
0.1	+	0.153 \pm 0.001	50.23*
1.0	+	0.179 \pm 0.019	41.79*

Twenty μl of compound 48/80 (100 $\mu\text{g}/\text{site}$) were applied intradermally. The mice were orally administered with the various concentrations (0.01, 0.1 and 1.0 g/kg) of A, B for 1 h prior to the compound 48/80 application. Each datum represents the means \pm SEM of three independent experiments. * $P < 0.05$, Significantly different from the saline value.

2. 當歸飲子 加減方 (A, B)의 TNF- α 분비 억제 효과

HMC-1 세포를 PMA (50 nM)와 A23187 (1 μ M)로 자극해 PMA와 A23187에 의해 유도되는 TNF- α 의 분비에 미치는 當歸飲子 加減方 (1, 10, and 100 μ g/ml)의 효과를 분석하기 위해 當歸飲子 加減方을 30분간 전 처리했다. Fig. 1에 나타난 것처럼, 當歸飲子 加減方 (A)는 10 μ g/ml과 100 μ g/ml 농도에서 TNF- α 의 분비를 유의성 있게 억제하는 결과를 보였다. 當歸飲子 加減方 (A)는 100 μ g/ml에서 HMC-1 자극 시 분비되는 TNF- α 를 59.12%까지 억제하였으며 반면에 當歸飲子 加減方 (B)는 유의성 있게 억제하지 않았다.

3. 當歸飲子 加減方 (A, B)의 IL-8 분비 억제 효과

HMC-1 세포를 PMA (50 nM)와 A23187 (1 μ M)에 의해 유도되는 IL-8의 분비에 미치는 當歸飲子 加減方 (A, B)의 효과를 분석하기 위해 각 농도별로 (0.01, 0.1, 1 mg/ml) 30분간 전 처리하였다. Fig. 2에 나타난 것처럼, 當歸飲子 加減方 (A, B)는 모든 농도에서 농도 의존적으로 IL-8의 분비를 유의하게 억제하는 결과를 얻었다. 當歸飲子 加減方 (A)는 HMC-1와 A23187 자극시 분비되는 IL-8을, 0.01 mg/ml에서는 46.80%, 0.1 mg/ml에서는 69.73%, 1 mg/ml에서는 97.18%씩 각각 억제하였다. 當歸飲子 加減方 (B)는 IL-8의 분비를 유의하게 0.1 mg/ml에서는 80.12%, 1 mg/ml에서는 97.18%로 억제하였다. PMA와 A23187로 자극시 유도되는 IL-8의 분비는 當歸飲子 加減方 (A, B) 모두 1 mg/ml에서 뚜렷하게 억제되었다.

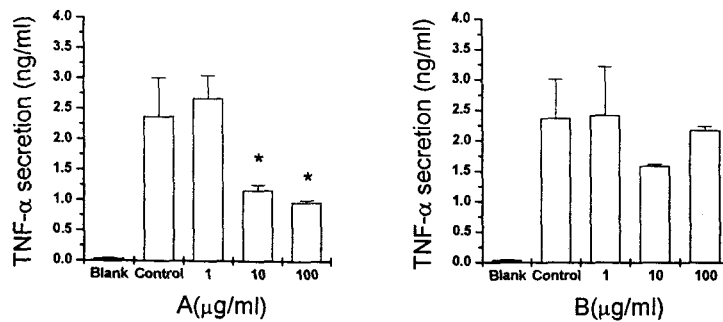


Fig. 1. Effect of DGEJGB (A, B) on TNF- α secretion from HMC-1. HMC-1 cells (3×10^5 cells/ml) were stimulated with PMA (50 nM) and A23187 (1 μ M) for 8 h. TNF- α levels in culture supernatant were measured using ELISA. Each point represents the means \pm SEM of three independent experiments. * $P < 0.05$, Significantly different from PMA and A23187 treated value.

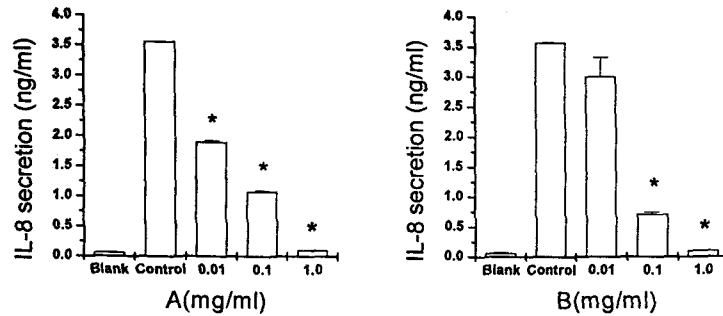


Fig. 2. Effect of DGEJGB (A, B) on IL-8 secretion from HMC-1. HMC-1 cells (3×10^5 cells/ml) were stimulated with PMA (50 nM) and A23187 (1 μ M) for 8 h. IL-8 levels in culture supernatant were measured using ELISA. Each point represents the means \pm SEM of three independent experiments. * $P < 0.05$, Significantly different from PMA and A23187 treated value.

4. 當歸飲子 加減方 (A, B)의 IL-6 분비 억제 효과

HMC-1 세포를 PMA (50 nM)와 칼슘 이온 운반체인 A23187 (1 μ M)로 자극하여 세포 내 protein kinase C 자극과 칼슘이온 증가에 의해 유도되는 IL-6의 분비에 미치는 當歸飲子 加減方 (A, B)의 효과를 분석하기 위해 當歸飲子 加減方 (0.01, 0.1, 1 mg/ml)를 30분

간 전 처리하였다. 當歸飲子 加減方 (A)는 HMC-1와 A23187 자극시 분비되는 IL-6를 0.01 mg/ml에서는 44.76%, 1 mg/ml에서는 41.96%씩 각각 억제하였다. 當歸飲子 加減方 (B)는 Fig. 3에 나타난 것처럼, 0.1 mg/ml에서는 52.79%, 1 mg/ml에서는 53.35%씩 각각 유의성 있게 IL-6의 분비를 억제하였다 ($P < 0.05$).

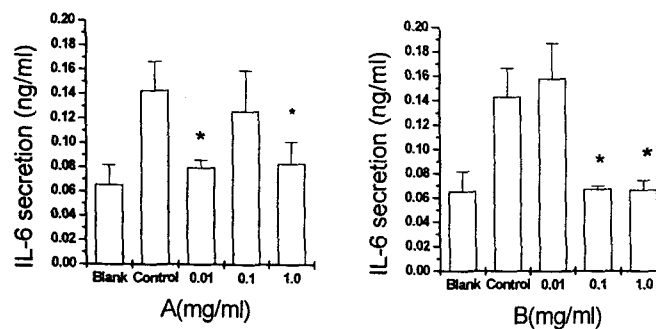


Fig. 3. Effect of DGEJGB (A, B) on IL-6 secretion from HMC-1. HMC-1 cells (3×10^5 cells/ml) were stimulated with PMA (50 nM) and A23187 (1 μ M) for 8 h. IL-6 levels in culture supernatant were measured using ELISA. Each point represents the means \pm SEM of three independent experiments. * $P < 0.05$, Significantly different from PMA and A23187 treated value.

5. 當歸飲子 加減方 (A, B)의 세포 생존도에 미치는 효과

當歸飲子 加減方 (A, B)의 세포 독성을 조사하기 위해 저자는 HMC-1에서 MTT를 처리해 조사하였다. Fig. 4에 나타난 바와 같이 當歸飲子 加減方 (0.001-1.0 mg/ml)를 24시간 동안 처리한 후 HMC-1의 세포 생존도에 미치는 영향을 확인한 결과 고농도에서는 (0.1 mg/ml, 1.0 mg/ml) 세포 생존도가 감소하는 것을 확인할 수 있었다.

6. 當歸飲子 加減方 (A, B)의 TNF-α mRNA 발현에 미치는 효과

當歸飲子 加減方 (A, B)의 TNF-α mRNA 발현에 미치는 효과를 확인하기 위해 염증성 세포활성 물질을 억제하면서 세포 독성이 없는 當歸飲子 加減方(0.01 mg/ml)를 30분 동안 처리한 후 PMA와 A23187로 3시간 자극된 HMC-1 세포(5×10^5)에서 RT-PCR 방법으로 조사하였다. 이 때 GAPDH는 대조군으로

서 사용하였다. Fig. 5에 나타난 것처럼 자극하지 않은 HMC-1 세포는 TNF-α mRNA가 거의 발현되지 않았으나 PMA와 A23187에 의해 자극된 HMC-1 세포는 TNF-α mRNA 발현이 증가하였는데, 當歸飲子 加減方 (A) 0.01 mg/ml 처리군은 TNF-α mRNA 발현이 현저하게 억제되었으며 한편 當歸飲子 加減方 (B) 0.01 mg/ml 처리군은 TNF-α mRNA 발현을 억제하지 않았다.

7. 當歸飲子 加減方 (A, B)의 IL-8 mRNA 발현에 미치는 효과

當歸飲子 加減方 (A, B)의 IL-8 mRNA 발현에 미치는 효과를 확인하기 위해 염증성 세포활성 물질을 억제하면서 세포 독성이 없는 當歸飲子 加減方 (0.01 mg/ml)를 30분 동안 처리한 후 PMA와 A23187로 3시간 자극된 HMC-1 세포(5×10^5)에서 RT-PCR 방법으로 조사하였다. 이 때 GAPDH는 대조군으로서 사용하였다. Fig. 6에 나타난 것처럼 자극하지 않은 HMC-1 세포는 IL-8 mRNA가 거

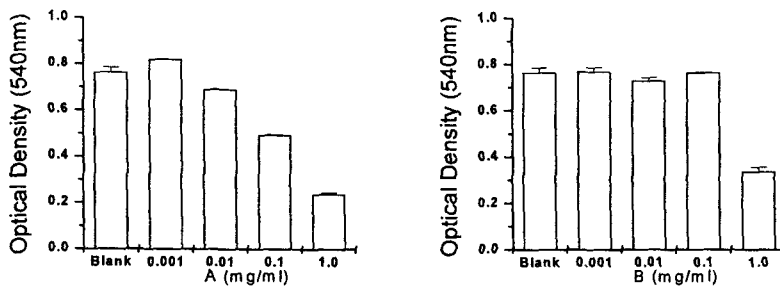


Fig. 4. MTT assay of DGEJGB (A, B) in HMC-1 cells. HMC-1 cells (3×10^5) were treated with various concentrations of DGEJGB (A, B) for 24 h. Cell viability was evaluated by MTT colorimetric assay. Values are the mean \pm SEM of duplicate determines from three separate experiments.

의 발현되지 않았으나 PMA와 A23187에 의해 자극된 HMC-1 세포는 IL-8 mRNA 발현이 증가하였는데, 當歸飲子 加減方 (A) 0.01 mg/ml 처리군은 IL-8 mRNA 발현이 약하게 억제되었으며 한편 當歸飲子 加減方 (B) 0.01 mg/ml 처리군은 IL-8 mRNA 발현을 억제하지 않았다.

8. 當歸飲子 加減方 (A, B)의 IL-6 mRNA 발현에 미치는 효과

當歸飲子 加減方 (A, B)의 IL-6 mRNA 발현에 미치는 효과를 확인하기 위해 염증성 세포활성 물질을 억제하면서 세포 독성이 없는 當歸飲子 加減方 (0.01 mg/ml)를 30분 동안 처리한 후 PMA와 A23187로 3시간 자극된 HMC-1 세포 (5×10^5)에서 RT-PCR 방법으

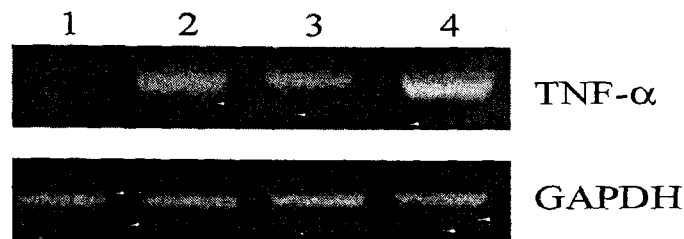


Fig. 5. Effect of DGEJGB (A, B) on TNF- α mRNA expression in PMA plus A23187-stimulated HMC-1 cells. The total RNA was assayed by RT-PCR. Products were electrophoresed on a 1.5% agarose gel and visualized by staining with ethidium bromide. The GAPDH, is loading control. 1, blank; 2, PMA+A23187; 3, PMA+A23187+DGEJGB (A: 0.01 mg/ml); 4, PMA+A23187+DGEJGB (B: 0.01 mg/ml)

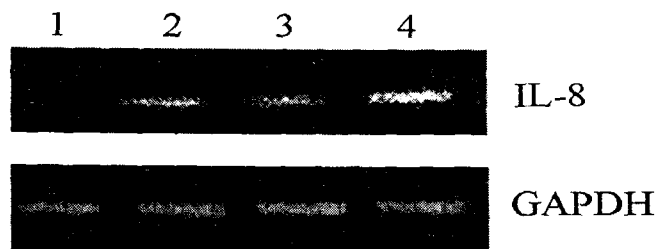


Fig. 6. Effect of DGEJGB (A, B) on IL-8 mRNA expression in PMA plus A23187-stimulated HMC-1 cells. The total RNA was assayed by RT-PCR analysis. Products were electrophoresed on a 1.5% agarose gel and visualized by staining with ethidium bromide. The GAPDH is loading control. 1, blank; 2, PMA+A23187; 3, PMA+A23187+DGEJGB (A); 4, PMA+A23187+DGEJGB (B).

로 조사하였다. 이 때 GAPDH는 대조군으로서 사용하였다. 그 결과 자극하지 않은 HMC-1 세포는 IL-6 mRNA가 거의 발현되지 않았으나 PMA와 A23187에 의해 자극된 HMC-1 세포는 IL-6 mRNA 발현이 증가하였는데, 當歸飲子 加減方 (A, B) 0.01 mg/ml 처리군 모두 IL-6 mRNA 발현을 억제하지 않았다 (data not shown).

V. 考 察

아토피성 피부염은 주로 소아에서 흔하게 발생하는 만성 혹은 재발성 피부염으로¹⁴⁾, 홍반(erythema), 부종(edema), 심한소양증(pruritus), 삼출(exudation), 부스럼딱지(crusting)와 인설(scaling)을 특징으로 하는 염증성 피부질환이다. 이는 유전적 요인이 관여하며, 아토피성 피부염을 가진 영아는 알레르기성 비염과 천식으로 발전하는 경향이 있다. 보통 2~3개월의 영아에서 시작되며 환아의 60%정도가 1세에서 시작되고 90%정도가 5세 이전에 시작되는데, 3~5세경에 회복되는 경향이 있으며 소수에서 성인까지 만성 아토피 피부염이 남는다¹⁵⁾.

한의학에서 아토피성 피부염은 명확히 일차하는 병명은 없으나 문헌적으로 고찰할 때 奶癬, 胎斂瘡, 胎熱, 胎癬, 濕疹, 濕瘡 등의 범주에 해당하며 모두 瘡, 癬, 風을 포괄한다²⁾. 隋·巢元方의 《諸病源候論·小兒雜病諸候》¹⁶⁾에 “小兒面上癬皮如甲錯起乾燥, 謂之乳癬”이라고 기록한 이래, 明·陳實功의 《外科正宗》¹⁷⁾에서는 “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,

瘙痒不絶”이라고 하였다. 清·吳謙의 《醫宗金鑒·外科心法要訣》¹⁸⁾에서는 “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 하였다²⁾.

아토피성 피부염에 대한 한방치료는 크게 濕熱俱盛型, 脾虛濕盛型, 血虛風燥型으로 분류된다. 濕熱俱盛型은 급성기 및 영아 습진의 발작기에 해당하며¹⁹⁾ 주로 清熱利濕, 涼血祛風하는 生地黃, 淡竹葉, 防風, 蒼朮, 白鮮皮, 燈心草, 赤芍藥, 連翹, 車前子 蟬蛻 등의 약물이 주로 사용되었다³⁾. 脾虛濕盛型은 영아기 습진 및 아급성기에 주로 해당되며¹⁹⁾ 健脾利濕, 消導, 清熱하는 白朮, 茯苓, 白扁豆, 薏苡仁, 澤瀉, 地膚子, 牡丹皮 등의 약물이 주로 사용되었다³⁾. 血虛風燥型은 만성기 및 반복 발작기에 주로 해당되는데¹⁹⁾ 養血潤燥 清熱解毒하는 生地黃, 牡丹皮, 當歸, 梔子, 黃柏, 麥門冬, 白茅根, 紫草 등의 약물이 주로 사용되었다³⁾.

저자는 아토피성 피부염에 임상적으로 효과를 보이고 있는 苦蔘등을 主藥으로 하는 當歸飲子 加減方 (A)와 이 처방에 當歸飲子와 실험적으로 항 알러지 효과가 있다고 입증된 浮萍草 連翹 升麻 大靑葉 天花粉 등을 加味한 當歸飲子 加減方 (B)의 효능을 비교 연구하였다.

當歸飲子 加減方 (A)의 主藥인 苦蔘은 心 肝 胃 大腸 膀胱經에 歸經하며 清熱燥濕, 祛風殺蟲, 利尿 등의 효능이 있어 濕疹 濕瘡 皮膚瘙痒 등에 사용되며²⁰⁾ 실험적으로 Gram 양성균인 *Staphylococcus aureus*, *Bacillus*

subtilis 와 Gram 음성균인 Escherichia coli, Salmonella typhimurium 등에 강한 항균작용이 있으며²¹⁾, 세포에서 Nitrate reductase (NR)의 활성도를 증가시키고 Glutathione (GSH) Superoxide dismutase(SOD)의 수치를 의미있게 회복시켜 항산화 효능이 입증되었다²²⁾.

當歸飲子 加減方 (A)는 이외에 荊芥, 防風, 白鮮皮, 草龍膽, 金銀花, 黃芩, 桑白皮, 牡丹皮, 當歸, 人蔘 등으로 구성이 되어있다. 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, 白鮮皮는 脾胃膀胱經에 작용하여 清熱燥濕, 祛風解毒 등의 효능이 있고, 草龍膽은 肝膽胃經에 작용하여 清熱燥濕, 瀉肝膽火 등의 효능이 있고, 黃芩은 清熱瀉火약으로 除濕熱하며, 金銀花는 清熱解毒약으로 瀉風熱하고, 桑白皮는 瀉肺平喘하며 利水消腫하고, 牡丹皮는 清熱涼血, 活血散瘀하며, 當歸는 心肝脾經에 작용하여 補血和血, 調經止痛, 潤燥滑腸하며, 人蔘은 脾肺心經에 작용하여 大補元氣 固脫生津 등의 효능이 있다²⁰⁾.

當歸飲子 加減方 (B)의 경우 여기에 通治血病하는 四物湯에 熟地黃 대신 生地黃을 加한 후 瘡疥를 다스리는 약재가 배합되어 있어 血熱 및 血虛, 血燥로 인한 증상을 주치하는 當歸飲子를 함방하여 生地黃, 白芍藥, 白蒺藜, 白何首烏, 川芎, 黃芪, 甘草를 가미하고, 개별적 약재로서 실험적으로 Compound 48/80로 유도된 피부 알레르기 반응을 0.01mg/ml 농도에서 각각 88.5%, 86.9%, 63.2%, 47.2%, 34.9%의 억제율을 보인 天花粉 連翹 浮萍草, 大靑葉, 升麻등을 가미하였다¹⁾.

아토피 피부염을 포괄하는 아토피성 알레르기 질환은 소아에서 흔히 접할 수 있으며, 매년 발병율이 높아져가고 있지만 아직까지 명확

한 원인은 밝혀지지 않고 있다. 현재 연구되고 있는 원인에 관한 흐름은 식품알레르기, 활성산소 등이 있다. 생후 1~3년간은 위장관 점막의 방어기전이 아직 완성되어 있지 않고 항원의 침입을 억제하는 IgA도 충분히 생산하지 못하기 때문에 식품항원의 투과가 용이하며²³⁾, 위장염에서도 장점막 손상으로 장점막 투과성이 비정상적으로 증가하여²⁴⁾ 10,000~60,000 dalton의 분자량을 갖으며 산이나 열 효소 등에 강한 식품 성분중 중요한 알레르기 유발 물질인 수용성 당단백(glycoprotein)의 흡수가 아토피성 피부염을 일으키는 주요 원인 중 하나로 여겨지고 있다²⁵⁾. 꽃가루와 같은 흡인성 항원의 경우 90%가 위장관에서 흡수된다는 점과²³⁾ 황 등²⁶⁾이 실시한 알레르기 환자 50명의 홍채 체질 분석에서 소화기 결합조직이 약한 체질이 66%로 가장 많은 수를 차지한 보고 등이 이를 뒷받침한다. 또한 환경오염의 증가, 인스턴트 식품 섭취증가와 더불어 아토피 환자가 늘어나는 경향에 관하여 활성산소(free radical)의 과잉생성이 아토피성 피부염의 중요한 원인으로 여겨지고 있다.

유전적인 면에서 아토피성 피부염 환자의 56%에서는 부모 중 적어도 한명이 아토피성 피부염을 앓거나 앓았던 경험이 있고, 양부모가 모두 환자인 경우에는 81%에서 자녀가 아토피성 피부염을 가지고 있다²⁷⁾. 알레르기 및 면역학적 측면에서는 환자의 80% 이상에서 혈청 IgE가 증가되는 소견을 보이며, 세균, 바이러스, 진균등의 피부감염이 정상인보다 흔하고 접촉성 항원에 대한 감각 기능이 저하되는 등 세포면역반응이 저하되어 있다²⁸⁾. 병리학적 소견으로는 세포간 부종과 그로인한 상피의 해면화(spongiosis)가 발생하며, 소혈관의 확장 현상과 진피의 부종을 볼 수 있으며, 피부가 과각화된 경우에는 ceramide같은 지질층의 파괴

가 관찰된다²⁹⁾.

아토피성 피부염 환자는 대개 건조한 피부를 가지고 있으며 가려움증이 가장 중요한 증상으로, 긁게 되면 가려움증이 발진으로 이어지고 다시 가려움증을 야기하는 악순환이 이어진다. 급성적으로는 경계가 불확실한 홍반성 斑, 丘疹이 린층과 동반되어 나타나며, 심한 경우는 부종이 올 수 있고 비련과 가피가 보이게 된다. 긁기 때문에 찰상이 오게 되며 포도상 구균에 의한 이차감염이 있을 수 있고, 농포, 가피가 발생한다. 만성적으로는 피부를 반복해서 긁기 때문에 태선화 현상이 나타나며, 통증이 동반된 균열이 나타나기도 하고, 반복적인 자극으로 색소 침착이 발생된다³⁰⁾. 이러한 증상으로 아토피 피부염 환자의 경우 정상아에 비하여 긴장감, 걱정, 두려움이 항진되어 있고 우울, 불안, 짜증을 내는 경향이 많아³¹⁾ 아이들의 성격형성 단계에 영향을 미치게 된다. 또한 극심한 소양감은 잠들기 어려우며 자주 깨는 등 총 수면시간이 적어 수면중에 발작적으로 분비되는 성장호르몬에 영향을 미쳐 성장저하를 초래할 수 있다³²⁾. 이 등³³⁾은 아토피성 피부염을 앓고 있는 환아들이 정상아에 비해 키와 성별연령을 고려한 키퍼센트가 작아지는 경향과 아토피성 피부염 증상이 심할수록 키퍼센트가 작아지는 경향을 보고하였다. 결국 아토피 피부염 환자의 경우 기존 질환으로 인한 불편감 뿐만 아니라 신경정신적인 문제와 신체 발달적인 장애에까지 영향을 미치고 있다. 그러므로 아토피성 피부염을 포함한 아토피 알레르기 상태에 있는 질환에서 비만세포에서 과잉 분비되는 염증유발 및 소양증 유발에 관련된 cytokine의 조절에 관한 연구가 매우 중요하다고 볼 수 있다.

염증은 조직에 상해나 파괴가 있을 때, 이에 대한 생체조직의 국소적 방어보호반응으로 고

대 그리스 의학에서부터 주목받아 온 병변(病變)으로 <타다>라는 의미의 어원처럼 열이 나는 상태를 가리켰지만, 실제로는 발적·종창·발열·동통·기능장애 등이 주된 징후이다³⁷⁾. 비만세포는 즉시형 과민반응과 화학 매개물질 및 IgE/FcεRI 매개로 유도된 면역 반응과 관련이 깊다³⁸⁾. 또한 이것은 천식과 비염, 아토피성 피부염, 심유종, 악성 종양과 같은 다양한 염증성 질환의 병인에 기여한다³⁹⁾. 비만세포가 염증 반응에 관여할 때 비만 세포 매개로 한 부종은 Compound 48/80으로 유도되며, 비면역학적 탈과립제로 잘 알려진 Compound 48/80은 비만세포의 신호전달경로를 활성화시키며 Compound 48/80의 처리는 비만세포의 수를 감소시킨다⁴⁰⁾. 본 연구에서 저자는 當歸飲子 加減方 (A, B)가 Compound 48/80에 의한 흰쥐 이개부종 반응을 억제하는 것을 관찰했다. 본 연구에서 사용한 Compound 48/80은 비만세포의 막을 파괴해 지질막의 투과성을 증가시켜 비만세포로부터 히스타민 등 매개물질의 분비를 유도한다⁴¹⁾. 따라서 當歸飲子 加減方 (A, B)는 Compound 48/80에 의해 불안정해진 비만세포의 지질막을 안정화시키는 기전으로 효과를 나타내고 있음을 예상할 수 있다. 또한 본 연구 결과 當歸飲子 加減方 (A)가 활성화된 HMC-1 세포에서 분비되는 염증성 세포활성물질인 TNF-α, IL-6 및 IL-8을 뚜렷이 억제하는 것을 관찰하였다. 當歸飲子 加減方 (A, B)는 고농도에서는 오히려 세포 독성이 나타나므로 낮은 농도에서 염증성 세포 활성물질의 mRNA 발현을 조사하였다.

그 결과 當歸飲子 加減方 (A)는 TNF-α mRNA를 현저하게 억제하고 IL-8 mRNA를 약간 억제하였으나 當歸飲子 加減方 (B)는 세포활성 물질에 별 다른 영향을 끼치지 않고 IL-6 mRNA의 분비는 當歸飲子 加減方 (A, B)

모두 발현을 억제하지 않는 양상을 나타내 향 후 생체내 연구 등의 상세한 연구가 필요하다.

HMC-1 세포는 비만세포의 세포활성물질의 활성 경로를 연구하는데 유용한 인간 비만세포⁴²⁾로, 이 세포로부터 분비되는 세포활성물질들의 분비 조절효과 검증에 의해 다양한 형태의 알레르기성 염증질환 치료제 개발 등을 위한 기초적 모델로 활용할 수 있다. 자극된 비만세포에서 분비되는 세포 활성물질들로 IL-1, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, TNF- α , granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) 및 IFN- γ 등이 있다. IL-6는 B세포로부터 IgE 생성을 유발하도록 하는 다기능적인 세포활성물질이다⁴³⁾. 또한 IL-6는 알레르기와 관련된 Th2 형 세포활성물질 환경에 우세하게 직접 혹은 간접적으로 작용하며, McHugh 등은 아토피 환자가 특정 항원에 대한 면역 반응을 일으킬 때 특징적으로 많이 나타난다고 보고하였다. IL-8 역시 아토피 환자의 진피에서 많이 관찰되고⁴⁴⁾, 대식세포나 T 림프구 등을 감염된 세포로 이동시키는 화학주성 작용을 하는 것으로 알려져 있다. 그리고 TNF- α 역시 아토피성 피부염 환자에서 증가되어 있고⁴⁵⁾, TNF- α 는 접착분자의 유도를 통해 피부 염증을 유도하기도 한다^{46, 51)}. 따라서 본 연구 결과는 當歸飲子 加減方 (A)가 활성화된 비만세포에서 IL-8 과 TNF- α 의 분비를 억제하여 알레르기성 염증반응을 효과적으로 조절할 수 있음을 의미한다.

결론적으로 본 논문은 그동안 임상적으로 여러 피부질환에 광범위하게 사용되어 온 當歸飲子 加減方 (A, B) 의 효과를 잘 알려진 생체 내·외 알레르기반응 실험모델에서 입증함과 동시에 當歸飲子 加減方 (A)가 當歸飲子 加減方 (B)보다 우수한 실험 결과를 보임으로써 약리 기전 이해에 의한 임상 활용 근거 자

료로서는 물론 응용 범위 확대에 기여할 것으로 사료된다. 따라서 본 논문에서는 IL-6, IL-8, TNF- α 와 이들의 mRNA 발현 억제에 관한 효능을 검증함으로써 當歸飲子 加減方 처방의 항염효능을 검증하였기에, 앞으로 아토피성 피부염에서 염증관련 cytokine의 조절과 더불어 소양감이라는 중요한 증상에 관련된 Histamine, PGD₂, LCT4, PAF 등에 대한 억제효과 검증, 외용했을 때에 피부흡수율에 관한 연구, 각질층의 지질 보호장벽 회복 관찰 등에 관한 연구를 통한 아토피 피부질환에 대한 다각적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

VI. 結 論

본 연구에서 저자는 생체 내·외 아토피성 알레르기반응 실험모델에서 當歸飲子 加減方 (A, B)의 효과를 비교 분석한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 當歸飲子 加減方 (A, B) (0.1, 1 g/kg)는 compound 48/80으로 자극된 흰쥐의 이개부종을 유의성있게 억제하였다.
2. 當歸飲子 加減方 (A) (10, 100 μ g/ml)는 PMA와 A23187로 자극된 HMC-1 세포로부터 TNF- α 의 분비를 유의성있게 억제하였으며, 當歸飲子 加減方 (B) (1, 10, 100 μ g/ml)는 유의성있게 억제하지 않았다.
3. 當歸飲子 加減方 (A, B)는 모든 농도에서(0.01, 0.1, 1 mg/ml) PMA와 A23187로 자극된 HMC-1 세포로부터 IL-8의 분비를 유의성 있게 억제했다.

4. 當歸飲子 加減方 (A)는 0.01, 1.0 mg/ml 농도에서 當歸飲子 加減方 (B)는 0.1, 1.0mg/ml의 농도에서 PMA와 A23187로 자극된 HMC-1 세포로부터 IL-6의 분비를 유의성 있게 억제했다.
5. 當歸飲子 加減方 (A,B)는 HMC-1에 전처리한 결과 0.001, 0.01 mg/ml 농도에서 세포 생존도에 영향이 없었고, 0.1 mg/ml, 1.0 mg/ml 농도에서 세포 생존도가 감소하는 것을 확인할 수 있었다.
6. 當歸飲子 加減方 (A) (0.01 mg/ml)는 PMA와 A23187로 자극된 HMC-1 세포로부터 TNF- α mRNA의 발현을 현저하게 억제하였으나, 當歸飲子 加減方 (B) (0.01 mg/ml)는 억제하지 않았다.
7. 當歸飲子 加減方 (A) (0.01 mg/ml)는 PMA와 A23187로 자극된 HMC-1 세포로부터 IL-8의 mRNA 발현을 약하게 억제하였으나 當歸飲子 加減方 (B) 0.01 mg/ml 처리군은 IL-8 mRNA 발현을 억제하지 않았다.
8. 當歸飲子 加減方 (A, B) (0.01 mg/ml)는 PMA와 A23187로 자극된 HMC-1 세포로부터 IL-6 mRNA 발현을 억제하지 않았다.

이러한 결과로 當歸飲子 加減方 (A, B)는 아토피성 알레르기 상태에서 비만세포에서 분비되는 염증성 cytokine들을 효과적으로 조절함으로써 아토피성 알레르기 질환에 대한 임상적 응용범위의 확대에 기여할 수 있을 것으로 사료된다. 또한 當歸飲子 加減方 (A)는 mRNA 발현 억제면에서 當歸飲子 加減方 (B)보다 우수한 실험결과를 보임으로써 앞으로 처방구성 및 임상응용 방향에 중요한 자료로 사용될 수 있을 것으로 사료된다.

參考文獻

1. 노태석, 노석선. 수종의 한약 추출물이 항알레르기 반응에 미치는 영향. 대한안ibi인후피부과학회지. 2002;15(1):1-30.
2. 박민철. 아토피 피부염의 동서의학적 문헌 고찰. 대한안ibi인후피부과학회지. 2002;15(1):226-252.
3. 권미원. 아토피 피부염 환자 20명에 대한 임상적 고찰과 ECP변화. 2000;14(2):127.
4. 니와유키에. 활성산소로부터 생명을 연장할 수 있는 식사학. 서울: 지성사. 1999.
5. 이해성, 김종서, 편복양. 소아 아토피 피부염의 빈도와 원인의 변화. 소아 알레르기 및 호흡기학회지. 2002;12(4).
6. Herman SM, Vender RB., Antihistamines in the Treatment of Atopic Dermatitis. J Cutan Med Surg. Nov. 12. 2003.
7. Petersen, L.J., Mosbech, H., Skov, P.S, Allergen-induced histamine release in intact human skin in vivo assessed by skin microdialysis technique: characterization of factors influencing histamine releasability. Journal of Allergy and Clinical Immunology. 1996;97:672-679.
8. Stassen, M., Muller, C., Arnold, M., Hultner, L., Klein-Hessling, S., Neudorfl, C., Reineke, T., Serfling, E., Schmitt, E, IL-9 and IL-13 production by activated mast cells is strongly enhanced in the presence of lipopolysaccharide: NF-kappa B is

- decisively involved in the expression of IL-9. *Journal of Immunology*. 2001;166:4391-4398.
9. Artuc, M., Hermes, B., Steckelings, U.M., Grutzkau, A., Henz, B.M., Mast cells and their mediators in cutaneous wound healing-active participants or innocent bystanders. *Experimental Dermatology*. 1999;8:1-16.
 10. 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 ICAM-1 in the epidermis. *Arch Dermatol Res*. 1998; 290:353-359.
 11. Scuderi, P., Sterling, R. E., Lam, K. S., Finley, P. R., Ryan, K. J., Ray, C. G., Slymen, D. J., Salmon, S. E. Raised serum levels of tumor necrosis factor in parasitic infections. *Lancet* 2. 1986:1364-1365.
 12. Scudiero D A, Shoemaker R H, Paull K D, Monks A, Tierney S, Nofziger TH, Currens M J, Seniff D, Boyd M R. Evaluation of a soluble tetrazolium/formazan assay for cell growth and drug sensitivity in culture using human and other tumor cell lines. *Cancer Res*. 1988;48:4827-4833.
 13. Mousli M.C., Bronner C, Bockaert J, Rouot B, Landry Y. Interaction of substance P, Compound 48/80 and mastoparan with-subunit C-terminal of G protein. *Immunol Lett*. 1990;25: 355-357.
 14. 대한피부과학회 교과서 편찬위원회 편저. 개정3판 피부과학. 麗文閣. 1994: 133-138.
 15. 홍창의편. 소아과학. 대한교과서 주식회사. 2000:1016.
 16. 소원방 편저. 소씨제병원후론. 대성문화사. 1992:251-253.
 17. 진실공. 외과정종. 인민위생출판사. 1983: 269.
 18. 오겸. 의종금감. 대성문화사. 1991:459-460.
 19. 江育仁, 張奇文. 實用中醫兒科學. 上海: 上海科學技術出版社. 1995:760-762.
 20. 전국한 의과대학 본초학교수 공편저. 본초학. 영림사. 1999:641-642.
 21. 최상도, 강근중, 주옥수, 최진상, 남상해. 고삼 추출물의 항균효과. 농업기술연구소보. 1997;10:99-103.
 22. 朴涌基, 康秉秀. 의이인과 고삼의 항산화작용에 대한 연구. 대한본초학회지. 2000:15(2).
 23. 임병우, 조여원. 생체방어와 식품 알러지의 기능성 성분. 와우출판사. 서울. 2002: 49-99.
 24. 윤혜선, 서정기, 편복양. 소아알레르기 심포지엄(87-90). 우유 알레르기. 소아알레르기 및 호흡기. 1991:50-71.
 25. 한재숙, 홍상욱, 김정숙. 한국인의 식품 알레르기 빈도 및 알레르기 원인 식품에 대한 연구. 한국식품영양학회지. 1997; 26(1):1-9.
 26. 황우준, 문형철, 장병선. 알레르기 환자의 홍채 체질분석. 대한한방소아과학회지. 2000;14(2):97-103.
 27. 안강모. 의약정보. 약업신문. 2001:25-32.

28. 대한피부과학회 교과서 편찬위원회 편저. 개정4판 피부과학.麗文閣. 2001: 161-166.
29. 대한병리학회. 병리학. 고문사. 1995:1102.
30. Thomas B. Fitzpatrick. 피부과학원색도감. 서울: 정담. 1999:54.
31. 김홍식. 소아 아토피 피부염 환자의 우울 및 불안에 관한 연구. 단국대학교 대학원 석사학위 논문. 1997.
32. Dahl Re, Bernhisel-Broadbent J, Scalon-holdford S, Sampson HA, Lupo M: sleep disturbances in children with atopic dermatitis, Arch Pediatr Adolesc Med. 1995;149(8):856-860.
33. 이승희, 김장현. 아토피 피부염 환자의 성장에 관한 임상적 연구. 대한한방소아과학회지. 2002;16(2):163-164.
34. Scuderi, P., Sterling, R. E., Lam, K. S., Finley, P. R., Ryan, K. J., Ray, C. G., Slymen, D. J., Salmon, S. E. Raised serum levels of tumor necrosis factor in parasitic infections. Lancet 2. 1986:1364-1365.
35. Scudiero D A, Shoemaker R H, Paull K D, Monks A, Tierney S, Nofziger TH, Currens M J, Seniff D, Boyd M R. Evaluation of a soluble tetrazolium /formazan assay for cell growth and drug sensitivity in culture using human and other tumor cell lines. Cancer Res. 1988;48:4827-4833.
36. Mousli M.C., Bronner C, Bockaert J, Rouot B, Landry Y. Interaction of substance P, Compound 48/80 and mastoparan with-subunit C-terminal of G protein. Immunol Lett. 1990; 25:355-357.
37. Lentsch A.B., Ward P.A. 2000. Regulation of inflammatory vascular damage. J.Pathol. 1990:343-348.
38. Murrant. T. and D. Bihari. Anaphylaxis and anaphylactoid reactions. Int. J. Clin. Pract. 2000;54:322-328.
39. Krishnaswamy, G., J. Kelly, D.Johnson, G.Youngberg, W. Stone, S.K. Huang, J. Bieber, and D.S.Chi. The human mast cell: Functions in physiology and disease. Front. Biosci. 2001;6:1109-1127.
40. Jaffery, G., Coleman, J.W., Huntley, J., Bell, E.B., Mast cell recovery following chronic treatment with compound 48/80. International Archives of Allergy and Immunology. 1994;105: 274-280.
41. Tasaka, K., Mio, M., Okamoto, M., Intracellular calcium release induced by histamine releasers and its inhibition by some antiallergic drugs. Annales Allergy. 1986;56:464-469.
42. Sillaber, C., Bevec, D., Buttrerfield, J.H., Heppner, C., Valenta, R., Scheiner, O., Kraft, D., Lechner, K., Bettelheim, P., Valent, P., Tumor necrosis factor alpha and interleukin-1 beta mRNA expression in HMC-1 cells: differential regulation of gene product expression by recombinant interleukin-4. Experimental Hematology. 1993;21:1271-1275.
43. Kishimoto T. The biology of interleukin-6. Blood. 1989;74:1-10.

44. Van Joost T, Kozel M M A, Tank B, Troost R, Prens E P. Cyclosporin in atopic dermatitis. Modulation in the expression of immunological markers in lesional skin. *J Am Acad Dermatol.* 1992;27:922-928.
45. 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; 122:587-592.
46. 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;59:1203-1211.
47. 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;137:1893-1896.
48. Bittlemann D, Casale T. Allergic models and cytokines. *Am J Respir Crit Care Med.* 1994;150:72-76.
49. 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;102:461-468.
50. Baggiolini M, Dewald B, Moser B. Interleukin 8 and related chemotactic cytokines-CXC and CC chemokines. *Adv Immunol.* 1994;55:97-179.
51. 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;133:750-756.