

口瘡의 外用藥으로 多用되는 黃柏, 靑黛, 白礬 및 五倍子の 抗炎作用에 관한 研究

유진곤 · 최관호 · 김용국 · 강성구 · 정순영 · 정재호 · 서형식
상지대학교 한의과대학 안이비인후피부과교실

The study on the anti-inflammatory effects of Phellodendri Cortex, Indigo Naturalis, Alumen, and Chinensis Galla, most frequently used for the external therapy of Gu-Chang.

*Jin-gon Yoo · Kwan-ho Choi · Yong-kook Kim · Sung-ko Kang
Soon-young Jung · Jae-ho Jung · Hyung-sik Seo*

This experimental study was performed to investigate the anti-inflammatory effects of Phellodendri Cortex(PC), Indigo Naturalis(IN), Alumen(AM), and Chinensis Galla(CG). These four prescriptions most frequently have been used in oriental medicine for the external therapy of Gu-Chang.

This study was done to evaluate the activity of superoxide dismutase(SOD) and the inhibitory effects of the formation of cyclooxygenase-2(COX-2), tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-1 β (IL-1 β), prostaglandin-E2(PGE2) on the monocyte and neutrophil.

The results were summarized as follows.

1. IN has no cytotoxicity but PC, AM, CG have a little cytotoxicity by the increase of concentrations.
2. PC, IN, AM and CG all inhibited the formation of COX-2 in the human neutrophil.
3. 1000 μ g/ml of PC increased the formation of SOD in the human monocyte.
4. 1000 μ g/ml of PC, 100 μ g/ml and 1000 μ g/ml of IN, 100 μ g/ml of CG inhibited the formation of TNF- α in the human monocyte.
5. 10 μ g/ml of PC, 1000 μ g/ml of IN inhibited the formation of IL-1 β in the human monocyte.
6. PC, IN, AM and CG all did not inhibit the production of PGE2 in the human monocyte

In addition, the results show that PC, IN, AM and CG all have anti-inflammatory effects and can be used for the external therapy of Gu-Chang.

Key words : Phellodendri cortex, Indigo naturalis, Alumen, Chinensis galla, Superoxide dismutase, Cyclooxygenase-2,
Tumor necrosis factor- α , Interleukin-1 β , Prostaglandin-E2

교신저자: 유진곤, 경기도 화성시 우정읍 조암리 349-17
동의보감 한의원
(Tel. 031-351-6565 E-mail : jkyoo72@hanmail.net)

서론

口瘡은 《黃帝內經·素問》¹⁾ 중 《氣交變大論》에서는 口瘡, 《五常政大論》에서는 口瘍, 《氣厥論》에서는 口糜라고 최초로 표현하였다. 이후 《外科正宗》²⁾에서는 口破, 《醫宗金鑑》³⁾에서는 大人口破라 하였다. 이 외에도 口疳^{4,5)}, 鵝口瘡^{3,4)} 등도 口瘡의 범주에 속하며 증상에 따라 다양한 명칭이 혼용되어 사용되어졌다. 이는 서양의학의 구강점막 炎症인 口內炎과 유사하며 病態에 따라 單純性, 潰瘍性, 潰疔性, 아프타성, 헤르페스성 口內炎으로 분류를 할 수 있고 유발인자로는 영양장애, 빈혈, 위장장애, 고열, 감기, 신체의 피로 등이 있다^{6,9)}.

口瘡의 病因은 心脾火熱, 實熱, 上焦實熱, 外感邪熱 등의 實證과 胃氣虛, 中焦虛熱, 下焦陰火 등의 虛證으로 구분될 수 있다^{6,9)}.

口瘡의 症狀은 구강내의 순, 설, 혀 및 상악 등의 점막에 발생하는 한 개 혹은 다수의 담황색 내지 회백색을 띠는 표재성 궤란점이며 국부적으로 腫脹, 紅腫, 灼熱, 乾燥, 疼痛이 나타난다. 또한 病變이 진행되면 腐爛이 만연되나 腫痛하지 않을 때도 있다. 크기는 큰 것은 豆狀에서부터 작은 것은 星狀에 이르기까지 다양하게 나타난다^{6,8)}.

口瘡의 治療는 크게 虛證과 實證으로 구별되어지는데, 實證은 清熱瀉火를, 虛證은 滋陰降火 補中益氣의 방법을 위주로 활용하였고^{6,10)}, 外治로는 消腫止痛, 祛腐生肌收斂 등의 방법을 多用하였다^{6,8,11)}. 가장 多用된 外用藥을 효능면에서 분류하면 清熱燥濕藥, 清熱解毒藥, 開竅藥 등이 있고 단일제제로는 黃柏, 靑黛, 白礬 등이 많이 사용되어졌다¹²⁾.

최근 抗炎 및 口瘡에 대한 실험적 연구로는 姜¹³⁾의 “回春涼膈散과 龍石散이 抗炎作用에 미치는 영향”, 盧¹⁴⁾의 “榆白皮가 抗炎作用에 미치는 영향”, 辛¹⁵⁾의 “黃栢散加味가 口瘡에 미치는 실험적 연구” 등이 있으나 실제로 口瘡의 外治法으로 多用된 藥物

의 抗炎作用에 대한 실험적 연구는 아직 報告된 바가 없다.

이에 著者は 口瘡치료에 多用되는 外用藥인 黃柏, 靑黛, 白礬 및 五倍子の 抗炎作用 및 口瘡의 치료에 미치는 영향을 규명하기 위해 人體의 纖維芽細胞를 이용한 세포독성검사, 중성백혈구를 이용한 Cyclooxygenase-2 抑制效果, 단핵백혈구를 이용한 Superoxide dismutase 活性效果와 Tumor Necrosis Factor- α , Interleukin-1 β 및 Prostaglandin-E2 抑制效果를 측정하는 실험을 하여 유의한 결과를 얻었기에 報告하는 바이다.

실험재료 및 방법

1. 材料

1) 血液

건강한 成人으로부터 320ml의 정맥혈액을 채집하고, 항응고제(CPDA1, 녹십자의료공업)를 첨가하여 4℃에서 냉장 보관한 후 실험에 사용하였다.

2) 藥材

실험에 사용된 藥材는 黃柏, 靑黛, 白礬, 五倍子를 상지대학교 부속한방병원에서 구입한 후 정선하여 사용하였다. 각각의 약재를 물 1000cc와 함께 3000cc의 등근 플라스크에 넣어 3시간 전탕 하고 16겹의 거즈로 여과한 뒤 동결건조기(biocryos, 한국)에 넣어 건조분말을 얻었다.

건조분말을 증류수에 1000 μ g/ml의 농도로 맞추고 0.2 μ m의 filter (Coming, USA)로 멸균 여과한 뒤, 10배, 100배, 1000배 희석하여 각각 1000 μ g/ml, 100 μ g/ml, 10 μ g/ml, 1 μ g/ml로 조정하여 사용하였다. 그 內容과 用量은 다음과 같다(Table 1).

Table 1. Contents of Phellodendri Cortex, indigo Naturalis, Alumen, Chinensis Galla.

| 韓藥名 | 生藥名 | 用量(g) |
|-----|---------------------|-------|
| 黃 柏 | Phellodendri Cortex | 100 |
| 靑 黛 | Indigo Naturalis | 100 |
| 白 礬 | Alumen | 100 |
| 五倍子 | Chinensis Galla | 100 |

2. 方法

1) 혈청과 세포분리배양

① 배양액

기본배지는 증류수 1L에 RPMI 1640(Gibco, USA) 16.2g, 3.7g sodium bicarbonate (Shinyo pure Chemicals Co.,Ltd, Japan), Penicillin G (100,000 Units/ml, Sigma, USA) 1ml, Streptomycin (100mg/ml, Sigma, USA) 1ml, fungizone (Gibco, USA) 4ml을 첨가하여 혼합한 뒤, bottle top filter (Corning, USA)로 멸균 여과하여 사용하였다. fetal bovine serum (FBS, Gibco, USA)은 56°C의 항온수조에서 30분간 불활성 시킨 후 기본배지에 10% 첨가하여 혼합배지로 사용하였으며, 세포배양 전반기에 사용하였다.

② 단핵백혈구의 배양

채집한 혈액 중 40ml을 50ml Tube(Falcon, USA)에 넣어 1200rpm에서 10분간 원심분리한 후 중층의 백혈구층을 회수하여 RPMI 1640 배지(Gibco, USA)와 1:1의 비율로 희석한 후에 50ml의 원심분리관에 ficoll-paque(Pharmacia biotech, USA) 12ml을 첨가한 후에 희석된 혈액 30ml을 원심분리관 벽면을 따라서 조심스럽게 첨가하고 1600rpm에서 30분 동안 원심분리한 후에 혈청이 포함된 상층을 제거하였다.

단핵세포가 함유된 중층을 희석한 다음에 3배의 RPMI 1640 배지를 첨가하고 800 rpm에서 10분 동안 원심분리를 시킨 후에 상등액을 제거하였다. 계속하여 RPMI 1640 배지를 10ml 첨가하여 조심스럽게 pipetting한 다음에 800rpm에서 10분 동안 원심분리한 후 상등액을 제거하고 남아있는 단핵백혈구와

1:1 비율의 RPMI 1640 배지를 첨가 희석하여 24-well plate(Corning, Canada)에 10^6 cell/well로 분주하고 온도 37°C, 95%공기, 5% CO₂의 배양기(Jouan IGO150, France)에서 무균적으로 배양하였다.

③ 중성백혈구의 배양

채집한 혈액 중 40ml을 50ml Tube(Falcon, USA)에 넣어 1200rpm에서 10분간 원심분리한 후 중층의 백혈구층을 회수하여 RPMI 1640 배지(Gibco, USA)와 1:1의 비율로 희석한 후에 50ml의 원심분리관에 ficoll-paque(Pharmacia biotech, USA) 12ml을 첨가한 후에 희석된 혈액 30ml을 원심분리관 벽면을 따라서 조심스럽게 첨가하고 1600rpm에서 30분 동안 원심분리한 후 상층의 ficoll-paque를 제거하였다.

침전된 적혈구 및 중성백혈구에 RPMI 1640 배지를 1:1 비율로 희석하고 PBS buffer에 용해시킨 3% dextran(Sigma, USA) 20ml을 첨가하여 10분 동안 상온에서 방치시킨 후에 상등액을 취하여 1200rpm에서 10분 동안 원심분리시키고 상등액을 제거하였다. 잔존하는 적혈구를 제거하기 위하여 0.2% PBS buffer 10ml을 30초 동안 처리 후 1.6% PBS buffer 10ml를 즉시 첨가하여 등장액으로 회복시킨 후 세포부유물을 1200rpm에서 10분간 원심분리하여 상등액을 제거하는 방법으로 이 과정을 1회 반복하였으며 남아있는 중성백혈구와 1:1 비율의 RPMI 1640 배지를 첨가 희석하여 24-well plate(Corning, Canada)에 10^6 cell/well로 분주하고 온도 37°C, 95%공기, 5% CO₂의 배양기(Jouan IGO150, France)에서 무균적으로 배양하였다.

④ Detroit 551 세포 배양

염증 치유의 초기에 관여하는 fibroblast에 대한 한약의 세포독성을 알아보기 위하여 Detroit 551 human fibroblast를 사용하여 세포독성을 측정하였다. Detroit 551은 human fibroblast로서 한국 세포주은행에서 분양받아, 혼합배지와 함께 온도 37°C, 95%공기, 5% CO₂의 배양기(Jouan IGO150, France)에서 무

균적으로 배양하였다. Cytotoxicity를 측정하기 위하여 Detroit 551세포를 96-well culture plate(Falcon, USA)에 1×10^4 cells/ml로 조정된 다음 24시간 CO₂ 배양기(37°C, 5% CO₂)에서 배양하였다.

2) Cytotoxicity test

배양한 Detroit 551 세포에 한약을 20, 10, 1, 0.1, 0 mg/ml 농도로 처리하여 3일간 배양하였다. 3일 후 세포독성을 측정하기 위하여 각 well당 20 μ l의 MTT 용액(5mg/ml in PBS, Sigma, USA)을 넣고 37°C, 5% CO₂에서 3시간 더 배양한 후 100 μ l의 0.04M HCl을 넣어 MTT 용액과 반응하여 생긴 푸른색의 formazan 결정을 완전히 녹여 ELISA 판독기(Emax, Molecular devices, USA)로 540nm에서 흡광도를 측정하였다. 생존율은 다음 식에 의하여 계산하였다.

$$\% \text{ viability} = \frac{(\text{실험군의 평균흡광도}-\text{기준흡광도})}{(\text{대조군의 평균흡광도}-\text{기준흡광도})} \times 100$$

또한 한약을 투여하지 않은 경우의 생존율을 100으로 가정하여 각각의 농도에 의한 생존율을 회귀분석을 통하여 IC50(Inhibitory concentration 50)을 구하였다.

3) 중성백혈구의 Cyclooxygenase-2(이하 COX-2) 측정

① Total RNA의 분리 및 정량

COX-2의 활성 억제 측정을 위해 중성백혈구로부터 Total RNA 분리하였다. Total RNA의 분리는 RNAzol B(Friendswood, Texas)를 이용하여 중성백혈구가 배양된 24-well plate에 각각 500 μ l의 RNAzol를 첨가하여 세포를 완전히 균질한 다음, 100 μ l chloroform을 첨가하여 4°C의 원심분리기에서 12,000 rpm, 30분간 원심분리하였다. 분리된 상층액은 새로운 tube에 옮긴 다음, 100% ethyl alcohol를 500 μ l 첨가한 후 14,000rpm에서 5분간 원심분리하여 얻은 pellet을 0.1% DEPC로 처리된 70% ethyl alcohol로 3번 세척하였다. 말린 pellet은 50 μ l의 RNase-free water

를 이용하여 pellet을 녹였다. RNA 정량은 spectrophotometer(U-2000, HITACHI, Japan)를 이용하여 260nm 및 280nm에서 흡광도를 측정하여 추출된 Total RNA의 농도 및 순도를 계산하였다.

② RT-PCR

RT-PCR을 위하여 중성백혈구로부터 추출한 각각의 1 μ g의 total RNA를 주형으로하여 oligo dT primer(Bioneer, Korea)를 10pmol씩 첨가한 후 여기에 PCR 완충용액, reverse transcriptase 20U, RNasin 10U 그리고 2 mM dNTP를 첨가하였다. 그리고 RNA-free water로 최종 부피를 20 μ l 조정된 후 42°C에서 1시간, 95°C에서 5분간 처리 후 cDNA을 만들었으며 차후 실험에 사용하기 위하여 -20°C의 냉동고에 보관하였다.

준비된 cDNA를 주형으로 forward primer TGC CCA GCT CCT GGC CCG CCG CTT, reverse primer GTG CAT CAA CAC AGG CGC CTC TTC(Bioneer, Korea)를 사용하였으며 최종 부피가 20 μ l가 되도록 하여 PCR에 사용하였다. PCR 반응은 thermocycler (Hybaid HBPX05, UK)에서 94°C에서 2min(1회), 94°C에서 30sec(1회), 65°C에서 30sec(1회) 그리고 72°C에서 1min(1회)를 40 cycle 반복하였고 마지막 신장반응을 72°C에서 1회 수행하였다.

PCR products를 확인하기 위하여 ethidium bromide (0.5mg/ml)가 포함된 agarose(2%)를 TAE(Tris-Acetate-EDTA) buffer(pH 8.3)에 녹여 사용하였으며, 시료 5 μ l와 3 μ l loading buffer(6x)를 gel에 주입하여 100V로 30분간 전기영동하였다. 전기영동이 끝난 gel을 UV transilluminator (Spectrolin TR-302, USA)위에서 관찰하였으며 micro 렌즈와 UV 및 red filter를 부착한 사진기(Polaroid H-3, USA)를 사용하여 자외선 조명 하에서 촬영하였다.

4) 단핵백혈구의 Superoxide dismutase(이하 SOD) 측정

SOD 측정은 Human Cu/ZnSOD ELISA kit(Bender

Medsystems, USA)를 사용하였다. 혈액에서 분리한 단핵백혈구를 24-well plate에 800 μ l 첨가하여 10⁶cell/well 되도록 분주하고 RPMI 1640 배지 200 μ l를 첨가한 well을 대조군, lipopolysaccharide(LPS; Sigma, USA) 100 μ l와 黃柏, 靑黛, 白礬, 五倍子 (1, 0.1, 0.01, 0.001%) 100 μ l를 첨가한 well을 실험군으로 하여 24시간 동안 배양한 후, LPS 100ng/ml 첨가하여 30분 동안 더 배양하였다.

실험방법은 제조회사의 사용방법에 따라 실시하였으며 96-well polystyrene plate에 PBS를 90 μ l 첨가하고 sample well에는 sample을 추가적으로 10 μ l 첨가하였다. 계속해서 모든 well에 HRP-Conjugate를 50 μ l 첨가하였으며 실온에서 한시간 정치하였다가 세척용액으로 3회 세척하였다. TMB substrate 용액을 blank well을 제외한 모든 well에 100 μ l씩 첨가하고 20분간 암실에서 반응하였다. 1M의 인산 100 μ l 첨가하여 반응을 멈추고 ELISA 판독기(Emax, Molecular Device, USA)를 이용하여 610nm에서 측정하였다.

5) 단핵백혈구의 Tumor Necrosis Factor- α (이하 TNF- α) 측정

TNF- α 측정은 Human TNF alpha ELISA kit(PIERCE, USA)를 사용하였다. 혈액에서 분리한 단핵백혈구를 24-well plate에 800 μ l를 첨가하여 10⁶cells/well 되도록 분주하고 RPMI 1640 배지 200 μ l를 첨가한 well을 대조군, LPS(Sigma, USA) 100 μ l와 黃柏, 靑黛, 白礬, 五倍子(1, 0.1, 0.01, 0.001%) 100 μ l를 添加한 well을 실험군으로 하여 24시간 동안 배양한 후, LPS 100ng/ml 첨가하여 30분 동안 더 배양하였다.

실험방법은 제조회사의 사용방법에 따라 수행하였으며 sample 희석액을 50 μ l를 96 well polystyrene plate에 분주하고 분주된 well에 standard와 sample을 각각 50 μ l씩 분주한 후 실온에서 1시간 방치하였다. 이것을 세척용액으로 3회 세척하였고 Biotinylated Antibody 100 μ l를 각 well에 첨가한 후, 한 시간 동안 실온에 방치한 다음 상기와 같이 3회 세척하였고 각

well에 Streptavidin-HRP를 100 μ l 첨가한 후 실온에서 30분간 반응하였다. 각 well에 100 μ l TMB 용액을 100 μ l 첨가하여 30분간 실온에서 반응시키고 0.18 M의 황산 100 μ l 첨가하여 반응을 멈추고 ELISA 판독기(Emax, Molecular Device, USA)를 이용하여 570nm에서 측정하였다.

6) 단핵백혈구의 Interleukin- β (이하 IL-1 β) 측정

IL-1 β 측정은 Human IL-1 beta ELISA kit(PIERCE, USA)를 사용하였다. 혈액에서 분리한 단핵백혈구를 24-well plate에 800 μ l를 첨가하여 10⁶cells/well 되도록 분주하고 RPMI 1640 배지 200 μ l를 첨가한 well을 대조군, LPS(Sigma, USA) 100 μ l와 黃柏, 靑黛, 白礬, 五倍子(1, 0.1, 0.01, 0.001%) 100 μ l를 첨가한 well을 실험군으로 하여 24시간 동안 배양한 후, LPS 100ng/ml 첨가하여 30분 동안 더 배양하였다.

실험방법은 제조회사의 사용방법에 따라 수행하였으며 96 well polystyrene plate에 standard와 sample을 50 μ l 첨가하고 biotinylated antibody를 50 μ l 첨가한 후 실온에서 3시간 동안 방치하였다. 세척용액으로 3분 동안 세척하고 streptavidin-HRP 용액을 각 well에 100 μ l 첨가한 후 실온에서 30분 반응 후 상기와 같은 방법으로 3번 세척하였다. 계속해서 TMB substrate 용액을 각 well에 100 μ l 첨가 후 30분간 암실에서 반응시킨 다음 0.18 M의 황산 100 μ l 첨가하여 반응을 멈추고 ELISA 판독기(Emax, Molecular Device, USA)를 이용하여 550nm에서 측정하였다.

7) 단핵백혈구의 Prostaglandin-E2(이하 PGE2) 측정

PGE2 측정은 Prostaglandin-E2 Immunoassy kit(R&D system, USA)를 사용하였다. 혈액에서 분리한 단핵백혈구를 24-well plate에 800 μ l를 첨가하여 10⁶cells/well 되도록 분주하고 RPMI 1640 배지 200 μ l를 첨가한 well을 대조군, LPS(Sigma, USA) 100 μ l와 黃柏, 靑黛, 白礬, 五倍子(1, 0.1, 0.01, 0.001%) 100 μ l를 첨가한 well을 실험군으로 하여 24시간 동

안 배양한 후, LPS 100ng/ml 첨가하여 30분 동안 더 배양하였다.

Non-specific(NSB) well에는 assay buffer 150 μ l, zero standard(B0) well에는 100 μ l, standard와 sample well에는 100 μ l 첨가하고 total activity(TA)와 substrate blank well을 제외한 각 well에 PGE2 conjugate를 50 μ l 첨가하였다. TA well과 substrate blank well에는 PGE2 antibody 용액을 50 μ l 첨가 후 500rpm shaker(Rotomix, USA)에서 2시간 동안 반응 후 각 well를 세척용액으로 3회 세척하였다. TA well에는 PGE2 conjugate 5 μ l, TA well를 제외한 모든 well에는 pNPP substrate를 200 μ l 첨가 후 실온에서 1시간 반응을 하고 1M 인산이 첨가된 용액을 50 μ l 첨가하여 반응을 멈춘 후 즉시 ELISA 판독기(Emax, Molecular Device, USA)를 이용하여 570nm에서 측정하였다.

8) 통계처리

실험에 사용한 통계프로그램은 STATISTICA 6.0(Statsoft, USA)를 이용하였으며, 통계방법은 student's T-test를 하였고, 시험관내 細胞毒性에서 구한 IC50¹⁴⁾은 回歸分析을 하였고, 각각의 경우 P-value가 0.05 미만인 경우 유의성이 있는 것으로 하였다.

실험 성적

1. Cytotoxicity test

1) 黃柏

黃柏을 각각 0.1mg/ml, 1mg/ml, 10mg/ml, 20mg/ml 농도로 처리한 결과, 세포생존율이 0.1mg/ml에서는

14) Inhibitory concentration 50 으로 어떠한 반응 A의 크기를 100%로 가정하였을 때, B라는 약물을 이용하여 반응 A의 크기를 50%로 감소시킬 수 있으면, 그때의 B의 농도를 반응 A에 대한 B의 IC50이라고 함

92.09%, 1mg/ml에서는 90.16%, 10mg/ml에서는 83.22%, 20mg/ml에서는 80%로 나타났으며, IC50은 56.47mg/ml로 측정되었다. 따라서 황백의 세포독성은 농도의존적임을 알 수 있었다(Fig. 1).

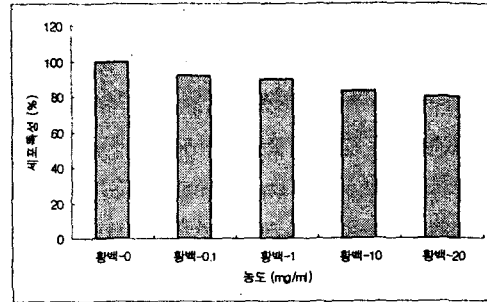


Fig. 1. The cytotoxicity of phellodendri cortex on the Detroit 551 cell

2) 靑黛

靑黛를 각각 0.1mg/ml, 1mg/ml, 10mg/ml, 20mg/ml 농도로 처리한 결과, 세포생존율이 0.1mg/ml에서는 118.2%, 1mg/ml에서는 127.4%, 10mg/ml에서는 129.1%, 20mg/ml에서는 116.7%로 나타났다. 따라서靑黛의 경우, 실험한 농도에서는 전혀 세포독성효과가 나타나지 않고 오히려 세포증식을 일으켰다(Fig. 2).

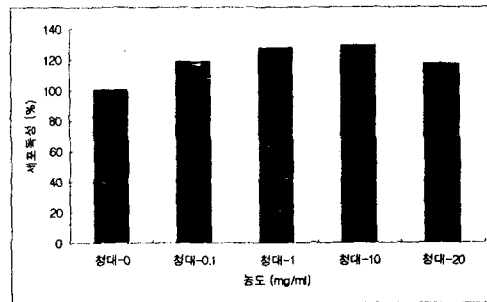


Fig. 2. The cytotoxicity of indigo naturalis on the Detroit 551 cell

3) 白礬

白礬을 각각 0.1mg/ml, 1mg/ml, 10mg/ml, 20mg/ml 농도로 처리한 결과, 세포생존율이 0.1mg/ml에서는 98.5%, 1mg/ml에서는 97.25%, 10mg/ml에서는 89.19%,

20mg/ml에서는 80.6%로 나타났으며, IC50은 52.79mg/ml로 측정되었다. 따라서 백반의 세포독성은 농도 의존적임을 알 수 있었다(Fig. 3).

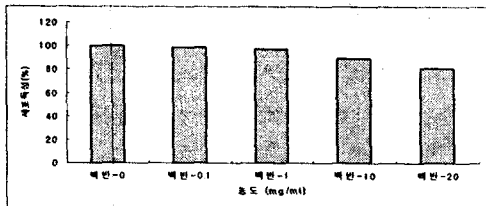


Fig. 3. The cytotoxicity of alumen on the Detroit 551 cell

4) 五倍子

五倍子를 각각 0.1mg/ml, 1mg/ml, 10mg/ml, 20mg/ml 농도로 처리한 결과, 세포생존율이 0.1mg/ml에서는 88.06%, 1mg/ml에서는 84.835%, 10mg/ml에서는 70.37%, 20mg/ml에서는 58.06%로 나타났으며, IC50은 23.53mg/ml로 측정되었다. 따라서 오배자의 세포독성은 농도 의존적임을 알 수 있었다(Fig. 4).

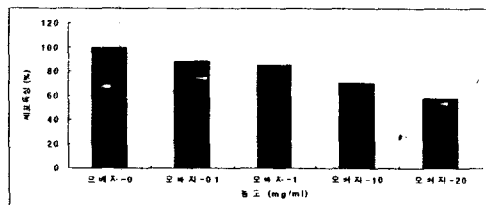


Fig. 4. The cytotoxicity of chinensis galla on the Detroit 551 cell

2. 중성백혈구의 COX-2 生成에 미치는 영향

본 실험에서 각 藥材의 抗炎效果를 알아보기 위하여 각각 1000µg/ml와 10µg/ml 농도로 처리하여 COX-2를 RT-PCR로 측정된 결과, lipopolysaccharide를 세포에 처리하였을 때 실험군 모두 COX-2의 증가를 보였으나, 黃柏, 靑黛, 白礬 및 五倍子를 각 농도별로 처리하였을 때에는 모두 COX-2의 生成抑制效果를 나타내었다. 특히 黃柏과 靑黛에서 COX-2의 발현을 억제시키는 효과가 우수한 것으로 나타났다(Fig. 5).

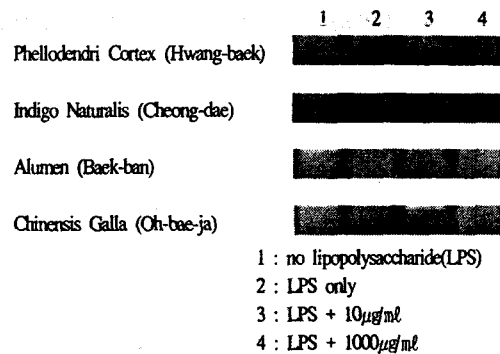


Fig. 5. The effects of phellodendri cortex, indigo naturalis, alumen, chinensis-galla on the formation of COX-2 in human neutrophil

3. 단핵백혈구의 SOD 生成에 미치는 영향

1) 黃柏

단핵백혈구를 이용하여 SOD의 生成을 측정된 결과, 1µg/ml 농도에서는 0.45±0.00(pg/ml), 10µg/ml 농도에서는 0.46±0.03(pg/ml), 100µg/ml 농도에서는 0.46±0.03(pg/ml)로 나타났다. 특히 1000µg/ml 농도에서는 0.52±0.05(pg/ml)로 나타나 유의한 활성효과가 있었다(Table 2).

Table 2. The effect of phellodendri cortex on the formation of SOD in human monocyte

| Group | SOD(pg/ml) |
|----------------------------|-------------|
| LPS(10ng/ml) | 0.45± 0.02 |
| LPS(10ng/ml) + 1(µg/ml) | 0.45± 0.00 |
| LPS(10ng/ml) + 10(µg/ml) | 0.46± 0.03 |
| LPS(10ng/ml) + 100(µg/ml) | 0.46± 0.03 |
| LPS(10ng/ml) + 1000(µg/ml) | 0.52± 0.05* |

* P<0.05 : Statistical significance was evaluated compared with LPS(10ng/ml)
LPS : lipopolysaccharide

2) 靑黛

단핵백혈구를 이용하여 SOD의 生成을 측정된 결과, 1µg/ml 농도에서는 0.42±0.04(pg/ml), 10µg/ml 농도에서는 0.42±0.02(pg/ml)로 나타나 오히려 유의하게 감소하였고, 100µg/ml 농도에서는 0.44±0.04(pg/ml)로

나타났다. 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도에서는 0.47 \pm 0.02(pg/ml)로 나타나 약간의 활성효과가 있었다(Table 3).

Table 3. The effect of *indigo naturalis* on the formation of SOD in human monocyte

| Group | SOD(pg/ml) |
|--|------------------|
| LPS(10ng/ml) | 0.45 \pm 0.02 |
| LPS(10ng/ml) + 1($\mu\text{g}/\text{ml}$) | 0.42 \pm 0.04* |
| LPS(10ng/ml) + 10($\mu\text{g}/\text{ml}$) | 0.42 \pm 0.02* |
| LPS(10ng/ml) + 100($\mu\text{g}/\text{ml}$) | 0.44 \pm 0.04 |
| LPS(10ng/ml) + 1000($\mu\text{g}/\text{ml}$) | 0.47 \pm 0.02 |

* P<0.05 : Statistical significance was evaluated compared with LPS(10ng/ml)

3) 白礬

단핵백혈구를 이용하여 SOD의 생성을 측정한 결과, 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도에서는 0.54 \pm 0.02(pg/ml), 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도에서는 0.51 \pm 0.08(pg/ml)로 나타나 약간의 활성효과가 있었고, 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도에서는 0.44 \pm 0.05(pg/ml)로 나타났다. 특히 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도에서는 0.36 \pm 0.06pg/ml로 나타나 오히려 유의하게 감소하였다(Table 4).

Table 4. The effect of *alumen* on the formation of SOD in human monocyte

| Group | SOD(pg/ml) |
|--|------------------|
| LPS(10ng/ml) | 0.45 \pm 0.02 |
| LPS(10ng/ml) + 1($\mu\text{g}/\text{ml}$) | 0.54 \pm 0.02 |
| LPS(10ng/ml) + 10($\mu\text{g}/\text{ml}$) | 0.51 \pm 0.08 |
| LPS(10ng/ml) + 100($\mu\text{g}/\text{ml}$) | 0.44 \pm 0.05 |
| LPS(10ng/ml) + 1000($\mu\text{g}/\text{ml}$) | 0.36 \pm 0.06* |

* P<0.05 : Statistical significance was evaluated compared with LPS(10ng/ml)

4) 五倍子

단핵백혈구를 이용하여 SOD의 생성을 측정한 결과, 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도에서는 0.45 \pm 0.03(pg/ml), 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도에서는 0.45 \pm 0.02(pg/ml), 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도에서는 0.43 \pm 0.02(pg/ml)로 나타났다. 특히 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도에서는 0.26 \pm 0.02(pg/ml)로 나타나 오히려 유의하게 감소하였다(Table 5).

Table 5. The effect of *chinensis galla* on the formation of SOD in human monocyte

| Group | SOD(pg/ml) |
|--|------------------|
| LPS(10ng/ml) | 0.45 \pm 0.02 |
| LPS(10ng/ml) + 1($\mu\text{g}/\text{ml}$) | 0.45 \pm 0.03 |
| LPS(10ng/ml) + 10($\mu\text{g}/\text{ml}$) | 0.45 \pm 0.02 |
| LPS(10ng/ml) + 100($\mu\text{g}/\text{ml}$) | 0.43 \pm 0.02 |
| LPS(10ng/ml) + 1000($\mu\text{g}/\text{ml}$) | 0.26 \pm 0.02* |

* P<0.05 : Statistical significance was evaluated compared with LPS(10ng/ml)

4. 단핵백혈구의 TNF- α 생성에 미치는 영향

1) 黃柏

단핵백혈구를 이용하여 TNF- α 의 생성을 측정한 결과, 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도에서는 187.19 \pm 15.88(pg/ml)로 나타나 오히려 유의하게 증가하였고, 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도에서는 135.41 \pm 1.66(pg/ml), 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도에서는 121.50 \pm 5.15(pg/ml)로 나타났다. 특히 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도에서는 96.53 \pm 2.59(pg/ml)로 나타나 유의한 억제효과가 있었다(Table 6).

Table 6. The effect of *phellodendri cortex* on the formation of TNF- α in human monocyte

| Group | TNF- α (pg/ml) |
|--|-----------------------|
| LPS(10ng/ml) | 129.41 \pm 11.45 |
| LPS(10ng/ml) + 1($\mu\text{g}/\text{ml}$) | 187.19 \pm 15.88* |
| LPS(10ng/ml) + 10($\mu\text{g}/\text{ml}$) | 135.41 \pm 1.66 |
| LPS(10ng/ml) + 100($\mu\text{g}/\text{ml}$) | 121.50 \pm 5.15 |
| LPS(10ng/ml) + 1000($\mu\text{g}/\text{ml}$) | 96.53 \pm 2.59* |

* P<0.05 : Statistical significance was evaluated compared with LPS(10ng/ml)

2) 靑黛

단핵백혈구를 이용하여 TNF- α 의 생성을 측정한 결과, 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도에서는 159.85 \pm 10.05(pg/ml), 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도에서는 152.75 \pm 9.62(pg/ml)로 나타나 오히려 유의하게 증가하였고, 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도에서는 99.94 \pm 5.41(pg/ml), 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도에서는 109.68 \pm 3.66(pg/ml)로 나타나 유의한 억제효과가 있었다(Table 7).

Table 7. The effect of *indigo naturalis* on the formation of TNF- α in human monocyte

| Group | TNF- α (pg/ml) |
|----------------------------------|-----------------------|
| LPS(10ng/ml) | 129.41 \pm 11.45 |
| LPS(10ng/ml) + 1(μ g/ml) | 159.85 \pm 10.05* |
| LPS(10ng/ml) + 10(μ g/ml) | 152.75 \pm 9.62* |
| LPS(10ng/ml) + 100(μ g/ml) | 99.94 \pm 5.41* |
| LPS(10ng/ml) + 1000(μ g/ml) | 109.68 \pm 3.66* |

* P<0.05 : Statistical significance was evaluated compared with LPS(10ng/ml)

3) 白礬

단핵백혈구를 이용하여 TNF- α 의 생성을 측정한 결과, 1 μ g/ml 농도에서는 203.90 \pm 11.63(pg/ml), 10 μ g/ml 농도에서는 191.47 \pm 15.57(pg/ml), 100 μ g/ml 농도에서는 188.97 \pm 5.64(pg/ml), 1000 μ g/ml 농도에서는 169.06 \pm 7.56(pg/ml)로 나타나 모든 농도에서 오히려 유의하게 증가하였다(Table 8).

Table 8. The effect of *alumen* on the formation of TNF- α in human monocyte

| Group | TNF- α (pg/ml) |
|----------------------------------|-----------------------|
| LPS(10ng/ml) | 129.41 \pm 11.45 |
| LPS(10ng/ml) + 1(μ g/ml) | 203.90 \pm 11.63* |
| LPS(10ng/ml) + 10(μ g/ml) | 191.47 \pm 15.57* |
| LPS(10ng/ml) + 100(μ g/ml) | 188.97 \pm 5.64* |
| LPS(10ng/ml) + 1000(μ g/ml) | 169.06 \pm 7.56* |

* P<0.05 : Statistical significance was evaluated compared with LPS(10ng/ml)

4) 五倍子

단핵백혈구를 이용하여 TNF- α 의 생성을 측정한 결과, 1 μ g/ml 농도에서는 123.07 \pm 1.40(pg/ml), 10 μ g/ml 농도에서는 119.69 \pm 7.33(pg/ml)로 나타났다. 특히 100 μ g/ml 농도에서는 115.37 \pm 5.15(pg/ml)로 나타나 유의한 억제효과가 있었고, 1000 μ g/ml 농도에서는 1988.53 \pm 48.30(pg/ml)로 나타나 오히려 유의하게 증가하였다(Table 9).

Table 9. The effect of *chinensis galls* on the formation of TNF- α in human monocyte

| Group | TNF- α (pg/ml) |
|----------------------------------|-----------------------|
| LPS(10ng/ml) | 129.41 \pm 11.45 |
| LPS(10ng/ml) + 1(μ g/ml) | 123.07 \pm 1.40 |
| LPS(10ng/ml) + 10(μ g/ml) | 119.69 \pm 7.33 |
| LPS(10ng/ml) + 100(μ g/ml) | 115.37 \pm 5.15* |
| LPS(10ng/ml) + 1000(μ g/ml) | 1988.53 \pm 48.30* |

* P<0.05 : Statistical significance was evaluated compared with LPS(10ng/ml)

5. 단핵백혈구의 IL-1 β 생성에 미치는 영향

1) 黃柏

단핵백혈구를 이용하여 IL-1 β 생성을 측정한 결과, 1 μ g/ml 농도에서는 4.54 \pm 0.16(pg/ml), 10 μ g/ml 농도에서는 3.81 \pm 0.28(pg/ml), 100 μ g/ml 농도에서는 4.59 \pm 0.19(pg/ml), 1000 μ g/ml 농도에서는 4.48 \pm 0.41(pg/ml)로 나타나 모든 농도에서 유의한 결과가 나타나지 않았다(Table 10).

Table 10. The effect of *phellodendri cortex* on the formation of IL-1 β in human monocyte

| Group | IL-1 β (pg/ml) |
|----------------------------------|----------------------|
| LPS(10ng/ml) | 4.45 \pm 1.52 |
| LPS(10ng/ml) + 1(μ g/ml) | 4.54 \pm 0.16 |
| LPS(10ng/ml) + 10(μ g/ml) | 3.81 \pm 0.28 |
| LPS(10ng/ml) + 100(μ g/ml) | 4.59 \pm 0.19 |
| LPS(10ng/ml) + 1000(μ g/ml) | 4.48 \pm 0.41 |

* P<0.05 : Statistical significance was evaluated compared with LPS(10ng/ml)

2) 靑黛

단핵백혈구를 이용하여 IL-1 β 생성을 측정한 결과, 1 μ g/ml 농도에서는 5.12 \pm 0.25(pg/ml), 10 μ g/ml 농도에서는 4.64 \pm 0.57(pg/ml), 100 μ g/ml 농도에서는 4.19 \pm 0.99(pg/ml), 1000 μ g/ml 농도에서는 3.63 \pm 0.71(pg/ml)로 나타나 모든 농도에서 유의한 결과가 나타나지 않았다(Table 11).

Table 11. The effect of *indigo naturalis* on the formation of IL-1 β in human monocyte

| Group | IL-1 β (pg/ml) |
|----------------------------------|----------------------|
| LPS(10ng/ml) | 4.45 \pm 1.52 |
| LPS(10ng/ml) + 1(μ g/ml) | 5.12 \pm 0.25 |
| LPS(10ng/ml) + 10(μ g/ml) | 4.64 \pm 0.57 |
| LPS(10ng/ml) + 100(μ g/ml) | 4.19 \pm 0.99 |
| LPS(10ng/ml) + 1000(μ g/ml) | 3.63 \pm 0.71 |

* P<0.05 : Statistical significance was evaluated compared with LPS(10ng/ml)

3) 白 礬

단핵백혈구를 이용하여 IL-1 β 생성을 측정한 결과, 1 μ g/ml 농도에서는 4.02 \pm 0.22(pg/ml), 10 μ g/ml 농도에서는 4.72 \pm 0.39(pg/ml), 100 μ g/ml 농도에서는 5.12 \pm 0.30(pg/ml)로 나타났다. 특히 1000 μ g/ml 농도에서는 14.14 \pm 0.59(pg/ml)로 나타나 오히려 유의하게 증가하였다(Table 12).

Table 12. The effect of *alumen* on the formation of IL-1 β in human monocyte

| Group | IL-1 β (pg/ml) |
|----------------------------------|----------------------|
| LPS(10ng/ml) | 4.45 \pm 1.52 |
| LPS(10ng/ml) + 1(μ g/ml) | 4.02 \pm 0.22 |
| LPS(10ng/ml) + 10(μ g/ml) | 4.72 \pm 0.39 |
| LPS(10ng/ml) + 100(μ g/ml) | 5.12 \pm 0.30 |
| LPS(10ng/ml) + 1000(μ g/ml) | 14.14 \pm 0.59* |

* P<0.05 : Statistical significance was evaluated compared with LPS(10ng/ml)

4) 五倍子

단핵백혈구를 이용하여 IL-1 β 생성을 측정한 결과, 1 μ g/ml 농도에서는 3.29 \pm 0.12(pg/ml), 10 μ g/ml 농도에서는 3.20 \pm 0.51(pg/ml), 100 μ g/ml 농도에서는 4.46 \pm 0.55(pg/ml)로 나타났다. 특히 1000 μ g/ml 농도에서는 155.96 \pm 18.12(pg/ml)로 나타나 오히려 유의하게 증가하였다(Table 13).

Table 13. The effect of *chinensis galla* on the formation of IL-1 β in human monocyte

| Group | IL-1 β (pg/ml) |
|----------------------------------|----------------------|
| LPS(10ng/ml) | 4.45 \pm 1.52 |
| LPS(10ng/ml) + 1(μ g/ml) | 3.29 \pm 0.12 |
| LPS(10ng/ml) + 10(μ g/ml) | 3.20 \pm 0.51 |
| LPS(10ng/ml) + 100(μ g/ml) | 4.46 \pm 0.55 |
| LPS(10ng/ml) + 1000(μ g/ml) | 155.96 \pm 18.12* |

* P<0.05 : Statistical significance was evaluated compared with LPS(10ng/ml)

6. 단핵백혈구의 PGE₂ 생성에 미치는 영향

1) 黄 柏

단핵백혈구를 이용하여 PGE₂ 생성을 측정한 결과, 1 μ g/ml 농도에서는 6950.98 \pm 511.62(pg/ml)로 나타나 오히려 유의하게 증가하였고, 10 μ g/ml 농도에서는 4137.35 \pm 378.17(pg/ml)로 나타났다. 100 μ g/ml 농도에서는 4930.31 \pm 347.84(pg/ml), 1000 μ g/ml 농도에서는 14189.05 \pm 2740.51(pg/ml)로 나타나 오히려 유의하게 증가하였다(Table 14).

Table 14. The effect of *phellodendri cortex* on the formation of PGE₂ in human monocyte

| Group | PGE ₂ (pg/ml) |
|----------------------------------|--------------------------|
| LPS(10ng/ml) | 3916.06 \pm 595.74 |
| LPS(10ng/ml) + 1(μ g/ml) | 6950.98 \pm 511.62* |
| LPS(10ng/ml) + 10(μ g/ml) | 4137.35 \pm 378.17 |
| LPS(10ng/ml) + 100(μ g/ml) | 4930.31 \pm 347.84* |
| LPS(10ng/ml) + 1000(μ g/ml) | 14189.05 \pm 2740.51* |

* P<0.05 : Statistical significance was evaluated compared with LPS(10ng/ml)

2) 青 黛

단핵백혈구를 이용하여 PGE₂ 생성을 측정한 결과, 1 μ g/ml 농도에서는 4836.24 \pm 267.74(pg/ml), 10 μ g/ml 농도에서는 5288.45 \pm 1195.86(pg/ml), 100 μ g/ml 농도에서는 8434.73 \pm 2573.31(pg/ml), 1000 μ g/ml 농도에서는 22171.76 \pm 3384.56(pg/ml)로 나타나 모든 농도에서 오히려 유의하게 증가하였다(Table 15).

Table 15. The effect of *indigo naturalis* on the formation of PGE₂ in human monocyte

| Group | PGE ₂ (pg/ml) |
|----------------------------|--------------------------|
| LPS(10ng/ml) | 3916.06± 595.74 |
| LPS(10ng/ml) + 1(μg/ml) | 4836.24± 267.74* |
| LPS(10ng/ml) + 10(μg/ml) | 5288.45± 1195.86* |
| LPS(10ng/ml) + 100(μg/ml) | 8434.73± 2573.31* |
| LPS(10ng/ml) + 1000(μg/ml) | 22171.76± 3384.56* |

* P<0.05 : Statistical significance was evaluated compared with LPS(10ng/ml)

3) 白礬

단핵백혈구를 이용하여 PGE₂ 생성을 측정한 결과, 1μg/ml 농도에서는 4967.06±670.63(pg/ml), 10μg/ml 농도에서는 5772.06±778.16(pg/ml), 100μg/ml 농도에서는 6153.73±655.68(pg/ml), 1000μg/ml 농도에서는 5634.85±610.59(pg/ml)로 나타나 모든 농도에서 오히려 유의하게 증가하였다(Table 16).

Table 16. The effect of *alumen* on the formation of PGE₂ in human monocyte

| Group | PGE ₂ (pg/ml) |
|----------------------------|--------------------------|
| LPS(10ng/ml) | 3916.06± 595.74 |
| LPS(10ng/ml) + 1(μg/ml) | 4967.06± 670.63* |
| LPS(10ng/ml) + 10(μg/ml) | 5772.06± 778.16* |
| LPS(10ng/ml) + 100(μg/ml) | 6153.73± 655.68* |
| LPS(10ng/ml) + 1000(μg/ml) | 5634.85± 610.59* |

* P<0.05 : Statistical significance was evaluated compared with LPS(10ng/ml)

4) 五倍子

단핵백혈구를 이용하여 PGE₂ 생성을 측정한 결과, 1μg/ml 농도에서는 4895.03±709.01(pg/ml), 10μg/ml 농도에서는 5559.33±1165.00(pg/ml), 100μg/ml 농도에서는 9369.86±1664.96(pg/ml), 1000μg/ml 농도에서는 78556.49±26294.10(pg/ml)로 나타나 모든 농도에서 오히려 유의하게 증가하였다(Table 17).

Table 17. The effect of *chinensis galla* on the formation of PGE₂ in human monocyte

| Group | PGE ₂ (pg/ml) |
|----------------------------|--------------------------|
| LPS(10ng/ml) | 3916.06± 595.74 |
| LPS(10ng/ml) + 1(μg/ml) | 4895.03± 709.01* |
| LPS(10ng/ml) + 10(μg/ml) | 5559.33± 1165.00* |
| LPS(10ng/ml) + 100(μg/ml) | 9369.86± 1664.96* |
| LPS(10ng/ml) + 1000(μg/ml) | 78556.49± 26294.10* |

* P<0.05 : Statistical significance was evaluated compared with LPS(10ng/ml)

고찰

口瘡은 《黃帝內經·素問》¹⁾〈氣交變大論〉에서 “歲金不及, 炎火乃行...腹則寒雨暴至乃零 冰電霜雪殺物 陰厥且格陽反上行...民病口瘡”, 〈五常政大論〉에서는 “少陽司天, 火氣下臨...咳嚏衄鼻窒口瘍, 寒熱附腫”, 〈氣厥論〉에서는 “膀胱移熱於小腸 膈腸不便 上爲口糜”라 하여 口瘡, 口瘍, 口糜 등으로 표현되었다. 이후에 《外科正宗》²⁾에서는 口破, 《醫宗金鑑》³⁾에서는 大人口破라 하였다. 이외에도 口疳^{4,5)}, 鵝口瘡^{3,4)} 등도 口瘡의 범주에 속하며 症狀에 따라 다양한 명칭이 혼용되어 사용되어졌다.

口瘡의 發病原因을 살펴보면 巢⁶⁾는 “手少陰心之經也, 心氣通于舌 足太陰脾之經也, 脾氣通于口 腑臟熱盛 熱乘心脾 氣衝於口舌 故令口舌生瘡也”라 하여 心脾熱盛으로, 趙⁷⁾는 “口瘡者 由心脾有熱 氣衝上焦 薰發口舌 故作瘡也. 又有胃氣弱 穀氣少虛 陽上發而爲口瘡者 不可執一而論當救所爲之本也”라 하여 心脾有熱 이외 胃氣弱을 원인으로 들었다. 朱⁸⁾는 “口瘡 服涼藥不愈者 因中焦土虛”라 하여 中焦虛로도 口瘡이 發病할 수 있다고 인식하여 趙⁷⁾의 說을 뒷받침하였다. 龔⁹⁾는 “口瘡者 脾氣凝滯 加之風熱而然也. 服涼藥不已者 上焦虛熱 中焦虛寒 下焦陰火”라 하여 中焦虛寒 외에 下焦陰火도 口瘡의 원인으로 보았다. 李²⁰⁾는 “口病有熱亦有虛 心勞厚味病根殊”라 하여 心勞와 厚味를 病의 근원으로 하였으며, 陳²¹⁾은 “虛火者 多醒小睡 虛火動而發之, 實火者 此因膏

梁厚味 淳酒灸煎(心火動而發之”라 하여 口瘡을 虛火와 實火로 나누어 보았다. 方²²⁾은 “口瘡者 脾氣凝滯 風熱加之而然”이라 하고 陳²³⁾은 “口舌生瘡 乃心火鬱熱而然”이라 하여 口瘡의 發生이 氣機鬱結과 관련이 있다고 인식하였다. 또한 徐²⁴⁾는 上焦實熱, 中焦虛寒, 下焦陰火의 所致로 보았고, 李²⁵⁾는 脾熱로 보았으나 口瘡이 반드시 脾家의 病만은 아니라고 하였다. 周²⁶⁾는 虛實로 區分하여 實證은 五臟의 熱이 모두 口瘡을 發할 수 있다고 하였다.

이상의 原因說을 綜合해보면 實證은 心脾火熱, 實熱, 上焦實熱, 三焦實熱, 外感邪熱 등의 類이고 虛證은 胃氣虛, 中焦虛寒, 中焦虛熱, 下焦虛寒, 下焦陰火, 陰虛火旺 등의 類이다. 따라서 虛이든 實이든지 口瘡이 發顯되는 것은 火熱의 上承과 관련이 있고 外感邪熱 또한 주요인자인 것으로 思慮된다.

口瘡의 症狀은 구강내의 순, 설, 혀 및 상악 등의 점막에 발생하는 한개 혹은 다수의 담황색 내지 회백색을 띠는 표재성 궤관점이며 국부적으로 腫脹, 紅腫, 灼熱, 乾燥, 疼痛이 나타난다. 또한 病變이 진행되면 腐爛이 만연되나 腫痛하지 않을 때도 있다. 크기는 큰 것은 豆狀에서부터 작은 것은 星狀에 이르기까지 다양하게 나타난다. 虛火로 인한 症狀은 腫脹이 淡紅色을 띠고 온 입 안에 흰 斑點이 퍼져 있고, 實火로 인한 症狀은 腫脹이 짙은 紅色을 띠고 온 입 안에 헤어진 斑點이 퍼져 있으며, 극심하면 腮頰과 舌이 모두 붓는다^{6,9)}.

口瘡의 治療法에 있어서는 크게 虛證과 實證으로 구분하여 치료하였는데 實證일 경우 清熱瀉火의 方法을 위주로 하여 導赤散, 涼膈散, 竹葉石膏湯, 清胃敗毒飲, 清肌滲濕湯, 回春涼膈散 등을 사용하였고, 虛證일 경우 滋陰降火, 補中益氣의 方法을 위주로 하여 補中益氣湯, 附子理中湯, 六味地黃丸, 知柏地黃湯 등을 사용하였다^{6,8,10,11)}.

口瘡의 外治法에 있어서 최근 邢¹²⁾은 消腫止痛, 去腐生肌收斂의 治法에 따라 升麻煎 綠袍散, 柳花散, 黃柏散, 綠雲散, 赴筵散 등의 順으로 類用되었으며 單方으로는 黃柏, 靑黛, 白礬, 甘草, 黃連, 升麻,

蜂蜜, 五倍子, 硼砂, 射香, 細辛, 冰片 등의 順으로 가장 많이 사용되었고 效능면으로 분류해보면 清熱燥濕藥, 清熱解毒藥, 開竅藥 등의 순서로 多用되었다고 報告¹²⁾하였다.

口瘡의 外治法으로 黃柏, 靑黛, 白礬 및 五倍子가 사용된 例를 살펴보면 《丹溪心法》¹⁸⁾에서는 黃柏, 靑黛를 粉末하여 口舌生瘡에 활용하였고, 五倍子와 靑黛로 구성된 清金散을 사용하였으며, 《萬病回春》¹⁹⁾에서는 黃柏, 孩兒茶, 白礬으로 구성되어 있는 黃栢散을 활용하였고, 《醫宗金鑒》³⁾에서는 黃柏 靑黛 片腦로 구성된 綠袍散을 사용하였으며, 《東醫寶鑑》^{27,28)}에서는 口瘡에 사용하는 單方으로 黃柏, 五倍子, 白礬 등을 제시하였다.

口瘡은 현대의학의 口內炎을 말하는 것으로 病態에 따라 單純性, 潰瘍性, 潰疽性, 아프타성, 헤르페스성 口內炎으로 분류를 하고 유발인자로는 영양장애, 빈혈, 위장장애, 고열, 감기, 신체의 피로, 구내 불결, 충치, 바이러스 감염 등이 있다. 이 외 비타민(특히 Vit. B2 및 C)결핍, 금속중독(수은, 납, 아연, 비소 등), 결핵감염, 매독감염, 곰팡이감염 때에도 나타날 수 있다^{6,7,9)}.

單純性 口內炎은 구강내 炎症만 있는 상태로 보통 다른 口內炎의 前구증상으로 나타나고 症狀은 식사시 통증, 작열감, 口臭, 타액의 증가, 미각감소와 더불어 구강점막의 發赤 腫脹, 설유두의 腫脹, 설면의 白苔가 생기며 구각에 미란이나 표피박탈이 있는 경우가 있다^{6,9)}.

潰瘍性 口內炎은 궤양이 있는 口內炎의 총칭이며 症狀은 구강점막에 궤양이 있고 그 정도는 糜爛性에서부터 불규칙하고 깊은 궤양에 이르기까지 다양하게 나타나며 白苔 혹은 黃苔로 덮여있다^{6,9)}.

潰疽性 口內炎은 주로 소아에서 홍역, 성홍열, 백일해 등을 앓고 있을 때 동반되는 口內炎으로 症狀은 먼저 청자색의 수포가 생긴 후 潰瘍이 발생하고 치조골, 상악골 등이 노출되며 임파선이 腫脹된다. 심하면 합병증을 일으켜 사망하는 수도 있다^{8,29)}.

아프타성 口內炎은 單純性 口內炎을 전구로 하고

불, 구순내면, 치조돌기저부, 혀, 구개 등의 점막에 얇은 潰瘍이 생기는 것으로 症狀은 극심한 疼痛, 灼熱感이 있고 저작과 발음이 힘들어지고 타액증가, 미각장애, 식욕부진, 두통, 편비 등을 동반하기도 한다. 심하면 고열을 유발한다^{6,8,29}.

헤르페스성 口內炎은 Herpes simplex virus의 감염에 의해 생기는 것으로 症狀은 불, 치간, 경구개 등에 먼저 수포가 발생하고 뒤이어 작은 궤양을 형성하며 발열, 임파선 종창이 생긴다. 이는 1-3세의 小兒에서 가장 흔히 보인다^{9,29,30}.

口內炎의 治療는 일반적으로 구강청정제나 식염수로 가글하여 구강의 청결을 유지하고 초산은 용액을 사용하여 궤양부위를 消灼하거나 통증이 심하면 마취액을 구강에 뿌리기도 하며 진통제를 사용한다. 症狀이 심할 경우에는 부신피질호르몬제를 진통소염제와 같이 사용하여 症狀의 완화와 치유기간을 단축시키기도 한다. 때로는 자외선을 조사하며 2차감염의 방지를 위하여 항생제를 사용하기도 한다^{7,29,30}.

현대의학에서의 炎症은 미생물, 물리화학적요인, 순환장애 등 세포상해를 유발하는 다양한 자극에 대한 살아있는 조직, 즉 혈관이 있는 조직의 복합적인 반응으로 發赤, 腫脹, 發熱, 疼痛 및 기능상실의 5대 症候를 유발시킨다. 이는 기본적으로 유해한 자극에 대한 반응으로 壞死된 조직으로부터 개체를 보호하는 기능을 하지만 경우에 따라 주체인 개체에 해로운 결과를 가져오기도 하므로 양면성을 가지는 生體反應이라 할 수 있다^{32,33}.

炎症反應은 시간적으로 보면 血流 및 혈관크기의 변동에 의한 혈역동적학적 변동(炎症 I期)과 炎症細胞의 삼출(炎症 II期), 또한 결합조직의 증식(炎症 III期)으로 크게 3단계로 나누어 분류할 수 있다. 먼저 혈역동학적 변동이 일어나는 炎症 I期은 Chemical mediator가 방출되어 혈관확장과 혈관투과성이 증가되는 시기이고, 염증세포의 삼출이 일어나는 炎症 II기에는 그 원인물질이나 파괴된 조직 등을 제거하기 위해 백혈구가 혈관 밖으로 유주되고 먼

역계가 활동하기 시작하는 시기이며, 결합조직의 증식이 일어나는 炎症 III期은 起炎物質이나 炎症으로 상해를 입은 조직을 체외로 배출하기 위하여 纖維亞細胞의 증식이 시작되고 육아가 증식함으로써 염증국소가 점점 수복되어 가는 시기이다^{32,34}.

炎症反應의 화학매개물에 대해 살펴보면 炎症 I期에서는 prostaglandin, 산화질소 등이 혈관확장을 시키며 histamin, serotonin, bradykinin 등이 혈관투과성을 증가시킨다. 炎症 II期에서는 prostaglandins, 세균산물 및 cytokine(interleukin, TNF- α) 등이 백혈구를 활성화시킴으로써 화학주성 효과를 증대시키고 lysosom 효소, superoxide 등에 의해 食食作用이 이루어진다. 특히 interleukin과 TNF- α 는 백혈구의 혈관내피로의 유착을 증가시킨다. 炎症 III期에서는 collagen 합성이 중요한데 이는 비타민C에 의존적인 과정이 있으며 纖維芽細胞와 백혈구에서 분비되는 성장인자와 cytokine 등이 collagen 합성에 관여한다^{32,34}.

본 實驗에서 사용된 藥材인 黃柏, 靑黛, 白礬 및 五倍子は 각종 本草書에서 瘡瘍을 치료하는 效能을 가지며 口瘡를 치료하는 外用藥에 가장 多用되었을 뿐 아니라, 이들 藥物이 포함된 處方들이 실험적으로 抗炎作用이 있다고 報告^{13,15}되고 있으나 개개의 藥物의 抗炎作用에 대한 실험적 연구는 미미한 실정이다.

黃柏(Phellodendri Cortex)은 芸香科(Rutaceae)에 속한 落葉喬木인 황벽나무와 黃皮樹의 樹皮를 건조한 것으로 性味는 苦寒하며 主로 腎 膀胱 大腸經에 歸經하며 淸熱燥濕, 瀉火解毒, 退虛熱의 效能을 가지고 있어 濕熱瀉痢, 黃疸, 帶下, 熱淋, 瘡瘍腫毒, 濕疹癢痒, 口瘡 등을 치료한다^{35,38}.

靑黛(Indigo Naturalis)는 爵床科(Acanthaceae)에 속한 馬藍과 豆科(Leguminosae)에 屬한 野靑樹, 蓼科(Polygonaceae)에 屬한 蓼藍 및 十字花科(Cruciferae)에 屬한 菘藍의 잎이나 莖葉을 가공하여 얻은 粉末이나 덩어리를 건조한 것으로 性味는 鹹寒하며 主로 肝 肺 胃經으로 歸經하며 淸熱解毒, 涼血散腫의 效能을 가지고 있어 溫毒發斑, 血熱吐衄, 胸痛咳血, 熱

毒癰瘡, 口瘡 등을 치료한다^{35,36}.

白礬(Alumen)은 硫酸鹽類礦物인 明礬石(Alunitum)을 煎煉하여 만든 것으로 性味는 酸澀寒하며 주로 肺 脾 肝 大腸經에 歸經하며 內服止血止瀉, 祛除風痰, 外用解毒殺蟲, 燥濕止痒의 效能을 가지고 있어, 陰痒帶下, 聾耳, 崩漏, 便血, 濕疹, 疥癬 등을 치료한다^{35,37}.

五倍子(Chinensis Galla)는 漆樹科(Anacardiaceae)에 속한 落葉 小喬木인 椴나무의 잎날개에 오배자진드기가 寄生하여 만들어진 蟲癭을 건조한 것으로 性味는 酸澀寒하며 主로 肺 胃 大腸經에 歸經하며 斂肺, 澀腸, 止血, 解毒의 效能을 가지고 있어 肺虛久咳, 久痢, 久瀉, 便血, 衄血, 崩漏, 癰腫瘡毒, 皮膚濕爛 등을 치료한다^{35,38}.

이에 著者는 口瘡치료에 多用되는 外用藥인 黃柏, 靑黛, 白礬 및 五倍子の 抗炎作用 및 口瘡의 치료에 미치는 영향을 규명하기 위해 人體의 纖維芽細胞를 이용한 세포독성검사, 中성백혈구를 이용한 COX-2 抑制效果, 單핵백혈구를 이용한 SOD 活性效果와 TNF- α , IL-1 β 및 PGE2 抑制效果를 측정하는 실험을 하여 그 효능을 비교 검토하였다.

염증 치유의 초기에 관여하는 fibroblast에 대한 실험약재의 세포독성을 알아보기 위하여 Detroit 551 human fibroblast를 사용하여 세포독성을 측정한 결과 청대는 세포독성이 없는 것으로 나타났고, IC50은 항백은 56.47mg/ml, 백반은 52.79mg/ml, 오배자는 23.53mg/ml로 나타났고 농도의존적인 결과를 보였다 (Fig. 1, Fig. 2, Fig. 3, Fig. 4).

COX-2는 세포의 인지질에 있는 Aracchidonic acid를 PGE2로 대사시키는 물질이며 특히 염증반응과 관계있는 유전자로서 염증반응시 유도되는 유도형(inducible type)이다. 아스피린, 인도메타신 및 다른 비스테로이드계의 소염제의 기전은 COX-2의 기능을 억제함으로써 prostaglandin과 같은 염증매개물의 생산을 억제함으로써 강력한 抗炎效果가 있는 것이다^{14,32}. 中성백혈구를 이용한 COX-2 생성을 측정한 결과, 본 실험에 사용된 4가지 藥材 모두가 COX-2

의 활성을 抑制시키는 效果가 있는 것으로 나타났으며 그 중 黃柏과 靑黛가 보다 우수한 억제효과가 있는 것으로 나타났다(Fig. 5).

Superoxide는 macrophage로 分化되는 monocyte 및 neutrophil의 phagocytosis 과정에서 발생하는 代謝產物로 SOD에 의해 H₂O₂로 전환된다. 이는 세포의 단백질, 핵산, 세포막, 지질 등에 작용하여 강력한 살균 작용을 하며 collagen의 합성에도 영향을 미친다. SOD란 superoxide의 生成을 抑制하는 抗酸化劑를 지칭한다. 따라서 SOD의 증가는 抗炎作用이 있다는 것을 의미한다^{32,33,39}. 본 實驗에서 單핵백혈구를 이용한 SOD의 生成을 측정한 결과, 黃柏은 1000 μ g/ml 농도에서 SOD의 活性을 증가시키는 效果가 있는 것으로 나타났다(Table 2, Table 3, Table 4, Table 5).

TNF- α 는 Cytokine의 일종으로 그람음성세균 내독소 자극에 의해 單핵세포에서 합성이 촉진되며 혈관내피로의 백혈구의 유착을 증가시키고 Neutrophil, Eosinophils 및 Monocytes가 세균을 죽일 수 있도록 活性化 시킨다. 또한 IL-1, IL-6, TNF자체 및 chemokines의 生成을 자극하며 virus로 부터 보호하는 interferone의 生成을 자극한다^{32,34,40}. 본 실험에서 單핵백혈구를 이용한 TNF- α 의 生成을 측정한 결과, 黃柏은 1000 μ g/ml 농도에서, 靑黛는 100 μ g/ml와 1000 μ g/ml 농도에서, 五倍子は 100 μ g/ml 농도에서 각각 TNF- α 의 活性을 抑制시키는 效果가 있는 것으로 나타났다(Table 6, Table 7, Table 8, Table 9).

IL-1 β 는 cytokine의 일종으로 염증반응시 혈관내피로 백혈구의 유착을 증가시키고 prostaglandin의 生成을 자극하며 혈액응고를 活性化시키며 纖維芽細胞의 증식을 유발하여 collagen 합성을 증가시킨다^{32,33,40}. 본 實驗에서 單핵백혈구를 이용한 IL-1 β 生成을 측정한 결과, 黃柏은 10 μ g/ml 농도에서, 靑黛는 1000 μ g/ml 농도에서 약간의 活性抑制效果가 있는 것으로 나타났다(Table 10, Table 11, Table 12, Table 13).

PGE2는 세포의 인지질막에 기계적, 화학적, 물리적 자극에 가해지면 Aracchidonic acid가 유리되어

발생되는 물질로 염증반응시 혈관을 확장시키고, 혈관투과성을 증가시킬 뿐 아니라 백혈구의 염증부위로의 화학주성을 증가시킨다. 또한 collagenase 합성을 유발하며 發熱과 疼痛에 관여한다^{32,34)}. 본 實驗에서 단핵백혈구를 이용한 PGE2 生成을 측정 한 결과, 黃柏, 靑黛, 白礬 및 五倍子 모두 PGE2의 生成에 대하여는 모든 농도에서 뚜렷한 抑制效果가 없는 것으로 나타났다(Table 14, Table 15, Table 16, Table 17).

이상을 종합하여 실험결과를 분석해보면 COX-2는 上記 실험약제 모두에 의해 抑制효과를 나타내었고, SOD는 黃柏에 의해 活性이 증가됨을 알 수 있었다. 또한 TNF- α 는 黃柏, 靑黛, 五倍子에 의해 活性이 抑制되었고, IL-1 β 는 黃柏과 靑黛에 의해서 약간의 活性抑制效果를 나타내었다. 그러나 실험약제 모두 PGE2의 生成을 抑制시키지는 못하였다. 따라서 口瘡에 多用되는 外用藥인 黃柏, 靑黛, 白礬 및 五倍子是 抗炎效果가 있으며 그 중 黃柏과 靑黛가 보다 우수한 效果를 보였다. 따라서 염증초기에 작용하여 口瘡의 外用藥으로 응용될 수 있을 것으로 思慮된다.

결론

口瘡에 多用되는 外用藥인 黃柏, 靑黛, 白礬, 五倍子の 抗炎作用 및 口瘡의 치료에 미치는 영향을 규명하기 위한 實驗을 한 결과 아래와 같은 結論을 얻었다.

1. 靑黛는 細胞毒性이 없으나 黃柏, 白礬 및 五倍子는 미약하게 농도의존적인 細胞毒性이 있었다.
2. 중성백혈구의 COX-2 生成에 대하여 黃柏, 靑黛, 白礬 및 五倍子是 抑制效果를 나타내었다.
3. 단핵백혈구의 SOD의 生成에 대하여 黃柏은 1000 μ g/ml 농도에서 活性을 증가시키는 效果가 있는 것으로 나타났다.

4. 단핵백혈구의 TNF- α 의 生成에 대하여 黃柏은 1000 μ g/ml 농도에서, 靑黛는 100 μ g/ml와 1000 μ g/ml 농도에서, 五倍子是 100 μ g/ml 농도에서 각각 活性을 抑制시키는 效果가 있는 것으로 나타났다.
5. 단핵백혈구의 IL-1 β 의 生成에 대하여 黃柏은 10 μ g/ml 농도에서, 靑黛는 1000 μ g/ml 농도에서 약간의 活性抑制效果가 있는 것으로 나타났다.
6. 단핵백혈구의 PGE2 生成에 대하여 黃柏, 靑黛, 白礬 및 五倍子是 모든 농도에서 뚜렷한 抑制效果가 없는 것으로 나타났다.

이상의 결과를 종합해보면 黃柏, 靑黛, 白礬 및 五倍子是 抗炎效果가 있고 따라서 口瘡의 外用藥으로 응용될 수 있을 것으로 思慮된다.

참고 문헌

1. 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.
2. 陳實功 : 外科正宗, 上海, 上海科學技術出版社, pp.315-316, 1989.
3. 吳謙 : 醫宗金鑑, 臺北, 大中國圖書公社, pp.130-131, 1973.
4. 陳貴廷 외 : 實用中西醫結合診斷治療學, 서울, 一中社, pp.2014-2020, 1992.
5. 申天浩 : 問答式 五官外科學, 서울, 成輔社, pp.290-292, 1992.
6. 盧石善 : 眼耳鼻咽喉科學, 서울, 一中社, pp.47-53, 1999.
7. 白萬基 : 最新耳鼻咽喉科學, 서울, 一潮閣, pp.258-264, 1995.
8. 蔡炳允 : 韓方眼耳鼻咽喉科學, 서울, 集文堂, pp.346-348, 1982.
9. 洪삼표 외 : 韃 밀리구강백과, 서울, 技多利, p.626, 2000.

10. 黃文東 외 : 實用中醫內科學, 上海, 上海科學技術出版社, pp.264-269, 1986.
11. 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.
12. 邢良起 : 口瘡, 口疳, 口糜, 口臭, 口乾의 外治法에 關한 文獻의 考察, 大韓外官科學會誌, 제 10卷 제 1號, 1997.
13. 姜承遠 : “回春涼膈散과 龍石散이 抗炎作用에 미치는 影響”, 大韓外官科學會誌, 제 12卷, 제 1號, 1999.
14. 盧石善 : “榆白皮가 抗炎作用에 미치는 影響”, 大韓外官科學會誌, 제 7卷 제 1號, 1998.
15. 辛相汶 : “黃栢散加味가 口瘡에 미치는 實驗的 研究”, 大韓外官科學會誌, 제 11卷 제 1號, 1998.
16. 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.
17. 趙 佶 : 聖濟總錄, 서울, 翰成社, p.213, 1977.
18. 朱震亨 : 丹溪心法心要, 山東, 山東科學技術出版社, p.161, 1985.
19. 龔廷賢 : 增補 萬病回春, 北京, 世一書局, 下卷 pp.15-16, 1985.
20. 李 挺 : 醫學入門, 서울, 翰成社, pp.363-364, 1977.
21. 陳 言 : 三因方, 臺北, 臺聯出版社, p.13, 1967.
22. 方 賢 : 奇效良方, 香港, 商務印書館, pp.1253-1265, 1977.
23. 陳士鐸 : 石室秘錄, 서울, 杏林出版, pp.39-40, 1987.
24. 徐靈胎 : 徐靈胎醫學全書, 臺北, 五洲出版社, pp.193-194, 1989.
25. 李用粹 : 證治匯補, 臺北, 旋風出版社, pp.249-253, 1965.
26. 周命新 : 醫門寶鑑, 서울, 杏林書院, p.207, 1975.
27. 許浚 : 東醫寶鑑, 서울, 南山堂, pp.303-306, 1966.
28. 許浚 : 東醫寶鑑, 서울, 여강출판사, pp.756-758, 1994.
29. 대한이비인후과학회 : 이비인후과/두경부외과학II, 서울, 一潮閣, pp.1290-1300, 2002.
30. 민양기 외 : 일차진료를 위한 이비인후과임상, 서울, 一潮閣, pp.173-185, 1999.
31. 장석태 : 피부과학, 서울, 麗文閣, pp.585-587, 2001.
32. 송계용 외 : 핵심병리학, 서울, 고려의학, pp.63-94, 1998.
33. 대한병리학회 : 간추린 병리학, 서울, 정문각, pp.63-79, 2002.
34. 백충기 : 병리학, 서울, 高文社, p.23, 1988.
35. 全國韓醫科大學 本草學教授 : 本草學, 서울, 永林社, pp.182-183, 206-207, 620-622, 632-633, 1994.
36. 慶熙大學校 本草學教室 : 本草各論, 서울, 慶熙大本草學會, pp.133-136, 190-194, 1078-1082, 1109-1113, 1995.
37. 약품식물학연구회 : 신약품식물학, 서울, 學窓社, pp.297-299, p.307 1994.
38. 上海中醫學院 : 中草藥學, 上海, 商務印書館 pp.200-202, 599-600 1983.
39. 이중달 : 그림으로 설명한 병리학, 서울, 고려의학 pp.27-34, 1990.
40. 李淵台 : 最新免疫學, 서울, 集文堂, pp.355-358 1989.