

원 저

加味升麻胃風湯이 面疱(Acne)에 미치는 實驗的 研究

서형식

삼지대학교 한의과대학 안이비인후피부과교실

Studise on the Effects of *Gami-Shengmayuipung-tang* on Acnes

Hyung Sik Seo

Department of ood, College of Oriental Medicine, Sangji University

Objective : This study was carried out to investigate the effects of *Gami-Shengmayuipung-tang* on acne.

Methods : The effects of *Gami-Shengmayuipung-tang* (SYTSRG) on acne were measured by the 5 α -reductase inhibition, the sterilizing power for Propionibactrium acnes, the cytotoxicity of human monocyte, the inhibition for prostaglandins(PGE₂), interleukins (IL-1 β) and TNF- α in inflammation, and the size of the hamster ear sebaceous gland related to P. acnes.

Results : On the 5 α -reductase inhibition of SYTSRG in vitro, an undiluted solution of SYTSRG showed 80% inhibition on 5 α -reductase and 1/10 diluted solution of SYTSRG showed 40% inhibition on 5 α -reductase. On the sterilizing power for Propionibactrium acnes related acne, an undiluted solution and 1/10 diluted solution of SYTSRG formed 12B/E clear zone diameters. SYTSRG did not show cytotoxicity of human monocyte. Concentrations of 0.01% and 0.04% and 0.08% of SYTSRG inhibited the production of prostaglandins (PGE₂) in the human monocyte stimulated with P. acnes LPS. 0.08% and less of SYTSRG inhibited the production of interleukins (IL-1 β) in the human monocyte stimulated with P. acnes LPS. Concentrations of 0.04%, 0.08% and 0.12% of SYTSRG inhibited the production of TNF- α in the human monocyte stimulated with P. acnes LPS. As the antiandrogenic compound, SYTSRG was used in hamster ears with topical application. SYTSRG diminished the size of the hamster ear sebaceous gland in males, but not in females.

Conclusion : The present data suggest that SYTSRG may affect the primary stage of inflammation of acne.

Key Words: *Shengmayuipung-tang*, acne, 5 α -reductase, PGE₂, IL-1 β , TNF- α , sebaceous gland

緒 論

面疱란 여드름(acne)¹⁻³⁾을 말하는 것으로 주로 사춘기와 젊은 연령층에 발생하며 다양한 인자에 의한

피부의 피지선이나 모공이 막혀 발생하는 모낭 피지선의 만성 염증성 질환으로 염증이 심해지면 반흔을 남기는 것을 특징으로 하고 피지선의 분비가 많은 안면부에 주로 생기며 이외에도 목, 가슴, 어깨 및 등에 호발한다^{4,8)}.

여드름에 대해 한의학에서는《黃帝內經素問·生氣通天論》⁹⁾에 “汗出見濕 乃生痤 癩 …… 勞汗當風 寒薄爲皴 鬱乃痤”라 하여 痤 癩라는 병명으로 기록된 이래, 巢¹⁰⁾는 “面疱者 爲面上有風熱氣生疱 頭如米大 亦如穀大 白色者是”라 하여 처음으로 병명, 원인,

· 접수 : 2004년 8월 18일 · 논문심사 : 2005년 1월 16일
· 채택 : 2005년 2월 9일
· 교신저자 : 서형식, 강원도 원주시 우산동 삼지대학교한방병원 안이비인후피부과교실
(Tel :033-741-9266, E-mail : aran99@sangji.ac.kr)

증상을 구체적으로 언급하였고, 以後 面疱^{1,10-12)}, 痤瘡^{2,13,14)}, 粉刺^{1,12,15)}, 肺風粉刺^{2,16-19)}, 酒齋鼻¹⁶⁾, 面瘡²⁰⁾, 面疔²¹⁾ 등 다양한 명칭으로 표현되었다.

面疱는 肺胃積熱, 血熱血燥, 脾虛痰飲, 腸胃濕熱, 陰虛血瘀 등이 원인이 되어 발생하며, 治療는 淸肺胃·淸熱解毒, 淸熱涼血滋陰, 健脾化痰利濕淸熱, 淸熱化濕通腑, 淸熱滋陰·活血祛瘀하는 방법이 활용되고 있다.

본 실험의 기본방인 升麻胃風湯은《醫學入門》²²⁾에 收載된 處方으로 升麻, 甘草, 白芷, 當歸, 葛根, 蒼朮, 麻黃, 柴胡, 藜蘆, 羌活, 黃柏, 草豆蔻, 蔓荊子, 生薑, 大棗로 구성되어 面腫, 面麻木牙關急搐에 應用되어 왔으나,《東醫寶鑑》²³⁾에서는 “風客皮膚 痰漬臟腑 則面生黚黚 脾肺風濕搏熱 則生瘡紅紫或腫 升麻胃風湯 加減用之”라 하여 風熱邪로 인한 面部雜病에 임상적으로 활용 가능한 처방이다.

面疱에 관한 研究로 홍²⁴⁾은 淸上防風湯의 效能을, 高²⁵⁾는 淸熱之劑의 多量投與가 效果있음을, 蔡²⁶⁾는 面粉刺에 대한 臨床的 高찰을, 김²⁷⁾은 面疱散의 外用약이 效果가 있음을 보고하였으나 面疱의 병리기전에 작용하는 실험적 연구는 보고된 바가 없다.

이에 著者는 升麻胃風湯에 癰腫瘡毒에 效果가 있는 滋陰淸熱·解毒滑腸의 玄參, 瀉熱通腸·涼血解毒·逐瘀通經의 大黃, 淸熱·生肌斂瘡의 石膏를 加味하여 面疱 즉 여드름 발생기전에 參與하는 5 α -reductase 효소작용의 억제율과 Propionibacterium acnes에 대한 살균력, 정상 섬유아세포에서의 세포독성, 염증을 유발시키는 prostaglandins(PGE2), Interleukins(IL-1 β) 및 TNF- α 의 생성 억제, 그리고 Hamster ear sebaceous gland를 이용한 acnes의 실험을 관찰한 결과 유의성 있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

材料 및 方法

1. 材料

1) 藥材

본 실험에 사용한 약재는 대전대학교 부속한방병원에서 구입한 후 정선하여 사용하였고, 처방의 내용

Table 1. Prescription of Shengmayuipung-tang and Scrophulariae Radix, Rhei Radix Et Rhizoma, Gypsum Fibrosum(SYTSRG)

韓藥名	生藥名	重量(g)
升麻	<i>Cimicifugae Rhizoma</i>	7.50
甘草	<i>Glycyrrhizae Radix</i>	5.62
白芷	<i>Angelicae Dahuricae Radix</i>	4.50
當歸	<i>Angelicae Gigantis Radix</i>	3.75
葛根	<i>Puerariae Radix</i>	3.75
蒼朮	<i>Atractylodis Rhizoma</i>	3.75
麻黃	<i>Ephedrae Herba</i>	1.87
柴胡	<i>Bupleuri Radix</i>	1.12
藜蘆	<i>Ligustici Rhizoma</i>	1.12
羌活	<i>Notopterygii Rhizoma</i>	1.12
黃柏	<i>Phellodendry Cortex</i>	1.12
草豆蔻	<i>Alpiniae Katsumadai Semen</i>	1.12
蔓荊子	<i>Vitidis Fructus</i>	0.75
生薑	<i>Zingiberis Rhizoma Recens</i>	3片
大棗	<i>Jujubae Fructus</i>	2枚
玄參	<i>Scrophulariae Radix</i>	18.7
大黃	<i>Rhei Radix Et Rhizoma</i>	11.2
石膏	<i>Gypsum Fibrosum</i>	11.2
Total amount		78.15

과 용량은《東醫寶鑑》²²⁾에 準한 升麻胃風湯에 玄參, 大黃, 石膏를 加하였다.

2) 動物

(1) 종 및 계통 : Golden hamster

(2) 선택이유 : hamster ear sebaceous gland가 human sebaceous gland와 형태학적으로 유사하고 turnover도 비슷하여 antiandrogenic compound의 효과를 알아보는데 많이 이용되기 때문에 선택하였다.

(3) 공급원 : 계통과학

(4) 검역 및 순화기간 : 실험실에 검역, 순화시키는 기간을 약 1주일로 하여 그 기간중 일반증상을 관찰하여 체중감소가 없는 건강한 동물만을 골라 시험동물로 사용하였다.

(5) 주령 및 사용동물수 : 18주~20주령의 암컷 12마리, 수컷 12마리

(6) 식별방법 : 개체동물은 피모색소(피크린산) 마킹법으로 사육상자에는 시험번호, 동물번호, 투여량, 투여액량, 시험기간 및 시험책임자명을 기재한 라벨을 첨부하였다.

(7) 사육환경

① 환경조건 : 본 시험은 온도 23 \pm 2 $^{\circ}$ C, 상대습도

55±5%, 환기회수 10-12회/hr, 조명시간 12시간 (07:00 - 19:00), 조도 150-300Lux로 설정된 생활과학 연구소 동물실에서 실시되었다.

② 사육상자, 사육밀도 및 사육상자의 식별 : 순화 기간 및 시험기간중에 햄스터는 폴리카보네이트 상자(220W×320L×170mm, 명진기계제작)에 사육상자당 4마리를 넣어 사육하였다. 사육상자에는 시험번호, 동물번호 및 투여량을 기입한 라벨을 붙였다.

③ 사료 및 음수의 급여법 : 사료는 실험동물용 고품사료(퓨리나 주식회사)를 자유섭취시켰으며, 음수는 상수도를 자유섭취시켰다.

2. 方法

1) 檢液調製

加味升麻胃風湯(SYTSRG)을 고르게 파쇄하고 절단한 후 80% 에탄올로 3일간 냉침하여 추출한 후 여과 및 vacuum evaporator로 농축하여 사용하였다.(고형물 20% in 40% EtOH)

2) 5 α -reductase inhibition assay에 대한 실험

(1) 5 α -reductase의 준비방법

5 α -reductase type I의 source로는 흰쥐(Sprague-Dawley, female, adult)의 간을 이용하였다. 경추도살하여 간을 적출하고 PBS로 2회 세척한 다음, glass homogenizer를 이용하여 homogenizing buffer(50mM Na₂HPO₄, 250mM sucrose)를 첨가한 후 파쇄하여 ultrasonicator(Vibra cell, Sonics & Material Inc.)로 5분간 완전히 분쇄한 후 원심분리(15,000rpm, 4℃, 5분)하여 cell debris를 제거하고, 상층액만을 취하여 total protein의 양이 200 μ g/40 μ l이 되도록 희석하였다.

(2) Enzyme activity assay에 대한 실험

Eppendorf tube에 간추출액 40 μ l, 실험물질 10 μ l, 효소반응액(60mM Na₂HPO₄(pH7.0), 50mM KCl, 1mM NADPH, 100nM 3H-testosterone) 50 μ l를 mix하여 37℃에서 5분간 반응시켰다. Stop solution(70% cyclo-hexane, 30% ethylacetate, 40 μ g/ml testosterone, 40 μ g/ml dehydro-testosterone) 250 μ l를 가하고 30초간 vortexing하여 steroid를 solvent층으로 추출한 후

원심분리하여 상층액만을 다른 eppendorf tube로 옮겼다. Hood에서 eppendorf 뚜껑을 열고 overnight 방치하여 solvent를 날려보내고 남아있는 steroid를 chloroform 20 μ l로 다시 용해시킨 후 전개용매 (toluene:acetone=4:1)에서 pre-running한 TLC plate(Merck Art 5548)에 spotting하여 전개시켰다. 전개된 TLC plate는 Hyperfilm(Amersham)에 3일간 상온에서 감광시킨 후 X-ray developer 및 fixer(Sigma)를 이용하여 autoradiogram을 얻었으며, 감광된 면적은 densitometer(Digital Image System)로 측정하였다.

5 α -reductase는 세포내 소기관인 microsome이나 membrane에 위치하는 것으로 알려져 있으며, 조직에 따라 type I 과 type II의 발현이 다르게 나타난다. 특히 일반에서는 female rat의 간을 이용하는데 이는 type I 5 α -reductase가 male rat나 mouse보다 약 50배 이상 많이 발현되는 것으로 알려져 있기 때문이다. 이번 실험에서는 SYTSRG를 가지고 5 α -reductase inhibition정도를 알아보았다. 검액은 원액, 1/10, 1/100, 1/1000로 희석하여 4가지 농도로 실험하였고, 실험검액을 넣지 않고 testosterone만을 반응시킨 것을 대조군으로 하였다. 효소활성 억제율은 실험물질을 넣지 않았을 때의 반응을 100% 효소활성으로 하여 계산하였다(Fig.1).

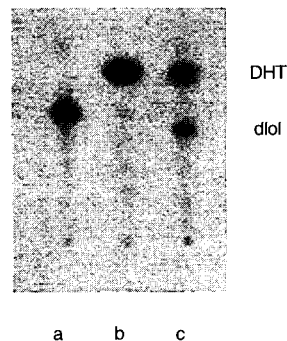


Fig. 1. Inhibition rate of enzyme activity
a. testosterone(T)을 TLC 전개하였을 때의 위치
b. dehydrotestosterone(DHT)을 TLC 전개하였을 때의 위치
c. testosterone이 DHT 와 diol로 전환

3) Propionibacterium acnes (P. acnes) 대한 살균력 실험

P. acnes를 Brain heart infusion (BHI) broth에서 35 ℃, 혐기적 조건으로 2~3일동안 전 배양한 다음 P. acnes배양액을 105~106/ml의 농도로 BHI semi solid agar(0.6%)에 넣고 top agar를 만들었다. 8mm paper disc에 시료를 30 μ l점적한 후 5분간 방치하여 alcohol 성분을 휘발시킨 후 paper disc를 배지위에 올려놓고 2~3일간 배양하여 생성된 clear zone의 크기를 측정하였다. Positive control은 원액과 1/10, 1/100 희석액을 가지고 실험하였으며, SYTSRG는 원액과 1/10 희석액으로 실험하였고 모두 40% 에탄올로 희석하였다.

4) 단핵세포의 분리배양

SYTSRG를 80% 에탄올로 2일동안 추출한 후 감압농축시켜 적당한 실험용액에 용해시켜 실험농도는 각 실험방법에 따라 0.12%에서 0.01% 농도로 제조하여 실험하였다.

전신질환이 없는 건강한 성인으로부터 구연산을 항응고제로 사용하여 320ml의 정맥혈액을 채집하였다. 채집된 정맥혈액을 1200rpm에서 10분동안 원심분리한 후에 일차적으로 중층의 백혈구농축액을 회수하여 이차적으로 RPMI 1640 배지와 1:1의 비율로 희석한 후에 50ml의 원심분리관에 Ficoll-Paque(Pharmacia Biotech) 12ml을 첨가한 후에 희석된 혈액 30ml를 중층이 되도록 주의깊게 첨가하여 1600rpm에서 30분동안 원심분리한 후에 혈청이 포함된 상층을 제거하고 단핵세포가 함유된 중층을 주의깊게 회수한 다음에 3배의 RPMI 1640 배지를 첨가하고 800rpm에서 10분동안 원심분리시킨 다음 상등액을 버리고 RPMI 1640 배지를 10ml 첨가하고 부드럽게 Pipetting한 다음에 800rpm에서 10분동안 원심분리한 후에 상등액을 버리고 RPMI 1640 배지를 첨가하여 Pipetting한 후에 24-Well plate에 106cell/well로 분주하고 95% 공기, 5% CO₂, 100% 습도 조건하에서 무균적으로 배양하였다.

5) Cytotoxicity에 대한 실험

혈액으로부터 순수분리 배양한 Monocyte를 24-Well plate에 106cell/well 되도록 분주한 다음 10%

FBS가 함유된 DMEM 및 RPMI 1640 배지에서 하루 동안 배양한 다음 기존의 배지를 신선한 배지로 교체하여 24시간동안 배양한 후에 HBSS완충용액으로 바닥에 붙은 세포층을 세척한 다음 혈청이 포함되지 않은 MEM배지 0.9ml를 첨가한 다음, SYTSRG를 각각 실험농도 100 μ l를 첨가한 다음 18시간 배양한 다음에 HBSS완충용액에 용해시킨 MTT(methyl thiazol-2-yl-2,5-diphenyl tetrazolium bromide)용액 0.5 ml를 각 Well에 넣고 4시간동안 배양한 후 MTT용액을 제거하고 Formazon결정을 용해시키기 위하여 DMSO를 500 μ l씩 첨가하였다. Plate를 잘 흔든 후에 Microplate reader로 570nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조군으로는 매실험마다 실험용액이 들어있지 않은 MEM배양액 Well을 사용하였다.

6) 단핵 백혈구의 프로스타글란딘(PGE₂)생성에 미치는 영향

혈액에서 분리한 혈액 단핵백혈구를 24-Well plate에 0.8ml 첨가하여 106cell/well 되도록 분주하고 RPMI 1640배지 200 μ l를 첨가한 Well을 대조군, P. acnes LPS(250 ppm) 100 μ l를 첨가한 Well 및 LPS(250 ppm) 100 μ l와 Indomethacin, LPS(250 ppm) 100 μ l와 SYTSRG(0.12, 0.08, 0.04, 0.01%) 100 μ l를 첨가한 Well을 실험군으로 하여 18시간동안 배양한 후, Arachidonic acid 50 μ l를 첨가하여 30분동안 더 배양하였다. 염소의 항-마우스 IgG를 부착시킨 96-Well plate의 Blank well에 50 μ l 완충용액(0.9% NaCl, 0.1% 소혈청 알부민, 0.5% Kathon을 함유하는 0.1M 인산완충용액)을 첨가하고, 표준(0, 1, 2, 4, 8, 16, 32pg/well)Well에는 50 μ l의 적당농도의 표준용액을 첨가한 다음 실험군 Well에 상기의 세포배양액 50 μ l 첨가하고, Blank well을 제외한 모든 Well에 50 μ l의 PGE₂에 대한 항체를 첨가한 다음 4℃에서 3시간동안 유지시킨 후 계속해서 50 μ l의 PGE₂ Conjugate Peroxidase를 Blank well을 제외한 모든 Well에 첨가하여 다시 4℃에서 1시간동안 유지시킨 후 세척완충용액(0.05% 트윈 20을 함유하는 인산완충용액: pH7.5)로 4번 세척하고 상온에서 150 μ l의 효소기질(20%의 디메틸포르마이드에 용해된 3', 5', 5'-테트

라메틸벤지딘/과산화수소)를 즉시 첨가하고 25℃에서 30분동안 유지시키고 1M 황산 100 μ 를 첨가한 후 마이크로플레이트판독기로 450nm에서 흡광도를 측정하여 실시예 혹은 비교예의 흡광도 값(T)에 Blank의 흡광도 값(B)을 나눈 다음 100을 곱하여 % 값으로 표시하여 나타낸다.

7) 단핵 백혈구의 TNF- α 생성에 미치는 영향

혈액에서 분리한 혈액 단핵 백혈구를 24-Well plate에 0.8ml 첨가하여 106cell/well 되도록 분주하고 RPMI 1640 배지 200 μ 를 첨가한 Well을 대조군, P. acnes LPS(250 ppm) 100 μ 를 첨가한 Well 및 LPS(250 ppm) 100 μ 와 dexamethasone, LPS(250 ppm) 100 μ 와 SYTSRG(0.12, 0.08, 0.04, 0.01%) 100 μ 를 첨가한 Well을 실험군으로하여 18시간동안 배양한 후, TNF- α 의 항체가 부착된 96-Well plate의 Well에, 표준용액(0, 10.24, 25.6, 64, 160, 400pg/well)을 50 μ 첨가한 다음, 실험군 Well에 상기의 세포배양액 50 μ 첨가하고, 모든 Well에 50 μ 의 Biotinylated Anti-bidy Reagent를 첨가한 다음 25℃에서 2시간동안 유지시킨 후 세척완충용액으로 3회 세척하고, Streptavidin-HRP Conjugate를 모든 Well에 첨가하여 다시 25℃에서 30분동안 유지시킨 후 다시 세척완충용액으로 3번 세척하고 100 μ 의 효소기질을 즉시 첨가하고 25℃, 암실에서 plate의 뚜껑을 열어둔 채로 30분동안 유지시키고 0.18M 황산 100 μ 를 첨가한 후 마이크로플레이트판독기로 450nm에서 흡광도를 측정하여 표준용액의 흡광도 값으로 Standard Curve를 작성하여 실험군의 TNF- α 의 생성량을 산정하였다.

8) 단핵 백혈구의 interleukins(IL-1 β)생성에 미치는 영향

혈액에서 분리한 혈액 단핵 백혈구를 24-Well plate에 0.8ml 첨가하여 106cell/well 되도록 분주하고 RPMI 1640 배지 200 μ 를 첨가한 Well을 대조군, P. acnes LPS(250 ppm) 100 μ 를 첨가한 Well 및 LPS(250 ppm) 100 μ 와 Indomethacin, LPS(250 ppm) 100 μ 와 SYTSRG(0.12, 0.08, 0.04, 0.01%) 100 μ 를 첨가한 Well을 실험군으로하여 18시간동안 배양한

후, interleukins(IL-1 β)의 항체가 부착된 96-Well plate의 Well에, 표준용액(0, 10.24, 25.6, 64, 160, 400pg/well)을 50 μ 첨가한 다음, 실험군 Well에 상기의 세포배양액 50 μ 첨가하고, 모든 Well에 50 μ 의 Biotinylated Antibidy Reagent를 첨가한 다음 25℃에서 3시간동안 유지시킨 후 세척완충용액으로 3회 세척하고, Streptavidin-HRP Conjugate를 모든 Well에 첨가하여 다시 25℃에서 30분동안 유지시킨 후 다시 세척완충용액으로 3번 세척하고 100 μ 의 효소기질을 즉시 첨가하고 25℃, 암실에서 plate의 뚜껑을 열어둔 채로 30분동안 유지시키고 0.18M 황산 100 μ 를 첨가한 후 마이크로플레이트판독기로 450nm에서 흡광도를 측정하여 표준용액의 흡광도 값으로 Standard Curve를 작성하여 실험군의 interleukins(IL-1 β) 생성량을 산정하였다.

9) Hamster ear sebaceous gland를 이용한 acnes의 실험

(1) 실험조성 및 투여방법

1 cage에 4마리씩 암수를 분리하여 사육하였고, 주 5일동안 1일 1회씩 붓을 이용하여 4주간 topical application하였다. 각 시료에 대하여 male 4마리, female 4마리씩 왼쪽 귀에는 실험 물질을 처리하고, 오른쪽 귀에는 처리 기체인 40% EtOH을 대조군으로 처리하였다.

(2) Whole mount 실험

Hamster ear sebaceous gland의 크기를 측정하기 위하여, Seki et al. 의 방법을 약간 변형하여 hamster ear를 처리하였다. 각각의 개체는 투여가 끝난 뒤 CO₂ 가스를 이용하여 도태시킨 다음 귀의 밑부분을 절단하였다. 생리식염수에 overnight 동안 담가두었다가 ventral ear와 dorsal ear의 두 부분으로 분리한 다음, ventral부분만을 취하였다. 2N NaBr 용액에 37℃, 1~2시간동안 두었다가 epidermis를 fine forcep을 이용하여 벗겨내고, cartilage부분은 dull scapel을 이용하여 제거하였다. 왼쪽과 오른쪽 귀의 medial region 중 일정한 부분을 잘라 slide glass위에 놓고, mounting solution(Permount, Fischer scientific, NJ)으로 고정하고 하루동안 상온에 방치해 두었다가

stereoscope (Nikon SMZ-2T, Japan)상에서 80배로 사진촬영한 후 육안판정하였다. 각각의 시료에 대하여 hamster male 4마리, female 4마리씩 실험 하였고, 한 개체에 대해서는 오른쪽 귀에 시료의 vehicle인 40% 에탄올을, 왼쪽에는 실험 물질을 붓으로 topical application하였다. 4주동안 투여가 끝난 후 whole mount technique을 이용하여 각각의 귀를 processing한 후 80배율로 사진촬영한 것으로 sebaceous gland의 크기를 육안판정하여 약제처리한 쪽과 처리하지 않은 쪽의 sebaceous gland의 크기변화를 알아보았다.

結果

1. 5 α -reductase 억제 실험성적

5 α -reductase에 대한 SYTSRG의 억제효과를 연구하기 위하여 검액을 각각 원액, 1/10, 1/100, 1/1000로

희석하여 4가지 농도로 실험하였고, 실험검액을 넣지 않고 testosterone만을 반응시킨 것을 대조군으로 하였다(Fig.1). SYTSRG를 넣지 않은 대조군의 경우, DHT로 전환된 T의 양은 반응전의 63%였으며 나머지는 androstanediol(diol)로 전환되었다. 여기에서는 5 α -reductase의 활성억제도를 계산할 때는 T에서 DHT로의 전환만을 대상으로 하였으며 dione이나 기타 부산물로 전환된 것은 고려하지 않았다. 효소활성억제도는 대조군에서의 생성량을 100%로 한 상대억제율을 계산하였다. SYTSRG에 대한 농도별 5 α -reductase 활성억제도 실험 결과, 원액에서는 84%이상 효소활성을 억제하는 것으로 나타났고 1/10 희석액에서는 40%정도의 억제율을 보였으나, 1/100 이하의 농도에서는 모두 효소활성을 나타내지 않았다 (Table 2, Fig.2).

Table 2. The Effect of SYTSRG on the 5 α -reductase Inhibition

	Undiluted Solution	Inhibition Rate(%)		
		1/10	1/100	1/1000
SYTSRG*	84	40	No activity	

* SYTSRG : 加味升麻胃風湯

효소활성억제율 (%) = 100 - (exp/ctl × 100)

ctl : 대조군 실험에서 전체의 T가 DHT로 전이한 비율 (63%)

exp : 加味升麻胃風湯을 첨가했을 때 T가 DHT로 전이한 비율

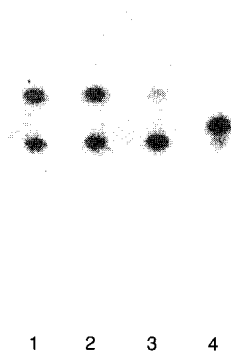


Fig. 2. 5 α -reductase activity assay autoradiogram of SYTSRG.

(1: 1/1000 희석액, 2: 1/100 희석액, 3: 1/10 희석액, 4: 원액)

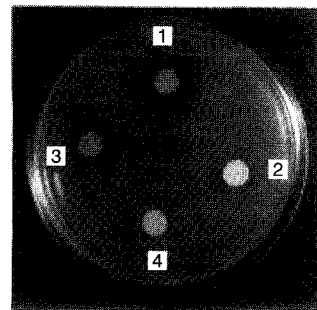


Fig. 3. P. acnes clear zone of SYTSRG

3. SYTSRG(原液)

4. SYTSRG(1/10 稀釋液)

2. Propionibacterium acnes (P. acnes)에 대한 살균력 실험성적

P. acnes의 살균력에 대한 SYTSRG의 효과를 연구하기 위하여 각각 원액, 1/10, 1/100의 농도로 처리하여 P. acnes의 clear zone을 측정 한 결과, positive control의 경우는 원액의 농도자체가 매우 높아(에그린 4%, 클레오신 1%) 높은 살균력을 나타내었다. 특히 에그린의 경우는 plate전체가 clear zone을 형성하였고, Clindamycin제제인 클레오신의 경우도 원액에서 37mm의 저지환을 형성하였으나, SYTSRG는 12mm범위의 저지환 지름을 형성하여 positive control에 비해 매우 낮은 살균력을 보였다(Table 3, Fig.3).

3. 加味升麻胃風湯의 human momocyte에 대한 Cytotoxicity에 미치는 영향

사람의 Monocyte의 세포독성에 대한 SYTSRG의 억제효과를 연구하기 위하여 각각 0.12, 0.08, 0.04, 0.01%의 농도로 18시간 동안 처리한 결과, 전농도에서 세포독성이 없는 것으로 나타났다(Table 4).

4. 加味升麻胃風湯이 Human momocyte의 prostaglandins(PGE2) 생성에 미치는 영향

P. acnes LPS로 자극한 human monocyte의 prostaglandins(PGE2)의 생성에 대한 SYTSRG의 효능·효과를 시험한 결과, 0.08%이하 농도에서 prostaglandins(PGE₂) 생성 억제효과가 있는 것으로 나타났다(Table 5).

5. 加味升麻胃風湯이 Human momocyte의 interleukins(IL-1 β) 생성에 미치는 영향

Table 3. The Effect of SYTSRG on the P. acnes Clear Zone(mm)

	SYTSRG*	에그린	클레오신
原液	12	>60	37
1/10	-	>60	19
1/100	ND	>60	-

* SYTSRG : 加味升麻胃風湯
ND : Not Determined

Table 4. The Effect of CBTL on the Cell Cytotoxicity

농도	0.12% (O.D.)	0.08% (O.D.)	0.04% (O.D.)	0.01% (O.D.)
시험군				
Control	0.718±0.046			
SYTSRG	0.636±0.075	1.011±0.044	1.145±0.058	0.904±0.077

* SYTSRG : 加味升麻胃風湯(Incubation for 18hrs)

Table 5. The Effect of CBTL on Prostaglandins of Human Monocyte Stimulated with P. Acnes LPS

Treatment Group	Average(O.D)	PGE ₂ (pg/ml)	Inhibition Rate(%)
Control	0.817	4.191	-
LPS	0.390	23.572	0
indomethacin 100 μ M	0.692	6.952	70
indomethacin 50 μ M	0.714	6.352	73
indomethacin 10 μ M	0.674	7.476	68
indomethacin 1 μ M	0.696	6.840	70
SYTSRG 0.12%	0.332	29.714	-
SYTSRG 0.08%	0.603	8.942	62
SYTSRG 0.04%	0.611	9.629	59
SYTSRG 0.01%	0.541	12.775	45

Table 6. The Effect of CBTLC on Interleukins of Human Monocyte Stimulated with P. Acnes LPS

Treatment Group	Average(O.D.)	IL-1 β (pg/ml)	Inhibition Rate(%)
Control	0.744	167	-
LPS	1.313	300	0
Dexamethasone 100 μ M	1.069	242	18
Dexamethasone 50 μ M	1.087	247	17
Dexamethasone 10 μ M	1.131	257	14
Dexamethasone 1 μ M	1.266	288	3.6
SYTSRG 0.12%	1.467	335	-
SYTSRG 0.08%	1.035	234	21.5
SYTSRG 0.04%	1.418	324	-
SYTSRG 0.01%	1.726	395	-

Table 7. The Effect of CBTLC on TNF- α of Human Monocyte Stimulated with P. Acnes LPS

Treatment Group	Average(O.D.)	TNF- α (pg/ml)	Inhibition Rate(%)
Control	0.396	171	-
LPS	0.595	259	0
Dexamethasone 100 μ M	0.165	72	72
Dexamethasone 50 μ M	0.208	90	65
Dexamethasone 10 μ M	0.252	110	58
Dexamethasone 1 μ M	0.317	138	47
CBTLC 0.12%	0.009	3.9	98
CBTLC 0.08%	0.015	6.5	97
CBTLC 0.04%	0.258	112	56
CBTLC 0.01%	0.816	355	-

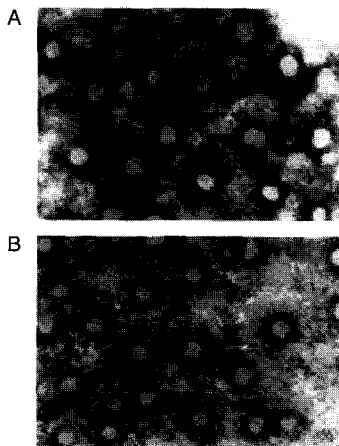


Fig. 4. Hamster ear sebaceous gland of SYTSRG applied topical for 4 weeks(male): 80 \times
 (a) 대조군 - 40% 에탄올 처리 (오른쪽 귀)
 (b) 약재 처리군 (왼쪽 귀)

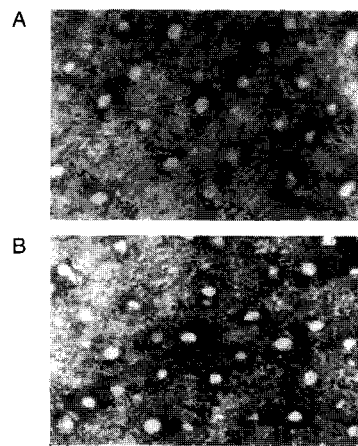


Fig. 5. Hamster ear sebaceous gland of SYTSRG applied topical for 4 weeks(female): 80 \times
 (a) 대조군 - 40% 에탄올 처리 (오른쪽 귀)
 (b) 약재 처리군 (왼쪽 귀)

P. acnes LPS로 자극한 human monocyte의 interleukins(IL-1 β) 생성에 대한 SYTSRG의 효능·효과를 시험한 결과, 0.08% 농도에서만 interleukins(IL-1 β)의 생성 억제효과가 있는 것으로 나타났다(Table 6).

6. 加味升麻胃風湯이 Human monocyte의 TNF- α 생성에 미치는 영향

P. acnes LPS로 자극한 human monocyte의 TNF- α 의 생성에 대한 SYTSRG의 효능·효과를 시험한 결과, 0.04%이상 농도에서 상당한 TNF- α 의 생성 억제효과가 나타났다(Table 7).

7. Hamster ear sebaceous gland를 이용한 acnes의 실험성적

각 검액 처리군에 대하여 육안상으로만 판정을 해보았을 때 SYTSRG의 경우 male에서는 약간의 감소효과가 있는 것으로 보였고, female의 경우는 양쪽 귀의 차이를 발견할 수가 없었다(Fig.4, 5).

考 察

韓醫學에서 面疱와 관련된 내용으로는《黃帝內經素問·生氣通天論》에서 “汗出見濕 乃生痤癩……勞汗當風 寒薄爲皰 鬱乃痤”라 하여 정확한 부위는 언급되지 않은 痤癩라는 병명으로 최초로 기록된 이래,巢¹⁰⁾는 “面疱者 爲面上有風熱氣生疱 頭如米大亦如穀大 白色者是”라 하여 처음으로 병명, 원인, 증상을 구체적으로 언급하였고,吳¹⁹⁾는 “肺風粉刺 面鼻瘡 瘡 赤腫瘡 破出粉汁或結屑”이라 하여 증상에 대하여 자세하게 언급하였다.以後 面疱^{1,10-12)}, 痤瘡^{2,13,14)}, 粉刺^{1,12,15)}, 肺風粉刺^{2,16-19)}, 酒齶鼻¹⁶⁾, 面瘡²⁰⁾, 面疔²¹⁾ 등 다양한 명칭으로 표현되면서 안면부에 발생하는 기미, 주근깨, 땀띠, 뾰루라지, 딸기코 등과 혼용되어 사용되었으나 발병양상, 부위, 발병원인 등에서 엄연히 다르다.

面疱의 발병원인을 살펴보면 李^{9,10,21,22)}은 風, 濕, 熱 등의 外因으로, 許^{11,15,16,20,21,23,28)}은 胃熱, 肺熱, 痰飲, 血熱 등의 內因으로 발생한다고 하였다. 最近 文獻

^{2,4,13,14,17,18,29)}에서는 肺胃積熱, 血熱血燥, 脾虛痰飲, 腸胃濕熱, 陰虛血瘀 등이 원인이 된다고 하였으며, 以外에 과식과 기름진 음식, 지나친 기호식품의 섭취⁴⁾ 또한 面疱의 발생원인이라 하여 治療法은 淸肺胃·淸熱解毒, 淸熱涼血滋陰, 健脾化痰利濕淸熱, 淸熱化濕通腑, 淸熱滋陰·活血祛瘀하는 방법을 위주로 하여 升麻黃連湯^{15,23)}, 桃紅四物湯^{13,14)}, 枇杷淸肺飲^{13,14,17-19)}, 淸胃散^{13,20)}, 調胃承氣湯, 五味消毒飲¹⁴⁾, 淸上防風湯¹⁵⁾, 黃芩淸肺飲¹⁶⁾, 茵陳蒿湯²¹⁾ 등의 內服藥과 西施玉容散¹²⁾, 顛倒散^{14,18)} 등의 外用藥을 使用하였다.

面疱란 현대의학의 여드름(acne)¹⁻³⁾을 말하는 것으로 주로 사춘기와 젊은 연령층에 발생하며 다양한 인자에 의한 피부의 피지선이나 모공이 막혀 발생하는 모낭 피지선의 만성 염증성 질환으로 병의 진행에 따라 구진, 농포, 결절 및 낭종(농화된 결절)이 출현하며 염증이 심해지면 반흔을 남기는 것을 특징으로 하고 피지선의 분비가 많은 안면부에 주로 생기며 이외에도 목, 가슴, 어깨 및 등에 호발하며^{3,8)}, 주로 나타나는 발진의 형태에 따라 심상성 여드름, 응괴성 여드름, 전격성 여드름, 월경전 여드름, 사춘기전 여드름, 직업성 여드름, 켈로이드성 여드름, 그람 음성균에 의한 여드름, 찰상성 여드름으로 분류한다^{3,7)}.

여드름의 원인은 확실치 않으며 여러 원인이 복합적으로 관여하리라고 추정하지만 일반적 원인으론 유전적 요인이 있다는 것은 잘 알려져 있으나 유전 양식과 어떠한 유전적 요인이 여드름 발생에 직접적으로 작용하는지는 정확하지 않다. 최근에는 화장품 성분, 약제, 대표적 약제로는 부신피질 hormone제, 직업으로 인한 기름 왁스 절삭유의 사용, 이외에 과도한 세제나 비누의 사용, 강한 자외선, 더운기운 등 환경요인에 의해 여드름이 발생되며 hormone 이상으로 androgen의 분비항진 또는 모낭내에 상주하는 균에 의해 발생한다^{5,6,8,30)}.

여드름의 발병기전은 모피지선에 대한 hormone (androgen)과 세균(propionibacterium acnes)의 복합작용에 의해 발생한다⁴⁻⁷⁾. androgen은 피지선낭포(sebaceous)의 크기 및 분비를 증가시키며 이 효과는 여드름 발현의 전단계로 2차 성징의 하나이며³¹⁾, 사

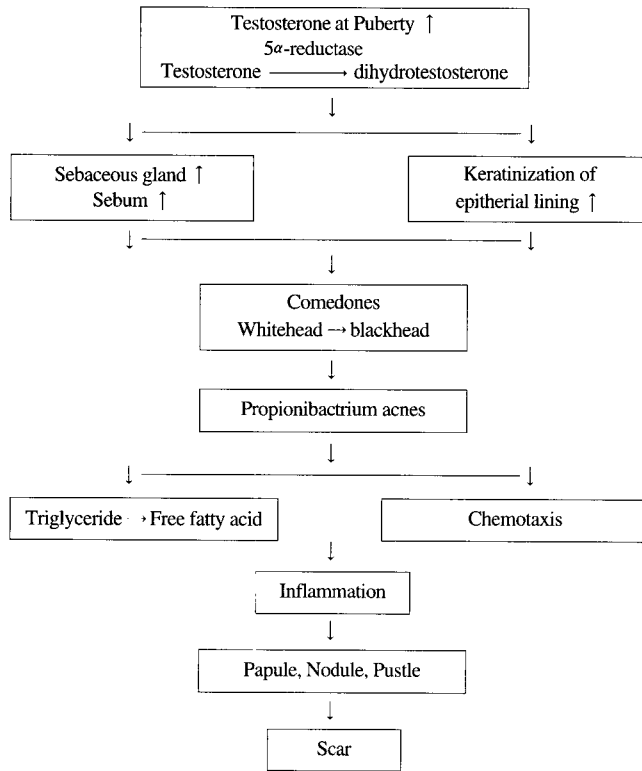


Fig. 5. Pathogenesis of acne

춘기에 이르면 남녀모두 남성hormone의 분비가 증가되는데 androgen 즉 testosterone이 모피지선에서 5 α-reductase 라는 효소에 의해 dihydrotestosterone으로 전환되고 이 hormone에 의해 피지선의 크기와 피지의 분비가 증가하며 주변 조직의 keratinization이 촉진된다. 이러한 조직의 keratinization에 의해 피지가 조직외부로 유출되는 것이 방해되고 이들이 모낭을 막아서 microcomedo가 되고 이것이 더욱 진행되면 눈에 보일만큼의 whitehead(closed comedo)를 형성하고, 여기에 더 많은 표피세포와 피지가 증가하게 되면 closed comedo 내부에 있던 피지 등이 밖으로 분출되고 그 말단부분은 표피세포가 생산하는 melanin에 의해 검어지며 이것을 blackhead(open comedo)라고 하며, 특히 open comedo의 경우는 환자의 손 등에

의한 2차 감염에 주의해야 한다. 이상과 같이 염증반응이 관련되지 않은 open, close comedo를 비염증성 여드름이라고 한다. 염증성 여드름은 comedo부위에 lymphocyte가 증가하면서 시작된다. 염증유발 원인으로서는 피지로부터 유래된 지방산들이 주요인으로, 지방산들은 피지의 지방성분이 미생물의 지방분해효소에 의해 분해되어 생성된다. 대표적이 미생물은 혐기성세균인 propionibacterium acnes인데 정상인의 피부에도 많이 발견되므로 직접적인 pathogen이라고 말하기는 힘들지만, 이 세균의 지방분해효소에 의해 생성된 지방산과 단분자 물질이 작용하여 염증반응이 시작되어 papule, nodule, pustle의 과정을 거쳐 scar를 형성한다.^{4,7,32-39}(Fig.6).

여드름에 대한 치료는 hormone의 피지분비증가,

병원성 인자인 이상각화, propionibacterium acnes의 증식 및 염증을 억제하는 것이며 병발 정도에 따라 국소도포제 사용에서 항생제의 전신투여를 결정한다. 국소요법으로는 피부청결·약용비누·국소도포 항생제·압출요법·부신피질 흡몬제 병변내 주사가 있으며, 전신요법으로는 항생제·여성호르몬·부신피질흡몬제 등을 투여하는 방법이 있고, 이외에 식이요법이 있으나 음식에 의한 영향은 그다지 크지 않으므로 제외식은 필요없으나 확실히 여드름을 악화시키는 음식물이 발견되면 제한하여야 하며, 마음을 편안하게 하고 과식과 기름진 음식, 지나친 기호식품의 섭취를 금하고 변비, 위장장애, 생리불순 등과 같은 내부적인 다른 증세가 없는지 함께 검사하여 적절한 치료를 하여야 하나, 치료법이 다양한 만큼 아직 여드름 치료에 완전히 효과적인 단일 치료방법은 없는 것으로 나타나 있다^{4,6,8,30}).

升麻胃風湯은《醫學入門》²²⁾에 收載된 處方으로 升麻, 甘草, 白芷, 當歸, 葛根, 蒼朮, 麻黃, 柴胡, 藁本, 羌活, 黃柏, 草豆蔻, 蔓荊子, 生薑, 大棗로 構成되어 面腫, 面麻木牙關急搐에 應用되어 왔으나,《東醫寶鑑》²³⁾에서는 “風客皮膚 痰漬臟腑 則面生黧黯 脾肺風濕搏熱 則生瘡紅紫或腫 升麻胃風湯加減用之”라 하여 風邪로 인한 面部雜病을 治療하는 治方으로 利用되어 왔다. 本方劑를 構成하는 個別藥物의 效能을 살펴 보면⁴⁰⁾ 清熱解毒·解表透疹의 效能이 있어 麻疹不透에 使用하는 升麻, 解毒의 效能이 있어 瘡瘍腫毒에 使用하는 甘草, 消腫排膿·燥濕止痒의 效能이 있어 瘡瘍痛腫·皮膚病과 風濕癢瘁에 使用하는 白芷, 補血和血하여 散瘀消腫하고 排膿生肌하는 效能이 있어 癰疽瘡瘍에 使用하는 當歸, 解表透疹의 效能이 있어 麻疹不透에 使用하는 葛根, 祛風·健脾의 效能이 있는 蒼朮, 解表的 效能이 있어 風疹癢瘁에 使用하는 麻黃, 和解退熱의 效能이 있는 柴胡, 祛風의 效能이 있는 藁本, 羌活, 清熱燥濕·瀉火解毒의 效能이 있어 瘡瘍腫毒, 濕疹癢瘁에 使用하는 黃柏, 健脾의 效能이 있는 草豆蔻, 疏散風熱의 效能이 있는 蔓荊子, 解表的 效能이 있는 生薑, 解藥毒의 效能이 있는 大棗로 이루어져 祛風·清熱解毒·活血排膿生肌·健脾의

效能을 나타내고 藥物의 半數가 解表藥으로 되어있다. 그리고 本處方에 滋陰清熱·解毒의 效能이 있어 癰腫瘡毒에 使用하는 玄參, 瀉熱通腸·涼血解毒·逐瘀의 效能이 있어 癰腫瘡腫에 使用하는 大黃, 清熱·生肌斂瘡의 效能이 있어 癰疽瘡瘍에 使用하는 石膏를 加하여 面疱에 活用할 수 있을 것이라 생각된다.

本論文에서는 SYTSRG로 面疱에 대한 효능을 관찰하기 위하여 5 α -reductase의 억제, Propionibacterium acnes(P. acnes)에 대한 살균력을 실험하였으며, Hamster ear sebaceous gland를 이용하여 acne의 감소여부를 직접 관찰하였다.

5 α -reductase 억제실험 결과 SYTSRG는 원액에서는 84%, 1/10 희석액에서는 40%정도의 효소활성을 억제하는 것으로 나타났으나, 1/100 희석액이하의 농도에서는 T가 모두 DHT로 전이되어 효소활성을 나타내지 않았다(Fig.2). 1/10 희석액에서 40%정도의 효소활성을 억제하므로 약간의 효소활성 억제효과가 있는 것으로 생각된다.

Propionibacterium acnes(P. acnes) 대한 살균력 실험의 결과, positive control의 경우는 원액의 농도자체가 매우 높아(예그린 4%, 클레오신 1%) 높은 살균력을 나타내었다. 특히 예그린의 경우는 plate전체가 clear zone을 형성하였고, Clindamycin제제인 클레오신의 경우도 원액에서 37mm의 저지환을 형성하였으나, SYTSRG는 12mm 범위의 clear zone을 형성하여 positive control에 비해 매우 낮은 살균력을 보였다(Fig.3). 실제로 paper disc의 크기가 8 mm이었기 때문에 살균 효과는 극히 적은 것으로 나타났다. 그러나 저지환 지름만으로 P. acnes에 대한 효과를 이야기하기는 힘들며, 실제로 P. acnes에 의해 여드름이 유발되는 것은 미생물 그 자체보다도 미생물이 생산하는 지방분해효소나, neutrophile chemo-attractant, neutrophile에 의해 발생하는 reactive oxygen species(ROS) 등의 복합적인 요소가 관계가 되므로 지방분해효소 역가측정실험이나 neutrophile chemotaxis assay 등의 실험이 더 요구된다.

Hamster ear sebaceous gland를 이용한 acnes의 실험결과, 각 검액 처리군에 대하여 육안상으로만 판정

을 해 보았을 때 SYTSRG는 male에서는 약간의 감소효과가 있는 것으로 보였으나, female의 경우는 양쪽 귀의 차이를 발견할 수가 없었다(Fig.4, Fig.5). Hamster ear sebaceous gland를 이용한 acnes의 평가법은 androgen dependent한 평가방법이므로 호르몬으로 여드름을 유발시킨 후 그 치유효과를 볼 수 있는 점에서는 토끼면포실험법보다 좀더 정확한 평가방법이 될 수 있을 것이다. 그러나, 토끼보다는 소형동물을 사용하므로 편리한 점도 있지만 sebaceous gland의 크기가 토끼의 것보다 작아서 사진촬영시 고배율에서 촬영을 해야하므로 실험수(n)가 적어지고, 한 보고에서도 알 수 있듯이 hamster자체의 귀에 분포하는 sebaceous gland가 local variation이 크기 때문에 실험오차가 더 커지므로 이를 보완할 수 있는 실험의 개선이 더욱 요구된다.

이상의 결과를 종합해 보면 SYTSRG는 1/10 희석액 이상에서 5 α -reductase 활성을 억제하는 것으로 나타났고, P. acnes에 대하여 약간의 살균력을 나타냈으며, sebaceous gland의 크기변화를 발견할 수 없는 것으로 보아 testosterone이 dihydrotestosterone으로 변화시 관여하는 5 α -reductase가 활성화되는 면포 I기에서 효과가 있으나, sebum의 증가와 Comedones의 생성이 이루어지는 면포 II기에서는 뚜렷한 효과가 없을 것으로 사려된다. 또한 정상적인 섬유아세포에 대해 전농도에서 세포독성이 없는 것으로 나타났으며 Prostaglandins(PGE₂)의 생성 억제효과와 탁월한 TNF- α 의 생성 억제효과를 보이는 것으로 보아 P. acnes에 의해 여러 가지 화학인자가 방출되어서 혈관확장이나 액성삼출이 일어나는 염증초기에 전반적인 효과가 있는 것으로 사려된다.

이상의 실험결과로 SYTSRG는 면포의 I기 및 염증초기 치료에 응용하면 적합할 것으로 사려되나, 만성적인 병변과 말기 치료에는 뚜렷한 효과를 보이지 않아서 보다 정확하고 객관화된 실험적 연구와 면포에 대한 한의학적 연구가 폭넓게 이루어져야 할 것이다.

結 論

升麻胃風湯 加 玄蔘, 大黃, 石膏의 面皰, 즉 acnes 발생기전에 관여하는 5 α -reductase 효소의 억제율과 Propionibacterium acnes에 대한 살균력, 정상 섬유아세포에서의 세포독성, 염증을 유발시키는 여러 인자 즉 Prostaglandins(PGE₂), Interleukins(IL-1 β) 및 TNF- α 의 생성 억제율, 그리고 Hamster ear sebaceous gland를 이용한 acnes의 실험결과를 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. SYTSRG의 In vitro 5 α -reductase inhibition assay에 대한 실험에서 원액은 80%, 1/10 희석액은 40%의 5 α -reductase 효소활성을 억제하였다.
2. P. acnes에 대한 SYTSRG의 살균력 실험에서 clear zone diameter가 12mm로 살균력은 매우 미미하였다.
3. SYTSRG는 전농도에서 세포독성이 없는 것으로 나타났다.
4. P. acnes LPS로 자극한 human monocyte의 prostaglandins(PGE₂)의 생성에 대하여 SYTSRG는 0.08%이하의 농도에서 Prostaglandins (PGE₂) 생성 억제효과가 있었다.
5. P. acnes LPS로 자극한 human monocyte의 interleukins(IL-1 β)의 생성에 대하여 SYTSRG는 0.08% 농도에서만 억제효과를 보였다.
6. P. acnes LPS로 자극한 human monocyte의 TNF- α 의 생성에 대하여 SYTSRG는 0.04%이상의 농도에서 상당한 억제효과가 있었다.
7. Antiandrogenic compound로서 SYTSRG의 효과를 실험하기 위해 ear sebaceous gland 크기의 감소여부를 육안판정한 결과, male에서는 약간의 감소효과가 있는 것으로 보였으나, female의 경우는 양쪽 귀의 차이를 발견할 수 없었다.

이상의 결과를 종합해 보면 SYTSRG는 면포 I기 및 염증초기의 항염작용에 효과가 있으며 임상에서도 초기의 면포에 널리 응용될 수 있을 것으로 사려된다.

參考文獻

1. 裴元植. 最新韓方臨床學. 서울:南山堂. 1987:656-657.
2. 柳志允. 外科 皮膚科의 辨證論治. 富川:晝苑堂. 1987:232-233.
3. 안성구 외. 흔히 보는 피부질환. 서울:고려의학. 1993: 59-62.
4. 송집식. 한방피부미용. 서울:효임. 1993:245-247.
5. 大韓皮膚科學會. 皮膚科學. 서울:麗文閣. 1990:347-350.
6. 醫學教育研修院. 家庭醫學. 서울:서울大學校出版部. 1995:715-716.
7. 西山茂夫. 圖解 皮膚科學. 서울:第一醫學社. 1991:297-298.
8. 李惟信. 臨床皮膚科學. 서울:麗文閣. 1987:217-220.
9. 王琦 외. 黃帝內經 素問今釋. 서울:成輔社. 1983:14.
10. 巢元方. 諸病源候論校釋. 北京:人民衛生出版社. 1983:768.
11. 宋太宗命撰. 太平聖惠方. 서울:成輔社. 1979:1207-1219.
12. 朴炳昆. 增補 韓方臨床四十年. 서울:大光文化社. 1971:460-461.
13. 申天浩. 病症論治. 서울:成輔社. 1990:592-594.
14. 中醫研究院. 中醫症狀鑑別診斷學. 北京:人民衛生出版社. 1981:656-657.
15. 瞿廷賢. 萬病回春. 서울:杏林書院. 1972:9-10.
16. 陳實功. 外科正宗. 北京:人民衛生出版社. 1964:255.
17. 顧伯華 외. 實用中醫外科學. 上海:上海科學技術出版社. 1985:535-536.
18. 蔡炳允. 韓方外科. 서울:高文社. 1977:310.
19. 吳謙 외. 醫宗金鑒. 台北:大中國圖書公司. 1984:125.
20. 李用粹. 證治彙補. 台北:旋風出版社. 1976:229.
21. 趙 佶. 聖濟總錄. 臺北:新文豐出版社. 1978:841-843.
22. 李 梴. 醫學入門. 서울:翰成社. 1983:405-406,852.
23. 許 浚. 東醫寶鑑. 서울:南山堂. 1976:209,239,284.
24. 홍석훈. 淸上防風湯이 面癩에 미치는 영향. 대한안이 비인후피부과학회지. 2002;15(1):315-335.
25. 高祐新. 肺風粉刺의 治療 1例 報告. 대한외관과학회지. 1995;8(1):149-152.
26. 蔡炳允 외. 面粉刺에 대한 臨床의 고찰. 대한한의학회지. 1994;15(2):125-131.
27. 김경준 외. 면포산의 면포질환 시험 8례. 대한외관과학회지. 2001;14(1):66-75.
28. 祁 坤. 外科大成. 台北:文光圖書有限公司. 1979:217.
29. 金定濟. 診療要鑑(上). 서울:東洋醫學研究院. 1979:347-350.
30. 金營湖. 月刊 臨床藥學. 서울:臨床藥學社. 1991:12-35.
31. 민현기. 임상 내분비학. 서울:고려의학. 1990:399.
32. H. Akamatsu, Niwa H., Kurokawa I., Masuda R., Nishijima S., and Asada Y. Effect of suboptimal inhibitory concentrations of minocycline on neutrophil chemotactic factor production in comedonal bacteria, neutrophil phagocytosis and oxygen metabolism. Dermatol Res. 1991;283:524-528.
33. N.B. Esterly, Koransky J.S., Furey N.L., and Trevian M. Neutrophil chemotaxis in patients with acne receiving tetracycline therapy. Arch Dermatol 1984;120:1308-1313.
34. A.M. Kligman and Kwong T. An improved rabbit ear model for assessing comedogenic substances. Br J Dermatol 1979;100:699.
35. A.M. Kligman. Petrolatum is not comedogenic in rabbits or humans : A critical reappraisal of the rabbit ear assay and the concept of "acne cosmetica". J Soc Cosmet Chem 1997;47:41-48.
36. Taisuke Seki, Toyomoto T., and Morohashi M. Effects of topically applied spironolactone on androgen stimulated sebaceous glands in the hamster ear pinna. J Dermatol 1995;22:233-237.
37. L.M. Lieb, Flynn G., and Weiner N. Follicular (Pilosebaceous unit) deposition and pharmacological behavior of cimetidine as a function of formulation. Pharm Res 1994;11:1419-1423.
38. J.R. Matias and Orentreich, N. The hamster ear sebaceous glands. I. Examination of the regional

- variation by stripped skin planimetry. J Invest Dermatol 1983;81:43-46.
39. G. Sason and Reisner, R.M. Defferential rates of conversion of testosterone to dihydrotestosterone in acne and in normal human skin : a possible pathologic factor in acne. J Invest Dermatol 1971;56:366-371.
40. 李暎鍾 외. 本草學. 서울:永林社. 1994:121,128-129,132,136,148-149,151-152,160,182,192,242,289,297,540,542,578.