

連翹散이 아토피 동물 모델에 미치는 영향

박지수* · 김윤희 · 강탁림¹

대전대학교 한의과대학 소아과학 교실, 1: 대전대학교 한의과대학 약리학교실

Effect of Yeonkyo-san in Atopic Dermatitis Animal Model

Jee Su Park*, Yun Hee Kim, Tak Lim Kang¹

*Department of Pediatrics, College of Oriental Medicine, Daejeon University,
1: Department of Pharmacology, College of Oriental Medicine, Daejeon University*

The purpose of this study is to examine closely effect that YKS used to atopic dermatitis disease patient get in atopy eruption control experimentally. We analyzed the expression of IgE, IL-6, IL-4, IL-5 and IL-13's level in serum, and IFN- γ ' production by YKS extract. We also analyzed YKS extract get to NC/Nga mice's skin establishment analyzes neck-back skin after biopsy, and H&E method measured about epidermis and dermis part in comparison with control group. In this research YKS extract as treatment result to a NC/Nga mice, IgE and IL-6 content in serum decreased remarkably than control group. And decreased than result control group which measure IL-4, IL-5, IL-13's level in serum, and IFN- γ ' production secreted in Th1 cell displayed increase by YKS extract. IL-4 and IFN- γ 's gene revelation amount displayed marked decrease than control group in result that observe effect that get in skin of a NC/Nga mice. Also, in culture supernatant which cultivate for 14 day after separate skin cell, IL-13 and IL-6 production decreased than control group. YKS extract get to NC/Nga mice's skin establishment analyzes neck-back skin after biopsy, and dye by H&E method decreased about epidermis and inflammation of dermis part remarkably than control group. These results suggest that Th1 cell and Th2 cell observe to be shifted by secretion amount of IL-4 and IFN- γ by YKS extract could know that YKS extract can use usefully in allergy autoimmune disease.

Key words : NC/Nga mice, Atopic Dermatitis, Yeonkyo-san(YKS)

서 론

아토피 피부염은 소양증, 만성 피부발진이 특징인 질환으로 흔히 태열이라고도 부르며 유아습진의 가장 흔한 형태로서¹⁾, 한 의학적으로는 乳癬, 胎癬, 奶癬, 胎敏瘡 등의 범위에 속하는 것으로 볼 수 있다²⁾. 아토피 피부염의 증상은 특징이 구별되는 3단계를 가지는데, 제 1기는 유아기(생후 2개월에서 2세)로 습진의 양상을 띄어 가슴, 얼굴, 두피, 목, 사지의 신전부위에 홍반을 띠는 구진성 소포들과 삼출이 생겨 황색의 가피가 있는 것이 특징이며, 제 2기는 소아기(2세부터 10세)로 목, 전주부위, 손목에 건조한 구진, 표피박리, 태선화 및 눈 주위의 홍반, 부종 등이 흔하게 나타나고, 제 3기는 사춘기 및 성인기로 전신적으로 피부의 굴절 부위 및 눈 주위에서 주로 발생하며, 건조한 병변이 나타나기 시

작하여 태선화, 과색소침착, 침윤반 등이 있으며 손에 계속되는 피부염(주부습진 등)의 잔존으로 보이기도 한다^{1,3)}.

아토피에 관한 연구를 살펴보면, 면역학적 관점이 주류를 이루어, 이 등⁴⁾의 소아 아토피성 천식 및 피부염에서 Anti-IgE 자가항체의 양성을 및 특성, 이 등⁵⁾의 아토피성 천식 환자에서 혈청 총 IgE치 피부시험 및 항원특이 IgE 항체의 연관성에 관한 연구, 이⁶⁾의 아토피 피부염의 중증도와 혈청 IgE 및 IFN- γ 에 관한 연구 등이 있으며, 최근 체질에 관한 연구도 활발하게 이루어지고 있어, 구⁷⁾의 아토피 피부염 치료에 관한 사상학적 임상연구, 김 등⁸⁾의 사상체질과 아토피성 질환 유전자의 다형성(IL-4 polymorphism)에 관한 연관성 연구, 김 등⁹⁾의 사상체질검사를 통한 성인형 아토피 피부염 환자의 예후에 대한 임상적 고찰이 있으며, 치료방법에 관한 연구로는 김¹⁰⁾ 등의 加味生料四物湯의 항염증 효과와 止癬膏의 아토피 피부염 손상 및 지양효과에 미치는 영향, 정 등¹¹⁾의 加味熱多寒少湯 투여 후 아토피 피부염 환자의 임상상 변화에 대한 연구 등이 있다.

* 교신저자 : 박지수, 충남 천안시 투정동 349-1 세운빌딩3층 대정부부한의원

· E-mail : amercury@empal.com, · Tel : 041-522-7533

· 접수 : 2006/01/10 · 수정 : 2006/01/31 · 채택 : 2006/02/08

이에 저자는 濕熱을 치료하고, 解毒消腫시키며, 解肌透疹시키는 데 응용가능한 처방인 連翹散¹²⁾이 아토피 피부염의 억제에 미치는 효능을 입증하기 위하여 Balb/c 생쥐와 NC/Nga mice를 대상으로 anti-CD40과 rIL-4로 동시 자극하여 알레르기 면역 반응을 유도한 다음 CD23, CD11a, IL-4, IL-13, IgG, IgM, IgE 등의 양을 측정하였으며, 連翹散 추출물 투여군의 clinical skin severity score 및 혈청 IL-4, IL-5, IL-6, IL-13, IgE, IgM, IgG2a, IgG1, IFN- γ 의 수준을 측정하였고, 실험동물의 피부의 세포배양 실험을 통한 IL-4, IL-5, IL-6, IL-13, CCR3, IFN- γ , CD69⁺/CD3e⁺, CD44⁺/CD19⁺의 측정 및 각 병변 피부 조직 검사 등을 시행한 결과, 連翹散의 항아토피 제재로서의 사용 가능성에 관한 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다

재료 및 방법

1. 재료

1) 동물

웅성 6주령의 NC/Nga atopic dermatitis model mice(이하 NC/Nga mice로 한다. SLC, Japan)를 사용하였으며, 고품사료(항생제 무첨가, 삼양사료 Co.)와 물을 충분히 공급하고, 실온 23±2℃, 습도 55±15%를 계속 유지하면서, 12시간-12시간(light-dark cycle)의 환경에서 2주일간 실험실 환경에 적응시킨 후 실험에 사용하였다.

2) 약물

실험에 사용된 連翹散(YKS)은 연교, 우방자, 갈근, 감초, 생강 각각 4g으로 구성되어 있으며, 약재는 대전대학교 부속한방병원에서 구입한 것을 정선하여 사용하였다.

Table 1. Prescription of Yeonkyo-san

韓藥名	生藥名	用量(g)
連 翹	<i>Forsythiae Fructus</i>	4
牛蒡子	<i>Arctii Fructus</i>	4
葛 根	<i>Puerariae Radix</i>	4
甘 草	<i>Glycyrrhizae Radix</i>	4
生 薑	<i>Zingiberis Rhizoma Recens</i>	4
總 量		20

3) 連翹散 추출물 분리

連翹散 80g에 각각 증류수 2,000ml를 가하여 열탕 추출기에서 3시간 추출하여 얻은 액을 흡입 여과하여 이를 감압 증류장치(Rotary evaporator, BUCHI B-480, Switzerland)로 농축하여, 이를 다시 동결 건조기(Freeze dryer, EYELA FDU-540, Japan)를 이용하여 완전 건조한 連翹散 추출물(9.8g)을 냉동(-84℃) 보관하면서 적당한 농도로 희석하여 사용하다

2. 방법

1) 혈청 중 IgE와 IL-6 측정

혈청 중 IgE량은 8주, 10주, 12주, 15주에 생쥐의 눈에서

capillary tube를 이용하여 약 100 μ l의 혈액을 채혈한 후 혈청을 분리하여 IgE량을 측정하였다. 15주째 NC/Nga mice를 ethyl ether로 마취한 후 심장천자법으로 혈액을 채혈하여 혈청을 분리한 후 혈청 중 IL-6, IL-4, IL-13의 양을 ELISA kit 방법으로 정량하였다. 그리고 혈청 중 immunoglobulin인 IgM, IgG2a, IgG2b의 양은 Mab-Based Mouse Ig isotyping kit(PharMingen, San Diego, Calif)으로 측정하였다.

2) 피부병변 부위에서 RT-PCR 분석

PCR은 Primus 96 Legal PCR system(with high pressure lid, MWG in germany)를 이용하여 수행하였다. 반응은 이미 합성된 3 μ l의 cDNA를 주형으로 사용하고, 주형에 대한 primer는 β -actin, IL-6, tumor necrosis factor- α (TNF- α), cyclooxygenase-2, 그리고 NOS-II 유전자를 증폭하기 위하여 sense primer(20pmole/ μ l)와 antisense primer(20pmole/ μ l)를 혼합하여 1 μ l를 가하고, 다시 3 μ l 2.5mM dNTPs, 3 μ l 10 \times PCR buffer(100mM Tris-HCl, pH 8.3, 500mM KCl, 15mM MgCl₂), 그리고 0.18 μ l Taq polymerase(5U/ μ l)를 첨가한 다음 최종 부피가 30 μ l 되도록 멸균 증류수를 가하고 pre-denaturation; 95℃, 5분, denaturation; 95℃, 5분, annealing; 55℃, 1분, elongation; 72℃, 1분을 25cycles한 뒤 post-elongation을 72℃에서 3분 동안의 조건으로 PCR을 수행하였다. 각 PCR products는 20 μ l씩 1.2% agarose gel에 loading하여 120V 조건에서 20분간 전기영동을 통하여 분석하였다.

3) 조직병리검사

실험 종료 후에, 왼쪽 귀 끝부분과 등쪽 목 부분의 피부를 떼어내어 10% paraformaldehyde에서 24시간 동안 포르말린에 고정하였다. 그 조직을 파라핀으로 포매하였고 5 μ m 부분의 두께로 block을 만들었다. 그 조직부분은 염증을 일으키는 epidermis, dermis, keratinocytes, neutrophils/ eosinophil 및 그 외 다른 세포와 부종을 식별하는 hematoxyline /eosin(H&E)으로 염색을 시행하였다.

4) Lymphokine assay

비장세포(2×10^6 /ml)는 anti-CD28(1 μ g/ml) 항체(PharMingen)와 anti-CD3(1 μ g/ml)으로 24-well Costar 접시(Corning Inc, Cambridge, Mass)에서 coating하였다. 連翹散 추출물(100 μ g/ml)과 48시간 동안 동시 배양하였다. 그리고 IL-4, 그리고 IFN- γ 는 ELISA(harMingen)를 가지고 측정하였다.

성 적

1. 혈청 중 IgE와 IL-6에 미치는 영향

혈청 중 IgE 수치를 측정된 결과, 대조군은 8주에 11.7±16.8(μ g/ml), 12주에 16.9±12.1(μ g/ml), 16주에 111.8±8.0(μ g/ml), 20주에 126.5±6.8(μ g/ml)로 16주와 20주에 현저한 증가를 보였으며, 실험군은 8주에 8.3±6.3(μ g/ml), 12주에서 13.9±9.0(μ g/ml), 16주에 58.6±32.9(μ g/ml), 20주에 86.7±18.4(μ g/ml)로 대조군에 비하여 최종 20주에서 혈중 IgE 수치가 약 31.4% 감소하였다(Fig. 1A). 혈청 중 IL-6 수치를 측정된 결과, 대조군은 8주에 115±23(pg/ml), 12주에 254±20(pg/ml), 16주에 443±49(pg/ml), 20주에

646±53(pg/ml)로 16주와 20주에서 현저한 증가를 보였으며, 실험군은 8주에 109±16(pg/ml), 12주에 189±33(pg/ml), 16주에 245±26(pg/ml), 20주에 389±57(pg/ml)로 대조군에 비하여 최종 20주에서 혈중 IL-6 수치가 약 39.8% 감소하였다(Fig. 1B)

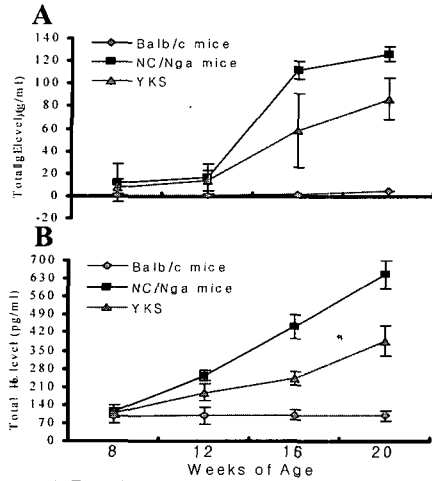


Fig. 1. Serum IgE and IL-6 elevation and development of dermatitis in NC/Nga mice. NC/Nga mice was followed by the administration of YKS extract(294mg/kg, p.o) for 6 weeks. Blood was collected from the retro-orbital plexus under ether anesthesia and heparinized immediately thereafter. Plasma samples were obtained by centrifugation and stored at -20°C until use. Total IgE(A) and IL-6(B) levels were measured by a sandwich ELISA using an ELISA kit.

2. 혈청 중 IL-4와 IL-5에 미치는 영향

혈청 중 IL-4 수치를 측정 한 결과, Balb/c는 17.5±5.6(pg/ml), 대조군은 78.3±7.9(pg/ml), 실험군은 43.2±7.2(pg/ml)로 대조군에 비하여 유의성 있게 감소하였고(p<0.01)(Fig. 2A), 혈청 중 IL-5 수치를 측정 한 결과, Balb/c는 48±12.1(pg/ml), 대조군은 250±56(pg/ml), 실험군은 124±31(pg/ml)로 대조군에 비하여 유의성 있게 감소하였다(p<0.05)(Fig. 2B).

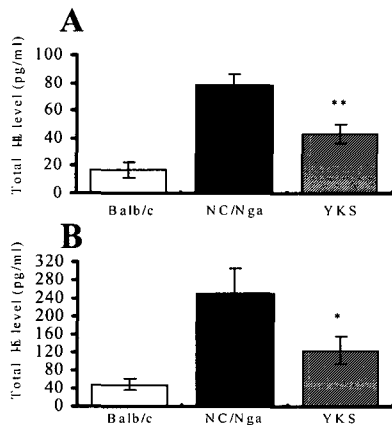


Fig. 2. Serum IL-4 and IL-5 elevation and development of dermatitis in NC/Nga mice. NC/Nga mice was followed by the administration of YKS extract(294mg/kg, p.o) for 6 weeks. Blood was collected from the retro-orbital plexus under ether anesthesia and heparinized immediately thereafter. Plasma samples were obtained by centrifugation and stored at -20°C until use. Total IL-4(A) and IL-5(B) levels were measured by a sandwich ELISA using an ELISA kit. Each point represents the mean ±SE of four mice. Statistically significant value compared with NC/Nga mice group data by T test(*p<0.05, **p<0.01).

3. 혈청 중 IL-13과 IFN-γ에 미치는 영향

혈청 중 IL-13 수치를 측정 한 결과, Balb/c는 35±3.9(pg/ml), 대조군은 2105±365(pg/ml), 실험군은 1020±213(pg/ml)로 대조군에 비하여 유의성 있게 감소하였다(p<0.01)(Fig. 3A). 혈청 중 IFN-γ 수치를 측정 한 결과, Balb/c는 11±3.1(pg/ml), 대조군은 962±363(pg/ml), 실험군은 1362±375(pg/ml)로 대조군에 비하여 증가하였다(Fig. 3B).

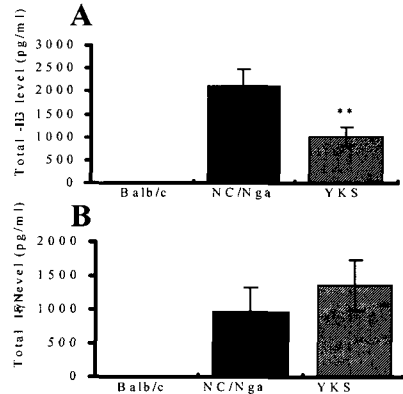


Fig. 3. Serum IL-13 and IFN-γ elevation and development of dermatitis in NC/Nga mice. NC/Nga mice was followed by the administration of YKS extract(294mg/kg, p.o) for 6 weeks. Blood was collected from the retro-orbital plexus under ether anesthesia and heparinized immediately thereafter. Plasma samples were obtained by centrifugation and stored at -20°C until use. Total IL-13(A) and IFN-γ(B) levels were measured by a sandwich ELISA using an ELISA kit. Each point represents the mean ±SE of four mice. Statistically significant value compared with NC/Nga mice group data by T test(*p<0.05, **p<0.01).

4. 안면 피부에서 RT-PCR 분석

실험을 종료하고 안면 부분을 전모한 다음 피부를 박리하여 RT-PCR을 수행 하여 IL-4와 IFN-γ를 측정 한 결과, IL-4 mRNA 발현량(Ht)은 Balb/c는 25(Ht), 대조군은 85(Ht), 실험군은 17(Ht)로 대조군에 비하여 감소하였고, IFN-γ mRNA 발현량(Ht)은 Balb/c는 12(Ht), 대조군은 15(Ht), 실험군은 124(Ht)로 대조군에 비하여 증가하였다(Fig. 4).

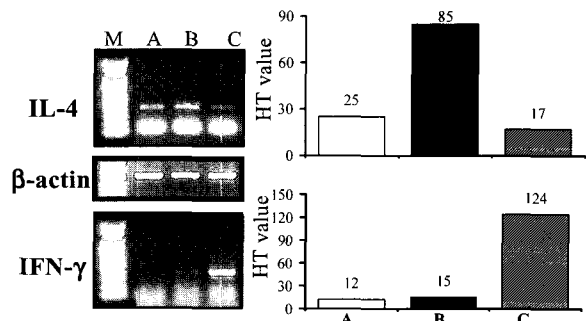


Fig. 4. RT-PCR on facial skin biopsy of atopic dermatitis-like skin lesions in NC/Nga mice. NC/Nga mice was followed by the administration of YKS extract(294mg/kg, p.o) for 6 weeks. At the end of the experiment, the mice skin were biopsy. IL-4 and IFN-γ mRNA express were measured RT-PCR. Amplified obesity mRNA PCR products were electrophoresed on 1.2% agarose gel and internal control (β-actin) and the analysis (Ht) was used to 1D-density program and the other methods for assay were performed as described in Materials and Methods. Normal Balb/c skin(A), NC/Nga mice skin control(B), NC/Nga mice + YKS extract(C, 294mg/kg).

5. 귀 피부의 조직검사

실험 종료 후 귀 일부를 절단한 후 H&E 염색을 하여 귀 조직을 분석한 결과, 정상군(A, B)은 epidermis, dermis, bone이 ×100에서 관찰되었고, 대조군(C)은 ×100에서 epidermis와 dermis가 부종으로 현저하게 확장되었고 leucocytes의 침윤도 보이고 있다. 실험군(D)은 대조군에 비하여 epidermis와 dermis의 두께도 현저하게 줄었고, 거의 leucocytes의 침윤은 보이지 않아 부종이 거의 사라진 것을 알 수 있다(Fig. 5).

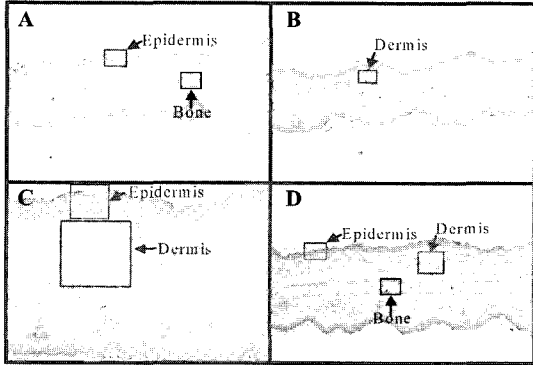


Fig. 5. Histologic features of ear lesion in NC/Nga mice. NC/Nga mice was followed by the administration of YKS extract(294mg/kg, p.o, D) for 6 weeks. Mouse ear biopsy were stained with hematoxylin and eosin(H&E). Nc/Nga control(C), and normal Balb/c ear(A and B). Bright microscop(Nikon, Japan, Magnification, ×100).

6. 피부의 조직검사

실험 종료 후 피부 일부를 박리한 후 H&E 염색을 하여 skin 조직을 분석한 결과, 정상군(A, B)은 epidermis, dermis, baseline 이 ×100에서 관찰되었고, 대조군(C)은 ×100에서 epidermis가 dermis쪽으로 두껍게 내려가 현저하게 확장되어 피부 부종과 염증 많이 진행된 것을 알 수 있었으며 leucocytes의 침윤도 많이 보이고 있다. 실험군(D)은 대조군에 비하여 epidermis의 두께도 현저하게 줄었고, leucocytes의 침윤은 보이고 있지만 부종은 거의 사라진 것을 알 수 있다(Fig. 6).

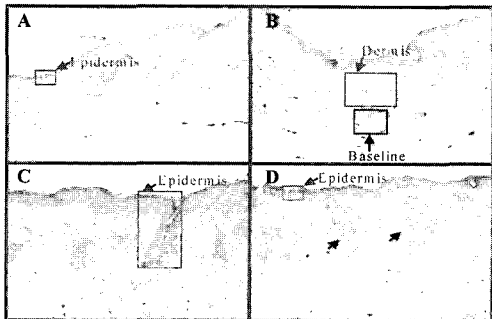


Fig. 6. Histologic features of skin lesion in NC/Nga mice. NC/Nga mice was followed by the administration of YKS extract(294mg/kg, p.o, D) for 6 weeks. Mouse Skin biopsy were stained with hematoxylin and eosin(H&E). Normal Balb/c ear(A and B) and Nc/Nga control(C). Bright microscop(Nikon, Japan, Magnification, ×100).

7. Lymphokine assay

IL-4 분비량을 측정된 결과, 대조군은 57.4±0.5(pg/ml), 실험

군은 24.3±2.3(pg/ml)로 대조군에 비하여 감소하였다. IFN-γ 분비량을 측정된 결과, 대조군은 107.9±2.15(pg/ml), 실험군은 128.9±2.0(pg/ml)로 대조군에 비하여 증가하였다(Fig. 7).

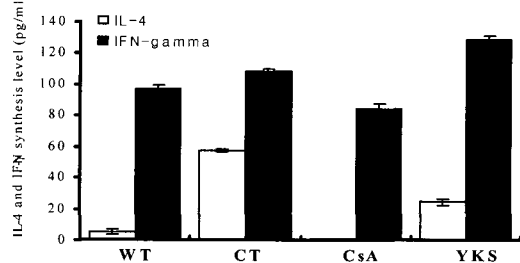


Fig. 7. IL-4 synthesis by splenocytes from YKS extract mice is suppressed. Splenocytes from C57BL/6 mice at 8 weeks of age were stimulated with anti-CD3(1mg/ml) plus anti-CD28(1mg/ml) antibody for 48hrs. IL-4 and IFN-γ in the culture supernatants was measured by ELISA. WT : Normal C57BL/6 mice CT : anti-CD3(1mg/ml) plus anti-CD28(1mg/ml) antibody coated plate. CsA: anti-CD3 plus anti-CD28 plus cyclosporin A(10mg/ml) YKS: anti-CD3 plus anti-CD28 plus YKS extract(100mg/ml)

고찰

대개 소아의 병은 太半은 胎毒으로 일어나고, 少半은 內傷乳食으로 병이 되며, 그 밖에 약간이 外感風寒傷이라고 하였는데¹²⁾, 태독질환 중에서 가장 빈도가 많은 태열은 많은 환자들에게서 만성화 되면서 아토피로 전이되어 가는 경향이 있다.

아토피 피부염은 한의학적으로 乳癬, 胎癬, 奶癬, 胎數瘡 등의 범위에 속하는 것으로 볼 수 있는데²⁾, 그 원인으로 《醫宗金鑑》¹³⁾에서는 胎中血熱 및 誤用浣洗로 보았고, 巢氏¹⁴⁾는 乳汁이 兒面에 潰汚해 생긴다 했으며, 《外科正宗》¹⁵⁾에서는 “兒가 胎中에 있을 때 母食五辛하고 父餐炙燻하여 遺熱이 與兒하면 生後에 奶癬이 된다”고 하였으며, 《東醫寶鑑》¹⁶⁾에서는 胎中受熱이라 하였고, 《壽世保元》¹⁷⁾에서는 “母孕時 食熱毒之物過多”라 하였고, 《幼幼集成》¹⁸⁾에서는 “母娠時會食辛熱炙燻之物 或患熱病失于清解하여 使兒受之한다”고 하였으며, 《中醫兒科學》¹⁹⁾에서는 “總不離 胎毒受風”이라 한 것으로 미루어 先天과 後天 모두의 원인으로 인식하고 있음을 알 수 있다.

連翹散¹³⁾은 晴崗醫監의 소아질환 중 태열 태독을 치료하는 처방으로 제시된 것인데, 連翹, 牛蒡子, 葛根, 甘草, 生薑 각 4g으로 구성되어 있다¹²⁾.

본 처방은 氣血이 未充하고 形質이 柔弱하여 함부로 峻強한 약을 쓰기 어려운 소아의 특성에 맞는 단순한 약재로 구성되어 있어, 생후 2개월에서 2세까지의 습진의 양상을 띄어 가슴, 얼굴, 두피, 목, 사지의 신전부위에 홍반 및 삼출, 황색의 가피가 형성되고, 심한 경우는 감염 및 진물이 흐르는 아토피의 치료에 응용될 수 있는 처방이다.

連翹散 개별약물의 효능을 살펴보면, 連翹는 苦, 微寒하여 清熱解毒하며 消腫散結하는 효능이 있어 癰疽 단독 등의 증상을 치료하는 聖藥이며²⁰⁾, 李時珍은 《本草綱目》에서 “連翹는 狀이 사람의 心臟과 같아 少陰心經, 厥陰心包絡氣分の 主藥이 된다. 모든 痛痒瘡瘍이 心火에 속하므로 十二經 瘡家の 聖藥이 된다.”고 하였다²¹⁾. 牛蒡子は 辛苦, 寒하여 消散風熱하며 解毒하는 效

能이 있어 上焦 肺 胃로 들어가 顔面部와 咽喉部쪽의 炎症疾患을 治療하는 作用이 強하며²⁰, 天地 清陽의 氣를 품고, 升하는 기운이 많으며, 上焦의 風熱을 疏散하고, 經絡의 壅滯를 透發하며 散風, 除熱, 解毒, 消腫의 要藥이 된다고 하였으며²¹, 葛根은 甘辛, 平하여 升陽解肌하며 透疹하는 效能으로 肌表에 邪氣가 鬱滯하여 생기는 症狀에 應用하고²⁰, 生薑은 辛甘, 氣溫하여 溫經散寒하며²², 甘草는 甘, 平하여 解毒하는 效能으로 瘡瘍腫毒을 治療한다²⁰.

그러므로 連翹散은 清熱解毒, 消腫散結, 消散風熱, 解肌透疹하여 염증질환을 치료하는 효과가 있는데, 連翹와 牛蒡子의 消腫解毒하는 효능으로 치료하되 甘草와 葛根의 平한 성질로 약이 과급한 것을 방지하여 기혈이 미숙한 소아에게 적합한 처방으로 임상에서 활용 가능하나, 현재까지 連翹散에 관한 연구가 거의 없어서 채택하게 되었다.

최근의 아토피에 대한 연구 경향을 보면, 면역학적 관점이 주류를 이루는데, 이⁴ 등의 소아 아토피성 천식 및 피부염에서 Anti-IgE 자가항체의 양성을 및 특성, 이⁵ 등의 아토피성 천식환아에서 혈청 총 IgE치 피부시험 및 항원특이 IgE 항체의 연관성에 관한 연구, 이⁶의 아토피 피부염의 중증도와 혈청 IgE 및 IFN- γ 에 관한 연구 등이 있으며, 체질에 관한 연구도 활발하게 이루어지고 있어, 구⁷의 아토피 피부염 치료에 관한 사상학적인 임상연구, 김⁸ 등의 사상체질과 아토피성 질환 유전자의 다형성(IL-4 polymorphism)에 관한 연관성 연구, 김 등⁹의 사상체질검사를 통한 성인형 아토피 피부염 환자의 예후에 대한 임상적 고찰 등이 있다. 또한 아토피의 유형분류에 대한 시도로 윤 등²³의 아토피 피부염 환자에 대한 임상적 연구 및 한의학적인 임상유형분류, 박 등²⁴의 아토피 환자의 식이요법 및 외용요법의 조사와 체질별 적용 등이 있다. 치료법에 관한 연구로는 김 등¹⁰의 加味生料四物湯의 항염증 효과와 止痒膏의 아토피 피부염 손상 및 지양 효과에 미치는 영향, 정 등¹¹의 加味熱多寒少湯 투여 후 아토피 피부염 환자의 임상상 변화에 대한 연구 등이 있으며, 신 등²⁵의 仙方敗毒湯이 아토피피부염환자 단핵세포의 Cytokine 분비능에 미치는 영향 등이 있으며, 최근에는 외치법에 관한 연구들이 증가하는 추세로, 한 등²⁶의 외용 요법을 병행한 아토피 피부염 환자 20례에 대한 임상적 연구, 박 등²⁷의 아토피 피부염의 중의 외치법 고찰, 정 등²⁸의 소양증의 외치법에 관한 고찰, 등이 있다.

또한 임상적 연구도 활발한데, 권 등²⁹의 아토피피부염 환자 20명에 대한 임상적 고찰과 ECP의 변화 및 남 등³⁰의 아토피 피부염에 대한 임상적 연구, 이 등³¹의 아토피 피부염 환자 67명에 대한 임상적 고찰 등이 있다.

아토피는 유전적으로 IgE 항체 반응을 쉽게 일으키는 소인을 가지고 있음을 뜻하며, 서양의학에서 임상적으로는 흔한 흡입성 항원에 대한 피부단자 시험상의 양성인 경우로 정의 한다.

서양의학적으로도 아토피 피부염은 제 I 형 알레르기 반응기전에 의한 아토피 질환의 하나로 구분되면서도 다른 알레르기 질환과는 달리 정확한 병인이 밝혀져 있지 않으며, 병인에 알레르기 기전이 얼마나 관여하는 가에 대하여서도 논란이 많다³². 그러나 대부분의 아토피 피부염 환자의 80~85%에서 혈청 총 IgE

수치가 상승되어 있고³³, 대부분 환자에게서 세포매개성 면역의 이상이 동반되어 있다³⁴.

알레르기 질환의 발생과정은 크게 초기반응과 후기 반응으로 구분되는데, 초기반응은 항원의 자극에 의해 항체(IgE)가 생산된 후 항체가 비만세포(mast cell) 표면의 high affinity receptor(Fc ϵ RI)에 결합하였을 때 항원이 재침입하면 Fc ϵ RI와 결합하고 있는 항체(IgE)와 결합하여 비만세포 내로 신호를 빠르게 전달하여 알레르기를 일으키는 화학적 매개물질(inflammatory chemical mediator ; cytokine, histamine, leukotrienes)을 분비하게 된다.

그 결과 알레르기 증상의 대부분은 비만세포나 호산구가 분비하는 histamine 등의 염증반응 매개물질에 의해 기도, 피부 등의 상피세포 주변의 모세혈관의 확장, 면역 세포의 유입, 근육의 수축과 점액 분비물의 증가에 따른 가려움증, 부종, 충혈, 기침, 가래 등의 임상적 증상으로 나타난다³⁵. 인체의 면역체계는 T세포의 활성화를 중심으로 이루어지는데, T세포에 의해 인지되는 항원은 두 종류가 있다. 하나는 세포 안에서 발견되는 endogenous antigen으로서 바이러스가 세포를 감염시킨 후에 감염된 세포에서 생산되고 그것들의 genetic code를 숙주의 DNA에 삽입하여 viral protein(antigen)의 합성을 유도한다. 이러한 viral protein의 절편들은 감염된 세포의 표면에 있는 제1형 주조직 복합체(MHC class I)에 의해 제시되어 CD8⁺ T세포의 항원 수용기에 의해 인식하게 된다. 다른 하나는 세균과 같은 exogenous antigen으로부터 만들어지는 항원으로서, 항원제시 세포에 의해 항원의 식작용이 일어나서 항원이 분해되면, 제2형 주조직 복합체(MHC class II)에 의해 제시되어 CD4⁺ T세포가 인식하게 된다³⁶. 이 때 T세포의 활성화를 완전하게 만들어주는 제2의 신호는 보조자극신호(multiple co stimulatory signals : CD28-B7, LFA-ICAMs 등)를 통하여 전달된다. 만일 T세포의 활성화 과정에 이 신호가 결여되면 T세포는 anergy 상태가 된다. 따라서 TCR을 통한 신호와 보조 자극 신호를 통한 신호전달 과정의 유기적 관계는 Th세포 활성화에 있어서 매우 중요하다. 활성화된 CD4⁺ T세포는 보조 T세포(helper T cell, Th세포)로서 이들 Th세포는 B세포의 항체 생산을 보조하고(Th2), 감염된 대식세포의 활성화를 돕는다(Th1). 이러한 작용은 직접 세포-세포 간 상호 결합에 의해서 또는 cytokine의 분비를 통해서 이루어진다³⁶. Th세포는 IL-2(interleukin-2)를 생산하고, 세포 증식을 시작하게 되는데, 이 과정은 지속적인 항원자극의 도움 없이 cytokine(IL-2, IL-4, IL-7, IL-15 etc)의 자극만을 통해서도 진행된다³⁷. 세포증식의 다음 단계는 분화(differentiation)인데, 분화란 세포의 기능이 결정 지워지는 단계이다. 즉, 활성화된 Th세포는 그들이 분비하는 cytokine의 종류와 분비한 cytokine에 의한 면역 조절기능에 따라 Th1과 Th2, 두 종류의 효력 T세포(effector CD4⁺ T cell)로 분화하게 된다. 이렇게 분화된 효력 Th1세포는 IFN- γ , IL-12와 같은 Th type 1 cytokine(Th1 cytokine ; proinflammatory cytokine)을 생산하여 면역반응에 관여한다. 이와는 달리 효력 Th2세포는 IL-4, 5, 9, 10, 13 등과 같은 Th type 2 cytokine(Th2 cytokine : antiinflammatory cytokine)을 생산하

여 면역반응(humoral immunity)에 관여한다³⁸⁾.

이처럼 Th1세포가 생산하는 Th type 1 cytokine은 Th1세포의 분화를 유도하는 반면 Th2세포의 증식과 분화를 억제하며, 반대로 Th2세포가 생산하는 Th type 2 cytokine은 Th2세포의 증식과 분화를 유도하는 반면 Th1세포의 분화를 억제하는 식으로 서로 상호억제를 통해 균형을 이루며 Th1과 Th2 면역반응을 조절하므로, 이 균형이 깨어지게 되면 Th1/Th2 불균형으로 인한 여러 가지 면역질환을 겪게 된다³⁹⁾. 알레르기 질환도 그 균형이 Th2 쪽으로 치우친 결과로 유발된 면역 질환 중의 하나이다. 이렇듯, 알레르기 발생과 조절에 있어 가장 중요한 세포는 Th2세포로, 알레르기는 항체의 isotype을 IgM 또는 IgG에서 IgE로 바꾸어주는 Th2세포가 활성화되면서 시작되며, Th2세포가 생산하는 Th type 2 cytokine(IL-4, IL-10 etc)에 의해서 B 세포의 IgE 생산, 호산구의 활성화, 염증반응 등을 나타낸다⁴⁰⁾.

IL-4, IL-5, IL-13은 알레르기 반응에서 Th2에서 분비되는 물질이며, Th1세포에서 분비되는 IFN- γ 는 알레르기 반응을 일으키는 Th2세포를 억제하고 IgE 생산을 증가시키는 B세포 분화를 억제하는 것으로 알려진 싸이토키닌인데, 혈청의 IL-4, IL-5, IL-13 및 IFN- γ 의 변화를 측정하고, 최종 20주령에서 혈청 중 total IL-4 수치는 유의성 있는 감소를 나타내었으며, total IL-5 수치는 대조군에 비하여 유의성 있는 감소를 나타내었다(Fig. 2).

혈청 중 total IL-13 수치는 대조군에 비하여 유의성 있는 감소를 나타내었으며 total IFN- γ 수치는 대조군에 비하여 29.4% 증가를 나타내었다(Fig. 3).

이상의 실험에서(Fig. 2,3) 連翹散 추출물은 NC/Nga mice의 Th2에서 분비되는 IL-4, IL-5, IL-13을 감소시키며, Th1세포에서 분비되는 IFN- γ 를 증가시켜 알러지 반응을 억제하였다.

얼굴 부분 피부의 T세포 침윤을 Th1과 Th2세포에서 분비되는 IL-4와 IFN- γ 를 이용하여 측정하고, 결과 IL-4 mRNA 발현량이 連翹散 추출물을 투여한 실험군에서는 대조군에 비하여 감소하였고, IFN- γ mRNA 발현량은 대조군에 비하여 증가하였는데(Fig. 4), 이러한 결과는 Th1과 Th2세포의 불균형으로 초래된 아토피 피부염에서 Th2세포에서 Th1세포로 이동될 수 있음을 나타내는 결과이다. 실험 동물의 귀 조직을 분석한 결과 NC/Nga mice에서는 epidermis와 dermis가 부종으로 현저하게 확장되었으며, leucocytes의 침윤도 보였지만, 連翹散 추출물 투여군에는 대조군에 비하여 epidermis와 dermis의 두께도 현저하게 감소하고, leucocytes의 침윤도 보이지 않아 부종이 거의 사라진 것을 알 수 있었다(Fig. 5).

실험 동물의 일반 피부 조직을 분석한 결과로는 NC/Nga mice는 epidermis가 dermis쪽으로 두껍게 내려가 현저하게 확장되어 피부 염증이 심화되었으며, leucocytes의 침윤도 많이 보이고 있었으나, 連翹散 추출물 실험군은 대조군에 비하여 epidermis의 두께도 현저하게 줄었고, leucocytes의 침윤은 보이고 있지만 부종은 거의 사라진 것을 알 수 있다(Fig. 6).

비장을 적출한 후 T세포만 순수 분리하여 Th2세포와 Th1세포에서 분비되는 IL-4와 IFN- γ 의 분비량을 측정하여 連翹散 추출물이 Th2세포에서 Th1세포로 이동 시키는지 관찰한 결과, 실

험군에서는 IL-4가 2배 이상 감소를 나타내었으며, IFN- γ 분비량은 실험군에서는 증가를 나타내었다(Fig. 7). 이러한 결과는 Th1세포에서 분비되는 IFN- γ 가 連翹散 추출물에 의하여 증가되어 알레르기 면역반응에 관여하는 Th2세포를 억제하여 Th2세포에서 Th1세포로 이동 시키는 것을 보여주고 있다.

이상의 실험 결과를 총괄하면, 連翹散 추출물은 IL-4, IL-5 등을 억제하며, 동시에 IFN- γ 를 증가시키는 효능을 가지므로, Th1과 Th2의 면역반응의 균형이 깨어지면서 발생하는 여러 면역 질환에 사용 가능하며, 특히 국소 피부 조직의 병리적 변화를 회복시켜 아토피 피부염에도 사용 가능하여, 항알레르기 및 항아토피 제제로의 가능성이 있을 것으로 사료된다.

결론

連翹散이 아토피 피부염의 억제에 미치는 영향에 대해 다음과 같은 결론을 얻었다.

連翹散 추출물은 혈청의 IgE와 IL-6 함유량을 유의성 있게 감소시켰다. 連翹散 추출물은 Th1 세포에서 분비되는 IFN- γ 의 생산량을 유의성있게 증가시켰다. 連翹散 추출물은 RT-PCR 분석결과 피부에서 IL-4, IL-5, CCR3의 감소와 IFN- γ 의 증가를 가져왔다. 連翹散 추출물은 ear 및 skin 조직에서 epidermis와 dermis의 염증 정도와 침윤된 염증면역세포 등을 유의성있게 감소시켰다. 連翹散 추출물은 Lymphokine Assay에서 IFN- γ 의 분비량을 증가시켜 IL-4의 분비량을 유의성있게 감소시킴으로 Th2 세포에서 Th1 세포로 이동시켰다.

참고문헌

1. 안성구, 이승헌, 박윤기. 흔히 보는 피부질환. 서울:교려의학. 6-8, 1996.
2. 공남미, 지선영. 아토피피부염의 양한방적 고찰. 대한외과과학회지. (1):241-253, 1991.
3. 강원형. 피부질환 아틀라스. 서울:한미의학. 71-78, 2001.
4. 이기영 외 4명. 소아 아토피성 천식 및 피부염에서 Anti-IgE 자가항체의 양성을 및 특성. 대한알레르기학회지. 14(2):218-226, 1994.
5. 이명현, 정진화, 고영률, 김창근. 아토피성 천식환아에서 혈청 총 IgE 치, 피부시험 및 항원특이 IgE 항체의 연관성에 관한 연구. 대한알레르기학회 춘계학술대회 초록집. 123, 1998.
6. 이주홍. 아토피 피부염의 중증도와 혈청 IgE 및 IEN- γ 에 관한 연구. 대한피부과학회지. 39(10):1067-1071, 2001.
7. 구덕모. 아토피 피부염 치료에 관한 사상의학적 임상연구. 사상의학회지. 14(2):69-77, 2002.
8. 김선형 외 6명. 사상체질과 아토피성 질환 유전자의 다형성(IL-4 polymorphism)에 관한 연관성 연구. 사상의학회지. 14(2):98-105, 2002.
9. 김남권, 문상돈. 사상체질검사를 통한 성인형 아토피 피부염 환자의 예후에 대한 임상적 고찰. 동의생리병리학회지. 15(6):1029-1033, 1999.

10. 김정진, 양성완, 손낙원, 안규석: 加味生料四物湯의 항염증효과와 지양고의 아토피 피부염 손상 및 지양효과에 미치는 영향. 동의생리병리학회지. 17(2):428-435, 2003.
11. 정환수, 이진용. 가미열다한소탕 투여후 아토피 피부염 환자의 임상상 변화에 대한 연구. 소아과학회지. 15(2):177-188, 2001.
12. 金永勳. 晴崗醫鑑. 서울:성보사. 438-440, 1984.
13. 吳謙外. 醫宗金鑑(下冊). 北京: 人民衛生出版. 443-444, 1982.
14. 巢元方. 諸病源候論. 中國: 大城出版社. 1135, 1980.
15. 陳實功. 外科正宗. 北京: 人民衛生出版社. 269, 1964.
16. 許浚. 東醫寶鑑. 서울: 南山堂. 648, 1986.
17. 龔廷賢. 壽世保元. 서울: 裕昌德書店. 279, 1961.
18. 陳復正. 幼幼集成. 上海科學技術出版社. 50-55, 1978.
19. 湖北中醫院. 中醫兒科學. 北京: 人民衛生出版社. 645, 1984.
20. 전국 한의과 대학 본초학교수 공편저. 本草學. 서울: 영림사. p 144, 148, 220, 540, 1991.
21. 申佶求. 신씨본초학. 서울: 수문사. 665, 1998.
22. 대전대학교 제9기 졸업준비위원회. 國譯 湯液本草. 서울: 대성문화사. 320, 1996.
23. 윤화정, 고우신. 아토피 피부염 환자에 대한 임상적 연구 및 한의학적인 임상유형분류. 한의학회지. 22(2):10-21, 2001.
24. 박지수, 김윤희. 아토피 환자의 식이요법 및 외용요법의 조사와 체질별 적용. 대한한방알레르기 및 면역학회 자료집. 1:29-56, 2004.
25. 신동길, 김우연, 이진용, 김덕곤. 선방패독탕이 아토피피부염 환자 단핵세포의 Cytokine 분비능에 미치는 영향. 대한한방알레르기 및 면역학회 자료집. 1:93-110, 2003.
26. 한재경, 김윤희. 외용요법을 병행한 아토피 피부염 환자 20명에 대한 임상적 연구. 대한한방소아과학회지. 15(1):15-38, 2001.
27. 박혜선, 지선영, 구덕모. 아토피 피부염의 중의 외치법 고찰. 외관과학회지. 14(1):32-41, 2001.
28. 정진영, 김윤범. 소양증의 외치법에 관한 고찰. 대한한방알레르기 및 면역학회 자료집. 1:65-92, 2003.
29. 권미원, 이해자, 박은정, 황우중. 아토피 피부염 환자 20명에 대한 임상적 고찰과 ECP의 변화. 소아과학회지. 14(2):121-132, 2000.
30. 남봉수, 조재훈, 김윤범, 채병윤. 아토피 피부염에 대한 임상적 연구. 한의학회지. 21(4):204-215, 2000.
31. 이진용, 김덕곤. 아토피 피부염 환자 67명에 대한 임상적 고찰. 소아과학회지. 13(2):171-186, 1999.
32. 殷熙哲. 피부면역학. 서울: 서울대학교출판부. 27-34, 1999.
33. 이혜란. 아토피 피부염. 소아과학회지. 43(9):116-1167, 2000.
34. 康晳榮. 알레르기 질환의 진단과 치료. 서울: 일조각. 241-252, 1995.
35. Barnes, P.J. New direction in allergic diseases : mechanism-based anti-inflammatory therapies, J. Allergy Clin Immunol. 106:5-18, 1999.
36. Swain, S.L. Helper T cell differentiation, Current Opinion in Immunology 11:180-185, 1999.
37. Szabo, S.J., Sullivan, B.M., Stemmann, C. et al. Distinct effects of T-bet in TH1 lineage commitment and IFN- γ production in CD4 and CD8 T cells. Science. 295:338-342, 2002.
38. Toda, M. and Ono, S.J. Genomics and proteomics of allergic disease. Immunology 106:1-10, 2002.
39. Vogel, G. Missing gene takes mice's breath away. Science. 295:253, 2002.
40. Foy, T.M., D.M. Shepherd, F.H., Durie, A., Aruffo, J.A., Ledbetter, and R.J. Noelle. In vivo CD40-gp39 interactions are essential for thymusdependent humoral immunity. II. Prolonged suppression of the humoral immune response by an antibody to the ligand for CD40, CD39. J. Exp. Med. 178:1567, 1993.