

아토피 피부염에 대한 황토가미방과 外治方 兼用에 관한 研究

김선빈·최학주·김동희*

Combinational Treatment of Oral Hwangtogamibang and External spray on Atopic Dermatitis

Gim Seon-bin, Choi Hak-joo, Kim Dong-hee

Department of Oriental Pathology, College of Oriental Medicine, Daejeon University

The effect of combinational treatment of oral HTGMB and topical CSGMB ("H&C" hereinafter) on the changes of dermal inflammation index and immune system were studied using NC/Nga atopic dermatitis animal model.

1. Through naked eye examination, H&C ameliorated atopic dermatitis compared to the control group. Significant reduction of dermal inflammation index was observed after 12 weeks of treatment.

2. The H&C treated group showed 51% increase in the number of immune cells in DLN, and 59% increase in the number of immune cells in dorsal skin.

3. The H&C treated group showed decrease of 26%, 8%, 59% in CD19+, CD3+/CD69+, B220+/IgE+ cells in DLN respectively. On the other hand, CD3+, CD8+, CD4+ cells were increased by 8%, 31%, 12%, respectively.

4. The H&C treated group showed significant decrease of 38% and 47% in B220+/IgE+, CD11b+/Gr-1+ cells within dorsal skin respectively. Also, a decrease in CCR3+ cells by 21% was observed.

5. Significant decrease of the production of IL-4, IL-5, GM-CSF by 39%, 65%, 60% respectively, in spleen cells activated with CD3 and CD28 were observed in the H&C treated group.

The results above strongly suggest significance of anti-atopic dermatitis effect of combinational treatment of oral HTGMB and topical CSGMB through immune modulation. Further applications in clinical use of the treatment are anticipated.

Key words : Hwangtogamibang, Atopic Dermatitis.

I. 緒 論

아토피 피부염(AD)은 습진, 알레르기성 습진, IgE 피부염 등으로 불리며^{1, 2)}, 홍반, 부종, 소양증, 삼출과 인설을 특징으로 하는 만성 피부질환³⁻⁵⁾이다.

* 대전대학교 한의과대학 병리학교실
· 교신저자 : 김동희 · E-mail : dhkim@dju.kr

최근 환경 변화에 의한 다양한 자극 물질의 증가와 더불어 모유 수유 감소 등으로 인하여 초등 학교 어린이의 30% 이상이 이로 인하여 고통을 겪는 것으로 나타나고 있다. 2005년 보건복지부 자료⁶⁾에 의하면 인구 1,000명당 아토피 피부염 유병률이 2001년에는 12.0명, 2005년에는 91.4명으로, 661%의 증가율을 나타냄으로써 사회적 문제가 되고 있음을 보고하였다.

아토피피부염의 발병은 유전적, 환경적, 면역학적 요인 등 다양한 원인의 복합적인 결과로 인식되고 있어⁷⁻⁹⁾ 치료에 있어 다양한 접근이 이루어지고 있다. 이러한 복잡한 병리 기전으로 인하여 확실한 원인 규명이 어렵기에 양방적인 치료는 히스타민의 유리를 억제하는 항히스타민제, 염증 반응을 감소시키는 면역억제제 그리고 부신피질 호르몬제인 스테로이드제 등을 이용한 대증 치료가 주를 이루고 있다^{10, 11)}.

한의학에서도 아토피피부염은 虛實錯雜의 복잡한 병기를 형성함으로써 병인, 병기에 따라 辨證施治가 이루어지고 있으며¹²⁻¹⁵⁾, 특히 ‘肺主皮毛’, ‘脾主濕’, ‘諸痛痒瘡 皆屬於心’ 등의 이론에 준하여 이들 장부 기능 회복과 2차적 병리적 과정 중에 발생한 독성 물질 제거를 목표로 전문화된 한의원에서 다양한 임상적 연구가 진행되고 있다.

아울러 보다 유의성 있는 치료제 개발을 위한 실험 연구도 줄곧 진행되어 현재 수종의 단일 약재¹⁶⁻¹⁸⁾와 복합 처방¹⁹⁻²²⁾의 항아토피 효능이 객관적으로 규명된 바가 있다. 최근에는 고방 피부 치료 처방에 대한 검색을 넘어 다년간 임상에서 개발된 처방에 대한 검색과 사장되어가던 외치에 대한 연구^{23, 24)}가 동물 병태 모델을 통하여 활발하게 이루어지고 있다.

본 시료인 황토가미방과 외치방인 청삼가미방 역시 임상 활용방으로, 구성 약물중 대부분은 이미 항알러지 혹은 항염증 효능이 실험적으로 보고²⁵⁻³⁰⁾된 바가 있고, 피부 제 질환에 활용되고 있는 약물로 구성되어 있다.

이에 본 연구에서는 객관적인 효능 검증을 통하여 임상 활용 근거를 제시하고, 내외치 병용 처

리에 대한 치료 효과를 밝힘으로써 내치에 한정되어 있는 한의학적 치료 영역을 확대하는데, 기초적 자료를 제공하고자 하였다.

실험은 NC/Nga 생쥐에 HDM이 함유된 Biostir AD 연고를 도포함으로써 인간 병증과 유사한 AD 병태를 유발한 후 내치방인 황토가미방 (HTGMB)과 외치방인 청삼가미방(CSGMB) 겸용 처치가 피부염 지수, DLN과 배부피부 내 면역세포 및 비장세포 내 사이토카인에 미치는 영향을 검색하였다.

II. 實 驗

1. 재료

1) 동물

실험동물인 수컷 6주령의 NC/Nga mice는 중앙실험동물에서 공급 받아 실험 당일까지 고품사료 (항생제 무첨가, 삼양사료 Co., Korea)와 물을 충분히 공급하고 온도 $22 \pm 2^\circ\text{C}$, 습도 $55 \pm 15\%$, 12시간-12시간 (light-dark cycle)의 환경에서 2주간 적응시킨 후 실험에 사용하였다.

2) 약물

본 실험에 사용한 內治方인 HTGMB과 外治方인 CSGMB의 구성 약재 중 청매는 경남 초록매실농장, 붕어는 청호농산, 청삼은 당진농업기술센터, 주정은 대한주정관매(주)에서 구입하였고, 기타 나머지 약재들은 대전대학교 부속한방병원에서 구입한 후 정선하여 사용하였으며, 그 내용과 분량은 다음과 같다. (Table 1, Table 2)

Table 1. The Prescription of HTGMB (1첩) (內治方)

韓藥名	生藥名	用量
鯽魚	Carassius auratus	20g
水參	Ginseng Radix	20g
黃土	Loess	10g
昆布	Laminariae Thallus	4g
紫草	Lithospermi Radix	4g
桔梗	Platycodi Radix	4g
魚腥草	Houttuyniae Herba	4g
蛇莓	Duchesnea Chrysantha	4g
枳殼	Aurantii Fructus	2g
生薑	Zingiberis Rhizoma Crudus	2g
酒精		2ml
Total amount		74g

Table 2. The Prescription of CSGMB (1첩) (外治方)

韓藥名	生藥名	用量 (g)
魚腥草	Houttuyniae Herba	8
蛇莓	Duchesnea Indica	8
紫草	Lithospermi Radix	8
大 麻	Cannabis sativa L	8
苦 參	Sophorae Radix	6
蕎 麥	Fagopyrum esculentum Moench	6
石 膏	Gypsum	6
松 脂	Resina Pini	6
青 梅	Mume Fructus	6
沙 參	Adenophorae Radix	6
白鮮皮	Dictamni Radicis Cortex	6
地膚子	Kochiae Fructus	6
Total amount		80

3) 시약

본 실험에 사용된 시약 중 collagenase, trypsin-EDTA, acetic acid, tris-base, tris-HCl, paraformaldehyde, dulbecco's phosphate buffered saline (D-PBS) 등은 Sigma사 (USA) 제품을 사용하였으며, 우태아혈

청 (fetal bovine serum, FBS)은 Hyclone사 (USA) 제품을, DMEM은 Gibco사 (USA) 제품을, Protopic Ointment 0.1%는 Astellas Pharma Manufacturing사 (USA) 제품을, Biostir AD는 Biostir사 (Japan) 제품을, anti-CD19-FITC, anti-CD3-PE, anti-CD8-FITC, anti-CD4-FITC, anti-CD69-FITC, anti-B220-PE, anti-IgE-FITC, anti-CCR3-PE, anti-CD11b-FITC, anti-Gr-1-PE 등은 BD-Pharmingen사 (USA) 제품을, IL-4, IL-5, GM-CSF ELISA kit는 Biosource사 (USA) 제품을, IgE ELISA kit는 Shibayagi사 (Japan) 제품을 구입하여 사용하였으며, 기타 일반 시약은 특급 시약을 사용하였다.

4) 기기

본 실험에 사용된 기기는 황토약탕기 (알파세라믹약탕기, Korea), 감압 증류장치 (Rotary evaporator, Büchi B-480, Switzerland), microwave oven (LG, Korea), freeze dryer (EYELA FDU-540 Co., Japan), CO2 incubator (Forma scientific Co., USA), clean bench (Vision scientific Co., Korea), autoclave (Sanyo Co., Japan), water bath (Vision scientific Co., Korea), plate shaker (Lab-line Co., USA), vortex mixer, heating block (Vision scientific Co., Korea), spectrophotometer (Shimadzu Co., Japan), centrifuge (한일, Korea), deep-freezer (Sanyo Co., Japan), ice-maker (Vision scientific Co., Korea), flow cytometer (Becton Dickinson, USA), Applied Biosystems 7500 Fast Real-Time PCR system (Applied Biosystems, USA), ELISA reader (Molecular Devices Co., USA) 등을 사용하였다.

2. 방법

1) 시료 추출

HTGMB 1제 분량에 물 (맥반석 + 삼다수) 8,

000 ml를 가하여 황토 약탕기에서 3시간 추출하여 얻은 액 중 240 ml를 여과하여, 감압 증류장치로 농축하였다. 농축액을 동결 건조기를 이용하여 완전 건조한 18.0 g을 냉동 보관 (-80°C) 하면서 적당한 농도로 희석하여 사용하였다.

CSGMB은 위와 동일한 방법으로 추출하여 얻은 액을 120 ml씩 파우치로 포장하여 4°C 냉장 보관하면서, 필요량만큼을 여과하여 사용하였다.

2) 피부염 유도

8 주령 NC/Nga 생쥐를 ether로 마취시킨 후 등 부위 및 목 뒷부분을 제모하였다. 제모가 끝나면 VEET 제모크림 100 mg을 동일한 부위에 도포하여 등 부위 남은 잔털을 깨끗이 제거하고 피부의 미세 상처가 치유되도록 24시간 방치하였다. 4% SDS 용액 150 μ l를 스프레이 하고 2~3 시간 정도 완전히 건조시킨 후 Biostir AD연고 100 mg를 도포하였다. 피부염 유발은 주 2회씩 4주 동안 총 8회 도포하였으며, 3주째부터 약물 구강 투여와 분무를 함께 시작하였다.

3) 시료 처리

실험은 4개 그룹으로 나누고 양성대조군은 0.1% Protopic 연고 100 mg를 피부염 유발 부위에 5주간 매일 도포하였으며, HTGMB과 CSGMB 처리군 (이하, H&C로 표기함)은 HTGMB을 7.5 mg/25 g/day의 농도로 경구 투여하고, CSGMB은 약물 : 백반식물을 3 : 1의 비율로 섞어 1일 3회 150 μ l씩 분무를 5주간 병행하였다. 정상군과 대조군은 생리식염수를 위와 동일한 방법으로 시행하였다.

4) 관능 평가

8주, 10주, 12주, 14주에 아토피성 피부염에서 일반적으로 사용되는 임상적 육안 평가법으로 관능평가를 실시하였다. 평가 항목은 홍반 (Erythema), 가려움과 건조 피부 (Pruritus & Dry skin), 부종과 혈종 (Edema & Hematoma), 긁힘 (Excoriation), 태선화 (Lichenification)로 5가지이다. 각각의 항목은 없음 (0), 약함 (1),

중증도 (2), 심함 (3)으로 채점하여 평가한 점수의 총 합으로 나타내었다.

5) 피부와 DLN에서 면역세포 분리

실험 종료 후 Biostir AD 연고로 유발된 NC/Nga 생쥐에서 배부 일정량의 피부 조직을 잘게 chopping 한 후 collagenase 1 mg/ml (in 2% FBS + RPMI1640)을 넣고 37°C shaker (140 rpm, 20min.) 배양기에서 배양하여 상층액을 회수하는 방법으로 4회 반복하였다. 이들 세포들에 ACK 용액 (8.3 g NH₄Cl, 1 g KHCO₃ in 1L of demineralized water + 0.1 mM EDTA)을 실온에서 5분 동안 처리하여 적혈구를 용해시키고, 다시 D-PBS로 2회 세척한 후 cell strainer를 통과 시킨 세포를 0.04% trypan blue로 염색하였다.

DLN 내 총 면역 세포 수 측정은 목과 앞다리 및 뒷다리 안쪽에서 림프절을 떼어 mesh를 통해 분리한 다음, 여기에 ACK 용액 (8.3 g NH₄Cl, 1 g KHCO₃ in 1L of demineralized water + 0.1 mM EDTA)을 가한 후 실온에서 5분 동안 처리하여 적혈구를 용해시키고, 다시 D-PBS로 2회 세척한 후 cell strainer를 통과 시킨 세포를 0.04% trypan blue로 염색하였다.

6) 형광 유세포 분석

분리한 세포를 5×10^5 cells/ml의 농도로 조정 후 4°C에서 면역형광염색을 실시하였다. 각각에 anti-CD19-FITC, anti-CD3-PE, anti-CD8-FITC, anti-CD4-FITC, anti-CD69-FITC, anti-B220-PE, anti-IgE-FITC, anti-CCR3-PE, anti-CD11b-FITC, anti-Gr-1-PE를 넣고 30분간 얼음에서 반응시켰다. 반응 후 3회 이상 인산완충 생리식염수로 수세하고 flow cytometry를 이용하여 측정하였다.

7) CD3/CD28에 의해 활성화된 비장세포 내 사이토카인 생성량 측정

실험 종료 후 비장세포 (1×10^5 cells/well)를 anti-CD28 (1 μ l/ml), anti-CD3 (1 μ l/ml) 항

체를 over night coating 한 후 96-well plate에서 48시간 동안 배양한 후 배양액을 취하여 ELISA kit를 이용하여 IL-4, IL-5, GM-CSF를 측정하였다. 측정방법은 항체를 coating 완충 용액에 희석하여 microwell에 coating한 후 4℃에서 overnight 하였다. 각 well을 3회 washing 완충 용액으로 세척한 후 혈청 (100배 희석)을 100 μ l씩 분주하였다. 이를 1시간 동안 실온에서 방치하고 washing 완충 용액으로 2회 세척한 다음, avidin-HRP conjugated antibody 100 μ l를 처리하고 1시간 실온에서 방치한 후 다시 세척하였다. 여기에 TMB 기질을 100 μ l씩 분주하고 암소에서 30분간 방치한 다음 50 μ l의 stop 용액을 처리하였다. 반응 용액은 ELISA reader 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

8) 통계처리

다양한 실험으로부터 얻은 결과는 mean \pm standard error (S.E.)로 기록하였고, 유의성 검증은 Student's t-test 분석법을 이용하여 결정하였다.

III. 實驗 結果

1. NC/Nga 생쥐의 피부염 지수에 미치는 영향

8주령의 NC/Nga 생쥐를 제모한 후 Biostir AD 연고를 도포하여 피부염을 유발시키면서 10주령부터는 HTGMB 구강 투여와 CSGMB 분무를 동시에 실시하였다(이하 H&C 처리군으로 표기). 피부염 유발 시점인 8주부터 실험 종료 시점인 14주까지 2주 간격으로 피부염의 심화 정도를 관능적 방법에 의하여 측정하였다. Fig. 1은 8주령부터 14주령까지의 대조군과 양성대조군, H&C 처리군의 피부염 유발 정도에 관한 사진으로, 최종 14주령에는 H&C 처리군이 대조군에 비해서 피부염이 현저하게 개선되었다. 피부손상 정도지표(Clinical skin severity score)는 실험이 시작한 시점에서 1.83 ± 0.41 , 10주에는 대조군, 양성대조군, H&C 처리군이 5.83 ± 0.98 ,

5.80 ± 1.10 , 4.83 ± 0.75 , 12주에는 11.40 ± 0.89 , 8.00 ± 0.71 , 7.20 ± 0.84 , 최종 14주에는 10.20 ± 1.10 , 4.20 ± 1.64 , 4.20 ± 0.84 로 나타나 임상적 육안 평가에서 12주부터 대조군에 비하여 유의성(** $p < 0.01$) 있는 감소를 나타내었다 (Fig. 2).



Fig. 1. Comparison of skin manifestation of Control group, Protopic group and H&C group. Atopic dermatitis was induced by Biostir AD treatment in the dorsal skin.

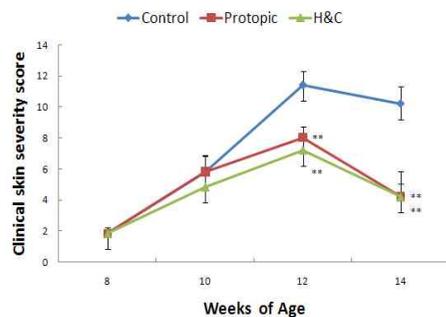


Fig. 2. Effects of H&C on clinical skin features and severity in Biostir AD-induced dermatitis model of NC/Nga mice. Clinical

skin index of dermatitis was defined as the sum of the individual scores graded as 0 (none), 1 (mild), 2 (moderate), 3 (severe) for each of five signs and symptoms (itch, erythema/hemorrhage, edema, excoriation/erosion and scaling/dryness) : Symptoms were evaluated by skin dryness, eruption and wound on the three parts of the body : ear, face and head, and back. Statistically significant value was compared with control group by t-test (**p<0.01).

2. 총 면역세포 수에 미치는 영향

1) DLN 내 총 면역세포 수에 미치는 영향

정상군은 44.5 ± 4.9 (×105), 대조군은 26.5 ± 2.1 (×105), Protopic 처리군은 33.5 ± 2.1 (×105), H&C 처리군은 40.0 ± 1.4 (×105)로 나타나, 대조군에 비하여 유의성 (*p<0.05) 있는 증가를 나타내었다 (Table 3, Fig. 3).

Table 3. Total Cell Number of DLN in Biostir AD-induced NC/Nga Mice

	Normal	Control	Protopic	H&C
Total cell number (×105)	44.5 ± 4.9	26.5 ± 2.1 ⁺	33.5 ± 2.1	40.0 ± 1.4 [*]

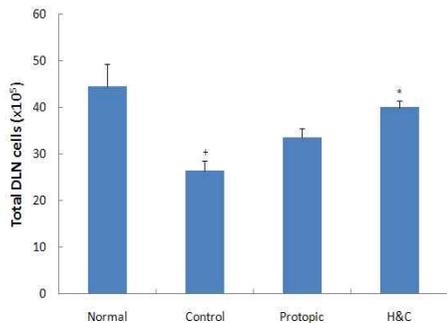


Fig. 3. Effect of H&C extract on total cell number of DLN in Biostir AD-induced dermatitis model of NC/Nga mice. NC/Nga mice model followed by the treatment of H&C (HTGMB administration & CSGMB spray) for 5 weeks. At the end of the experiment, the mice DLN were removed and total cell were measured. The results represent the mean ± S.E. Statistically significant value was calculated by comparing with normal group by student's t-test (+p<0.05). Statistically significant value was calculated by comparing with control group by student's t-test (*p<0.05).

2) Dorsal skin 내 총 면역세포 수에 미치는 영향

정상군은 23.0 ± 5.7 (×104/g), 대조군은 112.0 ± 5.7 (×104/g), Protopic 처리군은 43.0 ± 7.1 (×104/g), H&C 처리군은 46.0 ± 4.2 (×104/g)로 나타나, 대조군에 비하여 유의성 (**p<0.01) 있는 감소를 나타내었다 (Table 4, Fig. 4).

Table 4. Total Cell Number of Dorsal skin in Biostir AD-induced NC/Nga Mice

	Normal	Control	Protopic	H&C
Total cell number (×104/g)	23.0 ± 5.7	112.0 ± 5.7 ⁺⁺	43.0 ± 7.1 ^{**}	46.0 ± 4.2 ^{**}

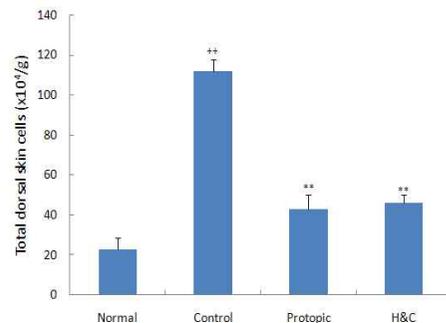


Fig. 4. Effect of H&C extract on total cell number of dorsal skin in Biostir AD-induced dermatitis model of NC/Nga mice. NC/Nga mice model followed by the treatment of H&C (HTGMB administration & CSGMB spray) for 5 weeks. At the end of the experiment, the mice dorsal skin were removed and total cell were measured. The results represent the mean \pm S.E. Statistically significant value was calculated by comparing with normal group by student's t-test ($++p<0.01$). Statistically significant value was calculated by comparing with control group by student's t-test ($**p<0.01$).

3. DLN 내 면역세포 변화에 미치는 영향

1) CD19+ 세포율에 미치는 영향

정상군은 19.62 ± 1.41 (%), 대조군은 29.06 ± 5.40 (%), Protopic 처리군은 21.70 ± 1.36 (%), H&C 처리군은 21.57 ± 1.27 (%)로 나타나, 대조군에 비하여 감소하였다 (Table 5, Fig. 5).

Table 5. Effect of H&C Extract on CD19+ Cell Percent of DLN in Biostir AD-induced NC/Nga Mice

(%)	Normal	Control	Protopic	H&C
CD19+	19.62 ± 1.41	29.06 ± 5.40	21.70 ± 1.36	21.57 ± 1.27

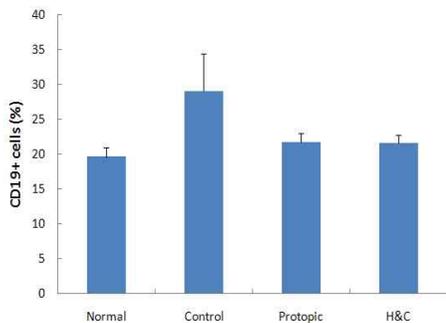


Fig. 5. Effect of H&C extract on CD19+ cell percent of DLN in Biostir AD-induced dermatitis model of NC/Nga mice. NC/Nga mice model followed by the treatment of

H&C (HTGMB administration & CSGMB spray) for 5 weeks. At the end of the experiment, the cells from DLN stained with anti-CD19 and positively stained cells were analyzed by flow cytometry. The results represent the mean \pm S.E.

2) CD3+ 세포율에 미치는 영향

정상군은 78.71 ± 6.59 (%), 대조군은 67.96 ± 5.59 (%), Protopic 처리군은 73.26 ± 1.48 (%), H&C 처리군은 73.31 ± 5.46 (%)로 나타났다 (Table 6, Fig. 6).

Table 6. Effect of H&C Extract on CD3+ Cell Percent of DLN in Biostir AD-induced NC/Nga Mice

(%)	Normal	Control	Protopic	H&C
CD3+	78.71 ± 6.59	67.96 ± 5.59	73.26 ± 1.48	73.31 ± 5.46

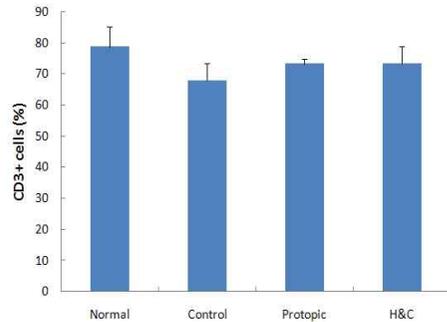


Fig. 6. Effect of H&C extract on CD3+ cell percent of DLN in Biostir AD-induced dermatitis model of NC/Nga mice. NC/Nga mice model followed by the treatment of H&C (HTGMB administration & CSGMB spray) for 5 weeks. At the end of the experiment, the cells from DLN stained with anti-CD3 and positively stained cells were analyzed by flow cytometry. The results represent the mean \pm S.E.

3) CD8+ 세포율에 미치는 영향

정상군은 19.99 ± 0.17 (%), 대조군은 10.81 ± 0.48 (%), Protopic 처리군은 14.24 ± 1.41 (%), H&C 처리군은 14.16 ± 0.04 (%)로 나타나, 대조군에 비하여 유의성 (*p<0.05) 있는 증가를 나타내었다 (Table 7, Fig. 7).

Table 7. Effect of H&C Extract on CD8+ Cell Percent of DLN in Biostir AD-induced NC/Nga Mice

(%)	Normal	Control	Protopic	H&C
CD8+	19.99 ± 0.17	10.81 ± 0.48++	14.24 ± 1.41	14.16 ± 0.04**

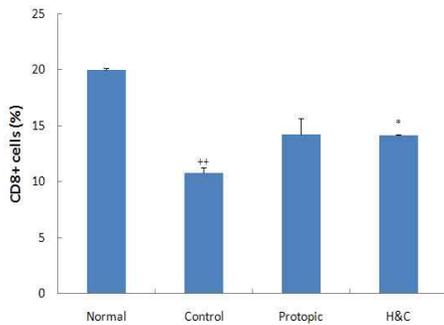


Fig. 7. Effect of H&C extract on CD8+ cell percent of DLN in Biostir AD-induced dermatitis model of NC/Nga mice. NC/Nga mice model followed by the treatment of H&C (HTGMB administration & CSGMB spray) for 5 weeks. At the end of the experiment, the cells from DLN stained with anti-CD8 and positively stained cells were analyzed by flow cytometry. The results represent the mean ± S.E. Statistically significant value was calculated by comparing with normal group by student's t-test (+p<0.01). Statistically significant value was calculated by comparing with control group by student's t-test (*p<0.05).

4) CD4+ 세포율에 미치는 영향

정상군은 31.35 ± 1.23 (%), 대조군은 22.75 ± 2.20 (%), Protopic 처리군은 29.97 ± 0.03 (%), H&C 처리군은 25.49 ± 0.94 (%)로 나타났다 (Table 8, Fig. 8).

Table 8. Effect of H&C Extract on CD4+ Cell Percent of DLN in Biostir AD-induced NC/Nga Mice

(%)	Normal	Control	Protopic	H&C
CD4+	31.35 ± 1.23	22.75 ± 2.20+	29.97 ± 0.03*	25.49 ± 0.94

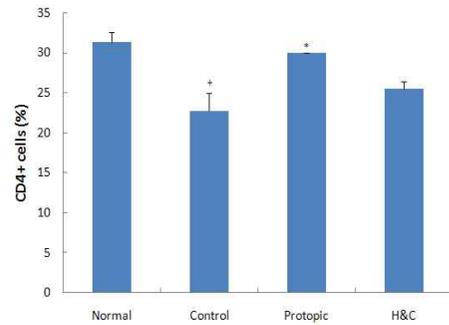


Fig. 8. Effect of H&C extract on CD4+ cell percent of DLN in Biostir AD-induced dermatitis model of NC/Nga mice. NC/Nga mice model followed by the treatment of H&C (HTGMB administration & CSGMB spray) for 5 weeks. At the end of the experiment, the cells from DLN stained with anti-CD4 and positively stained cells were analyzed by flow cytometry. The results represent the mean ± S.E. Statistically significant value was calculated by comparing with normal group by student's t-test (+p<0.05). Statistically significant value was calculated by comparing with control group by student's t-test (*p<0.05).

5) CD3+/CD69+ 세포율에 미치는 영향

정상군은 6.66 ± 0.86 (%), 대조군은 19.27 ± 2.30 (%), Protopic 처리군은 16.58 ± 3.95 (%), H&C 처리군은 17.68 ± 0.99 (%)로 나타났다 (Table 9, Fig. 9).

Table 9. Effect of H&C Extract on CD3+/CD69+ Cell Percent of DLN in Biostir AD-induced NC/Nga Mice

(%)	Normal	Control	Protopic	H&C
CD3+				
/	6.66 ± 0.86	19.27 ± 2.30+	16.58 ± 3.95	17.68 ± 0.99
CD69+				
+	0.86	2.30+	3.95	0.99

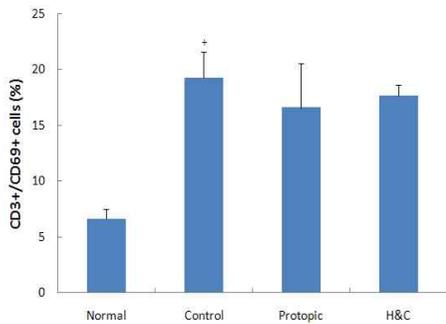


Fig. 9. Effect of H&C extract on CD3+/CD69+ cell percent of DLN in Biostir AD-induced dermatitis model of NC/Nga mice. NC/Nga mice model followed by the treatment of H&C (HTGMB administration & CSGMB spray) for 5 weeks. At the end of the experiment, the cells from DLN stained with anti-CD3 and anti-CD69 and positively stained cells were analyzed by flow cytometry. The results represent the mean ± S.E. Statistically significant value was calculated by comparing with normal group by student's t-test (+p<0.05).

6) B220+/IgE+ 세포율에 미치는 영향

정상군은 0.75 ± 0.04 (%), 대조군은 4.78 ± 1.39 (%), Protopic 처리군은 1.09 ± 0.18 (%), H&C 처리군은 1.96 ± 0.57 (%)로 대조군에 비하여 감소하였다 (Table 10, Fig. 10).

Table 10. Effect of H&C Extract on B220+/IgE+ Cell Percent of DLN in Biostir AD-induced NC/Nga Mice

(%)	Normal	Control	Protopic	H&C
B220+				
/	0.75 ± 0.04	4.78 ± 1.39+	1.09 ± 0.18*	1.96 ± 0.57
IgE+				
+	0.04	1.39+	0.18*	0.57

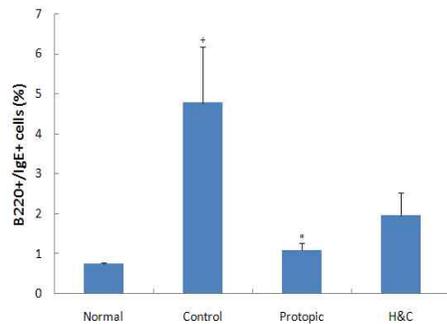


Fig. 10. Effect of H&C extract on B220+/IgE+ cell percent of DLN in Biostir AD-induced dermatitis model of NC/Nga mice. NC/Nga mice model followed by the treatment of H&C (HTGMB administration & CSGMB spray) for 5 weeks. At the end of the experiment, the cells from DLN stained with anti-B220 and anti-IgE and positively stained cells were analyzed by flow cytometry. The results represent the mean ± S.E. Statistically significant value was calculated by comparing with normal group by student's t-test (+p<0.05). Statistically significant value was calculated by comparing with control group by student's t-test (*p<0.05).

4. Dorsal Skin 내 면역세포 변화에 미치는 영향

1) B220+ /IgE+ 세포율에 미치는 영향

정상군은 2.42 ± 0.31 (%), 대조군은 5.20 ± 0.74 (%), Protopic 처리군은 2.99 ± 0.89 (%), H&C 처리군은 3.23 ± 0.24 (%)로 나타나, 대조군에 비하여 유의성 (*p<0.05) 있는 감소를 나타내었다 (Table 11, Fig. 11).

Table 11. Effect of H&C Extract on B220+ /IgE+ Cell Percent of Dorsal Skin in Biostir AD-induced NC/Nga Mice

(%)	Normal	Control	Protopic	H&C
B220+ / IgE+	2.42 ± 0.31	5.20 ± 0.74*	2.99 ± 0.89	3.23 ± 0.24*

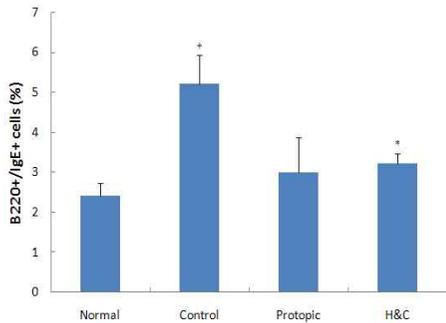


Fig. 11. Effect of H&C extract on B220+ /IgE+ cell percent of dorsal skin in Biostir AD-induced dermatitis model of NC/Nga mice. NC/Nga mice model followed by the treatment of H&C (HTGMB administration & CSGMB spray) for 5 weeks. At the end of the experiment, the cells from dorsal skin stained with anti-B220 and anti-IgE and positively stained cells were analyzed by flow cytometry. The results represent the mean ± S.E. Statistically significant value was calculated by comparing with normal group by student's t-test (+p<0.05). Statistically significant value was calculated by comparing with control group by student's t-test (*p<0.05).

2) CCR3+ 세포율에 미치는 영향

정상군은 5.52 ± 0.21 (%), 대조군은 17.68 ± 2.45 (%), Protopic 처리군은 10.43 ± 1.17 (%), H&C 처리군은 14.02 ± 0.22 (%)로 대조군에 비하여 감소하였다 (Table 12, Fig. 12).

Table 12. Effect of H&C Extract on CCR3+ Cell Percent of Dorsal Skin in Biostir AD-induced NC/Nga Mice

(%)	Normal	Control	Protopic	H&C
CCR3+	5.52 ± 0.21	17.68 ± 2.45*	10.43 ± 1.17*	14.02 ± 0.22

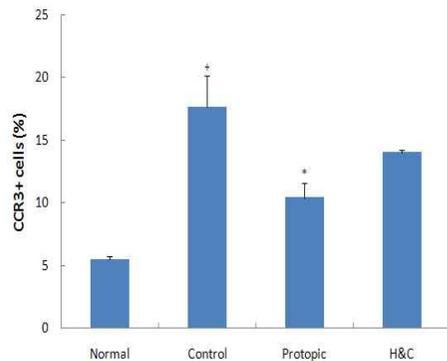


Fig. 12. Effect of H&C extract on CCR3+ cell percent of dorsal skin in Biostir AD-induced dermatitis model of NC/Nga mice. NC/Nga mice model followed by the treatment of H&C (HTGMB administration & CSGMB spray) for 5 weeks. At the end of the experiment, the cells from dorsal skin stained with anti-CCR3 and positively stained cells were analyzed by flow cytometry. The results represent the mean ± S.E. Statistically significant value was calculated by comparing with normal group by student's t-test (+p<0.05). Statistically significant value was calculated by comparing with control group by student's t-test (*p<0.05).

3) CD11b+ /Gr-1+ 세포율에 미치는 영향

정상군은 3.70 ± 0.40 (%), 대조군은 12.13 ± 0.65 (%), Protopic 처리군은 5.87 ± 2.48 (%), H&C 처리군은 6.39 ± 0.50 (%)로 대조군에 비하여 유의성 (*p<0.05) 있는 감소를 나타내었다 (Table 13, Fig. 13).

Table 13. Effect of H&C Extract on CD11b+/Gr-1+ Cell Percent of Dorsal Skin in Biostir AD-induced NC/Nga Mice

(%)	Normal	Control	Protopic	H&C
Gr-1 +/	3.70 ± 0.40	12.13 ± 0.65	5.87 ± 2.48*	6.39 ± 0.50*
CD11b b+	0.40	0.65++	2.48*	0.50*

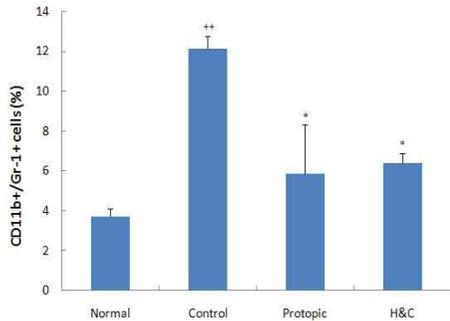


Fig. 13. Effect of H&C extract on CD11b+/Gr-1+ cell percent of dorsal skin in Biostir AD-induced dermatitis model of NC/Nga mice. NC/Nga mice model followed by the treatment of H&C (HTGMB administration & CSGMB spray) for 5 weeks. At the end of the experiment, the cells from dorsal skin stained with anti-CD11b and anti-Gr-1 and positively stained cells were analyzed by flow cytometry. The results represent the mean ± S.E. Statistically significant value was calculated by comparing with normal group by student's t-test (++p<0.01). Statistically significant value was calculated by comparing with control group by student's t-test (*p<0.05).

5. CD3/CD28에 의해 활성화된 비장세포 내 사이토카인 생성량

1) IL-4 생성량에 미치는 영향

정상군이 213.53 ± 38.28 (pg/ml), 대조군이 690.80 ± 68.94 (pg/ml), Protopic 처리군이 362.61 ± 54.04 (pg/ml), H&C 처리군이 424.54 ± 63.50 (pg/ml)로 대조군에 비하여 유의성 (*p<0.05) 있는 감소를 나타내었다 (Table 14, Fig. 14).

Table 14. Effect of H&C Extract on the IL-4 levels in splenocytes

pg/ml	Normal	Control	Protopic	H&C
IL-4	213.53 ± 38.28	690.80 ± 68.94+	362.61 ± 54.04*	424.54 ± 63.50*

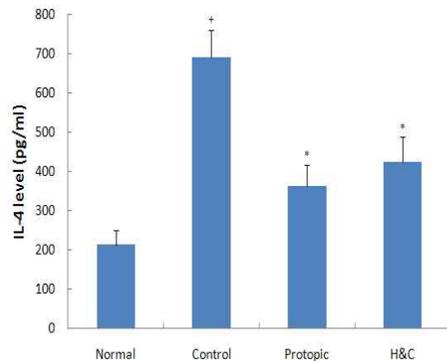


Fig. 14. Effect of H&C extract on the levels of IL-4 in splenocytes of NC/Nga mice. Splenocytes were stimulated with anti-CD3 and anti-CD28 antibodies for 2 days and the levels of IL-4 in the culture supernatant were determined using commercially available ELISA kit. The results represent the mean ± S.E. Statistically significant value was calculated by comparing with normal group by student's t-test (+p<0.05). Statistically significant value was calculated by comparing with control group by student's t-test (*p<0.05).

2) IL-5 생성량에 미치는 영향

정상군이 3.33 ± 0.57 (pg/ml), 대조군이 15.43 ± 2.06 (pg/ml), Protopic 처리군이 5.82 ± 0.65 (pg/ml), H&C 처리군이 5.40 ± 0.67 (pg/ml)로 대조군에 비하여 유의성 (*p<0.05) 있는 감소를 나타내었다 (Table 15, Fig. 15).

Table 15. Effect of H&C Extract on the IL-5 levels in splenocytes

pg/ml	Normal	Control	Protopic	H&C
IL-5	3.33 ± 0.57	15.43 ± 2.06+	5.82 ± 0.65*	5.40 ± 0.67*

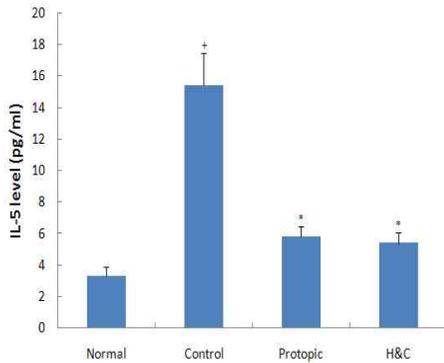


Fig. 15. Effect of H&C extract on the levels of IL-5 in splenocytes of NC/Nga mice. Splenocytes were stimulated with anti-CD3 and anti-CD28 antibodies for 2 days and the levels of IL-5 in the culture supernatant were determined using commercially available ELISA kit. The results represent the mean ± S.E. Statistically significant value was calculated by comparing with normal group by student's t-test (+p<0.05). Statistically significant value was calculated by comparing with control group by student's t-test (*p<0.05).

3) GM-CSF 생성량에 미치는 영향

정상군이 28.67 ± 16.69 (pg/ml), 대조군이 288.8 ± 75.31 (pg/ml), Protopic 처리군이 107.61 ± 23.74 (pg/ml), H&C 처리군이 115.44 ± 65.34 (pg/ml)로 대조군에 비하여 유의성 (**p<0.01) 있는 감소를 나타내었다 (Table 16, Fig. 16).

Table 16. Effect of H&C Extract on the GM-CSF levels in splenocytes

pg/ml	Normal	Control	Protopic	H&C
GM-C SF	28.67 ± 16.69	288.80 ± 75.31++	107.61 ± 23.74*	115.44 ± 65.34**

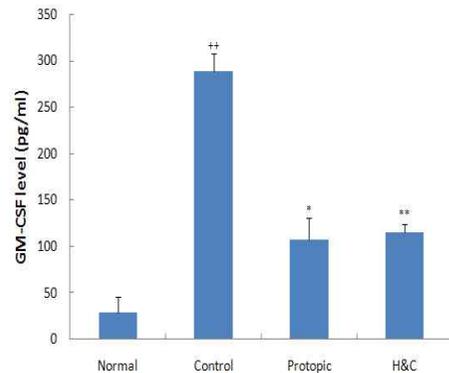


Fig. 16. Effect of H&C extract on the levels of GM-CSF in splenocytes of NC/Nga mice. Splenocytes were stimulated with anti-CD3 and anti-CD28 antibodies for 2 days and the levels of GM-CSF in the culture supernatant were determined using commercially available ELISA kit. The results represent the mean ± S.E. Statistically significant value was calculated by comparing with normal group by student's t-test (+p<0.05). Statistically significant value was calculated by comparing with control group by student's t-test (*p<0.05, **p<0.01).

IV. 考 察

아토피피부염은 심한 소양감을 가진 면역 질환의 일종으로 산업화, 공업화에 따른 서구화된 생활환경의 변화와 환경오염이 증가 하면서 공기 매개성 알레르겐 증가에 의해 그 유병률이 해마다 급증하고 있다^{6, 9, 31, 32}).

주 증상으로는 紅斑, 滲出, 搔痒症, 苔癬化 樣相, 慢性 再發性 經過 등을 들 수 있는데, 실제 아토피 피부염에서 관찰되는 피부 변화는 아토피 피부염의 특징적인 증상인 소양증으로 인해 피부를 긁음으로써 유발되는 2차적인 변화가 대부분이다^{33, 34}. 그러나 확실한 원인 규명이 어렵기에 양방적인 치료는 히스타민의 유리를 억제하는 항히스타민제, 염증 반응을 감소시키는 면역억제제 그리고 부신피질 호르몬제인 스테로이드제 등을 이용하여 炎症과 搔痒症의 調節 및 2차 병변의 발생 방지를 목적으로 하는 對症의인 치료에 국한되어 있다^{33, 35}.

한의학 역시 병리의 복잡성으로 인하여 치료율에 한계가 있으나, 유기체적 관점에서 근본적인 치료를 위한 다양한 노력이 이루어지고 있다. 단일 약물¹⁶⁻¹⁸)에서 다양한 피부 치료 처방을 시료로 많은 실험적 연구가 이루어졌고, 이 밖에 약침³⁶⁻⁴⁰)의 황아토피 효능에 대한 검색과 더불어 사상체질적 접근을 통한 독특한 임상 연구⁴¹)도 보고된 바가 있다. 그러나 대부분의 실험 및 임상 연구가 내치 즉 약물 복용 위주로 이루어져, 외치에 대한 연구 및 내외치 겸용에 의한 치료 효과 규명은 미진한 편이다. 최근 본 실험과 동일한 병태 모델을 통하여 손²⁾은 淸肌散, 민²³⁾은 消風散加減方, 김²⁴⁾은 當歸飮子加減方의 내복약을 스프레이 형태의 외치방과 사용하여 유의성 있는 황아토피 효능을 규명한 바가 있으나, 실제 임상에서 수종의 외치방이 개발되어 다양한 내복약과 사용되고 있는 현실에 비하면 이에 대한 실험적 연구는 소수에 불과하다.

본 시료인 황토가미방과 외치방인 청삼가미방은 현재 임상 활용방으로, 주로 습열로 인한 짓무름과 發赤, 瘙痒症을 주 증으로 한 아토피 피부

염에 활용된다. 凉血, 解毒, 淸熱, 祛濕, 祛風, 消炎 등의 작용이 있는 紫草, 魚腥草, 蛇莓가 내외치 공통으로 구성되어 있으며, 內治方은 여기에 溫中健脾, 利水消腫, 活血止血, 消癰散結의 효능이 있는 鯽魚, 黃土, 水蓼, 昆布, 桔梗 등이, 外治方은 除熱, 生肌止痛, 祛風排膿의 효능이 있는 松脂, 淸삼, 蕎麥, 石膏 등이 가미되어 있다.

구성 약물 중 대부분은 이미 항알러지 혹은 항염증 효능이 실험적으로 보고된 바가 있고, 古來로 피부 제 질환에 활용되고 있는 약물로 구성되어 있다. 본 실험과 유관한 구성 약물에 대한 연구로 윤²⁶⁾은 “붕어의 항산화 효능”을, 강⁴²⁾은 昆布의 “항염증 활성”을, 강²⁷⁾은 “동물 모델에서의 紫草의 황아토피 효능”을, 노²⁸⁾는 “魚腥草의 항알러지 효능과 항산화능”을, 임³⁰⁾은 “蛇莓의 항친식 효능”을, 배²⁹⁾는 “桔梗의 알레르기 저감화에 미치는 영향”을 각각 보고한 바가 있다. 특히 청삼은 1997년 저 마약형 대마 도입유전자원인 IH3를 모본으로 하고 한국 재래종을 부분으로 교잡 육종한 1대 잡종 품종으로, 재래종에 비해 환각 효과를 일으키는 THC 함량은 적고 환각 효과를 억제시키는 CBD 함량이 많아 저 마약형으로 분류되며, 감마리놀렌산을 함유하고 있어 항염증 및 면역력 강화 등의 기능이 보고된 바 있다⁴³⁻⁴⁵).

이렇듯 구성 약물 대부분이 이미 항알러지 혹은 항염증 효능이 실험적으로 보고된 바가 있고, 기타 약 역시 피부 제 질환에 활용되고 있는 약물로 구성되어 있어 실험적으로도 유의성 있는 결과가 기대된다.

아토피피부염은 앞에 기술한 것과 같이 소양증에 의한 긁기 행동이 피부에 자극을 주어 증상이 악화되는 것으로 알려져 있다. Hashimoto Y⁴⁶⁾은 정상 NC/Nga 생쥐에 피부염이 발생한 NC/Nga 생쥐와 같이 동거 사육을 통해 3일 만에 정상 생쥐에서도 명확하게 긁기 행동을 보인 것으로 보고하고 있다. 이들은 또한 피부염이 자연발생하지 않는 BALB/c와 ICR계 생쥐에서도 7-14일 정도에서 긁기 행동을 보였으며, BALB/c 생쥐에

서는 가벼운 피부병을 유발시키는 것으로 보고하고 있다. 따라서 피부병의 유발과 소양증에 의한 긁기 행동은 피부의 베리어 파괴 등으로 이어져 아토피피부염의 악화와 증상의 유지에 관여하는 것으로 생각된다.

먼저 본 연구에서 나타난 육안적 관능 평가에서는 H&C 처리군이 Biostir AD 연고로 유발시킨 아토피 피부염의 증상을 대조군에 비해 12주째부터 유의성 있게 감소시켰다 (Fig. 1, 2).

아토피피부염은 항원의 자극에 의해 생산되는 IgG, IgE 등의 면역글로불린과 B세포, CD4+ T세포, CD8+ T세포 NK 세포와 호중구, 호산구, 비만세포 등의 염증세포와 사이토카인 그리고 혈관내피세포, 상피 세포 등의 반응이 복잡하게 결합하여 발생 된다 (Fig. 21). 아토피 피부염의 주요 항원으로는 공해 물질, 음식물, 진균, 세균 등이 있는데 그 중에서도 집먼지 진드기 (House Dust Mite; 이하 HDM) 는 알레르기 질환의 주요 원인으로 널리 알려져 있다^{47, 48)}. Yoshida⁴⁹⁾ 는 아토피 피부염 환자로 부터 혈청 IgE 농도의 상승과 HDM 특이적 IgE 농도가 증가하는 것과 HDM에 랑게르한스 세포가 반응해서 항원 제시 능력을 갖고 있는 것으로 보고하였으며, Bruynzeel-Koomen 등⁵⁰⁻⁵³⁾ 은 아토피피부염 환자의 랑게르한스 세포는 IgE 분자를 갖고 있는 것으로 보고하고 있다.

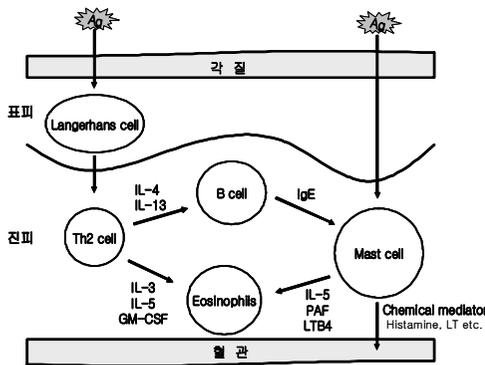


Fig. 17. 아토피 피부염의 발생 기전

각질층을 통과한 항원을 접수한 랑게르한스 세포는 CD4+ T세포 특히 Th2 세포에 항원을 제시함으로써, Th2 세포의 사이토카인 분비를 유도한다. Th2 세포는 IL-4, IL-13 등의 사이토카인을 생산하여 B세포를 자극하고 B세포는 IgE를 생산하게 되며, 생산된 IgE는 비만세포의 세포 표면 상에 있는 고친화성 IgE 수용체 (FceRI)에 결합하여 감각된 상태가 된다. 그 상태에서 다시 항원에 노출되게 되면 비만세포를 활성화시켜서 히스타민, Leukotriene (LT) 등의 화학전달물질과 IL-4, IL-5, TNF-a, GM-CSF 등의 사이토카인을 유리시킨다.

본 연구에서는 DLN과 Dorsal skin에서의 면역세포 변화를 측정하여 H&C 처리가 아토피피부염 유발 생쥐에 미치는 영향을 평가하였다. 먼저 DLN의 총 면역세포 수는 대조군에 비해 H&C 처리군에서 51% 유의성 있게 증가하였으며 (Table 3, Fig. 3), dorsal skin 내 총 면역세포 수는 대조군에 비하여 59% 정도 유의성 있게 감소하였다 (Table 4, Fig. 4). 이러한 상반된 결과는 본 시료의 면역조절 작용을 시사하고 있는데, 구체적으로 DLN 내 면역세포 변화를 보면 B세포를 나타내는 CD19+, 활성화된 T세포를 나타내는 CD3+/CD69+ 그리고 IgE 발현 B세포를 나타내는 B220+/IgE+ 는 대조군에 비해 각각 26%, 8%, 59% 감소하였다 (Table 5, 9, 10, Fig. 5, 9, 10), CD8+ 은 대조군에 비해 31% 유의성 있게 증가 하였으나 (Table 7, Fig 7), CD3+, CD4+ 등의 T세포는 유의성은 없었으나 대조군에 비해 8%, 12% 증가하였다 (Table 6, 8, Fig. 6, 8).

Dorsal skin 내 면역 세포에 미치는 영향에서는 B220+/IgE+ 세포 수가 H&C 처리군에서 대조군에 비해 38% 정도 유의성 있게 감소하였음을 확인할 수 있었으며 (Table 11, Fig. 11), 호산구를 나타내는 CCR3+ 세포 수는 유의성은 없었으나 대조군에 비해 21% 감소하였다 (Table 12, Fig. 12). 그리고 과립세포를 나타내는 CD11b+/Gr-1+ 세포 수도 대조군에 비해 47%

유의성 있는 감소 효과를 나타내었다 (Table 13, Fig. 13). 이는 H&C 처리가 면역조절 작용을 통해 DLN 내 세포의 균형을 유지시키는 효과를 나타냈으며, 피부 조직으로의 호산구 등의 면역 세포 침윤을 억제함으로써 아토피 피부염의 개선 효과를 나타낸 것으로 생각된다.

IL-4는 아토피 피부염을 일으키는 중요한 면역 조절물질로 알려져 있으며⁵⁴⁾ IgE 생산 및 세포의 IgE 수용체 발현을 증가시키는데, 본 실험 결과에서 정상군에 비해 대조군에서 224%의 유의성 있는 증가를 보이고, H&C 처리군에서는 대조군에 비해 39% 감소하였다 (Table 14, Fig. 14).

호산구 및 monocyte 활성화에 관여하는 IL-5와 항원전달 기능 향진을 나타내어 면역반응을 향진시키는 GM-CSF 생성량도 정상군에 비해 대조군에서 각각 363%, 907%의 유의성 있는 증가로 아토피 증상 악화를 확인할 수 있었으며, H&C 처리군에서는 대조군에 비해 65%, 60%로 유의성 있는 감소가 나타났다 (Table 15, 16, Fig. 15, 16).

이상의 결과로 보아 AD 병태 유발 동물에서 내치방인 황토가미방(HTGMB)과 외치방인 청삼가미방(CSGMB) 겸용 처치는 피부염 지수, DLN 과 배부피부 내 면역세포 및 비장세포 내 사이토카인 변화에서 모두 대조군에 비하여 유의성 있는 결과와 더불어 기존 결과와 부합됨으로써 면역 조절 작용에 의한 항아토피 효능이 인정되었다.

V. 結 論

NC/Nga 아토피 병태 모델에서 내치방인 황토가미방(HTGMB)과 외치방인 청삼가미방(CSGMB) 병용 처치(H&C)가 피부염 지수 및 면역학적 변화에 미치는 영향을 검색하였던 바 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. H&C는 대조군에 비하여 육안적으로 아토피 피부염을 개선시켰으며, 12주부터 피부

염 지수를 유의성 있게 감소시켰다.

2. H&C 처리군은 DLN 내 총 면역세포 수를 대조군에 비하여 51% 증가시켰으며, dorsal skin 내 총 면역세포 수는 대조군에 비하여 59% 감소시켰다.

3. H&C 처리군은 대조군에 비하여 DLN 내 CD19+, CD3+/CD69+, B220+/IgE+ 면역세포율을 각각 26%, 8%, 59% 감소시키고, CD3+, CD8+, CD4+ 면역세포율을 각각 8%, 31%, 12% 증가시켰다.

4. H&C 처리군은 대조군에 비하여 dorsal skin 내 B220+/IgE+, CD11b+ /Gr-1+ 면역세포율 각각 38%, 47%로 유의성 있게 감소시키고, CCR3+ 면역세포율은 유의성은 없었으나 21% 감소시켰다.

5. H&C 처리군은 대조군에 비하여 CD3와 CD28로 활성화된 비장세포에서 IL-4, IL-5, GM-CSF 생성량을 각각 39%, 65%, 60%로 유의성 있게 감소시켰다.

이상의 결과로 보아 황토가미방과 청삼가미방 병용 처리는 면역조절 작용을 통한 유의성 있는 항아토피피부염 효능을 나타냄으로써, 지속적인 임상 활용이 기대된다.

參 考 文 獻

1. 김진일 외 : 아토피性 皮膚炎에 對한 東西 醫學的 考察, 大韓韓方小兒科學會誌, 8(1):pp.75-80, 1994.
2. 손대범 외 : 淸肌散과 三黃洗劑加味方 병용 이 NC/Nga mice의 아토피 피부염에 미치는 영향, 동의생리병리학회지, 22(5): pp.1168 -1177, 2008.
3. Leung D.Y., : Atopy dermatitis: new insight and opportunities for therapeutic

- intervention, *J Allergy Clin Immunol.*, 105:pp.860-867, 2000.
4. Suto H., Matsuda H., et al. : Nc/Nga mice: a mouse model for atopic dermatitis, *Int Arch Allergy Immunol*, 12 suppl., 1999.
 5. Yawalkar N., Uguccioni M., Scharer J., et al. : Enhanced expression of eotaxin and CCR3 in atopic dermatitis, *J Invest Dermatol.*, 113:pp.43-48, 1999.
 6. 보건복지부 : 2008 주요 업무 참고자료, p.326, 2008.
 7. 조상현 : 아토피피부염의 면역기전, *대한피부과학회*, 58(2):p.59, 2006.
 8. 이윤미 외 : 학령전기와 학령기 아동에서의 아토피 피부염 유병률과 위험인자, *아동간호학회지*, 14(3):pp.285-294, 2008.
 9. 이종태 외 : 소아 아토피 및 천식관련 입원과 대기 중 오존의 상관성 분석, *한국환경보건학회*, pp.73-77, 2006.
 10. Guin JD. : Complications of topical hydrocortisone, *J Am Acad Dermatol.*, Apr;4(4):pp.417-422, 1981.
 11. Smith CH. : New approaches to topical therapy, *Clin Exp Dermatol.*, 25(7): pp.567-574, 2000.
 12. 왕발우 편저 : 皮膚病性病簡易療法, 人民軍醫出版社, p.212, 2005.
 13. 양지과 외 : 皮膚病, 人民軍醫出版社, pp.109-133, 2007.
 14. 왕명혜 외 : 皮膚病性病 名醫秘驗絕技, 人民軍醫出版社, pp.282-287, 2004.
 15. 가민 외 : 中醫皮膚科臨床實踐, 貴州科學出版社, pp.202-210, 2002.
 16. 김기훈 외 : 桑葉이 아토피 피부염에 미치는 영향, *경희의학*, Vol.20(1): pp.37-45, 2004.
 17. 한규철 : 牛蒡子가 아토피 피부염에 미치는 영향, *경희대학교 대학원*, 2004.
 18. 이석원 외 : 목단피 추출물 및 EA분획의 항알러지 작용에 대한 연구, *동의병리학회지*, 15(4):pp.1226-1236, 2001.
 19. 금만우 : 淸心蓮子湯의 Th2 세포 분화 조절과 항염증 기전을 통한 아토피 피부염 치료 효과에 관한 연구, *동국대학교대학원*, 2006.
 20. 박숙자 외 : 소풍산 추출물이 DNCB로 유발된 접촉성 피부염에 미치는 영향, *동의생리병리학회지*, 20(3):pp.623-628, 2006.
 21. 이원구 : 消疹止痒湯의 NC/Nga 생쥐에 유발된 아토피 피부염 抑制 效果和 免疫調節 作用, *대전대학교대학원*, 2008.
 22. 박병준 : NC/Nga 아토피 피부염 생쥐 모델에서의 養血潤膚湯의 效果, *대전대학교대학원*, 2008.
 23. 민영규 : 消風散加減方과 外治方 병용이 NC/Nga 아토피 생쥐에 미치는 영향, *동신대학교대학원*, 2005.
 24. 김성훈 : Effects of Tanggwieumzagagambang along with external spray therapy on the spontaneously occurring atopic dermatitis development in NC/Nga mouse, *동신대학교대학원*, 2005.
 25. 우무원 외 : 고삼(苦蔘)이 알러지성 염증반응에 미치는 영향, *대전대 한의학연구소논문집*, 15(2):pp.135-148, 2006.
 26. 윤여민 : SK-N-MC 신경세포주의 과산화수소로 유발된 細胞死에서 붕어 추출물의 보호 효과, *尙志大學校大學院*, 2006.
 27. 강제훈 : 紫草의 皮膚염을 포함한 염증에 미치는 항염작용 및 TNF-alpha, iNOS 생성 억제효과에 관한 연구, *경희대학교 대학원*, 2005.
 28. 노병규 외 : 漁腥草 抽出物의 抗알레르기 效果에 관한 研究, *大韓本草學會誌*, 13(2): pp.77-89, 1998.
 29. 배만중 외 : 길경이 알레르기 저감화에 미치는 영향, *생명자원과 산업*, 1:pp.15-19, 1996.
 30. 임중근 외 : 사매가 Ovalbumin 감작으로

- 유발된 천식 생쥐 모델에서 기관지염증 억제에 미치는 영향, 大韓本草學會誌, 20(1): pp. 73-83, 2005.
31. 오재원 외 : 1995년과 2000년의 학동기와 2003년 학동전기 소아에서의 아토피 피부염의 역학적 변화에 관한 전국적인 연구, 소아 알레르기 및 호흡기학회지, 13(4): pp.227-237, 2003.
 32. Larsson PA., Liden S. : Prevalence of skin disease among adolescents 12-16 years of age, Acta Derm Venereol., 60(5):pp.415-423, 1980.
 33. 양재하 외 : 아토피 皮膚炎의 洋韓方의 考察, 제한동의학술원논문집, 4(1):pp.416-427, 1999.
 34. 나동규 외 : 除濕胃苓湯加味方이 NC/Nga mice의 아토피 발진 억제에 미치는 실험적 연구, 대전대 한의학연구소논문집, 16(1): pp. 93-105, 2007.
 35. 홍정효 : 아토피의 치료에 관한 양방과 한방, 민간요법과 자연치유법에 관한 고찰, 생대유아교육연구, 7(1):pp.65-85, 2008.
 36. 윤종태 : 刺五加皮藥鍼液의 항알러지 효과에 대한 실험적 연구, 대전대학교대학원, 2001.
 37. 이주은 : 胡桃藥鍼이 알러지에 미치는 영향, 동의대학교대학원, 2003.
 38. 백승일 : 肺俞·膈俞의 胡桃藥鍼 자극이 알레르기 반응에 미치는 영향, 동의대학교대학원, 2004.
 39. 장석창 : 胡桃藥鍼이 항알레르기 및 항염증반응에 미치는 영향, 동의대학교대학원, 2004.
 40. 조시용 : 敗醬藥鍼이 Type I Hypersensitivity에서 염증 반응과 Cytokine 변화에 미치는 영향, 동의대학교대학원, 2004.
 41. 김선형 외 : 사상체질과 아토피성 질환 유전자의 다형성(IL-4 polymorphism)에 관한 연관성 연구, 사상체질의학회지, 14(2), 2002.
 42. 강지영 : 갈조류 미역과 다시마의 항염증 활성 및 미역의 품질평가, 부경대학교 대학원, 2008.
 43. 문윤호 외 : 大麻 低마약형 신품종 “청삼”의 육성경위 및 주요특성, 韓國國際農誌, 14(2):pp.119-126, 2002.
 44. 문윤호 외 : 대마 유전자원의 지방산 조성 과 감마리놀렌산 함량변이, 한약작지, 13(4):pp.190-193, 2005.
 45. 고대회 : 대마(Cannabis sativa L.)씨의 지방산 조성에 관한 연구, 한국식품영양학회, 3(2):pp.201-206, 1990.
 46. Hashimoto Y., Arai I., et al. : Induction of scratching behaviour and dermatitis in various strains of mice cohabiting with NC/Nga mice with chronic dermatitis, Br J Dermatol., 154(1):pp.28-33, 2006.
 47. De Wit D., et al. : Helper T-cell responses elicited by Der p 1-pulsed dendritic cells and recombinant IL-12 in atopic and healthy subjects, J Allergy Clin Immunol., 105(2):pp.346-352, 2000.
 48. Huang CH., et al. : Mite allergen induces allergic dermatitis with concomitant neurogenic inflammation in mouse, J Invest Dermatol., 121(2): pp.289-293, 2003.
 49. Yoshida ST. : 알레르기성 疾患 : 診斷과 治療의 進歩-아토피性 皮膚炎 日本內科學會紙 82(10):pp.1672-1677, 1993.
 50. Bruynzeel-Koomen C., et al. : Associated expression of CD1 antigen and Fc receptor for IgE on epidermal Langerhans cells from patients with atopic dermatitis, Clin Exp Immunol., 74(1):pp.137-142, 1988.
 51. Bruynzeel-Koomen CA., et al. : A role for IgE in patch test reactions to inhalant allergens in patients with atopic dermatitis, Allergy, 43(5):pp.15-21,

- 1988.
52. Bruynzeel-Koomen C. : IgE on Langerhans cells: new insights into the pathogenesis of atopic dermatitis, *Dermatologica*, 172(4):pp.181-183, 1986.
53. Bruynzeel-Koomen C., et al. : The presence of IgE molecules on epidermal Langerhans cells in patients with atopic dermatitis, *Arch Dermatol Res.*, 278(3): pp.199-205, 1986.
54. Renz H, Jujo K, et al. : Enhanced IL-4 production and IL-4 receptor expression in atopic dermatitis and their modulation by interferon-gamma, *J Invest Dermatol.*, 99(4):pp.403-408, 1992.