

Chamomile German 오일도포가 아토피성 피부염을 가진 NC/Nga 생쥐모델의 혈청 IgE와 IgG1양 변동에 미치는 영향

Effect of Chamomile German Oil Application of IgG1 and IgE 1 to Atopic Dermatitis in NC/Nga Mice Model

경원대학교 경영대학원 미용예술학과
강사 신길란*
대전대학교 패션디자인 비즈니스학과
교수 김양원

Dept. of Industrial Management(Beauty Industry),
Graduate school of Business Administration, Kyungwon University
Lecturer : Shin, Gil-Ran
Dept. of Fashion Design · Business, Daejeon University
Professor : Kim, Yang-Weon

Abstract

Atopic dermatitis is one of the most common skin disease in children and a characteristic chronically recurrent form of dermatitis with a hereditary tendency, affecting infants and may extend to the childhood or th the adult age. Environmental factors, stress, and foodstuffs such as milk, egg may cause atopic dermatitis. Nc/ Nga mice were used as an animal model for human atopic dermatitis. The divided by 4group such as normal group, BMAC group, FK506 group, MR group for this study raised in conventional conditions. To investigate effect of Chamomile German on atopic dermatitis in NC/ Nga mice, the serum IgE and IgG1 level were measured while the severity degree of the skin lesion was examined by the naked eyes of two volunteers who were unaware of the treatment status.

The results were the followings.

1. The score on the severity degree of skin dermatitis in FK 506 and MR group was lower than that in control group.
2. The serum IgE level in control group was higher 25 % than that in normal group.
3. The serum level of IgE in FK506 and MR group compares to control group was decreased.
4. The serum IgG1 level was decreased more than 3.5 times in FK506 compared to control group while MR group had significantly less the serum IgG1 than control group.

From the above results, treatment of Chamomile German oil had the effect on atopic dermatitis in NC/Nga mice. If scientific researches on aroma oil are performed in various way, aroma oil will be used to cure skin dermatitis as a alternative therapy in the future.

Key Words : Chamomile German, Serum IgG1, Serum IgE

I. 서론

아토피 피부염은 전 세계적으로 꾸준한 증가추세에 있

다. 주로 유·소아기에 발생빈도가 높으며 현대에는 성인에게서도 종종 발생한다. 만성 재발성 피부염인 아토피 피부염은 각질 형성세포에서 염증을 유도하는 사이토카인의 분비로 인해 증상이 악화된다(대한아토피피부염학회,

* Corresponding author: Shin, Gil-Ran
Tel: 010-8799-0309
E-mail: gr535@naver.com

2006). 발생원인은 현재까지 명확하게 밝혀지지 않았으나 주로 유전적인 소인과 골수에서 유래되는 백혈구의 이상 등에 의해 아토피 피부염이 발생된다고 하며 또한 환경, 스트레스, 기후변화, 서구화된 생활습관 등이 아토피 피부염 발생에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다(Leung, 2000). 아토피 피부염의 주증상은 피부건조증과 소양증인데, 이것들은 각질층의 장벽기능이 손상되어 외부의 자극 물질이나 항원에 쉽게 반응하는 면역학적 이상반응이 증상 발현에 관여하는 것으로 알려져 있다(Cooper, 1994). 보통 아토피 피부염의 면역지표는 혈액 내 IgE의 농도와 호산구 수의 증가정도이다. 또한 혈액 내 IgG는 독성물질이나 바이러스를 없애며, 백혈구의 식·살균작용을 보조한다(권병상 & 박기호, 1998). 혈액 내 IgE의 증가는 혈액 내 IgG1의 증가에도 관여한다. 아토피 피부염은 항원의 자극을 받아 항체 IgE가 생산되고, 비만세포의 고친화성 수용체(high affinity receptor)와 IgE가 결합한 상태에서 다시 항원의 자극을 받을 경우 알레르기 유발물질인 Cytokine, Histamine, Leukotrienes를 분비한다. 이 알레르기 유발 물질들의 분비로 인해 염증과 가려움증을 나타낸다(Barnes, 2000). 아토피 피부염에서의 면역체계는 helper T cell(Th) 세포의 활성화를 중심으로 이루어지며 활성화된 Th 세포는 그들이 분비하는 사이토카인의 종류에 따라 제1형과 2형으로 나누어진다. 아토피성 피부염은 제2형 T세포(Th2)가 활성화되어 나타난 면역질환이다. (Inagaki & Nagai, 2000). 아토피 피부염의 치료는 자극 항원을 제거 하는 것이 가장 좋은 방법이지만 자극 항원이 너무 다양하고 복잡하여 이를 찾아내는 일은 매우 어렵다. 대부분의 임상적 처치는 스테로이드나, 항히스타민제제, T세포의 활성을 억제하는 FK 506이 개발되어 사용되고 있으나 이것을 장기적으로 사용할 때는 치료효과가 없거나 오히려 부작용이 생겨 문제점이 많다. 이에 최근에는 대체요법의 일환으로 아로마 테라피에 관한 관심이 급증하고 있는 실정이다. 아로마 테라피란 다양한 천연식물에서 추출 정제한 천연 향유의 치료적 성분을 이용해 인체의 면역기능을 높여주고, 신체적, 심리적 건강을 유지 및 활력을 증진시키는 치료법을 말한다 (Buckle, 1993). 아로마 오일중 카모마일 저먼(Chamomile German)은 꽃을 수증기로 증류하여 추출한 오일로 모든 형태의 피부염증에 사용할 수 있으며, 알레르기로 인한 피부발진과 두드러기에 좋다. 또한 카모마일 저먼의 오일 증류과정에서 나오는 아줄렌(azulene), 하이드로카본(hydrocarbon), 옥사이드(oxides) 등의 성분이 항염증, 항박테리아, 면역자극, 상처치유, 기생충박멸, 소염작용이 있다(유강목, 2006)고 하였다. 이순희(2008)는 아토피 피부염에 카모마일 저먼 오일을 도포했을 경우 혈청 IgE양이 유의하게 감소한다고 하였다.

따라서 아토피 피부염을 일으키는 중요한 인자인 IgE와 IgG1를 감소시키는 것이 아토피 피부염을 근본적으로 치료하는데 중요하다고 생각된다. 그러므로 본 연구에서는 아토피성 피부염을 유발시킨 NC/Nga 생쥐의 등과 목 부위에 카모마일 저먼을 발라서 IgE와 IgG1의 변동과 카모마일 저먼의 임상적 효과를 육안으로 검증하여 향후 대체요법으로써의 아로마 오일에 관한 다양한 연구를 진행하는데 도움을 주고 나아가 아토피 환자의 치료에 활용할 수 있는 기초 자료를 얻고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 동물

암컷 6주령의 SPF NC/Nga 생쥐는 체중 15-20g의 Charles River Japan(Yokohama, Japan)사에서 공급받았다. 동물은 실험 당일까지 고형사료(조단백질 22.1%이상, 조지방 8.0%이하, 조섬유 5.0%이하, 조화분 8.0%이하, 칼슘 0.6%이상, 인 0.45%이상, 항생제 무첨가, 삼양사료 Co.)와 물을 충분히 공급하였다. 환경조건은 온도 22±2℃, 습도 55 ± 15%, 조명조건은 하루 중 12시간은 200-300 Lux로 조명하고, 12시간은 모든 빛을 차단하였으며, 생쥐를 2주간 적응시킨 후 실험에 사용하였다.

2. 아로마 오일

본 실험에 사용한 아로마 오일은 Chamomile German (Matricaria recutita, 이하 MR라 한다)으로 60kg인 사람의 경우 1.5%의 오일을 사용한다는 것을 감안하여 체중이 20g인 실험용 생쥐에는 0.025% 오일을 사용하였다. 실험용 오일은 La Selection (한국 아로마테라피협회)사의 essential oil을 사용하였다.

3. 피부염 유도 및 시료처리

8주령의 NC/Nga 생쥐를 미리 아토피 피부염을 유발시킨 NC/Nga 생쥐와 2주간 같은 공간에서 동시 사육하여 항원감작을 하였다. 눈에서 capillary 관을 이용하여 100 μ l의 혈액을 채혈한 후 마취제인 chloral hydrate (10%)로 마취한 후 귀, 등, 목 부위를 깨끗하게 제모제로 제모하였고, 피부의 미세 상처가 치유되도록 24시간 방치

하였다. 피부염을 유발시키기 위하여 사용된 연고는 Biostir Mite Antigen Cream (BMAC, 중앙실험동물사제공)이다. 이 연고는 진드기 항원으로 *Dermatophagoides farinae* crude extract (BMAC antigen, lyophilized)를 원료로 하여 제조된 것이다. BMAC는 ointment base로 계면활성제인 Tween 20과 진드기 항원 0.5%를 기본으로 하여 만들어졌다. BMAC를 1주에 2회씩 3주 동안 NC/Nga 생쥐의 등과 목 부분에 고르게 도포하였다. BMAC를 도포하기 2~3시간 전에 4% SDS를 분무하여 피부층을 파괴하였다. 피부염이 충분히 유발되고 생쥐가 긁는 행동을 심하게 하는 시기인 2주후부터 육안 평가를 실시하였다.

4. 아토피 피부염 동물모델에서 아토피 피부염 평가법

10주령의 NC/Nga 생쥐의 피부염은 아토피성 피부염에서 일반적으로 사용되는 Matsuda법을 참고하여 Normal군(10주령의 NC/Nga 생쥐로 오일이나 연고를 바르지 않은 그룹, 이하 Normal군이라 칭함) control군(카모마일 도포하지 않고 BMAC를 도포한 그룹, 이하 control군으로 칭함)과 MR군(카모마일 오일을 도포한 그룹, 이하 MR군이라 칭함)을 BMAC를 바르고 약 투여 종료 후 13주령에서 16주령까지의 생쥐를 육안평가하였다. 아토피 피부염 평가법은 1주일 간격으로 4주간 평가하였다. 육안평가 항목은 소양행동을 동반한 홍반 (erythema, hemorrhage), 림설 및 가피 (dryness /scarring), 부종(edema), 표피박리와 짓무름 및, 태선화(excoriation /erosion, lichenification) 등의 5가지 항목으로 하고, 육안평가 결과는 각 항목을 평가한 점수를 총합하여 평균을 구하였다. 각각의 항목은 아토피 증상을 관찰하여 없음 (0), 약함 (1), 중증도 (2), 심함 (3)으로 채점하였다.

5. 약물처리 및 치료효능

BMAC 도포한지 2주 후에 카모마일 저먼을 12주령의 생쥐부터 16주령까지 4주간 오전 11시에 1회씩 매일 도포하였다. 또한 양성 대조 약물로 FK506 (tacrolimus) 0.3%를 매주 5회 발진된 등 부위에 도포하였다. 그리고 1주 간격으로, 관능평가를 실시한 다음 혈액을 채혈하고 등 부위의 피부를 절제하여 10% 포르말린 용액에 담아 보관하였다.

6. 채혈 및 IgE와 IgG1 측정

NC/Nga 생쥐의 눈에서 10주, 12주, 16주에 capillary 판

을 이용하여 약 100 μ l의 혈액을 채혈한 후 원심분리기 6,500 rpm에서 20분간 원심분리한 후 30 μ l의 혈청을 분리하였다. 혈청은 취하여 -70 $^{\circ}$ C에 냉동보관하였다. NC/Nga 생쥐의 혈청 내 IgE와 IgG1의 농도 측정은 enzyme-linked immuno sorbent assay로 측정하였다. 각 well에 NC/Nga 생쥐에서 10주, 12주, 그리고 16주에 채혈한 혈청 5 μ l (1/10 dilution)와 dilution buffer 45 μ l를 혼합하여 각 well에 분주하고, 2시간 동안 25 $^{\circ}$ C 실온에서 방치한 후 2회 washing 완충용액으로 세척한 다음 antibody biotin-IgE, IgG1에 conjugated 를 넣고 2시간 방치하였다. 다시 2회 수세 후 완충용액으로 세척한 다음 antibody Avidin-HRP conjugated 100 μ l를 처리하고 1시간 실온에서 방치한 후 다시 세척하였다. TMB 기질을 100 μ l씩 분주하고 암소에서 30분간 방치한 후 100 μ l의 stop 용액을 처리한 후 ELISA reader 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

7. 통계처리

실험으로부터 얻어진 결과는 평균 \pm 표준편차로 기록하였고, 유의성 검증은 Student's t-test 분석법을 사용하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 육안평가

NC/Nga 생쥐의 등부위에 나타난 아토피 피부염 발현 및 오일도포효과에 관한 사진이다. FK506군은 BMAC를 발라서 아토피 피부염을 유발시킨 그룹을 말한다. FK506군을 살펴보면 FK506 도포하면 아토피 피부염이 정상군에 가깝게 치유된 모습을 알 수 있었다. 이러한 결과는 FK 506은 T세포에서의 사이토카인 생산을 억제하고 (Andersson 등, 1992; Wang 등, 1993), 비만세포로부터의 히스타민 방출을 저해하며(Paulis 등, 1991), 동물이나 사람에게 있어서도 알러지 반응을 지연시키는(Meingassner & Stutz, 1992) 기능을 가지고 있어서 아토피 피부염을 완화시켰다고 생각된다. MR군은 카모마일 저먼 오일을 도포한 것으로 약간의 홍반이 관찰되었지만 control군에 비교하여 볼 때 카모마일 저먼 오일의 도포가 아토피 증상을 완화하는데 효과가 있음을 볼 수 있었다. 이는 유강목(2006)이 지적한 바와 같이 카모마일의 하이드로카본, 옥사이드, 아줄렌 등의 성분이 항염증이나 상처치유 등에 도움을 준 것으로 사료된다. 또한 카모마일의 성분이 아

토피 피부염의 증상 악화를 저해 하는 활동을 한다고 생각된다(Figure 1).

2. 아토피 피부염 평가

아토피 피부발진을 점수화하여 평균값을 나타낸 것이다. 진드기 항원을 피부에 도포하여 아토피 피부염을 유발시킨 후 아무것도 처치하지 않은 control군과 FK506군, MR군에 대한 육안평가 결과를 점수화하여 나타낸 것이다. 등에 진드기 항원을 도포하였을 때 4주까지는 피부발진점수가 현저하게 증가하였고, FK 506군과 MR군은 control군에 비하여 피부발진점수가 현저하게 감소되는 것을 확인할 수 있었다($p < 0.001$). 그러나 FK506군과 MR군간의 차이는 볼 수 없었다. Hiroi 등(1998)은 NC/Nga 생쥐는 피부염증정도가 4주에서 6주 사이에 최고에 달하는데 이때 FK506의 처방으로 염증을 완화된다고 하였으나, 스테로이드 연고를 바르게 되면 염증완화 효과는 없었다고 하였다. MK군의 경우 아토피 피부염이 완화된 것은 Tisserand (1994)가 지정한 카모마일 오일이 피부염과

상처치유에 효과적이라는 것과 이순희 등(2008)의 아토피 피부염에 카모마일 저면 오일도포가 염증을 완화시킨다는 것을 본 연구에서도 확인 할 수 있었다(Figure 2).

3. 혈청 내 IgE의 변동

혈청 내 IgE를 측정된 결과이다. 본 실험에서의 IgE양은 8주령(Normal군) 이후 NC/Nga 생쥐에 아토피 피부염을 유발시킨 결과, Mite를 도포하지 않은 Normal군보다, control군에서는, 약 25% 이상 IgE 수준이 증가되었다. 이는 Mite에 의하여 IgE 양이 증가됨을 알 수 있다. 이는 아토피 증상이 심할수록 그에 비례하여 IgE양이 증가한다고 하는데 본 연구에서도 아토피 증상이 심해질수록 IgE의 수준이 높아졌다. FK 506군과 MR 군은 control군에 비하여 혈청 내 IgE양이 유의적으로 감소함을 볼 수 있었다($p < 0.01$). 즉, 병원에서 임상용으로 쓰이는 FK506과 카모마일 저면 오일을 아토피 피부염을 가진 생쥐에 도포했을 때 아토피 피부염에 효과가 있다는 것을 확인할 수 있었다. 이는 안영희와 최정숙 (2003) 이 지정한 카모마일의 적용

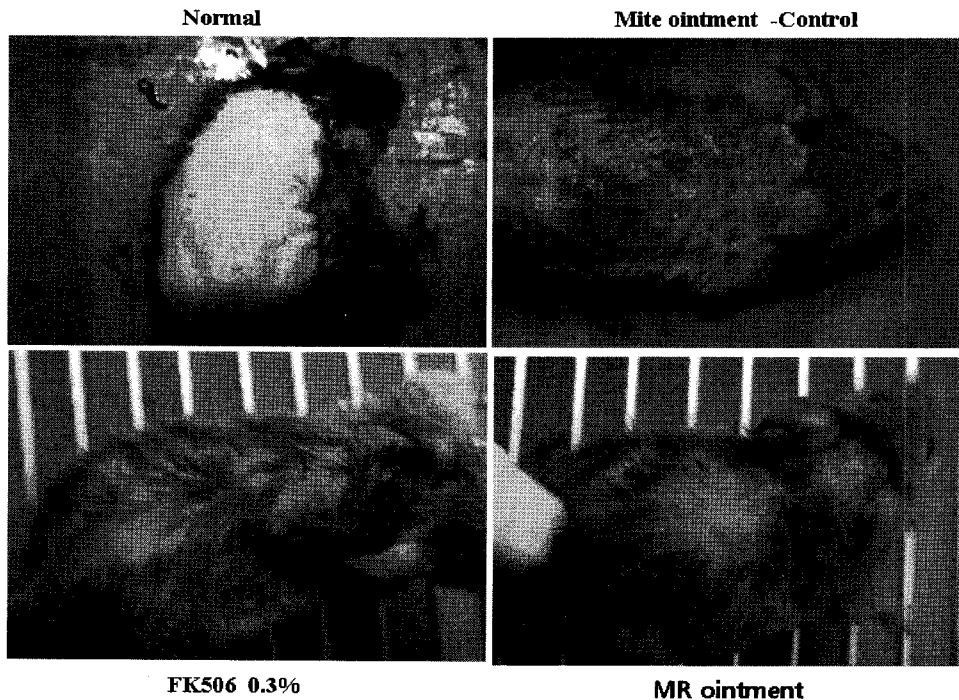


Figure 1. Comparison of skin manifestation in NC/Nga mice between control, FK 506, and MR group. Atopic dermatitis was induced by BMAC treatment in the dorsal skin. Normal; before the treatment of BMAC, Control; BMAC-induced for 4 weeks, FK506; BMAC-induced for 4 weeks with ointment of FK506(0.3%), BMAC-induced for 4 weeks with ointment of MR.

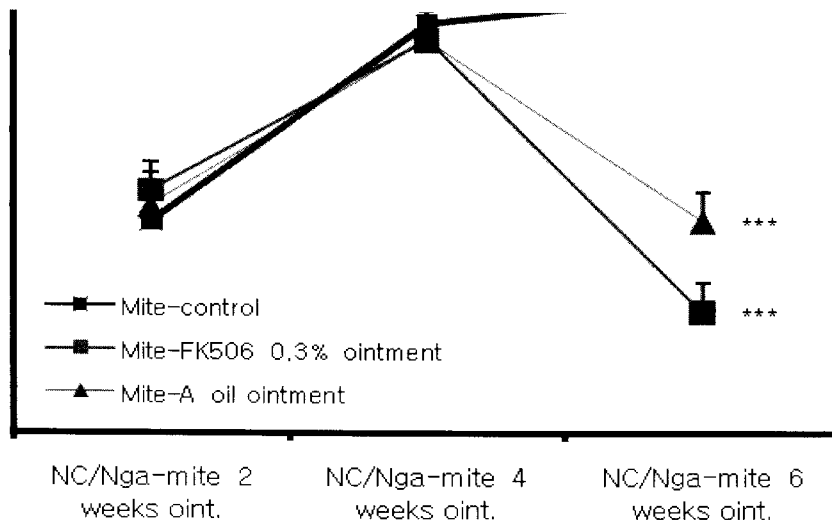


Figure 2. Severity of atopy dermatitis skin lesions-induced in NC/Nga mice by BMAC extract stimulation.

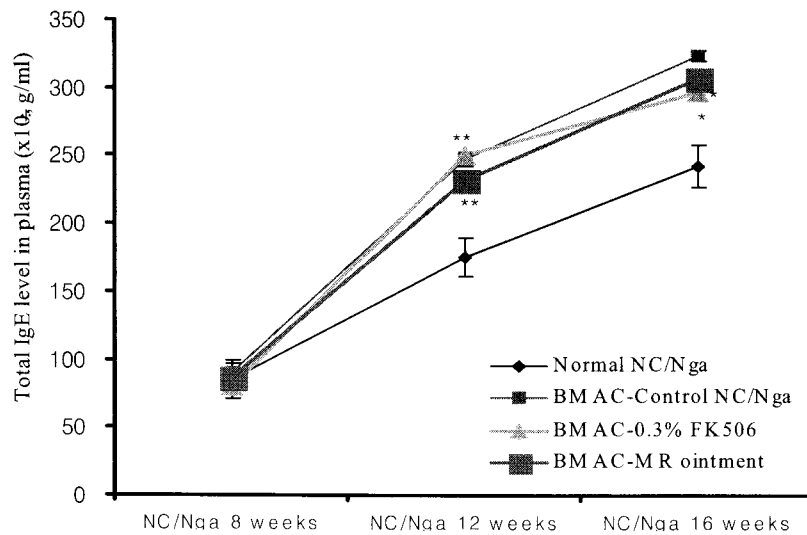


Figure 3. Effects of MR ointment and FK506 on the serum levels of IgE in Nc/Nga mice.

과 효능이 아토피의 주요 증상인 소양감을 제거하고 소독 및 소염작용과 항알레르기 작용이 있다는 것을 나타내는 결과라고 할 수 있다. 또한 이는 이미 이순희 등(2008)에서 카모마일 저면 오일 도포가 혈청 내 IgE 농도 변동에 유의한 결과를 나타냈다는 것과 일치한다(Figure 3).

4. 혈청 내 IgG1의 변동

혈청 내 IgG1를 측정한 결과이다.

혈청 내 IgG1은 Th(2)형 세포가 활성화되면서 IL-4의 반응으로 분화되어, IgE가 분비될 때 같이 증가되는

Immuno-globulin의 일종이다. IgG는 항체의 작용 중 독성 물질이나 바이러스에 결합하여 유해성분을 없애고, 백혈구의 식균·살균작용을 보조하는 역할을 한다. IgG1은 바이러스에 대한 항체가 가장 많고, IgE의 분비에 비례하여 IgG1의 양이 증가하므로 아토피 피부염에 영향을 미친다(아보 도오루, 2003). Figure 4에서 보는 바와 같이 혈청 내 IgG1의 수준은 FK 506군이, control군에 비하여 약 3.5배 이상 IgG1의 수준이 감소하였다($p < 0.001$). MR군도 control군에 비하여 유의성 있게 감소하였다($p < 0.01$). 이는 IgG1은 IgE가 분비될 때 같이 증가하는 것으로 볼 때 이순희 등(2008)의 연구에서 카모마일 저면 오일이 IgE양 변동에 유의한 차이가 있다고 한 결과와 일치한다(Figure 4).

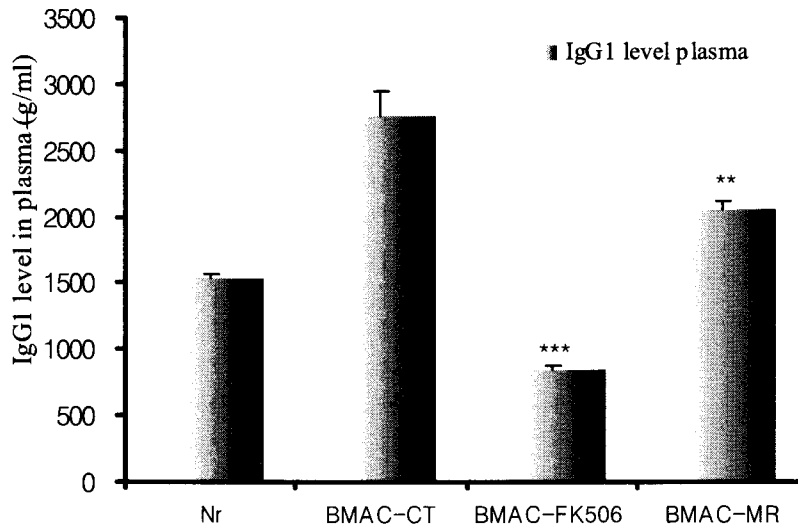


Figure4. Effect of MR ointment and FK506 on the levels of IgG1 in the serum of BMAC-induced Nc/Nga mice. The level of IgG1 were determined using a commercially available ELISA kit. Statistically significant value compared with Nc/Nga mice group data by student's *t-test* ($p < 0.01$).

이로부터 NC/Nga 생쥐에 카모마일 저먼 오일을 적용시켰을 때, 아토피 피부염을 가진 효과를 육안으로 확인할 수 있었다. 또한 혈청 내 IgE와 IgG1의 양이 유의적으로 감소함도 확인되었다. 이러한 효과는 FK 506 도포시도 볼 수 있었는데 FK 506을 장기간 사용할 경우 부작용이 있다는 것을 감안하면, 천연 식물에서 얻은 카모마일 저먼 오일을 대체의약으로서의 아토피 피부염에 접근할 수 있는 가능성을 제시 한다고 생각된다.

IV. 결론

본 연구에서는 아토피 피부염을 유발시킨 10주령의 NC/Nga 생쥐 모델에 아토피 피부염의 대표적인 증상인 항염증, 상처치유, 피부발진과 두드러기에 효과가 있다고 알려진 카모마일 저먼을, 실험동물의 등과 목부위에 발라서 육안 평가와 혈청 내 IgE와 IgG1의 변동을 측정하여 아토피 피부염 완화효과를 검증하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 육안평가에서는 NC/Nga 생쥐의 등부위에 나타난 아토피 피부염 발현 및 오일도포효과에 관한 것을 사진과 Matsuda법으로 관찰하였다. MR군과 FK506군은 control군과 비교하여 볼 때 FK 506과 MR군이 아토피 증상이 완화되었음을 볼 수 있었다.

2. 혈청 내 IgE은 Normal군보다, Control군에서는 약 25% 이상 증가되었다. FK 506군과 MR군은 control군에 비하여 혈청 내 IgE양이 감소하였음을 볼 수 있었다.

3. 혈청 내 IgG1의 수준은 FK506군이 control군에 비하여 약 3.5배 이상 감소하였다. 또한 MR군도 control군에 유의성 있게 감소하였다.

이의 결과로 볼 때 카모마일 저먼의 오일도포가 아토피 피부염에 효과가 있음을 확인할 수 있었으며, 향후 대체요법으로써의 아로마 오일에 관한 다양한 연구가 과학적인 검증을 통해 활발히 이루어진다면 아토피 피부염의 근본적인 치료에 도움을 줄 수 있는 결과를 얻을 것이라고 생각된다.

주제어 : Chamomile German, Serum IgG1, Serum IgE 카모마일 저먼, 혈청 IgG1, 혈청 IgE

참고 문헌

- 권명상, 박기호(1998). 임상면역학, 서울: 고려의학.
 대한아토피피부염학회,(2006). 아토피 피부염의 모든 것, 서울: 조선 출판사.
 로버트 티저랜드(손숙영 역), (1975). 향기요법, 서울: 글이랑.
 아보 도오루(2003). 면역혁명, 서울: 부광출판사.
 안영희, 최정숙(2003). Chamomile, Bergamot의 방향성 아

- 로마 성분 분석 연구, *한국미용학회지* 9(3).
- 이순희, 민경진, 이경옥, 신정섭, 김영철(2008). 아토피성 피부염에 German Chamomile 오일도포가 혈청 IgE 양 변동에 미치는 영향, *한국미용학회지* 14(2).
- 유강목(2006). *아로마 테라피 텍스트북*, 서울: 크라운 출판사.
- Andersson J, Nagy S, Groth C-G, and Andersson U(1992), Effects of FK506 and cyclosporin A on cytokine production studied in vitro at a single-cell level, *Immunology*, 75, 136-142.
- Barnes, P.J. (2000), New direction in allergic: Mechanism based anti-inflammatory therapies, *J. Allergy Clin. Immunol.*, 106(12),
- Buckle, J.(1993), Aromatherapy: Does it matter which lavender essential oil is used?, *Nursing Times*, 89(20).
- Cooper, K.D.(1994), Atopic dermatitis: Recent trends in pathogenesis and therapy, *J. Invest. Dermatol.*, 102(1).
- de Paulis A, Cirillo R, Ciccarelli A, de Crescenzo G, Oriente A and Marone G(1991), Characterization of the anti-inflammatory effect of FK506 on human mast cells, *J. Immunol*, 147, 4278-4285.
- Hiroi J., Takanori S, Kyoto M, Shinichi K, Sachio S, Toshikazu O, Masaoki T, Hiroshi M, Adumi W and Kozaburo E(1998), Effect of Tacrolimus Hydrate(FK506) ointment on spontaneous dermatitis in NC/Nga mice, *Jpn. J. Pharmacol.* 76, 175-183.
- Inagaki, N., Nagai, H.(2001), Drugs for the treatment of allergic disease, *Pharmacol.*, 86(3).
- Leung, D.Y.M(2000), Atopic dermatitis: New insight and opportunities for therapeutic intervention, *J. Allergy Clin. Immunol.*, 105, 860-876.
- Meingssner JG and Stutz A(1992), Anti-inflammatory effects of macrophilin-interacting drugs in animal models of irritant and allergic contact dermatitis, *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 99, 486-489.
- Tisserand, R. (1994). *Aromatherapy as mind-body medicine.*
- Wang SC, Morel PA, Wang Q, Jordan ML, Simmons RL and Twardy DJ(1993), A dual mechanism of immunosuppression by FK506, *Transplantation*, 56, 978-985.

(2008. 9. 29 접수; 2009. 4. 13 채택)