

牛蒡子の 아토피 피부염에 대한 효과

김계은, 정승기, 정희재, 장형진
경희대학교 한의과대학 폐계내과학 교실

Effects of *Arctium lappa Linne* on the DNFB- induced allergic dermatitis

Gae-eun Kim, Sung-ki Jung, Hee-jae Jung, Hyung-jin Jang
Division of Allergy, Immune & Respiratory System,
Dept. of Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Kyung-Hee University

ABSTRACT

Objectives : Atopic dermatitis is a chronic inflammatory skin disease which is characterized by severe pruritis, erythema, edema, effusion and scabs. The aim of this study was to understand effects of *Arctium lappa Linne*, which is well known for its efficacy for various skin diseases, on atopic dermatitis

Methods : We conducted this experiment using the DNFB-induced NC/Nga mice. After two weeks of applying DNFB to NC/Nga mice, severe symptoms of atopic dermatitis occurred. We divided the mice into three different groups: a control group which was given no treatment at all, a group treated with dexamethasone (1mg/kg), and another group treated with *Arctium lappa Linne* (300mg/kg). After one week of treatment, results were recorded according to their improvement on skin, itching behavior, IL-4, and INF- γ measurement, which is a significant criterion for diagnosing atopic dermatitis.

Results : Itching behavior showed significant improvement in the *Arctium lappa Linne* group. However *Arctium lappa Linne* failed to reduce IL-4 and INF- γ count. Also there was no satisfying improvement on AD-like skin lesions on the rostral back of the NC/Nga mice treated with *Arctium lappa Linne*.

Conclusions : *Arctium lappa Linne* showed improvement in itching behavior in NC/Nga mice induced by DNFB. *Arctium lappa Linne* showed neither significant improvement on skin lesions nor in IL-4 and INF- γ measurement.

Key words : Atopic dermatitis, *Arctium lappa Linne*, Nc/Nga mice, DNFB

1. 서론

알레르기 질환인 아토피 피부염이란 심한 소양감, 홍반, 부종, 삼출과 부스럼딱지를 특징으로 하는 습진성 피부질환을 나타내는 만성 재발성 염증성 질환으로 1930년대 Wise & Sulzberger에 의해 처음 제안되었다¹. 발병원인은 여러 가지 요인이

관련되는데 적어도 50% 이상에서 유전적 소인이 있으며 여러 가지 면역학적 이상이 함께 동반되며, 이상 약물 반응, 미생물의 감염 및 주위의 환경물 질들에 의해 유발 또는 악화되는 것으로 생각된다. 최근 아토피 피부염이 알레르기 천식, 비염 등의 다른 알레르기 질환에 선행한다는 여러 증거들이 제시되고 있으며 이는 아토피 피부염의 초기치료가 다른 알레르기 질환의 진행과 치료에 중요하다고 볼 수 있다².

한의학에서 아토피 피부염은 奶癬, 胎癬, 淫瘡, 濕疹, 濕瘡, 四馬風 등의 범주에서 살펴볼 수 있다³.

· 교신저자: 정승기 서울시 동대문구 회기동 1번지
경희의료원 부속한방병원 한방5내과 의사실
TEL: 02-958-9147 FAX: 02-958-9148
E-mail: jskes@gmail.com

주로 어머니가 임신 중에 五辛灸燔을 섭취함으로써 아기에게 熱이 전해져 생후에 風熱邪氣를 감수하여 발생하거나 혹은 稟性不耐하여 脾胃不和하니 濕熱이 内生하여 발생한다고 하였다. 또한 이외에도 消化不良, 食物過敏, 衣服摩擦 등의 자극에 의해서도 유발된다고 보았다⁴. 따라서 한의학적 치료 접근으로는 濕熱内生과 風熱之邪의 外犯을 아토피 피부염의 주원인으로 보고 健脾利濕, 祛風清熱, 涼血潤燥의 처방을 위주로 하고 있다⁴.

牛蒡子(Arctii Fructus)는 해표약 중 發散風熱藥에 분류되며 국화과 우영의 성숙한 과실로 性은 涼, 味는 辛하며 消散風熱, 利咽散結, 解毒透疹의 효능을 갖고 있다⁵. 消散風熱하는 효능으로 外感風熱로 인한 咳嗽, 咯痰不利, 咽喉腫痛 등 증상을 치료하는 常用藥이 되고, 宣肺透疹하는 효능으로 癩疹초기에 透發不暢하거나 風熱로 인한 癩疹瘙癢을 치료한다. 또한 解毒利咽하는 효능으로 熱毒으로 인한 瘡腫, 咽喉腫痛, 疔腮 등을 치료하는 要약이 된다⁵.

牛蒡子の 항알레르기 효과에 대한 연구로는 俞⁶ 등은 우방자 물 추출액이 알레르기 관련 사이토카인 전사능을 억제하고 염증 중개물질의 분배를 억제함으로써 다양한 알레르기성 질환치료에 사용 가능하다고 보고한바 있다.

이에 본 연구에서는 牛蒡子が 아토피 발진 억제에 미치는 영향을 실험적으로 규명하고자 in vivo에서 DNFB 처리된 NC/Nga mice에게 우방자를 경구 투여하여 투약 전후의 Behavior를 관찰 비교하였다. 염증 유발된 등 조직을 떼어내 알레르기 반응의 중요한 지표인 IL-4와 IFN- γ 의 RNA 발현 변화를 RT-PCR로 분석하여 牛蒡子の 항 알레르기 반응을 관찰한 결과를 보고하는 바이다.

II. 재료 및 방법

1. 재 료

1) 약 재

본 실험에 사용된 牛蒡子(Arctii Fructus: AF) 물 추출 건조 엑스 분말은 Sun Ten Pharmaceutial (Taipei, Taiwan)에서 생산한 약재로 경희대학교 한의과대학 생리학 교실에서 제공받아 사용하였다.

2) 실험동물

생후 11-20주령의 수컷 NC/Nga mice(대한바이오, Korea)를 온도가 25±1℃, 습도 50±10% 유지되는 동물 사육실에 두었으며 사료(PMI Nutrition, USA)와 물은 충분히 주었다. 밤과 낮 조절을 위해서 오전 8시에 조명을 켜서 오후 8시에 조명을 끄는 것을 원칙으로 삼았다. 무게는 약 30g 정도로 다른 mice들에 비해 IgE항체가 높은 수준을 유지하고 있어 쉽게 알레르기를 일으키고 피부병 유발이 용이하였다. 모든 실험은 경희대학교 동물윤리위원회의 지침에 따라 이루어졌다.

3)시 약

Dexamethasone (Dex) (Sigma, USA), 2,4-dinitrofluorobenzene (Sigma, USA), Acetone (MERCK, Germany), Distilled water, Ex Taq buffer (Takara, Japan), dNTP (Takara, Japan), Ex Taq DNA polymerase (Takara, Japan), RiboEx_columnTM Total RNA (Geneall, Korea) Random primer (Invitrogen, USA), M-MLV Reverse Transcriptase (molony murine leukemia virus reverse transcriptase, Invitrogen, USA), 10mM dNTP (deoxy-nucleotide tri-phosphate, Takara, Japan), 100mM DTT (Invitrogen, USA), DEPC (diethyl pyrocarbonate, Invitrogen, USA)

2. 실험 방법

1) DNFB에 의하여 유발된 피부염

NC/Nga mice는 무균상태에서 DNFB를 국부에 반복하여 도포하면 AD-like skin lesions을 나타내는 것으로 알려져 있다. 염증 유발의 전처리 과정으로 우선 acetone/DNFB 용액(DNFB 농도 0.15%) 100 μ l를 1주간 3회(월, 수, 금), 1일 1회, NC/Nga mice의 배 부위에 도포해주었다. 전처리 과정을 마친 1주일 후 다시 acetone/DNFB 용액(DNFB 농

도 0.15%) 50 μ l를 1주간 3회(월, 수, 금), 1일 1회, NC/Nga mice의 등 부위에 발라주었다.

2) DNFB에 의한 AD(Allergic Dermatitis)-like skin lesions 유발 후 군 실험동물은 아래와 같이 각각 5마리씩 3군으로 분류하였으며 각 군의 실험동물은 사료와 물을 충분히 공급하였다.

- (1) 대조군 : 아무런 약물처치를 하지 않은 군.
- (2) Dex군 : Dexamethasone 1mg/kg 경구 투여 군.
- (3) 牛蒡子군: 牛蒡子 300mg/kg 경구 투여 군.

3) 약물의 투여방법

피부염 유발을 위한 DNFB 처리 2주 후, 육안으로 피부염을 확인하여 대조군을 제외한 두 군에는 각각 dexamethasone(1mg/kg), 牛蒡子(300mg/kg)을 1주간 매일 1회 경구 투여하였다. 試藥의 용해를 위해 3차 증류수를 사용하였으며 100% 용해가 쉽지 않아 vortex를 사용하여 최대한 녹인 후 원심 분리하여 상층액 만 경구투여 시켰다. 경구방법은 끝이 호스로 된 주사기를 사용하여 최대한 실험동물의 식도 끝부분까지 밀어 넣어 시약을 천천히 주입하였다.

4) Itching behavior 관찰

약물의 경구 투여와 동시에 세 군의 itching behavior를 1주 동안 관찰하였다. 쥐들이 야행성인 것을 감안하여 매일 오후 4시-6시 사이에 실시하였으며 한 마리당 10분씩 관찰하였다. 결과는 긁는 횟수와 긁을 때 사용하는 부위를 관찰하여 기록하였다. 긁는 기준은 2초 이상 긁어야 하며, 긁을 때 사용하는 부위는 크게 7부위로 관찰하였다.

- (1) 입
- (2) 손
- (3) 발
- (4) 입, 손
- (5) 입, 발
- (6) 손, 발
- (7) 입, 손, 발

5) 등 조직에서의 RNA 추출 및 RT-PCR

실험동물들을 모두 희생시킨 후 등 피부 조직만

을 잘라 RiboEx_columnTM Total RNA (Geneall, Korea)제품을 사용하여, 정해진 방법에 따라 RNA를 분리하였다. 분리 후 전기영동을 통해서 RNA band를 확인하였고, spectrophotometer (Beckman, USA)를 사용하여 RNA 순도를 확인하고 정량하였다.

6) cDNA 합성 및 RT-PCR

cDNA 합성 및 RT-PCR (Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction) 과정은 다음과 같다. 분리한 RNA의 cDNA 합성을 위해 Random primer (Invitrogen, USA), M-MLV Reverse Transcriptase (molony murine leukemia virus reverse transcriptase, Invitrogen, USA), 10mM dNTP (deoxy-nucleotide tri-phosphate, Takara, Japan), 100mM DTT (Invitrogen, USA), DEPC (diethyl pyrocarbonate, Invitrogen, USA)를 각 시간대 별, 같은 양으로 정량되어 있는 RNA 1 μ l를 기준으로 전체 용량이 20 μ l가 되도록 첨가하여 PCR 기기 (TP-600, Takara, Japan)에 넣고 37 $^{\circ}$ C에서 1시간, 94 $^{\circ}$ C에서 10분 동안 반응시켜 cDNA를 합성하였다. 합성 후, IL-4와 IFN- γ primer를 이용하여 각 시간별로 RNA의 전사율을 비교하였다. 전사율은 internal control인 β -actin의 전사율을 기준으로 비교 하였으며 PCR의 조건은 94 $^{\circ}$ C에서 5분간 전 변성작업 후, 94 $^{\circ}$ C에서 45초간 변성시켰다. 62 $^{\circ}$ C에서 1분간 Primer를 결합 시킨 후, 72 $^{\circ}$ C에서 45초간 신장반응을 수행하였다. 이와 같은 반응을 30회 반복하고 72 $^{\circ}$ C에서 10분간 마지막 신장반응을 거친 후 4 $^{\circ}$ C에 저장하였다. cDNA 합성을 위한 조성과 PCR 조성은 다음과 같다.

Table 1. Composition of RT-PCR and PCR

cDNA mixture		PCR mixture	
5x buffer	4.0 μ l	10x buffer	5.0 μ l
10mM dNTP	1.0 μ l	2.5mM dNTP	5.0 μ l
100mM DTT	2.0 μ l	forward primer	1.0 μ l
random primer	1.0 μ l	reverse primer	1.0 μ l
M-MLV	0.2 μ l	Taq DNA polymerase	0.5 μ l
Total RNA +DEPC water	11.8 μ l	cDNA+DEPC water	37.5 μ l
total volume	20.0 μ l	total volume	50.0 μ l

* dNTP : deoxy-nucleotide tri-phosphate
 * DTT : dithiothreitol
 * M-MLV : molony murine leukemia virus reverse transcriptase
 * DEPC : diethyl pyrocarbonate

Table 2. List of primers

Primer (product size)	Sequence
β -Actin(245 bp)	
Sense	5' GTG GGC CGC GCA CCA 3'
Antisense	5' CGG TTG GCC TTA GGG TTC AGG GGG G 3'
IL-4(279 bp)	
Sense	5' ACG GAG ATG GAT GTG CCA AAC GTC 3'
Antisense	5' CGA GTA ATC CAT TTG CAT GAT GC 3'
IFN- γ (405 bp)	
Sense	5' TAC TGC CAC GGC ACA GTC ATT GAA 3'
Antisense	5' GCA GCG ACT CCT TTT CCG CTT CCT 3'

7) Itching behavior에 대한 통계적 처리
 결과는 평균 \pm SEM으로 나타내었고, Bonferroni's Multiple Comparison Test를 포함한 One way ANOVA test로 유의성을 측정하였다. 통계 분석은 GraphPad Prism 4 program (for windows)으로 수행하였으며, 통계적 유의성 차이는 Control과 비교하여 *; p< 0.05, **; p<0.01 로 정의하였다.

III. 결과

1. 등 부위의 AD-like skin lesions의 호전효과

2주간의 연구에서 지속적으로 DNFB를 도포한 NC/Nga mice는 증상의 악화를 보였으며 이들을 다시 세군으로 나누어 대조군, 1주간 Dex군, 1주간 牛蒡子군 간의 AD-like skin lesions의 호전효과를 비교하였다. 그 결과 牛蒡子군에서는 대조군에 비하여 피부염 회복 효과가 거의 관찰되지 않았다 (Fig. 1-3).



Fig. 1. Effects of DNFB on NC/Nga mice

A, B; duplicate experiments, before; After 2weeks of applying DNFB, after; 1 week after no medication



Fig. 2. Effects of Dexamethasone on NC/Nga mice treated with DNFB

A, B; duplicate experiments, before; After 2weeks of applying DNFB, after; oral administration of dexamethasone(1mg/kg)(1 week)

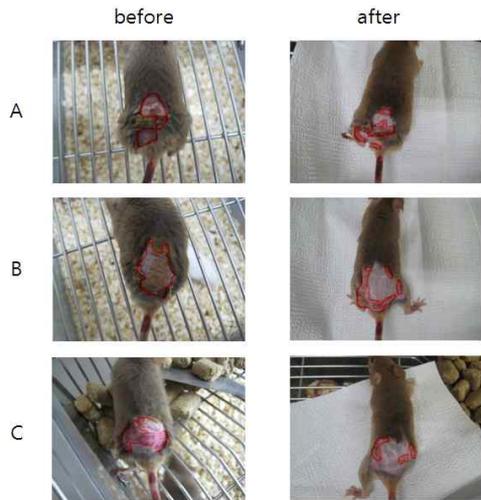


Fig. 3. Effects of Arctii Fructus on NC/Nga mice treated with DNFB(Arctii Fructus group)

A, B, C; duplicate experiments, before; After 2weeks of applying DNFB, after; oral administration of Arctii Fructus(300mg/kg)(1 week)

2. Itching behavior 억제 효과

1) 대조군, Dex군, 牛蒡子군에서의 긁는 횟수 비교

DNFB로 AD-like skin lesions을 유발시킨 Nc/Nga mice의 긁는 횟수를 대조군, dex군, 牛蒡子군에서 비교한 결과 긁는 횟수가 대조군에 비해 dex군과 牛蒡子군에서 유의하게 감소한 것을 볼 수 있었다. 따라서 본 실험 결과는 DNFB로 AD-like skin lesions을 유발시킨 Nc/Nga mice에서 牛蒡子군의 경우 소양감이 대조군에 비해 50%정도 감소하였으며 이는 牛蒡子が 아토피피부염의 특징적인 증상 중 하나이며 진단의 필수 요소인 소양감 억제에 유의한 효과를 보였음을 나타내준다.

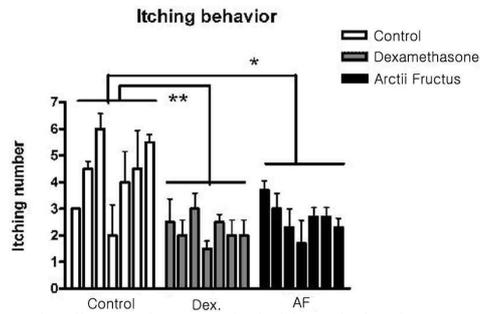


Fig. 4. Comparisons of Itching behavior among three different groups.

Itching behavior of each mouse in each group was checked every day for 10minutes for one week. Considering its nocturnal characteristic its behavior was checked from 4 to 6 pm.

2) 대조군, Dex군, 牛蒡子군에서의 긁는데 사용하는 부위의 비교

긁는 부위를 크게 7부위로 나누어 더 많은 부위를 사용하여 동시다발적으로 긁은 쥐의 경우 소양감이 더 심하다고 판단하였다. 각 그룹 간 나누어서 조사한 결과 세 군 모두 주로 입을 가장 많이 사용하였으며 유의성 있는 결과를 얻지 못하였다. 결국 긁는데 사용하는 부위와 소양감의 정도의 상관관계는 크게 의미가 없다고 생각된다.

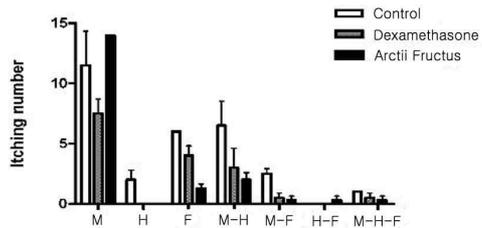


Fig. 5. Comparisons of use of different parts during itching behavior.

They were divided into 7 different parts ; 1. mouth, 2. finger, 3. toe, 4. mouth & finger, 5. mouth & toe, 6. finger & toe 7. mouth & finger & toe

* Control Group: No medical treatment was given.

* Dexamethasone Group: Dexamethasone (1mg/kg) was taken by mouth for a week.

* Arctii Fructus Group: Arctii Fructus (300mg/kg) was taken by mouth for a week.

3. IL-4 발현량 억제효과

미리 제작되어있는 IL-4를 사용하여 RT-PCR을 수행하여 IL-4 발현량을 확인한 결과 Dex군, 牛蒡子군 모두에서 대조군과 비교하여 IL-4 발현량의 억제 효과가 관찰되지 않았다.

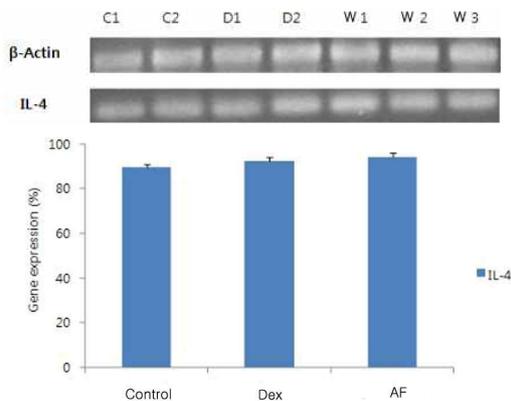


Fig. 6. RT-PCR analysis of IL-4 in NC/Nga mice

β -Actin was used as a control and no significant difference was found among three groups. C; control group, D; dexamethasone group, W; Arctii Fructus group.

- * Control Group: No medical treatment was given.
- * Dexamethasone Group: Dexamethasone (1mg/kg) was taken by mouth for a week.
- * Arctii Fructus Group: Arctii Fructus (300mg/kg) was taken by mouth for a week.

4. IFN- γ 발현량 억제효과

미리 제작되어 있는 IFN- γ 를 사용하여 RT-PCR을 수행하여 IFN- γ 발현량을 확인한 결과 Dex군, 牛蒡子군 모두에서 유의한 IFN- γ 발현량억제 효과가 관찰되지 않았다.

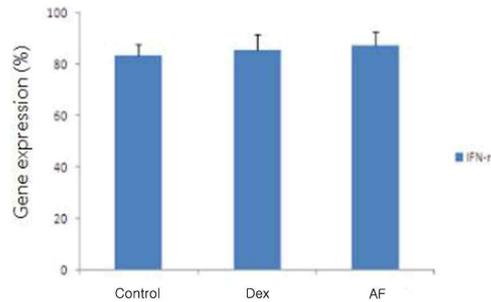
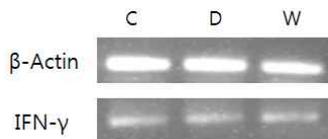


Fig. 7. RT-PCR analysis of IFN- γ in NC/Nga mice

β -Actin was used as a control and no significant difference was found among three groups. C; control group, D; dexamethasone group, W; Arctii Fructus group

* Control Group: No medical treatment was given.
* Dex group: Dexamethasone(1mg/kg) was taken by mouth for a week.

* AF group: Arctii Fructus(300mg/kg) was taken by mouth for a week.

IV. 고찰

아토피 피부염은 사람, 특히 어린이들에게 빈발하는 면역과민반응으로 산업화와 더불어 지속적으로 발생이 증가하고 있는 알레르기성 질환이다⁷.

아토피 피부염의 병태 생리에 관하여는 IgE가 매개하는 알레르기 질환인지, 세포 매개성 면역 반응이 관여하는지에 대한 이론이 아직 확립되어 있지 않다. 그러나 다른 알레르기 질환과 마찬가지로 다인성 유전 양식에 의한 것으로 사이토카인 유전자의 활성화 뿐 아니라 기타 밝혀지지 않은 유전자에 의한 생성물질들이 복합적으로 관여하는 것으로 생각 된다⁸.

아토피피부염은 심한 소양증과 연령에 따라 특징적인 임상 단계를 보이는 것이 중요한 소견이다. 피부 병변은 소양증과 함께 홍반성 구진, 찢과상, 수포 및 장액성의 삼출액과 가피를 보이는 급성기 병변을 보이다가, 홍반성의 박탈성 구진과 인설을 보이는 아급성 병변을 보이게 된다. 진행되면서 피부가 두꺼워지고 주름이 뚜렷해지는 태선화 현상

을 보이는 만성 병변을 보이게 된다⁸. 주로 성인에서는 굴측부의 태선화를, 유소아에서는 얼굴과 신측 병변을 특징으로 하며 환자의 60%가 1세에, 90%가 5세 사이에 증상이 시작된다. 주로 3-5세경에 회복되는 경향이 있으며 대부분 5세가 되면 증상이 호전되지만 일부에서는 전두와 및 슬와, 손목, 귀의 뒷면, 얼굴과 목에 약간의 습진이 남기도 한다. 아토피 피부염의 정도가 심하거나 가족력이 있는 소아, 기관지 천식이나 알레르기성 비염을 동반한 경우, 1세 이전에 증상이 나타난 경우와 여아에서는 예후가 좋지 않아서 30-40세까지 완화 지연되는 수가 있다⁸.

서양의학에서는 아토피피부염의 치료로 우선 악화요인 회피 및 제거, 피부 보습요법, 광선요법 등의 보존적인 치료요법이 있으며, 국소 스테로이드 제제의 사용, 비스테로이드성 국소 도포용 면역억제제, antihistamine, 혹은 아토피성 피부염 환자의 경우 농가진, 절두종, 봉와직염, 단순포진, 전염성 연속종, 백선 등의 2차 감염을 대비해 항생제, 항진균제, 항바이러스제등이 쓰이기도 한다. 현재까지 아토피성 피부염의 가장 중요한 관리는 예방으로 알려져 있고 아토피피부염의 대표적 치료제로 알려진 스테로이드의 부작용이 심각하고 증상 또한 다양하여 아직도 “완치”라는 병이라기보다는 “조절”되는 병이라고 볼 수 있겠다⁸.

한의학에서 아토피 피부염은 奶癬, 胎癬, 淫瘡, 濕疹, 濕瘡, 四馬風 등의 범주에서 살펴볼 수 있다³. 《金櫃要略》⁹에서 浸淫瘡이라고 기술한 以來로 《諸病源候論》¹⁰에서는 小兒의 面部에 癬皮가 甲錯되고 乾燥하게 되는 것을 乳癬이라 하였고, 《外科正宗》¹¹에서는 胎中에 母가 五辛을 먹고 그 熱이 胎兒로 가서 發하는 것을 奶癬이라 하여 음식물과 유전적 요인을 모두 원인으로 보았으며, 《外科大成》¹²에서는 四彎風으로 腿彎脚彎에 生하고, 一月에 一發하고, 가려움이 참기가 힘들며, 그 形이 風癬과 같고, 긁어 破하여 瘡를 이룬다고 하였으며, 吳謙의 《醫宗金鑑》¹³에서는 奶癬을 胎斂瘡이라하

여 가려워 白屑이 일어나는 乾斂과 가려움이甚하여 黃水가 浸淫하여 퍼져가는 濕斂으로 나누어 說明하여 오늘날 아토피 피부염과 가장 類似하게 表現하고 있다.

한의학에서는 아토피 피부염이 風, 濕, 熱이 조합되어 발생하는 것으로 인식하였고, 經絡學說 및 痰飲說을 인용하여 치료 면에서도 脾胃를 중요시 하였다. 蔡¹⁴는 아토피피부염을 濕熱型, 燥熱型으로 나누어 설명하였는데 濕熱型의 경우 영유아에 귀속시켰으며 脾胃氣虛로 인해 濕熱의 邪氣를 쉽게 감수하여 胃의 痰飲이 일어나고 脾胃의 건전한 기능이 손상을 입은 체질 허약한 소아가 외부의 영향을 받아 腠理에 濕熱型을 일으킨다고 하였다. 燥熱型의 경우 유,성인형 아토피 피부염에 귀속시켜 선천적으로 허약한데다 脾의 건전한 運化기능을 상실한 사람이 濕熱邪가 內에 발생하면 風熱邪가 피부에 침윤해서 발생한다고 하였다.

牛蒡子是 국화과에 속한 2년생 초본인 우엉 *Arctium lappa* L.의 성숙한 과실을 건조한 것으로⁵, 名醫別錄¹⁵에 최초로 수록된 이래 消散風熱, 宣肺透疹, 利咽散結, 解毒消腫 등의 효능으로 사용되어 왔다¹⁶. 주로 風熱咳嗽, 咽喉腫痛, 斑疹不透, 風疹瘙癢, 瘡瘍腫毒 등의 증상을 치료하는데 응용되고 있으며⁵, 우방자의 처방 응용으로는 銀翹散, 清咽利膈散, 鼠粘子解毒湯과 普濟消毒飲 등이 있다¹⁶.

이처럼 우방자가 癩疹, 風疹, 丹毒, 擁腫, 瘡毒 등의 피부 증상과 咳嗽痰多, 咽喉腫痛, 疔腮 등의 염증성 호흡기 질환에 사용되어⁵, 알레르기 질환에도 유효하게 응용할 수 있을 것이라 생각된다. 실제로 유⁶ 등은 “우방자의 항알러지 효과에 대한 연구”에서 면역조절 작용의 이상으로 인식되고 있는 알레르기에 대한 우방자 물 추출액을 試科로 알레르기 주요 기전에 관여하는 cytokine, IgE 생성 및 히스타민 유리에 대한 경향을 살펴본 결과 IL-4, IL-5의 유의한 감소와, IgE 생성과 히스타민 유리 억제효과를 나타내었다고 보고한 바 있다⁶. 그 밖에 남¹⁷ 등은 “우방자가 항알러지 염증반응에 미치

는 영향”에서 우방자가 염증 사이토카인을 억제함으로써 항알러지 염증효과가 있다고 밝힌 바 있다. 또한 “우방자의 추출조건에 따른 Linoleic Acid의 정량 연구”에서 조¹⁸ 등은 牛蒡子の 경우 유기용매 추출한 경우 linoleic acid의 성분 함량이 최대치로써 피부 표피에 대한 정상적인 층상 구조 유지에 중요한 역할을 하는 linoleic acid 성분과 우방자의 상관성은 매우 밀접하다고 보고하였다.

본 연구에서는 여러 논문에서 항 알레르기 염증 반응에 유의한 효과를 입증한 牛蒡子が 아토피 피부염에 미치는 영향에 대해 알아보려고 실험을 시행하였다.

본 논문과 유사한 실험방법을 통한 논문들 중 이²⁰는 “淸熱潤膚湯이 DNFB로 유발된 알레르기 피부염에 미치는 효과”란 논문을 통해 DNFB로 유발된 NC/Nga mice의 아토피 피부염에 대한 淸熱潤膚湯의 유의한 효과에 대해 보고한 바 있다. 이 외에 복합처방을 이용한 실험 논문으로 當歸飮子加味方과 外治方¹⁹을 투여한 자연발생적 NC/Nga 생쥐의 아토피 피부염을 관찰한 연구가 있으며, 溫淸飮과 三黃洗劑加味方²¹, 當歸飮자와 三黃洗劑加味方²²을 투여한 DNCB 유발성 NC/Nga 생쥐의 아토피 피부염을 관찰한 연구가 있다. 또한, 단일 한약재를 이용한 논문으로 백²³은 “DNCB로 자극한 NC/Nga 생쥐에서 丹蔘의 아토피 억제 효과”란 논문에서 丹蔘을 투여한 DNCB 유발성 NC/Nga 생쥐의 아토피 피부염을 관찰하여 유의한 연구 결과를 보고 한 바 있다.

이에 저자는 牛蒡子の 아토피 피부염에 대한 효과를 관찰하기 위하여 NC/Nga mice에 DNFB 용액을 (Acetone/DNFB, DNFB 농도 0.15%) 처리하여 아토피 피부염을 유발 시킨 후 대조군과, Dexamethasone 투여 군과 우방자 투여군으로 나누어 itching behavior의 측정과 조직에서의 RNA 추출 및 RT-PCR 시행 후 IL-4 발현량과 IFN- γ 발현량의 변화를 관찰하였다.

Itching은 여러 종류의 피부병, 특히 아토피 피

부염에 있어서 특징적인 증상 중 하나로 소양감은 아토피 피부염을 진단하는 필수 요소 중 하나다. “화피의 NC/Nga mice에서의 아토피 피부염 양상의 피부병변 발전에 대한 억제효과”에서 김²⁴ 등은 발톱으로 피부를 긁는 요인이 IgE 농도 증가 혹은 비만 세포 수의 증가 등 다양한 면역학적 반응을 증가시킴으로 피부염을 야기하게 되는 가장 중요한 요소라고 보고한 바 있다. 이러한 이유 때문에 소양감의 조절이 다양한 면역반응을 감소시킴으로써 결과적으로 아토피 피부염을 억제시킨다고 밝히며 소양감과 아토피 피부염의 중요한 상관관계에 대하여 언급하고 있다²⁴.

본 실험에서 dexamethasone 투여군, 우방자 투여군과 대조군을 일주일 동안 소양감 반응(Itching behavior)을 비교 관찰한 결과 dexamethasone 투여군(p<0.01)과 牛蒡子 투여군(p<0.05)의 경우 대조군에 비해 유의한 감소 효과를 나타내었다(Fig. 4). 牛蒡子 투여군에서 대조군에 비해 소양감이 50% 가량 감소하여 소양감의 효과적인 억제를 나타냈는데 이는 牛蒡子が 아토피 피부염에 유의한 효과를 나타낸 것으로 생각된다. 반면에 소양감 반응을 관찰하는데 있어서 mice의 긁는 부위(입, 손, 발, 입/손, 입/발, 손/발, 입/손/발)에 따라 더 많은 부위를 동시다발적으로 사용하여 긁으면 그만큼 소양감이 심한 것으로 간주하고 세 그룹 간 긁을 때 사용하는 부위를 나누어 살펴 비교한 결과 상관관계가 없는 것으로 나타났다(Fig. 5).

NC/Nga mice는 무균환경에서 DNFB를 국부에 반복 도포하면 AD-like skin lesions을 나타내는 것으로 알려져 있다²⁰. 본 실험에서는 牛蒡子の 아토피 피부염에 대한 효과를 관찰하기 위하여 NC/Nga mice를 이용하였으며 2주간의 실험에서 DNFB를 지속 도포한 NC/Nga mice는 AD-like skin lesions 증상을 악화시켰다. DNFB 도포와 함께 牛蒡子(300mg/1kg)를 1주간 경구 투여한 NC/Nga mice에서는 AD-like skin lesions이 다소 억제되는 소견을 보이긴 하였지만(Fig. 3) 대조군(Fig. 1)과 비교

하였을 경우 그 호전 정도에 큰 차이가 없었으므로 牛蒡子の 경구투여가 AD-like skin lesions에 유의한 결과는 나타나지 않았다. Fig. 3A를 살펴보면 牛蒡子(300mg/1kg)를 경구투여하기 전에 NC/Nga mice 등조직의 혈흔과 부스럼딱지, 표피 박리 등을 볼 수 있는데 투여 후에도 혈흔과 단단한 가피 형성은 아직도 남아있는 것을 관찰 할 수 있겠다. Fig. 3B의 경우 역시 牛蒡子(300mg/1kg) 투여 후에도 등 조직 가장자리의 뚜렷한 혈흔을 관찰할 수 있으며, Fig. 3C의 경우 투여 후 혈흔이나 부스럼딱지가 약간 감소하였지만 대조군(Fig. 1)과 비교하였을 때 牛蒡子の 투여가 AD-like skin lesions에 유의한 변화는 관찰되지 않았다. Fig. 2의 경우는 dexamethasone (1mg/kg) 투여 전후 사진을 나타내는데 dexamethasone (1mg/kg) 투여 후의 경우가 투여 전에 비해서 가피 형성이나 표피박리 등에서 호전 양상을 보였으며 이는 牛蒡子の 경우보다 AD-like skin lesions의 억제에 더 효과적이었던 것으로 생각된다. 牛蒡子が AD-like skin lesions에 크게 효과적이지 못하였던 이유는 이²⁰는 7일간격으로 5회에 걸쳐 DNFB를 처리하였으나 본 실험에서는 이나가끼²⁵ 등의 방법을 사용하여 1주간 3회에 걸쳐 아토피를 유발하였다. 본 실험에서 나타난 결과는 DNFB의 용량과 도포횟수의 차이로 인하여 과도한 병변 유발이 일어났을 가능성이 있으며, 과도한 병변에 비해 적은 양의 우방자를 사용해서 cytokines들에서의 변화가 관찰되지 못했을 것으로 생각된다. 따라서 우방자의 적절한 용량에 대한 연구가 더 필요하다고 하겠다. 우방자를 단독으로 사용하는 대신 다른 發散風熱之劑 혹은 清熱解毒之劑 등을 같이 써주었으면 더 효과적이었을 것으로 예상된다. 아울러 향후 연구에서는 더 많은 case와 장기간의 관찰을 필요로 할 것으로 생각된다.

인간의 비만세포는 TNF- γ , IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-13 등의 cytokine들을 만들어 내는데, 이들 cytokine들은 neutrophil과 eosinophil을 모으는

역할을 하며, 염증 반응을 일으키는데 중요한 역할을 한다. 이중 IL-4는 T세포, NK세포, 비만세포, 호염기구, 호산기구에서 분비되며, 알레르기에 매우 본질적인 역할을 하는 사이토카인으로 알레르기 반응의 유발, B세포의 분화와 증식, IgE의 생성 등에 관여하여 염증 반응 분비 물질로 천식 유발과 아토피 발생에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다²⁶. 본 연구에서는 쥐의 등에서 채취한 조직으로 RT-PCR을 수행한 결과 IL-4의 발현량은 牛蒡子를 투여한 군, dexamethasone을 투여한 군, 대조군, 세 그룹 모두에서 대조군에 비해 유의성 있는 결과를 얻지 못하였다(Fig. 6).

유사 실험에서 IL-4 발현량을 관찰한 결과를 살펴보면 “清熱潤膚湯이 DNFB로 유발된 알레르기 피부염에 미치는 효과”²⁰에서 DNFB+CY 500mg/kg 처치군에서 IL-4발현량이 오히려 증가함으로 清熱潤膚湯은 림프절에서 채취하여 활성화 시킨 IL-4의 발현량을 유의성 있게 억제하지 못하였다. 반면에 當歸飮子加味方과 外治方¹⁹에서 혈청에서 채취한 IL-4 발현량을 관찰하여 그 결과 유의성 있는 감소를 보였으며, 當歸飮子와 三黃洗劑加味方²¹의 실험에서도 혈청 IL-4 발현량을 관찰하여 유의성 있는 감소를 보였다.

최근 Th1형 cytokine인 IFN- γ 가 AD-like skin lesions의 만성화를 결정짓는데 중요한 역할을 한다는 연구들이 지속 보고되고 있으며²⁶, 만성 아토피 피부염 환자에서 알레르겐에 특이하게 반응하는 피부침투성 T세포가 IFN- γ 단백질을 분비하는 것으로 보고되었다²⁷. 또한 화학물질 접촉으로 인한 알레르기 반응과 같은 지연형 과민성 반응은 Th1형 세포가 주로 관여하며 본 실험에서 사용된 화학물질인 DNFB의 유발성 접촉성 피부염 반응은 T세포가 증개한 염증반응으로 Th1형 세포의 활성화와 깊이 관련된 면역반응이므로 Th1형 cytokines인 IFN- γ 발현량의 감소는 DNFB 유발성 NC/Nga mice의 AD-like skin lesions의 억제효과를 나타내는 중요한 의미가 된다.

본 연구에서는 쥐의 등에서 채취한 조직으로 RT-PCR을 수행한 결과 IFN- γ 의 발현량은 牛蒡子군, Dex군, 대조군, 세 그룹 모두에서 대조군에 비해 유의한 결과를 관찰하지 못하였다(Fig. 7). 그러므로 牛蒡子를 단독으로 사용하였을 경우 DNFB로 유발된 염증반응을 유의하게 억제하지 못하였다.

우방자는 알레르기 피부염의 주요 임상증상인 itching과 관련하여 유의한 감소효과가 나타나 알레르기 피부염의 치료약으로 사용할 수 있는 근거를 제시하였다. 그러나 이러한 감소효과와 관련된 기전에서 IL-4나 IFN- γ 와는 무관한 것으로 결과를 보였다. 그러나 앞서 언급하였듯이 case와 추적 관찰 기간이 짧았기 때문에 향후 더 많은 연구가 필요할 것으로 생각된다. DNFB 유발 염증의 다른 기전에 대한 연구가 필요할 것으로 예상된다.

V. 결론

牛蒡子の 아토피피부염에 미치는 효능을 알아보기로 하자 NC/Nga mice에게 DNFB를 2주간 지속적으로 처치하여 피부염을 유발시킨 후 NC/Nga mice의 등 부위 AD-like skin lesions의 호전효과, 소양감 반응, RT-PCR을 통한 IL-4와 IFN- γ 발현량을 비교 관찰 하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 등 부위의 atopy dermatitis-like skin lesions에 대한 牛蒡子の 치료 효과는 없었다.
2. Itching behavior 검사에서 牛蒡子는 유의한 감소 효과가 관찰되었다.
3. 등 조직에서 RNA 추출 및 RT-PCR을 수행한 결과 牛蒡子の IL-4 발현량에 대한 억제 효과가 관찰되지 않았다.
4. 등 조직에서 RNA 추출 및 RT-PCR을 수행한 결과 牛蒡子の IFN- γ 발현량에 대한 억제 효과가 관찰되지 않았다.

참고문헌

1. 이선영. 아토피성 피부염의 진단과 치료. 가정의학회지. 2004;25(11):106-11.
2. 김정희. 아토피피부염의 최신지견. 소아알레르기 및호흡기학회지. 2004;14(1):12-23.
3. 공남미, 지선영. 아토피피부염의 양한방적 고찰. 대한외관과학회지. 1999;12:241-53.
4. 江育仁, 張奇文. 實用中醫兒科學. 상해: 상해과학기술출판사; 1995, p. 760-2.
5. 전국한외과대학 공동교재편집위원회 편저. 본초학. 서울: 영림사; 2004, p. 181-2.
6. 유한전, 김성동, 김동희. 우방자의 항알러지 효과에 대한 연구. 대한본초학회지. 2001;16(1):111-28.
7. 이승혜, 백성진, 김형아, 허용. 마우스에서 2,4-Dinitrochlorobenzene을 이용한 아토피성 피부염 발현 관련 면역지표치 분석. J. Toxicol. Pub. Health. 2006;22(4):357-64.
8. 대한 소아알레르기 호흡기학회. 소아 알레르기 호흡기학. 서울: 군자 출판사; 2005, p. 145-73.
9. 宋書功 編著. 金櫃要略廣州教典. 北京: 人民衛生出版社; 1994, p. 221-5.
10. 巢元方 編著. 巢氏諸病源候論. 서울: 大成文化社; 1992, p. 251-3.
11. 陳實功. 外科正宗. 上海: 上海科學技術出版社; 1989, p. 30-4.
12. 祁坤. 外科大成. 臺北: 文光圖書有限公司; 1987, p. 198, 365.
13. 吳謙. 醫宗金鑑(下). 北京: 人民衛生出版社; 1982, p. 443-4, 451-2.
14. 노병윤. 피부과의 한방치료. 서울: 일중사; 1991, p. 68-71.
15. 내기, 사문진. 중한명의별록. 고종: 국제서국; 1977, p. 91.
16. 국가중의약관리국. 중화본초. 상해: 상해과학기술출판사; 1999, p. 653-5.
17. 남지영, 김덕곤, 이진용. 우방자가 항알러지 염

- 증반응에 미치는 영향. 대한한방소아과학회지. 2006;20(1):241-55.
18. 조윤희, 성경화, 이은주, 안덕균, 박성규. 우방자의 추출조건에 따른 Linoleic Acid의 정량 연구. 대한본초학회지. 2002;7(2):11-7.
 19. 김성훈, 최정화, 김종환, 박수연. 當歸飲子加味方과 외치방 병용이 NC/Nga 아토피 생쥐에 미치는 영향. 한방안이비인후피부과학회지. 2005;18(1):27-49.
 20. 이경기, 김진주, 정희재, 정승기. 청열윤부탕이 DNFB로 유발된 알레르기 피부염에 미치는 효과. 대한한방내과학회지. 2008;29(3):730-41.
 21. 홍철희. 溫清飲과 三黃洗劑加味方 병용이 NC/Nga 아토피 생쥐에 미치는 영향. 동의생리병리학회지. 2007;21(3):679-87.
 22. 송성필. 當歸飲子와 三黃洗劑加味方 병용이 NC/Nga 아토피 생쥐에 미치는 영향. 동의생리병리학회지. 2006;21(5):1210-8.
 23. 백윤하. DNCB로 자극한 NC/Nga 생쥐에서 단삼의 아토피 억제 효과. 경원대학교 박사학위논문. 2006.
 24. 김의철, 송일현, 홍은기, 박영철, 이주일, 이형석, 민병일. 화피의 NC/Nga mice 에서의 아토피 피부염 양상의 피부병변 발전에 대한 억제효과. 대한한방내과학회지. 2006;fal(1):1-11.
 25. Naoki Inagaki, Noriko Shiraishi, Katsuhiko Igeta, Tomokazu Itoh, Takao Chikumoto, Masafumi Nagao, John Fan Kim, Hiroichi Nagai. Inhibition of scratching behavior associated with allergic dermatitis in mice by tacrolimus, but not by dexamethasone. European Journal of Pharmacology. 2006;546:189-96.
 26. Taniguchi Y, Kohno K, Inoue S-i, Koya-Miyata S, Okamoto I, Arai N, Iwaki K, Ikeda M, Kurimoto M. Oral administration of royal jelly inhibits the development of atopy dermatitis-like skin lesions in NC/Nga mice. International Immunopharmacology. 2003;3(9):1313-24.
 27. Thepen T., Langeveld wildschut EG., Bihari IC., van Wichen DF., van Reijssen FC., Mudde GC., Bruijnzeel Koomen CA., Biphasic response against aeroallergen in atopic dermatitis showing a switch from an initial Th2 response to a Th2 response in situ: An immuno-cytochemical study. J.Allergy Clin. Immunol.. 1996;97:828-37.