

平胃散加味方이 아토피피부염을 유발한 NC/Nga mouse에 미치는 영향

정의령 · 김윤범
경희대학교 한의과대학 안이비인후피부과 교실

The Effects of Pyeongwi-san-gamibang on NC/Nga mice with atopic dermatitis

Ui-Ryung Jung · Yoon-Bum Kim

Objective : To investigate the effects of Pyeongwi-san-gamibang on atopic dermatitis, this study measured TEWL(transepidermal water loss), observed scratching behaviors and checked levels of Total IgE, IL-4, IFN- γ and conducted skin biopsy on NC/Nga mice with atopic dermatitis.

Methods : NC/Nga mice were challenged with DNCB during 5 weeks to develop atopic dermatitis-like skin lesions. The NC/Nga mice with atopic dermatitis were divided into three groups of control group, PW-d, PW-e group. Once a day for 22 days, Pyeongwi-san-GamiBang extract with water was administered for the PW-d group and the extract with 80% ethanol was administered for PW-e group compared with saline solution for control group.

During drug administration, sensitization by DNCB had lasted for three times per week.

Results : 1. TEWL had no statistical difference among 3 groups.

2. The scratching behaviors had no statistical difference among 3 groups.

3. The levels of Total IgE in PW-d, PW-e group had a statistically significantly higher than that of the control group although difference between the control group and the PW-d, PW-e group were similar.

4. The level of IL-4 had no statistical difference among 3 groups.

5. The level of IFN- γ had no statistical difference among 3 groups.

6. As the observation of toluidine blue stained lesion, both PW-d and PW-e group had lower level of histamine releasement compared with the control group.

Conclusion : Result based on these experiments, Pyeongwi-san-GamiBang on atopic dermatitis-like skin inflammation in NC/Nga mice is not effective. But, as the study showed significantly individual difference, we need to repeat these study after supplementing the object number and modified indicator of clinical severity.

Key words : Atopic dermatitis, TEWL, Pyeong-wisan-GamiBang, Total IgE, IL-4, IFN- γ

서 론

아토피피부염은 가려움증을 동반하는 만성 재발성 습진 질환으로 알레르기 비염, 기관지 천식으로 이어지는 이른바 아토피 행진의 시작이 될 수 있는 질환이다. 현재까지 정확한 원인과 발병기전이 밝혀져 있지는 않으나 유전적인 소인, 환경적 요인, 심리적 요인, 면역학적 요인 및 피부장벽기능 이상이 중요한 원인 및 기전으로 제시되고 있다¹⁾.

아토피피부염 환자는 특정 항원에 의해 자극시 주로 Th2형이 우세하게 반응한다고 알려져 Th1과 Th2 사이토카인의 불균형이 병변의 발생에 중요한 병인으로 생각되었으나^{2,3)} 최근에는 아토피피부염의 병인에 Th1 사이토카인의 생성이 중요한 역할을 하는 것으로 보고된다. Th2 염증성 사이토카인은 아토피피부염의 급성기 염증발생에 중요한 역할을 하는 반면, 만성병변에서는 오히려 IFN- γ 등의 Th1 염증성 사이토카인이 병변의 유지에 중요한 역할을 하는 것으로 잘 알려져 있다¹⁾.

NC/Nga 마우스는 자발적으로 아토피양 피부염이 발생하는 동물 모델로 1997년 Matsuda 등에 의해 보고되었으며, 보통의 환경(conventional circumstance)에서 사육하며 특별한 항원 접촉 없이도 아토피피부염과 유사한 피부 병변이 발생하며 혈청 IgE의 생성이 증가됨이 발견되었다⁴⁾. 그러나 NC/Nga 마우스는 항원이 존재하지 않는 무균 환경(specific-pathogen-free, SPF)에서는 피부 병변이 자연적으로 발생하지 않으며 일본외의 환경에서는 보통의 환경(conventional circumstance)에서 사육해도 자발적으로 병변이 나타나지 않는 경우가 많다. 이 경우 2,4-dinitrochlorobenzene(DNCB), 2,4-dinitrofluorobenzene(DNFB), 2,4,6-trinitrochlorobenzene(TNCB)

등의 화학적 항원을 이용하면 아토피양 피부병변을 발생시킬 수 있는데^{5,6)}, 이렇게 화학적 항원으로 피부염을 유발시킨 모델이 현재까지 많은 연구자들의 아토피피부염에 관련한 실험적 연구⁷⁻¹⁴⁾에 이용되고 있다.

平胃散은 和脾健胃하는 대표적인 처방으로¹⁵⁾ 임상에서는脾胃의 運化失調에 의한 濕熱이라 변증되는 아토피피부염에 清熱작용이 있는 약물을 가미하여 적용되며, 기존의 임상연구에서 소아의 濕熱型 아토피피부염의 치료에 유효한 효과를 나타낸 바 있다¹⁶⁾. 그러나 이러한 임상적 이용에도 불구하고 平胃散은 위장관 운동과 관련된 실험 연구^{17,18)}에 비해 아토피 피부염과 연관된 실험연구는 부족하다. 특히 아토피피부염의 Th1, Th2 연관 면역학적 기전에 대한 동물연구는 보고된 바 없다.

이에 본 연구에서는 임상에서 사용하고 있는 平胃散에 風熱癩疹의 소양감에 사용하는 蒼耳子·牛蒡子, 항염증 작용과 항체형성을 촉진시키는 작용을 갖는 龍葵, 清熱利濕하는 赤茯苓·半夏·黃芩, 益氣固表할 柴胡·黃芪·桂枝·唐山植^{15,19)}를 가미한 平胃散加味方을 실험연구하였다.

SPF환경에서 DNCB로 피부염을 유발한 NC/Nga 마우스를 대상으로 피부염이 유발된 이후 투약을 시작하되, 많은 아토피 환자들의 임상 치료시 항원의 자극이 지속되는 것을 배제할 수 없음을 고려하여 실험약이 투여되는 실험기간동안 항원의 자극을 지속적으로 병행하였다. TEWL(transepidermal water loss) 측정, scratching behavior 관찰, Total IgE, IL-4, IFN- γ 의 농도측정 및 피부조직검사를 시행하였으며 이 결과를 통해 平胃散加味方の 면역학적 작용 및 아토피피부염 모델에 관하여 고찰한 바를 보고하고자 한다.

교신저자 : 김윤범, 서울시 동대문구 회기동
경희대학교 부속한방병원 안이비인후피부과교실
(Tel. 02-958-9181, E-mail: kyb0519@khu.ac.kr)

• 접수 2011/07/06 • 수정 2011/08/02 • 채택 2011/08/09

실 험

1. 실험재료

1) 실험동물

생후 6주된 NC/Nga 암컷 마우스(20g)로 평균상태로 관리되어 온 것을 중앙실험동물(서울, 대한민국)에서 구입하였다. 방사선 멸균처리한 실험동물용 사료와 물은 자유롭게 섭취하도록 충분히 공급하였다. 실험동물을 사육실에서 7일간 충분히 적응시킨 후 실험을 시작하였다.

실험동물은 세 군으로 나누었다. 두 군은 실험군으로 平胃散加味方 열수 추출액을 투여한 군(PW-d)과 平胃散加味方 에탄올 추출액(에탄올:증류수=80:20)을 투여한 군(PW-e)으로 구분하였다. 대조군은 피부염 유발은 동일하게 하고 실험약 대신 생리식염수를 투여하였다. 각 군당 5마리를 배정하여 실험하였다.

2) 약제

실험에 사용한 平胃散加味方의 구성 약재의 구성과 용량은 다음과 같다. 약제는 경희의료원에서 구입하였으며 포제된 약제는 경희의료원에서 포제된 상태로 구입하였다(Table 1).

2. 방법

1) 平胃散加味方 추출

平胃散加味方 구성약제 680g을 거칠게 파쇄한 후 반은 증류수에 반은 80%에탄올용액 2L에 넣고 각각 Heating Mantle을 이용하여 1시간 끓인 후 식혀서 여과하였다. 여과액을 감압농축기로 농축하여 각각 平胃散加味方 증류수추출농축액(yield 13.2 %)과 에탄올추출농축액(yield %)을 얻었다.

2) 아토피피부염 유발

DNCB(2,4-dinitrochlorobenzen, Sigma, USA)를

Table 1. Composition of Pyeongwi-san-gamibang Used in This Study

Herbal Name	Scientific Name	Amount(g)
창출(蒼朮)	<i>Atractylodes japonica</i>	80
진피(陳皮)	<i>Citrus unshiu Markovich</i>	50
후박(厚朴)	<i>Magnolia officinale</i>	40
감초(甘草)	<i>Glycyrrhiza uralensis Fischer</i>	20
적복령(赤茯苓)	<i>Poria cocos Wolf</i>	60
반하강제(半夏薑制)	<i>Pinellia ternata Tenore</i>	40
생강(生薑)	<i>Zingiber officinale</i>	60
시호(柴胡)	<i>Bupleurum falcatum</i>	30
황금주초(黃芩酒炒)	<i>Scutellaria baicalensis</i>	40
창이자(蒼耳子)	<i>Xanthium strumarium</i>	60
용규(龍葵)	<i>Solanum nigrum</i>	40
우방자(牛蒡子)	<i>Arctium lappa</i>	40
계지(桂枝)	<i>Cinnamomum cassia Blume</i>	40
황기(黃芪)	<i>Astragalus membranaceus</i>	40
당산사(唐山楂)	<i>Crataegus pinnatifida</i>	40
Total Amount		680

로 비장을 잘게 으갠 뒤 0.6 μ m nylon cell strainer (BD Bioscience, USA)로 여과하였다. RPMI- 1640 으로 3회 세척한 후, 1000rpm에서 10분간 원심분리하고 RBC lysis buffer(pharmingen, USA)로 적혈구를 파괴하였다. 원심분리를 2회 반복한 후 RPMI-1640에 비장세포를 재부유하였다.

② 임파구 세포 배양

비장의 임파구 세포를 분리한 후 3×10^6 cells/well 농도로 24 well plate 에 seeding 하였다. 그 후 Media 1ml와 final ConA 2 μ g/ml를 넣고 48시간동안 37 $^{\circ}$ C, 5% CO2 incubator(Nuaire, USA)에서 배양한 후 상층액을 원심분리로 얻어 -80 $^{\circ}$ C에서 24시간 보관하였다.

③ ELISA를 이용한 Total IgE 및 사이토카인 농도 측정

임파구세포를 배양한 상층액에서 Total IgE, IL-4 및 IFN- γ 의 농도를 측정하기 위해 Pharmingen (USA)의 OptEIA Mouse Set의 protocol을 이용하였다.

그 후 capture antibody를 coating buffer (0.1Carbonate, pH 9.5)로 희석하여 96 well plate 에 100 μ 씩 분주한 후 4 $^{\circ}$ C에서 overnight 동안 coating 하였다. coating 한 plate를 wash buffer (PBS/Tseen-20 0.05%)로 3회 세척한 후 assay diluent(Pharmingen, USA)를 200 μ /well씩 넣고 실온에서 1시간 동안 blocking 하였다. 다시 wash buffer 로 3회 세척하고 standard IgE, standard cytokine 과 샘플을 100 μ 씩 분주하여 실온에서 2시간 반응시켰다. 다시 wash buffer로 5회 세척하고 working detector(detection antibody + Avidin - HRP) 100 μ 씩을 분주한 후 1시간 동안 실온에 두었다. 다시 wash buffer 로 7회 세척한 후 TMB Substrate reagent(Pharmingen, USA) 100 μ 씩을 각 well 에 첨가한 후 30분간 반응을 시키고 1M H₂SO₄ 50 μ 를 첨가한 후 30분 안에 Microplate reader(Molecular Devices, USA)로 파장 450~570

nm에서 optical density를 측정하였다.

3. 통계분석

통계분석은 SPSS(ver. 17.0)를 이용하였으며, 모든 측정값은 평균값 \pm 표준편차(Mean \pm S.D.)로 나타내었다.

Data 분석은 Kruskal-Wallis test를 이용하였고, P value가 통계적으로 유의한 IgE 는 어느 군이 차이가 있는지 확인하기 위해 post hoc test 로 Duncan test를 사용하여 평균치를 비교하였다. P < 0.05인 것을 유의하다고 판단하였다.

결 과

1. TEWL

경피수분소실도를 측정한 결과 대조군과 실험군 PW-d, 실험군PW-e 사이에 통계학적으로 유의한 차이가 없었다(Table II, Fig. 2).

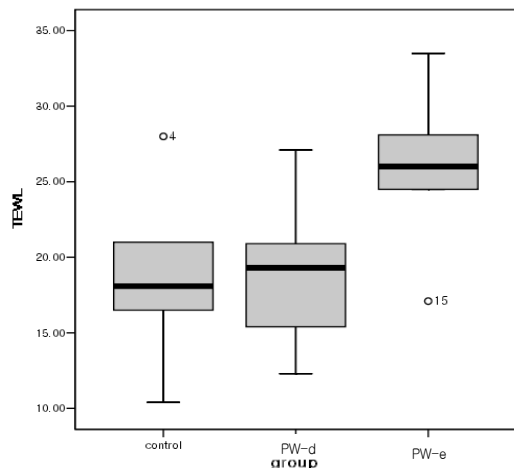


Fig. 2. TEWL of each group

Table II. TEWL

group	Control(n=5)	PW-d(n=5)	PW-e(n=5)	p value
TEWL(g/m ² h)	18.80±6.44	19.0±5.64	25.84±5.96	0.185

Using Kruskal-Wallis test

Table III. Scratching Counting

Scratching counting	Control(n=5)	PW-d(n=5)	PW-e(n=5)	p value
	258.0±160.19	424.40±113.09	269.40±233.56	0.280

Using Kruskal-Wallis test

Table IV. Total IgE

Total IgE(ng/ml)	Control(n=5)	PW-d(n=5)	PW-e(n=5)	p value
	5792.10±2282.78 ^{l)}	14148.88±6091.63 ^{h)}	14491.83±4656.60 ^{h)}	0.027*

Using Kruskal-Wallis test

*: p < 0,05

h), l) - high, low. post hoc test (by Duncan test)

2. Scratching Behavior

DNCB를 도포하여 자극한 후 30분간 긁는 횟수를 관찰한 결과 대조군과 실험군PW-d, 실험군PW-e 사이에 통계학적으로 유의한 차이가 없었다 (Table III, Fig. 3).

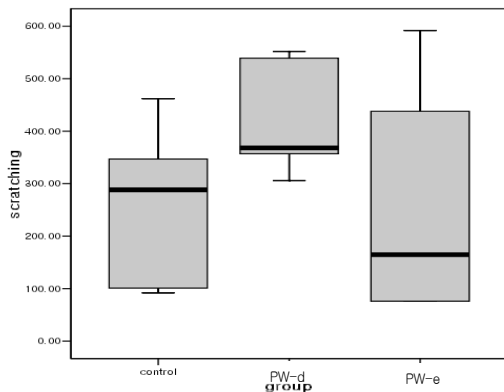


Fig. 3. Scratching counting of each group.

3. Total IgE

IgE의 경우 실험군PW-d와 실험군PW-e 모두 대조군에 비해 통계적으로 유의하게 높은 수치를 나타내었으며 실험군간의 차이는 없었다 (Table IV, Fig. 4).

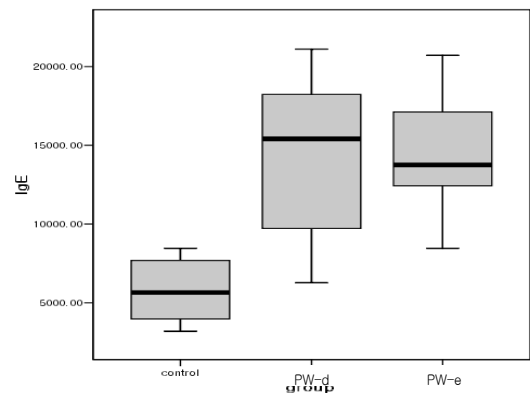


Fig. 4. Total IgE production of each group.

Table V. IL-4

IL-4(pg/ml)	Control(n=5)	PW-d(n=5)	PW-e(n=5)	p value
	61.08±7.24	62.46±16.00	49.54±11.74	0.221

Using Kruskal-Wallis test

Table VI. IFN-γ

IFN-γ (pg/ml)	Control(n=5)	PW-d(n=5)	PW-e(n=5)	p value
	32070.0±4292.03	29562.65±6969.55	31322.85±6945.04	0.566

Using Kruskal-Wallis test

4. IL-4

IL-4농도를 비교한 결과 대조군과 실험군PW-d, 실험군PW-e 사이에 통계학적으로 유의한 차이는 보이지 않았다(Table V, Fig. 5).

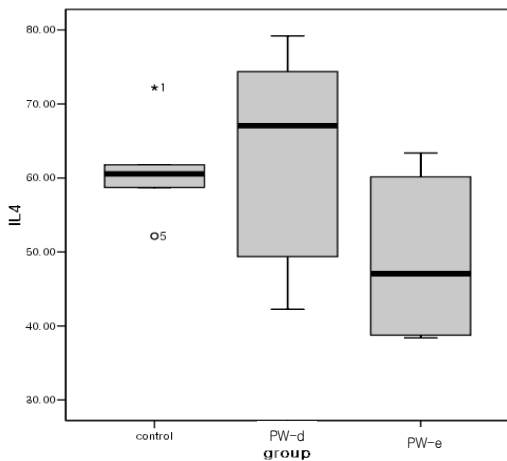


Fig. 5. IL-4 production of each group

5. IFN-γ

IFN-γ 농도를 비교한 결과 대조군과 실험군PW-d, 실험군PW-e 간에 통계학적으로 유의한 차이는 보이지 않았다(Table VI, Fig. 6).

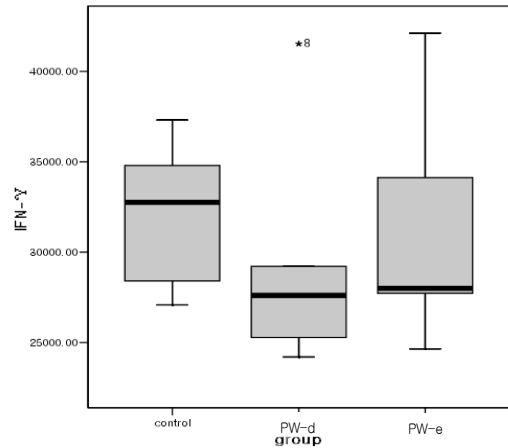


Fig. 6. IFN-γ production of each group.

6. 피부조직검사

toluidine blue로 염색하여 병변부위를 관찰한 결과, 대조군에서는 mast cell의 탈과립으로 인한 histamine 유리가 현저하게 드러났으며 그에 비해 실험군PW-e는 histamine 유리가 덜한 것으로 관찰되었다(Fig. 7).

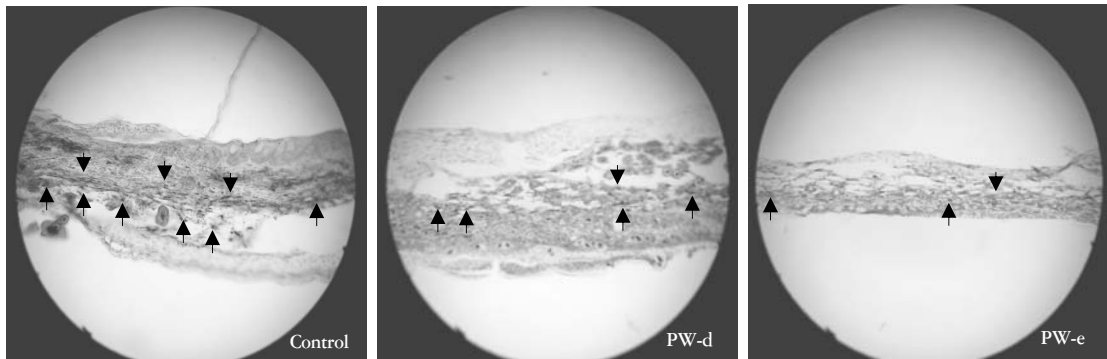


Fig. 7. Histologic analysis of skin lesion, stained by toluidine blue.(X100)

고 찰

아토피피부염은 천식, 음식 알레르기, 알러지 비염까지 확장되는 전신적 질환이 피부에 나타내는 징후라고 할 수 있다. 아토피피부염의 증상은 질병의 경과에 따라 다양하게 나타난다. 습진병변은 급성기에는 가려움증을 동반하는 진물, 딱지, 수포, 구진, 홍반성 판 등의 양상을 보이며 이어 붉은 상처, 홍반성 혹은 비늘이 덮인 구진과 판이 발생하며, 만성기에는 태선화, 색소침착, 붉은 상처 등이 주로 나타난다. 이외에는 피부 건조증과 소양감에 대한 낮은 역치가 나타난다^{1,20)}.

이러한 아토피피부염의 중증도를 평가하기 위해서는 임상에서는 주로 환자의 주관적인 병력 청취와 상기 증상의 정도를 평가하는 임상 점수(SCORAD, Eczema Area and Severity, EASI, ADSI등)를 이용한다²¹⁾. 그리고 객관적인 평가도구로는 병변의 넓이를 포함하지 않는다는 점 등의 한계는 있지만 TEWL, SSH, pH 등이 제시²²⁾되고 있다. 본 연구에서는 객관적인 임상적 중증도를 평가하기 위해 TEWL, 소양증의 정도를 평가하기 위해 scratching behavior를 측정하였으며 혈청 IgE를 측정하고 육안적 조직관찰을 하였다. 그 결과 혈청 IgE는 대조군과 실험군 모두 상당히 높은 수치를 나타내는 가운데 대조군에 비해 실험군에서 오히려 더 증가한 결

과를 보였고 다른 지표인 TEWL과 scratching behavior역시 모든 실험동물에서 증가하였으나 대조군과 실험군 사이에는 유의한 차이를 보이지 못하였다. 반면 조직관찰 결과는 실험군PW-e에서 대조군에 비해 histamine 유리가 적은 결과를 보여주어 임상적 중증도를 평가하는데 일관된 결과를 보여주지는 못하였다.

또 실험약 투여기간동안 항원자극을 지속한 것도 결과에 영향을 주었을 것으로 추측된다. 본 연구에서는 아토피피부염이 만성화된 병태 모델을 만들기 위해 5주간의 항원감작을 하였다. 그리고 실제 임상에서 만나는 아토피피부염 환자들을 치료하는 과정 중 지속적인 항원의 자극을 피하기 어렵다는 점을 반영하여 실험약을 투여하는 22일간 화학적 항원감작을 지속적으로 병행하였다. 이러한 장기간의 항원 자극을 통해 태선을 포함한 만성적인 병변을 만들 수 있었으나 平胃散加味方은 이 주3회의 지속적인 자극으로 인한 IgE 생성을 억제하지 못한 것으로 보인다.

아토피피부염의 면역학적 기전을 살펴보면 EAD에서 기억 T세포(memory Tcell)는 피부와 결합할 수 있는 수용체인 cutaneous lymphocyte-associated antigen(CLA)을 생성한 후 Th2 사이토카인인 IL-4, IL-5, IL-13 등의 생성을 증가시킨다. 이와 같이 증가된 IL-4와 IL-13은 B세포의 동형전환(isotype

switching)을 유발하여 IgE 항체 생산을 증가시킨다. 그리고 아토피피부염의 급성 피부병변에서는 많은 수의 IL-4, IL-5, IL-13 mRNA 표현 세포 (expressing cell)가 존재하지만 IFN- γ 이나 IL-12 mRNA 표현 세포는 적은 편이다. 그에 반해 만성 피부병변내에는 매우 적은 수의 IL-4, IL-13 mRNA 표현 세포가 존재하고 있으나 IL-5, GM-CSF, IL-12, INF- γ mRNA 표현 세포는 급성 병변에 비해서 상당히 증가된다. 만성 태선화 피부병변은 만성 염증반응에 의해 피부조직이 재형성(remodeling)되었고, 표피층에 IgE 항체를 함유한 항원제시세포(LC, IDEC)의 수적 증가를 특징으로 한다. 만성 병변의 진피층에는 단핵구(mononuclear cells)가 주류를 이루고 있으며, 급성기에는 소수만 관찰되던 호산구와 T 세포도 염증반응에 중요한 역할을 담당한다. 만성 염증반응이 지속되려면 IL-5와 GM-CSF가 증가되어 호산구와 LC를 포함한 단핵구의 생존이 연장되어야 한다. 따라서 아토피피부염의 급성기에는 주로 Th2 사이토카인이 염증반응에 관여하는 반면 만성기로 접어들면서 Th1 사이토카인에 의해서 염증반응이 지속됨을 알 수 있다.^{1,23-26)}

본 연구에서는 실험약이 아토피피부염에 미치는 위와같은 면역학적 요소를 살펴보기 위해 IL-4와 INF- γ 를 측정하였는데 IgE의 통계적으로도 유의한 상승에도 불구하고 IL-4는 상승하지 않았다. IgE가 유의하게 상승하였음에도 IL-4가 상승하지 않은 것은 처음 NC/Nga 마우스가 보고될 때 비장에서는 Th 세포의 Th2로의 분화가 두드러진다고 보고했던 것과는 다른 결과이다. 하지만 이 결과는 STAT6-deficient NC/Nga 마우스 연구²⁷⁾에서 주장하듯 NC/Nga 마우스의 피부염 발생 기전에 Th2 매개반응이 필수적이지 않음을 의미한다고 할 수 있으며 또 NC/Nga 마우스에 DNFB를 도포하여 피부병변을 유발시킨 기존의 보고에 의하면 DNFB 도포시 지속적인 JAK3의 인산화가 유도되어 IL-4가 적거나 없어도 IgE가 과생산 될 수 있었던 사실도 이를 뒷

받침한다^{6,28)}. 대신에 IFN- γ 는 사람뿐 아니라 NC/Nga 마우스의 피부염 발생 및 아토피피부염의 만성화에 중요한 역할^{5,6,28,29)}을 하는데 본 실험에서 실험군의 IFN- γ 는 통계적인 유의성은 나타내지 못했으나 대조군에 비해 다소 감소하는 양상을 나타냈다. 특히 이번 실험 결과에서는 심한 개체차가 눈에 띄었는데 특히 실험군 PW-e의 scratching behavior와 IFN- γ 측정 결과상 각 2개체가 눈에 띄게 감소된 수치를 보였다.

아토피피부염을 한방에서 변증할 때 병의 증상에 따라 급성기와 만성기로 분류하기도 하며³¹⁾ 원인에 따라 風, 濕, 熱, 血虛, 氣虛등의 변증을 이용하여 2-5분류 등의 방법³²⁾을 제시하기도 한다. 증상에 따라 급성, 아급성, 만성기로 나눈 문헌적 연구에서 疝胃散은 아급성기의 처방으로 분류되어 있고 원인에 따른 변증 분류에서는 濕熱型의 처방으로 분류되어 있다. 濕熱型이라는 변증 자체는 그 증상이 흥반, 구진, 삼출물이 우세하다^{30,33)}고 인식하여 급성기의 변증으로 보기도하지만 같은 濕熱型이라는 변증명을 사용하더라도 그 습열이 外邪가 아닌 脾胃의 運化기능 실조로 인해 濕熱이 발생하는 경우는 虛症이라는 만성적인 상태를 포함한다. 이번 실험에서 疝胃散加味方은 IgE를 억제하지 못해 급성적인 상황에서 운용하기 어려움을 보여주었다. 疝胃散은 和脾健胃하는 대표처방으로 그 방해 및 효과의 근거가 비위의 운화기능 회복에 있는 점을 고려하여 疝胃散이 적용되는 濕熱型이란 비위의 허증이라는 의미를 내포한 만성적인 상태를 겸한 濕熱型으로 급성기의 습열과 분리해서 생각해야 할 것이다.

NC/Nga 마우스를 사용한 여러 연구^{4,6-14,27,29)}에서 피부염이 유발된 상태에서 측정된 마우스의 혈청 IgE 수치는 각 실험마다 큰 차이를 나타냈다. 참고로 한 연구들을 비교한 결과 측정된 IgE 농도는 $10^2 \sim 10^3$ ng/ml 범위인 실험부터 $8 \times 10^4 \sim 10^5$ ng/ml인 실험까지 있었다. 이점은 NC/Nga 마우스가 개체변이가 심하게 나타난다는 의미가 된다. 본 연구는 각

군당 개체수가 5마리로 실험동물의 개체변이가 큰 특성을 감싸기에 개체수가 부족하다는 한계를 나타냈다. 또한 위에서 언급하였듯 임상적 중증도를 일관되게 평가하지 못한 한계도 지닌다. 따라서 임상 점수 측정 및 피부조직 관찰시 mast cell 등의 정량적 분석을 추가하는 등 임상적 중증도를 평가할 방법을 보완하여 개체수를 늘린 반복연구가 후속으로 이어지기를 기대한다.

었다.

이상의 실험결과에서 平胃散加味方은 NC/Nga mouse의 유발된 아토피피부염을 효과적으로 억제하지 못하였다. 경피수분소실도와 IL-4, IFN- γ 에서 심한 개체차를 드러낸 바 추후 임상적중증도를 평가할 지표를 추가하고 개체수를 늘린 반복실험을 통해 의미 있는 결과를 도출해 낼 수 있으리라 기대한다.

결 론

平胃散加味方의 만성적인 아토피피부염에 대한 실험적 효과를 알아보기 위해 DNCB로 아토피피부염을 유발시킨 NC/Nga 마우스에서 실험약과 TEWL 측정, scratching behavior 관찰, Total IgE, IL-4, IFN- γ 농도 측정 및 피부조직검사를 시행하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 경피수분소실도를 측정한 결과 대조군과 실험군 PW-d, 실험군PW-e 사이에 통계학적으로 유의한 차이가 없었다.
2. 긁는 횟수를 관찰한 결과 대조군과 실험군 PW-d, 실험군PW-e사이에 통계학적으로 유의한 차이가 없었다.
3. IgE 농도를 비교한 결과 실험군PW-d, 실험군 PW-e 모두 대조군에 비해 통계적으로 유의하게 높은 수치를 나타내었으며 실험군간의 차이는 없었다.
4. IL-4농도를 비교한 결과 대조군과 실험군간에 통계학적으로 유의한 차이는 보이지 않았다.
5. IFN- γ 농도를 비교한 결과 대조군과 실험군간에 통계학적으로 유의한 차이는 보이지 않았다.
6. toluidine blue로 염색하여 병변부위를 관찰한 결과, 실험군PW-d와 실험군PW-e 모두 대조군에 비해 histamine 유리가 덜한 것으로 관찰 되었다.

참고문헌

1. 이은형, 이상은, 이승훈. 아토피피부염의 진단과 치료법의 최신지견. 한국피부장벽학회지. 2010; 12(1):103-10.
2. 노건웅, 이기영. 아토피피부염에서 혈중 Interferon- γ , Interleukin-4, Interleukin-5 및 Interleukin-10의 농도. 소아알레르기 및 호흡기. 1998; 8(1):72-8.
3. Yamaguchi J, Nakamura F, Aihara M, Yamashita N, Usui H, Hida T, Takei K, Nagashima Y, Ikezawa Z, Goshima Y. Semaphorin3A Alleviates Skin Lesions and Scratching Behavior in NC/Nga Mice, an Atopic Dermatitis Model. J Invest Dermatol. 2008;128:2842-9.
4. Matsuda H, Watanabe N, Geba GP, Sperl J, Tsudzuki M, Hiroi J, Matsumoto M, Ushio H, Saito S, Askenase PW, Ra C. Development of atopic dermatitis-like skin lesion with IgE hyperproduction in NC/Nga mice. International Immunol. 1997;9(3):461-6.
5. Jin H, He R, Oyoshi M, Geha RS. Animal Models of Atopic Dermatitis. Journal of Investigative Dermatology. 2009;129:31-40.
6. 주영현, 원종현, 김지윤, 조광현, 민경업, 김규

- 한. NC/Nga 마우스에서의 아토피피부염 모델 개발 및 피부염 병변에 대한 다래 추출물 (Actinidia Extract)의 효과. 대한피부과학회지. 2009;47(10):1105-12.
7. 조재훈, 김윤범. 육미지황탕이 아토피피부염을 유발한 NC/Nga mouse에 미치는 영향. 한방안이비인후피부과학회지. 2009;22(1):120-32.
 8. 이경미, 김선빈, 최학주, 최정준, 노성수, 김동희. TNCB로 유발한 아토피피부염 생쥐 모델에서 天日鹽加味方과 淸肌解毒散의 병용 효과. 대한본초학회지. 2009;24(4):215-24.
 9. 김영란. 아토피피부염 동물모델 NC/Nga mice에서 자초 및 보라지 추출물의 식이공급이 소양증, IgE 및 표피 세라미드 함량에 미치는 효과 비교. 경희대학교 동서의학대학원. 석사. 2007.
 10. 장성은, 김윤범. 小葉麥門冬이 NC/Nga 아토피 모델에 미치는 영향. 한방안이비인후피부과학회지. 2008;21(3):10-9.
 11. 윤채성, 주현아, 황충연. 四物消風飲과 Prednisolone이 NC/Nga mice의 아토피피부염에 미치는 영향. 한방안이비인후피부과학회지. 2010;23(1):59-74.
 12. Pokharel YR, Lim SC, Kim SC, Heo TH, Choi HK, Kang KW. Sopungyangjae-Tang Inhibits Development of Dermatitis in Nc/Nga Mice. Evid Based Complement Alternat Med. 2008;5(2):173-80.
 13. 박성희, 박보경, 김선빈, 최학주, 김동희. 형개연교탕가미방의 아토피피부염 병태모델에서의 면역조절능에 관한 연구. 대전대학교한의학연구소 논문집. 2009;18(2):63-79.
 14. 김보애, 김미소, 강보미, 변선희, 박일향, 박지하, 정지욱, 안은미, 정현아, 장정희, 매원, 이하영, 최필너, 박찬익. 황련해독탕이 NC/Nga Mice에서 유발된 아토피피부염에 미치는 영향. 대한본초학회지. 2008;23(2):59-65.
 15. 허준. 동의보감. 법인문화사. 1999:738,1144.
 16. 고진식. 평위산의 습열형 아토피 치료 연구. 원광대 대학원. 석사. 2005.
 17. 박상현. 평위산과 그 구성약물 조합이 위장관, 간손상 및 혈압에 미치는 영향. 한방성인병학회지. 2000;5(1):184-96.
 18. 김윤관. 평위산과 평위산 구성약물의 조합이 적출장기, 항사하작용 및 중추신경계에 미치는 영향. 경희대학교대학원. 석사. 1999.
 19. 안덕균. 한국본초도감. 교학사. 1999:77,610.
 20. Leung DYM, Boguniewicz M, Howell MD, Nomura I, Hamid QA. New insights into atopic dermatitis. J Clin Invest. 2004;113:651-7.
 21. 최유성, 유충의, 박미연, 손숙자, 황규왕. 아토피피부염의 중증도에 따른 임상 및 검사실 소견에 관한 연구. 대한피부과학회지. 2006;44(7):824-9.
 22. 황선욱, 강주현, 설정은, 서종근, 이드보라, 성호석. 아토피피부염 환자의 치료경과에 따른 중증도 평가에서 SCORAD Index와 기계적 측정값과의 상관관계. 대한피부과학회지. 2010;48(4):266-71.
 23. Incorvaia C, Frati F, Verna N, D'Alò S, Motoless A, Pucci S. Allergy and skin. Clin and Exp Immunol. 2008;153(Suppl.1):27-9.
 24. Terui T. Analysis of the Mechanism for the Development of Allergic Skin Inflammation and the Application for Its Treatment: Overview of the Pathophysiology of Atopic Dermatitis. J Pharmacol Sci. 2009;110:232-6.
 25. 박용민. 아토피피부염 병태생리에 대한 최신지견. 소아알레르기 호흡기. 2006;16(3):189-96.
 26. kuby Immunology, KINDT GOLDSBY OSBORNE FREEMAN. 2007;6th edition: 372-85.

27. Yagi R, Nagai H, Iigo Y, Akimoto T, Arai T, Kubo M. Development of Atopic Dermatitis-Like Skin Lesions in STAT6-Deficient NC/Nga Mice. *J Immunol*. 2002;168:2020-27.
28. Matsumoto M, Ra c, Kawamoto K, Sato H, Itakura A, Sawada J, Ushio H, Suto H, Mitsuishi K, Hikasa Y, Matsuda H. IgE Hyperproduction Through Enhanced Tyrosine Phosphorylation of Janus Kinase 3 in NC/Nga Mice, a Model for Human Atopic Dermatitis. *J Immunol*. 1999;162:1056-63.
29. Iguchi T, Kawata A, Watanabe T, Mazumder TK, Tanabe S. Fermented Barley Extract Suppresses the Development of Atopic Dermatitis-Like Skin Lesion in NC/Nga Mice, Probably by Inhibiting Inflammatory Cytokines. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2009;73(3):489-93.
30. 이상현, 윤용갑. 아토피피부염 치료 처방에 대한 방제학적 고찰. *한방안이비인후피부과학회지*. 2006;19(3):103-17.
31. 공남미, 지선영. 아토피피부염의 양한방적 고찰. *대한외관과학회지*. 1999;12(1):241-52.
32. 손국호, 이재근, 지선영. 아토피피부염의 한의학적 변증에 대한 문헌적 고찰. *동서의학*. 2009;34(4):15-24.
33. 손병국, 최인화. 아토피피부염의 변증과 평가방법에 대한 고찰. *한방안이비인후피부과학회지*. 2008;21(3):150-65.