

Original Article / 원저

## 아토피양 접촉피부염 유발 NC/Nga mouse에서 도고 온천수에 첨가한 게르마늄 성분의 효과

이진욱<sup>a,c</sup> · 고가연<sup>a,c</sup> · 정찬호<sup>b,c</sup> · 유선종<sup>d</sup> · 김윤희<sup>a,c</sup> · 안택원<sup>a,c</sup>

<sup>a</sup>대전대학교 한의과대학 사상체질의학과, <sup>b</sup>대전대학교 공과대학 지질공학과

<sup>c</sup>대전대학교 온천의학연구소, <sup>d</sup>아산시청

### Effect of DOGO phreatic water containing germanium on Atopic Dermatitis in NC/Nga mouse

*Jin-Wook Lee<sup>a,c</sup> · Ga-Yeon Go<sup>a,c</sup> · Chan-Ho Jung<sup>b,c</sup> · Sun-Jong You<sup>d</sup> · Yun-Hee Kim<sup>a,c</sup> · Taek-Won Ahn<sup>a,c</sup>*

<sup>a</sup>Dept. of Sasang Constitutional Medicine, College of Korean Medicine, Daejeon Univ.

<sup>b</sup>Dep. of Geology, College of Engineering, Daejeon Univ.

<sup>c</sup>Hot Spring Medicine Laboratory, Daejeon Univ. <sup>d</sup>City Hall of Asan.

### Abstract

**Objectives** : The purpose of this study is to investigate the effects of DOGO phreatic water containing germanium on Atopic Dermatitis in NC/Nga mouse.

**Methods** : We made DOGO phreatic water added germanium. After making atopic dermatitis caused by sensitizing NC/Nga mouse to DNCB(dinitrochlorobenzene), we made mouse swim in tanks each filled with distilled water, tap water, DOGO phreatic water, DOGO phreatic water(added germanium) for 30minutes everyday. 3weeks later, we analyzed skin clinical score, total IgE levels(by ELISA), WBC differential counting(*Neutrophils*, *Monocytes*), absolute cell number of Neutrophil<sup>+</sup>Gr-1<sup>+</sup>, CCR3 mRNA expressions(by Real-time PCR), IL-4, IFN- $\gamma$  production levels(by ELISA), histologic test(by H&E staining, toluidine blue staining).

**Results** : The results of making NC/Nga mouse induced atopic dermatitis swim in tanks filled with DOGO phreatic water(contain germanium) are as follows.

© 2014 the Society of Korean Medicine Ophthalmology & Otolaryngology & Dermatology

This is an Open Access journal distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

1. Skin clinical scores were decreased significantly in comparison to control group.
2. Total IgG levels were decreased significantly in comparison to control group.
3. WBC differential counting(*Neutrophils*, *Monocytes*) were decreased significantly in comparison to control group.
4. Absolute cell number of Neutrophil<sup>+</sup>Gr-1<sup>+</sup> were decreased significantly in comparison to control group.
5. CCR3 mRNA expressions were decreased significantly in comparison to control group.
6. IL-4, IFN- $\gamma$  production levels were decreased significantly in comparison to control group.
7. The epithelial tissue thickness, leucocytes infiltration, erythema, edema, excoriation, scaling, mast cells infiltrations in dorsal skin were decreased in comparison to control group.

**Conclusions** : These results indicate that DOGO phreatic water(contain germanium) can be used for helping treat atopic dermatitis.

**Key words** : DOGO phreatic water; germanium; Atopic Dermatitis; NC/Nga mouse.

## 1. 서 론

아토피 피부염은 대개 유아기에 발생하여 피부 건조증, 소양감, 홍반, 부종, 삼출, 가피 등의 증상을 동반하는 염증성 피부 질환으로 만성적인 경과를 거친다. 전세계적으로 8~20%의 유병률을 보이며 국내에서도 최근 몇 년 동안 증가하는 추세를 보이고 있다<sup>1-4)</sup>. 아토피 피부염의 원인은 다양한데 유전적 배경에서부터 음식 알레르기, 면역학적 이상, 피부 장벽의 이상, 환경적, 사회적 인자 및 심인성 요인 등이 복합적으로 연관되어 나타나는 질환이며 면역학적 측면에서 발병 기전을 살펴보면 IgE 증가, mast cell, T세포, 호산구 등과 같은 여러 세포들과 CD4+ T세포, CD8+ T세포 비율의 증가, Th2 매개 cytokine 간의 불균형 등이 기전으로 알려져 있다<sup>5-7)</sup>. 최근의 연구 경향을 살펴보면 아토피 피부염 중 약 80% 정도가 IgE와 관련되어 있으므로<sup>8)</sup> 면역조절을 통해 IgE 생산 증가를 억제시키는 것과 관련한 연구들<sup>9-12)</sup>이 진행되고 있으며 현재까지 알려진 아토피 피부염 치료 방법인 스테로이드제나 항히스타민제는 장기간 사용시 부

작용과 역치 값의 상승을 일으킴에 따라 근본적인 치료가 되지 못해, 아토피 피부염 치료의 대체 요법들에 대하여 연구가 활발히 진행 중이다<sup>13,14)</sup>.

아토피 피부염 치료의 대체 요법 이용실태에 대한 조사에 따르면 한약, 온천 및 목욕, 건강보조식품, 식이요법 등이 대체 요법으로 이용되고 있으며 100명의 조사 인원 중 84명(84%)이 대체 의학을 현재 이용하고 있거나 과거 이용하였던 것으로 조사되었다. 84명이 총 181개의 방법을 사용하였고 개인당 평균 22개의 대체 의학을 사용하였으며 최고로 7개까지 사용한 경우도 있었다. 경험한 대체 의학의 종류중 온천 및 목욕 요법을 이용한 수가 47.6%에 달했다<sup>15)</sup>.

온천은 일반적으로 마그마성 수증기에 의해 뜨거워진 지하수가 지표로 용출되는 열수를 말하며 한국에서는 1981년 4월 2일 법률 제 3377호로 제정 공포된 온천법 제 2조에서 『온천이라 함은 지하로부터 용출되는 25℃ 이상의 온수로서 그 성분이 인체에 해롭지 아니한 것을 말한다』라고 정의하고 있다. 이러한 온천은 세포의 신진대사를 촉진하며 류마티스, 신경통, 골수염, 신방광질환 등에 효능이 있다고 알려져 한국에서도 삼국시대 이전부터 광범위하게 응용되어 왔고 또한 많은 온천들이 개발되어 왔다<sup>16)</sup>. 온천욕은 다양한 만성 피부 질환에서 효과적으로 이용되고 있고 특히 건선과 아토피 피부염이 대표적인 질환으로 알려

교신저자 : 안택원, 대전대학교 한의과대학 사상체질과  
충남 천안시 두정동 621번지 대전대부속천안한방병원  
(Tel : 041-521-7535, Fax : 041-521-7007,  
E-mail : twahn@dju.kr)

• 접수 2014/10/2 • 수정 2014/11/9 • 채택 2014/11/16

져 있다<sup>17)</sup>.

충청남도 아산시 도고면 기곡리와 선장면 신성리에 있는 파라다이스 스파 도고 온천은 Ca(Na)-HCO<sub>3</sub>(SO<sub>4</sub>)형 알칼리성 단순천으로 수온은 25~32, 5℃이며 삼국시대 때 백제와 신라의 전투에서 부상당한 신라의 왕이 이곳에서 온천 이용 후 완치되었다는 구전이 있다<sup>18)</sup>. 온천수는 대부분 황, 마그네슘, 셀레늄, 철, 리튬, 아연, 망간, 스트론튬 등으로 구성되어 있으며 온천수의 화학적 효과는 온천수 성분들의 화학적, 물리적, 열적, 면역적 관점에서 설명할 수 있다<sup>19)</sup>.

게르마늄은 무기게르마늄과 유기게르마늄으로 분류할 수 있는데 무기 게르마늄은 인체내 유입시 빈혈, 근육 장애와 같은 증상을 유발하며 유기게르마늄은 항종양 효과, 항돌연변이 효과, 면역 강화 작용, 항염증 작용, 해열 진통 작용 등 다양한 약리 작용을 가지고 있는 것으로 알려져 있다. 최근에는 이런 작용을 바탕으로 기능성 농산물 생산을 위한 농자재에 사용되고 있으며 그 외 주방 용품이나 욕조 등 생활, 가전 제품에 다용도로 사용되고 있다. 그러나 아직까지 온천수 치료에 있어 게르마늄이 가진 효능을 밝힌 연구는 거의 전무한 상태이다<sup>20)</sup>.

이에 본 연구에서는 게르마늄 성분이 포함된 도고 온천수의 아토피 피부염에 대한 치료 효과를 확인하기 위하여, 아토피양 접촉피부염 유발 NC/Nga mouse를 이용하여 도고 온천수와 게르마늄이 첨가된 도고 온천수의 입욕 수영을 통하여 피부발진 점수를 측정하고, 면역글로블린-E, 백혈구내 호중구 및 단핵구 빈도, 등 피부조직내 총 호중구 세포수, 등 피부조직의 Eoxatin 2와 CCR3 mRNA 유전자 발현, 비장세포 배양 상층액에서 사이토카인 수준 측정, 등 피부조직의 변화 관찰 등을 통하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

## II. 실험

### 1. 재료

#### 1) 동물

아토피 피부염 병변을 관찰하기 위하여 수컷이며 7주령의 20~22g NC/Nga mouse(SLC, Inc, Japan)를 중앙실험동물에서 공급받았다. 동물은 실험 당일까지 고형사료(항생제 무첨가, 삼양사료 Co.)와 물을 충분히 공급하고 온도 22±2℃, 습도 55±15%, 12시간 light-dark cycle의 환경을 유지하며 1주간 적응시킨 후 실험에 사용하였다.

동물실험의 윤리적, 과학적 타당성 검토 및 효율적인 관리를 위하여 대전대학교 동물실험윤리위원회 (Institutional Animal Care and Use Committee : IACUC)의 승인(승인번호 : DJUAR2012-007)을 받았다.

#### 2) 온천수

- ① 명칭 : 파라다이스 스파도고 온천 원수
- ② 공급자 : 아산시청
- ③ 투여방법 : Water maze에서 30분간 매일 오전 11시에 수영

#### 3) 수돗물

- ① 명칭 :대전대학교 한의과대학 수돗물
- ② 투여방법 : Water maze에서 30분간 매일 오전 11시에 수영

#### 4) 도고 온천수(DG-PW)에 첨가된 게르마늄의 함량 및 원적외선

르마늄 원석을 분말 형태로 만든 후 분말을 물속에 녹여 게르마늄이 첨가된 도고 온천수(DG-PW+E<sup>ADD</sup>)를 만들었다. 물속 게르마늄 함량을 3일에 걸쳐 검사한 결과 첫날 0.029 $\mu$ g/l, 둘째날 0.029 $\mu$ g/l, 다섯째날 0.036 $\mu$ g/l이 검출되었다. 게르마늄 원적외선 검

사 결과는 방사율 0.86, 파장 8-15 $\mu\text{m}$ 이었으며 음이온 총량은 2.77%이었다.

사용하였다.

## 5) 시약 및 기기

### ① 시약

본 실험에 사용된 시약은 diethyl pyrocarbonate (DEPC), chloroform, trichloroacetic acid, isopropanol, Tris-HCl, KCl, MgCl<sub>2</sub>, 적혈구 용혈액(ACK lysis solution), DMEM 배양액, dulbecco's phosphate buffered saline(D-PBS), Sulforhodamin B(SRB), 2-isopropanol, Sodium dodecyl sulfate(SDS), antibiotics, 표준시료로 사용한 rutin과 quercetin은 Sigma사 (USA) 제품을 사용하였으며, 우태아혈청(fetal bovine serum, FBS)은 Hyclone사(Logan, USA) 제품을, anti-CD3-PE(phycoerythrin), anti-CD4-FITC(fluorescein isothiocyanate), anti-B220-PE, anti-Gr-1-PE, anti-CD8-FITC, anti-CD3 mAb 등은 Pharmingen사 (Torreyana, USA) 제품을, IL-4, IL-5, IFN- $\gamma$ , IL-13 ELISA kit는 BioSource 사 (California, USA) 제품을, IgE ELISA kit는 SHIBAYAGI 사(Shibukawa, Japan) 제품을, 기타 일반 시약은 특급 시약을 사용하였다.

### ② 기기

기기는 열탕추출기(대웅, DWT-1800T, Korea), 감압 증류장치(Rotary vacuum evaporator, BUCHI B-480, Switzerland), 동결 건조기(freeze dryer, EYELA FDU-540, Japan), CO<sub>2</sub> 배양기(Forma scientific Co., U.S.A.), 원심분리기(한일과학, Korea), plate shaker(Lab-Line, U.S.A.), spectrophotometer (Shimadzu, Japan), Bio-freezer(Sanyo, Japan), Quantitative Real-Time PCR(Applied Biosystems, U.S.A.), ELISA reader(Molecular Devices, U.S.A.), HPLC(Waters Co. Milford, MA, USA) 등을

## 2. 방법

### 1) 피부염 유도 및 시료처리

7주령의 NC/Nga mouse를 1주일 동안 적용시킨 후 NC/Nga mouse의 등에 귀 하단부에서부터 꼬리 상단부까지 전체를 제모하고 24시간 방치 후 1%의 DNCB(dinitrochlorobenzene)가 들어 있는 아세톤 : 올리브오일(3 : 1) 200  $\mu\text{l}$ 를 제모 부위에 도포하고, 3일 후 2차 도포하였다. 1차 도포 후 7일째부터는, 1주일에 3회씩 3주간 0.4% DNCB 용액 150  $\mu\text{l}$ 를 재차 도포(10주령~13주령)하여 아토피 피부염을 유발시켰다.

### 2) 실험군 설정

NC/Nga mouse를 아무처리도 하지 않은 정상군, 등을 제모한 후 0.4% DNCB를 2주간 도포하고 증류수에서 3주간 오전 11시에서 30분간 입욕 수영 시킨 군을 대조군(CT), 등을 제모한 후 0.4% DNCB를 2주간 도포하고 수돗물에서 3주간 오전 11시에서 30분간 입욕 수영을 시킨 군(TW), 등을 제모한 후 0.4% DNCB를 2주간 도포하고 도고 온천수에서 3주간 오전 11시에서 30분간 입욕 수영을 시킨 군(DG-PW), 등을 제모한 후 0.4% DNCB를 2주간 도포하고 게르마늄 첨가 도고 온천수에서 3주간 오전 11시에서 30분간 입욕 수영을 시킨 군(DG-PW+GE<sup>ADD</sup>)으로 나누어 설정하였다(Fig. 1).

### 3) 피부발진 점수 측정

피부발진 육안 평가는 Yamamoto<sup>21)</sup>의 평가항목을 참고하여 소양을 동반한 홍반, 구진(살갓에 돋는 발진), 인설(비듬), 가피(딱지), 태선화 등의 증상을 0(없음), 1(경증), 2(중증), 3(고증)으로 개체마다 육안 평가하여 아토피 피부발진을 판단하였다.

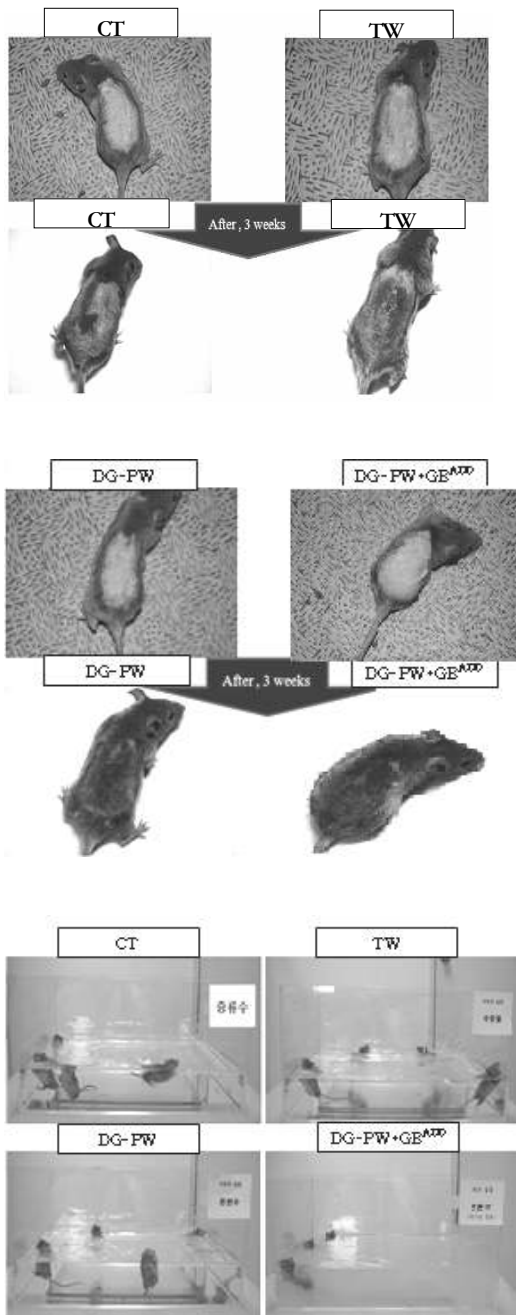


Fig. 1. Swimming of NC/Nga mouse models caused atopic dermatitis

CT : 0.4% DNCB + Distilled water swimming  
 TW : 0.4% DNCB + Tap water swimming  
 DG-PW : 0.4% DNCB + DOGO phreatic water swimming  
 DG-PW+GE<sup>ADD</sup> : 0.4% DNCB + DOGO phreatic water added germanium swimming

#### 4) 채혈 및 면역글로블린-E 수준 측정

NC/Nga mouse의 후안와 정맥총에서 10주, 12주, 14주에 capillary tube를 이용하여 약 100  $\mu$ l의 혈액을 채혈한 후 원심분리기 6,500 rpm에서 20분간 원심분리한 후 30  $\mu$ l의 혈청을 분리하였다. 혈청은 취하여 -70 $^{\circ}$ C에 냉동 보관하였고 NC/Nga mouse의 혈청 내 IgE 농도 측정은 ELISA로 IgE 수준을 측정하였다. 각 well에 NC/Nga mouse에서 10주, 12주, 14주에 채혈한 혈청 5  $\mu$ l(1/10 dilution)와 dilution buffer 45  $\mu$ l를 혼합하여 각 well에 분주하고, 2시간 동안 25 $^{\circ}$ C 실온에서 방치한 후 2회 washing 완충용액으로 세척한 다음, biotin- conjugated anti IgE를 넣고 2시간 방치하였다. 그리고 다시 2회 수세 후 완충용액으로 세척한 다음 Avidin-HRP conjugated antibody 100  $\mu$ l를 처리하고 1시간 실온에서 방치한 후 다시 세척하였다. 또한 TMB 기질을 100  $\mu$ l씩 분주하고 암소에서 30분간 방치한 후 100  $\mu$ l의 stop 용액을 처리한 후 ELISA reader 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

#### 5) 혈액 중 백혈구와 호중구, 호산구 세포수의 측정

최종 실험종료 후 heparin (20 IU) 30  $\mu$ l 처리된 3 ml 주사기로 심장 혈액 0.8 ml를 채취하였다. 전혈을 바이오텍스텍(주)(청주, 충청북도)에 의뢰하여 혈액 중 백혈구와 호중구, 호산구의 총 세포수를 자동 혈액 분석기로 측정하였다.

#### 6) 등피부조직에서 quantitative real-time-PCR 분석

① NC/Nga mouse의 등 피부조직에서 RNA 분리 Atopic dermatitis-like skin NC/Nga mouse의 등피부조직을 적출하여 각각에 RNAzol<sup>B</sup> 500  $\mu$ l를 넣고 용해될 때까지 homogenizer로 분쇄하였으며 이 조직분쇄 혼합 부유액에 클로로포름(CHCl<sub>3</sub>) 50  $\mu$ l를 첨가한 후 15초간 다시 혼합

하였다. 이를 얼음에 15분간 방치한 후 13,000 rpm에서 원심분리한 후 약 200  $\mu$ l의 상청액을 회수하여 2-propanol 200  $\mu$ l와 동량 혼합 후 천천히 흔들고 얼음에서 15분간 방치하였으며, 이를 다시 13,000 rpm에서 원심 분리한 후 80% EtOH로 수세하고 3분간 vacuum pump에서 건조하여 RNA를 추출하였다. 추출한 RNA는 DEPC를 처리한 20  $\mu$ l의 증류수에 녹여 heating block 75 $^{\circ}$ C에서 불활성화 시킨 후 first strand cDNA합성에 사용하였다.

- ② 역전사-중합효소 연쇄반응  
 역전사 반응은 준비된 총 RNA 2  $\mu$ g을 DNase I(10 U/ $\mu$ l) 2U/tube를 37 $^{\circ}$ C heating block에서 30분간 반응한 후 75 $^{\circ}$ C에서 10 분 동안 변성시켰고, 이에 2.5  $\mu$ l 10 mM dNTPs mix, 1  $\mu$ l random sequence hexanucleotides(25 pmole/25  $\mu$ l), RNA inhibitor로서 1  $\mu$ l RNase inhibitor(20 U/ $\mu$ l), 1  $\mu$ l 100 mM DTT, 4.5  $\mu$ l 5 $\times$ RT buffer(250 mM Tris-HCl, pH 8.3, 375 mM KCl, 15 mM MgCl<sub>2</sub>)를 가한 후, 1  $\mu$ l의 M-MLV RT(200 U/ $\mu$ l)를 다시 가하고 DEPC 처리된 증류수로서 최종 부피가 20  $\mu$ l가 되도록 하였다. 이 20  $\mu$ l의 반응 혼합액을 잘 섞은 뒤 2,000 rpm에서 5초간 원심 침강하여 37 $^{\circ}$ C heating block에서 60분 동안 반응시켜 first-strand cDNA를 합성한 다음, 95 $^{\circ}$ C에서 5 분 동안 방치하여 M-MLV RT(Moloney

murine leukemia virus reverse transcriptase, Promega, USA)를 불활성화시킨 후 합성이 완료된 cDNA를 PCR에 사용하였다.

③ Real time quantitative RT-PCR

Real time quantitative PCR은 7500 Real-Time PCR system을 이용하여 수행하였으며 Mouse Olionucleotid의 염기배열은 다음과 같다.

Cytokine 유전자 발현은 SYBR<sup>®</sup> Green PCR Master mix를 사용하였고, 내부 기준은 GAPDH로 Taqman probe를 사용하였으며, primer의 최종농도가 200 nM이 되게 반응시켰다. CCR3와 Eotaxin mRNA 발현은 등폐부조직에서 관찰하였고 cDNA를 합성하여 분석하였다. Real time quantitative PCR의 조건은 전 변성은 2min at 50 $^{\circ}$ C, 10min 94 $^{\circ}$ C, 그리고 40 cycles을 0.15min at 95 $^{\circ}$ C, 1 min at 60 $^{\circ}$ C에서 수행하였다. hydrocortinsone 도포군과 야생화 추출물 투여군의 대조군은 내부 기준은 GAPDH를 사용하여 목표 그룹의 Quantitative PCR은  $y=x(1+e)^n(x$ :starting quantity,  $y$  : yield,  $n$  : number of cycles,  $e$  : efficiency)로 계산하여 RQ(relative quantitative)을 측정하였다.

7) 비장세포 분리 및 사이토카인 측정

NC/Nga mouse 실험 14주 후에 실험을 종료하고 비장을 적출하여 100 mesh로 비장세포를 분리하였으

Table 1. Primer Sequence

Gene	Primer	Sequence
G3PDH	Forward	5' TGAAGCAGGCATCTGAGGG 3'
	Reverse	5' CGAAGGTGGAAGAGTGGGAG 3'
CCR3	Forward	5' AGCCTAACCTGTTGGAGGT 3'
	Reverse	5' GTGATCGGCTTTTCTTGAGC 3'
Eotaxin	Forward	5' ATGCCCAACAAAGCAGAGAC 3'
	Reverse	5' TGAGAGAACCAGGGAGCTGT 3'

며, 전날 CD3 mAb 1  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 을 96well plate에 코팅하여 4°C 냉장고에서 하루 밤을 보내게 한 다음 D-PBS로 2회 수세하였다. 분리한 비장세포는 ACK 용액으로 RBC를 제거한 후 DNCB extract가 코팅된 각각의 well에  $5 \times 10^5$  세포씩 5% FBS-DMEM 배양액에서 48시간 동안 배양한 후, 원심분리기 2,000 rpm에서 3분간 원심분리한 후 200  $\mu\text{l}$ 의 배양상청액을 얻었으며 배양상청액내의 IL-4(BioSource, USA)와 IFN- $\gamma$  (BioSource, USA)의 수준 측정은 ELISA로 측정하였다. 각 well에 배양상청액 50  $\mu\text{l}$ 를 분주하고, 2시간 동안 25°C 실온에서 방치한 후 2회 washing 완충용액으로 세척한 다음 biotin conjugated anti-IgE를 넣고 2시간 방치하였으며, 다시 2회 수세 후 완충용액으로 세척한 다음 Avidin-HRP conjugated antibody 100  $\mu\text{l}$ 를 처리하고 1시간 실온에서 방치한 후 다시 세척하였다. TMB 기질을 100  $\mu\text{l}$ 씩 분주하고 암소에서 30분간 방치한 후 100  $\mu\text{l}$ 의 stop 용액을 처리한 후 ELISA reader 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

#### 8) 비장세포에서 Th1/Th2 사이토카인 발현 변화

NC/Nga mouse로부터 비장을 적출하여 비장세포를 분리하고 T cell-specific mitogen인 CD3 mAb(BD, USA)와 함께 일정시간 배양한 후 배양액으로부터 Th1(IFN- $\gamma$ ), Th2 사이토카인(IL-4) 농도를 ELISA로 측정하였다. 아토피양 접촉 피부염이 발생되면 모든 Th2 사이토카인이 CD3 mAb 자극에 의해 크게 증가하게 되며, 시험물질이 Th2 사이토카인을 감소시키는지 평가하였다.

#### 9) 조직 분석

등 쪽 목 부분의 피부를 떼어내어 10% paraformaldehyde에서 24시간 동안 포르말린에 고정하였으며 그 조직을 파라핀으로 포맷하였고, 5  $\mu\text{m}$  두께로 block을 만들었다. 그 조직부분은 염증을 일으키는 표피, 진피, 각질세포, 호중구, 호산구, 그 외 다른 세포와 부종을 식별하는 hematoxyline / eosin(H&E) 염색과

비만세포를 염색하는 toluidine blue 염색으로 비만세포의 침윤을 광학현미경(x200, Nikon, Japan)으로 관찰하였다.

#### 10) 통계 분석

각 실험군 결과값은 unpaired student's T-test 통계프로그램을 사용하여 통계 처리하였으며,  $p < 0.05$  이하의 수준에서 유의성 검정을 실시하였다(\* :  $p < 0.05$ , \*\* :  $p < 0.01$ , \*\*\* :  $p < 0.001$ ).

### III. 성 적

#### 1. 도고 온천수(DG-PW)의 성분 분석

도고 온천수에서는 불소 3.3  $\text{mg}/\text{l}$ , 황산이온 30  $\text{mg}/\text{l}$  검출 되었으며 pH7.8로 조사 되었다(Fig. 2).

#### 2. 도고 온천수(DG-PW)와 게르마늄 첨가 도고 온천수(DG-PW+GE<sup>ADD</sup>)에 의한 피부발진 점수 측정

대조군(CT)의 피부발진 점수는 DNCB를 도포한 후 계속 증가하였고, 수돗물에서 입욕 수영 시킨 군(TW)에서는 대조군(CT)에 비하여 차이가 나타나지 않았다. 도고 온천수에서 입욕 수영 시킨 군(DG-PW)은 대조군(CT)에 비하여 28.3% 이상 유의성 있게 ( $p < 0.01$ ) 감소하였으며 게르마늄을 첨가한 도고 온천수(DG-PW+GE<sup>ADD</sup>)에서 수영시킨 군은 대조군(CT)에 비하여 62.2% 이상 유의성( $p < 0.001$ )있게 감소하였다(Fig. 3).

#### 3) 도고 온천수(DG-PW)와 게르마늄 첨가 도고 온천수(DG-PW+GE<sup>ADD</sup>)에 의한 면역글로블린-E 수준 측정

실험종료 후 10주령, 12주령, 15주령에서 채혈하여 혈청 내 IgE 수준을 측정한 결과, 10주령 NC/Nga mouse에서 자연적으로 증가가 되고 DNCB를 도포한





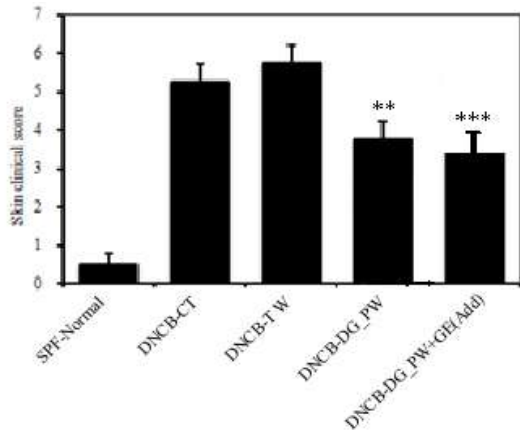


Fig. 3. Skin clinical score of NC/Nga mouse

Skin clinical score of NC/Nga mouse was evaluated by referring Yamato's way. The score was shown by adding up each subsections score. Subsections were divided into 5 (*erythema / hemorrhage, dryness / scarring, excoriation / edema / erosion, lichenification*), then each subsections got scored 0 to 3 following none(0), mild(1), moderate(2), severe(3). The results represent the mean±S.E. Statistically significant value was calculated by compared with control group by student's T-test(\* : p<0.05, \*\* : p<0.01, \*\*\* : p<0.001).  
 DNCB-CT : 0.4% DNCB + Distilled water swimming  
 DNCB-TW : 0.4% DNCB + Tap water swimming  
 DNCB-DG-PW : 0.4% DNCB + DOGO phreatic water swimming  
 DNCB-DG-PW+GE<sup>ADD</sup>: 0.4% DNCB + DOGO phreatic water added germanium swimming

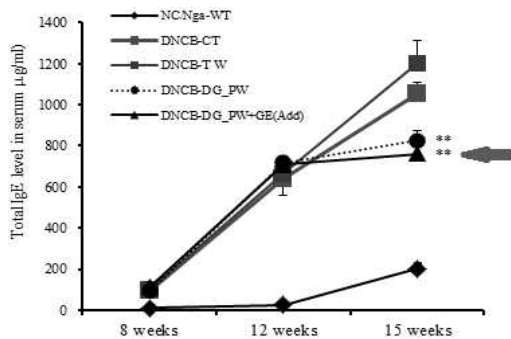


Fig. 4. Total IgE levels of NC/Nga mouse

After age of 10, 12 and 15 weeks NC/Nga mice were treated with swimming in each tanks, total IgE levels were checked in serum. Total IgE levels were measured by ELISA. The results represent the mean±S.E. Statistically significant value was calculated by compared with control group by student's T-test(\* : p<0.05, \*\* : p<0.01, \*\*\* : p<0.001).  
 DNCB-CT : 0.4% DNCB + Distilled water swimming  
 DNCB-TW : 0.4% DNCB + Tap water swimming  
 DNCB-DG-PW : 0.4% DNCB + DOGO phreatic water swimming  
 DNCB-DG-PW+GE<sup>ADD</sup>: 0.4% DNCB + DOGO phreatic water added germanium swimming

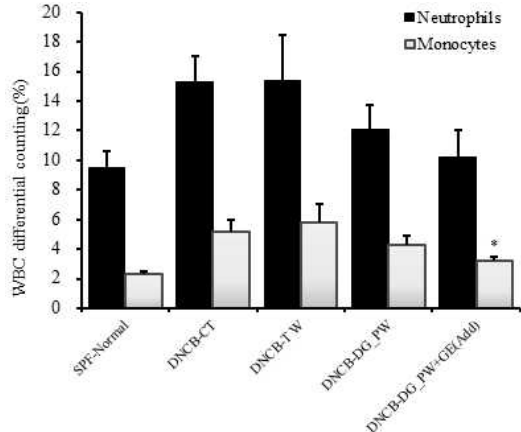


Fig. 5. WBC differential counting(Neutrophils, Monocytes) of NC/Nga mouse

After NC/Nga mice of each groups were treated with swimming in each tanks, WBC differential counting(*Neutrophils, Monocytes*) were checked in serum. The results represent the mean±S.E. Statistically significant value was calculated by compared with control group by student's T-test(\* : p<0.05, \*\* : p<0.01, \*\*\* : p<0.001).  
 DNCB-CT : 0.4% DNCB + Distilled water swimming  
 DNCB-TW : 0.4% DNCB + Tap water swimming  
 DNCB-DG-PW : 0.4% DNCB + DOGO phreatic water swimming  
 DNCB-DG-PW+GE<sup>ADD</sup>: 0.4% DNCB + DOGO phreatic water added germanium swimming

가지지는 못하였다. 게르마늄을 첨가한 도고 온천수에서 입욕 수영 시킨 군(DG-PW+GE<sup>ADD</sup>)은 WBC 내의 호중구 빈도(%) 감소는 유의성을 가지지 못하였지만 단핵구 빈도(%)는 대조군(CT)에 비하여 38.5% 이상 유의성 있게(p(0.05) 감소하였다(Fig. 5).

### 5) 도고 온천수(DG-PW)와 게르마늄 첨가 도고 온천수(DG-PW+GE<sup>ADD</sup>)에 의한 등피부조직내 Neutrophil<sup>+</sup>Gr-1<sup>+</sup> MSC의 총세포수 측정

실험종료 후 혈액에서 PBMC와 등피부조직에서 세포를 분리하여 Neutrophil<sup>+</sup>Gr-1<sup>+</sup> MSC의 총세포수와 비율을 측정된 결과, DNCB를 도포하지 않은 정상군에 비하여 대조군(CT)의 Neutrophil<sup>+</sup>Gr-1<sup>+</sup> MSC의 총세포수와 비율이 현저하게 증가하였다. 수돗물에서 입욕 수영 시킨 군(TW)에서는 대조군(CT)에 비하여 차이가 나타나지 않았고 도고 온천수에서 입욕 수영

시킨 군(DG-PW)은 Neutrophil<sup>+</sup>Gr-1<sup>+</sup> MSC의 총 세포수 비율이 대조군(CT)에 비하여 48.4% 이상 유의성 있게(p<0.05)감소하였다. 게르마늄 첨가한 도고 온천수에서 입욕 수영 시킨 군(DG-PW+GE<sup>ADD</sup>)은 대조군(CT)에 비하여 78.8% 이상 유의성 있게(p<0.01) 감소하였다(Fig. 6).

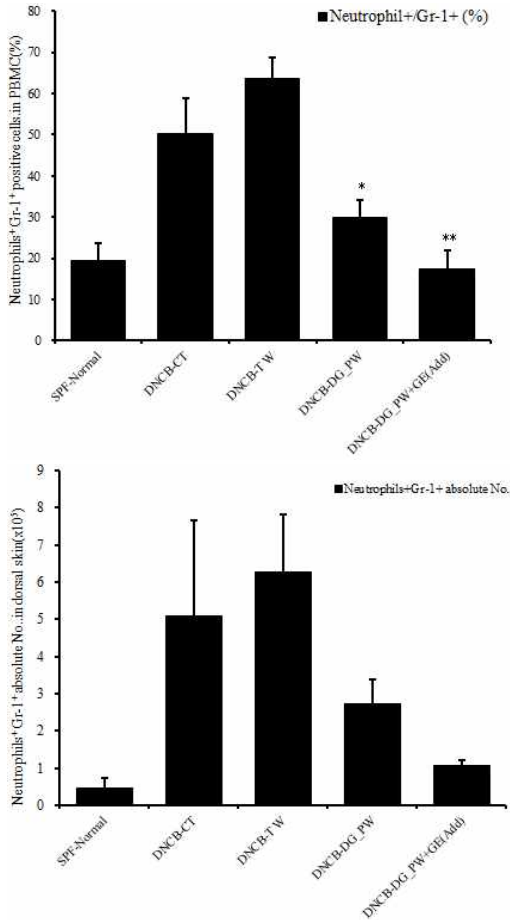


Fig. 6. Neutrophil<sup>+</sup>Gr-1<sup>+</sup> absolute cells number in dorsal skin of NC/Nga mouse

NC/Nga mice were sacrificed absolute cell number of Neutrophil<sup>+</sup>Gr-1<sup>+</sup> were checked in dorsal skin. The results represent the mean±S.E. Statistically significant value was calculated by compared with control group by student's T-test(\* : p<0.05, \*\* : p<0.01, \*\*\* : p<0.001).  
 DNCB-CT : 0.4% DNCB + Distilled water swimming  
 DNCB-TW : 0.4% DNCB + Tap water swimming  
 DNCB-DG-PW : 0.4% DNCB + DOGO phreatic water swimming  
 DNCB-DG-PW+GE<sup>ADD</sup> : 0.4% DNCB + DOGO phreatic water added germanium swimming

6) 도고 온천수(DG-PW)와 게르마늄 첨가 도고 온천수(DG-PW+GE<sup>ADD</sup>)에 의한 등피부조직 Eoxatin 2와 CCR3 mRNA 유전자 발현 분석 실험종료 후 등피부조직에서 세포를 분리하여 Eoxatin 2와 CCR3 mRNA 유전자 발현을 분석한 결과, DNCB를 도포하지 않은 정상군에 비하여 대조군(CT)이 Eoxatin 2와 CCR3 mRNA 유전자 발현이 현저하게 증가하였다. 수돗물에서 입욕 수영 시킨 군(TW)에서는 대조군(CT)에 비하여 차이가 나타나지 않았고 도고 온천수에서 입욕 수영 시킨 군(DG-PW)은 Eoxatin 2(p<0.001)와 CCR3 mRNA(p<0.01) 유전자 발현이 대조군(CT)에 비하여 각각 유의성 있게 감소하였다. 게르마늄 첨가한 도고 온천수에서 입욕 수영 시킨 군(DG-PW+GE<sup>ADD</sup>) 역시 Eoxatin 2와 CCR3 mRNA 유전자 발현이 대조군(CT)에 통계적 유의성을 가지며 큰 폭으로(p<0.001) 감소하였다(Fig. 7).

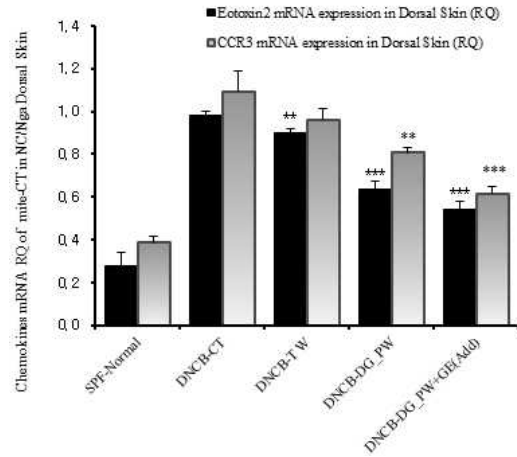


Fig. 7. Eoxatin 2, CCR3 mRNA expression in dorsal skin of NC/Nga mouse

NC/Nga mice were sacrificed Eoxatin 2, CCR3 mRNA expressions were checked in dorsal skin. Eoxatin 2, CCR3 mRNA expressions were analyzed by Real-time PCR. The results represent the mean±S.E. Statistically significant value was calculated by compared with control group by student's T-test(\* : p<0.05, \*\* : p<0.01, \*\*\* : p<0.001).  
 DNCB-CT : 0.4% DNCB + Distilled water swimming  
 DNCB-TW : 0.4% DNCB + Tap water swimming  
 DNCB-DG-PW : 0.4% DNCB + DOGO phreatic water swimming  
 DNCB-DG-PW+GE<sup>ADD</sup> : 0.4% DNCB + DOGO phreatic water added germanium swimming

7) 도고 온천수(DG-PW)와 게르마늄 첨가 도고 온천수(DG-PW+GE<sup>ADD</sup>)에 의한 비장세포 배양 상층액에서 사이토카인 수준 측정

실험종료 후 비장세포를 분리하여 anti-CD3로 자극하며 48시간 배양 후 비장세포 배양 상층액에서 IL-4와 IFN- $\gamma$ 의 생산량을 분석한 결과, DNCB를 도포하지 않은 정상군에 비하여 대조군(CT)에서 IL-4와 IFN- $\gamma$ 의 생산량이 현저하게 증가하였고 수돗물에서 입욕 수영 시킨 군(TW)에서는 대조군(CT)에 비하여 차이가 나타나지 않았다. 도고 온천수에서 입욕 수영 시킨 군(DG-PW)은 IL-4와 IFN- $\gamma$ 의 생산량이 대조군(CT)에 비하여 그 수치가 감소하였고 특히 IL-4는 유의성 있게(p < 0.01) 감소하였다. 게르마늄을 첨가한 도고 온천수에서 입욕 수영 시킨 군 (DG-PW+GE<sup>ADD</sup>)역시 IL-4와 IFN- $\gamma$ 의 생산량이 대조군(CT)에 비하여 수치 감소하였고 IL-4는 유의성 있게(p < 0.01) 감소하였다(Fig. 8).

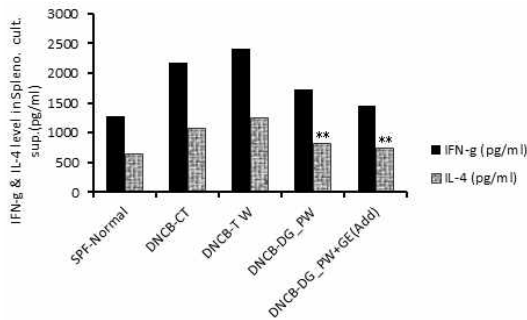


Fig. 8. IL-4, IFN- $\gamma$  production of NC/Nga mouse

NC/Nga mice were sacrificed IL-4, IFN- $\gamma$  production levels were checked in spleen cell. IL-4, IFN- $\gamma$  production levels were measured by ELISA.

The results represent the mean  $\pm$  S.E. Statistically significant value was calculated by compared with control group by student's T-test (\* : p < 0.05, \*\* : p < 0.01, \*\*\* : p < 0.001).

DNCB-CT : 0.4% DNCB + Distilled water swimming

DNCB-TW : 0.4% DNCB + Tap water swimming

DNCB-DG-PW : 0.4% DNCB + DOGO phreatic water swimming

DNCB-DG-PW+GE<sup>ADD</sup> : 0.4% DNCB + DOGO phreatic water added germanium swimming

8) 도고 온천수(DG-PW)와 게르마늄 첨가 도고 온천수(DG-PW+GE<sup>ADD</sup>)에 의한 등피부조직 검사

실험 종료 후 등피부를 절단하여 H&E 염색 하여 분석한 결과, 정상군에 비하여 대조군 (CT)의 상피조직이 부종으로 현저하게 확장되었고 leucocytes의 침윤, erythema, edema, excoriation, scaling도 보이고 있다. 도고 온천수에서 입욕 수영 시킨 군(DG-PW)과 게르마늄 첨가 도고 온천수에서 입욕 수영 시킨 군 (DG-PW+GE<sup>ADD</sup>)은 대조군(CT)에 비하여 상피조직의 두께가 현저하게 줄었고, leucocytes의 침윤 및 erythema, edema, excoriation, scaling 등은 보이지 않아 부종이 거의 사라진 것을 알 수 있다. 수돗물에서 입욕 수영 시킨 군(TW)에서는 대조군(CT)에 비하여 차이가 나타나지 않았다.

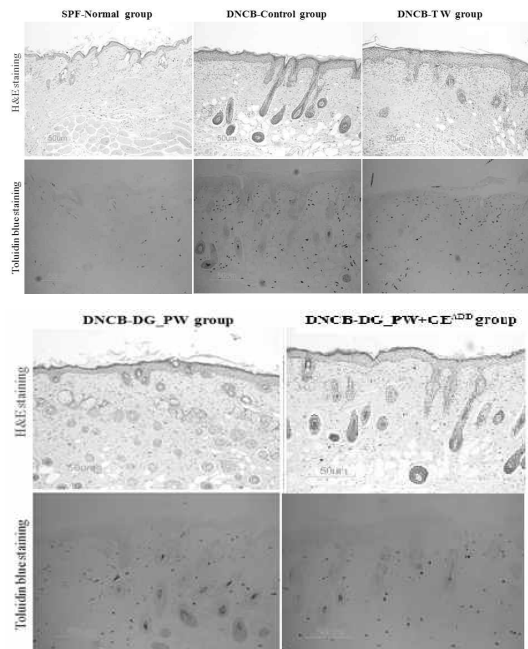


Fig. 9. Histologic test in dorsal skin of NC/Nga mouse

NC/Nga mice were sacrificed, and dorsal skin were processed for histology and stained with Hematoxylin-Eosin & Toluidine Blue.

DNCB-CT : 0.4% DNCB + Distilled water swimming

DNCB-TW : 0.4% DNCB + Tap water swimming

DNCB-DG-PW : 0.4% DNCB + DOGO phreatic water swimming

DNCB-DG-PW+GE<sup>ADD</sup> : 0.4% DNCB + DOGO phreatic water added germanium swimming

또한 등피부에 침윤된 비만세포를 관찰하기 위하여 toluidine blue 염색 하여 분석한 결과, 정상군에 비하여 대조군(CT)의 비만세포가 현저하게 증가되었고, 도고 온천수에서 입욕 수영 시킨 군(DG-PW)과 게르마늄 첨가 도고 온천수에서 입욕 수영 시킨 군(DG-PW+GE<sup>ADD</sup>)은 대조군(CT)에 비하여 비만세포가 거의 사라진 것을 알 수 있다. 수돗물에서 입욕 수영 시킨 군(TW)에서는 대조군(CT)에 비하여 차이를 나타나지 않았다.(Fig. 9).

#### IV. 고 찰

보통 아토피 피부염의 면역지표는 혈액 내 IgE의 농도와 호산구 수의 증가정도이다. 또한 혈액 내 IgG는 독성물질이나 바이러스를 없애며 백혈구의 식살균 작용을 보조한다. 혈액 내 IgE의 증가는 혈액 내 IgG1의 증가에도 관여한다. 아토피 피부염은 항원의 자극을 받아 항체 IgE가 생산되고, 비만세포의 고친화성 수용체와 IgE가 결합한 상태에서 다시 항원의 자극을 받을 경우 알레르기 유발물질인 Cytokine, Histamine, Leukotrienes를 분비한다. 이 알레르기 유발 물질들의 분비로 인해 염증과 가려움증을 나타낸다. 아토피 피부염에서의 면역 체계는 helper T cell(Th) 세포의 활성화를 중심으로 이루어지며 활성화된 Th 세포는 그들이 분비하는 사이토카인의 종류에 따라 제1형과 2형으로 나누어진다. 아토피성 피부염은 제2형 T 세포(Th2)가 활성화되어 나타난 면역 질환이다<sup>22)</sup>.

아토피 피부염 치료의 대체 요법 이용 실태에 대한 설문조사를 살펴보면 전체 100명의 연구 대상 환자 중 84명(84%)이 대체 의학을 현재 이용하고 있거나 과거 이용하였던 것으로 조사되었다. 84명이 총 181개의 방법을 사용하였고 개인당 평균 2.2개의 대체 의학을 사용하였으며 최고 7개까지 사용한 경우도 있었다. 경험한 대체 의학의 종류로는 한약이 73.8%로 가

장 많았고 온천과 목욕 요법이 47.6%, 건강보조식품 39.9%, 식이요법 25.0% 등이 비교적 자주 이용되었고 소수에서 침을 사용하였다. 목욕 요법에는 입욕제의 개념으로 녹차, 해초, 소금물, 쑥, 탕자, 뱀말기풀, 어성초, 숯, 쌀뜨물, 버섯, 검정콩 등 다양한 종류가 이용되었다<sup>15)</sup>. 또 다른 아토피 피부염 환자의 대체 의학 이용 실태에 관한 연구를 살펴봐도 총 200명의 조사 인원 중 156명(78%)이 대체 요법을 이용한 경험이 있으며 그 중 115명(73.7%)이 온천 목욕.요법을 이용한 적이 있는 것으로 나타났다. 대체 요법을 이용한 156명에게 치료 효과를 물어본 결과 101명(64.7%)이 '좋다', 20명(12.8%)이 '나쁘다', 18명(11.5%)이 '모르겠다', 17명(10.9%)이 '보통이다'로 답하여 대체적으로 치료 효과가 좋다고 생각하는 것으로 나타났다<sup>23)</sup>.

아토피 피부염 치료의 대체 요법으로 많이 이용되는 온천욕은 일반적으로 마그네슘 수증기에 의해 뜨거워진 지하수가 지표로 용출되는 열수를 말하며 온천학상의 좁은 뜻에서의 온천은 물리, 화학적으로 보통의 물과는 성질이 다른 천연의 특수한 물이 땅속에서 지표로 나오는 현상을 말하며, 1981년 3월 2일 법률 제 3377호로 제정 공포된 온천법 제 2조에서 「온천이라 함은 지하로부터 용출되는 25℃ 이상의 온수로서 그 성분이 인체에 해롭지 아니한 것을 말한다.」라고 정의하고 있다<sup>16,24)</sup>.

우리나라는 예로부터 온천을 귀하게 여겨왔으며 이것은 설화뿐만 아니라 역사적인 기록 속에서도 찾아볼 수 있다. 역사상에 남아 있는 온천과 관련된 기록 들인 신정비, 고려사, 경국대전, 대전회통을 통해 온천을 우리 선조들이 상당히 귀한 신물로서 여기고 있음을 알 수 있다. 1476년 성종에 세운 신정비는 세조가 1458년 온양에서 온천욕을 한 후 그 효과가 좋아서 신정이라 명명했다는 이야기가 새겨져 있다. 고려사에는 고려 선종때 병든 부모의 온천 치료를 하는 관리에게 휴가제를 실시했다는 기록이 있다. 경국 대전과 대전회통에는 '온천이 있는 곳의 수령은 육장을 관리하고 병인을 구호해야 한다.', '온천을 발견한 자

는 현직자의 경우 3계급 특진, 천인에게는 입역을 면제한다는 기록이 남아 있다. '삼국사기'에 나타난 온양온천 기록을 시작으로 16종의 고문헌 속에 43곳의 온천이 기록되어 있다. 삼국유사에 신라제상 충원공이 동래에서 '온정목욕'을 했다는 기록이 있으며 이를 토대로 삼국시대에 온천을 이용했다는 것을 알 수 있다. 고문헌에 기록된 총 144회 정도의 기록들 중 빈도수가 가장 높은 온천은 온양 온천이고 그 다음으로 이천 온천, 동래 온천, 평해 온천 등이다. 충청남도 온양 온천은 우리나라에서 가장 오래된 온천으로 알려져 있다. 조선시대 여러 왕들은 중풍과 피부병, 안질을 치료하기 위해 이용하였고 왕비들은 부인병을 치료하기 위해 내려온 기록들이 실록을 통해 전해지고 있다. 온양 온천은 다른 지역의 온천보다 수온이 높은 편이며 중탄산 나트륨천으로 각종 성인병과 피부 미용에 효과가 큰 것으로 알려져 있다<sup>25)</sup>.

온천요법은 함유 성분의 화학적 효과, 물리적 효과, 온열 효과, 면역학적 관점의 효과가 있으며 화학적 효과는 광천수의 구성 성분과 직접적으로 연관이 있다. 황은 유황수에서 유리이온이나 결합이온으로 존재하는데 뜨거운 유황수는 항염증 작용, 각질 분해 작용, 항소양 작용, 항균 작용, 항진균 작용을 한다. 따라서 실험에 사용된 도고 온천수와 같은 유황천은 피부나 점막을 통해 비교적 쉽게 체내로 흡수되어 환원력이 강하다. 물리적 효과의 측면을 살펴보면, 온천수에 몸을 담그는 것은 고압력 샤워를 통한 수압 마사지를 받는 것과 같은 변화를 가져오는데 수분과 염분의 이뇨, 혈액 희석, 심장에서의 혈액 유출량의 증가 등과 같은 생리적 변화를 확인할 수 있다<sup>16)</sup>. 온열효과는 혈관 확장을 일으키며 혈액 순환을 촉진하고 혈압을 낮춘다 그리고 온열은 신경의 전도 속도에 영향을 주고 통증의 역치를 증가시켜 통증을 감소시키고 열의 진통 효과는 베타 엔돌핀의 농도 증가로 일부 설명을 할 수 있다. 온열의 직접 작용으로 따뜻해진 몸 부분의 온도가 상승하고 그에 따라 신진 대사가 증가하며 모세 혈관과 소동맥의 확장을 가져오게 한다. 이러한

효능에 따라 온천요법은 심장병, 고혈압, 당뇨병, 신경통, 류마티드 관절염, 소화기 질환, 혈액 순환 장애 등에 효과가 크고 피로 회복 및 스트레스 해소 등의 효과가 있다<sup>26,27,28)</sup>. 면역학적인 관점에서 살펴보면 광천수를 피부에 접촉하는 것은 피부에서 다양한 사이토카인의 분비를 증가 혹은 감소시킬 수 있다<sup>16)</sup>.

한의학에서 바라보는 온천은 性味가 辛熱하고 약간의 독이 있어 온천욕을 하면 疥癬과 瘡毒을 제거할 수 있고, 溫通經絡, 活暢氣血, 化癥舒筋, 精神愉快的 효능이 있다고 나와 있다<sup>29)</sup>. 이는 온천이 가진 화학적 성질에 대한 인식으로 온천의 피부질환과에 대한 치료 효능을 나타낸다. 《東醫寶鑑》에서는 “石硫黃은 性이 大熱하며 味는 酸하며 有毒하다. 心腹積聚, 邪氣, 冷癱과 腰腎久冷, 冷風頑痺, 脚冷痿弱無力 등에 효과가 있으며 堅筋骨하고 壯陽道하며 頭禿, 惡瘡, 下部 蠱瘡, 疥癬蟲을 殺한다”라고 되어 있다<sup>30)</sup>.

온천에 관한 연구로는 차 등<sup>9)</sup>, 한<sup>31)</sup>의 온천에 대한 문헌고찰에 관한 연구가 있으며 이 등<sup>32)</sup>, 신 등<sup>33)</sup>의 온천 요법의 통증 질환에 대한 연구가 진행되어져 있다. 최근 아토피 피부염 치료에 있어 온천을 이용한 연구로는 수소탄산나트륨형 단순천 알칼리성 온천수로 알려진 유성 온천에서 아토피 피부염 환자를 대상으로 피부장벽지표 중에서 경표피수분손실량이 유의성 있게 감소하는 것을 확인한 '아토피 피부염 환자에서 유성 온천수를 이용한 온천욕의 보조적 치료 효과와 안전성에 대한 연구<sup>34)</sup>'가 있다. 또 아토피 피부염의 동물모델인 Nc/Nga mouse에게 도고 온천수 내 포함된 황을 제거한 이후 입욕 요법을 실시하여 도고 온천수 유황 성분의 아토피 피부염 치료 효과에 대한 효능을 보여주는 연구<sup>35)</sup>가 있다. 이 연구에서는 유황 성분을 포함한 온천수가 단순 보습작용을 하는 것을 넘어 아토피 피부염 환자의 IgE, 백혈구내 호중구 및 단핵구 수, IL-4와 IFN- $\gamma$  등의 면역 관련 물질들이 감소하여 상피조직의 두께, 백혈구 침윤, 홍반, 부종 등을 감소시켜 아토피 피부염의 증상을 호전 시킨 것을 밝혀내었다.

이에 본 연구에서는 온천의 효능 중 화학적 효과에 입각하여 게르마늄 성분이 포함된 도고 온천수를 이용하여 아토피 피부염에 대한 치료 효과에 대한 연구를 하였다. 본 연구를 시행한 파라다이스 스파 도고 온천은 충청남도 아산시 도고면 기곡리와 선장면 신성리에 위치하고 있으며 약알칼리천, 약염천에 속하는 유황천으로 수온은 25~32.5℃이며 2009년 보양 온천으로 지정되어 있다<sup>18)</sup>. 이런 약알칼리천, 약염천은 우리나라에서 비교적 많이 발견되는 온천으로 만성 피부 질환, 만성 관절 질환, 류머티즘, 신경통에 효과가 있다고 알려져 있다<sup>36,37)</sup>

게르마늄은 주기율표 제4B족에 속하는 탄소족원소로 토양, 식물, 약수 등에 분포해 있다. 원소기호 Ge로 명명하며 원자번호 32번이다. 게르마늄은 유기성 게르마늄과 무기성 게르마늄으로 나누며 무기성 게르마늄은 절대로 복용할 수 없지만 살갗에 닿게 하여 통증을 해소하는 등 성인병 질환에는 좋은 효과가 있다. 유기성 게르마늄은 현재 복용할 수 있는 합성용해성 유기게르마늄이 만들어져 사용되고 있다. 게르마늄은 간독성 경감, 돌연변이 억제, 면역 조절, 면역 활성화, 항암 작용, 항바이러스 작용, 혈압 조절, 진통, 콜레스테롤 저하 등 다양한 방면에서 치료 효과를 보이고 있다.

NC/Nga mouse를 이용하여 아무처리 하지 않은 정상군, 등을 제모한 후 0.4% DNCB를 2주간 도포하고 증류수에서 3주간 오전 11시에서 30분간 입욕 수영 시킨 군을 대조군(CT), 등을 제모한 후 0.4% DNCB를 도포하고 수돗물에서 입욕 수영 시킨 군(TW), 등을 제모한 후 0.4% DNCB를 도포하고 도고 온천수에서 입욕 수영 시킨 군(DG-PW), 등을 제모한 후 0.4% DNCB를 도포하고 게르마늄 첨가 도고 온천수에서 입욕 수영 시킨 군(DG-PW+GE<sup>ADD</sup>)으로 나누어 본 실험을 진행하였다(Fig. 1).

먼저 피부 발진 점수를 살펴보면 게르마늄을 첨가한 도고 온천수에서 입욕 수영 시킨군DG-PW+GE<sup>ADD</sup>)은 대조군(CT)에 비하여 62.2% 이상 유의성

(p < 0.001)있게 감소하였다 (Fig. 3). 실험 종료 후 10주령, 12주령, 15주령에서 채혈하여 혈청 내 면역글로블린-E 수준을 측정된 결과, 게르마늄 첨가한 도고 온천수에서 입욕 수영 시킨 군(DG-PW+GE<sup>ADD</sup>)은 대조군(CT)에 비하여 27.9% 이상 유의성 있게(p < 0.01) 감소하였다(Fig. 4). WBC 내의 호중구 및 단핵구 빈도(%)를 측정된 결과 역시 게르마늄 첨가한 도고 온천수에서 입욕 수영 시킨 군(DG-PW+GE<sup>ADD</sup>)의 단핵구 빈도(%)가 대조군(CT)에 비하여 38.5% 이상 유의성 있게(p < 0.05) 감소하였다(Fig. 5).

실험종료 후 혈액에서 PBMC와 등피부조직에서 세포를 분리하여 Neutrophil<sup>+</sup>Gr-1<sup>+</sup> MSC의 총세포수를 측정된 하였다. 그 결과 게르마늄 첨가한 도고 온천수에서 입욕 수영 시킨 군(DG-PW+GE<sup>ADD</sup>)은 대조군(CT)에 비하여 78.8% 이상 유의성 있게(p < 0.01) 감소하였다 (Fig. 6). 또한 등피부조직 세포의 Eoxatin 2와 CCR3 mRNA 유전자 발현을 분석한 하였을때도 게르마늄 첨가한 도고 온천수에서 입욕 수영 시킨 군(DG-PW+GE<sup>ADD</sup>)의 Eoxatin 2와 CCR3 mRNA 유전자 발현이 대조군(CT)에 통계적 유의성을 가지며 큰 폭으로(p < 0.001) 감소하였다(Fig. 7).

실험종료 후 비장세포를 분리하여 anti-CD3로 자극하며 48시간 배양 후 비장세포 배양 상층액에서 IL-4와 IFN- $\gamma$ 의 생산량을 분석한 결과, 게르마늄을 첨가한 도고 온천수에서 입욕 수영 시킨 군(DG-PW+GE<sup>ADD</sup>)의 IL-4와 IFN- $\gamma$ 의 생산량이 대조군(CT)에 비하여 수치가 감소하였고 IL-4는 유의성 있게(p < 0.01) 감소하였다(Fig. 8).

실험 종료 후 등피부를 절단하여 H&E 염색 하여 분석한 결과, 게르마늄 첨가 도고 온천수에서 입욕 수영 시킨 군(DG-PW+GE<sup>ADD</sup>)은 대조군(CT)에 비하여 상피조직의 두께가 현저하게 줄었고, leucocytes의 침윤 및 erythema, edema, excoriation, scaling 등은 보이지 않아 부종이 거의 사라진 것을 알 수 있었다. 또한 등피부에 침윤된 미관세포를 관찰하기 위하여 toluidine blue 염색 하여 분석하였을 때 역시 게르

마늄 첨가 도고 온천수에서 입욕 수영 시킨 군 (DG-PW+GE<sup>ADD</sup>)이 대조군(CT)에 비하여 비만세포가 거의 사라진 것을 확인할 수 있었다(Fig. 9).

하지만 이 실험은 사람이 아닌 아토피양 접촉 피부염 동물 모델을 이용하였으며 사람의 아토피 피부염 유발 시 영향을 끼치는 유전적인 요인을 고려하지 못했다는 측면에서 동물 모델이 사람의 아토피 피부염 특성을 반영하기에는 어려움이 있다<sup>38)</sup>. 따라서 치료의 보조 용법으로 사용되기 전에 아토피 피부염 환자들을 대상으로 한 임상 연구가 필요할 것으로 사료되며, 향후 이 등<sup>34)</sup>, 장 등<sup>35)</sup>의 연구에서 알려진 온천의 아토피 피부염 치료 효과를 이용한 추가적인 연구 및 임상 연구가 필요할 것으로 사료된다.

## V. 결 론

아토피양 접촉 피부염 유발 NC/Nga mouse를 도고 온천수와 게르마늄 첨가 도고 온천수에서 입욕 수영을 시켜 아토피 피부염 치료에 미치는 영향을 살펴본 결과 게르마늄 성분이 포함된 도고 온천수에서 대조군과 비교하여 다음과 같은 유의한 결과를 얻었다.

1. 피부발진 점수가 유의성 있게 감소하였다.
2. IgE 수준이 유의성 있게 감소하였다.
3. 백혈구내 호중구 및 단핵구 수가 각각 유의성 있게 감소하였다.
4. 등피부조직내 Neutrophil<sup>+</sup>Gr-1<sup>+</sup> MSC의 총세포수가 유의성 있게 감소하였다.
5. 등피부조직 Eoxatin 2와 CCR3 mRNA 유전자 발현이 각각 유의성 있게 감소하였다.
6. 비장세포 배양 상층액에서 IL-4와 IFN- $\gamma$  생성량이 각각 유의성 있게 감소하였다.
7. 등피부조직의 상피조직의 두께, 백혈구 침윤, 홍반, 부종, 찰과상, 딱지가 감소하였으며 비만세포도 감소하였다.

이상의 결과를 통해 게르마늄 성분이 포함된 도고 온천수는 아토피양 접촉 피부염 유발 NC/Nga mouse에서 면역학적 염증 반응을 효과적으로 조절한다고 볼 수 있으며 이러한 기전을 바탕으로 온천 요법을 이용하여 아토피 피부염에 대해 치료법으로 이용 가능할 것으로 판단된다.

## VI. 감사의 글

대전대학교(참여기업:한국지에이티) 산학협력기술 개발사업(과제번호 C0218073)의 지원을 받아 수행되었음.

## References

1. Korean Dermatological Association Textbook Compilation Committee, Dermatology 5th, Seoul:Ryo Moon Gak, 2008:170-1.
2. Blume-Peytavi U, Metz M, Atopic dermatitis in children: management of pruritus, J Eur Acad Dermatol Venereol, 2012;26:2-8.
3. Addor FA, Takaoka R, Rivitti EA, Aoki V, Atopic dermatitis: correlation between non-damaged skin barrier function and disease activity, Int J Dermatol 2012;51: 672-676
4. Yu JS, Lee CJ, Lee HS, Kim J, Han Y, Ahn K, et al. Prevalence of atopic dermatitis in Korea: analysis by using national statistics, J Korean Med Sci 2012;27:681-5.
5. Sandstrom MH, Faergemann J. Prognosis and prognostic factors in adult patient with atopic dermatitis : a long-term follow-up questionnaire study, Br J Dermatol, 2004;150:103-10.

6. Patrick D. Does atopic dermatitis result from cytokine dysregulation? *J invest Dermatol*. 1994;92:44-7.
7. Horsmanheimo L, Harvima IT, Jarvikallio A, Harvima RJ, Naukkarinen A, Horsmanheimo M. Mast cells are one major source of interleukin-4 in atopic dermatitis. *Br J Dermatol*. 1994;131:348-53.
8. Kim JW. Allergy and immunological perspective in atopic dermatitis. *J of Korean Dermatological Association*, 2003;41(6): 687-9.
9. Cho SH, Song SH, Kim YG, Ji YG, Choi DC, Yoon HJ, Min KU, Kim YY. Regulation of IgE production in patients with atopic disease: Imbalance of IL-4 and IFN- $\gamma$  production. *J Immunol*. 1995;15(2):205-8.
10. Ahn PS, Bang HD, Jung JH, Kim GH, Park KC, Yoon JI. Effect of recombinant interferon gamma on the treatment of atopic dermatitis. *J Immunol*. 1996; 16(3):291-8.
11. Cho SH, Song SH, Kim YG, Ji YG, Choi DC, Yoon HJ, Min KU, Kim YY. Regulation of IgE production in patients with atopic disease: Imbalance of IL-4 and IFN- $\gamma$  production. *J Immunol*. 1995;15(2):207-15.
12. Sung HC, Lee WJ, Lee SJ, Kim DW. A Study on the Relationship of Allergy-related Laboratory Findings with the Clinical Severity of Atopic Dermatitis. *J of Korean Dermatological Association*, 2006;44(9):1051-7.
13. Robert Sidbury MD, Jon M, Hanifin MD. Old, New, And Emerging Therapies for Atopic Dermatitis. *Dermatologic Clinics*. 2000;18(1): 1-11.
14. Schreiber SL, Crabtree GR. The mechanism of action of cyclosporin A and FK506. *Immunol Today*. 1992;13(4):136-42.
15. Jin HW. Use of Alternative Medicine for Atopic Dermatitis. Graduate school of Busan University master's thesis. 2005:9.
16. Cha YY, Kim DG, Heo SK, Kim EG, Heo YJ, Kong IP, et al. A literature review and study on effect of Balneotherapy. *J Korean Med Ophthalmol Otolaryngol Dermatol*. 2007;20(2):132-41.
17. Lee HE, Kim HR, Im M, Lee Y, Kim CD, JH Lee et al. Efficacy of Balneotherapy as an Adjuvant Treatment for Atopic Dermatitis at Yuseong Spa, Korea. *Korean J of Dermatol*. 2014;52(2):83.
18. Lee WH. Therapeutic Effect about Hot Spring Water as Korea Traditional Hydrotherapy. *The Journal of Rehabilitation Science Research*. 2009;27(2):55-64.
19. McMurtry CW. Dermatologic therapeutics : sulfur. *J Cutan Dis*. 1913;322:399-408.
20. Seo DC, Cheon YS, Park SK, Park JW, Kim AR, Lee WG et al. Application of different types of germanium compounds on rice plant growth and its Ge uptake. *Korean J. Soil Sci. Fert*. 2010;43(2):166-7.
21. Dogru M, Katakami C, Nakagawa N, Tetsumoto K, Yamamoto M. Impression cytology in atopic dermatitis. *Ophthalmology*. 1998;105:1478-84.
22. Shin GR, Kim YW. Effect of Chamomile German Oil Application of IgG1 and IgE 1 to Atopic Dermatitis in NC/Nga Mice Model. *J of Korean Association of Human Ecology*. 2009;18(2):501-2.
23. Park SE. Cognition of Atopic Dermatitis and Real Condition of Alternative Medicine-Use.



- Graduate school of Kwangju Women's University master's thesis, 2011:1-84.
24. Lee YH. A Comparative Study of Geological Characteristics Spa, Journal of Korean Geographical Society, 2007;42(6):851-62.
25. Park GS, Lee YG, Lee SH. Culture : Korean Hot Spring Culture and Medical Tourism, Korea Institute of Ideology and culture, 2011;57(0):321-8.
26. Jo KD. Oncheon, Korea Hotspring Association, 2003.
27. Lee JH., Kim MD. A study on the Interior Space of the Health Hot-spring Resort which it Sees with Cure Concept, Korean Society of basic Design & Art, 2009;10(6):355-65.
28. Jeroza D, Vifas M, Tatar P, Jurcovicora J, Palat M. Rice in plasma beta-endorphin and ACTH in response to hyperthermia in sauna Horm Metab Res, 1985;17:693-4.
29. National federation of department of rehabilitation medicine, colleges of oriental medicine, Oriental Rehabilitation Medicine, Seoul:SeoWonDang, 1995:445-6.
30. Heo J. Dongeuibogam, Dongeuibogam Publishers, 2005:1992, 2254, 2258.
31. Han KS. The history of hot spring and bathing in Korea, Korea Academic Society of Tourism Management, 2012;27(5):565-86.
32. Li YC, Choi BM, Jahng SJ, Ahn TW, Lee JM. The Clinical Study of Repeatedly Performed of Balneotherapy on Cervical Pain, J Oriental Rehab Med, 2013;23(3):141-8.
33. Shin JH, Park JH, Ahn TW, Hong SY. The Clinical Study of Effect of Balneotherapy on Low Back Pain, J Oriental Rehab Med, 2012;22(1):97-108.
34. Lee HE, Kim HR, Im M, Lee Y, Kim CD, JH Lee et al. Efficacy of Balneotherapy as an Adjuvant Treatment for Atopic Dermatitis at Yuseong Spa, Korea, Korean Journal of Dermatology, 2014;52(2):82-8.
35. Jang, MH, Go GY, Ahn YC, Ahn TW. Effect of DOGO phreatic water containing sulphur on Atopic Dermatitis in NC/Nga mouse, J Korean Med Ophthalmol Otolaryngol Dermatol, 2013;26(3):36-53
36. Park JC, Park JH. Hydrotherapy. Seoul:HyunMoonSa, 1996:226, 236.
37. Chin HY, Jang HS, Jang BS, Jo JH, Kim MB, Oh CK, et al. A Study on Utilization of Alternative Medicine for Patients with Atopic Dermatitis, Korean Journal of Dermatology, 2005;43(7):903-11.
38. Park YC, Lim JD, Park YK, Yoon MS, Lee SD. Review : Clinical Application and Efficacy of Herbal Medicines by Modulating Cytokines in Atopic Dermatitis-induced Animal Model, Kor. J. Herbology, 2012;27(4):33-44.