

Original Article / 원저

# 고지방식으로 비만을 유발한 마우스의 알레르기 비염에 대한 防風通聖散의 효과

김동현 · 홍승욱

동국대학교 한의과대학 한방안이비인후과피부과교실

## The Effect of Bangpungtingsungsan on Allergic Rhinitis Of Obese Mouse Fed High Fat Diet.

*Dong-Hyun Kim · Seung-Ug Hong*

Dept. of Oriental Medicine Ophthalmology & Otolaryngology & Dermatology,  
College of Oriental Medicine, Dongguk University

### Abstract

**Objective** : For various reasons, Obesity & Rhinitis are constantly rising. So Interest of treatment has been expanding. We want to verify The Chungyeol (fire extinguishing) Lisup (Draining) effect of *Bangpungtingsungsan* on obese model of allergy rhinitis.

**Material and Methods** : BALB/c mouse were divided four groups: control(CON), allergic induction(ARE), *Bangpungtingsungsan* extract administration(BIT), *Bangpungtingsungsan* double concentration extract administration (BT2T). Every group except control group were caused allergic rhinitis by Ovalbumin. BIT & BT2T were orally administered the *Bangpungtingsungsan* for 21days. Since then we observed the liver tissue cell and the nasal mucous membrane.

**Results** : In comparison with ARE, experimental groups show relief of the nasal mucous membrane damage(secretion of mucus decrease, Itching decrease), Th2 eruption control(IL-4 decline), effect of anti-inflammatory(reducing TNF- $\alpha$  creation, decreasing of iNOS through NF- $\kappa$ B activation-inhibition). In addition, experimental groups show a loss in weight, diminished accumulation of fat. (decreasing within liver tissue, reducing TNF- $\alpha$  creation) BT2T is more effective to BIT.

**Conclusion** : *Bangpungtingsungsan* treat obese model on allergy rhinitis thereby control fat augmentation, relieving inflammation.

**Key words** : *Bangpungtingsungsan*; allergy rhinitis; obesity; TNF- $\alpha$ ; High Fat Diet.

© 2016 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.

## I. 서 론

알레르기 비염은 비강점막이 특정항원에 대해 과민 반응으로 재채기, 비폐색, 鼻漏, 가려움 등의 증상을 나타내는 질환으로 갈수록 그 유병률이 증가하고 있다. 여기에는 대기오염, 먼지, 화학물질 등의 환경요인도 관련성이 많겠지만 또 다른 중요한 원인으로 비만이 주목받고 있다<sup>1,2)</sup>.

비만은 에너지의 섭취와 소비의 불균형으로 과잉된 에너지가 체내의 지방조직에 중성지방으로 축적된 상태로<sup>3)</sup> 여러 요인이 복합적으로 관련되어 있으며, 지질대사 이상, 고혈압, 심혈관질환 등의 대사증후군과 높은 연관성 때문에 중요한 건강문제로 주목되고 있다<sup>4)</sup>. 이 외에도 비만은 최근 염증성 질환과 관련하여 주목을 받고 있는데 관절염도 이에 해당하며, 최근 연구에 따르면 알레르기비염 도 비만과의 관련성이 점차 입증되고 있다<sup>5,6)</sup>.

알레르기와 관련된 mast cell과 비만의 지방세포의 연관성 또한 많은 논문에 의해 입증되고 있으며<sup>7-9)</sup>, 실제로 2014년 건강보험통계연보<sup>10)</sup>를 참고하면 2007년에 다발성 질병 10위로 427만 8천명이 이환되었던 알레르기 비염과 혈관운동성 비염은 2013년과 2014년 다발성 질병 5위로 각각 595만 천명, 635만 천명으로 지속적으로 늘어나고 있고, 2014년 국민건강영양조사<sup>11)</sup>에 따르면 비만의 유병률은 10년째 32~35%의 수준을 보이고 있는데, 2008년 32.9% 이후 올해는 32.9% 감소하긴 하였으나 2013년 34.6%로 전반적으로 증가추세를 보이고 있다.

이러한 사실을 고려할 때 비만과 알레르기 비염의 증가에는 여러 가지 요인이 관련되어 있지만 두 질환의 상호작용 역시 무시할 수 없는 정도에 이르렀음을

알 수 있으며, 이 둘을 같이 조절할 수 있으면 좀 더 효과적으로 이 질환들을 치료할 수 있다는 생각에 이르게 되었고, 그 방법에 대해서 찾게 되었다.

두 질환을 변증해보면 다른 분류도 있지만 일반적으로 한의학에서는 비염의 원인을 外感, 濕熱이나 風熱, 肺氣虛弱등의 범주에서 보고 있으며<sup>12)</sup>, 비만의 원인은 脾虛濕阻, 胃熱, 肝氣鬱結, 氣虛血瘀, 痰濁中阻, 脾腎陽虛의 범주에서 보고 있다<sup>4)</sup>. 여기에서 비만과 알레르기 비염의 공통의 원인이 濕熱이라는 것을 알 수 있었고 둘을 동시에 조절할 수 있는 적합한 처방으로 防風通聖散을 제시할 수 있다.

방풍통성산은 주로 지질대사나 체중감소에 따른 연구가 많이 진행되어 있으며, 알레르기 질환 또한 연구가 이루어져있다<sup>13)</sup>. 그러나 지금까지 이뤄진 알레르기 비염영역에서의 연구는 세포수준에서 항알레르기, 항염증 효과를 검증한 논문이거나, 濕熱이라는 방풍통성산의 변증을 고려하지 않는 상황에서 이루어진 실험으로 그 효과를 확실히 검증하지 못하였다<sup>14,15)</sup>.

이에 본 실험에서는 방풍통성산이 濕熱에 쓰는 처방임을 고려하여 실제 임상과 유사한 환경을 만들기 위해 고지방식이를 통해 마우스를 비만하게 만든 다음 알레르기 비염을 유발하고 방풍통성산을 투여하는 과정에서 지방축적의 감소와 알레르기 비염 완화에 유효한 효과를 확인하였기에 이에 보고하는 바이다.

## II. 실험재료 및 방법

### 1. 실험 재료

#### 1) 실험동물

대한실험동물센터에서 분양 받은 태령 6주된 Balb/c계 수컷 생쥐를 무균사육장치내에서 2주일동안 적응시킨 후 체중 20g된 생쥐를 선별하여 사용하였다. 정상군(CON), 알러지성 비염 유발군(ARE), 알러지성 비염 유발 후 방풍통성산 투여군(BTT) 그리고

Corresponding author : Seung-ug Hong, Dept. of Ophthalmol Otolaryngol Dermatol, Dongguk University Ilsan Hospital, donggukro 27, Ilsan donggu, Goyang city, Gyeonggi-do, 420-774, South Korea

(Tel: 031-961-9082, E-mail: heenthstu@duih.org)

• Recieved 2015/12/28 • Revised 2016/2/3 • Accepted 2016/2/8

알러지성 비염 유발 후 배방-방풍통성산 투여군 (BT2T)으로 나누었다. 각 군에 각 10마리씩 배정하였으며, 실험기간동안 high fat diet(fat, 60%; carbohydrate, 20%; protein, 20%; DIO DIET, USA)를 섭취시켰다. 동물실험은 동국대학교 동물실험윤리위원회의 승인(LACUC-2015-007) 후 실시되었다.

2) 방풍통성산 추출물의 제조와 투여량 결정

실험에 사용된 防風通聖散(Bangpungtongsungsungsan)은 조은한약에서 구입하여 사용하였다(Table 1). 방풍통성산(이하 BTT) 4첩을 증류수 1500ml에 넣고 3시간동안 전탕한 후 여과하였다. 그 여액을 rotary evaporator를 이용하여 50ml으로 감압하고 농축한 후 동결 건조하여 추출물 42g(수득률 23%)을 얻어 사용하였다. 배방된 방풍통성산(이하 BT2T) 4첩도 동일한 방법을 적용하여 추출물 71g(수득률 21%)을 얻어 사용하였다. 투여량은 BTT에 0.35mg/kg, BT2T에

0.59mg/kg로 결정하였고, 알러지성 비염 유발 후 경구 투여 하였다(Fig. 1).

2. 실험 방법

1) 알레르기 비염의 유발

알레르기 비염 유발을 위해 ovalbumin(OVA : chicken egg albumine, grade V, Sigma)를 항원으로 사용하였다. OVA 25µg : 수산화알루미늄겔(Al(OH)<sub>3</sub> gel) 1 mg : 인산완충용액(PBS: phosphate buffered saline) 300µl의 비율로 혼합하여 0.1% OVA용액을 만들고 알레르기 비염 유발 시작 21일, 14일, 7일전에 이를 복강주사하여 감작시켰다. 최종 감작 7일 경과 후 5일 동안 OVA 100µg : 인산완충용액(PBS : phosphate buffered saline) 20µl의 비율로 혼합하여 이를 생쥐 비강에 점적하여 알레르기 비염을 1차 유발하였다. 1차 유발 7일 경과 후 동일한 방법으로 2차 유발하였다. 유발은 콧물과 코 긁기 행동으로 확인하였다(Fig. 1). 한편 체중은 알레르기 비염 유발 후 측정하였다.

Table 1. The Amount and Composition of Bangpungtongsungsungsan Extract

Herbal name	Scientific name	Dose (g)
滑石	TALCUM	7
防風	Peucedani Radix	2
甘草	Glycyrrhizae Radix et Rhizoma	5
當歸	Angelicae gigantis Radix	2
川芎	Cnidii Rhizoma	2
赤芍藥	Paeoniae Radix Rubra	2
梔子	Gardeniae Fructus	1.5
大黃	Rhei Rhizoma	2
荊芥	Schizonepetae Spica	1.5
白朮	Atractylodis Rhizoma Alba	1.5
石膏	Gypsum Fibrosum	3
薄荷	Menthae Herba	2
麻黃	Ephedrae Herba	2
芒硝	Natrii Sulfas	2
連翹	Forsythiae Fructus	2
桔梗	Platycodi Radix	3
黃芩	Scutellariae Radix	3
生薑	Zingiberis Rhizoma Crudus	6
總	量	49.5

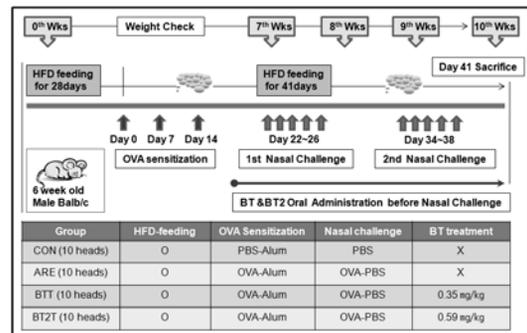


Fig. 1. Protocol for allergen sensitization and challenge. Mice were sensitized on days 0, 7, and 14 by Intraperitoneal injection of ovalbumin(OVA) emulsified in alum hydroxide(OVA 25µg : Alum 1mg : PBS 300µl). On days 22 through 26 after initial sensitization, the mice were challenged with OVA(OVA 100µg : PBS 20µl) intranasally. On days 34 through 38 after initial sensitization, the mice were challenged with OVA(OVA 100µg : PBS 20µl) intranasally. BT was orally administered on days 22 through 40. Abbreviation, HFD, high fat diet(fat, 60% : carbohydrate, 20% : protein, 20%) ; PBS, phosphate-buffered saline ; BTT, after

induction allergy rhinitis and take *Bangpungtongsungsan* ; BT2T, after induction allergy rhinitis and take double dose *Bangpungtongsungsan*, ARE, after induction allergy rhinitis and take nothing ; Con, control

## 2) 비만조절 효과

가. 간조직내 지방축적 변화 관찰을 위한 조직화학 Oil Red O 염색법을 통해 간조직내 지방의 분포 변화를 조사하였다. 각 군을 sodium pentobarbital 용액으로 마취하고 vascular rinse와 10% 중성 포르말린용액(neutral buffered formalin: NBF)으로 심장관류고정을 실시하였다. 얻어진 간조직을 10% NBF에 실온에서 24시간동안 고정한 후 10% formol-calcium에 1주일동안 oxidation 처리한 후 30% sucrose 용액에 cryo-protection하고 냉동절편기(Microm, Germany)로 10  $\mu$ m 두께의 냉동절편을 제작하였다. 냉동절편을 Oil red O 용액에 10분간 처리하고 85% propylen glycol에서 분별한 후 Harris Hematoxylin로 대조염색 하였다. 대조 염색 후 증류수로 3회 수세한 다음 glycerin jelly로 봉입한 후 광학현미경으로 관찰하였다.

나. 간조직내 TNF- $\alpha$  분포 변화 관찰을 위한 면역조직화학

지방 축적에 따른 간조직내 Tumor necrosis factor(TNF)- $\alpha$  증감을 조사하기위해 면역조직화학적 염색을 실시하였다. 우선 절편을 proteinase K (20 $\mu$ g/ml)에 5분 동안 proteolysis 과정을 거친 후 blocking serum인 10% normal goat serum(DAKO, Denmark)에서 2시간 동안 반응시켰다. 그리고 1차 항체인 goat anti TNF- $\alpha$  (1:100, Santa Cruz Biotec)에 4 $^{\circ}$ C humidified chamber에서 72시간 동안 반응시켰다. 그 후 2차 항체인 biotinylated rabbit anti-goat IgG(1:100, Santa Cruz Biotec)에 4 $^{\circ}$ C humidified chamber에서 24시간 link 하

였고, avidin biotin complex(ABC) kit (Vector Lab, USA)에 1시간동안 실온에서 반응시켰다. 0.05% 3,3'-diaminobenzidine(Sigma)과 0.01% HCl이 포함된 0.05M tris-HCl 완충용액(pH 7.4)에서 발색시킨 후, hematoxylin으로 대조 염색하였다.

## 3) 알레르기 비염 완화 효과

가. 코 점막 조직표본 제작

각 군을 sodium pentobarbital 용액으로 마취하고 vascular rinse와 10% 중성 포르말린용액(neutral buffered formalin : NBF)으로 심장관류고정을 실시하였다. 머리 분리 후 비강 주변 구조물을 제거한 다음 10% NBF에 실온에서 24시간동안 고정한 후 탈회액(decalcification solution, BBC, UK)에 12시간 처리하고 세척한 후 통상적인 방법으로 파라핀에 포매하여 5 $\mu$ m 두께로 연속절편을 만들었다. 만들어진 연속절편에 Phloxine-tartrazine 염색법을 실시하였다. Mayer's hematoxylin에 5분간 핵 염색한 후 phloxine 용액에 30분간 반응시켰다. 그런 다음 tartrazine 용액에서 분별 후 관찰하였다.

나. 점막상피 손상 변화 관찰을 위한 조직화학 호흡상피에서 중성점액질(neutral mucin)을 분비하는 점액분비세포의 변화를 조사하기위해서 periodic acid-schiff reaction(PAS) stain를 실시하였는데 우선 periodic acid에서 5분간 반응시킨 후 Schiff reagent에서 15분동안 처리하였다. 그런 다음 sulfurous rinse에서 각 2분씩 3회 세척한 후 Hematoxylin에서 1분동안 대조 염색하였다.

다. 점막상피 손상 변화 관찰을 위한 면역조직화학

### ① Th2 분화 관찰

Interleukin(IL)-4의 분비 변화를 조사하기위해 goat anti-mouse IL-4(1:100, Santa Cruz

Biotec)항체를 이용한 면역조직화학적 염색을 실시하였다.

② TNF- $\alpha$  변화 관찰

전염증효소인 tumor necrosis factor(TNF)- $\alpha$  분포 변화를 rabbit anti mouse TNF- $\alpha$  (1:100, Santa Cruz Biotec)을 이용한 면역조직화학적 염색 후 관찰하였다.

③ 염증효소 생성 변화

염증유발유전자들을 조절하는 전사인자 nuclear factor(NF)- $\kappa$ B와 인산화된 I $\kappa$ B protein의 분포 변화를 조사하기 위해 mouse anti mouse nuclear factor(NF)- $\kappa$ B p65 (1:500, Santa Cruz Biotec)와 mouse anti mouse p-IKB(1:500, Santa Cruz Biotec)를 이용한 면역조직화학적 염색을 실시하였다. 염증 효소인 iNOS의 조직내 분포를 조사하기 위해 mouse anti-mouse iNOS(1:250, Santa Cruz Biotec)를 이용한 면역조직화학적 염색을 실시하였다.

④ 점막내 Substance P 변화 관찰

알러지성 비염 유발시 itching에 관여하는 신경전달물질인 substance P 분포 변화를 mouse anti mouse substance P (1:100, Santa Cruz Biotec)을 이용한 면역조직화학적 염색 후 관찰하였다.

4) 영상분석과 통계처리

조직화학과 면역조직화학 결과는 영상분석(image Pro Plus, Media cybernetics)을 통해서 수치화(means  $\pm$  standard error) 했다. 통계는 SPSS software(SPSS 23, SPSS Inc., USA)를 이루어졌으며, one-way ANOVA 시행을 통해 유의성(P < 0.001)을 검증하고 Levene's (LSD) test로 사후 검증하였다.

III. 결 과

1. 비만조절 효과

1) 체중 조절

알러지성 비염 유발 후 체중은 감소되는데, 방풍통성산 추출물 투여가 더 큰 감소폭을 보였다. 최종적으로 ARE에 비해 BTT는 15%, BT2T는 18%의 유의성 있는 감소를 보였다. 또한 BTT에 비해 BT2T는 감소하였지만, 유의성은 없었다(Fig. 2).

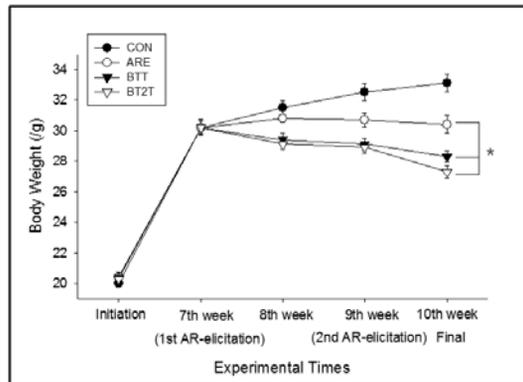


Fig. 2. The reduction of body weight.

The weight in BTT & BT2T noticeably decreased than ARE and this decrease had probability. \*, P < 0.005 BTT compared with ARE. Other abbreviation same as Fig. 1.

2) 간의 지질대사 조절

Oil red O 염색 결과, 고지방식이 투여된 간조직에서 지방 축적이 증가하였다. BTT와 BT2T는 ARE에 비해 지방축적이 적은 것으로 관찰되었다. BTT와 BT2T의 간세포에서는 Oil red O에 양성반응을 보이는 지방방울이 적었다(Fig. 3A-D).

지방세포내 TNF- $\alpha$  변화를 조사하기 위해 goat anti TNF- $\alpha$  항체를 이용한 면역조직화학적 염색 후 Image pro Plus를 이용해 영상분석을 실시하였다. ARE군의 지방세포에서 TNF- $\alpha$  양성반응은 주로 세포질 가장자리에서 강한 양성반응을 보였다.

ARE군에 비해 BTT군은 40%, BT2T군은 69%의 유의성 있는 반응 감소가 나타났다. 또한 BT2T은 BTT군에 비해 48%의 유의성 있는 반응 감소가 나타났다(Fig. 3E-I).

## 2. 알레르기 비염 완화 효과

### 1) 호흡상피 손상 완화

Phloxine-tartrazine 염색 결과, 알러지성 비염 유

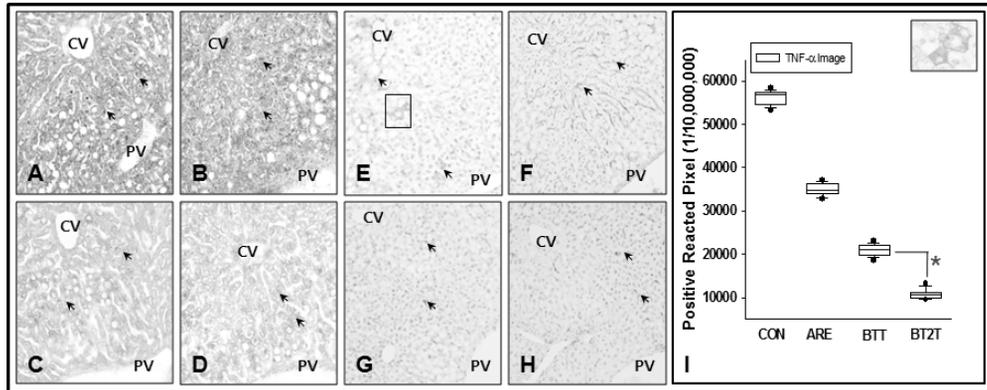


Fig. 3. The diminished fat liver through suppression of lipogenesis.

The positive reaction of TNF- $\alpha$  in BTT & BT2T noticeably decreased than ARE and this decrease had probability. A-D: Fat drops(Oil red O stain,  $\times 200$ ), E-H: TNF- $\alpha$  positive reaction(TNF- $\alpha$  immunohistochemistry,  $\times 200$ ), I (TNF- $\alpha$  image analysis; box, enlargement of TNF- $\alpha$  positive reaction). Group. A & E, CON; B & F, ARE; C & G, BTT; D & H, BT2T; \*, P < 0.005 BT2T compared with BTT.

Other abbreviation same as Fig. 1.

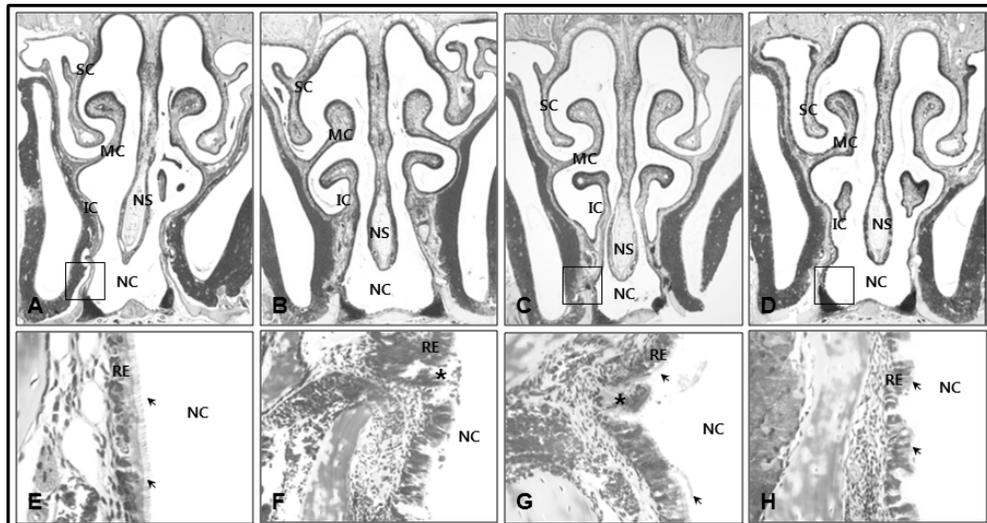


Fig. 4. The repair of AR induced respiratory epithelial damages (arrow) by BT (Phloxine-tartrazine stain).

A~D ( $\times 40$ ). E~H (Box enlargement,  $\times 1000$ ). Group. A & E, CON; B & F, ARE; C & G, BTT; D & H, BT2T; SC, superior chochae; MC, middle chochae; IC, inferior chochae, NC, nasal cavity, NS, nasal septum; RE, respiratory epithelial cell; Arrows indicate the recovery of the epithelial cell.

Other abbreviation same as Fig. 1.

발 후 아래코선반에서 호흡상피의 손상이 증가하였다. BTT와 BT2T는 ARE에 비해 손상된 호흡상피가 적었다(Fig. 4).

### 2) Th2 분화 조절

코 안 아래코선반내 Th2 분화 조절을 관찰하기 위해 goat anti-mouse IL-4 항체를 이용한 면역조직화학적 염색 후 Image pro Plus를 이용해 영상분석을 실시하였다. ARE군에서 IL-4 양성반응은 주로 세포질에서 강한 양성반응을 보였다. ARE군에 비해 BTT군은 66%, BT2T군은 76%의 유의성 있는 반응 감소가 나타났다. 또한 BT2T는 BTT군에 비해 29%의 유의성 있는 반응 감소가 나타났다(Fig.5).

### 3) TNF- $\alpha$ 발현 조절

코안 아래코선반내 TNF- $\alpha$  발현 조절을 관찰하기 위해 rabbit anti mouse TNF- $\alpha$  항체를 이용한 면역조직화학적 염색 후 Image pro Plus를 이용해 영상분석을 실시하였다. ARE군에서 TNF- $\alpha$  양성반응은 주로 세포질에서 강한 양성반응을 보였다. ARE군에 비해 BTT군은 48%, BT2T군은 82%의 유의성 있는

반응 감소가 나타났고, BT2T는 BTT군에 비해 66%의 유의성 있는 반응 감소가 나타났다(Fig. 6).

### 4) 항염증효과

코 안 아래코선반내 NF- $\kappa$ B p65 활성 조절을 관찰하기 위해 mouse anti mouse NF- $\kappa$ B p65 항체를 이용한 면역조직화학적 염색 후 Image pro Plus를 이용해 영상분석을 실시하였다. ARE군에서 NF- $\kappa$ B p65 양성반응은 주로 세포질에서 강한 양성반응을 보였다. ARE군에 비해 BTT군은 77%, BT2T군은 90%의 유의성 있는 반응 감소가 나타났다. 또한 BT2T는 BTT군에 비해 58%의 유의성 있는 반응 감소가 나타났다(Fig. 7).

코 안 아래코선반내 iNOS 활성 조절을 관찰하기 위해 mouse anti mouse iNOS 항체를 이용한 면역조직화학적 염색 후 Image pro Plus를 이용해 영상분석을 실시하였다. ARE군에서 iNOS 양성반응은 주로 세포질에서 강한 양성반응을 보였다. ARE군에 비해 BTT군은 30%, BT2T군은 62%의 유의성 있는 반응 감소가 나타났다. 또한 BT2T는 BTT군에 비해 45%의 유의성 있는 반응 감소가 나타났다(Fig. 7).

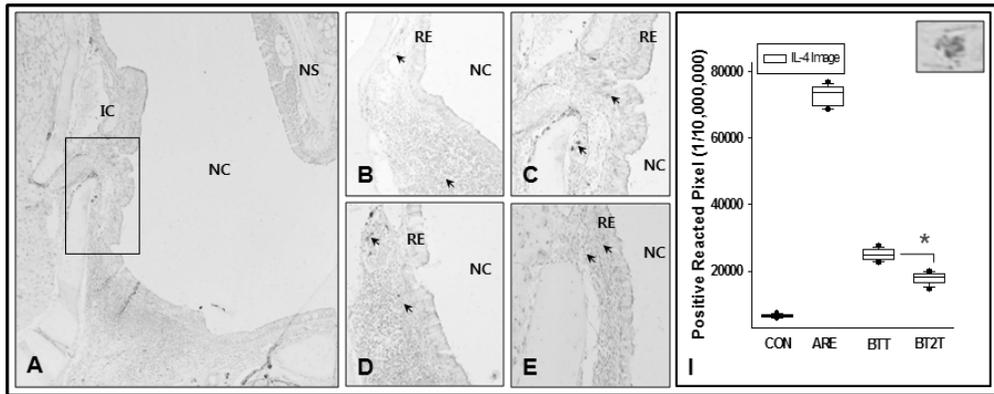


Fig. 5. The regulation of Th2 differentiation by BT.

The positive reaction of IL-4 in BTT & BT2T noticeably decreased than ARE and this decrease had probability. B-D (IL-4 immunohistochemistry,  $\times 200$ ), I (IL-4 image analysis; box, enlargement of IL-4 positive reaction). Group. B, CON; A & C, ARE; D, BIT; E, BT2T; IC, inferior chochae, NC, nasal cavity, NS, nasal septum; RE, respiratory epithelial cell; \*, P < 0.005 BT2T compared with BTT.

Other abbreviation same as Fig. 1.

5) Sneezing & Itching

PAS 염색 결과, BTT와 BT2T는 ARE에 비해 손상된 호흡상피가 적었으며, 술잔세포내 점액분비도

적었다(Fig. 8).

코 안 아래코선반내 itching 조절을 관찰하기위해 mouse anti mouse substance P 항체를 이용한 면역

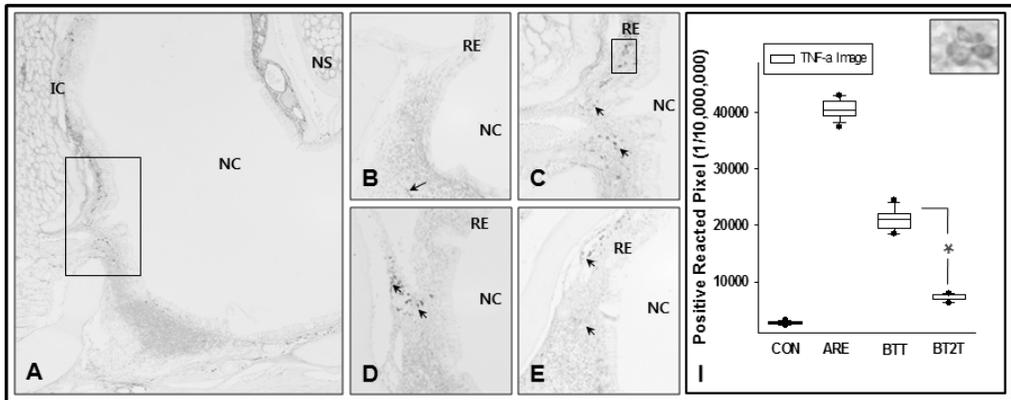


Fig. 6. The regulation of TNF- $\alpha$  differentiation by BT.

The positive reaction of TNF- $\alpha$  in BTT & BT2T noticeably decreased than ARE and this decrease had probability. B-D (TNF- $\alpha$  immunohistochemistry,  $\times 200$ ), I (TNF- $\alpha$  image analysis; box, enlargement of TNF- $\alpha$  positive reaction). Group. B, CON; A & C, ARE; D, BTT; E, BT2T; IC, inferior chochae, NC, nasal cavity, NS, nasal septum; RE, respiratory epithelial cell;

\*, P < 0.005 BT2T compared with BTT.

Other abbreviation same as Fig. 1.

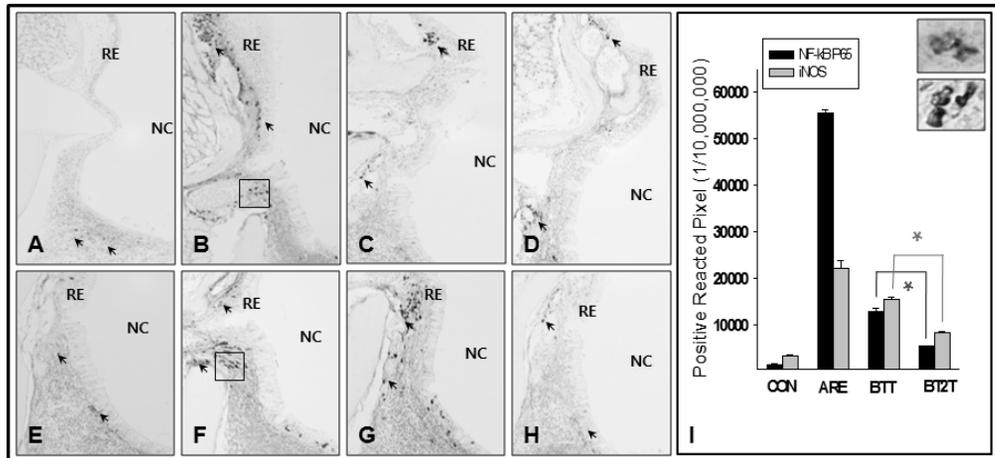


Fig. 7. The anti-inflammation of BT.

The positive reaction of NF- $\kappa$ B p65 & TNF- $\alpha$  in BTT & BT2T noticeably decreased than ARE and this decrease had probability. A-D (NF- $\kappa$ B p65 immunohistochemistry,  $\times 200$ ). E-H (iNOS immunohistochemistry,  $\times 200$ ), I (NF- $\kappa$ B p65 & iNOS image analysis; box, enlargement of NF- $\kappa$ B p65 (upper) & iNOS (lower) positive reaction). Group. A & E, CON; B & F, ARE; C & G, BTT; D & H, BT2T; NC, nasal cavity; RE, respiratory epithelial cell;

\*, P < 0.005 BT2T compared with BTT.

Other abbreviation same as Fig. 1.

조직화학적 염색 후 Image pro Plus를 이용해 영상 분석을 실시하였다. ARE군에서 substance P 양성반응은 주로 세포질에서 강한 양성반응을 보였다. ARE군에 비해 BTT군은 32%, BT2T군은 51%의 유의성 있는 반응 감소가 나타났다. 또한 BT2T은 BTT군에 비해 27%의 유의성 있는 반응 감소가 나타났다(Fig. 8).

#### IV. 고 찰

알레르기 비염은 비강점막이 특정항원에 대해 과민 반응을 보여 이에 대해 촉발된 IgE 항체의 작용에 의해 나타는 질환으로 발작적인 재채기, 비폐색, 비루(수양성이나 간혹 점액성), 소양감(눈, 코, 귀, 인후 등)의 증상을 기본으로 내원하며 IgE 항체를 증명하여 확진하나 임상적으로는 비내시경검사, 방사선 검사, 비강 통기도 검사, 문진 등을 통해 어느정도 미루어 진단하기도 한다.<sup>2)</sup>

알레르기 비염은 장기화되었을 경우 부비동염이나 중이염 등의 합병증이 생길 수 있으며, 대기오염의 증가에 따른 먼지, 화학물질, 탁한 공기 등과 자연의 꽃

가루, 털, 세균, 바이러스 등의 자극 요인이 결합되면서 갈수록 그 유병률이 증가하고 있는 실정이다<sup>12,17)</sup>. 이러한 환경요인도 관련성이 많겠지만 또 하나의 원인으로 서구화된 식습관과 생활습관으로 발생한 비만이 중요한 원인으로 주목받고 있으며, 지방세포와 mast cell의 상관관계가 입증되는 등 많은 논문에 의해 그 연관성이 공고해지고 있는 실정이다<sup>7-9)</sup>.

최근의 역학조사에 따르면 다른 요인보다 꽃가루와 실외 알레르겐이 알레르기 비염의 중등도와 연관성이 크고, 남아가 여아보다 심한 증상을 많이 보이는 것으로 보고되었는데<sup>17)</sup>, 이러한 점을 고려할 때 일반적으로 체격이 좋고 활발한 사람 즉, 한의학에서 말하는 熱한 사람, 實한 사람이 알레르기 비염에 이환되었을 때 좀 더 심한 증상을 나타낸다고 생각할 수 있었다.

실제 임상에서도 알레르기 비염 환자를 진료하면서 체격이 좋고 몸에 열이 많은 사람들이 비염증상으로 내원하는 경우에 이들은 좀 더 심한 증상을 호소하는 경우가 많았고, 이중탕합패독산, 보중익기탕 등의 처방을 썼을 때보다 방풍통성산, 대승기탕, 소청룡탕 등 처방을 사용하였을 때 효과적인 경우를 많이 보게 되

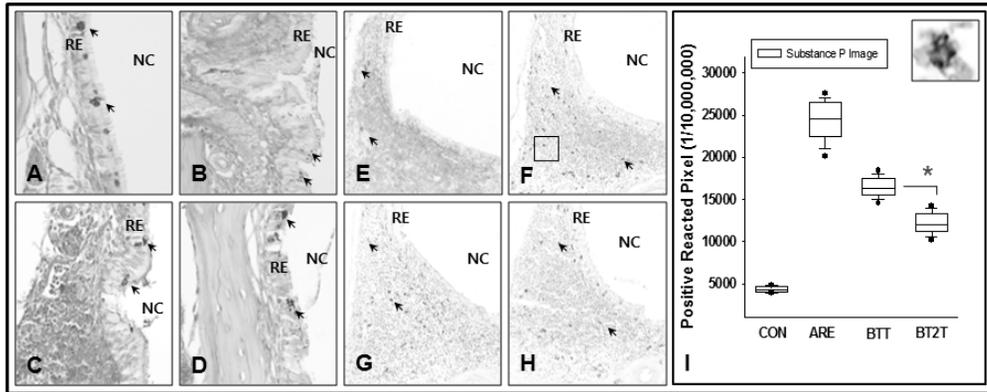


Fig. 8. The regulation of sneezing & itching by BT.

The positive reaction of substance P in BTT & BT2T noticeably decreased than ARE and this decrease had probability. A~D (PAS, ×400). E~H (substance P immunohistochemistry, ×200), I (Substance P image analysis; box, enlargement of substance P positive reaction). Group. A & E, CON; B & F, ARE; C & G, BTT; D & H, BT2T; NC, nasal cavity; RE, respiratory epithelial cell;

\*, P < 0.005 BT2T compared with BTT.

Other abbreviation same as Fig. 1.

었는데, 이를 단순히 느낌과 주관적인 증상 개선 만이 아닌 객관적으로 검증해보고 싶었다.

또한 환자에게 한약을 처방하면서 단순히 증상을 완화시키는 것이 아닌 체질을 개선시켜서 병을 낮게 한다고 설명하고, 20일 이상 길게 처방하곤 하는데 실제로 체질을 개선된 것인지? 그렇다면 이 후에 알레르기 비염에 덜 이환되고 재발하더라도 덜 심하게 증상을 보일 것인가에 대해 설명할 근거가 부족하였기에 임상에서 약을 투여하는 환경과 비슷하게 실험을 설계하고 관찰해보고자 하였다.

실험설계에 앞서 서양의학에서는 일반적으로 알레르기 비염에 쓰는 약물치료에 대해서 알아보니 항히스타민제를 기본으로 점막수축제, 스테로이드, 류코트리엔 수용체길항제 등을 사용하여 치료하고 있었다<sup>18)</sup>. 비만에 염증완화제를 사용하는 것은 시작하고 있는 단계이지만, 비만과 알레르기 비염을 동시에 치료하는 것에 대해서는 아직까진 연구되고 있지 않은 것처럼 보였고, 뿐만 아니라 줄음을 위주로 하는 중추신경 효과를 부작용으로 가지는 1세대 항히스타민제를 보완하기 위해 나온 2세대 항히스타민제의 경우 간기능 이상이나 심독성, 체중증가 우려 등이 보고될 정도로 비만과 알레르기를 동시에 조절한다는 생각에는 오히려 반대되는 치료법으로 보였다.<sup>9,18,19)</sup>

이러한 사실을 고려할 때 한약으로 비만과 알레르기 비염을 같이 조절할 수 있으면 좀 더 효과적으로 이 질환들을 치료할 수 있다는 생각에 이르게 되었고, 서론에서 언급하였듯이 ‘濕熱’이라는 변증에 주목하게 되었고 방풍통성산에 대해서 생각해보게 되었다.

방풍통성산은 선명방론<sup>12)</sup>에서 ‘一切風熱內鬱, 溫熱內鬱’에 적용하는 처방이라고 언급이 되어 있는데, 임상에서 實熱한 사람에게 多用되고 있는 처방으로 분석해보면 체내의 심한 陽의 鬱滯를 치료하기 위한 처방으로 滑石, 甘草의六一散, 白虎湯의 의미로 石膏, 大黃, 芒硝, 甘草의 調胃承氣湯, 荊芥連翹湯(四物湯+瀉心湯+黃連解毒湯+解表制) 등으로 이뤄져있어서, 熱邪를 내외표리로 다 풀어내는 清熱利濕의 처방임을

알 수 있다<sup>20)</sup>. 실험적으로도 비만과 지질대사에 관한 연구가 많이 이뤄져 있고, 이에 대한 효과도 충분히 입증되어 있는 처방으로 이를 통해 비만과 지질대사가 습열과 상관관계가 깊음을 알 수 있다<sup>13)</sup>.

방풍통성산은 알레르기 비염에 대해서도 실험적으로 다루어져 있었는데 최근에 나온 정 등의 논문<sup>15)</sup>은 간 각질세포와 비장세포라는 세포수준에서 항알러지 효능에 대해서 연구해 놓은 실험이 선행되어 있었고, 2006년에 김 등의 논문<sup>14)</sup>에서 방풍통성산의 알러지성 비염의 병태 모델에 대한 항알러지 효과를 검증했는데 알레르기 비염을 유발한 마우스에 방풍통성산을 투여한 후 대조군, 정상군과 비교하여 IL-4, IL-5, IFN- $\gamma$ , Total IgE, OVA-specific IgE를 측정하는 실험이 있었다.

선행연구를 보는 과정에서 ‘임상에서는 효과적인 방풍통성산이 왜 항알러지에 대해서 유효성을 검증받지 못하였던 것일까?’가 본 논문의 또 다른 출발점이었다. 첫 번째로 분석하면서 측정지표간의 미묘한 충돌이 관찰되는데, IL-4는 Th2의 촉진과 Th1의 억제와 관계있는데 IFN- $\gamma$ 는 Th1세포를 촉진하여 IL-4, IgE의 생성감소와 관계가 있으며, IL-5는 IgE합성과 관계있는 등 전반적인 지표들이 OVA감작으로 알레르기가 유발되었다는 지표가 되지만 항알러지 기능에 대해서 알아보는 데는 적합한 지표로 생각되지 않았기에 IL-4 외에는 TNF- $\alpha$ , NF- $\kappa$ B, iNOS, substance P를 새로운 지표로 선정해보았다.

또한 기존의 연구는 濕熱상황을 가정하지 않고 일반적인 상황에서 항알러지 효과를 검증하고자 하였는데, 본 실험에서는 방풍통성산이 濕熱에 쓰는 처방으로 임상에서 체격이 肥實한 사람에게 사용하기에 기존의 연구와는 다르게 마우스에게 고지방식을 먹여 방풍통성산을 쓰는 實熱의 체질과 유사한 비만형 병태모델을 만들고, 실제로 임상환경과 유사하게 환자들이 약을 먹는 중간에 여러 원인에 의해 알러지성 비염이 심해질 수도 있는 상황을 가정하여 실험 중에도 처음 알러지 감작 후 약을 투여하다가 일주일 후

다시 OVA를 통해 알러지를 감작시키는 등의 과정을 거쳐 최대한 임상에서 방풍통성산을 쓰는 환경과 유사하게 실험을 진행하였다.

이 과정에서 지방이, 다른 말로 습열이 더 많이 제거된다면 비염 증상 또한 더 많이 좋아질 것이라는 생각을 가지고 습열과 비염증상이 연관이 있다는 최초의 가정을 좀 더 검증해 보고자 하였고, 이에 淸熱利濕의 기능을 강화하기 위해 약물의 농도를 2배로 하는 배방처방을 투여하는 군을 만들어 나머지와 비교해보자 하였다.

일반적으로 정상체중의 보다 20%이상 차이가 나는 쥐를 비만한 마우스로 가정하는데<sup>21)</sup> 본 실험에서는 생후 6주된 쥐를 2주간 적응시킨 후 고지방식을 10주간 먹이면서, 생후 8주차부터 15주, 16주, 17주, 18주에 체중을 측정했다. 다른 처치를 하지 않은 대조군을 기준삼았을 때 체중은 8주차에 20g에서 15주차 30g으로 10g, 50%가 증가했는데, 일반적으로 Balb/c 마우스가 8주차에서 15주차로 접어들 때 3g, 10%정도 증가하는 것과 비교한다면 상당한 증가가 이뤄졌다고 할 수 있다<sup>22)</sup>.

이러한 급속한 체중증가와 지방대사과정에서 축적된 지방으로 인한 지방간(Oil red O 염색으로 확인할 수 있는 지방방울을 통해 관찰 가능)으로 마우스에 비만, 즉 습열상황이 유발되었다고 가정한 다음 본 실험을 진행하였다.

알레르기 비염을 유발하고 방풍통성산과 그 배방을 투여한 다음 기본적으로 체중변화를 측정하였으며, 먼저 간 조직에서는 지방대사에 따른 변화를 보기위해서 지방 분포변화를 비교해보았으며, 염증의 완화 정도를 알아보기 위해서 TNF- $\alpha$ 를 측정해보았다. 코 점막에서는 직접적인 비염 유발후 호흡상피손상을 관찰하였고 재채기, 가려움, 콧물 등의 증상완화 정도를 미루어 짐작할 수 있는 술잔세포 내 점액분비와 substance P를 관찰하였다. 또한 Th2의 분화 조절을 관찰하기 위해서 IL-4를 측정하고, 여기에서도 역시 TNF- $\alpha$ 의 발현조절을 관찰한 다음, 항염증효과를 보

기 위해서 NF- $\kappa$ B와 iNOS의 활성정도를 관찰하였다.

체중은 ARE군도 대조군에 비해서는 다소 감소하였는데 이는 알러지성 비염이 수면이나 생활에 영향을 주어 중추신경계와 호르몬에 병리적 변화를 유도한 성장장애의 범주에서 생각해볼 수도 있을 듯 하다<sup>23)</sup>. 이에 비해 BTT군은 15%, BT2T군은 18% 유의성 있는 감소를 보였다.

간조직에서 지질대사조절의 경우 Oil red O 염색을 통해서 지방 축적을 육안적으로 관찰한 결과 BTT군과 BT2T군에서 지방방울이 적게 관찰되었으며, TNF- $\alpha$ 는 ARE군에 비해서 BTT군에서는 40%, BT2T군 69% 유의성 있게 감소하였으며, BT2T가 BTT에 비해 48% 유의성 있는 감소반응이 나타났다.

지방방울의 감소 자체가 지방의 축적감소 즉 대사 조절기능의 향상을 의미하며, pro-inflammatory cytokine인 TNF- $\alpha$ 는 염증의 개시와 유지의 조절자로 핵심적인 역할을 하는 지표로<sup>24,25)</sup> 혈중 콜레스테롤과 혈중 염증의 연관성이 입증되었음을 고려할 때<sup>26)</sup>, 이는 간조직에서 지방축적의 감소와 염증의 감소를 동시에 의미할 수 있는 지표로도 해석될 수 있다.

코 점막을 육안적으로 평가해보면 먼저 아래코선반에서 호흡상피손상을 관찰했을 때, ARE군은 호흡상피손상이 증가했지만 BTT군은 다소 회복되었고 BT2T군은 정상에 가깝게 회복되었음을 관찰할 수 있었다. PAS염색을 통해 아래코선반의 술잔세포 점액분비를 살펴보았을 때도 BTT군과 BT2T군이 ARE군에 비해 육안적으로 술잔세포의 점액분비가 적었다.

이를 객관적 지표로 검증해보기 위해 먼저 IL-4를 측정했을 때 ARE군에 비해 BTT군은 66%, BT2T군은 76%의 유의성 있는 감소를 보였는데, BT2T군은 BTT군에 비해 29% 유의성 있는 감소를 보였다. IL-4는 도움 T cell을 Th2 cell로 분화를 유도하는 cytokine으로 IL-4에 의해 분화가 유도된 Th2 cell은 다시 IL-4 분비하는데 IL-4는 알러지성 비염을 일으키는 IgE생성에 관여하므로 IL-4를 측정하여 Th2 분

화를 관찰하면 항알레르기효과에 대해 입증할 수 있다<sup>27-29)</sup>.

아래코선반의 염증에 대해서 방풍통성산의 항염증 기능을 알아보기 위해서는 TNF- $\alpha$ 와 NF- $\kappa$ B, iNOS를 측정하였는데, TNF- $\alpha$ 는 ARE군에 비해서 BTT군은 48%, BT2T군은 82% 유의성있게 감소하였으며, BT2T군이 BTT군에 비해 66% 유의성있는 감소를 보였으며, NF- $\kappa$ B는 ARE군에 비해 BTT군은 77%, BT2T군은 90% 유의성있게 감소했고 BT2T군이 BTT군에 비해 58% 유의하게 감소했다. iNOS는 BTT군이 30%, BT2T군이 62% 유의하게 감소했고, BT2T군이 BTT군에 비해 45% 유의성 있게 감소했다.

TNF- $\alpha$ 는 앞에서 언급하였듯이 염증의 개시 및 조절을 알아볼 수 있는 대표적 인자이고, NF- $\kappa$ B또한 대표적인 염증관련전사조절인자로 비활성상태로 존재하다가 다양한 요인에 의해서 활성화되어 iNOS, TNF- $\alpha$  등의 염증관련유전자의 발현과 관여한다<sup>30,31)</sup>. 그리고 iNOS는 호산구증가, 혈관확장, 세포의 파괴 및 성장억제, 염증유발 등과 관계된 NO(산화질소)의 생성과 관련된 지표로 iNOS의 증가는 염증에 의한 조직손상을 의미한다<sup>32,33)</sup>. 즉 이 지표들이 전반적으로 감소했다는 것은 염증반응이 조절되었다는 신호로 해석할 수 있는 부분이다.

마지막으로 슬잔세포에 탈과립에 따른 점액분비를 수치화시켜 관찰하기 위해서 미세혈관의 투과성을 증가시키고 비만세포의 탈과립과 염증세포의 증식 등을 유도하기에 주관적인 가려움 등의 증상을 객관화시킬 수 있는 지표인 substance P를 측정하였는데 ARE군에 비해서 BTT군이 32%, BT2T군이 51% 유의성 있기 반응 감소를 보였고 BT2T군이 BTT군에 비해서 27%유의성 있게 감소하였다<sup>34,35)</sup>.

이상의 결과에서 비만성(습열형) 알러지성 비염에 방풍통성산을 투여하였을 때 ARE군에 비해서 BTT군과 BT2T군이 모두 유의성 있게 감소하였으며, 특히 BT2T군이 BTT군보다 유의성있는 감소를 보였음

을 알 수 있는데, 여기에서 최초로 가정했었던 습열을 더 많이 제거할수록 비염의 완화효과가 더 크다는 것을 검증할 수 있었다. 이를 통해볼 때 방풍통성산의 투여는 비만을 조절하고 지방대사조절을 통해 지방축적을 감소시켜 신체의 염증을 완화시키는 淸熱利濕의 작용으로 손상된 호흡상피를 회복하고 염증과 알러지 반응을 완화시켜 알러지성 비염을 완화시킴을 알 수 있다.

즉, 방풍통성산이 단순한 항염증, 항알레르기 효능을 가진 것만이 아니라 지질대사를 개선시켜 심한 염증을 유발하는 지방세포를 줄이고 이와 동시에 알레르기 비염을 완화시킨다는 것을 관찰할 수 있었고, 이를 통해서 단순히 증상을 호전시키는 것만이 아닌 인체반응을 조절하여 체질개선을 시킨다는 한약의 사용 목적도 어느 정도는 입증할 수 있었다.

그러나 한약처럼 변증에 따른 복합치법의 의미를 가진 약이 양약에는 존재하지 않아서 서양의학과 적합한 비교를 하지 못한 점과 실험상의 한계로 방풍통성산을 20일간 먹인 후에 다시 알레르기 항원을 노출시켜 다시 그 반응을 보거나 정상체중 알레르기비염 유발 마우스에서의 방풍통성산 투여 후 반응과 비교하는 등의 연구를 하지 못한 점은 한계로 생각된다. 이에 따라 이러한 부분에 대한 추가적인 연구가 계속 되어야 한다고 생각되는 바이다.

## V. 결 론

방풍통성산의 淸熱利濕효능이 비만한 마우스의 알레르기 비염 치료에 미치는 영향을 알아보기 위해서 고지방식이 섭취한 Balb/c 마우스 비강 점막에 OVA 항원자극을 통하여 인위적으로 알레르기 비염을 유발시킨 다음 방풍통성산 추출물을 경구투여하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 방풍통성산 투여군은 알러지성 비염 유발군에 비

해서 비강 점막 손상 완화 (코 점액 분비 감소, Itching 감소), Th2 분화 조절 (IL-4 감소), 항염 증효과 (TNF- $\alpha$  생성 감소, 전사인자 NF- $\kappa$ B 활성화제를 통한 iNOS 생성 감소)등의 변화를 일으켰으며 통계적으로 유의했다.

2. 방풍통성산 투여군은 알리지성 비염 유발군에 비해서 체중은 감소했고, 지방축적또한 감소되었으며(간조직내 감소, 간조직내 TNF- $\alpha$  생성 감소), 통계적으로 유의했다.
3. 방풍통성산 배방투여군이 방풍통성산 투여군에 비해서 더 나은 완화효과를 보였으며, 체중감소를 제외한 전 분야에서 통계적으로 유의했다.
4. 기존 연구와 비교할 때 20%이상의 체중증가, 지방방울을 통해 확인할 수 있는 지방간 등으로 입증할 수 있는 비만한 쥐의 습열 상태가 방풍통성산을 사용하기 위한 적응증임을 알 수 있다.

이상의 실험결과로 볼 때 방풍통성산은 清熱利濕작용으로 고지방식에 의한 지방 증가를 조절하는 한편 이를 통해 알리지성 비염의 호흡점막 손상을 효과적으로 치료하는 것으로 생각된다.

## References

1. Rho GT. Otolaryngology(Head and Neck Surgery). Seoul:Ilchokak, 2005;208-12.
2. Borich L. Allergic rhinitis: Systemic inflammation and implications for management. J Allergy Clin Immunol. 2003;112(6):1021-31.
3. Go BG. A Study on Establishing the Korean Obesity index. J. of Korea military academy. 1999;55(3):281-407.
4. The Korean Academy of Orietal Rehabilitation Medicine. Oriental Rehabilitation Medicine 2nd edition, Seoul:koonja publishing company, 2005;384-96.
5. Huang SL, Shiao G, Chou P. Association between body mass index and allergy in teenage girl in taiwan. Clin Exp Allergy. 1999;29:323-9.
6. Jung HM, Hwang MY, Shin CY, Kim SL, Yoon CH, Seo UK. Correlations between Obesity and Allergic Rhinitis. Korean J. Oriental Physiology & Pathology. 2010; 24(6):1099-104.
7. Jian L, Adeline D, Jiusong S, Jie Z, Karine C, Jonathan NG, et al. Genetic deficiency and pharmacological stabilization of mast cells reduce diet-induced obesity and diabetes in mice. Nature Medicine. 2009;15:940-5.
8. Jie Z, Guo-ping S. Mast cell and metabolic syndrome. Biochimica et Biophysica Acta. 2012;1822:14-20.
9. Hwang KH, Ahn JY, Kim SN, Ha TY. Anti-obesity Effect of Berberine in Mice Fed a High Fat Diet. Preventive Nutrition and Food Science. 2009;14(4):298-302.
10. Health Insurance Corporation, Health Insurance Review & Assessment Service. 2014 Health Insurance Statistical Yearbook. 2014.
11. Korean Centers for Disease Control and Prevention(The Ministry of Health and Welfare). 2014 National Health Nutrition Investigation. 2014.
12. Rho SS. Primary Color Ophthalmology & Otolaryngology. Seoul: P&B. 2013:578-83.
13. You WS. Sunmyungbangron. Beijing:Yeogang publishing company. 1988:768.
14. Kim JH, Lee JK, Shin HK. Analysis of studies on Bangpungtongseong-san (Fangfengtongsheng-san) to establish the

- fundament for Evidence Based Medicine (EBM). *J Korean Med Ophthalmol Otolaryngol Dermatol*. 2011;24(1):1-15.
15. Kim HJ, Kim YB, Park OS, Kim KS, Cha JH. The Effect Of Bangpungtongsung-San on Model of Allergic Rhinitis. *J Korean Med Ophthalmol Otolaryngol Dermatol*. 2006;19(1):21-30.
  16. Jeong SJ, Lee MY, Seo CS, Shin HK. In vitro Anti-allergic Effect of Bangpungtongseong-san in Human Keratinocytes and Primary Mouse Splenocytes. *J Physiol & Pathol Korean Med*. 2015;29(2):168-73.
  17. Hwang SH, Jung SY, Lim DH, Son BK, Kim JH, Yang JM, et al. Epidemiology of allergic rhinitis in Korean children. *Allergy Asthma Respir Dis*. 2013;1(4):321-32.
  18. Choi YS, Park YM, Rha YH, Choi SH. An overview and consideration in prescribing H<sub>1</sub>-antihistamine. *J Korean Med Assoc* 2013;56(3):231-9.
  19. The Korean Academy of Asthma, Allergy and clinical Immunology. Treatment Guideline For Allergic Rhinitis for Clinicians. Seoul: medrang. 2015.18-60.
  20. Association of Oriental medicine Herbal Formula Professor. Study of herbal formula. Seoul:Younglimsa. 2003;263-4.
  21. Park YM, Lim JH, Seo EW. Anti-Obesity Effect of By-Product from Soybean on Mouse Fed a High Fat Diet. *Korean J. Plant Res*. 2015;28(2):168-77.
  22. Cho KH, Kim HY, Yang SD, Song CW, Han SS. Studies on the Basic Data of Ktc: Balb/c AnNCrj Mice with Age: Body Weight, Organ Weight, Hematology, Serum Biochemistry, Urine Analysis and Reproductive Performance. *Korean J. of the Lab. Anim. Sci*. 1998; 14(2):207-13.
  23. Lee MJ, Chang GT, Han YJ. A Study on the Growth, Quality of Sleep of Children with Chronic Rhinitis. *J Korean Oriental Pediatrics*. 2008;22(2):125-39.
  24. Lee AK, Sung SH, Kim YC, Kim SG. Inhibition of lipopolysaccharide-inducible nitric oxide synthase, TNF- $\alpha$  and COX-2 expression by sauchinone effectson I- $\kappa$ B $\alpha$  phosphorylation, C/EBP and AP-1 activation. *British Journal of Pharmacology*. 2003; 139:11-20.
  25. Delgado AV, McManus AT, Chambers JP. Production of tumor necrosis factor-alpha, interleukin 1-beta, interleukin 2, and interleukin 6 by rat leukocyte subpopulations after exposure to substance P. *Neuropeptides*. 2003;37(6):355-61.
  26. Yeon JY, Kim MH. A study on Blood Lipid Levelx, Nutrient Intakes, and Oxidation and Inflammation Markers of Overweight and Obese Adults according to Blood Cholesterol Levels in Korea. *Korean J Food & Nutr*. 2011;24(1):1-11.
  27. Paul WE. Interleukin-4: a prototypic immunoregulatory lyphokine. *Blood*. 1991;77: 1859-70.
  28. Gelfand EW. Inflammatiry mediators in allergic rhinitis. *J allergy Clin Immunol*. 2004;114:135-8.
  29. Friedmann PS, Tan BB, Musaba E. Pathogenesis and management of atopic dermatitis. *Clin. Exp. Allergy*. 1995;25:

- 799-806.
30. Baeuerle PA. I $\kappa$ B-NF- $\kappa$ B structure: at the interface of inflammation control. *Cell*. 1998;95:729-31.
  31. Takeno S, Hirakawa K, Ueda T, Furukido K, Osada R, Yajin K. Nuclear factor kappa B activation in the nasal polypepithelium: relationship to local cytokinegene expression. *Laryngoscope*. 2002;12(1):53-8.
  32. Moncada S, Palmer, RM, Higgs EA. Nitric oxide:physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol. Rev.* 1991;43: 109-42.
  33. Marletta MA, Yoon PS, Iyengar R, Leaf CD, Wishnok JS. Macrophage oxidation of L-arginine to nitrite and nitrate: nitric oxide is an intermediate. *Biochemisry*. 1988;27: 8706-11.
  34. Pfaar O, Raap U, Holz M, Hörmann K, Klimek L. Pathophysiology of itching and sneezing in allergic rhinitis. *SWISS MED WKLY*. 2009;139(3-4):35-40.
  35. Jang YC, Burm JS, Lee JW, Oh SJ. Time Dependent Change of Neuropeptides in Human Burn Wound Healing and Scar Formation. *J. of Korean Burn Society*. 2003;6(2):124-33.