



Original Article / 원저

三黃瀉心湯加味方이 생쥐에 유발된 아토피 피부염에 미치는 영향

이호찬, 정민영, 최정화, 박수연*

동신대학교 한의과대학 안이비인후피부과학교실

Effects of *Samhwangsasim-tang Gamibang* on Atopic Dermatitis in Mice

Ho-Chan Lee, Min-Yeong Jeong, Jung-Hwa Choi, Soo-Yeon Park*

Department of Ophthalmology, Otolaryngology & Dermatology,
College of Korean medicine, Dongshin University

ABSTRACT

Objectives : Atopic Dermatitis (AD) is chronic skin disease characterized by allergic hypersensitivity reactions. *Samhwangsasim-tang Gamibang*(SHSST) can treat skin disease by cooling down blood heat, clearing away congenital fever and detoxicating. This study was conducted to investigate the effects of SHSST on AD induced by oxazolone in mice.

Methods : We investigated the effects of SHSST on skin tickness, skin lesions, erythema and melanin index, water content and histopathological changes *in vivo*. The effects on body weights and spleen body weight ratio were also investigated in mice with AD.

Results : In our results, oral administration of SHSST ameliorated skin lesion such as flare, erythema, exudate and petechia and lowered skin thickness induced by oxazolone. In addition, SHSST lowered erythema index and elevated water content compared to AD control respectively. In the histopathological observation, oral administration of SHSST prevented epidermal hyperplasia and spongiotic changes which is a hallmark of skin inflammation respectively. Finally, SHSST did not affect spleen/body weight ratio.

Conclusions : These data imply that SHSST can ameliorate skin lesion of AD such as flare, erythema, exudate and petechia, and be used to treat AD patients with relative safety.

Key words : *Samhwangsasim-tang Gamibang*(SHSST); Atopic Dermatitis (AD); oxazolone; skin inflammation

I. 서론

아토피 피부염(Atopic Dermatitis, AD)은 일반적으로 유아기 혹은 소아기에 초발하는 만성 재발성 피부 질환으로, 긁어서 팔꿈치, 무릎의 굴측 부위 및 기타 호발 부위에 습진 형태의 피부발진이 형성된다¹⁻²⁾. 아토피 피부염은 최근 증가추세이며 서구화된 국가에서 흔한 질환으로 소아는 10~20%, 성인은 1~3% 정도의 유병률을 보이고 국내의 유병률도 비슷하다. 특히 최근 국내 성인 아토피 피부염 환자의 수가 증가하는 추세이다³⁾.

아토피 피부염은 한의학에서 奶癬, 胎癬, 四彎風, 浸淫瘡 등의 범주에 해당하는데 병인은 주로 血熱, 濕熱, 血燥 등으로 보고 치료방법은 清熱解毒이 주가 되며 除濕, 祛風, 養血 등의 治法을 사용하였다⁴⁻⁶⁾.

三黃瀉心湯은 『金匱要略』에 처음으로 수록된 처방으로 瀉火解毒, 清化濕熱하는 효능을 가지고 있어서 모든 實熱火證을 치료하며⁷⁾, 항산화 및 항염 효과⁸⁾와 항알레르기 효과⁹⁾ 등에 대한 연구결과가 보고되었으나 oxazolone으로 유도한 생쥐의 아토피 피부염에

대한 연구는 아직 전무한 실정이다.

이에 저자는 三黃瀉心湯加味方 (Samhwangsasim-tang Gamibang, 이하 SHSST)이 oxazolone으로 유발된 생쥐의 아토피 피부염 증상을 개선해 줄 수 있을 것이라는 가설을 세우고 연구를 진행하였다. 생쥐에 oxazolone으로 아토피 피부염을 유발한 다음, SHSST 70% 에탄올 추출물을 경구투여하고 피부 표면 증상, 피부 두께 및 홍반 지수와 멜라닌 지수, 피부 수분 함량과 피부 조직의 조직병리학적 소견 및 비장/체중비에 미치는 영향 등을 분석하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 재료 및 방법

1. 재료

1) 시료

실험에 사용된 시료는 三黃瀉心湯에 樺皮를 추가하여 처방구성은 아래와 같으며(Table 1), 이들 약제는 동신대학교 부속한방병원에서 구입하여 사용하였다.

Table 1. Prescription of SHSST

Herb name	Scientific name-Used part	Weight(g)
大黃	<i>Rheum palmatum</i> L.- rhizome	8
黃芩	<i>Scutellaria baicalensis</i> Georgi-root	8
黃連	<i>Coptis chinensis</i> Franch-rhizome	4
樺皮	<i>Betula platyphylla</i> var. <i>japonica</i> -cortex	4
Total amount		24 g

2) 실험동물

실험동물은 18~20 g의 Balb/c계 6주령 수컷 생쥐를 싨타코 (경기, 한국)로부터 구입하였으며 1주일 이상, 고형사료(삼양 배합사료 싨험동물용, 한국)와 물을 충분히 공급하면서 싨험실 환경에 충분히 적응시킨 후 싨험에 사용하였다. 싨험실 환경은 온도 22±2℃를 유지하면서 12시간 단위로 낮과 밤이 계속되는 상황을 싨험 종료 시까지 유지하였다.

3) 시약 및 기기

AD 유발을 위한 oxazolone, acetone, corn oil, 그리

고, 양성 대조군으로 사용된 dexamethasone, 조직병리학적 소견 확인을 위한 haematoxylin과 eosin은 Sigma-Aldrich (St Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였으며, 귀부중 측정을 위하여 vernier calipers (Mitutoyo, Carros, Japan)를 사용하였고, 피부 표면 관찰을 위하여 digital camera (Canon, Japan)와 피부분석 system (NBT, 한국)을 사용하였으며, 홍반 지수와 멜라닌 지수 측정을 위하여 피부색차계 (Cortex Technology, Denmark)를 사용하였다.

* Corresponding author : Soo-Yeon Park, Department of Korean Medicine Ophthalmology & Otolaryngology & Dermatology, Suncheon Oriental Hospital of Dongshin University, 331 Isu-ro, Suncheon-si, Jeollanam-do, 57949, Republic of Korea
Tel : +82-61-729-7122, FAX : +82-61-725-1717, E-mail : swallow92@hanmail.net

• Received : May 14, 2017 / Revised : Jun 19, 2017 / Accepted : July 10, 2017

2. 방법

1) 약물의 준비

SHSST의 추출은 4첩 분량인 96 g을 1,000 ml의 70% 메탄올에 침지하고 15분간 초음파로 진탕해준 다음 heating mantle를 이용하여 60도에서 24시간 동안 추출하였다. 추출이 끝난 후, 추출액을 따라내고 1,000 ml의 70% 에탄올에 침지시킨 다음 동일한 방법으로 재차 추출하였다. 2번의 추출이 끝난 후 추출액을 와트만지를 이용하여 2번 거르고, 얻어진 추출액은 감압 농축기 (Eyela, Japan)와 동결건조기 (Labconco, USA)를 이용하여 농축, 동결건조 되었으며, 최종 산물 (SHSST)은 24 g으로 수율은 25%였다.

2) 아토피 피부염 유발 및 실험군 선정

Oxazolone을 이용하여 아토피 피부염을 유발하였으며, 간략한 방법은 다음과 같다. 먼저 Oxazolone을 아세톤 (acetone)과 올리브 오일 (olive oil)이 3:1로

혼합된 vehicle에 5%로 희석하여 실험 첫날 생쥐의 양측 귀의 후면에 30 μ l씩 발라줌으로써 감작 하였으며, 4일 뒤 0.5% oxazolone 용액을 제모된 생쥐의 등에 2일 간격으로 7회 각각 60 μ l씩 처리하여 피부염 증상을 유발하였다. SHSST은 증류수에 15 mg/ml 농도로 희석되어 150 mg/kg 농도로 7일간 경구투여 되었다.

정상군 (Normal, NOR)은 oxazolone을 첨가하지 않은 vehicle만을 처리하고 동일한 부피의 증류수를 경구투여하였으며, AD 대조군 (Control, CTL)은 oxazolone을 이용하여 AD를 유발한 다음 동일한 부피의 증류수를 경구투여 하였고, SHSST 추출물 투여군 (SHSST)은 AD를 유발한 다음, 증류수에 15 mg/ml (150 mg/kg)농도로 희석된 다음, 200 μ l씩 7일간 경구투여 하였다. 마지막으로 dexamethasone군 (DEX)은 AD를 유발한 다음, 2.5 mg/ml 농도의 dexamethasone 60 μ l를 7일간 도포하였다. 자세한 실험 스케줄은 Fig. 1과 같다.

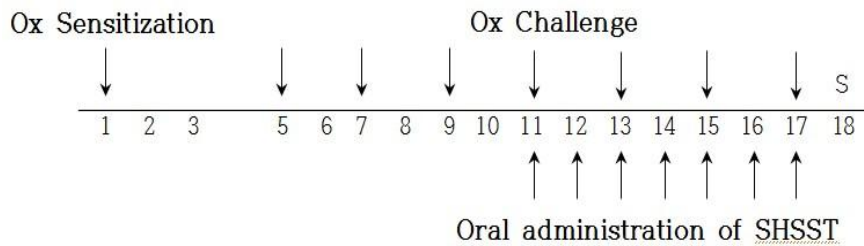


Fig. 1. Experimental schedule The experimental groups except naive group, were sensitized by painting oxazolone on day 1, then challenged on days 5, 7, 9, 11, 13, 15 and 17. SHSST were orally administered, and DEX were topically treated for 7 days. SHSST means *Samhwangsasim-tang Gamibang*, Ox means oxazolone. S, All animals were sacrificed on day 18.

3) 피부 표면 증상 관찰

실험 마지막 날 (day 18), 생쥐를 희생시킨 후, digital camera (Canon, Japan)를 이용하여 생쥐의 등에 유발된 피부 표면 증상을 관찰하였다.

4) 홍반 지수와 멜라닌 지수 측정

피부 표면 증상 관찰이 끝난 후, 피부 색차계 (Cortex Technology, Denmark)를 이용하여 홍반 지수와 멜라닌 지수를 측정하였다. 정확한 홍반 지수와 멜라닌 지수의 측정을 위하여 생쥐의 등 표면에서 서로 다른 3개 부위를 측정한 후 그 평균값을 해당 개체의 값으로 사용하였다.

5) 피부 두께 측정

피부 표면 증상 관찰 및 홍반 지수와 멜라닌 지수의 측정이 끝난 후 등 피부 조직을 절제한 다음, vernier calipers (Mitutoyo, Japan)를 이용하여 두께를 측정하였다.

6) 기저 수분량 측정

피부 보습력을 살펴보기 위해 기저 수분량을 측정하였다. 기저 수분량은 피부 분석 시스템인 skin-O-mat (Cosmomed, Germany)를 이용하여 측정하였으며, 정확한 측정을 위해 피부염 유발 부위 내에서 3곳을 측정하여 평균을 사용하였다. 기저 수분량은 실내온도 23~24도 습도 40~45%의 환경에서 측정되었다.

7) 조직병리학적 소견 관찰

생쥐로부터 적출된 피부 조직은 10% formaldehyde 용액 내에서 고정된 후, 탈수 과정을 거쳐 파라핀 왁스에 포매 되었다. 포매된 조직은 microtome (Leica, Wetzlar, Germany)을 이용하여 4 μ m 두께로 절편된 다음, slide glass 부착되었다. 부착된 조직에서 xylene (10분 3회)을 이용하여 파라핀을 제거한 후, 점진적으로 낮아지는 농도의 알콜을 거쳐 최종적으로 증류수에 담그는 과정인 함수과정을 수행하였다. 함수가 끝난 조직은 hematoxylin과 eosin을 이용하여 염색되었으며, 고정과정은 함수와 파라핀 제거과정의 역순으로 진행되었다. 염색된 조직은 광학 현미경 (Olympus, Japan)를 이용하여 관찰되었다 ($\times 50$).

8) 체중 및 비장 무게의 측정

실험 마지막 날 (day 18) 전자 저울 (Hansung, Korea)을 이용하여 체중을 측정하였으며, 비장의 무게는 실험 마지막 날 생쥐를 희생 시킨 다음 비장을 적출하여 미량 저울 (Sartorius, Korea)로 무게를 측정하였고, 결과는 실험 마지막 날 체중에 대한 비율 (%)로 나타내었다.

3. 통계 처리

실험 자료에 대한 통계적 분석은 통계 패키지인 Sigma plot (Sigma plot for Windows, ver. 9.0, U.S.A.)를 이용하였다. 실험 성적은 평균 \pm 표준편차(mean \pm SD)로 나타내었으며, 결과의 차이를 검정할 때에는 one way ANOVA test로 검정하여 p-값이 0.05 미만일 때 유의한 차이가 있는 것으로 판정하였다.

III. 결과

1. 피부 표면 증상 전반에 미치는 영향

NOR 군에서는 특별한 이상 소견을 발견 할 수 없는데 반해, AD 대조군에서는 광범위한 병변 부위에 심한 홍반과 인설 등이 관찰되었다 (Fig. 2A,B). SHSST의 경구투여는 대조군에서 관찰된 심한 홍반과 인설 등을 감소시키는 경향을 보였으며 (Fig. 2C), DEX 군에서는 병변 부위와 홍반을 감소시키는 경향을 보였으나, 인설에는 특별한 영향을 미치지 않았다 (Fig. 2D).

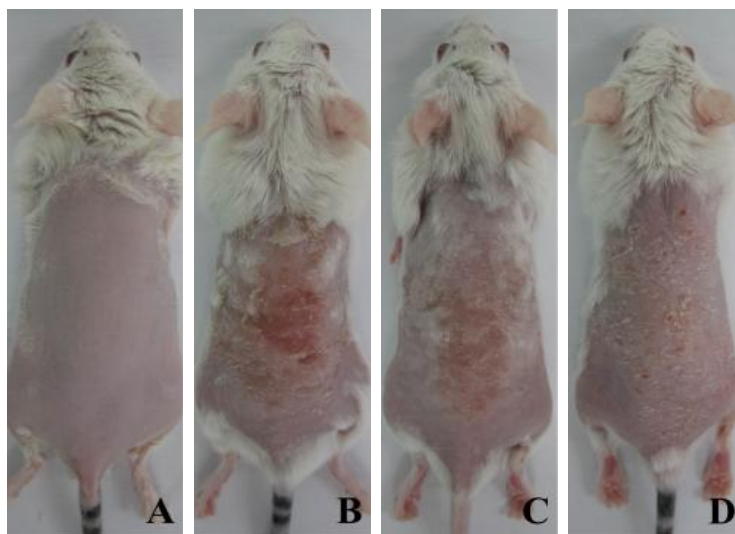


Fig. 2. Effects of SHSST on skin lesion in AD mice. Skin lesions of AD mice were observed using digital camera on day 18. A, NOR; B, CTL; C, SHSST; D, DEX.

2. 피부 두께에 미치는 영향

실험 마지막 날, 생쥐를 희생하고 피부의 두께를 측정된 결과 AD 대조군 (CTL)에서 정상군 (NOR)에 비하여 유의한 수준의 피부 두께 증가가 관찰되었으

며, 150 mg/kg 농도의 SHSST 경구투여군 (SHSST)에서는 대조군과 비교하여 유의한 수준의 피부 두께 감소가 관찰되었으며, DEX 군의 경우 정상군 수준으로 피부 두께가 감소하였다 (Fig. 3).

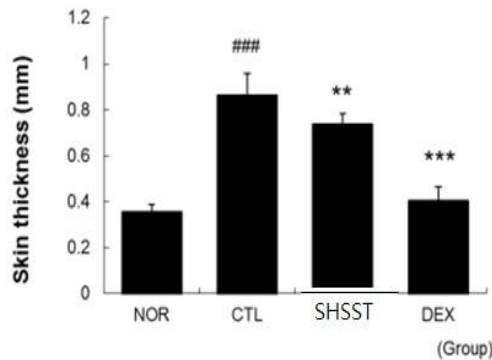


Fig. 3. Effects of SHSST on skin thickness in AD mice. Effects on skin thickness by SHSST were analyzed on day 18. NOR, normal mice; CTL, AD induced control mice; SHSST, 150 mg/kg of SHSST administered AD mice; DEX, 2.5 mg/ml of dexamethasone treated AD mice. Values are represented as mean±SD. $###P < 0.001$ vs. NOR, $**P < 0.01$ and $***P < 0.001$ vs. CTL (n=8).

3. 홍반 지수와 멜라닌 지수에 미치는 영향

피부 색차계를 이용하여 홍반 지수와 멜라닌 지수에 미치는 영향을 관찰한 결과 AD 대조군에서 유의한 수준의 홍반 지수와 멜라닌 지수 상승이 관찰되었

으며, SHSST은 홍반 지수를 유의한 수준으로 감소시켰다. DEX 군은 홍반 지수와 멜라닌 지수 모두를 유의한 수준으로 감소시켰다 (Fig. 4).

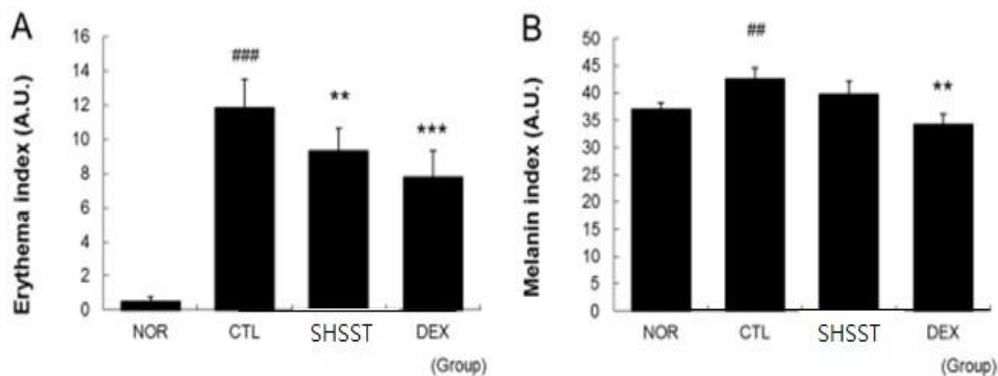


Fig. 4. Effects of SHSST on erythema index and melanin index in AD mice. Erythema index and melanin index were measured using dermo-spectrophotometer on day 18. NOR, normal mice; CTL, AD induced control mice; SHSST, 150 mg/kg of SHSST administered AD mice; DEX, 2.5 mg/ml of dexamethasone treated AD mice. (A) erythema index, (B) melanin index. Values are represented as mean±SD. $##P < 0.01$ and $###P < 0.001$ vs. NOR, $**P < 0.01$ and $***P < 0.001$ vs. CTL (n=8).

4. 피부 기저수분량에 미치는 영향

실험 마지막 날, 피부수분 측정기를 이용하여 기저수분을 측정한 결과 AD 대조군에서 유의한 수준으로

피부 수분이 감소하였으며, SHSST의 경구투여는 이러한 피부 수분의 감소를 유의한 수준으로 억제하였다 (Fig. 5).

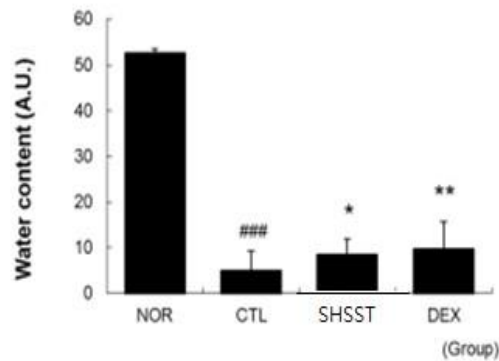


Fig. 5. Effects of SHSST on water content of skin in AD mice. Water contents were measured using skin-O-mat multiple skin measurement system on day 18. NOR, normal mice; CTL, AD induced control mice; SHSST, 150 mg/kg of SHSST administered AD mice; DEX, 2.5 mg/ml of dexamethasone treated AD mice. A.U. means arbitrary unit. Values are represented as mean±SD. ### $P < 0.001$ vs. NOR, * $P < 0.05$ and ** $P < 0.01$ vs. CTL (n=8).

5. 조직병리학적 소견에 미치는 영향

정상군에서 특별한 이상 소견을 발견할 수 없는데 반해, oxazolone을 반복 처리한 대조군에서는 표피의 이상 증식 (epidermal hyperplasia)과 해면화 현상

(spongiotic change) 그리고 과각화증 (hyperkeratosis) 등이 관찰되었다 (Fig. 6A,B). SHSST의 경구투여는 이러한 표피의 이상증식, 해면화 현상, 과각화증을 억제해주는 경향을 보였다 (Fig. 6C).

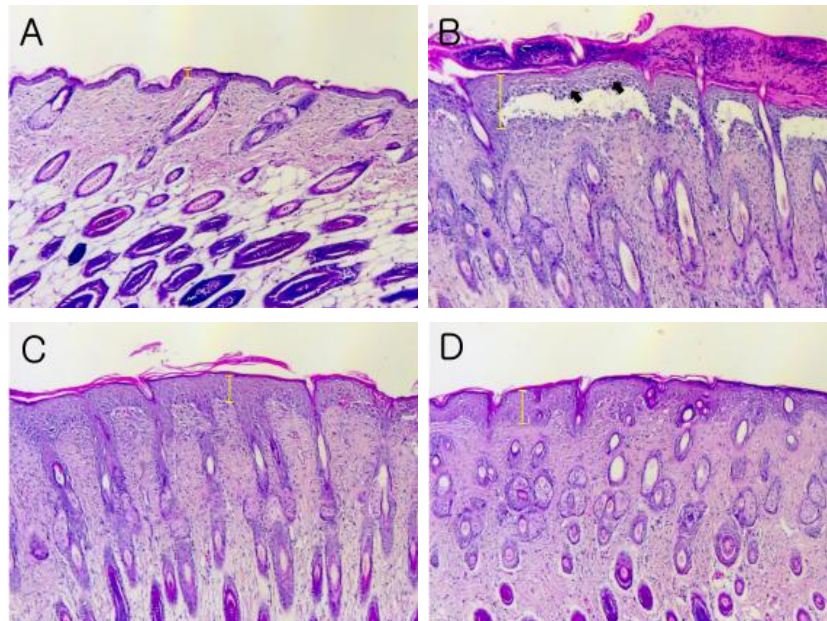


Fig. 6. Effects of SHSST on histopathological changes in AD mice. Resected tissues were stained with haematoxylin and eosin and observed using photo-microscope at the magnificant of 50x. (A), normal mice; (B), AD induced control mice; (C) 150 mg/kg of SHSST administered AD mice; (D), 2.5 mg/ml of dexamethasone treated AD mice. Yellow bars indicate epidermal layers. Filled arrows indicate areas of spongiotic changes.

6. 비장/체중 비에 미치는 영향

실험 마지막 날, 생쥐의 체중을 측정 후, 생쥐를 희생시키고 비장을 절제하여 무게를 측정하였다. 비장의 무게는 체중 변화와 관련이 있으므로 실험 마지막 날 측정된 체중에 대한 비율로 환산하여 관찰한 결과 대조군에서 정상군과 비교해 유의한 수준으로

비장/체중비가 증가하였으며, SHSST는 이러한 비장/체중비에 특별한 영향을 미치지 않았다 (Fig. 7). 그러나, dexamethasone의 피부 도포는 비장/체중비를 대조군과 유의한 수준으로 감소 시켰으며, 이러한 감소는 정상군과 비교하여도 통계적 유의성이 나타났다 (Fig. 7).

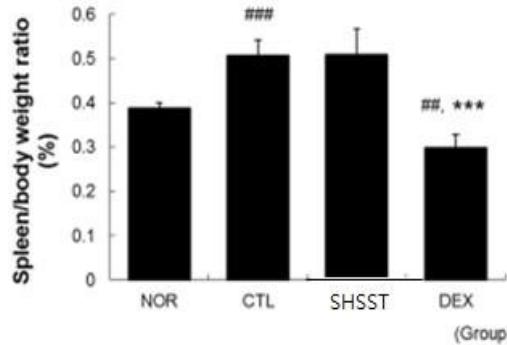


Fig. 7. Effects of SHSST on spleen/body weight ratio in AD mice. Spleen/body weight ratio was calculated using spleen and body weight obtained on day 18. NOR, normal mice; CTL, AD induced control mice; SHSST, 150 mg/kg of SHSST administered AD mice; DEX, 2.5 mg/ml of dexamethasone treated AD mice. Values are represented as mean±SD. ## $P < 0.01$ and ### $P < 0.001$ vs. NOR, *** $P < 0.001$ vs. CTL (n=8).

IV. 고찰

아토피 피부염(Atopic Dermatitis, AD)은 심한 가려움증이 주된 증상으로 호전과 악화를 반복하는 만성 재발성 습진성 피부 질환으로 흔히 성장하면서 호흡기 아토피 질환인 알레르기 비염이나 천식을 동반하는 경우가 많다. 최근 급증하고 있는 추세이나, 현재까지 만족할 만한 효과가 있는 치료제는 없는 실정이고 피부에 심한 홍반 구진과 물집이 나타나며 병터를 긁으면 삼출병터가 발생하고 이차감염이 쉬워지는 질병이다. 아급성기에는 긁은 상처(excoriation), 홍반 혹은 비늘이 덮인 구진과 판이 발생하며, 만성기에서는 반복적으로 긁은 결과 피부가 두꺼워진 태선화가 생기고 결절 가려움발진(prurigo nodularis)이 관찰될 수 있다³⁾.

AD 환자의 급성기 병터에서는 표피의 해면화가 관찰되며, 랑게르한스 세포(Langerhans)와 같은 가지돌기모양 항원전달 세포(myeloid dendritic cell)가 분포한다. 만성태선화병태로 진행하면 해면화는 감소하고, 과증식된 표피와 표피능선 연장, 과다각화증과

이상각화증 등이 나타나게 된다^{1,3)}.

발병원인과 기전에 대해서는 아직 정확히 밝혀진 바는 없으나 유전적 환경적 면역학적인 요인들이 서로 복합적으로 작용하여 생기는 증상으로 보는 견해가 지배적이다. 또한 산업발달에 따른 식습관, 생활습관, 스트레스, 공해, 농약과 식품첨가물 등 다양한 환경적 변화와 오염을 아토피의 발병 요인으로 보는 견해들이 많다¹⁰⁾. 임상증상은 유전, 환경, 대사, 신경내분비, 감염, 면역 등 여러 요소의 복잡한 상호작용의 결과로 생각할 수 있다¹¹⁾.

한의학에서 AD는 《諸病源候論·小兒雜病諸侯·癬候》에서는 최초로 乳癬이라고記載되어 있고 이후로 《外科正宗·奶癬》에서 “奶癬”, 《醫宗金鑑·外科心法要訣·嬰兒部》에서 “胎斂瘡”이라고 나와 있다⁴⁾.

AD의 한의학적 발생원인은 주로 血熱, 濕熱, 血燥 등으로 보고 있으며, 증상에 따라 乾肝, 風濕熱浸淫肌膚症, 脾虛濕熱內蘊症, 陰傷血燥濕戀症로 구분하여 그에 따라 치료법으로는 清熱除濕, 祛風止痒, 健脾除濕, 養血潤燥 등의 治法을 주로 사용하고 있다^{4,5,12,13)}.

최근의 실험 논문 상 馬齒莧¹⁴⁾, 白屈菜¹⁵⁾, 白鮮皮

16), 沙蔘¹⁷⁾, 枳實¹⁸⁾, 苦蔘¹⁹⁾ 등 단미제와 葛根解肌湯²⁰⁾, 黃連解毒湯²¹⁾, 溫清飲·三黃洗劑加味方 병용²²⁾, 連翹敗毒散²³⁾, 當歸飲子加減方²⁴⁾, 消風散²⁵⁾ 등 많은 처방들이 동물모델 AD 유발 연구에서 면역학적 지표 물질 및 임상적 증상 면으로 AD 치료에 효과를 나타냈다.

瀉火解毒, 清化濕熱하는 효능을 지니고 있는 三黃瀉心湯은 『金匱要略』에 처음으로 수록된 처방으로 모든 實熱火證을 치료하며⁷⁾, 항산화 효과와 항균 효과, 항알레르기 효과 등이 이미 입증되었다⁸⁻⁹⁾. 본 실험에 사용된 三黃瀉心湯은 大黃, 黃連, 黃芩 등으로 구성되어 있는데 아토피 피부염에 다용하는 樺皮를 가하여 사용하였다. 본 處方 중 大黃은 항종양, 항균 효과가 있고 주요성분으로는 emodine monoglucoside, aloemodin monoglucoside, chrysophanol, sennoside, tannin 등으로 보고되어 있다²⁶⁾. 黃芩의 성분 연구는 flavonoids에 관한 것이 대부분으로 황색 결정성 성분인 wogonin을 처음 추출하여 구조가 밝혀졌으며, 주요 성분으로는 baicalein, baicalin, wogonin, kaganebananin, wogonoside 등이 함유되어 있으며, 항염, 항알레르기 작용이 있고 그 외에 항균 작용, 항바이러스작용, 해열작용, 이뇨작용, 혈압 강하 작용이 있다. 黃連의 성분으로는 berberine, palmatine, coptisine 등이 있으며 항염증효과가 있는 것으로 보고되었다²⁷⁾. 樺皮(*Cortex Betulae Platyphyllae*)는 樺木科(자작나무과; *Betulaceae*)에 속한 落葉喬木인 만주자작나무 및 자작나무의 樹皮로 清熱利濕·祛痰止咳·消腫解毒 등의 효능이 있어 癰腫, 癢疹, 痒疹, 肺風瘡 등 피부질환을 치료한다²⁸⁻³¹⁾. 박³²⁾의 화피에 관한 문헌고찰과 김³³⁾의 화피 추출물의 항산화 및 항균 효과, 정³⁴⁾의 화피 추출물의 항알레르기 효과 등에서 이미 알레르기 아토피 질환의 치료약으로 사용가치가 입증되었고 실제 임상에서 아토피 피부염에 다용하고 있다.

본 연구에서 사용된 AD 동물 모델에서는 등 표면에 심한 홍반과 인설 등이 발생하였고 (Fig. 2), 피부의 두께가 증가되어 있었으며 (Fig. 3), 홍반 지수와 멜라닌 지수가 상승되어 있었다 (Fig. 4). 또한, 피부 장벽 기능 정도의 지표 중의 하나인 기저수분량이 감소되어 있었으며 (Fig. 5), 조직병리학적 소견상에서 표피의 이상 증식, 해면화 현상 및 과각화증의 현상을 보였다 (Fig. 6). 이러한 증상들은 인간의

AD에서 발생하는 다양한 현상을 잘 반영한 것으로 이해된다.

아토피 환자의 피부에서는 가려움증, 발적, 홍반, 부종, 삼출물, 인설 등이 발생하며 이러한 증상들은 아토피 피부염 치료의 주요 타겟이 된다³⁵⁾. 본 연구의 결과에서 SHSST의 경구투여는 oxazolone에 의하여 발생하는 홍반과 인설을 감소시키는 경향을 보였다 (Fig. 2). 이러한 결과는 SHSST의 경구투여가 AD의 표면 증상을 완화시킬 수 있음을 시사한다.

피부 색차계를 이용하여 피부 표면 증상에 대한 주관적 평가 결과를 객관화 해본 결과 SHSST의 경구투여는 홍반 지수를 유의한 수준으로 감소시켰으며, 멜라닌 지수에는 특별한 영향을 미치지 않았다 (Fig. 4) 이러한 결과는 Fig. 2에서 보인 표면 증상 개선효과와 일맥상통하며 SHSST이 피부 표면 증상을 개선할 수 있음을 시사한다.

AD 환자의 피부는 급성기에는 부종과 해면화의 영향으로 만성기에는 지속되는 염증에 의한 표피의 과증식에 의해 두꺼워진다³⁶⁾. 본 연구의 결과에서 SHSST의 경구투여는 AD 유발에 의하여 증가되는 피부 두께의 증가를 유의한 수준으로 감소시켰다 (Fig. 3). 이러한 결과로부터 SHSST의 항아토피 효과는 항염증 작용을 통한 부종과 해면화, 표피 과증식 억제와 관련이 있을 수 있다는 가설을 도출할 수 있다.

상기한 가설을 증명하기 위해 생쥐 피부를 염색하여 조직병리학적 변화를 관찰한 결과 SHSST의 경구투여는 대조군에서 나타난 표피의 이상증식과 해면화 현상 그리고 과각화증을 억제해주는 경향을 보였다 (Fig. 6). 이러한 결과는 SHSST의 항아토피 효과가 피부 조직 내에서 발생하는 항염증 효과에 기인한다는 것을 시사한다.

피부 장벽 기능 (skin barrier function)의 이상은 AD의 주요한 원인이며, AD를 악화시키는 요인이 되기도 한다. 또한, 대부분의 AD 환자에서 피부 장벽 기능 이상이 관찰된다³⁷⁾. 본 연구의 결과에서 SHSST의 경구투여는 AD 유발에 의하여 심하게 손상된 피부 장벽 기능을 유의한 수준으로 향상시켰다. 이러한 결과 역시 상기한 결과들과 같이 SHSST이 AD의 증상을 개선할 수 있음을 시사한다.

일반적으로 염증 상태에서 비장은 종대되는 경향이 있으며, 비장 세포의 활성화 정도나 면역 반응 정도는 이에 대한 유용한 지표의 하나로 인식된다³⁸⁾. 본



연구의 결과에서 oxazolone 의 반복 도포는 비장/체중비의 유의한 상승을 유도했으며, 이러한 비장/체중비의 상승에 SHSST의 경구투여는 특별한 영향을 미치지 않았지만, 양성 대조군인 dexamethasone은 비장/체중비를 유의한 수준으로 낮추었다 (Fig. 7). 이러한 결과는 SHSST의 항아토피 기전이 dexamethasone과는 다름을 시사한다. 대표적인 corticosteroid인 dexamethasone은 전신투여 뿐만 아니라 국소적 투여를 통해서도 실험동물의 비장/체중비를 감소시킴이 알려져 있고³⁹⁾, 이러한 비장/체중비의 감소는 전반적인 면역기능의 억제에 의한 부작용의 하나로 인식되기도 한다⁴⁰⁾. 따라서, SHSST가 비장/체중비에 특별한 영향을 미치지 않은 것은 dexamethasone과 그 작용 기전이 다름을 시사할 뿐 만 아니라 제한적 안전성을 시사하기도 한다.

Dexamethasone의 투여는 AD 유발에 의하여 증가하는 피부 두께를 거의 정상군 수준으로 감소시켰다 (Fig. 3). 이러한 결과는 dexamethasone의 강력한 항염증 효과의 결과이기도 하지만, 국소 corticosteroid 투여에 의한 대표적인 부작용인 피부 위축 현상⁴¹⁾이 병합되어 나타는 현상으로 생각되며, 여타 다른 결과에서 dexamethasone군이 SHSST군보다 우수한 효과를 보이기는 하지만, 그 차이가 미미한데 반해 피부 두께에 미치는 영향에서는 그 차이가 매우 큰 것을 통해 피부 위축 현상이 있음을 유추할 수 있다.

이상의 결과들을 종합하여 보면, SHSST의 경구투여는 홍반 인설과 같은 AD의 피부 표면 증상들을 호전시켰으며 피부 두께 증가를 억제하였고 또한 조직병리학적 소견에서 표피 이상증식, 해면화, 과각화증 등을 억제해주는 경향을 보였다. 이러한 결과는 SHSST가 AD가 유발된 피부조직 내에서 항염증 효과를 발휘하는 것을 시사하는 것이다. 본 연구를 통해 SHSST이 근본적인 해결책을 찾지 못하고 있는 AD 등 습진성 피부질환의 염증반응과 만성상태를 개선하고 치료하는 임상적 치료약으로서 다양하게 활용될 수 있음을 보여주었다. 향후 본 연구에서 확인하지 못했던 AD 동물모델의 피부도포군이나 다른 추출용매를 이용한 연구 등 다양한 후속 연구가 필요하다고 생각한다.

V. 결론

SHSST에 대하여 생쥐에 유발된 아토피 피부염에 미치는 영향을 관찰한 결과, SHSST의 경구투여는 AD 유발에 의하여 발생하는 피부 증상을 효과적으로 억제하였고, 피부 두께 증가를 유의한 수준으로 억제하였으며, 홍반 지수 역시 유의한 수준으로 낮추었다. 또한, 피부 장벽 기능의 주요한 기능 중의 하나인 수분함유량을 유의한 수준으로 향상시켜 주었다. 조직병리학적 소견에서 피부 염증의 주요한 기준 중에 하나인 표피 과증식과 해면화 현상을 개선해주었으며, 과각화증을 억제하는 경향을 보였다. 마지막으로 체중과 비장/체중비를 관찰한 결과 dexamethasone과는 다르게 실험 동물의 비장/체중비에는 특별한 영향을 미치지 않았다.

이러한 결과는 SHSST이 아토피 피부염의 표면 증상을 완화시킬 수 있음을 시사하며, 이러한 SHSST의 작용 기전은 피부 내에서 항염증 작용을 함으로써 표피 과증식과 해면화 현상을 억제하는 작용이 관여할 것으로 사료되며, 아토피 질환 치료소재로서 비교적 안전하게 인간의 아토피 피부염에 사용될 수 있음을 시사한다.

VI. 감사의 글

본 논문은 동신대학교 교내 연구지원으로 수행된 연구입니다.

References

1. The Department of Dermatology of Seoul University College of Medicine. Dermatology For a medical student. 3rd ed. Seoul:Korea Medical Book Publishing Company. 2011:37-9.
2. Kang YH. Atlas of skin disease. 2nd ed. Seoul: Hanmi Medical Publishing Co. 2008:83.
3. Kang H, Kang HY, Park G, Park KC, Park MY, Seo YJ, *et al.* Text book of Dermatology. 6th ed. Seoul:Medbook. 2015:75-8,202,205.
4. Kim KJ, Kim NK, Kim YB, Kim JH, Park MC, Park SY, *et al.* Text of Traditional Korean Dermatology & Surgery. Busan:Seonu. 2007:355-6.

5. Ma SY. Hyeondaejunguipibuseongbyeonghag. Sanghae:Sanghae Junguiyagdaehagchulpana. 2001:153-60.
6. Cha KB, Kim YS, Seol IC. Literatural study on Atopic dermatitis. J Daejeon University Institute of Korean Medicine. 2005;14(2):113-26.
7. Sa JM, Wang GP. Geumgweyoryakselfstudy. Beijing:zygicbs. 1988:146-7.
8. Kim MJ, Park KH, Lee IC, Kim BH. Antioxidant Ability and Hair Growth Effect of Samhwang-Sasintang in C57BL/6 Model. Korean J. Oriental Physiology & Pathology. 2014;28(2):154-61.
9. Choi CH. Anti-allergic effects of Samhwangsasim-tang on ovalbumin-induced allergic model in mice. Wonkwang university Dissertation. 2014.
10. Park SE, Heo Y. A study on the cause of the cause of atopic dermatitis. J Natural Sciences Research Institute. 2009;7(1):1-8.
11. Eichenfield LF, Hanifin JM, Luger TA, Stevens SR, Pride HB. Consensus conference on pediatric atopic dermatitis. J Am Acad Dermatol. 2003;49(6):1088-95.
12. Kim GB, Joo DY. Junguipibubyeonghag. Beijing:China Medico Pharmaceutical Science & Technology Publishing House. 1999:193-8.
13. Ma CY, Jo SH. Daejunguipibuseongbyeonginlyodaejeon. Shanxi: Shanxi Science Technology Publishing House. 1999:475-93.
14. Lee JC, Park SY, Choi JH, Kim JH. Effects of Portulacae Herba (PH) on Allergic Contact Dermatitis (ACD) Induced by DNCB in Mice. J Korean Med Ophthalmol Otolaryngol Dermatol. 2014;27(3):115-32.
15. Kim SH. Effect of Chrysanthemi Borealis Flos on atopy dermatitis induced by DNCB in NC/Nga mouse. Kyunghee University Dissertation. 2010.
16. Lee YS, Han JK, Kim YH. The Effects of Dictamni Radicis Cortex Extracts on DNCB Induced Atopic Dermatitis-like Skin Lesions of NC/Nga Mouse. J Pediatr Korean Med. 2014; 28(4):1-29.
17. Lim KM. Effects of Adenophorae Radix(AR) on Atopic Dermatitis(AD) Induced by DNCB in Mice. Dongshin University Thesis. 2016.
18. Park JM, Chae JW. Effects of Aurantii Immaturus Fructus (AI) on Atopic Dermatitis (AD) Induced by DNCB in Mice. J Pediatr Korean Med. 2015; 29(1):27-43.
19. Jeong SI, Choi BM, Yun YG, Lee JW, Jang SI. A Noble Therapeutic Approach of Atopic dermatitis by Development of Th2 Chemokine Inhibitors from Natural Products : Inhibitory Effect of Sophora flavescens Extract in Atopic Dermatitis Model mice, NC/Nga. The Korean Journal of Oriental Medical Prescription. 2009;17(1):141-51.
20. Hwang CH, Yun CS, Song SH, Weon YH, Hwang CY. Effects of Galgeunhaegitang-gamibang Administration along with Samhwangseze-gamibang on Atopic Dermatitis of NC/Nga Mice. J Korean Med Ophtahlmol Otolaryngol Dermatol. 2008;21(2):1-18.
21. Kim BA, Kim MS, Kang BM, Byeon SH, Park IH, Park JH, *et al.* Inhibitory Studies of Hwangryunhaedok-tang on Development of Atopic Dermatitis in NC/Nga Mice. Kor J Herbology. 2008;23(2):59-65.
22. Hong CH, Seo ES, Weon YH, Kim YG, Hwang CY. Effects of Onchung-eum Administration along with Samhwangseze-gamibang on Treatment Atopic Dermatitis Development in NC/Nga Mice. Korean J Oriental Physiology & Pathology. 2007;21(3):679-87.
23. Khwag NG, Kang H, Myung EG, Park SM, Shim BS, Kim SH, *et al.* Effect of Yeongyupaedog-san on Cytokine Levels of Mouse Th1/Th2 Cells and Anti-allergic Activity in Ovalbumin-sensitized Allergic Inflammation Model. Korean J Oriental Physiology & Pathology. 2006;20(4): 844-52.
24. Kim SH, Choi JW, Kim JH, Park SY. Effects of Tang-gwi-eum-za-gagambang along with External Spray Therapy on the Spontaneously



- Occurring Atopic Dermatitis Development in NC/Nga Mouse. *J Korean Med Ophthalmol Otolaryngol Dermatol.* 2005;18(1):27-49.
25. Min YG, Choi JH, Kim JH, Park SY. Effects of Sopoongsangagambang administration along with external spray treatment on atopic dermatitis development in NC/Nga mice. *J Korean Med Ophthalmol Otolaryngol Dermatol.* 2005;18(1):116-34.
 26. Shah CS, Qadry JS, Bhatt JG. Qualitative and quantitative evaluation of anthraquinone derivatives in Indian rhubarb. *Planta Med.* 1972;22:103-8.
 27. Krakauer T, Li BQ, Young HA. The flavonoid baicalin inhibits superantigen-induced inflammatory cytokines and chemokines. *FEBS Lett.* 2001;29, 500(1-2):52-5.
 28. Chae YM. *Jungyakyakmyeongsajun.* Beijing: Chinese Medicine Publisher. 1996;44.
 29. Sin MG, Jeong BY. *Dohae Hyangyakdaesajeon.* Seoul:Yeongrimsa. 1990;380-1,735, 803-4.
 30. Sin MG. *Clinical Traditional Herbalogy.* Seoul: Yeongrimsa. 2002;399-400,844.
 31. Chinese Medicine University Association Textbook Compilation Committee. *Herbalogy.* Seoul: Yeongrimsa. 2004;681-2,741.
 32. Park SY, Na CS, Jeong WC, Lee JC. A Literature Study of *Pericarpium Granati* and *Cortex Betulae Platyphyllae.* *The Journal of Korean Oriental Medical Ophthalmology & Otolaryngology & Dermatology.* 2012;25(3):13-33.
 33. Kim WI, Kim JE, Lee SH, Moon YS, Lee SH, Park SY, *et al.* Antioxidative and Antimicrobial Activities of Water- and Ethanol-Extracts from *Betula platyphylla var. japonica*, *Punica granatum* and *Rhus javanica.* *Kor. J. Herbology.* 2013;28(3):45-51.
 34. Jung JY, Jung HA. Effect of Phellinus igniarius Quel Extract on the Anti-inflammatory, Anti allergy, Anti-oxidant, Anti-wrinkle reaction. *The Journal of Korean Oriental Medical Ophthalmology & Otolaryngology & Dermatology.* 2010;23(3):42-65.
 35. Kim EH, Lee BW, Kim EH. A Literal Study of the Main Symptoms of Atopic Dermatitis. *J. Kor. Med. Class.* 2009;22(2):207-28.
 36. Strid J, Strobel S. Skin barrier dysfunction and systemic sensitization to allergens through the skin. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy.* 2005;4(5):531-41.
 37. Jurakić Tončić R, Marinović B. The Role of Impaired Epidermal Barrier Function in Atopic Dermatitis. *Acta Dermatovenerol Croat.* 2016; 24(2):95-109.
 38. Ou L, Kong LY, Zhang XM, Niwa M. Oxidation of ferulic acid by Momordica charantia peroxidase and related anti-inflammation activity changes. *Biol Pharm Bull.* 2003;26(11):1511-6.
 39. Kim M, Kim H, Ryu J, Jo S, Lee G, Ryu MH, *et al.* Anti-inflammatory effects of *Cryptotympana atrata* Fabricius slough shed on contact dermatitis induced by dinitrofluorobenzene in mice. *Pharmacogn Mag.* 2014 Apr;10(Suppl 2):S377-82.
 40. Norbiato G, Bevilacqua M, Vago T, Clerici M. Glucocorticoid resistance and the immune function in the immunodeficiency syndrome. *Ann N Y Acad Sci.* 1998;840:835-47.
 41. Shibli-Rahhal A, Van Beek M, Schlechte JA. Cushing's syndrome. *Clin Dermatol.* 2006;24(4): 260-5.