

Original Article / 원저

매생이(莓山苔) 추출물이 NC/Nga 마우스의 접촉성 피부염에 미치는 효과

엄예진 · 홍철희*

삼지대학교 한의과대학 한방안이비인후피부과학교실

Effects of *Capsosiphon Fulvescens* Extract on Contact Dermatitis in NC/Nga Mice

Ye-Jin Eom · Chul-Hee Hong*

Dept. of Korean Medicine Ophthalmology & Otolaryngology & Dermatology, College of Korean Medicine, Sangji University

Abstract

Objectives : The aim of this study is to report the effect of *Capsosiphon fulvescens*(Maesangi) extract(MSE) on contact dermatitis(CD).

Methods : CD induced by Dermatophagoides farinae body(Dfb) in NC/Nga mice. 4% sodium dodecyl sulfate(SDS) 150 μ l and Dfb(10mg/ml) ointment 100mg were topically treated twice a week for four weeks. MSE 200 mg/kg was topically treated every 4weeks. Every week, we examined the skin lesions, weight of spleen and lymph node, epidermal thickness, production of Tumor necrosis factor - alpha(TNF - α) and interleukin - 6(IL - 6).

Results : MSE reduced features of Dfb-induced skin lesions, weight of spleen and production of TNF - α . MSE significantly reduced weight of lymph node, epidermal thickness, number of mast cells and production of IL - 6.

Conclusions : MSE may have a potential therapeutic effects for CD by suppressing allergic inflammation.

Key words : *Capsosiphon fulvescens*; Contact Dermatitis(CD); NC/Nga mice

서 론

접촉성 피부염(Contact Dermatitis, CD)은 신체 외부의 여러 환경인자나 화학물질 등이 피부에 접촉되어 발생하는 피부염으로 습진성 피부질환의 범주에 속한다. 임상증상으로 소양감, 홍반, 부종, 물집 등을 보이며 면역기전의 관여 유무에 따라 알레르기성과 자극성으로 분류된다. 알레르기 접촉성 피부염은 원인물질에 이미 감작되어있는 사람에게만 생기며 발생 기전은 과민반응기전 중 제 IV형 세포 매개 면역반응으로 설명할 수 있다. 원인물질에 감작 후 동일 항원이 다시 침투되면 감작된 해당 T세포들이 피부에서 항원과 작용하면서 각종 cytokine이 분비되어 염증반응이 유발된다¹⁾.

매생이는 녹조식물문 갈파래과에 속하는 해조류로서 한국에서는 남해안 청정해역의 조건대 상부 바위에서 서식한다²⁾. 농산 채소류에 비하여 해조류는 다양한 종류의 필수 미량 원소를 풍부하게 함유하고 있을 뿐만 아니라 바다에서 생존하기 위해 특유의 방어 체계를 갖추며 생리활성이 뛰어난 성분을 함유한다^{3,4)}. 매생이는 단백질 함량이 매우 높고 철분, 셀레늄과 같은 무기질, 비타민 A, C 및 오메가-3 계열의 지방산이 풍부하다. 따라서 피부와 뼈의 건강, 어린이의 성장 발육, 빈혈 예방, 콜레스테롤 저하, 고혈압 예방 등에 효과적이다⁴⁾. 또한 고혈압 성장 억제⁵⁾, 멜라닌 생성 억제⁶⁾, 갱년기 장애 시 유발되는 골 노화 억제⁷⁾ 등에 효과가 있다고 보고된 바 있다. 이와 같이 다양한 분야에서 매생이 추출물에 대한 연구가 보고되어 있으나 염증 관련 질환에 관한 연구로는 매생이 추출물의 항산화 효과 연구⁸⁾ 외에는 찾아볼 수 없었다.

이에 저자는 본 연구에서 *Dermatophagoides farinae* body(Dfb)를 함유한 연고로 CD를 유도한 NC/Nga 마우스에 매생이 에탄올(ethanol) 추출물(Maesangi extract, MSE)을 도포한 후 수치화 분석을 통해 MSE가 피부손상에 미치는 영향을 확인하고, 피부의 조직학적 관찰 및 cytokine의 측정을 통해 MSE의 CD에 대한 효능을 알아보하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 매생이 추출물(MSE)

매생이는 전남 장흥 정남진에서 채취하여 전남 화순군 (주) 헤드립에서 동결건조한 것을 구입하였다. 1 l 용량의 30% 에탄올에 매생이 100g을 넣고 4시간 동안 전탕 추출하였다. MSE는 Rotary vacuum evaporator(EYELA, Tokyo, Japan)를 사용하여 농축하였다. 농축시료는 Freeze Dryer FDU-1200(EYELA, Tokyo, Japan)을 사용하여 동결 건조하였고, 실험에 사용하기 전까지 -80℃의 deep freezer에 보관하였다.

2. 실험 동물

6 주령 NC/Nga 수컷 마우스를 (주) 대한 바이오 링크(Yonginsi, Republic of Korea)에서 분양받았다. 사료는 Research Diets(New Brunswick, NJ, USA)에서 구입하였다. 동물사육실의 환경은 20±5℃, 상대 습도 55±10%, 명암 12시간 주기로 유지하였다. 사육하는 기간 동안 물, 사료는 자유식으로 공급하였고, 한 주간의 순화기간 뒤 마우스를 각 처리군당 5 마리씩 3군으로 무작위로 나누었다: (1) 일반(Normal), (2) CD 유발군(Control), (3) MSE 200mg/kg 도포군. 실험 시작일 하루 전 clipper로 실험 동물의 귀 하단부터 꼬리 상단까지 등 부위 전체의 털을 제거하였다.

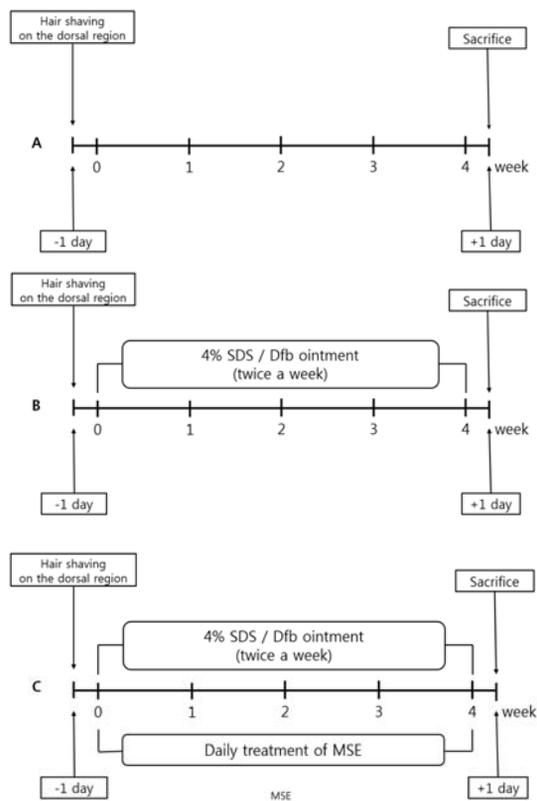
Control군의 경우 피부 장벽 손상을 위하여 4% sodium dodecyl sulfate(SDS) 150 μ l를 4주간 주 2회

Corresponding author : Chul-Hee Hong, College of Korean Medicine, Sangji University, 80, Sangjidaegil, Wonju-si, Gangwon-do, Republic of Korea(Tel : +82-33-741-9266, E-mail : hong7250@sangji.ac.kr)

• Received 2017/9/28 • Revised 2017/11/6 • Accepted 2017/11/13

마우스의 등에 도포하였다. CD를 유발하기 위해 SDS 도포 3시간 후에 Dfb(Biostir®AD; Biostir, Hyogo, Japan) 10mg/ml 가 포함된 연고를 도포하였다. MSE군은 Control군과 같이 4주간 주 2회 SDS와 Dfb가 포함된 연고를 도포하였으며, 매일 같은 시간 MSE를 200mg/kg 의 양으로 도포하였다. 실험이 끝나는 마지막 전 날 마우스를 절식시키고, 다음 날 마취시킨 뒤 안와에서 혈액을 채취하고 피부 등 조직을 분리한 후 급속 냉동하여 -80℃의 냉동실에 보관하였다. 비장, 림프절도 즉시 채취하여 무게측정을 진행하였다 (Table 1). 본 동물실험은 상지대학교 동물실험윤리위원회의 사전 승인(2017-05)을 받아 동물실험윤리위원회의 규정에 따라 진행되었다.

Table 1. Schematic Representation of the Experiment.



(A) Normal Group: Normal Control (B) Control Group: Dfb Treated (C) MSE Group: MSE Treated with Dfb

3. 수치화 분석

- 1) Dermatitis score: 각 군의 피부 조직에 발생한 피부손상 정도를 수치화 분석하기 위하여 일반적으로 사용되는 임상적 육안 평가법을 이용하였다. 육안 평가의 결과는 다음 4 가지 항목을 각각 평가한 점수의 총합으로 나타내었다. 평가 항목은 홍반 및 출혈(erythema/hemorrhage), 상처와 피부건조(scarring/dryness), 부종(edema), 찰상 및 짓무름(excoriation/erosion)이었다. 각 항목은 증상 없음(0), 약함(1), 중증(2), 심함(3)으로 적용하여 전체 점수를 합산 후 통계 처리하였다. 평가는 2주차부터 매주 진행하였다.
- 2) 각 군의 상피조직 두께변화 및 비만세포의 수를 수치화하기 위하여 각 군의 조직에서 일곱 군데를 임의 추출하여 조직의 두께 및 비만세포의 수를 측정 한 후 통계 처리 하였다.

4. 조직학적 분석

마우스의 피부조직을 10% formalin을 사용하여 보존하고, 8μM paraffin으로 고정 및 박편하였다. 박편한 조직을 슬라이드에 옮긴 후 hematoxylin and eosin(H&E) staining법으로 염색하여 조직의 세포질과 핵을 구별하였다. 피부 조직에 염증 세포들이 침윤되었는지 측정하기 위하여 피부 조직을 toluidine blue로 염색하여 비만세포를 확인하였다. Leica 현미경(Leica, Wetzlar, Germany)을 사용하여 40×, 200×의 배율로 조직학적 관찰 및 촬영하였다.

5. Cytokine 측정

마우스의 안와 주변에서 추출한 혈액을 1700×g에서 30분간 원심분리하고 -70℃에서 보관하였다. 염증성 매개인자인 tumor necrosis factor · alpha(TNF · α), interleukin · 6(IL · 6) 을 측정하기 위해 효소면역분석법(Enzyme Immuno Assay, EIA)을 진행하였다. 마이크로플레이트 리더기를 사용하여 파장값 540

nm에서 각 샘플의 파장값을 측정 후 TNF- α , IL-6의 생성량을 측정하였다. Mouse TNF- α 와 IL-6 EIA Set는 BD OptEIA™(BD Sciences, CA, U.S.A.)에서 구입하였다.

6. 통계방법

실험에서 얻은 모든 결과는 one-way analysis of variance(ANOVA) with Dunnett's post hoc test를 사용하여 통계 처리하였고, mean±S.D.로 나타내었다. 분석 결과 간 유의성은 Graphpad Prism(version 5)을 사용하여 검정하였으며 유의수준을 $\alpha=0.05$ 로 하였다.

결 과

1. 피부손상에 미치는 영향

피부손상의 상태를 육안적으로 관찰하고 수치화 분

석하였다(Fig. 1). 피부손상을 수치화 분석한 결과 Control군과 비교하여 MSE군에서 피부 증상이 완화 되었다(Table 2).

2. 비장의 비대에 미치는 영향

비장 조직을 분리한 후 그 크기와 무게를 비교하였다(Fig. 2). Control군의 비장 무게는 Normal군 대비 24.8% 증가하였다. MSE군의 경우 Control군과 비교하여 비장의 비대가 15.2% 억제되었다(Table 3).

3. 림프절 증식에 미치는 영향

림프절을 분리한 후 그 크기와 무게를 측정하여 비교하였다(Fig. 3). MSE군의 림프절 무게는 Control군과 비교하여 유의성 있게 감소하였고, 림프절의 비대가 14.7% 억제되었다(Table 4).

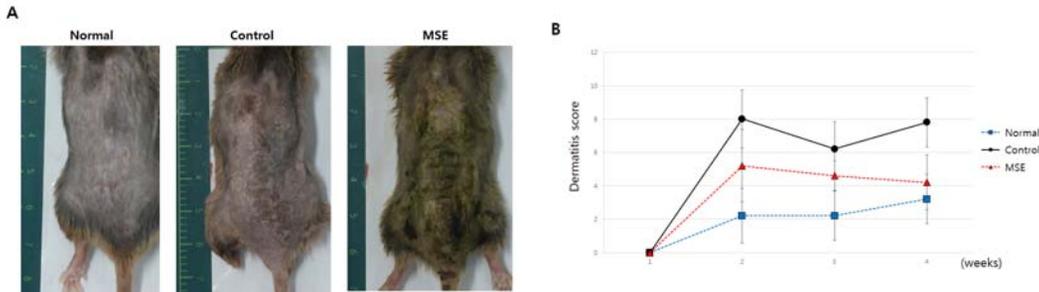


Fig. 1. Effects of MSE on Skin Lesions in Dfb-induced NC/Nga Mice.

(A) Representative photographic images of mice from different treatment groups at the time of a sacrifice(Normal: Normal control; Control: Dfb treated; MSE: MSE treated with Dfb). (B) Dermatitis scores for 4weeks.

Table 2. Dermatitis Score for 4 Weeks

	Normal(n=5)	Control(n=5)	MSE(n=5)
1st week	0	0	0
2nd week	2.2	8	5.2
3rd week	2.2	6.2	4.6
4th week	3.2	7.8	4.2
Mean for 4 Weeks	2.5±0.1	7.3±0.1	4.6±0.5

(Normal: Normal control; Control: Dfb treated; MSE: MSE treated with Dfb)

4. 상피조직 두께변화에 미치는 영향

희생 시킨 마우스의 등 부위의 피부조직을 H&E 염색하여 현미경을 통해 40×, 200×의 배율로 조직의 두

께 상태를 관찰하였다(Fig. 4A). 육안 상 Control군에서 Normal군과 비교하여 피부조직의 두께가 증가하였고, MSE군에서는 두께가 감소하였다.

Table 3. Weight of Spleen

	Normal(n=5)	Control(n=5)	MSE(n=5)
Weight of Spleen(mg)	81.2±10.2	101.3±11.4	87.9±14.3

(Normal: Normal control; Control: Dfb treated; MSE: MSE treated with Dfb)

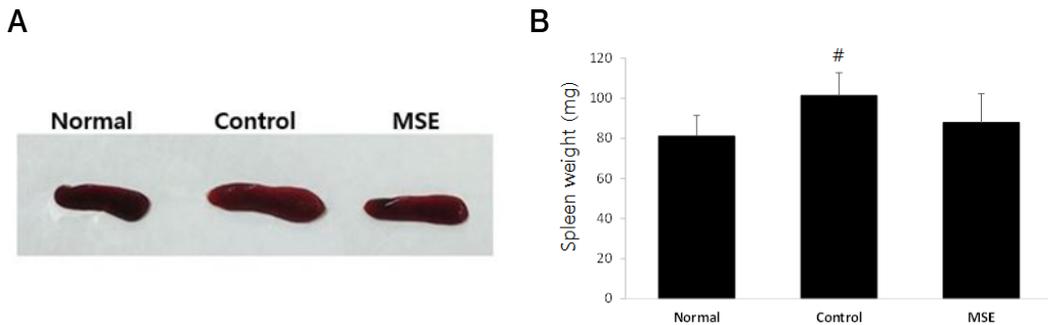


Fig. 2. Effect of MSE on Spleen Enlargement in Dfb-induced NC/Nga Mice.

(A) Representative photographic images of spleen from different treatment groups at the time of a sacrifice(Normal: Normal control; Control: Dfb treated; MSE: MSE treated with Dfb). (B) Weight of spleen. Data were presented as mean±standard deviation(SD; n=5). Data were analyzed using one - way analysis of variance followed by Dunnett' s post hoc test. #p < 0,05 versus normal group.

Table 4. Weight of Lymph Node

	Normal(n=5)	Control(n=5)	MSE(n=5)
Weight of Lymph Node(mg)	27.2±14.2	80.7±12	70.3±14

(Normal: Normal control; Control: Dfb treated; MSE: MSE treated with Dfb)

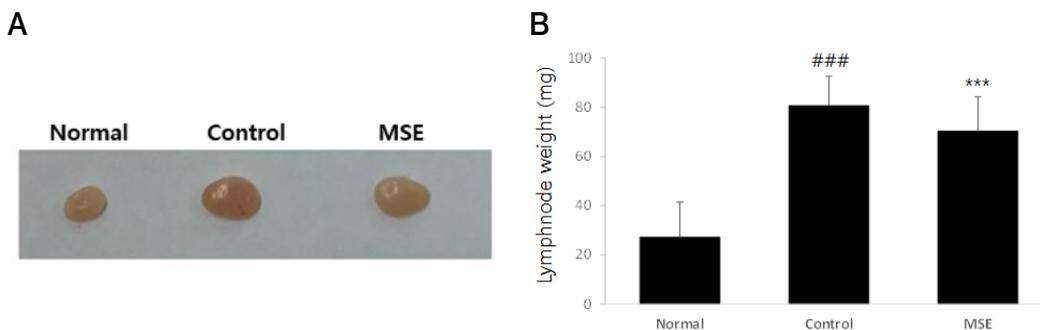


Fig. 3. Effect of MSE on Lymph Node Enlargement in Dfb-induced NC/Nga Mice.

(A) Representative photographic images of Lymph node from different treatment groups at the time of a sacrifice(Normal: Normal control; Control: Dfb treated; MSE: MSE treated with Dfb). (B) Weight of lymph node. Data were presented as mean±standard deviation(SD; n=5). Data were analyzed using one - way analysis of variance followed by Dunnett' s post hoc test. ###p < 0,001 versus normal group; ***p < 0,001 versus control group.

피부조직 두께를 수치화 분석한 결과(Table 5) Control군의 피부조직의 두께는 Normal군과 비교하여 1.9배로 유의성 있게 증가하였고, 증가된 피부조직의 두께는 MSE의 도포에 의하여 유의성 있게 감소하였다(Fig. 4B).

5. 비만세포 증식에 미치는 영향

피부 조직을 toluidine blue로 염색한 후 현미경을 통해 40×, 200×의 배율로 비만세포를 확인하였다(Fig. 5A). 각 조직에서 임의로 일곱 부분을 선정하

Table 5. Epidermal Thickness

	Normal(n=5)	Control(n=5)	MSE(n=5)
Epidermal thickness	59.7±1.2	114.6±0.4	68.7±5.2

(Normal: Normal control; Control: Dfb treated; MSE: MSE treated with Dfb)

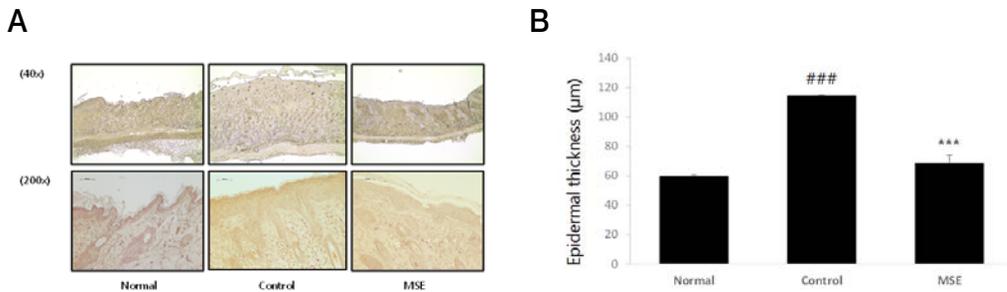


Fig. 4. Effect of MSE on Epidermal Thickness in Dfb-induced NC/Nga Mice.

(A) Histological features of NC/Nga mice. Tissues were excised, fixed in 10% formaldehyde, embedded in parafilm, and sectioned. The sections were stained with H&E(magnification, 40× and 200×). (B) Epidermal thickness was measured after sacrifice. Data were presented as mean±standard deviation(SD; n=5). Data were analyzed using one-way analysis of variance followed by Dunnett's post hoc test. ###p < 0.001 versus normal group; ***p < 0.001 versus control group.

Table 6. Number of Mast Cells

	Normal(n=5)	Control(n=5)	MSE(n=5)
Mast cell count	29.6±2.9	85.6±10.0	59.4±4.1

(Normal: Normal control; Control: Dfb treated; MSE: MSE treated with Dfb)

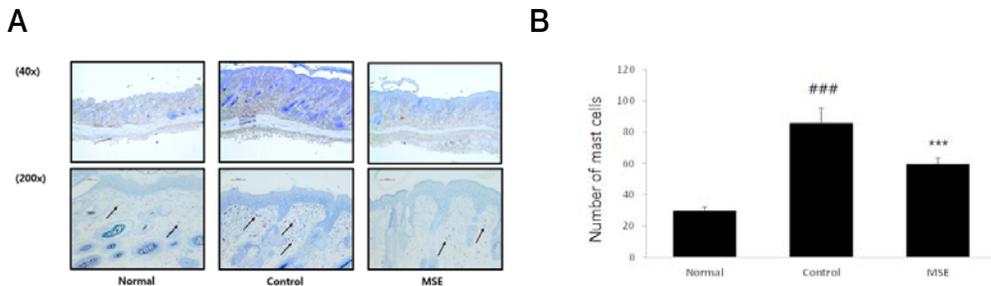


Fig. 5. Effect of MSE on Mast Cell Infiltration in Dfb-induced NC/Nga Mice.

(A) The sections were stained with toluidine blue to identifying mast cells. (B) Mast cells were counted with a microscope at a magnification of 200×. Data were presented as mean±standard deviation(SD; n=5). Data were analyzed using one-way analysis of variance followed by Dunnett's post hoc test. ###p < 0.001 versus normal group; ***p < 0.001 versus control group.

후 비만세포의 수를 확인하여 수치화하였다(Table 6). MSE군에서 Control군과 비교하여 비만세포의 수가 유의성 있게 감소함을 확인하였다(Fig. 5B).

6. TNF- α 생성에 미치는 영향

EIA를 이용하여 TNF- α 의 생성량을 측정하였다(Table 7). Control군의 TNF- α 의 생성량은 Normal군과 비교하여 1.8배의 유의성 있는 증가율을 보였다. MSE군에서는 Control군과 비교하여 TNF-

α 의 생성량이 감소하였으나 통계적으로 유의하지 않았다(Fig. 6).

7. IL-6 생성에 미치는 영향

EIA를 이용하여 IL-6의 생성량을 측정하였다(Table 8). Control군의 IL-6의 생성량은 Normal군과 비교하여 4.7배로 유의성 있게 증가하였다. MSE군의 IL-6의 생성량은 Control군과 비교하여 유의성 있게 감소하여 Normal군 수준으로 회복되었다(Fig. 7).

Table 7. Production of TNF- α

	Normal(n=5)	Control(n=5)	MSE(n=5)
TNF- α Production(pg/ml)	6,6 \pm 1,7	11,9 \pm 0,9	11,3 \pm 4,0

(Normal: Normal control; Control: Dfb treated; MSE: MSE treated with Dfb)

Table 8. Production of IL-6

	Normal(n=5)	Control(n=5)	MSE(n=5)
IL-6 Production(pg/ml)	2,5 \pm 1,2	11,8 \pm 5,0	1,5 \pm 0,5

(Normal: Normal control; Control: Dfb treated; MSE: MSE treated with Dfb)

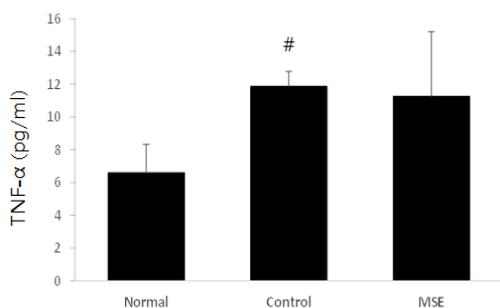


Fig. 6. Effect of MSE on Production of TNF- α in Dfb-induced NC/Nga Mice.

The production of plasma cytokine was measured by EIA. Data were analyzed using one-way analysis of variance followed by Dunnett's post hoc test. #p < 0,05 versus normal group.

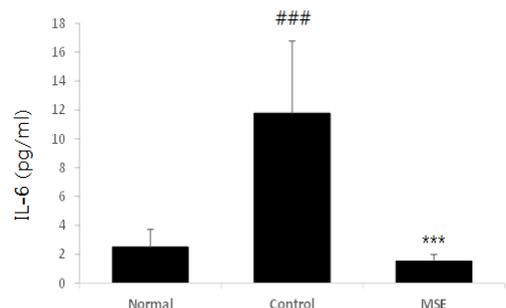


Fig. 7. Effect of MSE on Production of IL-6 in Dfb-induced NC/Nga Mice.

The production of cytokine was measured by EIA. Data were analyzed using one-way analysis of variance followed by Dunnett's post hoc test. ###p < 0,001 versus normal group; ***p < 0,001 versus control group.

고 찰

丁若銓의 『茲山魚譜』에서는 매생이를 매산태(莓山苔)로 소개하고 있다. 『茲山魚譜』는 19세기 조선의 丁若銓이 흑산도 연해의 해양 생물에 대하여 자세하게 관찰하여 저술한 책이다. 丁若銓은 매생이에 대하여 “누에실보다 가늘고, 쇠털보다 뽀뽀하다. 길이는 몇 자에 이른다. 빛깔은 검푸르다. 국을 끓이면 연하고 미끄러우며 서로 엉키면 풀어지지 않는다. 맛은 매우 달고 향기롭다.”라고 표현하였다⁹⁾. 한의학 서적에서 매생이에 관하여 언급된 바는 없다. 『東醫寶鑑』에서는 매생이와 같은 해조류에 속하며 형태가 유사한 갈복에 대하여 “차고 짠 성질을 가지며, 치질, 꺾관으로 토하고 설사하는 것과 속이 답답한 것을 치료한다.”라고 언급하였다. 이에 매생이 또한 차고 짠 성질을 가지며 갈복과 비슷한 질환에 활용해볼 수 있을 것이라 유추해보았다. 해조류에 속하는 다른 한약재들에 대한 언급을 살펴보면 피부 질환에 활용했다는 내용은 찾아볼 수 없었다¹⁰⁾. 그러나 최근 갈복 추출물이 아토피 피부염의 중요한 조절인자인 흉선기질상 림포포이에틴(Thymic stromal lymphopoietin, TSLP)을 효과적으로 억제함으로써 항아토피 효과를 지닌다는 연구 결과가 발표되었다¹¹⁾. 매생이는 갈복과 형태가 유사하며 이전 연구⁸⁾에서 항산화 효과가 확인된 바 있기 때문에 염증성 피부질환에 효과가 있을 가능성이 있다고 생각하였다. 이 외 해조류 중에서 항알레르기 효과가 있는 물질로 갈복(*Ecklonia cava*), 곱피(*Ecklonia stolonifera*)의 phloroglucinol 유도체인 dio-cinodehydroeckol(DHE), fucodiphloroethol G(FPE-G), phlorofucofuroeckol A(PFF-A)가 보고된 바 있으며^{12,13)}, 외톨개모자반의 항염증 효과¹⁴⁾, 팽생이 모자반¹⁵⁾의 항아토피 효과에 대한 연구가 있었다.

접촉성 피부염(Contact Dermatitis, CD)은 외부 물질과의 접촉에 의하여 발생하는 피부염으로 습진성 피부질환의 범주에 속한다. 외부 물질이 접촉된 신체

부위에 국한되어 가려움증을 동반한 홍반, 구진, 부종 등의 피부 증상이 발생하는 특징이 있다. CD는 면역기전의 관여 유무에 따라 면역기전이 관여하는 알레르기성과 관여하지 않는 자극성으로 분류된다. 이 중 알레르기성 접촉성 피부염은 제 IV형 지연형 과민반응으로 설명할 수 있다. 개체가 알레르기 항원에 노출되어 항원에 감작(sensitization)된 이후 그 항원에 재차 접촉 시 저농도의 자극에도 소양감, 홍반, 구진 등의 염증반응이 유발되는 것이 특징이다¹⁾. CD는 피부과 질환의 4-7%를 차지하고 있으며⁶⁾, 실제로 성인에서 접촉 알레르기의 유병률은 20%에 달한다¹⁷⁾.

CD는 한의학에서 ‘漆瘡’, ‘馬桶癬’, ‘膏藥風’ 등의 범주에 속한다. 주로 膜理가 不密한 신체상태, 또는 체질적인 素因이 있는 상태에서 風, 濕, 熱, 虫이나 유독한 물질과의 접촉으로 인해 발생한다. 긁으면 증상이 더욱 심해지는 특징이 있는 風熱壅盛型의 경우 肌肉에 극렬한 소양감이 있고 피부가 焮紅腫痛하며 구진, 부종의 증상이 나타난다. 수포가 潰破되면 黃色の脂水가 계속 흐르면서 미란되어 淺表의 胬肉을 형성하는 특징이 있는 火熱挾濕型의 경우 접촉한 부위에 돌연히 焮紅한 赤腫이 발생하고 작열감 및 소양감이 생기며 계속해서 구진, 수포가 나타나며 심해지면 수포가 모여 대수포, 농포가 된다. 風熱壅盛型은 疏風清熱, 解毒涼血하여 치료하며, 火熱挾濕型은 清熱解毒, 化濕消腫하여 치료한다¹⁸⁾.

CD의 치료에 있어 보조적 약물로 많이 쓰이는 국소용 스테로이드 제제는 피부를 위축시키고 피부조직을 약화시켜 피부의 과민반응이 증가하게 한다. 따라서 이를 장기 투여할 시에는 약물에 대한 반응성이 낮아져 고농도 또는 고효능의 코르티코스테로이드 제제를 투여해야하는 부작용이 있다. 또한 많은 경우에서 약물 투여를 중단할 경우 증상이 더욱 심하게 나타나는 단점이 있다¹⁹⁾. 항히스타민제는 소양감을 즉각적으로 억제시키는 효능이 있으나, 근본적인 치료가 불가능하여 장기 투여를 하여도 질병에 대한 증상이 개선이 되지 않는 단점이 있다^{20,21)}. 따라서 보다

효과적이고 안전한 치료를 위하여 천연물에 대한 연구가 필요하다 사료된다.

본 실험에서는 MSE의 CD에 대한 효능을 확인하고자 Dfb를 함유하는 연고를 이용하여 CD를 유도하였다. 집먼지 진드기는 알레르기 질환을 유발하는 대표적인 항원으로, 이들로부터 분비되는 *Dermatophagoides farinae* 1(Derf1)과 *Dermatophagoides pteronyssinus* peptidase 1(Derp1) 등이 염증 반응을 일으킨다고 알려져 있다^{22,23}. 피부장벽 손상을 유발하기 위하여 4% SDS를 Dfb와 함께 주 2회, 4주에 걸쳐 마우스의 등 피부에 도포하여 CD를 유도하였다. 매 주 임상적 육안 평가법을 통하여 피부 증상을 수치화하여 분석한 결과(Fig. 1), MSE군의 경우에는 시간이 경과할수록 피부손상 정도가 감소되었다.

또한 면역 질환에서 염증 정도를 판단하는 주요 지표가 되는 비장과 림프절의 비대에 대하여 그 크기와 무게의 측정을 통해 억제효과를 확인하였다(Fig. 2, 3). 림프기관인 비장은 외부에서 침입한 균이나 단백질 등을 제거하는 활동을 한다²⁴. 따라서 감염이 일어난 경우에 비장의 비대 증상이 나타날 수 있으므로 면역 질환에서 비장의 무게는 장기에 일어난 염증을 판단하는 주요 지표가 된다. 림프절은 전신에 퍼져있는 림프관의 중앙에 위치하는 결절모양의 주머니로서 면역 작용을 하는 림프구를 만든다. 림프가 림프절을 통하여 흘러나가는 과정에서 림프절 안의 림프구가 이물질과 반응하여 이를 제거하고, 대식세포는 세균이나 바이러스, 다른 이물질들을 파괴하는 역할을 한다. 따라서 외부에서 침입한 이물질들을 걸러낼 때 림프절이 부어오르게 되고²⁴ 림프절의 비대는 염증을 판단하는 주요 지표 중 하나가 된다. 실험 결과 MSE군의 경우 Control군과 비교하여 비장과 림프절의 비대를 억제하였으며 특히 림프절의 비대는 유의성 있게 억제되었다.

CD의 증상에는 표피 과다 형성과 림프구, 비만세포 등의 염증성 세포의 침윤이 포함된다. 이를 조직 병리학적으로 관찰하기 위하여 실험 종료 후 모든 실험

군의 개체에서 등의 피부를 박리한 후 H&E 염색과 toluidine blue염색을 하였다. H&E 염색법을 이용하여 피부조직을 분석한 결과(Fig. 4) MSE군에서는 피부 조직의 두께가 유의성 있게 감소하였고 표피의 각질화와 부종 등을 감소시켜 CD 질환 개선에 도움을 줄 수 있을 것으로 사료되었다. 또한 toluidine blue 염색을 통하여 염증 매개 물질이 들어있는 과립을 가진 비만세포의 존재를 확인한 결과(Fig. 5) MSE군에서는 표피 손상 부위에서 비만세포의 증식이 유의성 있게 감소하였다. 비만세포는 주로 결합조직과 점막에 존재하면서 알레르기 염증반응에 관여한다. 세포질 내에 과립을 풍부하게 가지고 있는 세포로서 toluidine blue에 의하여 염색되어 현미경으로 관찰 가능하다. 이 세포는 특히 immunoglobulin E(IgE)-Fc epsilon receptor 1(Fcε · RI) 반응에 의해 과립내의 화학매개체 및 IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-13, IL-16, TNF-α 등의 cytokine을 생산, 분비하면서 알레르기 염증의 초기 반응과 후기 반응을 일으키고 만성적으로 염증을 지속시키는 데 중요한 역할을 한다²⁵.

면역을 조절하는 cytokine인 TNF · α와 IL · 6의 생성량은 EIA를 통하여 확인하였다(Fig. 6, 7). MSE를 도포한 경우에 TNF · α와 IL · 6의 생성량이 감소하였으며, 특히 IL · 6의 생성량은 유의성 있게 감소하였다. TNF-α는 비만세포에서 생성되어 분비되며 호산구 및 T 림프구의 표적기관으로의 유입을 촉진시킨다²¹. IL-6 또한 비만세포에서 생산되어 TH2 helper T cell(Th2)의 반응을 증가시키고, 결국 IgE의 생산을 증가시킴으로써 만성 알레르기 반응에 기여한다²⁶. IL · 6는 다면 발현성의 cytokine으로서 면역조절, 염증, 조혈 등의 반응에서 중심적인 역할을 수행한다^{27,28}. Urashima 등²⁹의 연구에 따르면 IL · 6는 B세포의 주요 성장 인자로 작용하여 항체 생성에 중요한 역할을 한다. 이는 MSE가 IL · 6의 감소를 통해 B세포의 성장을 억제함으로써 CD의 염증반응을 억제할 수 있다는 것을 의미한다.

앞서 살펴본 바와 같이 MSE는 비만세포 증식 및 비만세포에서 생성, 분비되는 cytokine의 생성을 억제함으로써 염증 반응을 억제하였다. 더 나아가 Th2의 반응 억제 및 IgE의 생산 증가를 억제시킴으로써 만성 알레르기 반응을 억제하였다고 볼 수 있다. 연구^{29,30)}에 따르면 아토피 피부염에서 면역반응은 TNF- α 등의 cytokine이 다량 생산되는 Th2 반응이 우세하였으며 TH1 helper T cell(Th1)을 활성화시켰을 때 아토피 피부염이 개선되었다. 또한 80-90%의 환자에서 혈청 IgE가 증가되어 있다고 보고된 바 있다. 따라서 MSE를 CD뿐만 아니라 아토피 피부염의 치료에도 활용할 수 있을 것으로 사료된다.

본 연구의 의의는 CD에 의한 피부 증상, 상피 조직 두께의 증가, 비만세포의 증식, 비장과 림프절의 비대 및 TNF- α 와 IL-6의 생성량 증가 등의 증상이 MSE에 의하여 억제됨을 확인한 것에 있다. 다만 매생이가 식용으로 쓰이는 재료이기는 하나, 세포 독성 연구가 이루어지지 않았다는 것이 본 연구의 아쉬운 점이다. 또한 MSE가 Th2 반응을 억제할 뿐만 아니라 Th1 반응을 활성화시키는지에 대한 연구가 이루어지지 않았다. 향후 연구에서는 MSE가 Th1 반응에서 분비되는 interferon- γ (IFN- γ) 등을 유의하게 증가시키는지 확인함으로써 MSE가 Th1 및 Th2 면역반응 조절에 미치는 영향을 알아볼 필요가 있다.

본 연구에서는 국내에서 자생하는 생물인 매생이의 CD에 대한 효과를 확인하였다. 나고야의정서에 의거하여 자원의 혜택을 받아 생산된 제품으로 발생한 기업 이익의 일부를 자원 원산국에 지불해야하므로, 생물유전자원 개발에 있어 국내 토종 원료 개발의 필요성이 대두되고 있다. 이러한 상황에서 향후 지속적인 연구를 통해 CD, 아토피 피부염 등의 다양한 염증성 피부질환과 관련한 신약 개발뿐만 아니라 화장품 등의 외용제 개발, 건강기능식품 개발 등에 있어서도 국내 토종 원료인 매생이를 활용해볼 수 있을 것으로 기대된다. 한방 치료에 있어서는 본 연구 결과를 바탕으로 접촉성 피부염을 비롯한 기타 염증성 피부질환

에 매생이를 외용 도포하는 방식으로 치료에 활용해볼 수 있을 것이다. 추후 연구를 통해 매생이만을 도포하는 방법 이외에 기존의 한약재와 함께 처방을 구성하여 활용하는 방안 또는 외용 도포 외에 내복하거나 약침 치료에 활용하는 방안도 모색해보면 좋을 것이라 사료된다.

결론

본 연구는 매생이 에탄올 추출물이 접촉성 피부염(Contact Dermatitis, CD)에 미치는 효과를 확인하기 위하여 집먼지 진드기가 10mg/ml 함유된 연고 100mg을 4주간 주 2회, 4% sodium dodecyl sulfate(SDS) 150 μ l와 함께 NC/Nga 마우스의 등 피부에 도포하여 CD를 유발한 뒤 매생이 추출물을 200mg/ml의 농도로 4주간 매일 도포하였다.

그 결과 매생이 추출물은 CD의 피부 증상인 홍반 및 출혈, 상처와 피부건조, 부종, 찰상 및 깃무름의 증상을 감소시켰으며, 비장의 비대 및 TNF- α 의 생성을 억제하였다. 또한 림프절의 증식, 상피 조직의 두께 증가, 비만세포의 증식, IL-6의 생성을 유의성 있게 억제하였다.

결론적으로 매생이 추출물은 CD 유도 마우스에서 CD에 의한 피부 증상, 조직학적 변화 및 CD에 관여하는 cytokine의 생성에 대해 억제 효과가 있었다.

References

1. Dept. of Dermatology, Seoul national university college of medicine. Dermatology for medical student, 3rd ed. Seoul:Korea medical Book P. 2011:31-44.
2. Yu HJ. Inhibitory effect on the melanogenesis of ethanol extract of *Capsosiphon fulvescens*. PhD Dissertation, Wonkwang University.

- 2004.
3. Yang HC, Jung KM, Gang KS, Song BJ, Lim HC, Na HS, et al. Physicochemical Composition of Seaweed *Fulvescens* (*Capsosiphon fulvescens*). Kor J Food Sci Technol. 2005;37(6):912-7.
 4. Jung KJ, Jung CH, Pyeon JH, Choi YJ. Changes of Food Components in Mesangi(*Capsosiphon fulvecense*), Gashiparae (*Enteromorpha prolifera*), and Cheonggak (*Codium fragile*) Depending on Harvest Times. J Korean Soc Food Sci Nutr. 2005;34(5):687 - 93.
 5. Park HY, Lim CW, Kim YK, Yeon HD, Lee KJ. Immunostimulating and anticancer activities of hot water extract from *Capsosiphon fulvescens*. J Korean Soc Applied Biological Chemistry. 2006;49(4): 343 - 8.
 6. Mun YJ, Yoo HJ, Lee KE, Kim JH, Pyo HB, Woo WH. Inhibitory Effect on the Melanogenesis of *Capsosiphon fulvescens*. Yakhak Hoeji. 2005;49(5):375 - 9.
 7. Park MH, Kim M. Effect of *Capsosiphon fulvescens* extract on collagen content of connective tissues in ovariectomized rats. J Life Sci. 2006;16:1219 - 24.
 8. Jeong KS, Lee NG. A Study on Physiological Activity and Antioxidative Activity of Measangi(*Capsosiphon fulvescens*) Extract. J Environmental Sci. 2010;19(4):407 - 14.
 9. Jeong YJ, Lee C. Jasan Eobo. 1st ed. Paju:West coast P. 2016:167 - 90.
 10. Heo J. Donguibogam, 1st ed. Seoul: Bubnbooks, 2007:1947 - 8.
 11. Yang GS, Oh JW, Lee HE, Lee BH, Lim KM, Lee JY. Topical Application of Dieckol Ameliorates Atopic Dermatitis in NC/Nga Mice by Suppressing Thymic Stromal Lymphopoietin Production. J Investigative Dermatol. 2016;136(5):1062 - 6.
 12. Li Y, Lee SH, Le QT, Kim MM, Kim SK. Anti-allergy effects of phlorotannins on histamine release via binding inhibition between IgE and Fc ϵ RI. J Agric Food Chem. 2008;56:12073 - 80.
 13. Shim SY, Choi JS, Byun DS. Inhibitory effects of phloroglucinol derivarives isolated from *Ecklonia stolonifera* on Fc ϵ RI expression. Bioorg Med Chem. 2009;17(13):4734 - 9.
 14. Eun JY. Anti-inflammatory effect of ethanolic extract from *Myagropsis myagroides* on murine macrophages and mouse ear edema. MD Dissertation, Pukyong National University, 2013.
 15. Lee CJ. Inhibitory Effects of *Sargassum horneri* Extracts on Atopic Disease. MD Dissertation, Pukyong National University, 2010.
 16. Turner S, Carder M, Van MT, McNamee R, Lines S, Hussey L, et al. The Incidence of Occupational Skin Disease as Reported to The Health and Occupation Reporting(THOR) Network between 2002 and 2005. Br J Dermatol. 2007;157(4):713-22.
 17. Thyssen JP, Linneberg A, Menne T, Johansen JD. The Epidemiology of Contact Allergy in the General Population: Prevalence and Main Findings. Contact Dermatitis. 2007;57(5): 287-99.
 18. Kim YB. Text of Traditional Korean Dermatology & Surgery. 1st ed. Busan:Sun

- Woo. 2007;352 - 3.
19. Yang HJ, Kim MJ, Kang S, Moon NR, Kim DS, Lee NR, et al. Topical treatments of *Saussurea costus* root and *Thuja orientalis* L. synergistically alleviate atopic dermatitis-like skin lesions by inhibiting protease-activated receptor-2 and NF- κ B signaling in HaCaT cells and Nc/Nga mice. *J Ethnopharmacol*. 2017;199:97 - 105.
 20. Drake LA, Fallon JD, Sober A. Relief of pruritus in patients with atopic dermatitis after treatment with topical doxepin cream. *J Amer Acad Dermatol*. 1994;31(4):613 - 6.
 21. Bonnel RA, La Grenade L, Karwoski CB, Beitz JG. Allergic contact dermatitis from topical doxepin: Food and Drug Administration's postmarketing surveillance experience. *J Amer Acad Dermatol*. 2003; 48(2):294 - 6.
 22. Tupker RA, De Monchy JGR, Coenraads PJ, Homan A, Van Der Meer JB. Induction of atopic dermatitis by inhalation of house dust mite. *J Allergy Clin Immunol*. 1996;97: 1064 - 70.
 23. Nambu M, Shintaku N, Ohta S. Relationship between cord blood level of IgE specific for *Dermatophagoides pteronyssinus* and allergic manifestations in infancy. *Biol Neonate*. 2003;83:102 - 6.
 24. Kutok JL, Pinkus GS, Dorfman DM, Fletcher CDM. Inflammatory pseudotumor of lymph node and spleen: an entity biologically distinct from inflammatory myofibroblastic tumor. *Hum Pathol*. 2001;32(12):1382 - 7.
 25. Ahn KM. Role of Mast Cells in Allergic Inflammation and Innate Immunity. *Kor J Pediatrics*. 2004;47(11):1137 - 41.
 26. Toru H, Pawankar R, Ra C, Yata J, Nakahata T. Human mast cells produce IL-13 by high-affinity IgE receptor cross-linking: enhanced IL-13 production by IL-4-primed human mast cells. *J Allergy Clin Immunol* 1998;102:491-502.
 27. Akira S, Taga T, Kishimoto T. Interleukin-6 in biology and medicine. *Adv Immunol*. 1993;54:1 - 78.
 28. Kishimoto T. The biology of interleukin-6. *Blood*. 1980;74:1 - 10.
 29. Urashima M, Chauhan D, Hatziyanni M, Ogata A, Hollenbaugh D, Aruffo A, et al. CD40 ligand triggers interleukin-6 mediated B cell differentiation. *Leuk Res*. 1996;20:507 - 15.
 30. Vestergaard C, Yoneyama H, Murai M, Nakamura K, Tamaki K, Terashima Y, et al. Overproduction of Th2-specific chemokines in NC/Nga mice exhibiting atopic dermatitis-like lesions. *J Clin Invest*. 1999;104:1097 - 105.