

부채마 에탄올 추출물의 아토피 피부염 억제 효과

도영복¹, 송영순^{2*}

¹대전대학교 보건의료대학원 교수, ²동방문화대학원대학교 약용작물학 박사과정

Suppressing Effects of Ethanol Extract from Dioscoreae Rhizoma on atope Dermatitis

Young-Bog Do¹, Young-Soon Song^{2*}

¹Professor, Graduate School of Public Health, Daejeon University

²Doctoral Course, Graduate School of Oriental Culture Graduate School of Medicinal Crop Science

요 약 본 연구는 부채마 70% 에탄올 추출물(DR)이 RBL-2H3 마스트 세포에서 항원에 의한 세포활성의 영향과 BALB/c 쥐에서 dinitrofluorobenzene에 의해 유도된 마스트 세포-매개 알레르기 접촉성피부염에 미치는 영향을 조사했다. DNP-HSA 항원과 Anti-DNP IgE 항체에 의해 활성화된 RBL-2H3 세포에서 에탄올 추출물은 급성 항원반응 표지인 β -hexosaminidase 분비와 히스타민 등을 억제하였고, 후기 항원반응 표지인 IL-4와 TNF- α 생성을 억압하였다. DNFB-유도 접촉성 알러지성 피부염 동물 모델에서 에탄올 추출물 처리는 귀 부기를 감소시키고 혈청 히스타민과 IL-4 분비를 억제시켰으며, DR 처리는 피부염 유발 부분에서 마스트 세포 유입을 효과적으로 방지하였다. 이러한 결과로, 에탄올 추출물은 아토피 피부염과 같은 마스트 세포-매개 알러지성 질병의 치료제로 사용할 수 있을 것이다.

주제어 : 부채마, 마스트 세포, β -hexosaminidase, IL-4, TNF- α , 아토피피부염.

Abstract This study was conducted to investigate the effect of 70% ethanol extract (DR) on the mast cell-mediated allergic contact dermatitis induced by dinitrofluorobenzene in BALB / c mice, which affects the cell activity by antigen in RBL-2H3 mast cells. Respectively. The ethanol extracts of RBL-2H3 cells activated by DNP-HSA and anti-DNP IgE antibodies inhibited the secretion of β -hexosaminidase, histamine, and IL-4 and TNF- α . Production was suppressed. In the DNFB-induced contact allergic dermatitis animal model, treatment with ethanol extract reduced ear swelling and inhibited serum histamine and IL-4 secretion, and DR treatment effectively prevented mast cell infiltration in dermatitis-induced areas. As a result, the ethanol extract may be used as a therapeutic agent for mast cell-mediated allergic diseases such as atopic dermatitis.

Key Words : tubercle, mast cells, β -hexosaminidase, IL-4, TNF- α , atopic dermatitis.

1. 서론

부채마(Dioscoreae Rhizoma)는 마과의 덩굴 식물 및 여러해살이풀로서 국화 마, 단풍마의 根莖을 약재로 사용하며, 性味는 苦, 溫, 甘이고, 歸經은 肺, 肝, 腎과 학질, 활혈통락, 거풍제습, 진해, 천식억제, 지해거담 등의 효능

이 있다[1].

스테롤형 사포닌과 dioscin(C₄₅H₇₂O₅)등 중요한 성분을 함유하고 있는 부채마는, 총 saponin의 가수분해로 diosgenin (C₂₇H₄₂O₃) 생성 및 1.5~2.6%의 함량을 지니며, 뿌리와 줄기에서는 deoxystigogenin이 소량 분리된다[1].

*Corresponding Author : Young-Soon Song(sys4945@hanmail.net)

Received May 26, 2019

Accepted August 20, 2019

Revised June 28, 2019

Published August 28, 2019

약리작용으로는 心筋肉의 혈류량 증가 및 항산화와 혈압, 콜레스테롤 등을 강하시키며, 피부 발진과 염증에도 사용한다. 또한 귀의 체액 및 세포면역을 억압시키며 대식세포의 탐식능력 등을 증강시킨다[2].

인간의 면역계는 특정 항원에 의해 비정상적으로 반응하여 상해를 유발시키는 질환을 아토피(atopy)라 말하며, 여기에는 알레르기성 비염과 천식, 아토피 피부염 등이 있다[3,5]. 아토피 증상으로는 아토피 피부염이 첫 번째 증상으로 나타나며, 뒤를 이어 천식과 알레르기성 비염 순으로 나타날 수 있다[5-8].

특히, 아토피 피부염은 만성적인 재발성 염증 피부질환이며, 임상적으로는 심한 소양증과 피부 건조 증 그리고 병리조직학적인 면역세포에 따른 침윤 등, 특징이 나타난다[3,5]. 진단과 치료는 임상적 중심으로 이루어지나 최근에는 병태생리 및 면역학적 기전 등이 활용되며 [15-19], 이러한 면역학적 기전을 기초로, 면역억제제와 항염증제 등 아토피피부염 치료제로 사용되고 있다[20]. 그러나 장기간 사용 시 피부위축이나 성장지연의 부작용 문제로 새로운 아토피피부염의 치료제 및 부작용이 적은 천연물 개발에 관심이 많은 추세로 가고 있다. 이에 연구는 항염증 효능을 갖는 부채마가 아토피피부염에 효과가 있을 것으로 보고, 부채마 70% 에탄올 추출물의 마스트 세포 활성화에 따른 효과를 관찰하고, 실험동물 BALB/c 생쥐의 DNFB를 귀에 감작시킨 후 아토피피부염을 유발시켜, 부채마 추출물 효능을 조사 및 유의성 있는 결과를 얻었기에 이를 보고한다.

2. 방법

2.1 재료

부채마의 根莖(뿌리 와 줄기)은 충남 금산 약령시장에서 구입 후, 전통의학연구소가 있는 원광대학교에서 형태학적 평가를 위하여 동정하였으며, 표본시료 (BD-2016-03-35)는 대사성질환연구소가 있는 원광대학교에 보관했다. 실험에 사용된 anti-dinitrophenyl, dexamethasone, Dulbecco's modification Eagle medium (DMEM), DNP-HSA (human serum albumin), trypsin-EDTA, tetrazolium bromide salt (MTT), penicillin, gE (anti-DNP IgE), hematoxylin/ eosin (H&E), toluidine blue, dimethylsulfoxide (DMSO), Dulbecco's modification Eagle medium (DMEM), streptomycin 및 DNFB는 Sigma-Aldrich BRL (USA)로부터 구입한 후 사용했다.

모든 시약은 Sigma-Aldrich사와 분석등급의 Merk사에서 구입했다.

2.2 추출 및 제조

건조한 부채마 뿌리를 분쇄하여 분말 30g의 에탄올 70g 과 혼합한 후, 2시간 동안 80°C의 단회 환류냉각으로 추출했다. 질적여과지(qualitative filter paper, ADVANTEC, Japan)로 여과한 추출물을 감압농축기(N-100 rotary evaporator, EYELA, Japan)로 농축했으며, 초저온 동결기로 건조 (PVTFD-10R, Ilshin Lab Co. Ltd., Korea)시킨 부채마 70% 에탄올 추출물 4.5g (15%)을 수득했다. 동물실험에 사용된 세포실험의 각 시료는 자주 빛 포르마잔 생성물질로 변화하는 MTT 환원을 기반으로 측정했다.

2.3 세포배양

실험관외(in vitro) mast cell model로 사용한 RBL-2H3 세포는 한국 세포 주 은행에서 분양 및 10% 열처리하여, FBS와 1% 페니실린과 스트렙토마이신을 DMEM 배지에서 분양받아, 세포는 37°C, 5% CO₂ 조건에서 과밀도 상태를 해결하기 위하여, 0.05% trypsin-EDTA solution을 처리한 후 세포를 부유시킨 다음 계대 배양했다.

2.4 세포독성 측정

밀집 세포의 미토콘드리아 탈수소화 효소에 의한 RBL-2H3 세포의 독성은 자주 빛 포르마잔 생성물질로 변화하는 MTT 분석법을 이용한 후 측정했다.

농도에 대한 시료를 처리하고, 5mg/mL MTT 용액을 100μL을 첨가하여 24시간 동안 배양한 다음 다시 30분을 추가 하고, 포르마잔 생성물 DMSO를 통한 용해액은 96-well plate의 일정량을 첨가하고 흡수되는 흡광도 값은 540nm 파장에서 측정 했다.

2.5 실험동물

실험에 사용한 5주령 100 마리 수컷 BALB/c 생쥐를 샴타 코에서 구입했으며, 1주일간 순화기간을 거쳐 12시간 간격으로 명암조절 및 습도와 온도 23 ± 2°C와 50~60%를 유지했으며, 평균 무게는 20.22 ± 1.54g이다.

원광대학교 동물실험윤리위원회의 승인을 받아 동물 실험 가이드(Guided for Animal Experimentation)를 준수하고 시행했다. WKU16-75).

2.6 접촉성 피부염 유도

4개 군으로 실험동물을 분류했으며, 오른 쪽 귀에 DNFB 도포 하지 않은 정상 군, DNFB/DW 실험 군, DNFB/Dex양성대조 군과 DR를 도포한 실험 군 등으로 분류하고, 실험 군 산정을 3R의 원칙에 준하여 최소수를 사용했다.

BALB/c 생쥐를 7일간 순화하여 등 부분을 제모하고 3일간 적응시켜, DNFB는 acetone과 olive oil을 4:1 비율로 혼합용액에 1.5% 농도를 용해한 후 4일째는 날 등 부분에 0.5% DNFB를 20 μ L씩 1일 1회(4일간) 피부에 도포하고 감작을 유도했다. DR 및 Dex를 3일 동안 귀에 도포하고, DNFB를 귀에 20 μ L 도포하고 자극하여 접촉성 피부염을 유발시켰다.

2.7 Ear swelling 측정

DNFB를 도포 하고, 피부조직의 상태 측정을 위해 귀의 양쪽 귀 두께를 측정했다. 두께는 vernier calipers를 이용한 귀 두께는 1, 3, 12, 24, 48시간 간격으로 양쪽 귀 두께 상태를 측정했다.

2.8 혈청측정

Ear swelling 측정을 반영하기 위해 DNFB를 자극했다. 귀 두께가 최고치를 도달할 때 부검을 실시하고 대동맥에서 혈액 채취하여 1시간 동안 상온에서 응고시켜, 원심분리기에서 3,000 rpm으로 15분 동안 원심분리 후 얻어진 혈청을 냉동 보관했다.

2.9 혈청 총 IgE 측정

IgE ELISA kit로 실험동물 귀에서 채취하여 냉동 보관한 혈청으로 IgE 농도를 측정하고, IgE 용액과 혈청 50 μ L씩 첨가하여 2시간 반응시켜, anti-IgE 항체용액 50 μ L씩 2시간 반응시켰다. HRP-avidin용액 50 μ L씩 다시 각각 첨가 후 1시간 반응시키고, 발색 시약 50 μ L 첨가하여 20분 간 반응시킨 다음, 반응을 멈추기 위해 종결 용액 50 μ L씩 첨가하여 microplate reader을 이용해 450 nm 파장에서 흡광도를 측정하고, IgE 농도를 결정했다.

2.10 β -Hexosaminidase 분비 측정

알레르기 즉시반응 지표인 세포외 방출에 대하여 억압 효과를 살펴보기 위해 β -Hexosaminidase 분비를 측정

했다. RBL-2H3 세포 10%에 FBS를 DMEM에 현탁시켜, 48 well plate 5×10^5 cells/mL 세포수가 되도록 분주한 다음, anti-DNP IgE를 감작하여, 37°C 5% CO₂ 배양기에서 24시간 동안 배양했다.

상청 액 20 μ L을 96 well plate 옮겨 sodium citrate 0.05 M, [4-p-nitrophenyl-N-ace plate tyl- β D-glucosaminide 1 mM, pH 4.5] 80 μ L의 완충용액을 넣은 후 37°C로 30분간 배양시킨 다음, 완충용액 200 μ L을 첨가하여, 반응을 종결시키고 450 nm 파장의 흡광도 Microplate reader를 측정하고, β -hexosaminidase의 분비량을 결정했다.

2.11 히스타민 분비 측정

즉시반응 알레르기 지표인 세포외배출작용의 억제 효과 분석을 위하여 히스타민 ELISA kit(Abnova, USA)을 사용하고 공급자에 대한 실험 프로토콜 따라 측정했다.

2.12 사이토카인 분비 측정

RBL-2H3 세포 48 well plate 5×10^5 cell/mL 농도를 분주한 다음, anti-DNP IgE(30 ng/mL)로 감작하여, 37°C 5% CO₂ 배양기로 24시간 동안 배양하였으며, 농도에 따라 DNP-BSA(100 ng/mL)를 첨가한 후 24시간 배양시켰다.

실험은 프로토콜에 의해 진행하였고, microplate reader를 이용하여 흡광도를 측정한 후 IL-4와 TNF- α 의 농도를 계산했다.

2.13 병리학적 검사

귀 두께가 최고치에 도달한 시간에 부검을 실시하기 위해 ear swelling 측정결과를 반영했고 귀를 적출하여 포르말린 10%를 7일간 고정시킨 다음, 파라핀 블록을 만들고 4 μ m 두께 조직을 절편하고 TB 염색과 H&E 염색 실시 후, 병변 유무와 마스트세포를 광학현미경으로 확인했다.

2.14 통계

실험결과는 평균 \pm 표준편차로 나타냈고, one-way ANOVA로 분석하였으며, 비교는 Prism software(Graphpad Software, USA)를 사용했으며, 사후 검정은 Bonferroni multiple range t-test를 이용한 후 통계적인 유의성은 $P < 0.05$ 로 정했다.

3. 연구 결과

3.1 추출물 처리가 RBL-2H3 세포생존에 미치는 영향

RBL-2H3 세포의 생존율이 DR처리에 영향을 미치는지 조사하였다(Fig.1 참고). RBL-2H3 세포 0, 10, 100, 200, 400 µg/mL까지 24시간 동안 DR를 처리하지 못한 대조군과 유의적인 차이를 볼 수 없었다. DR는 RBL-2H3 세포의 성장과 독성의 영향이 미치지 않는 것으로 확인 되었으며, RBL-2H3 세포의 RBL-2H3 세포의 모든 실험에서는 0, 10, 100, 200 µg/mL의 농도로 DR를 처리했다.

스테로이드 약물 농도의 Dex는 문헌을 참고하여 100 nM과 양성 대조군으로 이용하였다. 100 nM의 Dex는 RBL-2H3의 세포에 처리하였고 세포독성은 나타나지 않았다.

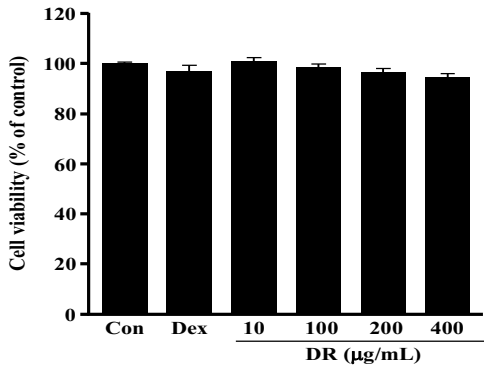


Fig. 1. Effects of DR on cell viability.

3.2 DR 처리가 RBL-2H3 세포에서 β-hexosaminidase 분비에 미치는 영향

RBL-2H3 세포에서 과립감소의 지표로 사용되는 β-hexosaminidase 분비를 측정하고 DR처리가 mast cell 활성화에 어떠한 영향을 미치는가에 조사하였다. Anti-DNP-IgE 항체가 감작된 RBL-2H3 세포로 인한 DNP-HSA 항원의 자극에 의하여 β-hexosaminidase 분비는 현저하게 증가했다

이와 같은 β-hexosaminidase 증가는 DR 처리에 의하여 농도가 감소했고, Dex에 의해서 양성 대조군 약물이 유사하게 감소했다(Fig. 2 참고).

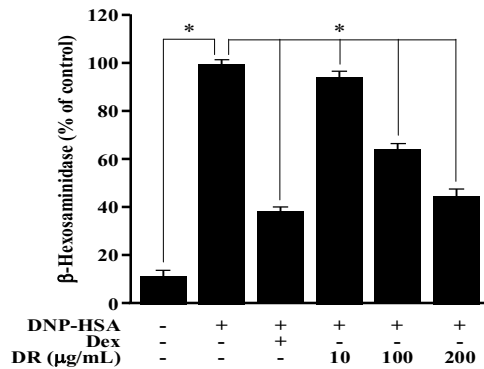


Fig. 2. Effects of DR on β-hexosaminidase release.

3.3 RBL-2H3 세포에서 DR 처리가 히스타민 분비에 미치는 영향

세포 RBL-2H3는 항체 및 항원의 반응에 의존하는 히스타민 분비에 대하여 추출물 효과 조사 후, Fig. 4에 보였다. Anti-DNP-IgE 항체에 감작한 RBL-2H3 세포는 DNP-HSA 항원의 반응에 의해 히스타민 분비가 현저히 증가했다. 이와 같은 히스타민 증가는 DR 처리에 의하여 농도는 의존적으로 감소하였으며, 양성 대조 약물 또한 Dex에 의하여 유의하게도 감소하였다(Fig. 3 참고).

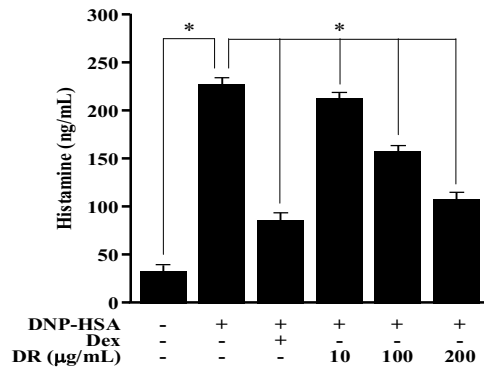


Fig. 3. Effects of DR on histamine release.

3.4 RBL-2H3 세포에서 추출물 처리가 IL-4 분비에 미치는 영향

세포 RBL-2H3는 항체 및 항원 반응에 의존하며 IL-4 분비에 대한 추출물처리 효과를 조사 후 Fig. 4에 보였다. Anti-DNP-IgE 항체에서 감작된 RBL-2H3 세포는 DNP-HSA 항원의 자극에 의하여 IL-4 분비가 현저하게 증가하였다. 이와 같은 IL-4 증가는 Dex 와 DR 처리에 의하여 유의하게도 감소했다(Fig. 4A 참고).

또한, RBL-2H3 세포는 DR 처리에서 IL-4 mRNA 생성에 대하여 효과를 조사하고, DR의 IL-4 생성과 억제에 대한 효과를 검증했다(Fig. 4.B 참고).

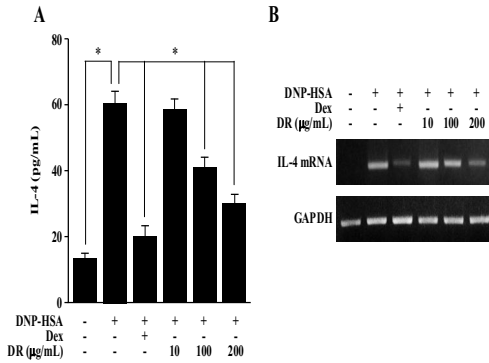


Fig. 4. Effects of DR on IL-4 release.

3.5 RBL-2H3 세포에서 추출물 처리가 TNF-α 분비에 미치는 영향

세포 RBL-2H3는 항체-항원의 자극에 의존하는 TNF-α 분비에 대하여 DR 처리 효과를 조사했다. Anti-DNP-IgE 항체에 의해 감각되어진 RBL-2H3 세포는 DNP-HSA 항원 반응에 비해 TNF-α 분비가 현저히 증가했다.

이러한 TNF-α 증가는 Dex 처리와 DR 처리에 유사한 감소를 보였다. 또한, RBL-2H3 세포의 추출물 처리가 TNF-α mRNA 생성에 의해 미치는 효과를 조사하고, DR의 TNF-α 생성과 억제에 따른 효과를 검증했다 (Fig. 5 참고).

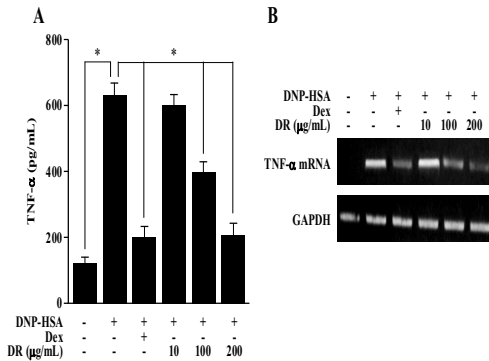


Fig. 5. Effects of DR on TNF-α release.

3.6 접촉성 피부염 실험동물에서 추출물 처리가 피부염 병변에 미치는 효과

Fig. 6에 DNFB 피부접촉에 의해 제작된 알레르기성 접촉성 피부염은 실험동물의 귀 병변을 보였다. 각 실험군 별로 DNFB의 시료를 처리하여 오른쪽 귀 부분을 관찰하고, 형태학적 변화를 확인했다.

DNFB를 처리한 대조군은 처리하지 않은 정상군 귀에 비하여 짓무름, 홍반, 피부건조, 혈종 등에 의해 변화를 확인했다. 이와 같은 증상들을 종합하여 점수로 비교해 본 결과, DNFB/DW 대조군에 비하여 DW 대조군에 비하여 실험군 DNFB/DR 군과 DNFB/Dex 실험군에서 육안점수는 유의적으로 감소했다(Fig. 6 참고).

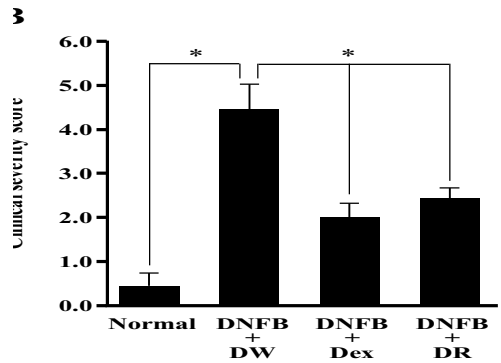


Fig. 6. Effects of DR on clinical symptom of ear swelling.

3.7 접촉성 피부염 실험동물에서 추출물 처리가 Ear swelling에 미치는 효과

Fig. 7은 DNFB에 의한 알레르기성 접촉성 피부염이 실험동물을 통하여 귀 부종을 나타낸 것이다. DNFB/DW 대조군은 DNFB 도포 전과 DNFB 도포 후 48시간 비교했을 때, 귀 두께는 현저하게 증가했으며, DNFB/DR 실험군을 DNFB/Dex 양성 대조군과 DNFB/DW 대조군을 비교했을 때 귀 두께가 유의하게도 감소했다. 이 같은 결과는 조직병리학적 소견과도 일치했다(Fig. 7B 참고).

다시 말해, 정상군은 이상 소견이 발견되지 않았고 DNFB/DW 대조군에서만 특이한 면역세포, 급성부종 및浸潤에 의하여 해면화(spongiosis)와 유사한 중등도 이상에서의 피부염 증상이 발견되었으며, DNFB/DR 실험군은 DNFB/Dex 양성 대조군과 DNFB/DW 대조군을 비교했을 때, 피부염 증상은 개선되어졌다 (Fig. 7B 참고).

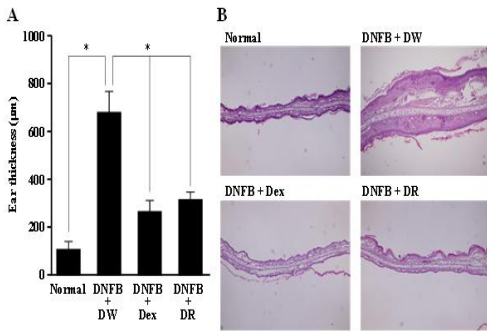


Fig. 7. Effects of DR on DNFB-induced ear swelling.

3.8 접촉성 피부염 실험동물에서 추출물 처리가 혈청 히스타민에 미치는 효과

DNFB를 이용한 접촉성 피부염 실험동물에서 볼 수 있는 침윤된 mast cell은 조기 allergy반응에서 세포외 배출 과정을 거쳐 많은 양의 히스타민을 분비할 수 있으며, 그로인한 혈액의 히스타민 농도는 비정상적으로 상승될 것이다. 이점을 고려해볼 때 犠牲日의 접촉성 피부염 실험은 혈액의 히스타민 농도를 조사했으며, DNFB/DW는 정상군보다 대조군의 혈청 히스타민 농도가 높게 나타났다.

이처럼, 혈청 히스타민은 DNFB/Dex 양성 대조군 DNFB/DR 실험 군에 의해 감소했다.

3.9 접촉성 피부염 실험동물에서 추출물 처리에 의한 혈청 IL-4에 미치는 효과

mast cell은 조기 allergy반응에서 세포외배출 과정을 통해 히스타민을 분비하고, 후기 allergy염증성 사이토카인 IL-4 등을 분비했다.

결론적으로 혈액 IL-4 농도는 비정상적으로 상승할 수 있을 것이다. 이 같은 점을 고려할 때, 犠牲日의 접촉성 피부염 실험에 채취한 혈액에서 IL-4 농도를 조사하여, 정상군보다 DNFB/DW 대조군은 혈청 IL-4 농도가 높게 나타났다.

이와 같은 IL-4 농도는 DNFB/DW 대조군과 비교해서 DNFB/Dex 양성 대조군 및 DNFB/DR 실험 군에 의해 낮게 나타났다.

3.10 접촉성 피부염 실험동물에서 추출물 처리에 의한 혈청 IgE에 미치는 효과

항원의 특이적인 IgE는 mast cell의 Fce 수용 체와

결합해서 특정 항원에 대한 조기 allergy 반응과 후기 allergy반응을 유도한다. 이러한 사실을 고려할 때, 접촉성 피부염 동물실험에서 DR 처리가 혈청 IgE 생성에 의해 어떤 영향을 미치는가를 조사하였다. 犠牲日에 접촉성 피부염 동물실험은 채취한 혈액 속의 총 IgE 양을 관찰한 결과, 정상 군에 비해 DNFB/DW 대조군은 혈청 IgE 농도가 높게 나타났다. 이와 같은 혈청 IgE 농도는 DNFB/DW 대조군에 비해, DNFB/Dex 양성 대조군이 유의하게 감소되었다. 하지만, DNFB/DR 실험 군에서는 별다른 차이가 나타나지 않았다(Fig. 8 참고).

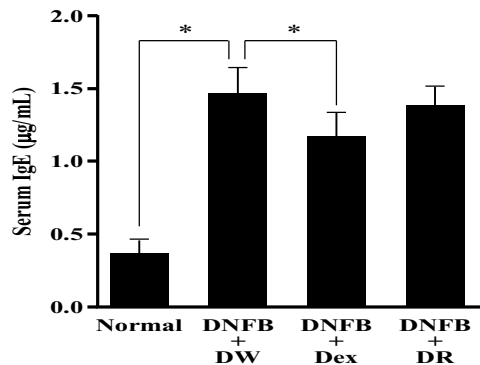


Fig. 8. Effects of DR on total serum IgE.

4. 고찰

부채마가 항염증 효용이 있다는 것을 착안하고, 마스트세포-매개 피부염 증상 및 조직병리학적 관점을 증진시켜 줄 수 있을 것이라는 가설을 세우고 본 연구를 시행했다. 부채마는 여러해살이 냉쿨식물로, 뿌리와 줄기는 가로로 뻗어 있는 원기둥 모양의 황갈색이며, 잎은 호생(alternate)하고 심장형이다. 길이와 너비는 5~12cm로 중털 하며 열편은 좁은 난형이고 끝은 뾰족하며 정렬 편은 크고 밑은 심형으로 털이 없고 엽병이 길다. 서식지는 대부분 산 중간지대에서도 낮은 산기슭에서 자라며 잡목림가장 자리와 관목림의 양지바른 곳에서 서식한다[9].

마 과는 동남아시아 지역의 열대지역과 지중해 남북아메리카에 위치한 10속 650종 이상이 넘는 여러해살이 냉쿨초본식물로

한국은 1속 7종이 분포되고 있으며 성분이 유사한 단풍마와 국화 마 등을 부채마라고 부른다.[2]

異名으로는 火藤根, 黃薑, 地龍骨, 穿山骨, 竹根薯으로 부르며[1], 性味는 溫, 甘, 苦하며, 歸經은 腎, 肝, 肺이며,

효능은 喘息抑制, 利尿, 活血統絡, 心血管疾患, 瘡疾, 血液循環, 鎮咳, 祛風除濕, 止咳祛痰, 등이다[1].

부채마의 항 염증성 효과는, 생쥐의 세포면역 및 체액 면역을 억제시키며, 대식세포의 탐식 능력을 강화시키는 등, 냉권 식물인 부채마는 steroid saponin을 다수 함유하고 있기 때문에 추정된다[3].

부채마 70% 에탄올 추출물로 아토피 피부염증 예방의 효과를 조사하기 위해, 1차로 에탄올 추출물이 RBL-2H3 마스트세포 활성화에 어떠한 영향을 미치는가를 조사했다. 에탄올 추출물은 독성 없는 농도 Fig. 1에서 항체-항원 반응에 의하여 활성화 된 RBL-2H3 마스트세포의 조기 면역반응인 과립감소 및 히스타민 분비를 효과적으로 억압하였고 Fig. 2와 Fig. 3에서 볼 수 있듯이 마스트세포의 후기 면역 과민반응인 염증성 사이토카인(IL-4 및 TNF- α) 분비를 억압했다. 이 같은 결과를 살펴보면, 부채마 추출물은 마스트 세포의 항체-항원의 과민반응에 의한 과립감소와 사이토카인 분비를 효율적으로 억압시키는 것으로 판단된다.

아토피 피부염을 한의학적인 범주에 속하는 병명으로는 胎胎瘡, 奶癬, 血風瘡, 嬰兒濕疹, 異位性皮膚炎, 濕疹, 浸淫瘡, 四彎風, 疥癬 등 있으므로, 濕과熱이 內蘊한 상태에 또 다시 風熱濕邪의 浸淫을 받아서 內外邪氣가 相搏하면서 肌膚에 발생한다고 보고 있다[10-12]. 發現樣相에 따라서 濕症으로 인한 乾症은, 病因病機에 따라서 급성기와 만성기로도 분류한다. 특별히, 熱濕型에 해당하며 주로 風熱濕은 挾感한 양상으로도 증세가 나타나게 되는데, 발병은 급하고 丘疹, 紅斑水疱, 糜爛, 丘疹, 結痂 등으로 여러 곳에 발생해서 극심한 搔痒을 특징으로 나타낸다[13,14].

면역학적으로는 아토피 피부염의 발생 기전을 장기간의 Allergen(항원)에 대한 노출에 의해 Th2 세포분화가 유도되어 Allergen-특이 IgE가 생성되고, mast cell은 탈과립과 염증세포들로 인한 침윤 등 만성적으로 피부염증이 초래되고 있다[15-17].

이에 본 연구는 부채마의 70%를 에탄올 추출물의 아토피 피부염 예방 효과에 조사를 위한, 1차적인 에탄올 추출물처리가 RBL-2H3 염증의 활성화에 어떠한 영향을 미치는 가 조사했다. 결과적으로, 귀 부종의 IL-4 농도와 히스타민 농도의 조직병리학적 결과를 종합했을 때 부채마 추출물은 mast cell의 과도한 활성화에 따라 유발되는 알러지성 피부질환의 예방효과가 있다고 관련되어지며, 향후 부채마의 추출물은 mast cell에 대한 활성억제 약물로서 개발될 수 있을 것으로 생각한다.

5. 결론

부채마 70%는 에탄올 추출물의 알레르기성 피부의 원인으로 알려진 mast cell의 과도한 활성화조절 가능성을 조사하고, 실험동물 mast cell의 매개 질병에 대한 효능도를 조사 후 이와 같은 결과를 얻었다.

첫째, RBL-2H3 mast cell에서 부채마는 세포독성이 보이지 않는 농도에서 mast cell의 조기 allergen 반응의 지표인 β -hexosaminidase 히스타민 농도를 의존적으로 억제했으며, 둘째, 부채마는 후기 allergen 반응의 지표인 IL-4와 TNF- α 의 분비 농도에 따라 의존적으로 감소시켰다.

셋째, 부채마는 귀 부종을 억제했으며, 넷째, 부채마는 mast cell을 포함한 과립세포에서 유래된 것으로 추정하여 혈액의 히스타민 농도와 IL-4 생성을 유의하게 감소시켰고, 다섯째, TB 및 H&E 염색결과 세포 악화 정도나 부분 유입은 부채마에 따라 감소되었다.

이 같은 연구결과는 70%의 에탄올 추출물에서 mast cell의 과도한 활성화와 아토피피부염증 개선효과가 있음을 제시했다.

REFERENCES

- [1] C. M. Kim et al. (1997). *The Chinese Medicine Dictionary*. Seoul : Jeongdam,
- [2] D. G. Ahn. (2003). *Korea's Main Book Illustrated*, Seoul, Korea, p.320
- [3] E. L. Simpson. (2010). Atopic dermatitis: a review of topical treatment options. *Current medical research and opinion*, 26(3), 633-640. DOI: 10.1185/03007990903512156
- [4] E. L. Simpson & J. M. Hanifin (2006). Atopic dermatitis. *Med Clin North Am*, 90, 149-67.
- [5] K. B. Yarbrough & K. J. Neuhaus. (2013). The effects of treatment on itch in atopic dermatitis. *Dermatologic therapy*, 26(2), 110-9. DOI: 10.1111/dth.12032
- [6] M. S. Bremmer, S. F. Bremmer, S. Baig-Lewis & E. L. Simpson. (2009). Are biologics safe in the treatment of atopic dermatitis? A review with a focus on immediate hypersensitivity reactions. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 61(4), 666-676. DOI: 10.1016/j.jaad.2009.02.041
- [7] F. S. Larsen, T. Diepgen & Å. Svensson. (1996). The occurrence of atopic dermatitis in north Europe: An international questionnaire study. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 34(5), 760-764.

DOI: 10.1016/s0190-9622(96)90009-2

- [8] Y. M. Park & T. Y. Kim. (1997). Relative frequency, clinical features and laboratory findings of atopic dermatitis in dermatology outpatients, *35*, 96-106.
- [9] C. B. Lee. (2003). *Elementary Plants in Korea* (Ha), Seoul, p.730
- [10] S. A. Kim & Y. H. Kang. (2006). Atsushi Anti-inflammatory effect of Yasushi red-hot water drainage salt and ceramide change in stratum corneum Impacts. *Journal of Korean Oriental Internal Medicine*, *27*, 72-83.
- [11] M. C. Park. (2001). *East and West Medical Literature Investigation of atopic dermatitis*. Ph.D. Thesis. Wonkwang University Graduate School., Iksan.
- [12] G. Bohua. (1985). *Practical Chinese Medicine Surgery*. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press.
- [13] Y. Yang. (1985). *Q&A on Traditional Chinese Medicine*. Beijing: People's Medical Publishing House.
- [14] Y. Yanagishi. (1987). *Special Lecture for Clinical Medicine in the Middle and High School-Practice of Surgery and Dermatology*. Seoul: Seo-In Temple.
- [15] J. Lee, G. Noh, S. Lee, Y. Youn & J. Rhim. (2012). Atopic dermatitis and cytokines: recent patents in immunoregulatory and therapeutic implications of cytokines in atopi dermatitis-part I: cytokines in atopic dermatitis. *Recent patents on inflammation & allergy drug discovery*, *6(3)*, 222-247.
DOI: 10.2174/187221312802652820
- [16] T. Terui. (2009). Analysis of the mechanism for the development of allergic skin inflammation and the application for its treatment: overview of the pathophysiology of atopic dermatitis. *Journal of pharmacological sciences*, *110(3)*, 232-236. DOI: 10.1254/jphs.09r02fm
- [17] J. H. Paik, M. S. Lee & C. R. Haw. (1999). Plasma histamine levels in patients with atopic dermatitis. *Korean Journal of Dermatology*, *37(11)*, 1553-1559.

도 영 북(Young-Bog Do)

[장학원]



- 2006년 2월 : 대전대학교 대체의학 (보건학석사)
- 2017년 7월 : 원광대학교 제3의학과 (한의학박사)
- 2008년 9월 ~ 현재 : 대전대학교 교수
- 관심분야 : 약용작물, 한방정책
- E-Mail : youngbog4252@hanmail.net

송 영 순(Young-Soon Song)

[장학원]



- 2015년2월 : 대전대학교 사회복지 (석사)
- 2019년7월 ~ 현재 : 동방문화대학 원약용작물학 박사과정
- 관심분야 : 약용작물, 심리상담
- E-Mail : sys4945@hanmail.net