

凉膈散火湯이 Atopy 皮膚炎에 미치는 影響

윤보현·박성식

동국대학교 한의과대학 사상체질과

Abstract

Yangkyuksanhwa-tang effected to Atopic Dermatitis

Yun Bo-Hyun·Park Seong-Sik

Dept. of Sasang Constitutional Medicine, College of Oriental Medicine, Dongguk Univ.

1. Objectives

Yangkyuksanhwa-tang is used much in pruritus and dermatopathy of Soyangin. It is suggested this prescription is effective on atopy dermatitis.

2. Methods

For observation of Yangkyuksanhwa-tang effected to atopic dermatitis, extract of Yangkyuksanhwa-tang has been dispensed to the stratum corneum of epithelium in dermatome of murine after making damage to its defense mechanism against fat and causing atopic dermatitis artificially. After that, the change in outer dermatome and minute mechanism of epidermis, the change of eosinophil, the change in distribution of soybean agglutinin, the change in distribution of fat and ceramide in stratum corneum, the change in inflammation in dermatome, the change of cell accrementition and apoptosis, and the effect on anaphylaxis and *Staphylococcus aureus* was observed.

3. Results

After administration of Yangkyuksanhwa-tang, severe skin damage such as eczema and psoriasis, that was observed in the case of atopy dermatitis, was decreased and the increase of eosinophil in serum was suppressed. Lipid lamella was recovered, so epidermal damage was relieved. The distribution of HSP70 in the outer skin was decreased. Yangkyuksanhwa-tang suppressed activation of NF- κ B p50, induced CD11/18b not to be generated, and suppressed inflammatory response of skin. Anaphylaxis and groth of *Staphylococcus aureus* was suppressed.

4. Conclusions

Yangkyuksanhwa-tang decreased skin damage of atopy dermatitis. It has antibiosis about *Staphylococcus aureus*, it can be medicinal substances on atopy dermatitis. In addition, it is possible that it can be medicinal substances on regional skin allergy.

Key Words: Yangkyuksanhwa-tang, Atopic Dermatitis, Anaphylaxis, *Staphylococcus aureus*, Cytokine, Apoptosis

I. 緒 論

凉膈散火湯은 李¹⁾의 『東醫壽世保元』에 처음

으로 수록된 처방으로 少陽人 胃受熱裏熱病의 胸膈熱證에 대한 清陽上升을 目的으로 사용되었다²⁾. 凉膈散火湯의 적응증에 대해 李¹⁾는 『東醫壽世保元』 「胃受熱裏熱病論」에서 ‘治上消 纏喉風及 脣腫之輕症’이라고 하였으며, 임상적으로는 胸悶, 手足痺, 運動障礙, 手足麻木, 火熱證, 口舌疾患, 上焦熱, 皮膚疾患 등에 多用되고 있다^{3-7,51-53}.

韓醫學에서 아토피 피부염은 奶癬, 胎癬, 胎斂

접수일 2004년 7월 9일; 승인일 2004년 8월 4일

교신저자 : 박성식

경기도 성남시 분당구 수내동 87-2 동국대학교 분당한방병원 사상체질과

Tel : +82-31-710-3723, Fax : +82-31-710-3780

E-mail : parkss@dongguk.ac.kr

瘡, 濕疹, 濕瘡, 四彎風, 淫瘡, 胎熱, 胎熱丹毒, 胎毒瘡疥, 赤游丹, 赤遊風 등의 범주에 속할 수 있으며, 원인으로는 風熱, 血熱, 濕熱, 血虛 등을 들 수 있다.²⁷⁻³⁰⁾

아토피 피부염에 관한 韓醫學 研究報告로는 아토피 피부염에 대한 韓醫學的인 辨證體系分類³⁴⁾, 皮膚 搔痒症에 대한 臨床的 研究³⁵⁻³⁷⁾, 아토피 피부염의 발생부위와 經絡과의 關係에 대한 考察³⁸⁾, 四象醫學的 接近 方式에 대한 研究³⁹⁻⁴⁰⁾, 韓洋方의 文獻 考察^{33,42)}, 外來患者를 위주로 한 統計 論文⁴³⁻⁴⁷⁾, 外治法에 대한 研究⁴⁸⁻⁴⁹⁾, 斷食療法을 이용한 證例報告⁵⁰⁾ 등이 있다.

또한, 涼膈散火湯의 활용에 관한 臨床研究로는 口腔潰瘍 治驗例⁵¹⁾, 少陽人 中風에 대한 治療效果⁵²⁾ 등이 있으며, 實驗研究로는 糖尿病에 대한 治療效果 研究⁵⁴⁻⁵⁵⁾, 腦血流 회복 및 腦損傷 개선 효과에 대한 研究⁵⁶⁻⁵⁹⁾, 肥滿症에 미치는 효과에 대한 研究⁶⁰⁾, 高血壓 및 高脂血症 개선효과에 대한 研究⁶¹⁾, allergy性 接觸皮膚炎 改善효과에 대한 研究⁶²⁾ 등이 있었으나, 아토피 피부염에 미치는 효과에 관한 實驗 研究는 없었다.

이에 著者는 少陽人의 搔痒症과 皮膚疾患에 多用되는 處方인 涼膈散火湯이 아토피 피부염의 治療에 影響을 미칠 것으로 기대되어 涼膈散火湯을 아토피 피부염을 유발시킨 생쥐에 경구 투여한 후, 血液內 好酸性 白血球(eosinophil) 變化, 皮膚 表皮 細胞사이 空間內 複合糖質의 變化, 表皮 角質層의 脂質 保護 障壁 變化, 炎症 變化, 細胞增殖과 細胞 自己殺害 變化, 受動 皮膚 anaphylaxis 抑制 效果, *Staphylococcus aureus*에 대한 生長 抑制效果를 觀察한 바 有意性 있는 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

II. 材料 및 方法

1. 實驗動物

대한실험동물 Center에서 분양 받은 태령 4주된 BALB/c계 암컷 생쥐를 무균사육장치내에서 2주일 동안 적응시킨 후 체중 20 g된 생쥐를 선별하여 사용하였다. 대조군, 아토피 피부염 유발군(AD群), 아토피 피부염 유발 후 涼膈散火湯 추출액 투여군(YS群)으로 나눈 후, 시간의 경과에 따라 24, 48 그리고 72시간으로 세분시켰으며, 각 群에 10마리씩 배

정하였다. 한편 受動皮膚 anaphylaxis를 위해 Sprague-Dawley계 흰쥐를 별도로 각 群에 10마리씩 배정하여 실험하였다.

2. 아토피 피부염의 誘發

本 實驗에서는 皮膚 角質層의 角質細胞사이 존재하는 lipid lamella 層을 계면활성제(surfactant) 중 하나인 sodium dodecyl sulfate(SDS : Sigma, U.S.A)로 유실을 유도하여 아토피 피부염을 유발하였다. Christophers와 Mrowietz⁶⁷⁾가 기술한 방법을 응용하여 생쥐 서혜부의 皮膚를 면도한 다음 cellophane tape (3M, U.S.A)을 부착하여 角質層의 脫落層을 제거하였다. 그런 다음 70% ethyl alcohol로 소독한 후 Minehiro들⁶⁸⁾처럼 5% SDS 1ml을 면봉으로 하루에 20회씩 2日 동안 문질러서 角質層의 lipid lamella를 除去하였다. 그 결과 육안으로 아토피 증상 즉, 아토피성 습진이 유발된 개체(Fig. 3.)만을 확인·선별하여 사용하였으며, 유발률은 70% 정도였다.

3. 涼膈散火湯 抽出液의 製造와 경구투여

본 실험에서 사용된 涼膈散火湯(Yangkyuksanhwa-tang : YS)은 東國大學校 韓方病院에서 구입한 후 정선하여 사용하였다(Table 1). 涼膈散火湯 2貼 分量을 증류수 500ml에 넣고 3시간동안 煎湯한 후 여과하였다. 그 濾液을 rotary evaporator로 50ml 濃縮한 涼膈散火湯 抽出液을 아토피 피부염 유발 후 YS群에 매일 2.5ml/kg/day로 경구투여 시켰다.

Table 1. The amount and composition of *Yangkyuksanhwa-tang*(YS) extract

韓藥名	生藥名	重量(g)
生地黃	<i>Rehmanniae Radix</i>	8
忍冬藤	<i>Lonicerae Caulis</i>	8
連翹	<i>Forsythiae Fructus</i>	8
山梔子	<i>Gardeniae Fructus</i>	4
薄荷	<i>Menthae Herba</i>	4
知母	<i>Anemarrhenae Rhizoma</i>	4
石膏	<i>Gypsum Fibrosum</i>	4
防風	<i>Ledebouriellae Radix</i>	4
荊芥	<i>Schizonepetae Herba</i>	4
總 量		48

4. 血液內 好酸性 白血球(eosinophil) 變化

아토피 질환의 대표적 지표인 好酸性 白血球의 혈액내 조성 變化를 조사하기 위해 심장천자로 채혈한 후, Hinkelmann 용액에 희석한 다음 Neubauer 계산판(Superior, Germany)으로 계수하였다.

5. 皮膚 組織標本 製作

아토피 피부염이 유발된 각 群을 sodium pentobarbital 용액으로 마취한 후 vascular rinse와 10% 중성 포르말린용액(neutral buffered formalin : NBF)으로 심장관류고정을 실시하였다. SDS 처리부위에서 절취한 皮膚는 실온에서 10% NBF에 24시간동안 고정된 후 통상적인 방법으로 paraffin에 포매하고 5 μ m 두께로 연속절편을 만들었다. 만들어진 연속절편은 Hematoxyline과 Eosin으로 염색하여 표본을 제작하였다. 한편 냉동절편 제작은 NBF에 고정된 후 10% formol-calcium에 1주일동안 산화 처리하였다. 30% sucrose 용액에 cryprotection 한 후 냉동절편기(Microm, Germany)로 10 μ m 두께의 냉동절편을 제작하였다. 角質層에서의 微細構造 관찰을 위해 皮膚 切片을 1/2 Karnovsky 용액에 선고정한 후 1% OsO₄ 용액에 후고정하였으며 Uranyl acetate에 90분 동안 염색한 후 통상적인 방법으로 epon에 포매하였다. 組織切片은 ultramicrotome(LKB, Nova)으로 90nm 두께로 切片을 만들어 toluidine blue로 염색한 후 광학현미경으로 皮膚 角質層의 微細構造 變化를 관찰하였다. 전자현미경 관찰은 ultramicrotome(LKB, Nova)으로 60-80nm 두께로 切片을 만든 다음 투과전자현미경(Hitach H-600)으로 관찰하였다.

6. 皮膚 表皮細胞사이공간내 複合糖質의 變化

아토피 피부염 유발 후 複合糖質(glycoconjugate)의 하나인 soybean agglutinin(SBA ; Sigma, U.S.A)의 表皮細胞사이공간내 분포 變化를 조사하기 위해 lectin을 이용한 면역조직화학적 염색을 실시하였다. 우선 조직을 실온에서 1% bovine serum albumin(BSA; Sigma, U.S.A)에 1시간동안 blocking한 다음 1:100으로 희석한 biotinylated anti SBA(Sigma, U.S.A)에 4 $^{\circ}$ C incubation chamber내에서 24시간동안 반응시켰다. 그런 다음 ABC kit(avidin biotin complex; Vector Lab, U.S.A)에 1시간동안 실온에서 반응시켰다.

0.05% 3,3'-diaminobenzidine(DAB : Sigma, U.S.A)과 0.01% HCl이 포함된 0.05M tris-HCl 완충용액(pH 7.4)에서 발색시킨 후, hematoxylin으로 대조 염색하여 광학현미경으로 관찰하였다. Lectin 반응의 강도는 - (음성), + (약한 양성), ++ (중간정도 양성) 그리고 +++ (강한 양성) 등으로 표시하였다.

Table 2. Sugar Specificities and Inhibitory Carbohydrate of Soybean Agglutinin(SBA)

Lectin	Optium ditution	Sugar specificity
SBA	4 μ g/ml	D-N-acetylgalactosamine

7. 表皮 角質層의 脂質 保護障壁 變化

1) 脂肪의 分布 變化 觀察

Sudan black B 염색법을 통해 角質層내 지방의 분포 變化를 조사하였는데, 우선 냉동절편을 absolute propylene glycol로 10분간 탈수한 후 Sudan black B 용액에 10분간 염색하였다. 85% propylene glycol로 3분간 탈색한 후 증류수에 수세하고 nuclear fast red로 1분간 대조 염색하였다. 대조 염색 후 증류수로 3회 수세한 다음 glycerin jelly로 봉입한 후 광학현미경으로 관찰하였다.

2) Ceramide 分布 變化 觀察

각질층내 지방중 26%을 차지하는 ceramide의 분포 變化를 조사하기위해서 항 ceramide 항체를 이용한 면역조직화학적 염색을 실시하였다. 우선 냉동절편을 blocking serum인 10% normal goat serum(1:20, DAKO, Denmark)에서 1시간 동안 반응시켜 비특이적 면역반응을 억제하였다. 그리고 1차 항체인 mouse anti-mouse ceramine(1:10, Sigma)에 4 $^{\circ}$ C humidified chamber에서 72시간 동안 반응시켰으며, biotinylated goat anti-mouse IgG(DAKO)에 실온에서 10분간 link 하였다. Steptavidin peroxidase(LSAB : DAKO)에 10분동안 실온에서 반응시킨 후 0.05% 3,3'-diaminobenzidine(DAB : Sigma)과 0.01% HCl이 포함된 0.05M tris-HCl 완충용액(pH 7.4)에서 발색시킨 후, hematoxylin으로 대조염색하여 광학현미경으로 관찰하였다.

8. 炎症 變化

1) 肥滿細胞의 分布 變化 觀察

炎症反應에 관여하는 진피내 비만세포의 분포와 형태 變化를 조사하기 위해 Luna's method를 실시하였다. 우선 5 μ m 두께의 연속절편을 aldehyde fuchsin에 30분간 염색한 후 Weigert's iron hematoxylin과 methyl orange 용액에 각각 1분, 5분 동안 대조염색하였다.

2) Stress 緩衝 物質의 變化 觀察

피부손상에 따른 스트레스에 대한 완충적 물질인 열 충격 단백질(heat shock protein, HSP)의 하나

인 Hsp70 분포변화를 관찰하기 위한 면역조직화학적 염색을 실시하였다. 우선 절편을 proteinase K(20 µg/ml)에 5분 동안 proteolysis 과정을 거친 후 blocking serum인 10% normal goat serum(DAKO, Denmark)에서 1시간 동안 반응시켰다. 그리고 4°C humidified chamber에서 1차 항체인 rabbit anti mouse Hsp70(1:200, Santa Cruz Biotech, U.S.A)을 72시간 반응시켰으며, 다음 2차 항체인 goat anti-rabbit IgG(1:100, DAKO)에 24시간 동안 반응시켰다. 1시간 동안 실온에서 Avidin biotin complex(ABC : Vector Lab, U.S.A)에 반응시킨 후 DAB로 발색처리 후 hematoxylin으로 대조염색하여 광학현미경으로 관찰하였다.

3) 炎症誘發性 Cytokine의 變化 觀察

상피내 염증에 관여하는 cytokine들 중 세포활성을 주도하는 protein kinase C(PKC), 염증관련 신호에 관여하는 nuclear factor(NF)-κB p50, 염증유발성 cytokine인 Tumor necrosis factor-α(TNF-α), Interleukin-12(IL-12) 그리고 CD28분자 등의 분포 변화를 조사하기 위해서 rabbit anti-mouse PKC(1:200, Santa Cruz Biotech), rabbit anti-mouse NF-κB p50(1:200, Santa Cruz Biotech), rabbit anti-mouse TNF-α(1:200, Santa Cruz Biotech) 및 rabbit anti-mouse IL-12B(1:200, Santa Cruz Biotech), rabbit anti-mouse CD28(1:200, Santa Cruz Biotech)를 이용한 면역조직화학적 염색을 실시하였으며, 이후 과정은 위에 기술한 면역조직화학적 염색법과 동일하였다.

4) 세포기용 변화

피부내 세포기용에 관여하는 세포부착분자(intercellular adhesion molecule : ICAM)-1과 그 관련된 ligand인 CD11/18b의 분포변화를 관찰하기 위해 rabbit anti-mouse ICAM-1(CD54 : Serotec)과 rat anti-mouse Mac-1(Serotec, UK) 항체를 이용한 면역조직화학적 염색을 실시하였다.

9. 細胞增殖과 細胞自己殺害 變化

1) 細胞增殖 變化 觀察

피부내 세포증식 변화를 조사하기 위해 BrdU를 이용한 면역조직화학적 염색을 실시하였다. 우선 실험동물에서 피부를 적출하기 5시간 전, 3시간 전, 1시간 전에 생리식염수에 녹인 5-bromo -2'-deoxyuridine(BrdU, Sigma, U.S.A) 50 mg/kg을 복강 주사하였다. 얻어진 연속절편은 4°C와 37°C의 2N

HCl용액에서 각각 20분씩 반응시켜 DNA-denaturation을 일으켰다. 0.1M borate 완충용액 처리로 안정시킨 후 비특이적 면역반응을 억제하기 위해 0.01%의 proteinase K가 포함된 normal goat serum에 1시간동안 반응시켰다. 그런 다음 1차 항체인 mouse anti-mouse BrdU(1:50, Amersham, UK)에 4°C incubation chamber내에서 72시간 반응시켰고 이후 과정은 위에 기술한 면역조직화학적 염색법과 동일하였다.

2) 細胞自己殺害 變化 觀察

Apoptotic 세포의 분포변화를 조사하기 위해 in situ apoptosis detection kit(Apoptag, Intergen, U.S.A)를 이용한 TUNEL(terminal deoxynucleotid transferase-mediated dUTP-biotin nick-end labelling) 방법을 실시하였다. 먼저 조직 절편을 proteinase K에 5분간 proteolysis 시킨 다음 equilibration buffer에서 20초간 처리하였다. 그런 다음 strength TdT enzyme(36 µl TdT enzyme : 72 µl reaction buffer)을 처리하여 37°C의 humidified chamber에서 1시간 동안 반응시킨 후 strength stop/wash buffer에서 10분 동안 처리하였다. Anti-digoxigenin-peroxidase에 1시간 동안 반응시킨 후 DAB를 처리하였다. Hematoxylin으로 대조염색한 후 광학현미경으로 관찰하였다. 한편 Bcl-2와 Bax 등의 Apoptosis 신호분자들 변화를 조사하기 위해서 rabbit anti-mouse Bcl-2(Pharmingen, U.S.A) 그리고 rabbit anti-mouse Bax(Pharmingen) 항체를 이용한 면역조직화학적 염색을 실시하였다.

10. 涼膈散火湯의 受動皮膚 anaphylaxis 抑制 效果

IgE 의존성 피부반응은 monoclonal anti-dinitrophenyl(DNP) IgE (Sigma, U.S.A) 100 µl를 면도된 등쪽 피내에 주사한 다음 48시간 후 4% Evan blue에 희석한 DNP-human serum albumin(DNP-HSA ; Sigma, U.S.A) 100mg을 꼬리정맥에 주사하여 일으켰다. 涼膈散火湯 추출액은 DNP-HSA주사 1시간 전에 경구 투여하였다. 피부에 나타난 Evan blue의 분포를 영상분석 하였으며, 아울러 피부절편을 Luna's method로 염색한 후 涼膈散火湯에 의한 비만 세포의 분비 억제능을 조사하였다.

11. Staphylococcus aureus의 生長 變化

아토피 피부염에서 높은 감염률을 보이는 Staphylococcus aureus에 대한 涼膈散火湯의 生長 억제를 조사하기 위해 Staphylococcus aureus KCTC 1928LB

medium, 24°C, 120 rpm)을 涼膈散火湯 추출액으로 농도에 따라 처리한 다음 16시간 배양하여 배양액을 분광광도계(UV-160A UV-Vis spectrophotometer, Shimadzu Co., Japan)의 660nm에서 흡광도를 측정하였다. 또한 LB 한천배지에 도포시켜 16시간동안 성장시킨 *Staphylococcus aureus*의 colony 변화도 관찰하였다.

12. 映像分析과 統計處理

모든 결과를 Optimas 5.2 (Optima Co., U.S.A)를 이용한 영상분석(image analysis)을 실시하였으며 영상분석 결과는 Sigma Plot 2000(Sigma)을 통한 student T test로 유의성을 검증하였다.

III. 結果

1. 外部形態 變化

72시간 경과 후 AD群의 피부에서는 대부분 각질층이 손상된 습진 형태로 관찰되었다(Fig 3.). 또한 일부에서는 가장자리지역까지 확대된 극심한 표피세포의 증식, 즉 건선이 확인되었다(Fig 4.). 이러한 AD群의 아토피 유발 피부를 절개하여 진피를 관찰한 결과 혈관의 직경이 커졌으며, 신생혈관으로 추정되는 혈관이 많이 관찰되었고, 중심지역은 누출된 혈액으로 붉은색을 띠고 있었다(Fig 5.). 이에 반해 YS群은 일부 가장자리 지역을 제외하고는 정상적인 각질층의 분포를 유지하여(Fig 6., 7.) 아토피 유발직후(Fig 3.) 보다 각질층이 회복되는 것으로 관찰되었다. 또한 진피 쪽 피부의 혈관 분포도 AD群에 비해 적었고, 누출된 혈액도 적었다(Fig 8.).

2. 血液內 好酸性 白血球 變化

혈액내 호산성 백혈구의 수를 조사한 결과 시간이 경과할수록 대조군에 비해 AD群에서는 그 수가 증가한 반면, YS群에서는 AD群에 비해 유의성 있는 감소 경향을 보였다(Fig 1.). 그 결과 513 ± 15.4 개/ μ l인 대조군에 비해 AD群은 아토피 유발 후 24시간에서 11.3% 증가한 571 ± 12.5 개/ μ l, 48시간에서는 63.6% 증가한 839 ± 21.3 개/ μ l, 72시간에서는 205.4%나 증가한 1566 ± 27.8 개/ μ l로 측정되었다. 이에 반해 YS群에서는 AD群에 비해 아토피 유발 후 24시간에서 8.1% 감소한 525 ± 10.1 개/ μ l, 48시간에서는 21.0% 감소한 662 ± 17.8 개/ μ l, 72시간에서는 50.3%나 감소한 778 ± 22.4 개/ μ l로 나타났다.

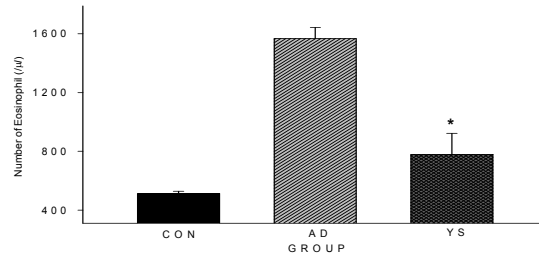


Fig. 1. The inhibition effect of eosinophil in YS treated murine at hour-72 after atopic dermatitis (AD) elicitation. The number of eosinophil in mice treated with YS noticeably decreased than AD group and this decrease had probability in $P < 0.05$ of student T test.

3. 一般的인 形態와 微細構造의 變化

AD群에서 외부형태상 각질층 손상이 확인된 피부에서는 과립백혈구와 림프구의 침윤과 혈관에서 누출된 혈액의 분포 증가가 두드러지게 관찰되었다(Fig. 9). 그리고 외부형태상 각질층 손상주변의 상피는 세포과형성으로 인한 상피층의 증가와 부종화를 확인할 수 있었다(Fig 10.). 손상된 각질층에서는 각질세포 사이공간에 lipid lamella가 존재하지 않았으며(Fig 17.), 세포사이공간의 확장과 각질세포의 탈락이 두드러졌다(Fig 13.). 이에 반해 YS群에서는 과립백혈구와 림프구의 침윤 및 혈관에서 누출된 혈액의 분포가 관찰되지 않았으며(Fig 11.), 상피층 증가와 부종화도 적었다(Fig 12.). 각질층의 각질세포사이공간에서는 lipid lamella와 lipid body가 균일하게 분포하였으며(Fig 18., 19.), AD群과는 달리 세포사이공간의 확장과 각질세포의 탈락이 관찰되지 않았다(Fig 14.).

4. 皮膚 表皮細胞사이공간내 複合糖質의 變化

대조군에서는 과립층, 가시층, 기저층의 순으로 세포사이공간에서 강한 SBA 양성반응을 보였다. AD群에서는 아토피 피부염 유발 후 SBA 양성반응이 과립층의 일부 세포사이공간에서만 유지되고, 가시층과 기저층의 세포사이공간에서는 사라졌다(Table 3., Fig 15.). 반면 YS群에서는 AD群과는 달리 과립층과 가시층의 세포사이공간에서 강한 양성반응을 보였다(Table 3., Fig 16.).

5. 角質層의 脂質 保護障壁 變化

AD群에서 각질층의 lipid lamella 분포는 일부 과립층 주변에서만 관찰되었으며, 그 외 지역에서는 나타나지 않았다(Fig 20.). 이에 반해 YS群에서는 과립층과 각질층의 각질세포 사이에서 선 모양의

Table 3 The Difference of SBA Distribution at Hour 72 after AD Elicitation

LECTIN	POSITION	GROUP		
		CONTROL	AD	YS
SBA	stratum corneum	+	+	+
	stratum granulosum	+++	+	+++
	stratum spinosum	++	-	++
	stratum basale	+	-	+
	dermis	-	-	-

Abbreviation : CON,no treated mice ; AD,atopic dermatitis elicited mice ; YS,YS extract administered mice after AD elicitation ; *,P < 0.05 compared with AD ; -,negative ; +,weak ; ++,moderate ; +++,strong

로 배열된 지방분포를 관찰할 수 있었다(Fig 22.).

한편 각질층의 ceramide 분포 조사 결과 AD群에서는 ceramide가 약한 양성반응이 관찰된 반면(Fig 21.), YS群에서는 강한 양성반응이 나타났다(Fig 23.). AD群에서는 대조군에 비해 88.1% 감소한 646±12 / 100,000 pick cell로 관찰되었다. 이에 반해 YS群에서는 AD群에 비해 331.7% 증가한 2789±96 / 100,000 pick cell로 관찰되었다(Table 4.).

Table 4. The Image Analysis of Ceramide Distribution in YS treated Murine Skin with Atopic Dermatitis(AD)

Antibody	Group		
	CON(M±S.D)	AD(M±S.D)	YS(M±S.D)
Ceramide	5439±148	646±12	2789±96*

(image analysis for 100,000 particles / range of intensity : 80 - 140)
Abbreviation : CON,no treated mice ; AD,atopic dermatitis elicited mice ; YS,YS extract administered mice after AD elicitation ; M±S.D,Mean±Standard Deviation ; *,P < 0.05 compared with AD

6. 皮膚內 炎症 變化

1) 肥滿細胞의 分布 變化

AD群에서는 진피 유두에서 피하 인접부까지 많은 수의 비만세포가 분포하고 있었으며, 탈과립형이 주를 이루었다(Fig 24.). 이에 반해 YS群에서는 AD群에 비해 적은 수가 관찰되었으며, 과립형이 주를 이루었다(Fig 25.).

2) Stress 緩衝物質의 變化

Stress에 대한 완충적 물질인 Hsp70 분포는 핵과 주변세포질에서 강한 양성반응을 보이는 것으로 관찰되었는데, AD群에 비해 YS群에서 Hsp70 양성반응세포가 감소된 것으로 관찰되었다(Fig 28., 29.). AD群은 대조군에 비해 914.0% 증가한 2170±125 / 200,000 pick cell로 관찰되었다. 이에 반해 YS群에서는 AD群에 비해 35.7% 감소한 1396±98 / 200,000 pick cell로 관찰되었다 (Table 5.).

Table 5. The Image Analysis of Hsp 70 Distribution in YS treated Murine Skin with Atopic Dermatitis(AD)

Antibody	Group		
	CON	AD	YS
Hsp70	214±18	2170±125	1396±98*

(image analysis for 200,000 particles / range of intensity : 80 - 140)
Abbreviation : CON,no treated mice ; AD,atopic dermatitis elicited mice ; YS,YS extract administered mice after AD elicitation ; M±S.D,Mean±Standard Deviation ; *,P < 0.05 compared with AD

3) 炎症誘發性 Cytokine의 變化 觀察

표피 기저부와 진피유두에서 관찰되는 PKC 양성반응은 핵막과 세포질에서 강하게 나타났으며, AD群에 비해 YS群에서 PKC 양성반응세포가 감소된 것으로 관찰되었다(Fig 30., 31.). AD群은 대조군에 비해 227.7% 증가한 1170±134 / 200,000 pick cell로 관찰되었다. 이에 반해 YS群에서는 AD群에 비해 39.3% 감소한 710±28 / 200,000 pick cell로 관찰되었다(Table 6.).

일부 기저부와 진피유두에서 관찰되는 NF-κB p50 양성반응은 핵막과 세포질에서 강하게 나타났으며, AD群에 비해 YS群에서 NF-κB p50 양성반응세포가 감소된 것으로 관찰되었다(Fig 32., 33.). AD群은 대조군에 비해 491.5% 증가한 1248±139 / 200,000 pick cell로 관찰되었다. 이에 반해 YS群에서는 AD群에 비해 58.5% 감소한 518±38 / 200,000 pick cell로 관찰되었다(Table 6.).

표피 기저부와 주변 진피에서 관찰되는 TNF-α 양성반응은 핵막주변 세포질에서 강하게 나타났으며, AD群에 비해 YS群에서 TNF-α 양성반응세포가 감소된 것으로 관찰되었다(Fig 34., 35.). AD群은 대조군에 비해 910.1% 증가한 2707±185 / 200,000 pick cell로 관찰되었다. 이에 반해 YS群에서는 AD群에 비해 77.8% 감소한 597±43 / 200,000 pick cell로 관찰되었다(Table 6.).

표피 기저부에서 관찰되는 IL-12B 양성반응은 세포질에서 강하게 나타났으며, AD群에 비해 YS群에서 IL-12B 양성반응세포가 감소된 것으로 관찰되었다(Fig 36., 37.). AD群은 대조군에 비해 763.3% 증가한 1269±141 / 200,000 pick cell로 관찰되었다. 이에 반해 YS群에서는 AD群에 비해 74.4% 감소한 325±21 / 200,000 pick cell로 관찰되었다(Table 6.).

진피유두와 손상 표피 기저부에서 관찰되는 CD28 양성반응은 세포질에서 강하게 나타났으며, AD群에 비해 YS群에서 CD28 양성반응세포가 감소된 것으로 관찰되었다(Fig 38., 39.). AD群은 대조군에 비해 726.3% 증가한 1636±163 / 200,000 pick cell로 관찰되었다. 이에 반해 YS群에서는 AD群에 비해 67.8% 감소한 526±29 / 200,000 pick cell로 관찰되었다(Table 6.).

Table 6. The Image Analysis of Immunohistochemistry for Inflammation Intricated Cytokine in YS treated Murine Skin with AD

Antibody	Group		
	CON(M±S.D)	AD(M±S.D)	YS(M±S.D)
PKC	357±21	1170±134	710±28*
NF-κB p50	211±31	1248±139	518±38*
TNF-α	268±28	2707±185	597±43*
IL-12B	147±39	1269±141	325±21*
CD28	198±13	1636±163	526±29*

(image analysis for 200,000 particles / range of intensity : 80 - 140)
Abbreviation : CON,no treated mice ; AD,atopic dermatitis elicited mice ; YS,YS extract administered mice after AD elicitation ; M±S.D,Mean ± Standard Deviation ; *P < 0.05 compared with AD

4) 세포기용 물질의 변화

표피기저부와 진피유두에서 관찰되는 ICAM-1 양성반응세포는 AD群에 비해 YS群에서 감소된 것으로 관찰되었다(Fig 40., 41.). AD群은 대조군에 비해 623.7% 증가한 2598±196 / 200,000 pick cell로 관찰되었으며, 이에 반해 YS群에서는 AD群에 비해 56.1% 감소한 1141±102 / 200,000 pick cell로 관찰되었다(Table 7.).

진피유두에서 관찰되는 CD11/18b 양성반응세포는 AD群에 비해 YS群에서 감소된 것으로 관찰되었다(Fig. 42., 43.). AD群은 대조군에 비해 238.2% 증가한 301±49 / 200,000 pick cell로 관찰되었다. 이에 반해 YS群에서는 AD群에 비해 27.9% 감소한 217±28 / 200,000 pick cell로 관찰되었다(Table 7.).

Table 7. The Image Analysis of Immunohistochemistry for Cell Adhesion in YS treated Murine Skin with AD

Antibody	Group		
	CON(M±S.D)	AD(M±S.D)	YS(M±S.D)
ICAM-1	359±28	2598±196	1141±102*
CD11/18b	89±7	301±49	217±28*

(image analysis for 200,000 particles / range of intensity : 80 - 140)
Abbreviation : CON,no treated mice ; AD,atopic dermatitis elicited mice ; YS,YS extract administered mice after AD elicitation ; M±S.D,Mean±Standard Deviation ; *P < 0.05 compared with AD

7. 피부내 細胞增殖과 細胞自己殺害 變化

1) 細胞增殖 變化 觀察

표피 기저층의 증식된 세포에서 관찰되는 BrdU 양성반응은 핵에서 강하게 나타났으며, AD群에 비해 YS群에서 반응세포가 감소된 것으로 관찰되었다(Fig 44., 45.). AD群은 대조군에 비해 366.4% 증가한 2677±181 / 200,000 pick cell로 관찰되었다. 이에 반해 YS群에서는 AD群에 비해 50.7% 감소한 1320±109 / 200,000 pick cell로 관찰되었다(Table 8.).

2) 細胞自己殺害 變化 觀察

표피의 자기살해세포에서 관찰되는 apoptotic 양성반응은 핵에서 강하게 나타났으며, AD群에 비해 YS群에서 반응세포가 감소된 것으로 관찰되었다(Fig 46., 47.). AD群은 대조군에 비해 1739.0% 증가한 4947±391 / 200,000 pick cell로 관찰되었다. 이에 반해 YS群에서는 AD群에 비해 85% 감소한 536±84 / 200,000 pick cell로 관찰되었다(Table 8.).

진피유두에서 관찰되는 Bcl-2 양성반응은 핵막 주변에서 강하게 나타났으며, AD群에 비해 YS群에서 반응세포가 증가된 것으로 관찰되었다(Fig. 48., 49.). AD群은 대조군에 비해 60.3% 감소한 1780±191 / 200,000 pick cell로 관찰되었다. 이에 반해 YS群에서는 AD群에 비해 89% 증가한 8169±384 / 200,000 pick cell로 관찰되었다(Table 8.).

진피유두에서 관찰되는 Bax 양성반응은 핵막 주변에서 강하게 나타났으며, AD群에 비해 YS群에서 반응세포가 감소된 것으로 관찰되었다(Fig 50., 51.). AD群은 대조군에 비해 469.3% 증가한 3974±245 / 200,000 pick cell로 관찰되었다. 이에 반해 YS群에서는 AD群에 비해 71.8% 감소한 1119±87 / 200,000 pick cell로 관찰되었다(Table 8.).

Table 8. The Image Analysis of Cell Proliferation and Apoptosis in YS treated Murine Skin with AD

Antibody	Group		
	CON(M±S.D)	AD(M±S.D)	YS(M±S.D)
BrdU	574±64	2677±181	1320±109*
Apoptosis	269±32	4947±391	536±84*
Bcl-2	4478±214	1180±191	8169±384*
Bax	698±52	3974±245	1119±87*

(image analysis for 200,000 particles / range of intensity : 80 - 140)
 Abbreviation : CON,no treated mice ; AD,atopic dermatitis elicited mice ; YS,YS extract administered mice after AD elicitation ;
 M±S.D,Mean±Standard Deviation ; *P < 0.05 compared with AD

8. 受動皮膚 anaphylaxis 抑制 效果

IgE 의존성 피부반응은 AD群에 비해 YS群에서 감소된 경향을 보였는데(Fig 52., 53.), 영상분석 결과 7107±354 / 200,000 pick cell인 AD群에 비해 YS群은 710±21 / 200,000 pick cell로 나타나 84.2%의 억제율을 보였다. 한편 IgE 의존성 피부반응이 일어난 부위의 비만세포의 형태변화를 살펴보면 AD群에서는 탈과립형 비만세포가 주된 분포경향을 보인 반면(Fig 54.), YS群에서는 과립형 비만세포가 주로 관찰되었다(Fig 55.).

9. *Staphylococcus aureus*의 生長 抑制 效果

*Staphylococcus aureus*는 YS 추출물에 대해 농도의존적인 생장억제 경향을 보였다(Fig 56., 57., 58., 59.). 무처리시 0.38±0.0012 unit/ml인데 비해 YS 추출물 1000배 희석 처리시 11.8% 감소한 0.335±0.0021 unit/ml, 100배 희석 처리시 12.9% 감소한 0.331±0.0014 unit/ml, 10배 희석 처리시 20.5% 감소한 0.302±0.0017 unit/ml로 관찰되었다(Fig 2.).

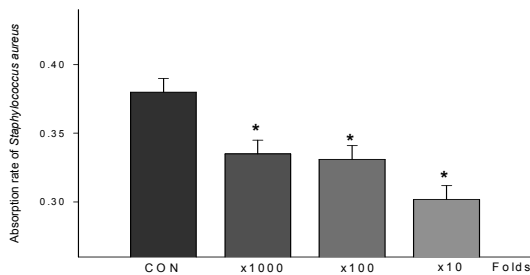
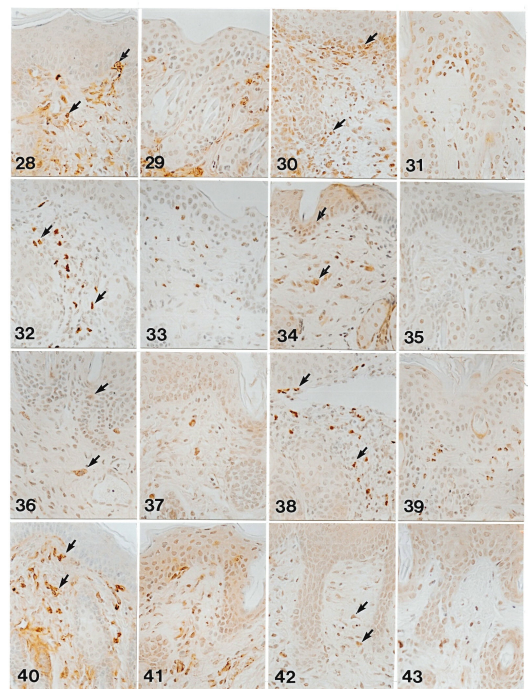
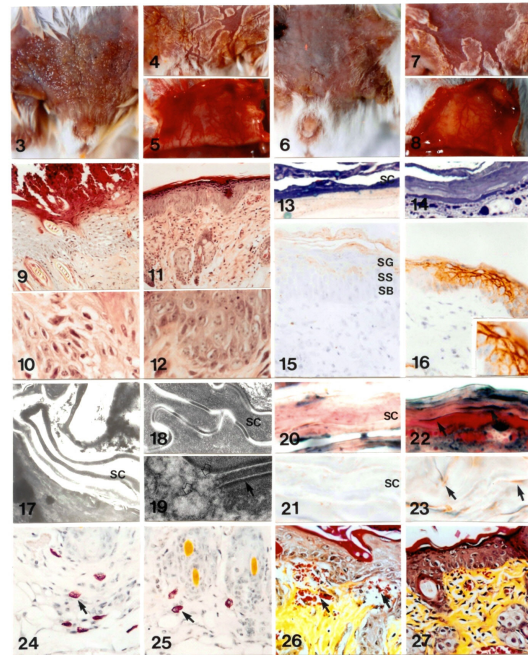


Fig. 2. The inhibition effect of proliferation in *Staphylococcus aureus* at hour-16 after YS extract treatment. The number of *Staphylococcus aureus* were dependently decreased by YS dilution and this decrease had probability in P<0.05 of student T test.

CON, no treated ; X1000, 1000-folds dilution ; X100, 100-folds dilution ; X10, 10-folds dilution



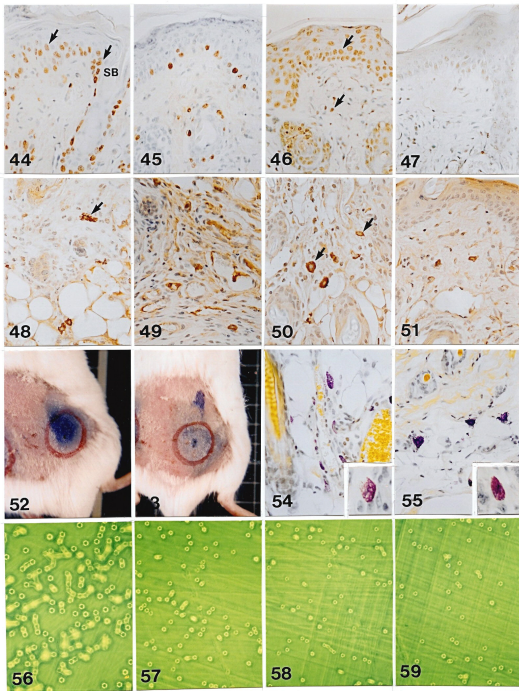


Fig 3-4, 6-7, 9, 11, 14, 20, 52-53. The morphology of back-skin, etc.
 Fig 5, 8. The vasculatur of dermatitis from mice
 Fig 10, 12, 19. The magnification of Fig 9., 11., 18.
 Fig 13. the destruction of stratum corneum(SC)
 Fig 15.-16. The distribution of SBA
 Fig 17.-18. The ultrastructure of SC
 Fig 28.-51. The immunohistochemistry of Hsp70, PKC, NF-κB p50, TNF-α, IL-12B, CD28, ICAM-1, CD11/18b, BrdU, Dcl-2, Bax, etc.
 Fig 54.-55. The distribution of degranulated type mast cell and granulated type mast cell
 Fig 56.-59. The palte of *Staphylococcus aureus* at hour-16.

IV. 考 察

東武 李濟馬는 『東醫壽世保元』¹⁾에서 臟局의 大小에 따라 사람의 體質을 太少陰陽人 네 가지로 區分하여 說明하고 있다. 少陽人은 脾大腎小라는 臟腑特徵을 가지고 있고, 이로 因하여 少陽人만의 特有한 病證을 形成하게 되는데, 이는 크게 脾受寒 表寒病과 胃受熱裏熱病으로 나눌 수 있다. 表病證은 다시 少陽傷風證과 亡陰證으로 區分되고, 裏病證은 胸膈熱證과 陰虛午熱證으로 區分된다²⁾. 涼膈散火湯은 이중 胸膈熱證에 使用된 代表的 處方으

로 生地黃, 忍冬藤, 連翹, 山梔子, 薄荷, 知母, 石膏, 防風, 荊芥 등으로 構成되어 있다. 處方名과 病證, 處方內容으로 보아 臟腑積熱을 治하고 三焦六經諸火를 瀉하는 『和劑局方』 涼膈散에서 瀉火之劑인 大黃 芒硝 黃芩과 補脾胃하는 甘草를 除去하고, 瀉胃火 生津하는 石膏, 補腎水 滋陰하는 生地黃 知母, 清熱解毒하는 忍冬, 祛風濕 清利頭目咽喉하는 荊芥 防風을 加한 것이다^{8,41,53,59)}.

涼膈散火湯의 適應證에 대해 李濟馬¹⁾는 『東醫壽世保元』 「胃受熱裏熱病論」에서 上消 纏喉風과 脣腫之輕症에 使用한다고 하였고, 元³⁾은 『東醫四象新編』 「用藥彙分」 내에서 中風 痰盛 및 熱症, 歷節風, 斑疹, 暴瘡, 燥證, 火熱證, 食傷, 痰滯, 冷滯, 宿滯, 吞酸, 嘈雜噎氣, 惡心, 氣鬱 및 痰鬱, 氣脹, 上消, 七氣, 氣鬱, 九氣, 尿血, 便血, 熱痰, 鬱痰, 小便不禁, 面熱, 風熱, 眼疾患, 睛腫, 鼻淵, 鼻瘡, 口舌疾患, 牙齒疾患, 乳蛾, 咽喉諸症, 乳癰, 足疾患, 胎動, 婦人 風痊, 小兒 慢驚, 五硬 등 總42個의 疾病에 광범위하게 應用하였으며⁴⁾ 이것은 李⁵⁾, 朴⁶⁾, 廉⁷⁾의 著書에서도 그대로 引用되었다. 朴⁸⁾은 實熱이 있고 心火가 上盛하거나 中焦에 燥實하여 多渴 頭暈 目赤 面發毒熱 舌腫 喉閉 吐血 衄血 頰腫 大小便秘 發斑 譫語 發狂 등에 쓴다고 하였다. 또한, 朴 等⁵³⁾은 涼膈散火湯을 胸悶, 手足痺, 運動障礙, 皮膚疾患, 口乾, 上焦熱 等に 使用한다고 하였다.

아토피란 用語는 遺傳的인 性向을 가지고, 多樣한 共通 環境 抗原에 IgE 抗體를 生産하여 나타나는 allergy性 鼻炎, 喘息, 아토피 피부염, allergy性 胃腸管 疾患 等を 말한다⁹⁻¹¹⁾. 이중 아토피 피부염은 allergy 反應 中 第I形에 속하는 過敏性 反應의 하나로 乳小兒期에 多發하는 것으로 알려진 代表的인 알레르기성 皮膚炎의 하나이다¹²⁻¹³⁾. 1892年 Besnier¹⁴⁾는 처음으로 慢性 또는 再發性的인 濕疹性 皮膚炎을 아토피 피부염이라고 기술하였으며, 1923年 Arthur Coca와 Robert Cooke¹⁵⁾는 臨床疾患과 關聯하여 atopy라는 用語를 使用하면서 즉시형 反應을 일으키는 抗原을 allergen으로 區分하였다. 主症狀은 심한 癢痒感, 紅斑, 浮腫, 滲出과 부스럼 따지를 特徵으로 하고, 急性期에는 表皮內에 水泡를 形成하며 慢性期에는 鱗屑과 皮膚의 肥厚가 생긴다¹⁶⁻¹⁷⁾. 아토피 피부염은 2~6個月의 乳兒에서 시작하고 全人口의 약 2%를 차지하며, 現代에 와서

환경공해나 대기오염이 심해지고 의식주의 변화, 학교나 사회생활과 같은 스트레스 상황이 많아지면서 發病率이 높아지고 있으며, 年齡層도 靑少年이나 成人에까지 높아진 추세이다. 아토피 피부염이 잘 낫지 않는 질환으로 인식되고 실제로 發病率이 증가하면서 現在에는 우리나라 皮膚科 外來患者의 약 5%를 차지할 정도로 큰 比重을 차지하고 있다¹⁸⁻²⁶.

韓醫學的으로 아토피 피부염은 奶癬, 胎癬, 胎斂瘡, 濕疹, 濕瘡, 四彎風, 淫瘡, 胎熱, 胎熱丹毒, 胎毒瘡疥, 赤游丹, 赤遊風 등의 범주에 속할 수 있으며, 原因으로는 風熱, 血熱, 濕熱, 血虛 등을 들 수 있다²⁷⁻³⁰.

文獻에서 살펴보면 陳³¹은 『外科正宗』에서 病因 및 皮膚損傷에 대하여 묘사했는데 奶癬은 아기가 母胎에 있을 때 어머니가 五辛을 먹고 아버지가 炙博을 攝取함으로 인해 아기에게 熱이 전해져 頭面과 偏身에 발하는데 流滋하여 조각을 형성하고 睡臥不安하며 가려움증이 끊이지 않는다고 하였고, 清代의 吳³²는 『醫宗金鑑』에서 胎斂瘡이라고 하여 이 증은 嬰兒의 頭頂部 혹은 眉部에 생기는데 奶癬이라고도 하며 가려워 白屑이 일어나고 癬疥와 같은 形狀을 하는데 胎中血熱로 인하여 마치 草가 風을 받아 떨어지는 것 같은 것을 乾斂이라 하였고, 또 잘못해서 뜨거운 물로 몸을 씻어 피부가 좁쌀처럼 일어나며 가려움증이 심하고 黃水가 浸淫하여 퍼져있는 것을 濕斂이라 하였다. 胎라는 言語를 자주 언급한 것으로 보아 선천성이거나 유전성의 경향을 띠는 것으로 인식하였음을 알 수 있다. 治法은 內治法으로 祛風清熱, 涼血解毒, 健脾燥濕, 養血祛風 등이 있고, 外治法으로 祛風止癢 潤燥하는 약물을 사용한 敷貼法, 洗滌法, 油膏法 등이 있다³³.

著者는 『東醫壽世保元』¹에 수록된 처방중 少陽人의 胸膈熱症을 다스리기 위해 사용된 涼膈散火湯이 清熱解毒 祛風濕 補腎水의 效능^{8,41,53,59}으로 인해 아토피 피부염에 치료효과가 있을 것으로 사료되어, 아토피 피부염을 유발시킨 생쥐에게 涼膈散火湯을 경구 투여한 후, 表皮 外部形態와 微細構造의 變化, 血液內 好酸性 白血球 變化, 皮膚 表皮細胞사이 공간 내 複合糖質의 變化, 角質層의 脂質 保護障壁 變化, 皮部內 炎症 變化, 上皮內 細胞增

殖과 細胞自己殺害 變化, 受動皮膚 anaphylaxis 抑制 效果, *Staphylococcus aureus*에 대한 生長 抑制效果를 觀察한 바 有意性있는 結果를 얻었다.

電解質과 水分損失을 抑制하고 외부의 물리적 손상과 자극적 물질로부터 인체를 보호하는 장벽인 피부 角質層은 각질세포와 lamella body에서 분비한 지질로 형성된 lipid lamella로 구성된다⁶³. 角質層의 脂質은 Ceramide, 유리지방산, 콜레스테롤, triglyceride, steryl ester 및 cholesterol sulfate로 구성되고 이중 ceramide가 26%정도로 가장 많이 존재하며⁶⁵, 그 役割은 세포사이의 구조적 결합, 피부장벽의 기능적 조절, 수분 함유와 투과장벽으로서의 작용⁶⁴ 등이 있는 것으로 알려져 있다. 이러한 角質層 지질 성분 중 Ceramide 결핍에 의한 장벽손상으로 인해 발생하는 대표적 피부질환이 아토피 피부염과 乾癬이다^{66,82}.

本 實驗에서는 이런 점에 着眼하여 생쥐에게 인위적으로 아토피 피부염을 유발하기 위해 우선 Christophers와 Mrowietz⁶⁷ 등의 방법으로 角質層 상부의 desquamation을 제거한 다음 Minehiro 들⁶⁸의 방법으로 계면활성제인 sodium dodecyl sulfate (SDS, sodium lauryl sulfate)을 塗布하여 角質層內 脂質을 제거하였다. 그 결과는 Sudan black B 염색을 통한 角質層內 脂質 分布 減少와 항 ceramide를 이용한 면역조직화학법을 통해 ceramide 분포가 감소된 것으로 확인하였다. 이로 인해 AD群에서는 아토피 피부염의 代表的 指標로 報告된⁶⁹ 搔痒性 丘疹性 紅斑(pruritic erythematous papules), 急性 皮膚損傷(subacute skin lesion), 細胞自己殺害(apoptosis), 好酸性 白血球와 脫顆粒形 肥滿細胞 浸潤 등의 增加가 일어났다^{44,83}. 반면 YS群은 AD群에 비해 角質層 損傷이 확인된 피부에서의 濕疹 및 乾癬이 감소하고, 과립 백혈구와 림프구 침윤 및 혈관에서 누출된 혈액의 분포가 소실되었으며, lipid lamella와 lipid body가 균일하게 분포하고, SBA 양성반응이 AD群과는 달리 과립층과 가시층의 세포사이 공간에서 강하게 나타나며, ceramide가 각질 세포 사이에서 강한 양성반응을 보이는 것으로 관찰되어, YS群이 搔痒性 丘疹性 紅斑과 急性 皮膚損傷에 유효한 효과가 있는 것으로 관찰되었다. 血液內 好酸性 白血球는 YS群이 AD群에 비해 atopy 유발 후 3일에서 50.3% 감소한 778±22.4개/μl로 나타났다. 비만세포

는 YS群에서 AD群에 비해 적은 수가 관찰되었으며 과립형이 주를 이루었다.

AD群에 유발시킨 피부손상은 외부에서 가해지는 여러 가지 스트레스로부터 상피내의 항상성을 유지하기 위한 스트레스 단백질의 합성 증가를 유도하며, 이로 인해 열 충격 단백질(Hsp)군이 대량 합성되게 된다⁷⁰⁾. 이 단백질의 하나인 Hsp 70은 환경적 스트레스에 의해 부분적으로 변성된 단백질들과 결합하여 이들 간의 상호 응축을 감소시키거나 새롭게 합성되어지는 폴리펩타이드의 적절한 폴딩과 세포내 이동 위치를 조절함으로써 세포를 보호하는 molecular chaperone으로 작용하는데, 정상적으로는 세포질 내에 위치하다가 스트레스가 가해지면 핵내 핵소체 주위로 이동하며, 회복기에 들어서면 다시 세포질로 돌아간다⁷¹⁾. 실험 결과 AD群에 비해 YS群에서 Hsp70 양성 반응세포가 감소되었으며, 이러한 Hsp 70의 양성 반응은 핵내에서 강하게 나타났다.

한편 각질층내 ceramide는 분해되면서 sphingosine을 생성시키고, 생성된 sphingosine은 protein kinase C(PKC)의 활성을 억제하는데⁷²⁾ 아토피 피부염 유발시에는 각질층내 ceramide 감소로 인한 PKC 활성이 유도되며 이는 피부 상피 기저층에서의 세포분열 증가를 일으킨다⁷³⁾는 보고와 일치하는 결과도 본 실험에서 나타났다. 이러한 외부자극은 nuclear factor(NF)- κ B의 세포내 작용을 유도하며, 이러한 NF- κ B의 조절이 깨어졌을 때 급성 염증에 의한 조직손상이 초래된다⁷⁴⁾. 傳寫因子인 NF- κ B는 세포질 내에서 I- κ B라는 抑制性蛋白質(inhibitory protein)이 부착된 상태로 존재하다가 자극이 오면 I- κ B가 떨어져 나가면서 분해되며, 남은 dimer(보통 p50-p65 heterodimer)가 세포질에서 핵으로 이동하여 cytokine, cytokine receptor, cell adhesion molecule, growth factor 등의 발현에 관여하는 유전자의 促進體(promoter)나 增強體(enhancer)의 κ B site에 결합함으로써 전사를 유도한다⁷⁵⁾. 본 실험에서도 AD群에서 NF- κ B p50의 분포가 상피기저층과 진피유두에서 급격하게 증가된 양상을 보였다. AD群은 대조군에 비해 491.5% 증가한 1248 \pm 139 / 200,000 pick cell로 관찰되었고, YS群에서는 AD群에 비해 58.5% 감소한 518 \pm 38 / 200,000 pick cell로 관찰되었다

NF- κ B p50의 활성은 TNF- α 와 IL-12B 등의 염증 유발성 cytokine의 발현 증가를 통해 염증반응 가속

화를 유도한다^{72,76)}. 본 실험에서 TNF- α 양성반응은 AD群이 대조군에 비해 910.1% 증가한 2707 \pm 185 / 200,000 pick cell로 관찰되었고, 이에 반해 YS群은 AD群에 비해 77.8% 감소한 597 \pm 43 / 200,000 pick cell로 관찰되었다. IL-12B 양성반응은 AD群이 대조군에 비해 763.3% 증가한 1269 \pm 141 / 200,000 pick cell로 관찰되었고, 이에 반해 YS群에서는 AD群에 비해 74.4% 감소한 325 \pm 21 / 200,000 pick cell로 관찰되었다.

또한 CD28분자의 증가도 관찰되었는데, CD28 signal에 의해 IL-2 mRNA 傳寫增加, T 림프구 증식, CD40 ligand와 CTLA-4 mRNA의 상향조절이 나타나게 되고, IL-2, IFN- γ , GM-CSF, TNF- α 의 발현이 증가하게 된다⁷⁷⁾. 본 실험에서 CD28 양성반응은 AD群이 대조군에 비해 726.3% 증가한 1636 \pm 163 / 200,000 pick cell로 관찰되었고, 이에 반해 YS群에서는 AD群에 비해 67.8% 감소한 526 \pm 29 / 200,000 pick cell로 관찰되었다

염증 증가는 염증세포의 이주에 관여하는 CD11/18b와 세포성 면역체계를 자극하는 세포유착분자인 ICAM-1의 발현증가를 유도한다⁷⁸⁻⁷⁹⁾. 그리고 이러한 염증관여세포의 유입은 조직손상을 가속화시키는 결과를 초래하는 것으로 사료된다. 본 실험에서 ICAM-1 양성반응은 AD群이 대조군에 비해 623.7% 증가한 2598 \pm 196 / 200,000 pick cell로 관찰되었고, 이에 반해 YS群에서는 AD群에 비해 56.1% 감소한 1141 \pm 102 / 200,000 pick cell로 관찰되었다. CD11/18b 양성반응은 AD群이 대조군에 비해 238.2% 증가한 301 \pm 49 / 200,000 pick cell로 관찰되었고, 이에 반해 YS群에서는 AD群에 비해 27.9% 감소한 217 \pm 28 / 200,000 pick cell로 관찰되었다.

細胞自己殺害는 몇 가지 일정한 신호전달체계에 의해 일어나는데, 첫째, 각종 성장요소, hormone, cytokine 등의 결핍 후 Bcl-2에 의한 細胞死 조절 및 미토콘드리아에서 cytochrome C가 유리되어 Apaf-1 활성화에 의한 caspase 활성화, 둘째, TNF, Fas 등 세포막에 존재하는 수용체 활성화 후 유도분자를 통한 caspase 활성화, 셋째, DNA 손상 후 p53, ATM kinase 등에 의한 細胞死 유도 등이 있다. Bcl-2, Bcl-xL, Bcl-w, EBV BHRF1, E1B19K 등은 세포의 생존 (apoptosis antagonist)을 담당하는데 반해서, Bax, Bak, Bim, Bil (Nbk), BAD, BID 등은 세포의 사망

(apoptosis agonist)을 유도한다. 본 실험에서 apoptotic 양성반응은 AD群이 대조군에 비해 1739.0% 증가한 $4947 \pm 391 / 200,000$ pick cell로 관찰되었고 이에 반해 YS群에서는 AD群에 비해 85% 감소한 $536 \pm 84 / 200,000$ pick cell로 관찰되었다. Bcl-2 양성반응은 AD群이 대조군에 비해 60.3% 감소한 $1780 \pm 191 / 200,000$ pick cell로 관찰되었고 이에 반해 YS群에서는 AD群에 비해 89% 증가한 $8169 \pm 384 / 200,000$ pick cell로 관찰되었다. Bax 양성반응은 AD群이 대조군에 비해 469.3% 증가한 $3974 \pm 245 / 200,000$ pick cell로 관찰되었고 이에 반해 YS群에서는 AD群에 비해 71.8% 감소한 $1119 \pm 87 / 200,000$ pick cell로 관찰되었다. 이로서, YS群에서 세포소멸이 감소하고, 세포 생존에 관여하는 인자들이 증가하였음을 알 수 있었다.

受動皮膚 anaphylaxis 억제 효과를 알아보기 위해, 등쪽 피부에서 검푸른색의 Evan blue 분포를 분석한 결과, AD群에 비해 YS群은 84.2% 억제된 $710 \pm 21 / 200,000$ pick cell로 관찰되었다.

*Staphylococcus aureus*는 YS 무처리시 0.38 ± 0.0012 unit/ml 인데 비해, YS 추출물 1000배 희석처리시 11.8% 감소한 0.335 ± 0.0021 unit/ml, 100배 희석처리시 12.9% 감소한 0.331 ± 0.0014 unit/ml, 10배 희석처리시 20.5% 감소한 0.302 ± 0.0017 unit/ml로 관찰되어, YS 추출물에 대해 농도 의존적인 성장억제 경향을 보였다.

이상에서 涼膈散火湯이 각질층내 지질, 특히, ceramide의 분포를 회복시키고 생성을 유도하며, 이를 통해 급성 염증 반응을 차단함으로써 피부손상을 억제시켜, 기능적 장벽 손상으로 기인된 아토피 피부염에 대해 치료효과가 있을 것으로 생각되는 결과가 관찰되었다. 또한, 涼膈散火湯은 항 IgE 항체로 유도된 즉시형 과민반응의 생체모델인 수동적 피부 anaphylaxis 반응을 억제함으로써 각종 피부항원에 대한 국소적 피부 알레르기반응을 치료할 수 있을 것으로 사료된다. 아울러 아토피 피부염으로 인한 손상 피부에서 90% 이상 감염된 것으로 보고된⁸⁰⁾ *Staphylococcus aureus*에 대한 涼膈散火湯의 성장 억제능을 조사한 결과, 농도 의존적인 감소 경향을 보여 *Staphylococcus aureus*에 의한 특정 IgE의 생산⁸¹⁻⁸²⁾을 억제하여 아토피 피부염을 완화시키는 효과도 있을 것으로 사료된다.

V. 結 論

본 연구는 아토피 피부염에 대한 涼膈散火湯의 치료효과를 조사하기 위해 생쥐 표피 각질층의 지방 방어 구조를 손상시켜 인위적으로 아토피 피부염을 유발시킨 후 涼膈散火湯 추출물을 경구 투여하였다. 그 결과 나타나는 외부 형태, 혈액 내 호산성백혈구의 빈도, 표피 미세구조, 각질층 세포사이 공간에서의 lipid lamella와 ceramide 분포, 스트레스 호르몬, 염증성 cytokine, 세포기능, 표피내 세포증식과 세포자기살해 등의 변화를 관찰하였다. 또한 涼膈散火湯이 수동적 피부 anaphylaxis 반응과 *Staphylococcus aureus*에 미치는 영향도 조사되었다.

아토피 피부염에서 발견되는 濕疹과 乾癬 등의 극심한 피부 손상은 涼膈散火湯 처리로 감소되었으며, 혈액 내 호산성백혈구 수의 증가도 억제되었다. 각질층 세포사이공간의 lipid lamella의 유실로 야기된 표피 손상은 涼膈散火湯 처리 후 lipid lamella가 회복됨으로써 완화되었고, 표피 손상시 증가된 스트레스 완충물질인 HSP70의 표피내 분포도 감소되었다. Lipid lamella의 회복은 ceramide에 의한 PKC의 활성 억제를 유도하여 표피내 세포증식을 조절하였다. 또한 세포자기살해 길항체인 Bcl-2의 분포는 증가되었고, 세포자기살해 작동체인 Bax의 분포는 감소됨으로써 표피내 세포자기살해는 감소되었다. 涼膈散火湯은 전사인자인 NF- κ B p50의 활성을 억제함으로써 TNF- α , IL-12B, CD28 등의 염증관련 cytokine의 분비 조절과 세포기능에 관여하는 ICAM-1과 그 배위자인 CD11/18b의 발현 억제를 유도하여 피부내 염증반응을 억제하였다. 아울러 항 IgE로 유도된 수동적 피부 anaphylaxis 반응도 억제되었으며, 아토피 피부염에 의한 손상 피부에 감염되는 *Staphylococcus aureus*에도 농도 의존적인 성장억제효과가 있는 것으로 확인되었다.

이상의 결과로 볼 때 涼膈散火湯은 아토피 피부염에 의한 피부 손상을 완화시켰으며 이는 각질층내 지방방어구조의 회복과 그로 인한 급성 염증유발 기전의 조절을 통해 이루어진 것으로 생각된다. 또한 *Staphylococcus aureus*에 대한 항균력을 보유함으로써 아토피 피부염 치료제로서의 가능성을 확인할 수 있었다. 아울러 피부 항원에 의한 국소적 피부 알레르기 치료제로서의 가치도 기대된다.

VI. 參 考 文 獻

1. 李濟馬. 東醫壽世保元. 여강출판사, 서울, 1994: 193-234.
2. 전국한외과대학 사상의학교실. 사상의학. 집문당, 서울, 1994:156-7, 532-3.
3. 元持常. 東醫四象新編. 文友社, 京城, 昭和四年: 東醫四象用藥彙分:1-19.
4. 尹報鉉. 東醫四象新編에 對한 研究. 동국대학교 대학원 석사학위논문, 2000:45.
5. 李道耕 譯編. 家庭必備四象要覽 增補版. 3판. 원불교출판사, 1995:24-95.
6. 朴寅商. 東醫四象要訣. 改訂版. 소나무, 서울, 1997:99-144.
7. 廉泰煥. 東醫四象處方集. 再版. 행림출판, 서울, 1999: 四象人病症別處方檢索一覽:2-55.
8. 朴爽彦. 東醫四象大典. 의도한국사, 서울, 1977: 281.
9. 전국의과대학교수 역. Current Medical Diagnosis & Treatment 37판. 도서출판 한우리, 서울, 1999: 866-870.
10. 문희범. 알레르겐과 아토피. 알레르기. 1994; 14(1):10-8.
11. 김유영, 이봉재, 이혜란, 이기영. 사천만의 알레르기. 초판. 소화, 서울, 1993:1-10.
12. 정규만. 알레르기와 한방. 제일로, 서울, 1993: 101-102.
13. A.D.T.Govan, P.S. Macfarlane, R. Callander . Pathology Illustrated. 2nd Edition. 고려의학, 1991: 115-8.
14. Kristal L, Clark RAF. Atopic dermatitis. In : Arnt KA, LeBoit PE, Robisonson JK, Wintroub BU, eds. Cutaneous medicine and surgery. Philadelphia. WS Saunders Company. 1996:195-204.
15. Coca AF, Cooke RA. On the Classification of the Phenomena of Hypersensitiveness. J Immunol 1923:8: 163-74.
16. 홍창의. 소아과학. 대한교과서 주식회사, 서울, 1997:1016-1018.
17. 서울대학교의과대학 피부과학교실. 피부질환의 진단과 치료. 서울대학교의과대학 출판부, 서울, 1992:122-124.
18. Charles D Forbes, Wklliam F Jackson. Color Atlas and Text of Clinical Medicine. 2nd edition. 도서출판 한우리, 서울, 1998:89-93.
19. 홍천수. 우리 나라에서 아토피가 증가하고 있는가?. 알레르기 학회지. 1995;15(3):300-303.
20. 김우경, 박재경, 이상록, 손지웅, 김윤근, 지영구, 송숙희, 조상헌, 민경업, 김유영. 최근 서울 지역에서의 아토피의 증가현상(1990-1994). 알레르기학회지. 1995;15(3):304-310.
21. 황재하, 장경희, 백용한, 서정훈, 이준구, 박중원, 홍천수. 호흡기 알레르기 환자에서 Phadiatop 과 혈청 총IgE 측정의 아토피 선별 효과 비교. 천식 및 알레르기. 1998;18:243-251.
22. 조용옥, 박해심, 오승현, 홍천수. 흡인성 알레르겐 12종에 대한 정상 한국인의 즉시형 피부반응에 관한 연구. 대한의학협회지. 1987;30:647-656.
23. 박영민, 박홍진, 김태운, 김정원. 피부과 외래환자에서 아토피 피부염의 상대빈도와 임상적 특징 및 검사 소견에 관한 연구. 대한피부과학회지. 1997;35(1):96-106.
24. 대한피부과학회. 피부과학.麗文閣, 서울, 1994: 133-138.
25. 안성구 등. 흔히보는 피부질환. 고려의학, 서울, 1993:6-10.
26. 이영진 등. 아토피 皮膚炎에서 아토피 지표의 의의. 소아알레르기 및 호흡기 학회지. 1996; 4(12):11-24.
27. 顧伯華. 實用中醫外科學. 上海科學技術出版社, 上海, 1985:280-282, 461-463.
28. 巢元方. 諸病源候論校釋. 人民衛生出版社, 北京, 1982:1383.
29. 신광호, 한동하. atopy性 皮膚炎 건선 지루성피부염의 감별 진단에 대한 동서의학적 감별. 한의외치요법학회지. 2002;4(1):5-15.
30. 김정찬. 피부과학원색도감. 도서출판 정담, 서울, 1999:72-74.
31. 陳實功. 校正外科正宗. 錦章圖書局, 上海, 1860: 11-13.
32. 吳謙. 醫宗金鑑. 人民衛生出版社, 北京, 1982: 443-4.
33. 공남미, 지선영. 아토피 피부염의 양한방적 고찰. 대한외관과학회지. 1999;12(1):241-253.

34. 윤화정, 고우신. 아토피 피부염 환자에 대한 임상적 연구(한의학적인 임상유형분류 및 치료). 대한한의학회지. 2001;22(2):10-21.
35. 박성식. 피부소양증 치료에 관한 임상적 연구. 사상체질의학회지. 1999;11(2):361-76.
36. 류혜정, 채병윤. 皮膚癢痒症에 대한 文獻의 考察. 東醫學會誌. 1998;2(1):185-197.
37. 金璟溶, 蔡炳允. 癢痒性 皮部疾患에 대한 臨床的 考察. 대한한의학회지. 1994;15(1):763-770.
38. 조용주, 채병윤. atopy性 皮膚炎의 발생 부위에 관한 고찰. 東醫學會誌. 1998;2(1):174-184.
39. 김남권, 문상돈. 사상체질검사를 통한 성인형 아토피 皮膚炎 환자의 예후에 대한 임상적 고찰. 동의생리병리학회지. 2001;15(6):1029-1033.
40. 구덕모. 아토피 皮膚炎 치료에 관한 사상의학적 임상연구. 사상체질의학회지. 2002;14(2):69-77.
41. 서용, 송정모. 소양인 신정처방의 형성과정에 대한 고찰. 사상의학회지. 1997;9(1):213-43.
42. 김윤희, 이한철. 아토피 皮膚炎에 관한 동서의학적 고찰. 대한한방소아과학회지. 1993;7(1):121-133.
43. 최인화, 채병윤. 아토피 皮膚炎에 관한 임상적 연구. 대한한의학회지. 1991;12(1):73-83.
44. 남봉수, 조재훈, 김윤범, 채병윤. 아토피 皮膚炎에 대한 임상적 연구. 대한한의학회지. 2000;21(4):204-215.
45. 이승희, 김장현. 보폐정천탕을 이용한 아토피 皮膚炎 치료에 관한 임상연구. 대한한방소아과학회지. 2000;14(1):137-152.
46. 권미원, 이해자, 박은정, 황우준. 아토피 皮膚炎 환자 20명에 대한 임상적 고찰과 ECP의 변화. 대한한방소아과학회지. 2000;14(2) 121-132.
47. 이진용, 김덕곤. 아토피 皮膚炎 환자 67명에 대한 임상적 고찰. 대한한방소아과학회지. 1999;134(2):171-186.
48. 박혜선, 지선영, 구덕모. 아토피 皮膚炎의 중의외치법 고찰. 대한외관과학회지. 2001;14(1):32-41.
49. 윤보현, 신광호. 아토피성 皮膚炎에 대한 메디슨 침 요법의 효과. 한의외치요법학회지. 2002;4(1):24-7.
50. 정찬호, 지선영. 아토피 皮膚炎에 대한 단식시험 2례. 대한외관과학회지. 1995;8(1):153-161.
51. 김관현. 涼膈散火湯의 복발성 구강과양을 치료한 경험. 사상의학회지. 1996;8(2):257-8.
52. 崔載永, 朴性植. 四象醫學的 中風治療 157例에 對한 臨床的 研究. 사상의학회지. 1998;10(2):431-453.
53. 朴性植, 金智鎔, 崔載永. 涼膈散火湯 活用に 對한 臨床的 研究. 사상의학회지. 1998;10(2):455-471.
54. 홍성범, 홍순용. 소양인에 응용되는 涼膈散火湯이 백서의 당뇨병에 미치는 영향. 사상의학회지. 1991;3(1):201-17.
55. 최병일, 송일병. 소양인 涼膈散火湯과 忍冬藤地骨皮湯 및 熟地黃苦參湯이 Alloxan 투여 고혈당 백서에 미치는 영향. 사상의학회지. 1998;10(2):513-532.
56. 손상곤, 신민규, 송일병. 涼膈散火湯이 뇌혈류 및 뇌허혈 손상에 미치는 영향. 사상의학회지. 2001;13(2):165-176.
57. 이동원. 지주막하출혈에 의한 뇌기저동맥 변화에 미치는 涼膈散火湯의 효과. 동국대학교 대학원 박사학위논문. 1998.
58. 권덕윤, 김경요. 涼膈散火湯이 소양인 뇌경색증 환자의 세포활성물질 생성조절에 미치는 영향. 사상의학회지. 2000;12(2):153-161.
59. 金鎭成. 涼膈散火湯의 效能에 關한 實驗的 研究. 사상의학회지. 1989;1(1):113-23.
60. 박재형. 涼膈散火湯이 Gold thioglucose로 유발된 백서의 비만증에 미치는 효과. 대한한의학회지. 1996;17(2)
61. 남창규. 涼膈散火湯이 고혈압 및 고지혈증에 미치는 영향. 대전대학교 대학원 석사학위논문. 1995.
62. 조세왕. 涼膈散火湯이 Allergy성 접촉피부염에 미치는 영향. 동국대학교 석사학위논문. 2000.
63. Gopinathan K. M. : New insights into skin structure: Scratching the surface. Adv. Drug Delivery Rev. 2002;S3-17:54.
64. Elias P. M., Williams M. L., Maloney M. E., Bonifas J. A., Brown B. E., Grayson S. and Epstein E. H. Straum corneum lipids in disorders of cornification. J.

- Clin. Invest. 1984;74:1414-1421.
65. Feinglod K. R. The regulation and role of epidermal lipid synthesis. *Adv. Lipid Res.* 1998;24:57-82.
 66. Motta S., Monti M., Sesana S., Mellesi L., Ghidoni R. and Caputo R. Abnormality of water barrier function in psoriasis. *Arch Dermatol.* 1994;130:452-456.
 67. Christophers E. and Mrowietz U. The inflammatory infiltrate in psoriasis. *Clin. Dermatol.* 1995;13:131-135.
 68. Minehiro O., Takashi Y. and Hideoki O.. Detergent-induced epidermal barrier dysfunction and its prevention. *J. Dermatol. Sci.* 2002;30:173-179.
 69. Donald Y. M and Thomas Bieber. Atopic dermatitis. *Lancet.* 2003;361:151-60.
 70. De Maio A. The heat-shock response. *New Horiz.* 1995;2:198-207.
 71. Valazquez J. M. and Lindquist S. H.. Hsp 70 - Nuclear concentration during environmental stress and cytoplasmic storage during recovery. *Cell.* 1984;36:655-622.
 72. Andrea H., Thomas k., Josef P. and Konrad S.. Physiology and pathophysiology of sphingolipid metabolism and signaling. *Biochemica et Biophysica Acta.* 2000;1485:63-99.
 73. Hunnum Y. A. and Bell R. M.. Function of sphingolipid breakdown production in cellular regulation. *Science.* 1989;243:500-507.
 74. Baeuerle P. A. I κ B-NF- κ B structure at the interface of inflammation control. *Cell.* 1998;95:729-731.
 75. Baeuerle P. A. and Baltimore D.. NF- κ B - Ten years after. *Cell.* 1996;87:13-20.
 76. Yoshida S., Ono M., Shono T., Izumi H., Ishibashi T., Suzuki H., Kuwano M. Involvement of IL-8, vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor in TNF- α dependent angiogenesis. *Mol. Cell Biol.* 1997;17:4015-4023.
 77. Cerdan, C. Martin, Y., Courcoul, M. Prolonged IL-2 receptor alpha/cd25 expression after T cell activation via the adhesion molecules CD2 and CD28. *J. Immunol.* 1992;149:2255-2261.
 78. Z. Morise, S. Komatsu, J. W. Fuseler, D. N. Granger, M. Perry, A.C. Issekutz and M. B. Grisham. ICAM-1 and P-selectin expression in a model of NSAID-induced gastropathy. *Am J Physio.* 1998;27:G246-252.
 79. Y. X. Li, N. Li, Y.-S Li, B. Wu, and J.-S. Li. Upregulated intragraft gene expression, ICAM-1 and IL-2R molecules and apoptotic epithelial cells during rejection of rat small intestine allografts. *Transplant Proceed.* 2000;32:1283-1286.
 80. Akiyama H, Tada H, and Torigoe R. Detection of very slow-growing methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in skin lesion of atopic dermatitis patient. *Jpn J Dermatol.* 1994;104:119-21.
 81. Bunikowski R, Mielke M. E. and Skarabis H. Evidence for a disease promoting effect of *Staphylococcus aureus* - derived exotoxins in atopic dermatitis. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2000;105:814-19.
 82. Paige D. G., Morse-Fisher N., Harper J. I.. Quantification of stratum corneum ceramides and lipid envelope ceramide in the hereditary ichthyoses. *Br. J. dermatol.* 1994;131:23-27.
 83. Hanifin JM. Immunologic Aspects of Atopic Dermatitis. *Dermatol Clin.* 1990;8:747-50.
 84. 백종현, 이무형, 김낙인, 허충립. 아토피 피부염 환자의 혈장 히스타민농도. *대한피부과학회지.* 1999;37(11):1553-9.