

榆白皮가 抗炎作用에 미치는 影響*

盧石善**

Experimental study on the Anti-inflammatory and wound healing effect of *Ulmus parvifolia*

Abstract

No Seok-seon
Dept. of Oriental Medicine
Graduate School, Taejon University

Ulmus parvifolia(UP) is important prescriptions that have been used in oriental medicine for stomatitis and wound healing. The study was done to evaluate the inhibitory effects of cytotoxicity, formation of superoxide on the macrophage and neutrophil, prostaglandins(PGE₂), interleukins(IL-1 β), collagenase activity and synthesis of collagen and DNA.

The results were obtained as follows:

1. UP was not showed the proliferation difference of human fibroblast and monocyte in all concentrations to be experimented and in result, it was concluded that they have no cytotoxicity.

2. UP inhibited the formation of superoxide to 22% at 0.01%, 52% at 0.001% in the mouse monocyte.

3. UP inhibited the formation of superoxide to 6% at the concentration of 0.001% as compared with control in the human monocyte.

4. UP was not showed the proliferation difference of human neutrophil in all

concentrations to be experimented and in result, it was concluded that they inhibited the formation of superoxide.

5. UP was not showed the proliferation difference of human monocyte in all concentrations to be experimented and in result, it was concluded that they inhibited the formation of prostaglandins(PGE₂) in the human monocyte stimulated with *E. coli*.

6. UP was showed the all concentration of inhibiting the production of interleukins(IL-1 β) to slight in the human monocyte stimulated with *E. coli*.

7. UP influence on collagen synthesis and total protein in fibroblasts to at the slight of 0.05%, specially to excellent to 0.2%.

8. UP inhibited the collagenase activity to 20% at 0.1%, 31% at 0.2%, 45% at 0.5%, 24% at 0.01% respectively.

I. 緒 論

榆白皮는 참느릅나무의 樹皮로서 味는 甘하고 性은 平·無毒하여 주로 胃, 大腸, 小腸經으로 歸經하며 利水, 通淋, 消癰腫, 滲濕熱, 行津液 等の 效果가 있어서 小便不通, 淋濁, 癰疽發背, 丹毒, 疥癬 등을 治療하며 水道를 잘 通하게 하고 邪氣와 腸胃의 邪熱을 없애며 부은 것을 빠지게 하는 效能이 있다¹⁻⁴⁾

口舌生瘡은 口瘡으로 頰粘膜, 口脣粘膜, 口蓋,

* 이 논문은 대전대학교 교내 학술연구비 지원에 의한 것임

** 大田大學校 韓醫科大學 外官科學教室

舌, 口腔 및 齒齦 등에 생기는 局所的 또는 全身的 要因에 의한 口腔粘膜의 炎症⁵⁻¹²⁾인 口內炎을 말하는데, <素問>¹³⁾에 口瘡, 口瘍이라고 言及된 後 諸家들에 의하여 大人口破^{7,14-18)}, 口疳^{7-10,17-20)}, 口瘍^{7,13,17,18)}이라 稱하여져 왔다.

口瘡의 病因은 實證으로 臟腑積熱, 實火, 上焦實熱, 三焦火盛, 心熱, 外感邪熱, 虛證으로는 陰虛, 上焦虛熱, 中焦虛, 中焦虛寒, 下焦陰火, 虛火 등으로 分類할 수 있으며, 西洋醫學에서는 原因에 따라 크게 原發性 및 續發性 口內炎으로, 病態에 따라서는 單純性, 潰瘍性, 壞疽性, 偽膜性, 아프타性으로 分類하고 原因은 感染이 대부분이며 이의 營養障礙, 貧血, 萎黃症, 胃腸障礙, 發熱 등과 機械的, 化學的, 溫熱的인 刺戟에 의해 發生된다^{5,6,12)}.

口瘡의 治療는 內治로 實證은 瀉心火, 清脾熱, 涼血解毒으로, 虛證은 補心血, 滋陰養脾 등을 活用하였고, 外治는 消腫止痛, 祛腐生肌, 收斂 등의 方法이 使用되어 왔고^{7-9,17-20,22)}, 西洋醫學에서는 抗生劑나 免疫抑制劑의 投與, 洗淨·消毒劑의 局所的 塗布, 外科的 手術, 紫外線 照射 등이 活用되고 있으나^{5,7,12)} 肝이나 腎臟에 對한 副作用과 根本的인 治療의 未備로 因한 再發, 알레르기나 口腔 칸디다증의 위험, 부신피질 호르몬이나 Steroid 製劑로 因한 副作用 등이 提起되고 있다.

最近 消炎 및 抗菌作用에 對한 實驗的 研究로는 姜²³⁾의 “托裏消毒飲의 消炎作用에 對한 實驗的 研究”, 金²⁴⁾의 “回春涼膈散이 抗알레르기 및 消炎, 鎮痛, 解熱效果에 미치는 影響” 등이 있고, 組織再生에 對한 研究로는 黃²⁵⁾의 “艾灸 損傷皮膚의 治愈過程에 關한 組織學的 研究”, 辛²⁶⁾의 “十全大補湯이 生肌作用에 미치는 影響” 등이 있으나, 楡白皮의 抗炎作用, 免疫反應 및 組織再生에 對한 實驗的 研究는 아직 接하지 못하였다.

이에 著者는 楡白皮의 實驗的 研究를 위하여 in vitro 모델로 人體의 纖維芽細胞, 單核細胞, 中性白血球와 흰쥐의 單核細胞를 利用한 細胞毒性實驗, superoxide 生成 抑制效果, immunoassay를 利用한 prostaglandins(PGE₂) 및 interleukins(IL-1β) 生成 抑制效果, ¹⁴C-proline를 利用한 collagen 合成 및 ³H-thymidine를 利用한 細胞增殖 促進效果

인 DNA 合成, collagenase 活性 抑制效果를 測定하는 實驗을 하여 有意性 있는 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

II. 實驗材料 및 方法

1. 材料

1) 人體

單核細胞 및 中性白血球의 分離培養은 全身疾患이 없는 成人으로 부터 구연산을 抗凝固劑로 使用하여 320ml의 靜脈血液을 採集하였고, 纖維芽細胞 分離培養은 産婦人科에서 生後 3日된 幼兒의 包莖手術時 切開된 袍皮組織을 直徑 3.5mm petri dish에서 無菌的으로 細密하게 切開하여 使用하였다.

2) 動物

生後 8週齡의 female hairless mouse(LG화학기술원 바이오텍 연구소) 18마리를 溫度 24±3°C, 相對濕度 55±5%, 換氣回數 10-12回/hr, 照明(07:00-19:00), 照度 150-200 lux로 設定된 動物室에서 小鼠용 固形飼料(퓨리나사료(주))를 自由給食시켰고 飲水는 상수도 물을 자유롭게 攝取시켰다. 動物入手 後 약 1週日間 動物室에서 順化시켰으며 順化期間中 一般狀態를 觀察하여 健康한 動物만을 實驗에 使用하였다.

3) 藥材

實驗에 使用한 藥劑는 大田大學校 附屬韓方病院에서 購入한 後 精選하여 使用하였다.

Prescription of Ulmus parvifolia(UP)

韓藥名	生藥名	重量(g)
楡白皮	Ulmus parvifolia	150

2. 方法

1) 檢液調劑

楡白皮를 HBSS 緩衝溶液에 溶解시켜 試驗濃度는 各 試驗方法에 따라 0.1, 0.01, 0.001, 0.0001%濃度を 製造하여 實驗에 使用하였다.

2) 採血 및 血清과 細胞分離培養

① 單核細胞의 分離培養

全身疾患이 없는 健康한 成人으로부터 구연산을 抗凝固劑로 使用하여 320ml의 靜脈血液을 採集하였다. 採集된 靜脈血液을 1200rpm에서 10分 동안 遠心分離한 後에 一次的으로 中層의 白血球 濃縮液을 回收하여 二次的으로 RPMI 1640 培地와 1:1의 比率로 稀釋한 後에 50ml의 遠心分離管에 ficoll-paque(pharmacia biotech) 12ml을 添加한 後에 稀釋된 血液 30ml을 中層이 되도록 주의깊게 添加하여 1600rpm에서 30分 동안 遠心分離한 後에 血清이 包含된 上層을 除去하고 單核細胞가 含有된 中層을 주의깊게 稀釋한 다음에 3배의 RPMI 1640 培地를 添加하고 800rpm에서 10分 동안 遠心分離 시킨 다음 上騰液을 버리고 RPMI 1640 培地를 10ml 添加하고 부드럽게 pipetting한 다음에 800rpm에서 10分 동안 遠心分離한 後에 上騰液을 버리고 RPMI 1640 培地를 添加하여 pipetting한 後에 24-well plate에 10^6 cell/well로 분주하고 95% 공기, 5% CO_2 , 100% 濕度 條件下에서 無菌的으로 培養하였다.

② 中性白血球의 分離培養

全身疾患이 없는 健康한 成人으로부터 구연산을 抗凝固劑로 使用하여 320ml의 靜脈血液을 採集하였다. 採集된 靜脈血液을 1200rpm에서 10分 동안 遠心分離한 後에 一次的으로 中層의 白血球 濃縮液을 回收하여 二次的으로 RPMI 1640 培地와 1:1의 比率로 稀釋한 後에 50ml의 遠心分離管에 ficoll-paque(pharmacia biotech) 12ml을 添加한 後에 稀釋된 血液 30ml을 中層이 되도록 주의깊게 添加하여 1600rpm에서 30分 동안 遠心分離한 後에 血清이 包含된 上層液과 單核細胞 및 ficoll-paque를 除去하고 沈澱된 赤血球 및 中性白血球에 同一量의 RPMI 1640를 添加하고 PBS 緩衝液에 溶解시킨 3% dextran 20ml을 添加하여 10分 동안 常溫에서 放置시킨 後에 中性白血球가 豊富한 上騰液을 取하여 1200rpm에서 10分 동안 遠心分離 시키고 上騰液을 버린다. 남아있는 赤血球를 除去하기 위하여 먼저 0.2%의 PBS 緩衝液 10ml을 30秒 동안 處理한 後에 1.6% PBS 緩衝液을 즉시 添加하여 等張液으로 回復시킨 後에 細胞浮遊物을 1200rpm에서 10分 동안 遠心分離 시킨 後에 上騰液을 버리는 方法으로 赤血球 溶血을 한 번

더 反復한 後에 RPMI 1640 培地를 添加하여 pipetting한 後에 24-well plate에 10^6 cell/well로 분주하고 95% 공기, 5% CO_2 , 100% 濕度 條件下에서 無菌的으로 培養하였다.

③ 纖維芽細胞의 分離培養

産婦人科에서 生後 3日된 乳兒의 包莖手術時 切開된 袍皮組織을 直徑 3.5mm petri dish에서 無菌的으로 細密하게 切開하여 penicillin, streptomycin, fetal bovine serum 10%를 含有하는 DEME 培地에서 2週 동안 培養한 後에, 바닥에 붙은 纖維芽細胞를 trypsin 溶液을 2번 處理하여 버리고 血清含有 培地를 添加하여 여러번 pipetting한 後에 새로운 culture bottle에 細胞를 분주하여 subculture 하였다.

3) Cytotoxicity test

生後 3日된 乳兒의 袍皮로 부터 primary culture한 纖維芽細胞 血液으로 부터 純粹分離 培養한 monocyte를 24-well plate에 10^6 cell/well 되도록 분주한 다음 10% FBS가 含有된 DEME 및 RPMI 1640 培地에서 하루동안 培養한 다음날 既存의 培地를 新鮮한 培地로 交替하여 24時間 동안 培養한 後에 HBSS 緩衝溶液으로 바닥에 붙은 細胞層을 洗滌한 다음 血清이 包含되지 않은 MEM 培地 0.9ml을 添加한 다음, 楡白皮를 試驗濃度 100 μ l를 添加한 다음 24時間 培養한 後에 HBSS 緩衝溶液에 溶解시킨 MTT(methyl thiazol-2-yl-2,5-diphenyl tetrazolium bromide)溶液 0.5ml을 各 well에 넣고 4時間 동안 培養한 後에 MTT 溶液을 除去하고 formazon 結晶을 溶解시키기 위하여 DMSO를 500 μ l씩 添加하였다. Plate를 잘 흔든 後에 microplate reader로 570nm에서 吸光度를 測定하였다. 對照群으로는 매 實驗마다 實驗溶液이 들어있지 않은 MEM 培養液 well을 使用하였다. 모든 實驗結果는 對照群에 對한 百分率로 計算하였다.

4) Macrophage 및 neutrophil의 superoxide 生成 測定

24-well plate를 使用하여 各 well당 HBSS 緩衝溶液에 稀釋시킨 사람의 macrophage 혹은 neutrophil, mouse macrophage(ATCC TIB 67)를

10⁶cell/well 되게 아래와 같이 添加하고 FMLP를 處理하고 37℃에서 15分 동안 培養하여 細胞를 刺戟한 다음에

- *. macrophage 10⁶개 0.45ml
- *. FMLP 10⁻⁶M 0.05ml

cytochrome C, superoxide dismutase, HBSS를 다음과 같이 處理 한 後 37℃에서 10分間 保溫하고

- *. 試驗物質 ×10濃縮 0.1ml
- *. cytochrome C 80 μM 0.1ml
- *. superoxide dismutase 30μg 0.1ml
- *. HBSS solution 1.01ml(總反應液)

刺戟物質인 opsonized zymosan A를 最終濃度 1.3 mg/ml 되게 1ml을 添加하고 振蕩하면서 37℃에서 90分間 保溫한 後에, 4℃에 10分間 넣어 反應을 停止시킨 다음에 4℃, 1500rpm, 10min. 동안 遠心分離한 後 上騰液을 550nm에서 optical density를 測定하고 superoxide anion의 生成量은 다음 식에 의하여 計算된다.

$$O^{-2} \equiv \frac{\Delta O.D.}{21.0} \times 10^3 (nmoles / 10^6 cell. min)$$

$$\Delta O.D. \equiv (B-D) - (A-C) \equiv (B+C) - (D+A)$$

	A	B(對照群)	B(藥效劑)	C	D
cells	0.5ml	0.45ml	0.45ml	0.5ml	0.45ml
cytochrome C	0.1ml	0.1ml	0.1ml	0.1ml	0.1ml
SOD	-	-	-	0.1ml	0.1ml
FMLP(10 ⁻⁶ M)		0.05ml	0.05ml		0.05ml
zymosan	-	0.1ml	0.1ml	-	0.1ml
新規藥效劑	-	-	0.1ml	-	-
反應液	0.4ml	0.3ml	0.2ml	0.3ml	0.2ml
總 合	1.00ml	1.00ml	1.00ml	1.00ml	1.00ml

5) 單核白血球의 prostaglandins(PGE₂) 生成에 미치는 影響

血液에서 分離한 血液 單核白血球를 24-well plate에 0.8ml 添加하여 10⁶cell/well 되도록 분주하고 RPMI 1640 培地 200μl를 添加한 well을 對照群, E. coli LPS(250 ppm) 100μl와 楡白皮(1, 0.1, 0.01, 0.001%) 100μl를 添加한 well을 實驗群으로 하여 24時間 동안 培養한 後, arachidonic acid 50 μl를 添加하여 30分 동안 더 培養한다. 염소의 항

-마우스 IgG를 附着시킨 96-well plate의 blank well에 50μl 緩衝溶液(0.9% NaCl, 0.1% 소 血清 albumin, 0.5% kathon을 含有하는 0.1M 磷酸 緩衝溶液)을 添加하고, 標準(0, 1, 2, 4, 8, 16, 32pg/well)well에는 50μl의 適當 濃度の 標準溶液을 添加한 다음 實驗群 well에 上記의 細胞培養液 50μl 添加하고, blank well을 除外한 모든 well에 50μl의 prostaglandins(PGE₂)에 對한 抗體를 添加한 다음 4℃에서 3時間 동안 維持시킨 後 繼續해서 50μl의 prostaglandins(PGE₂) conjugate peroxidase를 blank well을 除外한 모든 well에 添加하여 다시 4℃에서 1時間 동안 維持시킨 後 洗滌緩衝溶液(0.05% 트윈 20을 含有하는 磷酸 緩衝溶液: ph7.5)으로 4번 洗滌하고 常溫에서 150μl의 酵素機質(20%의 디메틸포르마이드에 溶解된 3, 3', 5, 5'-테트라메틸벤지딘/과산화수소)를 즉시 添加하고 25℃에서 30分 동안 維持시키고 1M 황산 100μl를 添加한 後 microplate reader로 450nm에서 吸光度를 測定하여 實施例 혹은 比較例의 吸光度 값(T)에 blank의 吸光度 값(B)를 나눈 다음 100을 곱하여 % 값으로 標示하여 나타내었다.

6) 單核白血球의 interleukins(IL-1β) 生成에 미치는 影響

血液에서 分離한 血液 單核白血球를 24-well plate에 0.8ml 添加하여 10⁶cell/well 되도록 분주하고 RPMI 1640 培地 200μl를 添加한 well을 對照群, E. coli LPS(250 ppm) 100μl를 添加한 well 및 LPS(250 ppm) 100μl와 indomethacin, LPS(250ppm) 100μl와 楡白皮(1, 0.1, 0.01, 0.001%) 100μl를 添加한 well을 實驗群으로 하여 24時間 동안 培養한 後, arachidonic acid 50μl를 添加하여 30分 동안 더 培養한다. Interleukins (IL-1β)의 抗體가 附着된 96-well plate의 well에 標準溶液(0, 10.24, 25.6, 64, 160, 400pg/well)을 50 μl 添加한 다음 實驗群 well에 上記의 細胞 培養液 50μl 添加하고, 모든 well에 50μl의 biotinylated antibody reagent를 添加한 다음 25℃에서 3時間 동안 維持시킨 後 洗滌緩衝溶液으로 3回 洗滌하고, streptavidin-HRP conjugate를 모든 well에 添加하여 다시 25℃에서 30分 동안 維持시

킨 後 다시 洗滌緩衝溶液으로 3번 洗滌하고 100 μ l의 酵素機質을 즉시 添加하고 25 $^{\circ}$ C 暗室에서 plate의 뚜껑을 열어둔 채로 30分 동안 維持시키고 0.18M 황산 100 μ l를 添加한 後 microplate reader로 450nm에서 吸光度를 測定하여 標準溶液의 吸光度 값으로 standard curve를 作成하여 實驗群의 interleukins(IL-1 β) 生成量を 算定하였다.

7) 纖維芽細胞의 total protein 및 collagen 合成 測定

生後 3日된 乳兒의 袍皮로부터 primary culture한 纖維芽細胞를 24-well plate에 10⁶cell/well 되도록 분주한 다음 10% FBS가 含有된 DMEM 培地에서 하루 동안 培養한 다음날 既存의 培地를 新鮮한 培地로 交替하여 24時間 동안 培養한 後에 HBSS 緩衝溶液으로 바닥에 붙은 細胞層을 洗滌한 다음 血清과 proline이 包含되지 않은 MEM 培地 0.8ml를 添加한 다음 藥效劑로 ascorbic acid 및 楡白皮를 各各 試驗濃度 添加한 다음 C¹⁴-proline(10 μ Ci)100 μ l를 包含한 培養液으로 細胞를 培養하였다. 24時間이 經過한 後에 總蛋白質과 collagen 蛋白質을 測定하였다. 먼저 細胞外 總蛋白質의 合成量を 測定하기 위하여 각 well의 培養液을 한쪽 끝이 封印된 透石管에 넣고 다른쪽 끝을 封印하여 cold buffer(Tris-HCl 0.05mol/L, NaCl₂ 0.05mol/L, phenylmethylsulfonyl fluoride 0.3mN)로 24時間 透石을 完了한 다음 各各 100 μ l를 取하여 counting vial에 담아 10ml의 scintillation cocktail을 넣어 liquid scintillation counter(LSC)로 1分間 방사능을 測定하였다. 細胞內 總蛋白質의 合成量を 測定하기 위하여 細胞培養液을 除去한 各 well에 0.1N NaOH 및 phenylmethylsulfonyl fluoride 0.3mN를 添加한 다음 60 $^{\circ}$ C에서 30分 동안 維持하여 細胞膜을 破壞시킨 後 細胞均質液을 한쪽 끝이 封印된 透石管에 넣고 다른쪽 끝을 封印하여 cold buffer(Tris-HCl 0.05mol/L, NaCl 0.2mol/L, CaCl₂ 0.05mol/L, phenylmethylsulfonyl fluoride 0.3mN)로 24時間 透石을 完了한 다음 各各 100 μ l를 取하여 counting vial에 담아 10ml의 scintillation cocktail을 넣어 LSC로 1分間 방사능을 測定하였다. 細胞內

·外 collagen 蛋白質의 合成量を 測定하기 위하여 透石을 完了한 細胞培養液 및 細胞均質液을 各各 100 μ l 取하여 1.5ml microtube에 넣고 collagenase buffer(0.05M Tris-HCl, 1mM CaCl₂, 0.3mM phenylmethylsulfonyl fluoride), collagenase 酵素(100ppm) 100 μ l를 添加한 後에 3時間 동안 37 $^{\circ}$ C에서 維持시켜 collagen을 완전히 分解시킨 다음에 分解되지 않은 蛋白質을 除去하기 위하여 50%의 trichloroacetic acid 및 1% tannic acid를 含有하는 溶液을 500 μ l 添加한 다음에 4 $^{\circ}$ C에서 30分 동안 沈澱시킨 後에 1000xg에서 5分間 遠心分離 시킨 다음에 上騰液을 取한 다음에 100 μ l를 取하여 counting vial에 담아 10ml의 scintillation cocktail을 넣어 LSC로 1分間 방사능을 測定하였다.

8) 細胞의 成長速度 測定

生後 3日된 乳兒의 袍皮로부터 primary culture한 纖維芽細胞를 24-well plate에 10⁶cell/well 되도록 분주한 다음 10% FBS가 含有된 DMEM 培地에서 하루 동안 培養한 다음날 既存의 培地를 新鮮한 培地로 交替하여 24時間 동안 培養한 後에 HBSS 緩衝溶液으로 바닥에 붙은 細胞層을 洗滌한 다음 血清과 proline이 包含되지 않은 MEM 培地 0.8ml를 添加한 後 藥效劑로 ascorbic acid 과 楡白皮를 各各 試驗濃度 100 μ l를 添加한 다음 H³-thymidine(10 μ Ci) 100 μ l를 包含한 培養液으로 細胞를 培養하였다. 24時間이 經過한 後에 各 well에 0.1N NaO를 添加한 다음 60 $^{\circ}$ C에서 30分 동안 維持하여 細胞膜을 破壞시킨 後 各各 100 μ l를 取하여 counting vial에 담아 10ml의 scintillation cocktail을 넣어 LSC로 1分間 방사능을 測定하여 細胞의 成長速度를 測定하였다.

9) Collagenase 活性 測定

25개의 1.5ml 에펜돌프튜브(ependorf)에 2%의 赤色 collagen 機質인 아조콜(azocoll)溶液 100 μ l를 各各 添加하여 한 개의 에펜돌프튜브는 blank로 使用하고, 標準 活性度 曲線을 作成하기 위하여 3개의 튜브에는 Sigma로부터 購入한 collagenase type I 인 標準酵素溶液(collagen 分解活性度: 315 units/mg)을 10, 100, 200ppm되게 添加하고 實驗

群으로 tetracycline 과 楡白皮를 各各 試驗濃度 100 μ l씩 處理하고 collagenase(100ppm) 100 μ l씩 處理한 後 緩衝溶液(0.05M Tris-HCl, 1nM CaCl₂, 7.8)를 總反應液이 500 μ l되게 添加하여 37 $^{\circ}$ C 恒溫器에서 18時間 동안 反應시키고 에펜돌프튜브를 1000g에서 5分 동안 遠心分離시켜 分解되지 않은 collagen은 沈澱시키고 分解된 collagen을 含有하는 上騰液을 取하여 520nm에서 吸光度를 測定하여 標準活性度 曲線을 作成하고 標準曲線으로부터 酵素의 活性濃度を 換算하여 實驗群과 對照群의 酵素活性度を 比較評價하였다.

III. 實驗成績

1. Cytotoxicity test

1) 楡白皮의 human fibroblast에 對한 細胞毒性에 미치는 影響

사람의 纖維芽細胞의 增殖에 對한 楡白皮의 抑制效果를 研究하기 위하여 0.001, 0.01, 0.1%의 濃度로 24時間 동안 處理한 結果, 實驗群은 모든 濃度에서 對照群과 纖維芽細胞의 增殖에서 차이가 없는 것으로 나타나 楡白皮는 細胞毒性이 없는 것으로 나타났다(Table I).

Table I. The effect of HGS on the cell cytotoxicity

Concentration Test Group	0.1%	0.01%	0.001%
control	0.118 \pm 0.028		
UP*	0.147 \pm 0.028	0.137 \pm 0.010	0.131 \pm 0.010

P-value > 0.05

* UP : Ulmus parvifolia

2) 楡白皮가 human monocyte의 cytotoxicity에 미치는 影響

사람의 單核細胞 增殖에 對한 楡白皮의 抑制效果를 研究하기 위하여 0.001, 0.01, 0.1%의 濃度로 90分 동안 處理한 結果, 實驗群은 모든 濃度에서 對照群과 monocyte의 cell viability에서 차이가 없는 것으로 나타나 楡白皮는 細胞毒性이 없는 것으로 나타났다(Table II).

Table II. The effect of HGS on the cell cytotoxicity in the human monocyte

Concentration Test Group	0.1%	0.01%	0.001%
control	0.286 \pm 0.037		
UP	0.458 \pm 0.012	0.146 \pm 0.005	0.393 \pm 0.009

P-value > 0.05

2. Macrophage 및 neutrophil의 superoxide 生成 測定

1) 楡白皮가 mouse monocyte의 superoxide 生成에 미치는 影響

Zymosan A로 刺戟한 mouse monocyte의 superoxide 生成에 對한 楡白皮의 效果를 0.01%와 0.001%의 濃度에서 實驗한 結果 楡白皮는 22%와 52%의 抑制效果를 나타냈다(Table III).

Table III. The effect of HGS on the formation of superoxide in mouse monocyte

NO	Treatment Group (%)	A (O.D.)	B (O.D.)	C (O.D.)	D (O.D.)	superoxide (nmoles)	%
1	control	0.136	0.192	0.137	0.142	2.429	100
2	UP 0.01	0.136	0.181	0.137	0.142	1.905	78
3	UP 0.001	0.136	0.166	0.137	0.142	1.190	48

2) 楡白皮가 human monocyte의 superoxide 生成에 미치는 影響

Zymosan A로 刺戟한 human monocyte의 superoxide 生成에 對한 楡白皮의 效果를 0.001%와 0.0001%의 濃度에서 實驗한 結果 楡白皮는 0.001% 濃度에서만 6%의 抑制效果가 있는 것으로 나타났다(Table IV).

Table IV. The effect of HGS on the formation of superoxide in human monocyte

NO	Treatment Group (%)	A (O.D.)	B (O.D.)	C (O.D.)	D (O.D.)	superoxide (nmoles)	%
1	control	0.566	0.692	0.540	0.488	8.476	100
2	UP 0.001	0.566	0.682	0.540	0.488	8.000	94
3	UP 0.0001	0.566	0.717	0.540	0.488	9.667	114

3) 楡白皮가 human neutrophil의 superoxide 生成에 미치는 影響

Zymosan A로 刺戟한 human neutrophil superoxide 生成에 對한 楡白皮의 效果를 0.001%

와 0.0001%의 濃度에서 實驗한 結果 모든 濃度에서 superoxide 生成 抑制效果가 없는 것으로 나타났다(Table V).

Table V. The effect of HGS on the formation of superoxide in human neutrophil

NO	Treatment Group (%)	A (O.D.)	B (O.D.)	C (O.D.)	D (O.D.)	superoxide (nmoles)	%
1	control	0.555	0.694	0.515	0.536	5.619	100
2	UP 0.001	0.555	0.738	0.515	0.536	7.714	137
3	UP 0.0001	0.555	0.719	0.515	0.536	6.810	121

3. 楡白皮의 單核白血球의 prostaglandins(PGE₂) 生成에 미치는 影響

E. coli LPS로 刺戟한 human monocyte의 prostaglandins(PGE₂)의 生成에 對한 楡白皮의 效能·效果를 試驗한 結果, 모든 濃度에서 prostaglandins(PGE₂) 生成 抑制效果가 없는 것으로 나타났다(Table VI).

Table VI. The effect of HGS on prostaglandins of human monocyte stimulated with E. coli LPS

Treatment Group (%)	平均 (O.D.)	標準偏差 (S.D.)	PGE ₂ (pg)	%
blank	0.010	0.018	240.534	101
control	0.012	0.011	236.670	100
indomethacin 0.01	0.187	0.030	57.223	24
indomethacin 0.001	0.046	0.012	179.229	76
indomethacin 0.0001	0.033	0.012	199.124	84
UP 0.01	0.002	0.010	255.249	107
UP 0.001	0.003	0.006	254.875	107
UP 0.0001	0.001	0.005	257.324	108

P-value < 0.0005

4. 楡白皮의 單核白血球의 interleukins(IL-1β) 生成에 미치는 影響

E. coli LPS로 刺戟한 human monocyte의 interleukins(IL-1β) 生成에 對한 楡白皮의 效能·效果를 試驗한 結果, 楡白皮 모든 濃度에서 탁월하지는 않지만 약간의 interleukins(IL-1β) 生成 抑制效果가 있는 것으로 나타났다(Table VII).

Table VII. The effect of HGS on interleukins of human monocyte stimulated with E. coli LPS

Treatment Group (%)	平均 (O.D.)	標準偏差 (S.D.)	IL-1β (pg)	%
blank	0.194	0.019	624.889	33
control	0.579	0.023	1908.222	100
indomethacin 0.01	0.665	0.019	2196.000	114
indomethacin 0.001	0.571	0.011	1881.556	99
indomethacin 0.0001	0.530	0.011	1746.000	91
UP 0.01	0.568	0.013	1871.556	98
UP 0.001	0.523	0.026	1721.556	90
UP 0.0001	0.547	0.003	1801.556	94

5. 楡白皮가 纖維芽細胞의 total protein 및 collagen 合成에 미치는 影響

人體의 纖維芽細胞에서 total protein 및 collagen 合成에 對한 楡白皮의 效能·效果를 研究하기 위하여 ¹⁴C-proline를 包含한 細胞培養液에 楡白皮를 0.01, 0.05, 0.2%의 濃度에서 24時間 處理한 結果 0.05%의 濃度에서는 약간의 合成을 促進시키는 效果가 있었고 특히 0.2%의 濃度에서는 ascorbic acid 0.05, 0.2농도에서 보다 탁월한 效果가 있는 것으로 나타났다(Table VIII).

Table VIII. The effect of HGS on the synthesis of total protein and collagen in human fibroblast

Treatment Group(%)	total protein (cpm/10 ⁶ cell)	total protein (%)	collagen (cpm/10 ⁶ cell)	collagen (%)
control	3320	100	266	100
ascorbic acid 0.01	4046	121	324	121
ascorbic acid 0.05	2988	90	247	92
ascorbic acid 0.2	1457	43	124	40
UP 0.01	3306	99	286	99
UP 0.05	3506	106	317	106
UP 0.2	5858	176	529	176

6. 楡白皮가 collagenase 活性에 미치는 影響

Collagenase 活性에 對한 抑制效果를 研究하기 위하여 楡白皮를 0.01, 0.1, 0.2, 0.5%의 試驗濃度에서 18時間 동안 處理한 結果, positive control로 使用한 tetracycline은 0.1%의 濃度에서 80%의 抑制效果를 나타내어 가장 높았고, 楡白皮는 0.5%의

濃度에서 45%의 抑制效果를 나타냈으며, 0.2%의 濃度에서는 31%, 0.1%의 濃度에서는 20%의 抑制效果를 나타냈으며, 0.01%의 濃度에서는 楡白皮가 24%의 抑制效果를 나타냈다(Table IX).

Table IX. The effect of HGS on the viability of collagenase in human fibroblast

Treatment Group (%)	平均 (O. D)	標準 偏差(S. D)	% activity of control	%
blank	0.005	0.004		
control	0.134	0.002	100.00	100
tetracycline 0.1	0.027	0.004	38.87	20
tetracycline 0.01	0.105	0.006	73.66	35
UP 0.5	0.048	0.006	45.98 ^a	55
UP 0.2	0.074	0.002	56.90 ^a	69
UP 0.1	0.093	0.009	66.90 ^a	80
UP 0.01	0.108	0.002	75.34 ^c	76

a : P-value < 0.0005
 b : P-value < 0.001
 c : P-value < 0.01

IV. 考 察

韓醫學에서 口瘡과 關係되는 內容으로 《黃帝內經·素問》¹³⁾에 口瘡, 口瘍이라고 최초로 言及된 以後 諸家들에 의하여 大人口破^{7,14-18)}, 口疳^{7-10,17-20)}, 口瘍^{7,13,17,18)}, 口糜^{11,14,16-18)} 등 여러 名稱이 混用되었다. 一般的으로 口中瘡瘍의 範圍가 局限되고 病症이 比較的 가벼운 경우를 口瘡, 口中糜爛되고 範圍가 比較적 크며 病症이 口瘡보다 더 甚한 狀態를 口糜라 하였으며, 小兒에 있어 疳積

과 關聯이 있으면서 口瘡이 發生할 경우 口疳이라고 하였는데^{11,16,18)} 모두 口中에 瘡瘍이 發生한다는 觀點에서 보면 口瘡이라고 總稱할 수 있다고 思慮된다.

口瘡에 對한 病因病理를 살펴보면 《內經》¹³⁾에서는 口瘡과 運氣와의 關係 및 火를 主된 原因으로 言及하였고, 巢²⁷⁾는 手少陰心經의 心氣는 舌과 通하고 足太陰脾經의 脾氣는 口와 通하는데 臟腑熱盛하여 熱乘心脾하면 口舌로 氣가 上衝하게 되어 口舌生瘡이 된다 하여 心脾熱盛이 口瘡의 病因임을 明確하게 밝혔으며, 王²⁸⁾은 心脾積熱을 原因으로 보았다.

宋代 陳²⁹⁾은 上膈壅毒熱을, 陳³⁰⁾은 胃熱凝滯를, 楊³¹⁾은 心脾受熱하여 口瘡이 發生한다고 하였고, 趙³²⁾는 心脾有熱 뿐만아니라 胃氣가 弱하고 穀氣少하여 發生한 虛陽으로도 口瘡이 發生한다고 하여 諸家の 說에다 中氣不足을 主張하여 口瘡을 虛와 實로 區分한 것으로 보다 進一步한 認識이라고 思慮된다. 朱³³⁾는 上焦熱壅과 涼藥을 服用해도 낫지 않는 것은 中焦土가 虛하기 때문이라 하였고, 羅³⁴⁾는 心脾客熱하여 毒氣上衝을 原因으로 提示하였다.

明代 虞³⁵⁾는 膀胱移熱于小腸이라 하였으며, 薛³⁶⁾은 “上焦實熱 中焦虛寒 下焦陰火 各經傳變所致”라 하여 口瘡의 原因을 上·中·下焦로 區分하여 說明하였는데 이는 보다 進歩된 辨證體系이며 以前의 諸家の 說을 綜合했다고 思慮된다. 또한 李²¹⁾는 熱과 虛로 大別하였는데 “赤者 心熱, 白者 肺熱, 赤白者 心肺俱熱”이라 하여 口瘡의 色澤에 따라서도 區別하였고, 龔³⁷⁾은 三焦火盛을 主된 原因으로 보았지만 薛³⁶⁾이 上焦의 實熱로 본 反面에 龔³⁷⁾은 上焦의 虛熱로 把握하였다. 王³⁸⁾은 心火上炎과 脾熱生痰을, 陳¹⁵⁾은 虛火와 實火로 區分하였고, 張³⁹⁾은 趙³²⁾의 中氣不足에 의해서도 口瘡이 發現될 수 있다는 說을 더욱 分明히 하였다.

清代 李⁴⁰⁾는 脾熱을, 陳⁴¹⁾은 心火鬱熱을, 張⁴²⁾은 心脾二經之火와 膀胱의 熱이 小腸에 미치는 경우를 原因으로 보았으며, 吳¹⁴⁾는 陳¹⁵⁾의 說을 따랐으나 實火의 原因을 陳¹⁵⁾은 心火妄動으로 본데 比하여 吳¹⁴⁾는 心脾實火가 妄動한 것으로 把握하였고,

顧⁴³⁾는 方⁴⁴⁾과 薛³⁶⁾의 說을 따랐다. 周⁴⁵⁾는 虛實로 區分하여 實證은 五臟의 熱이 모두 口瘡를 發할 수 있다고 提示한 것이 特徵이며 虛證은 上·中·下焦로 나누어 說明하였다.

以上을 綜合하면 實證은 三焦火盛, 心脾受熱, 臟腑積熱, 上焦實熱, 心熱, 實火, 外感邪熱, 虛證은 上焦虛熱, 中焦虛, 中焦虛寒, 下焦陰火, 陰虛, 虛火 등으로 區分할 수 있는데, 要約하면 口瘡은 心·脾二經의 熱과 中氣不足, 陰虛火旺 및 外感邪熱과 密接한 關聯이 있다고 思慮된다.

症狀에 對하여 살펴보면 口腔內 粘膜의 腫脹, 潮紅, 灼熱, 乾燥, 疼痛과 함께 表在性 潰瘍이 있다. 이것은 齒肉, 舌, 口脣 때로는 口蓋에도 發生하는데 粟粒大 내지 米粒大의 灰白色 혹은 黃色의 圓形에 가까운 모양을 한 斑點으로 纖維素性 滲出物로 덮혀 있으며 긁어내기가 어렵고 만약 潰瘍部位를 들어내려면 出血이 되기도 한다. 또한 口瘡의 症狀를 虛證과 實證으로 區別해 보면, 實證은 病程이 短期間內에 빨리 나타나고 瘡潰面이 크고 片狀의 斑點이 보이며 黃白色을 띠고 中央이 陷沒을 보이면서 周圍의 肌肉이 鮮紅하며 微腫과 煩熱, 疼痛이 發生하고 口臭, 口渴, 口燥와 脣赤, 舌質紅, 苔黃膩하며 甚할 경우는 脣舌과 腮頰에 까지 腫痛이 發生한다. 虛證은 反復的으로 長期間 持續되며 瘡潰面이 稀少하고 淡白한 色을 띠며 周圍의 肌肉은 淡紅 혹은 不紅하고 舌紅, 少苔와 腫痛은 甚하지는 않으나 食事中에 疼痛이 激烈해진다.^{7-11,16-20)}

治療方法으로 孫⁴⁶⁾은 油麵酒醬酸酢鹹膩乾棗를 禁해야 한다고 하였는데 만약 이를 지키지 않으면 再發하여 難治가 된다 하여 飲食物과의 關係를 言及하였고, 朱³³⁾는 虛證과 實證의 治法을 달리하여 實證인 上焦熱壅일 때는 甘桔湯을 使用하였고, 虛證으로 涼藥을 服用해도 낫지 않는 것은 中焦土가 虛하기 때문이라 하여 理中湯을 使用하여 人蔘 白朮 甘草로 補土하고 乾薑으로 散火시키며 甚하면 附子를 加하라고 하였는데 이 說은 歷代 醫家^{4,21,33,37-39,42-43,47-48)}들에 의해 尊重되어져 왔다.

張³⁹⁾은 上焦之熱일 때는 清火시키고 酒色勞倦過

度하여 中氣不足한 者는 寒冷藥으로 治療하지 말라고 하면서 補心脾 滋腎水하는 理中湯을 使用하였는데 이는 溫補를 爲主로 治療한 것으로 思慮된다. 龔³⁷⁾은 清熱瀉火와 服涼藥而不愈者를 中焦虛寒 뿐만아니라 上焦虛熱 下焦虛火로 上·中·下焦로 細分하여 上焦虛熱에는 補中益氣湯을, 中焦虛寒에는 附子理中湯을, 下焦虛火에는 六味地黃丸을 使用하였다.

以上을 綜合하면 口瘡의 治療法으로 實證일 때에는 清熱瀉火, 虛證일 때는 滋陰降火 補中益氣를 爲主로 하되, 口腔의 清潔과 飲食物 攝取에도 有意하여야 할 것으로 思料된다.

口瘡에 使用된 治方으로는 實證으로 臟腑積熱 實火 三焦火盛 心熱일 때 涼膈散, 回春涼膈散, 導赤散, 局方涼膈散, 心脾受熱에 竹葉石膏湯, 外感邪熱에 清胃瀉火湯, 涼膈散을 使用하여 清熱瀉火시켰으며, 虛證으로 陰虛 中焦虛寒 上焦虛熱 虛火口瘡일 때 四物湯加味方, 理中湯, 附子理中湯, 補中益氣湯, 加減八味丸, 補中益氣湯加 麥門冬 五味子 등이 使用되었는데 그 原因에 따라 清熱瀉火, 補中益氣, 滋陰降火 爲主의 治方이 使用되었다.^{1,14-15,21,31,37,39,42,45,48-49)}

西洋醫學에서 口內炎은 病態와 感染 및 기타 要因에 따라 여러 가지로 分類하는데 單純性 口內炎(stomatitis simplex)은 感氣의 일부 症狀 또는 모든 口內炎의 前驅症狀이기도 하며 그 외 營養障礙, 貧血, 萎黃症, 胃腸障礙, 發熱 등과 機械的, 化學的, 溫熱的인 刺戟에 의해서도 發生한다. 症狀은 口腔粘膜이 全般的으로 發赤, 腫脹되며 舌面이 두꺼운 白苔로 덮혀 있고 口脣이 乾燥하여 痂皮와 龜裂을 보이고 口角에도 糜爛, 表皮脫落이 나타나는 경우도 있다.

潰瘍性 口內炎(stomatitis ulcerosa)은 口腔粘膜에 潰瘍, 糜爛을 보이는 모든 口內炎의 總稱으로 結核, 梅毒과 같이 原因이 明確히 있을 때는 名稱을 붙이나 原因이 不分明할 경우에도 潰瘍性 口內炎이라 한다. 症狀은 口腔粘膜에 潰瘍이 發生하며 口脣은 不規則하게 덮힌 痂皮와 龜裂을 나타내기도 한다.

아프타性 口內炎(stomatitis aphthosa)은 口腔粘

膜에 紅葷을 가진 境界가 명료한 圓形 혹은 橢圓形的 直徑 수 mm 정도의 纖維素性 炎症의 變化로 黃白色의 偽膜을 形成하는 것이 特徵이다. 原因은 不分明하나 自律神經 失調 또는 自家免疫 疾患으로 생각되고 있으며 內分泌 障礙, 異常體質 및 新陳代謝 障礙, 消化器 障礙, 中毒, 알르레기, 熱性疾患, 신경질적인 女性的 妊娠, 月經, 授乳期에서도 頻發된다. 症狀은 單純性 口內炎을 前驅症狀으로 하여 주로 口脣粘膜炎, 舌尖, 頰部粘膜炎에 直徑이 2-10mm의 圓形 내지 橢圓形的 境界가 명료한 潰瘍이 있고 周圍에는 發赤帶의 紅葷이 있다. 潰瘍의 表面에는 纖維素성의 灰白色 혹은 黃色의 偽膜을 띠고 潰瘍이 發生하기 전에는 小水疱나 赤色の 丘疹이 나타나기도 하는데 이미 潰瘍이 形成되어 있는 경우가 많다. 一般적으로 發病은 急性的이지만 慢性的이고 反復性이라서 數個月 혹은 數年에 걸쳐서 나타나기 때문에 慢性 再發性 아프타(chronic recurrent aphthae)라고도 한다.

壞疽性 口內炎(stomatitis gangrenosa)은 水瘡(cancrum oris)이라고도 하는데 口脣 및 頰部에 組織缺損을 가져오며 2-5歲의 小兒에게 잘 發生한다. 原因은 不分明하나 全身의 抵抗力 및 營養缺乏에서 나타나며 특히 紅疫, 猩紅熱, 百日咳, 장티푸스에 續發되는 경우가 많다. 症狀은 口腔, 齒齦, 頰部粘膜炎에 靑紫色의 水疱가 생겨 急速히 周圍로 擴大되며 同時에 軟化되어 壞疽를 일으킨다.

中毒으로 發生되는 口內炎은 주로 水銀, 鉛, 銅, 砒素 등의 金屬을 藥劑로 使用하거나 혹은 職業上 이것들을 取扱함으로써 誘發이 된다. 水銀性 口內炎은 주로 驅梅毒療法에 使用된 水銀에 의해 發生하며 初期에는 金屬味가 있고 口腔內에 灼熱感和 唾液分泌가 甚하게 增加된다. 口腔粘膜炎과 齒齦이 暗赤色으로 發赤腫脹이 되며 咀嚼時 疼痛이 있고 漸次的으로 進行이 되면 齒齦緣에 潰瘍이 생겨 甚한 口臭과 齒牙가 弛緩된다.^{5,7,12,50-53}.

楡白皮는 一名 零楡라 하여 참느릅나무의 樹皮로서, 味는 甘하고 性은 平·無毒하다. 산골짜기에서 자라며 陰曆 2월에 흰 속껍질을 벗겨 햇볕에 말린다. 열매는 陰曆 8월에 따는데 모두 濕氣를 받지 않도록 해야한다. 藥理成分上 β -sitosterol,

phytosterol, stigmasterol 등의 sterol類와 樹膠 및 脂肪油 등이 함유되어 있다.

주로 胃, 大腸, 小腸經으로 歸經하며, 利水, 通淋, 消癰腫, 滲濕熱, 行津液 등의 效果가 있어서 小便不通, 淋濁, 癰疽發背, 丹毒, 疥癬 등을 治療하며 水道를 잘 通하게 하고, 邪氣와 腸胃의 邪熱을 없애며 부은 것을 빠지게 한다¹⁻⁴. 以上과 같이 楡白皮는 消癰腫, 滲濕熱, 利水하는 效能 때문에 口內炎, 舌炎, 癰疹, 瘡疹 등을 治療하는데 活用될 수 있으리라고 思慮된다.

이에 著者는 楡白皮의 實驗的 研究를 위하여 in vitro 모델로 人體의 纖維芽細胞, 單核細胞, 中性白血球와 흰쥐의 單核細胞를 利用한 細胞毒性實驗, superoxide 生成 抑制效果, immunoassay를 利用한 prostaglandins(PGE₂) 및 interleukins(IL-1 β) 生成 抑制效果, ¹⁴C-proline를 利用한 collagen 合成 및 ³H-thymidine를 利用한 細胞增殖 促進效果인 DNA 合成, collagenase 活性 抑制效果를 測定하는 實驗을 하여 그 效能을 比較 檢討하였다.

楡白皮의 細胞毒性을 알아보기 위하여 human fibroblast와 human monocyte 增殖에 대한 抑制效果를 測定하였는데 對照群과 實驗群의 모든 濃度에서 차이가 없는 것으로 나타나 細胞毒性이 없는 것으로 나타났다(Table I, Table II).

炎症(inflammation)은 흔히 볼 수 있는 病變으로 局所에 加해진 炎症誘發性 刺戟과 組織傷害에 對한 血管 및 結合組織系의 自己防禦體系인 免疫過程의 一部分이다. 外部로부터 物理的, 化學的, 生物學的 損傷을 復舊하는 生體의 反應에 의하여 組織의 損傷과 더불어 炎症反應 즉 浮腫, 發熱, 疼痛이 나타나게 된다. 炎症이 일어난 組織에서는 먼저 血管反應이 나타나서 毛細血管이 擴張되고 血流가 增加하며 이어서 血管壁의 透過性이 增加하여 血漿 成分과 蛋白質 成分이 血管壁을 通해 間質組織으로 滲出된다. 이때에 細菌이나 傷害된 局所組織에서 由來하는 化學因子의 誘導에 의해 好中球, 多型核 白血球와 單核球가 아메바 運動을 通해 間質組織으로 나오고 이들에게서 遊離된 大食細胞가 滲出되어서 炎症 刺戟物을 貪食하게 되며, 炎症이 오래되면 림프구 및 形質細胞도 많이 나타

나게 된다⁵⁴⁻⁵⁶⁾.

炎症을 抑制하기 위해 使用되는 藥劑를 廣義의 抗炎症劑라 하며 嚴密히 細分하여 말한다면 浮腫에 對해 anti-inflammatory, 發熱에 對해 antipyretic, 疼痛에 對해 analgesic drug로 表現되어진다. 炎症反應時 細胞性 및 體液性 免疫反應이 關與되는데 이때 關與되는 物質에 對해서는 많은 研究가 되어 왔으며 superoxide, prostaglandins (PGE₂), interleukins(IL-1 β), collagenase 외에 histamin, bradykinin, plateletactivating factor, tumor necrosis factor 등이 關與하는 것으로 알려져 있다⁵⁷⁻⁶⁰⁾.

炎症 및 免疫反應 誘發物質의 生産 抑制를 위하여 過去에는 스테로이드性 抗炎症劑를 使用한 結果 많은 副作用이 誘發되어 最近에는 비스테로이드性 抗炎症劑가 廣範圍하게 使用되고 있다. 이러한 비스테로이드性 抗炎症劑는 주로 纖維芽細胞 및 單核細胞와 多型核 白血球의 cyclooxygenase 酵素에 의하여 合成되는 prostaglandins(PGE₂)의 生産을 抑制하는데 基本을 두고 있다⁶¹⁻⁶⁴⁾.

最近의 研究에서는 prostaglandins(PGE₂)의 生産이 細菌의 內毒素인 lipopolysaccharide에 의하여 誘發되는 interleukins(IL-1 β)에 의하여 刺戟되는 것이 알려져 interleukins(IL-1 β)의 細胞生産을 抑制하는 研究가 활발히 進行되고 있다⁶⁵⁻⁶⁷⁾. 그리고 prostaglandins(PGE₂)는 大食細胞와 多型核 白血球를 刺戟하여 結合組織의 基質인 collagen 蛋白質을 分解시키는 collagenase의 合成을 誘發시켜 結合組織을 破壞시킨다⁶⁸⁻⁶⁹⁾.

炎症發生 過程에서 損傷된 組織의 再生에는 collagen의 合成이 중요한 役割을 하는 것으로 알려져 있는데, collagen 合成은 纖維芽細胞의 活性과 密接한 關聯이 있으며 年齡에 따라 collagen 合成이 減少하게 된다. Collagen이 合成되는 過程은 먼저 collagen 遺傳子의 발현에 의하여 mRNA가 전사되고, mRNA는 細胞質內에서 procollagen peptide를 만들고 바로 hydroxylation과 glycosylation 過程을 거쳐 triple helix를 形成하게 된다. Procollagen 다발은 細胞 外部로 分泌되어 procollagen peptide 加水分解酵素에 의하여 除去

되고 形成된 tropocollagen 分子들은 서로 엇갈린 配列로 組立되어 collagen 纖維를 形成하고, 이 纖維들은 lysin과 hydroxylation 殘期들의 交叉結合에 의하여 強化되어 組織의 再生에 중요한 collagen 蛋白質이 合成된다⁷⁰⁻⁷¹⁾.

Superoxide는 macrophage로 分化되는 monocyte 및 neutrophil의 phagocytosis 過程에서 發生되는 代謝産物로 高度의 反應性임으로 組織內에 많이 存在할 경우에 collagen, hyaluronic acid 및 proteoglycan과 같은 細胞外 基質成分의 depolymerization에 影響을 미칠 뿐만 아니라, 細胞의 蛋白質, 核酸, 그리고 細胞膜 脂質 構成分의 破壞에 活性을 나타낼 수 있다⁷²⁾. 특히 口腔에서는 細菌에 의해 形成된 프라그가 蓄積되어 10-20일이 經過하면 口內炎이 發生되어 齒齦이 붉어지고 그 結果 浮腫이 發生하며 軟組織에서 出血이 增加되어 齒齦上皮 아래의 結合組織에 血漿細胞, 림프구, 大食細胞로 分化되는 單核細胞, 中性白血球 등을 包含하는 炎症細胞가 增加하게 된다. 이 중 單核細胞 및 中性白血球는 炎症誘發物質에 의하여 活性化되어 superoxide를 細胞外部로 放出하여 生體組織을 破壞시키는 主要한 原因으로 밝혀져 superoxide를 抑制할 수 있는 superoxide dismutase와 같은 抗酸化劑의 開發이 활발하게 進行되고 있다⁷³⁻⁷⁴⁾.

Zymosan A로 刺戟한 mouse monocyte의 superoxide 生成에 對한 楡白皮의 效果를 0.01%와 0.001%의 濃度에서 實驗한 結果 楡白皮는 22%와 52%의 抑制效果를 나타냈다(Table III). 또한 human monocyte의 superoxide 生成에 對한 楡白皮의 效果는 楡白皮는 0.001% 濃度에서만 6%의 抑制效果가 있는 것으로 나타났다(Table IV). 또한 human neutrophil superoxide 生成에 對한 楡白皮의 效果를 0.001%와 0.0001%의 濃度에서 實驗한 結果 모든 濃度에서 superoxide 生成 抑制效果가 없는 것으로 나타났다(Table V).

Prostaglandins(PGE₂) 중에서 특히 PGE₂는 細胞膜에 損傷을 입을 시 arachidonic acid 代謝物의 一種으로 嘔의 吸收에 깊이 關與하는 物質로 알려져 있다. Aspirin과 indomethacin은 cyclooxy

-genase-2의 強力한 抑制作用으로 prostaglandins (PGE₂)의 生成을 抑制하는 것으로 알려져 있다^{63-64,75}. Indomethacin을 positive control로 楡白皮의 prostaglandins(PGE₂)의 生成 抑制效果를 比較한 結果 楡白皮 0.01% 濃度에서 11%로 나타나 prostaglandins(PGE₂) 生成 抑制效果가 있는 것으로 나타났다(Table VI).

Cytokines의 一種인 interleukins(IL-1 β)는 炎症部位의 細胞를 많이 모이게 하며 prostaglandins (PGE₂)의 生成을 刺戟하는 것으로 알려져 있어 炎症에 關與하는 중요한 cytokine으로 最近에 interleukins(IL-1 β)의 生成을 抑制하는 新規 藥效劑의 開發에 對한 研究가 활발히 進行되고 있으며⁶⁵⁻⁶⁷, 生藥製劑 中에서는 天門冬, 五味子, 五倍子 및 大棗 抽出物이 炎症의 媒介物質인 cytokine의 生成 抑制에 效果가 있다고 報告된 바 있다⁷⁶. E. coli LPS로 刺戟한 human monocyte의 interleukins(IL-1 β)의 生成에 對한 楡白皮의 效能·效果를 實驗한 結果 모든 濃度에서 탁월하지는 않지만 약간의 interleukins(IL-1 β) 生成 抑制效果가 있는 것으로 나타났다(Table VII).

組織의 再生은 growth factor를 利用하여 細胞의 增殖을 促進하거나 collagen 蛋白質의 合成을 促進시키는 方向으로 研究되고 있다. 그러나 growth factor의 臨床適用段階는 아직 研究가 되어있지 않으며 다른 副作用에 대해서도 정확히 밝혀지지 않은 實情으로 上皮나 모든 種類의 組織의 成長을 促進시킴으로 組織 特異性이 약간 缺如되고 있다. 이에 長期的인 觀點에서 副作用이 적고 安全한 藥物의 必要性이 要求되고 있는 實情이다⁷⁷⁻⁷⁸. 近來에 生藥에서 가장 널리 알려져 있는 centella asiatica의 asiaticoside로 齒周組織 再生劑로 使用되고 있으며⁷⁹, 大棗 抽出物이 collagen 蛋白質의 合成을 促進한다는 報告가 있다⁸⁰.

人體의 纖維芽細胞에서 total protein 및 collagen 合成에 對한 楡白皮의 效果를 研究하기 위하여 ¹⁴C-proline를 包含한 細胞培養液에 楡白皮를 0.01, 0.05, 0.2%의 濃度에서 24時間 處理한 結果 0.05%의 濃度에서는 약간의 合成을 促進시키는 效果가 있었고 특히 0.2%의 濃度에서는

ascorbic acid 0.05, 0.2濃度에서 보다 탁월한 效果가 있는 것으로 나타났다(Table VIII).

Collagen 蛋白質을 分解시키는 collagenase는 炎症 뿐만 아니라 老化와 關聯이 있으며, 주로 炎症 誘發 物質인 prostaglandins(PGE₂)에 의하여 collagenase 遺傳子가 活性化 되어 細胞內에서 合成된 後 細胞外部로 分泌되는 collagenase는 metalloprotenase 중의 하나로 炎症部位에서 酵素活性이 增加되는 것으로 알려져 있으며, 특히 口腔 및 齒齦에 炎症이 있는 患者의 口腔粘膜과 齒齦裂溝液內에 酵素活性이 활발한 것으로 報告되고 있으며, 또한 年齡이 增加함에 따라 collagenase 活性이 增加되는 것으로 알려져 있다⁸¹⁻⁸³. Collagenase 活性 抑制劑로는 抗生劑인 tetracycline이 가장 널리 알려져 있으나⁸⁴, 長期間 使用할 때 抗生劑 耐性菌株의 出現等 副作用이 報告되어 最近에는 韓方 및 生藥製劑에 對한 研究가 활발히 進行中에 있으며 黃芩에서 collagenase의 抑制效果가 있는 것으로 나타났다⁸⁵.

Collagenase 活性에 對한 抑制效果를 研究하기 위하여 楡白皮를 0.01, 0.1, 0.2, 0.5%의 試驗濃度에서 18時間 동안 處理한 結果 positive control로 使用한 tetracycline은 0.1%의 濃度에서 80%의 抑制效果를 나타내어 가장 높았고 positive control로 使用한 tetracycline은 0.1%의 濃度에서 80%의 抑制效果를 나타내어 가장 높았고, 楡白皮는 0.5%의 濃度에서 45%의 抑制效果를 나타냈으며, 0.2%의 濃度에서는 31%, 0.1%의 濃度에서는 20%의 抑制效果를 나타냈으며, 0.01%의 濃度에서는 楡白皮가 24%의 抑制效果를 나타냈다(Table IX).

以上の 結果를 綜合해 보면 楡白皮는 正常的인 纖維芽細胞에 毒性이 없는 것으로 나타났으며 macrophage 및 neutrophil, monocyte의 superoxide 生成抑制와 prostaglandins(PGE₂)과 interleukins(IL-1 β)의 生成을 抑制하는 것으로 보아 여러 가지 化學因子가 放出되어서 血管擴張이나 液性滲出이 일어나는 炎症 I期과 炎症의 原因物質이나 破壞된 組織 등을 除去하기 위해 白血球가 血管外로 滲出되고 免疫系가 活動하기 始作하는 II期⁸⁶에 效果가 있는 것으로 思慮된다. 특히

楡白皮가 total protein 및 collagen 合成을 促進시키는 效果에서 0.2%의 濃도에서는 positive control인 ascorbic acid 0.05, 0.2%의 濃도에서 보다 탁월한 效果가 있는 것으로 나타났고, 또 collagen protein을 分解시키는 collagenase 活性을 抑制하는 것으로 보아 起炎物質이나 炎症으로 傷害를 입은 組織을 體外로 排出하기 위하여 纖維芽細胞의 增殖이 始作되고 肉芽가 增殖하여 炎症의 局所가 漸次的으로 收復되는 炎症Ⅲ期⁸⁶⁾에도 어느 정도의 效果가 있는 것으로 思慮된다.

以上的 實驗結果로 楡白皮는 消癰腫, 滲濕熱, 利水하는 效能이 있으므로 臨床에서 初期의 各種 口腔疾患 治療에 좋은 效果가 있을 것으로 思慮된다.

IV. 結 論

楡白皮의 抗炎作用에 미치는 效果를 糾明하기 위해서 in vitro 모델로 人體의 纖維芽細胞, 單核細胞, 中性白血球와 흰쥐의 單核細胞를 利用한 cytotoxicity, superoxide 生成 抑制效果, immunoassay를 利用한 prostaglandins(PGE₂) 및 interleukins(IL-1 β) 生成 抑制效果, ¹⁴C-proline를 利用한 collagen 合成 및 ³H-thymidine를 利用한 細胞增殖 促進效果인 DNA 合成, collagenase 活性 抑制效果를 測定하는 實驗을 한 結果 아래와 같은 結論을 얻었다.

1. 楡白皮는 모든 濃度에서 細胞毒性이 없는 것으로 나타났다.
2. Mouse monocyte의 superoxide 生成에 對하여 楡白皮는 0.01% 濃度에서 22%, 0.001%의 濃度에서 52%의 抑制效果를 나타냈다.
3. Human monocyte의 superoxide 生成에 對하여 楡白皮는 0.001% 濃度에서만 6%의 抑制效果가 있는 것으로 나타났다.
4. Human neutrophil superoxide 生成에 對하여 楡白皮는 모든 濃度에서 superoxide 生成 抑制效果가 없는 것으로 나타났다.
5. E. coli LPS로 刺戟한 human monocyte의

prostaglandins (PGE₂)의 生成에 對하여 楡白皮는 모든 濃度에서 生成 抑制效果가 없는 것으로 나타났다

6. E. coli LPS로 刺戟한 human monocyte의 interleukins(IL-1 β)의 生成에 對하여 모든 濃度에서 약간의 生成 抑制效果가 있는 것으로 나타냈다.

7. 楡白皮는 纖維芽細胞의 total protein 및 collagen 合成을 0.05%의 濃도에서는 약간의 合成을 促進시키는 效果가 있었고 특히 0.2%의 濃도에서는 탁월한 效果가 있는 것으로 나타냈다.

8. Collagenase 活性에 對해 楡白皮는 0.5%의 濃度에서 45%의 抑制效果를 나타냈으며, 0.2%의 濃度에서는 31%, 0.1%의 濃度에서는 20%의 抑制效果를 나타냈으며, 0.01%의 濃度에서는 楡白皮가 24%의 抑制效果를 나타냈다.

以上的 結果를 綜合해 보면 楡白皮는 炎症의 I, II, III期의 抗炎作用에 전반적으로 效果가 있으며 臨床에서도 初期의 口腔疾患에 널리 應用될 수 있을 것으로 思慮된다.

參 考 文 獻

1. 陶弘景 : 名醫別錄, 北京, 人民衛生出版社, p.65, 1986.
2. 辛民教 외 : 國譯鄉藥集成方(下), 서울, 永林社, p.1868, 1989.
3. 新文豐出版公司 : 新編中藥大辭典, 臺北, 新文豐出版公司, p.2186, 1972.
4. 許浚 : 東醫寶鑑, 서울, 驪江出版社, 197, 476, 555, 2217, 2350, 1994
5. 大韓皮膚科學會 刊行委員會 : 皮膚科學, 서울, 麗文閣, pp.489-491, 1994.
6. 朴鎬湜 외 : 東醫脾系內科學, 서울, 一中社, p.221-223, 1988.
7. 陳貴廷·楊思澍 : 實用中西醫結合診斷治療學, 서울, 一中社, pp.2014-2020, 1992.
8. 上海中醫學院 : 五官科學, 香港, 商務印書館, pp.149-151, 1982.

9. 顧伯華：實用中醫外科學，上海，上海科學技術出版社，pp.606-609，1985.
10. 申天浩：問答式 五官外科學，서울，成輔社，pp.290-292，1992.
11. 蔡炳允：韓方眼耳鼻咽喉科學，서울，集文堂，p.240, 316, 411, pp.86-88, 346-348, 379-380，1982.
12. 白萬基：最新耳鼻咽喉科學，서울，一潮閣，pp.258-264，1995.
13. 洪元植：精校 黃帝內經素問，서울，東洋醫學研究院 出版部，p.246, 256，1985.
14. 吳謙：醫宗金鑑，臺北，大中國圖書公社，pp.130-131，1973.
15. 陳實功：外科正宗，上海，上海科學技術出版社，pp.315-316，1989.
16. 蔡炳允：韓方外科，서울，高文社，pp.101-102, 266，1978.
17. 黃文東 외：實用中醫內科學，上海，上海科學技術出版社，pp.264-269，1986.
18. 中醫研究院：中醫症狀鑑別診斷學，北京，人民衛生出版社，pp.111-112，1987.
19. 江蘇新醫學院第一附屬醫院：常見中醫臨床手冊，北京，衛生出版社，pp.562-565，1979.
20. 原安徽中醫學院：中醫臨床手冊，서울，成輔社，p.226，1983.
21. 李挺：醫學入門，서울，翰成社，pp.363-364，1977.
22. 王德鑑：中醫耳鼻咽喉口腔科學，北京，人民衛生出版社，pp.555-569，1994.
23. 姜允皓：托裏消毒飲의 消炎作用에 대한 實驗的 研究，大韓韓醫學會誌 Vol.3, No.1，1982.
24. 金璟濬 외：回春涼膈散이 抗알레르기 및 消炎，鎮痛，解熱效果에 미치는 影響，大韓外官科學會誌，Vol.7, No.1，1994.
25. 黃忠淵：艾灸 損傷皮膚의 治愈過程에 關한 組織學的 研究，이리，圓光大學校 大學院 碩士學位論文，1981.
26. 辛美香：十全大補湯이 生肌作用에 미치는 影響，大田，大田大學校 大學院 碩士學位論文，1993.
27. 南京中醫學院 校釋：諸病源候論校釋，北京，人民衛生出版社，pp.815-816，1982.
28. 王燾：外臺秘要，臺北，國立中國醫藥研究所，p.611，1964.
29. 陳師文：太平惠民和劑局方，臺北，旋風出版社，pp.58-59，1964.
30. 陳言：三因方，臺北，臺聯出版社，p.13，1967.
31. 楊士瀛：仁濟直指方(中國醫學大系)，서울，驪江出版社，pp.409-417，1987.
32. 趙佶：聖濟總錄，서울，翰成社，p.213，1977.
33. 朱震亨：丹溪心法心要，山東，山東科學技術出版社，p.161，1985.
34. 羅天益：衛生寶鑑，서울，金剛出版社，pp.147-148，1981.
35. 虞搏：醫學正傳，서울，成輔社，pp.237-239，1986.
36. 薛己：口齒類要，北京，人民衛生出版社，p.352，1987.
37. 龔廷賢：壽世保元，臺北，宏業書局，pp.581-582，1983.
38. 王肯堂：六科證治準繩，서울，大星文化社，pp.229-231，1992.
39. 張介賓：景岳全書，서울，翰成社，pp.492-493，1983.
40. 李用粹：證治匯補，臺北，旋風出版社，pp.249-253，1965.
41. 陳士鐸：石室秘錄，서울，杏林出版，pp.39-40，1987.
42. 張璐：張氏醫通，서울，一中社，pp.435-437，1992.
43. 顧世澄：瘡醫大全，北京，人民衛生出版社，pp.550-552，1992.
44. 方賢：奇效良方，香港，商務印書館，pp.1253-1265，1977.
45. 周命新：醫門寶鑑，서울，杏林書院，p.207，1975.
46. 孫思邈：備急千金要方，北京，人民衛生出版社，p.113，1982.
47. 樓全善：醫學綱目，臺南，臺南北一出版社，pp.110-114，1973.

48. 徐靈胎 : 徐靈胎醫學全書, 臺北, 五洲出版社, pp.193-194, 1989.
49. 唐容川 : 血證論, 서울, 一中社, pp.164-166, 1992.
50. 申永基 編譯 : 臨床診斷學, 서울, 癸丑文化社, pp.219-222, 1987.
51. 西山茂夫 : 圖解 皮膚科學, 서울, 第一醫學, p.248, 1991.
52. 임창윤 : 구강병리학, 서울, 고려의학, pp.332-333, 346-348, 1992.
53. 白充基 : 口腔診斷學, 서울, 高文社, pp.310-335, 1983.
54. 白充基 : 病理學, 서울, 高文社, p.23, 1988.
55. 이중달 : 그림으로 설명한 病理學, 서울, 고려의학, pp.27-34, 1990.
56. 李淵台 譯 : 最新免疫學, 서울, 集文堂, pp.355-358, 1989.
57. Socransky SS and Haffajee AD (1991). Microbial mechanisms in the pathogenesis of destructive periodontal diseases: a critical assesment. J. Periodont. Res. 26:195-212.
58. Page RC (1992). Host response tests for diagnosing periodontal diseases. J. Periodontal 63: 356-366.
59. Lamster IB (1992). The host response in gingival crevicular fluid: potential applications in peridontitis clinical trials. J. Periodontol 63: 1117-1123.
60. Polson AM and Goodson JM (1985). Periodontal diagnosis current status and future needs. J. Periodontol 56-1: 25-34.
61. Gerritsen MJP, Rulo HFC, Arnold WP and Van De Kerkhof PCM (1994). Response of the clinically uninvolved skin of psoriatic patients to repeated tape stripping during cyclosporin A treatment. B. J. of Dermatol 130: 181-188.
62. Marx J. (1995). How the glucocorticoid suppress immunity. Science 270: 222-233.
63. Lee DH and Choi (1989). The comparative study of immunosuppressive drugs on the peridontal condition in renal transplant patients. J. of Ker Academ. of Peridontol. 19-1: 1-8.
64. Ting PC, Kaminski JJ, Sherlock MH, Tom WC, Lee JF, Bryant RW, Watnick AS and Mcphail AT (1990). Substituted 1,3-dihydro-2h-pyrrolo [2,3-b] pyridin-2-ones as potential antiinflammatory agents. J. Med. Chem. 33:2697-2706.
65. Matsuki Y, Yamamoto T and Hara K (1993). Localization of interleukin-1 (IL-1) mRNA-expressing macrophages in human inflamed gingiva and IL-1 activity in gingival crevicular fluid. J. Periodont 28: 35-42.
66. Poore TK, Johnson GK, Reinhardt RA and Organ CC (1995). The effects of smokeless tobacco on clinical parameters of inflammation and gingival crevicular fluid prostaglandin E₂. Interleukin -1 α and Interleukin-1 β . J. Periodontal 66: 177-183.
67. Kupper TS and Groves RW (1995). The interleukin-1 axis and cutaneous inflammation. J. of Invest. Derm. 105-1:62s-66s.
68. Uitto VJ, Suomalainen K, Sorsa T (1990). Salivary collagenase. Origin characteristics and relationship to periodontal health. J. Periodontal Res 25: 135-142.
69. Lee W, Aitken S, Sodek J and McCulloch CAG (1995). Evidence of a direct relationship between neutrophil collagenase activity and periodontal tissue destruction in vivo: role of active enzyme in human periodontitis. J. Periodont. Res 30: 23-33.
70. Clark RAF: Cutaneous tissue repair: basic biologic considerations. I. J. Am Acad Dermatol 13:701-725, 1985.
71. Lynch Se, Colvin RB, Antoniades HN: Growth factors in wound healing: single and synergistic effects on partial thickness porcine skin wounds. J. Clin Invest 84: 640-646, 1989.
72. Shingu M, Isayama T, Yasutake C, et al.

(1994). Role of oxygen radicals and IL-6 in IL-1 dependent cartilage matrix degradation. *Inflammation* 18-6: 613-623.

73. Kim SJ, han DH, Moon KD and Rhee JS (1995). Measurement of Superoxide dismutase-like activity of natural antioxidants. *Biosci. Biotech. Biochem.* 59-5:822-826.

74. Duval C, lange P and Poelman MC (1992). Inhibition of cutaneous inflammation by free radical scavengers. *IF SCC* p56: 453-459.

75. Seibert K, Zhang Y, Leahy K, Hauser S, Masferrer J, Perkins W, Lee L and Isakson P (1994). Pharmacological and biochemical demonstration of the role of cyclooxygenase 2 in inflammation and pain. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91:12013-12017.

76. Cho KY, Lee YM, Choi SM and Chung CP (1995). The effects of herbal extracts on production and activity of interleukin 1 β . *The J. of Kor. Academy of Periodontol.* 25-2: 386-396.

77. Canalis E (1981) Effect of platelet-derived growth factor on DNA and protein synthesis in cultured rat calvaria. *Metabolism* 30: 970.

78. Matsuda N, Lin WL, Kumar NM, Cho MI and Genco RJ (1992). Mitogenic, chemotatic and sythetic responses of rat periodontal ligament fibroblast cells to polypeptide growth factors in vitro. *J. of Peridontol* 63: 515.

79. Rush WR, Murray GR and Graham DJM (1993). The comparative steady-state bioavailability of ingredients Madecassol. *Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinet.* 18-4:323-326.

80. Yang CH, Lee YM, Cho KY, Base KH and Chung CP(1994). Effect of Zizyphi Fructus extract on the biological activity of gingival fibroblast. *J. of Kor. Acade. of Periodontol* 24: 144-153.

81. Richards D, Rutherford RB (1990). Interleukin-1 regulation of procollagenase mRNA

and protein in periodontal fibroblasts in vitro. *J. Periodontal Res* 25: 222-229.

82. Uitto J, Olsen DR and Fazio MJ (1989). Extracellular matrix of the skin: 50 years of progress. *J. of Invest. Dermatol* 92: 61s-77s.

83. Phillips CL, Combs SB and Pinnell SR (1994). Effects of ascorbic acid on proferation and collagen sythesis in relation to the donor age of human dermal fibroblast. *J. of Invest. Dermatol* 103: 228-232.

84. Gilberston BS, Powers EA Stamp CM, Scott PS, Wallac TL, Copeland J, Petzold G and Mitchell M, Ledbetter S, etal. (1995). The tetracycline analogs minocycline and doxycycline inhibit angiogenesis in vitro by a non-metalloproteinase-dependent mechanism *CancerChemother. Pharmacol* 36-5: 418-424.

85. Chung CP, Park JB and Bae KH (1995). Pharmacological effects of methanolic extract from the root of *Scutellaria baicalensis* and its Flavonoids on human gingival fibroblast. *Plant Med.* 61: 150-153.

86. 高本博天, 植木昭和, 岩田平太郎 : 圖解藥理學, 東京, 中外醫學社, pp.161-163, 1979.