

## 加味當歸飲子が 아토피 동물 모델에 미치는 영향

한재경, 김윤희

대전대학교 한의과대학 소아과학교실

### Effect of *Kami-Dangkueeumja*(KDKEJ) in Atopic Dermatitis Animal Model

Han Jae Kyung, Kim Yun Hee

Department of Pediatrics, College of Oriental Medicine, Daejeon University

**Objective** : The purpose of this study is to examine effect that KDKEJ used to atopic dermatitis disease patient get in atopy eruption control experimentally.

**Methods** : We analyzed the expression of IgE, IL-6, IL-4, IL-5 and IL-13's level in serum, and IFN- $\gamma$ ' production by KDKEJ extract. We also analyzed KDKEJ extract get to NC/Nga mice's skin establishment analyzes neck-back skin after biopsy, and H&E method measured about epidermis and dermis part in comparison with control group.

**Results** : In this research KDKEJ extract as treatment result to a NC/Nga mice, IgE and IL-6 content in serum decreased remarkably than control group. And decreased than result control group which measure IL-4, IL-5, IL-13's level in serum, and IFN- $\gamma$ ' production secreted in Th1 cell displayed increase by KDKEJ extract. IL-4 and IFN- $\gamma$ 's gene revelation amount displayed marked decrease than control group in result that observe effect that get in skin of a NC/Nga mice. Also, in culture supernatant which cultivate for 14 day after separate skin cell, IL-13 and IL-6 production decreased than control group. KDKEJ extract get to NC/Nga mice's skin establishment analyzes neck-back skin after biopsy, and dye by H&E method decreased about epidermis and inflammation of dermis part remarkably than control group.

**Conclusions** : These results suggest that Th1 cell and Th2 cell observe to be shifted by secretion amount of IL-4 and IFN- $\gamma$  by KDKEJ extract could know that KDKEJ extract can use usefully in allergy autoimmune disease.

**Key words** : NC/Nga mice, Atopic Dermatitis, *Kami-Dangkueeumja*

접 수 : 2005년 6월 27일 수정: 2005년 7월 30일 채택: 2005년 8월 13일  
교신저자 : 한재경, 충남 천안시 구성동 476-8 대전대부속 천안한방병원 소아과  
(Tel: 041-560-8705, E-mail: hanjk0@hanmail.net)

## I. 緒 論

사회가 발달함에 따라 예전과는 다른 양상의 질환이 증가되고 있는데 그 중 대표적인 질환이 알레르기 질환으로 우리나라에서도 최근 알레르기 질환의 급증과 함께 아토피 피부염 환자가 증가하고 있다<sup>1)</sup>.

아토피 피부염은 소아기에서 가장 먼저 나타나는 알레르기성 질환으로 흔히 영아습진, 알레르기성 습진이라고도 하며<sup>2)</sup> 임상적으로는 홍반, 부종, 심한 소양증, 삼출, 부스럼 딱지와 인설을 특징으로 하며<sup>3)</sup>, 조직학적으로는 면역세포의 침윤을 특징으로 하는 만성적으로 재발하는 염증성 피부질환이다<sup>4)</sup>.

아토피 피부염의 한의학적 범주는 《素問》 <玉機眞藏論篇><sup>5)</sup>에서 “浸淫”이라고 기록되어 있고, 《金匱要略》<sup>6)</sup>에는 “浸淫瘡”이라 기록되어 있고 《諸病源候論》<sup>7)</sup>에 이르러 “乳癬”이란 기록이 있으며 이후 奶癬, 浸淫瘡, 胎斂瘡 등으로 통용되다가 《醫宗金鑑》<sup>8)</sup>에 이르러 胎斂瘡를 乾斂, 濕斂으로 구분하기 시작하였다. 따라서 아토피 피부염은 胎熱, 胎癬, 浸淫瘡, 胎斂瘡, 奶癬, 濕疹 등의 범주에 속한다<sup>9)</sup>고 할 수 있다.

當歸飲子は 嚴의 《濟生方》<sup>10)</sup>에 처음 수록된 처방으로 “治心血凝滯, 內蘊風熱, 發見皮膚, 遍身瘡疥, 或腫或痒, 或膿水浸淫, 或發赤疹瘡”의 목적으로 立方하였다. 加味當歸飲子<sup>11)</sup>는 當歸飲子에 滋陰降火, 清熱解毒, 健脾益氣하는 數種의 약제를 加하여 小兒의 發散上升이 과도하여 陰血이 쉽게 손상되고, 脾虛로 인한 氣血不調로 쉽게 慢性으로 轉變되는 것을 방지하여 血虛生風에 의한 瘙痒症을 수반하는 皮膚病變을 다스릴 목적으로 作方되었다.

아토피 피부염에 대한 연구 경향을 살펴보면 과거에는 주로 아토피 피부염에 대한 문헌적<sup>12,13)</sup>, 임상적 고찰<sup>14-16)</sup> 중심으로 이루어졌으나, 최근에는 한약이 아토피 피부염 환자의 면역 기전에 미치는 영향<sup>17,18)</sup>, 아토피 피부염과 피부의 지질변화<sup>19)</sup>, 아토피 피부염 환자의 성장에 관한 연구<sup>20)</sup> 등과 같이 다양한 방향으로 연구되어지고 있고, 當歸飲子에 대한 연구로는 건선에 활용되는 加味當歸飲子에 대한 실험적 연구<sup>21)</sup> 및 임상적 고찰<sup>22)</sup>, 當歸飲子 수추출액이 항 allergy 반응과 mouse의 면역세포기능에 미치는 영향<sup>23)</sup> 등에 대해 보고된 바가 있으나 加味當歸飲子가 아토피 피부염의 발진 억제에 미치는 영향에 대한 연구는 아직 접하지 못하였다.

이에 저자는 加味當歸飲子가 아토피 발진 억제에 미치는 영향을 실험적으로 규명하고자 NC/Nga atopic dermatitis model mice(이하 NC/Nga mice)를 이용한 *in vivo* 실험에서 IgE, IL-6, IL-4, IL-5, IL-13, IFN- $\gamma$ 의 혈청 수준을 측정하였다. 또한 IL-4, IFN- $\gamma$ 의 유전자 발현량 조사와 skin에서 조직검사를 시행하였으며, IL-4와 IFN- $\gamma$ 를 ELISA로 측정하여 lymphokine assay를 한 결과 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

## II. 材料 및 方法

### 1. 재료

#### 1) 동물

실험동물은 수컷 4주령의 BALB/c 생쥐를 한국생명공학연구원에서 공급받았고, 수컷 6주

령의 NC/Nga mice는 Japan SLC사에서 공급받아 실험 당일까지 고형사료(항생제 무첨가, 삼양사료 Co.)와 물을 충분히 공급하고 22±2℃, 55±15%, 12시간-12시간(night-day cycle)의 환경에서 2주간 적응시킨 후 실험에 사용하였다.

2) 약물

본 실험에 사용한 加味當歸飲子<sup>11)</sup>의 구성은 《대전대학교 부속한방병원 처방집》에 준하였으며, 사용한 약재들은 대전대학교 부속 한방병원에서 구입하여 정선하여 사용하였고 그 내용과 분량은 다음과 같다.(Table. 1.)

Table. 1. Composition of Kami-dangkueumja

Herb	Scientific name	dose(g)
乾地黃	<i>Rehmanniae Radix</i>	6
當歸	<i>Angelicae Gigantis Radix</i>	6
白芍藥	<i>Paeoniae Radix Alba</i>	6
川芎	<i>Cnidii Rhizoma</i>	6
白蒺藜	<i>Tribuli Fructus</i>	4
防風	<i>Ledebouriae Radix</i>	4
荊芥	<i>Schizonepetae Herba</i>	4
白何首烏	<i>Polygoni Multiflori Radix</i>	4
連翹	<i>Forsythiae Fructus</i>	4
牛蒡子	<i>Arctii Fructus</i>	4
天麻	<i>Gastrodiae Rhizoma</i>	4
白鮮皮	<i>Dictamni Radicis Cortex</i>	4
浮萍草	<i>Spirodela Herba</i>	4
黃芩	<i>Scutellariae Radix</i>	4
知母(炒)	<i>Anemarrhenae Rhizoma</i>	4
黃柏(炒)	<i>Phellodendri Cortex</i>	4
砂仁	<i>Amoni Fructus</i>	4
山查肉	<i>Crataegii Fructus</i>	4
石膏	<i>Gypsum fibrosum</i>	4
玄蔘	<i>Scrophulariae Radix</i>	4
黃芪	<i>Astragali Radix</i>	2
甘草	<i>Glycyrrhizae Radix</i>	2
蟬蛻	<i>Cicadae Periostracum</i>	2
白僵蠶	<i>Bombyx Batryticatus</i>	2
合計		96

3) 加味當歸飲子 추출물 분리

加味當歸飲子 288g에 각각 증류수 2,000 ml를 가하여 열탕 추출기에서 3시간 추출하여 얻은 액을 흡입 여과하여 이를 감압 증류장치(Rotary evaporator)로 농축하여, 이를 다시 동결 건조기(Freeze dryer)를 이용하여 완전 건조한 加味當歸飲子 추출물(44.3g)을 냉동 보관(-84℃)하면서 적당한 농도로 희석하여 사용하였다.

2. 방법

1) 혈청 중 IgE와 IL-6, IL-4, IL-5, IL-13, IFN-γ 측정

혈청 중 IgE양은 8주, 10주, 12주, 15주에 생쥐의 눈에서 capillary tube를 이용하여 약 100μl의 혈액을 채혈한 후 혈청을 분리하여 IgE양을 측정하였다.

15주째 NC/Nga mice를 ethyl ether로 마취한 후 심장천자법으로 혈액을 채혈하여 혈청을 분리한 후 혈청 중 IL-6, IL-4, IL-13의 양을 ELISA kit방법으로 정량하였다. 그리고 혈청 중 immunoglobulins인 IgM, IgG2a, IgG2b의 양은 Mab-Based Mouse Ig isotyping kit(PharMingen, San Diego, Calif)로 측정하였다.

2) 피부 병변 부위에서 RT-PCR 분석

PCR은 Primus 96 Legal PCR system (with high pressure lid, MWG in Germany)를 이용하여 수행하였다. 반응은 이미 합성된 3μl의 cDNA를 주형으로 사용하고, 주형에 대한 primer는 β-actin, IL-6, tumor necrosis factor-α(TNF-α), cyclooxygenase-2, 그리고 NOS-II 유전자를 증폭하기 위하여 sense primer(20pmole/μl)와 antisense

primer(20pmole/ $\mu$ l)를 혼합하여 1 $\mu$ l를 가하고, 다시 3 $\mu$ l 2.5mM dNTPs, 3 $\mu$ l 10 $\times$ PCR buffer(100 mM Tris-HCl, pH 8.3, 500 mM KCl, 15 mM MgCl<sub>2</sub>), 그리고 0.18 $\mu$ l Taq polymerase(5U/ $\mu$ l)를 첨가한 다음 최종 부피가 30 $\mu$ l되도록 멸균증류수를 가하고 pre-denaturation; 95 $^{\circ}$ C, 5분, denaturation; 95 $^{\circ}$ C, 5분, annealing; 55 $^{\circ}$ C, 1분, elongation; 72 $^{\circ}$ C, 1분을 25cycles한 뒤 post-elongation을 72 $^{\circ}$ C에서 3분 동안의 조건으로 PCR을 수행하였다. 각 PCR products는 20 $\mu$ l씩 1.2% agarose gel에 loading하여 120V 조건에서 20분간 전기영동을 통하여 분석하였다.

### 3) 세포배양 검사

NC/Nga mice의 얼굴과 목 부위를 전모한 뒤 피부조직을 각각 1g씩 떼어내어 DMEM 배양액으로 수세한 후 chopping 한 후 10% FBS-DMEM으로 Petri-dish에서 7일간 배양한 후 배양 상층액을 제거하고 fresh한 10% FBS-DMEM으로 교체하였다. 다시 7일간 배양하여 배양 상층액을 분리하여 배양액내의 IL-6 분비량과 IL-13 유출량을 ELISA kit으로 측정하였다.

### 4) 조직 병리 검사

실험 종료 후에, 등쪽 목부분의 피부를 떼어내어 10% paraformaldehyde에서 24시간 동안 포르말린에 고정하였다. 그 조직을 파라핀으로 포매하였고 5 $\mu$ m 부분의 두께로 block을 만들었다. 그 조직부분은 염증을 일으키는 epidermis, dermis, keratinocytes, neutrophils/eosinophil 그 외 다른 세포와 부종을 식별하는 hematoxyline/eosin(H&E)로 염색을 시행하였다.

### 5) Lymphokine assay

비장세포( $2 \times 10^6$ /ml)는 anti-CD28(1 $\mu$ g/ml) 항체와 anti-CD3(1 $\mu$ g/ml)으로 24-well Costar 접시(Corning Inc, Cambridge, Mass)에서 coating하였으며, 加味當歸飲子 추출물(100 $\mu$ g/ml)과 48시간 동안 동시배양 하였다. 그리고 IL-4, IFN- $\gamma$ 는 ELISA를 가지고 측정하였다.

## 3. 통계 분석

다양한 실험으로부터 얻은 결과는 mean $\pm$  standard error로 기록하였고, 유의성 검증은 Student's T-test 분석방법을 이용하여 결정하였다.

## III. 實驗 成績

### 1. 혈청 중 IgE와 IL-6에 미치는 영향

혈청 중 IgE 수치를 측정한 결과, 대조군은 8주에 11.7 $\pm$ 16.8( $\mu$ g/ml), 12주에서 16.9 $\pm$ 12.1( $\mu$ g/ml), 16주에 111.8 $\pm$ 8.0( $\mu$ g/ml), 20주에 126.5 $\pm$ 6.8( $\mu$ g/ml)로 16주와 20주에서 급격한 증가를 보였으며, 실험군은 8주에 6.1 $\pm$ 8.1( $\mu$ g/ml), 12주에서 17.7 $\pm$ 12.7( $\mu$ g/ml), 16주에 69.6 $\pm$ 19.9( $\mu$ g/ml), 20주에 85.5 $\pm$ 18.1( $\mu$ g/ml)로 대조군에 비하여 최종 20주령에서 혈중 IgE 수치가 약 32.4% 감소하였다(Fig. 1. A).

혈청 중 IL-6 수치를 측정한 결과, 대조군은 8주에 115 $\pm$ 23(pg/ml), 12주에 254 $\pm$ 20(pg/ml), 16주에 443 $\pm$ 49(pg/ml), 20주에 646 $\pm$ 53(pg/ml)로 16주와 20주에서 급격한 증가를 보

였으며, 실험군은 8주에  $122 \pm 21$ (pg/ml), 12주에서  $177 \pm 18$ (pg/ml), 16주에  $369 \pm 29$ (pg/ml), 20주에  $414 \pm 38$ (pg/ml)로 대조군에 비하여 최종 20주령에서 혈중 IL-6 수치가 약 35.9% 감소하였다(Fig. 1. B).

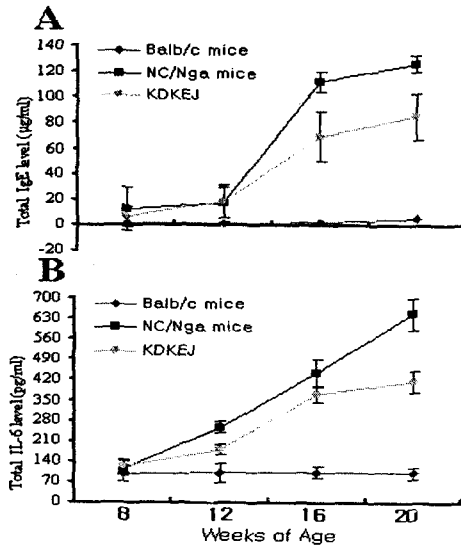


Fig. 1. Effect of KDKEJ extract on Serum IgE and IL-6 elevation and development of dermatitis in NC/Nga mice.

NC/Nga mice followed by the administration of KDKEJ extract(885mg/kg, *p.o*) for 6 weeks. Blood was collected from the retro-orbital plexus under ether anesthesia and heparinized immediately thereafter. Plasma samples were obtained by centrifugation and stored at  $-20^{\circ}\text{C}$  until use. Total IgE(A) and IL-6(B) levels were measured by a sandwich ELISA using an ELISA kit(Boehringer Mannheim Biochemica, Mannheim, Germany). Each point represents the mean SE of four mice. Statistically significant value compared with NC/Nga mice group data by T test.

## 2. 혈청 중 IL-4와 IL-5에 미치는 영향

혈청 중 IL-4 수치를 측정된 결과, BALB/c는  $17.5 \pm 5.6$ (pg/ml), 대조군은  $78.3 \pm 7.9$ (pg/ml), 실험군은  $38.9 \pm 4.8$ (pg/ml)로 대조군에 비하여 유의성 있게 감소하였고( $p < 0.001$ )(Fig. 2. A),

혈청 중 IL-5 수치를 측정된 결과, BALB/c는  $48 \pm 12.1$ (pg/ml), 대조군은  $250 \pm 56$ (pg/ml), 실험군은  $103 \pm 18$ (pg/ml)로 대조군에 비하여 유의성 있게 감소하였다( $p < 0.01$ )(Fig. 2. B).

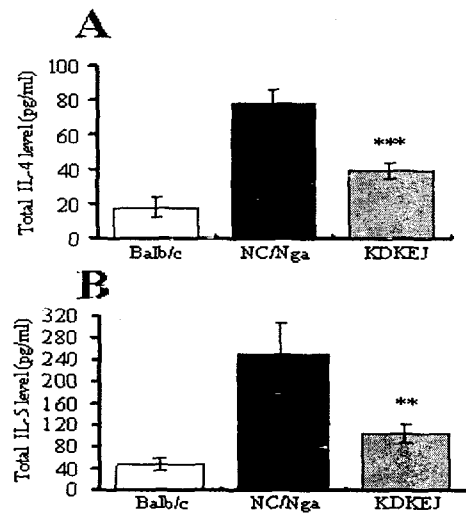


Fig. 2. Effect of KDKEJ extract on Serum IL-4 and IL-5 elevation and development of dermatitis in NC/Nga mice.

NC/Nga mice followed by the administration of KDKEJ extract(885mg/kg, *p.o*) for 6 weeks. Blood was collected from the retro-orbital plexus under ether anesthesia and heparinized immediately thereafter. Plasma samples were obtained by centrifugation and stored at  $-20^{\circ}\text{C}$  until use. Total IL-4(A) and IL-5(B) levels were measured by a sandwich ELISA using an

ELISA kit(Boehringer Mannheim Biochemica, Mannheim, Germany). Each point represents the mean SE of four mice. Statistically significant value compared with NC/Nga mice group data by T test (\*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$ ).

### 3. 혈청 중 IL-13과 IFN- $\gamma$ 에 미치는 영향

혈청 중 IL-13 수치를 측정된 결과, BALB/c는  $35 \pm 3.9$ (pg/ml), 대조군은  $2105 \pm 365$ (pg/ml), 실험군은  $1320 \pm 204$ (pg/ml)로 대조군에 비하여 유의성 있게 감소하였다( $p < 0.05$ )(Fig. 3. A).

혈청 중 IFN- $\gamma$  수치를 측정된 결과, BALB/c는  $11 \pm 3.1$ (pg/ml), 대조군은  $962 \pm 363$ (pg/ml), 실험군은  $1260 \pm 265$ (pg/ml)로 대조군에 비하여 증가하였다(Fig. 3. B).

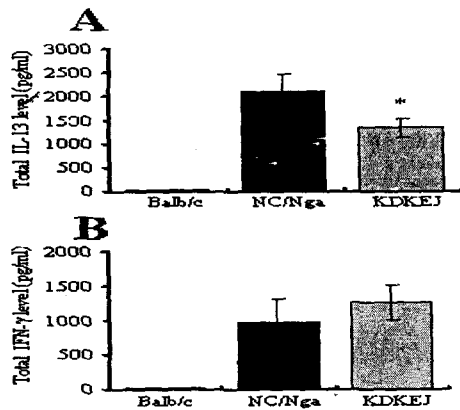


Fig. 3. Effect of KDKEJ extract on Serum IL-13 and IFN- $\gamma$  elevation and development of dermatitis in NC/Nga mice.

NC/Nga mice followed by the administration of KDKEJ extract(885mg/kg, *p.o*) for 6 weeks. Blood was collected from the retro-orbital plexus under ether anesthesia and heparinized immediately thereafter. Plasma samples were obtained by cen-

trifugation and stored at  $-20^{\circ}\text{C}$  until use. Total IL-13(A) and IFN- $\gamma$ (B) levels were measured by a sandwich ELISA using an ELISA kit(Boehringer Mannheim Biochemica, Mannheim, Germany). Each point represents the mean SE of four mice. Statistically significant value compared with NC/Nga mice group data by T test( $p < 0.05$ ).

### 4. Facial lesion skin에서 RT-PCR 분석

실험을 종료하고 facial 부분을 전모한 다음 피부를 박리하여 RT-PCR을 수행 하여 IL-4와 IFN- $\gamma$ 를 측정된 결과, IL-4 mRNA 발현량(Ht값)은 BALB/c는 25(Ht), 대조군은 85(Ht), 실험군은 30(Ht)로 대조군에 비하여 감소하였고, IFN- $\gamma$  mRNA 발현량(Ht값)은 정상 BALB/c는 12(Ht), 대조군은 15(Ht), 실험군은 117(Ht)로 대조군에 비하여 증가하였다(Fig. 4).

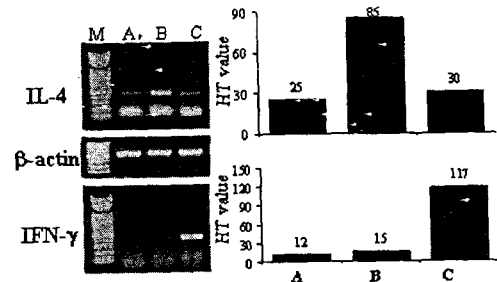


Fig. 4. RT-PCR on facial skin biopsy of atopic dermatitis-like skin lesions in NC/Nga mice.

NC/Nga mice followed by the administration of KDKEJ extract(885mg/kg, *p.o*) for 6weeks. At the end of the experiment, the mice skin were biopsy. IL-4 and IFN- $\gamma$  mRNA express were measured RT-PCR. Amplified obesity mRNA PCR products were electrophoresed on 1.2% agarose gel and internal control( $\beta$ -actin) and

the analysis(Ht) was used to 1D-density program and the other methods for assay were performed as described in *Materials and Methods*.

Normal Balb/c skin(A), NC/Nga mice control(B), NC/Nga mice+KDKEJ extract(294 mg/kg).

### 5. NC/Nga dermatitis skin lesion의 세포 배양

Total IL-6 수치를 측정한 결과, BALB/c는 4.7±1.8(pg/ml), 대조군은 58.2±7.4(pg/ml), 실험군은 49.5±5.8(pg/ml)로 대조군에 비하여 감소하였다(Fig. 5. A).

Total IL-13 수치를 측정한 결과, BALB/c는 16±2.9(pg/ml), 대조군은 254±40.3(pg/ml), 실험군은 139±16.4(pg/ml)로 대조군에 비하여 감소하였다(p<0.01)(Fig. 5. B).

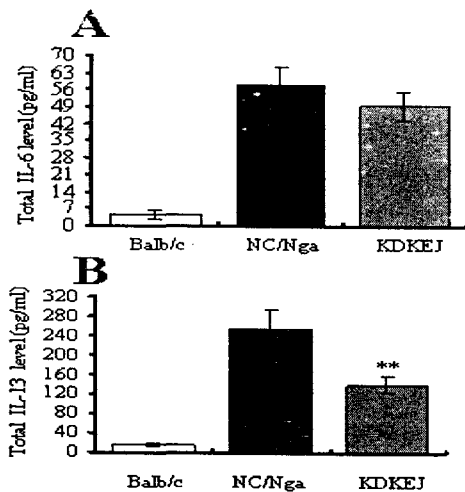


Fig. 5. Culture supernatant IL-6 and IL-13 production in facial skin biopsy of atopic dermatitis-like skin lesions in NC/Nga mice.

NC/Nga mice followed by the administration of KDKEJ extract(885mg/kg, p.o) for 6weeks. Mouse Skin biopsy were co-

cultured with 5% DMDM for 14day. Culture supernatant were obtained by centrifugation and stored at -20°C until use. Total IL-6(A) and IL-13(B) levels in the culture supernatant were measured by a sandwich ELISA using an ELISA kit (Boehringer Mannheim Biochemica, Mannheim, Germany). Each point represents the mean SE of four mice. Statistically significant value compared with NC/Nga mice group data by T test(\*\*p<0.01).

### 6. NC/Nga dermatitis skin lesion의 조직 검사

실험 종료 후 skin 일부를 박리한 후 H&E 염색을 하여 skin조직을 분석한 결과, 정상군(A, B)은 epidermis, dermis, baseline이 ×100에서 관찰되었고, 대조군(C)은 ×100에서 epidermis가 dermis쪽으로 두껍게 내려가 현저하게 확장되어 피부 부종과 염증이 많이 진행된 것을 알 수 있었으며 leukocyte의 침윤도 많이 보이고 있다. 실험군(D)은 대조군에 비하여 epidermis의 두께도 현저하게 줄었고, leukocyte의 침윤은 보이고 있지만 부종은 거의 사라진 것을 알 수 있다(Fig. 6).

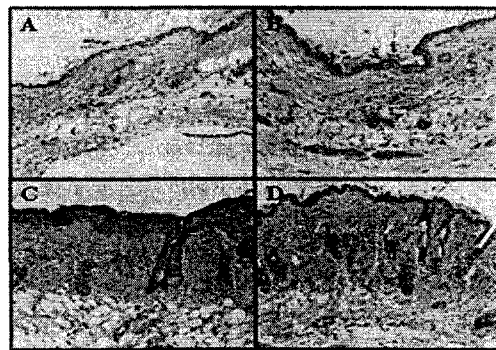


Fig. 6. Histologic features of skin lesion in NC/Nga mice.

NC/Nga mice followed by the administration of KDKEJ extract(885mg/kg, p.o, D)

for 6 weeks. Mouse Skin biopsy were stained with hematoxylin and eosin(H&E). NC/Nga control C, and normal Balb/c ear(A and B).

Bright microscoph(Nikon, Japan, Magnification, ×100).

### 7. Lymphokine assay

IL-4 분비량을 측정한 결과, 대조군은 57.4 ±0.5(pg/ml), 실험군은 16.3±3.3(pg/ml)로 대조군에 비하여 감소하였다.

IFN-γ 분비량을 측정한 결과, 대조군은 107.9 ±2.15(pg/ml), 실험군은 134.6±4.7(pg/ml)로 대조군에 비하여 증가하였다(Fig. 7).

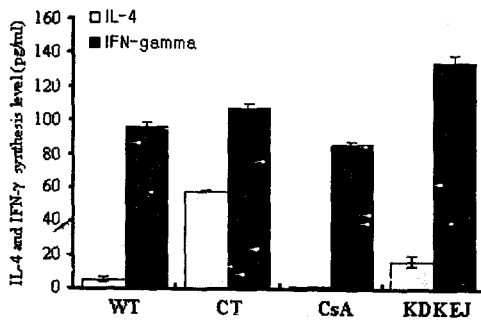


Fig. 7. IL-4 synthesis by splenocytes from KDKEJ extract mice is suppressed.

Splenocytes from C57BL/6 mice at 8 weeks of age were stimulated with anti-CD3(1 mg/ml) plus anti-CD28(1mg/ml) antibody for 48hrs. IL-4 and IFN-γ in the culture supernatant was measured by ELISA.

WT : Normal C57BL/6 mice

CT : anti-CD3(1mg/ml) plus anti-CD28(1 mg/ml) antibody coated plate.

CsA: anti-CD3 plus anti-CD28 plus cyclosporin A(10mg/ml)

KDKEJ: anti-CD3 plus anti-CD28 plus KDKEJ extract(100mg/ml)

## IV. 考 察

알레르기 질환은 문명이 발달함에 따라 증가되는 질환 중의 하나로 우리나라에서도 최근 알레르기 질환의 급증과 함께 아토피 피부염 환자가 증가하고 있는데 90년대의 유병률 조사에서는 외국의 경우 소아의 10-15%<sup>24)</sup>, 국내의 경우 피부과 외래 환자의 8.6%를 차지한다는 보고<sup>25)</sup>가 있었으나 최근의 연구에 의하면 전국 초등학생의 24.9%, 중학생의 12.8%가 아토피 피부염을 진단받은 것으로 조사되었다<sup>26)</sup>. 이러한 현상은 서구화된 생활환경과 공해, 화학 물질에 노출 기회가 많아지고 또한 이와 같은 환경의 변화가 유전적 요인과 함께 우리 몸의 면역체계에 혼란을 가져오기 때문인데, 특히 환경위생의 발달로 병원체의 침입이 적어지고 인체의 면역 시스템이 병원체에 노출될 기회가 적어져서 병원체와 항원을 잘 구별하지 못하는 것이 알레르기 질환이 증가하는 한 원인이라는 가설이 있다<sup>27)</sup>.

아토피 피부염은 특성상 알레르기성 습진, 소아 습진, 굴측부 습진, 파종성 신경피부염<sup>28)</sup>이라고도 하며, 유아 습진에서부터 소년기, 사춘기에 이어 성인에까지 나타나는 전형적인 태선화 피부염의 임상적 및 조직학적 진행 과정을 보여주는 질환이다.

아토피 피부염을 진단하는 확실한 검사방법은 없으나 특징적인 임상 소견을 보이기 때문에 비교적 진단이 용이하다. Hanifin and Rajka의 진단 기준에 따르면 주증상으로 소양증, 특징적 발진모양과 호발부위, 만성적 경과, 아토피(천식, 알레르기성 비염, 아토피 피부염)의 개인 및 가족력과 부증상으로 피부 건조증, 어린선, 제1형 피부반응, 반복되는 결막염, 눈 주위 색소 침착, 백색 비강진, 환경이나 감정



요인에 의한 악화조건, 구순염, 손이나 발의 비특이적 습진 병변 등의 임상적 증상이나 경향성을 위주로 진단하거나 발생 시기나 연령적 특징에 따라 유아기, 소아기, 성인기로 구분하기도 한다<sup>29)</sup>.

치료방법으로는 전신 및 국소 치료법으로 히스타민의 유리를 억제하는 항히스타민제, 면역억제제로서 염증반응을 감소시키는 작용을 하는 부신피질호르몬제, 포도상 구균 등의 발생을 감소시키기 위한 항균제, 첩포 검사나 단자검사, 혈청 특이 IgE 등의 검사 상 양성반응을 보인 항원에 대하여 미량의 항원을 투여 하면서 증량 투여하는 탈감작 요법, 자외선이 증상 호전에 기여한다고 추정하여 시행하는 UVA, PUVA요법인 광선요법, 혈청 IgE의 증가가 IL-4와 IFN- $\gamma$ 의 불균형에 의하여 기인하므로 IFN- $\gamma$ 를 치료하는 면역요법 등이 시행되고 있지만 일부 환자에서는 반응하지 않는 경우도 많고, 증상이 완화된다고 하더라도 지속적으로 재발하기도 한다고 하였다<sup>28,29)</sup>. 결국 아토피 피부염이 아토피 질환일 뿐만 아니라 유전적 요인, 환경적 요인, 정신적 요인, 피부감염 등 여러 요인에 의하여 영향을 받는 다인자적 질환이기 때문인데, 의학적인 완치보다는 증상의 완화를 통해 관해를 적극적으로 유도해 주는 것이 가장 올바른 치료법으로 알려져 있다<sup>1)</sup>.

최근 아토피 피부염의 예후에 관한 연구에서 김<sup>30)</sup>은 체질에 따른 아토피 피부염의 예후에서 少陰人과 太陰人은 적극적인 초기 치료가, 少陰人과 少陽人은 지속적인 관리가 필요할 것으로 나타난다하여 예후 진단에 있어 사상체질검사가 필요할 것으로 사료된다고 하였으며, 이<sup>20)</sup>는 아토피 피부염 환아가 피부염이 없는 환아에 비해 키가 작은 편이라고 하였는데 그 이유는 소아는 성인보다 수면과 성장호

르몬의 관계가 밀접하여 수면 후 1-2시간 이후에 성장호르몬의 분비가 많은데 아토피 피부염 환아는 외관상 스트레스, 소양감 등으로 숙면을 취하지 못해 성장이 지연되기 때문이라고 하여 아토피 피부염이 소아 성장에 미치는 중요성에 대하여 언급하였다. 그러므로 소아 아토피 피부염의 치료는 서양의학적인 치료의 한계점과 부작용을 인식하고, 개개인의 체질에 따른 치료방법을 연구해야 하며 피부 건조감과 소양증을 동반하는 단순한 피부질환이 아닌 성장장애, 심리적, 정서적 장애 등을 동반하는 이차적 문제 등에도 관심을 두어야 할 것으로 사료된다.

아토피 피부염의 한의학적 범주는 《素問》 <玉機眞藏論篇><sup>5)</sup>에서 “浸淫”이라고 기록되어 있고, 《金匱要略》<sup>6)</sup>에는 “浸淫瘡”이라 기록되어 있고 《諸病源候論》<sup>7)</sup>에 이르러 “乳癬”이란 기록이 있으며 이후 奶癬, 浸淫瘡, 胎斂瘡 등으로 통용되다가 《醫宗金鑑》<sup>8)</sup>에 이르러 胎斂瘡를 乾斂, 濕斂으로 구분하기 시작하였다. 종합하면 아토피 피부염은 胎熱, 胎癬, 浸淫瘡, 胎斂瘡, 奶癬, 濕疹 등의 범주에 속한다<sup>9)</sup>고 할 수 있으며, 그 중 문헌상 가장 많이 등장하는 병명은 奶癬, 浸淫瘡이라고 하였다<sup>12)</sup>.

발생 원인을 살펴보면 曹<sup>31)</sup>는 “此因在胎, 母受時氣邪毒, 或外感風熱, 誤服湯劑, 食五辛薑麵過多……名曰胎熱”이라 하여 外感, 飲食不節, 環境的인 影響 등에서 원인을 찾았으며, 王<sup>32)</sup>은 “兒在胎中, 母多驚恐, 或食熱毒之物”이라 하여 驚恐 등의 심리적인 영향을, 曹<sup>33)</sup>는 “小兒體有風熱脾肺不利, 或濕邪搏於皮膚壅滯血氣, 皮頑厚則變諸癬”이라 하여 先天的인 素因과 臟腑機能의 失調로 인하여 나타난다고 보았다. 鍾<sup>34)</sup>은 체질적으로 脾胃氣虛한 소아가 濕熱의 邪氣를 感受하기

쉽게 되어 內에 발생하면 風熱邪가 피부에 浸潤해서 발생하는데 만일 발작을 반복해서 치유되지 않으면 결국 脾虛血燥로 되어 皮膚의 營養失調를 일으킨다고 하였다.

한의학적으로는 서양의학과 같이 증상 및 연령에 따른 정확한 구분은 하지 않고 있으나 吳<sup>8)</sup>는 胎斂瘡이라 하여 乾斂과 濕斂으로 나누었으며 乾斂은 “痒起白屑 形如癬疥 由胎中血熱 落草受風”이라 하였으며 濕斂은 “誤用湯洗 皮膚起粟 瘙痒無度 黃水浸淫 延及遍身” 한다고 하여 서양의학적인 濕潤型에서 乾燥型으로 진행되는 일반적인 경과와는 다소 차이점이 있으나 증상면에서는 濕斂은 유아기 습진과 乾斂은 소아기 및 사춘기 아토피 피부염과 유사점을 찾을 수 있다. 《臨床各科疾病療法》<sup>35)</sup>에서는 “本病多自生後兩三周 或一兩個月內發病 常常容易復發 一般多于一歲半 或兩歲左右緩解 少數患兒兩歲多乃不痊愈時 往往在手背 顔面 膝 肘窩或腹部形成慢性濕疹 尤以膝 肘窩爲多見 患兒多有家族過敏病史”라 하여 병이 발생하는 시기 및 부위에 대하여 언급하였고 또한 영아습진과 성인습진의 임상증상은 대체로 비슷하나 영아습진은 兒面頭部의 皮疹이 紅斑, 糜爛, 滲水, 結痂 및 續發感染이 현저하다고 하여, 현재 아토피 피부염과 같은 뜻으로 통용되고 있는 胎熱에 대한 의미라고 볼 수 있다. 하지만 일반적으로 胎熱이라는 말은 출생 후 2-5개월부터 1년 사이에 頭部 또는 面部에 습진이 생겨 가려우면서도 진물이 흘러보기에 흉한 피부질환을 말하는 것<sup>36,37)</sup>으로, 만성화의 형태를 갖는 아토피 피부염 전체의 의미보다는 유아습진(아토피 피부염의 유아기형)과 유사하다고 볼 수 있다.

박<sup>12)</sup>은 발현양상에 따라서는 濕症과 乾症으로, 병인병기에 따라서는 급성기는 風濕偏

盛型, 熱重于濕型, 濕重于熱型으로, 만성기는 脾虛濕熱內蘊型, 陰傷血燥濕變型으로, 발병시기에 따라서는 영아기, 아동기, 성인기로 구분하였다.

치료는 吳<sup>8)</sup>는 消風導赤湯을 통치방으로 하고 乾斂인 경우는 扶潤肌膚를 濕斂인 경우에는 嫩黃栢頭末을 응용한다고 하였으며, 《中醫兒科臨床手冊》<sup>38)</sup>에서는 濕熱蘊蒸型和 脾虛血虧型으로 나누어 濕熱蘊蒸型은 清熱·利濕·祛風하는 草薢滲濕湯加減을, 脾虛血虧型은 健脾·燥濕·養血·祛風하는 平胃散合四物湯加減을 應用하였는데 이를 살펴 보면 濕熱蘊蒸型은 급성기 및 영아기 습진의 발작기에 해당하며 脾虛血虧型은 만성기 및 영아기 습진의 반복 발작기에 해당한다고 볼 수 있다.

當歸飲子<sup>10)</sup>는 《濟生方》에 當歸引子로 처음 수록된 처방으로 危<sup>39)</sup>는 當歸飲으로 別名하였으며, 心血이 凝滯되고 안으로 風熱이 쌓이면 皮膚에 瘡疥가 발생하며 혹은 붓거나 소양감이 있고 膿水가 浸淫하거나 또는 皮膚가 發赤하여 두드러기가 생기는 것을 치료할 목적으로 立方되었는데, 本方은 四物湯을 基本方으로 하여 補肝腎하는 何首烏, 風熱을 祛하여 皮膚瘙痒과 瘡를 치료하는 白蒺藜, 風熱을 發散시키는 荊芥, 防風, 托瘡生肌하는 黃芪, 諸藥을 調和시키고 解毒作用을 하는 甘草를 加하여 구성되었다<sup>40-42)</sup>.

實驗에 사용된 加味當歸飲子<sup>11)</sup>는 當歸飲子에서 生地黃을 乾地黃으로 바꾸고 여기에 小兒의 생리적 특징인 “陽常有餘 陰常不足”의 이론에 의거하여 滋陰降火시키는 知母, 黃柏, 玄蔘, “脾常不足, 肺常不足, 腎常虛”의 이론에 의거하여 成人과 달리 脾胃의 機能低下로 인하여 疳積증상이 나타나는 것을 우려하여 健脾益氣 消食導滯 芳香化濕시키기

는 砂仁, 山查肉, 피부 가려움증에 따른 이차 감염을 우려하여 風熱을 宣散하여 解表透疹, 清熱解毒시키는 蟬蛻, 連翹, 牛蒡子, 天麻, 白鮮皮, 白僵蠶, 浮萍草, 黃芩, 肺胃氣分の 熱을 清解하며 血藥을 도와 涼血解毒하는 石膏<sup>40-42)</sup>를 가미하여 小兒의 發散上升이 과도하여 陰血을 쉽게 손상되고 脾虛로 인하여 氣血不調로 인하여 쉽게 만성으로 전변되는 피부질환을 다스릴 목적으로 作方되었다.

알레르기 질환의 발생과정은 크게 초기반응과 후기 반응으로 구분되는데, 초기반응은 항원의 자극에 의해 항체(IgE)가 생산된 후 항체가 비만세포 표면의 high affinity receptor (FcεRI)에 결합하였을 때 항원이 재침입하면 FcεRI와 결합하고 있는 항체와 결합하여 비만세포 내로 신호를 빠르게 전달하여 알레르기를 일으키는 화학적 매개물질(cytokine, histamine, leukotrien)을 분비하게 된다. 후기 반응은 Th2-type 2 cytokine(IL-4, 5, 6, 10, 13)이 tissue fibroblast 또는 epithelial cell들의 chemokine(monocyte chemoattractant protein-1, eotaxin-1, RANTES) 생산을 유도하여, 그 결과 염증성 세포, 특히 호산구가 알레르기 반응부위로 이동하는 것이다<sup>43)</sup>.

인체의 방어 기전인 면역체계는 T 세포의 활성화를 중심으로 이루어진다. 따라서 T 세포의 활성화에 관한 충분한 이해는 면역체계의 조절 과정을 파악하는데 도움이 되며, 많은 면역질환의 예방 및 치료제 개발의 자료가 되는데, T 세포(Naive CD4+ T cell)의 활성화는 T 세포 수용체(TCR : T cell receptor)를 통한 매우 복잡한 신호전달과정을 통하여 이루어지며, 이 과정에 참여하는 주요 인자는 수용체, 인산화 효소, adapter, effector, 전사조절인자(transcription factor) 등이다<sup>44)</sup>. 활성화된 CD4+ T세포는 보조 T세포(helper T cell,

Th세포)로서 이들 Th세포는 B세포의 항체 생산을 보조하고(Th2), 감염된 대식세포의 활성화를 돕는다(Th1). 이러한 작용은 직접 세포-세포간 상호 결합에 의해서 또는 cytokine의 분비를 통해서 이루어진다<sup>45)</sup>. Th 세포는 IL-2를 생산하고, 세포 주기의 G0 단계에서 G1단계로 들어가게 되어 세포 증식을 시작하게 되며<sup>46)</sup>, 다음 단계는 분화(differentiation)로 세포의 기능이 결정 지워지는 단계이다. 즉, 활성화된 Th 세포는 그들이 분비하는 cytokine의 종류와 분비한 cytokine에 의한 면역 조절기능에 따라 Th1과 Th2, 두 종류의 효력 T세포(effector CD4+ T cell)로 분화하게 된다<sup>47)</sup>. 이렇게 분화된 효력 Th1 세포는 IFN-γ, IL-12와 같은 Th type 1 cytokine (proinflammatory cytokine)을 생산하여 박테리아 감염과 같은 intracellular pathogen에 대항하는 면역반응에 관여한다. 한편 이들의 과도한 발현은 자가면역질환을 초래하기도 한다. 이와는 달리 효력 Th2 세포는 IL-4, 5, 9, 10, 13 등과 같은 Th type 2(antiinflammatory cytokine)를 생산하여 기생충과 같은 extracellular parasite의 감염에 대항하고, B 세포와 함께 체액성 면역반응에 관여하는데<sup>48)</sup>, 잘 알려져 있듯이 이들의 과다한 발현은 알레르기 질환을 초래 할 수 있다.

이처럼 Th1 세포가 생산하는 Th type 1 cytokine은 Th1 세포의 분화를 유도하는 반면 Th2 세포의 증식과 분화를 억제하며, 반대로 Th2 세포가 생산하는 Th type 2 cytokine은 Th2 세포의 증식과 분화를 유도하는 반면 Th1 세포의 분화를 억제하는 식으로 서로 상호견제를 통해 균형을 이루며 Th1과 Th2 면역반응을 조절하므로, 이 균형이 깨어지게 되면 Th1/Th2 불균형으로 인한 여러 가지 면역질환을 겪게 된다<sup>49)</sup>. 알레르기 질환도

그 균형이 Th2 쪽으로 치우친 결과로 유발된 면역질환 중의 하나이다. 이렇듯 알레르기 발생과 조절에 있어 가장 중요한 세포는 Th2 세포로, 알레르기는 항체의 isotype을 IgM 또는 IgG에서 IgE로 바꾸어주는 Th2 세포가 활성화되면서 시작되며, Th2 세포가 생산하는 Th type 2 cytokine(IL-4, IL-10 etc)에 의해서 B 세포의 IgE 생산, 호산구의 활성화, 염증반응 등을 나타낸다<sup>50)</sup>. 따라서 알레르기 질환이 Th1 세포와 Th2 세포의 균형이 깨어져 Th2 쪽으로 치우쳐서 유발되는 질환이라는 것에 근거해 볼 때, Th1 세포로의 분화를 주도하는 T-bet은 중요한 알레르기 반응조절제로서의 역할을 수행하리라 생각되어 알레르기 치료제 개발에 있어 매우 흥미로운 대상으로 부각되고 있다<sup>51)</sup>. 이와 같이 면역반응제어에 있어서 Th 세포기능 조절의 중요성이 강조되고 있고, 특히 Th1/Th2 분화 및 cytokine의 균형과 알레르기 반응과의 밀접한 관계로 미루어 볼 때, 단순히 임상적 증상들을 완화시키는 일시적인 치료제 개발이 아닌, 보다 근본적인 요인에 초점을 맞춘 새로운 알레르기 치료제 개발이 Th 세포분화조절을 통하여 실현될 가능성이 있어, 앞으로 이 분야의 연구는 더욱 활성화 될 것으로 보인다.

이러한 알레르기는 Coombs와 Gell에 의해 발생기전에 따라 제 1형: IgE 매개성 과민반응, 제 2형: 항원-항체 매개성 과민반응, 제 3형: 항원-항체 복합체 매개성 과민반응, 제 4형: T세포 매개성 과민반응으로 분류한다. 그중 제 1형 알레르기 반응은 일반적으로 불리는 알레르기 반응의 대부분을 차지하는데 피부, 기관지점막, 비점막 등에 분포되어 있는 비만세포 표면의 IgE와 항원이 반응하여 비만세포의 탈과립 현상을 유발시켜 수 분 내에 비만세포에서 혈관 확장 및 염증반응 매개물

질이 분비되어 평활근 수축, 점액분비, 점액부종, 혈관과민성 항진, 혈관 확장을 일으켜 알레르기 질환을 발생하게 하는 주요 원인이 된다. 주요 표적기관은 폐, 피부, 위장관이고 주된 알레르기 질환은 아토피 피부염, 고초열, 기관지 천식, 알레르기성 비염 등이 있다<sup>52-54)</sup>.

아토피 피부염은 제1형 알레르기 반응기전에 의한 아토피 질환의 하나로 구분되면서도 다른 아토피 질환과는 달리 정확한 병인이 알려져 있지 않으며 병인에 알레르기 기전이 얼마나 관여하는가에 대해서도 논란이 되고 있다. 아토피 피부염 환자의 약 80% 이상에서 혈청 IgE가 증가하는데 대부분의 환자에서 음식물이나 대기중 항원에 대한 특이 IgE 항체가 나타나고 즉시형 피부반응도 양성으로 나타나며 일부 환자는 해당 음식물 섭취 후 피부염이 악화된다. 호흡기를 통하여 대기중 항원에 노출된 후 피부염이 악화되기도 하며, 대기중 항원에 대한 첩포시험에 대하여 양성반응을 보이는 경우도 있다. 그러나 검사소견에서 나타나는 특이 IgE 항체나 양성 피부반응의 대부분은 질환의 심한 정도, 범위와의 상관관계와는 깊은 연관이 없다. 또한 아토피 피부염 환자는 세균, 바이러스, 진균 등의 피부감염이 정상인보다 흔하고, dinitrochlorobenzene (DNCB)과 같은 접촉성 항원에 대한 감각기능이 저하되는 등 세포면역반응이 저하되어 있다<sup>28,29)</sup>.

이와 같이 아토피 피부염은 종전까지는 IgE에 감각된 비만세포가 histamine 등의 화학매체들을 분비시켜 부종, 붉은 반점 및 소양 등과 같은 증상들이 발생하는 것으로 설명해왔으나 이것만으로는 만성 염증상태를 나타내는 이유와 아토피 피부염환자에서 흔히 보는 세포매개성 면역기능의 저하를 충분히 설명할 수 없었다. 그렇지만 세포성 면역에서 중요한

위치를 차지하는 T림프구 아형 또는 그와 관련된 cytokine이 면역체계에 관여한다는 사실이 규명된 다음 이 부분에 대한 설명이 가능해졌고 최근에는 세포면역을 담당하는 T세포 및 그 아형의 이상, 그로 인해 나타나는 cytokine의 불균형이 아토피피부염을 일으키는 주요 기전이 된다고 설명하고 있다<sup>55)</sup>.

이와 관련된 논문으로는 조<sup>56)</sup>의 아토피 환자에서의 IgE항체 생성 조절기전 : 말초혈액 림프구의 IL-4, IFN- $\gamma$  생성의 불균형, 김<sup>57)</sup>의 아토피 피부염 환자에서의 vIFN- $\gamma$  치료, 노<sup>58)</sup>의 아토피피부염에서 혈중 Interferon- $\gamma$ , Interleukin -4, Interleukin-5 및 Interleukin-10의 농도, 안<sup>59)</sup>의 아토피 피부염에서의 재조합 감마 인터페론 치료효과 등의 연구가 있다.

이에 임상에서 아토피 피부염 환자들에게 다용되고 있으며 임상상 효과를 보이고 있는 加味當歸飲자가 아토피 피부염에 실험적으로 효과가 있다고 가정할 때 NC/Nga 아토피 모델 생쥐에서 피부염 발진과 IgE 증가에 대한 억제 효과를 알아보하고자 본 실험에 임하게 되었다.

NC/Nga mice는 전통적인 air-uncontrolled 상황(conventional NC/Nga mice)에서 12주 이후 혈청 중 IgE 수준이 정상의 100배까지 기록되고 아토피 피부염이 유발되는 동물모델이다.

NC/Nga mice를 이용하여 B 세포의 분화되는 과정에서 분비되어 결합하여 염증 반응을 유도하는 IgE와 Th2 세포에서 분비되어 B 세포의 분화를 촉진하는 IL-6의 수치를 측정 한 실험에서, total IgE 수치 결과는 16주와 20주에서 IgE 수치가 급격한 증가를 나타내었는데 실험군은 69.6 $\pm$ 19.9( $\mu$ g/ml)와 85.5 $\pm$ 18.1( $\mu$ g/ml)로 대조군의 111.8 $\pm$ 8.0( $\mu$ g/ml)과 126.5 $\pm$ 6.8( $\mu$ g/ml)에 비하여 최종 20주령에서 약

32.4% 감소를 관찰할 수 있었고(Fig. 1. A), total IL-6 수치를 측정한 결과에서는 16주와 20주에서 IL-6 수치가 급격한 증가를 나타내었는데 실험군은 369 $\pm$ 29(pg/ml)와 414 $\pm$ 38(pg/ml)로 대조군의 443 $\pm$ 49(pg/ml)와 646 $\pm$ 53(pg/ml)에 비하여 최종 20주령에서 약 35.9% 감소를 관찰할 수 있었는데(Fig. 1. B), 이러한 결과는 加味當歸飲子 추출물이 NC/Nga mice의 B 세포 알레르기 면역반응을 억제하여 B 세포 분화에 수반되는 IgE와 IL-6의 수치를 억제하는 것으로 생각된다.

Th2 세포에서 분비되는 IL-4는 면역글로블린 생성시 IgE로 분화를 유도하고 유착분자들을 활성화시켜 단핵구나 호산구 등 염증세포들을 염증이 일어나는 조직 세포로 이동하게 하고, IL-5는 호산구의 증식과 활성화를 유도하는 기능이 있으며, IL-13은 IgE 생산을 자극한다. Th1 세포에서 분비되는 IFN- $\gamma$ 는 알레르기 반응을 일으키는 Th2 세포를 억제하고 IgE 생산을 증가시키는 B세포 분화를 억제하는 것으로 알려진 cytokine이다<sup>60,61)</sup>. 이러한 혈청 중 total IL-4, IL-5, IL-13 수치를 측정 한 실험에서, IL-4 수치는 실험군에서 38.9 $\pm$ 4.8(pg/ml)로 대조군의 78.3 $\pm$ 7.9(pg/ml)에 비하여 약 2배의 유의성 있는 감소를 나타내었고(p<0.001)(Fig. 2), IL-5 수치는 실험군에서 103 $\pm$ 18(pg/ml)로 대조군의 250 $\pm$ 56(pg/ml)에 비하여 약 2.4배 유의성 있는 감소를 나타내었으며(p<0.01)(Fig. 2), IL-13 수치는 실험군에서 1320 $\pm$ 204(pg/ml)로 대조군의 2105 $\pm$ 365(pg/ml)에 비하여 약 1.6배 유의성 있는 감소를 나타내었다(p<0.05)(Fig. 3. A).

혈청 중 total IFN- $\gamma$  수치를 측정한 결과에서는 실험군에서 1260 $\pm$ 265(pg/ml)로 대조군의 962 $\pm$ 363(pg/ml)에 비하여 증가를 나타내었다 (Fig. 3. B).

이 결과는 加味當歸飲子 추출물이 NC/Nga mice의 알레르기 자가 면역 질환으로 Th2에서 분비되는 IL-4, IL-5, IL-13을 억제하며 Th1에서 분비되는 IFN- $\gamma$ 를 증가시켜 Th2를 억제하는 것으로 생각된다.

NC/Nga 생쥐 20주령 후 실험을 종료하고 facial 부분을 전모한 다음 피부를 박리하여 RT-PCR을 수행하여 Th1과 Th2세포에서 분비되는 IL-4, IFN- $\gamma$ 를 측정하여 T 세포 침윤을 관찰하였다. IL-4 mRNA 발현량(Ht값)은 실험군에서 30(Ht)로 대조군의 85(Ht)에 비하여 2.8배 감소하였고, IFN- $\gamma$  mRNA 발현량(Ht값)은 실험군에서 117(Ht)로 대조군의 15(Ht)에 비하여 7.8배 증가하였다(Fig. 4). 이러한 결과는 피부 염증질환 부위의 발진이 加味當歸飲子 추출물에 의하여 억제되어 Th2 세포와 eosinophil, neutrophil, mast 세포의 침윤이 억제된 결과라 생각된다.

NC/Nga mice 20주령 후 실험을 종료하고 facial 부분을 전모한 다음 피부를 박리하여 앞면 피부조직과 목 등쪽 피부조직을 14일간 배양하여 배양 상층액에서 IL-6과 IL-13 분비량을 측정하였다.

Total IL-6 수치는 실험군에서  $49.5 \pm 5.8$  (pg/ml)로 대조군의  $58.2 \pm 7.4$  (pg/ml)에 비하여 감소를 나타내었고, total IL-13도 실험군에서  $139 \pm 16.4$  (pg/ml)로 대조군의  $254 \pm 40.3$  (pg/ml)에 비하여 감소를 나타내었다( $p < 0.01$ ) (Fig. 5).

실험 종료 후 Skin 일부를 절단한 후 H&E 염색을 하여 skin 조직을 분석한 실험에서는 실험군은 대조군에 비하여 epidermis의 두께가 현저하게 줄었고, leukocyte의 침윤은 보이고 있지만 부종은 거의 사라진 것을 알 수 있었다(Fig. 6).

Lymphokine assay에서는 정상 C57bl/6에서 비장을 적출한 후 T 세포만 순수 분리하여

anti-CD3과 anti-CD28로 동시 자극하였다. 加味當歸飲子 추출물(100 $\mu$ g/ml)을 처리하여 48시간 동시배양한 후 배양상층액에서 Th2 세포와 Th1 세포에서 분비되는 IL-4와 IFN- $\gamma$ 의 분비량을 ELISA로 측정하여 加味當歸飲子 추출물이 Th2 세포에서 Th1 세포로 shift를 시키는지를 관찰하였다. IL-4 분비량은 실험군에서  $16.3 \pm 3.3$  (pg/ml)로 대조군의  $57.4 \pm 0.5$  (pg/ml)에 비해 3.5배 이상 감소를 나타내었고, IFN- $\gamma$  분비량은 실험군에서  $134.6 \pm 4.7$  (pg/ml)로 대조군의  $107.9 \pm 2.15$  (pg/ml)에 비해 증가를 나타내었다(Fig. 7).

이상의 결과를 종합해 보면 加味當歸飲子 추출물을 NC/Nga mice에 경구 투여한 후 관찰한 혈청의 IgE와 IL-6 함유량을 유의성있게 감소시켰으며, Th2 세포에서 분비되는 IL-4, IL-5, IL-13의 수치는 감소시킨 반면 Th1 세포에서 분비되는 IFN- $\gamma$ 의 수치는 증가시켜 Th2에 대한 억제 작용을 유발시킨 것으로 생각되어지며, IL-4의 유전자 발현량은 감소시키고 IFN- $\gamma$ 의 유전자 발현량을 증가시켰다. Lymphokine assay에서는 IL-4의 분비량을 유의성있게 감소시키고 IFN- $\gamma$ 의 분비량을 유의성있게 증가시켰다.

이상의 결과로 미루어 보아 加味當歸飲子 추출물은 Th1과 Th2의 균형이 Th2쪽으로 치우쳐서 유발되는 아토피 피부염에 IFN- $\gamma$ 는 증가시키고 IL-4, IL-5는 억제하는 작용을 하여 알레르기 면역 반응에 관여하는 Th2 세포를 억제하여 Th2 세포에서 Th1 세포로 shift시키는 작용을 함으로써 아토피 피부염 치료에 유효하게 활용할 수 있을 것으로 판단되며 지속적인 연구가 진행되어야 할 것으로 사료된다.

## V. 結 論

아토피 질환 환자에 사용되는 加味當歸飲子 추출물이 아토피 발진 억제에 미치는 영향을 실험적으로 규명한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 加味當歸飲子 추출물은 혈청의 IgE와 IL-6, IL-4, IL-5, IL-13의 혈중 수준을 유의성있게 감소시켰다.
2. 加味當歸飲子 추출물은 Th1 세포에서 분비되는 IFN- $\gamma$ 의 생산량을 유의성있게 증가시켰다.
3. 加味當歸飲子 추출물은 NC/Nga mice의 피부에서 IL-4 유전자 발현량을 감소시키고, IFN- $\gamma$  유전자 발현량을 유의성있게 증가시켰다.
4. 加味當歸飲子 추출물은 피부 세포를 분리한 후 14일간 배양한 배양상등액에서 IL-13과 IL-6 생산량을 유의성있게 감소시켰다.
5. 加味當歸飲子 추출물은 skin조직에서 epidermis와 dermis 부분의 염증정도와 침윤된 염증면역세포 등을 유의성있게 감소시켰다.
6. 加味當歸飲子 추출물은 Lymphokine assay에서 IFN- $\gamma$ 의 분비량을 증가시키고 IL-4의 분비량을 유의성있게 감소시킴으로 Th2 세포에서 Th1 세포로 shift 시켰다.

## 參 考 文 獻

1. 장호선. 아토피 피부염의 진단과 치료. 가정의학회지. 2002;23:831-838.
2. 김덕곤. 동의 소아과학. 서울:정담. 2002: 660-4.
3. 홍창의. 小兒科學. 서울:대한교과서주식회사. 1997:1016-8.
4. Clark RA, Kristal L. Atopic dermatitis. In: Sams WM, Lynch PJ, editors. Principles and practice of dermatology. New York: Churchill Livingstone. 1996:403-18.
5. 홍원식 편저. 정교황제내경소문. 동양의학연구원출판부. 1985:72-80, 246-8.
6. 宋書功 主編. 金匱要略廣州校註. 북경: 인민위생출판사. 1994:221-5.
7. 巢元方 편저. 巢氏諸病源候論. 서울:대성문화사. 1992:251-3.
8. 吳謙. 醫宗金鑑. 서울:대성문화사. 1991: 459-460.
9. 공남미, 지선영. 아토피피부염의 양·한방적 고찰. 대한외관과학회지. 1999;12:241-253.
10. 嚴用和. 濟生方. 中醫醫學大系卷十一. 서울:여강출판사. 1987:522.
11. 大田大學校 韓方病院. 韓方病院 處方集. 大田: 韓國出版社. 1992:406.
12. 박민철, 김진만, 홍철희, 황충연. 아토피 피부염의 동서의학적 문헌고찰. 대한안이비인후피부과학회지. 2002;15(1):226-252.
13. 정진영, 김윤범. 소양증의 외치법에 관한 고찰. 대한한방알레르기 및 면역학회 자료집. 2003;1:65-92.

14. 구영희, 최인화. 만성 성인형 아토피 피부염의 한방 치험 3례. 대한안이비인후 피부과학회지. 2002;15(1):140-150.
15. 권미원, 이해자, 박은정, 황우준. 아토피 피부염 환자 20명에 대한 임상적 고찰과 ECP의 변화. 대한한방소아과학회지. 2000; 14(2):121-132.
16. 한재경, 김윤희. 외용요법을 병행한 아토피 피부염 환자 20예에 대한 임상적 연구. 대한한방소아과학회지. 2001;15(1):15-38.
17. 신동길, 김우연, 이진용, 김덕곤. 선방패 독탕이 아토피피부염환자 단핵세포의 Cytokine 분비능에 미치는 영향. 대한한방 알레르기 및 면역학회 자료집. 2003;1: 93-110.
18. 김기훈, 김덕곤. 상업이 흰쥐의 비만세포와 Histamine유리에 미치는 영향. 대한한방알레르기 및 면역학회 자료집. 2003; 2:15-31.
19. 양희연, 김윤범. 아토피 피부염과 피부의 지질변화. 대한한방알레르기 및 면역학회 자료집. 2003;1:15-22.
20. 이승희, 장규태, 김장현. 아토피 피부염 환자의 성장에 관한 연구. 대한한방알레르기 및 면역학회 자료집. 2004;1:87-97.
21. 이건학, 노석선. 건선에 활용되는 加味當歸飲子에 대한 실험적 연구. 대한외관 과학회지. 1999;19(2):113-142.
22. 심상신, 김종한, 최정화. 당귀음자가감을 응용한 건선 환자 1례에 대한 임상적 고찰. 대한안이비인후피부과학회지. 2002; 15(1):336-342.
23. 盧石善. 當歸飲子 水抽出液이 抗 ALLERGY 反應과 MOUSE의 免疫細胞機能에 미치는 影響. 원광대학교대학원. 1990.
24. Schultz Larsen F, Diepgen T, Svensson A. The occurrence of atopic dermatitis in north Europe: An international questionnaire study. J Am Academy Dermatology. 1996;34:760-4.
25. 박영민, 박홍진, 김태윤, 김정원. 피부과 외래환자에서 아토피 피부염의 상대 빈도와 임상적 특징 및 검사소견에 관한 연구. 대한피부과학회지. 1997;35:96-106.
26. 이해성, 김종서, 편복양. 소아 아토피 피부염의 빈도와 원인의 변화. 소아 알레르기 및 호흡기학회지. 2002;12(4):263-270.
27. Broide DH. Molecular and cellular mechanism of allergic disease. J. Allergy Clin. Immunol. 2001;108:65-71.
28. 강형재 외. 피부과학. 서울:대한 피부과 학회 교과서 편찬위원회. 1994:21-5, 133-8.
29. 대한피부과학회. 피부과학. 서울:여문각. 1994:133-8.
30. 김남권, 문상돈. 사상체질 검사를 통한 성인형 아토피 피부염 환자의 예후에 대한 임상적 고찰. 동의생리병리학회지. 2001; 15(6):1029-33.
31. 曹世榮. 活幼心書. 上海:大東書局 卷中(明本論). 1933:2-8.
32. 王肯堂. 六科准繩(兒科). 서울:成輔社. 1982:85-7.
33. 曹孝忠. 聖濟總錄. 臺北:新文豐出版社. 1978:1439-40.
34. 중도일. 피부과의 한방치료. 서울:일증사. 1991:68-71.
35. 實用中醫學會編輯組. 臨床各科疾病療法. 香港:醫學社. 1988:409-10.



36. 裴元植. 韓方臨床學. 서울:南山堂. 1986: 786.
37. 洪彰義. 小兒科診療. 서울:高麗書籍. 1984: 564.
38. 上海中醫學院. 中醫兒科臨床手冊. 上海: 上海科學技術出版社. 1980:203-4.
39. 危亦林. 世醫得效方. 북경:인민위생출판사. 1990:640.
40. 康秉秀 外. 本草學. 서울: 永林社. 1991: 190-3, 578-82, 409-10, 518-19, 131-2, 127-8, 583-4, 534-6, 540-1, 155-7, 199-201, 144-5, 504-6, 186-7, 178-9, 160-3, 182-3, 294-6, 369-70.
41. 이상인, 안덕균, 신민호, 노승현, 이영중, 김선희. 漢藥臨床應用. 서울:成輔社, 1998: 90-1, 433-6, 107-8, 356-7.
42. 이상인. 방제학. 서울:영림사. 1990:171-2.
43. Barnes PJ. New direction in allergic diseases : mechanism-based anti-inflammatory therapies. *J. Allergy Clin Immunol.* 2000;106:5-18.
44. Dong C. and Flavell RA. Cell fate decision : T-helper 1 and 2 subsets in immune response. *Arthritis Res.* 2000;2:179-88.
45. Foster PS., Martinez-Mozygemba M., Huston DP. and Corry DB. Interleukin-4, -5, and -13 : emerging therapeutic targets in allergic disease. *Pharmacology & Therapeutics.* 2002; 94:253-64.
46. Friedlaender MH. The current and future therapy of allergic conjunctivitis. *Curr. Opin Ophthalmol.* 1998; 9:54-8.
47. German JA. and Harper MB. Environmental control of allergic disease. *Am. Fam. Physician.* 2002;66:421-6.
48. Grogan JL. and Locksley RN. T helper cell differentiation : on again , off again. *Current Opinion in Immunology* 2002;14:366-72.
49. Inagaki N. and Nagai H. Drugs for the treatment of allergic diseases. *Jpn J. Pharmacol.* 2001;86:275-80.
50. Kay AB. Overview of allergy and allergic disease : with a view to the future. *Br. Med. Bull.* 2000;56:843-64.
51. Park, L. S., D. Friend, K. Grabstein, and D. L. Urdal. 1987. Characterization of the high-affinity cell-surface receptor for murine B-cell-stimulating factor 1. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1669:84
52. 김형민. 면역과 알레르기. 서울:신일상사. 1998:179-86.
53. 전국의과대학교수 역. CURRENT 오늘의 진단과 치료. 서울:도서출판 한우리. 1999:865-6.
54. 中島泉. 新 면역학 입문. 서울:지구문화사. 1995:250-8.
55. 殷熙哲 등. 피부면역학. 서울:서울대학교출판부. 1999:27-34.
56. 조상현, 송숙희, 김윤근, 지영구, 최동철, 윤호주, 민경업, 김유영. 아토피 환자에서의 IgE 항체 생성 조절기전:말초혈액 림프구의 IL-4, IFN- $\gamma$  생성의 불균형. 알레르기학회지. 1995;15(2):205-15.
57. 김진우. 아토피 피부염 환자에서의  $\gamma$  IFN- $\gamma$  치료. 알레르기학회지. 1996;16(3):286-90.
58. 노건웅, 이우길. 아토피피부염의 감마 인

- 티페론 치료. 소아알레르기 및 호흡기 학회지. 1998;7(2):239-47.
59. 안필수, 방형돈, 정진호, 김규한, 박경찬, 윤재일. 아토피피부염에서의 재조합 감마 인터페론 치료효과. 알레르기학회지. 1996; 16(3):291-8.
60. 조영주, 문희범. Interleukin 4에 의해 유도된 CD23 항원 양성 B세포의 특성에 관한 연구. 대한면역학회지. 1992;14(1): 9-14.
61. 노건웅, 이기영. 아토피 피부염에서 혈중 Interferon- $\gamma$ , Interleukin-4, Interleukin-5 및 Interleukin-10의 농도. 소아알레르기 및 호흡기. 1998;8(1):72-8.