

아토피피부염에 대한 苦參加味方과 淸肌解毒散의 겸용 투여 효과

고홍윤 · 김동희*

대전대학교 한의과대학 병리학교실

Study on Combination of External Gosamgamibang and Internal Chenggihaedok-san for the Treatment of Atopic Dermatitis

Hong Yun Ko, Dong Hee Kim*

Department of Pathology, College of Oriental Medicine, Daejeon University

A combined prescription of GGB and CHS (G&C prescription group) was used to investigate its effects on immune related factors and histological changes in atopic dermatitis(AD) induced mice. Significant decrease of atopic dermatitis clinical index in G&C prescription group. In DLN, G&C prescription group significantly modulated the immune cells. G&C prescription group also showed significant effect on the immune cells of the dorsal skin as well as DLN. The group indicated significant decrease of the biosynthesis of IL-4, IL-5, IL-13, GM-CSF, cytokines in serum. On the other hand, the biosynthesis of TNF- α was decreased. G&C prescription group significantly decreased the immunoglobulin IgE levels in serum. The results suggest that G&C prescription significantly improves atopic dermatitis through regulation of immune cells and cytokines. Comparative studies with Protopic ointment also showed that G&C prescription showed significant effect in AD patients, and active application of the prescription in clinicals is anticipated. However, the reason for the results that oppose to those of previous studies should be investigated. Also, therapeutic effects of both internal and external applications should be studied individually as well as for any synergistic effects. Safety, toxicity, as well as stability studies should follow to develop G&C prescription into long-term external clinical product.

Key words : Gosamgamibang(GGB), Chenggihaedok-san(CHHS), atopic dermatitis

서 론

아토피피부염(AD)은 소양증, 전형적인 피부병변과 더불어 아토피 병력을 보이는 가족력을 특징으로 하는 만성 염증성 피부 질환이다^{1,2)}.

발병 기전으로 유전적 소인, 환경 인자, 약리학적 이상, 이로 인한 면역학적 변화 등의 복잡하고 다양한 인자가 치료의 난해성을 제공함으로써 의학적 과제로 남아있다¹⁻⁴⁾. 이 중 환경오염, 음식 섭취 변화 등의 환경 인자는 갈수록 악화 일로에 있어, 향후 AD 유병률은 더욱 높아질 것으로 예상되며, 실제 지난 몇 년 동안 AD 유병률은 지속적인 증가 추세로 보고되고 있다^{5,6)}.

* 교신저자 : 김동희, 대전시 동구 용운동 96-3, 대전대학교 한의과대학

· E-mail : dhkim@dju.ac.kr, · Tel : 042-280-2623

· 접수 : 2009/11/10 · 수정 : 2009/11/25 · 채택 : 2009/12/10

아울러 영·유아기의 AD에 대한 적절한 치료가 이루어지지 않으면 3명 중 2명은 천식이나 알레르기 비염으로 이행한다는 보고가 있어, 이에 대한 적절한 치료법이 요구되고 있다.

현재 다용되는 약물요법으로는 항히스타민제, 스테로이드제, 항생제 및 면역억제제 등이 있으며, 보조적으로 보습 제품과 스테로이드 등의 연고제를 외용한다^{7,8)}. 그러나 이들 요법은 매우 빠르고 강하게 효과를 나타낸 반면, 다양한 부작용과 반동 현상 등이 문제시되어^{9,10)}, 근본적인 치료법으로는 한계가 있다.

한의학에서 AD는 다양한 고서에서 ‘연령’, ‘증상’ 등에 준하여 유사 관계를 기술하고 있으며^{7,11,12)}, 임상에서의 치료법 역시 이에 준하여 응용되고 있다. 특히 임상에서는 AD가 癢痒症을 중심으로 발현되는 증상이라는 점에서 癢痒症을 일으키는 다양한 내·외적 인자에 대한 병리적 고찰과 이에 따른 독특한 유기체적 치료법이 이루어져 왔다. 이 등¹¹⁾은 “아토피 피부염 치료 처방에

대한 방제학적 고찰”에서 病症, 病因, 病態 및 진행 양상 등의 특징에 따라 치료 처방을 분리하여 정리 고찰함으로써 한의학적 AD 치료 대강을 기술한 바가 있다.

그러나 한의학적 치료법 역시 현재까지는 辨證別 대상 환자의 숫자, 객관적인 판정 기준, 구성 약물의 표준화 및 안전성 측면 등에서의 미비점으로 인하여 비교 우위의 치료법이라고 단언할 수 없는 실정이다.

이와는 별도로 실험적 연구에서는 AD에 대한 EBM 구축을 위하여 수종의 한약과 관련 처방을 중심으로 다양한 연구¹³⁻¹⁸⁾가 진행되어 왔으며, AD가 대부분 면역학적 요인간의 상호 병리적 작용에 의하여 발생·심화된다는 보고에 준하여 면역 조절능에 대한 효능 검색이 주를 이루고 있다. 특히 최근에는 기존 古方 처방의 효능 검색보다는 현재 임상에서 사용하고 있는 처방의 in vitro, in vivo 효능 검색을 통하여 기초와 임상에서 EBM 구축이 동시에 이루어지고 있다.

아울러 특성화된 한의원 설립으로 인하여 외치법이 임상에서 다용되기 시작하고, 이를 통한 항아토피 제품도 개발됨에 따라 임상 및 산업화의 기반 연구로 내·외치 병용에 대한 실험적 연구도 활발하게 진행되고 있다. 이는 양방에서 병증의 경중에 따라 내·외치를 병용하는 경우와 일치하는 패턴으로 볼 수 있다.

본 실험에서 內治方에 사용된 清肌解毒散(CHS)은 防風通聖散과 荊芥連翹湯의 變方으로 祛風熱, 祛濕 등의 효능¹⁹⁾을 가진 약물로 이루어져 風熱로 인한 각종 피부 질환에 응용되고 있으며, 특히 瘙癢感和 發疹이 심한 實證에 활용되고 있다. 外治方인 苦參加味方(GGB)은 전통적으로 외치에 사용되어 왔던 苦參, 地膚子, 石膏, 白鮮皮, 沙參 등으로 이루어진 처방으로, 최근 실험적 연구로 이루어진 복합방에 관한 내·외치방 효능 평가^{20,21)}에서 이들 약물이 대부분 구성 약물로 되어 있는 점은 이를 잘 반영하고 있다.

이에 본 연구에서는 현재 AD 치료를 위해 임상에서 활용되고 있는 CHS와 GGB 겸용 효능을 실험적으로 규명함으로써 EBM 구축과 임상적 활용을 제고하고자 하였으며, 실험 방법은 기존 실험과 동일한 방법으로 아토피 피부염을 유발한 NC/Nga 생쥐의 DLN(drainig lymph node), dorsal skin 및 혈청 등에서 유관 면역 인자들의 변화를 검색하였다.

재료 및 방법

1. 재료

1) 동물

실험동물인 수컷 6주령의 NC/Nga mice는 중앙실험동물에서 공급 받아 실험 당일까지 고형사료 (향생계 무첨가, 삼양사료 Co., Korea)와 물을 충분히 공급하고 온도 22 ± 2°C, 습도 55 ± 15%, 12시간-12시간 (light-dark cycle)의 환경에서 1주간 적응시킨 후 실험에 사용하였다.

2) 약물

본 실험의 外治方인 苦參加味方(Gosamgamibang 이하, GGB로 표기함)과 內治에 사용한 清肌解毒散

(Chenggihaedok-san 이하, CHS로 표기함)의 구성 약재들은 대전대학교 부속 한방병원에서 구입하여 정선 후 사용하였으며, 그 내용과 분량은 다음과 같다(Table 1, 2).

Table 1. The Prescription of GGB(1첩)

韓藥名	生藥名	用量 (g)
海桐皮	<i>Erythrinae Cortex</i>	8
蛇床子	<i>Cnidii Fructus</i>	8
黃芩	<i>Scutellariae Radix</i>	8
苦參	<i>Sophorae Radix</i>	6
蕎麥	<i>Fagopyrum esculentum Moench</i>	6
石膏	<i>Gypsum</i>	6
魚腥草	<i>Houttuyniae Herba</i>	6
蛇莓	<i>Duchesnea Indica</i>	6
松脂	<i>Resina Pini</i>	6
沙參	<i>Adenophorae Radix</i>	6
白鮮皮	<i>Dictamni Radicis Cortex</i>	6
地膚子	<i>Kochiae Fructus</i>	6
黃土	<i>Loess</i>	4
木炭	<i>Charcoal</i>	2.4
Total amount		84.4

Table 2. The Prescription of CHS(1첩)

韓藥名	生藥名	用量 (g)
滑石	<i>Talcum</i>	10
川芎	<i>Cnidii Rhizoma</i>	4
防風	<i>Saposhnikovia Radix</i>	4
當歸	<i>Angelicae Gigantis Radix</i>	4
白芍藥	<i>Paeoniae Radix Alba</i>	4
薄荷	<i>Menthae Herba</i>	4
連翹	<i>Forsythiae Fructus</i>	4
麻黃	<i>Ephedrae Herba</i>	4
芒硝	<i>Natrii Sulfas</i>	4
大黃	<i>Rhei Rhizoma</i>	4
石膏	<i>Gypsum</i>	4
桔梗	<i>Platycodi Radix</i>	4
黃芩	<i>Scutellariae Radix</i>	4
桑白皮	<i>Morus Cortex</i>	4
白朮	<i>Atractylodis Rhizoma White</i>	3
荊芥	<i>Schizonepetae Spica</i>	3
生薑	<i>Zingiberis Rhizoma Crudus</i>	3
梔子	<i>Gardeniae Fructus</i>	3
甘草	<i>Glycyrrhizae Radix</i>	2
Total amount		76

3) 시약

본 실험에 사용된 시약 중 collagenase, trypsin-EDTA, acetic acid, tris-base, tris-HCl, paraformaldehyde, dulbecco's phosphate buffered saline (D-PBS) 등은 Sigma사 (USA) 제품을 사용하였으며, 우태아혈청 (fetal bovine serum, FBS)은 Hyclone 사 (USA) 제품을, DMEM은 Gibco사 (USA) 제품을, Protopic Ointment 0.1%는 Astellas Pharma Manufacturing사 (USA) 제품을, TNCF는 동아제약 (Korea) 제품을, nti-CD19-FITC, anti-CD8-FITC, anti-CD4-FITC, anti-CD25-PE, anti-CCR3-PE, anti-CD11b-FITC, anti-Gr-1-PE 등은 BD-Pharmingen사 (USA) 제품을, IL-4, IL-5, IL-13, GM-CSF, TNF-α ELISA kit는 Biosource사 (USA) 제품을, IgE ELISA kit는 Shibayagi사 (Japan) 제품을 구입하여 사용하였으며, 기타 일반 시약은 특급 시약을

사용하였다.

4) 기기

본 실험에 사용된 기기는 황토약탕기 (알파세라믹약탕기, Korea), 감압 증류장치 (Rotary evaporator, Büchi B-480, Switzerland), microwave oven (LG, Korea), freeze dryer (EYELA FDU-540 Co., Japan), CO₂ incubator (Forma scientific Co., USA), clean bench (Vision scientific Co., Korea), autoclave (Sanyo Co., Japan), water bath (Vision scientific Co., Korea), plate shaker (Lab-line Co., USA), vortex mixer, heating block (Vision scientific Co., Korea), spectrophotometer (Shimadzu Co., Japan), centrifuge (한일, Korea), deep -freezer (Sanyo Co., Japan), ice-maker (Vision scientific Co., Korea), flow cytometer (Becton Dickinson, USA), Applied Biosystems 7500 Fast Real-Time PCR system (Applied Biosystems, USA), ELISA reader (Molecular Devices, Co., USA) 등을 사용하였다.

2. 방법

1) 시료 추출

처방 GGB, CHS 모두 반제 분량에 증류수 4,500 ml를 가하여 황토 약탕기에서 3시간 추출하여 얻은 액 중 480 ml를 여과하여, 감압 증류장치로 농축하였다. 농축액을 동결 건조기를 이용하여 완전 건조한 21.5 g, 18.0 g을 냉동 보관 (-80°C) 하면서 적당한 농도로 희석하여 사용하였다.

2) 피부염 유도

7 주령이 된 NC/Nga 생쥐의 등 부위를 깨끗하게 제모한 후 제모가 끝나면 피부의 미세 상처가 치유되도록 24시간 방치하였다. 1% TNCB 용액 (아세톤 : 올리브오일 = 3 : 1) 200 ul를 등 부위에 도포하고, 4일 후 0.2% TNCB 용액을 다시 150 ul 처리하였다. 3일 후부터는 1주일에 2~3번씩 0.2% TNCB 용액 150 ul를 등 부위에 4주간 도포하였다.

3) 시료 처리

실험은 4개 그룹으로 나누고 양성대조군은 0.1% Protopic 연고 100 mg를 피부염 유발 부위에 5주간 매일 도포하였으며, GGB와 CHS 처리군 (이하, G&C로 표기함)은 GGB는 10% 농도로 1일 2~3회 150 ul씩 분무를, CHS는 9 mg/28 g/day의 농도로 경구 투여를 5주간 병행하였다. 대조군은 증류수를 위와 동일한 방법으로 시행하였다.

4) 관능 평가

약물 처리 5주 후에 아토피피부염에서 일반적으로 사용되는 임상적 육안 평가법으로 관능평가를 실시하였다. 평가 항목은 홍반 (Erythema), 가려움과 건조 피부 (Pruritus & Dry skin), 부종과 혈종 (Edema & Hematoma), 짓무름(Excoriation), 태선화 (Lichenification)로 5가지이다. 각각의 항목은 없음 (0), 약함 (1), 중증도 (2), 심함 (3)으로 채점하였다.

5) 형광유세포 분석

실험 종료 후 TNCB로 유발된 NC/Nga 생쥐에서 draining lymph node (DLN), 배부 피부를 각각 적출하여 100 mesh로 각각의 세포를 분리하여 D-PBS로 5분간 원심분리 (1,700 rpm)하였

다. 이를 2회 세척한 후 cell strainer에 통과시켜 세포 이외의 분해되지 조직이나 불순물을 제거하였다. 이들 세포에 ACK 용액 (8.3 g NH₄Cl, 1 g KHCO₃ in 1L of demineralized water + 0.1 mM EDTA)을 실온에서 5분 동안 처리하여 적혈구를 용해시키고, 다시 D-PBS로 2회 세척한 후 0.04% trypan blue로 염색하여 세포수를 측정하였다. 측정된 cell을 5 × 10⁵ cells/ml의 농도로 조정된 후 4°C에서 면역형광염색(Immunofluorescence staining)을 실시하였다. 각각에 anti-CD19-FITC, anti-CD8-FITC, anti-CD4-FITC, anti-CD25-PE, anti-CCR3-PE, anti-CD11b-FITC, anti-Gr-1-PE 를 넣고 30분간 얼음에서 반응시켰다. 반응 후 3회 이상 인산완충 생리식염수로 수세하고 flow cytometry를 이용하여 측정하고 분석하였다.

6) 혈청 내 사이토카인 및 면역 글로불린 생성량 측정

실험 종료 후 ethyl ether로 마취한 상태에서 심장 천자법을 이용하여 채혈한 다음 6,500 rpm에서 20분간 원심 분리하여 혈청을 분리하였다. IL-4, IL-5, IL-13, TNF- α , GM-CSF 농도는 ELISA kit를 이용하여 다음과 같이 측정하였다. 각 well에 혈청을 50 μ l씩 분주하고 biotin-conjugated antibody를 50 μ l씩 가하여 혼합한 후 2시간 동안 37°C에서 반응시키고 washing buffer를 이용하여 4회 세척하였다. 이를 다시 100 μ l의 streptavidin-HRP Working solution을 가하여 30분 동안 실온에서 반응시킨 후 washing buffer를 이용하여 4회 세척하였다. 100 μ l의 stabilized chromogen을 가하여 암소에서 30분간 방치한 후 100 μ l의 stop 용액을 처리하고 ELISA reader로 450 nm에서 흡광도를 측정하였다. IgE 생성량의 측정은 ELISA kit를 이용하여 다음과 같이 측정하였다. 항체를 coating 완충 용액에 희석하여 microwell에 coating한 후 4°C에서 overnight 하였다. 각 well을 3회 washing 완충 용액으로 세척한 후 혈청 (100배 희석)을 100 μ l씩 분주하였다. 이를 1시간 동안 실온에서 방치하고 washing 완충 용액으로 2회 세척한 다음, avidin-HRP conjugated antibody 100 μ l를 처리하고 1시간 실온에서 방치한 후 다시 세척하였다. 여기에 TMB 기질을 100 μ l씩 분주하고 암소에서 30분간 방치한 다음 50 μ l의 stop 용액을 처리한 후 ELISA reader 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

7) 통계처리

다양한 실험으로부터 얻은 결과는 mean \pm standard error (S.E.)로 기록하였고, 유의성 검증은 Student's t-test 분석법을 이용하여 결정하였다.

결 과

1. NC/Nga 생쥐의 피부염 지수에 미치는 영향

7주령의 NC/Nga 생쥐를 제모한 후 TNCB를 도포하여 피부염을 유발시키면서 동시에 GGB 스프레이와 CHS 구강 투여를 실시하였다. Fig. 1은 9주부터 13주까지 2주 간격으로 대조군, Protopic 처리군, G&C 처리군의 피부염 유발 정도와 개선 정도를 나타내주는 사진으로, 최종 13주에는 G&C 처리군이 대조군에 비해서 피부염이 현저하게 개선되었음을 확인할 수 있다

(Fig. 1). 피부염 지수는 아토피 피부염을 유발한 후 최종 5주 후에 피부염의 심화 정도를 관능적 방법에 의하여 측정된 결과, 대조군은 9.7 ± 1.5 , Protopic 처리군은 6.0 ± 0.9 , G&C 처리군은 7.2 ± 2.1 로 유의적인 ($*p < 0.05$) 감소를 나타내었다(Fig. 2).

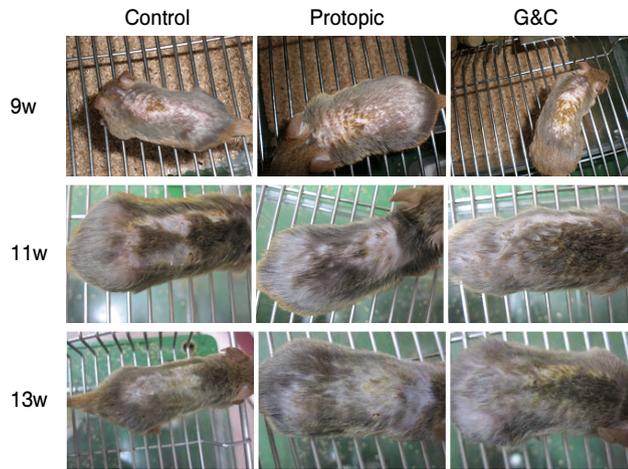


Fig. 1. Comparison of skin manifestation in NC/Nga mice between Control and G&C. Atopic dermatitis was induced by TNCB treatment in the dorsal skin.

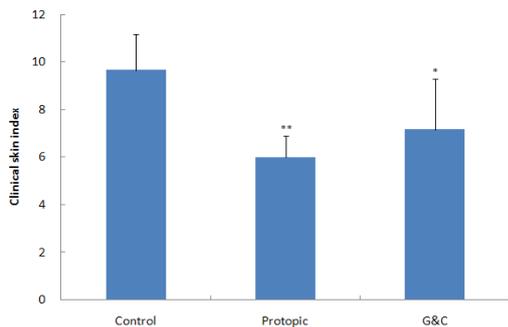


Fig. 2. Effects of G&C on clinical skin features and severity in TNCB-induced NC/Nga mice. Clinical skin index of dermatitis was defined as the sum of the individual scores graded as 0 (none), 1 (mild), 2 (moderate) and 3 (severe) for each of five signs and symptoms (itch, erythema/hemorrhage, edema, excoriation/erosion and scaling/dryness); Symptoms were evaluated by skin dryness, eruption and wound on the three parts of the body; ear, face and back. Statistically significant value was calculated by compared with control group by student's t-test (** $p < 0.01$, * $p < 0.05$).

2. DLN 내 면역세포 변화에 미치는 영향

1) CD19+ 세포 비율에 미치는 영향

정상군은 20.360 ± 0.552 (%), 대조군은 30.835 ± 1.945 (%)로 나타나 대조군에서 정상군에 비하여 유의성 있는 ($+p < 0.05$) 증가를 나타내었고, Protopic 처리군은 23.385 ± 0.559 (%), G&C 처리군은 24.170 ± 0.283 (%)로 각각 나타나 대조군에 비하여 유의성 있는 ($*p < 0.05$) 감소를 나타내었다(Fig. 3).

2) CD8+ 세포 비율에 미치는 영향

정상군은 19.310 ± 1.630 (%), 대조군은 12.035 ± 1.175 (%)로 나타나 대조군에서 정상군에 비하여 감소하였고, Protopic 처리군은 17.805 ± 0.835 (%), G&C 처리군은 15.635 ± 0.025 (%)로 나타나 대조군에 비하여 증가하였다(Fig. 4).

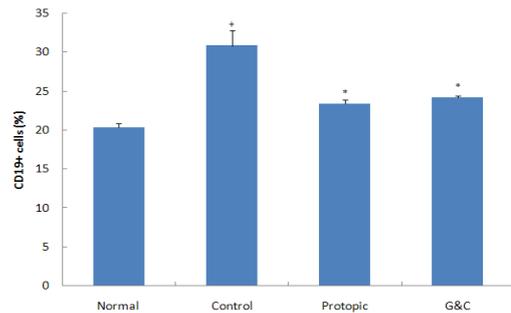


Fig. 3. Effect of G&C on CD19+ cell rate of DLN in TNCB-induced atopic dermatitis model of NC/Nga mice. NC/Nga mice model followed by the treatment of G&C (GGB spray & CHS administration) for 5 weeks. At the end of the experiment, the cells from DLN stained with anti-CD19⁺ and positively stained cells were analyzed by flow cytometry. The results represent the mean \pm S.E. Statistically significant value was calculated by compared with normal group by student's t-test ($+p < 0.05$). Statistically significant value was calculated by compared with control group by student's t-test ($+p < 0.05$).

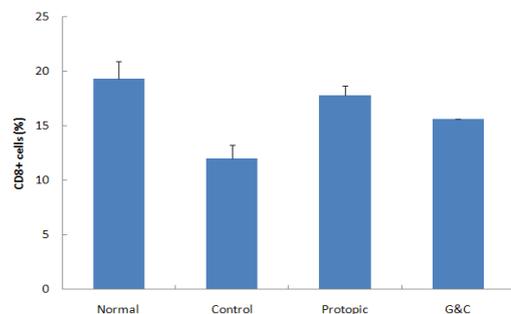


Fig. 4. Effect of G&C on CD8+ cell rate of DLN in TNCB-induced atopic dermatitis model of NC/Nga mice. NC/Nga mice model followed by the treatment of G&C (GGB spray & CHS administration) for 5 weeks. At the end of the experiment, the cells from DLN stained with anti-CD8⁺ and positively stained cells were analyzed by flow cytometry. The results represent the mean \pm S.E.

3) CD4+ 세포 비율에 미치는 영향

정상군은 31.960 ± 1.004 (%), 대조군은 23.590 ± 1.301 (%)로 나타나 대조군에서 정상군에 비하여 유의성 있는 ($+p < 0.05$) 감소를 나타내었고, Protopic 처리군은 25.675 ± 0.643 (%), G&C 처리군은 25.360 ± 1.146 (%)로 나타났다(Fig. 5).

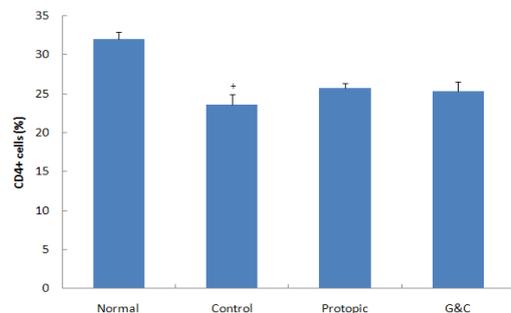


Fig. 5. Effect of G&C on CD4+ cell rate of DLN in TNCB-induced atopic dermatitis model of NC/Nga mice. NC/Nga mice model followed by the treatment of G&C (GGB spray & CHS administration) for 5 weeks. At the end of the experiment, the cells from DLN stained with anti-CD4 and positively stained cells were analyzed by flow cytometry. The results represent the mean \pm S.E. Statistically significant value was calculated by compared with normal group by student's t-test ($+p < 0.05$).

4) CD4+/CD25+ 세포 비율에 미치는 영향

정상군은 4.885 ± 0.304 (%), 대조군은 2.605 ± 0.672 (%)로 나타나 대조군에서 정상군에 비하여 유의성 있는 (+p<0.05) 감소를 나타내었고, Protopic 처리군은 3.840 ± 0.325 (%), G&C 처리군은 3.730 ± 0.212 (%)로 나타났다(Fig. 6).

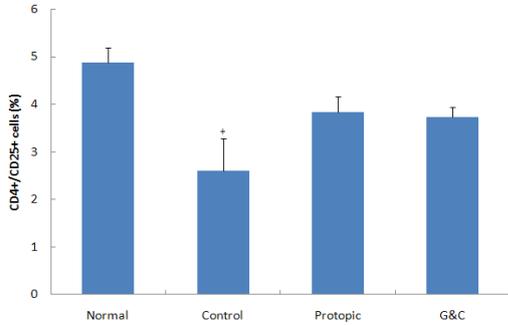


Fig. 6. Effect of G&C on CD4+/CD25+ cell rate of DLN in TNCB-induced atopic dermatitis model of NC/Nga mice. NC/Nga mice model followed by the treatment of G&C (GGB spray & CHS administration) for 5 weeks. At the end of the experiment, the cells from DLN stained with anti-CD4 and anti-CD25 and positively stained cells were analyzed by flow cytometry. The results represent the mean ± S.E. Statistically significant value was calculated by compared with normal group by student's t-test (+p<0.05).

3. 배부 피부 (Dorsal Skin) 내 면역세포 변화에 미치는 영향

1) CCR3+ 세포 비율에 미치는 영향

정상군은 3.320 ± 0.283 (%), 대조군은 9.405 ± 0.658 (%)로 나타나 정상군에 비하여 유의성 있는 (++)p<0.01) 증가를 나타내었고, Protopic 처리군은 4.210 ± 0.170 (%), G&C 처리군은 4.485 ± 0.276 (%)로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있는 (**p<0.01, *p<0.05) 감소를 나타내었다(Fig. 7).

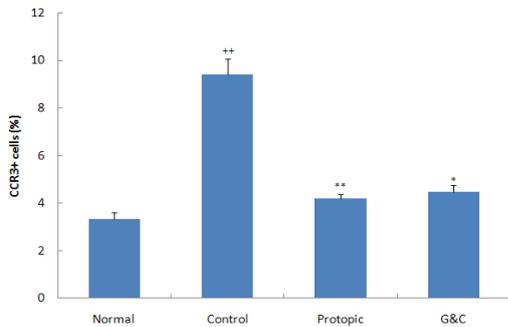


Fig. 7. Effect of G&C on CCR3+ cell rate of dorsal skin in TNCB-induced atopic dermatitis model of NC/Nga mice. NC/Nga mice model followed by the treatment of G&C (GGB spray & CHS administration) for 5 weeks. At the end of the experiment, the cells from skin stained with anti-CCR3 and positively stained cells were analyzed by flow cytometry. The results represent the mean ± S.E. Statistically significant value was calculated by compared with normal group by student's t-test (++)p<0.01). Statistically significant value was calculated by compared with control group by student's t-test (**p<0.01, *p<0.05).

2) Gr-1+/CD11b+ 세포 비율에 미치는 영향

정상군은 2.530 ± 0.226 (%), 대조군은 8.275 ± 0.940 (%)으로 나타나 대조군에서 정상군에 비하여 유의성 있는 (+p<0.05) 증가

를 나타내었고, Protopic 처리군은 4.305 ± 0.035 (%), G&C 처리군은 4.170 ± 0.113 (%)로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있는 (*p<0.05) 감소를 나타내었다(Fig. 8).

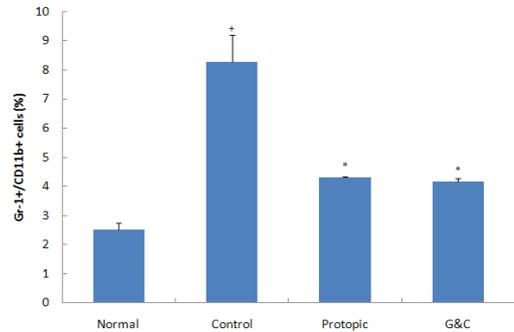


Fig. 8. Effect of G&C on Gr-1+/CD11b+ cell rate of dorsal skin in TNCB-induced atopic dermatitis model of NC/Nga mice. NC/Nga mice model followed by the treatment of G&C (GGB spray & CHS administration) for 5 weeks. At the end of the experiment, the cells from skin stained with anti-Gr-1 and anti-CD11b and positively stained cells were analyzed by flow cytometry. The results represent the mean ± S.E. Statistically significant value was calculated by compared with normal group by student's t-test (+p<0.05). Statistically significant value was calculated by compared with control group by student's t-test (*p<0.05).

4. 혈청 내 사이토카인 생성량에 미치는 영향

1) IL-4 생성량에 미치는 영향

정상군은 13.015 ± 3.896 (pg/ml), 대조군은 204.295 ± 13.541 (pg/ml)으로 나타나 정상군에 비하여 유의성 있는 (++)p<0.01) 증가를 나타내었고, Protopic 처리군은 37.600 ± 6.477 (pg/ml), G&C 처리군은 28.035 ± 3.613 (pg/ml)로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있는 (**p<0.01) 감소를 나타내었다(Fig. 9).

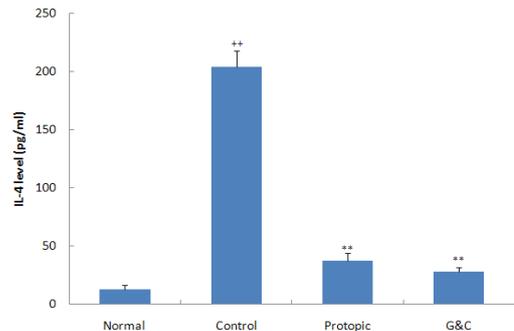


Fig. 9. Effect of G&C on the levels of IL-4 in the serum of TNCB-induced atopic dermatitis model of NC/Nga mice. Blood was collected from the retro-orbital plexus under ether anesthesia and serum was obtained by 6,500 rpm centrifugation. The levels of IL-4 were determined using a commercially available ELISA kit. The results represent the mean ± S.E. Statistically significant value was calculated by compared with normal group by student's t-test (++)p<0.01). Statistically significant value was calculated by compared with control group by student's t-test (**p<0.01).

2) IL-5 생성량에 미치는 영향

정상군은 16.110 ± 3.026 (pg/ml), 대조군은 209.255 ± 20.343 (pg/ml)으로 나타나 정상군에 비하여 유의성 있는 (++)p<0.01) 증가를 나타내었고, Protopic 처리군은 103.505 ± 8.549 (pg/ml),

G&C 처리군은 124.585 ± 17.246 (pg/ml)로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있는 (* $p < 0.05$) 감소를 나타내었다(Fig. 10).

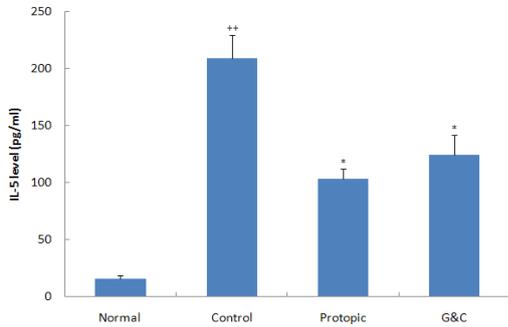


Fig. 10. Effect of G&C on the levels of IL-5 in the serum of TNCB-induced atopic dermatitis model of NC/Nga mice. Blood was collected from the retro-orbital plexus under ether anesthesia and serum was obtained by 6,500 rpm centrifugation. The levels of IL-5 were determined using a commercially available ELISA kit. The results represent the mean \pm S.E. Statistically significant value was calculated by compared with normal group by student's t-test ($++p < 0.01$). Statistically significant value was calculated by compared with control group by student's t-test ($*p < 0.05$).

3) IL-13 생성량에 미치는 영향

정상군은 68.310 ± 26.545 (pg/ml), 대조군은 592.110 ± 52.411 (pg/ml)로 나타나 정상군에 비하여 유의성 있는 ($++p < 0.01$) 증가를 나타내었고, Protopic 처리군은 165.670 ± 31.410 (pg/ml), G&C 처리군은 288.040 ± 27.323 (pg/ml)로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있게 (* $p < 0.05$) 감소하였다(Fig. 11).

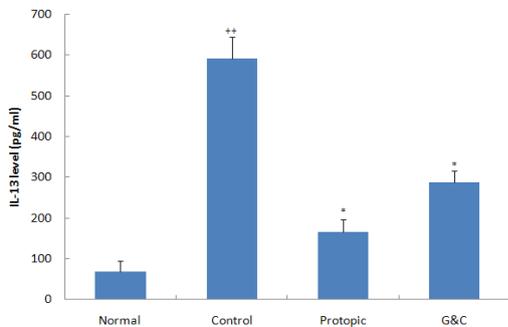


Fig. 11. Effect of G&C on the levels of IL-13 in the serum of TNCB-induced atopic dermatitis model of NC/Nga mice. Blood was collected from the retro-orbital plexus under ether anesthesia and serum was obtained by 6,500 rpm centrifugation. The levels of IL-13 were determined using a commercially available ELISA kit. The results represent the mean \pm S.E. Statistically significant value was calculated by compared with normal group by student's t-test ($++p < 0.01$). Statistically significant value was calculated by compared with control group by student's t-test ($*p < 0.05$).

4) TNF- α 생성량에 미치는 영향

정상군은 6.885 ± 0.700 (pg/ml), 대조군은 47.370 ± 4.398 (pg/ml)으로 나타나 정상군에 비하여 유의성 있는 ($++p < 0.01$) 증가를 나타내었고, Protopic 처리군은 19.590 ± 4.766 (pg/ml), G&C 처리군은 23.955 ± 7.092 (pg/ml)로 나타나 Protopic 처리군에서만 대조군에 비하여 유의성 있게 (* $p < 0.05$) 감소하였다(Fig. 12).

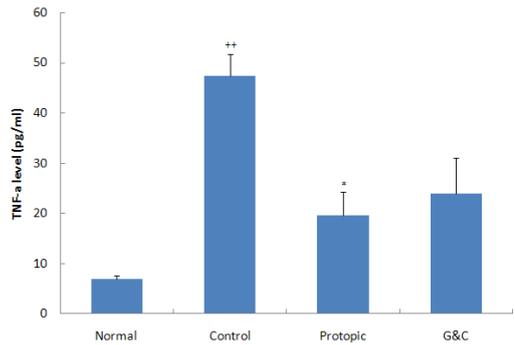


Fig. 12. Effect of G&C on the levels of TNF- α in the serum of TNCB-induced atopic dermatitis model of NC/Nga mice. Blood was collected from the retro-orbital plexus under ether anesthesia and serum was obtained by 6,500 rpm centrifugation. The levels of TNF- α were determined using a commercially available ELISA kit. The results represent the mean \pm S.E. Statistically significant value was calculated by compared with normal group by student's t-test ($++p < 0.01$). Statistically significant value was calculated by compared with control group by student's t-test ($*p < 0.05$).

5) GM-CSF 생성량에 미치는 영향

정상군은 42.775 ± 5.918 (pg/ml), 대조군은 324.085 ± 23.610 (pg/ml)으로 나타나 정상군에 비하여 유의성 있는 ($++p < 0.01$) 증가를 나타내었고, Protopic 처리군은 102.705 ± 30.823 (pg/ml), G&C 처리군은 131.645 ± 35.122 (pg/ml)로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있게 (* $p < 0.05$) 감소하였다(Fig. 13).

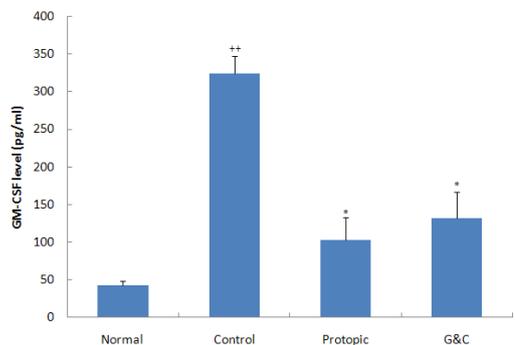


Fig. 13. Effect of G&C on the levels of GM-CSF in the serum of TNCB-induced atopic dermatitis model of NC/Nga mice. Blood was collected from the retro-orbital plexus under ether anesthesia and serum was obtained by 6,500 rpm centrifugation. The levels of GM-CSF were determined using a commercially available ELISA kit. The results represent the mean \pm S.E. Statistically significant value was calculated by compared with normal group by student's t-test ($++p < 0.01$). Statistically significant value was calculated by compared with control group by student's t-test ($*p < 0.05$).

5. 혈청 내 IgE 생성량에 미치는 영향

IgE 농도는 9주, 11주, 13주 각각 정상군은 35.439 ± 0.621 (ng/ml), 51.003 ± 2.840 (ng/ml), 78.052 ± 3.556 (ng/ml), 대조군은 100.363 ± 1.287 (ng/ml), 118.249 ± 0.044 (ng/ml), 125.791 ± 9.366 (ng/ml)으로 나타나 정상군에 비하여 유의성 있는 ($++p < 0.01$) 증가를 나타내었고, Protopic 처리군은 9주째 62.300 ± 5.947 (ng/ml), G&C 처리군은 9주와 13주째 각각 63.053 ± 8.520 (ng/ml), 97.466 ± 8.934 (ng/ml)로 나타나, 대조군에 비하여 유의성 있는 (* $p < 0.05$) 감소를 나타내었다(Fig. 14).

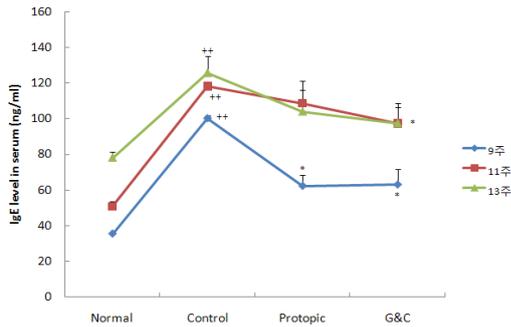


Fig. 14. Effects of G&C on the levels of IgE in the serum of TNCB-induced atopic dermatitis model of NC/Nga mice. Serum levels of IgE were measured by sandwich ELISA at indicated time points. The results represent the mean \pm S.E. Statistically significant value was calculated by compared with normal group by student's t-test ($++p<0.01$). Statistically significant value was calculated by compared with control group by student's t-test ($*p<0.05$).

고찰

아토피피부염은 만성 염증성 피부질환으로 건조증, 비강진, 습진 등의 징후와 가려움, 피부장벽의 손상, IgE 증가 등이 개인에 따라 다양하게 나타나며, 아토피 병력을 보이는 가족력을 특징으로 한다^{1,2)}.

발병 기전으로 유전적 소인, 환경 인자, 약리학적 이상, 이로 인한 면역학적 변화 등¹⁻⁴⁾의 복잡하고 다양한 인자가 치료의 난해성을 제공함으로써 현재까지 지속적인 연구가 이루어지고 있다. 유전학적 관점에서는 나라에 따라 차이가 있으나 아토피피부염 환자의 가계 중에 50~70%가 가족력과 개인력을 가지고 있음이 보고되었으며, 이는 환경적 요인보다도 유관성이 있는 것으로 보고되고 있다²²⁾. 면역학적 요인으로는 다양한 면역세포들의 복잡한 기전에 의한 것으로 알려졌으며, 특히 IgE 수치의 증가와 T세포의 면역학적 장애가 중요한 역할을 하고 있는 것으로 보고되었다^{23,24)}.

양방에서 주로 사용되는 치료지침은 보습, 국소 스테로이드제, 국소 calcineurin 억제제, 악화 인자의 분석 및 제거를 기본 치료로 하여 항히스타민제, 피부 감염 조절을 위한 보조 치료 및 광선치료나 면역반응 조절제, 면역 억제제, 류코트리엔 길항제 등의 선택적 치료가 이루어지고 있다³⁾.

그러나 이들 치료는 일정 효과와 더불어 다양한 부작용과 내성 등으로 인하여 치료의 한계성이 나타남으로써, 치료율은 높으면서 부작용을 극소화시킬 수 있는 약물에 대한 투자가 지속적으로 이루어지고 있다. 한의학계에서도 역시 수종의 한약과 처방을 중심으로 동물 실험을 통한 항아토피 효능 검색이 90년대 중반 이후부터 줄곧 이루어져 왔으며, 임상에서도 한의학적 특색을 지닌 다양한 치료 방법을 통하여 해결책을 제공하고자 노력하여 왔다.

본 실험에서는 아토피피부염과 관련한 동물 모델인 NC/Nga 생쥐 동물 모델을 선택하여 淸肌解毒散(CHS)의 경구 투여와 苦參加味方(GGB)의 피부 분무를 통하여 CHS와 GGB 적용 효능을 실험적으로 규명하고자 하였다.

실험에 사용된 NC/Nga 생쥐는 자발적 아토피성 피부염 유발 모델로 잘 알려져 있으나²⁵⁾, 자발적인 피부염 유도비율이 낮고 유도된 피부염의 severity에도 차이가 심한 단점이 있어²⁶⁾, 본 실험에서는 NC/Nga 생쥐에 TNCB (2,4,6-trinitrochlorobenzene)를 이용하여 피부염을 인위적으로 유발하였다.

본 실험에 사용된 內治方인 淸肌解毒散(CHS)은 防風通聖散과 荊芥連翹湯의 變方으로 風熱로 인한 각종 피부 질환에 응용되고 있으며, 이와 관련된 연구로 김¹³⁾의 淸肌散과 加減淸肌散이 마우스의 항알레르기 및 免疫反應에 미치는 影響, 김¹⁴⁾의 淸肌散 및 淸肌散加味方의 항 알레르기와 면역반응에 대한 실험적 연구, 김¹⁵⁾의 淸肌散의 效能에 關한 實驗的 研究, 손¹⁶⁾의 淸肌散과 三黃洗劑加味方 병용이 NC/Nga mice의 아토피 피부염에 미치는 영향, 具¹⁷⁾의 淸肌散이 아토피피부염 동물 모델에 미치는 영향 등 본 시료와 유관한 처방의 항아토피 효과가 이미 실험적으로 보고한 바가 있다.

外治方인 苦參加味方은 전통적으로 외치에 상용되어 왔던 약물로 구성되었으며, 관련 연구로 정 등^{18,27,28)}은 苦參의 항알레르기 효과 및 Allergy성 접촉피부염에 대한 苦參의 치료 효과를, 정²⁹⁾은 메밀(蕎麥) 抽出物의 항알레르기 反應에 對한 實驗的 研究를, 임 등³⁰⁾은 石膏의 생쥐 비장세포 인터루킨-4 분비에 미치는 효과를, 김 등^{31,32)}은 魚腥草 추출물이 생쥐 및 사람의 면역계에 미치는 영향과 항알레르기 효과를, 이³³⁾는 蛇梅의 항균력에 관한 연구를, 조 등³⁴⁾은 松脂의 세포독성과 항산화작용에 관한 연구를, 황 등³⁵⁾은 烏梅의 항산화 활성 성분에 관한 연구를, 신 등³⁶⁾은 沙蔞의 면역조절작용에 대한 실험적 연구를, 임³⁷⁾은 白鮮皮가 항알레르기의 작용에 미치는 영향을, 김³⁸⁾은 地膚子의 피부 도포가 Histamine으로 유발된 소양감, 홍반 및 팽진에 미치는 영향에 관한 연구를, 변³⁹⁾은 한국산 海桐皮와 대만산 海桐皮가 진통, 소염, 진정에 미치는 효과에 관한 비교연구를, 박⁴⁰⁾은 蛇床子가 대식세포와 관련된 인자에 미치는 항염증 효과를, 신⁴¹⁾은 黃芩 추출물이 면역반응과 항균작용에 미치는 영향을 각각 보고한 바가 있어 전반적으로 항염증, 항알레르기, 면역조절작용이 있는 약물로 구성되었다고 볼 수 있다.

면역학적 측면에서 AD는 혈청 IgE가 상승하고, helper T cell의 Th1 cell과 Th2 cell의 분화와 관련되어 있다^{23,24,42)}. Th1과 Th2는 naive CD4+ T cell인 동일전구체에서 발생하며, 분화는 초기 면역반응 동안에 존재하는 자극에 의해 결정된다. AD는 Th2 cell의 증가로 인하며 Th2 cell은 IL-4, IL-5, IL-10 등의 사이토카인을 분비하게 된다. 즉 IL-4, IL-5, IL-10 등은 Th2 cell이 분비하는 가장 중요한 사이토카인이며, 이러한 사이토카인들은 Th1 cell에 의해 생성되는 IFN- γ 의 작용에 길항하고 대식세포 활성화를 저해 한다^{1,43)}. 또 이들 사이토카인은 B세포에 ν 1,43IgE의 발현을 증가시킴으로써 아토피 환자에서 IgE의 양이 혈청 내에 증가하는 것으로 보고되었다^{44,45)}. 손¹⁶⁾은 Th1 cell이 분비하는 사이토카인이 상승함으로써 Th2 cell의 작용이 억제되어 IL-4, IL-5, IgE의 분비가 감소⁴³⁾, 아토피피부염이 개선되었음을 보고한 바 있고, 구¹⁷⁾는 淸肌散이 IL-4 생성을 억제함으로써 과도한 Th2 cell의 세포분화를 조절하고, 초기 아토피피부염의 진행을 차단

시키는 효과를 보고한 바 있으며, Walker 등⁴⁶⁾은 T림프구에 의한 IL-4 생산은 아토피피부염과 밀접한 관련이 있음을 보고하였다.

본 실험에서는 양성대조군으로 국소면역조절제인 Protopic 연고 (Tacrolimus 0.1%)를 사용하였다. Tacrolimus는 토양 곰팡이의 일종인 *Strepto-mycestsukabaenis*에서 추출한 물질로써⁴⁷⁾, 사이클로스포린과 유사한 작용 기전을 가지나 분자량이 작고 높은 효율의 면역 억제제로 아토피 피부염의 국소 도포용 치료제로 쓰이고 있다⁴⁸⁻⁵³⁾. 김 등⁵⁴⁾의 연구에 의하면 0.1% Tacrolimus 연고의 경우도 아토피 피부염 환자들에게 도포하였을 경우 도포한 부위의 작열감과 소양감의 부작용을 보고함으로써, 장기 치료가 필요한 경우가 많은 아토피피부염의 특성상 이에 대한 비교 연구와 지속적인 보완이 요구되고 있다.

실험 결과로 먼저 GGB와 CHS 처리군 (이하, G&C로 표기함)이 TNCB로 유발시킨 NC/Nga 생쥐의 아토피피부염의 심화 정도를 관능적 방법에 의하여 측정된 결과, Protopic 처리군과 G&C 처리군은 대조군에 비해 각각 38.1%, 25.8% 감소함으로써 유의적인 효과가 나타났다(Fig. 2).

DLN 내 면역세포 변화에 미치는 영향을 살펴보면 B세포의 특이적 표면 단백질인 CD19+ 세포는 대조군이 정상군에 비해 51.6% 증가한 반면, Protopic 처리군과 G&C처리군이 대조군에 비해 각각 24.3%, 21.7% 감소함으로써 유의적인 효과가 나타났다(Fig. 3). 이는 본 시료가 체액성 면역 반응의 항체 생산 분비 억제능이 있음을 시사하고 있으며, 하 등^{21,55)}의 논문 결과와도 부합된다. DLN에서 검색한 CD8+ T 세포와 CD4+ T 세포의 비율은 정상군에 비해 대조군에서 감소하였고, Protopic 처리군과 G&C 처리군에서는 증가하였는데(Fig. 4, 5), 이는 하 등^{21,56)}의 연구 결과와는 일치하나 박 등^{55,57)}의 연구 결과와는 상반된다. 특히 활성화된 CD4+ T 세포는 helper T cell로서 분비되는 사이토카인의 종류에 따라 Th1 cell과 Th2 cell로 분화하게 된다. Th1 cell은 IFN- γ , IL-12 와 같은 사이토카인을 분비하여 감염된 대식세포의 활성화를 도우며, Th2 cell은 IL-4, IL-5, IL-9, IL-10, IL-13 등과 같은 사이토카인을 생산하여 B세포의 항체 생산을 보조한다. Th1 과 Th2는 상호 견제와 균형을 통해 면역반응을 조절하게 되는데, AD는 과도한 Th2 cell의 발현으로 유발되는 것이다⁵⁷⁾. 본 연구에서 CD4+ T 세포에서의 유의성은 없었지만, 혈청 내에서 Th2 cell 사이토카인인 IL-4, IL-5, IL-13의 감소는(Fig. 9-11) 아토피피부염이 개선되었음을 의미하며, 타 연구 결과와의 차이는 지속적인 보완 연구가 필요할 것으로 사료된다.

또한 하^{21,56)}등의 연구 결과와 마찬가지로, 본 실험에서의 면역조절 T 세포인 CD4+/CD25+ 세포의 비율은 DLN에서 대조군은 정상군에 비해 유의성 있게 감소하였으며 (+p<0.05), Protopic 처리군과 G&C 처리군은 증가를 나타내었다(Fig. 6).

심한 AD 환자에서 말초 호산구 증가가 관찰됨으로써 AD에서 호산구 역할이 강조되며⁴³⁾, 더불어 Th2 세포에서 생산되는 사이토카인이 호산구의 활성화 후기 단계 반응의 염증 부위로 호산구의 보충을 촉진하는 것으로 보고⁵⁸⁾되고 있다. 본 실험에서 호산구와 관련된 피부 조직으로 침윤되는 면역 세포인 CCR3+ 세포 수의 비율이 대조군에서 정상군에 비해 유의성 있게

(++p<0.01) 증가하였고, Protopic 처리군과 G&C 처리군은 대조군에 비해 유의성 있게 (**p<0.01, *p<0.05) 감소한 것은 골수전구 세포로부터 호산구의 능력을 증가시키는 IL-5 생산량 감소와도 일치하는 결과이다(Fig. 7, 10)

Dorsal skin에서 과립구의 특이 세포 표면 단백질인 Gr-1+/CD11b+세포의 비율을 살펴본 결과, 대조군에서는 정상군에 비해 유의성 있게 (+p<0.05) 증가하였고, Protopic 처리군과 G&C 처리군에서는 유의성 있는 (*p<0.05) 감소 효과를 나타내 김 등^{20,21,59)}의 연구 결과와 일치하였으며, G&C의 투여가 과립구의 염증 국소 유입과 관련한 사이토카인의 생성 억제에 유의적임을 시사하였다(Fig. 8).

본 연구의 실험동물인 NC/Nga 생쥐는 Th2의 면역질환 모델로 지나친 IL-4의 분비로 IgE 생산이 촉진되면서 피부발진을 심화시키는데⁶⁰⁾, 임상에서 아토피 환자는 비아토피 환자보다 순환계에 더 많은 수의 알레르기 특이 IL-4 분비 T 세포를 더 갖고 있으며, 정상인보다 세포당 더 많은 IL-4를 생산한다. Th2 세포에서 분비되는 IL-4는 IgE 전환을 촉진하고 Th2 세포는 IgE 전환 촉진에 추가하여 즉시형 과민반응의 다른 구성 요소에도 영향을 미친다. 그 밖에 Th2 세포에서 분비되는 IL-5는 다수의 즉시형 과민 반응에서 많은 호산구를 활성화시키고, IL-13은 상피세포에서 다량의 점액 분비를 자극하며 IFN- γ 에 길항한다⁵⁸⁾.

본 실험에서 혈청 내 IL-4, IL-5, IL-13 생성량은 대조군에서 모두 정상군에 비해 유의성 있게 (p<0.01) 증가하였으며, Protopic 처리군과 G&C 처리군에서는 대조군에 비해 유의성 있게 (**p<0.01, *p<0.05) 감소하였는데, 특히 다른 사이토카인에 비해 IL-4 생산량의 감소가 두드러진 점은 본 시료의 항아토피 효능을 나타내주는 단편적인 결과로 보여 진다(Fig. 9-11).

혈청에서의 TNF- α 와 GM-CSF 생성량은 대조군이 정상군에 비해 유의성 있게 (p<0.01) 증가하였으며, Protopic 처리군과 G&C 처리군은 감소하였다(Fig. 12, 13).

그 밖에 IgE 생산량은 IL-4 생산량은 G&C 처리군에서 최종 13주째 대조군에 비해 유의성 있게 (*p<0.05) 감소한 것으로 나타나 본 시료가 B세포의 분화를 억제하는 면역 조절 효과가 있음을 알 수 있었다(Fig. 14).

이상의 결과는 내외치 병용법인 G&C 치료가 관련 면역 세포와 사이토카인 조절을 통한 AD 개선에 유의적임을 보여주고 있으며, 특히 비교대조군으로 사용된 Protopic 연고와의 비교 효능에서도 유사한 실험 결과가 도출됨으로써 임상에서의 활용이 기대된다. 그러나 기존 실험 결과와 상반된 결과에 대한 분석과 내·외치 각각에 대한 효능 평가를 통하여 독립 또는 상승효과에 대한 토론이 필요할 것으로 사료된다. 또한 안전성에 대한 검토와 더불어 의학적 목적으로 장기 사용할 외치제라면 구성 약물 표준화와 더불어 보관 기간에 따른 변성 가능성에 대한 고려도 이루어져야 할 것으로 보인다.

결 론

苦參加味方(GGB)과 淸肌解毒散(CHHS)의 겸용 처치(G&C 처

리군)가 아토피 피부염을 유발시킨 생쥐의 면역 관련 인자들의 변화에 미치는 영향을 측정하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

G&C 처리군은 대조군에 비하여 아토피 피부염 임상지수를 유의성 있게 감소시켰다. G&C 처리군은 대조군에 비하여 DLN 내의 CD19+ 면역 세포 비율을 21.7% 유의성 있게 감소시켰다. G&C 처리군은 대조군에 비하여 DLN 내의 CD8+, CD4+, CD4+/CD25+ 면역 세포 비율을 각각 3.6%, 7.6%, 42.2% 씩 증가시켰다. G&C 처리군은 대조군에 비하여 dorsal skin 에서의 CCR3+, Gr-1+ / CD11b+ 면역 세포 비율을 각각 52.1%, 49.5% 씩 유의성 있게 감소시켰다. G&C 처리군은 대조군에 비하여 혈청 내 사이토카인인 IL-4, IL-5, IL-13, GM-CSF 생성량을 각각 86.3%, 40.5%, 51.4%, 59.4%로 유의성 있게 감소시켰으며, TNF-α 생성량은 49.4% 감소하였으나 유의성은 나타나지 않았다. G&C 처리군은 대조군에 비하여 혈청 내 면역글로불린인 IgE 수치를 22.5% 로 유의성 있게 감소시켰다.

이상의 결과로 보아 苦參加味方과 清肌解毒散의 겸용 처치 투여군의 면역조절작용을 통한 항아토피 효능이 객관적으로 규명됨으로써, 내외치 겸용에 대한 기초적 자료와 더불어 다양한 가감을 통한 임상에서 폭넓은 활용이 기대된다.

감사의 글

본 연구는 지식경제부 지정 대전대학교 난치성면역질환의 동서생명의학연구 지역혁신센터의 지원에 의한 것임.

참고문헌

1. 전남대학교 의과대학 면역 및 알레르기학 편찬위원회. 면역 및 알레르기학. 전남대학교출판부, 2006.
2. Daniels, J. and Harper, J. The epidemiology of atopic dermatitis. *Hosp Med.* 63(11):649-652, 2002.
3. 이지현 외. 아토피피부염학회 보고서. 한국 아토피피부염의 치료지침. 대한피부과학회지 44(8):907-913, 2006.
4. McGrath, J.A. Filaggrin and the great epidermal barrier grief. *Australas J. Dermatol.* 73(7):114-128, 2008.
5. 오재원 외. 1995년과 2000년의 학동기와 2003년 학동전기 소아에서의 아토피 피부염의 역학적 변화에 관한 전국적인 연구. 소아 알레르기 및 호흡기학회지 13(4):L227-237. 2003.
6. 보건복지부. 2008 주요 업무 참고자료. 2008.
7. 양재하 외. 아토피 皮膚炎의 洋·韓方의 考察, 제한동의학술원논문집, 4(1):416-427, 1999.
8. 홍정효. 아토피의 치료에 관한 양방과 한방, 민간요법과 자연치유법에 관한 고찰. 생태유아교육연구, 7(1):65-85, 2008.
9. 이관호. 알레르기 환자에서 항히스타민제의 피내주입이 피부 반응검사에 미치는 영향. 경북대학교대학원, 1986.
10. 이인규. 스테로이드 치료시 문제점. 대한내분비학회지 8(2): 45-54, 1993.
11. 이상현 외. 아토피 피부염 치료 처방에 대한 方劑學的 考察.

- 한국전통의학지 15(1):56-69, 2006.
12. 김윤희 외. 아토피성 피부염에 관한 동서의학적 고찰. 대한한방소아과학회지 7(1):121-133, 1999.
13. 김양귀. 清肌散과 加減清肌散이 마우스의 抗알레르기 및 免疫反應에 미치는 影響. 원광대학교대학원, 1998.
14. 김영신. 청기산 및 청기산가미방의 항 알레르기 및 면역반응에 대한 실험적 연구. 경희대학교대학원, 1990.
15. 김혜정. 清肌散의 效能에 關한 實驗的 研究. 경희대학교대학원, 1990.
16. 손대범. 清肌散과 三黃洗劑加味方 병용이 NC/Nga mice의 아토피 피부염에 미치는 영향. 원광대학교대학원, 2008.
17. 具英姬. 清肌散이 아토피피부염 동물 모델에 미치는 영향. 동국대학교대학원, 2007.
18. 鄭善英. 苦參(Sophorae Radix)이 생쥐의 B-cells에 미치는 항 알레르기 효과. 慶熙大學教 大學院, 2002.
19. 전국한의과대학 공동교재편찬위원회 편저. 본초학. 영림사, 2004.
20. 金善彬. 아토피 피부염에 대한 황토가미방과 청삼가미방의 內外治 兼用에 관한 연구. 대전대학교대학원, 2009.
21. 河如泰. 內外治 兼用法의 아토피 피부염 활용에 관한 실험적 연구. 대전대학교대학원, 2009.
22. 김정원. 아토피피부염의 임상 및 면역학. 알레르기, 5(2): 220-223, 1985.
23. Leung, D.Y.M. Pathogenesis of atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol.* 104: 99-108, 1999.
24. Mosmann, T.R., Coffman, R.I. Th1 and Th2 cells; Different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. *Annu Rev Immunol.* 7: 145-173, 1989.
25. Konji Matsushima, et al. The NC/Nga mouse : a model for atopic dermatitis, *Molecular medicine today,* 6: 209-210, 2000.
26. 윤재은 외. 거풍제습탕이 아토피 피부염 유발 NC/Nga mouse의 비장 및 DLN내 면역 관련 인자에 미치는 영향. 대전대학교 한의학연구소 논문집, 16(2):267-280, 2007.
27. 김찬중. Allergy性 接觸皮膚炎에 대한 苦參, 黃連의 Iontophoresis 治療 效果. 경희대학교대학원, 2005.
28. 우무륜 외. 苦參이 알러지성 염증 반응에 미치는 영향. 대전대학교한의학연구소 논문집, 15(2):135-148, 2006.
29. 정지영. 메밀(蕎麥) 抽出物의 抗알레르기 反應에 對한 實驗的 研究. 대전대학교대학원, 2002.
30. 임강현 외. 석고의 생쥐 비장세포 인터루킨-4 분비에 미치는 효과. 대한본초학회지 17(2):139-144, 2002.
31. 김희정. 어성초 추출물이 생쥐 및 사람의 면역계에 미치는 영향. 서울대학교대학원, 2002.
32. 노병규. 魚腥草 抽出物의 抗알레르기 效果에 關한 研究. 원광대학교, 1998.
33. 이윤실. 국산 사매의 페놀성 물질 및 항균력에 관한 연구. 이화여자대학교대학원, 1988.
34. 조경미 외. 송지의 세포독성과 항산화작용 및 arachidonic

- acid 생성 억제작용. 약학회지 46(5):348-351, 2002.
35. 황현주 외. 오매(Fructus Mume)의 항산화물질의 분리 및 특성연구. 식량자원개발연구소 논문집, 19: 28-33, 1988.
 36. 申東薰, 徐榮培. 沙參의 免疫調節作用에 대한 實驗的 研究. 대한본초학회지, 15(1):31-43, 2000.
 37. 임철홍. 白鮮皮가 抗 알레르기의 作用에 미치는 影響. 경희대학교대학원, 1994.
 38. 金正善. 地膚子의 皮膚 塗布가 Histamine으로 誘發된 搔痒感, 紅斑 및 膨疹에 미치는 影響. 경희대학교대학원, 2002.
 39. 변중호. 韓國産 海桐皮와 臺灣産 海桐皮가 鎮痛, 消炎, 鎮靜에 미치는 效果에 關한 比較研究. 원광대학교대학원, 1985.
 40. 박세봉. 蛇床子가 大食細胞와 關聯된 因子에 미치는 抗炎症 效果. 동의대학교대학원, 2000.
 41. 申淑正. 황금 추출물이 면역반응과 항균작용에 미치는 영향. 전주대학교대학원, 1993.
 42. Kay, A.B., Allergy and allergic disease. First of two parts, N Engl J Med, 344: 30-37, 2001.
 43. 안성구 외. 아토피 피부염, 퍼시픽출판사, 2007.
 44. Okudaira, H., Mori, A., Akiyoshi, K., Yamamoto, K., Suko, M., Watanabe, N., Ito, M., Takahashi, K. and Juji, T. Interleukin-4 gene expression and IgE responsiveness. Int Arch Allergy Appl Immunol, 94(1-4):184-186, 1991.
 45. Wakim, M., Alazard, M., Yajima, A., Speights, D., Saxon, A. and Stiehm, E.R. High dose intravenous immunoglobulin in atopic dermatitis and hyper-IgE syndrome, Ann Allergy Asthma Immunol, 81(2):153-158, 1998.
 46. Walker, C., Bode, E., Boer, L., Hansel, T.T., Blaser, K., Virchow, J.C.Jr. Allergic and non-allergic asthmatics have distinct patterns of T-cell activation and cytokine production in peripheral blood and BAL, Am rev Respir Dis 146: 109-115, 1992.
 47. Fleischer, A.B.Jr. Treatment of atopic dermatitis : role of tacrolimus ointment as a topical noncorticosteroidal therapy, J Allergy Clin Immunol 104(3 Pt 2):126-130, 1999.
 48. Nasr, I.S. Topical tacrolimus in dermatology, Clin Exp Dermatol 25: 250-254, 2000.
 49. Gupta, A.K., Adamiak, A., Chow, M. Tacrolimus: A review of its use for the management of dermatoses, J Eur Acad Dermatol Venereol, 16: 100-114, 2002.
 50. Katoh, N., Hirano, S., Yasuno, H., Kishimoto, S. Effects of tacrolimus ointment on facial eruption, itch and scratching in patients with atopic dermatitis, J Dermatol, 34: 194-199, 2004.
 51. Hanifin, J.M., Ling, M.R., Langley, R., Breneman, D., Rafal, E. Tacrolimus ointment for the treatment of atopic dermatitis in adult patients: part I, efficacy, J Am Acad Dermatol, 44: S28-38, 2001.
 52. Soter, N.A., Fleischer, A.B.Jr., Webster, G.F., Monroe, E., Lawrence, I. Tacrolimus ointment for the treatment of atopic dermatitis in adult patients: part II, safety, J Am Acad Dermatol, 44(Suppl 1):S39-46, 2001.
 53. Kapp, A., Allen, B.R., Reitamo, S. Atopic dermatitis management with tacrolimus ointment (Protopic®), J Dermatol Treat, 14: 155-166, 2003.
 54. 김혜원 외. 한국인 아토피 피부염 환자에서 0.1% tacrolimus 연고의 치료 효과. 대한피부과학회지 43(3):312-318, 2005.
 55. 박병준. NC/Nga 아토피 피부염 생쥐 모델에서의 養血潤膚湯의 效果. 대전대학교대학원, 2008.
 56. 李元求. 消疹止痒湯의 NC/Nga 생쥐에 유발된 아토피 피부염 抑制 效果와 免疫 調節 作用. 대전대학교대학원, 2008.
 57. 한재경. 가미당귀음자가 아토피 동물 모델에 미치는 영향. 대전대학교대학원, 2005.
 58. 강제성 외. 세포분자면역학. 범문사, 2004.
 59. 방찬국. 補陰祛風止痒湯이 아토피 피부염을 誘導한 NC/Nga 생쥐 모델에서의 免疫 調節 作用. 대전대학교대학원, 2008.
 60. 박두병 외. 涼血除濕湯이 아토피 피부염 유발 NC/Nga mouse의 비장 및 DLN내 면역 관련 인자에 미치는 영향. 대전대학교 한의학연구소 논문집, 16(2):251-265, 2007.