

## 六味地黃湯이 아토피피부염을 유발한 NC/Nga mouse에 미치는 영향

조재훈·김윤범

경희대학교 한의과대학 안이비인후피부과학 교실

### The Effects of Yukmijihwang-tang on Atopic Dermatitis of NC/Nga Mouse

*Jae-Hoon Cho · Yoon-Bum Kim*

**Objective** : Yukmijihwang-tang is one of the important medicines for blood- deficiency and yin-deficiency. Atopic dermatitis usually shows dampness-heat pattern in its acute stage and blood-deficiency or yin-deficiency pattern in its chronic stage. Therefore, I hypothesized that Yukmijihwang-tang is effective on atopic dermatitis and investigated the effects of Yukmijihwang-tang on NC/Nga mice's atopic dermatitis induced by DNCB.

**Methods** : The NC/Nga mice with atopic dermatitis were divided into four groups: three experimental groups and one control group. The experimental groups were respectively put on 2.5g(YM-2.5), 5g(YM-5) and 10g(YM-10) of Yukmijihwang-tang extract per their weight once a day for 10 days while the control group was fed normal saline. After 10 days, I measured TEWL(transepidermal water loss), observed scratching behaviors, conducted a skin biopsy and checked levels of Total IgE, IL-4 and IFN- $\gamma$  on NC/Nga mice.

**Results** : 1. Yukmijihwang-tang significantly suppressed skin dryness. In particular, YM-5 and YM-10 had better skin hydration than YM-2.5.  
2. Yukmijihwang-tang significantly suppressed pruritus while there was no significant difference among the experimental groups.  
3. Yukmijihwang-tang retained skin structure(epidermis, dermis and subcutaneous fat).  
4. Yukmijihwang-tang reduced Total IgE level while there was no significant difference between the control group and the experimental groups.  
5. Yukmijihwang-tang did not reduce IL-4(Th2 cytokine) level.  
6. Yukmijihwang-tang significantly reduced IFN- $\gamma$ (Th1 cytokine) level. In particular, YM-2.5 and YM-5 had lower IFN- $\gamma$  level than YM-10.

**Conclusion** : The results suggest that Yukmijihwang-tang suppresses skin dryness and pruritus, retains skin structure and is effective on chronic atopic dermatitis which is associated with Th1 cytokines in the immune response.

---

**Key words** : Yukmijihwang-tang, Chronic, Atopic dermatitis, IFN- $\gamma$

## I. 서 론

六味地黃湯은 熟地黃, 山藥, 山茱萸, 澤瀉, 牡丹皮, 白茯苓으로 구성되며 四物湯, 滋陰降火湯과 함께 血虛證, 陰虛證의 대표적인 처방이다<sup>1)</sup>. 아토피 피부염 급성기에는 홍반, 구진, 삼출과 같은 濕熱證의 피부증상이, 만성기에는 태선화, 인설, 건조, 야간 소양증과 같은 血虛風燥證, 陰虛證의 피부증상이 주로 나타나므로<sup>2)</sup>, 아토피피부염 만성기에는 血虛證, 陰虛證의 처방인 六味地黃湯을 응용할 수 있으리라 여겨진다.

최근 아토피피부염 환자가 증가하면서 아토피피부염에 대한 다양한 임상적<sup>3-11)</sup>, 실험적 연구<sup>12-33)</sup>가 보고되고 있으며, 이 중 六味地黃湯의 임상적 효과를 제시한 연구들이 발표되었다<sup>5,6)</sup>.

아토피피부염의 면역학적 요인에 관한 연구가 활발히 진행되면서 급성기와 만성기에 관여하는 면역기전에 차이가 있음이 밝혀지고 있는데, 급성기에는 주로 Th2 사이토카인(IL-4, IL-5, IL-13 등)이 염증반응에 관여하는 반면 만성기로 접어들면서 Th1 사이토카인(IFN- $\gamma$ , IL-12 등)에 의해서 염증반응이 지속된다. 따라서 Th2 및 Th1 사이토카인 농도를 측정함으로써 아토피피부염의 상태와 치료효과의 정도를 모니터링할 수 있다<sup>34,35)</sup>. 그리고 혈청 Total IgE, 말초혈액내 호산구수, eosinophil cationic protein(ECP) 등은 아토피피부염의 임상적 중증도와 상관관계가 있다고 알려져 있다<sup>36,37)</sup>.

이에 본 연구에서는 六味地黃湯의 아토피피부염에 대한 실험적 효과를 알아보기 위해 DNCB로 아토피피부염을 유발시킨 NC/Nga 마우스<sup>38)</sup>에서

경피수분손실도(trans epidermal water loss, TEWL) 측정, scratching behavior 관찰, 피부조직검사, Total IgE 및 사이토카인(IL-4, IFN- $\gamma$ ) 농도 측정을 시행하였다.

## II. 실험

### 1. 재료

#### 1) 동물

생후 6주된 NC/Nga 암컷 마우스(20g)로 평균상태로 관리되어 온 것을 중앙실험동물(서울, 대한민국)에서 구입하였다. 사료는 방사선 멸균처리한 실험동물용 사료를 퓨리나(서울, 대한민국)에서 구입하였으며, 사료와 물은 자유롭게 섭취하도록 충분히 공급하였다. 실험동물을 사육실에서 7일간 충분히 적응시킨 후 실험을 시작하였다.

六味地黃湯을 농도별로 복용시킨 3개의 실험군 각 4마리와 대조군 4마리로 나누어 실험하였다.

#### 2) 약제

실험에 사용한 六味地黃湯의 구성 약제는 뿌리깊은 약업사(서울, 대한민국)를 통해 구입하였으며, 약제의 구성과 용량은 다음과 같았다. (Table 1)

Table 1. The Composition of Yukimijihwang-tang

Herbal Name	Scientific Name	Amount (g)
熟地黃	<i>Rehmanniae Radix Preparat</i>	240
山藥	<i>Dioscoreae Rhizoma</i>	120
山茱萸	<i>Corni Fructus</i>	120
澤瀉	<i>Alismatis Rhizoma</i>	90
牡丹皮	<i>Moutan Cortex</i>	90
白茯苓	<i>Poria</i>	90
Total Amount		750

교신저자 : 김윤범, 서울시 동대문구 회기동 1번지  
경희대학교 부속한광병원 한방안이비인후피부과  
(Tel: 02-958-9181, E-mail: kyb6838@hanafos.com)  
• 접수 2009/02/27 • 수정 2009/03/28 • 채택 2009/04/03

2. 방법

1) 六味地黃湯 추출

六味地黃湯 구성 약제 750g을 거칠게 파쇄한 후 에탄올과 증류수를 80:20으로 혼합한 80% 에탄올 용액 2리터에 넣고 Heating Mantle을 이용하여 비등점부터 1시간 끓인 후 식혀서 aspirator로 여과하였다. 여과액을 다시 40분간 끓인 후 재여과하였다.

재여과액을 회전식 진공플라스크에 넣고 감압농축기(rotary vacuum evaporator, EYELA, Japan)로 농축하여 192.4g의 六味地黃湯 농축액을 얻었다. 이후 농축액을 건조시켜 134.7g의 六味地黃湯 건조액을 얻었다 (수득율 18.0%).

2) 박층크로마토그래피(thin layer chromatography, TLC) 측정

六味地黃湯 농축액 소량을 methyl alcohol에 용해시켜 실리카겔이 덮힌 박층판에 점적한 후 전개용매를 점적한 부위 밑으로 잠기게 하여 2시간 가량 전개시켰다. 전개용매로는 ethyl acetate와 butyl alcohol이 1:4 비율로 혼합된 용액을 사용하였다.

박층판에 六味地黃湯 농축액을 전개시킨 후 전개용매를 증발시키고 UV lamp 하에서 디지털카메라(canon, Japan)로 전개상태를 암실에서 촬영하였다.

3) 아토피피부염 유발

DNCB(2,4-dinitrochlorobenzen, Sigma, USA)를 acetone과 olive oil이 4:1로 혼합된 용액에 1%로 희석시켰다.

대조군과 실험군의 NC/Nga 마우스 복강내에 zolazepam을 주사하여 마취시킨 후 등부위를 제모기와 제모크림(니크린 크림, 일동제약)으로 제모하였다. 제모 2일 후 DNCB 150μl를 도포하여 1차 감작시키고 2일 후 재도포하여 2차 감작시켰다. 2차 감작 3일 후부터 5주 동안 1주 간격으로 DNCB 도포를 반복하고 다시 acetone과 olive oil이 3:1로 혼합된 DNCB 용액을 1%로 희석하여 2주 동안 1주 간격으로 2회 도포하고 이후 1주 후에는 0.4%로 희석하여 1회 도포하였다 (Fig. 1, 2).

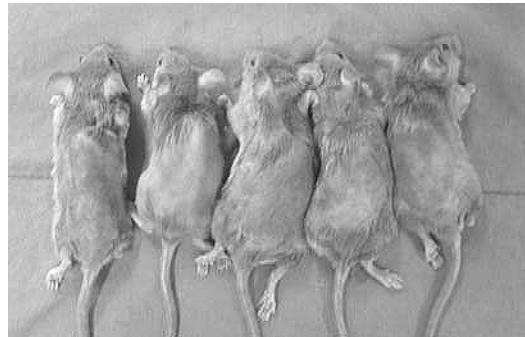


Fig. 2. NC/Nga mice with atopic dermatitis induced by DNCB.

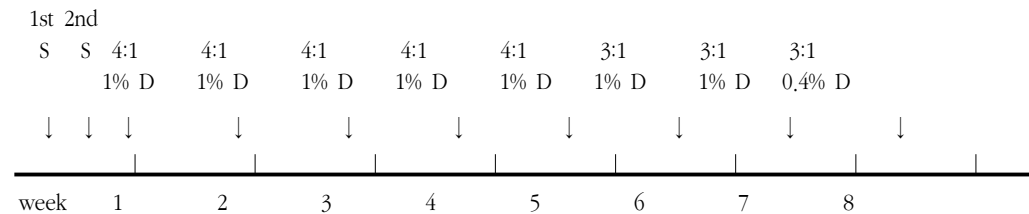


Fig. 1. The process of inducing atopic dermatitis. S-sensitization, ratio-acetone:olive oil, D-DNCB.

#### 4) 六味地黃湯 투여

아토피피부염 유발 후 실험군은 六味地黃湯 농축액을 체중 1kg당 각각 2.5g(YM-2.5), 5g(YM-5), 10g(YM-10)이 투여되도록 마우스 체중 20g에 해당되는 0.05g, 0.1g, 0.2g을 0.5cc 생리식염수에 희석하여 매일 1회 10일간 경구투여하였다. 대조군은 0.5cc 생리식염수를 경구투여하였다.

#### 5) 경피수분손실도(trans epidermal water loss, TEWL) 측정

六味地黃湯 투여를 완료 후 아토피피부염이 유발된 등부위에서 경피수분손실도를 측정하였다(Vapometer, Delfin Technologies Ltd, Finland). 측정값은 3회 반복 측정하여 평균값을 사용하였다.

#### 6) Scratching behavior 관찰

경피수분손실도 측정 후 scratching behavior를 관찰하기 위해 1% DNCB 150 $\mu$ l를 제모되었던 등부위에 도포한 후 1시간 동안 긁는 모습을 비디오 카메라(sony, Japan)로 녹화하였다. 같은 군은 한 우리 내에 넣어 촬영하였다.

촬영된 내용을 반복하여 재생시키면서 각 마우스가 몇 번을 긁는지 횟수를 세었다. 연속동작은 1회로 간주하였고, 잠시라도 중단 후 다시 긁는 경우는 각각을 횟수에 포함시켰다.

#### 7) 피부조직검사

Scratching behavior 관찰을 마친 후 아토피피부염이 유발된 등부위에서 피부조직을 채취하여 10% neutral formalin solution에 넣고 24시간 동안 고정한 후 통상적인 방법에 따라 paraffin에 포매하고 5 $\mu$ m 두께로 연속 절편을 만들고 H-E (hematoxyline-eosin)로 염색하여 표본을 제작하였다.

각질층을 포함한 표피, 진피 및 피하지방의 전체적인 구조와 같은 형태학적인 관찰을 주로 하였

으며, 이들 표본은 광학현미경 100배율로 관찰하였다.

#### 8) Total IgE 및 사이토카인 농도 측정

##### ① 비장세포 부유

피부조직을 채취함과 동시에 비장을 적출하여 10% FBS(Fetal bovine serum)와 Antibiotics가 함유된 RPMI-1640으로 세척하였다.

Micro slide glass로 비장을 잘게 으갠 뒤 0.6 $\mu$ m nylon cell strainer(BD Bioscience, USA)로 여과하였다. RPMI-1640으로 3회 세척한 후 1000rpm에서 10분간 원심분리하고 RBC lysis buffer (Pharmingen, USA)로 적혈구를 파괴하였다. 원심분리를 2회 반복한 후 RPMI-1640에 비장세포를 재부유하였다.

##### ② 임파구세포 배양

비장의 임파구세포를 분리한 후 3 $\times$ 10<sup>6</sup>cells/well 농도로 24 well plate에 seeding하였다. 그 후 Media 1ml와 final ConA 2 $\mu$ g/ml를 넣고 48시간 동안 37 $^{\circ}$ C, 5% CO<sub>2</sub> incubator(Nuaire, USA)에서 배양한 후 상층액을 원심분리로 얻어 -80 $^{\circ}$ C에서 24시간 보관하였다.

##### ③ ELISA를 이용한 Total IgE 및 사이토카인 농도 측정

임파구세포를 배양한 상층액에서 Total IgE, IL-4 및 IFN- $\gamma$ 의 농도를 측정하기 위해 Pharmingen (USA)의 OptEIA Mouse Set의 protocol을 이용하였다.

그 후 capture antibody를 coating buffer(0.1M Carbonate, pH 9.5)로 희석하여 96 well plate에 100 $\mu$ l씩 분주한 후 4 $^{\circ}$ C에서 overnight 동안 coating하였다. coating한 plate를 wash buffer (PBS/Tween-20 0.05%)로 3회 세척한 후 Assay diluent(Pharmingen, USA)를 200 $\mu$ l/well씩 넣고 실온에서 1시간 동안 blocking하였다. 다시 wash buffer로 3회 세척하고 standard IgE, standard

cytokine과 샘플을 100 $\mu$ 씩 분주하여 실온에서 2시간 반응시켰다. 다시 wash buffer로 5회 세척하고 Working Detector(detection antibody +Avidin - HRP) 100 $\mu$ 씩 분주한 후 1시간 동안 실온에 두었다. 다시 wash buffer로 7회 세척한 후 TMB Substrate reagent(Pharmingen, USA) 100 $\mu$ 씩을 각 well에 첨가한 후 30분간 반응을 시키고 1M H2SO4 50 $\mu$ 를 첨가한 후 30분 안에 Microplate reader(Molecular Devices, USA)로 파장 450~570 nm에서 optical density를 측정하였다.

### 3. 통계분석

통계분석은 SPSS(ver. 10.0)를 이용하였으며, 모든 측정값은 평균값 $\pm$ 표준편차(Mean $\pm$ S.D.)로 나타내었다.

Data 분석은 Kruskal-Wallis test 및 Mann-Whitney U test로 검정하였으며, 유의수준 P<0.05인 것을 유의하다고 판단하였다.

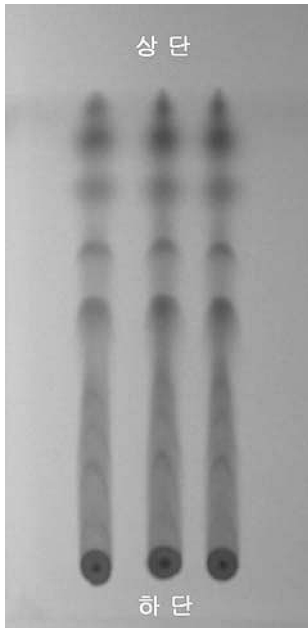


Fig. 3. TLC of Yukmijhwang-tang.

## III. 결 과

### 1. 박층크로마토그래피(TLC)

본 실험에 사용된 六味地黃湯의 구성 물질을 분리하여 기존 실험이나 향후 실험과 비교하고 동정하기(identification) 위해 TLC를 측정하였다.

六味地黃湯 농축액을 ethyl acetate와 butyl alcohol이 1:4 비율로 혼합된 전개용매에서 전개시킨 후 전개용매를 증발시키고 UV lamp 하에서 디지털카메라로 전개상태를 암실에서 촬영한 결과는 Fig. 3과 같이 나타났다.

### 2. 경피수분손실도(TEWL)에 미치는 영향

경피수분손실도를 측정한 결과 YM-2.5, YM-5, YM-10은 대조군과 비교하여 통계학적으로 유의하게 표피를 통한 수분손실을 억제하는 효과가 있었다. 그리고 실험군 내에서 YM-5, YM-10이 YM-2.5보다 통계학적으로 유의하게 수분손실을 억제하는 효과가 더 뛰어났다 (Table II, Fig. 4).

### 3. Scratching behavior에 미치는 영향

Scratching behavior를 관찰한 결과 YM-2.5, YM-5, YM-10은 대조군과 비교하여 통계학적으로 유의하게 소양감을 억제하는 효과가 있었다. 그리고 실험군 내에서 YM-2.5, YM-5, YM-10의 소양감 억제 효과는 통계학적으로 유의한 차이가 없었다 (Table III, Fig. 5).

### 4. 피부조직검사에 미치는 영향

피부조직 표본을 H-E로 염색하여 광학현미경 100배율로 관찰한 결과, YM-2.5, YM-5, YM-10은 피부구조(표피, 진피, 피하지방)의 보존상태가 양호하였으나 대조군에서는 표피층, 진피층이 소실되었다 (Fig. 6).

Table II. TEWL of Each Group

	Control(n=4)	YM-2.5(n=4)	YM-5(n=4)	YM-10(n=4)	p value *
TEWL(g/m <sup>2</sup> h)	20,6±0,6 <sup>h)</sup>	17,3±2,2 <sup>m)</sup>	8,9±2,5 <sup>l)</sup>	12,8±2,0 <sup>l)</sup>	0,004

\* Kruskal-Wallis test

h), m), l) - high, middle, low, post hoc test (by Mann-Whitney U test)

Table III. Scratching Counting of Each Group

	Control(n=4)	YM-2.5(n=4)	YM-5(n=4)	YM-10(n=4)	p value *
Scratching	97,5±12,7 <sup>h)</sup>	72,8±6,9 <sup>l)</sup>	48,8±15,3 <sup>l)</sup>	75,3±15,1 <sup>l)</sup>	0,015

\* Kruskal-Wallis test

h), l) - high, low, post hoc test (by Mann-Whitney U test)

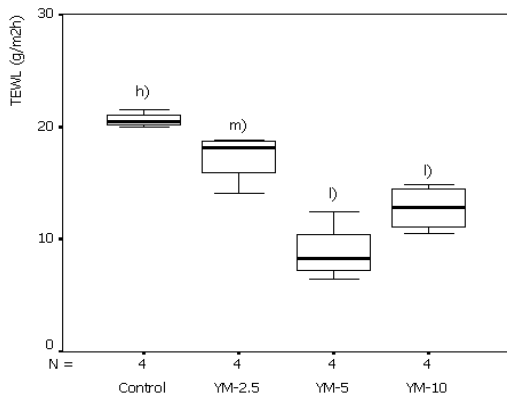


Fig. 4. TEWL of each group.

All the experimental groups showed statistically lower TEWL than the control group. In particular, YM-5 and YM-10 had significantly lower TEWL than YM-2.5.

h), m), l) - high, middle, low, by Kruskal-Wallis and Mann-Whitney U test.

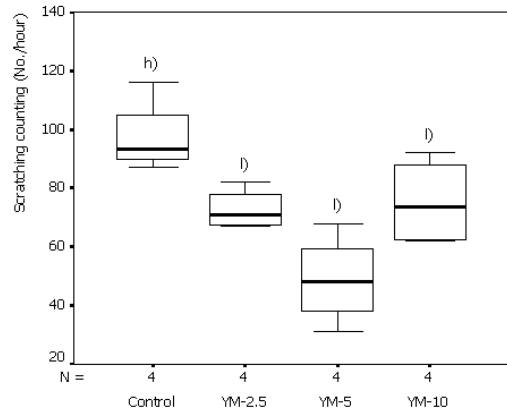


Fig. 5. Scratching counting of each group.

All the experimental groups showed statistically lower scratching counting than the control group while there was no significant difference among the experimental groups.

h), l) - high, low, by Kruskal-Wallis and Mann-Whitney U test.

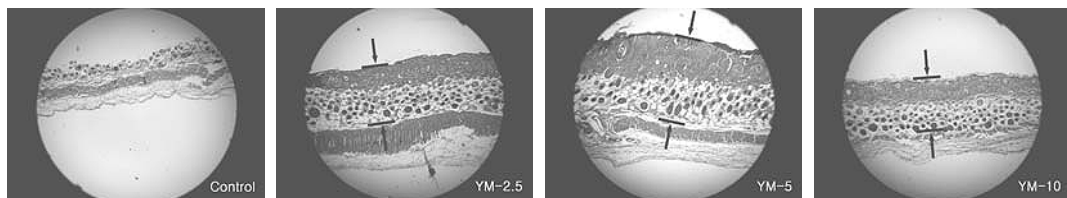


Fig. 6. H-E stained image of the skin biopsy (X100).

The epidermis, dermis and subcutaneous fat (marked as → ←) of YM-2.5, YM-5 and YM-10 were retained while the epidermis and dermis of the control group were lost.

5. Total IgE 및 사이토카인 농도에 미치는 영향

1) Total IgE 농도에 미치는 영향

Total IgE 농도를 측정한 결과 YM-2.5, YM-5, YM-10은 대조군보다 적었으나 통계학적으로 유의하게 Total IgE 수치를 감소시키는 효과는 없었다 (Table IV, Fig. 7).

Table IV. Total IgE Level of Each Group

	Control(n=4)	YM-2.5(n=4)	YM-5(n=4)	YM-10(n=4)	p value
Total IgE( $\mu\text{g/ml}$ )	47.2 $\pm$ 7.2	37.3 $\pm$ 17.9	32.9 $\pm$ 3.9	26.8 $\pm$ 6.6	0.075

by Kruskal-Wallis test

Table V. IL-4 Level of Each Group

	Control(n=4)	YM-2.5(n=4)	YM-5(n=4)	YM-10(n=4)	p value
IL-4( $\text{pg/ml}$ )	2.78 $\pm$ 0.15	2.93 $\pm$ 0.83	3.08 $\pm$ 0.29	2.70 $\pm$ 0.88	0.754

by Kruskal-Wallis test

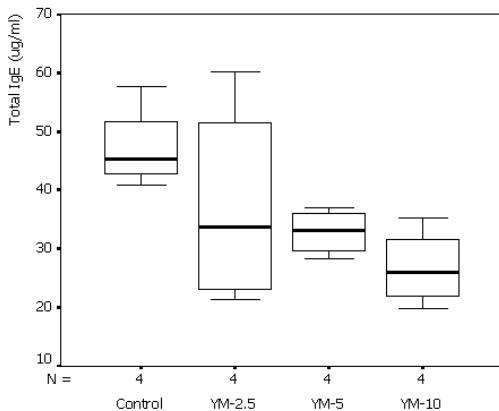


Fig. 7. Total IgE level of each group.

All the experimental groups showed lower Total IgE level than the control group while there was no significant difference between the control group and the experimental groups.

2) IL-4 농도에 미치는 영향

Th2 사이토카인인 IL-4 농도를 측정한 결과 YM-2.5, YM-5, YM-10은 대조군과 비교하여 통계학적으로 유의하게 IL-4 수치를 감소시키는 효과는 없었다 (Table V, Fig. 8).

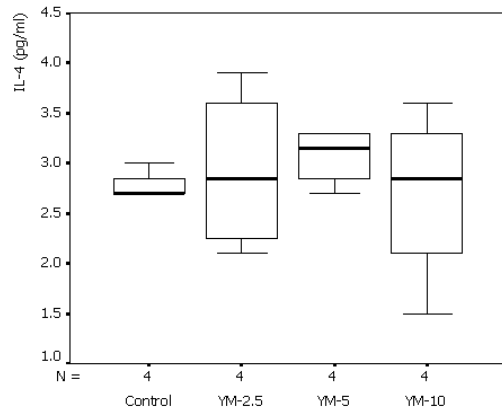


Fig. 8. IL-4 level of each group.

IL-4 level did not have a significant difference between the control group and the experimental groups.

### 3) IFN- $\gamma$ 농도에 미치는 영향

Th1 사이토카인인 IFN- $\gamma$  농도를 측정된 결과 YM-2.5, YM-5, YM-10은 대조군과 비교하여 통계학적으로 유의하게 IFN- $\gamma$  수치를 감소시키는 효과가 있었다. 그리고 실험군 내에서 YM-2.5, YM-5가 YM-10보다 통계학적으로 유의하게 IFN- $\gamma$  수치를 감소시키는 효과가 더 뛰어났다 (Table VI, Fig. 9).

## IV. 고 찰

아토피피부염 급·만성기의 피부증상을 변증하면 급성기에는 홍반, 구진, 삼출과 같은 濕熱證의

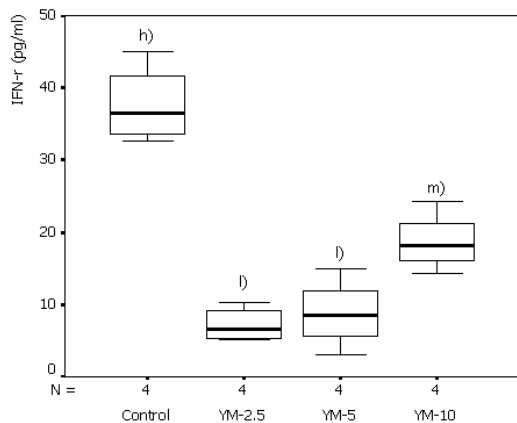


Fig. 9. IFN- $\gamma$  level of each group.

All the experimental groups showed statistically lower IFN- $\gamma$  level than the control group. In particular, YM-2.5 and YM-5 had significantly lower IFN- $\gamma$  level than YM-10. h), m), l) - high, middle, low, by Kruskal-Wallis and Mann-Whitney U test.

Table VI. IFN- $\gamma$  Level of Each Group

	Control(n=4)	YM-2.5(n=4)	YM-5(n=4)	YM-10(n=4)	p value *
IFN- $\gamma$ (pg/ml)	37.6 $\pm$ 5.4 <sup>h)</sup>	7.2 $\pm$ 2.4 <sup>l)</sup>	8.8 $\pm$ 4.8 <sup>l)</sup>	18.7 $\pm$ 4.1 <sup>m)</sup>	0.006

\* Kruskal-Wallis test

h), m), l) - high, middle, low. post hoc test (by Mann-Whitney U test)

증상이, 만성기에는 태선화, 인설, 건조와 같은 血虛風燥證, 陰虛證의 증상이 나타나며<sup>2)</sup>, 《東醫寶鑑·虛勞》<sup>1)</sup>에서 “陰虛는 바로 血虛이다”라고 하여 血虛證과 陰虛證을 동일시하고 있다. 그리고 아토피피부염 만성기에는 야간에 심해지는 소양감을 호소하는데, 《東醫寶鑑·皮》<sup>1)</sup>에서 “모든 가려움 증은 火(熱)에서 기인한다(內經)”라고 하고 《東醫寶鑑·火》<sup>1)</sup>에서 “發熱이 밤에는 안정되었다가 낮에 나타나면 熱이 氣分에 있는 것이고, 發熱이 낮에 안정되었다가 밤에 나타나면 熱이 血分에 있는 것이다”라고 하여 야간 소양감은 血虛風燥證, 陰虛證임을 알 수 있다.

아토피피부염의 한방치료는 급·만성기 피부증상에 따른 변증에 근거하며<sup>2,39)</sup>, 급성기에는 升麻葛根湯, 回春涼膈散, 荊防敗毒散, 平胃散 등을, 만성기에는 生料四物湯, 溫清飲, 六味地黃湯 등을 기본방으로 활용할 수 있다<sup>39)</sup>. 아토피피부염에 임상적 효과를 제시한 六味地黃湯은 만성기 피부증상 이외에도 遺精, 盜汗, 만성피로, 체중감소, 面白, 五心熱, 추위더위에 민감, 腰疼, 膝重, 眩暈, 痰嗽, 面生粉刺 등의 증상<sup>1)</sup>이 변증의 기준이 될 수 있으리라 여겨진다.

본 연구는 六味地黃湯의 아토피피부염에 대한 실험적 효과를 확인하고 최대효과를 발휘하는 六味地黃湯의 농도 및 효과의 농도의존성 여부를 알기 위해 실험군을 농도별로 세 군으로 나누었다. 그리고 六味地黃湯 투여량은 mouse의 경우 대사활동이 빠르기 때문에 통상적인 방법에 따라 체중에 비례한 용량의 10배를 투여하여 1일 용량을 체중 1kg 당 2.5g, 5g, 10g 투여군으로 구분하여 실



험하였다.

사람에서 아토피피부염 피부증상의 평가법으로 SCORAD Index<sup>40)</sup>를 주로 이용하는데, 홍반, 부종/구진, 삼출/가피, 찰상, 태선화, 피부건조에 대한 객관적 평가와 소양감, 수면장애에 대한 주관적 평가를 한다. 하지만 동물실험에서 이를 동일하게 적용하기에는 한계가 있으며 본 실험에서는 SCORAD Index의 항목 중에서 피부건조와 소양감에 대한 평가를 하였다.

아토피피부염 만성기에는 피부건조 증상이 악화되며 피부건조의 정도는 경피수분손실도를 통해 측정할 수 있다. 본 연구에서 경피수분손실도를 측정한 결과 세 실험군 모두 대조군과 비교하여 표피를 통한 수분손실을 억제하는 효과가 있었으며, 체중 1kg 당 5g, 10g 투여군이 2.5g 투여군보다 수분손실을 억제하는 효과가 더 뛰어났다. 이는 아토피피부염 만성기에 나타나는 피부건조 증상에 六味地黃湯이 효과가 있음을 의미한다.

소양감은 아토피피부염 급·만성기 모두에서 나타나며 긁는 행위로 인해 찰상, 이차감염(농가진, 단순포진) 등과 같은 이차적인 피부증상 악화를 초래할 수 있기 때문에 아토피피부염 치료에 있어서 중요시되는 항목이다. 본 연구에서는 소양감을 평가하기 위해 긁는 횟수를 측정하였으며, 세 실험군 모두 대조군과 비교하여 소양감을 억제하는 효과가 있었다. 이는 六味地黃湯이 소양감 뿐만 아니라 긁는 행위로 인한 이차적인 피부증상 악화를 완화할 수 있음을 의미한다.

아토피피부염의 병리조직학적 소견은 급성기에는 해면화와 수포형성이 특징으로 일부 세포내에 부종이 생긴다. 표피에는 림프구, 중성구가 침윤되고, 진피에는 혈관주위에 림프구와 대식세포의 침윤이 관찰되지만 비만세포, 호염구의 증가는 나타나지 않는다. 일부 비만세포는 탈과립하기도 하고 호산구가 존재하기도 한다. 아급성기는 급성기의 소견이 일부 존재하며 표피가 두꺼워지고 해면화

는 감소한다. 만성기는 각질형성세포의 비후에 의해 표피가 두꺼워지고 혈관증식소견이 있다. 진피에서 비만세포, 림프구, 호산구의 침윤이 관찰되며, 표피와 진피에서 랑게르한스세포와 수지상세포가 증가한다. 만성병변은 지속적인 자극과 연관되어 피부신경의 탈수초화 현상, 공포화 현상 및 섬유화가 나타난다<sup>41)</sup>. 본 연구에서는 각질층을 포함한 표피, 진피 및 피하지방의 전체적인 구조와 같은 형태학적인 관찰을 주로 하였으며, 세 실험군 모두 피부구조의 보존상태가 양호하였으나 대조군에서는 표피층, 진피층이 소실되었다. 이는 六味地黃湯이 병리조직학적 피부염증을 호전시키는 데에도 효과가 있을 뿐만 아니라 아토피피부염의 병변피부는 비가역적이 아니라 가역적임을 의미한다고 볼 수 있다.

아토피피부염의 면역학적 요인에 관한 연구가 활발히 진행되면서 급성기와 만성기에 관여하는 면역기전에 차이가 있음이 밝혀지고 있다<sup>34,35)</sup>. 급성기 병변에서는 많은 수의 IL-4, IL-5, IL-13 mRNA 표현세포가 존재하지만 IFN- $\gamma$ 나 IL-12 mRNA 표현세포는 적은 편이다. IL-4, IL-13은 B 세포의 동형 전환(isotype switching)을 유발하여 IgE 생산을 증가시키며 VCAM-1과 같은 혈관유착 분자를 증가시켜 호산구 침윤을 증대시키고 Th1 사이토카인을 감소시킨다. IL-5는 호산구의 발달, 활성화 및 생존에 중요한 역할을 한다. 반대로 만성기 병변에서는 매우 적은 수의 IL-4, IL-13 mRNA 표현세포가 존재하는 반면 IL-5, GM-CSF, IFN- $\gamma$ , IL-12 mRNA 표현세포는 급성기 병변에 비해서 상당히 증가한다. 만성기 염증반응이 지속 되려면 IL-5와 GM-CSF가 증가하여 호산구와 단핵구의 생존이 연장되어야 한다. 만성기 병변에서는 각질세포의 세포자멸사(apoptosis)가 촉진되는데, 이러한 일련의 과정은 Th1 세포에서 분비된 IFN- $\gamma$ 에 의해 진행되며 각질세포에 존재하고 있는 Fas에 의해 활성화된다. IFN- $\gamma$ 는 IL-12에 의해 생

산이 촉진되어 대식세포를 활성화하고 CD8+ T 세포가 cytotoxic T 세포로 분화하도록 유도하며, Th2 세포의 증식을 억제하고 Th1 세포의 분화를 촉진하며, 자연살해세포의 세포용해능을 자극하고 혈관내피세포를 활성화하는 것으로 알려져 있다<sup>42)</sup>. 그리고 혈청 Total IgE, 말초혈액내 호산구수, ECP(eosinophil cationic protein)와 같이 아토피피부염의 활동성, 중증도 및 예후를 반영할 수 있는 검사지표가 보고되고 있는데, 이 중에서 혈청 Total IgE와 임상적 중증도와와의 상관관계에 대해서는 이견이 있다<sup>36,37,43)</sup>.

아토피피부염 만성기에 기본방으로 활용할 수 있는 生料四物湯, 溫清飲, 六味地黃湯에 관한 면역학적 연구들을 살펴보면, 生料四物湯에 관한 김의 연구<sup>14)</sup>에서는 IL-4, IL-5 및 IFN- $\gamma$  농도에서 유의한 변화가 없었으며, 溫清飲에 관한 홍의 연구<sup>22)</sup>에서는 IgE, IL-4 및 IL-5 농도를 감소시키고 IFN- $\gamma$  농도를 증가시킨다고 보고하여 溫清飲을 아토피피부염 급성기에 활용하는게 더 효과적이라 여겨지며, 六味地黃湯에 관한 양의 연구<sup>5)</sup>에서는 IL-4와 IFN- $\gamma$  농도에서 유의한 회귀방정식을 보여주지 못했다.

본 연구에서는 아토피피부염의 중증도를 반영한다고 알려져 있는 Total IgE 농도를 측정된 결과 세 실험군 모두 대조군보다 적었으나 통계학적 유의성은 없었다. 그리고 Th2 사이토카인인 IL-4와 Th1 사이토카인인 IFN- $\gamma$  농도를 측정된 결과 세 실험군은 대조군과 비교하여 IL-4 수치를 감소시키는 효과는 없었으며 IFN- $\gamma$  수치를 감소시키는 효과가 있었다. 이는 六味地黃湯이 Th2 사이토카인이 염증반응에 관여하는 아토피피부염 급성기에는 효과가 없고 Th1 사이토카인이 염증반응에 관여하는 아토피피부염 만성기에는 효과가 있음을 의미한다고 볼 수 있다. 그리고 실험군 내에서 체중 1kg 당 2.5g, 5g 투여군이 10g 투여군보다 IFN- $\gamma$  수치를 감소시키는 효과가 더 뛰어났다.

본 연구를 통해 六味地黃湯은 아토피피부염에서 나타나는 피부건조, 소양감을 억제하고 병변피부를 회복시키며 Th1 사이토카인이 염증반응에 관여하는 아토피피부염 만성기에 효과적임을 알 수 있었으며, 농도에 따른 효과의 정도는 큰 차이를 관찰할 수 없었다.

## V. 결 론

六味地黃湯의 아토피피부염에 대한 실험적 효과를 알아보기 위해 DNCB로 아토피피부염을 유발시킨 NC/Nga 마우스에서 경피수분손실도 측정, scratching behavior 관찰, 피부조직검사, Total IgE 및 사이토카인(IL-4, IFN- $\gamma$ ) 농도 측정을 시행하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 六味地黃湯은 경피수분손실을 억제하는데 유의한 효과가 있었으며, 특히 체중 1kg 당 5g, 10g 복용군이 2.5g 복용군보다 그 효과가 뛰어났다.
2. 六味地黃湯은 소양감을 억제하는데 유의한 효과가 있었으며, 실험군내에서 농도에 따른 효과 차이는 없었다.
3. 六味地黃湯은 피부조직의 구조를 정상적으로 보존시켰다.
4. 六味地黃湯은 Total IgE 농도를 감소시켰으나 유의성은 없었다.
5. 六味地黃湯은 Th2 사이토카인인 IL-4 농도를 감소시키는데 유의한 효과가 없었다.
6. 六味地黃湯은 Th1 사이토카인인 IFN- $\gamma$  농도를 감소시키는데 유의한 효과가 있었으며, 특히 체중 1kg 당 2.5g, 5g 복용군이 10g 복용군보다 그 효과가 뛰어났다.

이상의 실험결과를 통해 六味地黃湯은 아토피피

부염에서 나타나는 피부건조, 소양감을 억제하고 병변피부를 회복시키며 Th1 사이토카인이 면역반응에 관여하는 아토피피부염 만성기에 효과적임을 알 수 있었으며, 농도에 따른 효과의 정도는 큰 차이를 관찰할 수 없었다.

### 참 고 문 헌

1. 허준. 원본 동의보감. 서울:남산당. 1991:147, 284,418,445-6,449.
2. 윤화정, 고우신. 아토피 피부염 환자의 한의학적 유형분류에 대한 임상적 연구. 동의한의연 2001;5:43-57.
3. 조백건, 이진용, 김덕근. 內消和中湯加味方의 아토피 피부염 치료에 대한 임상고찰. 대한한방소아과학회지 2005;19(1):131-41.
4. 고진식. 平胃散의 습열형 아토피 치료 연구. 원광대학교 대학원. 2005년. 석사.
5. 양성완. 수종 한약 처방이 아토피 피부염 환자의 SCORAD 및 Cytokine 변화에 미치는 영향. 경희대학교 대학원. 2004년. 박사.
6. 박호순, 김윤범. 六味地黃湯加味方으로 치료한 소아기 아토피 피부염의 한방치험 5례. 대한안이비인후피부과학회지 2003;16(2):255-60.
7. 정환수, 이진용. 加味熱多寒少湯 투여후 아토피 피부염 환자의 임상상 변화에 대한 연구. 대한한방소아과학회지 2001;15(2):177-88.
8. 신상호 외. 升葛湯을 사용한 아토피 피부염 환자에 대한 임상시험. 한방안이비인후피부과학회지 2007;20(2):199-212.
9. 신동길 외. 仙方敗毒湯이 아토피 피부염 환자 단핵세포의 Cytokine 분비기능에 미치는 영향. 대한한방소아과학회지 2002;16(1):21-37.
10. 이승희, 김장현. 補肺定喘湯을 이용한 아토피 피부염 치료에 관한 임상연구. 대한한방소아과학회지 2000;14(1):137-52.
11. 손병국, 최인화. 濕熱로 변증한 급성기 아토피 피부염 환자 치험 6례. 한방안이비인후피부과학회지 2007;20(2):213-29.
12. 과학기술부. 아토피 피부면역질환 조절기술 개발:아토피 피부염에서 Th1/Th2 항상성 조절물질개발. 2006년.
13. 장성은. 小葉麥門冬이 NC/Nga 마우스의 아토피 피부염에 미치는 영향. 경희대학교 대학원. 2008년. 박사.
14. 김정진 외. 加味生料四物湯의 항염증효과와 止痒膏의 아토피피부염 손상 및 지양 효과에 미치는 영향. 동의생리병리학회지 2003;17(2):428-35.
15. 김성훈 외. 當歸飲子加味方과 外治方 병용이 NC/Nga 아토피 생쥐에 미치는 영향. 대한안이비인후피부과학회지 2005;18(1):27-49.
16. 이현우, 구영희, 최인화. 生血潤膚飲加味方이 아토피 피부염을 유발한 동물모델의 각질층 기능회복에 미치는 영향. 한방안이비인후피부과학회지 2003;16(1):112-29.
17. 박병준. NC/Nga 아토피 피부염 생쥐 모델에서의 養血潤膚湯의 효과. 대전대학교 대학원. 2008년. 박사.
18. 방찬국 외. 補陰祛風止痒湯이 아토피 피부염을 유발한 NC/Nga 생쥐의 면역 조절작용에 미치는 영향. 대전대학교 한의학연구소 논문집 2007;16(2):147-69.
19. 이원구, 진미림, 김동희. NC/Nga 생쥐에 유발된 아토피 피부염에 대한 消疹止痒湯의 억제 효과와 면역 조절 작용. 대전대학교 한의학연구소 논문집 2007;16(2):171-90.
20. 민영규 외. 消風散加減方과 外治方 병용이 NC/Nga 아토피 생쥐에 미치는 영향. 한방안이비인후피부과학회지 2005;18(1):116-34.
21. 김성아, 강윤희. 疏風導赤湯이 아토피 피부염의 항염증효과와 각질층 ceramide 변화에 미

- 치는 영향. 대한한방내과학회지 2006;27(1): 72-83.
22. 홍철희. 溫清飲과 三黃洗劑加味方 병용이 NC/Nga 아토피 생쥐에 미치는 영향. 원광대학교 대학원. 2007년. 박사.
  23. 김보애 외. 黃連解毒湯이 NC/Nga Mice에서 유발된 아토피 피부염에 미치는 영향. 대한본초학회지 2008;23(2):59-65.
  24. 손정민, 홍승욱. 防風通聖散이 아토피 피부염을 유발한 동물모델의 피부 손상에 미치는 영향. 한방안이비인후피부과학회지 2007;20(1): 99-114.
  25. 윤보현, 박성식. 涼膈散火湯이 Atopy 피부염에 미치는 영향. 사상체질의학회지 2004;16(2): 84-98.
  26. 황치환 외. 葛根解肌湯加味方과 三黃洗劑加味方 병용이 NC/Nga 생쥐의 아토피피부염에 미치는 영향. 한방안이비인후피부과학회지 2008; 21(2):1-18.
  27. 박민철, 최인화. 柴胡清肝散 투여가 아토피 피부염을 유발한 동물모델의 각질층 기능회복에 미치는 영향. 대한한의학회지 2004;25(3): 137-48.
  28. 진경선 외. 清上防風湯의 아토피성 알레르기 반응 조절 효과. 대한한방소아과학회지 2004; 18(2):61-76.
  29. 구영희, 홍승욱. 清肌散이 Th2 세포 분화와 염증에 미치는 영향. 한방안이비인후피부과학회지 2007;20(3):63-70.
  30. 김윤희, 한재경. 加味羌活散이 집먼지 진드기 추출물로 유도된 NC/Nga mouse의 아토피 피부염에 미치는 영향. 대한한방소아과학회지 2008;22(1):69-93.
  31. 김우연, 이진용. 沆瀣丹이 아토피 피부염 환자 단핵세포의 Cytokine 분비능에 미치는 영향. 대한한방소아과학회지 2007;21(2):169-84.
  32. 나동규. 除濕胃苓湯加減이 집먼지 진드기 추출물로 유도된 NC/Nga mouse의 아토피피부염에 미치는 영향. 한방소아과학회지 2008;22(2): 81-114.
  33. 김정환. 비허온습방의 아토피피부염 개선 효과에 관한 실험적 연구. 대전대학교 대학원. 2008년. 박사.
  34. Leung DYM, Boguniewicz M, Howell MD, Nomura I, Hamid QA. New insights into atopic dermatitis. J Clin Invest 2004; 113:651-7.
  35. Leung DYM. Atopic dermatitis: new insights and opportunities for therapeutic intervention. J Allergy Clin Immunol 2000;105:860-76.
  36. 신정은 외. 소아 아토피피부염에서 아토피성과 비아토피성의 중증도와 검사소견의 비교. 소아 알레르기호흡기학회지 2008;18(3):219-27.
  37. 성현철 외. 아토피피부염에서 임상적 중증도에 따른 알레르기 검사소견. 대한피부과학회지 2006;44(9):1051-7.
  38. 김규석, 김윤범. 피부 소양 마우스 모델의 최근 연구 동향-Scratching behavior medel을 중심으로. 한방안이비인후피부과학회지 2007; 20(2):142-50.
  39. 이상현, 윤용갑. 아토피 피부염 치료 처방에 대한 방제학적 고찰. 한방안이비인후피부과학회지 2006;19(3):103-17.
  40. European Task Force on Atopic Dermatitis. Severity Scoring of Atopic Dermatitis: The SCORAD Index. Dermatology 1993;186: 23-31.
  41. Lionel Fry 저. 안성구, 박병덕, 원진형 역. 아토피 피부염 진단과 치료. 서울:군자출판사. 2007:110.
  42. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS 저. 김

광혁 외 옮김. 세포·분자 면역학. 서울:정문각. 1998:320-1.  
43. 김명남 외. 아토피 피부염에서 말초 혈액내 호

산구수, 혈청 총 IgE, eosinophil cationic protein, IL-4 및 soluble E-selectin의 변화. 대한피부과학회지 2002;40(11):1367-73.