東國韓醫學研究所論文集 第7卷 第1號
D.J.I.O.M. Vol.7, No.1, 119~133, 1998

黃芩 抽出物이 DNCB로 誘導된 생쥐의 Allergy性 接觸皮膚炎에 미치는 影響

全宰弘 · 姜允皓

東國大學校 韓醫學科大學 內科學敎室

【초록】 본 실험은 황금이 Allergy性 접촉피부염의 면역과민반응 및 염증반응에 미치는 영향을 조사하기 위해서 시행되었다. 실험을 위해 BALB/C계 생쥐를 DNCB 처리군과 DNCB 처리 후 황금추출액을 경구 투여한 황금추출물투여군(HGET군)으로 나누어 2,4-dinitrochlorobenzene(DNCB)를 도포하여 Allergy性 접촉피부염을 유발한 뒤, 시간의 경과에 따라 contact hypersensitivity assay, 피부의 일반적인 구조, 혈관생성, 림프구를 비롯한 염증세포, sulfated acid mucosubstance, 비만세포, IL-2 R, ICAM-1 그리고 CD11b의 변화를 관찰하였다. Contact hypersensitivity assay에서 HEGT군은 DNCB 처리군에 비해 有意性있는 ear swelling의 감소를 보였다. 피부표피의 변화에서 HEGT군에서 DNCB 처리군에 비해 감소된 것으로 나타났다. 또한 혈관생성, 림프구의 침투 및 표피 기저층과 가시층 세포의 손상은 HEGT군에서 DNCB처리군에 비해 감소된 것으로 나타났다. 또한 혈관생성, 림프구를 비롯한 염증세포, sulfated acid mucosubstance와 비만세포, IL-2 R 양성반응세포, ICAM-1 양성반응세포 그리고 CD11b 양성반응은 Allergy性 접촉피부염의 면역과민반응억제와 항염증작용에 효과가 있는 것으로 사료된다.

중심낱말 : 황금, Allergy性 접촉피부염, 면역억제, 항염증.

Ⅰ. 緖 論

현대사회는 과학기술과 산업의 발달로 因해 각종 공해나 합성물질의 增加를 가져왔고, 이러한 환경적 영향으로 Allergy性 接觸皮膚炎의 發病頻度가 점차 늘어나고 있다. 또한 이 질환을 유발하는 抗原物質들은 일상생활에서 쉽게 접촉할 수 있는 것들이 많아 임상적 중요성이 더욱 증가되고 있는 실정이다.(1-4)

Allergy性 接觸皮膚炎은 抗原이 접촉된 국소 부위에 發赤, 丘疹, 小水疱, 瘙痒 등의 증상을 나타내며, Allergy성 抗原(allergen)의 감작과정과 동일 抗原의 재접촉에 의해 증상이 발현되는 遲延型過敏反應(delayed type hypersensitivity)에 屬하는 免疫疾患이다.(1,5-7)

韓醫學에서 이 질환 漆瘡, 狐尿刺, 膏藥風, 馬桶癬, 粉花瘡 등의 범주에 속하며, 腠理가 不密한 身體狀態 或은 體質的인 素因이 있는 상태에서 유독한 물질에 접촉되어 발생하는 것으로 보고 있다.(8-10)

근래의 皮膚疾患에 대한 연구에 의하면 피부질환에 多用되는 方劑들이 抗Allergy와 免疫反

應抑制에 유의한 효과가 있어 Allergy性 皮膚疾患에 임상적 활용가능성이 있음이 밝혀졌다.11-19) 이들 중 Allergy性 接觸皮膚炎과 관련된 것으로 SRBC(Sheep red blood cell), Picryl chloride 등을 이용한 遲延型過敏反應抑制作用에 대한 실험이 보고되었고11-17), 특히 이18)와 권19)은 림프구표면분자를 관찰하는 免疫組織化學的인 實驗硏究을 통해 유의한 효과를 보고한 바 있다.

한편 黃芩(*Scutellaria baicalensis* GEORGI)은 淸熱燥濕, 瀉火解毒의 효능이 있는 藥物로 外科 및 五官科의 熱毒性 疾患에 多用되어왔으며(20-22), 최근의 藥理學的 硏究에서 黃芩은 비만세포의 histamine 放出을 抑制하여 抗炎 및 抗Allergy作用이 있음이 밝혀졌다.(22-24) 그러나 기존의 실험에서는 Allergy性 接觸皮膚炎의 발병과정에 나타나는 림프구 표면분자를 통한 免疫抑制效果에 대한 것을 찾아 볼 수 없었다.

이에 著者는 黃芩 Allergy性 接觸皮膚炎에 대한 症狀緩和 항염증효과 및 遲延型過敏反應抑制效果를 검증하기 위해, 黃芩抽出物을 DNCB 감작에 의해 Allergy性 接觸皮膚炎이 誘發된 흰쥐에 투여한 후 組織化學的인 방법으로 피부 조직의 변화, 비만세포 및 림프구 표면분자인 IL-2R, ICAM-1, CD11b 등을 관찰한 바 유의한 결과를 얻었기에 이 논문을 통해 보고하는 바이다.

Ⅱ. 實驗材料 및 方法

1. 實驗 材料

1) 藥材

약재는 동국대학교 한방병원에서 사용되는 黃芩을 정선하여 사용하였다.

2) 動物

대한실험동물센터에서 분양받은 태령 4주된 BALB/C계 생쥐 암컷을 무균사육장치내에서 2주일동안 적응시킨 후 체중 20g된 생쥐을 선별하여 사용하였다. DNCB 처리군, DNCB 처리 후 黃芩추출물 투여군(HGET군)으로 나누었고, 각 군은 DNCB 처리 후 시간의 경과에 따라 24, 48 그리고 72시간으로 세분시켜, 각각에 5마리씩 배정하였다. 한편 Contact hypersensitivity assay(ear swelling test)를 위해 각 군에 별도로 10마리씩 배정하여 실험하였다.

2. 實驗方法

1) DNCB의 제조

2, 4-dinitrochlorobenzene(DNCB : Sigma, USA)는 acetone과 olive oil이 4:1로 혼합된 용액에 5%로 희석한 다음 사용하였다.

2) DNCB 도포에 의한 Allergy성 접촉피부염의 유발

DNCB 처리군과 HGET군에 5% DNCB 25㎕를 면도된 오른쪽 샅바위쪽 복부 2cm2에 도포하여 1차 감작시켰다. 1차 감작 14일 후 동일부위에 2.5% DNCB 4㎖를 도포하여 2차 감작시켰다.

3) 黃芩 추출물의 제조와 투여

黃芩 200g을 증류수 2000ml에 넣고 2시간동안 전탕한 후 원심분리하여 여과하였고, rotary evaporator로 100ml로 농축하였다. 농축된 黃芩 추출액은 HGET군에 매일 3.3ml/kg씩 음용투여하였다.

4) Contact hypersensitivity assay

1차 감작된 DNCB 처리군과 HGET군에 Contact hypersensitivity assay를 실시하기 위해서 생쥐 오른쪽 귀에 2.5% DNCB 4㎖를 도포하여 2차 감작시켰다. 2차 감작 후 24, 48, 72시간에 귀의 두께를 dial thickness cage (Mitutoyo. Japan)로 측정한 후 ear swelling 평균값을 구하여 각각의 차이를 비교하였다.

5) 피부의 조직표본 제작

DNCB 처리군과 HGET군을 DNCB의 2차 감작 후 24, 48, 72시간에 경추탈구로 희생시켰다. DNCB 도포부위에서 얻어진 피부와 림프절은 10% 중성 포르말린용액에 실온에서 24시

간동안 고정한 후 통상적인 방법으로 paraffin에 포매하고 5μm두께로 연속절편을 만들었다. 만들어진 연속절편은 Hematoxyline과 Eosin으로 염색하여 표본을 제작하였다. 한편 피부의 Semi-thin 절편 제작은 절취된 피부 절편을 1/2 Karnovsky 용액에 선고정한 후 1% OsO4 용액에 후고정하였고, Uranyl acetate에 90분 동안 염색한 후 통상적인 방법으로 epon에 포매하였다. 조직절편은 ultramicrotome(LKB, Nova)으로 1μm 두께로 절편을 만들어 toluidine blue로 염색한 후 광학현미경으로 피부 미세구조의 변화를 관찰하였다.

6) 피부 진피의 혈관분포 변화 관찰

DNCB 2차 감작 후 DNCB 처리군과 HGET군 피부의 진피층에 나타나는 혈관분포의 변화를 관찰하기 위해서 조직절편을 Wright stain 용액에서 10분동안 염색하여 광학현미경으로 검경하였다.

7) 피부 진피의 세포 침윤 변화 관찰

DNCB 2차 감작 후 DNCB 처리군과 HGET군 피부의 진피층에 나타나는 sulfated acid mucosubstance의 분포와 침윤 세포의 변화를 관찰하기 위해서 조직절편을 alcian blue solution(pH 2.5)에 30분간 염색한 다음 nuclear fast red solution에 5분동안 대조염색한 후 광학현미경으로 관찰하였다.

8) 피부 진피의 비만세포 분포변화의 관찰

2차 감작 후 DNCB 처리군과 HGET군 피부의 진피층에 나타나는 비만세포의 분포 변화를 관찰하기 위해서 5μm의 연속절편을 aldehyde fuchsin에 30분간 염색한 다음 Weigert's iron hematoxylin과 methyl orange solution에 각각 1분, 5분동안 대조염색한 후 광학현미경으로 관찰하였다.

9) 피부의 IL-2R, ICAM-1 그리고 CD11b양성반응세포의 분포변화 관찰

2차 감작 후 DNCB처리군과 HGET군 피부의 진피층에 나타나는 interleukin2 receptor (IL-2R), intercellular adhesion molecular (ICAM-1) 그리고 CD11b 양성반응세포의 분포변화를 관찰하기 위해서 면역조직화학적 염색을 실시하였다. 우선 절편을 0.05% pepsin이 포함된 0.01N HCl 용액(pH2.0)에 5분동안의 proteolysis과정을 거친 후 1 : 100으로 희석된 normal goat serum(DAKO, Denmark)에 30분 동안 반응시킨 다음 1 : 100으로 희석된 1차 항체인 rat anti-mouse CD25R(IL-2R; Serotec, England), rat anti-mouse CD54(ICAM-1; Serotec, England) 그리고 rat anti-mouse CD11b(CR3; Serotec, England)에 실온에서 24시간 동안 반응시켰다. 그런 다음 1 : 100으로 희석된 2차 항체인 biotinylated goat anti-rat IgG에 4시간동안 반응시킨 후 ABC에 30분간 반응시켰다. 통상적인 방법으로 DAB로 발색하고 Hematoxylin에 대조 염색한 후 광학현미경으로 관찰하였다.

10) 통계처리

본 실험에서 얻어진 결과의 통계처리와 유의성 검정은 Sigma Plot program 5.0(Sigma. USA)에 의해서 처리되었다.

Ⅲ. 實驗成績

1. Contact hypersensitivity assay

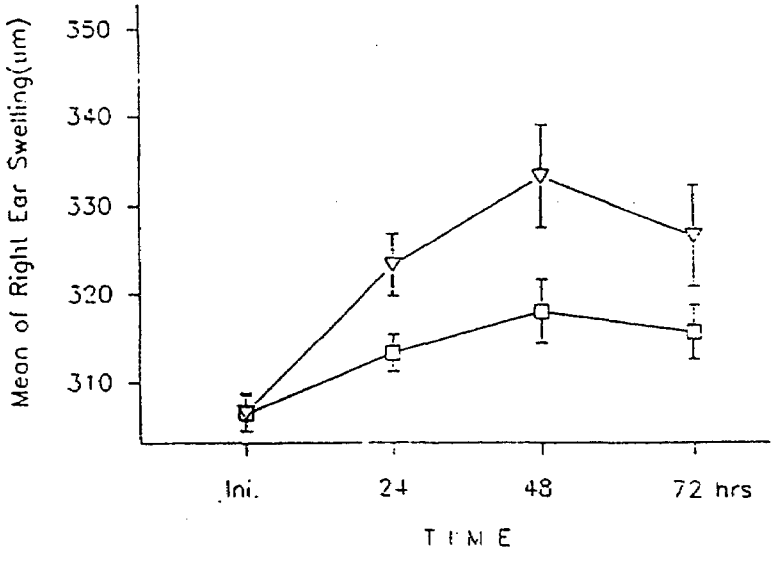
DNCB 처리군에서는 24시간이 경과했을 때 오른쪽 귀의 두께는 323±3μm가 2차 감작 전의 307±2μm에 비해 증가된 양상을 보였다. 이러한 증가는 48시간이 되었을 때 333±6μm으로 가장 높았으며, 72시간이 되었을 때에는 오히려 327±4μm으로 약간 감소되는 경향을 보였다. 한편 2차 감작 후 HGET군의 귀의 두께는 24시간에 313±2μm, 48시간에는 318±4μm 그리고 72시간에는 316±3μm로 측정되어 DNCB 처리군에 비해서는 유의성 있는 감소경향을 관찰할 수 있었다.

Table 1. The inhibition effect of ear swelling in mouse administered *Scutellaria baicalensis* GEORGI extract after secondary sensitization by 2.5% DNCB painting. The mean of ear swelling began to increase and reach a peak at hour-48 after secondary sensitization. The increase of ear swelling in mouse treated with *Scutellaria baicalensis* GEORGI extract noticeably mitigated than DNCB painted group for experimental period and this inhibition had probability in $P<0.05$ of student T test.

group	Initiation	24	48	72 hrs
DNCB	307±2	323±3	333±6	327±4
HGET	307±2	313±2*	318.3±4*	316±3*

Abbreviation> M ± S.D : Mean ± standard Deviation, DNCB : DNCB painted group, HGET : Scutellaria baicalensis GEORGI extracts administered group after DNCB painting, * : $P < 0.05$ compared with DNCB.

Fig. 1. The inhibition effect of ear swelling in mouse administered *Scutellaria baicalensis* GEORGI after secondary sensitization by 2.5% DNCB painting. The mean of ear swelling began to increase and reach a peak at hour-48 after secondary sensitization. The increase of ear swelling in mouse treated with *Scutellaria baicalensis* GEORGI extract significantly mitigated than DNCB painted group for experimental period.



Abbreviation> ▽ : DNCB painted group, □ : *Scutellaria baicalensis* GEORGI extracts administered group after DNCB painting.

2. 피부의 외형적 형태 변화

DNCB 처리군은 2차 처리 후 DNCB 도포부위에서 관찰되는 외부형태적 변화는 24시간 경과되었을 때 붉은 좁쌀 형태의 erythematous papule가 일부 도포부위에서 나타나는 피부손상이 시작되었으며, 48시간이 경과되었을 때는 손상부위가 확대되었다. 그러나 72시간이 경과되었을 때는 약간 회복되는 경향을 보였다. 한편 HEGT군에서 나타난 외형적 피부손상 변화는 DNCB 처리군과 유사한 경향으로 나타났다. 그러나 HEGT군의 피부손상 정도는 DNCB 처리군보다는 완화된 것으로 관찰되었다.

Table. 2. The Effect of HGET extract administration on degree of epidermal damage contain with erythema in murine abdominal skin painted with DNCB. The degree of epidermal damage began to increase and reach a peak at hour-48 after secondary sensitization. The degree of epidermal damage in mouse treated with *Scutellaria baicalensis* GEORGI extract noticeably soften than DNCB painted group for experimental period.

group	Initiation	24	48	72 hrs
DNCB	-	+	+++	++
HGET	-	+	++	+

Abbreviation> - : negative, + : trace, ++ : moderate, +++ : strong

3. 피부 표피 변화

피부조직에서 나타나는 변화는 우선 피부상피에서 각질형성세포(keratinocyte)의 과형성(hyperplasia)으로 인한 피부 상피층수의 급격한 증가(Fig. 2.), 기저층의 기저세포와 기저막 사이의 공간확대 및 그 사이로 침윤(infiltration)하는 림프구의 수가 증가되었다(Fig. 2.). 또한 가시층과 기저층사이에서 핵의 수축으로 인한 핵막과 세포질사이의 공간이 확장된 상피세포의 증가가 관찰되었다(Fig. 3.). 한편 상피쪽 진피층에서는 염증관련세포의 DNCB 도포부위로의 이주(migration) 증가가 관찰되었다. 이러한 변화는 48시간이 되었을 때 가장 심하게 나타났으며, 72시간이 되었을 때는 완화되는 것으로 관찰되었다.

한편 HGET군에서도 DNCB 처리군과 유사한 경향을 보였으나, 전반적으로 약화된 양상으로 나타났다. 특히 이러한 피부 손상의 완화는 48시간의 피부상피에서 잘 나타났는데 DNCB 처리군보다 낮은 상피세포층의 증가(Fig. 4.), 침윤하는 림프구의 수의 감소 및 가시층 및 기저층 세포 손상의 감소가 관찰되었다(Fig. 4., 5.).

4. 피부 진피내 미세환경 변화

1) 혈관의 분포 변화

DNCB 처리군에서는 주로 직경이 큰 혈관이 진피층에서 관찰되었으며, 그 수 또한 증가된 것으로 나타났다(Fig. 6.). 이러한 변화는 48시간에서 두드러진 것으로 관찰되었다. 한편 HGET군에서는 DNCB 처리군보다는 직경이 작은 혈관이 주로 관찰되었으며, 그 수도 DNCB 처리군에 비해 적었던 것으로 확인되었다(Fig. 7.).

2) 세포 침윤과 Sulfated acid mucosubstance의 분포 변화

DNCB 처리군에서 나타나는 염증관련세포의 이주정도와 sulfated acid mucosubstance 분포 변화는 DNCB 2차 감작 후 시간이 경과할수록 하피쪽의 혈관주변부에서 이주하는 염증관련세포의 수가 증가하였고, 상피쪽 진피내에서 sulfated acid mucosubstance의 분포가 증가하였으며, 이러한 증가는 48시간에 가장 두드러졌다(Fig. 8.). 한편 HGET군에서도 시간의 경과에 따른 염증관련세포의 이주와 sulfated acid mucosubstance 분포 양상은 DNCB 처리군과

유사하게 증가하는 경향이었지만, DNCB 처리군보다는 이주하는 염증관련세포의 수가 적었으며 sulfated acid mucosubstance 분포도 낮았다(Fig. 9.).

3) 비만세포의 분포변화

DNCB 처리군에서 나타나는 비만세포의 분포변화는 시간이 경과할수록 하피쪽 진피에서 수가 증가하는 것으로 관찰되었고(Fig. 10.), degranulated type와 granulated type의 두가지 형태로 나타났다(Fig. 12.). 그리고 degranulated type의 비만세포가 특히 48시간에서 많이 관찰되는 것으로 확인되었다. 이러한 HGET군도 DNCB 처리군과 같이 DNCB 2차 감작 후 시간의 경과에 따른 증가경향은 유사하였지만 DNCB 처리군보다는 그 수가 적었으며, 특히 degranulated type인 비만세포의 출현 빈도가 낮았다(Fig. 11.).

4) IL-2 receptor 양성반응세포의 변화

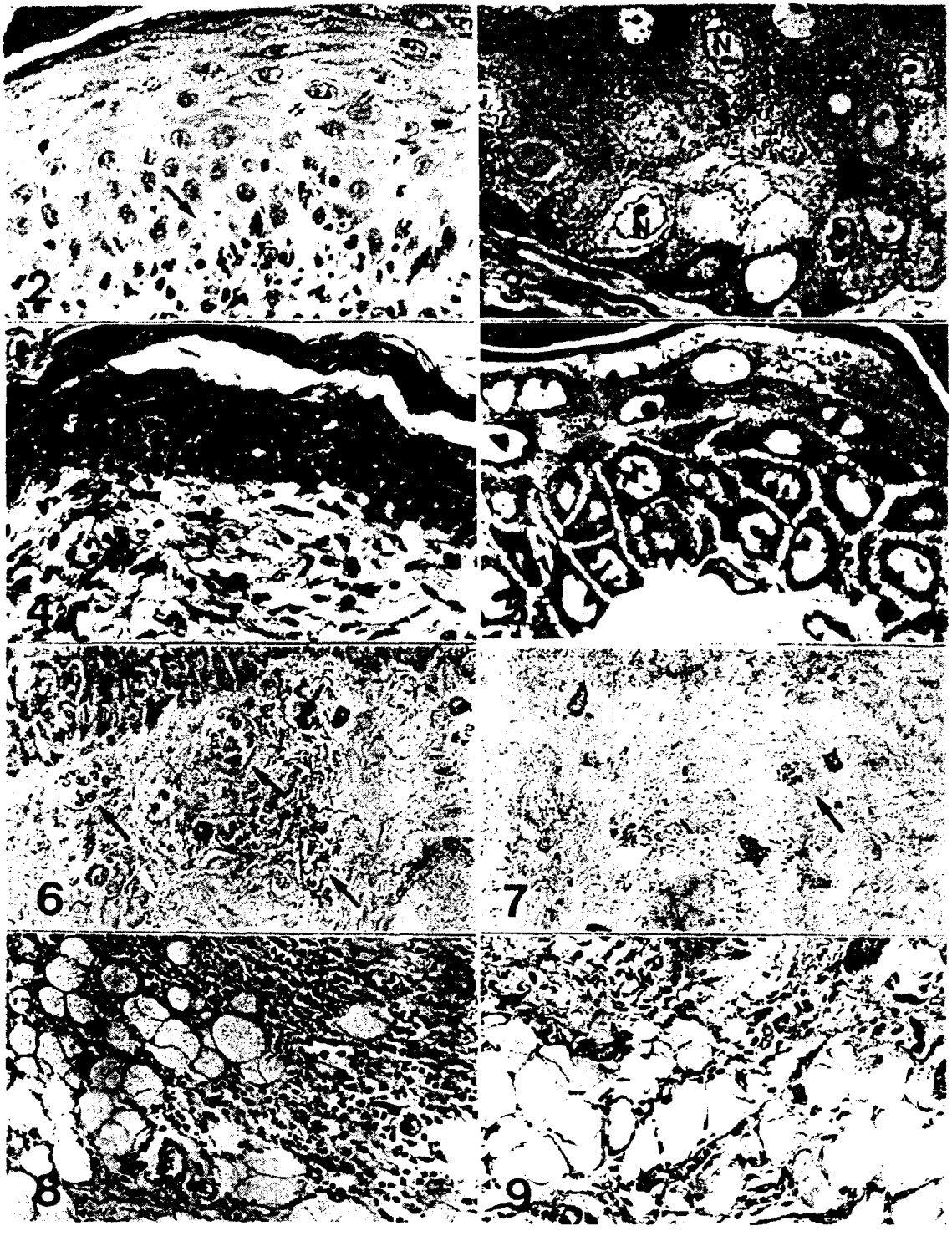
DNCB 처리군의 IL-2R 양성반응세포는 상피쪽 진피에서 주로 관찰되었고, 하피쪽 진피에서는 혈관주변부에서 관찰되었으며 48시간에서 분포가 증가한 것으로 나타났다(Fig. 13., 14.). 관찰된 양성반응세포는 세포질부분의 비율이 증가된 분비세포형태를 하고 있었다(Fig. 15.). 한편 HGET군에서는 DNCB 처리군에 비해 적은 수의 IL-2R 양성반응세포가 관찰되었으며 또한 IL-2 양성반응성도 낮은 것으로 관찰되었다(Fig. 16.).

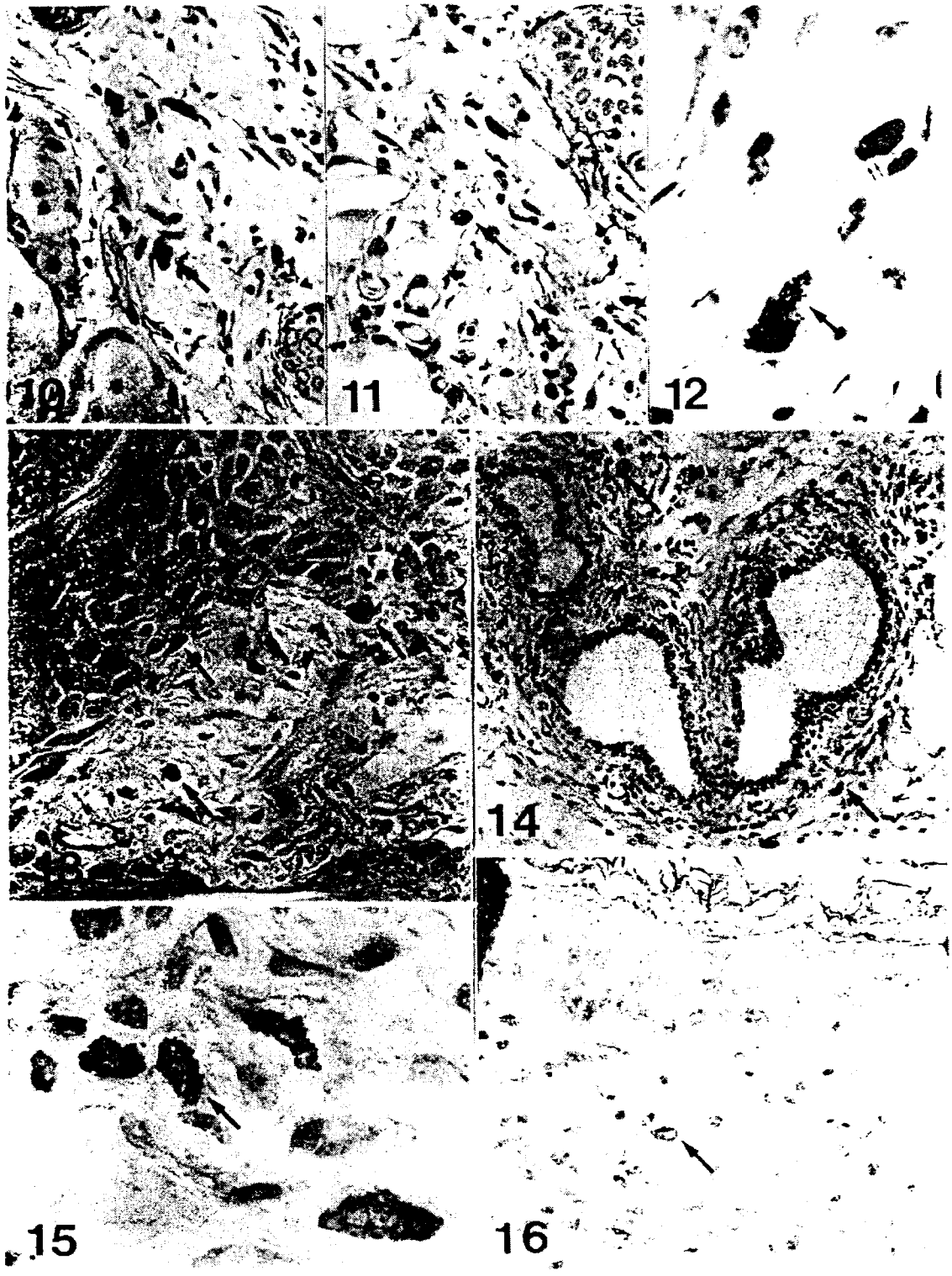
5) ICAM-1 양성반응세포의 분포 변화

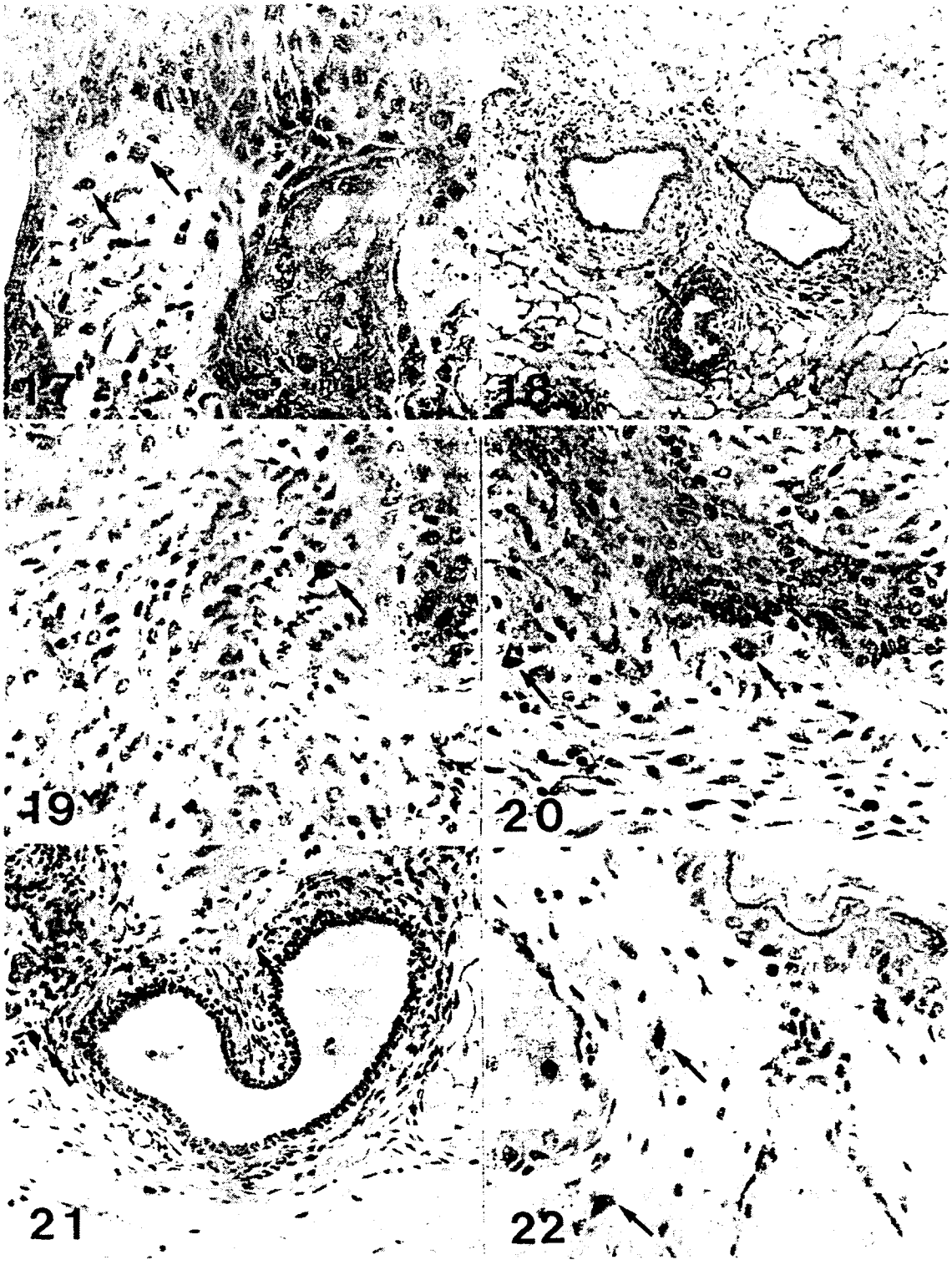
ICAM-1 양성반응세포의 분포 변화는 DNCB 처리군에서 증가된 양상으로 나타났으며(Fig. 17., 18.), 48시간에서 두드러진 분포의 증가를 확인할 수 있었다. 이러한 ICAM-1 양성반응세포의 진피에서 골고루 분포하였으며, 특히 혈관주변부에서 잘 나타났다(Fig. 18.). 반면에 HGET에서는 ICAM-1 양성반응세포는 일부 상피쪽에서 나타났지만, DNCB 처리군보다는 그 수가 훨씬 적었다(Fig. 19.).

6) CD11b 양성반응세포의 분포 변화

DNCB 처리군에서의 CD11b 양성반응세포의 분포는 DNCB 감작 후 48시간에서 증가된 것으로 관찰되었으며, 상피쪽과 혈관주변부에 주로 분포하는 것으로 나타났다(Fig. 20., 21.). HGET군에서는 DNCB군보다는 모든 실험기간에서 낮은 증가를 보였다(Fig. 22.).


N
N
2
4
6
7
8
9


10
11
12
13
14
15
16


17
18
19
20
21
22

Legends for figure

Fig. 2. The hyperplasia in epidermis and infiltration of inflammatory cells(arrow) in dermis on mouse at hour-48 after secondary sensitization by DNCB painting. H & E. ×400

Fig. 3. The shrinkage of nucleus(N) in stratum basalis at hour-48 after secondary sensitization by DNCB painting. semithin-section. Toluidine blue. ×1000

Fig. 4. The abdominal skin in mouse at hour-48 after secondary sensitization by DNCB painting with daily HGET treatment. H & E. ×400

Fig. 5. The epithelial cell in stratum basalis at hour-48 after secondary sensitization by DNCB painting with daily HGET treatment. semithin-section. Toluidine blue. ×1000

Fig. 6. The increase of capillary size(arrow) and number in dermis at hour-48 after secondary sensitization by DNCB painting. Wright stain. ×400

Fig. 7. The small capillary(arrow) at hour-48 after secondary sensitization by DNCB painting with daily HGET treatment. Wright stain. × 400

Fig. 8. The distribution of sulfated acid mucosubstance and imflammatory cell in dermis at hour-48 after secondary sensitization by DNCB painting. Alcian blue method . ×100

Fig. 9. The distribution of sulfated acid mucosubstance and imflammatory cell in dermis at hour-48 after secondary sensitization by DNCB painting with daily HGET treatment. alcian blue method. ×100

Fig.10. The distribution of mast cell(arrow) in mouse at hour-48 after secondary sensitization by DNCB painting. Luna's method. ×200

Fig.11. The distribution of mast cell(arrow) in mouse at hour-48 after secondary sensitization by DNCB painting with daily HGET treatment. Luna's method. ×200

Fig.12. The degranulated type(arrow) and granulated type(small double arrow) of mast cell. Luna's method. ×1000

Fig.13. The distribution of IL-2R positive cell(arrow) in dermis at hour-48 after secondary sensitization by DNCB painting. immunostain. ×400

Fig.14. The distribution of IL-2R positive cell(arrow) around capillary of dermis at hour-48 after secondary sensitization by DNCB painting. immunostain. ×200

Fig.15. The shape of IL-2R positive cell(arrow). immunostain. ×1000

Fig.16. The distribution of IL-2R positive cell(arrow) in dermis at hour-48 after secondary sensitization by DNCB painting with daily HGET treatment. Immunostain. ×400

Fig.17. The distribution of ICAM-1 positive cell(arrow) in dermis at hour-48 after secondary sensitization by DNCB painting, immunostain. × 400

Fig.18. The distribution of ICAM-1 positive cell(arrow) around capillary of dermis at hour-48 after secondary sensitization by DNCB painting. immunostain. × 200

Fig.19. The distribution of ICAM-1 positive cell(arrow) in dermis at hour-48 after secondary sensitization by DNCB painting with daily HGET treatment. immunostain. ×400

Fig.20. The distribution of CD11b positive cell(arrow) in dermis at hour-48 after secondary sensitization by DNCB painting. immunostain. ×400

Fig.21. The distribution of CD11b positive cell(arrow) around capillary of dermis at hour-48 after secondary sensitization by DNCB painting. immunostain. ×200

Fig.22. The distribution of CD11b positive cell(arrow) in dermis at hour-48 after secondary sensitization by DNCB painting with daily HGET treatment. Immunostain. ×40

Ⅳ. 考 察

Allergy性 接觸皮膚炎을 유발하는 抗原物質들은 화장품, 금속, 고무, 약품 등 일상생활에서 쉽게 접촉할 수 있는 것들이 많다. 또한 이들 抗原에 직접 접촉하는 직업에 종사하는 사람들에게 개인 보건상의 문제는 물론 작업 손실에 따른 경제문제를 발생시키고 있어 임상적인 중요성이 더욱 커지고 있다.(1,3,5,25)

이 질환은 접촉된 抗原이 Langerhans cell에 전달된 후 antigen processing을 거쳐 Helper T cell에 전달되고, 이 Helper T cell이 분열하여 기억세포(memory cell)를 형성하게되는 감작과정을 거친다. 이 후 抗原에 再接觸되면 염증반응과 조직손상이 유발되어 症狀이 발현된다. 이러한 과정에서 IL-2를 비롯한 많은 cytokine이 방출되고, 염증관련세포의 이주에 영향을 미치는 ICAM-1이나, phagocytosis를 하는 granulocytes와 monocytes의 표현분자인 CD11b 등이 증가하게 된다.(1,5,6,26-30)

韓醫學에서 Allergy性 接觸皮膚炎은 漆瘡, 狐尿刺, 粉花瘡, 膏藥風, 馬桶癬 等의 범주에 속하는 것으로 알려져 있다. 이 질환들은 피부의 면역기능이 떨어진 身體狀態 或은 體質的인 素因이 있는 상태에서 有毒한 물질에 접촉되어 발생하며, 毒氣가 피부를 통해 침입한 후 鬱滯하여 熱로 化하고 氣血과 相搏하게 되어 發生한다.(8-10) 특히 漆瘡에 대해서 「諸病源候論」(31)과 「外科正宗」(32)에서는 漆이 有毒하여 이에 接觸하게 되면 발생하게 되나 漆에 종일 노출되어도 발생하지 않는 사람도 있다고하여, 체질적인 요인이 있음을 언급하고 있다. 이러한 병리적인 인식하에서 이 질환들은 臨床的으로 症狀과 病程에 따라 風熱, 濕熱, 熱毒 등으로 辨證되고 있으며, 淸熱, 解毒, 祛風, 利濕, 凉血의 治法으로 치료하고 있다.(8-10,33)

Allergy性 接觸皮膚炎의 치료를 위해서 우선적으로 항원에 대한 回避가 필요하며, 對症療法으로 항히스타민제나 부신피질호르몬제를 사용한다. 그리고 발전된 치료법으로 免疫抑制劑나 減感作요법을 施行하고 있다. 그러나 항히스타민제는 근본적인 치료제로 부적합하고, 부신피질호르몬제는 부작용을 유발하여 사용이 제한되고 있다. 또한 면역억제제인 cyclosporine A나 FK 506은 hypertension에 의한 肝이나 腎臟組織의 損傷 등의 副作用이 나타나며, 減感作요법은 實際的인 效果, 方法, 副作用 등에 대해서 아직 硏究段階에 있어 광범위한 임상적 활용에 한계가 있는 實情이다.(1,5-7,34-37)

한편 黃芩은 淸熱燥濕, 瀉火解毒하는 효능이 있는 藥物로, 性寒 無毒 味苦하고, 肺 膽 胃 大腸으로 入하여 瀉實火 除濕熱하는 작용을 하여, 外瘍內癰 및 外科 五官科의 熱毒證에 多用한다.(20-22) 그리고 최근의 藥理學的인 硏究에 의하면 黃芩은 抗炎 및 抗Allergy作用, 抗微生物作用, 解熱作用 등의 다양한 작용을 나타낸다고 보고되고 있다.(20-23,38,39) 특히 黃芩의 抗炎 및 抗Allergy作用은 주요성분인 baicalin, baicalein이 비만세포의 過敏性 物質의 放出을 抑制하는 것과 관련된 것으로 밝혀졌다.(23,24,39) 그러나 黃芩의 抗Allergy作用에 대한 硏究 중 Allergy性 接觸皮膚炎에서 나타나는 IL-2R, ICAM-1, CD11b 등의 림프구표면분자를 지표로 하는 遲延型免疫抑制效果에 대한 硏究는 찾아 볼 수 없었다.

이에 著者는 Allergy性 接觸皮膚炎의 症狀緩和 및 遲延型免疫反應에 대한 黃芩의 抑制效果를 밝히기 위해 이 實驗을 하게 되었다.

먼저 Contact hypersensitivity assay에서 DNCB처리군은 48시간이 되었을 때 가장 높은 증가를 보이는 것으로 관찰되었고, 이는 각종 보고에서 나타난 결과와 일치되었다.(18,19,25,27,40) 한편 HGET군은 실험기간동안 DNCB처리군에 비해서는 有意性 있는 減少傾向을 보였다. 이는 黃芩이 過敏性浮腫을 抑制한다는 보고와 일치하고 있다.(21,22)

皮膚의 外形的 形態 변화는 DNCB처리군과 HEGT군 모두 24시간에서 붉은 좁쌀 형태의 erythematous papule가 일부 塗布部位에서 나타나는 皮膚損傷이 始作되어, 48시간에서 部位

가 擴散되었고, 72시간이 되었을 때 弱化되는 경향을 보였으나, HEGT군은 DNCB처리군에 비해 皮膚손상 정도가 緩和된 것으로 관찰되었다. 피부의 손상의 감소는 黃芩이 抗炎作用을 한다는 보고(20-23)와 일치하며, 이러한 작용은 肺經으로 入하여 瀉實火 除濕熱하는 黃芩의 효능에 의한 것으로 사료된다.

피부 組織의 변화에서 HGET군은 DNCB처리군과 類似한 傾向을 보였으나, 전반적으로 弱化된 양상을 보였다. 피부조직손상의 완화는 48시간의 피부상피에서 잘 나타났으며, 상피세포층 증가의 감소, 침윤하는 림프구의 수의 감소 및 피부상피세포 손상의 감소가 관찰되었다. 진피내 혈관의 분포 변화 또한 48시간에서 가장 뚜렷이 나타났으며, HGET군에서는 DNCB처리군보다 혈관의 직경 및 그 수가 감소된 것으로 확인되었다.

세포 침윤과 Sulfated acid mucosubstance의 분포 변화는 48시간에 가장 크게 나타났으며, DNCB처리군과 유사하게 HGET군에서도 시간의 경과에 따른 이주하는 염증관련세포의 수와 sulfated acid mucosubstance 분포 양상은 증가하는 경향이었지만, DNCB처리군보다는 수와 분포에 있어서 감소를 보였다.

비만세포(mast cell)의 분포변화는 HGET군도 DNCB처리군과 같이 시간의 경과에 따른 비만세포의 증가경향은 유사하였지만 DNCB처리군보다는 적은 수였고, 특히 degranulated type의 비만세포 출현이 DNCB군보다 적었다. Allergy性 接觸皮膚炎의 瘙痒感 등의 증상이 비만세포가 탈과립화되어 염증관여물질이 分泌되어 림프구를 비롯한 염증관여세포의 혈관투과성을 증가시켜 발생되는 것으로 보고되었다.(37,42,43) 이런 보고에 의하면 黃芩이 비만세포의 탈과립현상을 억제하여 염증관여물질의 양을 감소시키고, 모세혈관직경의 확장과 혈관투과성을 억제하여 염증반응이 약화되는 것으로 사료된다. 이는 黃芩이 histamine에 의한 皮膚反應을 抑制하고 비만세포의 過敏性 物質의 放出을 抑制한다는 보고와 일치함을 보여준다.(22-24)

IL-2 receptor 양성반응세포의 변화는 HGET군에서는 DNCB처리군에 비해 적은 수의 IL-2R 양성반응세포가 관찰되었고, IL-2 양성반응성도 낮은 것으로 관찰되었다. IL-2 는 T cell에서 분비되고, T cell을 활성화하여 T cell의 분열을 增加시킨다.(6,44-46) 그러나 본 실험에서는 黃芩에 의해서 IL-2R에 대한 양성반응세포의 수가 감소되었고 이들의 반응성 또한 약화되는 것으로 나타났고, 이러한 변화는 黃芩이 T cell의 활성화와 IL-2의 분비를 억제시켜 지연형과민반응을 약화시키는 것으로 사료된다.

ICAM-1 및 CD11b 양성반응세포의 변화는 HGET에서 DNCB처리군보다는 그 수가 훨씬 적게 나타났다. ICAM-1은 염증관련세포의 이주에 영향을 미치며, CD11b은 phagocytosis를 하는 granulocytes와 monocytes의 표현분자이다. 抗原에 노출되어 염증반응이 진행될 때 이들 adhesion물질들이 증가되는 것으로 보아(25,26,28,34,41,47), 이러한 ICAM-1 및 CD11b 양성반응세포의 감소는 黃芩이 이들의 활성을 억제시켜 염증관련세포의 이주감소를 유도해 염증반응을 약화시켰을 것으로 사료된다.

DNCB를 감작하여 Allergy性 接觸皮膚炎을 유발한 생쥐에 黃芩抽出物을 投與하여 免疫組織化學的인 변화를 관찰한 결과 ear swelling, 세포 침윤과 Sulfated acid mucosubstance, 비만세포 중 특히 degranulated type세포의 감소를 나타내었으며, IL-2R와 염증반응시 표현분자인 ICAM-1, CD11b 양성반응세포수의 감소를 보였다.

이러한 결과로부터 黃芩은 Allergy性 接觸皮膚炎에 대해 항염증효과 및 免疫過敏反應을 抑制시키는 효과를 나타내었으므로, 臨床的으로 黃芩이 有用하게 활용될 것으로 思料된다.

V. 結 論

黃芩이 Allergy性 接觸皮膚炎의 免疫過敏反應의 억제 및 抗炎症 作用을 조사하기 위해서 행해진 본 연구는 DNCB 처리로 Allergy性 接

觸皮膚炎이 誘發된 생쥐에 黃芩 抽出物을 투여한 후에 contact hypersensitivity assay와 皮膚의 일반적인 구조, 血管分布, sulfated acid mucosubstance, 비만세포, IL-2 receptor, ICAM-1, CD11b 등의 변화를 조사하여 얻은 결과는 아래와 같다.

1. Contact hypersensitivity assay의 結果 黃芩抽出物 投與群은 DNCB 處理群에 비해 有意性을 가질 정도로 ear swelling이 낮게 나타났다.

2. 일반적인 피부의 형태변화는 표피세포의 과형성, 림프구를 비롯한 염증세포의 증가, 혈관생성증가 그리고 표피 내로 림프구의 침투증가가 DNCB 處理群에 비해 黃芩抽出物 投與群에서 적게 나타났으며, 표피 기저층과 가시층 세포의 손상도 줄어든 것으로 관찰되었다.

3. 피부 내에 존재하는 sulfated acid mucosubstance의 생성은 黃芩抽出物 投與群이 DNCB 處理群보다 적었으며 주변 침윤세포의 수도 적었다. 또한 진피에서 분포하는 비만세포의 수도 黃芩抽出物 投與群이 DNCB 處理群에 비해 적은 수였다.

4. 피부진피에서 IL-2 R 양성반응세포, ICAM-1 양성반응세포 그리고 CD11b 양성반응세포의 분포는 DNCB 處理群에 비해 黃芩抽出物 投與群에서 적게 나타났다.

Ⅵ. 參考文獻

1. 이기영 : 알레르기의 진료, 서울, 한국의학, p.313-314, 523-525, 1992.
2. 원진형, 허원, 안성구, 이승헌 : 강원도 지역 피부질환의 통계적 고찰(1985-1989), 대한피부과학회지, Vol.30, No.2, p.175-184, 1992.
3. 은희철, 강승주, 김계정 : 최근 4년간의 첩포시험 성적, 알레르기 Vol.8, No.2, p.165-173, 1988.
4. 은희철, 고창조, 국홍일 외 : 접촉피부염의 역학적 연구, 대한피부과학회지, Vol.24, No.3, p.335-338, 1986.
5. 대한피부과학회 : 피부과학, 서울, 여문각, p.72-82, 1992.
6. 서울대학교 의과대학편 : 면역학, 서울, 서울대학교출판부, p.251-258, 1996.
7. 정규만 편저 : 알레르기와 韓方, 서울, 계일로, p.120-121, 46-49, 1993.
8. 顧伯華 主編 : 實用中醫外科學, 上海, 上海科學技術出版社, p.465-467, 1985.
9. 傅景華 主編 : 中醫外科學, 北京, 中醫古籍出版社, p.340-342, 1994.
10. 顧伯康 主編 : 中醫外科學, 北京, 人民衛生出版社, p.15-23, 257, 275, 1987.
11. 蔡禹錫 : 免疫疾患의 韓方槪念과 治療에 關한 文獻的 考察. 大韓韓醫學會誌, Vol.11, No.2, p.54-91, 1990.
12. 김중호, 채병윤 : 消風散과 加味消風散이 免疫反應 및 抗알레르기에 미치는 影響, 大韓外官科學會誌, Vol.4, No.1, p.1-21, 1991.
13. 노석선, 이기남 : 當歸飮子 水抽出液이 抗ALLERGY반응과 MOUSE의 免疫細胞機能에 미치는 影響, 大韓外官科學會誌, Vol.4, No.1, p.23-40, 1991.
14. 김수정, 김중호, 채병윤 : 消風除痒湯이 抗알레르기, 鎭痛·消炎效果에 미치는 影響, 大韓外官科學會誌, Vol.6, No.1, p.1-13, 1993.
15. 최규동, 김중호, 채병윤 : 銀花甘草湯과 加味方이 抗알레르기, 解熱, 消炎, 鎭痛效果에 미치는 影響, 大韓外官科學會誌, Vol.6, No.1, p.15-27, 1993.
16. 이연숙, 노석선 : 加味淸心蓮子飮 煎湯液이 抗ALLERGY반응과 MOUSE의 免疫細胞機能에 미치는 影響, 大韓外官科學會誌, Vol.6, No.1, p.1-21, 1993.
17. 김남권, 황충연, 임규양 : 升麻葛根湯加味方이 마우스의 抗ALLERGY 및 免疫反應에 미치는 影響, 大韓外官科學會誌, Vol.8, No.1, p.1-18, 1995.
18. 이준희 : 加味升葛湯이 DNCB로 誘導된 생쥐의 Allergy성 接觸皮膚炎에 미치는 影響, 東國大學校 大學院 博士學位論文, 1997.
19. 권오성 : 連翹敗毒散加味方이 DNCB로 誘

導된 생쥐의 Allergy성 接觸皮膚炎에 미치는 影響, 東國大學校 大學院 博士學位論文, 1996.
20. 康秉秀 外 : 本草學, 서울, 영림사, p.178-179, 1991.
21. 李尙仁 外 編譯 : 漢藥臨床應用, 서울, 成輔社, p.114-116, 1990.
22. 顔正華 主編 : 中藥學, 北京, 人民衛生出版社, p.134-137, 1991.
23. 신풍문출판공사편 : 中藥大辭典. 臺北, 신풍문출판공사, p.⑫132-134, 1974.
24. 李忠, 郭湘云 : 黃芩藥理研究進展. 中西醫結合雜誌 Vol.9, No.11, p.698-700, 1989.
25. HARRISON'S 내과학 편찬위원회 편 : HARRISON'S 내과학. 서울 : 정담출판사, p.299, 1663-1679, 1997.
26. Eli Benjamini, Geoffrey Sunshine, Sidney Leskowitz : Immunology A Short Course, 3rd ed, Wiley-Liss, Inc., 299-306, 1996.
27. C. U. Brand, T. Hunziker, A. Limat and L. R. Braathen : Large increase of Langerhans cells in human skin lymph derived from irritant contact dermatitis, British Jounal of Dermatology, 128, 184-188, 1993.
28. Ivan Roitt, Jonadan Brostoff, David Maie : Immunology, 4th ed , 25.1-25.11, 1996.
29. J. L. Rees, P. S. Friedmann and J. N. S. Matthews : The influence of area of application on sensitization by dinitrochlorobenzene, British.Foun. Dermato. 122, 29-31, 1990.
30. Monte S. Meltzer : Role of Macrophages and Dendritic Cells in Contact Dermatitis, Am. J. Contact Dermatitis 5(2), 76-83, 1994.
31. 巢元方 : 諸病源候論, 臺北, 집문서국, p.353-354, 1982.
32. 陳實功 : 外科正宗, 北京, 人民衛生出版社, p.259, 1983.
33. 전재홍, 김현아, 강윤호 : 接觸性皮膚炎에 關한 文獻的 考察, 大韓外官科學會誌 Vol.10, No.1, p.263-283, 1997.
34. A. I. Lauerma, B. D. Stein, B. Homey, C. H. Lee, E. Bloom and H. I. Maibach : Topical FK506 suppression of allergic and irritant contact dermatitis in the guinea pig, Arch. Dermatol. Res. 286, 337-340, 1994.
35. Ik Jo and Won Houh : Cyclosporin modulates DNCB contact hypersensitivity reaction in guinea pigs, Korea J. Dermat. 23(2), 204-207, 1985.
36. J. Jhon Cohen : Glucocorticoids Encyclo. Immunol., Arcademic press Inc., 616-617, 1992.
37. T. Tachibana, K. I. Toda, F. Furukawa, S. Taniguchi and S. Imamura : Histamine metabolism in delated type hypersensitivity -comparative analysis with celluar infiltrates, Arch. Dermatol. Res. 282, 217-222, 1990.
38. 정성현, 최진재, 유경숙, 윤혜숙 : 황금의 Bradykinin 길항작용, 생약학회지, Vol.22, No.3, p.192-196, 1991.
39. 노환성, 고우경, 김운자, 박건구, 조영환, 박형섭 : 고지혈증 랫트를 이용한 황금, 황련, 대황의 항고지혈 효과, 약재학회지, Vol.26, No.3, p.215-219, 1996.
40. 高曉山 主編 : 中藥藥性論, 北京, 人民衛生出版社, p.464-469, 1992.
41. Daniel P. Stites : Basic & Clinical Immunology, 8th ed, Appleton & lang, 363-365, 1994.
42. K. Gregory Moore and Arthur M. Dannenberg Jr : Immediate and Delayed (Late phase) Dermal Contact Sensitivity Reactions in Guinea Pigs. Passive Transfer by G1 Antibodies, Initiation by Mast Cell Degranulation, and Suppression by Soybean Proteinase Inhibitor, Int. Arch. Allergy Immunol. 101, 72-81, 1993.
43. M. R. Holliday, R. J. Dearman, I. Kimber

and J. W. Coleman : Sensitization of mice to chemical allergens modulates the responsiveness of isolated mast cells to IgE-dependent activation, Immunology 78, 508-510, 1993.
44. 하대유 : 림포카인을 중심으로 면역반응조절에 대하여, Medical Postgraduates 5(19), 232-246, 1991.
45. Angus W. Thomson : The Cytokine Handbook, Academic Press, 92-97, 1991.
46. Daniel N. Sauder and Saveria Pastore : Cytokines in Contact Dermatitis, American Journal of Contact Dermatitis 4(4), 215-224, 1993.
47. Abul K. Abbas, Andrew H. Lichtman, Jordan S. Pober : Celluar & Molecular Immunology, 2nd ed, W. B. Saunders Company, 279-293, 431, 1991

= Abstract =

The Effects of *Scutellaria baicalensis* GEORGI on Allergic contact dermatitis induced by DNCB in Mice

Jae-Hong Jun · Yoon-Ho Kang

Department of Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Dongguk University

This study was performed to investigated the effects of an immunosuppression and a mitigation of inflammation of *Scutellaria baicalensis* GEORGI on Allergic contact dermatitis. In order to study, after oral administration of *Scutellaria baicalensis* GEORGI extract, contact hypersensitivity assay, general morphologic change of skin, sulfated acid mucosubstance, mast cell, IL-2R, ICAM-1 and CD11b were observed in BALB/C mouse induced allergic contact dermatitis by the contact sensitizing DNCB. Ear swelling in contact hypersensitivity assay was decreased in the Scutellaria baicalensis GEORGI extracts administered(HEGT) group, compared with DNCB painted group. In the general morphologic change of skin, hyperplasia of keratinocytes, increase of lymphocytes and inflammatory cell, increase of vasculogenesis and epidermal lymphocytes infiltration, increase of cell damage in epidermal basal layer and prickle layer were decreased in the HEGT group, compared with DNCB painted group. Increase of sulfated acid mucosubstance, mast cell, IL-2R positive cell, ICAM-1 positive cell, CD11b positive cell were decreased in the HEGT group, compared with DNCB painted group.

Key Word : *Scutellaria baicalensis* GEORGI, Allergic contact dermatitis, immunosuppression. mitigation of inflammation