

加味生肌玉紅膏가 生肌에 미치는 影響

金男郁* · 盧石善*

ABSTRACT

Effect of Gamisaengkiokhonggo on the wound healing

Kim Nam-uk · Roh Seok-seon

This study was carried out to prove the effect of GMSKOHG on the cytotoxicity of human monocyte, the inhibition for prostaglandins(PGE₂) and interleukins(IL-1 β), the produce of TNF- α , and the size of mouse wounded.

The result were obtainde as follows :

1. 0.001% and 0.0005% of GMSKOHG was not showed the cytotoxicity of human monocyte.
2. 0.01% and 0.005% of GMSKOHG inhibited the production of interleukins(IL-1 β) in the human monocyte, but 0.001% and 0.0005% of GMSKOHG didn't.
3. 0.001% of GMSKOHG inhibited the production of TNF- α in the human monocyte.
4. 0.01%(MeOH 및 EtOH) of GMSKOHG inhibited the production of prostaglandins(PGE₂) in the human monocyte.
5. Wound healing was not effect.

* 大田大學校 韓醫科大學 外官科學教室

I. 緒 論

瘡瘍의 發生에 對하여 《黃帝內經》 〈靈樞·癰疽篇〉¹⁾에서는 寒氣가 經絡에 侵犯하여 血凝이 되어 衛氣가 循環되지 않아 腫이 發生되며 寒氣가 熱로 變하여 熱이 많으면 肉이 腐蝕되어 膿이 形成된다 하였으며, 華²⁾는 榮衛塞塞이나 五臟六腑의 蓄毒으로 因하여, 劉³⁻⁵⁾ 등은 火와 熱로 因하여 發生된다 하였다. 西洋醫學에서는 炎症誘發性 刺戟으로 發生되며, 組織, 血管 및 結合組織系의 損傷으로 循環障礙와 退行性 및 進行性 病變이 同時에 存在하는 것이라 하였다⁶⁾.

生肌란 肌肉의 生長이나 瘡癰에서 腐肉이 없게 되고 新肉이 생기는 過程을 뜻하는 것으로 生肌와 관계되는 內容으로는 〈素問·平人氣象論〉¹⁾에 “脾臟肌肉之氣也”라 하여 肌肉의 生長建壯이 脾와 關聯이 있음을 說明하고 있고, 또 〈靈樞·五閱五使篇〉¹⁾에 “血氣有餘 肌肉堅治”라 하여 氣血의 充養이 肌肉과 밀접한 關係가 있음을 설명하였다.

瘡瘍의 治療 方法은 初期, 成膿, 潰後의 三段階로 分類하며 治療 法則도 여기에 따라서 消, 托, 補의 세가지로 分類되는데, 그 中 消法은 消散하는 作用이 있는 藥物을 使用하여 病變의 損傷을 膿이 없는 狀態에서 消散시키며, 托法은 透膿法과 補托法으로 나누어서 透托의 作用을 가진 藥物을 使用해서 早速히 化膿, 消退시키거나 또는 化膿되어 있지 않은 것을 消退시키도록 하며, 補法은 補益하는 藥物을 使用하여 損을 益하고 虛를 補하여 瘡瘍의 後期에 使用한다⁸⁾.

瘡瘍에 關한 實驗的 研究로는 蔡¹¹⁾는 仙方活命飲의 消炎, 鎮痛, 解熱作用을, 安¹²⁾은 四君子湯加黃耆煎湯液의 生肌作用을, 辛¹³⁾은 十全大補湯의 生肌作用을, 姜¹⁴⁾은 托裡黃耆湯의 組織再生을 報告하고 있으나 外治을 活用하여 生肌玉紅膏의 生肌作用에 對한 實驗的 研究는 없었다.

生肌玉紅膏는 陳⁹⁾의 《外科正宗》에 처음 收載된 處方으로 癰疽瘡瘍으로 糜爛되고 腐肉이 脫落되지 않아 新肌가 難生하는 症을 治療하여 왔는데¹⁰⁾, 著者는 生肌를 촉진시키기 위해 生肌玉紅膏에 托瘡生肌, 清熱解毒, 活血透膿의 效果가 있는 黃芪, 榆根白皮, 牛膝, 穿山甲, 皂角刺를 加味하여 實驗에 使用하였다. 加味生肌玉紅膏가 組織再生에 미치는 實驗的 研究를 위해 in vitro 모델로 E coli LPS로 자극해서 人體 單核細胞의 細胞毒盛과 immunoassay를 利用한 interleukins(IL-1 β), TNF- α , prostaglandins(PGE₂)의 生成抑制 效果를 測定하였고 또한 in vivo 모델은 mouse의 組織을 利用한 創傷治愈에 對한 觀察을 한 結果有 意性 있는 成績을 얻었기에 報告하는 바이다.

II. 實驗 材料 및 方法

1. 材料

1) 人體

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

2) 動物

生後 8週齡의 mouse 18마리를 溫度 24 \pm 3 $^{\circ}$ C, 相對濕度 55 \pm 5%, 換氣回數 10-12回/hr, 照明 (07:00-19:00), 照度 150-200 lux로 設定된 動物室에서 마우스용 固形飼料(푸리나사료(주))를 自由給食시켰고, 飲水는 상수도 물을 자유롭게 攝取시켰다. 動物入收 後 약 1週日間 動物室에서 順化시

켰으며 順化期間中 一般狀態를 觀察하여 健康한 動物만을 使用하였다.

3) 材料

實驗에 使用한 藥材는 大田大學校 附屬淸州韓方病院에서 購入한 後 精選하여 使用하였고, 處方의 內容과 用量은 《外科正宗》⁹⁾에 準한 生肌玉紅膏에 黃芪, 榆根白皮, 牛膝, 穿山甲, 皂角刺를 加하고 市中에서 구하기 어려운 血竭과 水銀 成分인 輕粉을 除去하고 實驗하였다.

Prescription of Gamisangiokhonggo(GMSKONG)

韓藥名	生藥名	重量 (g)
當歸	<i>Angelicae Gigantis Radix</i>	8.00
*榆根白皮	<i>Ulmi Cortex Radicis</i>	8.00
*黃芪	<i>Astragali Radix</i>	4.00
*牛膝	<i>Achyranthis Bidentatae Radix</i>	4.00
*穿山甲	<i>Manitis Squama</i>	3.00
*皂角刺	<i>Gleditsiae Spina</i>	3.00
紫草	<i>Lithospermi Radix</i>	2.00
白芷	<i>Angelicae Dahuricae Radix</i>	2.00
Total amount		34.00

*은 加味한 藥材임

2. 方法

1) 檢液調劑

加味生肌玉紅膏를 HBSS 緩衝溶液에 溶解시켜 0.01, 0.005, 0.001, 0.0005% 濃度를 製造하여 實驗에 使用하였다.

2) 血清과 細胞分離培養

① 單核細胞의 分離培養

全身疾患이 없는 健康한 成人으로부터 枸橼산을 抗凝固劑로 使用하여 320ml의 靜脈血液을 採集하였다. 採集된 靜脈血液을 1200rpm에서 10分 동안

遠心分離한 後에 一次的으로 中層의 白血球 濃縮液을 回收하여 二次的으로 RPMI 1640 培地와 1:1의 比率로 稀釋하였다. 後에 50ml의 遠心分離管에 ficoll-paque(pharmacia biotech) 12ml를 添加한 다음 稀釋된 血液 30ml를 中層이 되도록 주의깊게 添加하여 1600rpm에서 30分 동안 遠心分離하였다.

그런 다음 血清이 包含된 上層을 除去하고 單核細胞가 含有된 中層을 주의깊게 稀釋한 다음에 3배의 RPMI 1640 培地를 添加하고 800rpm에서 10分 동안 遠心分離 시킨 다음 上騰液을 버리고 RPMI 1640 培地를 10ml 添加하고 부드럽게 pipetting 한 다음에 800rpm에서 10分 동안 遠心分離한 後에 上騰液을 버리고 RPMI 1640 培地를 添加하여 pipetting 한 後에 24-well plate에 10⁶ cell/well로 분주하고 95% 공기, 5% CO₂, 100% 濕度 條件下에서 無菌的으로 培養하였다.

② 中性白血球의 分離培養

血清이 包含된 上層液과 單核細胞 및 ficoll-paque를 除去하고 沈澱된 赤血球 및 中性白血球에 同一量의 RPMI 1640를 添加하고 PBS 緩衝液에 溶解시킨 3% dextran 20ml을 添加하여 10分 동안 常溫에서 放置시킨 後에 中性白血球가 豊富한 上騰液을 取하여 1200rpm에서 10分 동안 遠心分離 시키고 上騰液을 버린다. 남아있는 赤血球를 除去하기 위하여 먼저 0.2%의 PBS 緩衝液 10ml을 30秒 동안 處理한 後에 1.6% PBS 緩衝液을 즉시 添加하여 等張液으로 回復시킨 後에 細胞浮遊物을 1200rpm에서 10分 동안 遠心分離 시킨 後에 上騰液을 버리는 方法으로 赤血球 溶血을 한번 더 反復한 後에 RPMI 1640 培地를 添加하여 pipetting 한 後에 24-well plate에 10⁶ cell/well로 분주하고 95% 공기, 5% CO₂, 100% 濕度 條件下에서 無菌的으로 培養하였다.

③ 纖維芽細胞의 分離培養

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

3) 創傷 製作 및 塗布

加味生肌玉紅膏는 propylene glycol에 녹여서 塗布하였다. 實驗 1日 前에 mouse의 등부위의 털을 刮고 實驗日에는 6mm biopsy punch를 이용하여 좌우에 1곳씩 皮膚을 제거하고 加味生肌玉紅膏를 1日 1回씩 13日 동안 創傷部位에 塗布하였다. 實驗日 後에 經時적으로 부검을 시작하였으며 부검마다 사진 촬영을 실시하였다.

4) Cytotoxicity의 測定

生後 3日된 乳兒의 袍皮로 부터 primary culture한 纖維芽細胞 血液으로 부터 純粹分離 培養한 monocyte를 24-well plate에 10^6 cell/well 되도록 分주한 다음 10% FBS가 含有된 DEME 및 RPMI 1640 培地에서 하루 동안 培養하였다. 다음날 既存의 培地를 新鮮한 培地로 交替하여 24時間 동안 培養한 後에 HBSS 緩衝溶液으로 바닥에 붙은 細胞層을 洗滌한 다음 血清이 包含되지 않은 MEM 培地 0.9ml를 添加한 다음, 加味生肌玉紅膏를 各各 試驗濃度 $100\mu\text{l}$ 를 添加한 다음 24時間 培養한 後에 HBSS 緩衝溶液에 溶解시킨 MTT(methyl thiazol-2-yl-2, 5-diphenyl tetrazolium bromide)溶液 0.5ml을 各 well에 넣고 4時間 동안 培養한 後에 MTT 溶液을 除去하고 formazon 結晶을 溶解시키기 위하여 DMSO를 $500\mu\text{l}$ 씩 添加하였다. Plate를 잘 흔든 後에

microplate reader로 570nm에서 吸光度를 測定하였다. 對照群으로는 매번 實驗 時에 實驗溶液이 들어있지 않은 MEM 培養液 well을 使用하였다. 모든 實驗結果는 對照群에 對한 百分率로 計算하였다.

5) prostaglandins(PGE₂)의 生成測定

血液에서 分離한 血液 單核白血球를 24-Well plate에 0.8ml 添加하여 10^6 cell/well 되도록 分주하고 RPMI 1640培地 $200\mu\text{l}$ 를 添加한 Well을 對照群, P. acnes LPS(250 ppm) $100\mu\text{l}$ 를 添加한 Well 및 LPS(250 ppm) $100\mu\text{l}$ 와 Indomethacin, LPS(250 ppm) $100\mu\text{l}$ 와 加味生肌玉紅膏(EtOH로 추출한 0.01, 0.001과 MeOH로 추출한 0.01, 0.001, 0.0001%) $100\mu\text{l}$ 를 添加한 Well을 實驗群으로 하여 18時間 동안 培養하였고 또 Arachidonic acid $50\mu\text{l}$ 를 添加하여 30分 동안 더 培養하였다. 염소의 抗-마우스 IgG를 附着시킨 96-Well plate의 Blank well에 $50\mu\text{l}$ 緩衝溶液(0.9% NaCl, 0.1% 소혈청 알부민, 0.5% Kathon을 含有하는 0.1M 인산완충용액)을 添加하고, 標準(0, 1, 2, 4, 8, 16, 32pg/well) Well에는 $50\mu\text{l}$ 의 適當濃度の 標準溶液을 添加하였다. 實驗群 Well에 上記의 細胞培養液 $50\mu\text{l}$ 添加하고, Blank well을 除外한 모든 Well에 $50\mu\text{l}$ 의 PGE₂에 對한 抗體를 添加한 다음 4℃에서 3時間 동안 維持시킨 후 繼續해서 $50\mu\text{l}$ 의 PGE₂ Conjugate Peroxidase를 Blank well을 除外한 모든 Well에 添加하여 다시 4℃에서 1時間 동안 維持시킨 후 洗滌緩衝溶液(0.05% 트윈 20을 含有하는 인산완충용액: pH7.5)로 4번 洗滌하고 常溫에서 $150\mu\text{l}$ 의 酵素基質(20%의 디메틸포르마이드에 溶解된 3, 3', 5, 5'-테트라메틸벤지딘/과산화수소)를 즉시 添加하고 25℃에서 30分 동안 維持시키고 1M 황산 $100\mu\text{l}$ 를 添加한 後 microplate reader로 450nm에서 吸光度를 測定하여 標示하였다.

6) Interleukins(IL-1 β)의 生成測定

血液에서 分離한 血液 單核白血球를 24-well plate에 0.8ml 添加하여 10⁶cell/well 되도록 분주하고 RPMI 1640 培地 200 μ l를 添加한 well을 對照群, E. coli LPS(250 ppm) 100 μ l를 添加한 well 및 LPS(250 ppm) 100 μ l와 Dexamethasone, LPS(250ppm) 100 μ l와 加味生肌玉紅膏 100 μ l를 添加한 well을 實驗群으로 하여 24時間 동안 培養한 後, arachidonic acid 50 μ l를 添加하여 30分 동안 더 培養하였다. Interleukins(IL-1 β)의 抗體가 附着된 96-well plate의 well에 標準溶液(0, 10.24, 25.6, 64, 160, 400pg/well)을 50 μ l 添加한 다음 實驗群 well에 上記의 細胞 培養液 50 μ l 添加하고, 모든 well에 50 μ l의 biotinylated antibody reagent 를 添加한 다음 25 $^{\circ}$ C에서 3時間 동안 維持시킨 後 洗滌緩衝溶液으로 3回 洗滌하고, streptavidin-HRP conjugate를 모든 well에 添加하여 다시 25 $^{\circ}$ C에서 30分 동안 維持시킨 後 다시 洗滌緩衝溶液으로 3번 洗滌하고 100 μ l의 酵素機質을 즉시 添加하고 25 $^{\circ}$ C 暗室에서 plate의 뚜껑을 열어둔 채로 30分 동안 維持시키고 0.18M 황산 100 μ l를 添加한 後 microplate reader로 450nm에서 吸光度를 測定하여 標準溶液의 吸光度 값으로 standard curve 를 作成하여 實驗群의 interleukins(IL-1 β) 生成量을 算定하였다.

7) TNF- α 生成에 미치는 影響

血液에서 分離한 血液 單核 白血球를 24-Well plate에 0.8ml 添加하여 10⁶cell/well 되도록 분주하고 RPMI 1640 培地 200 μ l를 添加한 Well을 對照群, E. coli LPS(250 ppm) 100 μ l를 添加한 Well 및 LPS(250 ppm) 100 μ l와 dexamethasone, LPS(250 ppm) 100 μ l와 加味生肌玉紅膏(0.01, 0.005, 0.001, 0.0005%) 100 μ l를 添加한 Well을 實驗群으로하여 18時間 동안 培養한 後 TNF- α 의 抗體가 附着된 96-Well plate의 Well에, 標準溶液

(0, 10.24, 25.6, 64, 160, 400pg/well)을 50 μ l 添加한 다음, 實驗群 Well에 上記의 細胞培養液 50 μ l 添加하고, 모든 Well에 50 μ l의 Biotinylated Antibody Reagent를 添加한 다음 25 $^{\circ}$ C에서 2時間 동안 維持시킨 後 洗滌緩衝溶液으로 3回 洗滌하고, Streptavidin-HRP Conjugate를 모든 Well에 添加하여 다시 25 $^{\circ}$ C에서 30分 동안 維持시킨 後 다시 洗滌緩衝溶液으로 3번 洗滌하고 100 μ l의 酵素機質을 즉시 添加하고 25 $^{\circ}$ C의 暗室에서 plate의 뚜껑을 열어둔 채로 30分 동안 維持시키고 0.18M 황산 100 μ l를 添加한 後 microplate reader로 450 nm에서 吸光度를 測定하여 標準溶液의 吸光度 값으로 Standard Curve를 作成하여 實驗群의 TNF- α 의 生成量을 算定하였다.

III. 實驗成績

1. Human monocyte에 對한 Cytotoxicity

0.01, 0.005, 0.001, 0.0005%의 濃度로 24時間 동안 處理한 結果, MTT의 환원에 의한 optical density의 증가로 세포독성의 유무를 精確하게 판단하기는 어려웠으나, Trypan Blue염색에 의한 세포의 생존유무를 관찰한 結果 positive control인 Dexamethasone의 전 濃도에서는 세포독성이 없었으나 加味生肌玉紅膏는 0.001, 0.0005%의 濃度에서만 細胞毒性이 없는 것으로 나타났다(Table I).

2. Human monocyte의 interleukins(IL-1 β) 生成에 미치는 影響

E. coli LPS로 刺戟한 human monocyte의 interleukins(IL-1 β) 生成에 對한 加味生肌玉紅膏의 效能을 試驗한 結果, 특히 0.01, 0.005의 濃度에

서는 E. coli LPS로 刺戟한 對照群 및 positive control인 Dexamethasone 보다도 탁월한 抑制效果가 있었으나 0.001%, 0.0005% 濃度에서는 抑制效果가 없는 것으로 나타났다(Table II).

Table I. The effect of GMSKOHG on the cell cytotoxicity

Treatment Group	Mean O.D	S.D
Control	0.638	0.07
LPS	0.553	0.00
DEX 0.01	0.650	0.05
DEX 0.005	0.670	0.02
DEX 0.001	0.645	0.02
DEX 0.0005	0.659	0.00
GMSKOHG 0.01	0.280	0.02
GMSKOHG 0.005	0.193	0.01
GMSKOHG 0.001	0.694	0.05
GMSKOHG 0.0005	0.718	0.00

* GMSKOHG : Gamisangiokhonggo

Table II. The effect of GMSKOHG on interleukins of human monocyte stimulated with E. coli LPS

Treatment Group	Mean O.D	S.D	IL-1 β (pg)
Control	0.563	0.027	230.333
LPS	2.820	0.208	1170.750
DEX 0.01	2.812	0.124	1167.417
DEX 0.005	2.621	0.053	1087.625
DEX 0.001	2.725	0.055	1131.167
DEX 0.0005	2.807	0.069	1165.125
GMSKOHG 0.01	0.058	0.005	19.708
GMSKOHG 0.005	0.106	0.012	39.708
GMSKOHG 0.001	1.682	0.138	696.375
GMSKOHG 0.0005	3.046	0.009	1264.708

DEX의 경우는 시료를 DMSO용액에 녹여 실험에 사용하였기 때문에 Data sheet내의 값은 control에 동량의 DMSO를 처리한 시료값과 비

교하여 환산한 수치이며 GMSKOHG는 모두 배지에 녹여 실험에 사용하였다.

O.D. value는 LPS + DMSO: 3.4-3.6

CTL + DMSO: 2.1

3. Human monocyte의 TNF- α 生成에 미치는 影響

E. Coli LPS로 刺戟한 human monocyte의 TNF- α 의 生成에 대한 加味生肌玉紅膏의 效能을 試驗한 結果, 0.001% 濃度에서만 抑制效果가 있었다(Table III).

Table III. The effect of GMSKOHG on TNF- α of human monocyte stimulated with E.Coli.

Treatment Group	Mean O.D	S.D	TNF α (pg/ml)
Control	0.092	0.006	1146.143
LPS	1.4805	0.042	1972.571
DEX 0.01	1.202	0.024	1574.714
DEX 0.005	1.2385	0.008	1626.857
DEX 0.001	1.337	0.031	1767.571
DEX 0.0005	1.347	0.041	1781.857
GMSKOHG 0.01	0.0475	0.005	1990.573
GMSKOHG 0.005	0.0655	0.004	1998.879
GMSKOHG 0.001	1.2545	0.032	1649.714
GMSKOHG 0.0005	1.486	0.027	1980.429

4. Prostaglandins(PGE₂) 生成에 미치는 影響

E. coli LPS로 刺戟한 human monocyte의

prostaglandins(PGE₂)의 生成에 對한 加味生肌玉紅膏의 效能을 試驗한 結果, 0.01%(MeOH 및 EtOH)濃度에서는 positive control로 항염염제인 ktorolac의 0.0001% 濃度和 비슷한 生成抑制 效果가 있었다(Fig. I).

5. Mouse의 瘡瘍治癒에 미치는 影響

損傷된 後에 초기의 變化는 traumatic epidermal necrosis와 seropurulent exudates가 관찰되고 진피층에서 피하층까지는 collagen fiber의 괴사와

용해가 보였다. 손상부의 주변에서는 표피층에서 acanthosis와 세포내외의 edema가 관찰되었고 진피층과 피하층에서 육아조직의 발달이 관찰되었다. 육아조직에서는 혈관의 수직적 증식과 섬유아세포의 증식, 소수에서 중등도의 림파구 침윤이 관찰되어서 표피에 기계적 손상을 준 후에 약물을 처치한 군이나 자연치유된 경우나 병변의 경과는 거의 비슷하였다(Table IV), (Table V), (Table VI), (Table VII), (Fig.II), (Fig.III).

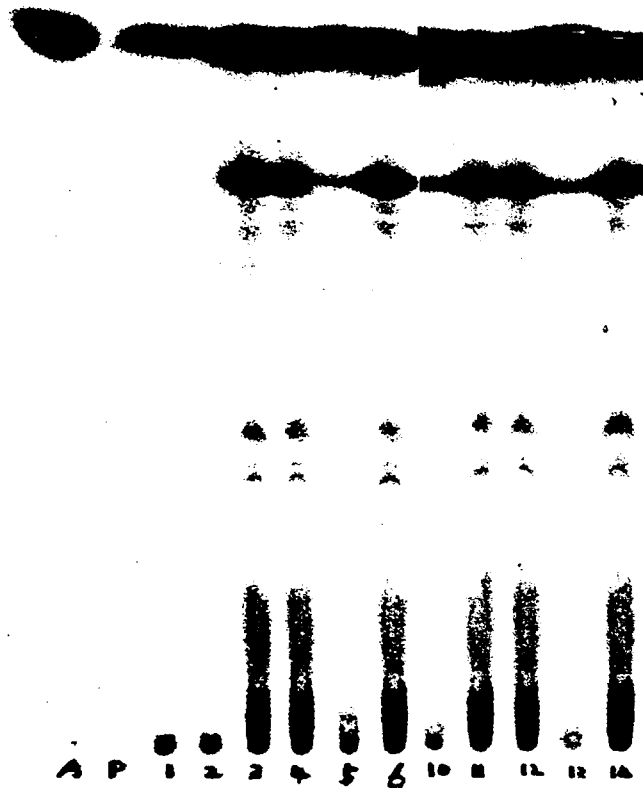


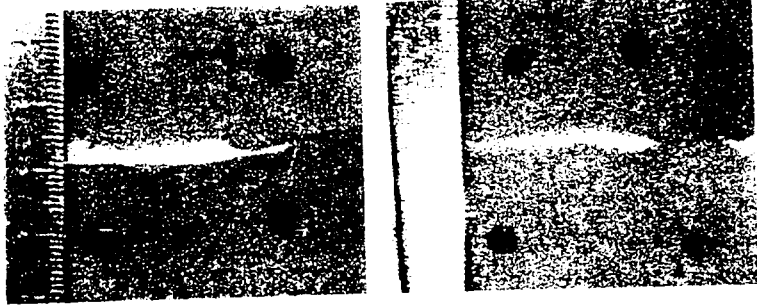
Fig. I .

A :-Arachidonic acid를 첨가하여 배양한 상태. P : pgd. 3,4 : LPS.
 1,2 : Control. 5 : Ktorolac製劑 0.0001%. 6 : Ktorolac製劑 0.00001%.
 10 : GMSKOHG(MeOH) 0.01%. 11 : GMSKOHG(MeOH) 0.001%.
 12 : GMSKOHG(MeOH) 0.0001.% 13 : GMSKOHG(EtOH) 0.01%.
 14 : GMSKOHG(EtOH) 0.001%.

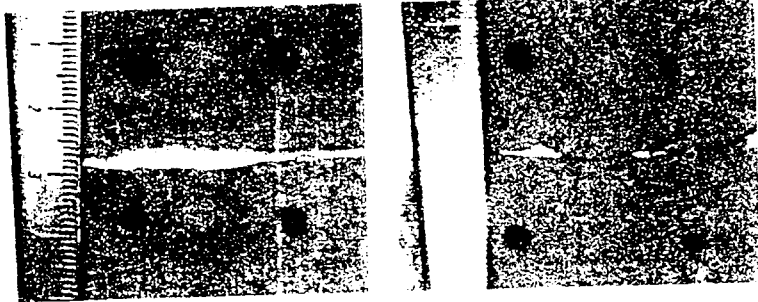
99년 1월29일(3일째)

99년 2월 1일(6일째)

GMSKOHG
30%濃度



GMSKOHG
15%濃度



GMSKOHG
0%濃度

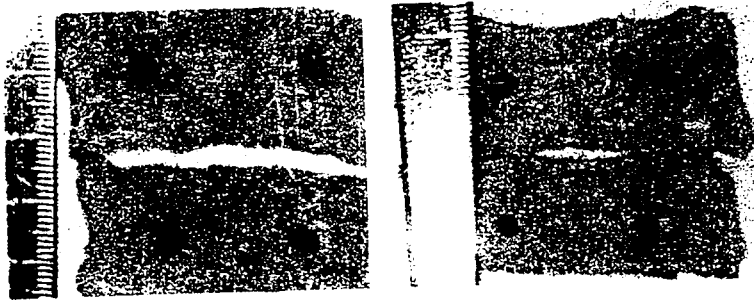
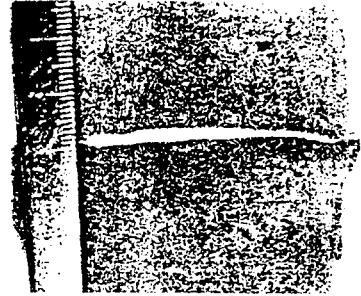
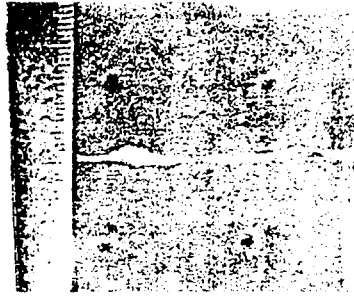


Fig. II.

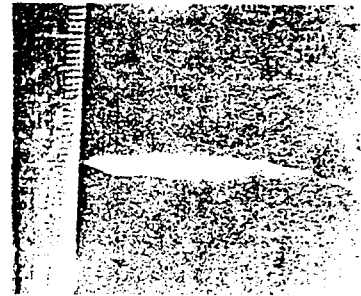
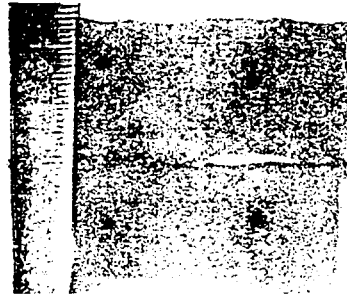
99년 2월 4일(9일째)

99년 2월 8일(13일째)

GMSKOHG
30%濃度



GMSKOHG
15%濃度



GMSKOHG
0%濃度

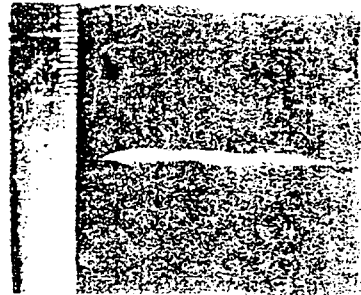
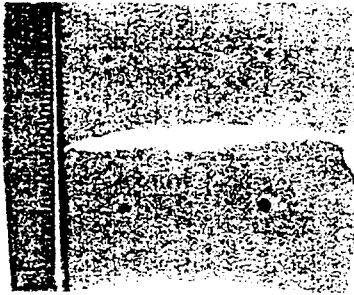


Fig. III.

Epidermal Changes	GMSKOHG 30%-3일째		GMSKOHG 15%-3일째		GMSKOHG 0%-3일째	
Epidermal Hyperplasia(Acanthosis)						
Irregular E.H.	3	3	2	2		
Regular E.H.						
Parakeratotic Hyperkeratosis						
Dyskeratosis	3	3	1	1	2	2
Epidermal Edema						
Spongiosis	3	3	3	3	2	2
Epidermal intracellular edema	3	3	4	4	3	3
Microvesicles, Vesicles, Bullae						
Crust						
Seropurulent exudates	5	5	5	5		
Exocytosis			2	2		
Epidermal Necrosis						
Traumatic E.N.	5	5	4	5	5	5
Satellitosis						
Dermal changes						
Hemorrhage	2	0	2	2	3	3
Increase in Collagen						
Granulation Tissue	5	5		3	2	2
Fibrosis						
Dermal Infiltration						
Brown Granules						
Granuloma			1			
Lipid Deposit				1		
Lymphocytes	2	2	5	5		
Neutrophils	4	4	4	4	5	5
Degenerative Changes in Collagen						
Collagen Degeneration & Lysis			5	4	5	5
Mineralization of collagen					5	2
Foamy macrophage					2	2
Fibrosis						
Lymphocytes						
Neutrophils					4	4
Necrosis					5	5

Table IV.

Epidermal Changes	GMSKOHG 30%-6일째		GMSKOHG 15%-6일째		GMSKOHG 0%-6일째	
Epidermal Hyperplasia(Acanthosis)						
Irregular E.H.	2	2	1	3	2	2
Regular E.H.						
Parakeratotic Hyperkeratosis						
Dyskeratosis	3	1			1	0
Epidermal Edema						
Spongiosis	3	3	2	3	3	3
Epidermal intracellular edema	2	2	0	4	3	3
Microvesicles, Vesicles, Bullae	0	2				
Crust						
Seropurulent exudates	5	5	5	5	5	5
Exocytosis						
Epidermal Necrosis						
Traumatic E.N.	0	5	0	4	0	5
Satellitosis						
Dermal changes						
Hemorrhage	2	2	2	3	3	0
Increase in Collagen						
Granulation Tissue	5	5	4	4	5	5
Fibrosis	0	4	3	0		
Dermal Infiltration						
Brown Granules						
Granuloma	5	5				
Lipid Deposit			4	1	0	3
Lymphocytes	2	3	3	4	4	3
Neutrophils	1	1	2	2		
Degenerative Changes in Collagen						
Collagen Degeneration & Lysis						
Mineralization of collagen						
Foamy macrophage					0	2
Fibrosis	5	5	4	0	5	0
Lymphocytes			0	2	3	0
Neutrophils						
Necrosis			0	2		

Table V.

Epidermal Changes	GMSKOHG 30%-9일째		GMSKOHG 15%-9일째		GMSKOHG 0%-9일째	
Epidermal Hyperplasia(Acanthosis)						
Irregular E.H.	2	2	3	4	0	3
Regular E.H.					3	0
Parakeratotic Hyperkeratosis			2	1		
Dyskeratosis	2	1				
Epidermal Edema						
Spongiosis	3	3	3	2	0	3
Epidermal intracellular edema	3	3				
Microvesicles, Vesicles, Bullae						
Crust						
Seropurulent exudates	5	5	5	0	0	5
Exocytosis						
Epidermal Necrosis						
Traumatic E.N.	0	5			0	4
Satellitosis						
Dermal changes						
Hemorrhage	0	2	2	2		
Increase in Collagen						
Granulation Tissue	5	5	5	5	0	4
Fibrosis	3	4	2	0	5	0
Dermal Infiltration						
Brown Granules	0	4	4	0		
Granuloma	5	5				
Lipid Deposit			4	0	3	5
Lymphocytes	3	3	2	4	2	3
Neutrophils	2	3	1	4		
Degenerative Changes in Collagen						
Collagen Degeneration & Lysis						
Mineralization of collagen	5	0				
Foamy macrophage						
Fibrosis	5	5	5	2	5	5
Lymphocytes			1	1	0	1
Neutrophils						
Necrosis						

Table VI.

Epidermal Changes	GMSKOHG 30%-13일째		GMSKOHG 15%-13일째		GMSKOHG 0%-13일째	
Epidermal Hyperplasia(Acanthosis)						
Irregular E.H.	2	1	3	2	3	0
Regular E.H.						
Parakeratotic Hyperkeratosis						
Dyskeratosis						
Epidermal Edema						
Spongiosis			2	2		
Epidermal intracellular edema	0	1	0	2		
Microvesicles, Vesicles, Bullae						
Crust						
Seropurulent exudates					1	0
Exocytosis			2	2		
Epidermal Necrosis						
Traumatic E.N.						
Satellitosis			0	1		
Dermal changes						
Hemorrhage						
Increase in Collagen						
Granulation Tissue	0	2			0	3
Fibrosis	5	5	5	5	5	4
Dermal Infiltration						
Brown Granules	4	4	2	3	0	5
Granuloma	2	5				
Lipid Deposit			5	5		
Lymphocytes	4	4	2	2	3	4
Neutrophils					0	2
Degenerative Changes in Collagen						
Collagen Degeneration & Lysis						
Mineralization of collagen						
Foamy macrophage						
Fibrosis	5	5	5	5	5	4
Lymphocytes	0	2	1	2	0	2
Neutrophils						
Necrosis						

Table VII.

IV. 考 察

瘡瘍의 病因에 對하여 《黃帝內經》 〈靈樞·癰疽篇〉¹¹⁾에서는 運氣學的으로 歲木不及으로 炎暑流火할 때, 歲水不及으로 司天에 熱氣가 下臨할 때 發生되며 또는 寒邪가 經絡 內에 侵犯하면 血泣이 되고 血泣이 不通되면 衛氣가 循環하지 않으므로 腫이 發生하고 寒氣가 熱로 變하여 熱이 많으면 肉이 腐蝕되어 膿이 形成한다 하였고, 華¹⁵⁾는 榮衛 壅塞으로 發病하나 五臟六腑의 蓄毒이 原因이 된다 하였으며, 王等¹⁶⁻¹⁷⁾은 虛邪가 犯하거나 榮衛가 經脈에 停留되거나 喜怒가 不寤하거나 飲食不節, 五臟六腑不和, 九竅不通 등으로 發生된다 하였다. 또한 陳¹⁸⁾은 外因은 六淫으로 經絡에서 나타나 臟腑로 傳해지고, 內因은 七情鬱結이 나타나 臟腑에 發生되어 肢體로 나타나고, 不內外因은 飲食飢飽, 呼吸傷氣, 虎狼毒蟲, 金瘡 등에 나타나 三因이 形成된다 하였으며, 嚴¹⁹⁾은 五臟六腑의 不和와 陰陽相滯를 原因으로 보았고, 危²⁰⁾는 冷熱不調, 喜怒不常, 飲食不節, 張²¹⁾은 心火上炎, 陳⁹⁾은 七情, 六淫, 六慾, 膏粱厚味, 勞傷, 五臟六腑九竅不通 등에 依해 發生된다고 하였다.

瘡瘍의 治療法에 對하여 陳⁹⁾을 代表로 하는 正宗派는 그 特徵이 消, 托, 補의 三法으로 腫瘍을 治療할 것을 主張하였는데 腫瘍의 初期에는 消法인 汗, 下, 溫, 清, 行, 氣, 和, 營 등의 方法을 爲主로 하며, 腫瘍의 後期와 潰瘍早期에는 托法인 扶正托毒, 透膿托毒, 排膿托毒 등의 方法을 爲主로 하고 潰瘍의 後期에는 補法인 補氣血, 調脾胃, 益肝腎 등의 方法을 爲主로 한다 하였다.

膏藥은 瘡瘍과 皮膚病에 常用하는 劑型으로 孫²²⁾은 薄貼이라 했고 清代부터는 膏藥으로 表現했다²³⁾. 膏劑에는 內服用과 外用の 두가지가 있는데 內服 膏劑는 主로 慢性疾患에 使用하며, 外用膏劑는 藥物을 極히 微細한 粉末로 갈고 油類를 加해

調製하거나 油類와 같이 煎熟해서 만들며 軟膏라 俗稱하며 油膏는 羊脂, 猪脂, 香油 或은 豆油 및 黃白蠟, 巴世린을 써서 調製하는데 主로 腫瘍에 對하여 消腫止痛, 潰瘍에는 去腐, 生肌, 收口作用이 있다 하였다²⁴⁻²⁶⁾.

生肌玉紅膏는 明代 陳⁹⁾의 《外科正宗》 腫瘍主治方에 癰疽, 發背, 諸般潰爛, 棒毒 등의 瘡瘍이 이미 潰爛되어 膿이 흐르는 것을 治療하며 白芷, 當歸, 紫草, 甘草를 麻油에 3日 담그고 끓여서 찌꺼기를 버리고 白蜡를 넣어 녹인 後에 血竭과 輕粉을 넣어서 膏를 만들어 患部에 敷貼하라 하였다⁹⁻¹⁰⁾. 그러나 本 研究에서는 消炎과 排膿作用이 報告된 榆根白皮와 皂角刺, 穿山甲을 加하고 血竭과 輕粉을 除去하고 實驗에 使用하였다. 抗炎實驗은 HBSS 緩衝液에 溶解시켜서, 再生實驗은 propylene glycol에 녹여서 塗布하였다.

加味生肌玉紅膏를 構成하는 個別藥材의 效能을 보면 當歸는 補血和血, 調經止痛, 潤燥滑腸의 效能이 있고 榆根白皮는 利水消腫, 清胃熱의 效能이 있으며, 黃芪는 益氣固表, 利水消腫, 托毒生肌의 效能이 있고 牛膝은 散瘀血, 消癰腫, 補肝腎, 強筋骨의 效能이 있으며, 穿山甲은 活血通經, 下乳, 消腫排膿의 效能이 있고 消腫排膿, 祛風殺蟲의 效能이 있으며, 皂角刺는 潰散癰疽, 殺蟲등의 效能이 있어 癰疽가 未潰한 경우에 使用하며, 白芷는 活血排膿, 散種, 生肌止痛하는 效能이 있어 癰疽瘡瘍에 使用하며, 紫草는 涼血活血, 解毒透疹하는 效能이 있어 惡瘡를 治療하고 血脈을 通하게 하여 生肌를 促進시키는데 活用하였다²⁷⁻²⁸⁾.

瘡瘍의 治癒는 有害物質로 부터 身體를 保護하기 위한 作用으로서 瘡瘍이 생긴 직후부터 治癒過程에 들어가서 一定期間이 지나면 瘡瘍治癒가 完了된다. 그러나 瘡瘍治癒는 瘡瘍內의 感染, 異物質의 存在, 局所血液 供給障礙 등 局所的인 因子에 의해 瘡瘍의 治癒가 遲延될 수 있고 全身的인 因子, 즉 蛋白質 缺乏, 糖尿病, 白血球 減少症, 비타

민 C 缺乏症 및 全身的인 免疫障礙 등이 있는 경우에도 瘡瘍의 治癒가 늦어진다고 알려져 있다²⁹⁾. 그러나 瘡瘍 治癒가 늦어진 경우에는 瘡瘍感染의 위험도가 增加하고 瘡瘍이후 斑痕이 과다하게 남게 되기도 한다. 따라서 瘡瘍治癒의 遲延을 防止하고 더 나아가서 瘡瘍治癒 速度를 빠르게 하기 위하여 여러 方法들이 利用되고 있으며 또 이에 대한 研究도 활발히 進行되고 있으나³⁰⁻³⁵⁾, 이들 大部分의 研究는 正常的인 狀態의 動物에서 이루어지고 있으며 일부에서 糖尿病³⁶⁾, 老化³⁷⁾ 等 瘡瘍治癒 遲延을 일으키는 狀態를 야기한다.

損傷받은 組織의 治癒過程은 損傷直後 即時 始作하여 損傷받은 組織을 健康한 다른 細胞들이 代替되어 收復되는 것이다. 收復의 過程은 大概是 結合組織의 斑痕을 隨伴하므로 이러한 收復過程이 組織의 缺損을 채우면서 形態學的 連續性을 喪失하게도 된다. 그러므로 組織의 收復過程上에 斑痕을 많이 남기지 않고 原狀態로 回復하는 것은 治療의 過程에서 중요한 課題이다. 그러나 大部分의 身體損傷의 收復은 實質細胞의 再生과 함께 結合組織에 의한 多少의 斑痕을 남기게 된다³⁶⁻⁴²⁾. 어느 組織의 損傷이던간에 收復過程의 質과 適當함을 決定하는 要因은 損傷된 細胞의 再生力, 損傷程度 및 間質結合組織의 增殖力에 依存하게 되는데 損傷으로 인한 組織骨格의 破壞與否가 實質細胞의 再生에 중요하므로 損傷程度가 問題가 되며 實質細胞의 再生이 中止된 後에 남게되는 組織缺損의 部位는 結合組織으로 채워지기 때문에 間質結合組織의 增殖力도 決定要因으로 作用한다.

이러한 收復의 過程에서 關與하는 여러 가지의 機轉은 서로 複雜하게 作用한다. 實質細胞, 纖維母細胞, 血管 等 細胞增殖의 調節, 膠原質化와 瘡瘍의 장력 획득에도 여러 가지 機轉이 關與한다⁴³⁻⁴⁸⁾.

炎症 및 免疫反應 誘發物質의 生産 抑制을 위하여 過去에는 steroid性 抗炎症劑를 使用한 結果 많은 副作用이 誘發되어 最近에는 steroid性 抗炎症

劑가 廣範圍하게 使用되고 있다. 이러한 steroid性 抗炎症劑는 主로 纖維芽細胞 및 單核細胞와 多型核 白血球의 cyclo-oxygenase 酵素에 의하여 合成되는 prostaglandins(PGE₂)의 生産을 抑制하는데 基本을 두고 있다⁴⁹⁻⁵²⁾. 그리고 最近의 研究에서는 prostaglandins(PGE₂)의 生産이 細菌의 內毒素인 lipopolysaccharide에 의하여 誘發되는 interleukins(IL-1 β)에 의하여 刺戟되는 것이 알려져 interleukins(IL-1 β)의 細胞生産을 抑制하는 研究가 활발히 進行되고 있다⁵³⁻⁵⁵⁾. 그리고 prostaglandins(PGE₂)는 大食細胞와 多型核 白血球를 刺戟하여 結合組織의 基質인 collagen 蛋白質을 分解시키는 collagenase의 合成을 誘發시켜 結合組織을 破壞시킨다⁵⁶⁻⁵⁷⁾. E. coli LPS로 刺戟한 human monocyte의 prostaglandins(PGE₂)의 生成에 對한 加味生肌玉紅膏의 效能은 0.01%(MeOH 및 EtOH)濃度에서 生成抑制 效果가 있었다(Fig. I).

Cytokines의 一種인 interleukins(IL-1 β)는 炎症部位의 細胞를 많이 모이게 하며 prostaglandins(PGE₂)의 生成을 刺戟하는 것으로 알려져 있어 炎症에 關與하는 중요한 cytokine으로 最近에 interleukins(IL-1 β)의 生成을 抑制하는 新規 藥效劑의 開發에 對한 研究가 활발히 進行되고 있으며⁵³⁻⁵⁵⁾, 生藥製劑 중에서는 天門冬, 五苓子, 五倍子 및 大棗 抽出物이 炎症의 媒介物質인 cytokine의 生成 抑制에 效果가 있다고 報告된 바 있다⁵⁸⁾. E. coli LPS로 刺戟한 human monocyte의 interleukins(IL-1 β) 生成에 對한 加味生肌玉紅膏의 效能은 0.01, 0.005의 濃도에서는 生成抑制 效果가 뚜렷하였으나 0.001%, 0.0005% 濃度에서는 效果가 없는 것으로 나타났다(Table II).

TNF- α 의 이름은 初期에 그람음성세균의 내독소 刺戟에 의해 動物血漿에 生成된 癌細胞 壞死成分에서 起因한 것으로 細菌感染에 대해 가장 중요한 生體反應의 하나이다. 主된 TNF Source는

내독소에 의해 刺戟받은 單核細胞(Mononuclear phagocytes)로 T細胞에 起因한 IFN- γ 에 의해 合成이 促進된다. 이 分子가 合成時 初起에는 糖類가 붙지 않은 25KD 크기의 細胞膜 蛋白質으로 合成되나 그후 카르복실기 末端을 包含한 17KD 크기의 破片으로 分離되어 細胞外로 分泌된다. 分泌後 同一한 17KD 分子 3개가 모여 매우 安定한 51KD 크기로 循環하게 된다. TNF에 대한 細胞反應은 이들 Trimer가 수용체(각 55, 75KD)에 붙으므로서 출발하는데 이때 親和도는 相對的으로 매우 낮은 편(KD가 $1 \times 10^{-9}M$, $5 \times 10^{-9}M$ 각각)이나 많은 양이 生成되므로 수용체가 곧 飽和된다. TNF의 生理學的 效果는 주로 NF- κB 나 AP-1이라는 Transcription factor의 合成 增加에 의한 타겟 Genes 發顯調節에 起因한다. TNF의 效果는 生成量에 따라서 달라지는데 $10^{-9}M$ 以下の 低濃度에서는 첫째로 血管의 內皮細胞로 하여금 새로운 Surface receptors(Adhesion molecules)를 發顯케 하여 炎症部位에 Neutrophil, Monocytes 및 Lymphocyte와 같은 白血球가 炎症部位에 모이도록 한다. 둘째로 Neutrophil, Eosinophils 및 Monocytes가 細菌을 죽일 수 있도록 活性化시킨다. 셋째로 IL-1, IL-6, TNF자체 및 Chemokines의 生成을 刺戟한다. 넷째로 Virus로 부터 保護하는 Interferone의 生成을 刺戟하고 Class I MHC의 發顯을 增大시켜 Virus로 感染된 細胞를 融解시키도록 도와준다. E. Coli LPS로 刺戟한 human monocyte의 TNF- α 의 生成에 대한 加味生肌玉紅膏의 效能은 0.001% 濃度에서만 抑制效果가 있었다(Table III). 以上の 結果 加味生肌玉紅膏는 여러 가지 化學因子가 放出되어서 血管擴張이나 液性滲出이 일어나는 炎症 I 期과 염증의 原因물질이나 파괴된 조직 등을 제거하기 위해 白血球가 血管外部로 滲出되고 免疫系가 활동하기 시작하는 炎症 II 期에 效果가 있는 것으로 思料된다.

損傷받은 組織의 治癒過程인 組織再生에서는 表

皮에 기계적인 損傷을 준 後에 藥物을 處置한 實驗群이나 自然治癒된 對照群이나 病變의 經過는 거의 類似하여藥物의 처치에 의하여 病變이 好轉된 증거는 찾아보기 힘들었다(Table IV-VII, Fig. II-III).

以上の 結果로 加味生肌玉紅膏는 起炎物質이나 炎症으로 傷害를 입은 組織을 體外로 排出하기 위해 纖維芽細胞의 增殖이 시작되고 또 肉芽도 增殖하여 炎症의 局所가 漸次的으로 收復되는 炎症 III 期 나 炎症 IV 期에는 效果가 없는 것으로 나타났다. 그러나 최종사진을 육안으로 관찰할 경우에는 組織再生의 末期에서 治癒가 對照群보다 좀 더 깨끗이 收復되는 것으로 보아서 만약 濃度에 變化를 주거나 長期間 投與 및 塗布할 경우에는 精確한 有意性을 추측할 수는 없지만 일정한 效果가 있을 것으로 생각되며, 向後 韓方 外用治療劑에 대한 폭넓은 實驗的 研究가 進行되어야 할 것으로 思料된다.

V. 結 論

加味生肌玉紅膏가 生肌에 미치는 研究를 위하여 細胞毒性, interleukins(IL- 1β), TNF- α 및 prostaglandins(PGE $_2$)의 生成 抑制效果, mouse의 組織觀察을 實施한 結果 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. Human monocyte에 對한 細胞毒性에서는 0.001, 0.0005%의 濃度에서만 毒性이 없었다.

2. Human monocyte의 interleukins(IL- 1β) 生成에 對해서 0.01, 0.005%의 濃度에서는 탁월한 抑制效果가 있었으나 0.001%, 0.0005% 濃度에서는

抑制效果가 없었다.

3. Human monocyte의 TNF- α 의 生成에 對해서는 0.001% 濃度에서만 抑制效果가 있었다.

4. Human monocyte의 prostaglandins(PGE₂)의 生成에 對해서는 0.01%(MeOH 및 EtOH)濃度에서 生成抑制 效果가 있었다.

5. 動物組織의 組織再生에 對해서는 有意性이 없었다.

參考文獻

1. 楊維傑: 黃帝內經譯解, 서울, 成輔社, p.147, 210, 299, 349, 456, 1977.
2. 原安徽中醫學院編: 中醫臨床手冊, 서울, 成輔社, p.366, 1983.
3. 柳完素: 河間三六書, 서울, 成輔社, p.82, 1976.
4. 高秉鈞: 傷科心得集, 臺北, 旋風出版社, pp. 1-3, 1976.
5. 顧世登: 瘍醫大全, 서울, 太醫社, pp.158-187, 1975.
6. 慶北醫大病理學教室編: 病理學, 서울, 高文社, pp.13-14, 1986.
7. 蔡仁植 외: 韓方醫學用語辭典, 서울, 癸丑文化社, p.1048, 1983.
8. 柳志允: 外科, 皮膚科의 辨證論治, 서울, 書苑堂, p.35, 1987.
9. 陳實功: 外科正宗, 天津, 天津科學技術出版社, p.47, 1993.
10. 江克明: 簡明方劑辭典, 上海, 上海科學技術出版社, p.305, 1983.
11. 蔡炳允: 癰疽에 適用되는 仙方活命飲의 消炎, 鎮痛, 解熱作用에 關한 研究, 慶熙大學校論文集, Vol.3,67-90, 1980.
12. 安秀賢: 四君子湯, 四君子湯加黃耆가 生肌作用에 미치는 影響, 圓光大學校 大學院, 1990.
13. 辛美香: 十全大補湯이 生肌作用에 미치는 影響, 大田大學校 大學院, 1993.
14. 姜承遠: 托裡黃耆湯이 炎症細胞 및 組織再生에 미치는 影響, 大田大學校 大學院, 1993.
15. 華 陀: 中藏經, 서울, 三醫堂, p.5, 1977.
16. 王 焘: 外臺秘要, 서울, 成輔社, pp.625-631, 1975.
17. 薛 己: 薛己醫案(醫部全錄), 서울, 成輔社, pp.349-355, 1976.
18. 陳 言: 三因方, 서울, 翰成社, p.325, 1977.
19. 嚴用和: 濟生方, 서울, 東洋醫藥大學, pp. 61-68, 1965.
20. 危亦林: 得效方, 서울, 東洋醫藥大學, p.6130, 1965.
21. 張從政: 儒門事親, 서울, 慶熙大學校 韓醫學部, p.115, 1975.
22. 遜思邈: 慇懃千金要方, 香港商務印書館, p.151, 1974.
23. 徐靈胎: 徐靈胎先生醫書全集, 서울, 翰成社, pp. 91-92, 1980.
24. 康舜洙 外: 方劑學, 서울, 癸丑文化社, p.29, 1984.
25. 辛民教: 本草維新, 서울, 慶苑文化社, pp.39, 233, 345-346, 593, 1979.
26. 辛民教: 臨床本草學, 서울, 南山堂, pp.97-98, 221-223, 236-237, 301, 1986.
27. 李暎鍾 외: 本草學, 서울, 永林社, p.196, pp.427-428, p.440, 534, 578, 1994.
28. 리명영 외: 東醫學辭典, 서울, 驪江出版社, p.176, 1989.
29. Contran RS, Kumar VK, Robbins SL :

- Robbins pathologic basis of disease, 4th ed, WB Saunders Company. p.74, 1989.
30. Leibovich SJ, Danon D : Promotion of wound repair in mice by dapplication dof glucan. J. Reticuloendothelial Society. 27:1, 1980.
 31. Buntrock P, Jentzsch KD, Heder G : Stimulation of wound healing, using brain extract with fibroblast growth (FGF) activity, I. Quantitative and biochemical studies into formation of granulation tikssue. Exp. Pathol, 21:46, 1982.
 32. 조백현, 허우희, 최석현 : 생쥐 피부 창상의治愈過程에 미치는 Glucan의 效果, 대한성형외과학회, 11:139, 1984.
 33. Reed BR, Clark R.A. F : Cutaneous tissue reparaire : practical implications of current knoowledge, II. J. Am. Acad, Dermatol. 13:919, 1985.
 34. Buntrock PM, Buntrock I, Marx D, Kranz, KD, Jentzsch, Heeder G : Stimulation of wound healing, using brain extract with fibroblast growth factor(FGF) activity. IV. Electron microscopy, autoradiography and the ultrastructural autoradiography of granulation tissue. Exp. Pathol, 26:247, 1984.
 35. Grotendorst GR, Nartin GR, Pencev D, Sedek J, Harvey AK: Stimulation of granulation tissue formation kby platelet-derived growth factor in normal and diadetic rats. J. Clin. Invest. 76:2323, 1985.
 36. Tsuboi BR. Rifkin DB : Recombinant basic fobroblast growth factor stimulate wound healing ink healing-impaired db/db mice. J. Exp. Med. 172:245, 1990.
 37. Danon D, Kowatch MA, Roth GS : Promotion of wound repair in old mice by local in jection of macrophages. Proc. Natl. Acad.Sci. USA. 86:2018, 1989.
 38. Spellman CW, Woodward JG, Daynes RA : Modification of immunologicalpotential by ultraviolet radiation. I. Immune status of shortterm UV-irradiated mice. Transplantation. 24:112, 1977.
 39. Nathan CF : secretory products of the macrophages, J.Clin.Invest, 79:319. 1987.
 40. Folkman,J., Klagsburn,M. : Angiogenic factors, Science,235:442, 1987.
 41. Ausprunk DH, : Tumor angiogenesis. In Houck J.C.(ed) : Chemical messengers of the inflammatory process, Amsterdam Elsevier/North Holland, 1979, p317.
 42. Schoefl, GI. : Studies of inflammmation. III. Growing capillaries: Their structure and permeability. Virchows Arch. Pathol. Anat. 337:97, 1963
 43. Eddy, R.J,m et al : Evidence for non-muscle nature of the myolibroblast of granulationtissue. Am. J. Pathol. 130:252, 1988.
 44. Baserga, R : The Biology of Cell Reproduction. Cambridge, Harvard University Press. 1985.
 45. Deuel, T.F. : Polypeptide growth factors : Roles in normal and adnormal cell growth. Annu. Rew. Cell Biol 3:443, 1987.
 46. Sprin, M.B., and Roberts, A.B : Peptide growth factors are multifunctional,

- Nature, 332:217, 1988.
47. Carpenter, G., and Cohen, S. : Epidermal growth factor, Annu, Rev, Biochem, 48:193, 1979.
 48. Ross, R., et al : The biology of the platelet-derived growth factor Cell, 46:155, 1986.
 49. Gerritsen MJP, Rulo HFC, Arnold WP and Van De Kerkhof PCM (1994). Response of the clinically uninvolved skin of psoriatic patients to repeated tape stripping during cyclosporin A treatment. B. J. of Dermatol 130: 181-188.
 50. Marx J. (1995). How the glucocorticoid suppress immunity Science 270: 222-233.
 51. Lee DH and Choi (1989). The comparative study of immunosuppressive drugs on the periodontal condition in renal transplant patients. J. of Ker Academ. of Peridontol. 19-1: 1-8.
 52. Ting PC, Kaminski JJ, Sherlock MH, Tom WC, Lee JF, Bryant RW, Watnick AS and Mcphail AT (1990). Substituted 1,3-dihydro- 2h-pyrrolo [2,3-b] pyridin-2 -ones as potential antiinflammatory agents. J. Med. Chem. 33: 2697-2706.
 53. Matsuki Y, Yamamoto T and Hara K (1993). Localization of interleukin-1 (IL-1) mRNA-expressing macrophages in human inflamed gingiva and IL-1 activity in gingival crevicular fluid. J. Peridont 28: 35-42.
 54. Poore TK, Johnson GK, Reinhardt RA and Organ CC (1995). The effects of smokeless tobacco on clinical parameters of inflammation and gingival crevicular fluid prostaglandin E₂ Interleukin -1 α and Interleukin-1 β . J. Periodontal 66: 177-183.
 55. Kupper TS and Groves RW (1995). The interleukin-1 axis and cutaneous inflammation. J. of Invest. Derm. 105-1: 62s-66s.
 56. Uitto VJ, Suomalainen K, Sorsa T (1990). Salivary collagenase. Origin characteristics and relationship to periodontal health. J. Periodontal Res 25: 135-142.
 57. Lee W, Aitken S, Sodek J and McCulloch CAG (1995). Evidence of a direct relationship between neutrophil collagenase activity and periodontal tissue destruction in vivo: role of active enzyme in human periodontitis. J. Periodont. Res 30: 23-33.
 58. Cho KY, Lee YM, Choi SM and Chung CP (1995). The effects of herbal extracts on production and activity of interleukin 1 β . The J. of Kor. Academy of Periodontol. 25-2: 386-396.