

仙方敗毒湯이 아토피 피부염 환자 단핵세포의 Cytokine 분비능에 미치는 영향

申東浩* 金禹淵** 李進容* 金德坤*

*慶熙大學校 韓醫科大學 小兒科教室 **수원 아해한의원

Effect of Sunbangpaedoktang on the Cytokine Secretory Function of Monocyte Isolated and Cultured from Peripheral Blood of AD Patients

Dong-Gil Shin*, Woo-Yeon Kim**, Jin-Yong Lee*, Deog-Kon Kim*

*Dept. of Oriental Pediatrics, College of Oriental Medicine, Kyung Hee University,
Seoul, Korea, **AAHAE Oriental Medical Clinic,

Effect of Sunbangpaedoktang, which has been used for atopic dermatitis(AD), on the cytokine secretory function of monocyte, which was isolated and cultured from peripheral blood of AD patients, were evaluated. The results were as follows:

1. In AD patients, Sunbangpaedoktang exhibits statistically significant inhibitory effect on IL-4.
2. In AD patients, Sunbangpaedoktang exhibits statistically significant inhibitory effect on IL-5($p<0.05$).
3. In AD patients, Sunbangpaedoktang exhibits statistically significant inhibitory effect on IFN- γ ($p<0.01$).
4. In sample group, comparing the cytokine concentration change rate of AD patients with that of NAD patients IL-4 of AD patients exhibits statistically significant decrease($p<0.05$).

Key words : Sunbangpaedoktang, cytokine, atopic dermatitis

I. 緒論

아토피 피부염은 홍반, 부종, 심한 소양

증, 삼출, 부스럼딱지와 인설을 특징으로 하는 염증성 피부질환이다^{6,13}. 韓醫學의로는 奶癩, 胎斂瘡, 胎熱 등의 범주에 속

하는데 일반적으로 胎熱이라고 알려져 있다. 韓醫學에서는 胎熱의 病因을 風熱, 血熱, 血虛 등의 原因으로 因하여 脾胃의 運化機能 失調로 생기는 內部的 胎火濕熱과, 外部로부터 侵入하는 風濕熱이 肌膚에 蘊阻되어 形成된다고 인식하였다.^{8,28,32)}

본 研究에 使用된 仙方敗毒湯³⁾은 敗毒散³⁰⁾ 合 仙方活命飲³¹⁾에 加減한 處方으로 小兒扁桃腺炎, 咽喉炎等 炎症性疾患에 應用하고자 作方된 處方으로서, 敗毒散은 陳³⁰⁾의 太平惠民和劑局方에 처음으로 收錄되어 傷寒時氣로 頭痛項強 壯熱惡寒 身體煩疼한 症狀에 使用하고^{1,7,30)}, 仙方活命飲은 陳³¹⁾의 婦人養方大全에 처음으로 收錄되었으며 一切瘡瘍의 治療에 使用한다.^{7,8,11,31)}

현대의학에서는 아토피 피부염 환자의 대부분에서 IgE항체의 생산이 증가되어 있으며, 병리기전에서 IgE매개 접촉 과민 반응이 매우 중요한 것으로 알려져 있다. IgE항체의 생성과정에서 isotype switching에 interleukin(IL)-4가 중심적인 역할을 하며, interferon(IFN)- γ 는 IgE 항체생성을 억제하고, 또한 아토피 피부염에서는 호산구의 수가 특징적으로 증가하는데, 호산구의 증가는 IL-5와 긴밀하게 관련되어 있다. 따라서 아토피 피부염에 관련하고 있는 IL-4와 IL-5는 모두 Th2 세포에서 분비되는 cytokine들로서 아토피 피부염이 Th2 세포의 활동과 밀접하게 관련되어 있음을 시사하고 있다.^{13, 14,16,17,22)}

아토피 피부염에 관한 韓醫學의 研究報告로는 沈瀝丹의 항알레르기 作用²¹⁾, 沈瀝丹이 아토피 피부염 환자의 cytokine 분비능에 미치는 影響¹⁴⁾, 加味熱多寒少湯이

아토피 환자에 미치는 影響²³⁾ 등이 있었으며, 仙方敗毒湯을 이용한 研究로는 仙方敗毒湯의 항알레르기 效果에 대한 研究²⁰⁾가 있었으나 仙方敗毒湯을 이용한 cytokine 분비능에 대한 研究는 없었다.

이에 저자는 아토피 피부염 환자의 T 세포 아형에서 분비되는 cytokine의 불균형에 대한 韓藥材의 조절 양상을 연구하기 위하여 임상적으로 사용하고 있는 仙方敗毒湯을 환자의 혈액에서 분리한 단핵 세포를 배양시킨 *in vitro* 실험을 통하여 Th2 세포에서 분비되는 IL-4, IL-5와 Th1 세포에서 분비되는 IFN- γ 에 미치는 영향을 실험하여 有意한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 實 驗

1. 對象 및 藥材

1) 對象

이 실험에서는 아토피 피부염의 진단기준인 Hanifin의 기준에 의한 아토피 피부염의 증상이 활동기에 있는 환자 8명을 atopic dermatitis군(AD군)으로 선정하였으며, 아토피 피부염의 유병력이 없는 건강인 8명을 non-atopic dermatitis patients군(NAD군)으로 선정하였다.

2) 藥材

이 실험에 사용된 처방인 仙方敗毒湯은 경희대학교 한의과대학 부속한방병원에서

나온 경희한방처방집³⁾에 수록된 것으로, 처방 구성 약재는 경희대학교 부속한방병원 약재과에서 구입하여 사용하였다. 처방 내용과 1첩 분량은 다음과 같다.

藥名	生藥名	用量 (g)
金銀花	<i>Lonicerae Flos</i>	20
連翹	<i>Forsythiae Fructus</i>	8
貝母	<i>Fritillariae Cirrhosae Bulbus</i>	4
天花粉	<i>Trichosanthis Radix</i>	8
穿山甲	<i>Manitis Squama</i>	6
皂角刺	<i>Gleditsiae Spina</i>	6
玄參	<i>Scrophulariae Radix</i>	4
白芷	<i>Angelicae Dahuricae Radix</i>	4
荊芥	<i>Schizonepetae Herba</i>	4
防風	<i>Ledebouriellae Radix</i>	4
柴胡	<i>Bupleuri Radix</i>	8
前胡	<i>Peucedani Radix</i>	4
羌活	<i>Notopterygii Rhizoma</i>	4
獨活	<i>Angelicae Pubescentis Radix</i>	4
枳殼	<i>Ponciri Fructus</i>	4
桔梗	<i>Platycodi Radix</i>	4
川芎	<i>Cnidii Rhizoma</i>	4
甘草	<i>Glycyrrhizae Radix</i>	4
赤茯苓	<i>Poria</i>	4
薄荷	<i>Menthae Herba</i>	2
生薑	<i>Zingiberis Rhizoma Recens</i>	1.875
總量		125.875

2. 方法

1) 檢液의 調製

위의 처방 10첩분량 1258.75g을 5000ml round flask에 넣고 3000ml의 정제수를 가하여 냉각기에 부착하고 直火上에서 2시간동안 가열 전탕한 후 여과포로 여과한 여액을 rotary evaporator에서 감압 농

축한 후 감압건조기에서 완전 건조시켜 선방패독탕 건조엑스산 112g을 얻었다. 조제된 선방패독탕 엑스산 500mg씩을 증류수 10ml에 녹인다음 85°C 수조에서 3시간동안 방치한 후 이 약재를 13,000xg에서 20분간 원심침전하여 상청액을 제거하고 0.22µm 여과막을 통과시켜 멸균하였으며 사용할 때까지 -70°C에 보관하였다.

2) 實驗群의 分類

이 실험은 말초혈액에서 단핵세포를 분리한 후 약제의 세포독성능 및 분열억제능 검사를 통하여 약제의 적절한 희석농도를 결정한 후 배양을 할 때에 concanavalin-A(Con-A) 용액만을 투여한 군을 대조군, Con-A와 hydrocortisone 용액을 혼합 투여한 군을 hydrocortisone 투여군, Con-A와 recombinant interferon-γ 용액을 혼합 투여한 군을 rIFN-γ 투여군, Con-A와 仙方敗毒湯 용액을 혼합 투여한 군을 실험군으로 분류하였다. hydrocortisone 투여군과 rIFN-γ 투여군은 양성대조군이며, 이를 편의상 각각 control군, hydrocortisone 투여군(HC군), rIFN-γ 투여군(IFN군) 및 sample군으로 나누었다.

3) 말초혈액 단핵세포의 분리

AD군 및 NAD군으로부터 10ml의 정맥혈을 채혈하여 ficoll-hypaque(S.G = 1.077) 용액 위에 겹치게 하고 400xg에서 30분간 원심분리하여 ficoll-hypaque 용액 위에 형성된 단핵세포층을 수거하였다.

4) 약제의 세포독성능 및 분열억제능 검사

실험할 약제의 농도 결정을 위하여 세

포독성능 및 분열억제능 검사를 Cell Titer 96 AQueous Non-Radioactive Cell proliferation Assay kit (promega, 2800 Woods Hollow Road Madison, WI 53711-5399 U.S.A, Cat# G5430)를 이용하여 측정하였다. 정상인의 정맥에서 10ml의 정맥혈을 채취하여 ficoll-hypaque 밀도구배 방법으로 단핵세포를 수확한 다음 fetal bovine serum 이 10%되게 첨가된 RPMI 1640 배양액 (Gibco, Grand Island, NY, U.S.A)에 ml당 106 세포 농도를 부유시켰다.

이 세포부유액을 둘로 나누어 한쪽에는 Con-A (Sigma chemical Co., St. Louis, Missor ; 63178-9916, U.S.A)를 ml당 10^6 세포농도로 부유시켰다. 이들 세포부유액을 96 well flat-bottom microplate를 well당 $100\mu\text{l}$ 씩 분주한 다음 그 위에 10% FBS-RPMI 배양액으로 2^3 부터 2^9 까지 2배수로 계단 희석한 다음 仙方敗毒湯 약제(농도 50mg/ml)를 well 당 $100\mu\text{l}$ 씩 분주하고 37°C 5% CO₂ 배양기에서 48시간 배양하였다.

48시간 후 파장 492 nm에서 1차적으로 흡광도의 평균치를 측정한 다음 cell proliferation assay kit 내의 PMS-MTS 시약을 각 well 당 $20\mu\text{l}$ 씩 넣고 37°C 5% CO₂ 배양기에서 4시간 추가 배양 후에 2차적으로 흡광도의 평균치를 측정하여 1, 2차 흡광도 측정에 의한 차이값으로 仙方敗毒湯 검액에 의한 정확한 흡광도의 값을 내어 세포독성능 및 분열억제능을 측정하였다.

5) Cytokines(IL-4, IL-5, IFN- γ)의 측정

IL-4, IL-5 및 IFN- γ 측정은 ELISA kit (R & D systems, 614 Mckinley place N., Minneapolis, MN 55413, U.S.A)를 이용하여 측정하였다. 측정 직전 각각 시료는 0.5% Bovine Serum albumine-PBS 용액으로 2배에서 10배까지 희석하여 측정하였다.

6) Cytokines(IL-4, IL-5, IFN- γ)의 생성능

AD군 및 NAD군으로부터 분리된 단핵세포를 10% FBS-RPMI 1640 배양액에 ml당 2×10^6 세포농도로 조정된 다음 24 well plate에 well당 1ml씩 각각 분주하였다(5well/person). 여기에 $40\mu\text{g/ml}$ 농도의 Con-A 용액을 각 well당 $500\mu\text{l}$ 씩 첨가하였다. 이후 세포독성능 및 분열억제능 검사에서 결정된 final 0.2% 농도의 仙方敗毒湯 용액을 $500\mu\text{l}$ 씩 해당 well에 분주하였다. 대조군 well에는 10% RPMI 1640 배양액 $500\mu\text{l}$ 를, hydrocortisone 처리군에서는 $2\mu\text{g/ml}$ 농도의 hydrocortisone 용액 $500\mu\text{l}$ (final 0.5 $\mu\text{g/ml}$)를, rIFN- γ 처리군에서는 4,000unit/ml 용액 $500\mu\text{l}$ (final 1,000unit/ml) 씩 가하여 well당 부피가 2ml이 되도록 한 후 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 48시간 배양하였다. 배양이 끝나면 각 well로 부터 배양상청액을 수거하고 400xg에서 10분간 원심분리한 후 淸液을 2.0ml vial로 옮겨 -70°C에 보관하였다.

3. 統計分析

통계 프로그램인 SPSS 10.0 for windows 을 이용하였으며 각각의 평균과 표준편차를 구하였고, cytokine 각각의 분

비능 양상에 대한 비교는 비모수적 방법인 Wilcoxon Signed Ranks Test를 사용하였으며, cytokine 분비능 양상을 AD군과 NAD군간에 비교할 때는 Wilcoxon Rank Sum Test를 사용하였다. p값이 0.05 보다 작은 경우에 유의성이 있는 것으로 평가하였으며, control군에 비하여 sample군과 양성대조군(HC군, IFN군) 모두 유의성이 있는 경우에는 각군의 유의차를 비교하였다.

Ⅲ. 實驗 成績

1. AD군에서 cytokine(IL-4, IL-5, IFN- γ) 각각의 분비능 양상

1) IL-4의 농도는 control군, HC군, IFN군 및 sample군이 각각 39.275 ± 27.161 pg/ml, 5.863 ± 3.747 pg/ml, 53.096 ± 35.276 pg/ml 및 28.208 ± 15.041 pg/ml로 control군에 비교하여 HC군과 Sample 군 모두 $p < 0.05$ 의 유의성으로 IL-4 농도의 억제 효과가 있었으며, HC군은 sample군에 비하여 유의성($p < 0.01$)있는 농도의 억제 효과가 나타났다. 한편 IFN군은 control군에 비하여 농도가 증가하였으나 유의성은 없었다(Table I, Fig. 1).

Table I. The Pattern of Cytokines Secretary Function in AD Group

Group	IL-4	IL-5	IFN- γ (pg/ml)
Control	39.275 ± 27.161	184.250 ± 157.376	1582.875 ± 1096.630
HC	$5.863 \pm 3.747^*$	$15.525 \pm 14.959^*$	$466.875 \pm 390.389^*$
IFN	53.096 ± 35.276	263.000 ± 253.994	None
Sample	$28.208 \pm 15.041^*$	$92.625 \pm 67.568^*$	$635.625 \pm 397.233^*$

Significant difference from control group (* : $p < 0.05$)

Each value represents the mean \pm S.E. (n=8)

Control : Con-A administration group

HC : Con-A + Hydrocortisone administration group

IFN : Con-A + rIFN- γ administration group

Sample : Con-A + Sunbangpaedoktang administration group (이하 계속 적용)

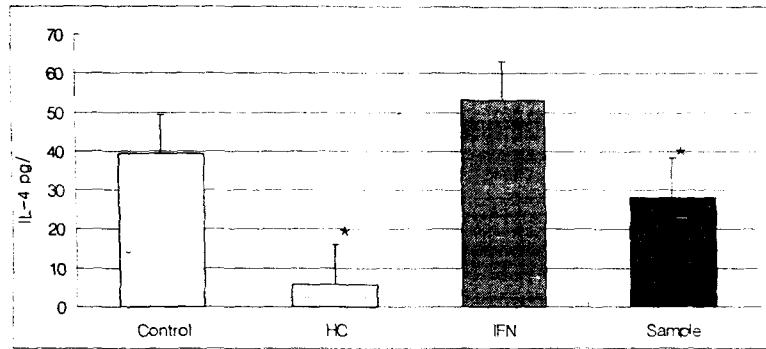


Fig. 1 The pattern of IL-4 secretory function in AD group

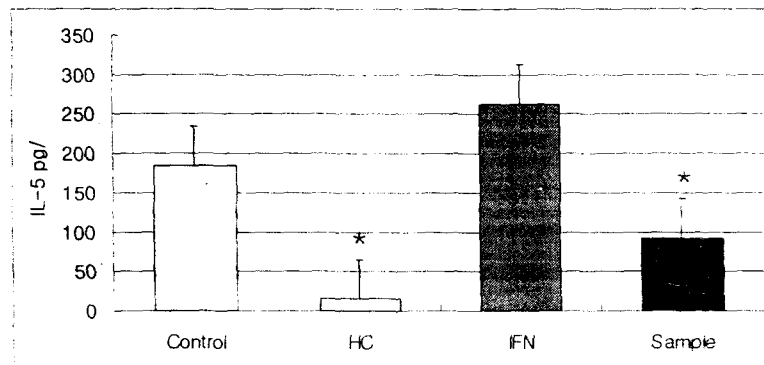


Fig. 2 The pattern of IL-5 secretory function in AD group

2) IL-5의 농도는 control군, HC군, IFN군 및 sample군이 각각 184.250 ± 157.376 pg/ml, 15.525 ± 14.959 pg/ml, 263.000 ± 253.994 pg/ml 및 92.625 ± 67.568 pg/ml로 control군에 비교하여 HC군과 sample군이 둘다 $p < 0.05$ 의 유의성으로 IL-5 농도의 억제 효과가 있었으며, IFN군은 control군에 비하여 농도가 증가하였으나 유의성은 없었다(Table I, Fig. 2). 또, HC군은 sample군에 비하여 유의성($p < 0.01$)있는 농도의 억제 효과가 나타났다.

3) IFN- γ 의 농도는 control군, HC군 및 sample군이 각각 1582.875 ± 1096.630 pg/ml, 466.875 ± 390.389 pg/ml 및 635.625 ± 397.233 pg/ml로 control군에 비교하여 HC군과 sample군 모두 $p < 0.05$ 의 유의성으로 IFN- γ 농도의 억제 효과가 있었다(Table I, Fig. 3). 또, HC군이 Sample군에 비하여 농도의 감소폭은 컸으나 유의성은 없는 것으로 나타났다.

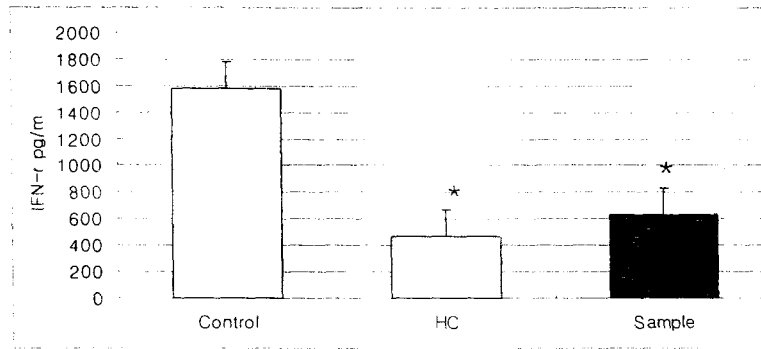


Fig. 3 The pattern of IFN- γ secretory function in AD group

2. AD군과 NAD군의 cytokines 분비능 비교

1) control군에서 AD군, NAD군의 cytokines 농도의 비교

IL-4의 농도는 AD군, NAD군이 각각 39.275±27.161 pg/ml, 61.800±35.054 pg/ml로 AD군이 NAD군에 비하여 낮았으나 유의성은 없었고, IL-5의 농도는 AD군,

NAD군이 각각 184.250±157.376 pg/ml, 157.813±84.855 pg/ml로 AD군이 NAD군에 비하여 높았으나 유의성은 없었다 (Table II, Fig. 4). IFN- γ 의 농도는 AD군, NAD군이 각각 1582.875±1096.630 pg/ml, 7534.571±2164.065 pg/ml로 AD군이 NAD군에 비하여 유의성(p<0.001)있게 낮았다(Table II, Fig. 5).

Table II. The Comparison of Cytokine Concentration of AD Group with that of NAD in Control Group

Group	IL-4	IL-5	IFN- γ (pg/ml)
AD	39.275±27.161	184.250±157.376	1582.875±1096.630***
NAD	61.800±35.054	157.813±84.855	7534.571±2164.065

Significant difference from NAD group (* : p<0.05, ** : p<0.01, *** : p<0.001)

Each value represents the mean±S.E. (n=8)

AD : Atopic dermatitis patients

NAD : Non-atopic dermatitis patients (이하 계속 적용)

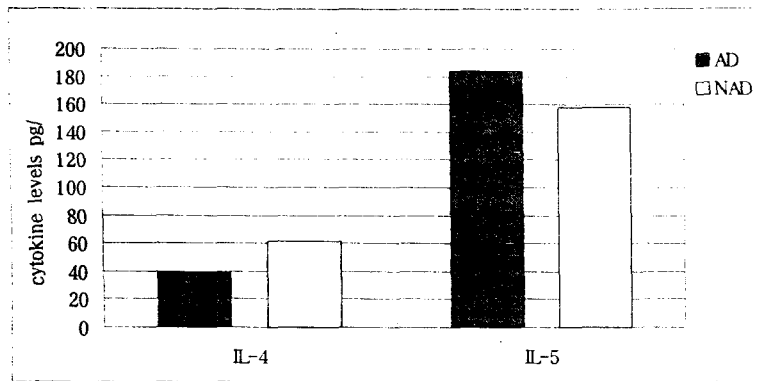


Fig. 4 The comparison of IL-4, IL-5 concentration of AD group with that of NAD in control group

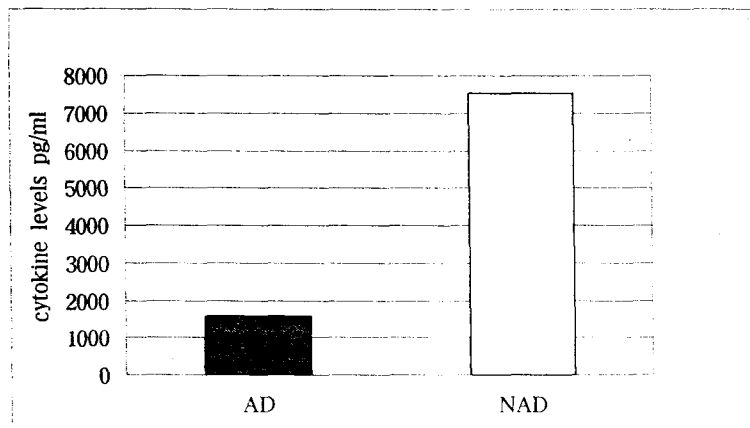


Fig. 5 The comparison of IFN-γ concentration of AD group with that of NAD in control group

2) HC군에서 AD군과 NAD군의 cytokines 농도의 변화율 비교

HC군에서의 cytokines 농도의 변화율을 [(control군 농도-HC군 농도)/control군 농도] 등식에 의한 백분율로 계산하였을 때, IL-4의 농도의 변화율은 AD군이 0.8487 ± 0.022 로 NAD군의 0.7927 ± 0.074 보다 감소율이 높았고, IL-5의 농도의 변화율도 AD군이 0.9144 ± 0.029 로

NAD군의 0.9122 ± 0.033 보다 감소율이 높았으나 모두 유의성이 없었다. IFN-γ의 농도의 변화율은 AD군이 0.6823 ± 0.191 로 NAD군의 0.3497 ± 0.155 보다 유의성 ($p < 0.01$) 있게 감소하였다(Table III, Fig. 6).

Table III. The Comparison of Cytokine Concentration Change Rate of AD Group with that of NAD in HC Group

Group	IL-4	IL-5	IFN- γ (pg/ml)
AD	0.8487 \pm 0.022	0.9144 \pm 0.029	0.6823 \pm 0.191**
NAD	0.7927 \pm 0.074	0.9122 \pm 0.033	0.3497 \pm 0.155

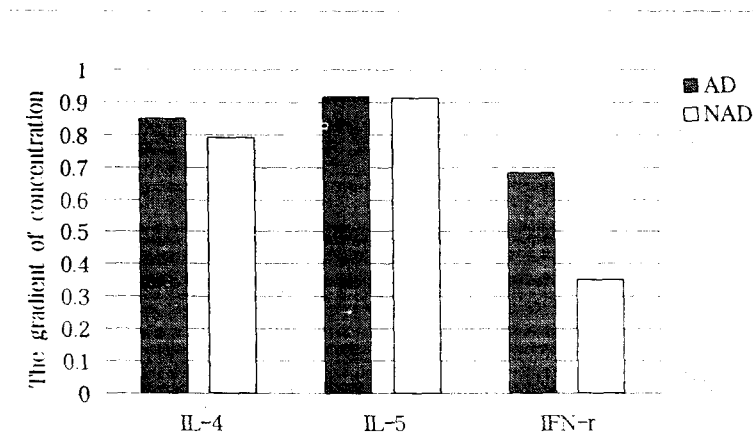


Fig. 6 The comparison of cytokine concentration change rate of AD group with that of NAD in HC group

3) IFN군에서 AD군과 NAD군의 cytokines 농도의 변화율 비교

IFN군에서의 cytokines 농도의 변화율을 [(control군 농도-IFN군 농도)/control군 농도] 등식에 의한 백분율로 계산하였을 때, IL-4의 농도의 변화율은 AD군이

-0.3519 \pm 0.159로 NAD군의 -0.1288 \pm 0.236 보다 증가율이 높았고, IL-5의 농도의 변화율도 AD군이 -0.4219 \pm 1.219로 NAD군의 -0.1090 \pm 0.149 보다 증가율이 높았으나 모두 유의성이 없었다(Table IV, Fig. 7).

Table IV. The Comparison of Cytokine Concentration Change Rate of AD Group with that of NAD in IFN Group

Group	IL-4	IL-5
AD	-0.3519 \pm 0.159	-0.4219 \pm 1.219
NAD	-0.1288 \pm 0.236	-0.1090 \pm 0.149

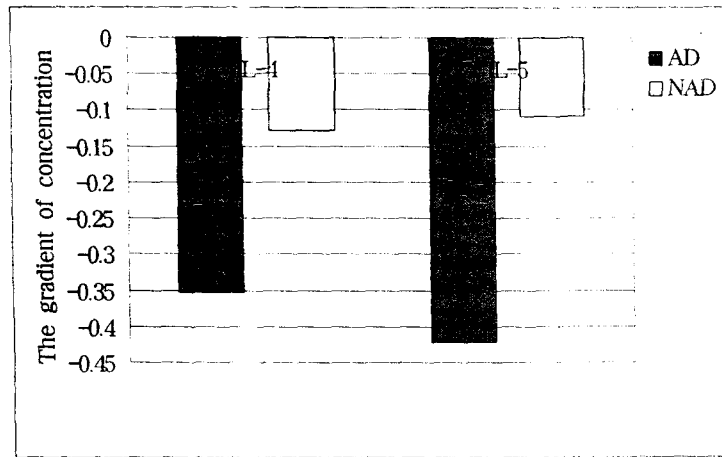


Fig. 7 The comparison of cytokine concentration change rate of AD group with that of NAD in IFN group

4) sample군에서 AD군과 NAD군의 cytokines 농도의 변화율 비교

sample군에서의 cytokines 농도의 변화율을 [(control군 농도-sample군 농도)/control군 농도] 등식에 의한 백분율로 계산하였을 때, IL-4의 농도의 변화율은 NAD군이 0.04256±0.1046로 AD군의 0.2440±0.1367 보다 유의성(p<0.05) 있게

감소하였다. IL-5의 농도의 변화율은 NAD군이 0.5987±0.0611로 AD군의 0.5301±0.1909 보다 감소율이 높았으나 유의성이 없었다. 그러나 IFN-γ의 농도의 변화율은 AD군이 0.5481±0.1969로 NAD군의 0.3691±0.1063 보다 감소율이 높았으나 유의성은 인정되지 않았다(Table V, Fig. 8).

Table V. The Comparison of Cytokine Concentration Change Rate of AD Group with that of NAD in Sample Group

Group	IL-4	IL-5	IFN-γ
AD	0.2440±0.1367	0.5301±0.1909	0.5481±0.197
NAD	0.4256±0.1046*	0.5987±0.0611	0.3691±0.106

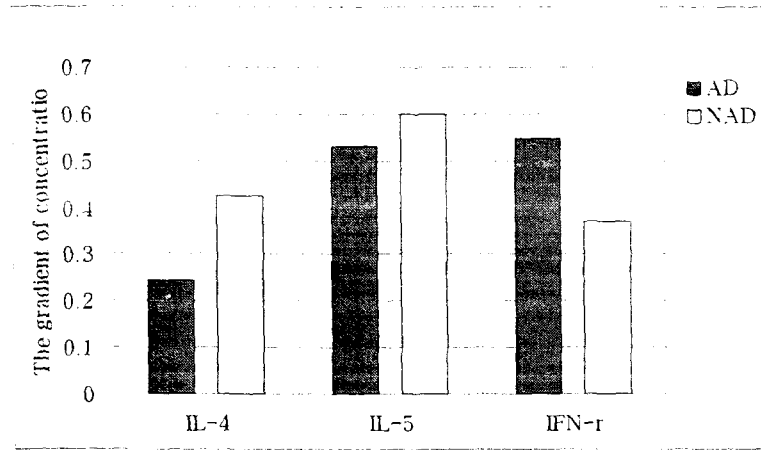


Fig. 8 The comparison of cytokine concentration change rate of AD group with that of NAD in sample group

IV. 考 察

아토피 피부염은 심한 소양증 및 전형적인 피부병변을 특징으로 하는 가장 흔한 소아의 알레르기성 피부질환으로 韓醫學에서는 胎熱 이라고 한다. 原因은 風熱, 血熱, 血虛 등이며, 脾胃의 運化機能失調에 의한 胎火濕熱, 風濕熱의 침입 등에 의하여 형성된다.^{8,28,29)}

아토피 피부염을 비롯한 제 I형 알레르기 반응기전에 의한 아토피 질환은 다수에서 IgE항체 증가의 면역학적 이상이 동반된다. 아토피 피부염 환자의 약 80%에서 IgE 농도가 정상인의 5-10배로 증가되어 있으나, IgE항체가 증가되어 있다고 해서 모두가 아토피 질환은 아니며, IgE항체가 정상 또는 그 이하로 저하되어 있으면서 아토피 피부염의 임상 증상만 발현되는 경우도 있다. 현재까지 관찰된 주된 면역학적 이상은 IgE가 과도하게 생

성된다는 것이며 이는 각종 염증에 관여하는 세포에서 생성되는 cytokine의 변화에 의한 것으로 설명하고 있다.^{13,14,16,17,22)}

1980년대에 Ishizaka³⁴⁾ 등은 IgE binding factor에 의한 조절을 주장하였는데, T 림프구 중에서 helper T 세포인 CD4⁺ T 세포가 IgE항체 생성 조절에 가장 중심적인 역할을 한다는 것이다. CD4⁺ T 세포는 Th1 세포와 Th2 세포로 분류되며, Th1 림프구는 지연형 과민반응에 주로 관여하고, Th2 림프구는 즉시형 과민반응을 일으키는 역할을 하는데, Th1 세포에서는 IFN-γ, IL-2, tumor necrosis factor-β(TNF-β)등이, Th2 세포에서는 IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 등의 cytokines 이 분비되며 IL-3, TNF-α와 granulocyte macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF)등은 두 세포 모두에서 특징적으로 분비된다. Th1과 Th2 세포는 상호작용을 통해 면역 균형을 유지하는데 IL-4는 Th1 세포의 반응을 억제하고,

IFN- γ 는 Th2 세포의 반응을 억제한다.^{4,9,14,16,17,19)} 아토피 피부염 환자에서 IgE 항체 생성의 증가는 IFN- γ 생성능의 부족과 IL-4 생성능의 증가에서 기인하는 것으로 추측하고 있다. 즉, 아토피 피부염 환자에서는 Th1과 Th2 세포의 불균형으로 인하여 IFN- γ 가 감소되어 있고 IL-4가 증가하는 것으로 알려짐으로써 최근에는 이러한 기전에 근거를 두고 임상에서 여러 가지 면역치료제(rIFN- γ , cyclosporin, thymopentin 등)가 시도되고 있다.^{5,9,14,15,17,18)}

한편, 아토피 피부염은 호산구의 증가를 동반하는데 호산구는 IL-5, IL-3 등에 의하여 골수에서 생성된다. 병변시 호산구의 증가는 IL-5와의 상관관계에 대한 연구와 호산구가 활성화되어 분비되는 여러 물질(major basic protein, eosinophil cationic protein)의 증가가 아토피 피부염의 경중도와 연관성이 있을 것이라는 연구 등이 있다.^{16,17)} 그 중 IL-5는 다른 알레르기성 질환에 비하여 아토피 피부염에서 특이하게 증가되어 있는데, IL-5의 생성 변화는 호산구 수의 변화와 긴밀한 관계가 있다고 한다. IL-5도 IL-4와 함께 Th2 세포에서 분비되는 cytokine으로 아토피 피부염이 Th2 세포의 활동과 관련되어 있음을 시사해준다.

이와 관련된 국내외의 논문으로서 시험관내 실험으로는 조²⁴⁾, 홍²⁶⁾, Jujo³⁵⁾, Maggi³⁶⁾, Tang⁵⁸⁾ 등의 연구와 임상 실험으로는 김¹⁵⁾, 노¹⁷⁾, 안¹⁸⁾ 등의 연구가 보고되었다.

IL-4, IL-5, IFN- γ 의 작용을 요약하면 IL-4는 면역글로불린 생성시 IgE로 분화를 유도하고, 유착분자들을 활성화시켜

단구나 호산구 등 염증세포들을 염증이 일어나는 조직 세포로 이동하게 하고, IL-5는 호산구의 증식과 활성화를 유도하는 기능이 있으며, IFN- γ 는 Th1 세포의 반응을 유도하면서 Th2 세포의 증식을 억제하는 기능이 있다.

이 실험에서는 實驗群의 효능을 관찰하기 위하여 대조군과 양성대조군을 선정하였는데, 대조군은 말초혈액 단핵세포를 배양할 때 Con-A 만을 투여한 군이다. Con-A는 T cell의 유사분열물질로 말초혈액 단핵세포의 배양시 투여되는 물질이다. 양성대조군은 배양시 Con-A와 함께 hydrocortisone을 투여한 군과 rIFN- γ 를 투여한 군으로 나누어 실험군과 비교하였다.

Hydrocortisone은 아토피 피부염을 비롯한 피부질환에 가장 뛰어난 대증요법제로서 작용기전은 다양하나 완전히 알려져 있지 않으며 일반적으로 소염작용과 면역억제 작용이 중요시되고 있다. 소염작용은 백혈구의 축적과 기능, 단핵세포와 호산구의 수, 보체성분 등을 감소시키며 히스타민 매개 반응을 억제한다. 면역억제 작용은 혈장내의 면역글로불린과 보체의 양을 감소시키고 림프구와 단핵세포의 기능을 감소시킨다.^{5,25)}

rIFN- γ 은 최근 유전자 재조합 기법의 발전으로 효모균에서 다량의 순수한 rIFN- γ 을 쉽게 사용할 수 있게 되면서 이 분야의 연구는 많은 발전을 이루었다.^{5,18)} rIFN- γ 은 1987년 Parkin³⁷⁾ 등이 아토피 피부염에 처음으로 치료를 시도하면서 이후 여러 연구자들에 의하여 시도되고 있다.

근래에 와서 아토피 피부염에 대한 연

구가 많이 시도되었는데 임상 치료에 대하여 康²⁾은 綜合的인 體質의 判別이 중요하며 初期에는 涼血解毒을, 後期에는 養血補氣해야 한다고 하였고, 丁¹⁰⁾은 症狀이 심한 發作期에는 症狀 爲主의 治療를, 緩解期에는 免疫 機能을 향상시키는 治療를 위주로 해야 한다고 하였다. 中島²⁸⁾는 高 IgE항체를 동반한 血熱證에 消風散을 응용하였는데 處方 內容 중에 當歸, 蟬蛻, 苦蔘, 白朮 등에는 Interferon을 유도하는 성분이 포함되었고, 蟬蛻는 風熱疏散의 작용으로 allergy毒까지도 發散하여 體質 改善에도 有效한 것으로 報告하였다.

仙方敗毒湯³⁾은 敗毒散³⁰⁾과 仙方活命飲³¹⁾의 加減方으로, 敗毒散은 陳³⁰⁾의 太平惠民和劑局方에 처음으로 收錄되었으며, 處方의 內容은 人蔘, 茯苓, 甘草, 前胡, 川芎, 羌活, 獨活, 桔梗, 柴胡, 枳殼, 生薑, 薄荷로 構成되어 있다.^{1,7,8,30)} 이는 足太陽少陽手太陰藥으로, 羌活은 太陽에 入하여 遊風을 理하고, 獨活은 少陰에 入하여 伏風을 理하고 兼하여 祛濕除痛하며, 柴胡는 散熱升清하고, 川芎을 協하여 頭痛目昏을 다스린다. 前胡, 枳殼은 降氣行痰하고 桔梗, 赤茯苓을 協하여 肺熱을 泄하고 除濕消腫하며, 甘草는 和裏發表한다.²⁸⁾ 따라서 敗毒散은 益氣解表, 散風祛濕하는 效가 있어서 傷寒時氣로 頭痛項強, 壯熱惡寒, 身體煩疼한 症狀에 使用한다.^{1,7,30)}

仙方活命飲은 陳³¹⁾의 婦人良方大全에 처음으로 收載되었는데, 處方의 內容은 白芷, 貝母, 防風, 赤芍藥, 當歸尾, 甘草, 皂角刺, 穿山甲, 天花粉, 乳香, 沒藥, 金銀花, 陳皮로 構成되어 있다.^{7,11,12,31)} 方中の 金銀花는 清熱解毒, 理氣活血하는 效能이, 當歸尾, 赤芍藥, 乳香, 沒藥은 活血散瘀하

고 止痛, 防風, 白芷는 消風散結하고 消腫, 陳皮는 理氣行滯하며 消腫, 貝母, 天花粉은 清熱排膿하고 散結, 穿山甲, 皂角刺는 解毒透絡, 消腫潰堅, 甘草는 清熱解毒하는 效能이 있으니 仙方活命飲은 清熱解毒, 消腫散結, 活血止痛하여 一切瘡瘍의 治療에 使用한다.^{7,8,11,12)}

따라서 仙方敗毒湯은 清熱解毒, 消腫散結하여 氣血의 凝滯를 疏散시키고, 降氣化痰, 潤肺祛痰, 利水滲濕, 清肺提氣, 祛痰排膿, 通經絡하여 水分代謝의 失調 或은 血管 透過性的 增大나 炎症 등에 수반하여 體內에 貯留된 痰飲, 水腫을 除去, 治療하는 것으로 思料된다.

AD군에서 cytokine의 분비능을 평가한 결과 IL-4의 농도는 control군, HC군, IFN군 및 sample군이 각각 39.275±27.161 pg/ml, 5.863±3.747 pg/ml, 53.096±35.276 pg/ml 및 28.208±15.041 pg/ml로 HC군이 p<0.01의 유의성이 있었으며, sample군은 IL-4의 농도를 감소시키기는 하였으나 유의성이 인정되지는 않았다. 또 sample군에 비하여 HC군이 유의성(p<0.01)있게 농도의 억제 효과가 컸으며, IFN군은 IL-4의 농도가 증가하였으나 유의성은 없었다.

IL-5의 농도는 control군, HC군, IFN군, sample군이 각각 184.250±157.376 pg/ml, 15.525±14.959 pg/ml, 263.000±253.994 pg/ml 및 92.625±67.568 pg/ml로 HC군과 sample군이 모두 p<0.05의 유의성이 있었으며, sample군에 비하여 HC군이 유의성(p<0.01)있게 억제 효과가 컸으며, IFN군은 유의성이 없었다.

IFN-γ의 농도는 control군, HC군 및 sample군이 각각 1582.875±1096.630 pg/

ml, 466.875 ± 390.389 pg/ml 및 635.625 ± 397.233 pg/ml로 HC군과 sample군이 모두 $p < 0.01$ 의 유의성이 있었으며, HC군이 sample군에 비하여 농도의 감소 폭은 컸으나 유의한 차이는 없는 것으로 나타났다.

AD군과 NAD군의 cytokines 분비능을 비교한 결과 control군에서 IL-4 및 IL-5의 농도에 대한 양군간에 유의한 차이는 인정되지 않았으며, IFN- γ 의 농도는 AD군, NAD군이 각각 1582.875 ± 1096.630 pg/ml, 7534.571 ± 2164.065 pg/ml로 AD군이 NAD군에 비하여 유의성($p < 0.001$)있게 낮았다.

HC군에서 AD군과 NAD군의 cytokines 농도의 변화율을 비교하였을 때 IL-4 및 IL-5의 농도의 변화율은 양군 사이에 유의한 차이가 인정되지 않았으며, IFN- γ 의 농도의 변화율은 AD군이 $0.6823 \pm 0.191\%$ 로 NAD군의 $0.3497 \pm 0.155\%$ 보다 유의성($p < 0.01$) 있게 감소하였다.

IFN군에서 AD군과 NAD군의 cytokines 농도의 변화율을 비교하였을 때 IL-4 및 IL-5의 농도의 변화율은 양군 사이에 유의한 차이가 인정되지 않았다.

Sample군에서 AD군과 NAD군의 cytokines 농도의 변화율을 비교하였을 때 IL-4의 농도의 변화율은 NAD군이 $0.4256 \pm 0.1046\%$ 로 AD군의 $0.2440 \pm 0.1367\%$ 보다 유의성($p < 0.05$) 있게 감소하였으며, IL-5 및 IFN- γ 의 농도의 변화율은 양군 사이에 유의한 차이는 인정되지 않았다.

이 실험의 성적을 고찰하면 IL-4, IL-5, IFN- γ 의 농도를 비교한 결과 IL-4와 IFN- γ 는 아토피 피부염 환자군에서 감소

되어 있고, IL-5는 증가되어 있었다. Th1 세포에서 분비되는 IFN- γ 이 아토피 피부염 환자군에서 감소되어 있는 것은 기존의 보고와 동일하였다. 단, IL-4가 오히려 감소되어 있는 것에 대해서 노²⁰⁾, Hamid³⁷⁾, Walker⁵³⁾ 등은 아토피 피부염의 시작에는 IL-4 mRNA의 발현 및 IgE 항체가 중요하지만 만성적으로 유지되는 데에는 IL-5 mRNA의 발현과 호산구가 더욱 중요하다고 보고한 바 있는데 이는 만성 아토피 피부염에서는 IL-4 보다 IL-5가 중요하다는 의미로서 본 실험의 결과와 일치한다.

실험 결과 仙方敗毒湯은 IL-4, IL-5, IFN- γ 에 대하여 모두 억제 효과를 나타내었는데 IL-4, IL-5, IFN- γ 모두에 대해서 HC군이 仙方敗毒湯 보다 억제효과가 컸으며, 다만 IFN- γ 에 대해서는 유의성은 없었다. 아토피 피부염의 발생기전과 관련하여 hydrocortisone은 B림프구 활성화인자로서 IgE 생산 조절 효과에 관한 시험관내 실험은 있었으나²⁸⁾ 연구에 따라 혈청 IgE 항체치를 증가시킨다거나 반대로 감소시킨다고 하는 상반된 결과가 보고된 바 있다²⁸⁾. 현재 아토피 피부염의 면역요법으로 시도되고 있는 rIFN- γ 에 대한 실험에서 시험관내에서의 rIFN- γ 는 Th2 세포에 대한 여러 작용에 대하여 억제 효과가 있다고 하는 견해⁴¹⁾와 만성화된 아토피 피부염에서 rIFN- γ 의 치료 효과는 IgE의 생성에 관련한 작용이 아닐 가능성이 많아서 rIFN- γ 의 치료 효과에 대한 판정 지표를 혈중 호산구 수의 감소가 중요하다는 견해도 있다²⁰⁾. 홍³⁰⁾은 아토피 천식 환자를 대상으로 rIFN- γ 을 투여하여 IL-5는 감소되고 IL-4는 유의한

변화가 없었다고 하였으나 IFN- γ 가 IL-4와 IL-5에 대하여 유의성있는 변화가 없었다.

이 실험에서는 仙方敗毒湯이 Th2 세포에서 분비되는 IL-4, IL-5와 Th1 세포에서 분비되는 IFN- γ 에 대하여 모두 억제효과를 보였다. 이는 만성화된 아토피 피부염 환자군에서 증가된 IL-5를 감소시킨다는 측면에서 볼 때 혈중 호산구수의 감소를 유도하므로 의미가 있을 것으로 보여진다. 한편, Th2 세포의 반응 및 IgE 항체의 생산을 억제하는 Th1 세포인 IFN- γ 에 대한 억제효과가 비록 HC군보다는 적게 나타났으나 IFN- γ 을 감소시킨다는 측면에서는 장기간 투여가 바람직하지 않을 것으로 보여진다. 이러한 결과로 미루어 볼 때 재발이 자주 반복되는 아토피 피부염 환자의 경과 중에서 염증이 심하여 혈중 호산구수가 증가되어 있는 상태에서는 仙方敗毒湯을 응용한 치료가 의미있을 것으로 보인다. 한편, 본 실험에서 仙方敗毒湯을 투여하였을 때 Th1 세포에서 분비되는 IFN- γ 은 증가 내지는 변화없음을 기대하였으나 오히려 감소되는 결과를 보였다. 이는 仙方敗毒湯을 구성하는 약재들의 淸熱解毒, 行氣利痰, 活血利水 하는 效能이 염증 억제에 비중이 큰 것으로 보인다.

V. 結 論

아토피 피부염 환자의 T 세포 아형에서 분비되는 cytokine의 분비능에 대한

仙方敗毒湯의 효과를 관찰하고자 말초혈액에서 단핵세포를 분리, 배양하여 IL-4, IL-5, IFN- γ 의 분비능에 미치는 영향을 실험하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 아토피 피부염 환자군에서 仙方敗毒湯은 IL-4에 대하여 유의성($p < 0.05$)있는 억제효과가 인정되었다.
2. 아토피 피부염 환자군에서 仙方敗毒湯은 IL-5에 대하여 유의성($p < 0.05$)있는 억제효과가 인정되었다.
3. 아토피 피부염 환자군에서 仙方敗毒湯은 IFN- γ 에 대하여 유의성($p < 0.01$)있는 억제효과가 인정되었다.
4. 아토피 피부염 환자군과 비아토피 건강인군의 cytokine 농도의 변화율을 비교한 결과 비아토피 건강인군의 IL-4에서 $p < 0.05$ 의 유의성으로 감소폭이 컸다.

參 考 文 獻

1. 康命吉 : 濟衆新編, 서울, 杏林出版社, p.13, 1971.
2. 康秉秀 : 韓方臨床 알레르기, 서울, 成輔社, pp.196~201, 1988.
3. 경희대학교 한의과대학부속한방병원편 : 경희한방처방전, 서울, 경희의료원, p.100 1997
4. 김세중 : 면역학, 서울, 고려의학, pp.24~36 1994.

5. 大韓皮膚科學會 : 皮膚科學, 서울, 麗文閣, pp. 133~8, 1994.
6. 서울대학교의과대학 피부과학교실 : 피부질환의 진단과 치료, 서울, p122~124, 1992.
7. 申載鏞 : 方藥合編解說, 서울, 成輔社, p.315, 1988.
8. 吳謙 : 醫宗金鑑(下), 서울, 大星文化社, pp.451~452, 1991.
9. 殷熙哲 등 : 皮膚免疫學, 서울, 서울대학교출판부, pp. 27~34, 1999.
10. 丁奎萬 : 알레르기과 韓方, 서울, 第一路, pp.101~108, 1985.
11. 許浚 : 東醫寶鑑, 서울, 大成文化社, 卷 7, p.765, 1985.
12. 洪淳昇 : 洪家定診秘傳, 서울, 大星文化社, p.75, 1983.
13. 홍창의 : 소아과학, 서울, 대한교과서(주), p1016-1018, 1997.
14. 김우연 : 항해단이 아토피 피부염 환자 단핵세포의 Cytokine 분비능에 미치는 영향, 경희대학교 대학원 박사학위논문, 2000.
15. 김진우 : 아토피피부염 환자에서의 VIFN- γ 치료, 서울, 알레르기학회지 16(3):286~90, 1996.
16. 노건웅 이기영 : 아토피 피부염에서 혈중 Interferon- γ , Interleukin-4, Interleukin-5 및 Interleukin-10의 농도, 소아알레르기 및 호흡기 8(1):72~78, 1998.
17. 노건웅·이우길 : 아토피피부염의 감마 인터페론 치료, 서울, 소아알레르기 및 호흡기학회지 7(2):239~47, 1998.
18. 안필수·방형돈·정진호·김규한·박경찬·윤재일 : 아토피피부염에서의 재조합 감마인터페론의 치료효과, 서울, 알레르기학회지 16(3):291~8, 1996.
19. 오재원·이하백·정용훈·최용·송미경 : 집먼지진드기에 감작된 아토피 및 비아토피 개체에서 Der p I 및 면역변환제의 자극에 의한 T림프구의 interleukin-4와 interferon- γ 생성의 차이, 천식 및 알레르기 19(4):548-556, 1999.
20. 이재원 : 선방패독탕이 항알레르기작용에 미치는 영향, 경희대학교 대학원 석사학위논문, 1989.
21. 이진용 : 항해단의 항알레르기에 대한 실험적 효과, 경희대학교 대학원 석사 학위논문, 1990.
22. 이해란 : 아토피 피부염, 소아과학회지 143(9):1161~1167, 2000.
23. 정환수 : 가미열다한소탕 투여후 아토피 피부염 환자의 임상상 변화에 대한 연구, 경희대학교 대학원 석사학위논문, 2002.
24. 조상헌·송숙희·김윤근·지영구·최동철·윤호주·민경업·김유영 : 아토피 환자에서의 IgE 항체 생성 조절기전 : 말초혈액 림프구의 IL-4, IFN- γ 생성의 불균형, 알레르기학회지 15(2):205~15, 1995.
25. 조영주·홍수중·문희범 : IL-4와 hydrocortisone에 의한 아토피환자 말초혈액 단핵구의 IgE 생산 조절, 서울, 알레르기학회지 17(4):566~573, 1997.
26. 홍수중·심정연·조유숙·박재경·유빈·문희범 : 천식 환자 말초혈액 단핵구의 싸이토카인 생산 양상, 서울, 알레르기학회지 17(3):307~15, 1997.
27. 汪詡庵 : 醫方集解, 文光圖書有限公司, p.66.
28. 中國中醫研究院 : 中醫兒科學, 中國古籍出版社, pp.348~50, 1994.
29. 中島一 : 皮膚科의 漢方治療, 東京, 一人社, pp.68~71, 1991.
30. 陳師文 : 太平惠民和劑局方, 旋風出版社

p.57.

31. 陳自明 : 婦人良方大全, 臺北. 文光圖書有限公司, 卷24, p.35.
32. 許履和 : 實用中醫外科學, 上海, 上海科學技術出版社, pp.461~3, 1985.
33. Hamid Q · Boguniewicz M · Leung DYM : Differential in situ cytokine gene expression in acute versus chronic atopic dermatitis, J Clin Invest 94:870~6, 1994.
34. Ishizaka K : Regulation of IgE synthesis, Annu Rev Immunol 2:159~62, 1984.
35. Jujo K · Renz H · Abe J · Gelfand EW · Leung DY : Decreased interferon gamma and increased interleukin-4 production in atopic dermatitis promotes IgE synthesis, J Allergy Clin Immunol 90:323~31, 1992.
36. Maggi E · Parronchi P · Maneti R · Simonelli C · Piccinni MP · Rugi FS · de Cali M · Ricci M · Romagnani S : Reciprocal regulatory effects of IFN- γ and IL-4 on the in vitro development of human Th1 and Th2 clones, J Immunol 148:2142~7, 1992.
37. Parkin JM · Eales LJ · Galazka AR · Pinching AJ : Atopic manifestations in the acquired immune deficiency syndrome: response to recombinant interferon gamma, Br Med J 294:1185~6, 1997.
38. Tang M · Kemp A · Varigos G : IL-4 and interferon-gamma production in children with atopic disease, Clin Exp Immunol 92:120~4, 1993.