

원 저

紫草가 항알러지 염증반응에 미치는 영향

권미화, 이진용, 김덕곤

경희대학교 한의과대학 소아과교실

Anti-allergic and Anti-inflammatory Effects of *Jacho* (*Lithospermum Erythrorhizon*)

Mi-Hwa Kwon, Jin-Yong Lee, Deog-Gon Kim

Dept. of Pediatrics College of Oriental Medicine, Kyung Hee University, Seoul, Korea

Objectives : This study was performed to examine the anti-allergic and anti-inflammatory effects of *Jacho* (*Lithospermum erythrorhizon*).

Methods : Macrophage 264.7 cells were pretreated for 1 hour with *Jacho*. After pretreatment, macrophages were incubated with lipopolysaccharide (LPS) 100ng/ml for 12 h (TNF- α , IL-6) or 24 h (IL-1 β , IL-10) and media collected and TNF- α , IL-6, IL-1 β , and IL-10 concentrations in supernatants were each measured by enzyme-linked immunosorbent assay. Concentrations of *Jacho* used were 50, 100, 250, 500, and 1000 $\mu\text{g/ml}$, and hydrocortisones used were 10-8, 10-7, 10-6, 10-5, and 10-4 M.

Results : *Jacho* showed inhibitory effect on TNF- α by LPS-stimulated macrophage 264.7. The inhibitory effect was most significant in 250 $\mu\text{g/ml}$, and was not in a dose-dependent manner as in the hydrocortisone group. *Jacho* also showed inhibitory effect on IL-6 by LPS-stimulated macrophage 264.7. The inhibitory effect was most significant in 1000 $\mu\text{g/ml}$, and increased in a roughly dose-dependent manner.

Jacho and hydrocortisone showed contrary effect on IL-1 β . *Jacho* obviously increased the expression of IL-1 β , in all five concentrations, and at the lowest concentration (50 $\mu\text{g/ml}$) the level of IL-1 β , was highest. On the other hand, hydrocortisone was observed to have inhibitory effect on IL-1 β , in all five concentrations. IL-10 was obviously inhibited by *Jacho* and hydrocortisone respectively in a roughly dose-dependent manner.

Conclusions : By the findings of this experiment, *Jacho* was observed to have anti-allergic and anti-inflammatory effects through inhibiting pro-inflammatory cytokine TNF- α and IL-6, and might be one of the effective therapeutic regimens for allergic diseases.

Key Words: *Jacho*, *Lithospermum erythrorhizon*, allergic disease, atopic dermatitis, inflammatory cytokine, TNF- α , IL-6, IL-1 β , IL-10

緒 論

· 접수 : 2005년 5월 31일 · 논문심사 : 2005년 7월 1일
· 채택 : 2004년 8월 10일
· 교신저자 : 권미화, (130-702) 서울시 동대문구 회기동 1번지
경희의료원 한방병원 소아과
(Tel: 02-958-9172, Fax: 02-958-9171,
Email: aokop@hanmail.net)

알러지는 1963년 Gell과 Coombs가 처음 제시한 이래 점차 증가하는 추세로 최근 20~30년 사이에 두 배 정도로 급속히 증가하여^{1,2,3,4)} 구미에서는 전 인구의 약 20%에서 한 가지 이상의 알러지 질환을 앓고 있는 것으로 보고되고 있으며^{5,6,7)}, 최근 국내에서도

알러지 질환이 증가되고 있어^{8,9,10} 알러지 질환은 가장 흔한 만성질환으로 자리 잡아 가고 있다.

알러지 반응은 생체가 동일한 항원에 반복적으로 접촉함으로써 그 항원에 대해 처음에는 인정되지 않았던 이상반응, 즉 과민반응이 나타나는 것으로 여기에는 4가지의 유형이 있다¹¹. 그 중에서 제 1형 과민반응은 anaphylaxis type 또는 IgE 의존형이라 하여 비염, 천식, 아토피 피부염 등 대부분의 알러지 질환들이 여기에 해당된다. 최근에는 이러한 알러지 반응에 있어서 염증반응을 가장 핵심으로 이해하려는 경향이 지배적이며, Th1세포와 Th2세포에서 분비되는 면역조절 사이토카인들 사이의 불균형, IgE와 cytokine의 생산, 염증매개물질에 대한 세포와 조직의 반응, cytokine이나 chemokine 자체에 대한 작용 등에 대한 것들이 알러지 질환의 기전에 관한 최근의 연구들에서 주요 논점이 되고 있다¹².

한편 최근에는 한방에서 사용 중인 단미 약재나 처방을 중심으로 아토피 피부염을 비롯한 알러지 질환에 대한 치료효과를 평가하려는 다양한 연구가 이어지고 있다¹³⁻²⁰.

紫草는 한방임상에서 주로 피부과 영역의 질환을 치료하는데 오래전부터 널리 사용되어온 약재중의 하나이다. 紫草 Lithospermi Radix는 지치과 Borraginaceae에 속하는 다년생 초본인 지치 Lithospermum erythrorhizon Sieb. et Zucc.의 뿌리이다. 약성은 寒하고 味는 甘하며 归경은 心, 肝經으로 神農本草經에 紫丹, 紫芩로 처음 기재된 이 약재는 中品으로 凉血活血, 解毒透疹하는 효능이 있어서 한방 임상에서 血熱毒盛, 斑疹紫黑, 麻疹不透, 瘡瘍, 濕疹 등의 치료에 응용되고 있는 한약재이다^{21,22,23}.

紫草의 약리작용과 관련해서는 紫草의 항염증, 항균작용에 대한 각종 연구발표가 있고^{24,25,13,26,27}, 특히 최근에는 국내외의 여러 연구자들을 통해 紫草의 대표적인 성분인 shikonin의 항염증, 항종양효능^{28,29} 등 각종생리작용에 대한 보고가 계속되고 있다^{27,30}.

최근 면역학적 연구를 통해 알러지 질환에 있어서 염증반응이 중요한 기전으로 논의되고 있으며 이에 따라 치료제의 개발에 있어서도 염증반응의 조절에

치료의 목표가 설정되고 있는 경우가 많다^{31,32,33}. 그리하여 알러지 질환 치료제의 유효성에 대한 근거를 염증과 관련한 각종 사이토카인들을 지표로 하여 평가하려는 다양한 연구가 진행되고 있다^{13,14,15,19}.

紫草의 치료기전이나 효능과 관련한 면역학적 연구로는 Vanisree Staniforth 등²⁶에 의해 紫草의 주성분인 Shikonin이 in vivo에서 대표적인 염증성 사이토카인인 tumor necrosis factor- α (TNF- α)를 억제하는 효능이 있음을 보고한 바 있다. 또한 국내에서는 박 등¹³이 紫草추출물의 생쥐의 B세포의 각종 염증성 사이토카인에 대한 억제효과를 확인함으로써 紫草가 알러지의 치료에 유효한 치료 작용이 있음을 발표하였다.

그러나 한방에서 피부과 질환의 치료약재로 사용되는 紫草와 관련한 면역학적 연구는 많이 이루어지지 못한 실정이다.

이에 본 실험은 최근에 급속히 늘어나고 있는 알러지 질환의 치료에 대한 紫草추출물의 항염증작용을 규명하고자 in vitro에서 macrophage cell에 紫草추출물로 전처리한 후 lipopolysaccharaid(LPS, 100 ng/ml)로 자극하여 염증매개 사이토카인인 TNF- α , IL-6, IL-1 β , 그리고 IL-10의 발현정도에 紫草가 미치는 영향을 enzyme-linked immuno-sorbent assay (ELISA)로 측정한 결과, 염증에 대한 紫草의 효능과 관련한 유의한 결과를 얻었기에 이에 보고하는 바이다.

材料 및 方法

1. 재료

1) 검액의 제조

약재는 경희대학교 한의과대학 부속한방병원에서 구입하였다. 紫草 250 g을 3 L 등온 플라스크에 넣고 2,500 ml의 증류수를 가하여 냉각기가 부착된 전탕기에서 2시간 동안 가열한 다음, 전탕액을 여과지로 여과하고 여과액을 동결건조하여 extract 24.7 g을 얻었다. 紫草의 macrophage 264.7 cell에서의 처리는 50, 100, 250, 500, 1000 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도로 하였다.

2) 시약

본 실험에 사용한 시약인 Lipopolysaccharide(LPS)와 Hydrocortisone은 Sigma社(St. Louis, MO, U.S.A.)를 구입하였다.

3) 세포의 배양

Macrophage 264.7 cell 배양은 dulbecco's minimum eagle's medium (DMEM, 10% fetal bovine serum (FBS), penicillin; 100 U/ml, streptomycin; 100 U/ml)배지를 사용하였으며, macrophage 264.7 cell은 24 well plate에 2×10^6 /well을 주입하고 5% CO₂, 37℃에서 배양하였다.

2. 실험방법

1) 실험군의 분류

실험군은 macrophage 264.7 cell 만을 배양한 정상군, LPS(100 ng/ml)로 stimulation한 대조군, hydrocortisone으로 전처리 후 LPS로 stimulation한 hydrocortisone 전처리군, 그리고 紫草를 전처리한 후 LPS로 stimulation한 紫草 전처리군으로 분류하였다. 紫草의 농도는 50, 100, 250, 500, 1,000 $\mu\text{g/ml}$ 로, hydrocortisone의 농도는 10^8 , 10^7 , 10^6 , 10^5 , 10^4 M로 하였다.

2) 세포 염증 억제 실험

Macrophage 264.7 cell 2×10^6 을 24 well plate에 분주하여 overnight incubation한 후, medium을 갈아주었다. 그 후 紫草를 농도별로 처리한 후 1시간 지나 LPS (100 ng/ml)로 stimulation 하였다. TNF- α , IL-6는 12시간 후에, 그리고 IL-1 β 와 IL-10은 24시간 후에 각각 medium을 건어내어 2,000 rpm, 4℃에서 10분간 원심분리하여 상층액을 분리하였다.

3) Cytokine의 정량 측정

TNF- α , IL-6, IL-10과 IL-1 β 의 정량은 enzyme-linked immuno-sorbent assay (ELISA) 방법을 사용하였다. Plate (Nunc Maxisorp)에 capture antibody를 25℃, overnight coating을 한 후, plate를 washing buffer로 washing하였다. 1% BSA, 5% sucrose, 0.05% NaN₃를 포함하고 있는 phosphate buffered saline(PBS)로 실온

에서 blocking한 후, sample을 두 시간 동안 실온에서 배양하였다 (sample은 0.1% BSA, 0.05% Tween 20을 포함하고 있는 PBS로 희석하였다). Plate를 다시 washing한 후 detection Ab로 실온에서 두 시간 배양하고 plate를 washing, streptavidin-horseradish peroxidase로 20분간 실온 배양 후 다시 washing하였다. Tetramethylbenzidine (TMB) substrate를 첨가한 후 실온서 20분간 반응시킨 후 stop solution (2N H₂SO₄)으로 반응을 정지, 450nm에서 O.D값을 측정하였다.

3. 통계 처리

모든 지표는 mean \pm S.E.로 나타내었으며 Student's t-test를 행하여 $p < 0.05$ 일 경우 유의성이 있다고 하였다.

結 果

Cytokine 분비에 대하여 紫草와 hydrocortisone은 뚜렷한 차이를 보였다.

紫草는 TNF- α , IL-6, IL-10의 분비량을 억제시킨 반면 IL-1 β 은 오히려 증가시키는 이중적인 작용을 보였으나, hydrocortisone은 TNF- α , IL-6, IL-10, IL-1 β 의 분비량을 모두 억제시켰다.

1. TNF- α 의 발현에 미치는 영향

Macrophage cell에 LPS (100 ng/ml)를 처리후 pro-inflammatory cytokine인 TNF- α 의 발현정도에 紫草가 미치는 영향을 ELISA로 측정한 결과가 아래 표와 같다(Table 1)(Fig 1).

Hydrocortisone군에서는 대체로 hydrocortisone의 농도에 비례하여 TNF- α 가 억제되고 있음을 알 수 있다. Hydrocortisone의 가장 저농도인 10^8 M농도에서 만 억제효과가 나타나지 않았고, 나머지 10^7 , 10^6 , 10^5 , 10^4 M 각각의 농도에서 유의수준 $p < 0.01$ 로 유의하게 억제효과를 나타냈다. 紫草군에서는 실험에 사용된 5가지 紫草의 농도(50, 100, 250, 500, 1000 $\mu\text{g/ml}$) 모두에서 TNF- α 가 유의하게 억제되고 있다. 그러나 紫草군의 경우에는 紫草의 TNF- α 에 대한 억

Table 1. Effects of *Jacho* on LPS-induced TNF- α in Macrophages 264.7

Treatment of cells	TNF- α (pg/ml)(Mean \pm S.E)
Normal	272.05 \pm 5.72
LPS	2278.33 \pm 52.47
LPS + hydrocortisone (10 ⁻⁸ M)	2208.00 \pm 114.24
LPS + hydrocortisone (10 ⁻⁷ M)	1763.00 \pm 106.67**
LPS + hydrocortisone (10 ⁻⁶ M)	1559.33 \pm 84.99**
LPS + hydrocortisone (10 ⁻⁵ M)	1616.33 \pm 55.03**
LPS + hydrocortisone (10 ⁻⁴ M)	1269.50 \pm 101.43**
LPS + <i>Jacho</i> (50 μ g/ml)	1928.83 \pm 48.94**
LPS + <i>Jacho</i> (100 μ g/ml)	1952.33 \pm 67.61**
LPS + <i>Jacho</i> (250 μ g/ml)	1743.20 \pm 225.73*
LPS + <i>Jacho</i> (500 μ g/ml)	1982.17 \pm 82.48*
LPS + <i>Jacho</i> (1000 μ g/ml)	1861.17 \pm 51.83**

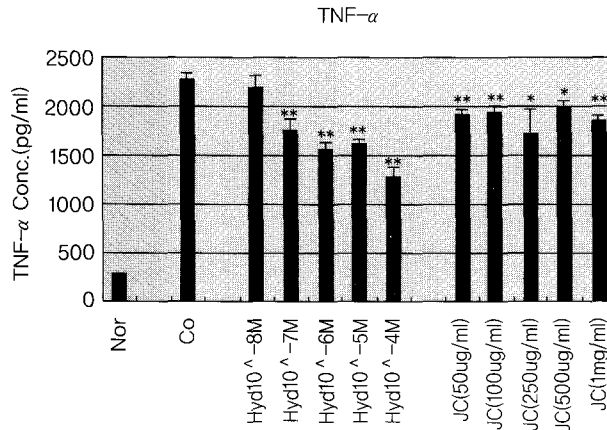


Fig. 1. Effects of *Jacho* on TNF- α by LPS-stimulated in macrophages 264.7

Cells were pretreated for 1 hour with drug. At the end of pretreatment, macrophage were incubated with LPS 100 ng/ml for 12 h and media collected and analyzed as described under material and methods. Drugs were used 50, 100, 250, 500, 1000 μ g/ml. Hydrocortisones were used 10⁻⁸, 10⁻⁷, 10⁻⁶, 10⁻⁵, 10⁻⁴ M. Data are presented as means \pm standard error. * p <0.05 and ** p <0.01 indicate statistically significant differences from the LPS-treated group.

제 효과가 紫草의 농도에 비례하지는 않게 나타났고, 紫草의 농도가 250 μ g/ml에서 억제 효과가 가장 컸다. 또 紫草의 TNF- α 에 대한 억제효과는 대체로 hydrocortisone 10⁻⁸ M과 10⁻⁷ M 사이 정도의 농도와 유사한 억제효과를 보여주고 있다.

2. IL-6의 발현에 미치는 영향

Macrophage cell에 LPS (100 ng/ml)를 처리후 pro-inflammatory cytokine인 IL-6의 발현정도에 紫草가 미치는 영향을 ELISA로 측정된 결과가 아래 표와

같다(Table II)(Fig 2).

Hydrocortisone 10⁻⁸ M농도에서는 IL-6가 오히려 유의하게 증가하였으며 10⁻⁷ M농도에서는 억제효과가 없었으며 10⁻⁶, 10⁻⁵, 10⁻⁴ M 각각의 농도에서는 모두 유의하게 (p <0.01) 억제되는 것으로 나타났다. Hydrocortisone군은 전체적으로는 농도에 비례한 억제효과를 나타내는 것으로 보여지고 가장 고농도인 hydrocortisone 10⁻⁴ M농도에서 가장 큰 억제효과를 나타냈다. 紫草군에서는 紫草의 5가지 농도(50, 100, 250, 500, 1000 μ g/ml) 모두에서 IL-6가 유의하게

Table 2. Effects of *Jacho* on LPS-induced IL-6 in Macrophages 264.7

Treatment of cells	IL-6 (pg/ml)
Normal	8.14 ± 1.45
LPS	97.16 ± 2.09
LPS + hydrocortisone (10 ⁸ M)	113.73 ± 2.48 ⁺⁺
LPS + hydrocortisone (10 ⁷ M)	90.77 ± 3.25
LPS + hydrocortisone (10 ⁶ M)	74.88 ± 0.47 ^{**}
LPS + hydrocortisone (10 ⁵ M)	81.34 ± 2.23 ^{**}
LPS + hydrocortisone (10 ⁴ M)	40.34 ± 1.53 ^{**}
LPS + <i>Jacho</i> (50 μ g/ml)	82.13 ± 3.29 ^{**}
LPS + <i>Jacho</i> (100 μ g/ml)	89.41 ± 2.80 [*]
LPS + <i>Jacho</i> (250 μ g/ml)	69.85 ± 8.30 ^{**}
LPS + <i>Jacho</i> (500 μ g/ml)	77.96 ± 1.69 ^{**}
LPS + <i>Jacho</i> (1000 μ g/ml)	58.60 ± 1.62 ^{**}

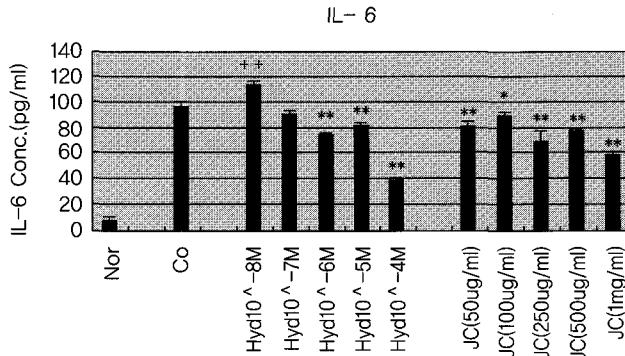


Fig. 2. Effects of *Jacho* on IL-6 by LPS-stimulated in macrophages 264.7

Cells were pretreated for 1 hour with drug. At the end of pretreatment, macrophage were incubated with LPS 100 ng/ml for 12 h and media collected and analyzed as described under material and methods. Drugs were used 50, 100, 250, 500, 1000 μ g/ml. Hydrocortisones(+) were used 10⁸, 10⁷, 10⁶, 10⁵, 10⁴ M. Data are presented as means \pm standard error. * p <0.05, ** p <0.01 and ++ p <0.01 indicate statistically significant differences from the LPS-treated group.

(p <0.01) 억제되는 것으로 나왔으나 그 억제효과가 농도에 비례하지는 않았다. 그러나 紫草군의 가장 저농도인 50 μ g/ml에서 억제효과가 가장 낮고 紫草군의 가장 고농도인 1000 μ g/ml 농도에서 억제효과가 가장 높았던 점을 미루어보면 대체적으로는 농도에 비례한 억제효과가 있음을 알 수 있다.

3. IL-1 β 의 발현에 미치는 영향

Macrophage cell에 LPS (100 ng/ml)를 처리후 pro-inflammatory cytokine인 IL-1 β 의 발현정도에 紫草가 미치는 영향을 ELISA로 측정 한 결과가 아래 표와

같다(Table III)(Fig 3).

Hydrocortisone군과 紫草군이 IL-1 β 에 대해서 상반된 결과를 나타냈다. Hydrocortisone군에서는 hydrocortisone의 5가지 모든 농도(10⁸, 10⁷, 10⁶, 10⁵, 10⁴ M)에서 농도에 비례하여 IL-1 β 를 유의하게 (p <0.01) 억제하고 있는 반면, 紫草군에서는 紫草의 5가지 농도 모두(50, 100, 250, 500, 1000 μ g/ml)에서 IL-1 β 를 유의하게 (p <0.01) 증가시키고 있는 것으로 나타났다. 또한 이러한 IL-1 β 에 대한 증가는 농도에 반비례한 것으로 조사되었다. 즉 가장 저농도인 紫草 50 μ g/ml 농도에서 증가효과가 가장 크고 가장 고

Table 3. Effects of *Jacho* on LPS-induced IL-1 β , in Macrophages 264.7

Treatment of cells	IL-1 β (pg/ml)
Normal	1.91 \pm 0.11
LPS	4.07 \pm 0.21
LPS + hydrocortisone (10 ⁻⁸ M)	3.31 \pm 0.09**
LPS + hydrocortisone (10 ⁻⁷ M)	2.27 \pm 0.19**
LPS + hydrocortisone (10 ⁻⁶ M)	1.98 \pm 0.15**
LPS + hydrocortisone (10 ⁻⁵ M)	2.09 \pm 0.04**
LPS + hydrocortisone (10 ⁻⁴ M)	1.63 \pm 0.10**
LPS + <i>Jacho</i> (50 μ g/ml)	7.74 \pm 0.24++
LPS + <i>Jacho</i> (100 μ g/ml)	6.25 \pm 0.30++
LPS + <i>Jacho</i> (250 μ g/ml)	6.17 \pm 0.13++
LPS + <i>Jacho</i> (500 μ g/ml)	6.07 \pm 0.23++
LPS + <i>Jacho</i> (1000 μ g/ml)	5.99 \pm 0.20++

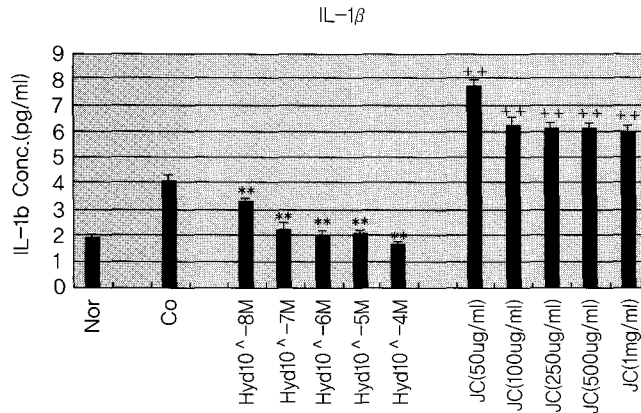


Fig. 3. Effects of *Jacho* on IL-1 β by LPS-stimulated in macrophages 264.7

Cells were pretreated for 1 hour with drug. At the end of pretreatment, macrophage were incubated with LPS 100 ng/ml for 24 h and media collected and analyzed as described under material and methods. Drugs were used 50, 100, 250, 500, 1000 μ g/ml. Hydrocortisones(+) were used 10⁻⁸, 10⁻⁷, 10⁻⁶, 10⁻⁵, 10⁻⁴ M. Data are presented as means \pm standard error. ** $p < 0.01$ and ++ $p < 0.01$ indicate statistically significant differences from the LPS-treated group.

농도인 紫草 1000 μ g/ml 농도에서 증가효과가 가장 작았다.

4. IL-10의 발현에 미치는 영향

Macrophage cell에 LPS (100 ng/ml)를 처리후 anti-inflammatory cytokine인 IL-10의 발현정도에 紫草가 미치는 영향을 ELISA로 측정된 결과가 아래 표와 같다(Table IV)(Fig 4).

Hydrocortisone군에서는 가장 저농도인 hydrocortisone 10⁻⁸ M의 농도만 제외하고 나머지 4개

의 농도(10⁻⁷, 10⁻⁶, 10⁻⁵, 10⁻⁴ M)에서 모두 IL-10을 유의하게 ($p < 0.01$) 억제하는 효과를 나타냈다. 그리고 그 억제효과는 전체적으로 농도에 비례한 것을 알 수 있다. 紫草군은 5가지 모든 농도(50, 100, 250, 500, 1000 μ g/ml)에서 IL-10을 유의하게 ($p < 0.01$) 억제하고 있으며 일관되지는 않지만 대체로 그 억제효과는 농도에 비례하는 것으로 보인다.

考 察

아토피성 피부염은 임상적으로 피부건조증과 심

Table 4. Effects of Jacho on LPS-induced IL-10 in Macrophages 264.7

Treatment of cells	IL-10 (pg/ml)
Normal	339.87 ± 13.43
LPS	902.27 ± 64.36
LPS + hydrocortisone (10 ⁸ M)	797.43 ± 46.94
LPS + hydrocortisone (10 ⁷ M)	591.37 ± 18.31**
LPS + hydrocortisone (10 ⁶ M)	471.45 ± 8.16**
LPS + hydrocortisone (10 ⁵ M)	546.62 ± 12.66**
LPS + hydrocortisone (10 ⁴ M)	370.83 ± 3.85**
LPS + Jacho(50 µg/ml)	719.38 ± 36.26*
LPS + Jacho(100 µg/ml)	579.25 ± 28.77**
LPS + Jacho(250 µg/ml)	601.85 ± 39.26**
LPS + Jacho(500 µg/ml)	557.72 ± 17.31**
LPS + Jacho(1000 µg/ml)	535.20 ± 30.67**

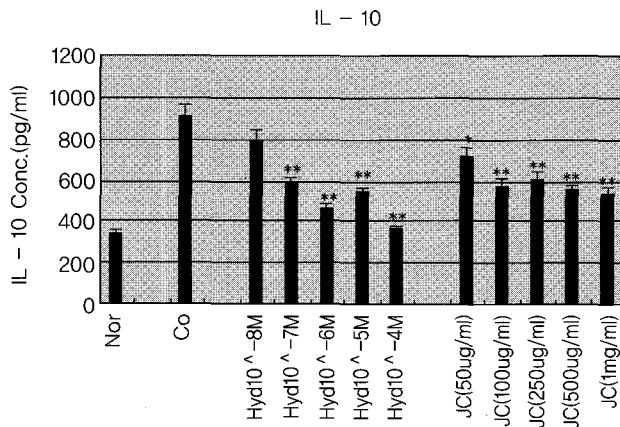


Fig. 4. Effects of Jacho on IL-10 by LPS-stimulated in macrophages 264.7.

Cells were pretreated for 1 hour with drug. At the end of pretreatment, macrophage were incubated with LPS 100 ng/ml for 24 h and media collected and analyzed as described under material and methods. Drugs were used 50, 100, 250, 500, 1000 µg/ml. Hydrocortisones were used 10⁸, 10⁷, 10⁶, 10⁵, 10⁴ M. Data are presented as means ± standard error. *p<0.05 and ** p<0.01 indicate statistically significant differences from the LPS-treated group.

한 소양증, 조직학적으로 면역세포의 침윤을 특징으로 하는 피부의 만성 재발성 염증성 질환으로³⁴⁾, 2000년도 대한 소아알러지 및 호흡기학회에서 시행한 설문조사에 의하면 우리나라 초등학생의 유병율은 24%, 중학생은 13%로 나타났다^{35,10)}.

알러지 질환은 비교적 흔한 만성 질환임에도 불구하고 그 정확한 발병기전 및 원인이 밝혀져 있지 않고 효과적인 진단과 치료에도 어려움이 많은 질환이다^{36,11,37,38)}. 최근 10년간 분자 유전학의 눈부신 발달과 면역조절 기전에 대한 괄목할 만한 지식의 축적을 바탕으로 하여 치료를 위한 다양한 노력에도 불

구하고, 전세계적으로 알러지 질환이 오히려 급증하고 있는 것은 알러지 질환이 유전적 성향과 환경적인 복합 요인들에 의하여 발생하기 때문인 것으로 알려져 있다³⁸⁾.

알러지 반응은 생체가 동일한 항원에 반복적으로 접촉함으로써 그 항원에 대해 처음에는 인정되지 않았던 이상반응, 즉 과민반응이 나타나는 것으로 여기에는 4가지의 유형이 있다¹¹⁾. 그 중에서 제 1형 과민반응은 anaphylaxis type 또는 IgE 의존형이라 하여 비염, 천식, 아토피피부염 등 대부분의 알러지 질환들이 여기에 해당하는 것으로, 이러한 제 1형 과

민반응에 있어서 비만세포와 IgE 항체가 특히 중요한 역할을 한다. 비만세포에 항원이 접촉되면 세포 표면 IgE 수용체의 상호 결합이 일어나며, 이를 통해 비만세포 활성화가 일어난다. 이러한 세포 활성화로 인해 비만세포 내에 이미 형성되어 있거나 또는 새로 합성되는 여러 종류의 매개체들이 세포 밖으로 방출되는 것이다. 특히 사이토카인이 중요한데, 그 종류로는 interleukins(IL)-1,3,4,5,6,10,13,16과 TNF- α , granulocyte macrophage colony stimulating factor, transforming growth factor- α , platelet derived growth factor, nerve growth factor, macrophage chemotactic protein-1, macrophage inhibitor protein-1 α , β 그리고 lymphotactin 등이 있다. 이들은 급성염증에서 혈관투과성을 증가시키고, 혈관 확장, 통증 유발, 백혈구 부착, 백혈구 화학주성, 급성기 반응, 조직 손상 등을 유발시킨다. 그리고, 만성 재발성 염증성 질환인 아토피 소인을 가진 사람들에게 흔히 나타나서 소양감, 발적, 혈관부종 등의 증상을 일으키는 원인이 된다.

이렇게 알러지 질환의 기전에는 여러 세포간 또는 분자간의 상호관계들이 복잡하게 얽혀 있으며³⁹⁾, 알러지 질환에 대한 최근 연구들에서 주요 눈점이 되고 있는 내용은 Th1세포와 Th2세포에서 분비되는 면역조절 사이토카인들 사이의 불균형, IgE와 cytokine의 생산, 염증매개물질에 대한 세포와 조직의 반응, cytokine이나 chemokine 자체에 대한 작용 등이다¹²⁾. 특히 혈청 IgE의 상승 및 Th2 cytokine들과 관련되어 발행하는 호산구의 염증반응은 알러지 질환의 특징이며 또한 이 질환의 면역학적 조절을 위해 제시되는 target이 되기도 한다³⁹⁾.

한편 최근에는 한방에서 사용 중인 단기 약제나 처방을 중심으로 아토피 피부염을 비롯한 알러지 질환에 대한 치료기전과 효능을 평가하려는 다양한 연구가 이어지고 있다.¹³⁻²⁰⁾

紫草의 효능 주치와 관련한 역대 한의학 의서에 수록된 내용을 고찰해보면, 名醫別錄에는 “복부가 창만하여 아픈 증세를 치료한다. 고약으로 만들어

어린이의 瘡과 面皴를 치료한다”고 하였고, 藥性論에서는 “惡瘡, 癩癬을 치료한다”라 하였으며, 本草圖經에는 “상한병 치료에서 瘡이 생겼으나 진이 나오지 않을 때에는 이것을 써서 나오게 한다” 이라 기록되어 있고, 本草綱目에는 “반진, 痘毒을 치료하며 혈액순환을 촉진시키고 涼血하며 대장을 이롭게 한다”²³⁾고 하였다. 또 陝西中草藥에는 “화상, 피부염, 습진, 요로감염을 치료한다”²³⁾라고 되어 있다.

紫草는 예로부터 한방의 피부과 영역에 널리 사용되어온 약재중의 하나로 문헌에 소개되어 있는 각종 처방 레를 살펴보면 錢은 小兒藥證直訣에서 釣鉤藤과 紫草茸을 같은 분량으로 하여 紫草散을 만들어 소아의 瘡疹치료에 사용하였고, 小兒衛生總微論方에서는 紫草如聖湯으로 瘡疹에 응용하였으며, 吉林中草藥에서는 紫草를 癩疹의 예방에 사용하였다²³⁾. 또한 仁齋直指方에서는 紫草를 이용한 외용제 紫草膏를 만들어 熱瘡를 치료하였고, 瘍醫大畧에서도 역시 紫草를 이용한 고약인 紫茸膏를 만들어 어린이의 胎毒, 疥癬, 兩眉生瘡, 전신 가려움증, 장기간 치료되지 않는 膿水淋癩의 치료에 사용한 기록이 남아 있다²³⁾. 그 밖에도 幼科金針에도 紫草潤飢膏라는 紫草고약을 이용하여 火傷과 發泡腐爛을 치료한다는 내용이 실려 있다²³⁾. 또 醫學入門에는 紫草를 달여 豌豆瘡, 面皴, 惡瘡, 癩癬을 치료한다는 기록이 있다²³⁾.

紫草의 효능과 관련한 국내외의 현재까지의 연구 결과를 살펴보면, 먼저 日本에서는 紫草의 항종양 작용, 強心作用 등 각종 生理作用에 대한 보고가 있고, 國內에서는 紫草의 에탄올 추출물이 *Staphylococcus aureus*, 곰팡이, 효모류 등 각종 미생물에 대해 抗菌作用을 갖고 있음이 보고되었다²³⁾. 또 다른 연구에서도 紫草의 뿌리에는 Shikonin, Acetylshikonin, Alkannan, Isobutyrylshikonin, β -Dimethyl acryloylshikonin, β -Hydrxy isvaloryl shikonin, Teracryl shikonin 등의 성분이 들어 있어 고농도에서 抗菌力을 가진 것으로 밝혀졌다²⁴⁾. 또한 紫草의 대표적인 성분인 shikonin의 항종양작용에 대한 연구도

최근 활발하게 이루어지고 있어 紫草를 이용한 다양한 질환의 치료가능성이 열리고 있다^{28,29)}.

염증이란 다양한 생리적, 화학적, 또는 생물학적 침습에 대한 생체의 방어반응이다. 고전적으로는 로마시대의 의학자 Celsus가 급성 염증의 특징으로서 발적(rubor), 종창(tumor), 열감(calor), 동통(dolor) 이라는 4개의 증후를 들고 있다. 전신적 반응으로서 는 발열을 일으키고 말초혈에서 백혈구 수가 보통 증가하며 간에서는 염증의 지표가 되는 급성기 반응 단백질이 생산된다. 그 시발점이 되는 것은 염증 시에 유도되는 각종 사이토카인이다⁴⁰⁾.

사이토카인은 염증, 면역, 조혈반응 등의 생체방어 반응을 제어하는 중요한 활성 폴리펩티드의 일 군이며 신경계, 내분비계와 유기적으로 연결하면서도 독특한 생체방어 시스템을 형성한다. 1965년의 Gordon 등에 의한 임파구 배양 상청 중의 blastogenic factor의 발견이래 현재까지 150가지 가량의 사이토 카인이 발견되어 생화학적 정제, 유전자 클로닝이 이루어져 오고 있다⁴⁰⁾. 염증성 사이토카인의 중심인 TNF- α 와 IL-6, IL-1은 다양한 전신반응을 일으키는 것으로 알려져 있다. 시상하부의 체온조절중추에서는 PGE2의 생산을 매개로 발열을 유도하고, 또한 골수에서는 저장 백혈구의 동원이나 각종 CSF 생산을 유도함으로써 말초 혈액중의 백혈구 증대에 관여하는 한편 간세포에 작용하여 염증의 지표가 되는 각종 급성기 반응 단백질(acute-phase protein)의 생산을 유도한다⁴⁰⁾.

또 최근에는 紫草의 비만세포의 탈과립 억제작용 과 혈장 histamine 유리 억제효능에 대한 김⁴¹⁾의 보고 가 있었다. 그러나 한의학에서 피부과 영역의 질병에 대해 오래전부터 널리 사용되어온 紫草의 치료 기전과 효능에 대한 면역학적인 연구결과는 많지 않은 상황이다.

이에 본 실험은 최근에 급속히 늘어나고 있는 알 리지 질환의 치료에 대한 紫草의 항염증효능을 규 명하고자 하였다. 그리고 紫草의 작용과 비교하기 위해 hydrocortisone을 사용한 양성대조군을 설정하 였다. Hydrocortisone은 아토피 피부염을 비롯한 피

부질환에 가장 뛰어난 대증요법제로서 작용기전은 다양하나 완전히 알려져 있지 않으며 일반적으로 소염작용과 면역억제 작용이 중요시되고 있다. 소염작용은 백혈구의 축적과 기능, 단핵세포와 호산 구의 수, 보체성분 등을 감소시키며 히스타민 매개 반응을 억제한다. 면역억제 작용은 혈장내의 면역 글로블린과 보체의 양을 감소시키고 림프구와 단핵 세포의 기능을 감소시킨다^{42,43)}.

여러 가지 농도에 따른 작용의 차이를 비교하고 가장 유효한 농도를 알아보기 위해 紫草는 5가지 농 도 (50, 100, 250, 500, 1000 $\mu\text{g/ml}$)로 분류되어 각각의 농도에 따른 결과를 조사하였으며 hydrocortisone도 5가지 농도 (10^8 , 10^7 , 10^6 , 10^5 , 10^4 M)로 분류하여 실험하였다.

한편 최근의 연구결과에 따르면, CD4+ T세포가 제1형 T세포 (Th1)와 제2형 T세포 (Th2)로 활성화되 는 것이 알려졌으며⁴⁴⁾, Th1은 interferon-gamma (IFN- γ), tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-2 (IL-2) 를 주로 분비하여 세포 매개성 면역에 관여하고⁴⁵⁾ 주 로 아토피 피부염의 만성기에 관찰되는 반면, Th2는 IL-4, IL-5, IL-10, IL-13을 주로 분비하며 체액성 면역 에 관여하고⁴⁶⁾ 아토피 피부염의 급성기에 관찰된다. IL-4는 Th1의 기능을 억제하고 IFN- γ 는 Th2의 기능 을 억제하여 서로 길항적인 조절 역할을 하고 있다. 또한 아토피 피부염 환자들의 말초혈액에서 채취한 T세포와 급성기의 피부에 침습한 세포들을 분석하 면 IL-4, IL-5가 높은 수준으로 존재하되 IFN- γ 는 적 은 양으로 존재하는데 아토피 피부염의 초기에는 Th2가 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다³⁹⁾. 즉 아토피 피부염에서 염증 반응의 유발 및 유지기전 은 확실하지 않으나 주로 면역학적 관점에서 Th2반 응에 치우친 Th1과 Th2세포 사이의 생체내 균형의 이상으로서 설명하고 이해하려는 시도가 최근 주류 를 이루고 있다⁴⁷⁾.

염증성 사이토카인의 중심인 TNF- α 와 IL-6, IL-1 가운데 먼저 TNF- α 는 면역반응의 초기에 분비되는 전염증기 사이토카인으로 주로 활성화된 단구와 대 식세포에서 합성되며, 이 외에 Th2세포와 Th0세포

에서도 생산되는 것이 증명되었다⁴⁸⁾. 과량의 TNF- α 는 endocrine hormone의 작용을 나타내어, 체온 상승(endogenous pyrogen)을 유발할 수 있으며, 간세포(hepatocyte)에 작용하여 급성기반응단백질(acute phase reactant protein)들을 혈액 내로 만들게 하며 또한 골수전구세포의 분열을 억제하여 림프구감소증(lymphopenia)이나 면역결핍(immunodeficiency)을 유도할 수도 있으며, 근육세포의 대사작용을 촉진하여 저혈당 상태를 유도할 수도 있다. 반면에 낮은 양의 TNF- α 는 염증반응에서 백혈구들이 혈관내피세포에 부착하는 것을 촉진하며, 염증세포들의 미생물 살해능력을 증가시키며, mononuclear phagocytes에 작용하여 여러 가지 염증반응에 관여하는 사이토카인을 생산하게 만들어 염증반응을 촉진한다⁴⁹⁾. 또한 T와 B cell의 활성화에 co-stimulator로 작용하기도 하며, 종양세포에 작용하여 세포자살(apoptosis)을 유도하기도 한다. LPS의 양이 적은 경우는 TNF- α 가 적은 양 생성되어, 백혈구나 혈관세포에 작용하여 국소적인 염증반응이 나타나 항원이 제거된다. 그러나 패혈증(septicemia)과 같이 LPS가 다량 존재하게 되면 TNF- α 가 너무 많이 만들어져 조직의 손상이나 전신혈관응고(DIC, systemic Shwartzman reaction)와 같은 심각한 결과를 초래할 수 있다⁴⁹⁾. 본 실험의 결과 TNF- α 의 경우 紫草군에서는 실험에 사용된 5가지 紫草의 농도 모두에서 대조군에 비해 TNF- α 가 유의하게 억제되고 있다. 그리고 그 억제 효과는 紫草의 농도가 250 $\mu\text{g/ml}$ 에서 가장 크게 나타났다. 또 紫草의 TNF- α 에 대한 억제 효과는 대체로 hydrocortisone 10⁻⁸ M과 10⁻⁷ M 사이 정도의 농도와 유사한 억제효과를 보여주고 있다. 이러한 결과는 紫草가 대식세포에서 TNF- α 의 분비를 억제함으로써 항염증효과를 나타내는 것으로 해석할 수 있다.

IL-6은 T세포, 대식세포, B세포, 섬유아세포, 내피세포에서 만들어진다. 모든 세포에 작용하나 특히 B세포가 항체형성세포로의 분화를 유발하며, 다발성 골수종세포와 혈장세포의 악성종양에 중요한 성장인자로 생각되어 진다⁴⁰⁾. 본 실험에서 IL-6은

hydrocortisone 전처리군과 비교하여, 紫草군에서도 비슷한 IL-6 억제 효과를 나타내었으며, 모든 농도에서 유의한 억제효과를 나타내었다. 이는 紫草가 대식세포에서 IL-6의 분비를 억제하여 항염증의 효과와 B세포의 억제로 항체생산의 감소를 유발하여 항알러지의 효과를 나타내는 것으로 볼 수 있다.

Hydrocortisone군과 紫草군이 IL-1 β 에 대해서는 상반된 결과를 나타냈다. IL-1 β 는 주로 활성화된 단핵식세포에서 분비되며 그 생물학적 활성의 중요한 점은 lymphocyte activating factor로서 CD4+ T림프구의 활성화와 증식 및 IFN- γ 분비를 촉진하며 혈관내피세포를 활성화하여 백혈구의 부착을 일으키는 것이다. 이처럼 IL-1 β 는 염증과정에서 매우 중요한 역할을 하며 알러지성 질환에서 I형 과민반응에 깊게 관여한다^{49,50)}. Hydrocortisone군에서는 hydrocortisone의 5가지 모든 농도(10⁻⁸, 10⁻⁷, 10⁻⁶, 10⁻⁵, 10⁻⁴ M)에서 농도에 비례하여 IL-1 β 를 유의하게 억제하고 있는 반면, 紫草군에서는 紫草의 5가지 농도 모두(50, 100, 250, 500, 1000 $\mu\text{g/ml}$)에서 IL-1 β 를 유의하게 증가시키고 있는 것으로 나타났다. 또한 이러한 IL-1 β 에 대한 증가는 농도에 반비례한 것으로 조사되었다. 즉 가장 저농도인 紫草 50 $\mu\text{g/ml}$ 농도에서 증가효과가 가장 크고 가장 고농도인 紫草 1000 $\mu\text{g/ml}$ 농도에서 증가효과가 가장 작았다. 이러한 결과는 紫草가 한편으로 염증을 유도하는 작용을 한다는 것을 의미한다.

Hydrocortisone군과 紫草군의 이러한 상반된 결과는 紫草가 hydrocortisone과는 염증과정에 대해 다른 기전을 갖고 있음을 보여준다고 사료된다. IL-1 β 는 급성기 염증단계에서 발현되는 사이토카인인데 紫草가 이것을 상승시키는 작용을 한다는 것은 紫草의 독특한 염증치료기전의 한 단면일 수 있다. 그러나 이러한 사실이 갖는 정확한 의미는 불분명하며 좀 더 많은 연구가 필요할 것으로 보인다. 이와 관련하여 한 가지 고려해 볼 점은 IL-1 β 의 측정 시간에 대한 문제이다. 본 실험에서는 macrophage를 紫草로 전처리한 후 LPS로 24시간동안 자극한 후 IL-1 β 에 대한 측정이 이루어졌는데, 시간 간격을 24시간 만

이 아닌 12시간 혹은 36시간 등 여러 가지로 세분하여 측정해 보는 것이 이 부분에 대한 좀 더 많은 정보를 얻게 해줄 것이다.

IL-10은 Th1 사이토카인 분비를 억제하는 능력 때문에 사이토카인 합성 억제 요소 (cytokine synthesis inhibitory factor: CSIF)로 불렸으나⁵¹⁾, Katsikis 등⁵²⁾은 IL-10이 Th2세포와 Th1세포 모두에서 생성됨을 밝혀냈다. IL-10은 T세포, B세포, 대식세포에서 생성되며 주로 인간 B세포를 자극하여 인체 주조직 적합항원복합체 (human major histocompatibility complex, MHC) class II항원 발현의 증가를 유도하기도 하고, 단핵구 표면에서 MHC class II항원 발현을 억제하여 T세포의 활성능을 억제한다. 또한 IL-10은 단핵구와 대식구에서의 IL-1, TNF- α , IL-6, IL-8,과 IL-12의 분비를 억제하고⁵³⁾, T세포에서의 INF- γ 와 IL-2의 분비를 억제한다⁵⁴⁾. IL-10의 생산량은 면역조절과 염증반응 사이의 균형을 조절하는데 중요하다. 아토피 피부염 환자에서는 피부병변⁵⁵⁾과 말초혈액 단핵구^{56,57)}에서 IL-10의 증가가 관찰되었고, IL-10 mRNA의 발현도 아토피 피부염 환자의 피부병변⁵⁸⁾과 말초혈액 단핵구^{58,59)}에서 모두 증가되어 있다. 아토피 피부염 환자에서는 IL-10의 증가로 체액성 면역 반응이 증진되고 Th1 반응이 감소되어 IL-10과 아토피 피부염의 발생과는 관련 가능성이 있다^{55,60)}. 본 실험의 결과 紫草군의 5가지 모든 농도(50, 100, 250, 500, 1000 $\mu\text{g/ml}$)에서 IL-10을 유의하게 억제하고 있으며 일관되지는 않지만 대체로 그 억제효과는 농도에 비례하는 것으로 보인다.

이러한 실험의 결과를 종합해 보았을 때, 紫草가 염증과 면역조절 과정에 명백하게 관여하고 있으며, 염증과정에서 증가되어 염증의 지표로 사용되는 대표적 사이토카인인 TNF- α 와 IL-6의 발현을 명백하게 억제하는 효능을 갖고 있는 것으로 보아 염증을 억제하는 효능이 있다고 사료된다. 또한 아토피 피부염 환자의 말초혈액과 피부병변에서 증가된 소견을 나타내는 IL-10을 억제하는 것으로 보아 TNF- α 와 IL-6를 억제하는 항염증효능과 더불어 아토피피부염의 진행을 억제하는 효과를 갖는 것으로

보여진다.

또한 실험결과 紫草군과 hydrocortisone군의 차이를 통해 紫草의 염증조절기전이 hydrocortisone과는 다른 측면에서 이루어지는 것이 확인되었으며 이에 대해서는 추가적인 연구와 실험이 필요하다고 할 수 있다. 紫草의 항염증효능을 바탕으로 염증성 피부질환인 아토피피부염을 비롯한 알러지질환에 대한 유효한 치료효능이 유추되며, in vivo와 임상실험 등 추가적인 연구를 통해 정확한 기전과 함께 치료효능을 극대화할 수 있는 최적의 유효농도를 찾아내는 과정이 필요할 것이다.

結 論

紫草의 항알러지 염증의 작용을 알아보기 위해, macrophage 264.7 cell을 이용하여 분비되는 사이토카인의 양을 관찰하여 비교한 결과 다음의 결과를 얻었다.

1. 紫草는 TNF- α 의 분비량을 유의하게 억제시켰다.
2. 紫草는 IL-6의 분비량을 유의하게 억제시켰다.
3. 紫草는 IL-1 β 의 분비량을 유의하게 증가시켰다.
4. 紫草는 IL-10의 분비량을 유의하게 억제시켰다.

이상의 결과로 보아 紫草는 항알러지 염증에 효과가 있을 것으로 사료된다.

參 考 文 獻

1. Rothe MJ, Grant-kels JM. Atopic dermatitis: an update. J Am Acad Dermatol. 1996;35:1-13.
2. Ruzika T, Ring J, Przybilla B. Handbook of atopic eczema. Heidelberg Germany: Springer verlag. 1991.
3. Wuthrich B. Clinical aspects, epidemiology, and prognosis of atopic dermatitis. Ann Allergy Asthma Immunol. 1999;83:464-470.
4. Barnetson RSC, Rogers M. Childhood atopic eczema. BMJ. 2002;324:1376-1379.
5. Kyu Han Kim, Kyong Chan Park. Clinical

- Charisteristics of Adult Atopic Dermatitis. *Ann Dermatol.* 1998;10(4):229-232.
6. Smith JM. Epidemiology and natural history of asthma, allergic Rhinitis and atopic dermatitis. In: Middleton E Jr. Principles and Practice 2nd ed. St louis: The CV Mosby. 1983:771.
 7. Williams H, Robertson C, Stewart A, Ait-Khaled N, Anabwani G, Anderson R, Asher I, Beasley R, Bjorksten B, Burr M, Clayton T, Crane J, Ellwood P, Keil U, Lai C, Mallol J, Martinez F, Mitchell E, Montefort S, Pearce N, Shah J, Sibbald B, Strachan D, von Mutius E, Weiland SK. Related Articles, Links : Worldwide variations in the prevalence of symptoms of atopic eczema in the International Study of Asthma and Allergies in Childhood, *J Allergy Clin Immunol.* 1999;103:125-138
 8. 편복양. 한국 소아 아토피성 피부염의 전국적 역학 조사 결과 보고. 소아 알레르기 및 호흡기. 1997; 7(1):19-20.
 9. 이해성, 김종서, 편복양. 소아 아토피 피부염의 빈도와 원인의 변화. 소아 알레르기 및 호흡기학회지. 2002;12(4):263-270.
 10. 오재원 외 20인. 1995년과 2000년의 학동기와 2003년 학동전기 소아에서의 아토피 피부염의 역학적 변화에 관한 전국적인 연구. 소아알레르기 및 호흡기학회지. 2003;13(4):227-237.
 11. 康秉秀. 韓方臨床 알레르기. 서울:成輔社, 1998:22-23, 64, 68, 96-201.
 12. Huang SK. Molecular modulation of allergic response. *J Allergy Clin Immunol.* 1998;102:887-892.
 13. 박대원 외 4인. 생쥐의 B 세포에서 anti-CD40 과 rIL-4로 유도된 싸이토카인 생산에 대한 紫草의 효과. 대한본초학회지. 2003;18(4):73-81.
 14. 김정진 외 3인. 加味生料四物湯의 抗炎症 효과와 止痒膏의 아토피 피부염 손 상 및 止痒 효과에 미치는 영향. 동의생리병리학회지. 2003;17(2):428-435.
 15. 김우연. 沈瀧丹이 아토피 피부염 환자 단핵세포의 Cytokine 분비능에 미치는 영향. 경희대학교 대학원 박사학위논문. 2000.
 16. 박성남. 消風散이 BALB/c Mouse를 이용한 Atopy 피부염 Model에 미치는 영향. 경희대학교 대학원 박사학위논문. 2002.
 17. 정환수, 이진용. 加味熱多寒少湯 투여후 아토피 피부염 환자의 임상상 변화에 대한 연구. 대한한방소아과학회지. 2001;15(2):184.
 18. 전병득, 송창호, 최영숙, 박병건, 이무삼. 상백피가 compound 48/80에 의하여 유도된 anaphylatic shock와 비만세포의 히스타민 유리에 미치는 영향. 대한해부학회지. 1991; 24(2):193-203.
 19. 양성완. 수종 한약 처방이 아토피 피부염 환자의 SCORAD 및 Cytokine 변화에 미치는 영향. 경희대학교 대학원 박사학위논문. 2004.
 20. 이현우. 생혈윤부음 가미방이 아토피 피부염을 유발한 동물모델의 각질층 기능회복에 미치는 영향. 동국대 대학원 석사학위논문. 2003.
 21. 이상인 외. 本草學. 서울: 영림사. 1993:196-197.
 22. 雷載權, 張延模. 中華臨床中藥學. 북경: 인민위생출판사. 1998:485-490.
 23. 김창민 외역. 중약대사전. 정담. 1999:3611-3618.
 24. 윤광재 외 3인. 紫草뿌리의 성분 및 抗菌力에 관한 研究. 경희약대논문집. 1988;16:155-161.
 25. 박옥연, 장동석, 조학래. 紫草 추출물의 항균 특성. 한국영양식량학회지. 1992;21(1):97-100.
 26. Staniforth V, Wang SY, Shyur LF, Yang NS. Shikonins, phytochemicals from *Lithospermum erythrorhizon*, inhibit the transcriptional activation of human tumor necrosis factor alpha promoter in vivo, *J Biol Chem.* 2004;279(7):5877-5885.
 27. Chen X, Yang L, Oppenheim JJ, Howard MZ. Cellular pharmacology studies of shikonin derivatives. *Phytother Res.* 2002;16(3):199-209.

28. 조훈, 정용석, 방문수, 류성렬, 조병욱. Shikonin 유도체의 합성 및 그의 항암성 평가. 응용화학. 1998;2 (1):396~399.
29. Kim SH, Kang IC, Yoon TJ, Park YM, Kang KS, Song GY, Ahn BZ. Antitumor activities of a newly synthesized shikonin derivative, 2-hymin-DMNQ-S-33. *Cancer Lett.* 2001;172(2):171-175.
30. Kourounakis AP, Assimopoulou AN, Papageorgiou VP, Gavalas A, Kourounakis PN. Alkannin and shikonin: effect on free radical processes and on inflammation - a preliminary pharmacological investigation. *Arch Pharm (Weinheim)*. 2002;335(6):262-266.
31. Venge P. Monitoring the allergic inflammation. *Allergy*. 2004;59(1):26-32.
32. Dinarello CA. Proinflammatory cytokines. *Chest*. 2000;118(2):503-508.
33. Barnes PJ. New directions in allergic diseases: mechanism-based anti-inflammatory therapies, *J Allergy Clin Immunol*. 2000;106:15-16.
34. 장호선. 아토피 피부염의 진단과 치료. 가정의학회지. 2002;23(7):831-840.
35. 이해성, 김중서, 편복양. 소아 아토피 피부염의 빈도와 원인의 변화. 소아 알레르기 및 호흡기학회지. 2002;12(4):263~270.
36. 정규만. 알레르기과 한방. 서울:제일각. 1990: 101~108.
37. 김정희. 아토피 피부염의 진단과 치료. 알레르기. 1993;13:83-90.
38. Levy RM, Gelfand JM, Yan AC. The epidemiology of atopic dermatitis, *Clin Dermatol*. 2003;21(2):109-115.
39. Leung DY. Molecular basis of allergic diseases. *Mol Genet Metab*. 1998;63(3):157-167.
40. Toshio Hirano. 사이토카인 분자생물학. 월드 사이언스. 2002:73-85.
41. 김시해. 紫草가 아토피 피부염에 미치는 영향. 경희대 대학원 석사학위논문. 2004.
42. 대한피부과학회. 피부과학. 서울:麗文閣, 1994:133-138.
43. 조영주, 홍수중, 문희범. IL-4와 hydrocortisone에 의한 아토피환자 말초혈액 단핵구의 IgE 생산 조절. 서울알레르기학회지. 1997: 566-573
44. Mosmann TR, Cherwinski H, Bond MW, Giedlin MA, Coffman RL. Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. *J Immunol*. 1986;136(7):2348-2357.
45. Salgame P, Abrams JS, Clayberger C, Goldstein H, Convit J, Modlin RL, Bloom BR. Differing lymphokine profiles of functional subsets of human CD4 and CD8 T cell clones, *Science*. 1991;254(5029):279-282.
46. Mahanty S, Abrams JS, King CL, Limaye AP, Nutman TB. Parallel regulation of IL-4 and IL-5 in human helminth infections. *J Immunol*. 1992; 148(11):3567-3571.
47. 김정원. 알레르기 및 면역학적 관점에서의 아토피 피부염. 대한피부과학회지. 2003;41(6) 687-689.
48. 박종갑 외 3인. 아토피 피부염 말초혈액 단핵구에서의 IL-10, GM-CSF 및 TNF- α mRNA의 자발적 발현. 천식 및 알레르기. 1999;19(6) 912-919.
49. 김세종. IMMUNOLOGY. 서울:고려의학. 2000:1, 65, 154-156, 260-265
50. Abbas AK, Lichman AH, Pober JS. Cellular and molecular immunology. Philadelphia:Saunders. 1997:250-277.
51. Fiorentino DF, Bond MW, Mosmann TR. Two types of mouse T helper cell. IV. Th2 clones secrete a factor that inhibits cytokine production by Th1 clones. *J Exp Med*. 1989;170(6):2081-2095.
52. Katsikis PD, Cohen SB, Londei M, Feldmann M. Are CD4+ Th1 cells pro-inflammatory or anti-inflammatory? The ratio of IL-10 to IFN-gamma

- or IL-2 determines their function. *Int Immunol.* 1995;7(8):1287-1294.
53. de Waal Malefyt R, Abrams J, Bennett B, Figdor CG, de Vries JE. Interleukin 10(IL-10) inhibits cytokine synthesis by human monocytes: an autoregulatory role of IL-10 produced by monocytes. *J Exp Med.* 1991;174(5):1209-1220.
54. Sher A, Fiorentino D, Caspar P, Pearce E, Mosmann T. Production of IL-10 by CD4+ T lymphocytes correlates with down-regulation of Th1 cytokine synthesis in helminth infection. *J Immunol.* 1991;147(8):2713-2716.
55. Ohmen JD, Hanifin JM, Nickoloff BJ, Rea TH, Wyzykowski R, Kim J, Jullien D, McHugh T, Nassif AS, Chan SC, et al. Overexpression of IL-10 in atopic dermatitis. Contrasting cytokine patterns with delayed-type hypersensitivity reactions. *J Immunol.* 1995;154(4):1956-1963.
56. 노건웅, 이기영. 아토피 피부염에서 혈중 Interferon- γ , Interleukin-4, Interleukin-5 및 Interleukin-10의 농도. 소아알레르기 및 호흡기]. 1998;8(1):72-78.
57. Esnault S, Benbernou N, Lavaud F, Shin HC, Potron G, Guenounou M. Differential spontaneous expression of mRNA for IL-4, IL-10, IL-13, IL-2 and interferon-gamma (IFN-gamma) in peripheral blood mononuclear cells (PBMC) from atopic patients. *Clin Exp Immunol.* 1996;103(1):111-8.
58. Holden CA. Atopic dermatitis-messengers, second messengers and cytokines. *Clin. Exp Dermatol.* 1993;18:201-207.
59. Lee HJ, Lee HP, Ha SJ, Byun DG, Kim JW. Spontaneous expression of mRNA for IL-10, GM-CSF, TGF-beta, TGF-alpha, and IL-6 in peripheral blood mononuclear cells from atopic dermatitis. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2000;84(5):553-558.
60. Laouini et al. IL-10 is critical for Th2 responses in a murine model of allergic dermatitis. *J Clin Invest.* 2003;112:1058-1066.