

魚腥草複合方이 NC/Nga mouse 아토피 병태 모델의 관련 면역 세포 및 IgE 생성량에 미치는 영향

황창하 · 정혜광¹ · 구영선² · 김동희*

대전대학교 한의과대학 병리학교실, 1: 조선대학교 단백질소재연구센터, 2: 대전대학교 한의과대학 내과학교실

Effects of *Houttuyniae Herba* Complex Prescription on Atopic Dermatitis in NC/Nga Mice

Chang Ha Hwang, Hye Gwang Jeong¹, Young Sun Koo², Dong Hee Kim*

Department of Pathology, College of Oriental Medicine, Daejeon University,

1: Department of Pharmacy, College of Pharmacy, Research Center for Proteineous Materials, Chosun University,

2: Department of internal Medicin, College of Oriental Medicine, Daejeon University

To examine the effects of HHCP on atopic dermatitis and its various immunopathologic parameters was induced by DNCB in NC/Nga mice and the animals were orally administrated with HHCP. We summarized the results obtained from serum levels of IgE and the numbers of various immune cells as follow. HHCP has no cytotoxic effects at the range of concentration (1-400 $\mu\text{g}/\text{m}\ell$) on fibroblast isolated from lung of BALB/c mice. HHCP significantly lowered the serum levels of IgE compared with control at 16 and 20 week. HHCP significantly reduced the number of CD19⁺ cell in spleen and DLN, as well as the number of B220⁺/IgE⁺ cell in DLN compared with control. HHCP significantly reduced the number of $\alpha\beta$ TCR⁺ in spleen and DLN, the number of CD8⁺ in spleen compared with control, and also significantly reduced the number of CD3⁺, CCR3, CD3⁺/CD69⁺, CD3/ CCR3, CD4⁺, CD3⁺/ CD4⁺/CD45⁺ cell in DLN. HHCP increased the number of NK⁺ cells in spleen compared with control, in contrast significantly decreased the number of CD11c⁺/ ClassII⁺ cell and CD11b⁺/Gr-1⁺ cell in DLN. Taken together, these results suggested that HHCP has suppressive effects on atopic dermatitis through the inhibition of IgE production and modulation of immune cell population in NC/Nga mice.

Key words : atopic dermatitis, HHCP, immune cell, IgE, cytotoxic effects

서 론

아토피 피부염 (Atopic dermatitis)은 만성 재발성, 습진성 알레르기 피부 질환으로^{1,2)}, 홍반, 부종, 심한 소양증, 삼출, 부스럼딱지와 인설을 특징으로 한다^{3,5)}. 아토피 피부염의 유병률은 외국의 경우 유/아동기의 10~20%⁶⁾, 국내에서는 초등학생의 24%, 중학생의 13% 정도로⁷⁾ 매년, 전 세계적으로 증가 추세에 있다. 아토피피부염의 발병 원인은 유전적 요인과 환경적 요인이 동시에 관여하는 것으로 보고되고 있으며⁸⁾, 특히 최근 증가하고 있는 성인 아토피 피부염은 유전적 소인 외에 환경적 요인이 중요함

을 시사하고 있다^{8,9)}.

인체의 면역계는 각종 병원체의 침입에 대항하는 기관, 조직 및 세포들을 총칭하며, 인간은 이러한 면역 조절 체계를 조정함으로써 항상성을 유지하여 아토피피부염 등의 질환을 조절하고 있다. T cell은 면역 반응을 결정하는 가장 중요한 세포이며, 항체를 생산하는 B cell에 작용하여 항체의 생산 및 대식세포 활성화에 관여하고, 세포독성 (cell toxicity) T 림프구에 작용하여 그들을 활성화시킨다¹⁰⁾. 이 중 CD4⁺ T 세포는 TH cell로 Th1 (helper T)과 Th2로 분화 활성화되고, 여러 종류의 cytokine을 생산하여 B cell이 효율적으로 항체를 생산하도록 도와주고, 면역 반응의 행동세포를 활성화시키는 역할을 한다¹¹⁾. 아토피피부염 발생은 이러한 Th1/Th2의 불균형으로 인한 면역 조절작용 실패에 기인하는데¹²⁻¹⁴⁾, 대부분 IL-4, IL-5의 수치가 높고, IFN- γ 는 수

* 교신저자 : 김동희, 대전시 동구 용운동 96-3 대전대학교 한의과대학

· E-mail : dhkim@dju.ac.kr, · Tel : 042-280-2623

· 접수 : 2007/01/10 · 수정 : 2007/01/24 · 채택 : 2007/02/01

치는 낮은 Th2 세포의 반응이 우세하며^{15,16)}, 혈청 IgE 농도가 정상인에 비해 증가되어 있다¹⁷⁾.

아토피피부염의 치료는 염증과 소양감의 조절, 2차 병변의 발생 방지를 목적으로 부신피질 호르몬제와 같은 국소적인 스테로이드제, 항히스타민제가 사용되고 있으며, 근래에는 cyctoclosporin A, tacrolimus (FK 506), pimecrolimus (elidel) 등과 같은 면역 억제제가 이용되고 있다¹⁸⁾. 그러나 cyctoclosporin A, tacrolimus (FK 506) 등과 같은 스테로이드제는 장기간 투여할 경우 피부의 위축이나 소아 환자에서 성장 지연 등의 여러 가지 부작용이 분제되고 있으며, 스테로이드를 함유하지 않는 elidel을 이용한 치료법은 소아 환자에 효과적인 요법이나, 피부에 도포하였을 때 흉반, 건조 피부 등의 부작용과 면역력의 약화가 단점으로 나타나고 있다^{19,20)}. 따라서 새로운 아토피 피부염 치료제의 개발이 절실히 필요한 실정이며, 치료제의 개발과 관련된 재료로서 최근에는 부작용이 적은 약용식물 등의 천연물이 선택되어 지고 있다.

본 연구의 시료인 魚腥草複合方 (HHCP)은 祛風, 清熱, 祛濕, 解毒 작용이 있는 약물을 중심으로 抗炎症, 항아토피 관련 실험을 통하여 검색한 결과, 유의성 있는 결과가 나타난 魚腥草, 忍冬藤, 三白草, 柳根皮, 葛根, 枳實 등을 同量으로 상호 배합한 처방이다. 이미 구성 약물 모두가 실험, 임상 및 민간에서 아토피 피부염에 활용되고 있어, 이들의 병용은 보다 유의성 있는 항아토피 작용을 나타낼 것으로 사료된다. 이에 본 연구에서는 in vitro 결과를 바탕으로 HHCP를 시료로 NC/Nga mouse 병태 모델에서 나타나는 다양한 면역 관련 인자들을 중심으로 객관적인 효능을 검증하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 재료

1) 동물

실험동물은 수컷 4주령의 BALB/c 생쥐를 한국생명공학연구원에서 공급받았고, 수컷 6주령의 NC/Nga mice는 Japan SLC사에서 공급 받아 실험 당일까지 고형사료 (항생제 무첨가, 삼양사료 Co., korean)와 물을 충분히 공급하고 온도 22 ± 2℃, 습도 55 ± 15%, 12시간-12시간 (light-dark cycle)의 환경에서 2주간 적응시킨 후 실험에 사용하였다.

2) 약물

본 실험에 사용한 魚腥草複合方 (HHCP)의 구성 약재들은 대전대학교 부속 한방병원에서 구입하여 정선하여 사용하였고, 그 내용과 분량은 Table 1과 같다.

3) 시약

본 실험에 사용된 시약중 dinitrochlorobenzene (DNCB), diethylpyrocarbonate (DEPC), 3,4,5-dimethyl-thiazol-2,5-carboxymethoxyphenyl-2, 4-sulfophenyl -2H-tetrazolim (MTS), chloroform, collagenase, trichloroacetic acid, trypsin-EDTA, SRB, acetic acid, tris-base, acetone, olive oil, ethanol, DNase-1, tris-HCL, misopropanol, RPMI-1640 배양액, isopropanol, paraformaldehyde, 적혈구 용혈액 (RBC lysis

solution), citrate buffer, dulbecco's phosphate buffered saline (D-PBS)등은 Sigma사 (U.S.A.) 제품을 사용하였으며, 우태아혈청 (fetal bovine serum, FBS)은 Hyclone사 (U.S.A.) 제품을, anti-CD3-PE (phycoerythrin), anti-CD19-FITC, anti-CD4-FITC (fluorescein isothiocyanate), anti-Gr1-PE, anti-CD8-FITC, anti-CD25-PE, anti-CD28-PE, anti-CD11b-FITC, anti-IgE-FITC, anti-B220-PE, anti-CD69-FITC, propidium iodide (PI), rat anti-mouse CD4 mAb, PE-conjugated goat anti-rat IgG, tris-buffered saline, tween 20 (TBST; Dako, Carpinteria, CA)등은 Pharmingen사 (U.S.A.) 제품을, rat anti-mouse CCR3 mAb, Rat anti-mouse NK+ mAb, rat anti-mouse NKT mAb, rat anti-mouse-αβ TCR mAb, rat anti-mouse γδ-TCR mAb, and rat anti-mouse CCR3 mAb 등은 Becton Dickinson사 (Mountain View, U.S.A.) 제품을, 기타 일반 시약은 특급 시약을 사용하였다.

Table 1. Houttuyniae Herba complex prescription(HHCP)

韓藥名	生藥名	用量(g)
忍冬藤	<i>Lonicerae Folium</i>	4
三白草	<i>Saururi Herba</i>	4
魚腥草	<i>Houttuyniae Herba</i>	4
柳根皮	<i>Salicis Radicis Cortex</i>	4
葛根	<i>Puerariae Radix</i>	4
枳實	<i>Ponciri Fructus</i>	4
合 計		24

4) 기기

본 실험에 사용된 기기는 열탕추출기 (대웅, Korea), microwave oven (LG, Korea), rotary vacuum evaporator, vacuum pump (Büchi B-480, Switzerland), freeze dryer (EYELA FDU-540, Co., Japan), CO₂ incubator (Forma scientific Co., U.S.A.), clean bench (Vision scientific Co., Korea), autoclave (Sanyo, Co., Japan), micro-pipet (Gilson, Co., France), water bath (Vision scientific Co., Korea), vortex mixer (Vision scientific Co., Korea), spectrophotometer (Shimadzu, Co., Japan), centrifuge (한일, Co., Korea), deep-freezer (Sanyo, Co., Japan), ice-maker (Vision scientific Co., Korea), homogenizer (OMNI, Co., U.S.A.), plate shaker (Lab-Line, Co., U.S.A.), flow cytometer (Molecular Devices, Co., U.S.A.), ELISA reader (Molecular Devices, Co., U.S.A.)등을 사용하였다.

2. 방법

1) 시료 조제

HHCP 4첩 분량에 증류수 2,000 ml를 가하여 열탕 추출기에서 3시간 추출하여 얻은 액을 흡입 여과하여, 이를 감압 증류장치 (Rotary evaporator, BUCHI B-480, Switzerland)로 농축하였다. 농축액을 다시 동결 건조기 (Freeze dryer, EYELA FDU-540, Japan)를 이용하여 완전 건조한 21.4 g을 냉동 보관 (-80℃) 하면서 적당한 농도로 희석하여 사용하였다.

2) 세포독성 측정

(1) Mouse Lung Fibroblast cells (mLFCs) 배양

BALB/c 생쥐의 폐 조직을 cool D-PBS로 3회 세척한 후 작은 조각으로 절단한 다음, conical tube (15ml)에 넣어 1,400 rpm에서 5분간 원심분리 하였다. Tube에 다시 DMEM {containing collagenase A (5 mg/ml, BM, Indianapolis, IN, U.S.A.)와 DNase type I (0.15 mg/ml, Sigma), antibiotics (penicillin 10^4 U/ml, streptomycin 10 mg/ml, amphotericin B 25 μ g/ml)}를 넣고 37°C CO₂ 배양기에서 2시간 동안 배양한 후 0.5% trypsin-0.2% EDTA를 첨가하여 30분간 계속 배양하였다. 배양 후 인산완충생리식염수로 약 2회 1,500 rpm에서 원심분리한 후 DMEM-10% FBS에서 1주일 동안 배양하였다. 1주일 후 0.5% trypsin -0.2% EDTA로 mLFC를 분리한 후 DMEM-5% FBS 배양액에 105 cells/ml 농도로 96 well plate에 분주하였다.

2) SRB assay

세포 독성 측정 방법은 SRB assay법을 약간 변형하여 실험에 사용하였다. mLFCs는 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 1시간 배양한 후 HHCP 추출물 (최종 농도 400 μ g/ml, 200 μ g/ml, 100 μ g/ml, 50 μ g/ml, 10 μ g/ml, 1 μ g/ml)을 48시간 동안 처리하였다. 배양 종료 후에 배양액을 버리고 인산완충용액으로 2회 세척하였다. 각 well에 50% TCA (trichloroacetic acid)를 50 μ l를 가하고 1시간 동안 4°C에 방치하였다. 이를 다시 증류수로 5회 세척한 다음 well plate를 공기 중에서 건조하였다. 여기에 SRB (0.4%/1% acetic acid) 용액을 100 μ l/well로 가하고 실온에서 30분간 염색하였다. 그리고 0.1% acetic acid 용액으로 약 4.5회 세척한 다음 공기 중에서 건조하고 10 mM tris base로 100 μ l/well로 용해시켰다. 이 plate를 plate shaker (Lab-Line, U.S.A.)에서 3.5 speed로 5분간 shaking하고, ELISA reader (Molecular devices, U.S.A.) 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

3) 피부염 유도 및 시료 처리

11 주령이 된 NC/Nga 생쥐의 등 부위를 깨끗하게 제모한 후 제모가 끝나면 피부의 미세 상처가 치유되도록 24시간 방치하였다. 그리고 1% DNCB 용액 (아세톤 : 올리브오일 = 3 : 1) 200 μ l를 등 부위에 도포하였고, 4일 후, 1 주일에 2-3 번씩 0.2% DNCB 용액 150 μ l를 등 부위에 도포하였다. 이렇게 4주 처리한 다음 피부염이 충분히 유발되어 등 부위의 가피가 모두 벗겨지고, 이 부위에 새로운 피부염이 형성되면서 굵은 행동이 심화되면 DNCB 처리를 중단하고, 관능 평가를 실시하였다.

4) 유세포 분석

DNCB로 발진을 유도한 NC/Nga 생쥐 20주 후 spleen, draining lymph node (DLN)를 각각 적출하여 100 mesh로 각각의 세포를 분리하여 D-PBS로 5분간 원심분리 (1,700 rpm)하였다. 이를 2회 세척한 후 cell strainer에 통과시켜 세포 이외의 분해되지 않은 조직이나 불순물을 제거하였다. 이들 세포에 ACK 용액 (8.3 g NH₄Cl, 1 g KHCO₃, in 1 L of demineralized water + 0.1 mM EDTA)을 실온에서 5분 동안 처리하여 적혈구를 용해시키고, 다시 D-PBS로 2회 세척한 후 0.04% trypan blue로 염색한 후 세포수를 측정하였다. 측정된 spleen, lymph node cell를 5×10^5 세포로 조정한 후 4°C에서 면역 형광염색 (Immunofluorescence staining)을 실시하였다. 각각에 PE-anti-CD3e, FITC- anti-CD4,

FITC-anti-CD8, PE-anti-CD25, FITC-anti-CD69, PE-anti- CD3e, FITC-anti-CCR5, PE-anti-Gr-1, FITC-anti-CD11b, PE-anti-Gr -1을 넣고 30분간 얼음에서 반응시켰다. 반응 후 3회 이상 인산완충 생리식염수로 수세한 후 flow cytometer의 Cell Quest 프로그램을 이용하여 CD3e⁺/ CD19⁺, CD4⁺/CD25⁺, CD3e⁺/CCR3⁺, CCR3⁺, B220⁺/IgE⁺, NK⁺/NKT⁺, CD3e⁺/CD69⁺, CD4⁺/CD8⁺, CD3e⁺/CD69⁺, CD11c⁺/ClassII⁺, CD3e⁺/ CD4⁺/CD45⁺, CD11b⁺/Gr-1⁺ 세포수를 백분율 (%)로 분석한 후 총세포수를 적용하여 각 조직에서의 절대 세포수 (absolute cell number)를 산출하였다.

5) 면역글로블린 측정

시료 투여 시점인 8주와 12주, 16주, 그리고 20주에 생쥐의 눈에서 capillary tube를 이용하여 약 100 μ l의 혈액을 채혈한 후 원심분리기 6,500 rpm에서 20분간 원심분리한 후 30 μ l의 혈청을 분리하였다. 혈청은 취하여 실험에 이용할 때 까지 -70°C에 냉동 보관하였다. 혈청 내 IgE 측정은 ELISA kit (R&D system)를 사용하였다. 항체를 coating 완충 용액에 희석하여 microwell에 coating한 후 4°C에서 overnight 하였다. 각 well을 3회 washing 완충 용액으로 세척한 후 혈청 (100배 희석)을 100 μ l씩 분주하였다. 이를 1시간 동안 실온에서 방치한 후 washing 완충 용액으로 2회 세척한 다음 antibody avidin-HRP conjugated 100 μ l를 처리하고 1 시간 실온에서 방치한 후 다시 세척하였다. 여기에 TMB 기질을 100 μ l씩 분주하고 암소에서 30분간 방치한 후 50 μ l의 stop 용액을 처리하고 ELISA reader 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

6) 통계처리

다양한 실험으로부터 얻은 결과는 mean \pm standard error로 기록하였고, 유의성 검증은 Student's T-test 분석법을 이용하여 결정하였다.

결 과

1. 세포독성에 미치는 영향

HHCP 추출물의 세포독성을 측정한 결과, 정상군에서는 100 ± 5.2 , 실험군1, 10, 50, 100, 200, 400 μ g/ml 농도에서 생존율이 각각 97.6 ± 5.6 , 95.8 ± 4.8 , 96.5 ± 5.1 , 93.1 ± 4.4 , 89.4 ± 5.0 , 88.6 ± 3.6 %로 나타났다 (Fig. 1).

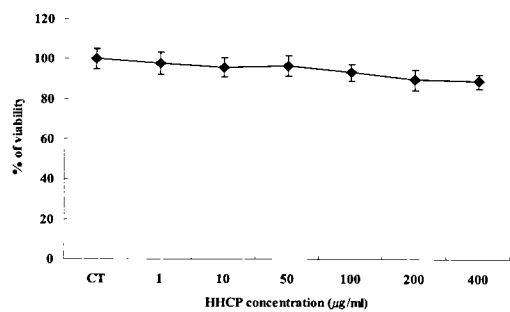


Fig. 1. Effects of HHCP on the viability of mouse lung fibroblast. Mouse lung fibroblast cells (mLFCs) were cultured with various concentration of HHCP extract for 48 hr and the cell viability was measured by SRB method. The results were presented by the mean \pm SE.

2. 면역 세포군의 변화에 미치는 영향

1) 총 면역세포 수에 미치는 영향

NC/Nga 생쥐에 8주간 HHCP (8.9 mg/25 g/day)을 경구 투여한 후 비장과 림프절에서의 총 면역세포수를 관찰한 결과, 비장세포에서는 대조군이 $19.1 \pm 1.6 (x10^7)$, HHCP 투여군이 $14.0 \pm 1.2 (x10^7)$ 로 나타나 대조군에 비하여 유의성 (* $p < 0.05$) 있는 감소 효과를 나타내었다. 림프절에서는 대조군이 $13.7 \pm 1.1 (x10^6)$, HHCP 투여군이 $7.8 \pm 0.6 (x10^6)$ 으로 나타나, 대조군에 비하여 유의성 (** $p < 0.001$) 있는 감소 효과를 나타내었다 (Table 2).

Table 2. Total Cell Number of Spleen and DLN in DNCB-induced NC/Nga Mice

	Sample	Spleen ($x10^7$)	DLN ($x10^6$)
Total cell number	Control	19.1 ± 1.6	13.7 ± 1.1
	HHCP	$14.0 \pm 1.2^*$	$7.8 \pm 0.6^{***}$

2) T 세포군 변화에 미치는 영향

(1) $\alpha\beta$ TCR+ 세포 수에 미치는 영향

Spleen에서의 $\alpha\beta$ TCR+ 세포 수는 대조군이 $50.1 \pm 2.4 (x10^5)$, HHCP 투여군에서는 $32.1 \pm 2.4 (x10^5)$ 로 나타나, 대조군에 비하여 유의성 있는 (** $p < 0.001$) 감소 효과를 나타내었다. DLN에서는 대조군이 $57.7 \pm 2.4 (x10^4)$, HHCP 투여군이 $38.8 \pm 5.9 (x10^4)$ 로 나타나, 이 역시 대조군에 비하여 유의성 있는 (** $p < 0.01$) 감소 효과를 나타내었다 (Table 3).

(2) $\gamma\delta$ TCR+ 세포 수에 미치는 영향

Spleen의 $\gamma\delta$ TCR+ 세포 수는 대조군이 $1.7 \pm 0.1 (x10^5)$, HHCP 투여군이 $2.4 \pm 0.2 (x10^5)$ 로 대조군에 비하여 증가하였고, DLN에서는 대조군이 $0.6 \pm 0.1 (x10^4)$, HHCP 투여군이 $0.5 \pm 0.1 (x10^4)$ 로 나타나 모두 유의적인 결과는 나타나지 않았다 (Table 3).

(3) $CD3e^+$, $CCR3^+$ 세포 수에 미치는 영향

Spleen에서 $CD3e^+$ T 세포 수는 대조군이 $69.9 \pm 4.8 (x10^5)$ 인 반면, HHCP 투여군은 $66.1 \pm 5.1 (x10^5)$ 로 나타나 대조군에 비하여 감소하였으나 유의성은 나타나지 않았다. DLN에서는 대조군이 $76.4 \pm 5.9 (x10^4)$, HHCP 투여군이 $51.8 \pm 4.6 (x10^4)$ 로 대조군에 비하여 유의성 있는 (** $p < 0.01$) 감소를 나타내었다 (Table 3).

Spleen에서 $CCR3^+$ 세포 수는 대조군이 $9.7 \pm 1.4 (x10^5)$ 인 반면, HHCP 투여군은 $11.3 \pm 4.8 (x10^5)$ 로 나타나 대조군에 비하여 감소하였으나 유의성은 나타나지 않았다. DLN에서는 대조군이 $3.5 \pm 0.7 (x10^4)$, HHCP 투여군이 $1.1 \pm 0.1 (x10^4)$ 로 대조군에 비하여 유의성 있는 (** $p < 0.01$) 감소를 나타내었다 (Table 3).

$CD3e$ 와 $CCR3$ 를 동시에 발현하는 면역 세포 수는 spleen에서 대조군이 $16.9 \pm 1.6 (x10^5)$, HHCP 투여군이 $15.1 \pm 7.1 (x10^5)$ 로 나타나 대조군에 비하여 감소하였으나 유의성은 나타나지 않았다. 반면, DLN에서는 대조군이 $6.5 \pm 0.2 (x10^4)$, HHCP 투여군이 $2.4 \pm 0.1 (x10^4)$ 로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있는 (** $p < 0.001$) 감소를 나타내었다 (Table 3).

(4) $CD3^+/CD69^+$ 세포 수에 미치는 영향

Spleen의 $CD3^+/CD69^+$ 세포 수는 대조군이 $5.8 \pm 1.2 (x10^5)$, HHCP 투여군이 $5.1 \pm 0.4 (x10^5)$ 로 나타나, 대조군에 비하여 감

소하였으나 유의성은 나타나지 않았다. DLN에서는 대조군이 $14.7 \pm 1.0 (x10^4)$, HHCP 투여군이 $11.6 \pm 1.2 (x10^4)$ 로 나타나, 대조군에 비하여 유의성 있는 (* $p < 0.05$) 감소를 나타내었다 (Table 3).

(5) $CD4^+$, $CD25^+$ 세포 수에 미치는 영향

Spleen의 $CD4^+$ Th 세포 수는 대조군이 $11.2 \pm 2.2 (x10^5)$, HHCP 투여군이 $8.8 \pm 0.8 (x10^5)$ 으로 나타나 대조군에 비하여 감소하였으나 유의성은 나타나지 않았다. DLN에서는 대조군이 $35.7 \pm 4.6 (x10^4)$, HHCP 투여군이 $25.1 \pm 1.4 (x10^4)$ 로 나타나, 대조군에 비하여 유의성있게 (* $p < 0.05$) 감소하였다 (Table 3).

Spleen의 $CD4^+/CD25^+$ regulatory T 세포 수는 대조군이 $1.1 \pm 0.2 (x10^5)$, HHCP 투여군이 $0.6 \pm 0.1 (x10^5)$ 로 나타나, 유의성 있는 (* $p < 0.05$) 감소를 나타내었다. DLN에서는 대조군이 $2.5 \pm 0.5 (x10^4)$, HHCP 투여군이 $3.9 \pm 0.2 (x10^4)$ 로 나타나, 대조군에 비하여 유의성 있는 (** $p < 0.01$) 증가를 나타내었다 (Table 3).

(6) $CD3^+/CD4^+/CD45^+$ 세포 수에 미치는 영향

Spleen의 $CD3^+/CD4^+/CD45^+$ T 세포 수는 대조군이 $21.5 \pm 3.5 (x10^5)$, HHCP 투여군이 $18.0 \pm 1.8 (x10^5)$ 로 나타나 대조군에 비하여 감소하였다. DLN에서는 대조군이 $45.2 \pm 7.3 (x10^4)$, HHCP 투여군은 $28.1 \pm 1.8 (x10^4)$ 로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있는 (* $p < 0.05$) 감소를 나타내었다 (Table 3).

(7) $CD8^+$ 세포 수에 미치는 영향

Spleen의 $CD8^+$ T 세포 수는 대조군이 $19.5 \pm 0.8 (x10^5)$, HHCP 투여군이 $13.3 \pm 2.1 (x10^5)$ 으로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있게 (* $p < 0.05$) 감소하였다. DLN에서는 대조군이 $23.0 \pm 3.5 (x10^4)$, HHCP 투여군이 $18.4 \pm 0.7 (x10^4)$ 로 나타나 대조군에 비하여 감소하였으나, 이 역시 유의적인 변화를 관찰할 수 없었다 (Table 3).

Table 3. Effect of HHCP Extract on T cell isotype Absolute Number in DNCB-induced NC/Nga Mice

	Sample	Spleen ($x10^5$)	DLN ($x10^4$)
$\alpha\beta$ TCR ⁺	Control	50.1 ± 2.4	57.7 ± 2.4
	HHCP	$32.1 \pm 2.4^{***}$	$38.8 \pm 5.9^{**}$
$\gamma\delta$ TCR ⁺	Control	1.7 ± 0.1	0.6 ± 0.1
	HHCP	2.4 ± 0.2	0.5 ± 0.1
$CD3e^+$	Control	69.9 ± 4.8	76.4 ± 5.9
	HHCP	66.1 ± 5.1	$51.8 \pm 4.6^{**}$
$CCR3^+$	Control	9.7 ± 1.4	3.5 ± 0.7
	HHCP	11.3 ± 4.8	$1.1 \pm 0.1^{**}$
$CD3e^+/CCR3^+$	Control	16.9 ± 1.6	6.5 ± 0.2
	HHCP	15.1 ± 7.1	$2.4 \pm 0.1^{***}$
$CD3^+/CD69^+$	Control	5.8 ± 1.2	14.7 ± 1.0
	HHCP	5.1 ± 1.4	$11.6 \pm 1.2^*$
$CD4^+$	Control	11.2 ± 2.2	35.7 ± 4.6
	HHCP	8.8 ± 0.8	$25.1 \pm 1.4^*$
$CD4^+/CD25^+$	Control	1.1 ± 0.2	2.5 ± 0.5
	HHCP	$0.6 \pm 0.1^*$	$3.9 \pm 0.2^{**}$
$CD3^+/CD4^+/CD45^+$	Control	21.5 ± 3.5	45.2 ± 7.3
	HHCP	18.0 ± 1.8	$28.1 \pm 1.8^*$
$CD8^+$	Control	19.5 ± 0.8	23.0 ± 3.5
	HHCP	$13.3 \pm 2.1^*$	18.4 ± 0.7

3) B 세포군의 변화에 미치는 영향

(1) $CD19^+$ 세포 수에 미치는 영향

Spleen의 CD19⁺ B 세포수는 대조군이 $102.2 \pm 0.7 (x10^5)$, HHCP 투여군이 $54.1 \pm 25.4 (x10^5)$ 로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있는 (* $p < 0.05$) 감소를 나타내었다. DLN에서는 대조군이 $57.2 \pm 5.2 (x10^4)$, HHCP 투여군이 $25.1 \pm 1.1 (x10^4)$ 로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있는 (** $p < 0.001$) 감소를 나타내었다 (Table 4).

(2) B220⁺/IgE⁺ 세포 수에 미치는 영향

IgE를 생성하는 B 세포의 수에는 어떠한 영향을 나타내는지 를 조사하기 위하여 spleen의 B220⁺/IgE⁺ B 세포 수를 측정할 결과, 대조군이 $18.1 \pm 2.9 (x10^5)$, HHCP 투여군이 $11.2 \pm 4.8 (x10^5)$ 로 나타나, 대조군에 비하여 감소하였으나 유의성은 나타나지 않았다. 반면 DLN에서는 대조군이 $2.9 \pm 0.3 (x10^4)$, HHCP 투여군이 $0.8 \pm 0.1 (x10^4)$ 로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있는 (** $p < 0.01$) 감소를 나타내었다 (Table 4)

Table 4. Effect of HHCP Extract on B cell isotype Absolute Number in DNCB-induced NC/Nga Mice

	Sample	Spleen (x10 ⁵)	DLN (x10 ⁴)
CD19 ⁺	Control	102.2 ± 0.7	57.2 ± 5.2
	HHCP	54.1 ± 25.4*	25.1 ± 1.1***
B220 ⁺ /IgE ⁺	Control	18.1 ± 2.9	2.9 ± 0.3
	HHCP	11.2 ± 4.8	0.8 ± 0.1**

4) Non B non T 세포군의 변화에 미치는 영향

(1) NK⁺ 세포 수에 미치는 영향

Spleen의 NK⁺ 세포 수는 대조군이 $8.9 \pm 0.7 (x10^5)$, HHCP 투여군이 $10.9 \pm 1.7 (x10^5)$ 로 나타나 대조군에 비하여 증가를 나타내었다. DLN에서는 대조군이 $5.3 \pm 0.1 (x10^4)$, HHCP 투여군이 $2.8 \pm 0.3 (x10^4)$ 로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있는 (** $p < 0.001$) 감소를 나타내었다 (Table 5).

(2) CD11c⁺/ClassII⁺ 세포 수에 미치는 영향

Spleen의 CD11c⁺/ClassII⁺ 세포 수는 대조군이 $19.6 \pm 1.6 (x10^5)$, HHCP 투여군이 $14.0 \pm 6.7 (x10^5)$ 로 나타나 대조군에 비하여 감소하였다. DLN에서는 대조군이 $15.7 \pm 1.3 (x10^4)$, HHCP 투여군이 $12.3 \pm 0.9 (x10^4)$ 로 나타나 이 역시 대조군에 비하여 유의성 있는 (* $p < 0.05$) 감소하였다 (Table 5).

(3) CD11b⁺/Gr-1⁺ 세포 수에 미치는 영향

Spleen의 CD11b⁺/Gr-1⁺ 세포 수는 대조군이 $35.4 \pm 4.9 (x10^5)$, HHCP 투여군이 $29.4 \pm 9.7 (x10^5)$ 로 나타나 대조군에 비하여 감소하였다. DLN에서는 대조군이 $13.4 \pm 1.0 (x10^4)$, HHCP 투여군이 $5.5 \pm 1.4 (x10^4)$ 으로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있는 (** $p < 0.001$) 감소를 나타내었다 (Table 5).

Table 5. Effect of HHCP Extract on Non B non T cell Absolute Number in DNCB-induced NC/Nga Mice

	Sample	Spleen (x10 ⁵)	DLN (x10 ⁴)
NK ⁺	Control	8.9 ± 0.7	5.3 ± 0.1
	HHCP	10.9 ± 1.7	2.8 ± 0.3***
CD11c ⁺ /ClassII ⁺	Control	19.6 ± 1.6	15.7 ± 1.3
	HHCP	14.0 ± 6.7	12.3 ± 0.9*
CD11b ⁺ /Gr-1 ⁺	Control	35.4 ± 4.9	13.4 ± 1.0
	HHCP	29.4 ± 9.7	5.5 ± 1.4***

3. 혈청 IgE 면역글로블린 수치에 미치는 영향

IgE의 발현에 미치는 영향을 조사하기 위하여 NC/Nga 생쥐의 눈에서 8주, 12주, 16주, 그리고 20주에 혈액을 채취한 후 혈청을 분리하여 IgE 생성량을 측정하였다. Fig. 2는 혈청 IgE 수치의 변화로 대조군에서는 8주에 $7.6 \pm 5.6 (ng/ml)$, 12주에 $439.0 \pm 105.7 (ng/ml)$, 16주에 $4,811.0 \pm 405.5 (ng/ml)$, 20주에 $5,645 \pm 305 (ng/ml)$ 로 나타나 12주 이후 10배 이상의 IgE 수치가 증가하였다. 이에 비해 HHCP 투여군에서는 8주에 $4.7 \pm 1.3 (ng/ml)$, 12주에 $432.7 \pm 53.4 (ng/ml)$, 16주에 $3,551 \pm 125 (ng/ml)$, 20주에 $4,964 \pm 134 (ng/ml)$ 로 나타났다 (Fig. 2).

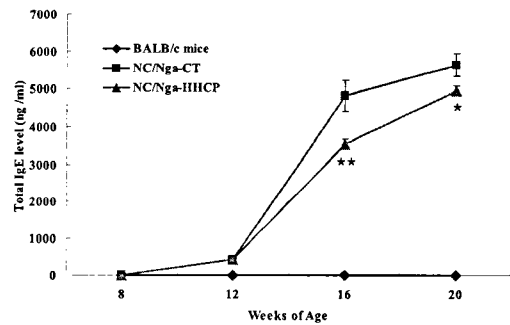


Fig. 2. Effects of HHCP on the serum levels of IgE in DNCB-induced dermatitis model of NC/Nga mice. The animals were administrated with HHCP (8.9 mg/25 g/day, ▲) or saline (-■) for 8 weeks. Serum levels of IgE were measured by sandwich ELISA at indicated time points. Each point represents the mean ± SE. of four mice. Statistically significant value compared with NC/Nga mice group data by T test (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$).

고찰

韓醫學에서 아토피피부염은 胎熱이 하나의 원인이 되고, 특히 2개월~3세 무렵의 嬰幼兒期에 가장 많이 발현됨으로써 胎熱과 동의어로 사용되기도 한다.

嬰幼兒期에 나타나는 嬰兒濕疹의 임상 증상은 ‘奶癬’과 ‘胎斂瘡’ ‘乳癬’ 등의 범주에 속하며, 4~5세경부터 나타나는 소아형은 팔꿈치와 무릎 관절의 屈側部에 丘疹, 痒疹이 생기는데, 이는 ‘四彎風’ 범주에 속한다고 볼 수 있다²¹⁻²³.

이와 관련된 기술로 《諸病源候論·小兒雜病諸侯》²⁴에서는 “小兒面上 癬皮如甲錯起干燥 謂之乳癬”이라 하였고, 《外科正宗·奶癬》²⁵에서는 “頭面遍身發爲奶癬 流滋成片, 睡臥不安, 瘙癢不絕”이라 하였으며, 《醫宗金鑑·外科心法要訣·嬰兒部》²⁶에서는 “此證生嬰兒頭頂, 或生眉端, 又名奶癬 癢起白屑, 形如癬疥” “皮膚起粟 瘙癢無道 黃水浸潤 延及遍身”이라 하여 비교적 유사한 병증을 찾아 볼 수 있다.

이에 대한 처방은 風邪, 濕熱, 血毒, 脾虛, 血燥가 소양증을 비롯한 다양한 皮膚 질환을 유발한다는 점에서 祛風, 清熱, 祛濕, 解毒 등의 처방이 가장 많이 다용되고 있으나²¹⁻²⁶, 이 역시 동반되는 증상에 따라 辨證施治한다.

최근 보고된 한방 처방의 실험적 연구²⁷⁻³¹를 살펴보면 70% 이상이 祛風, 清熱, 祛濕, 解毒 작용이 있는 처방을 중심으로 이루어져, 이들 구성 약물이 타 약물에 비해 항아토피 작용이 높음

을 시사하고 있다.

이에 본 실험에서는 祛風, 清熱, 祛濕, 解毒 작용이 있는 약물을 중심으로 抗炎症 효능을 검색한 결과, 유의성 있는 결과가 나타난 魚腥草, 忍冬藤, 三白草, 柳根皮, 葛根, 枳實 등을 동량으로 배합하여 NC/Nga 아토피 병태 생쥐 모델에 8주간 투여한 후 관련 인자를 검색하였다.

먼저 HHCP 추출물의 세포독성에 미치는 영향을 조사하기 위하여 BALB/c 생쥐의 폐 조직에서 mouse lung fibroblast cells (mLFCs)을 분리하여 SRB 방법을 이용하여 세포독성을 측정하고, 실험에서 사용한 HHCP 추출물의 1, 10, 50, 100, 200, 400 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 90% 이상의 세포생존율을 나타내었다 (Fig. 1).

만성 염증 반응 등의 면역 반응에는 수많은 면역세포와 염증세포, 각종 화학매개체들이 관여한다. 이러한 염증 반응에 관여하는 주된 세포로는 T cell, B cell, 비만세포, 호산구, 호중구 등이 있다³²⁾. 또한 염증 반응에서 면역 병리학적 검사로 관찰하는 주요 장기로는 골수, 흉선, 비장, 림프절 등이 있다. 본 실험에서는 아토피 피부염 치유 효과에 대한 면역 세포학적 기초를 조사하기 위하여 아토피 피부염을 유발시킨 동물의 비장 (spleen) 과 감염 부위에 모인 체액을 받는 배액 림프절 (Draining lymph node; DLN)을 이용하여 피부염 발생에 관여하는 면역 세포군에 미치는 영향을 조사하였다. 먼저 아토피 피부염이 유발된 NC/Nga 생쥐에 8주간 HHCP (8.9 mg/25 g/day)을 경구 투여한 후 spleen과 DLN에서의 총 면역세포수를 측정하고, 아토피 피부염에 유발에 따른 면역세포가 과도하게 증가된 대조군에 비해 HHCP 투여군의 spleen과 DLN에서의 총 면역세포수는 모두 유의성 있게 감소하였다 (Table 2).

T 세포는 면역반응을 결정하는 가장 중요한 세포이며, 항체를 생산하는 B 세포에 작용하여 항체를 생산하고 대식세포에 작용하여 대식세포를 활성화시키기도 한다. 또한 세포독성 (cell toxicity) T 림프구에 작용하여 이들 세포를 활성화 시킨다³³⁾. T 세포의 membrane molecule로 CD (cluster of differentiation) isotype 들은 T 세포 수용체 (T cell receptor; TCR)에 항원이 결합된 신호를 세포 안으로 전달하며, T 세포의 결정 표지인자이다^{34,35)}. 면역반응의 조절에 관여하는 T cell을 조력 T 림프구 (Helper T cell)라고 부르며, 반면에 어떤 T cell들은 직접 다른 세포를 죽이는 기능을 가지고 있는 경우가 있는데, 이러한 T cell 들을 세포독성 T 림프구 (cytotoxic T cell, CTL)라고 부른다. 대부분의 helper T cell은 세포 표면에 TCR (T cell receptor) 외에 CD 4 분자를 공통적으로 가지고 있으며, CTL은 TCR 외에 CD 8분자를 가지고 있기 때문에 각각 CD4 T cell 또는 CD8 T cell이라고 부르기도 한다³⁵⁾. TCR은 두 가지의 비슷한 크기의 단백질 사슬이 모여서 이루어진 세포막 단백질 (integral plasma membrane protein)이며, immunoglobulin과 같이 혈액에 존재하지는 않는다³⁶⁾. 대부분의 말초 혈액에 존재하는 T cell들은 α 와 β 사슬로 구성된 TCR을 가지고 있으며, 일부의 T cell들이 γ 와 δ 사슬로 구성된 TCR을 가지고 있다³⁷⁾. 이들 T cell receptor 단백질은 T cell의 표면에 CD3, CD4, CD8 등의 단백질과 복합체를 이루고 있으며, 이들 단백질들은 T cell receptor에 의한 항원 인

식을 보다 적절하게 해주는 역할을 한다.

HHCP에 의한 T 세포군의 변화 측정에서는 먼저 spleen과 DLN에서의 $\alpha\beta$ TCR⁺ 세포와 $\gamma\delta$ TCR⁺ 세포 수를 측정하였는데, HHCP 투여군의 spleen과 DLN의 $\alpha\beta$ TCR⁺ 세포 수는 유의적으로 감소하였으나, $\gamma\delta$ TCR⁺ 세포 수는 유의적 변화를 관찰할 수 없었다 (Table 3). 아울러 spleen과 DLN에서의 CD3e T 세포 수는 DLN에서 유의적으로 세포 수가 감소시켰으나, spleen에서는 큰 변화가 없었다 (Table 3).

CCR3 수용체 (receptor)는 호산구, 호염기구 및 T 세포 등의 세포 표면에 존재하는 chemokine receptor이다^{38,39)}. 본 실험에서 CCR3⁺ 세포수는 spleen과 DLN에서 모두 감소하였으며, 특히 DLN에서 유의성 있는 결과가 나타났다. 이는 면역 조직 화학 염색에 나타난 CCR3⁺ 세포 염색 결과와도 부합된다. CCR3 receptor가 존재하는 CCR3⁺/CD3e T 세포 수 역시 DLN에서는 유의적으로 세포 수가 감소하였다 (Table 3).

T 세포에 특이적으로 존재하는 CD3⁺/CD69⁺ 세포 수에 대한 측정에서도 CCR3⁺/CD3e T 세포 수 결과와 동일하게 나타났으므로 (Table 3), 아토피 피부염 유발에 의해 증가될 수 있는 T 세포 군들이 HHCP 투여에 의해 감소될 수 있음을 확인할 수 있었다.

CD4⁺ T 세포는 TH cell로 Th1 (helper T)과 Th2로 분화 활성화되고, 여러 종류의 cytokine을 생산하여 B cell이 효율적으로 항체를 생산하도록 도와주고, 면역 반응의 행동세포를 활성화시키는 역할을 하는데^{11,40)}, 본 실험에서 spleen과 DLN에서의 CD 4⁺ T 세포 수는 비록 유의성은 나타나지 않았지만 대조군에 비해 감소하였다 (Table 3).

최근 T 세포 중 면역반응을 억제하는 세포들이 존재한다는 것이 확인되어, 이들을 조절 T 세포 (regulatory T cell)라고 하며, TCR 이외에 대부분 CD 4분자와 CD 25분자를 가지고 있어서 CD4⁺/CD25⁺ regulatory T 세포 (Treg)라고도 부른다⁴¹⁾. 대부분 이들은 잘못되거나 과도한 면역반응을 줄여주는 세포로 자가 내성을 유지하는 데 중요하며, 결과적으로 자기면역반응과 같은 이상 면역반응을 억제하는 기능을 나타내는 것으로 이해되고 있다⁴²⁾. 본 실험에서 CD4⁺/CD25⁺ 세포 수는 spleen에서 유의성 있는 감소, DLN에서는 대조군보다 유의적으로 증가하였다 (Table 3).

CD3은 TCR과 T cell 표면에 하나의 복합체로 존재하는 여러 가지의 단백질로, γ , δ , ϵ , ζ , η chain 이라고 불리는 다섯 가지의 단백질이 CD3을 이루고 있으며, 이들은 T cell의 항원 인식에서, 세포 내로 활성화 신호를 전달 (signal transduction)하는 기능을 가지고 있는 것으로 알려져 있다⁴³⁾.

본 실험에서 CD3⁺/CD4⁺/CD45⁺ T 세포 수는 DLN에서 유의적으로 감소함으로써 (Table 3), HHCP가 피부염의 발생에 관련된 T cell의 항원 인식과 세포 내로의 활성화 신호를 억제하여 피부염 발생을 억제함을 시사해주고 있다.

CD8⁺ 세포는 cytotoxic T lymphocyte (CTL)라는 effector cell을 형성하고 CTL은 cytokine을 분비하기 보다는 세포 살해 활성 (cytotoxic activity)을 가지고 있는 altered self-cell을 제거하는 역할을 한다⁴⁴⁾. 본 실험에서 CD8⁺ 세포 수는 spleen에서의 유의적으로 감소하였으나, DLN에서는 변화가 없었다 (Table 3).

B 세포는 혈액, 골수 및 비장, 임파절 등의 임파 조직에 분포하며, 체액성 면역반응에 관여한다. B 세포는 세포 표면에 면역글로블린이 있으며, 항원에 의하여 형질세포 (plasma cell)로 분화하여 IgM, IgG, IgA, IgD, IgE 등의 항체를 생산하여 분비한다^{45,46}). Spleen과 DLN에서의 HHCP에 의한 B 세포군의 영향을 측정하기 위하여 B 세포에 특이적으로 존재하는 CD19⁺ 세포 수를 측정 한 결과, spleen과 DLN에서 유의성 있는 감소를 나타내었다 (Table 4). 이는 HHCP가 체액성 면역반응에 관여하는 항체 생산 분비를 억제함으로써, 아토피 피부염을 유발을 지연시킬 수 있음을 보여주고 있다. B 세포군 중 B220⁺/IgE⁺ 세포 수 측정에서는 DLN에서 유의성 있는 감소를 보였으나, spleen에서는 유의적인 변화가 없었다 (Table 4).

B 세포에 특이적으로 존재하는 이러한 CD isotype 세포들과 IgE 양성 세포 수 감소 결과는 본 시료가 아토피 피부염에 의한 B 세포의 과도한 활성화를 억제하는 효능이 있음을 보여주고 있다.

자연살해세포 (Natural killer cell : NK cell)는 형태학적으로 대과립 임파구 (large granular lymphocyte)이며, 혈액 및 임파 조직에서 발견된다⁴⁷). 이 세포는 자극을 받지 않아도 비특이적으로 종양세포, 바이러스에 감염된 세포들을 인지하고 살해하는 능력이 있고, 활성화되면 여러 종류의 사이토카인 (cytokines)을 분비하는데^{46,48}), 특히 NK 세포에서 생성되는 많은 양의 IFN- γ 는 Th1 혹은 Th2 면역반응의 결정에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다^{49,50}).

본 실험에서 NK⁺ 세포 수는 spleen에서 증가를 보였고, DLN에서는 아토피 피부염을 유발시킨 대조군보다 유의적으로 감소하였다 (Table 5). HHCP 투여에 의한 spleen과 DLN에서의 NK⁺ 세포 수의 상반된 변화는 추후 연구들을 통하여 아토피 피부염 유발 시 NK 세포에서 생성되는 다양한 cytokine 들에 의한 Th1 혹은 Th2 면역 반응에 대한 다각적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

면역세포에 대한 마지막 관찰로 CD11c⁺/ClassII⁺ 세포 수와 CD11b⁺/ Gr-1⁺ 세포 수를 조사하였는데, spleen, DLN에서 모두 감소를 나타내었으며, (Table 5), 특히 DLN에서 유의성 있게 감소하였다.

HHCP 추출물이 혈청 면역글로블린 수치에 미치는 영향을 조사하기 위하여 IgE 생성량을 측정 한 결과 아토피 피부염을 유발시킨 대조군에 비하여 16주, 20주 HHCP 투여군에서 모두 유의성 있게 IgE 생성량이 감소함으로써 (Fig. 2), 본 시료의 아토피 피부염 억제 효과를 확인할 수 있었다.

결론적으로 본 시료는 IgE 생성량 억제, 생쥐의 spleen, DLN에서 관련 면역세포 조절을 통하여 아토피 피부염 유발을 억제할 수 있는 유의성 있는 결과가 도출되었다. 개발 구성 약물의 검색 결과와 魚腥草複合方의 결과와는 상호 검색 지표가 동일하지 못해, 비교 평가를 할 수 없었으나, in vivo에서 나타난 임상 결과는 단일 약물에서보다는 복합방이 보다 효과적임으로써, 이들의 상승효과가 인정되었다.

결 론

魚腥草複合方을 시료로 NC/Nga 생쥐에 DNCB로 피부염을

유발한 뒤, 피부염 발생 정도, 면역 세포군의 변화 및 IgE 생성량 등에 미치는 영향을 검색하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

魚腥草複合方은 생쥐의 폐로부터 분리한 fibroblast에 대하여 모든 실험 농도에서 세포독성을 나타내지 않았다. 魚腥草複合方은 spleen에서 $\alpha\beta$ TCR⁺, CD8⁺ 세포수를, DLN에서는 $\alpha\beta$ TCR⁺, CD3⁺, CCR3⁺, CD3⁺/CCR3, CD3⁺/CD69⁺, CD4⁺, CD3⁺/CD4⁺/CD45⁺ 세포수를 유의성 있게 감소시켰으며, CD4⁺/CD25⁺ 세포수는 spleen에서는 유의성 있게 감소를, DLN에서는 유의성 있게 증가시켰다. 魚腥草複合方은 spleen과 DLN에서 CD19⁺ 세포 수를 대조군에 비하여 유의성 있게 감소시켰으며, B220⁺/IgE⁺ 세포 수는 DLN에서만 유의성 있게 감소시켰다. 魚腥草複合方은 NK⁺ 세포 수를 spleen에서는 증가를, DLN에서는 감소시켰으며, CD11c⁺/ ClassII⁺, CD11b⁺/Gr-1⁺ 세포 수는 DLN에서 유의성 있게 감소시켰다. 魚腥草複合方은 대조군에 비하여 16주, 20주에 유의성 있게 IgE 생성량을 억제하였다.

이상의 결과로 魚腥草複合方은 면역 세포군의 조절 및 IgE 생성량 억제를 통하여 항아토피 효능을 발휘함으로써 임상에서의 활용이 기대되며, 항 후 구성 약물간의 최적 배합을 통한 보다 심도 있는 연구가 이루어져야 할 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 한국산업기술평가원에서 지원하는 지역협력연구센터인 대전대학교 난치성면역질환의 동서생명의학연구소센터 (TBRC, RRC04700, 2005)의 지원에 의해 수행되었음을 밝히며 이에 감사합니다.

참고문헌

- Hanifin, J.M. Atopic dermatitis: broadening the perspective. *J. Am. Acad. Dermatol.* 51:23-24, 2004.
- Andrew, B., Sam, T.H., Mark, C.U. Allergic and immunologic disease of the skin. *J. Allergy Clin. Immunol.* 111:560-570, 2003.
- 은희철. 피부면역학. 서울대학교출판부, 27-34, 1999.
- 강석영. 알레르기 질환의 진단과 치료. *일조각*, 241-252, 1999.
- 정규만. 동의소아과학. 행림출판사, 567-568, 1985.
- Lehtonen, E.P., Holmberg-Marttila, D., Kaila, M. Cumulative prevalence of atopic dermatitis and related skin symptoms in a well-baby clinic : a retrospective cohort study. *Pediatr Allergy Immunol.* 14(5):405 -408, 2003.
- Oh, J.W., Lim, K.W., Pyun, B.Y. Nationwide study for epidemiological change of atopic dermatitis in school and kindergarten aged children in Korea between 1995 and 2000. *Pediatr Allergy Respir Dis (Korea)* 3(2):121S, 2003.
- McNally, N.J., Williams, H.C., Phillips, D.R. Atopic eczema and domestic water hardness. *Lancet* 352:527-531, 1998.
- Yoon, S.P. The Environment and Lifestyles of Atopic dermatitis Patients. *Korean J Dermatol* 37(8):983-991, 1999.

10. Griffiths, P.D., Grundy, J.E. Molecular biology and immunology of cytomegalovirus. *Biochem J.* 241:313-324, 1987.
11. Hoglund, P. Induced peripheral regulatory T cells : the family grows larger. *Eur J Immunol.* 36:264-266, 2006.
12. Kapsenberg, M.L., Wierenga, E.A., Stiekema, F.E.M. Th 1 lymphokine production profiles of nickel-specific CD4+ lymphocyte clones from nickel contact allergic and non-allergic individuals. *J Invest Dermatol* 98:59-63, 1992.
13. Yazdanbakhsh, M., van den Biggelaar, A., Maizels, R.M. Th2 responses without atopy : immunoregulation in chronic helminth infections and reduced allergic disease. *Trends Immunol.* 22(7):372-377, 2001.
14. Holden, C.A. Atopic dermatitis-messenger, second messengers and cytokines. *Clin Exp Dermatol* 18:201-207, 1993.
15. Singh, V.K., Mehrotra, S., Agarwal, S.S. The paradigm of Th1 and Th2 Cytokines. *Immunologic Res.* 20:147-161, 1999.
16. Mark, R., Kilkenny, M., Plunkett, A., Merlin, K. The prevalence of common skin conditions in Australian school student. *Br. J. Dermatol.* 140:468-473, 1999.
17. Hanifin, J.M. Immunologic aspects of atopic dermatitis. *Dermatol. Clin.* 8:747-750, 1990.
18. Graham-Brown, R.A. Therapeutics in atopic dermatitis. *Adv Dermatol.* 13:3-31, 1997.
19. D.S. Im. Linking Chinese medicine and G protein-coupled receptors, *Trends in Pharmacol, Sci.*, 24:2, 2003.
20. Shiohara, T., Hayakawa, J., Mizukawa, Y. Animal models for atopic dermatitis: are they relevant to human disease? *J Dermatol Sci.* 36(1):1-9, 2004.
21. 주인강. 임상경험집-피부외과. 인민위생출판사, 107, 2005.
22. 서인문 외. 중국피부병방전서. 과학기술문헌출판사, 333, 2003.
23. 마소요. 실용중의피부병학. 상해중의약대학출판사, 231, 1999.
24. 남경중의학원편. 제병원후론교석 하책. 인민위생출판사, 1383, 1982.
25. 진실공. 외과정종. 인민위생출판사, 269, 1983.
26. 오걸 외. 의종급감 하. 대성문화사, 502, 1991.
27. 진가현. 가미패독산의 NC/Nga 생쥐에서 발생된 아토피 피부염 억제 작용. 대전대학교 학위논문, 2006.
28. 박숙자 외. 소풍산 추출물이 DNCB로 유발된 접촉성 피부염에 미치는 영향. 동의생리병리학회지, 20(3):623-628, 2006.
29. 민영규 외. 소풍산가미방과 외치방 병용이 NC/Nga 아토피 생쥐에 미치는 영향. 한방안이비인후피부과학회지, 18(1):116-134, 2005.
30. 김기훈 외. 桑葉이 아토피 피부염에 미치는 영향. 慶熙醫學, 20(1), 2004.
31. 김만우. 淸心蓮子湯의 Th2 細胞 分化調節과 抗炎症 機轉을 통한 아토피 피부염 治療效果에 관한 研究. 동국대학교 학위논문, 2006.
32. Hardy, R.R., Hayakawa, K. B cell development pathways. *Annu Rev Immunol*, 19:595-621, 2001.
33. Prussin, C., Foster, B. TCR V alpha 24 and V beta .11 coexpression defines a human NK1 T cell analog containing a unique Th0 subpopulation. *J Immunol*, 159:5862-5870, 1997.
34. Robinson, D.S., Hamid, Q., Ying, S., Tsicopoulos, A., Barkans, J., Bentley, A.M., Corrigan, C., Durham, S.R., Kay, A.B. Predominant TH2-like bronchoalveolar T-lymphocyte population in atopic asthma. *N Engl J Med.* 326:298-304, 1992.
35. Watanabe, A., Mishima, H., Renzi, P.M., Xu, L.J., Hamid, Q., Martin, J.G. Transfer of allergic airway responses with antigen-primed CD4+ but not CD8+ T cells in brown Norway rats. *J Clin Invest.* 96:1303-1310, 1995.
36. Garcia, K.C., Degano, M., Speir, J.A., Wilson, I.A. Emerging principles for T cell receptor recognition of antigen in cellular immunity. *Rev Immunogenet.* 1(1):75-90, 1999.
37. MacDonald, H.R., Wilson, A. The role of the T-cell receptor (TCR) in alpha beta/gamma delta lineage commitment: clues from intracellular TCR staining. *Immunol Rev.* 165:87-94, 1998.
38. White, J.R., Imburgia, C., Dul, E., Appelbaum, E., O'Donnell, K., O'Shannessy, D.J., Brawner, M., Fornwald, J., Adamou, J., Elshourbagy, N.A., Kaiser, K., Foley, J.J., Schmidt, D.B., Johanson, K., Macphee, C., Moores, K., McNulty, D., Scott, G.F., Schleimer, R.P., Sarau, H.M. Cloning and functional characterization of a novel human CC chemokine that binds to the CCR3 receptor and activates human eosinophils. *J Leukoc Biol.* 62:667-675, 1997.
39. Erin, E.M., Williams, T.J., Barnes, P.J., Hansel, T.T. Eotaxin receptor (CCR3) antagonism in asthma and allergic disease. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy.* 1:201-214, 2002.
40. Laky, K., Fleischacker, C., Fowlkes, B.J. TCR and Notch signaling in CD4 and CD8 T-cell development. *Immunol Rev.* 209:274-283, 2006.
41. Kang, H.K., Datta, S.K. Regulatory T cells in lupus. *Int Rev Immunol.* 25 (1-2):5-25, 2006.
42. Liu, H., Leung, B.P. CD4+CD25+ regulatory T cells in health and disease. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 33(5-6):519-524, 2006.
43. Bonifacio, J.S., Mercep, M., Sussman, J.J., Klausner, R.D., Ashwell, J.D. The T-cell antigen receptor: a complex signal-transducing molecule. *Princess Takamatsu Symp.* 19:87-104, 1988.
44. Bromberg, J.S. The biology of CD2: adhesion, transmembrane signal, and regulatory receptor of immunity. *J Surg Res.* 54:258-267, 1993.
45. Sancho, D., Gomez, M., Sanchez-Madrid, F. CD69 is an immunoregulatory molecule induced following activation.

- Trends Immunol. 26:136-140, 2005.
46. Dorshkind, K., Narayanan, R., Landreth, K.S. Regulatory cells and cytokines involved in primary B lymphocyte production. *Adv Exp Med Biol.* 323:119-123, 1992.
 47. Robertson, M.J., Ritz, J. Biology and clinical relevance of human natural killer cells. *Blood.* 76:2421-2438, 1990.
 48. Driver, D.J., McHeyzer-Williams, L.J., Cool, M., Stetson, D.B., McHeyzer-Williams, M.G. Development and maintenance of a B220-memory B cell compartment. *J Immunol.* 167:1393-1405, 2001.
 49. Biron, C.A. Activation and function of natural killer cell responses during viral infections. *Curr Opin Immunol.* 9:24-34, 1997.
 50. Walzer, T., Dalod, M., Vivier, E., Zitvogel, L. Natural killer cell-dendritic cell crosstalk in the initiation of immune responses. *Expert Opin Biol Ther.* 1:S49-59, 2005.