

石花菜 추출물 도포가 마우스의 심재성 2도 화상에 미치는 영향

김동현, 홍승욱

동국대학교 한의과대학 안이비인후피부과학교실

Effects of Skin Application of *Gelidium amansii* Extract on Deep Second-degree Burns in Mice

Dong-Hyun Kim, Seung-Ug Hong

Dept. of Oriental Medical Ophthalmology, Otolaryngology & Dermatology,
College of Oriental Medicine, Dongguk University

Objective: The purpose of this study was to investigate the effects of skin application with *Gelidium amansii* extract on skin with deep second degree burns in mice.

Methods: BALB/c mice were divided into four groups: normal (NOR) group; burn-elicited mice (CON) group, Silmazine-treated mice after burn elicitation (ST) group, and *Gelidium amansii*-extract treated mice after burn elicitation (GT) group. To examine the skin recovery effect after burn, changes of burn area, angiogenesis and histologic structure were analyzed. To measure effect of edema regulation, matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) was analyzed. To estimate the skin regenerative & stable effect, 5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU) and substance P were analyzed.

Results: 2 weeks later,

1. The size of burn area decreased in the GT and ST groups more than the CON group.
2. Alleviation of angiogenesis appeared in the GT and ST groups more than in the CON group.
3. Blood clot, epithelial cell hyperplasia, and inflammatory cell infiltration declined in the GT and ST groups more than in the CON group.
4. MMP-9, BrdU, and substance P positive reaction decreased in the GT and ST groups more than in the CON group
5. In the comparative study, the GT group was superior to the ST group.

Conclusion: The skin application of *Gelidium amansii* extract could lessen skin damage by the medium of regulation MMP-9 activation. This skin stabilization was induced in mice with deep second degree burns.

Key Words : *Gelidium amansii*, extract, deep second degree burns, burn, MMP-9, skin application

서론

화상은 불꽃, 끓는 물, 화학물질, 전기, 방사능 등의 열에 의한 피부의 손상을 의미하며 열에 의한 세포단백의 변성과 응고 및 효소의 불활성화, 화상 조

직에서의 여러 염증 매개물질의 방출, 면역체계이상으로 인한 감염기회의 증가 등의 기전으로 병변을 유발하게 된다^{1,2)}.

몇 십 년간의 화상치료의 발달로 그 치료율과 중증환자의 생존율이 증가하고 있음에도 불구하고 감

• Received : 2 December 2009

• Revised : 9 February 2010

• Accepted : 9 February 2010

• Correspondence to : 홍승욱(Seung-Ug Hong)

(419-773) 경기도 고양시 일산동구 석사동 814번지 동국대학교 일산불교한방병원 안이비인후피부과

Tel : +82-31-961-9085, Fax : +82-31-961-9009, E-mail : heenthsu@duih.org

염, 미용상의 문제, 기능의 상실과 그로 인한 재활, 환자의 정신적 고통, 다른 질환에 비하여 심한 통증 등은 화상치료에 있어서 여전히 문제가 되고 있다³⁾.

서양의학에서는 화상치료에 있어서 수액을 공급하거나 전신적인 약을 투여하는 이 외에 외부적인 치료로 수분을 보존해주며 상처를 보호하고 치유를 촉진시키는 목적으로 1919년 John Staige Davis가 이종조직이식을 처음 시도한 이래로⁴⁾ 다양한 biologic dressing이 이용되고 있으며, 또한 창상부위에 직접적인 감염을 막기 위하여 silver nitrate, sulfamylon cream, silver sulfadiazine 등의 국소도포제를 많이 이용하고 있다⁵⁾.

최근 피부질환에 있어서 한의학에 대한 관심이 높아지면서 화상의 경우에도 내원하는 환자들이 늘어나고 있으며, 이에 따라 한의학적 화상 치료에 있어 근거가 될 수 있는 단미제제, 복합제제 및 침치료에 관한 실험논문 및 임상증례 등이 보고되고 있다⁶⁻⁸⁾.

石花菜는 홍조류에 속하는 다세포성 해조식물⁹⁾로 흔히 우뚝가사리나 그 추출물인 한천으로 불려지고 있는데, 本草綱目¹⁰⁾에서는 大寒 혹은 寒하다고 그性を 정하고, '去上焦浮熱'을 비롯하여 清熱解毒, 殺蟲 등의 효능을 언급하고 있다. 현재 한방에서 常用되고 있지는 않으며, 국내연구도 매우 적은 편이지만, 민간요법등 일부에서는 화상에 외용제로 빈용되고 있다.

최근 중화권을 중심으로 한 연구에서 石花菜나 그 추출물의 항산화력, 항균력, 면역증가 등을 검증되었으며¹¹⁻¹⁴⁾, 또한 그 추출물인 한천의 성질이 차고 성상이 gel상을 띄어 한의학적인 biologic dressing으로 응용할 수 있는 가능성이 충분하다고 생각되어 본 연구의 재료로 선택하였다.

본 실험에서는 화상유발 생쥐에게 石花菜 추출물을 도포하고 화상유발피부의 손상면적, 신생혈관분포, 조직학적 소견을 통해 피부손상 완화정도를 관찰하고, collagen fiber의 조직학적 변화와 MMP-9으로 진피의 부종완화정도를 보았으며, BrdU, substance P의 양성반응을 측정하여 피부안정화에 대해서 관

찰한 결과 石花菜 추출물의 도포가 화상치료에 있어서 유의성을 보였기에 이를 보고하는 바이다.

실험 재료 및 방법

1. 실험재료

1) 실험동물

오리엔트(한국)에서 분양 받은 태령 6주된 BALB/c 수컷 생쥐를 무균사육장치내에서 2주일동안 적응시킨 후 체중이 20 g된 생쥐를 선별하여 사용하였다. 약제 처리에 있어서는 정상군(Normal), 대조군(Control, Burn Eliciated mice, CON군), 화상유발 후 Silmazine 처리군 (Silmazine Treated mice after burn elicitation, ST군) 그리고 화상 유발 후 石花菜처리군(*Gelidium amansii* Treated mice after burn elicitation, GT군)으로 나누었으며, 각각 10마리씩 배정하였다.

2) 화상 유발방법

화상은 우선 생쥐 등쪽부위 피부를 면도한 다음 100℃ 용액에 10초간 노출시켜 심도 2도 화상(직경 10 mm)을 유발하였다. 화상 유발 후 14일 째에 화상 유발 부위를 Caliper (Mitutoyo, JAPAN)로 길이 측정을 실시하고 해부현미경을 이용하여 4배의 배율로 촬영한 후 각각을 비교하였다.

3) Silmazine 도포 처리

실마진(silver sulfadiazine, 동화제약, 한국)을 화상 유발 후 14일 동안 하루 2회씩 ST군의 화상유발 부위에 골고루 도포하였다.

4) 石花菜 추출물 도포 처리

한천(石花菜, *Gelidium amansii*) 200 g을 증류수 1000 ml에 넣고 2시간동안 전탕한 후 여과하였다. 그 여액을 rotary evaporator를 이용하여 100 ml으로 감압·농축한 후 동결 건조한 것을 사용하였다(수득률 40%). 화상유발 후 14일 동안 하루 2회씩 GT군의 화상 유발 부위에 20% 石花菜 추출물 희석액 500 μ l을 점착하고 면봉으로 골고루 도포하였다.

2. 실험방법

1) 혈관분포의 영상분석

화상부위의 혈관분포 변화를 영상분석 하기 위해 화상 유발 후 14일째에 sodium pentobarbital 용액으로 마취하고 화상 유발된 등쪽 피부를 절개하여 젖힌 후 나타난 혈관을 즉시 ×4 배율로 촬영하였다. Optimas 5.2 (Optima Co., USA)에서 먼저 image기능의 sharpen low-filter를 사용하여 혈관을 명확하게 한 다음 binary morphology에서 invert 기능을 선택하여 분포 혈관을 intensity 190-210으로 전환·부각시켰고 Histogram을 통해 동일 영역의 pixel을 계수하였다.

2) 진피 내 부종관찰을 위한 면역조직화학

화상 유발 후 14일째에 sodium pentobarbital 용액으로 마취한 후 vascular rinse와 10% 중성 포르말린용액 (neutral buffered formalin : NBF)으로 심장관류고정을 실시하였다. 그런 다음 화상부위피부를 적출한 후 실온에서 24시간동안 다시 10% NBF에 고정하였으며, 고정된 조직은 통상적인 방법으로 paraffin에 포매한 후 5 μm 두께의 연속절편으로 제작되었다.

일반적인 형태변화를 관찰하기 위해 연속절편을 hematoxylin과 eosin에 염색한 후 광학현미경 (BX50, Olympus, Japan)으로 관찰하였다. 한편 진피 내 부종변화를 관찰하기위해서 mallory azan 염색을 실시하였다.

단백분해효소인 matrix metalloproteinase (MMP)-9의 진피 내 분포변화를 조사하기위해 면역조직화학적 염색을 실시하였는데, 화상 유발 후 14일째에 우선 제작된 연속절편을 blocking serum인 10% normal goat serum (1:20, DAKO, Denmark)에서 2시간 동안 반응시켜 비특이적 면역반응을 억제하였다. 그리고 1차 항체인 mouse anti mouse MMP-9 (1:100, Santa Cruz Biotech, USA)에 4℃ humidified chamber에서 72시간 동안 반응시켰으며, 이어서 2차 항체인 biotinylated goat anti-mouse IgG (Santa Cruz Biotech)에 4℃ humidified chamber에서 24시간 link

하였다.

그 직후에 Avidin biotin complex (Vector Lab, USA)에 1시간동안 실온에서 반응시킨 다음에 0.05% 3,3'-diaminobenzidine(DAB)과 0.01% HCl이 포함된 0.05M tris-HCl 완충용액(pH 7.4)에서 발색시킨 후, hematoxylin으로 대조 염색하여 광학현미경으로 관찰하였다.

3) 피부안정화관찰을 위한 면역조직화학

피부 상피 내 세포증식 진행을 조사하기위해 항 BrdU 항체를 이용한 면역조직화학적 염색을 실시하였는데, 우선 실험동물에서 화상 유발 후 14일째에 피부를 적출하기 5시간 전, 3시간 전, 1시간 전 3회에 걸쳐 생리식염수에 녹인 5-bromo-2'- deoxyuridine (BrdU, Sigma) 50 mg/kg을 복강주사 하였다.

얻어진 연속절편은 4℃와 37℃의 2N HCl용액에서 각각 20분씩 반응시켜 DNA-denaturation을 일으켰다. 0.1M borate 완충용액 처리로 안정시킨 후 비특이적 면역반응을 억제하기위해 0.01%의 proteinase K (DAKO, Denmark)가 포함된 normal goat serum에 1시간동안 반응시켰다. 그런 다음 1차 항체인 mouse anti-mouse BrdU (1:50, Amersham, UK)에 4℃ incubation chamber내에서 72시간 반응시켰고, 이어서 2차 항체인 biotinylated goat anti-mouse IgG (Santa Cruz Biotech)에 4℃ humidified chamber에서 24시간 link 하였다.

그 직후에 Avidin biotin complex (Vector Lab, USA)에 1시간동안 실온에서 반응시킨 다음에 0.05% 3,3'-diaminobenzidine(DAB)과 0.01% HCl이 포함된 0.05M tris-HCl 완충용액(pH 7.4)에서 발색시킨 후, hematoxylin으로 대조 염색하여 광학현미경으로 관찰하였다.

한편 itching에 관여하는 신경전달물질인 substance P 분포 변화를 조사하기위해 면역조직화학적 염색을 실시하였는데, 우선 절편을 blocking serum인 10% normal goat serum (1:20, DAKO, Denmark)에서 2시간 동안 반응시켜 비특이적 면역반응을 억제하였다. 그리고 1차 항체인 mouse anti mouse

substance P (1:100, Santa Cruz Biotec)에 4 °C humidified chamber에서 72시간 동안 반응시켰으며, 2차항체인 biotinylated goat anti-mouse IgG (Santa Cruz Biotec)에 4 °C humidified chamber에서 24시간 link 하였다. Avidin biotin complex (Vector Lab, USA)에 1시간동안 실온에서 반응시킨 후 0.05% 3,3'-diaminobenzidine(DAB)과 0.01% HCl이 포함된 0.05M tris- HCl 완충용액 (pH 7.4)에서 발색시킨 후, hematoxylin으로 대조염색하여 광학현미경으로 관찰하였다.

4) 영상분석과 통계처리

면역조직화학 결과의 수치화를 위해 Optimas 5.2 (Optima Co., USA)를 이용한 영상분석(image analysis)을 실시하였다. 영상분석 결과는 Sigmaplot2000 (SPSS INC., USA)을 통해 유의성을 검증하였다.

결 과

1. 화상유발피부의 손상변화

1) 화상유발피부의 직경감소

화상 유발 후 14일째에 CON군의 피부의 직경은 4.6 ± 0.20 mm로 측정되었다. 이에 반해 ST군은 CON군에 비해 13% 감소한 4.0 ± 0.13 mm로 GT군은 CON군에 비해 24% 감소한 3.4 ± 0.14 mm로 측정되었다 (Fig. 1).

2) 혈관분포감소

화상 유발 후 14일째에 피부를 절개하여 진피쪽 피부를 영상분석 한 결과, 대조군에 비해 CON군에서는 혈관가지의 수가 증가한 반면, ST군과 GT군에서는 CON군에 비해 유의성 있는 감소를 보였다 (Fig. 1). 정상군에 비해 CON군은 1557%나 증가한 반면, ST군은 CON군에 비해 65% 감소되었고 GT

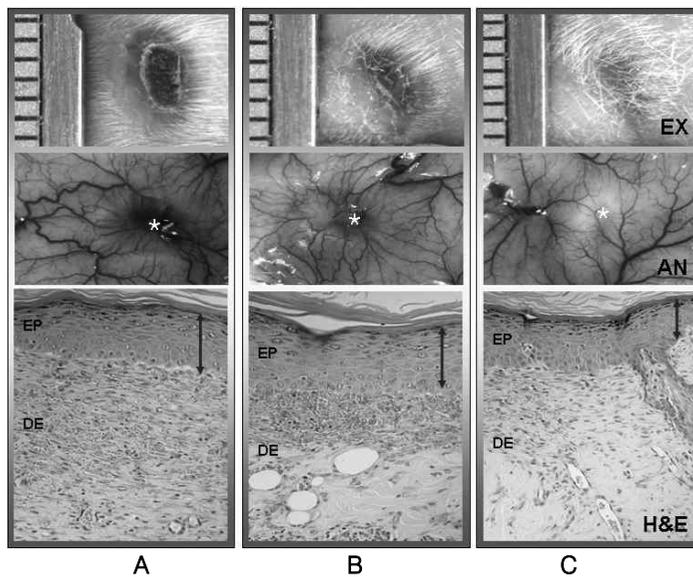


Fig. 1. The cure effect of GA for burn caused skin damages.

A. Control, Burn elicited mice. B. *Silmazin* treated mice after burn elicitation. C. GA (*Gelidium amansii*) treated mice after burn elicitation. The size of burn and angiogenesis (*) in B and C were decreased than A and these decrease had probability. Epidermal damage, as hyperplasia (↓) and Dermal damage, as infiltration of inflammatory cell & increase of capillary in B and C were decreased than A.

Abbreviation: EX, external morphology; AN, change of angiogenesis; H&E, Hematoxylin & eosin stain, ×200; EP, epidermis; DE, dermis.

Table 1. The image analysis of angiogenesis in GA-treated mice after burn elicitation.

Objective	Group			
	NOR	CON	ST	GT
Angiogram	348±16	5765±75	2032±50 [*]	1189±50 [†]

(image analysis for 100,000 particles / range of intensity : 190-210)

Abbreviation: GA, *Gelidium amansii*; NOR, No treated mice; CON, Burn elicited mice; ST, Silmazin treated mice after burn elicitation; GT, GA treated mice after burn elicitation; ^{*}, P < 0.05 compared with CON; [†], P < 0.05 compared with ST.

군은 CON군에 비해 79% 감소되었다(Table. 1).

3) 피부조직손상의 조직학적 완화

화상 유발 후 14일째에 화상에 의한 외부형태 손상이 확인된 CON군의 피부에서는 탈락과정에 있는 혈병(blood clot), 상피세포 과형성(hyper plasia), 진피 내 모세혈관의 분포 증가 그리고 과립백혈구와 림프구의 기저층으로 침윤증가가 관찰되었다(Fig. 1-A). ST군에서는 CON군에서 비해 피부손상 부위는 감소한 것으로 관찰되었으나, 염증관여세포의 기저층 내로 이주는 증가한 것으로 관찰되었다(Fig. 1-B). GT군은 CON군과 ST군에 비해 낮은 상피세포 과형성 및 진피 내 모세혈관의 분포와 염증관여

세포의 침윤에 있어서 감소가 관찰되었다(Fig. 1-C).

2. 진피 내 부종의 감소

화상 유발 후 14일째에 CON군의 기저층 주변에서 부종의 증가가 관찰되었으며, mallory azan에 양성반응을 보이는 collagen fiber의 분포가 적었다. 이에 비해 ST군과 GT군에서는 collagen fiber의 분포가 CON군에 비해 증가된 것으로 관찰되었다(Fig. 2-A).

한편 CON군내 단백분해효소인 MMP-9 분포는 collagen fiber의 소실이 관찰된 기저층 주변 진피에서 확인되었으며, 주로 잘 발달된 세포가장자리에서

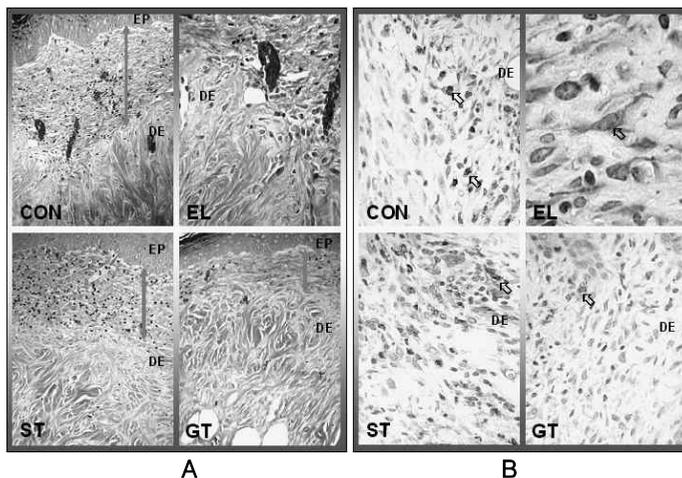


Fig. 2. The regulation of edema in burn caused dermis by GA.

A. Distribution of Collagen fiber (arrow, region of edema; mallory azan, ×400). The size of edema were in ST and GT were decreased CON. B. Distribution of MMP-9 positive reacted cell (MMP-9 immunohisto chemistry, ×400). The MMP-9 positive reacted cell (vacant arrow) in ST and GT remarkably decreased than CON.

Abbreviation: MMP-9, matrix metalloproteinase-9; CON, burn elicited mice; EL, enlargement of CON (×1000); ST, Silmazin treated mice after burn elicitation; GT, *Gelidium amansii* treated mice after burn elicitation; Other abbreviation same as Fig. 1.

Table. 2. The image analysis of MMP-9 in GA-treated mice after burn elicitation.

Antibody	Group			
	NOR	CON	ST	GT
MMP-9	374±14	3782±44	2522±51*	1085±26†

(image analysis for 100,000 particles / range of intensity : 80-130)

Abbreviation: MMP-9, matrix metalloproteinase; Other abbreviation same as table 1.

강한 양성반응을 보이는 것으로 나타났다(Fig. 2-B). 관찰결과 정상군에 비해 CON군은 MMP-9 양성반응이 911% 증가하였으나, ST군은 CON군에 비해 33%, GT군은 CON군에 비해 71%가 감소되어 통계적으로 유의성이 확인되었다(Table. 2).

3. 피부 안정화 효과

1) 상피세포 과형성의 조절 효과

화상 유발 후 14일째에 상피 기저층에서 세포분열중인 세포핵에서 관찰되는 BrdU 양성반응은 CON군의 경우 정상군에 비해 747% 증가하였으나, ST군은 CON군에 비해 33%, GT군은 CON군에 비

해 75%가 감소되어 통계적으로 유의성이 확인되었다(Table. 3, Fig. 3-A).

2) itching 억제 효과

화상 유발 후 14일째에 신경전달물질인 substance P의 양성반응은 CON군에서 증가하였는데, 주로 기저층 아래 진피에서 잘 관찰되었으며, 세포가장자리에서 강한 양성반응을 보였다(Fig. 3-B). 영상분석결과 substance P 양성반응은 CON군에서 정상군에 비해 868% 증가하였으나, ST군은 CON군에 비해 40%, GT군은 CON군에 비해 52%가 감소되어 통계적으로 유의성이 확인되었다(Table. 3).

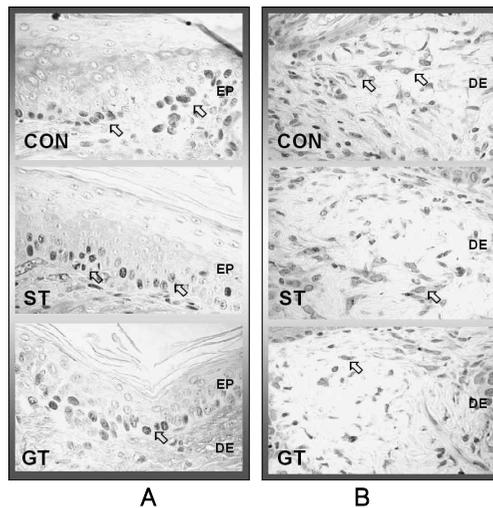


Fig. 3. The stabilization of GA in burn caused skin.

A. Regulation of Cell proliferation (BrdU immunohistochemistry, × 1000). The BrdU positive reacted cell (vacant arrow) in ST and GT remarkably decreased than CON. B. Regulation of itching (substance P immunohistochemistry, × 1000). The substance P positive reacted cell (vacant arrow) in ST and GT remarkably decreased than CON. Abbreviation: Abbreviation same as Fig. 1. and Fig. 2.

Table. 3. The image analysis of cell proliferation and itching in GA-treated mice after burn elicitation.

Antibody	Group			
	NOR	CON	ST	GT
BrdU	416±11	3523±80	2345±66*	876±17 [†]
substance P	218±15	2111±65	1259±47*	1010±22 [‡]

(image analysis for 100,000 particles / range of intensity : 80-130)

Abbreviation: BrdU, 5-bromo-2'-deoxyuridine; Other abbreviation same as table 1.

고찰

여러 해에 걸친 의학기술의 발달로 화상에 의한 사망자는 1997년의 10만명당 1.7명에서 2007년의 10만명당 0.6명으로 줄어들고 있으나¹⁵⁾ 산업이 고도화되고 생활양식이 복잡해지고 기술이 다양해지면서 화상의 발생은 증가하는 추세이다. 또한 비록 전체환자 비율에서 화상환자가 차지하는 비율은 높지는 않지만 다른 질환에 비하여 중증환자의 비율이 높고 치료기간과 치료비가 높은 점을 고려할 때¹⁶⁾ 화상치료에 대한 중요성은 간과할 수 없다.

일반적으로 화상은 열에 의한 피부변화의 정도에 따라 1도에서 4도까지로 단계를 나누는데 치료방법과 예후를 결정하는데 그 정도와 범위를 파악하는 것이 중요하다. 흔히 2도 화상이 판단하는 것이 중요하게 생각되어지는 첫 번째 이유는 가장 많이 발생하는 화상의 유형인 열탕화상의 경우에 대부분 2도 화상을 유발하기 때문이다¹⁷⁾.

또한 1도, 3도, 4도의 경우 이견이 별로 없으나, 2도 화상의 경우는 얇은 2도 화상과 깊은 2도 화상으로 나누어 치료에 있어서 수술적 방법이 필요할지 아니면 드레싱치치만으로 가능할지를 판단하는 경계가 되기에 더욱 중요하다¹⁸⁾. 이는 곧 항생제나 수액공급, 그리고 수술적 처치를 할 수 없는 한의원 화상치료에 있어서 가장 기본적인 구분점이 되기에 중요한 의미를 가진다.

얇은 2도 화상은 표피에서 얇은 진피층까지 파괴되는 것으로 발적, 부종이 뚜렷하고 수포가 형성될 경우, 자각적으로 심한 작열감과 동통을 보인다. 깊은 2도 화상은 진피층의 대부분이 파괴되어 수포가

터지면서 미란면에서 다량의 분비액이 나오며 색소 침착, 색소탈실, 가피및 반흔의 형성을 보이는데 신경세포의 파괴로 통증이 의외로 별로 없는데^{18,19)} 임상상으로는 수포와 창상의 색, 가피, 통증 등에 있어서 구분하기 곤란한 측면이 있고 진행 중인 것도 있으므로 경과를 잘 보고 판단하여야하며 이 때문에 임상상으로는 중간 2도 화상의 구분을 두는 경우도 있다¹⁸⁾.

얇은 2도 화상의 경우 드레싱만 해주어도 상피화되어 반흔없이 낮게 되나 중간 2도 화상이나 깊은 2도 화상의 경우는 진행되어 피부이식술을 받는 경우가 생기는데¹⁸⁾ 피부이식술을 받게 되면 해당 부위에 반흔이 남게 되며 색상이 불일치하게 되어 미용상 좋지 않으며 입원기간 및 치료기간이 길어진다. 따라서 가능하다면 2도 화상이 발생한 경우 상처부위가 깊어지는 것을 최소화하고 진피 내에 생존하고 있는 세포와 삼출액에 있는 성장인자를 보존하면서 자연치유를 하는 것이 좋다²⁰⁾.

1967년 Fox등에 의해 개발된 이래로 가장 많이 사용되는 화상국소치료제인 Silver sulfadiazine은 화상부위의 2차 감염을 방지하며 각질형성세포 등의 증식속도를 감소시키고 진피층의 기질형성을 방해하여 상처치유 속도를 저하시키는 여러 종류의 염증 유도성 cytokine을 분비하는 염증세포의 이상증식을 억제하는 역할을 한다.

그러나 동시에 정상 치유과정에서 초기에 진행되어야 하는 염증 반응 등을 억제하여 세포의 이동과 증식을 원활하게 이뤄지지 않게 하며, 상피세포 및 진피세포 내의 각질형성세포 등에 대하여 세포독성을 가지고 있어서 각질세포의 증식을 저하시키고 창

상부위의 섬유아세포의 이동 및 증식을 억제하여 상처세포 재생에 있어서 치유속도를 지연시킨다²¹⁻²²).

또한 Silver sulfadiazine을 주성분으로 하여 화상 치료제로 널리 쓰이는 Silmazine의 경우 그 구성성분 중 경피간 흡수를 촉진하는 Propylene glycol과 지용성 알콜인 stearyl alcohol이 경우에 따라 알레르기성 접촉성 피부염을 일으킬 수도 있는 등의 문제도 가지고 있다²³).

이와 같은 문제에 근거할 때, 한의학적 외치제제가 화상치료에 있어서 서양의학에 비하여 자연치유력과 세포독성의 측면 등에 있어서 장점을 가지는 부분도 있을 것이라고 생각을 할 수 있게 되었다.

한의학적으로 화상은 燙火傷, 燒傷, 湯火瘡, 水水燙傷 등으로 불리며 일찍이 晋代의 <肘後方> 이후로 <劉涓子鬼遺方>, <千金方>, <外臺秘要>, <醫學入門>, <洞天奧旨>, <醫宗金鑑> 등 많은 서적에 화상에 대한 언급이 있는데 대부분 <千金方>에서 “火瘡用 梔子, 黃芩, 白蘘煎湯以淋瘡 會溜去火熱毒”이라 한 이래로 淸冷한 약을 써서 환부를 차갑게 하여 화열독을 몰아내야한다는 散火解毒의 원칙을 세우고 계승, 발전시키는 한편 油類나 膠類의 외용제로 피부부를 보호하는 방법을 제시하였다. 다만 “愼勿以冷水洗之 否側 火瘡得冷 熱氣更深傳入骨, 壞人筋骨難瘥”라 하여 환부를 찬 물로 씻지 못하게 한 점은 현대 의학의 화상처치법과는 다소 어긋나는 점이 있다^{24,25}).

明代에 이르러서는 調氣血, 健脾胃, 淸熱解毒, 排膿生肌 등의 다양한 치료원칙이 제시되고²⁴, 溫熱病에 대한 인식이 증대한 淸代에 와서 陳士鐸은 <洞天奧旨>²⁶에서 火熱瘡이 두루 몸으로 퍼져 상처가 黑色과 같이 되면 難治라 하였고, 그리하여 火毒이 안으로 들어가 피부가 그슬리고 肌肉이 말려들어가고 동통이 심하게 나타나면 百計千方이 소용이 없는데 그 전에 內外同治하여 한다고 강조했다.

<醫宗金鑑>²⁷에서는 그 증상, 경중구분 및 예후, 응급처치를 제시하고, 치료법에 있어서도 상세하게 변증하고 정밀하게 처방을 구성하여 처음에는 淸涼膏을 外用으로 塗布하여 解毒止痛하고 그 다음에 피부가 문드러지기 전에 罌粟膏를 사용하고, 통증이

찾아들고 농이 생기면 黃連膏로 바꾸어 붙여서 수렴시켜주는데 화독이 안으로 들어가면 四順淸涼飲을 복용시켜 二便을 通利시키면 열독이 스스로 풀린다고 하였는데 이는 현대 임상과 밀접한 연관이 있다. 다만 “初傷用冷燒酒一鐘...”이라 하여 소주(알코올)를 사용하는 부분은 현재도 민간에서 행하여지고 있으나 감염을 유발할 수 있고 흔히 상처를 심부로 발전시킬 수 있어서²⁸ 현대의학적으로는 금하고 있는 부분이다.

현재 중의학에서는 濕潤요법으로 치료하거나 九華膏, 復方虎杖酊, 復方艾葉煎, 冷藏復方燙傷酊 등의 중약처방을 이용하거나 중약처방과 수액제제나 항생제를 같이 이용한 중서결합적 치료를 이용하여 화상을 치료하는데 효과를 보이고 있다²⁵).

국내에서는 김⁷이 경장요법을 한의학적으로 해석하여 加味十全湯의 항산화, 항염증효과와 피부재생 촉진효과를 입증하였으며, 지⁶가 외용제로 紫雲膏加減方과 炒炭卵黃油加減方을 이용하여 실험적으로 회복효과를 입증하였다.

침치료에 있어서는 소수의 임상적 증례가 있다가 최근 송⁸이 침과 약침을 같이 이용해서 실험적으로 그 효과를 검증하였다.

石花菜는 그 歸經이 肝, 肺 혹은 手足太陽, 陽明經 즉, 肺, 膀胱, 大腸, 胃로 언급되어 있으며, 그 性은 寒 또는 大寒하고 滑하고 無毒하며, 味는 甘, 鹹하고 淸肺化痰, 消痔止血, 軟堅, 養陰, 驅蟲, 緩瀉, 去上部浮熱(風熱), 導腸中濕熱, 淸肺部熱痰, 久食癒痔 등의 작용을 가지고 腸炎腹瀉, 腎子腎炎, 咳嗽, 癰癤나 腫瘤, 痔瘡出血, 慢性便秘, 蛔蟲을 치료하며 실험적으로 乳腺癌, 子宮癌에도 사용되었다¹⁶⁻¹⁹).

石花菜는 흔히 황산 또는 초산을 넣어 끓인 다음 걸러 굳히는 과정을 거쳐 한천으로 가공되어 실험실 배지뿐만 아니라 무기염 비료와 화장품의 원료로 첨가되고 식품의 가공을 용이하게 하거나 안정화시키는데 사용되는 등 주위에서 다용도로 흔하게 이용되고 있으며⁹, 민간의 일부지역에서는 화상을 비롯한 피부질환에 그 즙을 내어 사용하고 있지만 과학적으로 사용하는 배지에 대한 연구만 이루어졌을 뿐 다

른 목적으로는 연구가 거의 이루어지지 않은 식물로 그 근거서적 또한 많지 않으며 대부분 비슷한 언급을 하고 있을 뿐이다.

외국에서 최근에 들어와서야 항산화효과^{11,12)}, 면역증진효과¹³⁾, 항균효과¹⁴⁾ 등에 대해 점차 논문들이 나오고 있으며, 아직 국내에서는 연구결과가 소수에 불과하다.

이에 저자는 石花菜의 항산화, 면역증진, 항균 등의 효능과 더불어 그 추출물인 한천이 가지는 특유의 gel형상이, 현대의학에서 1962년 Winter²⁹⁾가 화상상처가 습윤환경에서 상처의 상피화가 촉진되는 것을 발견한 이후 Bunyan, Breuing등을 거치면서 그 효과가 입증된³⁰⁾ Moist-wound healing(습윤창상치유)에 근접한 한방제제라고 판단하였다.

한의학적으로도 石花菜는 淸肺化痰, 養陰, 驅蟲, 去上部浮熱(風熱)등의 효능을 가지고 있음에 근거하여 화상에 외용제로 유용할 것으로 보이지만, 아직 이에 대한 실험이 이뤄진 적이 없는 것에 주목하여 깊은 2도 화상을 유발한 생쥐의 화상부위에 石花菜 추출물을 도포한 다음 화상유발피부의 직경변화와 혈관신생변화 및 조직학적 형태를 관찰하였으며, 부종의 증감과 collagen fiber의 분포를 육안적으로 확인하였다. 또한, 그 효과를 정확히 알기위해 MMP-9을 측정하였다. 또한 피부안정화에 대해 알아보기 위해 BrdU와 substance P를 관찰하였다.

조직학적 소견으로 CON군에 비해 혈병, 상피세포 과형성, 염증관여세포 침윤 등 피부손상이 ST군과 GT군에서 적게 나타났으며 GT군의 경우 ST군보다 더욱 양호한 결과를 보였다.

혈관신생은 기존의 혈관에서 새로운 모세혈관이 생기는 것을 의미하며, 정상적인 조건에서는 엄격하게 조절되어 있으나 염증, 비만, 감염, 자가면역질환, 암의 전이나 성장 등의 많은 질환에서 비정상적으로 증가하는 것으로 알려져 있다³¹⁾. 본 실험에서도 그 혈관신생이 안정화되었는지 알아보기 위해 화상 유발 후 처치를 한 다음 혈관분포를 비교하였을 때 CON군보다 ST군과 GT군이 유의성 있는 감소를 보였으며, GT군이 ST군보다 감소한 것으로 나타났다.

대식세포, 림프구, 호중성 백혈구 그리고 호산성 백혈구 같은 염증관여세포에서 생성되는 것으로 보고된 Matrix metalloproteinases (MMPs)은 정확하게는 matrixins이라 불리는 endopeptidase로 다양한 병리적 상태에서 성장인자, cytokine, LPS 같은 박테리아 생성물 같은 매개체에 반응하여 세포이주, 세포분열 그리고 혈관신생에 관여한다^{32,33)}. 이 중에서 MMP-9는 PMA, TNF- α , LPS 그리고 CpG-ODN 등과 같은 매개물질에 의해 발생한 다음에 laminin과 type IV collagen을 선택적으로 분해하여 기저막을 파괴하여 염증관려세포의 이주를 용이하게 한다^{34,36)}.

MMP-9 유전자의 생성을 촉진하는 proximal promoter인 전사인자로는 AP-1, NF- κ B, Ets 그리고 Sp1등이 있는데 화상 유발 시에는 그 중에서 NF- κ B의 활성이 증가하며, 그 결과 진피 내에서 MMP-9 생성이 증가하여 결국 collagen fiber의 손상을 유도하게 되어 염증세포의 이주와 부종 증가를 일으킨다³²⁾. 본 실험에서 MMP-9의 양성반응을 관찰한 결과 CON군에 비해 ST군과 GT군이 유의성 있게 감소하였으며, GT군이 ST군에 비해 더욱 감소한 것으로 나타났다.

화상에 의한 염증이 증가하게 되면 각질형성세포와 섬유모세포에서 FGF(fibroblast growth factor)분비를 증가시켜 각질형성세포의 과형성과 섬유모세포의 이상증식을 유도하는데, 이를 관찰하기 위해서 BrdU(5-Bromo-2deoxyuridine)를 이용하였다. BrdU는 tritiated thymidine처럼 합성기 세포의 DNA에 결합하는데, 1980년대 초 Gratzner³⁷⁾가 hybridoma기법을 이용하여 BrdU에 대한 단세포 항체군을 개발하면서 세포주기에서 DNA를 합성하는 세포를 인지하는 새로운 방법으로 DNA에 결합하는 BrdU와 그 항체를 이용한 면역조직화학염색법이 확립된 이래로 많이 쓰이고 있다. 본 실험에서도 화상 유발 후 상피세포의 과형성 등의 세포증식을 조직학적인 방법과 BrdU 양성반응세포의 분포 증가로 확인하였는데 CON군이 정상군에 비해 크게 증가한 것으로 나타난 반면에 ST군과 GT군은 CON군에 비해 증가폭이 적었으며 측정된 양성반응이 GT군이 ST군에 비

해 유의성있게 감소한 것으로 나타났다.

혈관 주변에 분포하고 있는 감각신경의 말단부에서 분비되는 혈관활성 신경펩티드의 일종인 substance P는 미세혈관을 확장하여 투과성을 증가시키고 비만세포의 탈과립과 염증세포 이주 및 증식을 유도³⁸⁾시킬 뿐만 아니라 성장인자를 자극하거나 비슷한 역할을 하는 것으로 알려져 있다³⁹⁾. 본 실험에서는 주관적인 증상인 동통과 소양증의 전달물질로 이를 측정하는 지표로 substance P를 관찰해본 결과 그 양성반응이 CON군에 비해 ST군, GT군 모두 유의성 있는 감소경향을 보였으며, ST군에 비해 GT군에서 더욱 감소된 양상을 보였다.

이상의 결과로 볼 때 화상을 유발한 피부에 石花菜추출물을 도포하는 것은 MMP-9 활성 억제를 통해 진피 내 부종을 억제하여 피부손상을 완화시키고, 이에 더불어 상피세포의 분열과 substance P의 생성을 조절하여 피부 안정화를 유도하는 것으로 인식되어진다.

한의학계 내에서도 피부에 관한 관심이 늘어나고 있고 이에 발맞추어 화상에 대한 연구도 점차적으로 늘어나고 있지만 아직 그 결과물들은 부족한 실정이다. 본 시험에 사용된 石花菜의 경우에도 민간에서는 사용되어 왔으나 한의학적으로는 오랫동안 사용하지 않고 있던 약물이므로 기존 비용 약제뿐 아니라 다양한 한약제제들에 대한 치료효과들을 검증할 필요가 있을 것으로 사료된다. 또한 石花菜 도포요법의 안정성과 임상효과 등에 관한 추가 연구들을 진행할 가치가 있을 것으로 판단된다.

결 론

石花菜 추출물 도포의 MMP-9 활성 억제를 통한 부종 조절이 화상 유발 후 피부 안정화에 미치는 효과를 조사하기 위해서 이뤄진 본 연구는 BALB/c 생쥐에 인위적으로 화상을 유발시킨 다음 石花菜 도포 후 피부 내 손상, 부종 그리고 피부 안정화를 관찰하였고 또한 화상연구인 Silmazine 처리군과 비교한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 石花菜 추출물 도포 후 피부 손상 (혈병, 혈관 신생성, 상피세포 과형성, 염증관여세포 침윤) 완화가 관찰되었다.
2. 石花菜 추출물 도포 후 MMP-9 활성 조절은 진피 내 부종 억제를 유도하였다.
3. 石花菜 추출물 도포 후 상피세포 분열 조절과 substance P 생성 조절을 통한 피부 안정화가 관찰되었다.
4. Silmazine 처리군과 石花菜 추출물 처리군의 비교연구에 있어서 石花菜 처리군이 Silmazine 처리군에 비해 피부손상완화효과, 진피 내 부종 억제효과, 피부안정화효과에 있어서 더 우수한 것으로 관찰되었다.

이상의 결과로 볼 때 石花菜 추출물 도포는 화상 유발 피부에서 MMP-9 활성 조절을 통한 부종을 억제하여 피부 손상을 완화시켜서 화상피부 안정화를 유도하는 것으로 생각된다.

참고문헌

1. 안성구, 성열오, 지혜구, 황상민, 정준. COMMON SKIN DISEASE. 제1판. 서울:피서픽출판사. 2005:539-41.
2. 강원형. 피부질환 아틀라스. 제1판. 서울:한미의학. 2003:53.
3. Park YS, Kim EH. A Study on Pain and Anxiety of Burn Patients. Journal of Korea Community Health Nursing Academic Society. 2001;15(1): 83-95.
4. 서정욱, 유성희, 박영재. 화상 및 창상의 계란 막이식의 임상보고. 대한외과학회 32차 학술대회자료집. 1980:65-6.
5. Lee KR, Chang ES, Son KS. Clinical Studies in 228 Cases of Burn Patients. Journal of the Korean Surgical Society. 1984;27(4):430-8.
6. Chi GY. A Study on Histological Recuperative Effect of Burn Remedies. Korean journal of Oriental Physiology & Pathology. 2002;16(4): 774-81.

7. Kim HY, Hong SU. The effects of Gamisipjeontang-gamibang on injured tissue after burn elicitation. The Journal of Korean Oriental Medical Ophthalmology & Otolaryngology & Dermatology. 2009;22(1):62-75.
8. Song BY, Lee CH. Effects of the Acupuncture or Pharmacopuncture Treatment for the Histologic and Morphologic Recovery on the Mouse with the Burn Skin. The Journal of Korean Acupuncture & Moxibustion Society. 2009;26(3):81-92.
9. 최한길, 김영식, 남기완, 이해자. 해양식물과 한의학. 제1권. 서울:(주)학술정보. 2004:17-8, 173-4.
10. 李時珍. 개정판 본초강목. 서울:의성당. 1993: 1707.
11. Lee TM, Shiu CT. Implications of mycosporine-like amino acid and antioxidant defenses in UV-B radiation tolerance for the algae species *Pterocladia capillacea* and *Gelidium amansii*. Marine Environmental Research. 2009;67(1):8-16.
12. Yan X, Nagata T, Fan X. Antioxidative activities in some common seaweeds. Plant Foods for Human Nutrition. 1998;52(3):253-62.
13. Fu YW, Hou WY, Yeh ST, Li CH, Chen JC. The immunostimulatory effects of hot -water extract of *Gelidium amansii* via immersion, injection and dietary administrations on white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its resistance against *Vibrio alginolyticus*. Fish Shellfish Immunology. 2007;22(6):673-85.
14. Chen YH, Tu CJ, Wu HT. Growth-inhibitory effects of the red alga *Gelidium amansii* on cultured cells. Biological & pharmaceutical bulletin. 2004;27(2):180-4.
15. 통계청자료. 2007년 사망 및 사망원인통계결과.
16. Wang SJ, Kim JY, Kwak YH, Kim HC. Burn Incidence in Korea Based on National Health Insurance Data. Journal of Korean Burn Society. 2005;8(2):119-26.
17. Lim JC, Yoon CJ, Moon DJ, Kim KS. Clinical Analysis of Scalding Burns Caused by Water Purifier or Water Dispenser. Journal of Korean Burn Society. 2004;7(2):104-7.
18. Hwang JH, Lee JW, Jang YC, Oh SJ. Proposal of New Classification of Second- Degree Burn. Journal of Korean Burn Society. 2002;5(1):33-7.
19. 강진성. (최신)성형외과학. 대구:계명대학교출판부. 1995:435.
20. Kim YS, Chung CM, Kim HS, Seo DK, Cho WS, Sohn TK. Treatment of Second Degree Burn Wound Using Hydrocolloid Dressings. Journal of Korean Burn Society. 2005;8(1):88-96.
21. Cho AR. Effect of Silver sulfadiazine on the Skin Cell Proliferation and Wound Healing Process in Hairless Mouse 2nd degree Burn Model. The Korean Society of Pharmaceutical Sciences and Technology. 2002;32(2):113-7.
22. Fraser JF, Cuttle L, Kempf M, Kimble RM. Cytotoxicity of topical antimicrobial agents used in burn wounds in Australasia. ANJ journal of surgery. 2004 ;74(3):139-42.
23. Kang MC, Kim SA, Chung SL, Lee KS. Case Report : A Case of Allergic Contact Dermatitis from Silmazine(R) Cream. Korean Journal of Dermatology. 2009;47(6):710-3.
24. 전국한외과대학 피부외과학 교개편찬위원회. 韓醫皮膚外科學. 부산:선우. 2007:263-70.
25. 王沛, 李日慶, 張燕生 主編. 中醫外科治療大成. 石家莊:河北科學技術出版社. 1997:136-44.
26. 陳士鐸. 洞天奧旨, 一名, 外科秘錄. 北京:中醫古籍出版社. 1992:151-2.
27. 吳謙. 醫宗金鑑. 서울:대성문화사. 1999:448.
28. Kim DK, Nam-Koong Y, You DY, Wang SJ. Clinical Experiences of Treatment of Four Hundreds Fifty Eight Burn Patients. Journal of Korean Burn Society. 2003;6(1): 23-7.
29. Winter GD. Formation of the scab and the rate of epithelialization of superficial wounds in the skin of the young domestic pig. NATURE. 1962;193:293-4.
30. Woo GW, Moon JH. The Effect of Saline Infused

- Wet Dressing on Burn Wound through Nelaton's Catheter. *Journal of Korean Burn Society*. 2004; 7(2):119-27.
31. Timar J, Domo B, Fazekas K, Janoics A, Paku S. Angiogenesis-dependent disease and angiogenesis therapy. *pathol. Oncol. Res*. 2001;7:85-94.
 32. Van den Steen PE, Dubois B, Nelissen I, Rudd PM, Dwek RA, Opdenakker G. Biochemistry and molecular biology of gelatinase B or matrix metalloproteinase -9 (MMP-9). *Crit Rev Biochem Mol Biol*. 2002;37(6):375-536.
 33. Visse R, Nagase. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. *Circ Res*. 2003;92(8): 827-39.
 34. Holvoet S, Vincent C, Schmitt D, Serres M. The inhibition of MAPK pathway is correlated with down-regulation of MMP-9 secretion induced by TNF-alpha in human keratinocytes. *Exp Cell Res*. 2003;290(1):108-19.
 35. Islam LN, Nabi AH. Endotoxins of enteric pathogens modulate the functions of human neutrophils and lymphocytes. *J Biochem Mol Biol*. 2003;36(6):565-71.
 36. Rhee JW, Lee KW, Sohn WJ, Lee Y, Jeon OH, Kwon HJ, et al. Regulation of matrix metalloproteinase-9 gene expression and cell migration by NF-kappa B in response to CpG-oligodeoxynucleotides in RAW 264.7 cells. *Mol Immunol*. 2007;44(6): 1393-400.
 37. Gratzner HG. Monoclonal antibody to 5-bromo- and 5-iododeoxyuridine: a new reagent for detection of DNA replication. *Science*. 1982;218: 474-5.
 38. Pfaar O, Raap U, Holz M, Hörmann K, Klimek L. Pathophysiology of itching and sneezing in allergic rhinitis. 2009;139(3-4):35-40.
 39. Jang YC, Burm JS, Lee JW, Oh SJ. Time Dependent Change of Neuropeptides in Human Burn Wound Healing and Scar Formation. *Journal of Korean Burn Society*. 2003;6(2):124-33.