

## 흰쥐의 전층피부손상에서 溫淸飲이 신생혈관형성에 미치는 영향

김범회<sup>1)</sup> · 이해웅<sup>1)</sup> · 손낙원<sup>2)</sup> · 박동일<sup>1)</sup>\*

<sup>1)</sup>동의대학교 한의과대학 한의학과, 동의대학교 한의학연구소

<sup>2)</sup>경희대학교 동서의학대학원

### Angiogenetic Effect of Onchung-Eum on Full-thickness Skin Wound in Rats

Kim Bum Hoi,<sup>1)</sup> Lee Hae Woong,<sup>1)</sup> Sohn Nak Won<sup>2)</sup> & Park Dong Il<sup>1)</sup>\*

<sup>1)</sup>Department of Oriental Medicine, Graduate School, Dong-Eui University

Research Institute of Oriental Medicine, Dong-Eui University

<sup>2)</sup>Graduate School of East-West Medical Science, Kyung Hee University

#### Abstract

The wound healing process can be categorized as follows : inflammation, fibroplasia, neovascularization, collagen deposition, epithelialization, and wound contraction. During the healing process, various growth factors are secreted to accelerate wound healing. Previous studies have demonstrated that endogenous growth factors, such as vascular endothelial growth factor(VEGF) are the important regulatory polypeptides for coordinating the healing process. They are released from macrophages, fibroblasts, and keratinocytes at the site of injury and participate in the regulation of reepithelization, granulation tissue formation, collagen synthesis and neovascularization.

Onchung-Um has been used clinically to treat various skin diseases. In addition, Onchung-Um has been also used for congestive inflammations. In the present study, we evaluated the effects of Onchung-Um on wound healing process and wound size reduction in rats. Full-thickness skin wounds (15mm X 15mm) were created on the back of rats. Rats were then divided into 2 groups : The Onchung-Um treated group that was orally administered with a dose of 193.9mg/100g of Onchung-Um extract per day for 15 days and Control group without Onchung-Um administration. Moreover, the histological changes and VEGF immunoeexpressions of two groups were estimated.

· 접수 : 2010년 4월 1일 · 수정접수 : 2010년 4월 22일 · 채택 : 2010년 4월 23일

\* 교신저자 : 박동일, 주소 : 부산광역시 부산진구 양정2동 산45-1, 동의대학교 한의과대학  
전화 : 051-850-7411, 전자우편 : bume@deu.ac.kr

In results, wound closures were significantly accelerated by oral administration of Onchung-Um extract. Furthermore, in Onchung-Um treated group, there were significant increases in fibroblast migration, epithelialization compared with the Control group. VEGF expressions were also increased in Onchung-Um treated group. This study has therefore demonstrated the Onchung-Um can significantly improve the quality of wound healing and scar formation and the oral administration of Onchung-Um extract may increase early tissue angiogenesis in the incisional wound of an experimental animal model.

**Key words** : Wound healing, Onchung-Um, VEGF, Full-thickness skin wound

## 서론

피부에 물리적인 손상이 가해져서 정상적인 피부구조물의 연속성이 파괴된 경우를 상처라고 하며, 이런 불연속성을 복구하는 과정이 상처치유(wound healing)이다.<sup>1)</sup> 상처치유는 여러 단계를 거치며 매우 순차적이고 효율적인 방법으로 진행된다. 상처치유에 있어 상피조직과 결합조직은 광범위하게 재생되나 대부분의 조직은 그 재생능력이 한정되어 있어서 척추동물에서의 상처치유는 주로 염증반응 말기에 새로운 모세혈관의 형성, 섬유증식, 상피조직재생을 동반하는 것으로 알려져 있다.<sup>2)</sup> 정상적인 상처치유의 과정은 염증기(inflammation), 육아기(granulation), 상피화기(epithelialization), 섬유증식기(fibroplasia), 수축기(contraction) 등을 포함한다.<sup>3)</sup>

상처치유가 진행되면서 상처부위의 대사활성도가 높아지고 산소와 영양분의 요구량도 증가하게 된다. 따라서 여러 가지 중요한 생물학적 반응들이 활성화되는데, 낮은 pH, 산소분압의 감소, 젖산(lactate)의 증가는 새로운 혈액공급을 위해 필요한 요소들의 분비를 촉진한다.<sup>4)</sup> 이러한 과정을 신생혈관형성(angiogenesis)이라 부르고 혈관내피성장인자(vascular endothelial cell growth factor: VEGF)에 의해 촉진되는 것으로 알려져 있다.<sup>5)</sup>

溫清飲은 活血養血하는 四物湯과 清熱瀉火解毒하는 黃連解毒湯이 合方된 처방으로 <萬病回春>에 처음 수록되었으며,<sup>6)</sup> 補血, 活血, 清熱의 효능이 있어서 간질환 및 瘀血로 인한 피부질환에도 응용된다.<sup>7, 8)</sup> 즉, 溫清飲은 溫補養血하고 血虛를 補하고 혈액순환을 촉진시켜 瘀血을 제거하고 清血熱하므로 각종 총혈성 염증에 사용된다.<sup>9)</sup> 溫清飲에 대한 실험적 연구로는 흰쥐에서 세로토닌(serotonin)과 히스타민(histamine)에 의한 혈관투과성 반응의 억제 효과와 피부염증 반응에서 억제효과가 보고되었다.<sup>10)</sup>

한편, 각종 수술환자의 수술상처 치유의 지연은 수술 후 치명률과 상처감염 등의 합병증 발생을 증가시키는 것으로 알려져 있다.<sup>11)</sup> 빠른 상처치유를 통해 치명률을 낮추고 합병증을 감소시키기 위한 여러 연구가 있었는데, 광물성 미네랄,<sup>12)</sup> 양막부착포,<sup>13)</sup> 맥동성 초음파<sup>14)</sup> 등이 상처치유에 유효한 효과가 있는 것으로 알려졌다. 또한, 黃耆,<sup>15)</sup> 沒藥,<sup>16)</sup> 紫雲膏<sup>17)</sup> 등의 외과적인 도포가 피부손상의 치유를 촉진하는 것으로 밝혀졌다. 이 밖에 여러 가지 한약물이 상처치유에 유효한 효과가 있음이 임상적으로 입증되고 있으나 실험적인 연구가 부족한 편이며, 특히 한약물의 경구투여에 의한 효과는 검증이 거의 이루어지지 않은 실정이다.

이에 저자는 溫清飲의 경구투여가 상처주위 조직에서 상처부위의 신생혈관의 형성을 촉진시켜 상처회복을 촉진할 것이라는 가설을 검

증하기 위하여 실험적으로 흰쥐에 피부전층 상처를 유발한 후 溫清飲 투여에 따른 상처 크기의 변화, 상처 부위의 조직학적 변화 및 모세혈관의 생성과 VEGF 단백질의 발현변화를 관찰한바 유의한 결과를 얻었기에 이에 보고하는 바이다.

담고 냉각기를 부착한 전탕기에서 2시간동안 전탕한 다음 1차 여과한 여과액을 rotary evaporator로 감압농축한 후 완전 동결 건조시켜 물추출액기스 58.2g을 얻었다. 투여량은 체중 60kg인 사람의 하루 1첩 복용량에 비례하여 흰쥐 체중 100g 당 물추출액기스 193.9mg을 음용수에 녹여 피부 상처를 유발시킨 후 매일 정해진 시간에 경구투여 하였다.

### 실험방법

#### 1. 실험동물

실험동물은 샘타코(주)에서 구입한 9주령, 약 250g 전후의 Sprague-Dawley계 수컷 흰 쥐를 사용하였다. 흰쥐는 온도 21~23℃, 습도 40~60%, 조명 12시간 명/암을 유지하는 사육실에서 무균음료와 사료가 자유롭게 공급되었으며, 실험실 환경에 1주 이상 적응시킨 후 사용하였다.

#### 2. 약물의 조제 및 투여

실험에 사용한 溫清飲 처방의 내용과 1첩 분량은 Table 1.과 같다. 溫清飲 5첩 분량인 260g을 증류수 3,000ml와 함께 round flask에

#### 3. 피부전층 상처(Full-thickness skin wound) 유발과 실험군의 분리

실험 당일 ethyl ether로 흰 쥐를 흡입 마취 시키고 흰쥐의 등쪽 피부의 피모를 전기제모기를 사용하여 광범위하게 제거한 후 수술부위를 70% ethanol로 소독하였다. 등쪽 피부를 정사각형(15×15mm)을 작도한 후 멸균된 수술용 가위로 피하층까지 절개하여 피하조직을 분리하여 피부전층 상처를 유발하였다. 상처유발 후 상처 부위의 감염을 방지하기 위해 상처부 주위를 소독하고, PBS로 상처부의 혈흔과 기타 삼출물을 정리하였다.

피부전층 상처를 유발 시킨 후 실험동물을 무작위로 나누어 溫清飲을 투여한 Sample군 (n=12)과 동일량의 생리식염수를 투여한 Control

Table 1. Herbal Composition of Onchung-Eum

韓藥名	生藥名	用量
當歸	Angelica Gigantis Radix	4.0 g
乾地黃	Rehmanniae Radix	4.0 g
白芍藥	Paeonia Radix	3.0 g
川芎	Cnidii Rhizoma	3.0 g
黃芩	Scutellariae Radix	3.0 g
黃連	Coptidis Rhizoma	2.0 g
黃柏	Phellodendri Cortex	2.0 g
山梔子	Gardeniae Fructus	2.0 g
total		23.0 g

군(n=12)으로 분리하였다. 약물의 투여는 상처 유발일 부터 시작하여 15일간 매일 동일한 시간에 경구투여를 통해 시행하였다. 또한 상처 부위의 감염을 방지하기 위해 매일 상처부위를 소독하였다.

#### 4. 상처 면적의 변화

실험동물에 피부 전층 상처유발 후 15일간 매일 같은 시간에 각 군의 동물들의 상처부위를 촬영하였다. 상처의 연축율은 상처유발 직후의 최초의 상처 테두리면적(W<sub>0</sub>)에서 측정일별 연축된 상처의 테두리면적(W<sub>i</sub>)의 차이값의 백분율로 계산하였다.

상처의 치유율은 상처유발 첫날의 상처 테두리면적(W<sub>0</sub>)에서 각 측정일별 상처의 면적(U<sub>i</sub>)의 차이값의 백분율로 계산하였다.

상처의 상피화율은 상처유발 후 7일 째부터 측정하였는데, 측정일별 상피화 면적은 상처의 테두리면적(W<sub>i</sub>)에서 측정일별 상처의 면적(U<sub>i</sub>)의 차이값의 백분율로 계산하였다.<sup>18)</sup>

$$\text{창상 연축율}(\%) = \frac{W_0 - W_i}{W_0} \times 100$$

$$\text{창상 치유율}(\%) = \frac{W_0 - U_i}{W_0} \times 100$$

$$\text{창상 상피화율}(\%) = \frac{W_i - U_i}{W_i} \times 100$$

상처테두리 면적과 상처부위의 면적은 image processing program(NIH Image, version 1.52, Public Domain Software)을 이용하여 측정하였다.

#### 5. 조직학적 분석 (Histological analysis)

상처유발 후 3, 7, 15일에 Control군과 Sample

군에서 각 4마리씩 실험동물을 희생하여 상처 부 전체가 포함된 조직을 채취하였다. 조직을 4% 중성 formalin 용액에 24시간 고정한 후 상처 중앙을 통과하는 절편을 취하여 탈수시킨 후 paraffin 블록에 포매하였다. 조직을 5μm 두께로 조직절편기를 사용하여 절단한 다음 gelatin으로 코팅된 slide에 붙여 paraffin 제거 및 함수과정을 거친 후 Hematoxylin-Eosin (H&E) 염색을 하였다. H&E 염색을 하기 위해서 조직절편을 xylene을 이용하여 paraffin을 제거한 후 100, 95, 90, 80, 70, 60% alcohol로 10분간 함수시켰으며, 증류수로 세척하였다. Harris hematoxylin으로 30초간 염색하고, 흐르는 물에 조직을 2분간 세척한 후, 1% HCl 용액에 4~5회 담근 후 다시 흐르는 물에 세척하였다. 세척이 끝난 조직을 ammonia water에 4~5회 담근 후 다시 흐르는 물로 15분간 세척하고 eosin으로 10초간 염색반응을 유도하였다. 70, 80, 90, 95, 100% alcohol 및 xylene을 이용하여 탈수한 후 canada balsam을 이용하여 봉입하였다.

#### 6. VEGF의 관찰

상처주위조직의 VEGF의 발현을 관찰하기 위하여 anti-VEGF(AB44724, 1:500 dilution, rabbit polyclonal; ABCAM)를 primary antibody로 하고, biotinylated goat anti-rabbit IgG (Nichirei Co.)를 secondary antibody로 사용하여 염색한 후 변화를 관찰하였다.

#### 7. 통계처리

실험결과 분석은 Microsoft Office Excel 2007 프로그램을 통한 Student T-test 통계처리법을 이용하여 위험도 P<0.05 및 P<0.01로 유의성을 검증하였다.

## 실험성적

### 1. 상처의 육안적 변화

상처유발 후 각 군에 대하여 상처부위를 육안으로 관찰한 결과 전반적으로 온청음 추출물을 투여한 Sample군이 Control군에 비해 빠른 상처치유가 관찰되었다. 상처유발 후 3일째

부터 Control군과 Sample군 모두에서 혈괴(blood clot)가 형성되고 바깥쪽 부분에 육아조직(granulation tissue)이 관찰되었다. 상처부위에 충혈상태를 관찰한 결과 Control군에 비해 Sample군에서 혈종이 상당히 감소된 것을 확인할 수 있었다(Fig. 1 C, D). 상처유발 후 7일째에 Control군은 대부분 아직 혈괴로 덮여있는 반면, Sample군에서는 분홍빛의 상피화가 일어난 것을 확인할 수 있었으며(Fig. 1 E, F), 11일째에는 Control군과 Sample군 모두에서

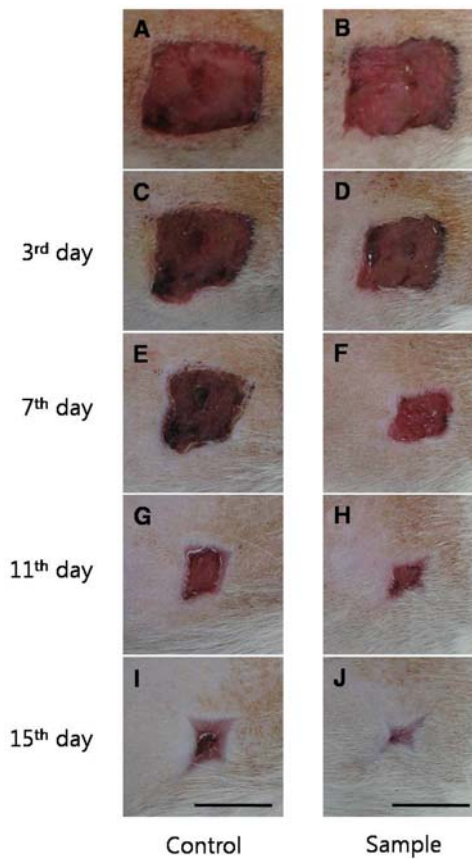


Figure 1. Changes of Wound Area on the each day of Control(A, C, E, G, I) and Sample(B, D, F, H, J) group. Hematomas were decreased in Sample group to compared with Control group(C, D). On 7th day, early epithelization occurred in Sample group. The size of wound area was significantly reduced in Sample group to compared with Control group(C, D).

혈괴가 탈락되었고 15일째에는 Sample군의 상처수축이 거의 완성되어 육안으로도 상처부위의 크기가 Sample군이 Control군에 비해 현저히 감소된 것을 확인할 수 있었다(Fig. 1 I, J).

## 2. 상처 연축율

상처유발 후 15일 동안의 연축율의 비교에 있어서 溫淸飲 추출물을 경구투여한 Sample군이 Control군에 비해 전반적으로 높은 연축율을 나타내었다(Fig. 2).

상처유발 후 3일째 Control군은 18.6±3.0%의

연축율을 보인 반면, Sample군에서는 26.8±1.7%의 연축율을 나타내어 Control군에 비해 유의성 있는 증가를 보였다(P<0.05). 5일째에는 Control군이 34.5±3.6%, Sample군이 44.2±1.9%의 치유율을 보였고(P<0.05), 7일째에는 Control군이 42.7±2.9%인 반면, Sample군은 53.6±2.5%로 나타나 연축율의 유의성 있는 증가가 관찰되었다(P<0.01).

## 3. 상처 치유율

상처 치유율의 비교에 있어서도 溫淸飲 추

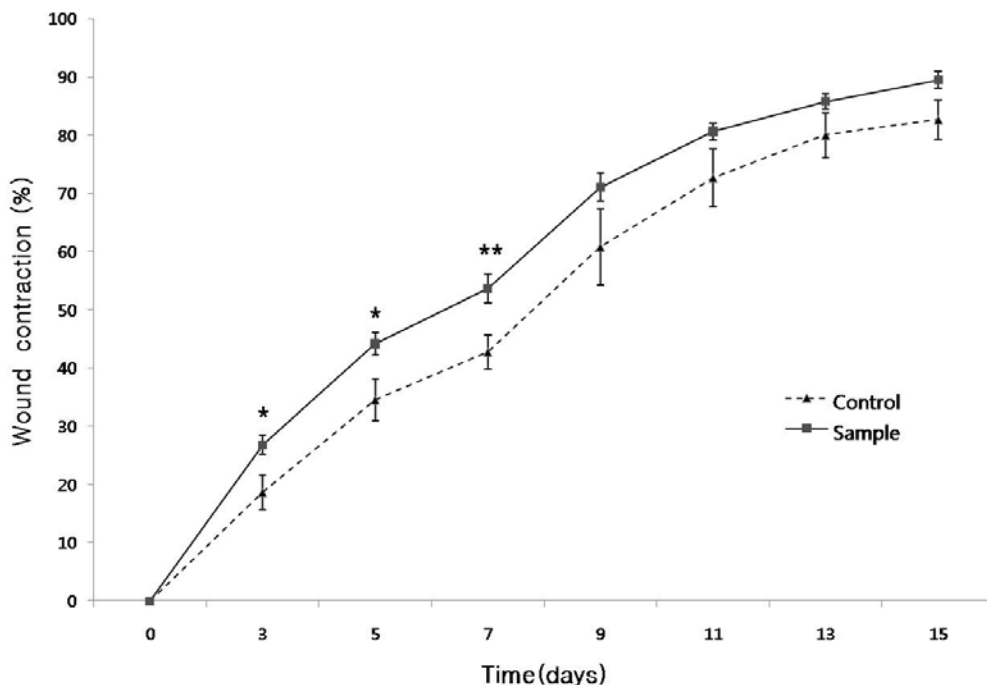
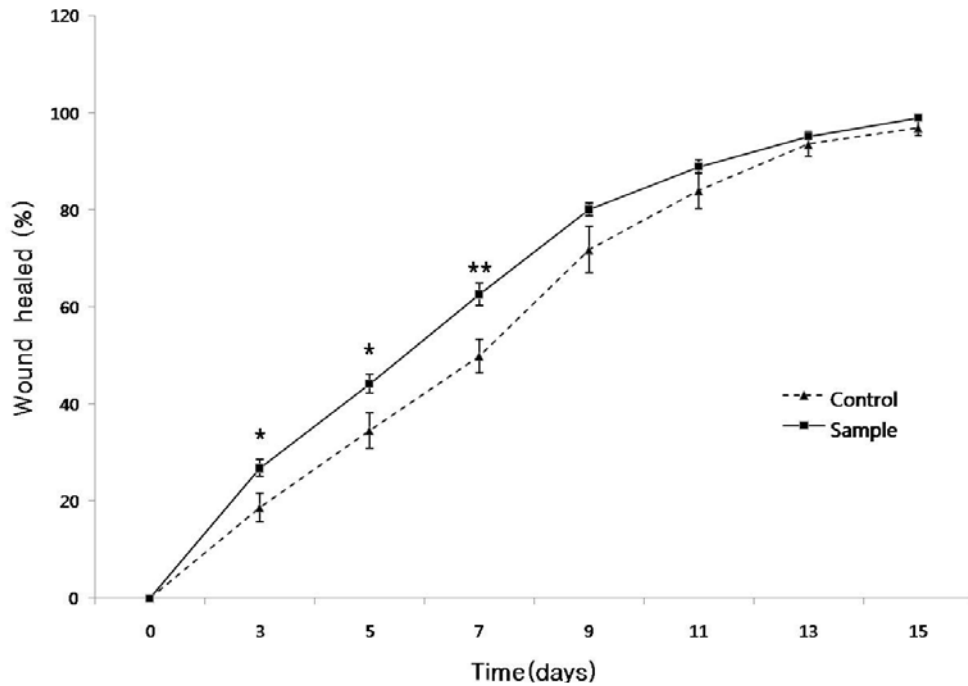


Figure 2. Mean percentage of wound contraction for each group. (Mean±S.E.)

\* p<0.05 \*\* p<0.01



	3 days	5 days	7 days	9 days	11 days	13 days	15 days
Control	18.6±3.0	34.5±3.6	49.9±3.5	71.8±4.8	84.0±3.7	93.5±2.5	96.9±1.6
Sample	26.8±1.7*	44.2±1.9*	62.6±2.3**	80.0±1.4	88.9±1.4	95.2±0.6	98.9±0.4

Figure 3. Mean percentage of wound contraction for each group. (Mean±S.E.)

\*p<0.05 \*\*p<0.01

출몰을 투여한 Sample군이 Control군에 비해 상처유발 후 15일 동안 전반적으로 높은 상처 치유율을 나타내었다(Fig. 3).

특히 처음 7일 동안의 상처 치유율의 비교에 있어서 Sample군이 Control군에 비해 유의성 있는 증가를 나타내었다. 상처유발 3일째에 Control군이 18.6±3.0%의 치유율을 보인 반면 Sample군이 26.8±1.7%로 치유율의 유의성 있는 증가가 나타났으며(P<0.05), 5일째에는 Control군과 Sample군이 각각 34.5±3.6%, 44.2±1.9%로 관찰되었고(P<0.05), 7일째에는 Control군과 Sample군이 각각 49.9±3.5%, 62.6±2.3%로 관

찰되어(P<0.01) Sample군이 Control군에 비해 유의성 있는 증가를 나타내었다.

#### 4. 상처 상피화율

상처 상피화율은 처음 상피화가 시작되는 시기인 7일째부터 측정하였는데, 15일 동안의 상처의 상피화율의 비교에서 전반적으로 Control군과 Sample군 간에 유의성 있는 차이를 나타내지는 않았다. 다만, 상처유발 후 7일째에 상피화가 시작되면서 Sample군이 Control군에 비해 상피화가 빠른 편이었으며, 상피화된 면적도

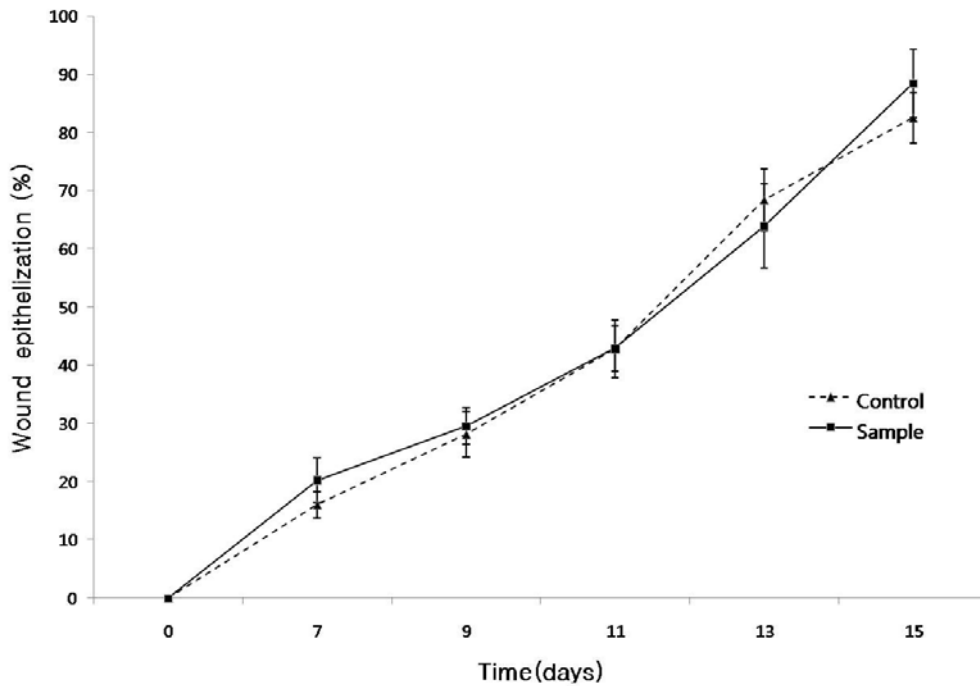


Figure 4. Mean percentage of wound contraction for each group. (Mean±S.E.)

\*p<0.05 \*\*p<0.01

증가하였으나 통계적 유의성은 없었다(Fig. 4).

### 5. 상처부위의 조직학적 변화

피부전층 상처를 유발시킨 후 3일째에 Control 군과 Sample군 모두에서 혈피가 형성되고 섬유모세포의 증식이 관찰되었다(Fig. 5 A, B). 혈피형성과 섬유모세포 증식에 있어 Control군과 Sample군 간의 뚜렷한 차이점은 발견할 수 없었다. 상처 유발 7일째에는 염증반응에 따른 부종과 울혈이 관찰되었는데, 특히 Control군에서의 염증반응이 뚜렷하여 진피의 부종형성

이 관찰되었으며, Sample군의 경우는 Control군에 비해 부종의 형성이 감소되었음이 확인되었다. 또한, Control군과 Sample군 모두 표피세포의 재생이 일어나 혈피아래로 표피층이 형성되고, 혈관형성이 활발히 진행됨이 관찰되었는데, 특히 Sample군에서 Control군에 비해 혈관증식이 뚜렷이 관찰되었다(Fig. 5 C, D). 상처유발 15일째에는 상피화와 더불어 표피의 각질화가 일어났는데 Sample군이 Control군에 비해 각질이 더 두껍게 형성되었음이 관찰되었다(Fig. 5 E, F).



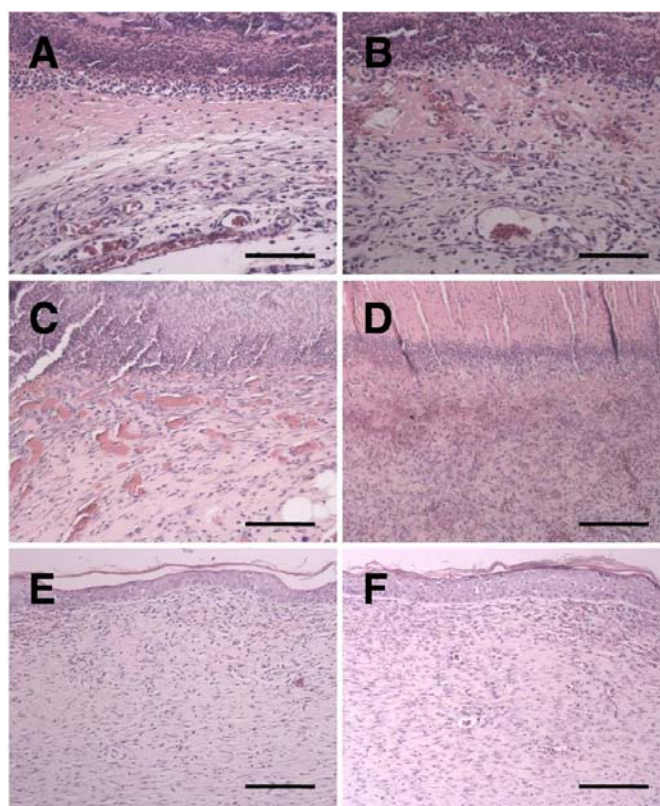


Figure 5. Hematoxylin and eosin stained sections of the wounded skins at different time intervals. A, C and E are Control group on day 3, 7 and 15 respectively. B, D and F are Sample group on day 3, 7 and 15 respectively. A, B, C and D are at similar magnification (200 $\times$ ) and E and F are at 100 $\times$ . Scale Bar = 200  $\mu$ m

## 6. VEGF의 발현

전층 피부상처 유발 3일째 Control군과 Sample군 모두 VEGF의 발현은 거의 발견할 수 없었다(Fig. 6 A, B). 상처유발 7일째와 14일째에는 Control군과 Sample군 모두에 VEGF의 양성 반응이 관찰되었다. 특히 7일째에 Sample군에서 Control군에 비해 현저한 양성반응이 나타났으며(Fig. 6 C, D arrows), 15일째에도 비록 7일째보다는 감소하였으나 Sample군이 Control군에 비해 뚜렷한 양성 반응이 관찰되었다(Fig. 6 E, F).

## 고 찰

四物湯과 黃連解毒湯의 合方인 溫清飲은 四物湯으로 溫補養血하여 血虛를 補하고, 혈액순환을 촉진시켜 瘀血을 제거하며 血熱을 清하며, 黃連解毒湯으로 清熱瀉火解毒하여 각종 腫瘍성 염증과 이로 인한 체내의 응집된 독소를 제거하여 면역을 증강시키는 효능이 있는 것으로 알려져 있다.<sup>6-9)</sup>

정상적인 상처치유의 과정은 염증기, 육아기, 상

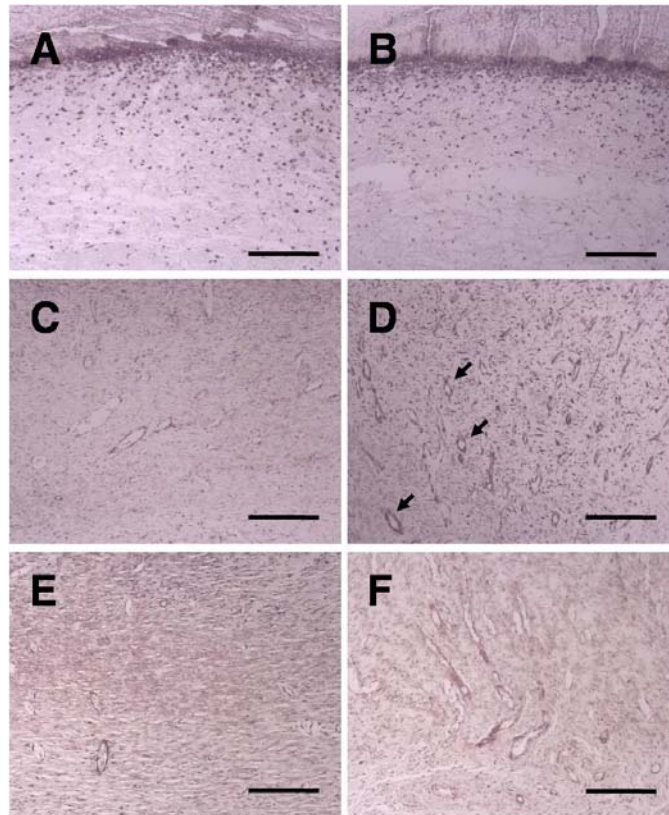


Figure 6. Immunohistochemical staining for VEGF of the wounded skins at different time intervals. A, C and E are Control group on day 3, 7 and 15 respectively. B, D and F are Sample group on day 3, 7 and 15 respectively. magnification = 200×, Scale Bar = 200  $\mu$ m.

피화기, 섬유증식기, 수축기를 거치는데,<sup>3)</sup> 염증기에는 응고인자가 방출되어 섬유아세포(fibroblast)가 생성되고 혈액응고(coagulation)를 일으키게 되고, 육아기에는 섬유아세포가 상처로 이동하고 증식하여 새로운 세포외기질(extracellular matrix)을 합성한다. 상피화기에는 상처 주위의 각질형성세포(keratinocyte)의 변화가 일어나는데, 표피가 두꺼워지고 상처 주위의 기저세포(maginal basal cell)가 커지면서 상처의 결손부로 이동하게 된다. 섬유증식기에서 섬유아세포에서 생성된 새로운 교원섬유(collagen fiber)들이 나타나고, 수축기에는 근육섬유모세포(myofibroblast)가 상처수축을 주도한다.<sup>19)</sup> 시간적으로 상처발생

12~24시간에 상처부위는 혈괴(blood clot)로 채워지고 호중구(neutrophil)가 혈괴 속으로 들어가며, 손상 후 3~7일에는 대부분의 호중구는 자연사(apoptosis)되어 사라지고 대신 대식세포(macrophage)가 손상조직에 많아지게 된다.<sup>20, 21)</sup> 내피세포들이 혈괴 속으로 들어가서 분화하여 새로운 혈관을 생성하고, 섬유모세포들은 상처 조직으로 들어가서 분화하여 세포외기질을 축적하게 된다. 이렇게 만들어진 새로운 조직을 육아조직(granular tissue)이라 부른다.<sup>22)</sup> 상처가 장자리 부위에서 각질형성세포(keratinocyte)가 분화하여 일시적으로 형성된 육아조직을 덮게 되고, 손상후 1~2주가 되면 상처수축(wound

contraction) 일어나게 된다. 그런 다음 상처는 새로운 상피조직으로 덮이게 된다.<sup>23)</sup>

여러 가지 한약물이 상처치유에 유의한 효과가 있는 것으로 밝혀졌는데, 흰쥐의 전층피부손상에 黃耆추출액의 외과적인 도포가 초기 염증 반응을 억제하고 상처수축을 촉진하는 것으로 보고되었으며,<sup>15)</sup> 沒藥의 도포와 동시에 특정전자과 조사가 피부손상에서의 부종성 손상을 방지하는 것으로 밝혀졌다.<sup>16)</sup> 또한, 紫雲膏와 gentamicin의 병용사용이 피부상처 치유와 상처감염에 유의한 효과가 있는 것으로 밝혀졌다.<sup>17)</sup> 본 실험에서는 온청음의 경구투여가 피부손상의 치유에 미치는 영향을 관찰하기 위해서 흰쥐에 인위적인 피부손상을 일으킨 후 15일간의 변화를 육안으로 관찰한 결과 Control군과 Sample에서 모두 정상적인 상처회복의 과정을 확인할 수 있었는데, 상처유발 후 溫清飲을 투여한 Sample군의 상처회복의 과정을 육안으로 관찰한 결과 Control군에 비해 상처의 회복속도가 빠른 것을 관찰할 수 있었다.

상처유발 후 3일째부터 관찰되는 상처부위의 충혈상태가 Sample군이 Control군에 비해 현저히 감소되었으며, 7일째에는 Control군이 아직 혈괴로 덮여있는 반면, Sample군에서는 상피화가 시작되고 있음이 관찰되었고, 15일째에는 Control군에 비해 Sample군에서 상처부위의 수축이 뚜렷이 증가되었다. 상처 유발 후 15일 동안의 상처의 테두리면적의 변화를 수치화한 연속율의 비교에 있어서 Sample군이 Control군에 비해 전반적으로 높은 연속률을 나타내었으며, 상처의 면적의 변화를 수치화한 상처 치유율의 비교에 있어서도 Sample군이 Control군에 비해 상처유발 후 15일 동안 전반적으로 상처 치유율을 증가를 나타내었다. 특히, 연속율과 치유율에 있어서 모두 상처유발 후 3일, 5일, 7일째에 유의성 있는 증가가 나타났다. 이러한 결과를 통해 상처유발 후 溫清飲이 투여가 상처의 빠른 회복을 돕는 것으로 사료된다.

혈관신생(angiogenesis)은 정상적인 상처치유 과정 중에 필수적인 요소이다.<sup>24)</sup> 정상적인 상처 회복의 과정 중에는 활발한 혈관신생반응이 일어나는데 이것을 통해 손상된 조직으로 영양분과 염증세포를 이동시킨다. 이러한 혈관신생은 잔해(debris)의 제거를 촉진하고 상처회복을 위한 육아조직의 형성을 촉진시키게 된다.<sup>25)</sup> 그러나 상처부위의 혈관신생을 촉진하는 약물에 대해서는 거의 알려진 바가 없다.

본 실험에서 피부전층 상처를 유발시킨 후 3일째에 Control군과 Sample군에서 가피형성과 섬유모세포 증식에 있어 차이점은 발견할 수는 없었지만, 상처 유발 7일째에 Control군에서의 염증반응이 뚜렷하여 진피의 부종형성과 울혈혈관이 뚜렷이 관찰된 반면, Sample군에서는 Control군에 비해 부종과 울혈이 감소되었음이 관찰되었다. 또한, Control군과 Sample군 모두 표피층이 형성되고, 혈관형성이 활발히 진행됨이 관찰되었는데, 특히 Sample군에서 Control군에 비해 혈관증식이 뚜렷이 관찰되었다. 위의 결과로 보아 상처유발 후 溫清飲의 경구투여가 신생혈관의 형성을 촉진시켜 상처부위의 회복을 빠르게 하는 것으로 사료된다.

다양한 피부손상모델을 통해 많은 수용성 인자들이 상처의 혈관신생에 관여하는 것으로 알려졌는데, VEGF는 혈관내피세포(endothelial cell)에 작용하여 혈관신생에 있어 매우 중요한 역할을 하는 인자이다.<sup>5, 26)</sup> VEGF는 정상 피부에서는 낮은 수준으로 발현되지만, 상처치유과정에서 각질형성세포(keratinocyte)에서 발현이 증가하는 것으로 밝혀졌다. VEGF는 새로운 혈관성장이 시작되거나 유지될 때 상처부위에서 국소적으로 생성된다. VEGF는 상처치유과정에서 육아조직형성의 섬유증식기 중의 혈관신생에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있는데, 섬유모세포, 혈관내피세포, 각질형성세포 등의 많은 서로 다른 세포들이 VEGF를 만들어 낼 수 있

다. VEGF는 상처치유에 있어 혈관내피세포를 증식시키고 이주시키는 직접적인 영향과 기존의 미세혈관의 혈관투과성에 영향을 미치는 간접적인 역할로 혈관신생자극에 기여한다. VEGF 생성증가에 동반되는 혈관투과성의 증가는 상처치유의 초기단계에서 발생하며 세포이동에 필요한 섬유소(fibrin)가 풍부한 기질의 침착을 가능하게 해준다.<sup>27, 28)</sup>

본 실험에서 전층 피부상처 유발 3일째 Control군과 Sample군 사이에 VEGF의 발현은 뚜렷한 차이가 없었으나 상처유발 7일째와 14일째에는 Control군과 Sample군 모두에 VEGF의 양성반응이 관찰되었다. 특히 7일째에 Sample군에서 Control군에 비해 현저한 양성반응이 나타났는데 이것은 정상적인 상처치유과정에서 1일과 7일 사이에 VEGF의 발현이 증가한다는 이전 연구와 일치하는 결과이다.<sup>27)</sup> 즉, 溫淸飮 추출물을 경구 투여한 Sample군에서는 Control군에 비해 상대적으로 VEGF의 발현이 증가하였다. 이러한 결과를 통해 온청음의 경구투여가 상처유발 후 VEGF의 발현을 증가시킴으로써 신생혈관의 생성을 자극하여 상처부의 빠른 회복을 촉진한 것으로 볼 수 있다.

피부의 물리적인 손상 및 수술적 치료에 의한 상처부위의 치유지연이 치사율을 증가시키고 상처감염 등의 합병증을 발생시킨다는 점에서 피부손상 환자의 상처치유에 溫淸飮을 활용하는 것이 상처의 빠른 회복과 합병증을 예방할 수 있는 좋은 치료법이 될 것이라 사료된다.

### 결론

피부손상에 溫淸飮이 미치는 영향을 검증하기 위하여 흰쥐의 등에 인위적으로 전층피부손상을 일으켜 육안적인 상처부위의 변화와 상처연축률, 상처치유율, 상피화율을 측정하고 피부의 해부조직학적 변화와 VEGF 단백질의

발현을 관찰한바 다음과 같은 결론을 얻었다.

피부손상 후 15일간 온청음을 투여한 Sample군이 생리식염수를 투여한 Control군에 비해 육안적으로 상처부위의 회복이 빠른 편이었고, 상처연축률, 상처치유율에 있어서도 Sample군이 Control군에 비해 증가한 것으로 관찰되었다. 특히 상처유발 후 7일째에 상처연축률과 상처치유율의 비교에 있어 유의성 있는 증가를 나타내었다. 상피화율은 Sample군이 Control군에 비해 상피화가 빠른 편이었으나 통계적 유의성은 없었다. 상처부위의 조직학적 변화를 관찰한 결과 Sample군이 Control군에 비해 섬유모세포의 증식과 부종감소 및 활발한 신생혈관생성이 뚜렷이 관찰되었으며, VEGF 단백질의 발현에 있어서는 7일째와 15일째 Sample군이 Control군에 비해 현저한 증가를 나타내었다.

위와 같은 결과는 溫淸飮이 흰쥐의 전층피부손상의 회복에 있어 신생혈관형성의 촉진을 통해 유의성 있는 효과를 가지고 있음을 나타내는 것이라 할 수 있다.

### 연구비 지원

이 논문은 2009학년도 동의대학교 교내연구비에 의해 연구되었음.

### 참고문헌

- 1) Probst CW. Wound healing and specific tissue regeneration. In: Textbook of small animal surgery. 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders. 1993: 53-63.
- 2) Schilling JA. Wound healing. *Physiol Rev.* 1968; 48(2): 374-423.
- 3) Coulombe PA. Wound epithelialization: accelerating the pace of discovery. *J*

- Invest Dermatol. 2003; 121(2): 219-230.
- 4) LaVan FB, Hunt TK. Oxygen and wound healing. *Clin Plast Surg.* 1990; 17(3): 463-472.
  - 5) Tonnesen MG, Feng X, Clark RA. Angiogenesis in wound healing. *J Invest Dermatol Symp Proc.* 2000; 5(1): 40-46.
  - 6) 龔廷賢. 增補萬病回春. 台北: 大中國圖書公司. 1967: 83.
  - 7) 矢數道明. 漢方治療百話. 서울: 東南出版社. 1984: 144-148, 154-156, 270-293, 351-362, 524-528.
  - 8) 西脇平士. 本草經瘀血藥配合處方にする瘡瘍病の溫清飲にする治療. 東京: 自然社, 1985: 182-183.
  - 9) 박성수, 염태환. 현대한방강좌. 서울: 행림출판사. 1979: 185-186, 204, 507, 518.
  - 10) 범희변, 채병윤. 溫清飲과 加味溫清飲이 抗알레르기反應과 血液凝固에 미치는 影響. *경희의학.* 1990: 490-499.
  - 11) 서근택, 김승욱, 유충일. 고관절 전치환술 시행 환자에서 수술전후 영양상태와 상처치유 지연과의 관계. *대한고관절학회지.* 1995; 7(2): 181-187.
  - 12) 최광만, 이창원, 이미영. 광물성 미네랄이 흰쥐 전층 피부창상 치유에 미치는 효과. *한국환경과학회지.* 2008; 17(7): 809-816.
  - 13) 조도연, 정병수, 최규철. 양막 부착포가 창상치유에 미치는 영향에 관한 연구. *대한피부과학회지.* 2005; 43(7): 926-932.
  - 14) 김계엽, 김태열, 나수영, 김경운, 김기도. 맥동성 초음파가 흰쥐 창상치유에 미치는 조직학적 변화. *한국전문물리치료학회지.* 2005; 12(1): 80-90.
  - 15) 한동오, 김건호, 최용복, 심인섭, 이혜정, 이용근, 김장현, 장규태, 함대현. 흰쥐의 외과적 창상에 대한 황기 추출액의 치료효과. *동의생리병리학회지.* 2005; 19(1): 92-97.
  - 16) 남성우, 이복규, 조현국. 특정전자파 조사와 몰약의 도포에 의한 화상 피부의 치유 촉진 효과. *대한본초학회지.* 2003; 18(4): 263-268.
  - 17) 김수경, 최해운, 지선영, 이상근. 자운고와 Gentamicin 병용이 창상치유 및 창상감염에 미치는 영향에 관한 연구. *대한본초학회지.* 2004; 19(4): 137-160.
  - 18) 정성일, 강성수, 조성구, 최석화. Propolis가 토끼의 전층 피부 창상치유(創傷治癒)에 미치는 영향. *한국임상수의학회지.* 2000; 17(1): 62-69.
  - 19) Hosgood G. Wound repair and specific tissue response to injury. In: *Textbook of Small Animal Surgery.* 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders. 2003: 66-86.
  - 20) Werner S, Grose R. Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. *Physiol Rev.* 2003; 83(3): 835-870.
  - 21) Adamson R. Role of macrophages in normal wound healing: an overview. *J Wound Care.* 2009; 18(8): 349-351.
  - 22) Velnar T, Bailey T, Smrkolj V. The wound healing process: an overview of the cellular and molecular mechanisms. *J Int Med Res.* 2009; 37(5): 1528-1542.
  - 23) Darby IA, Hewitson TD. Fibroblast differentiation in wound healing and fibrosis. *Int Rev Cytol.* 2007; 257: 143-179.
  - 24) Li J, Zhang YP, Kirsner RS. Angiogenesis in wound repair: angiogenic growth factors and the extracellular matrix. *Microsc Res Tech.* 2003; 60(1): 107-114.
  - 25) Guo S, Dipietro LA. Factors affecting wound healing. *J Dent Res.* 2010; 89(3): 219-229.
  - 26) Bao P, Kodra A, Tomic-Canic M, Golinko MS, Ehrlich HP, Brem H. The role of vascular endothelial growth factor in

- wound healing. *J Surg Res.* 2009; 15(2): 347-358.
- 27) Nissen NN, Polverini PJ, Koch AE, Volin MV, Gamelli RL, DiPietro LA. Vascular endothelial growth factor mediates angiogenic activity during the proliferative phase of wound healing. *Am J Pathol.* 1998; 152(6): 1445-1452.
- 28) Barrientos S, Stojadinovic O, Golinko MS, Brem H, Tomic-Canic M. Growth factors and cytokines in wound healing. *Wound Repair Regen.* 2008; 16(5): 585-601.