

녹두 추출물이 생쥐에 유발된 접촉피부염의 피부 증상과 조직병리학적 소견에 미치는 영향

장선경[#], 강윤형[#], 오승엽, 강윤태, 김소연, 류지효, 김형우^{*}

부산대학교 한의학전문대학원

Effects of Green Gram Extract on Skin Lesion and Histopathological Changes in Mice with Contact Dermatitis

Seonkyung Jang[#], Yoonhyoung Kang[#], Seongyeop Oh, Yuntae Kang, Soyeon Kim
Ji-Hyo Lyu, Hyungwoo Kim^{*}

School of Korean medicine, Pusan National University

ABSTRACT

Objectives : Green gram (mung bean) has a cold nature and has been known to detoxify against various side effects that belong to hot in nature. In particular, since it has the effect of detoxifying fever and detoxification to treat swelling, it was also used externally to treat febrile dermatological diseases such as erysipelas and rubella. This study was designed to determine whether green gram exhibits anti-inflammatory effects on contact dermatitis in mice.

Methods : We investigated the effects of green gram extract (70% ethanol extract) on skin lesion, skin thickness and weights, melanin and erythema index and spleen body weight ratio in mice with contact dermatitis induced by repeated application of 1-Fluoro-2,4-dinitrobenzene.

Results : Topical application of green gram extract ameliorates skin lesions of contact dermatitis such as scale and roughness induces by 1-Fluoro-2,4-dinitrobenzene. green gram extract also suppressed enlargement of skin thicknesses and weights significantly. In addition, green gram extract treatment also lowered erythema index significantly compared to those in the control group. In the histopathological observation, green gram extract prevented epidermal hyperplasia and hyperkeratosis in inflamed tissues. Finally, green gram extract did not affect changes in body weights and the spleen body weight ratio, unlike dexamethasone, which significantly prevented body weight gain and lowered the spleen body weight ratio.

Conclusions : These results imply that green gram, which is known to have a detoxifying effect in Korean medicine, can be used in the treatment of contact dermatitis.

Key words : Green gram, contact dermatitis, skin lesion

*Corresponding author : Hyungwoo Kim, KMD PhD School of Korean Medicine, Pusan National University, Yangsan City, Gyeongnam, 50612, South Korea.

· Tel : +82-51-510-8458 · E-mail : kronos7@pusan.ac.kr

#First author : Seonkyung Jang, School of Korean Medicine, Pusan National University, Yangsan City, Gyeongnam, 50612, South Korea.

· Tel : +82-51-510-8425 · E-mail : fairy3651@pusan.ac.kr

Yoonhyoung Kang, School of Korean Medicine, Pusan National University, Yangsan City, Gyeongnam, 50612, South Korea.

· Tel : +82-51-510-8425 · E-mail : mask814@pusan.ac.kr

· Received : 13 December 2021

· Revised : 11 January 2022

· Accepted : 25 January 2022

I. 서론

접촉피부염 (Contact dermatitis, CD)은 가려움증 (itching), 홍반 (erythema), 딱지 형성 (scab) 및 antigen이나 allergen에 직접 접촉함으로써 발생하는 과다 색소침착을 특징으로 하는 염증성 질환이다¹⁾. 접촉피부염은 피부과 질환의 4 ~ 7%를 차지하고, 성인에서 접촉 알레르기의 유병률은 20%에 달한다²⁾. 접촉피부염 환자의 피부 조직에서 관찰되는 조직병리학적 소견은 일반적으로 표피 증식 (epidermal hyperplasia), 호중구가 위주가 된 면역 세포 침윤 (immune cell infiltration), 진피 층에서 보이는 모세관 확장, 상피조직에서 보이는 과각화증 (hyperkeratosis)과 해면증 (spongiosis) 등이 있다³⁾.

녹두 (綠豆, Green gram, mung bean)는 콩과 (Leguminosae)에 속한 일년생 초본인 녹두 *Phaseolus radiatus* L.의 종자를 건조한 것으로 성미가 감한 (甘寒)하여 청열해서 (淸熱解暑), 제변지갈 (除煩止渴)시키는 효능이 있어, 서열변갈 (暑熱煩渴)을 치료한다. 또한, 파두나 부자, 오두 등 열독 (熱毒)을 가진 약물에 중독되어 나타나는 각종 부작용에 겹질재 갈아서 응용한다. 특히, 청열해독 (淸熱解毒)시켜 옹종 (癰腫)을 치료하는 효능이 있기 때문에 옹종창독 (癰腫瘡毒)을 치료하는데 외용하기도 하고, 단독 (丹毒), 풍진 (風疹), 두독 (痘毒) 등의 열성 피부병을 치료하는데 사용되기도 하였다⁴⁾.

시험관 내 연구를 통하여 녹두에서 항산화 효과를 가지는 플라보노이드 계열 성분으로 vitexin과 isovitexin이 분리되었으며⁵⁾, 동물을 이용한 연구를 통하여 녹두의 폴리페놀 성분은 산화적 스트레스에 의한 심혈관계 손상을 보호해줄 수 있음이 알려져 있다⁶⁾. 최근 국내 연구진에 의하여 녹두 에탄올 추출물 및 분획물의 미백, 항염증 효과가 발표되었는데⁷⁾, 이 등은 그들의 논문에서 녹두 추출물이 악성흑색종 (B16F10) 세포에서 melanin 생성 억제 효과를 나타냈으며, 대식세포주 (RAW 264.7)에서 농도 의존적으로 nitric oxide의 생성을 억제하고, TNF- α , IL-1 β , IL-6의 분비를 억제한다고 하였다⁷⁾. 또한, 임상 연구를 통하여 녹두 추출물의 자극 완화 효과가 입증되었는데, 피험자를 대상으로 실시한 인체 첩포 시험에서 우수한 자극 억제 효과가 입증되었으며, 녹두 추출물을 포함한 화장품의 임상 연구에서도 우수한 항자극 효과가 나타났다⁸⁾.

상기한 고전 문헌에서 밝힌 바와 같이 녹두는 외용제로 사용되어 피부의 염증성 질환을 치료한 바가 있고, 시험관 내 연구와 임상 연구를 통해서 피부질환 치료제 혹은 화장품 원료로서의 가능성이 대두되었다. 이에 본 저자들은 녹두 70% 에탄올 추출물이 접촉피부염이 유발된 생쥐의 피부 표면 증상 및 조직병리학적 이상 변화를 개선해 줄 수 있을 것이라는 가설을 세우고 본 연구를 진행하였다. 본 연구에서는 1-Fluoro-2,4-dinitrobenzene (DNFB)을 이용하여 생쥐에 접촉피부염을 유발한 다음, 녹두 70% 에탄올 추출물을 도포하고 피부 표면 증상 및 두께, 그리고 멜라닌 지수와 홍반 지수의 개선 효과를 살펴보았으며, 표피 증식, 과각화증, 면역 세포 침윤 등의 조직병리학적 소견에 미치는 영향을 살펴보았다.

II. 재료 및 방법

1. 재료

1) 동물

실험동물은 18 ~ 20 g의 Balb/c계 수컷 생쥐를 샘타코 (경기, 한국)로부터 구입하였으며 1주일 이상, 고형사료(삼양 배합사료 실험동물용, 한국)와 물을 충분히 공급하면서 실험실 환경에 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 실험실 환경은 온도 22 ± 2℃를 유지하면서 12시간 단위로 낮과 밤이 계속되는 상황을 실험 종료 시까지 유지하였다. 실험 프로토콜은 부산대학교 내에 설치된 동물실험윤리위원회의 승인을 득하였으며, 모든 실험 과정은 제시된 원칙에 따라 수행되었다 (PNU-2016-1301).

2) 시약 및 기기

접촉피부염 유발을 위한 1-Fluoro-2,4-dinitrofluorobenzene (DNFB)은 Sigma-Aldrich (St Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였으며, 귀 부중 측정을 위하여 vernier calipers (Mitutoyo, Carros, Japan)를 사용하였고, 피부 표면 관찰을 위하여 digital camera (Canon, Japan)를 사용하였으며, 홍반 지수와 멜라닌 지수 측정을 위하여 피부색차계 (Cortex Technology, Denmark)를 사용하였다.

2. 방법

1) 약물의 준비

녹두는 광명당제약 (울산, 한국)을 통해 구입한 후, 정선하여 사용하였다. 녹두의 추출에는 70% 에탄올이 이용되었으며, 이전 연구를 통하여 제시된 방법을 준용하였다⁹⁾. 추출 과정을 간략히 요약하면, 녹두 100 g을 70% 에탄올 500 ml에 침지하고 15분간 초음파 (화신기계, 한국)로 진탕해준 다음, 24시간 동안 추출하였다. 24시간이 지난 후, 70% 에탄올을 수거하고, 다시 500 ml의 70% 에탄올을 이용하여 재차 추출하였다. 얻어진 추출액은 감압 농축기 (Eyela, Japan)와 동결건조기 (Labconco, USA)를 이용하여 농축, 동결건조 되었으며, 최종 산물 (Green Gram Extract, GGE)은 6.0 g으로 수율은 6.0% 였다.

2) 피부염 유발 및 실험군 선정

DNFB를 이용한 피부염 유발방법은 본 연구진이 이전 연구들 통하여 제시한 방법을 차용하여 실시되었다⁹⁾. 과정을 간략히 요약하면 다음과 같다. 먼저 DNFB를 아세톤 (acetone)과 올리브 오일 (olive oil)이 4:1로 혼합된 vehicle에 0.1%로 희석하여 생쥐의 양측 귀의 후면에 3일간 감각 (sensitazation)하였으며, 4일 뒤 0.2% DNFB용액을 제조된 생쥐의 등에 2일 간격으로 4회 처리하여 피부염 증상을 유발 (challenge)하였다. 피부 도포를 위하여 GGE와 dexamethasone (DEX)은 70% 에탄올 (EtOH)에 녹여진 다음 vehicle에 1:4 비율로 희석 되었다.

정상군 (Normal, NOR)은 DNFB를 첨가하지 않은 vehicle만을 처리하였고 (n=6), 접촉피부염 대조군 (Control, CTL)은

DNFB를 이용하여 접촉피부염을 유발한 다음 vehicle (Acetone and olive oil + ethanol)을 처리하였으며 (n=8), 녹두 추출물 처리군 (GGE)은 접촉피부염을 유발한 다음, 10 mg/ml 농도의 GGE 50 μ l를 6일간 도포하였다 (n=8). 마지막으로 텍사메타손군 (DEX)은 접촉피부염을 유발한 다음, 2.5 mg/ml 농도의 dexamethasone 50 μ l를 6일간 도포하였다 (n=8). 자세한 실험 스케줄은 Fig. 1과 같다.

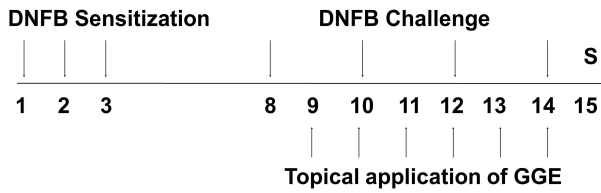


Fig. 1. Experimental schedule The experimental groups except normal group, were sensitized by painting DNFB on days 1, 2 and 3, then challenged on days 8, 10, 12 and 14. GGE and DEX were topically treated for 6 days. The normal and control groups were treated with vehicles. All animals were sacrificed on day 15. GGE means green gram 70% ethanol extract, DNFB means 1-Fluoro-2, 4-dinitrofluorobenzene, S means sacrifice.

3) 피부 표면 증상 관찰

실험 마지막 날 (day 15), 생쥐를 희생시킨 후, digital camera (Canon, Japan)을 이용하여 생쥐의 등에 유발된 피부 표면 증상을 관찰하였다.

4) 피부 두께 및 무게 측정

피부 표면 증상 관찰 후, 직경 5 mm의 dermal punch (HEBU medical, Germany)를 이용하여 피부 병변 중앙 부위의 조직을 절제한 다음, vernier calipers (Mitutoyo, Japan)를 이용하여 두께를 측정하였으며, 미량저울 (Sartorius, Germany)을 이용하여 무게를 측정하였다.

5) 홍반 지수와 멜라닌 지수 측정

피부 표면 증상 관찰이 끝난 후, 피부 색차계 (Cortex Technology, Denmark)를 이용하여 홍반 지수와 멜라닌 지수를 측정하였다. 정확한 홍반 지수와 멜라닌 지수의 측정을 위하여 생쥐의 등 표면에서 서로 다른 3개 부위를 측정한 후

그 평균값을 해당 개체의 값으로 사용하였다.

6) 조직병리학적 소견 관찰

생쥐의 등 조직을 적출하여 파라핀에 고정하고 4 μ m 두께로 절제하여 슬라이드 글라스에 고정하였다. 고정된 조직은 hematoxylin과 eosin (Sigma-Aldrich, USA)으로 염색된 다음 광학현미경 (Olympus, Japan)으로 관찰되었다 (100x).

7) 체중 및 비장 무게의 측정

실험 마지막 날 (day 15) 전자저울 (Hansung, Korea)을 이용하여 체중을 측정하였으며, 비장의 무게는 실험 마지막 날 생쥐를 희생 시킨 다음 비장을 적출하여 미량 저울 (Sartorius, Germany)로 무게를 측정하였고, 결과는 실험 마지막 날 체중에 대한 비율 (%)로 나타내었다.

3. 통계 처리

실험 자료에 대한 통계적 분석은 통계 패키지인 Sigma plot (Sigma plot for Windows, ver. 9.0, U.S.A.)를 이용하였다. 실험 성적은 평균 \pm 표준편차 (mean \pm SD)로 나타내었으며, 결과의 차이를 검정할 때에는 One-way ANOVA를 이용하였으며 Dunnett test로 사후 검정하여 p-값이 0.05 미만일 때 유의한 차이가 있는 것으로 판정하였다.

III. 결 과

1. 피부 표면 증상에 영향

Vehicle만을 처리한 정상군에서는 특별한 이상 소견을 발견할 수 없는데 반해, DNFB를 반복 처리하여 접촉피부염을 유발한 대조군에서는 광범위한 병변 부위에 삼출물과 딱지, 점상 출혈과 색소침착 등이 발견되었다 (Fig. 2A, B). GGE의 도포는 대조군에서 발견되는 일련의 접촉피부염의 표면 증상들을 감소시키는 경향을 보였으며, 특히, 삼출물과 딱지를 감소시키는 경향을 보였다 (Fig. 2C). 텍사메타손의 도포 역시 삼출물과 딱지 그리고 출혈 등 접촉피부염의 표면 증상을 감소시키는 경향을 보였다 (Fig. 2D).

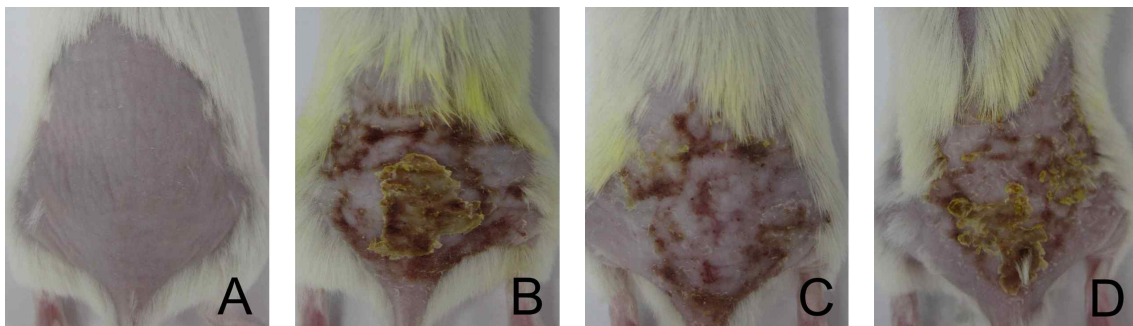


Fig. 2. Effects of GGE on skin lesion in CD mice. Skin lesions of CD mice were observed using digital camera on day 15. A, normal; B, control; C, green gram extract; D, dexamethasone.

2. 피부 두께 및 무게에 미치는 영향

생쥐의 조직을 절제하여 피부의 두께 및 무게를 측정한 결과 대조군에서 정상군에 비하여 유의한 수준의 피부 두께 증가가 관찰되었으며, GGE 투여군의 피부 두께 및 무게는 대조군과

비교하여 유의한 수준으로 감소하였다. 텍사메타손 투여군의 피부 두께와 무게의 평균은 각각 0.91 mm와 24.90 mg으로 GGE 투여군의 1.05 mm와 30.17 mg 보다 경미하게 우수하였으나, 두 군 간의 통계적 유의성은 없었다 (Fig. 3).

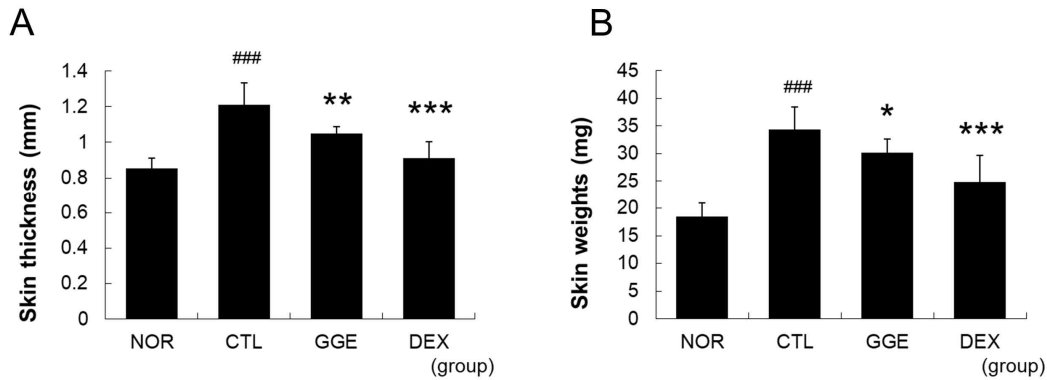


Fig. 3. Effects of GGE on skin thicknesses and weights in CD mice. Effects on skin thicknesses and weights by GGE were analyzed on day 15. NOR, non-treated normal mice; CTL, CD induced control mice; GGE, 10 mg/ml of green gram extract treated CD mice; DEX, 2.5 mg/ml of dexamethasone treated CD mice. Values are represented as mean \pm SD. ###P < 0.001 vs. NOR, *P < 0.05, **P < 0.01 and ***P < 0.001 vs. CTL (n=8).

3. 홍반 지수와 멜라닌 지수에 미치는 영향

피부 색차계를 이용하여 홍반 지수와 멜라닌 지수에 미치는 영향을 관찰한 결과 대조군에서 유의한 수준의 홍반 지수와

멜라닌 지수 상승이 관찰되었으며, GGE 도포는 홍반 지수를 유의한 수준으로 감소시켰다. 텍사메타손의 도포는 홍반 지수와 멜라닌 지수에 특별한 영향을 미치지 않았다 (Fig. 4).

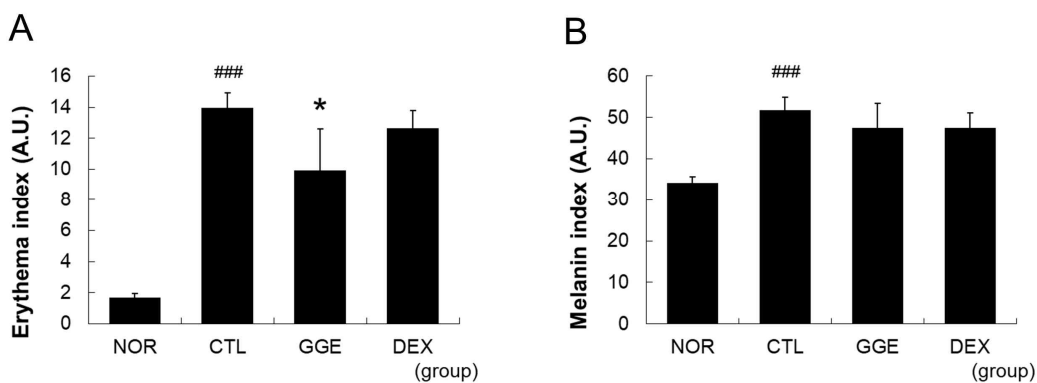


Fig. 4. Effects of GGE on erythema and melanin index in CD mice. Erythema and melanin index were measured using dermo-spectrophotometer on day 15. NOR, non-treated normal mice; CTL, CD induced control mice; GGE, 10 mg/ml of green gram extract treated CD mice; DEX, 2.5 mg/ml of dexamethasone treated CD mice. Values are represented as mean \pm SD. ###P < 0.001 vs. NOR, *P < 0.05 vs. CTL (n=8). A.U. means arbitrary unit.

4. 조직병리학적 소견에 미치는 영향

생쥐의 등 조직을 hematoxylin과 eosin으로 염색한 후 관찰한 결과 정상군에서는 특별한 이상소견이 발견되지 않았고, 표피의 두께 (epidermal thickness) 역시 정상 수준을 보였다 (Fig. 5A). 대조군에서는 심한 삼출물과 병합된 과각화증 (검은

화살표)과 조직 표면의 파괴가 보이며, 표피의 두께가 증가 (노란 선)하였다 (Fig. 5B). GGE 투여는 삼출물과 피부 표면 파괴 그리고 표피 두께의 증가를 억제하는 경향을 보였다 (Fig. 5C). 텍사메타손의 투여는 대조군에서 나타난 조직병리학적 이상 소견을 전반적으로 감소시키는 경향을 보였다 (Fig. 5D).

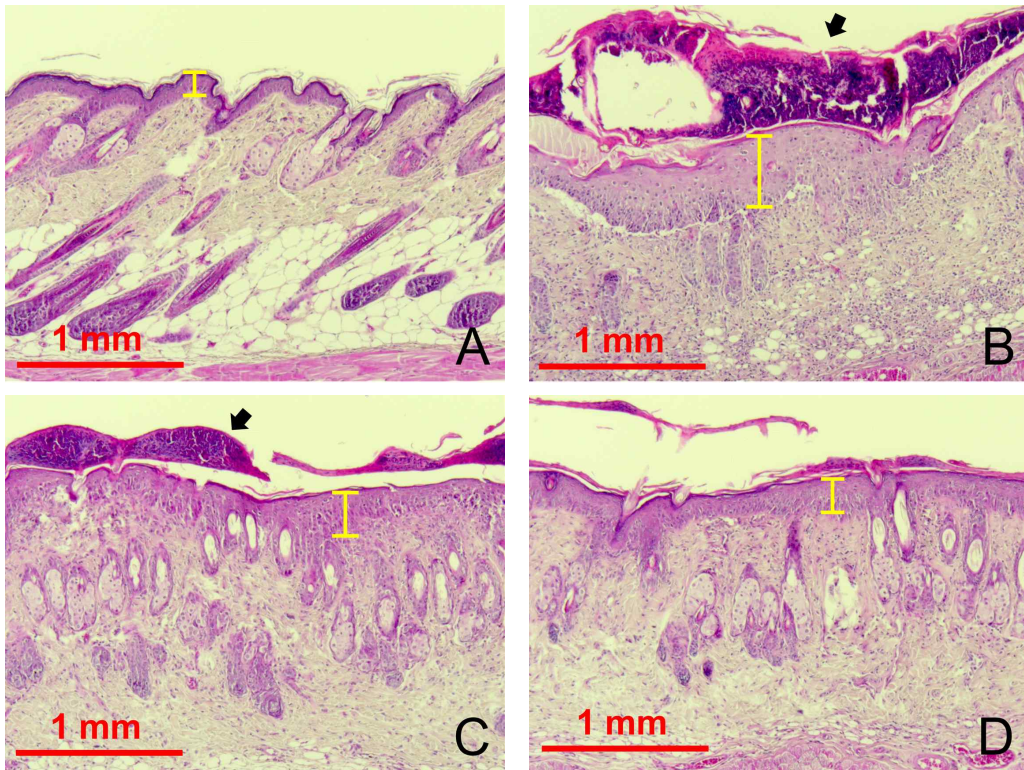


Fig. 5. Effects of GGE on histopathological changes in inflamed tissues. Skin tissues were stained with hematoxylin and eosin then, observed by photo-microscope (100x). A, NOR; B, CTL; C, GGE; D, DEX. CTL means control. GGE means green gram extract, DEX means dexamethasone. Yellow bars mean thicknesses of epithelia. Filled arrows mean area of hyperkeratosis.

5. 체중 및 비장/체중 비에 미치는 영향

실험 마지막 날, 체중과 함께 비장을 절제하여 무게를 측정하였다. 대조군에서 경미한 체중 증가 억제 효과가 보였으나 정상군과 비교하여 통계적 유의성은 없었으며, GGE 투여군 역시 대조군과 유사한 수준의 체중 변화율을 보였다. 이와는 다르게, 텍사메타손 투여는 정상군과 비교하여 유의한 수준으로 체중 증가가 억제되는 현상을 보였으며, 대조군과 비교하여서

통계적 유의성은 나타나지 않았다 (Fig. 6A). 비장의 무게를 실험 마지막 날 측정된 체중에 대한 비율로 환산하여 관찰한 결과 대조군에서 정상군과 비교해 유의한 수준으로 비장/체중 비가 증가하였으며, GGE는 이러한 비장/체중비에 특별한 영향을 미치지 않았다 (Fig. 6B). 텍사메타손의 피부 도포는 비장/체중비를 대조군과 비교하여 유의한 수준으로 감소시켰으며, 비장의 평균 크기는 정상군보다 작았지만 정상군과의 통계적 유의성은 없었다 (Fig. 6B).

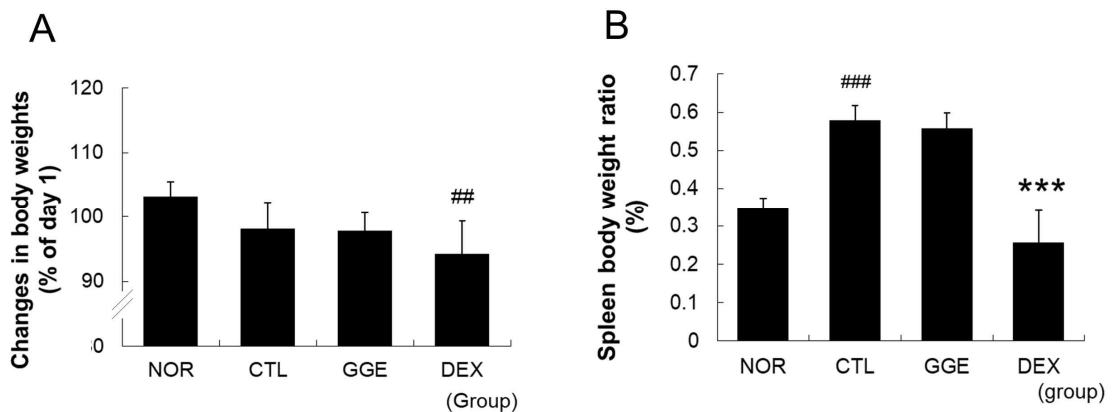


Fig. 6. Effects of GGE on changes in body weights and spleen/body weight ratio in CD mice. Body weights and Spleen/body weight ratio were measured using electronic scales. Changes in body weights were based on the average weights on day 15 and expressed as percentages of weight on day 1 (A). Spleen weights were also measured on day 15, at which time the spleen/body weight ratio was calculated (B). NOR, non-treated normal mice; CTL, CD induced control mice; GGE, 10 mg/ml of green gram extract treated CD mice; DEX, 2.5 mg/ml of dexamethasone treated CD mice. Values are represented as mean \pm SD. ##P < 0.01 and ###P < 0.001 vs. NOR, ***P < 0.001 vs. CTL (n=8).

IV. 고찰

접촉피부염은 대표적인 피부의 염증성 질환으로 가려움증, 발적, 홍반, 부종, 삼출물, 부스러기 등을 동반하는 질환이다¹⁰⁾. DNFB를 이용하여 실험적으로 유발된 접촉피부염은 일반적으로 Th 1 shifted reaction을 위주로 나타난다¹¹⁾. 접촉피부염이 유발된 피부조직은 표피조직의 비후 (epidermal hyperplasia), 과각화증 (hyperkeratosis), 해면화 (spongiosis), 삼출물의 증가와 함께 피부 장벽의 파괴가 수반된다¹²⁾. 이러한 일련의 반응은 피부 염증 반응의 결과이며, 면역세포들이 피부 조직을 파괴하고 각질화세포 (keratinocyte)를 자극한 결과이다¹³⁾.

염증성 피부질환의 치료에 있어서 가장 대표적인 것은 corticosteroid 계열의 약이지만, 몇 가지 부작용 문제로 인하여 사용에 제한을 받을 수밖에 없다¹⁴⁾. 쿠싱 증후군 (cushing syndrome)과 유소아의 성장 저하, 전반적 면역 기능 감소 같은 잘 알려진 전신 치료의 부작용 이외에도, 국소적인 사용으로 유발되는 피부 위축 (skin atrophy) 등의 문제가 발생할 수 있다¹⁵⁾. 이러한 이유로 천연물을 이용하여 스테로이드를 줄이거나 대체하는 연구는 천연물 연구의 큰 축으로 자리하고 있다. 본 연구에서는 이러한 세계적 추세에 발맞추어 대표적인 청열해독약 (淸熱解毒藥)인 녹두가 접촉피부염의 피부 증상 및 조직병리학적 이상 소견에 어떤 영향을 미치는지 살펴보았다.

본 연구의 결과에서 반복적인 DNFB의 처리는 홍반, 부종, 삼출물과 딱지, 점상 출혈과 색소 침착을 동반하는 접촉피부염의 증상을 나타내었다 (Fig. 2B). 이러한 결과는 본 연구에 사용된 동물 모델이 인간에게 발생하는 접촉피부염의 증상을 잘 반영하고 있는 것으로 해석된다. GGE는 이러한 접촉피부염의 표면 증상을 완화 시키는 경향을 보였다. 특히 삼출물과 딱지의 형성을 개선하는 특징을 보였는데 (Fig. 2C), 이는 GGE가 피부염의 증상 치료에 활용될 수 있다는 가능성을 의미한다.

접촉피부염 환자의 피부는 일련의 염증 반응에 의하여 두꺼워지며, 각질화세포가 자극을 받아 과증식함으로써 단위 면적당 실질 무게 역시 증가하는 경향을 보인다^{9,11)}. 본 연구의 결과에서 GGE는 DNFB 도포에 의한 피부 두께와 무게 증가를 효과적으로 억제하였다 (Fig. 3). 이러한 결과는 Fig. 2에서 보인 피부 표면 증상에 대한 결과와 일맥상통하며, 피부염 치료제로서의 가능성을 시사한다.

접촉피부염이나 아토피피부염을 포함하는 염증성 피부 질환에서 급성기에는 홍반과 부종이 나타나며, 만성기로 갈수록 태선화와 색소 침착이 심해진다¹²⁾. 본 연구에 사용된 동물 모델은 쥐의 등 부위에 DNFB를 4회 처리하여 접촉피부염을 유발하였다. 또한, 발현되는 증상 면에서 홍반과 부종뿐만 아니라 피부 두께의 증가와 약간의 색소 침착이 나타나는 것으로 보았을 때 인간 접촉피부염의 아급성기에 해당하는 것으로 사료된다.

본 연구의 결과를 살펴보면, 대조군에서 홍반 지수가 7배 이상 상승하였다 (Fig. 4A). 이에 반해 멜라닌 지수 역시 유의하게 상승하였지만, 상승률은 1.5배에 그쳤다 (Fig. 4B). 이러한 결과에서도 본 연구에서 사용한 동물 모델이 아급성기 모델임을 확인할 수 있다. GGE의 도포는 상승된 홍반 지수를 유의한 수준으로 감소시켰으며, 멜라닌 지수에는 특별한 영향을 미치지 않았다 (Fig. 4A, B). 이러한 결과는 상기한 피부 증상

개선 효과 (Fig. 2)와 두께와 무게 감소 효과 (Fig. 3)와 일관성을 보이며, 급성기 혹은 아급성기에 해당하는 피부염에 대한 치료제로서의 가능성을 의미한다.

접촉피부염 환자의 피부 조직 내에서 발견되는 대표적 현상으로는 표피 과증식 (epidermal hyperplasia), 호중구 위주의 면역세포 침윤, 과각화증 (hyperkeratosis), 해면화 (spongiosis), 표피 조직의 파괴 등을 들 수 있다¹²⁾. 또한, 염증을 유발하거나 염증 상태에서 분비되는 많은 매개인자들이 각질화세포를 자극하여 증식 및 분화하게 할 수 있음이 알려져 있다^{16,17)}. 표피 과증식과 과각화증은 각각 염증 매개 인자에 의한 과증식과 이상분화의 대표적인 결과물이라고 할 수 있다¹²⁾.

본 연구의 결과를 살펴보면 반복적인 DNFB의 도포에 의하여 표피 과증식, 과각화증, 삼출물 증가, 표피조직 파괴, 진피층의 모세 혈관 주변으로 면역세포 침윤이 관찰되었다 (Fig. 5B). GGE의 도포는 이러한 일련의 조직병리학적 이상변화를 억제하는 경향을 보였다 (Fig. 5C). 이러한 결과를 통하여 GGE의 피부염 억제 기전이 조직 내에서 발생하는 염증 현상을 억제하는데 기인한다는 사실을 유추할 수 있다.

본 연구의 결과에서 텍사메타손은 피부 표면 증상에 대해서 GGE와 유사한 수준의 효과를 보인데 반해 (Fig. 2C, D), 피부 두께와 무게를 상대적으로 더 많이 감소시켰으며 (Fig. 3), 홍반 지수에는 특별한 영향을 미치지 않았고 (Fig. 4A), 조직병리학적 이상소견 개선 효과는 GGE에 비해 우수하였다 (Fig. 5). 이 중에서 조직병리학적 이상소견 개선 효과는 corticosteroid가 가지는 항염증 효과에 의한 것으로 유추되며, 피부 두께와 무게에 대한 텍사메타손의 결과는 텍사메타손이 가지는 항염증 작용에 상기한 피부 위축의 부작용¹⁵⁾이 병합된 결과라고 사료된다.

본 연구에서는 GGE와 텍사메타손이 체중 변화와 비장의 무게에 미치는 영향을 추가로 확인하였다. 이전에 발표된 논문들을 통하여 텍사메타손을 도포한 생쥐의 체중 증가가 억제되는 경향을 확인할 수 있으며, 비장 대 체중비가 감소하는 것 역시 확인할 수 있다^{3,9,18,19)}. 본 연구의 결과를 살펴보면 GGE는 체중 증가와 비장의 무게에 특별한 영향을 미치지 않은데 반하며, 텍사메타손 도포군에서는 체중 증가 억제와 비장 대 체중비가 감소가 관찰되었다 (Fig. 6). 이러한 결과로부터 GGE는 텍사메타손과 작용하는 기전이 달라서, 전반적인 면역 감소와 같은 기능이 없고, 피부 위축과 같은 부작용이 나타나지 않음을 알 수 있다.

이상의 결과들을 종합하여보면, 녹두 70% 에탄올 추출물은 피부 조직 내에서 표피 과증식과 과각화증을 억제함으로써 홍반, 딱지 등과 같은 접촉피부염의 피부 표면 증상들을 호전시켰으며, 이러한 결과는 녹두의 항피부염 소재로서의 가능성을 시사한다. 또한, corticosteroid인 텍사메타손의 전신적 부작용에 해당하는 비장 크기 감소나, 국소적 부작용에 해당하는 피부 위축의 현상이 관찰되지 않았다는 사실을 감안할 때, 비교적 안전하게 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

V. 결론

본 연구에서는 대표적인 청열해독약 (淸熱解毒藥)으로 각종 열독(熱毒) 질환에 활용되며, 외용제로도 사용되어 왔던 녹두가 접촉피부염의 피부 증상 및 조직병리학적 소견에 미치는 영향을 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 녹두 추출물은 반복적인 DNFB 도포에 의하여 유발되는 삼출물과 딱지, 점상 출혈과 같은 접촉피부염의 표면 증상들을 감소시키는 경향을 보였다.
2. 녹두 추출물 투여군의 피부 두께 및 무게는 대조군과 비교하여 유의한 수준으로 감소하였다.
3. 녹두 추출물 도포는 홍반 지수를 유의한 수준으로 감소시켰다.
4. 녹두 추출물 투여는 삼출물과 피부 표면 파괴 그리고 표피 두께의 증가를 억제하는 경향을 보였다.
5. 녹두 추출물은 체중 증가 양상 및 비장/체중비에 특별한 영향을 미치지 않았다.

이러한 결과는 녹두가 접촉피부염에 대하여 치료 효과가 있음을 의미하며, 항피부염 소재로서 비교적 안전하게 인간의 접촉피부염에 사용될 수 있음을 시사한다.

감사의 글

본 연구는 한국연구재단의 지원을 받아 수행되었음 (grant no. 2018R1A2B6006031).

References

1. Kim EH, Lee BW, Kim EH. A Literal Study of the Main Symptoms of Atopic Dermatitis. *J Kor Med Class*. 2009; 22(2) : 207-28.
2. Um YJ, Hong CH. A Case of Occupational Allergic Contact Dermatitis Caused by Mortar. *J Korean Med Ophthalmol Otolaryngol Dermatol*. 2014 ; 27(4) : 209-20.
3. Jo S, Ryu J, Han H-Y, Lee G, Ryu MH, Kim H. Anti-inflammatory activity of *Kochia scoparia* fruit on contact dermatitis in mice. *Mol Med Rep*. 2016 ; 13(2) : 1695-700.
4. The textbook compilation committee of Korean herbology. *Herbology*. Seoul : Younglimsa, 2016 : 262-3.
5. Li H, Cao D, Yi J, Cao J, Jiang W. Identification of the flavonoids in mungbean (*Phaseolus radiatus* L.) soup and their antioxidant activities. *Food Chem*.

- 2012 ; 135(4): 2942-6.
6. Cheng D, Wang R, Wang C, Hou L. Mung bean (*Phaseolus radiatus* L.) polyphenol extract attenuates aluminum-induced cardiotoxicity through an ROS-triggered Ca²⁺/JNK/NF- κ B signaling pathway in rats. *Food Funct*. 2017 ; 8(2) : 851-9.
7. Lee Y-L, Choi J-H, Park S-Y, Jeong M-Y, Lee H-C, Song J-H. The influences of *Phaseolus radiatus* L.'s Ethanol Extracts and Fractions on Skin Whitening and Anti-inflammatory Effects. *The Journal of Korean Medicine Ophthalmology and Otolaryngology and Dermatology*. 2018 ; 31(3) : 39-49.
8. Ahn GW, Kang TW, Jeong JH, Jo BK. Clinical Studies on the Anti-Irritation Effects of Mung Bean (*Phaseolus aureus*) Extract in Cosmetics. *Society of Cosmetic Scientists of Korea*. 2004 ; 30(1) : 23-8.
9. Yang B, Kim S, Kim JH, Lim C, Kim H, Cho S. *Gentiana scabra* Bunge roots alleviates skin lesions of contact dermatitis in mice. *J Ethnopharmacol*. 2019 ; 233 : 141-7.
10. Nosbaum A, Vocanson M, Rozieres A, Hennino A, Nicolas JF. Allergic and irritant contact dermatitis. *Eur J Dermatol*. 2009; 19(4) : 325-32.
11. Christensen AD, Haase C. Immunological mechanisms of contact hypersensitivity in mice. *APMIS*. 2012 ; 120(1) : 1-27.
12. Streit M., Braathen LR. Contact dermatitis: clinics and pathology. *Acta Odontologica Scandinavica*. 2001 ; 59(5) : 309-14.
13. Oh YJ, Lew BL, Sim WY. Concurrence of Atopic Ddermatitis and Ppsoriasis. *Korean Journal of Dermatology*. 2014 ; 52(3) : 207-8.
14. Dickel H, Kuss O, Schmidt A, Kretz J, Diepgen TL. Importance of irritant contact dermatitis in occupational skin disease. *Am J Clin Dermatol*. 2002 ; 3(4) : 283-89.
15. Barnes L, Kaya G, Rollason V. Topical corticosteroid-induced skin atrophy: a comprehensive review. *Drug Saf*. 2015 ; 38(5) : 493-509.
16. Smith HR, Basketter DA, McFadden JP. Irritant dermatitis, irritancy and its role in allergic contact dermatitis. *Clin Exp Dermatol*. 2002 ; 27(2) : 138-46.
17. Newby CS, Barr RM, Greaves MW, Mallet AI. Cytokine Rrelease and Ccytotoxicity in Hhuman Kkeratinocytes and Ffibroblasts Iinduced by Pphenols and Ssodium Ddodecyl Ssulfate. *Journal of Investigative Dermatology*. 2000 ; 115(2) : 292-8.
18. Kim M, Kim H, Ryu J, Jo S, Lee G, Ryu MH, Kim H, Cho SI. Anti-inflammatory effects of *Cryptotympana atrata* Fabricius slough shed on contact dermatitis induced by dinitrofluorobenzene in mice. *Pharmacogn Mag*. 2014 ; 10(Suppl 2) : S377-82.

19. Lee HJ, Jo S, Ryu J, Jeong HS, Lee G, Ryu MH, Jung MH, Kim H, Kim BJ. Effects of *Schisandra chinensis* Turcz. fruit on contact dermatitis induced by dinitrofluorobenzene in mice. *Mol Med Rep.* 2015 ; 12(2) : 2135-9.