아토피피부염 동물 병태 모델에서 아토탕의 개선효과

김건우^{1,2#}, 김동희^{2,3*}

1 : 세종한의원, 2 : 대전대학교 한의과대학 병리학교실,
3 : 대전대학교 난치성 면역질환의 동서생명 의학연구 지역혁신 센터

Effects of Ato-tang on DNCB-induced atopic dermatitis in Mice

Gun-Woo Kim^{1,2#}, Dong-Hee Kim^{2,3*}

1 : Sejong Oriental Clinic, 2 : Dept. of Pathology, College of Oriental Medicine, Daejeon University
3 : Traditional and Biomedical Research Center(TBRC), Daejeon University

ABSTRACT

Objectives : The aim of this study is to investigate anti-atopic dermatitis effect using ato-tang.

Methods : Ato-tang was external treatment to NC/Nga mice for 4 weeks, where atopic dermatitis was induced by DNCB at 1% and 0.4% for 3 weeks. Atopic dermatitis index score was measured using eye observation and picture evaluation. The histopathological change of dorsal skin was observed by hematoxylin and eosin (H&E) staining. Cytokines including IL-4, IL-5 and IL-13 were measured by Luminex or reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) analysis and immunoglobulin E (IgE) was measured by ELISA reader.

Results : The dorsal skin of Ato-tang group showed decrease in erythema, pruritus, dry skin, edema, excoriation, erosion and lichenification level through naked eye observations. Immunoglobulin cell infiltration and the thickness of epidermis were significantly decreased in the dorsal skin compared to control. Production of Th2 cytokines (IL-4, IL-5, IL-13) and IgE level in serum were all significantly decreased, in comparison with control. In addition, mRNA expression level of Th2 cytokines (IL-4, IL-5, IL-13) in spleen was decreased, in comparison with control.

Conclusion : The results indicated that external treatment of ato was improved skin barrier function in the symptoms of atopic dermatitis disease. Also, atopic dermatitis factors where cytokine as well as immunoglobulin E in serum and mRNA expression were decreased, respectively, in comparison with control. Therefore, we suggest that ato could be effectively used as a external therapeutic drug based on atopic dermatitis factors.

Key words : atopic dermatitis, external treatment, histopathology, NC/Nga, Th2 cytokine

I. 서 론

아토피피부염(Atopic dermatitis, AD)은 ‘苔癬’, ‘濕疹’, ‘異位性皮炎’, ‘胎熱’, ‘四灣風’이라고도 불리는 질환으로 피부 소양감, 피부 발적, 태선화 그리고 피부 감염 등의 임상소견을 나타낸다^{1,2)}. 현재까지 알려진 발병 원인은 피부장벽을 구성하는 필라그린 (filaggrin) 유전자 돌연변이에 의한 유전적 요인과 집먼지 진드기와 같은 유발 물질에 의한 피부자극 및 Th2 사이토카인 분비 자극 등의 면역학적 요인으로 나눌 수

있다^{3,4)}. 결과적으로 AD는 다양한 원인으로 인한 피부장벽 결함과 피부 환경의 변화이며, 이로 인한 면역학적 염증성 반응과 미생물의 감염 등의 특징적인 임상 증상을 초래한다⁵⁾.

AD의 2015년 유병율은 국민건강보험공단 통계자료에 따르면 12세 미만 아동에서 약 49%, 20대 이상의 성인에서도 약 39% 정도를 차지하는 것으로 보고되었으며, 2010년 105만 3천명에서 2015년 93만 3천명으로 11.4% 감소하였지만 여전히 난치성 질환으로 분류되고 있다⁶⁾.

그러나 AD에 사용되고 있는 치료제들을 살펴보면 부신피질

*Corresponding author : Dong-Hee Kim, Traditional and Biomedical Research Center(TBRC RIC), Daejeon University.

· Tel : +82-42-280-2623 · Fax : +82-42-280-2624 · E-mail : dhkim@dju.kr

#First author : Gun-Woo Kim, Sejong Clinic of Korean medicine

· Tel : +82-44-866-2011 · E-mail : gunwoo1980@hanmail.net

· Received : 10 June 2016 · Revised : 3 July 2016 · Accepted : 18 July 2016

호르몬제, 항히스타민제, 인터페론감마, 사이모펜틴 등이 사용되어 유의성 있는 치료 효과를 보이거나⁷⁾, 일부 환자들에게는 치료 반응이 적거나 과민 반응 및 신 독성, 간 독성 등의 부작용으로 인하여 안전하면서도 우수한 효능을 가진 처방이나 천연물을 중심으로 새로운 치료제의 개발이 지속되고 있다⁸⁾. 특히, AD 발병의 주된 연령대인 아동·청소년기 환자와 內治法에 대한 거부감을 가진 성인 환자들은 안전성이 입증되고 피부장벽을 유지해 주는 입욕제나 크림 및 오일 형태 등 다양한 종류의 外治法을 선호하고 있지만 치료 효능은 內治法에 비해 상대적으로 적은편이다.

본 연구에서 사용한 아토탕은 이전 연구결과⁹⁾에서 항산화능과 면역조절 작용에 의한 AD 염증 개선효과 및 항균 효과가 in-vitro 실험을 통해 객관적으로 효능이 입증된 처방이다. 따라서 본 실험에서는 in-vivo 실험을 통해 외치제로써 AD 개선 효과를 실험적으로 입증하여 임상에서의 활용성을 제고하고자 AD 병태 동물모델인 NC/Nga 생쥐에 도포한 후 육안적, 혈액학적, 유전자 발현량 및 조직학적 변화를 관찰하였다.

II. 재료 및 방법

1. 약재

본 실험에 사용한 아토탕의 구성 약재들은 (주)옴니허브에서 구입하였고, 대전대학교 TBRC-RIC에서 정선 후 사용하였고, 그 내용과 분량(1첩)은 다음과 같다(Table 1).

Table 1. The Composition of Ato-tang

Herbal medicine name	Abbreviation	Weight (g)
苦 蔘	Sophorae Radix	6
蕎 麥	Fagopyri Semen	6
白鮮皮	Dictamni Radicis Cortex	6
蛇 梅	Duchesneae Herba	6
沙 參	Adenophorae Radix	6
松 津	Terebinthinae Oleum	6
魚腥草	Houttuyniae Herba	6
烏 梅	Mume Fructus	6
紫 草	Lithospermi Radix	6
地膚子	Kochiae Fructus	6
Total amount		60

2. 동물 및 사료

실험동물인 수컷 4주령의 NC/Nga Mice(16~22g)는 (주)라운바이오에서 공급 받아 실험 당일까지 고행사료(Altromin CO., Germany)와 물을 충분히 공급하고 온도 $22 \pm 2^\circ\text{C}$, 습도 $55 \pm 15\%$, 12시간-12시간(light-dark cycle)의 환경에서 2주간 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 본 실험은 대전대학교 동물실험윤리 위원회의 승인(동물사용 윤리위원회 승인 번호-DJUARB 2016-018)을 받아 동물윤리준칙에 의거하여 실험하였다.

3. 시약 및 기기

사용된 시약은 mouse cytokine milliplex map immuno-assay kit(Millipore Co., U.S.A.), mouse IgE ELISA kit (eBioscience CO., USA), total RNA prep kit(Intronbio., Korea)을 사용하였으며, 기기는 rotary vacuum evaporator (Büchi B-480 Co., Switzerland), freeze dryer(EYELA FDU-540 Co., Japan), ELISA reader(Molecular Devices Co., U.S.A.), PCR machine(Thermal Dynamic., U.S.A) 등을 사용하였다.

4. 시료 제조

아토탕 1첩에 80% 에탄올 1 l 를 넣고 3시간 동안 환류추출 후 여과액을 얻어 rotary vacuum evaporator에서 감압 농축하였다. 농축된 용액을 freeze dryer로 동결 건조하여 분말 3.7 g을 얻었으며, 얻어진 분말은 초저온 냉동고(-80°C)에서 보관하여 사용하였다.

5. AD 병태 모델 제작 및 시료 처리

AD 병태 모델을 제작하기 위해 6주령이 된 NC/Nga 생쥐의 NC/Nga 마우스의 귀 하단부에서부터 꼬리 상단부까지 전체를 제모하고 24 시간 방치 후 1 %의 DNCB(dinitrochlorobenzene) 용액(아세트산·올리브오일 = 3 : 1) 200 μl 를 제모 부위에 도포하고, 3일 후 2차 도포하였다. 1차 도포 후 7일째부터는 1주일에 3회씩 0.4 % DNCB 용액 150 μl 를 2주간 도포하여 유발하였다. 이때, 유발이 되지 않은 동물은 안락사를 진행하였다.

실험 그룹은 AD를 유발시키지 않은 정상군, 증류수를 도포하는 대조군, dexamethasone (이하, Dexa)를 도포하는 양성대조군과 아토탕(이하, Ato)을 도포하는 실험군 등 총 4개의 그룹으로 각 6마리씩 나누어 매일 오후 2시에 실험을 실시하였다.

6. 육안적 평가

DNCB 용액처리 후 9주령, 11주령, 13주령 때에 임상적 육안 평가법으로 관능 평가를 실시하였다. 평가 항목은 홍반(Erythema), 가려움과 건조 피부(Pruritus & Dry skin), 부종과 혈종(Edema & Hematoma), 긁무름(Excoriation), 태선화(Lichenification) 등으로 5가지이다. 각각의 항목은 없음(0), 약함(1), 중증도(2), 심함(3)으로 채점하였다.

7. 혈청 내 사이토카인 및 면역 글로블린 생성량 측정

실험 종료 후 ether로 마취한 상태에서 심장 천자법을 이용하여 채혈한 다음 3,000 rpm에서 20분간 원심 분리하여 혈청을 분리하였다. 분리된 혈청을 가지고 IL-4, IL-5, IL-13을 custom-made 6-plex cytokine Milliplex panel 을 이용하여 Luminex로 측정하였으며, IgE 생성량의 측정은 ELISA kit를 이용하여 ELISA reader 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

8. 유전자 발현량 측정

실험종료 후 분리한 비장조직을 동결시킨 뒤 total RNA prep kit을 이용하여 RNA를 추출하였다. 역전사 반응은 추출한 RNA를 RT premix kit의 mixture를 사용하여 first-strand cDNA를 합성하였으며 M-MLV RT를 불활성화시킨 후 합성이 완료된 cDNA를 polymerase chain reaction(PCR)에 사용하였다. RT-PCR은 DNA polymerase 1U/tube에 250 mM dNTPs mix, RT buffer (10 mM Tris-HCl, pH 9.0, 30 mM KCl, 1.5 mM $MHCl_2$)를 포함한 mixture에 각 샘플과 primer를 넣고 PCR을 시행하였다. 사용된 primer는 아래와 같다(Table 2). 1% agarose gel에 전기영동 후 유전자발현의 여부를 UV로 촬영하여 각 그룹별로 band를 확인하고, RNA 발현을 나타내었다.

Table 2. The Sequences of Primers

Primer	F/R	Sequences
IL-4	F	ATA TCC ACG GAT GCG ACA AA
	R	TGA ATC CAG GCA TCG AAA AG
IL-5	F	GGG GGT ACT GTG GAA ATG CT
	R	TGC ACA GTT TTG TGG GGT TT
IL-13	F	CAC ATC AGA CTT TGC TGG GG
	R	CTC ACG GTC TTG CTG CAG TT

9. 조직학적 검사

배부의 피부를 떼어내어 각 실험군 별로 적출한 조직은 10% 중성 포르말린에 48시간 고정하여 고정이 완료된 조직들을 흐르는 수돗물에서 12시간 수세한 뒤 조직 내의 고정액을 완전 제거하였다. 조직의 탈수를 위해 60%에서부터 100% 알코올에 이르기까지 농도 상승 순으로 탈수하고, xylene에 투명과정을 거친 다음 파라핀 블럭을 제작하였다. 제작된 블럭은 박편절단기(microtome)를 이용해 3~4 μm 두께로 절편을 만들어 탈 파라핀 및 함수과정을 거친 다음 hematoxyline과 eosin(H&E) 염색을 실시하여 광학현미경상에서 관찰 및 사진 촬영 하였다.

10. 통계처리

실험 결과는 실험 결과는 SPSS 17.0의 unpaired student's T-test를 사용하여 통계처리 하였으며 $p < 0.05$, $p < 0.01$ 및 $p < 0.001$ 수준에서 유의성을 검정하였다.

III. 결 과

1. 피부염 지수에 미치는 영향

피부염 지수를 확인한 결과, Fig. 1은 9주, 11주, 13주의 피부염 유발 정도와 개선 정도를 나타내주는 사진으로 아토탕 도포군에서는 양성대조군에 비해 태선화 증상이 남아있기는 했으나 대조군에 비해 회복이 빠르고 홍반, 부종 등의 증상이

현저하게 떨어졌음을 확인할 수 있었다(Fig. 1). 이와 같은 결과는 피부염 지수에 반영되어 나타났다. 피부염 지수는 AD를 유발한 후 9주차부터 13주차까지 2주 간격으로 사진촬영을 한 후에 피부염의 심화 정도를 관능적 방법에 의하여 측정한 결과로, 대조군은 9주차에서 12.2 ± 0.3 , 11주차에서 11.1 ± 0.4 , 13주차에서 9.9 ± 0.3 의 결과가 나타난 반면, 아토탕 도포군은 9주차에서 12.7 ± 0.3 , 11주차에서 8.4 ± 0.1 , 13주차에서 6.2 ± 0.2 으로 나타나 대조군에 비해 감소하였다(Fig. 2).

Fig. 1. Comparison of skin manifestation in NC/Nga mice between control and experimental group.

Atopic dermatitis was induced by DNCB treatment in the dorsal skin.

Fig. 2. Effects of Ato on clinical skin features and severity in DNCB-induced NC/Nga mice.

Clinical skin index of dermatitis was defined as the sum of the individual scores graded as 0 (none), 1 (mild), 2 (moderate), 3 (severe) for each of the following signs and symptoms (Erythema, Pruritus & Dry skin, Edema & Hematoma, Excoriation, Lichenification); Symptoms were evaluated by skin dryness, eruption and wound on the dorsal skin.

2. 조직변화에 미치는 영향

등 조직 변화를 확인한 결과, 대조군은 정상군에 비하여 피부가 두꺼워졌고 세포의 침윤으로 인한 세포의 밀도가 높게 나타난 반면, 아토탕 도포군은 대조군에 비하여 피부의 두께가 약 1/4정도 줄었으며, 세포 침윤으로 인한 세포의 밀도 또한 낮아짐을 보였다(Fig. 3).

Fig. 3. Histologic examination of dorsal skin lesion in DNCB-induced NC/Nga mice.

NC/Nga mice model followed by the treatment of Ato for 4 weeks. Paraffin sections were stained with hematoxylin & eosin. The panels were representative photomicrographs of each of these risk at light microscope (Zeiss, $\times 200$).

3. 혈청 내 사이토카인에 미치는 영향

혈청 내 사이토카인을 측정한 결과, IL-4는 대조군이 22.2 ± 2.4 pg/ml로 나타난 반면, 아토탕 도포군은 7.2 ± 2.0 pg/ml로 나타났으며, IL-5는 대조군이 11.1 ± 1.4 pg/ml로 나타난 반면, 아토탕 도포군은 6.9 ± 1.9 pg/ml로 나타났다. 또한, IL-13은 대조군이 38.7 ± 4.7 pg/ml로 나타난 반면, 아토탕 도포군은 25.6 ± 5.1 pg/ml로 나타나 사이토카인 결과가 대조군에 비해 감소하였고 IL-4와 IL-13에서 유의성(*: $p < 0.01$)이 나타났다 (Fig. 4).

Fig. 4. Effect of Ato on the level of IL-4, IL-5 and IL-13 in the serum of DNCB-induced atopic dermatitis model of NC/Nga mice.

The results were expressed as mean $\pm$ S.D. (Significance of results, **: $p < 0.01$, *: $p < 0.05$ compare to control).

4. 비장조직에서의 유전자 발현량 측정

비장 조직에서 유전자 발현량을 측정한 결과, IL-4는 대조군이 $100.0 \pm 6.1\%$ 로 나타난 반면, 아토탕 도포군은 $74.2 \pm 4.0\%$ 로 나타났으며, IL-5는 대조군이 $100.0 \pm 5.7\%$ 로 나타난 반면, 아토탕 도포군은 $80.4 \pm 6.6\%$ 로 나타났다. 또한, IL-13은 대조군이 $100.0 \pm 4.8\%$ 로 나타난 반면, 아토탕 도포군은 $83.8 \pm 4.4\%$ 로 나타나 모든 유전자 발현량이 대조군에 비해 감소하였으나 유의성이 나타나지는 않았다 (Fig. 5).

Fig. 5. The level of IL-4, IL-5 and IL-13 mRNA expression in spleen from DNCB-induced atopic dermatitis model of NC/Nga mice.

The results were expressed as mean $\pm$ S.D.

5. IgE 생성량에 미치는 영향

혈청 내 IgE를 측정한 결과, 대조군을 $100.0 \pm 1.0\%$ 로 나타냈을 때 아토탕 도포군은 $83.9 \pm 2.1\%$ 로 나타나 대조군에 비해 유의성(* : $p < 0.05$)이 나타났다(Fig. 6).

Fig. 6. Effect of Ato on the level of IgE in the serum of DNCB-induced atopic dermatitis model of NC/Nga mice.

The results were expressed as mean $\pm$ S.D (Significance of results, ** : $p < 0.01$, * : $p < 0.05$ compare to control).

IV. 고 찰

AD의 발병원인으로는 유전적 요인(Genetic factor), 사이토카인(cytokine), 감염(infection), 피부장벽 결손(epidermal barrier defect) 등이 알려져 있으나 아직까지도 정확한 병태생리는 밝혀지지 않은 염증성 피부질환이다.

AD 발병 후 치료가 이루어지지 않으면 영·유아기 아동들은 3명 중 2명이 천식이나 알레르기 비염으로 이행한다는 보고가 되어 있으며¹⁰⁾, 최근 연구 결과에서는 AD 발병 여성이 일반 여성보다 중성지방이 높고 복부비만이 되는 대사증후군에 걸릴 위험이 약 3배 가까이 높은 것으로 밝혀져 다양한 연령대에서 AD의 적절한 치료법이 요구되고 있다¹¹⁾.

현재 AD의 치료제로 사용되어지는 항히스타민 처리는 아토피 피부염 환자에게서 가려움증을 억제하기에 충분하지 못하며, 스테로이드의 적용은 잦은 부작용 때문에 장기적으로 이용할 수 없다는 문제점이 있어 안전하고 효과적인 치료법에 대한 연구가 활발하게 진행되었다¹²⁻¹⁴⁾.

본 연구에서는 아토탕을 AD 병태 모델인 NC/Nga 생쥐에게 4주간 도포하여 혈청 내 사이토카인 및 면역글로불린 측정, 비장조직에서의 유전자 발현, 조직변화 등의 연구를 통해 AD에 유용한 외치제로써의 치료 효과를 확인하고자 하였다.

AD의 전형적인 증상은 홍반, 부종과 함께 가려움증 혹은 가려움증으로 인해 긁는 행위로 반복적으로 피부 병소를 긁는 행위는 피부 장벽의 붕괴와 더불어 AD를 더욱 악화시킨다^{15,16)}. 따라서 AD 치료제의 소양감 조절 작용은 중요하며 홍반, 부종 등의 빠른 수복과 가려움증을 개선시킴으로 증상 완화 등의 치료적 효과를 기대해 볼 수 있다. 본 연구에서 피부 개선 효능을 확인하기 위해 NC/Nga 생쥐에 DNCB를 3주간 도포하여 유발한 후 4주간 아토탕을 도포한 결과, 아토탕은 대조군에 비해 홍반, 부종 등에 대한 회복속도가 빠른 것을 확인하였으며 피부염 지수 역시 대조군에 비해 감소함으로써 아토탕이 AD 증상 완화 및 피부개선 효과가 있음을 확인되었다. 또한, 조직학적 변화에 미치는 영향을 알아보기 위해 H&E 염색을 실시한 결과, 대조군은 등 조직을 촬영한 결과 피부가 두꺼워졌고, 세포의 침윤으로 인한 세포의 밀도가 높게 나타난 반면, 아토탕 도포군은 피부의 두께가 약 1/4정도 줄었으며, 세포 침윤으로 인한 세포의 밀도 또한 낮아짐을 보였다.

AD는 여러 면역세포들이 관여하는데, 그 중 T 세포의 활성화가 두드러지는 경향을 나타낸다¹⁷⁾. 활성화된 T 세포는 Th1과 Th2 세포로 분화하는데, 면역학적 이상으로 비정상적인 Th2 반응에 치우치게 된다¹⁸⁾. 분화된 Th2 세포들은 IL-4, IL-5, IL-13 같은 Th2 사이토카인을 과도하게 생산하게 되고 과도하게 생산된 Th2 사이토카인은 B 세포의 IgG급 항체에서 항원에 재차 노출되면 switch recombination을 통한 isotype switching이 일어나 IgE급 항체로 유도되어 생산된다¹⁶⁾. IgE 발현의 증가는 호산구를 포함하는 과립구 및 비만세포 등의 면역세포를 피부로 침윤시켜 AD를 더욱 심화시킨다. 본 연구에서 혈청 내 사이토카인과 IgE 생성량을 확인한 결과, 아토탕 도포군은 대조군에 비해 IL-4, IL-13 및 IgE 생성량을 유의성 있게 감소시켜 AD의 발병에 있어 중요한 인자로 알려진 사이토카인 및 IgE 생성량 감소는 아토탕이 AD의 효과적인 외치제로써 활용될 수 있음을 시사하고 있다.

비장은 오른쪽 복강 상부에 위치한 커다란 알 모양의 2차 면역기관으로 혈액 내 항원에 대한 면역반응을 시작하는데 중대한 역할을 한다^{9,19)}. 림프절은 국소 조직으로부터 유입되는 항원을 포획하는데 전문화되어 있는 반면, 비장은 혈액을 여과하기 때문에 이 과정에 혈액 내 항원을 포획하는데 전문화되어 있다고 할 수 있다²⁰⁻²²⁾. 본 실험에서는 비장 조직에서 유전자 발현량을 측정한 결과, 아토탕 도포군은 IL-4, IL-5 및 IL-13의 유전자 발현량이 대조군에 비해 감소를 나타내었다. 이와 같은 결과는 혈청 내 사이토카인 결과와 부합됨으로써 아토탕이 Th2 사이토카인의 감소시키는 결과를 더욱 뒷받침해주고 있다.

위와 같은 결과를 종합해 보면 아토탕은 AD 병태모델인

NC/Nga 생쥐에서 피부염지수, 사이토카인, 면역글로불린, 비장 조직의 mRNA의 발현 및 조직학적 변화 등에서 AD의 원인인 Th2 사이토카인의 과 발현을 억제하고 IgE 생성을 감소시킴에 따라 피부개선 및 면역세포의 침윤을 막아 AD의 병리적 진행을 억제하는 효과가 있는 것으로 나타났다. 이와 같은 결과는 아토탕이 내치법 적용이 어렵거나 거부감이 존재하는 환자에게 안전하고 효과적이며 활용성이 높은 외치제로 사용될 것으로 사료된다.

V. 결 론

본 연구에서는 DNCB로 유발한 아토피피부염 생쥐에게 한 약재로 조성된 아토탕(Ato)의 항아토피피부염 효과를 객관적으로 검증하기 위해 동물병태 모델에서 피부염지수 평가, 혈청 내 사이토카인 및 비장에서 mRNA 발현량, 혈청 내 면역글로불린, 조직학적 변화에 미치는 영향을 확인한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 아토탕 도포군은 대조군에 비해 홍반, 부종 등의 피부 개선이 빠르게 진행되었으며, 피부염 지수 역시 감소시켰다.
2. 아토탕 도포군은 대조군에 비해 혈청 내 사이토카인 IL-4, IL-5, IL-13 생성을 감소시켰으며, IL-4와 IL-13에서 유의성이 나타났다.
3. 아토탕 도포군은 대조군에 비하여 비장 조직에서의 IL-4, IL-5, IL-13 유전자 발현을 감소시켰다.
4. 아토탕 도포군은 대조군에 비하여 IgE 생성을 감소시켰으며, 유의성이 나타났다.
5. 아토탕 도포군은 대조군에 비하여 비만 세포가 피부로 침윤되는 것을 억제 하였으며, epidermis와 dermis의 두께도 대조군에 비하여 감소시켰다.

이상의 결과들로 보아 아토탕이 외치제로써 아토피피부염에 대한 개선 효능이 실험적으로 규명되었다. 보다 구체적인 치료 기전은 항 후 보다 심도 있는 연구를 통하여 보완되어야 할 것으로 보이나 이 같은 전임상 단계의 결과는 임상 활용 제고와 더불어 항 후 보다 유의성 있는 치료제 개발을 위한 기초적 자료로써 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 산업통상자원부 지정 대전대학교 난치성 면역질환의 동서생명 의학연구 지역혁신 센터의 지원에 의한 것입니다.

참고문헌

1. Leung DY, Guttman-Yassky E. Deciphering the complexities of atopic dermatitis: shifting paradigms in treatment approaches. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2014 ; 134(4) : 769-79.
2. Cork MJ, Danby SG, Vasilopoulos Y. Epidermal barrier dysfunction in atopic dermatitis. *The Journal of investigative dermatology*. 2009 ; 129(8) : 1892-908.
3. Irvine AD, McLean WH, Leung DY. Filaggrin mutations associated with skin and allergic diseases. *The New England journal of medicine*. 2011 ; 365(14) : 1315-27.
4. Howell MD, Kim BE, Gao P. Cytokine modulation of atopic dermatitis filaggrin skin expression. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2007 ; 120(1) : 150-5.
5. Miajlovic H, Fallon PG, Irvine AD, Foster TJ. Effect of filaggrin breakdown products on growth of and protein expression by *Staphylococcus aureus*. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2010 ; 126(6) : 1184-90.
6. National Health Insurance Corporation, environment day right environment -related diseases health insurance representative 3 payment data analysis. Available from : URL :<http://www.datanews.co.kr/news/article.html?no=94723>
7. Hong JH. A research Western medical science, The Korean traditional medicine, Local clinic and Naturopathy about Atopy. *Journal of eco-early childhood education*. 2008 ; 7(1) : 65-85.
8. Bang SH. The Clinical Effect of Topical Diphenyl-cyclopropenone(DPCP) Therapy in the Treatment of Atopic Dermatitis in Children and Adolescents. *Korean journal of dermatology*. 2004 ; 42(1) : 29-36.
9. Kim GW, Bak JW, Sim BY, Kim DH. An experimental study for the development of prescription on atopic dermatitis. *The Korea Journal of Herbology*. 2014 ; 29(4) : 13-20.
10. Go HY, Kim DH. Study on Combination of External Gosamgamibang and Internal Chenggihaedok-san for the Treatment of Atopic Dermatitis. *Journal of physiology & pathology in Korean Medicine*. 2009 ; 23(6) : 1282-91.
11. Lee JH, Jung HM, Han KD, Lee SH, Park YG, Park YM. Association Between Metabolic Syndrome and Atopic Dermatitis in Korean Adults. *Acta Derm Venereol*. 2016.
12. Koblenzer CS. Itching and the Atopic Skin. *J. Allergy Clin. Immun.* 1999 ; 104(3) : S109-13.
13. Mihara K, Kuratani K, Matusui T, Yokota K. Vital Role of the Itch-scratch Response in Development of Spontaneous Dermatitis in NC/Nga Mice. *J. Dermatol*. 2004 ; 151(2) : 335-45.

14. Sim BY, Kim SH, Kim DH. Anti-inflammatory effect of Baecksunpijibujabokhap-bang in Atopic dermatitis model mice. The Korea Journal of Herbology. 2014 ; 29(3) : 51-8.
15. Wahlgren CF. Itch and atopic dermatitis: an overview. J Dermatol. 1999 ; 26(11) : 770-9.
16. Ki HP, Jang SI, Yun YG. Ameliorative Effects of Hwangnyeonhaedok-tang on Atopic Dermatitis. Herbal formula science. 2013 ; 21(1) : 80-90.
17. Lee BW, Gim SB, Song HH, Ji JG, Bak JW, Kim DH. Study on the Immune Modulatory Activity of Seokjahaeki-tang Using Atopic Dermatitis Animal Models. Journal of physiology & pathology in Korean Medicine. 2012 ; 26(4) : 446-54.
18. Lee HS, Kim JS, Pyun BY. Changes of the prevalence and the allergens of atopic dermatitis in children : In between the year of 1992 and 2002. Pediatric allergy and respiratory disease. 2002 ; 12(4) : 263-71.
19. Sim BY, Bak JW, Kim DH. Effect of Gamikyejakjimo-tang(jiawwiguishaozhim-tang) ethanol extract on Rheumatoid Arthritis factors. The Korea Journal of Herbology. 2014 ; 29(5) : 65-73.
20. Ha JC, Kim HD, Joo JW, Kim JO. Ultrastructural Localization of Antigenic Sites on Vibrio vulnificus and BALB/c Spleen Cells Applying the Protein A-Gold Techique. The Journal of the Korean Society for Microbiology. 1989 ; 24(4) : 391-7.
21. Chung HT, Ha TY, Cung DK. Histological changes of mouse spleen and lymph node by cyclophosphamide. Journal of the Korean Society for Microbiology. 1978 ; 10 : 55-62.
22. Lee BG, Chu MK, Chung HK, Kim JD. Effect of Adaptagen- α on the Mouse Peritoneal Macrophages and Spleen Cells in Vivo. Journal of the Korean Society for Microbiology. 1978 : 29(5) : 507-15.