

## 사백산 추출물의 지방장벽 생성을 통한 Th2 분화 조절

안상현<sup>1</sup> · 정아람<sup>2</sup> · 김기봉<sup>3,4,#</sup>

<sup>1</sup>세명대학교 한의과대학 해부학교실, <sup>2</sup>가천대학교 한의과대학 소아과학교실,  
<sup>3</sup>부산대학교 한의학전문대학원, <sup>4</sup>부산대학교한방병원 한방소아과

### Abstract

## Th2 Differentiation Control through Formation of Skin Fat Barrier of Sabaek-san extract

Ahn Sang Hyun<sup>1</sup> · Jeong A Ram<sup>2</sup> · Kim Ki Bong<sup>3,4,#</sup>

<sup>1</sup>Dept. of anatomy, College of Korean Medicine, Semyung University

<sup>2</sup>Dept. of Pediatrics, College of Korean Medicine, Gachon University

<sup>3</sup>School of Korean Medicine, Pusan National University

<sup>4</sup>Dept. of Pediatrics, Pusan National University Korean Medicine Hospital

### Objectives

The purpose of this study is to confirm the regulate effect of T helper (Th) 2 differentiation that Sabaek-san extract may produce to improves skin lipid barrier damage.

### Methods

Four-weeks-old NC/Nga mice were divided into four groups: control group (Ctrl, n=10), lipid barrier eliminated group (LBE, n=10), Dexamethasone treatment after lipid barrier elimination group (DXT, n=10), and Sabaek-san extract treatment group after lipid barrier elimination (SBT, n=10). Sabaek-san extract was administered for 3 d after removal of the skin fat barrier in SBT group. Then, we identified changes in external symptoms of the skin, factors affecting skin barrier such as potential of hydrogen (pH), filaggrin, transepidermal water loss (TEWL) and Th2 differentiation factors like Interleukin (IL)-4, Kallikrein Related Peptidase 7 (KLK7), and protease activated receptor 2 (PAR-2) through our immunohistochemistry.

### Results

After lipid barrier elimination, the reduction of morphological skin inflammations was less in SBT group than in LBE and DXT group. Also, pH and TEWL were significantly decreased with SBT group. However, filaggrin was significantly increased in SBT group compared to LBE, DXT, and Ctrl group. All kinds of Th2 differentiation factors (IL-4, KLK7 and PAR-2) were also decreased in SBT compared to the LBE and DXT.

### Conclusions

As a result of this study, SBT administration decreased pH, TEWL, and increased filaggrin, thus participating in recovering damaged skin barrier. Since Th2 differentiation factors were decreased as well, SBT's regulatory effect in sequential immune reactions may be a possible explanation of how it enhances recovery of the damaged lipid barrier.

**Key words:** Sabaek-san, inflammation, skin barrier, filaggrin, Th2 differentiation

## I. Introduction

피부는 인체의 자연적 방어체계로서, 가장 바깥은 각질층으로 이루어져 있다. 각질층 내의 각질세포에는 filaggrin과 같은 단백질로 구성된 단백질외막이 있어 각질세포 외부의 지질과 결합하여 다중 층상 구조의 피부장벽을 형성하고 있다<sup>1,2)</sup>. 이러한 층상 구조의 피부장벽 구조물은 외부로부터 항원이나 세균 등의 침입을 막고, 피부 투과도를 감소시킴으로써 인체를 보호하고 손상을 최소화한다<sup>1)</sup>. 또한 피부에서의 수분 손실을 억제하여 피부내 수분함양성을 유지하여 피부가 건조해져서 발생할 수 있는 피부 균열을 막아 염증성 피부질환의 악화를 억제시킨다<sup>3)</sup>.

피부장벽의 손상은 피부 산성도 (potential of hydrogen, pH)를 증가시켜 피부 내 정상세균층의 증식을 억제하고 병원균의 증식을 보다 쉽게 만든다<sup>4)</sup>. 아울러 interleukin (IL)-4, IL-13 같은 T helper (Th) 2 cytokine 생성이 증가되어 알레르기 반응이 용이해지고, filaggrin, involucrin 등의 발현을 억제시켜 피부장벽 손상을 가속화시킨다<sup>5)</sup>.

따라서 피부의 장벽기능 손상은 피부 각질층 내 지질성분의 변화, Transepidermal water loss (TEWL) 저하, filaggrin 억제, pH 변화 등을 유발하여 아토피피부염을 포함한 다양한 염증성 피부질환의 원인이 될 뿐 아니라<sup>6-8)</sup>, 이러한 질환의 예후 및 치료에 있어서도 중요한 지표가 된다<sup>2)</sup>.

한의학에서는 아토피피부염은 심한 소양감과 홍반, 발진, 삼출물 등을 동반하는 열성 피부질환에 해당되며, 특히 영유아의 경우 태열이 충분히 제거되지 못하여 발병하는 것으로 알려져 있다<sup>9)</sup>. 따라서 임상현상에서는 대부분 청열해독하는 처방들을 활용하여 아토피피부염을 치료하고 있다.

사백산 (瀉白散)은 소아약증직결 (小兒藥證直訣)에 처음 수록된 처방으로, 지골피 (地骨皮, *Lycium chinense* Mill), 상백피 (桑白皮, *Morus bombycis* Koidzumi.), 감초 (甘草, *Glycyrrhiza uralensis* Fisch)로 구성되어 있다. 청사폐열 (淸瀉肺熱), 평천지해 (平喘止咳)하는 효능이 있어 폐열로 인한 해수가 심하여 기급 (氣急)하고 피부증열 (皮膚蒸熱)하며, 오후발열이 심하고, 설홍태황 (舌紅苔黃), 맥세삭 (脈細數)하는 증상들을 치료하는 처방이다<sup>10)</sup>. 사백산은 항염증 효과가 있으며<sup>11)</sup>, 기도 염증반응을 완화시키고 억제시켜 천식 치료에 사용되고 있다<sup>12)</sup>.

본 연구는 사백산 추출물의 아토피피부염에서의 피부상태 변화를 확인하기 위해 경피수분손실도 (Transepidermal water loss, TEWL), pH를 관찰하였고, 지방장벽 구조 단백질 변화를 확인하기 위해 피부각질층 내 filaggrin를 관찰하였으며, 세린 프로테아제 (serine protease, SP)의 활성화를 확인하기 위해 각질층 내 Kallikrein-related peptidase (KLK) 7, Protease activated receptor (PAR)-2, Thymic stromal lymphopoietin (TSLP)를 관찰하였다. 또한 염증 반응 변화를 확인하기 위해 IL-4를 관찰하였다.

본 연구를 통해 사백산 추출물이 피부 장벽 생성을 통하여 아토피피부염의 염증 완화 효과를 보였기에 보고하는 바이다.

## II. Materials & Methods

### 1. 실험동물

자바이오 (JA-Bio, Seoul, Korea)에서 분양 받은 태령 4주 수컷 NC/Nga계 생쥐를 무균사육장치내에서 2주일 동안 적응시킨 후 체중  $16 \pm 1$  g로 선별하여 실험에 사용하였다. 대조군 (Control group, Ctrl), 지방장벽제거군 (lipid barrier elimination group, LBE), 지방장벽제거 후 dexamethasone 투여군 (dexamethasone (Dx) treatment group after lipid barrier elimination, DXT) 그리고 지방장벽제거 후 사백산 투여군 (Sabaek-san extract treatment group after lipid barrier elimination, SBT)으로 나누었고, 각각 10마리씩 배정하였다. 동물을 실험군에 배정하고, 결과를 평가할 때 발생할 수 있는 주관적 편향을 최소화하기 위해 2주 적응기간을 거친 후 행동태를 관찰하여 공격적 과잉행동 및 회피행동 개체를 선정에서 제외하였다. 모든 군의 생쥐들은 23-25 °C, 55 ± 10%의 습도, 12 h 명암 주기에서 사육되었고, SAFE-40 + RMM (SAFE, France) 및 filtered tap water의 식이를 자유롭게 제한없이 제공하였다. 동물실험은 부산대학교 동물실험윤리위원회의 승인 (IACUC No. PNU-2015-0924) 후 실시되었고, 실험실 동물의 관리와 사용에 대해서는 NIH 가이드라인에 따라 시행되었다.

### 2. 실험약물

본 실험에서 사용한 사백산은 바른한약 (Barunhanyak, Seoul, Korea)에서 구입하여 사용하였다. 상백피 8 g, 지

골피 8 g, 감초 4 g로 구성된 사백산 20 g을 증류수 1000 ml에 넣고 3시간 동안 전탕 후 여과하였다. 그 여액을 rotary evaporator (Eyela, Tokyo, Japan)를 이용하여 50 ml로 감압·농축 후 동결건조기 (Labconco, Kansas, MO, USA)로 건조된 추출물 2 g (수득률 10%)을 획득하였다.

### 3. 지방장벽 제거와 약물 투여

생쥐의 피부 등쪽 부위에 제모크림 (Body natur, Nueil-les-Aubiers, France)을 이용하여 제모한 다음 Tape (3M, St. Paul, MN, USA)를 이용하여 각질층의 탈락막 (desquamation)을 제거하였다. 그런 다음 10% sodium dodecyl sulfate (SDS; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) 500  $\mu$ l를 제모부위에 도포한 후 면봉으로 20회 문질러 각질층의 지방장벽을 제거하였다. 이후 사백산 추출물을 생리식염수에 희석하여 3일 동안 68 mg/kg의 양을 0.2 ml씩 SBT에 경구투여 하였다. 대조약물로 사용된 dexamethasone (Sigma-Aldrich)도 SBT와 동일하게 68 mg/kg량으로 0.2 ml씩 3일 동안 DEX에 경구투여하였다.

### 4. 피부 내 TEWL과 pH 측정

지방장벽 제거 3일 경과 후 경피수분손실도 (Transepidermal water loss, TEWL)는 Vapometer (Delfin Technologies Ltd, Kuopio, Finland)를 이용하여 측정하고, 피부의 pH 변화는 SKIN-O-MET (COSMOMED, Ruhr, Germany)으로 측정하였다.

### 5. 면역조직화학

피부는 vascular rinse와 10% 중성 포르말린용액 (neutral buffered formalin, NBF)으로 심장관류고정을 실시하였다. 적출된 등쪽 피부를 10% Neutral Buffered formalin에 실온 환경에서 24시간 동안 고정된 후 통상적인 방법으로 paraffin에 포매하고 5  $\mu$ m 두께로 연속절편을 만들었다. 연속절편은 Masson's trichrom (M/T) 염색 후 관찰하였다.

### 6. 면역조직화학

지방장벽 손실, 상피 염증, 그리고 Th2 분화의 면역조직학적 변화를 조사하기 위해 항 filaggrin, KLK7, PAR-2, TSLP, 그리고 IL-4항체를 이용한 면역조직화학적 염색을 실시하였다. 우선 피부절편을 proteinase K (20  $\mu$ g/ $\mu$ l; Dako, Santa Clara, CA, USA)에 5분 동안 pro-

teolysis 과정을 거친 후 1% fetal bovine serum (Sigma-Aldrich)이 포함된 10% normal goat serum (Vector Lab, Burlingame, CA, USA)에서 1시간 동안 blocking 반응을 시켰다. 1차 항체인 mouse anti-filaggrin (1:100, Santa Cruz Biotechnology Inc, Santa Cruz, CA, USA), mouse anti-KLK7 (1:100, Santa Cruz Biotechnology Inc.), mouse anti-PAR-2 (1:100, Santa Cruz Biotechnology Inc.), mouse anti-TSLP (1:100, Abcam, Waltham, MA, USA), mouse anti-IL-4 (1:50, Santa Cruz Biotechnology Inc.)에 4  $^{\circ}$ C humidified chamber에서 72시간 동안 반응시켰다. 2차 항체인 biotinylated goat anti-mouse Immunoglobulin (Ig)G (1:100, Santa Cruz Biotechnology Inc.)에 실온에서 24시간 link 하였고, avi din biotin complex kit (Vector Lab)에 1시간 동안 실온에서 반응시켰다. 0.05% 3,3'-diaminobenzidine과 0.01% HCl이 포함된 0.05 M tris-HCl 완충용액 (pH 7.4)에서 발색시킨 후, hematoxylin으로 대조염색하였다.

### 7. 영상분석

면역조직화학의 결과는 image Pro 10 (Media cybernetics, Rockville, MD, USA)를 이용한 영상분석을 통해 수치화 (means  $\pm$  standard error) 되었다. 각 군의 피부표본 10개를 임의로 선정한 후 x 400 배율에서 촬영한 다음 positive pixels (intensity 80 ~ 100) /20,000,000 pixels로 영상분석하였다.

### 8. 통계

통계는 SPSS software (SPSS 25, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 이루어졌으며, one-way ANOVA 시행을 통해 유의성 ( $p < 0.05$ )을 검증하고, 사후 검증은 Tukey HSD를 실시하였다.

## III. Results

### 1. 피부 손상 억제

손상피부에 대한 조직화학적 변화에서 LBE과 DXT는 상피세포과형성, 가시층의 세포사이공간의 확장, 기저층내 붕괴, 바닥면 주변으로 림프구 침윤 증가와 혈관신생성 증가 등의 구조적 변화가 관찰되었다. 이에 반해 SBT는 LBE와 DXT에 비해 피부염 손상이 적

었다 (Fig. 1 A).

TEWL는 Ctrl ( $17 \pm 2 \text{ g/m}^2\text{h}$ )에 비해 LBE ( $269 \pm 7 \text{ g/m}^2\text{h}$ )는 1482%, DXT ( $219 \pm 6 \text{ g/m}^2\text{h}$ )는 1188%, SBT ( $121 \pm 6 \text{ g/m}^2\text{h}$ )는 612%로 증가하였다. SBT의 TEWL이 가장 낮았으며, LBE에 비해 55%, DXT에 비해 45%로 유의성 있게 낮았다 (Fig. 1 B).

pH는 Ctrl ( $5.56 \pm 0.05$ )에 비해 LBE ( $8.13 \pm 0.06$ )는 46%, DXT ( $7.49 \pm 0.04$ )는 35%, SBT ( $6.62 \pm 0.09$ )는 19%로 증가하였다. SBT의 pH가 가장 낮았으며, LBE에 비해 19%, DXT에 비해 12%로 유의성 있게 낮았다 (Fig. 1 C).

## 2. 지방장벽 회복

Filaggrin 양성반응은 지방장벽 손상 후 모든 군에서 Ctrl에 비해 유의성 있게 감소하였다. filaggrin 양성반응에서 LBE ( $11,006 \pm 490 / 20,000,000 \text{ pixel}$ )는 Ctrl ( $79,313 \pm 1,540 / 20,000,000 \text{ pixel}$ )에 비해 86% 감소하였고, DXT ( $29,648 \pm 1,386 / 20,000,000 \text{ pixel}$ )는 63%, SBT ( $65,185 \pm 1,287 / 20,000,000 \text{ pixel}$ )는 18% 감소하였다. SBT는 LBE에 비해 492%, DXT에 비해 120% 유의성 있게 증가하였다 (Fig. 2).

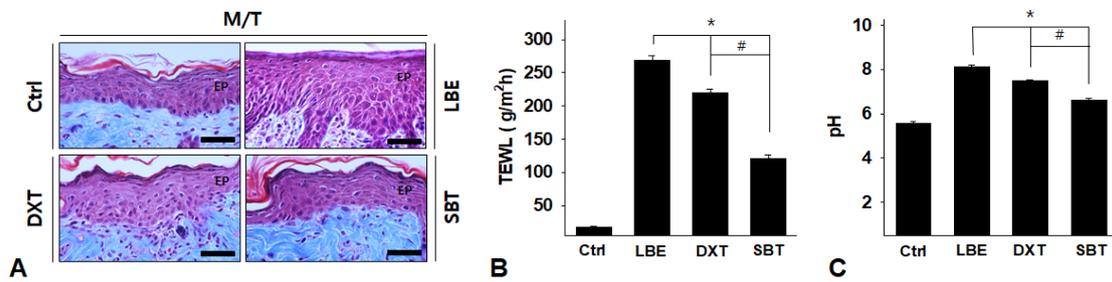


Figure 1. The mitigative effects of skin lesions by Sabaek-san extract treatment.

A. The Sabaek-san extract treatment relieved symptom as erythema, hemorrhage, scarring, erosion, and excoriation in SBT. B. The TEWL is decreased in SBT, but increased in LBE and DXT. C. The pH is decreased in SBT, but increased in LBE and DXT. Abbreviations. Ctrl, normal; LBE, lipid barrier eliminated group; DXT, dexamethasone treatment group after lipid barrier elimination; SBT, Sabaek-san extract treatment group after lipid barrier elimination; TEWL, Transepidermal water loss; H&E, hematoxylin and eosin staining; EP, epithelium; pH, potential of hydrogen; Bar size,  $50\mu\text{m}$ ; \*,  $p < 0.05$  compared with LBE; #,  $p < 0.05$  compared with DXT.

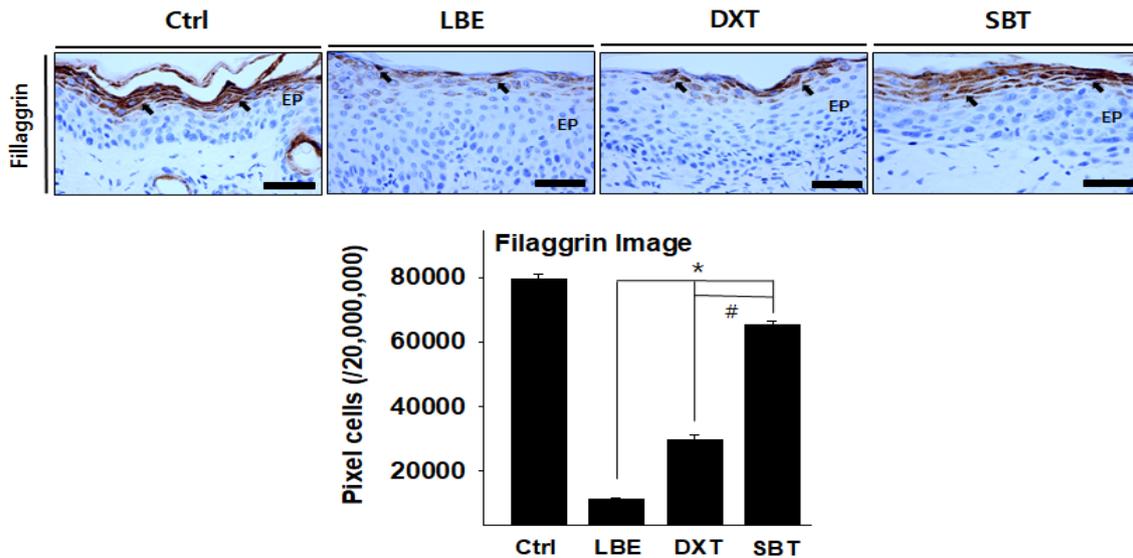


Figure 2. The regeneration of lipid barrier as filaggrin by Sabaek-san extract treatment.

The distribution of filaggrin (arrow indicates light brown particle) was significantly increased in SBT as compared with LBE and DXT, the data of filaggrin image analysis showed the same results (Filaggrin immunohistochemistry). Abbreviations. Ctrl, normal; LBE, lipid barrier eliminated group; DXT, dexamethasone treatment group after lipid barrier elimination; SBT, Sabaek-san extract treatment group after lipid barrier elimination; EP, epithelium; Bar size,  $50\mu\text{m}$ ; \*,  $p < 0.05$  compared with LBE; #,  $p < 0.05$  compared with DXT.

### 3. 염증조절을 통한 피부내 Th2 분화 조절

KLK7 양성반응은 LBE (77,489 ± 1,389 /20,000,000 pixel)는 Ctrl (11,352 ± 501 /20,000,000 pixel)에 비해 583% 증가하였으며, DXT (50,708 ± 922 /20,000,000 pixel)는 347%, SBT (26,381 ± 1,070 /20,000,000 pixel)는 132% 증가하였다. SBT는 LBE에 비해 66%, DXT에 비해 48% 유의성 있게 낮았다 (Fig. 3.).

PAR2 양성반응은 LBE (94,413 ± 115 /20,000,000 pixel)는 Ctrl (7,193 ± 221 /20,000,000 pixel)에 비해 1,213% 증가하였으며, DXT (70,602 ± 975 /20,000,000 pixel)는 882%, SBT (32,978 ± 766 /20,000,000 pixel)는 358% 증가하였다. SBT는 LBE에 비해 65%, DXT에 비해 53% 유의성 있게 낮았다 (Fig. 3.).

TSLP 양성반응은 LBE (63,810 ± 1,248 /20,000,000 pixel)는 Ctrl (6,135 ± 280 /20,000,000 pixel)에 비해 9403% 증가하였으며, DXT (37,245 ± 1,489 /20,000,000 pixel)는 507%, SBT (17,290 ± 660 /20,000,000 pixel)는 182% 증가하였다. SBT는 LBE에 비해 73%, DXT에 비해 54% 유의성 있게 낮았다 (Fig. 3.).

IL-4 양성반응은 LBE (70,410 ± 1,099 /20,000,000 pixel)는 Ctrl (6,733 ± 246 /20,000,000 pixel)에 비해 946% 증가하였으며, DXT (44,592 ± 1,650 /20,000,000

pixel)는 562%, SBT (26,649 ± 849 /20,000,000 pixel)는 296% 증가하였다. SBT는 LBE에 비해 62%, DXT에 비해 40% 유의성 있게 낮았다 (Fig. 3.).

## IV. Discussion

아토피피부염 같은 염증성 피부질환 (skin inflammation)은 피부장벽 손상과 면역체계의 조절이상 등이 복합적으로 작용하여 발생하며, 만성 혹은 반복적으로 발생하는 특징이 있다<sup>9)</sup>. 이러한 염증성 피부질환은 한의학적으로 체내 축적된 열이 원인이라고 보며, 흥반, 발진, 삼출물, 소양감 등의 증상을 통하여 대부분 열증으로 보았으며, 특히 영유아에서 다발하는 아토피 피부염은 태열 (胎熱)로 인한 열증으로 인식하였다<sup>13)</sup>. 따라서 염증성 피부질환에 청열해독 (淸熱解毒) 효과가 있는 약물을 사용하게 된다.

사백산은 사폐산 (瀉肺散)이라고도 하며, 상백피, 지골피, 감초로 구성되어져 있다. 상백피는 청폐평천 (淸肺平喘), 행수소종 (行水消腫)하는 효능이 있어 폐열해수, 소변불리, 면목부종 (面目浮腫) 등에 많이 사용되며, 지골피는 청열량혈 (淸熱涼血), 청폐열 (淸肺熱), 퇴

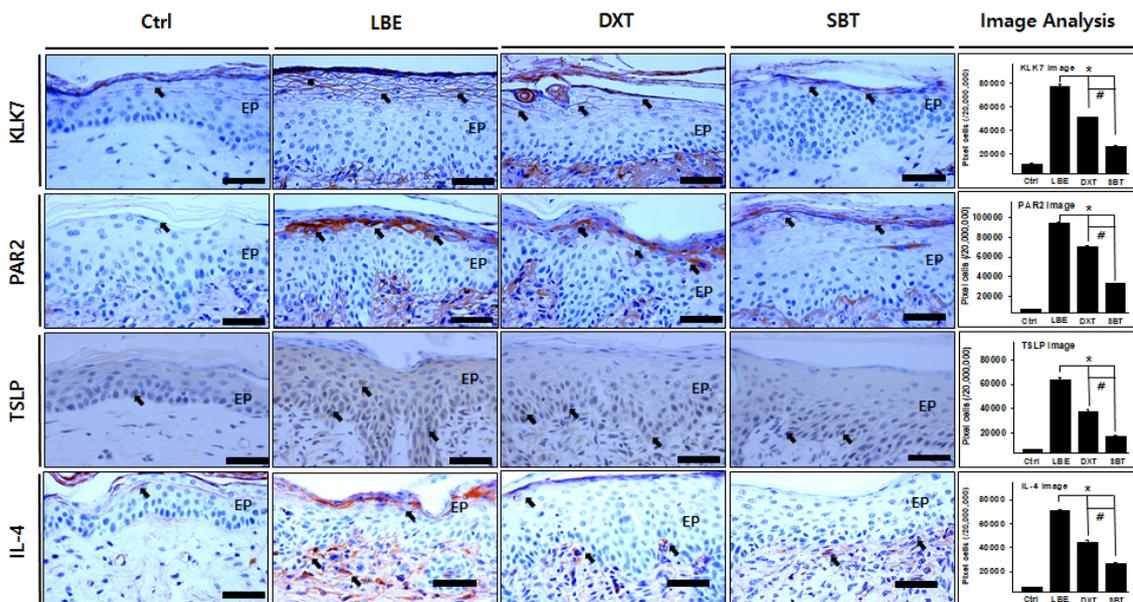


Figure 3. The regulation of Th2 differentiation by application of SBT.

The positive reaction of KLK7, PAR-2, TSLP and IL-4 (arrow indicates light brown particle) was significantly decreased in SBT as compared with LBE (Immunohistochemistry). The data of image analysis for positive reaction showed the same results. Abbreviations. Ctrl, normal; LBE, lipid barrier eliminated group; DXT, dexamethasone treatment group after lipid barrier elimination; SBT, Sabaek-san extract treatment group after lipid barrier elimination; EP, epithelium; Bar size, 50µm; \*,  $p < 0.05$  compared with LBE; #,  $p < 0.05$  compared with DXT.

골증노열(退骨蒸勞熱)하는 효과가 있어 해수천식, 토혈, 번열구갈(煩熱口渴), 결핵 등의 치료에 사용된다. 감초는 보비익기(補脾益氣), 청열해독(淸熱解毒), 조화제약(調和諸藥)의 효능이 있어 비허위약(脾虛胃弱), 혈허(血虛) 등에 주로 사용된다<sup>12)</sup>. 이러한 사백산은 폐열해수(肺熱咳嗽)로 호흡이 빨라지고, 체온이 상승되며, 맥세삭(脈細數)한 염증성 질환에 사용되는 처방으로 알려져 있다. 본 연구는 이러한 사백산의 청열해독하는 항염증 효과를 이용하여 아토피피부염 치료에서의 활용 가능성을 확인하고자 하였다.

아토피피부염이 있는 피부는 각질층 내 ceramide와 filaggrin 발현이 감소되어 있으며<sup>8)</sup>, pH가 정상 피부에 비해 높고, 가려움을 유발하는 인자들이 활성화되어 있다<sup>14,15)</sup>. 따라서 피부장벽 손상을 억제하고 기능을 강화하는 것은 아토피피부염의 예방 및 치료에 중요한 부분이라 할 수 있다.

본 연구는 피부 지방장벽 손상을 야기한 NC/Nga 생쥐에 사백산 추출물을 투여하여 피부지방장벽 재생과 이를 통한 염증완화 효과를 확인하고자 하였다.

연구결과 SBT에서 TEWL과 pH 모두 Ctrl, LBE, DXT에 비해 유의미하게 변화하였다. TEWL은 유의성 있게 감소하였으며, pH 역시 유의성있는 감소를 보였다. 또한 filaggrin 양성반응은 SBT에서 LBE, DXT에 비해 유의하게 증가하는 양상을 보였다. filaggrin는 아토피피부염의 중요한 인자 중 하나이며, Profilaggrin으로부터 분해되어 나온 세포 구조 단백질이다<sup>8)</sup>. filaggrin는 피부에서 수분 함유량을 유지하게 함으로서 피부 각질층의 보습에 관여한다<sup>16)</sup>. 이러한 filaggrin의 감소는 각질층에서의 수분도 감소를 유발하고 피부장벽 손상을 야기한다. 이는 결국 피부 각질층 내의 면역학적 변화를 야기하여 염증성 피부질환이 생기게 된다<sup>17,18)</sup>. 아울러 filaggrin의 형성에 문제가 생기면 각질층의 세포외막에 변형을 일으켜서 외부에서의 자극물질 침입을 용이하게 하고 Immunoglobulin E (IgE) 감작을 유발하게 된다. 이러한 과정은 Th2가 우세한 면역학적 상태를 만들어서 아토피피부염 유발을 보다 용이하게 만든다<sup>19)</sup>. SBT가 피부 수분 증가를 감소시키고, pH를 증가시키며, filaggrin 양성반응을 증가시킨다는 본 연구 결과는 사백산이 아토피피부염에서의 피부장벽 재생을 통하여 피부장벽 손상과 염증 유발을 억제시킬 수 있다는 가능성을 보여주는 것이다.

또한, 본 연구에서는 피부장벽 제거 후 KLK7, PAR-2, TSLP, IL-4 양성반응이 전체적으로 증가하였

으나, SBT에서 증가 정도가 가장 낮았으며, LBE와 DXT에 비교해서도 유의하게 낮음을 확인하였다. 피부장벽 손상은 Th2 분화 유도 cytokine을 증가시키고 염증을 유발하고, 이는 다시 각질층 내 filaggrin, loricrin 등의 발현에 영향을 주어 재차 피부장벽 재생을 억제시켜 손상을 줌으로서 악순환을 반복하게 된다<sup>18)</sup>. 이를 통해 피부의 염증반응은 피부장벽 손상과 피부 내 면역학적 변화가 유기적으로 연결되어 진행됨을 알 수 있다. 따라서 피부 지방장벽의 재생은 KLK7, PAR-2, TSLP, IL-4와 같은 염증성 물질을 억제하고 염증 자체를 감소시키게 된다. 이는 본 연구에서 피부손상을 일으켜서 filaggrin 감소, TEWL 증가, pH 증가, KAK7, PAR-2, TSLP, IL-4 양성반응이 증가됨을 통하여 확인하였다.

KLK7은 filaggrin의 분해에 작용하여 PAR-2를 활성화시키고 염증반응을 일으킨다<sup>20)</sup>. PAR-2는 TSLP 과발현을 유도해서 IL-5, TNF- $\alpha$  같은 Th2 cytokine의 분비를 촉진한다<sup>20,21)</sup>. TSLP는 표피 각질형성세포에서 만들어져서 수상돌기세포의 활성화를 유도하여 Th2 면역반응을 일으키고 지속시킨다<sup>22)</sup>. 본 연구에서 피부 지방장벽 손상에 사백산 추출물을 투여한 결과 LBE, DXT에 비해 pH가 현저하게 감소하였고, PAR-2, TSLP 같은 Th2 분화 관련 인자들 역시 유의하게 감소하였다. 이러한 연구결과는 사백산 추출물의 피부의 pH를 감소시켜 피부장벽 재생을 유도하고 Th2 매개 염증반응 경로를 억제하는 것으로 생각된다.

아토피피부염은 소아에게 있어 환자의 삶의 질을 떨어뜨리고, 피부염 악화를 막기 위한 식이제한, 수면 장애까지 동반되어 성장발달에 영향을 줄 수 있다<sup>23)</sup>. 피부장벽 보호가 아토피피부염의 예방과 치료에 있어 중요하다는 인식이 커지면서 피부 수분 항상성 유지를 위한 보습제 사용, 염증 억제를 위한 스테로이드 사용이 치료법으로 권장되고 있으나, 근본적인 치료는 되지 않고 있는 실정이다. 이렇다 보니 최근에는 아토피피부염의 활성 전치료 (proactive therapy)가 새로운 치료법으로 부각되고 있다<sup>24)</sup>. 활성 전치료는 병이 시작되는 시점에 강도 높은 치료를 시행하고 이후는 완화된 상태를 유지하게 함으로서 재발을 미연에 방지하는 치료방법으로 장기적인 상태 유지가 목적인 치료방법이다<sup>24)</sup>. 사백산은 비록 급성기의 염증 질환에 다용되는 처방이기는 하나, 본 연구결과에서 Th2 유도 cytokine을 감소시키고 filaggrin을 증가시키는 것을 확인하였다. 이를 통하여 연쇄적으로 진행되는 피부 염증반응

에서 피부장벽 재생을 효과적으로 유도하여 외부 자극에 의한 추가적 손상을 예방할 수 있는 장기적인 치료 유지의 가능성을 보여준다.

본 연구결과를 통하여 사백산 추출물의 아토피피부염의 예방 및 치료효과에 대한 가능성을 확인하였으나, 본 연구는 동물실험 연구로서의 한계점을 가진다. 일반적으로 동물과 인간의 생물학적 차이로 인해 재현성의 제한이 있을 수 밖에 없으며, 본 연구결과를 임상적으로 적용하기에는 다소 어려움이 있다. 본 연구는 가능성을 제시하는 정도이며, 임상적 근거 마련을 위해서는 추가적인 임상연구가 필요하다.

## V. Conclusion

사백산 추출물의 피부 지방장벽 손상 회복 효과와 이를 통한 염증 억제 효과를 확인하기 위해 본 연구는 태령 4주의 NC/Nga 생쥐에 지방장벽 손상을 야기하여 사백산 추출물을 투여한 후 다음과 같은 결과를 얻었다

1. 상피세포 과형성, 기저층 붕괴, 바다면 주변 림프구 침윤 및 혈관 신생성 증가 등의 조직화학적 변화는 LBE, DXT과 비교하여 SBT에서 가장 적게 관찰되었다.
2. TEWL와 pH은 SBT에서 LBE, DXT에 비해 유의성 있게 낮았다 ( $p < 0.05$ ).
3. FLG 양성반응은 SBT가 LBE, DXT에 비해 유의성 있게 증가되었으며, 특히 지방장벽이 제거되지 않은 Ctrl에 비해 증가하였다 ( $p < 0.05$ ).
4. KLK7, PAR-2, TSLP, IL-4 양성반응은 SBT가 LBE, DXT에 비해 유의하게 감소하였다 ( $p < 0.05$ ).

## VI. Acknowledgement

이 연구는 2019년도 정부의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 기초연구사업임 (No. NRF-2019R1A2C1002443).

## VII. References

1. Kubo A, Nagao K, Amagai M. Epidermal barrier dysfunction and cutaneous sensitization in atopic diseases. *J Clin Invest.* 2012;122(2):440-7.
2. Kim HJ, Shin JU, Lee KH. Atopic dermatitis and skin barrier dysfunction. *Allergy Asthma Respir Dis.* 2013; 1(1):20-8.
3. Rawlings AV, Harding CR. Moisturization and skin barrier function. *Dermatol Ther.* 2004;17(1):43-8.
4. Ripplke F, Schreiner V, Doering T, Maibach HI. *Stratum corneum* pH in atopic dermatitis: impact on skin barrier function and colonization with *Staphylococcus Aureus*. *Am J Clin Dermatol.* 2004;5:217-23.
5. Silverberg NB, Silverberg JI. Inside out or outside in: does atopic dermatitis disrupt barrier function or does disruption of barrier function trigger atopic dermatitis? *Cutis.* 2015;96(6):359-61.
6. Yang G, Seok JK, Kang HC, Cho YY, Lee HS, Lee JY. Skin barrier abnormalities and immune dysfunction in atopic dermatitis. *Int J Mol Sci.* 2020;21(8):2867.
7. Egawa G, Kabashima K. Multifactorial skin barrier deficiency and atopic dermatitis: essential topics to prevent the atopic march. *J Allergy Clin Immunol.* 2016;138(2): 350-8.
8. Drislane C, Irvine AD. The role of filaggrin in atopic dermatitis and allergic disease. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2020;124(1):36-43.
9. Wu D, Huang C, Mo X, Liu J, Cai J, Liu C, Zhu H, Li H, Chen D. Development and initial validation of a traditional Chinese medicine symptom-specific outcome measure: a Zheng-related atopic dermatitis symptom questionnaire (ZRADSQ). *Health Qual Life Outcomes.* 2013;11:212.
10. Heo J. Donguibogam. *Namsandang.* 1994:470.
11. Lee DS, Choi HG, Kim KS, Kim DC, Min HK, Li B, Park JH, Oh HC, Kim YC. The comparison between Sabaek-san water and 30% EtOH extracts for anti-inflammatory effects. *Yahak Hoeji.* 2012;56(4): 240-7.
12. Lee HJ. Effects of Sabaek-san on the matrix metalloproteinase-9 in the bronchial asthma mouse model. *Korean J. Oriental Physiology & Pathology.* 2004;18(6):

- 1694-8
13. Im GM, Joeng HW, Kim HS, Jeong WY. Oriental medical approach on the allergic disease. *Korean J Orient Physiol Pathol.* 2002;16(5):831-9
  14. Seeliger S, Derian CK, Vergnolle N, Bunnett NW, Nawroth R, Schmelz M, Weid P, Buddenkotte J, Sunderkotter C, Metz D, Patricia AG, Harms E, Vestweber D, Luger TA, Steinhoff M. Proinflammatory role of proteinase-activated receptor-2 in humans and mice during cutaneous inflammation in vivo. *FASEB J.* 2003;17:1871 - 85.
  15. Egawa G, Kabashima K. Barrier dysfunction in the skin allergy. *Allergol Int.* 2018;67(1):3-11.
  16. Scharschmidt TC, Man MQ, Hatano Y, Crumrine D, Gunathilake R, Sundberg JP et al. Filaggrin deficiency confers a paracellular barrier abnormality that reduces inflammatory thresholds to irritants and haptens. *J Allergy Clin Immunol* 2009;124:496-506,e1-6.
  17. Hönzke S, Wallmeyer L, Ostrowski A, Radbruch M, Mundhenk L, Schäfer-Korting M, Hedtrich S. Influence of Th2 cytokines on the cornified envelope, tight junction proteins, and  $\beta$ -Defensins in filaggrin-deficient skin equivalents. *J Invest Dermatol.* 2016;136(3):631-9.
  18. Jung AR, Ahn SH, Park IS, Park SY, Jeong SI, Cheon JH, Kim K. Douchi (fermented *Glycine max* Merr.) alleviates atopic dermatitis-like skin lesions in NC/Nga mice by regulation of PKC and IL-4. *BMC Complement Altern Med.* 2016 ;16(1):416.
  19. Kim HJ, Jeong SK, Yum HY, Lee SH. Understanding of skin barrier and integrated treatment on atopic dermatitis. *Journal Skin Barrier Research.* 2010;12(1): 67-78.
  20. Demerjian M, Hachem JP, Tschachler E, Denecker G, Declercq W, Vandenabeele P, Mauro T, Hupe M, Crumrine D, Roelandt T, Houben E, Elias PM, Feingold KR. Acute modulations in permeability barrier function regulate epidermal cornification: role of caspase-14 and the protease-activated receptor type 2. *Am J Pathol.* 2008;172(1):86-97.
  21. Chen JQ, Liang BH, Li HP, Mo ZY, Zhu HL. Roles of kallikrein-related peptidase in epidermal barrier function and related skin diseases. *Int J Dermatol Venereol.* 2019;2(3):150-5.
  22. Soumelis V, Reche PA, Kanzler H, Yuan W, Edward G, Homey B, Gilliet M, Ho S, Antonenko S, Lauerma A, Smith K, Gorman D, Zurawski S, Abrams J, Menon S, McClanahan T, de Waal-Malefyt Rd R, Bazan F, Kastelein RA, Liu YJ. Human epithelial cells trigger dendritic cell mediated allergic inflammation by producing TSLP. *Nat Immunol.* 2002;3(7):673-80.
  23. Boguniewicz M. Atopic dermatitis: the updated practice parameter and beyond. *Allergy Asthma Proc.* 2014;35(6): 429-34.
  24. Wollenberg A, Frank R, Kroth J, Ruzicka T. Proactive therapy of atopic eczema-an evidence-based concept with a behavioral background. *J Dtsch Dermatol Ges.* 2009;7(2):117-21.