

# 별갑이 아토피 피부염에서의 알러지성 염증 반응에 미치는 영향

심태경<sup>1</sup> · 고대경<sup>2</sup> · 김현창<sup>2</sup> · 백연종<sup>2</sup> · 이재석<sup>2</sup> · 유화승<sup>1</sup> \*

## Effects of *Amyda sinensis* on Allergic Inflammation Mechanism related Atopy Dermatitis

Sim Tae-Kyung<sup>1</sup> · Ko Dae-Kyoung<sup>2</sup> · Kim Hyun-Chang<sup>2</sup> · Baek Yeon-Jong<sup>2</sup> · Lee Jae-Seok<sup>2</sup> · Yoo Hwa-Seung<sup>1</sup> \*

<sup>1</sup>East-West Cancer Center, Dunsan Oriental Hospital of Daejeon University

<sup>2</sup>East-West Comparing Oriental Medicine Society

Objectives: This study aimed to investigate the effects of *Amyda sinensis* (AS) on allergic inflammation mechanism related atopy dermatitis.

Methods: To investigate the effects of AS, We study inhibitory effect of AS on the levels of pro-inflammatory cytokines released from Raw264.7 cell stimulated with LPS (lipopolysaccharide), and EoL-1, THP-1, Jutkat cell stimulated with DP (Dermatophagoides pteronyssinus), and LPS induced acute inflammatory BALB/c mouse model.

Result: AS reduced the levels of IL-1 $\beta$  released from Raw264.7 cell stimulated with LPS at 20 ug/ml, 5 ug/ml concentration, and reduced the levels of IL-6 in a dose-dependent. AS significantly reduced the levels of MCP-1 released from EoL-1 cell stimulated with DP (Dermatophagoides pteronyssinus) at all the concentration, and significantly reduced the level of IL-8 at 0.1 ug/ml concentration. AS significantly reduced the levels of MCP-1 released from THP-1 cell stimulated with DP (Dermatophagoides pteronyssinus) at 1 ug/ml concentration, and reduced the level of IL-6 in a dose-dependent. AS significantly reduced the levels of IL-4 released from Jutkat cell stimulated with DP at all the concentration, and significantly reduced the level of IL-5 at 0.1 ug/ml, 1 ug/ml concentration, and reduced the level of TNF- $\alpha$  in a dose-dependent. AS significantly reduced the levels of TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$ , in LPS induced acute inflammatory BALB/c mouse model, in a dose-dependent.

Conclusion: These result suggested that AS has suppressive effect on pro-inflammatory cytokines in various cell lines through the regulation of immune system. AS could be applied on the medicinal sources for treatment of immune abnormal diseases such as atopy dermatitis afterward.

Key words : *Amyda sinensis*, anti-inflammation, cytokines, atopy dermatitis

## I. 서 론

아토피 피부염은 주로 영유아기에 시작하는

\* 교신저자 : 유화승, 대전광역시 서구 둔산동 1136번지  
둔산한방병원 동서암센터 E-mail: altyhs@dju.kr

투고일 : 2011년6월30일 수정일 : 2011년8월3일  
확정일:2011년8월17일

가려움을 동반하는 만성 재발성 습진 질환으로 임상양상이 매우 다양하며 특이한 검사소견이 없다. 아토피 피부염의 원인은 정확히 알려져 있지 않지만, 대기오염, 주거환경 변화로 인한 항원에 대한 노출의 증가, 모유 수유 감소, 소아기 감염 질환의 감소, 생활방식의 서구화 그리고 정신적 스트레스 등이 증가의 원인으로 추측된다<sup>1)</sup>.

면역학적 측면에서 보면 Th2 세포가 발현하는 IL-4, IL-5, IL-13 등의 다양한 사이토카인들이 Th1 세포의 증식 및 분화를 억제시킴으로써 Th1/Th2 세포들의 불균형이 초래되어 유발되는 것으로 보고되고 있다<sup>2,3)</sup>.

특히, 환자의 80 % 이상에서 혈청 IgE가 증가하는데, 주로 Th2 세포들이 발현하는 사이토카인들에 의해 IgE의 발현량이 증가하는 것으로 알려져 있다<sup>4)</sup>.

아토피피부염 치료의 목표는 건조한 피부에 대한 적절한 수분공급과 악화요인의 제거, 그리고 가려움증과 피부염을 감소시키는 것 등이다. 치료제로는 국소 steroid를 기본으로 국소 calcineurin inhibitor, 항히스타민제,  $\gamma$ -linolenic acid 등이 사용되고 있으며, 기타 자외선치료, cyclosporine, IFN- $\gamma$  (interferon gamma) 등도 사용되고 있다. 그러나 이러한 치료들은 중단 시 증상의 재발과 장기간 사용 시 부작용의 문제가 있다<sup>1)</sup>.

따라서 아토피 피부염의 치료에 있어 염증관련 사이토카인을 조절할 수 있으면서 부작용이 적은 천연물에 대한 관심이 높아지고 있는 추세이며, 최근의 아토피 피부염의 한방 치료 또한 이러한 추세에 맞추어 면역학적 측면에서 많은 연구가 이루어지고 있다<sup>5-9)</sup>.

이에 저자는 별갑 추출물(AS; *Amyda sinensis*)이 아토피 피부염에서의 알러지성 염증 반응 관련 사이토카인 조절능에 대하여 알아보고자 in vitro에서 LPS (lipopolysaccharide) 처리한 Raw264.7 세포주와 집먼지진드기(Dp; *Dermatophagoides pteronyssinus*)의 미세분말액을 처리한 EoL-1, THP-1, Jurket 세포에서의 사이토카인 생성량과, in vivo에서 LPS로 유도된

염증 생쥐모델에서의 사이토카인을 측정, 관찰하여 유의성 있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

## II. 재료 및 실험방법

### 1. 시료

시판되는 별갑(AS)을 구입하여 분쇄한 분말 50 g을 80 % 에탄올 500 ml에 넣고 냉각 콘덴서가 달린 환류 추출기에서 5 시간 동안 추출한다음, 100 메쉬 여과포로 여과하여 별갑 추출물을 얻었다. 상기 별갑 추출물은 상온에서 화트만(whatman) 여과지로 여과하여 불용성 물질을 제거하였다.

### 2. 동물

실험동물은 대한실험동물센터에서 구입한 BALB/c계 생쥐를 각 군당 6마리로 1주일 동안 실험실 환경에 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 동물 사육실의 조건은 conventional system으로 22 ± 2 °C, 1일 중 12시간은 200-300 Lux로 조명하고, 12 시간은 모든 빛을 차단하였다. 사료는 고형사료(조단백질 22.1 % 이상, 조지방 8.0 % 이하, 조섬유 5.0 % 이하, 조회분 8.0 % 이하, 칼슘 0.6 % 이상, 인 0.4 % 이상, 삼양사, 항생제 무첨가)와 물을 충분히 공급하였다.

### 3. 시약 및 기기

본 실험에 사용된 시약중 LPS는 Sigma (Sigma Co., USA) 제품을, normal saline은 중외제약 제품을, Dp는 연세대학교에서, IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ , ELISA kit는 BD사 (USA) 제품을 사용하였으며, 기타 시약은 특급 시약을 사용하였다. 본 실험에 사용된 기기는 Centrifuge (Beckman Co., USA), roller Mixer (Gowon scientific technology Co., Korea), vortex mixer (Vision scientific Co., Korea), ELISA reader (Molecular Devices, Co., USA) 등을 사용하였다.

4. 실험방법

1) in vitro 실험

① Raw264.7 세포주에서의 사이토카인 생성량 측정

Raw264.7 세포를  $1 \times 10^6$  cells/ml의 농도로 24well plate에 분주하고 세포에 over night 한 다음 LPS (1 ug/ml) 처리 한 시간 후 별갑 추출물을 농도별로 처리하고 24시간 배양한 후 상청액을 취하여 ELISA법을 이용하여 사이토카인을 측정하였다.

② EoL-1, THP-1, Jurket 세포에서의 사이토카인 생성량 측정

EoL-1 세포를  $1 \times 10^6$  cells/ml의 농도로 분주하고 집먼지진드기(Dp)  $1 \mu\text{g/ml}$ 을 처리하여 6시간 후 별갑 추출물을 농도별로 처리하고 24시간 배양한 후에 상청액을 취하여 ELISA법을 이용하여 사이토카인을 측정하였다. THP-1, Jurket 세포를 각각  $1 \times 10^6$  cells/ml의 농도로 분주하고 집먼지진드기(Dp)  $1 \mu\text{g/ml}$ 을 처리하여 6시간 후 별갑 추출물을 농도별로 처리하고 16시간 배양한 후에 상청액을 취하여 ELISA법을 이용하여 사이토카인을 측정하였다.

2) in vivo 실험

① LPS로 유도된 염증 생쥐 모델 및 사이토카인 측정

정상군은 마리당 saline 200 ul를 경구투여하고, 별갑 추출물 투여군은 생쥐 마리당 200 mg/kg, 100 mg/kg을 oral zonde를 이용하여 하루에 1회씩 7일간 경구 투여하였다. 7일 후 LPS 1 mg/kg을 복강에 주사한 후 90분 후에 ethyl ether로 마취하고 심장 천자법으로 채혈하였다. 채혈 후 혈청을 분리하여 IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  생성량을 ELISA법으로 측정하였다. 각 well에 생쥐의 혈청 100  $\mu\text{l}$  (1/100 dilution) 씩 분주한 후 antibody-biotine conjugated 100  $\mu\text{l}$ 를 처리하고 2시간 실온에서 방치한 후 2회 washing 완충 용액으로 세척한 다음 antibody avidin-HRP conjugated 100  $\mu\text{l}$ 를 처리하고 2시간 실온에서 방치한 후 다시 세척하였다. 여기에 TMB 기질을 100  $\mu\text{l}$ 씩 분주하고 암소에서 30분간 방치한 후

100  $\mu\text{l}$ 의 stop 용액을 처리한 후 ELISA reader 로 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

5. 통계처리

다양한 실험으로부터 얻은 결과는 mean  $\pm$  standard error로 기록하였고, 유의성 검증은 Student's t-test 분석 방법을 이용하여 결정하였다.

III. 결 과

1. in vitro

1) Raw264.7 세포에서 사이토카인 생성량에 미치는 영향

① GM-CSF에 미치는 영향

Raw264.7 세포주에서 LPS에 의해 유도된 GM-CSF의 생성량은 미처리군(media)에서  $11.765 \pm 0.969$  pg/ml, 대조군(LPS)에서  $5715.727 \pm 546.714$  pg/ml, 별갑 추출물 20 ug/ml 농도 처리군에서  $5860.277 \pm 727.616$  pg/ml, 10 ug/ml 농도 처리군에서  $5640.15 \pm 570.392$  pg/ml, 5 ug/ml 농도 처리군에서  $5757.77 \pm 199.104$  pg/ml로 나타나, 대조군은 정상군에 비해 유의성 있게 ( $p < 0.001$ ) 증가하였으나, 별갑 추출물 투여군에서 GM-CSF의 생성량은 대조군과 큰 차이를 보이지 못했다(Fig. 1).

② IL-1 $\beta$ 에 미치는 영향

Raw264.7 세포주에서 LPS에 의해 유도된 IL-1 $\beta$ 의 생성량은 미처리군(media)에서  $2.533 \pm 0.777$  pg/ml, 대조군(LPS)에서  $47.155 \pm 0.544$  pg/ml, 별갑 추출물 20 ug/ml 농도 처리군에서  $30.11 \pm 8.093$  pg/ml, 10 ug/ml 농도 처리군에서  $38.435 \pm 7.106$  pg/ml, 5 ug/ml 농도 처리군에서  $29.54 \pm 8.781$  pg/ml로 나타나 대조군은 정상군에 비해 유의성 있게 ( $p < 0.001$ ) 증가하였고, 별갑 추출물 투여군에서는 20 ug/ml, 5 ug/ml 농도에서 대조군에 비해 유의성 있게 ( $p < 0.05$ ) 감소하였다(Fig. 2).

③ IL-6에 미치는 영향

Raw264.7 세포주에서 LPS에 의해 유도된

IL-6의 생성량은 미처리군(media)에서  $9.493 \pm 3.588$  pg/ml, 대조군(LPS)에서  $16137.04 \pm 1937.244$  pg/ml, 별갑 추출물 20 ug/ml 농도 처리군에서  $11402.62 \pm 1650.961$  pg/ml, 10 ug/ml 농도 처리군에서  $13790.31 \pm 1588.186$  pg/ml, 5 ug/ml 농도 처리군에서  $16120.43 \pm 2351.512$  pg/ml로 나타나 대조군은 정상군에 비해 유의성 있게( $p < 0.001$ ) 증가하였고, 별갑 추출물 투여군에서는 대조군에 비하여 농도 의존적으로 감소하였으나 10 ug/ml, 5 ug/ml 농도에서의 감소량은 통계적으로 유의하지 않았으며, 20 ug/ml 농도에서만 통계적으로 유의하게( $p < 0.05$ ) 감소하였다(Fig. 3).

2) EoL-1 세포에서 사이토카인 생성량에 미치는 영향

#### ① MCP-1에 미치는 영향

EoL-1 세포주에서 집먼지진드기에 의해 유도된 MCP-1의 생성량은 미처리군(media)에서  $39 \pm 6.406$  pg/ml, 대조군(Dp)에서  $96 \pm 2.365$  pg/ml, 양성대조군(Dexa)  $45 \pm 3.355$  pg/ml, 별갑 추출물 0.1 ug/ml 농도 처리군에서  $45 \pm 4.741$  pg/ml, 1 ug/ml 농도 처리군에서  $44 \pm 9.815$  pg/ml, 10 ug/ml 농도 처리군에서  $34 \pm 5.239$  pg/ml로 나타나 대조군은 정상군에 비해 유의성 있게( $p < 0.001$ ) 증가하였고, 양성 대조군에서 유의성 있게( $p < 0.001$ ) 감소하였으며, 별갑 추출물 투여군에서도 대조군에 비하여 모든 농도에서 유의성 있게( $p < 0.001$ ) 감소하였다(Fig. 4).

#### ② IL-6에 미치는 영향

EoL-1 세포주에서 집먼지진드기에 의해 유도된 IL-6의 생성량은 미처리군(media)에서  $94 \pm 4.243$  pg/ml, 대조군(Dp)에서  $162.5 \pm 10.607$  pg/ml, 양성대조군(Dexa)  $59.5 \pm 9.192$  pg/ml, 별갑 추출물 0.1 ug/ml 농도 처리군에서  $132 \pm 52.326$  pg/ml, 1 ug/ml 농도 처리군에서  $101 \pm 9.899$  pg/ml, 10 ug/ml 농도 처리군에서  $157 \pm 49.497$  pg/ml로 나타나 대조군은 정상군에 비해 유의성 있게( $p < 0.001$ ) 증가하였고, 양성 대조군에서 유의성 있게( $p < 0.001$ ) 감소하였다. 별갑

추출물 투여군에서는 대조군에 비하여 감소하기는 하였으나, 통계적으로 유의하지 않았다(Fig. 5).

#### ③ IL-8에 미치는 영향

EoL-1 세포주에서 집먼지진드기에 의해 유도된 IL-8의 생성량은 미처리군(media)에서  $115 \pm 0.943$  pg/ml, 대조군(Dp)에서  $231 \pm 0.825$  pg/ml, 양성대조군(Dexa)  $159 \pm 0.00$  pg/ml, 별갑 추출물 0.1 ug/ml 농도 처리군에서  $175 \pm 5.421$  pg/ml, 1 ug/ml 농도 처리군에서  $223 \pm 24.631$  pg/ml, 10 ug/ml 농도 처리군에서  $219 \pm 10.724$  pg/ml로 나타나 대조군은 정상군에 비해 유의성 있게( $p < 0.001$ ) 증가하였고, 양성 대조군에서 유의성 있게( $p < 0.01$ ) 감소하였으며, 별갑 추출물 투여군에서는 0.1 ug/ml 농도에서 대조군에 비하여 유의성 있게( $p < 0.05$ ) 감소하였다(Fig. 6).

3) THP-1 세포에서 사이토카인 생성량에 미치는 영향

#### ① MCP-1에 미치는 영향

THP-1 세포주에서 집먼지진드기에 의해 유도된 MCP-1의 생성량은 미처리군(media)에서  $93 \pm 2.776$  pg/ml, 대조군(Dp)에서  $140 \pm 4.221$  pg/ml, 양성대조군(Dexa)  $78 \pm 7.618$  pg/ml, 별갑 추출물 0.1 ug/ml 농도 처리군에서  $125 \pm 9.179$  pg/ml, 1 ug/ml 농도 처리군에서  $61 \pm 7.167$  pg/ml, 10 ug/ml 농도 처리군에서  $118 \pm 5.501$  pg/ml로 나타나 대조군은 정상군에 비해 유의성 있게( $p < 0.001$ ) 증가하였고, 양성 대조군에서 유의성 있게( $p < 0.001$ ) 감소하였으며, 별갑 추출물 투여군에서는 1 ug/ml 농도에서 대조군에 비하여 유의성 있게( $p < 0.001$ ) 감소하였다(Fig. 7).

#### ② IL-6에 미치는 영향

THP-1 세포주에서 집먼지진드기에 의해 유도된 IL-6의 생성량은 미처리군(media)에서  $87.333 \pm 1.528$  pg/ml, 대조군(Dp)에서  $168 \pm 1.732$  pg/ml, 양성대조군(Dexa)  $92.333 \pm 2.517$  pg/ml, 별갑 추출물 0.1 ug/ml 농도 처리

군에서  $171.5 \pm 10.607$  pg/ml, 1 ug/ml 농도 처리군에서  $110.333 \pm 8.386$  pg/ml, 10 ug/ml 농도 처리군에서  $83.5 \pm 7.778$  pg/ml로 나타나 대조군은 정상군에 비해 유의성 있게 ( $p < 0.001$ ) 증가하였고, 양성 대조군에서 유의성 있게 ( $p < 0.001$ ) 감소하였으며, 별갑 추출물 투여군에서는 대조군에 비하여 농도 의존적으로 감소하였으며 1 ug/ml, 10 ug/ml 농도에서 유의성 있게 ( $p < 0.001$ ) 감소하였다(Fig. 8).

③ IL-8에 미치는 영향

THP-1 세포주에서 집먼지진드기에 의해 유도된 IL-8의 생성량은 미처리군(media)에서  $246 \pm 3.768$  pg/ml, 대조군(Dp)에서  $486 \pm 7.362$  pg/ml, 양성대조군(Dexa)  $374 \pm 14.607$  pg/ml, 별갑 추출물 0.1 ug/ml 농도 처리군에서  $518 \pm 34.389$  pg/ml, 1 ug/ml 농도 처리군에서  $492 \pm 8.302$  pg/ml, 10 ug/ml 농도 처리군에서  $455 \pm 5.202$  pg/ml로 나타나 대조군은 정상군에 비해 유의성 있게 ( $p < 0.001$ ) 증가하였고, 양성 대조군에서 유의성 있게 ( $p < 0.01$ ) 감소하였으나, 별갑 추출물 투여군에서 IL-8의 생성량은 대조군과 큰 차이를 보이지 못했다(Fig. 9).

4) Jurkat 세포에서 사이토카인 생성량에 미치는 영향

① IL-4에 미치는 영향

Jurkat 세포주에서 집먼지진드기에 의해 유도된 IL-4의 생성량은 미처리군(media)에서  $97 \pm 2.835$  pg/ml, 대조군(Dp)에서  $347 \pm 15.983$  pg/ml, 양성대조군(Dexa)  $65 \pm 13.503$  pg/ml, 별갑추출물 0.1ug/ml 농도 처리군에서  $32 \pm 29.300$  pg/ml, 1 ug/ml 농도 처리군에서  $71 \pm 13.504$  pg/ml, 10 ug/ml 농도 처리군에서  $37 \pm 2.887$  pg/ml로 나타나 대조군은 정상군에 비해 유의성 있게 ( $p < 0.001$ ) 증가하였고, 양성 대조군에서 유의성 있게 ( $p < 0.001$ ) 감소하였으며, 별갑 추출물 투여군에서도 대조군에 비하여 모든 농도에서 유의성 있게 ( $p < 0.001$ ) 감소하였다(Fig. 10).

② IL-5에 미치는 영향

Jurkat 세포주에서 집먼지진드기에 의해 유도된 IL-5의 생성량은 미처리군(media)에서  $13 \pm 0.289$  pg/ml, 대조군(Dp)에서  $33 \pm 0.577$  pg/ml, 양성대조군(Dexa)  $9 \pm 1.155$  pg/ml, 별갑 추출물 0.1 ug/ml 농도 처리군에서  $15 \pm 0.707$  pg/ml, 1 ug/ml 농도 처리군에서  $20 \pm 9.148$  pg/ml, 10 ug/ml 농도 처리군에서  $26 \pm 1.876$  pg/ml로 나타나 대조군은 정상군에 비해 유의성 있게 ( $p < 0.001$ ) 증가하였고, 양성 대조군에서 유의성 있게 ( $p < 0.001$ ) 감소하였으며, 별갑 추출물 투여군에서는 0.1 ug/ml, 1 ug/ml 농도에서 대조군에 비하여 각각 유의성 있게 ( $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$ ) 감소하였다(Fig. 11).

③ TNF- $\alpha$ 에 미치는 영향

Jurkat 세포주에서 집먼지진드기에 의해 유도된 TNF- $\alpha$ 의 생성량은 미처리군(media)에서  $5 \pm 2.950$  pg/ml, 대조군(Dp)에서  $21 \pm 1.902$  pg/ml, 양성대조군(Dexa)  $8 \pm 0.082$  pg/ml, 별갑 추출물 0.1 ug/ml 농도 처리군에서  $19 \pm 6.162$  pg/ml, 1 ug/ml 농도 처리군에서  $12 \pm 0.505$  pg/ml, 10 ug/ml 농도 처리군에서  $8 \pm 0.707$  pg/ml로 나타나 대조군은 정상군에 비해 유의성 있게 ( $p < 0.001$ ) 증가하였고, 양성 대조군에서 유의성 있게 ( $p < 0.001$ ) 감소하였으며, 별갑 추출물 투여군에서는 대조군에 비하여 농도 의존적으로 감소하였으며 1 ug/ml, 10 ug/ml 농도에서 유의성 있게 ( $p < 0.001$ ) 감소하였다(Fig. 12).

2. In vivo

1) TNF - $\alpha$

BALB/c 생쥐에 7일간 별갑 추출물을 투여한 후 LPS로 유도된 급성 염증모델에서 혈청을 분리하여 TNF- $\alpha$ 를 측정된 결과 정상군은  $603.2 \pm 11.5$  pg/ml, 대조군이  $1786.6 \pm 136.5$  pg/ml, 별갑 추출물 100 mg/kg 투여군은  $1166.0 \pm 146.9$  pg/ml, 200 mg/kg 투여군은  $762.0 \pm 105.2$  pg/ml로 나타나 대조군은 정상군에 비해 유의성 있게 ( $p < 0.001$ ) 증가하였고 별갑 추출물 투여군에서는 대조군에 비하여 농도 의존적으로 유의성 있게 ( $p < 0.001$ ) 감소하였다

(Fig. 13).

2) IL-6

BALB/c 생쥐에 7일간 별갑 추출물을 투여한 후 LPS로 유도된 급성 염증모델에서 혈청을 분리하여 IL-6를 측정된 결과 정상군은 781.2 ± 39.7 pg/ml, 대조군이 3624.8 ± 165.4 pg/ml, 별갑 추출물 100 mg/kg 투여군은 2504.2 ± 212.0 pg/ml, 200 mg/kg 투여군은 1721.0 ± 396.5 pg/ml로 나타나 대조군은 정상군에 비해 유의성 있게 (p<0.001) 증가하였고 별갑 추출물 투여군에서는 대조군에 비하여 농도 의존적으로 유의성 있게 (p<0.001) 감소하였다(Fig. 14).

3) IL-1β

BALB/c 생쥐에 7일간 별갑 추출물을 투여한 후 LPS로 유도된 급성 염증모델에서 혈청을 분리하여 IL-1β를 측정된 결과 정상군은 36.2 ± 6.1 pg/ml, 대조군이 99.2 ± 10.4 pg/ml, 별갑 추출물 100 mg/kg 투여군은 69.0 ± 13.1 pg/ml, 200 mg/kg 투여군은 56.8 ± 6.0 pg/ml로 나타나 대조군은 정상군에 비해 유의성 있게 (p<0.001) 증가하였고 별갑 추출물 투여군에서는 대조군에 비하여 농도 의존적으로 유의성 있게 (p<0.01, p<0.001) 감소하였다(Fig. 15).

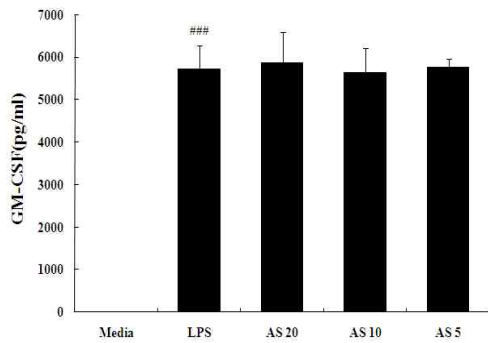


Fig. 1. Effects of AS on the levels of GM-CSF in the culture sup. of LPS-induced Raw264.7 cells.

: AS did not affected levels of GM-CSF released from Raw264.7 cell stimulated with LPS.

Media : Raw264.7 cell, LPS : Raw264.7 cell + LPS (1 ug/ml), AS 20 : Raw264.7 cell + AS (20 ug/ml), AS 10 : Raw264.7 cell + AS (10 ug/ml), AS 5 : Raw264.7 cell + AS (5 ug/ml). The results are the mean ± S.D. Statistically significant value compared with normal by t-test (###p<0.001).

AS: *Amyda sinensis*

LPS: lipopolysaccharide

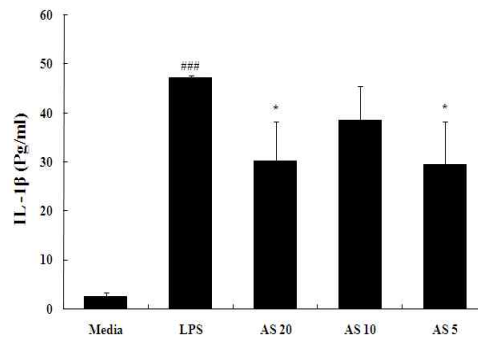


Fig. 2. Effects of AS on the levels of IL-1β in the culture sup. of LPS-induced Raw264.7 cells.

: AS reduced the levels of IL-1β released from Raw264.7 cell stimulated with LPS at 20 ug/ml, 5 ug/ml concentration.

Media : Raw264.7 cell, LPS : Raw264.7 cell + LPS (1 ug/ml), AS 20 : Raw264.7 cell + AS (20 ug/ml), AS 10 : Raw264.7 cell + AS (10 ug/ml), AS 5 : Raw264.7 cell + AS (5 ug/ml). The results are the mean ± S.D. Statistically significant value compared with normal by t-test (###p<0.001). Statistically significant value compared with control by t-test (\*p<0.05).

AS: *Amyda sinensis*

LPS: lipopolysaccharide

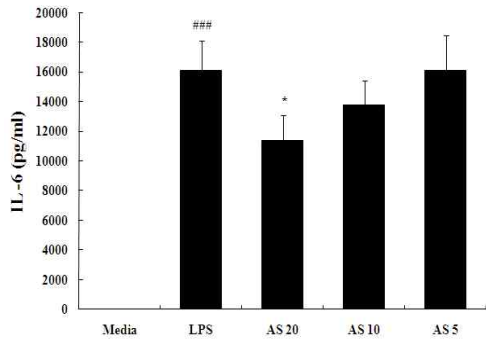


Fig. 3. Effects of AS on the levels of IL-6 in the culture sup. of LPS-induced Raw264.7 cells.

: AS reduced the levels of IL-6 released from Raw264.7 cell stimulated with LPS in a dose-dependent, and significantly reduced at 20 ug/ml concentration.

Media : Raw264.7 cell, LPS : Raw264.7 cell + LPS (1 ug/ml), AS 20 : Raw264.7 cell + AS (20 ug/ml), AS 10 : Raw264.7 cell + AS (10 ug/ml), AS 5 : Raw264.7 cell + AS (5 ug/ml). The results are the mean ± S.D. Statistically significant value compared with normal by t-test (###p<0.001). Statistically significant value compared with control by t-test (\*p<0.05).

AS: *Amyda sinensis*

LPS: lipopolysaccharide

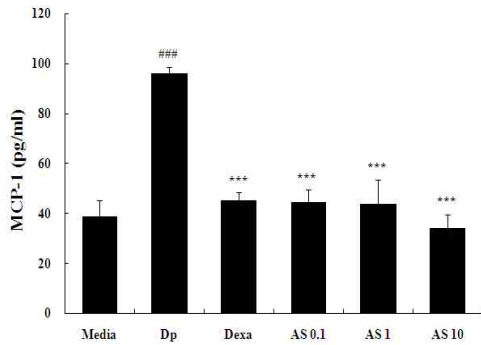


Fig. 4. Effects of AS on the levels of MCP-1 in the culture sup. of Dp

crude-induced EoL-1 cells.

: AS significantly reduced the levels of MCP-1 released from EoL-1 cell stimulated with DP at all the concentration,

Media : EoL-1 cell, Dp : EoL-1 cell + Dp (10 ug/ml), Dexa : EoL-1 cell + Dexamethasone (1 ug/ml), AS 0.1 : EoL-1 cell + AS (0.1 ug/ml), AS 1 : EoL-1 cell + AS (1 ug/ml), AS 10 : EoL-1 cell + AS (10 ug/ml). The results are the mean ± S.D. Statistically significant value compared with normal by t-test (###p<0.001). Statistically significant value compared with control by t-test (\*\*\*p<0.001).

AS: *Amyda sinensis*

DP: *Dermatophagoides pteronyssinus*

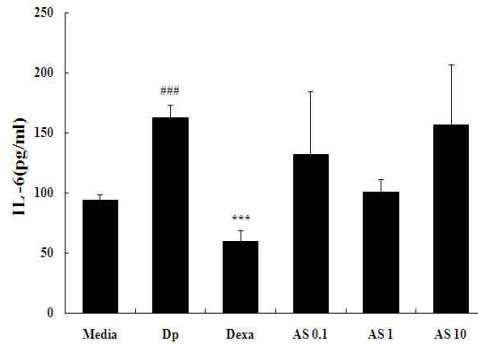


Fig. 5. Effects of AS on the levels of IL-6 in the culture sup. of Dp crude-induced EoL-1 cells.

: AS reduced the level of IL-6 released from EoL-1 cell stimulated with DP, but results are not significant.

Media : EoL-1 cell, Dp : EoL-1 cell + Dp (10 ug/ml), Dexa : EoL-1 cell + Dexamethasone (1 ug/ml), AS 0.1 : EoL-1 cell + AS (0.1 ug/ml), AS 1 : EoL-1 cell + AS (1 ug/ml), AS 10 : EoL-1 cell + AS (10 ug/ml). The results are the mean ± S.D. Statistically significant value compared with

normal by t-test (###p<0.001). Statistically significant value compared with control by t-test (\*\*\*p<0.001).

AS: Amyda sinensis

DP: Dermatophagoides pteronyssinus

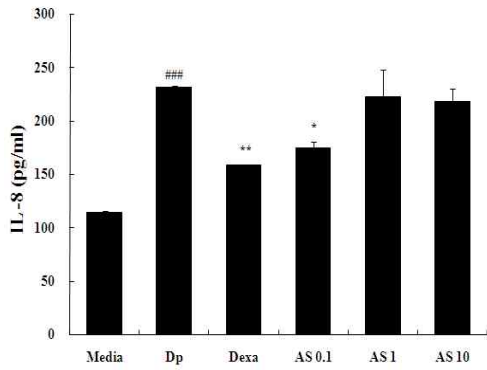


Fig. 6. Effects of AS on the levels of IL-8 in the culture sup. of Dp crude-induced EoL-1 cells.

: AS significantly reduced the level of IL-8 released from EoL-1 cell stimulated with DP at 0.1 ug/ml concentration.

Media : EoL-1 cell, Dp : EoL-1 cell + Dp (10 ug/ml), Dexa : EoL-1 cell + Dexamethasone (1 ug/ml), AS 0.1 : EoL-1 cell + AS (0.1 ug/ml), AS 1 : EoL-1 cell + AS (1 ug/ml), AS 10 : EoL-1 cell + AS (10 ug/ml). The results are the mean ± S.D Statistically significant value compared with normal by t-test (###p<0.001). Statistically significant value compared with control by t-test (\*p<0.05, \*\*p<0.01).

AS: Amyda sinensis

DP: Dermatophagoides pteronyssinus

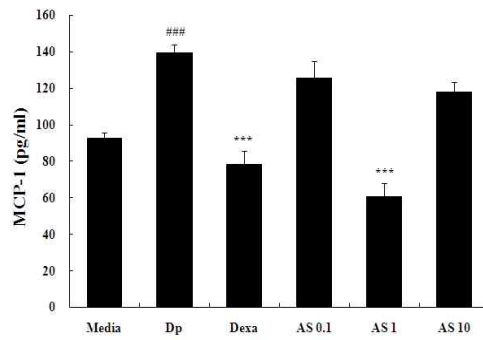


Fig. 7. Effects of AS on the levels of MCP-1 in the culture sup. of Dp crude-induced THP-1 cells.

: AS significantly reduced the levels of MCP-1 released from THP-1 cell stimulated with DP at 1 ug/ml concentration.

Media : THP-1 cell, Dp : THP-1 cell + Dp (10 ug/ml), Dexa : THP-1 cell + Dexamethasone (1 ug/ml), AS 0.1 : THP-1 cell + AS (0.1 ug/ml), AS 1 : THP-1 cell + AS (1 ug/ml), AS 10 : THP-1 cell + AS (10 ug/ml). The results are the mean ± S.D Statistically significant value compared with normal by t-test (###p<0.001). Statistically significant value compared with control by t-test (\*\*\*p<0.001).

AS: Amyda sinensis

DP: Dermatophagoides pteronyssinus

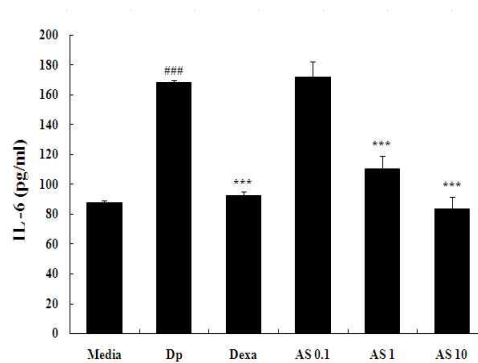


Fig. 8. Effects of AS on the levels of IL-6 in the culture sup. of Dp crude-induced



THP-1 cells.

: AS significantly reduced the level of IL-6 released from THP-1 cell stimulated with DP in a dose-dependent.

Media : THP-1 cell, Dp : THP-1 cell + Dp (10 ug/ml), Dexa : THP-1 cell + Dexamethasone (1 ug/ml), AS 0.1 : THP-1 cell + AS (0.1 ug/ml), AS 1 : THP-1 cell + AS (1 ug/ml), AS 10 : THP-1 cell + AS (10 ug/ml). The results are the mean ± S.D. Statistically significant value compared with normal by t-test (###p<0.001). Statistically significant value compared with control by t-test (\*\*\*p<0.001).

AS: Amyda sinensis

DP: Dermatophagoides pteronyssinus

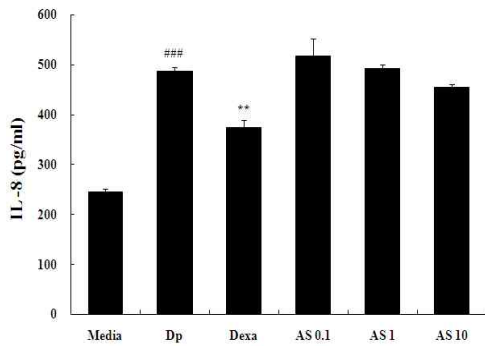


Fig. 9. Effects of AS on the levels of IL-8 in the culture sup. of Dp crude-induced THP-1 cells.

: AS did not affected levels of IL-8 released from THP-1 cell stimulated with DP.

Media : THP-1 cell, Dp : THP-1 cell + Dp (10 ug/ml), Dexa : THP-1 cell + Dexamethasone (1 ug/ml), AS 0.1 : THP-1 cell + AS (0.1 ug/ml), AS 1 : THP-1 cell + AS (1 ug/ml), AS 10 : THP-1 cell + AS (10 ug/ml). The results are the mean ± S.D. Statistically significant value compared with

normal by t-test (###p<0.001). Statistically significant value compared with control by t-test (\*\*p<0.01).

AS: Amyda sinensis

DP: Dermatophagoides pteronyssinus

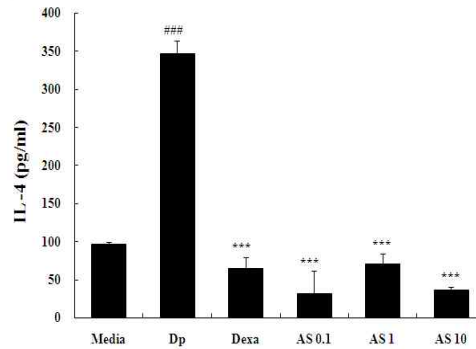


Fig. 10. Effects of AS on the levels of IL-4 in the culture sup. of Dp crude-induced Jurkat cells.

: AS significantly reduced the levels of IL-4 released from Jurkat cell stimulated with DP at all the concentration.

Media : Jurkat cell, Dp : Jurkat cell + Dp (10 ug/ml), Dexa : Jurkat cell + Dexamethasone (1 ug/ml), AS 0.1 : Jurkat cell + AS (0.1 ug/ml), AS 1 : Jurkat cell + AS (1 ug/ml), AS 10 : Jurkat cell + AS (10 ug/ml). The results are the mean ± S.D. Statistically significant value compared with normal by t-test (###p<0.001). Statistically significant value compared with control by t-test (\*\*\*p<0.001).

AS: Amyda sinensis

DP: Dermatophagoides pteronyssinus

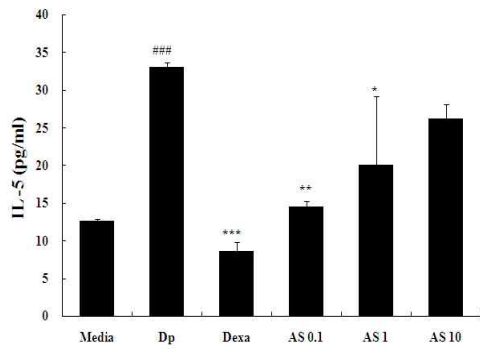


Fig. 11. Effects of AS on the levels of IL-5 in the culture sup. of Dp crude-induced Jurkat cells.

: AS reduced the level of IL-5 released from Jurkat cell stimulated with DP at all the concentration, and significantly reduced at 0.1 ug/ml. 1 ug/ml concentration.

Media : Jurkat cell, Dp : Jurkat cell + Dp (10 ug/ml), Dexa : Jurkat cell + Dexamethasone (1 ug/ml), AS 0.1 : Jurkat cell + AS (0.1 ug/ml), AS 1 : Jurkat cell + AS (1 ug/ml), AS 10 : Jurkat cell + AS (10 ug/ml). The results are the mean ± S.D Statistically significant value compared with normal by t-test (###p<0.001). Statistically significant value compared with control by t-test (\*p<0.05, \*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001).

AS: Amyda sinensis

DP: Dermatophagoides pteronyssinus

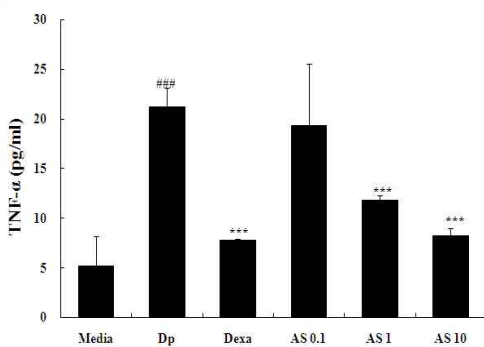


Fig. 12. Effects of AS on the levels of

TNF-α in the culture sup. of Dp crude-induced Jurkat cells.

: AS reduced the level of TNF-α released from Jurkat cell stimulated with DP in a dose-dependent, and significantly reduced at 1 ug/ml. 10 ug/ml concentration.

Media : Jurkat cell, Dp : Jurkat cell + Dp (10 ug/ml), Dexa : Jurkat cell + Dexamethasone (1 ug/ml), AS 0.1 : Jurkat cell + AS (0.1 ug/ml), AS 1 : Jurkat cell + AS (1 ug/ml), AS 10 : Jurkat cell + AS (10 ug/ml). The results are the mean ± S.D Statistically significant value compared with normal by t-test (###p<0.001). Statistically significant value compared with control by t-test (\*\*\*p<0.001).

AS: Amyda sinensis

DP: Dermatophagoides pteronyssinus

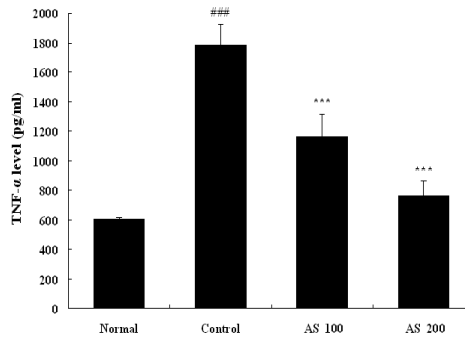


Fig. 13. The effect of AS on TNF-α production in serum following LPS co-treatment.

: AS significantly reduced the levels of TNF-α in LPS induced acute inflammatory BALB/c mouse model, in a dose-dependent.

Female mice were co-treatment with AS (200, 100 mg/kg/every day/a week) and LPS (1 mg/kg). Total TNF-α levels were measured by a sandwich ELISA using an ELISA kit.(n=6) Normal : BALB/c + saline

(200 ul/mouse), Control : BALB/c + LPS (1 mg/kg), AS 100 : BALB/c + LPS (1 mg/kg) + AS (100 ul/kg), AS 200 : BALB/c + LPS (1 mg/kg) + AS (200 ul/kg) Statistically significant value compared with normal by t-test (###p<0.001). Statistically significant value compared with control by t-test (\*\*\*p<0.001).

AS: Amyda sinensis  
LPS: lipopolysaccharide

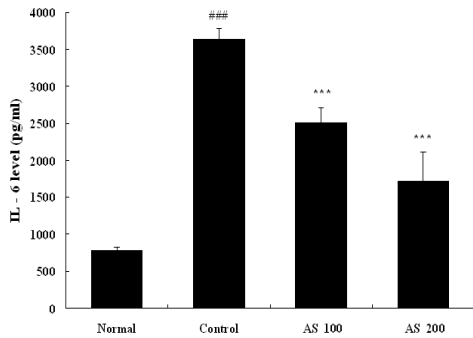


Fig. 14. The effect of AS on IL-6 production in serum following LPS co-treatment.

: AS significantly reduced the levels of IL-6 in LPS induced acute inflammatory BALB/c mouse model, in a dose-dependent.

Female mice were co-treatment with AS (200, 100 ul/kg/every day/a week) and LPS (1 mg/kg). Total IL-6 levels were measured by a sandwich ELISA using an ELISA kit.(n=6) Normal : BALB/c + saline (200 ul/mouse), Control : BALB/c + LPS (1 mg/kg), AS 100 : BALB/c + LPS (1 mg/kg) + AS (100 ul/kg), AS 200 : BALB/c + LPS (1 mg/kg) + AS (200 ul/kg). Statistically significant value compared with normal by t-test (###p<0.001). Statistically significant value compared with control by t-test (\*\*\*p<0.001).

AS: Amyda sinensis  
LPS: lipopolysaccharide

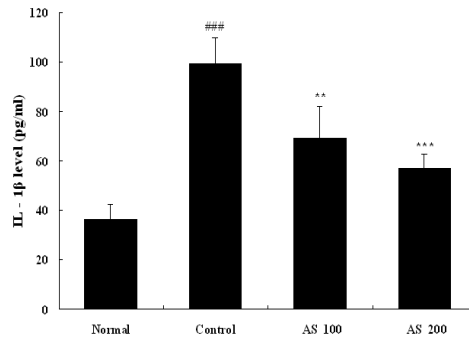


Fig. 15. The effect of AS on IL-1β production in serum following LPS co-treatment.

: AS significantly reduced the levels of IL-1β in LPS induced acute inflammatory BALB/c mouse model, in a dose-dependent.

Female mice were co-treatment with AS (200, 100 ul/kg/every day/a week) and LPS (1 mg/kg). Total IL-1β levels were measured by a sandwich ELISA using an ELISA kit.(n=6) Normal : BALB/c + saline (200 ul/mouse), Control : BALB/c + LPS (1 mg/kg), AS 100 : BALB/c + LPS (1 mg/kg) + AS (100 ul/kg), AS 200 : BALB/c + LPS (1 mg/kg) + AS (200 ul/kg). Statistically significant value compared with normal by t-test (###p<0.001). Statistically significant value compared with control by t-test (\*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001).

AS: Amyda sinensis  
LPS: lipopolysaccharide

#### IV. 고찰

아토피 피부염은 주로 영유아기에 시작하는 가려움을 동반하는 만성 재발성 습진 질환으로 그 원인은 정확히 알려져 있지 않으나 유전적, 환경적, 면역학적 요인이 복잡하게 연관되어 발병

하는 것으로 추정되며, 매우 다양한 임상양상을 보인다<sup>1)</sup>.

아토피 피부염의 병인과 병리에 대한 최근 연구는 여러 방면의 면역학적인 부분과 이와 관련된 염증성 경로 및 활성화에 집중되어 있는데, 아토피 피부염의 피부 주위는 다양한 염증성 사이토카인(IL-1, -2, -3, -4, -5, -6, -11, -13, TNF- $\alpha$ , GM-CSF)과 케모카인들(IL-8, RANTES, MIP-1 $\alpha$  (macrophage inflammatory protein-1 $\alpha$ ), MCP-1 (monocyte chemotactic protein-1), MCP-3, MCP-4, eotaxin) 등이 증가되어 있으며, 이러한 사이토카인과 케모카인의 복합적인 상호작용으로 인하여 아토피 피부염이 발병하는 것으로 알려져 있다<sup>10-12)</sup>.

한의학적으로 아토피 피부염은 乳癬, 奶癬, 胎癬, 胎斂瘡, 濕疹, 濕瘡 등에 해당되며, 風熱, 血虛生風, 脾胃氣虛, 濕熱, 肝腎陰虛, 熱毒 등이 주요 병인이 된다. 이에 대한 치료법으로는 변증시치를 기본으로 清熱解毒, 健脾化濕, 養血潤膚, 祛風止痒, 活血化瘀 등 다양한 치법이 활용되고 있으며, 주로 濕熱證이 나타나는 초기에는 攻法이, 후기에는 攻邪兼法이 다용된다<sup>13-18)</sup>.

鱉甲은 자라과(Trionychidae)에 속한 동물인 자라(Trionyx sinensis WIEGMANN=Amyda sinensis WIEGMANN)의 背甲을 취하여 殘肉을 제거하고 晒乾한 것으로 性은 微寒 無毒하고 味는 鹹하다. 別값은 滋陰潛陽, 軟堅散結하는 효능이 있어 陰虛發熱, 骨蒸勞熱, 虛風內動, 癥瘕, 經閉, 久癰瘡母를 치료하는데<sup>19)</sup>, 滋陰하는 효능에 초점을 맞추어 아토피성 피부질환에도 응용할 수 있을 것으로 보여진다.

이에 저자는 別값 추출물의 아토피 피부염에서의 알러지성 염증 반응 관련 사이토카인 조절능 및 그 기전에 대하여 알아보고자 in vitro에서 LPS (lipopolysaccharide) 처리한 Raw 264.7 세포주와, 집먼지진드기의 미세분말액을 처리한 EoL-1, THP-1, Jurkat 세포에서의 사이토카인 생성량과, in vivo에서 LPS로 유도된 염증 생쥐 모델에서의 사이토카인을 측정, 관찰하였다.

먼저, Raw264.7 cell은 대식세포주로서 IL-1

또는 INF- $\gamma$  등과 같은 cytokine의 자극만으로도 스스로 NO를 생성하는 특징을 가지고 있어 일반적으로 세포독성을 갖는 물질들의 독성검정을 위해 유용하게 사용된다<sup>20)</sup>. 한편 Raw264.7 cell의 활성화에 사용한 LPS는 대식세포를 자극하여 IL-1의 분비를 유발하여 T임파구 응답을 촉진시키고<sup>21)</sup>, 염증반응 매개물질인 TNF- $\alpha$ 의 분비를 유발시키며<sup>22)</sup>, PGE2의 생성도 증가시켜<sup>23)</sup>, 급성 염증반응을 유발할 수 있는 것으로 알려졌다.

실험 결과 Raw264.7 세포주에서 別값 추출물은 IL-1 $\beta$  및 IL-6의 생성량을 감소시키는 효과를 나타내었으며, 특히 20ug/ml의 농도에서 유의하게 ( $p < 0.05$ ) 감소시켰다(Fig. 2, Fig. 3).

EoL-1 cell은 human eosinophilic leukemic cell line으로 말초혈액 호산구와 많은 유사한 특성을 가지고 있어 호산구의 기능을 연구하는데 유용하며, IL-3, IL-5, GM-CSF에 대한 수용체를 표현하고 있다<sup>24-25)</sup>.

실험 결과 EoL-1 세포주에서 別값 추출물은 IL-6 및 IL-8의 생성량에는 유의한 영향을 미친다고 보기는 어려우나 MCP-1의 생성량은 양성대조군(Dexa)만큼 큰 폭으로 유의하게( $p < 0.001$ ) 감소시키는 결과를 보였다(Fig. 4).

THP-1 cell은 human monocytic leukemia cell line으로 monocyte 들은 자극을 받게 되면 proatherogenic molecule들에 의해 순환, 유착, 이주 등의 작용을 통해 내피세포 안으로 들어가 macrophage로 분화하여 면역작용을 하게 된다<sup>26-28)</sup>.

실험 결과 THP-1 세포주에서 別값 추출물은 IL-6의 생성량을 농도 의존적으로 유의성 있게 감소시키는 결과를 보였으며 특히 10 ug/ml 농도에서는 양성대조군(Dexa)만큼 큰 폭으로 유의하게 ( $p < 0.001$ ) 감소시키는 것으로 나타났다(Fig. 8).

Jurkat cell은 human leukemia T cell line으로 T cell은 세포성 면역을 담당하고, B cell의 분화를 촉진시키는 cytokine을 분비하여 체액성 면역에도 관여한다<sup>29-30)</sup>.

실험 결과 Jurkat 세포주에서는 別값 추출물

이 IL-4 및 TNF- $\alpha$ 의 생성량을 유의하게 ( $p < 0.001$ ,  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$ ) 감소시키는 것으로 나타났으며 특히 IL-4의 생성량은 모든 농도에서 양성대조군(Dexa)만큼 혹은 그보다 더 큰 폭으로 감소하는 결과를 보였다(Fig. 10).

In vivo 실험에서는 BALB/c 생쥐에 7일간 별갑을 투여한 후 LPS로 유도된 급성 염증모델에서 혈청을 분리하여 TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$ 를 측정 한 결과 모두 별갑 추출물 투여군에서 대조군에 비하여 농도 의존적으로 유의하게 ( $p < 0.01$ ,  $p < 0.001$ ) 감소하였다(Fig. 13).

이상의 결과로 보아 별갑은 IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-6, TNF- $\alpha$ , MCP-1 등 염증관련 사이토카인과 케모카인의 생성량을 유의성 있게 감소시키는 것으로 나타났으며, 특히 EoL-1 세포주에서의 MCP-1 생성량과 Jurkat 세포주에서의 IL-4 생성량을 매우 큰 폭으로 감소시키는 것을 알 수 있었다.

따라서 별갑은 상기 염증관련 사이토카인을 감소시킴으로써 염증세포의 활성화를 억제함을 알 수 있으며, 이러한 결과는 별갑이 아토피 피부염에서의 알러지 염증 작용에 대한 효능이 있음을 시사하는 것이다. 따라서, 이를 토대로 별갑은 아토피 피부염을 비롯한 만성 염증성 피부질환에 응용될 수 있을 것으로 사료되며, 향후 유효물질 분리를 통한 지속적인 연구가 기대되는 바이다.

## V. 결 론

별갑 추출물의 염증관련 사이토카인 조절능 및 그 기전에 대하여 알아보고자 in vitro에서 LPS (lipopolysaccharide) 처리한 Raw 264.7 세포주와 집먼지진드기의 미세분말액을 처리한 EoL-1, THP-1, Jurket 세포에서의 사이토카인 생성량과, in vivo에서 LPS로 유도된 염증 생쥐 모델에서의 사이토카인을 측정, 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 별갑 추출물은 Raw264.7 세포주에서 IL-1 $\beta$ 의 생성을 20 ug/ml, 5 ug/ml 농도에서 억

제하였고, IL-6의 생성을 농도 의존적으로 억제 하였는데, 특히 20 ug/ml 농도에서 유의성있게 억제 하였다.

2. 별갑 추출물은 EoL-1 세포주에서 MCP-1의 생성을 모든 농도에서 유의성 있게 억제하였으며, IL-8의 생성을 0.1 ug/ml 농도에서 유의성 있게 억제하였다.

3. 별갑 추출물은 THP-1 세포주에서 MCP-1의 생성을 1 ug/ml 농도에서 유의성 있게 억제하였고, IL-6의 생성을 농도 의존적으로 억제하였는데, 특히 1 ug/ml 이상의 농도에서 유의성 있게 억제하였다.

4. 별갑 추출물은 Jurkat 세포주에서 IL-4의 생성을 모든 농도에서 유의성 있게 억제하였고, IL-5의 생성을 0.1 ug/ml, 1 ug/ml 농도에서 유의성 있게 억제하였으며, TNF- $\alpha$ 의 생성을 농도 의존적으로 감소하였는데, 특히 1 ug/ml 이상의 농도에서 유의성 있게 억제하였다.

5. 별갑 추출물은 LPS로 유도된 급성 염증모델 BALB/c 생쥐에서 TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$  생성을 농도 의존적으로 유의성 있게 억제하였다.

\*한국기초과학지원연구원의 EAS를 활용하여 결과를 측정하였음

## VI. 참고문헌

1. 대한피부과학회 교과서 편찬위원회 편저. 피부과학. 제5판. 서울, 여문각, p95, p170-174, 2008.
2. Meagher LJ, Wines NY, Cooper AJ. Atopic dermatitis; review of immunopathogenesis and advances in immunosuppressive therapy. Australas J Dermatol 43(4):247-254, 2002.
3. Blaser K, Ring J, Capron. T Cell Regulation in Allergy, Asthma and Atopic Skin Diseases. S Karger Pub, p121-137, 2008.
4. Fry L, Ellis CN. An Atlas of Aroptic

- Eczema. Informa Healthcare, p87-101, 2003.
5. 강란이, 박보경, 김선빈, 최학주, 김동희. 아토피피부염 동물 병태모델에서의 형개연교탕의 면역조절작용. 대전대학교 한의학연구소 논문집 18(2):47-62, 2009.
  6. 정승일, 최병민, 윤용갑, 이장원, 장선일. 천연물 유래 Th2 케모카인 억제제 발굴에 의한 새로운 아토피 피부염 치료기술 개발: 아토피 피부염 모델 NC/Nga 마우스에서 고삼 추출액의 억제 효과. 대한한의학방제학회지 17(1):141-151, 2009.
  7. 안종현, 김경준. 선택적 인간의 THP-1 단핵구에서 사이토카인 유전자 발현에 미치는 영향. 한방안이비인후피부과학회지 23(1):94-110, 2010.
  8. 박두병, 한재경, 김윤희. 양혈제습탕이 DNCB로 유도된 NC/Nga mice의 아토피 피부염에 미치는 영향. 대한한방소아과학회지 23(3):263-291, 2009.
  9. 안상현, 김호현. 금은화의 NF- $\kappa$ B 활성 억제제를 통한 iNOS 조절이 NC/Nga 생쥐의 아토피 피부염에 미치는 영향. 동의생리병리학회지 24(2):278-283, 2010.
  10. Novak N, Bieber T, Leung DY. Immune mechanisms leading to atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 112(6):128-139, 2003.
  11. Hamid Q, Boguniewicz M, and Leung DY. Differential in situ cytokine gene expression in acute versus chronic atopic dermatitis, *J Clin Invest* 94(2):870-876, 1994.
  12. Ono SJ, Nakamura T, Miyazaki D, Ohbayashi M, Dawson M, Toda M. Chemokines: roles in leukocyte development, trafficking, and effector function. *J Allergy Clin Immunol* 111(6):1185-1199, 2003.
  13. 가민 외. 중의피부과임상실천. 귀주과학출판사, p202, 2002.
  14. 범서강. 중서의결합치료피부병성병. 광동인민출판사, p188, 2005.
  15. 장지례. 장지례피부병임상경험집요. 중국 의약과학기술출판사, p247-251, 2002.
  16. 서삼문. 중국피부병비방전서. 과학기술문헌출판사, p333-336, 2003.
  17. 피선명 외. 피부병중의치료여방제. 과학기술문헌출판사, p45-58, 1997.
  18. 노석선. 원색피부과학. (주)아이비씨기획, p499-501, 2006.
  19. 전국한외과대학 본초학교수 공편저. 본초학. 서울, 영림사, p601-603, 1991.
  20. 염정호. 니켈 및 코발트의 세포독성 기전에서 NO의 역할. 대한산업의학회지 13(3):274-277, 2001.
  21. Matsukawa A, Ohkawara S, Maeda T, Takagi K, Yoshinaga M. Production of IL-1 and IL-1 receptor antagonist and the pathological significance in lipopolysaccharide-induced arthritis. *Clin Exp Immunol* 93(2):206-211, 1993.
  22. Bomalaskim JS, Ford T, Hudson AP, Clark MA. Phospholipase A2-activating protein induces the synthesis of IL-1 and TNF in human monocyte. *J Immunol* 154(8):4027-4031, 1995.
  23. Noyori K, Okamoto R, Takagi T, Hyodo A, Suzuki K, Koshino T. Experimental induction of arthritis in rats immunized with *Escherichia coli* 0:14 lipopolysaccharide. *J Rheumatol* 21(3):484-488, 1994.
  24. Wong CK, Ho CY, Lam CW, Zhang JP, Hjelm NM. Differentiation of a human eosinophilic leukemic cell line, EoL-1: characterization by the expression of cytokine receptors, adhesion molecules, CD95 and eosinophilic cationic protein (ECP). *Immunol Lett.* 68(2-3):317-323,

- 1999.
25. Mayumi M. EoL-1, a human eosinophilic cell line. *Leuk Lymphoma* 7(3):243-250, 1992.
  26. Sullivan TJ, Parker CW. Possible role of arachidonic acid and its metabolites in mediator release from rat mast cells. *J Immunol* 122(2):431-436, 1979.
  27. Auwerx J. The human leukemia cell line, THP-1: a multifaceted model for the study of monocyte - macrophage differentiation. *Experientia* 47(1):22-31, 1991.
  28. Auwerx J, Stael F, Ceuppens JL. Changes in IgG Fc receptor expression induced by phorbol 12-myristate 13-acetate treatment of THP-1 monocyte leukemia cells. *Leuk Res.* 16(3):317-327, 1992.
  29. 김병훈, 조재열. CD29 및 CD98 활성 매개에 의한 Jurkat T 세포의 유착과 그 활용. *약학회지* 53(3):119-124, 2009.
  30. Singh VK, Mehrotra S, Agarwal SS. The paradigm of Th1 and Th2 cytokines: its relevance to autoimmunity and allergy. *Immunol Res* 20(2):147-161, 1990.