

## 한방 복합추출물이 알레르기성 접촉피부염과 항염증에 미치는 영향

장영아<sup>#</sup>, 이진태<sup>\*</sup>

대구한의대학교 화장품약리학과

### Effects of mixture extract on allergic contact dermatitis and anti-inflammatory

Young-Ah Jang<sup>#</sup>, Jin-Tae Lee<sup>\*</sup>

Department of Cosmeceutical Science, Daegu Haany University, Gyungnsan, 712-749, Korea

#### ABSTRACT

**Objectives** : The aim of this study was to evaluate whether herb mixture extract (HME) would affect allergic contact dermatitis induced by 1-chloro-2,4-dinitro-chlorobenzene (DNCB) in mice. For this, the level of blood IgE was identified. To evaluate anti-inflammatory effect of HME, we tested HMC-1 cells stimulated by PMA+A231867.

**Methods** : In order to evaluate allergic contact dermatitis effects we observed HME on contact-hypersensitive skin of Balb/c mice induced by 0.5% DNCB and measured concentration of IgE in blood of Balb/c mice. In order to evaluate anti-inflammatory effect of cytokine expression we used the method of enzyme-linked immunosorbent assay.

**Results** : We confirmed deep wounds, erosions, progress of keratinization and drop out of dead skin cells from Balb/c mice induced by 0.5% DNCB. We also observed a remarkable decrease in symptoms of atopic dermatitis in the group that received injection of 200mg/kg HME.

In addition, in the measurement outcome for IgE concentration in blood, we confirmed that IgE concentration was increased by treatment with DNCB only, while it was markedly decreased by treatment with HME.

We confirmed that cytokine expression decreased through enzyme-linked immunosorbent assay and pERK, pJNK, and pp38 also decreased through western blot test

**Conclusions** : According to the above results, HME has some effect on alleviating symptoms of allergic contact dermatitis and has anti-inflammatory effects.

**Key words** : allergic contact dermatitis, Herb Mixture extract, DNCB, anti-inflammatory, cytokine, MAPKs

#### 서론

최근 현소재로부터 약물을 발굴하려는 노력 또한 활발히 이루어진 인간의 피부는 주변의 환경과 가장 먼저 접하는 부위로 외부환경에 대한 보호장벽의 역할을 하면서 모든 외부적 스트레스의 수용체로서의 역할을 하게 된다. 건강한 피부는 표면에 윤기가 있고 탄력과 촉촉한 느낌이 있으며 그 중 피부자재 함유하는 수분량은 건강한 피부의 조건으로 좌우되는 중요한 요인이기도 하다<sup>1)</sup>. 그러나 최근 산업사회의 발달로 인한 합성 물질과 환경오염 및 스트레스로 인해 피부장벽의 기능이 제대로 역할을 하지 못하여 조기노화와 만성 염증성 피부질환, 아

토피 피부염 및 각종 알레르기성 접촉성 피부염 환자들이 증가하고 있다<sup>2,3)</sup>. 특히 알레르기성 질환으로는 기관지 천식, 비염, 아토피성 피부염 그리고 알레르기성 결막염 등이 있는데, 각종 면역과민성 질환을 유발시키는 allergen이 급증하는 추세이다<sup>4)</sup>. 이러한 알레르기 원인물질인 알레르겐이 외부로부터 체내로 들어오면 혈액 B-cell에서 immunoglobulin E(IgE)가 생성되어 피부의 비만세포(mast cell)로 이동된 다음 백혈구 세포인 호염구와 결합하여 히스타민을 생성하고 반복적으로 동일한 알레르겐에 노출될 경우 히스타민이 밖으로 배출되면서 알레르기 증상이 발생하는 것으로 알려져 있다<sup>5-7)</sup>. 실제

\*교신저자 : 이진태, 경북 경산시 여천동 240-3번지 대구한의대학교 오성캠퍼스 별관 205호

· Tel : 053-819-1430 · Fax : 053-819-1430 · E-mail : jtlee@dhu.ac.kr

#제1저자 : 장영아, 경북 경산시 여천동 240-3번지 대구한의대학교 화장품약리학과

· Tel : 053-819-1749 · Fax : 053-819-1430 · E-mail : yaviol@nate.com

· 접수 : 2014년 2월 12일 · 수정 : 2014년 3월 21일 · 채택 : 2014년 3월 24일

로 알레르기성 질환을 가진 사람이 건강한 사람보다 IgE의 수치가 높게 나타나는 것으로 보고되고 있으며, 이러한 이유에서 IgE의 수치는 알레르기 증상의 임상적 중증도를 나타내는 지표로서 널리 사용되어지고 있다<sup>8)</sup>.

비만세포로부터 유리되는 화학적 매개물질 외에 염증성 사이토카인인 tumor necrosis factor (TNF)- $\alpha$ , Interleukin (IL)-1 $\beta$ , IL-6, IL-8 등이 이러한 알레르기성 염증반응의 유도에 결정적인 역할을 하는 인자로 알려지고 있다<sup>9,10)</sup>. 세포 내 신호전달에 관여하는 체계 중 Mitogen-activated protein kinases (MAPKs)는 ERK 1/2외에 p38 MAPK와 jun N-terminal kinase(JNK)등이 있으며, 이들의 표적유전자는 대부분 세포를 자라게 하는 데 필요한 세포분열이나 성장을 촉진하는 호르몬을 만들고 동물 세포에서 염증성 물질을 조절하는데 중요한 역할을 한다<sup>11-13)</sup>.

현재 알레르기성 피부염 및 항염증제의 치료제로 가장 많이 사용되는 제제는 부신피질 호르몬제와 항히스타민제가 있으나 장기간 투여할 경우 따르는 부작용에 대한 보고가 많이 되어있어 천연물로부터 새로운 물질을 개발하려는 연구가 지속적으로 진행되고 있다<sup>14)</sup>.

최근에는 각종 식물에서 추출한 성분중에 항산화제를 비롯한 항염증, 항암효과 같은 다양한 생리활성을 나타내는 물질이 다량 함유되어 있다고 밝혀지면서 이에 대한 연구가 활발히 진행중이다<sup>15-17)</sup>.

한약재로서 널리 사용되는 감초(*Glycyrrhiza uralensis* FISCH)는 단맛 성분인 glycyrrhizin을 함유하여 감미료로 사용되고 있으며, 여러 가지 질병에 대한 치료효과와 우수한 항산화능이 알려져 있다<sup>18)</sup>. 연교(*Forsythia suspensa* Vahl)는 물푸레나무과(Oleaceae)에 속하는 의성개나리 (*Forsythia viridissima* Lindley)의 열매로 신농본초경에 기재되어 있으며 한방과 민간에서 열매를 종창, 임질, 통경, 이노, 치질, 결핵, 음, 해독 등에 널리 사용되고 있다<sup>19)</sup>. 미나리아재비과의 여러해살이 초본식물인 황련(*Coptis chinensis* Franch)은 중국이 원산이며 생약용으로 한국, 일본, 중국 등지에서 재배하기도 한다<sup>20)</sup>. 황련의 주성분인 berberin은 용혈성연쇄구균, 흥막염균, 폐렴쌍구균, 콜레라균, 탄저병균등에 대해 강한 억제효과를 나타내고 있는 것으로 알려져 있고 그 외에도 항염증, 지혈, 혈압강하 작용 등이 있는 것으로 알려져 있다<sup>21)</sup>. 울피(*Castanea crenata* inner shell)는 너도 밤나무과(Buna)의 다년생 초목인 밤나무(*Castanea crenata* Sieb)의 과실인 밤의 속껍질로 피부를 청결하고 아름답게 하며 노화를 방지하는 것으로 알려졌다<sup>22)</sup>.

본 연구는 한방 복합물의 알레르기성 접촉피부염에 효능을 알아보기 위해 DNCB에 의해 유도된 Balb/c mice에서 IgE 농도변화 및 마우스의 표피회복능에 미치는 영향을 조사하였다. 또한 한방 복합물의 항염증 활성을 조사하기 위해 PMA+A231867에 의해 자극된 HMC-1 세포가 방출하는 TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8의 cytokine 발현량과 염증관련 단백질의 발현량을 알아보았다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험동물 및 시약

실험동물은 생후7주령 male Balb/c mice로 중앙실험동물(SRC, Japan)로부터 공급받았으며, 실험군은 실험동물 사육실에서 2주간 적응시킨 뒤 실험에 사용하였다. 실험기간 중 동물은 자유롭게 섭취시켰으며, 사육실 온도( $22\pm 2^\circ\text{C}$ )와 상대습도( $60\pm 5\%$ ), 12시간 명:암 조건을 유지하였다. 실험군은 DNCB (Aldrich, USA)를 도포하지 않은 정상대조군(Normal군), DNCB 단독 도포군, 한방복합물(HME+DNCB군)으로 나누었다. 각 군에 6마리씩 배당하였다.

### 2. 추출물의 제조

본 실험에 사용한 감초, 연교, 황련은 음니허브에서 구입하였고 70%에탄올을 추출하였다. 울피는 (재)대구테크노파크 바이오헬스융합센터에서 제공받아 70% 아세톤 추출하였다. 울피는 선행연구를 통해 활성 효능이 우수한 아세톤 추출을 진행하였다<sup>23)</sup>. 추출은 시료 중량의 10배 양을 가하여 실온에서 24시간 침지하여 상징액과 침전물을 분리하여 동일한 방법으로 3회 반복 추출하였다. 천연 복합물을 원심분리 및 여과, 농축(rotary vacuum evaporator, HS-10SP, Hanshin, Korea)하여 동결(FD5525, Ilshin, Korea) 건조하였고 냉장실에 보관하였고 본실험에는 감초, 연교, 황련, 울피는 1 : 1 : 1 : 0.05 비율로 혼합하여 사용하였다.

### 3. DNCB를 이용한 접촉성 피부염 유도

접촉성 피부염을 유발하기 위해 쥐의 등 부위를 제모한 후, 피부의 미세 상처가 치유되도록 24시간 방치하였다. 본 실험에 사용된 DNCB용액은 아세톤과 올리브오일의 3:1로 혼합된 용액에 0.5%와 1%로 희석한 다음 사용되었다. 1%의 DNCB 용액 150 $\mu\text{l}$ 를 등부위에 도포하였고 4일 동안 면역반응을 유발한 후 3주 동안 0.5% DNCB 용액 150 $\mu\text{l}$ 를 등부위에 도포하여 접촉성 피부염을 유도하였다. 한방 복합추출물은 PBS에 녹인 후 400mg/kg의 용량으로 2주간 경구 투여하였다. 육안 관찰로 피부염 유발 마우스의 피부 변화 상태를 측정할 수 있었다.

### 4. 혈청 IgE 농도 및 TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8측정

실험 종료일에 주사기로 심장에서 채혈한 후 5,000rpm, 4 $^\circ\text{C}$ 에서 3분동안 원심분리하여 혈청을 분리하였다. Balb/c 마우스의 혈청에서의 IgE 농도 및 PMA+A231867로 자극된 HMC-1 cell 에서의 TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8측정은 enzyme-linked immunosorbent assay 방법을 이용하여 측정하였다. 96 well plate에 각 사이토카인에 대한 단클론 항체를 PBS (pH7.4) 로 희석하여 96well plate에 100 $\mu\text{l}$ 씩 각 각 코팅한 다음 4 $^\circ\text{C}$ 에서 12시간 동안 방치한다. 이 plate를 0.05% tween이 함유된 PBS로 세정 후 1% BSA, 5% sucrose, 0.05% NaN<sub>3</sub>를 함유한 PBS로 1시간 동안 blocking한다. 여러 번 세정한 다음 혈청을 첨가한 후 37 $^\circ\text{C}$ 에서 2시간 동안 방치 후, 각 well을 다시 세정하고 biotin이 결합된 2차 항체를 첨가하여 다시 2시간 동안 방치한다. Well을 씻어낸 다음 avidin peroxidase를 첨가하고 37 $^\circ\text{C}$ 에서 30분 동안 방치하여 well을 다시 세정한 다음에 기질인

ABTS 용액을 첨가하고, 발색반응은 ELISA reader를 사용하여 405nm에서 측정한다.

## 5. 세포 배양

Human mast cell-1 (HMC-1)은 항생제 (100 U/mL Penicillin, 100 U/mL Streptomycin)를 첨가하고 불활성화된 FBS가 10% 비율로 함유된 IMDM 배지에서 온도 37°C 이산화탄소 5% 조건에서 배양하였다.

## 6. Western Blot

세포를  $1 \times 10^6$  cells/ml의 농도로 2ml을 6 well plate에 접종하고 cell의 confluence가 80%때에 무혈청 배지로 교환한 후 일정시간동안 cell을 안정화 시키고 HME와 LPS(1 $\mu$ g/ml) 처리하여 24h 배양하였다. 그 후 상등액은 제거한 후 PBS로 2회 세척한 후에 scrapper로 cell을 수확한 후에 lysis buffer를 넣어서 세포를 용출시킨다. 수확된 protein은 BSA(bovine serum albumin)으로 작성한 standard curve에 OD값을 대입시켜서 protein량을 보정하였다. 그 후에 coomassie blue로 염색하여 재보정한 후에 western sample로 사용하였다.

SDS-polyacrylamide gel을 이용하여 electrophoresis한 후에 gel를 떼어내어서 transfer buffer에 10~15분 정도 담근 후 transfer buffer에 스펀지 2장을 깔고 그 위에 filter paper 1장 올려놓는다. 3mm paper와 nitrocellulose filter도 buffer에 살짝 담근다. 양쪽 스펀지와 3mm paper 사이에 nitrocellulose paper 그리고 gel를 잘 밀착시킨 후에 전극을 꽂아서 transfer시킨다. 190 mA에서 2시간 이상 transfer한 후에 ponceau S에 2분 정도 담근 후에 band를 확인한다. PBS로 2회 씻은 후 꺼내서 blocking buffer로 overnight시켜 background는 제거시킨다. 2번 씻은 후에 1:1,000으로 1차 antibody를 붙인 후 2차 antibody를 1:1,000 으로 희석하여 반응시킨다. 2차 antibody를 붙인 후, PBS tween으로 수차례 세척한 후에 ECL kit(Amersham Pharmacia, England)를 사용하여 film에 옮긴 후, 단백질 발현량을 확인하였다.

## 7. 통계처리

결과는 3회 반복실험에 대한 평균±표준편차(standard deviation; SD)로 나타내었으며, 통계학적 분석은 SPSS program의 Student's T-test를 이용한 후 p값이 0.05미만 일 때 유의한 것으로 판정하였다.

# 결 과

### 1. 한방 복합추출물이 피부조직 변화에 미치는 영향

DNCB로 유도한 아토피 피부염 개선에 HME의 효과에 대해 알아보기 위하여, 마우스의 등에 DNCB로 피부염을 유도한 그룹과 DNCB로 피부염을 유도하고, HME를 경구 투여한

그룹을 비교한 후 육안관찰로 피부염 유발 마우스의 피부 변화 상태를 확인하였다. DNCB 처리군은 심한 상처와 진무름, 각질의 각화와 탈락의 진행을 나타내었다. 그러나 HME(200 mg/kg)을 투여한 그룹에서는 아토피 피부염의 증상이 현저하게 감소되는 것을 육안으로 관찰할 수 있었다(Fig. 1).

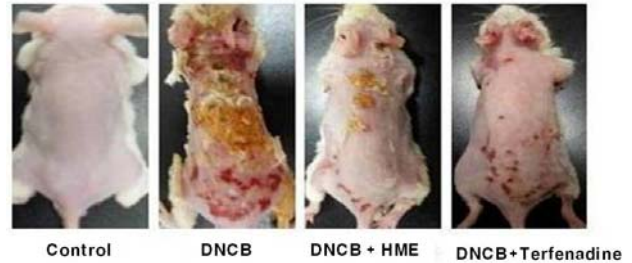


Fig. 1. The effect of HME on the DNCB-induced dermatitis. The BALB/c mice (n=6) were sensitized with 150  $\mu$ l of 0.5% DNCB in acetone-olive oil (3:1) or vehicle (acetone/olive oil=3:1) applied to the dorsal skin twice each week for a total period of 5 weeks. After 3 weeks, Sample (200 mg/kg) was orally administered 2 week prior to the end of the experiment.

### 2. 혈청 IgE 농도

아토피 피부염 유도 마우스에서 채취한 혈액 sample을 가지고 ELISA 방법을 이용하여 혈청 내 IgE의 농도를 측정하였다. 실험 결과, DNCB 단독 처리군에서 혈청의 IgE는 생성량은 증가하였으나, HME(200 mg/kg)의 투여군에서는 IgE 양이 유의적으로 감소되었다. 본 실험에서는 항히스타민제인 terfenadine(10 mg/kg)을 양성 대조군으로 사용하였다(Fig. 2).

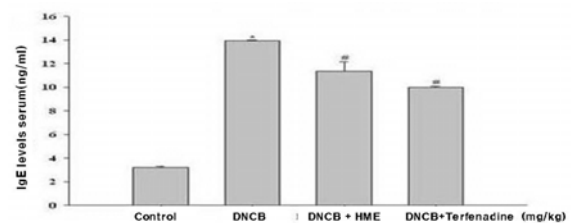


Fig. 2. Blood samples were collected and then levels of serum IgE in the indicated groups were measured using the ELISA method (\* $P < 0.05$  vs. control group,  $P < 0.05$  vs. DNCB-treated group).

### 3. TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8측정

TNF- $\alpha$ , IL-6 및 IL-8은 전염증성 인자로 알레르기 초기 반응에 관여하는 주요한 매개물로 잘 알려져 있다. HME의 TNF- $\alpha$ , IL-6 및 IL-8 생성에 미치는 영향을 HMC-1 세포에서 조사하였다. HMC-1 세포에 다양한 농도(0.5~2 mg/ml)의 HME를 전처리 후 PMA+A231867로 자극하였다. 세포에서 분비된 TNF- $\alpha$ , IL-6 및 IL-8의 농도는 ELISA방법으로 측정하였으며 실험 결과 대조군에 비해 PMA+A231867에 의하여 TNF- $\alpha$ , IL-6 및 IL-8의 생성은 증가하였으나( $P < 0.05$ ), HME에 의하여 농도 의존적으로 억제 하였다(Fig. 3).

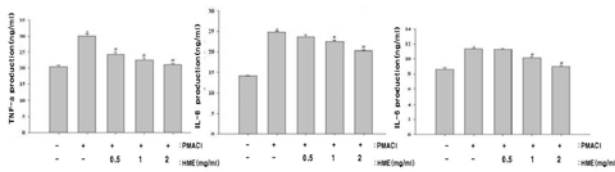


Fig. 3. The effects of HME on the production of inflammatory cytokines in PMACI-stimulated HMC-1 cells. HMC-1 cells were pre-treated with HME (0.5~2 mg/ml) for 1 h and then stimulated with PMACI for 12 h. The levels of inflammatory cytokines (TNF- $\alpha$ , IL-8 and IL-6) were measured from cell supernatant using ELISA. All data were represented in the mean  $\pm$  S.E.M. of triplicate determinations from triplicate separate experiments ( $^{\#}P < 0.05$  vs. control,  $^{\Delta}P < 0.05$  vs. PMACI alone).

#### 4. MAPKs 활성화에 대한 측정

HME가 MAPKs 인산화를 저해 하는지 알아보기 위해 western blot으로 ERK, JNK, p38의 인산화를 확인한 결과 세포에 PMA+A231867만 처리한 대조군에서의 MAPKs (ERK, JNK, p38)의 발현량 대비 HME를 1mg/ml 처치 하였을 때 단백질의 인산화가 저해되는 것을 확인하였다(Fig. 4).

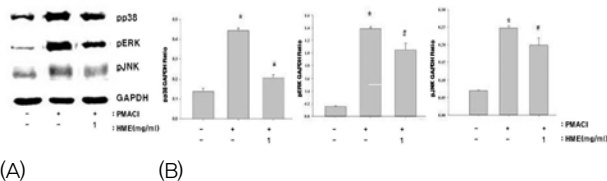


Fig. 4. The effects of HME on the PMACI-stimulated pp38, pERK and pJNK expression in HMC-1 cells were pre-treated with HME(1 mg/ml) for 1 h and then stimulated with PMACI for 1h. (A) Total cellular proteins were resolved by SDS-PAGE, and pp38, pERK and pJNK were detected using specific antibodies. (B) The relative levels of pp38, pERK and pJNK were represented. All data were represented in the mean  $\pm$  S.E.M. of triplicate determinations from triplicate separate experiments ( $^{\#}P < 0.05$  vs. control,  $^{\Delta}P < 0.05$  vs. PMACI alone).

## 고찰

알레르기성 접촉피부염은 T림프구와 대식세포 등에 의해 발생하는 세포성 면역과민반응으로 T세포의 활성화, 증식에 의해 항원 특이적 세포 독성 T림프구의 활성화 등 다양한 항원 특이적 반응이 일어난다<sup>24,25</sup>. T 림프구에 의한 각종 화합물에 의해 혈관의 확장, 모세혈관의 투과성 항진, 점액의 증가 및 점막의 부종과 염증을 일으키며 특히 접촉성 피부염은 TH2 세포가 관련되어 있으며 IgE의 증가와 관련이 있는 것으로 알려져 있다<sup>26</sup>. 알레르기성 접촉성 피부염의 주요 초기 증상은 호산구증과 혈액내 IgE의 증가가 나타나며 원인 물질에 따라 특정부위에서 피부질환, 발진, 홍반, 종창, 통증, 소양감, 습진상변화 등의 병증을 동반하게 되며 제 IV형 지연성과민반응(delayed type hypersensitivity)에 속하는 면역질환으로 전신적 면역반응의 불균형으로 발생된다<sup>27-30</sup>. 또한 분자면역학적 측면에서는 사이토카인(cytokine) IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 그리고 IL-13 등이 피부염의 병변부위 피부에서 과증식되는 것이 확인되었다<sup>31</sup>. 면역반응에 의한 피부염의 치료방법에는 자극을 일으키는 항원을 제거하는 것이 가장 좋은 방

법이지만, 특이적 항원을 알 수 없는 경우가 많으므로 다양한 방법으로 해결책을 찾고 있다. 현재 염증반응을 억제시키거나 피부상재균을 제거하기 위해 항생제와 스테로이드 제제 및 항히스타민제를 사용하고 있으나 장기간 투여할 경우 따르는 안전성에 관한 문제가 아직 해결되지 않은 실정이다<sup>32</sup>. 한방복합추출물의 알레르기성 접촉피부염에 대한 억제반응을 측정하기 위해 DNCB로 접촉성 피부염을 유발한 군과 유발하지 않은 대조군과 한방복합물을 경구투여한 군과의 비교실험을 수행하였다. 육안관찰로 피부염 유발 마우스의 피부 변화 상태 확인한 결과 DNCB 처리군은 심한 상처와 진주름, 각질의 각화와 탈락의 진행을 나타내었다. 그러나 HME(200 mg/kg)을 투여한 그룹에서는 아토피 피부염의 증상이 현저하게 감소되는 것을 육안으로 관찰할 수 있었다. DNCB로 알레르기성 접촉피부염을 유발한 DNCB군은 DNCB를 처치하지 않은 Control 군에 비해 약 5배 이상 유의성 있게 IgE 수준을 증가시켰으며, HME(200 mg/kg)를 투여한 실험군에서는 Control 대비 1.2배 이상, 항히스타민제인 terfenadine(10 mg/kg)은 1.3배 이상 유의성 있게 IgE 수준을 감소시켰다. 이러한 결과는 HME이 혈액 내의 IgE 수준감소에 관여함과 알레르기성 접촉피부염 환자에게서 면역 염증반응을 감소시켜 피부의 과민반응을 감소시켜 피부상태를 개선시키는 효능이 있음을 알 수 있다. 사람의 비만세포는 알레르기 초기 염증반응을 일으키고 지속시키는 데 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 본 연구에서는 비만세포인 HMC-1 cell로부터 유발되는 염증반응에 HME의 효과를 알아보기 위한 실험을 진행하였다. TNF- $\alpha$ 는 다양한 생물학적 기능을 갖는 대표적인 염증사이토카인이며 알레르기 초기에서부터 만성염증반응 발달에 기여하고 히스타민 분비를 촉진하는 것으로 알려져 있다<sup>33,34</sup>. IL-6는 면역세포에서 분비되는 염증 사이토카인으로서 세포활성화를 유도하며 비만세포로부터 분비되는 IL-8은 neutrophils의 migration에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다<sup>35,36</sup>. 본 연구에서 HME는 PMA+A231867에 의해 자극된 HMC-1 cell로부터 분비되는 TNF- $\alpha$ , IL-6 및 IL-8의 생성을 농도 의존적이고 유의적으로 억제하는 것을 확인하였다. 또한 MAPKs 인산화를 저해 하는지 알아보기 위해 western blot으로 확인한 결과 세포에 PMA+A231867만 처리한 대조군에서의 MAPKs (ERK, JNK, p38)의 발현량 대비 HME를 1mg/ml 처치 하였을 때 단백질의 인산화가 저해되는 것을 확인하였다. 따라서 HME는 HMC-1 비만세포에서 PMA+A231867 처리에 의해 유도되는 MAPKs의 인산화를 저해시켜 TNF- $\alpha$ , IL-6 및 IL-8의 염증성 사이토카인의 발현을 저해시킨다. 이는 HME가 염증매개물질을 저해시켜 항염증을 완화시키는 것을 의미한다. 위와 같은 결과는 HME가 DNCB로 유발된 알레르기성 접촉피부염을 완화시켜 피부개선에 도움을 주고 PMA+A231867로 야기된 HMC-1 비만세포에 발현된 염증 관련 인자들을 완화 시킬 수 있는 천연물로 응용가능함을 시사한다.

## 결론

본 연구에서 한방 복합추출물이 마우스의 DNCB에 유도된 알레르기성 접촉성 피부염에 미치는 영향을 피부표면 육안평

가와 혈액 IgE 생성량에 어떠한 영향을 미치는지 알아보았다. 또한 HMC-1 세포를 PMA+A23187로 자극하였을 때 한방 복합추출물에 의한 cytokin생성량 및 MAPKs 경로에 미치는 영향을 조사하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 한방 복합추출물을 처리한 마우스의 피부 표면 육안평가에서 아토피피부염의 증상이 현저하게 감소되는 것을 확인하였다.
2. 한방 복합추출물을 처리한 실험군에서 DNCB를 단독처리한 군에 대비해 혈액내 IgE 생성이 낮아지는 것을 확인하였다.
3. 한방 복합추출물이 PMA + A23187로 유도된 HMC-1에서 TNF- $\alpha$ , IL-6 및 IL-8 생성이 PMA + A23187 단독처리한 군에 대비 현저히 낮아지는 것을 확인하였고 MAPKs 인산화를 저해 하는지 알아보기 위해 western blot으로 확인한 결과 추출물을 처리하였을 때 MAPKs (ERK, JNK, p38), 인산화가 저해되었다.

이러한 실험결과로 보아 감초, 연교, 황련, 율피의 한방 복합추출물이 알레르기성 접촉성 피부염을 완화시키고 염증성 cytokine 생성 억제 및 MAPKs 인산화 억제를 통해 염증을 개선, 완화시킬 수 있는 천연소재로 사용가능 하며 한방화장품 제품의 소재로 적용가능함을 제시한다.

## 감사의 글

본 연구는 산업통상자원부·한국산업기술진흥원에서 수행하는 광역경제권 연계협력사업(과제번호: R0000451), 중소기업청에서 지원하는 2012년도 산학연공동기술개발사업(과제번호:C0020768)의 일환으로 수행된 논문입니다.

## Referenses

1. Cooper KD. Atopic dermatitis: Recent trends in pathogenesis and therapy. *J Invest Dermatol*, 1994 ; 102(1) : 128-38.
2. Leung DY, Boguniwicz M, Howl MD, Nomura I, Hamid QA. New insights into atopic drmatitis. *J Clin Invest*. 2004 ; 113 : 651-7.
3. Park CI. Study on the development of cosmtic emulsion cream for patients with atopic dermatitis using *Scutellaria Baicalensis*. *Kor J Herbology*. 2006 ; 21(2) : 47-53.
4. Kang SY, Hue SH, Kim SI. Immunologic aspects of hypersnsitivity diseas in Korea. *Seoul J Medicine*. 1978 ; 19 : 45-53.
5. Jiang J, Yamaguchi T, Funakushi N, Kuhara T, Fan PS, Ueki R, Suto H, Kase Y, Ikeda S, Ogawa H. Oral Administration of *Yokukansan* Inhibits th Development of Atopic Dermatitis-like Lesions in

- Isolated NC/Nga Mice. *J Dermatol Sci*. 2009 ; 56(1) : 37-42.
6. Koblenzer CS. Itching and the Atopic Skin. *J Allerrgy Clin Immun*, 1999 ; 104 : 109-13.
7. Mihara K, Kuratani K, Matsui T, Nakamura M, Yokota K. Vital Role of the Itch-scratch Respons in Development of Spontaneous Dermatitis in NC/Nga Mice. *Br J Dermatol*. 2004 ; 151(2) : 335-45.
8. Kim YH, Park YS. Effect of *Scutellaria baicalensis* Water Extract on AntioxidativeActivity and Epidermal Thickness in DNCB-,induced Allergic Contact Dermatitis Animal Model. *J Korean Soc Food Sci Nutr*. 2006 ; 35(5) : 543-8.
9. Galli SJ, Gordon JR, Wershil BK. Cytokine production by mast cells and basophils. *Curr Opin Immunol*. 1991 ; 3 : 865-72.
10. Galli SJ, Tsai M, Piliponsky AM. The development of allergic inflammation. *Nature*. 2008 ; 454 : 445-54.
11. Azzolina A, Bongiovanni A, Lampiasi N. SubstanceP induces TNF- $\alpha$  and IL-6 production through NF $\kappa$ B in peritoneal mast cells. *Biochim BiophysActa*. 2003 ; 1643(1-3) : 75-83.
12. Bokemeyer D, Sorokin A, Dunn MJ. Multiple intracellular MAP kinase signaling cascades. *Kidney Int*. 1996 ; 49 : 1187-98.
13. Torres C, Francis MK, Lorenzini A, Tresini M, Cristofalo VJ. Metabolic stabilization of MAP kinase phosphatase-2 in senescence of human fibroblasts. *Exp Cell Res*. 2003 ; 290(2) : 195-206.
14. Tasaka K. Anti-allrgic drugs. *Drugs Today*. 1986 ; 22 : 101-133.
15. Kim SN, Lee CM, Kim YC. Comparison in Antioxidant Activities of Water Extracts of Green Tea, White Tea and Black Tea. *J Invest Cosmetol*. 2012 ; 8(3) : 165-70.
16. Kim IH, Kim JH, Kim JW, Kim TH, No JS, Do JA, Hwang WK. *New Pharmaceutical Botany*. Seoul : Hak Chang Sa, 1998 : 281.
17. Hirota A, Taki S, Yano M, Abe N. 1,1-Diphenyl-2-picrl-hydrazyl radical-scavnging compounds from soyban miso and antiproliferative activity of isoflavones from toward the cancer cell lines. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2000 ; 64 : 1038-40.
18. Sung KC. A study on the pharmaceutical characteristics & analysis of glycyrrhizin extract. *J Kor Oil Chem Soc*. 2006 ; 23(3) : 212-5.
19. Kim TJ. *Korea resources plants*. Seoul : Seoul National University Pub, 1991 : 262.
20. An DK. *A Pictorial Book of the Korean Flora*. Seoul : Kyohak Publishing. 2000 : 1239.

21. Yamahara J. Behavioral pharmacology of berberine-type alkaloids. (1) Central depressive action of *Coptidis rhizoma* and its constituents. *Nihon Yakurigaku Zasshi*. 1976 ; 72(7) : 899-908.
22. A Yagi, T Kanbara, N Morinobu. The effect of tyrosinase inhibition for aloe. *Planta Medica*. 1986 ; 3981 : 517-9.
23. Kim HY. Studies on anti-inflammatory of Chestnut inner shells. Graduate School Daegu Haany University. 2012 : 22-34.
24. Kim HH, Kim DH. The effect of yunkyopaedo-sangamibang on allergic contact dermatitis. *J Inst Oriental Med Semyung Univ*. 2001 ; 3 : 67-80.
25. Kwon, OS, Kim JT, Park IS, Ahn SH, Lee HP, Kim HH, Gang YH. The effect of yunkyopaedo-sangamibang allergic contact dermatitis. *J Inst Oriental Med Semyung Univ*. 1999 ; 8 : 77-91.
26. Ishizaka K. Regulation of IgE synthesis. *Ann Rev Immunol*. 1984 ; 2 : 159-82.
27. Sator PG, Schmidt JB, Honigsmann H. Comparison of epidermal hydration and skin surface lipids in healthy individuals and in patients with atopic dermatitis. *J Am Acad Dermatol*. 2003 ; 48 : 352-8.
28. Kimber I, Basketter DA, Grberick GF, Dearman RJ. Allergic contact dermatitis. *Int Immunopharmacol*. 2002 ; 2 : 201-11.
29. Matsuda H, Watanabe N, Geba GP, Sperl J, Tsudzuki M, Hiroi J, Matsumoto M, Ushio H, Saito S, Askenase PW, Ra C. Development of atopic dermatitis-like skin lesion with IgE hyperproduction in NC/Ng mice. *Int Immunol*. 1997 ; 9 : 461-6.
30. Eun JS, Lee DH, Jeon YK, Kwon YA, Kwon J. Effect of Kamichungdieum on immune reaction. *Kor J Orient Physiol Pathol*. 2003 ; 18 : 1391-6.
31. Averinou G, Goules AV, Stavropoulos PG. Atopic dermatitis: new immunologic aspects. *Int J Dermatol*. 2008 ; 47 : 219-24.
32. Standr S, Steinhoff M, Schmelz M, Weisshaar E, Metze D, Luger T. Neurophysiology of Pruritus: Cutaneous Elicitation of Itch. *Arch Dermatol*. 2003 ; 139(11) : 1463-70.
33. Bradding P, Robrts JA, Brittn KM, Montefort S, Djukanovic R, Mueller R, Heusser CH, Howarth PH, Holgate ST. Interleukin-4,-5, and-6 and tumor necrosis factor-alpha in normal and asthmatic airways: evidence for the human mast cell as a source of these cytokines. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 1994 ; 10 : 471-80.
34. Gordon JR, Burd PR, Galli SJ. Mast cells as a source multifunctional cytokines. *Immunol Today*. 1990 ; 11 : 458-64.
35. Kim SJ, Lee EJ, Song YS, Jeong HJ, Le KM, Kim HR, Chae HJ, Shin TY, Kim YK, Hong SH, Kim HM. Cheongyol saseuptang inhibits production of TNF-alpha, IL-6 and IL-8 as well as NF-kappa B activation in human mast cells. *J Ethnopharmacol*. 2005 ; 97 : 83-8.
36. Kim HM, Park YA, Lee EJ, Shin TY. Inhibition of immediate-type allergic reaction by *Rosa davurica* Pall. in a murine model. *J Ethnopharmacol*. 1999 ; 67(1) : 53-60.