

# 2,4-Dinitrochlorobenzene으로 유도된 BALB/c 마우스에서 Black currant seed oil의 아토피성 피부염 억제 효과

이에서 · 박교현 · 김배환\*

계명대학교 자연과학대학 공중보건학과

## Inhibitory Effects of Black currant seed oil on 2,4-Dinitrochlorobenzene Induced Atopic Dermatitis in BALB/c Mice Model

Ye Seo Lee, Kyo Hyun Park, Bae Hwan Kim\*

Department of Public Health, College of Natural Sciences, Keimyung University

This study investigated the clinical parameters of atopic dermatitis and evaluated the inhibitory effects of Black currant seed oil for atopic dermatitis by using a Dinitrochlorobenzene(DNCB) induced BALB/c mice model. Five-week-old BALB/c mice were divided into four groups: normal group (N, non-treated), control group (C, atopic dermatitis-induced), positive control group (PC, Tacrolimus ointment-treated against induced atopic dermatitis, PC), experiment group (E, Black currant seed oil-treated against induced atopic dermatitis). After induction of atopic dermatitis by DNCB, the erythema, edema, eschar, and scratching were severely observed. The symptoms of atopic dermatitis were improved after 2 weeks, and almost disappeared after 4 weeks in PC and E group. The increased frequencies of scratching in C group were decreased in PC and E group. Transepidermal water loss, erythema index and serum IgE level were significantly decreased in E and PC compared to that in C after 4 weeks of the treatment. The results indicated that Black currant seed oil can relieve atopic dermatitis symptoms effectively, and may be possibly used as a functional material for suppression of atopic dermatitis.

keywords : Black currant seed oil, atopic dermatitis, BALB/c mice, DNCB

### 서 론

아토피성 피부염은 흥반성 구진, 강한 소양감 등의 주요 증상을 특징으로 하는 만성 염증성 피부질환이다<sup>1)</sup>. 주로 아동기에 높은 발병률을 보이며 전 세계적으로 꾸준히 증가하는 추세로 산업이 발달한 선진국 일수록 유병률은 지속적으로 증가하고 있는 모습을 보인다<sup>2)</sup>. 아토피성 피부염의 원인은 명확하게 밝혀져 있지 않지만 가족력, 식생활의 변화, 면역 조절 장애 등의 요인이 복합적으로 작용하여 발병하는 것으로 보여지며, 최근에는 피부 표면장벽의 이상이 병인에 중요하게 작용한다는 근거들이 제시되면서 각질층의 구성인자에 대한 연구들이 보고되고 있다<sup>3)</sup>.

아토피성 피부염은 혈청 immunoglobulin E(IgE)가 비정상적으로 항진하는 외인성과 IgE의 수준은 정상이나 병리학적으로 아토피성 피부염과 유사한 증상이 나타나는 내인성으로 나누어진다<sup>4)</sup>. 항원 제시세포는 항원과 결합하여 항원의 정보를 T cell에 전달하고 항원 정보를 받은 T cell은 세포매개 반응을 일으켜 병변 유발 및 지속적

으로 면역반응을 유지하는데 큰 역할을 하게 된다<sup>5)</sup>. T cell은 생성하는 cytokine에 의해 Th1, Th2 유형으로 분화되며, Th1 유형에서 생성되는 cytokine은 interleukin-2(IL-2), interferon-gamma (INF- $\gamma$ ), tumor necrosis factor-alpha(TNF- $\alpha$ ) 등을 분비하여 대식세포를 활성화시켜 지연형 면역반응을 유도하고, Th2 유형의 cytokine인 interleukin-4(IL-4), interleukin-5(IL-5) 및 interleukin-13(IL-13) 등은 IgE의 합성과 비만세포의 분화를 유도함으로써 염증반응과 면역 병리학적 증상을 유발하게 된다<sup>6,7)</sup>. 따라서 아토피성 피부염에서 혈청 IgE 생성과 관련된 IL-4와 IgE 농도 변화에 대한 기전은 치료에 중요한 지표라 할 수 있다<sup>8)</sup>.

현재 피부염의 치료방법으로 사용되어지는 스테로이드제는 1950년에 도입되어 수 년 동안 사용되어왔지만 사용횟수와 농도, 기간 등에 따른 피부의 안전성과 내성의 문제점으로 인해 장기간의 사용이 제한되고 있다<sup>9-11)</sup>. 특히 아토피성 피부염의 경우 면역력이 약한 유·소아에서 유병률이 높기 때문에 안전성이 보장된 치료제의 확보가 무엇보다 시급한 것으로 보여진다. 리놀렌산, 감마리놀렌산,

\* Corresponding author

Bae-Hwan Kim, Department of Public Health, College of Natural Sciences, Keimyung University, Daegu 704-701, Korea

E-mail : kim9399@kmu.ac.kr Tel : +82-53-580-5933

Received : 2014/11/12 Revised : 2015/01/20 Accepted : 2015/01/23

© The Korean Society of Oriental Pathology, The Physiological Society of Korean Medicine

pISSN 1738-7698 eISSN 2288-2529 <http://dx.doi.org/10.15188/kjopp.2015.02.29.1.33>

Available online at [http://society.kisti.re.kr/sv/SV\\_svjsj03L.do?method=list&poid=ksomp&kjic=DRSRDH&sVnc=v28n5&menuid=1&subid=13](http://society.kisti.re.kr/sv/SV_svjsj03L.do?method=list&poid=ksomp&kjic=DRSRDH&sVnc=v28n5&menuid=1&subid=13)

알파리놀렌산 등은 대표적인 불포화 지방산으로 동물실험과 임상실험을 통해 염증성 질환의 증상완화와 표피의 장벽 보호에 효과적이라 인정되었으며, 임신기간 동안 불포화지방산을 임신부가 섭취할 경우 태반에서 Th2 cytokine의 감소로 인하여 출생 후 아토피성 피부염의 발병률이 낮은 것으로 보고되었다<sup>12-14)</sup>. 또한 비만세포주 RBL-2H3 cell과 마우스의 골수에서 분화된 BMDCs cell에서 비만세포의 특이적 전사인자를 조절함으로써 IL-4, IL-13의 생성을 억제시켰으며, 마우스의 대식세포주 RAW 264.7 cell에서 염증작용을 억제하였다고 보고된 바 있다<sup>15,16)</sup>.

오메가-3 지방산인 알파리놀렌산과 오메가-6 지방산인 리놀렌산이 풍부한 Black currant seed oil의 경우, 경구 섭취로 인한 염증억제 및 면역증가 등이 보고되어 있으나<sup>17)</sup>, 경피 흡수를 통한 효과 연구는 아직 미비한 실정이다. 본 연구에서는 BALB/c 마우스와 2,4-dinitrochlorobenzene(DNCB)를 이용하여 아토피성 피부염과 면역학적 특성이 유사한 실험 모형으로 Black currant seed oil을 경피에 처치하였을 때 아토피성 피부염의 일반적인 지표변화와 혈청 내 IgE 레벨 등 면역학적 지표의 변화를 관찰하여 아토피성 피부염의 억제 원료로 개발 가능성의 여부를 판단하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험재료

실험에 사용된 Black currant seed oil은 Douglas Laboratories (USA, Lot. #99857)에서 제조되었다. 실험물질은 물로 세척하고 건조 후 압착하여 추출한 것을 실험에 사용하였으며, 본 실험에 사용한 Black currant seed oil의 성분은 Table 1과 같다.

Table 1. Composition of Black currant seed oil

Ingredients	%
Linoleic acid	44.8
$\gamma$ -Linoleic acid	16.1
$\alpha$ -Linoleic acid	13.6
Oleic acid	10.1
Stearic acid	1.5
Palmitic acid	7.8
Others	6.1

Source : Douglas Laboratories

### 2. 동물시험 구성

생후 5주령의 암컷 BALB/c mouse를 (주)젠타코(오산, 한국)로부터 분양받아 1주간 특정병원체 부재 무균 사육실에서 온도는  $22\pm 3^{\circ}\text{C}$ , 습도는  $50\pm 5\%$ , 명암주기 12시간 밤과 낮 단위로 조절되는 표준사육 환경에서 적응과정을 거친 후 실험에 사용하였다. 실험기간 동안 사료(Purina, 한국)와 물의 양은 제한 없이 공급하였다. 실험의 모든 과정은 계명대학교 동물실험윤리위원회의 승인(승인번호 KM-2012-62)을 얻은 후 가이드라인에 의거하여 실험을 진행하였다.

본 연구의 실험군 구성은 Table 2와 같다. 각 군당 6마리씩 난괴법에 따라 분류하고, 아무런 처치를 하지 않은 정상군(N), DNCB를 도포하여 아토피성 피부염을 유발한 대조군(C), 아토피성 피부염을 유발한 뒤 0.1% tacrolimus를 처치한 양성대조군(PC), 아토피

성 피부염을 유발한 뒤 Black currant seed oil을 처치한 실험군(E)으로 구성하였다.

Table 2. Experimental group characteristics

Groups	Atopic dermatitis induction	Test compound	No. of mice
Normal (N)	-	-	6
Control (C)	+	-	6
Positive Control (PC)	+	0.1% Tacrolimus	6
Experimental (E)	+	Black currant seed oil	6

### 3. 아토피성 피부염 유발 및 시료 도포

아토피성 피부염의 유발 및 시료 도포 과정은 다음과 같다(Fig. 1). DNCB를 이용하여 아토피성 피부염을 유발하였다. 마우스의 제모 된 등 부위 피부에 DNCB를 용매물질(acetone:olive oil = 1:3)에 녹인 1% DNCB 용액을 3일 간격으로 100  $\mu\text{L}$ 씩 2회 처치하여 아토피성 피부염을 감작(sensitization)시킨 후, 7일째 되는 다음 일주일에는 0.2% DNCB 용액을 3일 간격으로 2회 도포하여 아토피성 피부염을 유발(challenge)하였다. 아토피성 피부염의 발현 후 0.1% tacrolimus 150  $\mu\text{L}$ , Black currant seed oil 150  $\mu\text{L}$ 씩 주 5회, 4주간 환부에 처치하였다. 지속적인 아토피성 피부염의 유지를 위해 0.2% DNCB(sigma, USA) 용액을 시료 처치 기간 중 주 1회 마우스의 등 부위에 처치하였다.

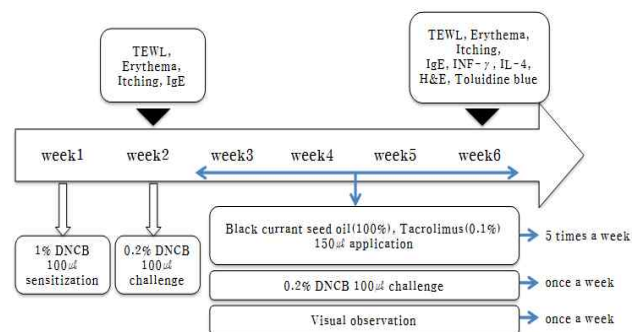


Fig. 1. Scheme of experimental design.

### 4. Itching behavior 관찰

시료에 따른 가려움증의 정도를 관찰하기 위해 마우스가 뒷다리를 이용하여 안면, 목, 등 부위의 피부를 긁는 횟수를 micro-camera를 이용하여 30분간 녹화하여 군별로 비교하였다.

### 5. 피부병변 육안적 관찰

제모 된 등 부위의 피부병변 정도를 보기 위해 주 1회 사진 촬영하였다. 육안으로 관찰하였을 때 각 군의 아토피성 피부염 상태는 홍반, 부종, 가피, 찰과상, 태선화, 건조 등의 증상에 따라 scorad index 평가방법으로 없음(0), 경증(1), 중간(2), 중증(3)으로 판정하였으며, 각 군별로 평균치를 산정하여 분석하였다.

### 6. 경피수분손실량(Transepidermal water loss, TEWL) 측정

시료 처치 전과 실험 종료 후의 마우스의 경피수분손실량을 측정하기 위해 tewameter를 이용하여 동일한 등 부위에 10회 반복하여 비침습 방법으로 측정 후 평균값을 구한 다음 군간 비교, 분석하였다.

7. 흥반도 측정

시료 처치 전과 실험 종료 후의 흥반도를 측정하기 위해 mexameter를 이용하여 마우스의 동일한 등 부위에 5회 반복 비침습 방법으로 측정 후 평균값을 구한 다음 군간 비교, 분석하였다.

8. 혈액 채취

시료 처치 전 안와 정맥총(periorbital plexus)에서 capillary tube를 이용하여 약 100  $\mu$ l의 혈액을 채취하였고, 실험 종료 후 희생 부검 시 심장채혈을 실시하여 혈액을 채취하였다. 안와채혈 혹은 심장채혈을 통해 얻은 혈액을 원심분리하여 혈청을 분리한 다음 분석 시까지 -80°C에서 냉동 보관하였다.

9. 혈액 IgE 측정

혈청 내 IgE 수준은 ELISA(enzyme-linked immunosorbent assay, 효소면역측정법)방법에 의해 정량되었다. 원심분리 후 냉동 보관 중인 혈청을 측정 전에 해동하여, IgE ELISA Kit(Sibayagi, Japan)를 이용하여 IgE 농도 측정을 하였다. 항체가 코팅된 well에 50  $\mu$ l씩 sample과 IgE standard solution을 각각 넣어 20~25°C 조건에서 2시간 배양 시킨 후 biotin-conjugated anti-IgE 항체를 50  $\mu$ l씩 넣어 20~25°C 조건에서 2시간 배양 시켰다. 이후, HRP(horse radish peroxidase)-conjugated avidin을 50  $\mu$ l씩 넣어 20~25°C 조건에서 1시간 배양 시킨 후, 마지막으로 chromogenic substrate reagent를 50  $\mu$ l씩 넣어 20~25°C 조건에서 20분간 배양 시키고 ELISA reader를 이용해 450nm 파장으로 흡광도를 측정하였다.

10. 통계처리

SPSS 21.0 for windows(SPSS Inc., USA) 통계프로그램을 이용하여 일원배치분산분석(one-way ANOVA)을 실시하였다. 각 그룹 간의 차이를 검정하기 위하여 Duncan's multiple range test를 이용하여 사후분석을 실시하였다. 본 연구의 통계학적인 유의성 검증 수준은 p<0.05로 하였다.

결 과

1. Itching behavior 관찰 결과

시료 처치 전과 실험 종료 후에 30분간 동영상 촬영하여 마우스가 뒷다리를 이용해 안면, 목, 등 부위의 피부를 긁는 횟수를 측정한 결과는 Table 3과 같다. 아토피성 피부염을 유도하지 않은 정상군에서는 긁는 횟수가 증가되지 않았고, 양성대조군과 실험군에서 시료처치 4주 후 대조군에 비해 유의하게 감소하였다(p<0.05).

2. 피부병변 육안적 관찰 결과

제모한 등 부위 피부병변을 육안으로 관찰한 결과는 Table 4, Fig. 2와 같다. 정상군에서는 실험기간 동안 피부병변이 관찰되지 않았고 아토피성 피부염을 유발 시킨 대조군, 양성대조군, 실험군에서는 흥반, 부종, 가피형성이 관찰된 것으로 보아 아토피성 피부염의 유발이 잘 되었음을 보여준다. 양성대조군과 실험군에서 시료 처치 2주차부터 서서히 회복되는 양상을 보이며 시료 처치 4주차에는 거의 정상상태에 가까운 정도로 육안적 변화를 보였다.

Table 3. Scratching frequencies during the experiment period

Weeks	Groups			
	N	C	PC	E
0	7.17±3.87	11.89±5.86	9.67±3.44	7.83±2.79
4	7.67±4.18 <sup>a</sup>	13.29±4.61 <sup>b</sup>	5.17±3.43 <sup>a</sup>	3.83±1.72 <sup>a*</sup>

Unit: number. Values are mean±SD of 6 mice. Test compounds were topically applied to the backs of BALB/c mice for 4weeks. N : Non treat, C : DNCB, PC : DNCB + tacrolimus, E : DNCB + Black currant seed oil. Values with different superscripts are significantly different (p<0.05) by ANOVA and Duncan's multiple range tests. The asterisk (\*) indicates significantly different (p<0.001) from the control group.

Table 4. Comparison in scorad index during experimental period in mice

Weeks	Groups			
	N	C	PC	E
0	1.2±0.8 <sup>a</sup>	5.5±0.5 <sup>ab</sup>	5.7±1.6 <sup>d</sup>	5.3±0.8 <sup>c</sup>
1	1±0.6 <sup>a</sup>	6.2±0.8 <sup>b</sup>	4±1.5 <sup>c</sup>	4.5±0.5 <sup>b</sup>
2	0.8±0.8 <sup>a</sup>	5.7±0.5 <sup>ab</sup>	3.2±1 <sup>bc</sup>	3.3±0.8 <sup>a</sup>
3	1.2±0.4 <sup>a</sup>	5.3±0.5 <sup>ab</sup>	2.5±0.5 <sup>ab</sup>	3±0.6 <sup>a</sup>
4	0.8±0.4 <sup>a</sup>	5±0.9 <sup>a</sup>	1.5±0.8 <sup>a</sup>	2.8±0.4 <sup>a</sup>

Unit: number. Values are mean±SD of 6 mice. Test compounds were topically applied to the backs of BALB/c mice for 4weeks. N : Non treat, C : DNCB, PC : DNCB + tacrolimus, E : DNCB + Black currant seed oil. Values with different superscripts are significantly different (p<0.05) by ANOVA and Duncan's multiple range tests. The asterisk (\*) indicates significantly different (p<0.001) from the control group.

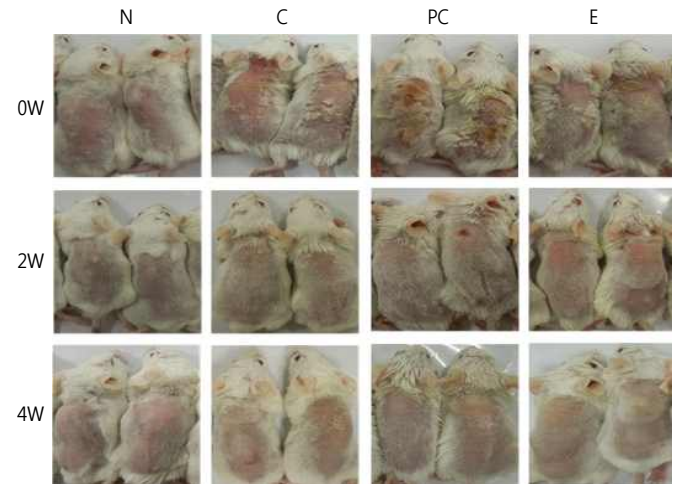


Fig. 2. Clinical skin features and severity of DNCB-induced atopic dermatitis in balb/c mice. N : Non treat, C : DNCB, PC : DNCB + tacrolimus, E : DNCB + Black currant seed oil

3. 경피수분손실량(Transepidermal water loss, TEWL) 측정 결과

시료 처치 전과 종료 후의 경피수분손실량을 측정한 결과는 Table 5와 같다. 정상군에 비해 아토피성 피부염을 유발한 군에서 높은 수치를 보였고, 시료 처치 종료 후 모든 군에서 감소하였으며 대조군에 비해 양성대조군과 실험군에서 유의하게 감소하였다(p<0.05).

Table 5. Changes in transepidermal water loss of BALB/c mouse skin in 4 weeks experiment of Black currant seed oil

Weeks	Groups			
	N	C	PC	E
0	18.82±3.67 <sup>a*</sup>	65.94±7.98 <sup>b</sup>	76.43±11.53 <sup>b</sup>	70.36±11.19 <sup>b</sup>
4	9.96±3.68 <sup>a*</sup>	28.09±5.62 <sup>c</sup>	14.97±4.4a <sup>*</sup>	20.8±4.98 <sup>b</sup>

Unit: g/hm<sup>2</sup>, Values are mean±SD of 6 mice. Test compounds were topically applied to the backs of BALB/c mice for 4weeks. N : Non treat, C : DNCB, PC : DNCB + tacrolimus, E : DNCB + Black currant seed oil, Values with different superscripts are significantly different (p<0.05) by ANOVA and Duncan's multiple range tests. The asterisk (\*) indicates significantly different (p<0.001) from the control group.

#### 4. 흥반도 측정

시료 처치 전과 종료 후의 흥반도를 측정된 결과는 Table 6과 같다. 시료 처치 전 정상군에 비해 아토피성 피부염을 유발한 군에서 높은 수치를 보였고 대조군, 양성대조군, 실험군 간에 유의한 차이는 없었으며, 시료 처치 종료 후 대조군에 비해 양성대조군, 실험군은 유의하게 감소하였다(p<0.001).

Table 6. Changes in erythema index of BALB/c mouse skin in 4weeks experiment of Black currant seed oil

Weeks	Groups			
	N	C	PC	E
0	232.67±55.06 <sup>a*</sup>	333.02±35.07 <sup>b</sup>	335.80±15.81 <sup>b</sup>	314.73±14.73 <sup>b</sup>
4	210.47±17.09 <sup>a*</sup>	346.66±10.65 <sup>d</sup>	249.93±24.71 <sup>b*</sup>	283.13±32.24 <sup>*</sup>

Unit: AU(arbitrary unit), Values are mean±SD of 6 mice. Test compounds were topically applied to the backs of BALB/c mice for 4weeks. N : Non treat, C : DNCB, PC : DNCB + tacrolimus, E : DNCB + Black currant seed oil, Values with different superscripts are significantly different (p<0.05) by ANOVA and Duncan's multiple range tests. The asterisk (\*) indicates significantly different (p<0.001) from the control group.

#### 5. 혈액 IgE 측정 결과

혈청 내 IgE 수준의 변화를 측정된 결과 Table 7과 같다. 아토피성 피부염을 유발 후 정상군에 비해 IgE 수준이 약 10배 정도 급격하게 상승하였고, 군 간의 차이는 크게 없었다. 시험 4주 후 대조군과 실험군의 IgE 수준이 증가하였으나, 대조군에 비해 실험군의 IgE 수준이 경미하게 증가하였다. 양성대조군의 IgE 수준은 감소하였으며, 정상군은 큰 변화가 없었다.

Table 7. Changes in IgE level change of mouse serum

Weeks	Groups			
	N	C	PC	E
0	925.2±840.42 <sup>a*</sup>	9389.7±2698.85 <sup>b</sup>	8529.0±3697.15 <sup>b</sup>	9093.3±2996.23 <sup>b</sup>
4	891.0±584.28 <sup>a*</sup>	20943.6±3313.21 <sup>d</sup>	7662.6±3039.89 <sup>b*</sup>	14069.4±2113.47 <sup>*</sup>

Unit: ng/ml, Values are mean±SD of 6 mice. Test compounds were topically applied to the backs of BALB/c mice for 4weeks. N : Non treat, C : DNCB, PC : DNCB + tacrolimus, E : DNCB + Black currant seed oil, Values with different superscripts are significantly different (p<0.05) by ANOVA and Duncan's multiple range tests. The asterisk (\*) indicates significantly different (p<0.001) from the control group.

## 고 찰

최근 아토피성 피부염의 발생 원인으로 피부 표피의 구성 성분인 필라그린(filaggrin) 단백질의 구조적 이상, 세라마이드 지질의 이상 등이 만성 염증성 피부염을 유발한다는 근거가 꾸준히 제시되고 있다<sup>18,19</sup>. 아토피성 피부염 환자의 피부 표면장벽의 기능적 이상은 병변부위 뿐 아니라 정상적인 곳에서도 관찰되며, 경피수분손실 면적 또한 정상적인 곳에서도 보이고 있다<sup>20</sup>. 이러한 건조증상은 체

내 불포화지방산이 부족할 경우 나타나며 합성되는 양이 미량이기 때문에 인체 외부에서 공급 되어야 한다.

리놀렌산의 대사 과정을 통하여 감마리놀레산이 생성되며, 생성된 감마리놀레산은 TNF- $\alpha$ , nitric oxide(NO), cyclooxygenase-2(COX-2)의 생성과 배출을 억제하고, 손상된 피부 표면장벽을 회복하여 수분 보유량을 증가시킨다<sup>21-23</sup>. 리놀렌산의 최종 대사산물인 아라키돈산(arachidonic acids)이 COX 효소에 의해 prostaglandin E(PGE)가 생산되고 PGE는 T cell의 증식과 세포사멸 억제, B cell의 증식과 분화를 조절하여 면역반응을 향상시키는 것으로 알려져 있다<sup>24,25</sup>. 음식으로 섭취할 경우 대사과정에서 충분한 PGE의 생성이 어렵고 수명이 짧기 때문에 고 순도의 불포화지방산을 환부에 직접 바르는 것은 매우 효과적일 것이라 생각되어 다량의 불포화지방산이 함유된 Black currant seed oil의 아토피성 피부염 억제에 관한 연구를 실시하였다.

아토피성 피부염은 대표적 증상인 소양감으로 인해 병변부위를 긁어 2차 피부질환을 유발하게 되는데 본 실험에서도 아토피성 피부염을 유발한 군에서 정상군에 비해 긁는 횟수가 증가된 것이 관찰되었다. 시료 처치 4주후 대조군에서는 시료 처치 전보다 긁는 횟수가 증가하였고 양성대조군과 실험군에서는 감소하였다. 항원에 감작될 경우 항원제시세포와 항원이 결합하여 T cell에 항원을 제공하게 되면 T cell이 활성화 하여 IL-4와 같은 cytokine에 의해 B cell이 형질세포로 분화되어 Ig E를 분비하게 되는데, 이때 생성된 IgE가 비만세포의 표면에 부착하여 히스타민(histamine)의 분비로 가려움증, 흥반 등의 알레르기 반응이 일어나게 된다. 본 실험 결과 시료의 처치로 인하여 Ig E의 분비가 감소되어 비만세포에서 분비되는 히스타민을 억제 시켜 소양감을 감소시킨 것으로 보여진다. 이러한 소양감은 피부가 건조할 경우 더욱 심해지며 아토피성 피부염 환자의 경우 표피의 수분보유량이 일반인에 비해 감소되어 있는데 본 연구에서도 앞서 언급한 바와 같이 아토피성 피부염을 유발한 마우스에서 경피수분손실이 정상군에 비해 3배 이상 증가되었고, 4주간 시료를 처치한 결과 대조군에 비해 양성대조군과 실험군에서 유의하게 감소하였다(p<0.05). 흥반도를 측정된 결과 아토피성 피부염 유도 후 정상군을 제외한 모든 군에서 높은 수치를 보였고, 시료 처치 종료 후에는 정상군에서는 큰 변화가 관찰되지 않았으며 대조군에서는 처치 전보다 증가하였다. 양성대조군과 실험군에서는 시료 처치 4주후 대조군에 비해 유의하게 감소하였으며(p<0.001), 시료 처치 전과 후의 차이를 검증한 결과 대조군에 비해 양성대조군과 실험군에서 유의하게 감소하였다(p<0.05). 이 같은 결과는 Black currant seed oil이 표피의 수분 보유량을 높여 표면 장벽을 보호하는데 기인한 것으로 사료된다. 아토피성 피부염의 중증도를 임상적으로 평가하는 방법으로 scorad index를 사용하는데 흥반, 부종, 가피, 찰과상, 태선화, 건조 등과 같은 증상을 점수화 한 것으로 15~18점일 때 가장 심한정도로 보고 있다. 본 연구 결과 아토피성 피부염 유도 직후에는 위와 같은 증상들이 관찰 되었고, 시료 처치 2주부터 모든 군에서 호전되는 양상을 보이며 4주차에 양성대조군과 실험군에서는 정상과 가까운 육안적 변화를 보였다. 대조군에서도 회복되긴 했으나 약간의 흉터가 관찰되었다.

아토피성 피부염은 IgE 매개성으로 혈청 내 IgE가 증가되어 있

는 것으로 보고되고 있으며 IgE의 수준은 아토피성 피부염의 염증 반응에 매우 중요한 지표로 여겨진다. 항원이 인체에 들어오면 항원 제시세포(antigen presenting cell), 랑게르한스세포(Langerhans cell)가 활성화 되어 항원의 정보가 제시되고 T cell은 Th2로 분화 되어 IL-4, IL-13 등의 cytokine의 생성을 유도한다<sup>27)</sup>. 이러한 cytokine은 immunoglobulin isotype 전환으로 B cell을 자극하여 IgE가 증가하게 된다. 이러한 기전은 본 연구에서도 DNCB의 처치로 혈중 IgE가 정상군에 비해 10배 이상 증가한 것을 알 수 있었으며 시료 처치 4주후 정상군에서는 큰 변화가 관찰되지 않았고 대조군과 실험군에서는 시료 처치 전 보다 증가하는 양상을 보였다. 이는 시료 처치 중에도 자연치유의 오차를 피하기 위해 주 1회 DNCB를 처치한 것이 아토피성 피부염을 유지시킨 것으로 보인다. 그러나 대조군과 비교했을 때 실험군과 양성대조군은 유의한 감소를 보였다( $p < 0.001$ ).

## 결 론

본 연구에서는 Black currant seed oil의 아토피성 피부염 억제 효과를 입증하기 위하여 DNCB으로 유도된 BALB/c 마우스에 Itching behavior 관찰, 피부병변의 육안적 관찰, 경피수분손실량 측정, 흥반도 측정, 혈액 내 IgE 측정을 하였다. Black currant seed oil은 이 기능성 소재로서의 적용 가능성을 확인하기 위하여 아토피성 피부염 억제 효과를 시험하였다. Black currant seed oil은 DNCB으로 유도한 아토피성 피부염에서 경피수분손실량과 흥반도를 감소시켰고, 육안적 피부병변의 회복 및 긁는 횟수가 줄어들어 피부 표면장벽을 강화하여 물리적인 자극을 완화하였으며 혈청 내 IgE를 효과적으로 감소시키는 결과를 보이므로 아토피성 피부염 억제 원료로 활용 가능 하리라 사료된다.

## References

- Boguniewicz, M., Leung, D.Y.M. Atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 117: 475-480, 2006.
- Leung, D.Y.M., Bieber, T. Atopic dermatitis. *Lancet* 361: 151-160, 2003.
- Su, R.C., Becker, A.B., Kozyrskyj, A.L., HayGlass, K.T. Epigenetic regulation of established human type 1 versus type 2 cytokine responses. *J Allergy Clin Immunol* 121: 57-63, 2008.
- Novak, N., Bieber, T. Allergic and nonallergic forms of atopic diseases. *J Allergy Clin Immunol* 112: 252-262, 2003.
- Kim, M.A., Son, H.U., Nam, D.Y., Cha, Y.S., Shin, Y.K. Inhibitory Effect of Angelica keiskei Extract in an Atopic Dermatitis Animal Model. *Korean J Food Preserv* 19: 792-798, 2012.
- Jartti, T., Burmeister, K.A., Seroogy, C.M., Jennens-Clough, M.L., Tisler, C.J., Salazar, L.P., DaSilva, D.F., Evans, M.D., Vrtis, R.F., Wallace, P.K., Ruiz-Perez, B., Gangnon, R.E., Lemanske, R.F.Jr., Gern, J.E. Association between CD4+CD25high T cells and atopy in children. *J Allergy Clin Immunol* 120: 177-183, 2007.
- Leung, D.Y.M., Soter, N.A. Cellular and immunologic mechanisms in atopic dermatitis. *J Am Acad Dermatol* 44: 1-12, 2001.
- Wills-Karp, M. Interleukin-13 in asthma pathogenesis. *Curr Allergy Asthma Rep* 4: 123-131, 2004.
- Ainley-Walker, P.F., Patel, L., David, T.J. Side to side comparison of topical treatment in atopic dermatitis. *Arch Dis Child* 79: 149-152, 1998.
- Hanifin, J.M., Cooper, K.D., Ho, V.C., Kang, S., Krafchik, B.R., Margolis, D.J., Schachner, L.A., Sidbury, R., Whitmore, S.E., Sieck, C.K., Van Voorhees, A.S. Guidelines of care for atopic dermatitis. *J Am Acad Dermatol* 50: 391-404, 2004.
- Hoare, C., Li Wan, P.A., Williams, H. Systematic review of treatments for atopic eczema. *Health Technol Assess* 4: 1-191, 2000.
- Artemis, P.S. Omega-3 fatty acids and cardiovascular disease: the epidemiological evidence. *Environ Health Prev Med* 6: 203-209, 2002.
- Chung, S., Kong, S., Seong, K., Cho, Y. Gamma-linolenic acid in borage oil reverses epidermal hyperproliferation in guinea pigs. *J Nutr* 132: 3090-3097, 2002.
- Olsen, S.F., Østerdal, M.L., Salvig, J.D., Mortensen, L.M., Ryttrer, D., Secher, N.J., Henriksen, T.B. Fish oil intake compared with olive oil intake in late pregnancy and asthma in the offspring: y of registry-based follow-up from a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr* 88: 167-175, 2008.
- Noh, K.H., Jang, J.H., Min, K.H., Chinzorig, R., Lee, M.O., Song, Y.S. Suppressive Effect of Green Tea Seed Coat Ethyl Acetate Fraction on Inflammation and Its Mechanism in RAW264.7 Macrophage Cell. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40: 625-634, 2011.
- Chang, C.S., Sun, H.L., Lii, C.K., Chen, H.W., Chen, P.Y., Liu KL. Gamma-linolenic acid inhibits inflammatory responses by regulating Nf- $\kappa$ B and AP-1 activation in lipopolysaccharide -induced RAW 264.7 macrophages. *Inflammation* 33: 46-57, 2010.
- Linnamaa, P., Savolainen, J., Koulu, L., Tuomasjukka, S., Kallio, H., Yang, B., Vahlberg, T., Tahvonon, R. Blackcurrant seed oil for prevention of atopic dermatitis in newborns: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Clin Exp Allergy* 40: 1247-1255, 2010.

18. Akdis, C.A., Akdis, M., Bieber, T., Bindslev-Jensen, C., Boguniewicz, M., Eigenmann, P., Hamid, Q., Kapp, A., Leung, D.Y.M., Lipozencic, J., Luger, T.A., Muraro, A., Novak, N., Platts-Mills, T.A.E., Rosenwasser, L., Scheynius, A., Simons, F.E.R., Spergel, J., Turjanmaa, K., Wahn, U., Weidinger, S., Werfel, T., Zuberbier, T. Diagnosis and treatment of atopic dermatitis in children and adults: european academy of allergology and clinical immunology/American academy of allergy, asthma and immunology/PRACTALL consensus report. *J Allergy Clin Immunol* 118: 152-169, 2006.
19. Weidinger, S., Rodríguez, E., Stahl, C., Wagenpfeil, S., Klopp, N., Illig, T., Novak, N. Filaggrin mutations strongly predispose to early-onset and extrinsic atopic dermatitis. *J Invest Dermatol* 127: 724-726, 2007.
20. Kim, D.H., Lee, K.J., Qi, X.F., Lee, Y.M., Yoon, Y.S., Kim, J.L., Chang, B.S., Ryang, Y.S. The Effects of Magnesium Rich Sea Mineral Water on Atopic Dermatitis-like Skin Lesions in Hairless Mice. *Korean J Microscopy* 38: 167-174, 2008.
21. Dooper, M.M.B.W., Riel, B.V., Graus, Y.M.F., M'Rabet, L. Dihomo- $\gamma$ -linolenic acid inhibits tumour necrosis factor- $\alpha$  production by human leucocytes independently of cyclooxygenase activity. *Immunology* 110: 348-357, 2003.
22. Furse, R.K., Rossetti, R.G., Seiler, C.M., Zurier, R.B. Oral administration of gammalinolenic acid, an unsaturated fatty acid with anti-inflammatory properties, modulates interleukin-1[ $\beta$ ] production by human monocytes. *J Clin Immunol* 22: 83-91, 2002.
23. Yen, C.H., Dai, Y.S., Yang, Y.H., Wang, L.C., Lee, J.H., Chiang, B.L. Linoleic acid metabolite levels and transepidermal water loss in children with atopic dermatitis. *Ann Allergy Asthma Immunol* 100: 66-73, 2008.
24. Kim, K.B., Park, J.S., Jeong, J.M. Effects of Phyto-Extract Mixture (PEM381) in Type I Allergic Reaction-Induced Mice. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36: 1377-1384, 2007.
25. Calder, P.C., Yaqoob, P., Thies, F., Wallace, F.A., Miles, E.A. Fatty acids and lymphocyte functions. *Br J Nutr* 87: 31-48, 2002.