

아토피성피부염유발제제(BMAC)를 이용한 Atopy dermatitis NC/Nga mouse model에서 아토피 크림과 자운고(紫雲膏)에 대한 피부발진 억제효과

여의주·한재경*·김윤희

Topical Application of Atopy cream-Jawoongo ointment(A-J) of Ointment Inhibits Biostir mite antigen cream induced Atopy Dermatitis by Local Action in NC/Nga Mice

Yeo Eui-Ju, Han Jae-Kyung, Kim Yun-Hee

Dept. of Pediatrics, College of Oriental Medicine, Daejeon University

Wished to examine closely effect that Atopy cream-Jawoongo ointment (A-J) used to atopy dermatitis disease patient get in atopy eruption control experimentally.

In this research A-J ointment as treatment result to a NC/Nga mouse by BMAC ointment, clinical skin severity score decreased remarkably than control group. Thus, NC/Nga mice suffered from dermatitis very similar to human AD with IgE hyperproduction. Specially, result that measure IgE and IgG1 level in serum decreased remarkably than control group.

Key words : BMAC, atopic dermatitis, NC/Nga mouse, Jawoongo

I. 서 론

아토피 피부염은 재발이 잦고 만성으로 경과하는 흔한 염증성 질환이며 습진의 일종으로 피부 소양증에 대한 역치가 낮아 심한 소양감을 유발하고 이로 인한 2차적인 습진이 형성되는 질환이다¹⁾.

최근 산업의 발달과 함께 약 80,000여 개의 화학물질이 상업적으로 사용되고 있으며 (미국 NTP 자료, 2003), 각종 생물 및 생물화학적 물

질들의 국제교류가 증대되고 이로 인해 각종 유해가능물질 (신종 마약류, 식품첨가물 및 산업환경화학물질)등이 급격히 증가하고 있어 면역계 이상으로 나타나는 아토피성 질환이나 알레르기성 질환이 증가되고 있다. 문명병으로 알려진 아토피 피부염이 우리나라도 꾸준히 증가하고 있고 영유아의 경우 이병율이 10% 이상일 것으로 추정하고 있다

아토피 피부염 환자에서 소양증은 환자로 하여금 반복적으로 병변을 긁게 하여 찰상과 태선화 등의 2차적인 병변을 유발시킨다. 따라서 신속하게 소양증을 경감시키는 것이 중요한 치료 목표

* 대전대학교 한의과대학 소아과학교실
· 교신저자 : 한재경 · E-mail : hanjk0@hanmail.net

가 되며 이를 위해 다양한 치료 방법들이 시도되고 있으나 치료에 잘 반응하지 않는 경우가 많다²⁾.

아토피 피부염의 치료에 사용되는 스테로이드 외용제는 보습제, 식이 조절, 항히스타민제, 항생제와 함께 흔히 사용된다. 그러나 이를 장기간 사용했을 때 피부의 위축이나 소아 환자에서 성장 지연의 가능성 등 각종 부작용이 문제되고 있어 새로운 치료에 대한 필요성이 증가하고 있다³⁻⁵⁾.

임상에서 사용되는 자운고에 대한 실험적 연구로는 이⁶⁾와 어⁷⁾등의 자운고의 生肌作用 및 창상 치료 효과에 대한 것이 있으며 이 등⁸⁾이 紫雲膏 加金銀花가 창상에 미치는 효과에 대하여 보고한 바가 있으나 아토피 피부염에 대한 치유 효과에 대한 평가는 찾아볼 수 없었다. 또한 최근 널리 이용되는 방법인 아로마 요법을 이용한 아로마 크림은 아로마 오일이 가지는 자연치유적 효능을 이용한 피부관리법으로 항염작용과 소독작용이 아토피성 피부의 염증을 줄여주는 것⁹⁾으로 알려져 있으나 이에 대한 실험적 연구 또한 부족한 실정이다.

이에 본 연구에서는 아토피 크림과 자운고(이하 A-J) 도포 후 아토피 피부염 치유에 미치는 효과를 평가하기 위해 12주령의 발진된 NC/Nga mouse의 등부위에 A-J를 도포하였고 아토피 발진 억제에 미치는 영향을 실험적으로 규명하고자 in vivo에서 NC/Nga mouse의 혈청 중 IgE 수준과 clinical score 및 total IgG 수준을 분석하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 실험

1. 재료

1) 시약 및 기기

(1) 시약

본 실험에 사용된 시약은 diethyl pyrocarbonate(DEPC), 3-4, 5-dimethyl-thiazol-2, 5-carboxymethoxyphenyl-2, 4-sulfophenyl-2H-tetrazolium(MTS), 2, 7, -dichloro-dihydrofluorescein diacetate (DCFH-DA), complete adjuve-

nt, chloroform, collagenase, RPMI-1640 배양액, isopropanol, 적혈구 용혈액(RBC lysis solution), ethidium bromide(EtBr), dulbecco's phosphate buffered saline(D-PBS), formaldehyde, lamide, magnesium chloride(MgCl₂)는 Sigma사 (U.S.A.) 제품을 사용하였으며 우태아혈청(fetal bovine serum, FBS)은 Hyclone사(Logan, U.S.A.) 제품을, anti-CD3-PE(phycoerythrin), anti-CD4-FITC(fluorescein isothiocyanate), anti-Gr1-PE, anti-CD8-FITC, anti-CD25-PE, anti-CD28-PE, anti-CD11b-FITC, anti-IgE-FITC anti-B220-PE, anti-CD69-FITC, propidium iodide(PI)와 RNase는 Pharmingen사(Torreyana, U.S.A.) 제품을, rhIL-1 β , rhTNF- α 는 R & D system사(Minneapolis, U.S.A.) 제품을 사용하였으며 기타 일반 시약은 특급 시약을 사용하였다.

(2) 기기

본 실험에 사용된 기기는 열탕추출기(대웅, Korea), rotary vacuum evaporator(Büchi B-480, Switzerland), freeze dryer(EYELA FDU-540, Japan), CO₂ incubator(Forma scientific Co., U.S.A.), clean bench(Vision scientific Co., Korea), autoclave(Sanyo, Japan), micro-pipet(Gilson, France), water bath(Vision scientific Co., Korea), vortex mixer(Vision scientific Co., Korea), spectrophotometer (Shimadzu, Japan), centrifuge(Sigma, U.S.A.), deep-freezer(Sanyo, Japan), thermocycler system(MWG Biotech., Germany), ice-maker (Vision scientific Co., Korea), homogenizer(OMNI, U.S.A.), plate shaker(Lab-Line, U.S.A.) 및 ELISA reader(Molecular Devices, U.S.A.) 등을 사용하였다.

2) 동물

암컷 8주령의 SPF NC/Nga mouse (15-20g)는 Charles River Japan (Yokohama, Japan)사에서 공급받았다. 동물은 실험당일까지 고행사로

(항생제 무첨가, 삼양사료 Co.)와 물을 충분히 공급하고 온도 22±2℃, 습도 55±15%, 12시간(light-dark cycle)의 환경에서 1주간 적응시킨 후 실험에 사용하였다.

3) 자운고 조제

본 실험에 사용한 자운고의 구성은 『春林軒膏方便覽』¹⁰⁾에 준하였으며, 사용한 약재들은 대전대학교 부속 한방병원에서 구입하여 정선하여 사용하였고 그 내용과 1 g 당 조성은 Table 1과 같다.

Table 1. Composition of Jawoongo

韓藥名	生藥名	用量(g)
紫根(草)	Lithospermi Radix	0.074
當歸	Angelicae Gigantis Radix	0.049
胡麻油	Sesameseed Oil	0.613
蜜蠟	Bees Wax	0.245
豚脂	Swine Oil	0.019
Total		1.000

4) 아토피 크림 조제

본 실험에 사용된 아토피 크림의 아로마 오일은 Fine Korea. Corp.; Cosnuvo #564-11, Gajwa-Dong, Seo-Gu, Inchon, Korea에서 구입하여 사용하였으며 그 배합은 Table 2와 같다.

Table 2. Composition of Atopy cream

Aroma-Oil	Drop
Tea-tree	10
Lavender	7
Chamomile	3
Base Cream	20ml

2. 방법

1) 피부염 유도 및 시료처리

7주령의 NC/Nga mouse를 1주일 동안 적응시킨 후 미리 atopy dermatitis가 발진된 18주령의 NC/Nga mouse와 2주간 같은 공간에서 동시 사육하여 항원감작을 하였다. 2주 후 눈에서 capillary

관을 이용하여 100 μl의 혈액을 채혈한 후 마취제인 chloral hydrate (10%)로 마취한 후 귀와 등 쪽 목 부위를 깨끗하게 제모한 후 피부의 미세 상처가 치유되도록 24시간 방치하였다. 그리고 중앙실험동물에서 제공하는 Biostir mite antigen cream (BMAC)은 Dermatophagoides farinae crude extract (mite antigen, lyophilized)를 진드기 항원으로 제조된 것으로 진드기 항원을 0.5% TWEEN 20이 포함된 ointment base로 제작되었다. BMAC는 1주에 2회 3주간 등 부위 및 목 부분에 고르게 도포하였고 도포 2~3시간 전에 4% SDS 용액을 분무하여 피부층을 파괴하였다 (scheme 1). 2주후 등부분에 피부염이 충분히 유발되면서 긁는 행동이 심화되면 육안 평가를 실시하였다.

2) Skin clinical index

NC/Nga mouse의 피부염은 아토피성 피부염에서 일반적으로 사용되는 Yamamoto M의 방법을 약간 변형하여 임상적 육안 평가법을 이용하였다¹⁹⁾. BMAC를 바르고 약물 투여 종료 후 15주령에서 육안평가를 실시하였다. 육안평가 항목은 erythema/hemorrhage(소양행동을 동반한 홍반), dryness/scarring(인설 및 가피), edema(부종), excoriation/erosion(표피박탈/미란), lichenification(태선화) 5가지 항목으로 하고, 육안평가 결과는 각각 평가한 점수의 총 합으로 나타냈다. 각각의 항목은 없음 (0), 약함 (1), 중증도 (2), 심함 (3)으로 채점하였으며 최소 0 점에서, 최고 15 점사이의 점수를 측정하였다.

3) 약물처리 및 치료평가

BMAC 도포 후 1-2주 후 동시에 매일 각각 A-J를 12주부터 15주까지 4주간 오전 11시에 1회 등부분에 골고루 도포 하였다. 또한 양성 대조 약물로 FK506 (tacrolimus) 0.3%를 매주 5회 발진된 등부위에 도포하였다. 그리고 최종 15주째에 관능평가를 실시한 다음 혈액을 채혈하고 등 부위의 피부를 절제하여 10% 포르말린 용액에 담아 보관하였다.

4) 채혈 및 IgE 와 IgG1 측정

NC/Nga mouse의 눈에서 10주, 12주, 15주에 capillary 관을 이용하여 약 100 μ l의 혈액을 채혈한 후 원심분리기 6, 500 rpm에서 20분간 원심분리한 후 30 μ l의 혈청을 분리하였고 혈청은 취하여 -70 $^{\circ}$ C에 냉동 보관하였다. NC/Nga mouse의 혈청 내 IgE와 IgG1농도 측정은 enzyme-linked immuno-sorbent assay로 IgE 수준을 측정하였다. 각 well에 NC/Nga mouse에서 8주, 12주, 그리고 16주에 채혈한 혈청 5 μ l (1/10 dilution)와 dilution buffer 45 μ l를 혼합하여 각 well에 분주하고, 2시간 동안 25 $^{\circ}$ C 실온에서 방치한 후 2회 washing 완충용액으로 세척한 다음 antibody biotin-IgE conjugated를 넣고 2시간 방치하였다. 다시 2회 수세 후 완충용액으로 세척한 다음 antibody Avidin-HRP conjugated 100 μ l를 처리하고 1시간 실온에서 방치한 후 다시 세척하였다. TMB 기질을 100 μ l씩 분주하고 암소에서 30분간 방치한 후 100 μ l의 stop 용액을 처리한 후 ELISA reader 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

3. 통계처리

다양한 실험으로부터 얻은 결과는 mean \pm standard error로 기록하였고, 유효성 검증은 Student's T-test 분석방법을 이용하여 결정하였다.

Ⅲ. 성 적

1. BMAC를 이용한 아토피피부발진 유발

12주령의 NC/Nga mouse의 등부위를 4% SDS용액을 분무하고 아토피성 피부염 유발제제(BMAC)를 1주에 2회 2주간 도포하기 전과 후의 사진으로 아토피성 피부염 유발제제를 2주간 도포한 사진에서는 소양행동을 동반한 홍반, 부종, 인설, 가피, 태선화 등의 증상이 뚜렷하게 확인되었다. 피부발진이 일어난 18주된 AD-NC/Nga와 2주간 같은 cage에서 동시 사육한 실험동물에서

도 약 80% 정도가 mite 크럼 도포 후 피부발진이 의미 있게 유도되었다.

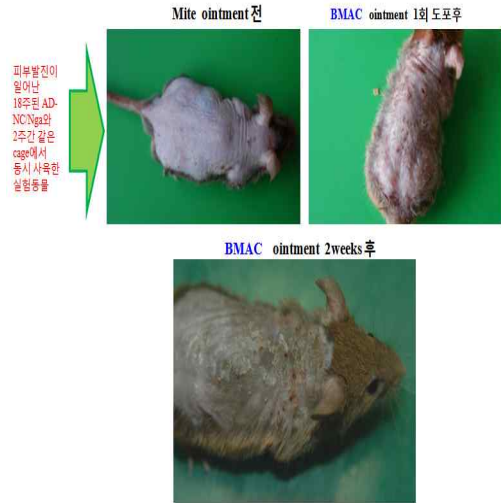


Fig.1. Atopic dermatitis-like skin lesions induced in NC/Nga mice by BMAC

Skin features of NC/Nga mice after 2 weeks BMAC application and Typical photograph of each group

2. BMAC를 이용한 아토피피부발진 유발 및 A-J 도포 2주째

Fig.2에서 같이 Dermatophagoides farinae crude extract (진드기 항원, mite extract, lyophilized, BMAC)를 NC/Nga mouse에 3주간 도포하고 약물 도포 2주 후 등 피부를 사진으로 촬영한 것으로 소양행동을 동반한 홍반, 부종, 인설, 가피, 태선화 등의 증상이 대조군(control 1-2)에서 확인되었다. 0.3%의 FK506과 A-J 도포군은 대조군에 비하여 피부 발진이 줄어들고 있는 상태였다.

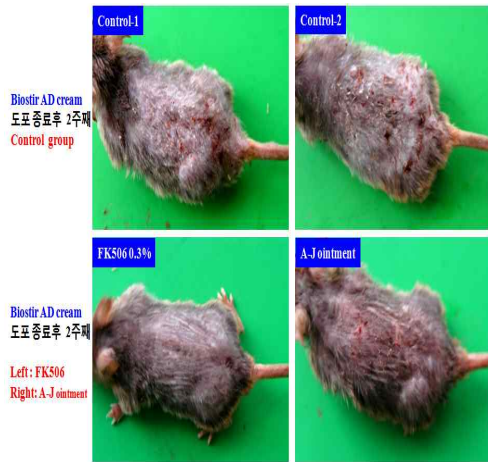


Fig.2. Topical application of FK506 or A-J ointment of dermatitis in NC/Nga mice for 2 weeks.

Shown are back of BMAC-ointment NC/Nga mice (control 1-2), BMAC plus FK506 (0.3%)-ointment NC/Nga mice and BMAC plus A-J (200 ul/mouse)-ointment NC/Nga mice for 2 weeks.

3. BMAC를 이용한 아토피피부발진 유발 및 A-J 도포 3주 째

Fig.3에서 같이 BMAC를 도포하지 않은 A의 NC/Nga mouse는 피부발진이 전혀 없었고 3주간 mite-Biosfir를 도포하고 최종 5주 후 B는 등 피부에 소양행동을 동반한 홍반, 부종, 인설, 가피, 태선화 등의 증상이 나타났다. C는 0.3%의 FK506을 도포한 것으로 대조군에 비하여 현저하게 피부 발진이 줄어 정상군에 가깝게 억제되었다. 또한 D는 A-J를 3주간 매일 도포한 실험군으로 대조군에 소양행동을 동반한 홍반, 부종, 인설, 가피, 태선화 등이 감소한 것을 알 수 있다. 피부색이 약간 홍조를 띠는 것은 한방연고의 색이 적색을 띠기 때문이다.

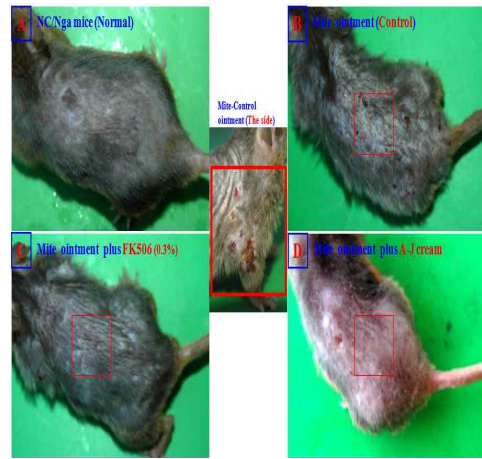


Fig.3. Topical application of FK506 or A-J ointment of dermatitis in NC/Nga mice for 3 weeks.

Shown are back of BMAC-ointment NC/Nga mice (control 1-2), BMAC plus FK506 (0.3%)-ointment NC/Nga mice and BMAC plus A-J (200 ul/mouse)-ointment NC/Nga mice for 3 weeks.

4. Clinical skin severity

Fig.4에서 보는 바와 같이 BMAC를 NC/Nga mouse에 3주간 도포하고 최종 5주후 등 피부에 나타난 소양행동을 동반한 홍반, 부종, 인설, 가피, 태선화 등의 단계를 0 (none), 1 (mild), 2 (moderate), 3 (severe)으로 개체마다 평가 기록하여 피부발진 점수로 평가한 결과 대조군의 skin clinical score는 mite extract를 도포하지 않은 정상군에 비하여 10배 이상 skin clinical score 값이 증가를 나타내었고 FK506 0.3% 도포군은 대조군에 비해 5배 이상 감소를 나타내었고 ($p < 0.001$) A-J 도포군은 대조군에 비해 skin clinical score가 유의성 있는 감소를 나타내었다 ($p < 0.05$).

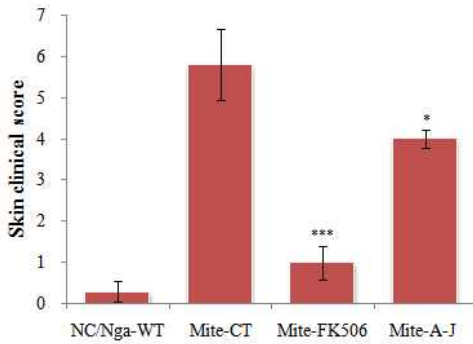


Fig. 4. Clinical skin features and severity of atopic dermatitis skin lesions in NC/Nga mouse induced by BMAC.

Shown are back of BMAC-ointment NC/Nga mice (control), BMAC plus FK506 (0.3%)-ointment NC/Nga mice and BMAC plus A-J (200 μ l/mouse)-ointment NC/Nga mice for 2 weeks. A total clinical severity score for AD-like lesions was defined as the sum of the individual scores graded as 0 (none), 1 (mild), 2 (moderate) and 3 (severe) for each of five signs and symptoms (erythema/hemorrhage, scarring/dryness, edema, excoriation/erosion and lichenification) on the three parts of the body: ear, face and head and back.

5. 혈청 IgE와 IgG1에 미치는 영향

Fig.5A에서 보는바와 같이 IgE의 양은 8주령 NC/Nga mouse에서 자연적으로 증가가 되고 mite extract를 도포한 대조군은 15주에서 mite extract를 도포하지 않은 wide type 군과 차이가 없이 IgE 수준이 증가되었다. 그리고 4주간 양성대조군인 FK506과 A-J 도포군은 12주 이후 감소하여 15주에서는 대조군에 혈장내 IgE 수준이 유의성 있게 감소를 나타내었다($p < 0.01$). 그리고 Fig.5B는 혈장내 IgG1의 수준(level)은 B세포가 IL-4의 반응으로 분화되어 IgE가 분비될 때 같이 증가되는 Ig이다. 연구에서 혈장내

IgG1의 수준은 양성대조군인 FK506도포군이 대조군에 3배 이상 유의성 있게 IgG1 수준이 감소를 나타내었고($p < 0.001$) A-J 도포군은 대조군에 비해 IgG1 수준이 유의성 있게 감소된 모습을 보였다($p < 0.05$).

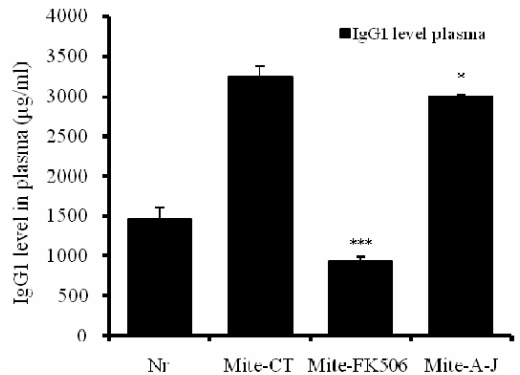
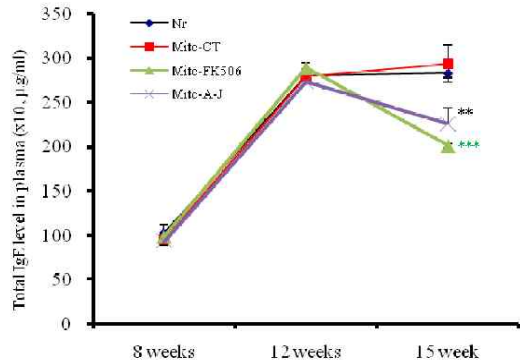


Fig. 5. Serum IgE & IgG1 elevation and development of atopy dermatitis skin lesions-induced in NC/Nga mice by BMAC.

Shown are back of BMAC-ointment NC/Nga mice (control), BMAC plus FK506 (0.3%)-ointment NC/Nga mice and BMAC plus A-J (200 μ l/mouse)-ointment NC/Nga mice for 2 weeks. Blood was collected from the retro-orbital plexus under ether anesthesia and heparinized immediately thereafter. Plasma samples were obtained by centrifugation and stored at -20°C until use.

Total IgE and IgG1 levels were measured by a sandwich ELISA using an ELISA kit (Shibayagi, Japan). Each point represents the mean SE of four mice. Statistically significant value compared with NC/Nga mice group data by T test (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$).

IV. 고찰

자운고는 紫草, 當歸, 胡麻油, 蜜蠟 및 豚脂의 5가지 약재로 구성된 膏藥으로 明代 陳實功의 『外科正宗』¹¹⁾에 潤肌膏라 하여 피부를 滋潤하여 깨끗하게 하는 膏藥을 日本 江戸時代의 의과 의사 華岡이 潤肌膏에 豚脂를 加하여 『春林軒膏方便覽』에 紫雲膏라 처음 命名하였다¹⁰⁾. 潤肌膏는 『外科正宗』에 “治禿瘡乾枯白斑, 作痒髮脫”이라 하였고, 『醫宗金鑑·外科心法要訣』¹²⁾에 “若肌膚燥裂者用潤肌膏擦之甚效”라 하여 白屑風에 의용제로 사용하였으며 현재 임상에서 습진, 건선, 탈모, 백전풍, 알러지성 피부염, 아토피성 피부염 등 광범한 피부질환 치료 연고로 사용되고 있다. 또한 紫雲膏의 조제방법에 대한 연구¹³⁾ 및 피부창상치유효과에 대한 연구는 이미 잘 알려져 있는 바이다⁶⁻⁸⁾.

아토피크림은 아로마 오일을 이용하여 면역세포에 새로운 활성을 주어 병든 세포와 싸워 이기도록 하며, 피부의 수분 증발을 막아 주고, 피부 표면의 습기를 유지해 주며, 피부에 원래 만들어진 보습 효과를 대체시켜주는 효과가 있다. 허브에서 추출한 오일들의 대부분은 강한 항염작용과 소독작용을 하는 알데히드(Aldehyde), 에시드(Acid), 페놀(Phenol), 에테르(Ether)등의 성분을 포함하고 있어 아토피성 피부의 염증을 줄여주는 것으로 알려져 있다¹⁴⁾. Tea tree는 면역체계 및 백혈구를 활성화시키고 가려움증을 완화하며 Lavender는 소독작용, 피부세포의 활성화에 좋은 효과가 있으며 Chamomile은 유효성분 중 카마게렌이 항염증작용이 있고 조직재생과정을 빠르게 하며 알레르기 반응성을 약화시키고 특히

피부점막에 대한 소염작용이 강하며 진정효과가 있는 것으로 알려져 있다⁹⁾.

현재까지 아토피 피부염의 치유 및 2차 감염 방지 등의 목적으로 사용되어지고 있는 연고제들의 대부분은 일정량의 소염제 및 부신 피질스테로이드 등이 함유되어 있고 이중 부신 피질호르몬제제들은 이미 잘 알려진 바와 같이 광범위한 독성을 나타내는 것으로 알려져 있으며 장기간 사용 시 내성을 나타내는 것으로 알려져 있다¹⁵⁾.

전 세계적으로 수많은 사람들이 아토피성 피부질환으로 고통받고 있다. 아토피 피부질환은 주로 유아와 소아에 발생하는 만성적 또는 재발성 염증 피부질환이다^{16, 17)}. 아직까지 정확한 원인을 규명하지 못하고 있으나 유전적인 가족력과 음식섭취 등으로 인한 생활·환경의 영향, 결손된 피부층을 통해 유입된 항원물질에 대한 면역반응에 따른 혈중 IgE 항체의 수준이 증가함으로써 나타나는 복합적 질환이다^{18, 19)}. 기존 연구보고에 따르면 아토피 환자에서 T 세포들의 불완전한 IFN- γ 의 분비 그리고 B 세포들에서의 IgE 항체의 과발현 등이 나타난다²⁰⁾. 즉 아토피질환 초기 단계에서 Th2 타입의 T 세포들에서 IL4와 IL10이 과도하게 분비되고 따라서 IL-12가 불안정하게 생산되어 IFN- γ 분비가 감소된다^{21, 22)}. 아토피 피부질환은 Th2 면역반응에 의하여 개시되어 점차 만성적인 Th1 면역반응으로 전환된다고 믿어지고 있다^{23,24)}.

그러나 아토피 피부염을 포함한 과민성유발 모델의 경우 그 기전이 복잡하고 재현성이 불확실하여 확실한 모델이 구축되어 있지 않은 실정이다. 아토피 피부염 유발 모델로는 NC/Nga mouse를 이용하여 유발하는 모델이 있으나 그 기간이 길며 확실한 재현성이 의심스러운 것으로 평가되고 있어 과민성 유발 모델의 구축이 필요하다.

아토피 피부질환의 동물 모델로는 NC/Nga mouse가 잘 알려져 있다²⁵⁾. NC/Nga mouse는 보통 specific pathogenfree 조건에서는 발병이 되지 않고 conventional 조건에서 6~7주 정도의 연령에서 아토피 피부염과 유사한 질환이 자

연적으로 발생한다. 혈액속의 IgE 수준이 점차 증가해서 약 16~18주 연령에서 최고조에 달하게 된다. 16~18주 정도의 NC/Nga mouse에서 피부가 건조해져서 점차 마디 모양의 손상으로 발전하고 결국 딱딱한 상처로 변한다. 조직학상으로 NC/Nga mouse에서 나타나는 피부손상들은 hyperkeratosis, acanthosis, parakeratosis 등의 특성을 띠고 이러한 특징들은 아토피 환자에서 모두 관찰된다. 면역시스템은 크게 내재면역과 적응면역으로 나뉘어져 있다. 최근의 많은 연구보고에 의하면 적응면역은 내재면역 반응없이 일어날 수 없다²⁶⁾. 이는 내재면역의 중요성을 단적으로 말해준다. 내재면역계를 담당하고 있는 여러 면역세포들이 있는데 주로 수지상세포, 대식세포, 호산구, 비만세포 등이 여기에 포함된다. 하지만 이들 이외에 적응면역으로 발달하기 위해서 필요한 교량역할을 담당하고 있는 T세포와 B세포가 있다: Natural killer T (NKT) 세포와 marginal zone B (MZB) 세포가 이에 속한다^{27, 28)}. NKT 세포는 TCR 수용체와 NK 세포 특이적 수용체를 동시에 발현하고 있으며 자가면역질환, 감염성질환, 암등과 같은 다양한 면역질환²⁹⁾에서 면역조절 작용을 수행하는 T 세포의 한 부류이다. Th1 면역반응에 의해 매개되는 인슐린-의존성 제1형 당뇨병 동물모델에서 adoptive transfer에 의해 NKT 세포의 수를 증가시키거나 canonical NKT 세포 TCR인 Va14-Ja18의 transgene를 도입함으로써 병의 진전을 억제시킬 수 있다는 보고가 있다^{30, 31)}. 또한 NKT 세포의 활성물질로 널리 알려진 glycolipid의 하나인 α -GalCer의 반복적인 투여로 Th2 반응을 유도함으로써 당뇨병을 억제할 수 있다는 보고가 있다³²⁾. NKT 세포의 발달에는 MHCII 유사 분자인 CD1d가 매우 중요하여 CD1d KO 생쥐에는 NKT 세포가 결핍되어 있다³³⁾. 아토피 피부염은 일반적으로 IgE 합성의 증가와 호산구 증가증이 나타나는데 기존의 면역학적 연구에 의하면 이 질환은 IL-4, IL-5와 같은 Th2 사이토카인이 증가하고 Th1 사이토카인인 IFN- γ 의 분비가 감소하는 것과 관련이 있는 것으로 보고되었다²¹⁻²⁸⁾.

T cell은 면역반응을 하는 동안 분비하는 사이토카인에 따라 Th1 cell과 Th2 cell로 분류된다. Th1 cell은 IFN- γ , Tumor necrosis factor (TNF)- α , lymphotoxin 등을 분비하며 세균감염에 있어서 방어적 기능을 담당하고 지연형과민 반응에 관여한다²⁹⁻³³⁾. 가장 핵심적인 Th1 사이토카인인 IFN- γ 는 대식세포의 포식작용을 촉진하며 CD8 T cell이 강력한 cytotoxic cell로 분화하도록 유도하고 그 외에 다른 사이토카인과 협조하여 염증성 백혈구를 활성화시킨다. 미경험의 T helper cell이 활성화되어 Th1 세포로 분화하는데 영향을 주는 주요 사이토카인은 인간의 경우 IL-12와 IFN- α 이다. 세균에 감염되면 세균이 합성한 endotoxin은 대식세포를 활성화시켜 IL-12를 유도하고 바이러스에 감염된 세포는 IFN- α 를 합성함으로써 T helper cell이 Th1 cell로 분화하게 하고 더 많은 IFN- γ 를 합성하게 한다. 따라서 세균감염이 빈번하지 않은 환경에서는 Th1 사이토카인 패턴이 만성염증과 조직손상 및 자가면역질환에 우세하게 나타난다³³⁻³⁸⁾. 한편 Th2 cell은 IL-4, IL-5, IL-10, IL-13을 분비하며 기생충감염에 중요역할을 하고 알러지 반응과 천식과 같은 만성적인 기관지 염증 및 기도과민반응과 깊은 관련이 있다. IL-4는 B cell로 하여금 IgE를 생산하도록 촉진하고 IL-13은 IL-4와 비슷한 기능을 하면서 기관지과민반응을 유도하며 IL-5는 호산구를 활성화하여 천식 등에서 지속적인 염증을 일으킨다. 따라서 그간 아토피피부염은 Th2 사이토카인이 지나치게 분비하기 때문에 Th2 cell이 병리적으로 중요한 역할을 하는 것으로 이해되어 왔다. 즉 면역반응의 결과 생성하는 사이토카인에 따라 helper T 세포는 크게 두 종류의 서로 다른 Th 1 세포와 Th 2 세포로 구분되며, 분화 초기에 IL-4가 많이 존재하면 Th 2로 분화가 이루어지고, IFN- γ 나 IL-12가 많이 존재하면 Th 1으로 분화하게 된다³⁹⁻⁴⁵⁾. 체액성 면역, 세포성 면역에 따라 Th 1 과 Th 2 사이토카인 사이의 생산 불균형이 일어나 면역을 조절하는데 중요한 역할을 하게 된다. 또한 아토피피부염환자의 피부조직을 분석하면 급

성기에는 IL-4, IL-5, IL-13의 양이 증가하여 전형적인 Th2 반응이 특징적이거나 만성적인 병변에는 IL-12와 IFN- γ 의 양이 증가하는 Th1 패턴이 나타난다. 또한 아토피피부염은 일반적으로 IgE 농도가 높아서 흡입성 또는 음식항원에 대해 즉각적인 반응을 보이지만 일부 아토피피부염환자들은 IgE도 정상 범위에 있으면서 항원에 대한 과민반응과 무관한 유형이 있다⁴⁶⁻⁵⁰. 전자를 extrinsic type의 아토피피부염, 후자를 intrinsic type의 아토피피부염이라고 분류하기도 하는데 intrinsic type은 보고마다 다르지만 전체 아토피피부염에서 15-45%를 차지하는 것으로 알려져 있다. 이 두 유형은 사이토카인 발현 면에서도 뚜렷한 차이점이 있는데 IL-5와 IFN- γ 는 모두 비슷한 양으로 검출되나 extrinsic type은 intrinsic type에 비해 IL-4, IL-13 발현이 증가하였고 IgE에 대한 B cell의 Fc receptor (CD23)가 증가하였다⁵²⁻⁶⁰. 이처럼 아토피피부염의 면역학적인 측면은 기관지 천식이나 알러지 비염과 같은 다른 아토피질환에 비해 매우 복잡한 양상을 가진다. 그러나 아직 아토피피부염의 병인은 정확히 밝혀지지 않았으나 최근 들어 면역학적인 측면에서 많은 연구가 이루어지고 있다⁶⁰⁻⁶⁶. 아토피피부염 피부 병변에 분포하는 T세포의 주된 구성은 CD4+T세포이며 이는 생성되는 사이토카인의 종류에 따라 Th-1세포와 Th-2세포로 나뉘어진다. 최근의 연구들에서는 Th-2세포의 활성화에 연이은 Th-1세포의 활성화도 가정되고 있다⁶⁷. 보조 T 세포(CD4+T cell)에 대한 억제 T세포(CD8+T cell)비의 감소, Th-2세포에서 분비되는 IL-4, -5, -10의 증가, Th-1세포에서 분비되는 (IFN- γ)비의 감소. 비만세포의 증가등 면역학적 이상이 병의 발생과 악화에 영향을 미치리라 추측되고 있다. 아토피 피부염에서 IFN- γ 와 IL-2의 in vivo 투여의 유의한 효과는 Th-1/Th-2 불균형의 복원이 아토피 피부염을 호전시킨다는 사실을 뒷받침해 준다. 이러한 소견들은 아토피 피부염의 치료법으로 접촉 항원에 대한 특이적 또는 비특이적인 면역반응을 일으키는 국소 면역요법을 사용해 볼 수 있는 근

거로 생각된다.

NC/Nga mouse는 태어난 후 어렸을 때부터 일반사육환경(conventional system)에서 노출되어 자라게 되면 10주부터 14주령까지 사람에서의 아토피성 피부염과 유사한 병변이 딱지가 앉은 상처 및 작은 결정의 병변이 관찰되는 동물로서 아토피 피부염 모델동물로 사용되고 있다. 본 시험에서 양성대조군으로는 FK506(Tacrolimus) 연고를 사용하였다. NC/Nga mouse에서 0.3% FK506 연고를 사용하면 피부의 병변이 IgE의 양이 줄어드는 것으로 나타났다. 또한 IgE는 I형 알레르기 증상발현에 관계하는 중요한 성분이다. 특히 IgE 생산에는 IL-4가 필수적이고 이는 Th1 세포보다 Th2 세포가 우세한 상태에서 생산이 향진되며 알레르기 발현에 관계한다. IgE는 비만세포의 표면분자인 FcRI에 binding하여 세포를 활성화시켜 histamine, serotonin, LCT4 등을 분비하게 한다. 그리고 B세포는 Th2 세포의 신호를 받아 분화를 하고 IgE와 immunoglobulin을 분비하게 된다. 일반적으로 IL-4에 의해 isotype switching이 유도되는 IgG1 수준이 혈청에서 올라간다.

본 실험의 결과를 살펴보면 아토피성 피부염 유발제제인 BMAC는 Dermatophagoides farinae crude extract (진드기 항원, mite extract, lyophilized)를 항원으로 0.5% Tween 20이 포함된 PBS에 10 농도로 용해 후 ointment base에 혼합하여 처리하였고, 12주령 이상된 NC/Nga mouse의 눈에서 capillary tube를 사용하여 채혈하여 혈장 내 IgE 수준을 측정 후 제모제를 이용하여 등 부위의 털을 모두 제거한 후 24시간 지난 다음 4% SDS로 피부층을 NC/Nga mouse의 등 부위 및 귀 부위에 2회 100 mg/mouse 농도로 도포하였다. BMAC는 유발기간의 기준은 약 3 주간 (총 6회) 으로 최종적으로 전체 600mg 정도 도포하였고, 아토피성 피부발진이 유발된 NC/Nga mouse의 발진의 임상평가는 육안평가로 항목은 erythema/hemorrhage (소양행동을 동반한 홍반), dryness/scarring(인설 및 가피), edema(부

중), excoriation/erosion(표피박탈/미란), lichenification(태선화)로 하여 각 단계의 점수의 총합으로 나타내었다.

clinical skin severity를 측정 한 결과, 양성대조군인 FK506과 A-J 도포군에서는 대조군에 비하여 유의성 있게 clinical skin severity score 감소를 관찰할 수 있었다. B 세포의 분화되는 과정에서 분비되어 결합하여 염증 반응을 유도하는 IgE와 Th2 세포에서 분비되어 B 세포의 분화를 촉진하는 IL-4에 의하여 유도되는 IgG1의 수치를 측정 한 실험에서 total IgE와 IgG1의 수치 결과는 대조군이 IgE와 IgG1의 수치가 급격한 증가를 나타내었는데 FK506과 A-J 도포군에서는 대조군에 비하여 감소를 관찰할 수 있었다. 이러한 결과는 FK506과 A-J 도포군이 NC/Nga mouse의 B 세포 알레르기 면역반응을 억제하여 B 세포 분화에 수반되는 IgE와 IgG1의 수치를 억제하는 것으로 생각된다. Th2 세포에서 분비되는 IL-4는 면역글로블린 생성 시 IgE와 IgG1의 분화를 유도하고 유착분자들을 활성화시켜 단구나 호산구 등 염증세포들을 염증이 일어나는 조직 세포로 이동하게 하고 IL-5는 호산구의 증식과 활성화를 유도하는 기능이 있으며 IL-13은 IgE 생산을 자극한다. Th1 세포에서 분비되는 IFN- γ 는 알레르기 반응을 일으키는 Th2 세포를 억제하고 IgE 생산을 증가시키는 B세포 분화를 억제하는 것으로 알려진 사이토카인이다.

이상의 결과로 미루어 보아 A-J는 알레르기 치료에 유효하게 활용할 수 있을 것으로 판단되며 향후 지속적인 연구가 진행되어야 할 것으로 사료된다.

V. 결 론

아토피피부질환 환자에 사용되는 A-J가 아토피 발진 억제에 미치는 영향을 실험적으로 규명한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. BMAC의 NC/Nga mouse에 3주간 도포로 피부발진이 유도 되었다.

2. FK506과 A-J 도포로 대조군에 비하여 clinical skin severity score를 유의성 있게 감소시켰다.

3. FK506과 A-J 도포로 대조군에 비하여 혈청 중 IgE, 그리고 IgG1 수준을 유의성 있게 감소시켰다.

이상의 결과로 미루어 보아 A-J는 아토피 피부염의 치료에 유효하게 활용할 수 있을 것으로 판단되며 향후 아토피 피부염에 대한 정확한 기전에 대한 연구가 요구되어지며 실험적 보완과 임상연구가 지속적으로 진행되어야 할 것으로 사료된다.

참고문헌

1. 김덕곤 외, 동의소아과학, 서울, 정담, 2002.
2. 이희정, 박창욱, 이주희, 이광훈, 아토피 피부염 환자에서 독세핀 크림 국소도포요법의 소양증 경감 효과에 대한 연구, 대한피부과학회지 .44(3):309-14. 2006.
3. Guin JD. Complications of topical hydrocortisone. J Am Acad Dermatol 4:417-22. 1981.
4. Graham-Brown R. Managinf adults with atopic dermatitis. Dermatol Clin. 14:531-7. 1996.
5. Smith CH. New approaches to topical therapy. Clin Exp Dermatol 25:250-4. 2000.
6. 李鏞泰. 紫雲膏가 生肌作用에 미치는 영향, 동의대학교 東醫論集. 28:547-58. 1998.
7. 어경정, 고우신, 김영균 紫雲膏가 흰쥐의 창상에 미치는 효과. 대한 외관과학회지. 11(1):54-68. 1998.
8. 이금택, 최병태, 이용태, 고우신. 紫雲膏加金銀花가 흰쥐의 창상에 미치는 효과. 대한한의학회지. 20(1):132-41. 1999.

9. 최경임. 아로마 미용학. 서울, 뷰티프라자. 30. 2000.
10. 失數道明. 韓方治療百話. 서울, 동남출판사. 322. 1991.
11. 陳實功. 外科正宗. 上海上海科學技術出版社. 303. 1989.
12. 誤謙. 醫宗金鑑. 서울:대성문화사. 80. 1983.
13. 高祐新. 紫雲膏의 조제방법에 대한 연구. 동의대학교 東醫論集. 28:779-6. 1998.
14. 조소은. 병리학적 관점에서의 아토피 피부염의 치료와 스킨케어 방향에 관한 연구. 공주영상정보대학 논문집 제 8편. 2001.
15. 홍사석. 이우주의 약리학강의. 제 3판. 서울. 의학문화사. 1-758 1993.
16. Schultz-Larsen F, Hanifin JM. Epidemiology of atopic dermatitis. Immunol. Allergy Clin. North Am. 22:1-24. 2002.
17. Furue M, Terao H, Moroi Y et al. Dosage and adverse effects of topical tacrolimus and steroids in daily management of atopic dermatitis. J. Dermatol. 31:277-83. 2004.
18. Matsuda H, Watanabe N, Gregory PG et al. Development of atopic dermatitis-like skin lesion with hyperproduction in NC/Nga mice. Int. Immunol. 9:461-6. 1996.
19. Morita E, Kaneko S, Hiragun T et al. Fur mites induce dermatitis associated with IgE hyperproduction in an inbred strain of mice, NCKuj. J. Dermatol. Sci. 19:37-43. 1999.
20. Iijima OT, Takeda H, Komatsu Y, Matsumiya T, Takahashi H. Atopic dermatitis in NCJic mice associated with Myobia musculi infestation. Comp. Med. 50:225-8. 2000.
21. Okada M, Hirasawa Y, Yoshijima K et al. Effect of clobetasol propionate, a corticosteroid on hapten-induced dermatitis in SPF NC/Nga mice. Pharmacometrics 59:135-9. 2000.
22. Makiura M, Akamatsu H, Akita H et al. Atopic dermatitislike symptoms in HR-1 hairless mice fed a diet low in magnesium and zinc. J. Int. Med. Res. 32:392-9. 2004
23. Holm L, van Hage-Hamsten M, Ohman S, Scheynius A. Sensitization to allergens of house-dust mite in adults with atopic dermatitis in a cold temperate region. Allergy 54:708-15. 1999.
24. Sanda T, Yasue T, Oohashi M, Yasue A. Effectiveness of house dust-mite allergen avoidance through clean room therapy in patients with atopic dermatitis. J. Allergy Clin. Immunol. 89:653-7. 1992.
25. Katoh N, Hirano S, Suehiro M, Matsuda K, Kishimoto S. The characteristics of patients with atopic dermatitis demonstrating a positive reaction in a scratch test after 48 hours against house dust mite antigen. J. Dermatol. 31:720-6. 2004.
26. Matsuoka H, Maeda N, Atsuta Y, Ando K, Chinzei Y. Seasonal fluctuations of Dermatophagoides mite population in house dust. Jpn. J. Med. Sci. Biol. 48:103-15. 1995.
27. Matsuoka H, Maki N, Yoshida S et al. A mouse model of the atopic eczema/dermatitis syndrome by repeated application of a crude extract of house-dust mite Dermatophagoides farinae. Allergy 58:139-45. 2003
28. Sasa M, Miyamoto J, Shinohara S,

- Suzuki H, Katsuhata A. Studies on mass culture and isolation of *Dermatophagoides farinae* and some other mites associated with house dust and stored food. *Jpn. J. Exp. Med.* 40:367-82. 1970.
29. Yamaguchi T, Ono K, Shigeta S et al. Differences in response of patient's blood cells with bronchial asthma to diverse house dust mite allergens by histamine release assay. *Jpn. J. Allergol.* 42:1754-63. 1993.
30. Mota I, Wong D. Homologous and heterologous passive cutaneous anaphylactic activity of mouse antisera during the course of immunization. *Life Sci.* 8:813-20. 1969.
31. Leung DYM, Bieber T. Atopic dermatitis. *Lancet* 361:151-60. 2003.
32. Kang K, Stevens SR. Pathophysiology of atopic dermatitis. *Clin. Dermatol.* 21:116-21. 2003.
33. Hamid Q, Boguniewicz M, Leung DYM. Differential in situ cytokine gene expression in acute versus chronic atopic dermatitis. *J. Clin. Invest.* 94:870-76. 1994.
34. Ohmen JD, Hanifin JM, Nickoloff BJ et al. Overexpression of IL-10 in atopic dermatitis. Contrasting cytokine patterns with delayed-type hypersensitivity reactions. *J. Immunol.* 154:1956-63. 1995.
35. Klunker S, Trautmann A, Akdis M et al. A second step of chemotaxis after transendothelial migration: keratinocytes undergoing apoptosis release IFN-gamma-inducible protein 10, monokine induced by IFN-gamma, and IFN-gamma-inducible alpha-chemoattractant for T cell chemotaxis toward epidermis in atopic dermatitis. *J. Immunol.* 171:1078-84. 2003.
36. Leung DY, Boguniewicz M, Howell MD et al. New insights into atopic dermatitis. *J. Clin. Invest.* 113:651-7. 2004.
37. Wahlgren CF. Itch and atopic dermatitis: an overview. *J. Dermatol.* 26:770-9. 1999.
38. Ellis C, Luger T, Abeck D et al. International Consensus Conference on Atopic Dermatitis II (ICCAD II): clinical update and current treatment strategies. *Br. J. Dermatol.* 63:3-10. 2003.
39. Katoh N, Hirano S, Yasuno H, Kishimoto S. Effects of tacrolimus ointment on facial eruption, itch, and scratch in patients with atopic dermatitis. *J. Dermatol.* 31: 194-9. 2004.
40. Hiroi J, Sengoku T, Morita K et al. Effect of tacrolimus hydrate (FK506) ointment on spontaneous dermatitis in NC/Nga mice. *Jpn. J. Pharmacol.* 76:175-83. 1998.
41. Hilkens CM, Kalinski P, de Boer M, Kapensberg ML : Human dendritic cells require exogenous interleukin-12-inducing factors to direct the development of naive T-helper cells toward the Th1 phenotype, *Blood*, 90:1920-6, 1997.
42. Kepron MR, Chen YW, Uhr JW, Vitetta ES : IL-4 induced the specific rearrangement of gamma 1 genes on the expressed and unexpressed chromosomes of lipopolysaccharide-activated normal murine B cells, *J Immunol*, 143:334-9, 1989.
43. Kiekens RC, Thepen T, Oosting AJ,

- Bihari IC, van de Winkel JG, Bruijnzeel-Koomen CA, Knol EF : Heterogeneity within tissue-specific macrophage and dendritic cell populations during cutaneous inflammation in atopic dermatitis, *Br J Dermatol*, 145(6):957-65, 2001.
44. Kitagaki H, Ono N, Hayakawa K, Kitazawa T, Watanabe K, Shiohara T : Repeated elicitation of contact hypersensitivity induces a shift in cutaneous cytokine milieu from a T helper cell type 1 to a T helper cell type 2 profile, *J Immunol*, 159:2484-1, 1997.
45. Leung DYM, Tharp M, Boguiewicz M : Atopic dermatitis in Fitzpatrick's *Dermatology in General Medicine* (IM Freedberg, AZ Eisen, K Wolff, KF Austen, LA Goldsmith, SI Katz, TB Fitzpatrick, Ed.), New York, McGraw-Hill, 1464-80, 1999.
46. Matsumoto M, Ra C, Kawamoto K, Sato H, Itakura A, Sawada J, Ushio H, Suto H, Mitsuishi K, Hikasa Y, Matsuda H : IgE hyperproduction through enhanced tyrosine phosphorylation of Janus kinase 3 in NC/Nga mice, a model for human atopic dermatitis, *J Immunol*, 162:1056-63, 1999.
47. Mueller DL, Jenkins MK, Schwarz RH : Clonal expansion versus functional clonal inactivation : A costimulatory signalling pathway determines the outcome of T cell antigen receptor occupancy, *Ann Rev Immunol*, 7:445-80, 1989.
48. Ohmen JD, Hanifin JM, Nickoloff BJ, Rea TH, Wyzykowski R, Kim J, Jullien D, McHugh T, Nassif AS, Chan SC, Modlin RL : Overexpression of IL-10 in atopic dermatitis, *J Immunol*, 154:1956-63, 1995.
49. Plitnick LM, Loveless SE, Ladics GS, Holsapple MP, Selgrade MJ, Sailstad DM, Smialowicz RJ : Cytokine profiling for chemical sensitizers: Application of the ribonuclease protection assay and effect of dose, *Toxicol Appl Pharmacol*, 179:145-54, 2002.
50. Sikorski EE, Gerberick GF, Ryan CA, Miller CM, Ridder GM : Phenotypic analysis of lymphocyte subpopulations in lymph nodes draining the ear following exposure to contact allergens and irritants, *Fund Appl Toxicol*, 34:25-35, 1996.
51. Snapper CM, Paul WE : Interferon- γ and B cell stimulatory factor-1 reciprocally regulate Ig isotype production, *Science*, 236:944-7, 1987.
52. Tsunemi Y, Saeki H, Nakamura K, Sekiya T, Hirai K, Kakinuma T, Fujita H, Asano N, Tanida Y, akugawa M, Torii H, Tamaki K : Interleukin-13 gene polymorphism G4257A is associated with atopic dermatitis in Japanese patients, *J Dermatol Sci*, 30:100-7, 2002.
53. US Dept. Health and Human Services : Atopic dermatitis (A type of eczema), NIH publication No. 03-4272, Bethesda, 2003.
54. Wiemann C, Berthold K, Heusener A, Kruger N, Seeberger A, Stropp G : Joint positive control testing in guinea pig skin sensitization tests, *Reg Toxicol Pharmacol*, 35:14-22, 2002.
55. Wills-Karp M, Luyimbazi J, Xu X, Schofield B, Neben TY, Karp CL, et al. : Interleukin-13 : Central mediator of allergic asthma, *Science*, 282:2258-61,

- 1998.
56. Zhu Z, Homer RJ, Wang Z, Chen Q, Geba GP, Wang J, et al. : Pulmonary expression of interleukin-13 causes inflammation, mucus hypersecretion, subepithelial fibrosis, physiologic abnormalities, and eotaxin production, *J Clin Invest*, 103:779-89, 1999.
57. Zimmermann N, Hershey GK, Foster PS, Rothenberg ME : Chemokines in asthma : Cooperative interaction between chemokines and IL-13, *J Allergy Clin Immunol*, 111:227-42, 2003.
58. Yang G, Volk A, Petley T, Emmell E, Giles-Komar J, Shang X, et al. : Anti-IL-13 monoclonal antibody inhibits airway hyperresponsiveness, inflammation and airway remodeling, *Cytokine*, 28:224-32, 2004.
59. Walter DM, McIntire JJ, Berry G, McKenzie AN, Donaldson DD, DeKruyff RH, et al. : Critical role for IL-13 in the development of allergen-induced airway hyperreactivity, *J Immunol*, 167:4668-75, 2002.
60. Jung EM, Kim HS, Kang IJ : A 10 year follow-up childhood asthma : Potential risk factors on persistence of nonspecific bronchial hyperresponsiveness, *Pediatr Allergy Respir Dis*, 12:82-92, 2002.
61. Yang M, Hogan SP, Mahalingam S, Pope SM, Zimmermann N, Fulkerson P, et al. : Eotaxin-2 and IL-5 cooperate in the lung to regulate IL-13 production and airway eosinophilia and hyperreactivity, *J Allergy Clin Immunol*, 112:935-43, 2003.
62. Li L, Xia Y, Nguyen A, Lai YH, Feng L, Mosmann TR, et al. : Effect of Th2 cytokines on chemokine expression in the lung : IL-13 potently induces eotaxin expression by airway epithelial cells, *J Immunol*, 162:2477-87, 1999.
63. Pope SM, Brandt EB, Mishra A, Hogan SP, Zimmermann N, Matthaei KI, et al. : IL-13 induces eosinophil recruitment into the lung by an IL-5 and eotaxin dependent mechanism, *J Allergy Clin Immunol*, 108:594-601, 2001.
64. Matsukura S, Stellato C, Georas SN, Casolaro V, Plitt JR, Miura K, et al. : Interleukin-13 upregulates eotaxin expression in airway epithelial cells by a STAT6-dependent mechanism, *Am J Respir Cell Mol Biol*, 24:755-61, 2001.
65. Moore PE, Church TL, Chism DD, Panettieri RA Jr, Shore SA : IL-13 and IL-4 cause eotaxin release in human airway smooth muscle cells : a role for ERK, *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 282:847-52, 2002.
66. Schmid-Grendelmeier P, Altnauer F, Fischer B, Bizer C, Straumann A, Menz G, et al. : Eosinophils express functional IL-13, in eosinophilic inflammatory disease, *J Immunol*, 169:1021-27, 2002.
67. Kim JT : Evaluation of inflammation in childhood asthma; Non-invasive measurement, *J Korean Pediatr Soc*, 44:334-9, 2001.