

황련해독탕이 NC/Nga Mice에서 유발된 아토피 피부염에 미치는 영향

김보애^{1#}, 김미소¹, 강보미¹, 변선희¹, 박일향¹, 박지하², 정지욱³,
안은미⁴, 정현아⁵, 장정희², 배원⁶, 이하영⁶, 최필녀⁶, 박찬익^{1*}

1: 대구한의대학교 화장품약리학과, 2: 대구한의대학교 한의과대학 한의학과,
3: 대구한의대학교 한약재약리학과, 4: 대구한의대학교 한방식품약리학과,
5: 대구한의대학교 한방식품조리영양학부, 6: 미원상사(주)

Inhibitory Studies of Hwangryunhaedok-tang on Development of Atopic Dermatitis in NC/Nga Mice

Bo Ae Kim^{1#}, Mi So Kim¹, Bo Mi Kang¹, Seon Hui Byeon¹, Il Hyang Park¹,
Ji Ha Park², Ji Wook Jung³, Eun Mi Ahn⁴, Hyeon A Jung⁵, Jung Hee Jang²,
Won Bae⁶, Ha Young Lee⁶, Phil Nye Choi⁶, Chan Ik Park^{1*}

1: Dept. of Cosmeceutical Science, Daegu Haany University, 2: College of Oriental Medicine, Daegu
Haany University, 3: Dept. of Herbal Medicinal Pharmacology, Daegu Haany University,
4: Dept. of Herbal Foodceutical Science, Daegu Haany University,
5: Dept. of Herbal Cuisine&Nutrition, Daegu Haany University, 6: Miwon Commercial Co, Ltd

ABSTRACT

Objectives : HRHDT has been known as a useful prescription with antibiotic, anti-inflammatory, antioxidative and immunosuppressive activity. To evaluate anti-atopic dermatitis effect of HRHDT, we treated HRHDT in NC/Nga mice model skin induced contact hypersensitivity.

Methods : Contact hypersensitivity, a local inflammatory response of skin, was induced by spreading the back skin of NC/Nga mice with 0.4~1% DNCB. HRHDT was prepared by dissolving 3% HRHDT in solution and treated 3 weeks on the back skin.

Results : HRHDT significantly reduced TEWL and erythema by 0.4~1% of DNCB treatment compared to control group. HRHDT also reduced IgE on serum obtained from blood of DNCB-treated mice.

Conclusions : These results showed that HRHDT could be used as a pharmaceutical material with anti-atopic dermatitis effect by reducing IgE in contact hypersensitivity atopic dermatitis NC/Nga mice model by DNCB.

Key words : Hwangryunhaedok-tang (HRHDT), Atopic dermatitis (AD), NC/Nga mice, Transepidermal water loss, DNCB, IgE

* 교신저자 : 박찬익, 경북 경산시 유곡동 290번지 대구한의대학교 화장품약리학과 화장품신제형연구실
· Tel : 053-819-1491 · E-mail : cipark@dhu.ac.kr
제1저자 : 김보애, 경북 경산시 유곡동 290번지 대구한의대학교 화장품약리학과 화장품신제형연구실
· Tel : 053-819-1491 · E-mail : ppoae00@hanmail.net
· 접수 : 2008년 5월 13일 · 수정 : 2008년 6월 11일 · 채택 : 2008년 6월 20일

서론

전 세계적으로 수많은 사람들이 아토피성 피부질환으로 고통받고 있다. 아토피 피부질환은 주로 유아와 소아에 발생하는 만성적 또는 재발성 염증 피부질환으로^{1,2)}, 아직까지 정확한 원인을 규명하지 못하고 있으나 유전적인 가족력과 음식섭취 등으로 인한 생활·환경의 영향, 결손된 피부층을 통해 유입된 항원 물질에 대한 면역반응에 따른 혈중 IgE 항체의 수준이 증가함으로써 나타나는 복합적 질환으로 알려져 있다^{3,4)}. 흔히 피부 소양증에 대한 역치가 낮아져 있는 상태로 심한 소양감을 유발하고, 이로 인한 2차적 습진이 형성되는 것이 특징이다.

최근 알레르기 질환의 급증으로 매년 아토피 피부염 환자가 꾸준히 증가하고 있는데 한 연구에 의하면 전국 초등학교생의 24.9%, 중학생의 12.8%가 아토피 피부염을 진단받은 것으로 조사되었다⁵⁾.

아토피 피부질환의 동물모델로는 NC/Nga mice가 잘 알려져 있다⁶⁾. NC/Nga mice는 6~7주 정도의 연령에서 아토피 피부염과 유사한 질환이 자연적으로 발생하므로 아토피질환 연구에 자주 쓰이는 동물 모델이다. 혈액 속의 IgE 수준이 점차 증가해서 약 16~18주 연령에서 최고조에 달하게 된다. 16~18주 정도의 NC/Nga mice에서, 피부가 건조해져서 점차 마디 모양의 손상으로 발전하고 결국 딱딱한 상처로 변한다. 또한 등, 목, 귀 그리고 얼굴을 긁는 행동을 보이며 조직학상으로, NC/Nga 생쥐에서 나타나는 피부 손상들은 hyperkeratosis, acanthosis, parakeratosis 등의 특성을 띠고 이러한 특징들은 아토피 환자에게 모두 관찰된다^{7,8)}.

NC/Nga mice는 보통 specific pathogen free (SPF) 조건에서는 발병이 잘되지 않으므로, 인위적 항원 접촉을 통한 면역 과민 반응을 유발하여야 한다. 일반적으로 1-chloro-2,4-dinitrochlorobenzene (DNCB) 및 Diphenylcyclopropenone (DPCP)는 알레르기성 접촉 피부염 실험⁹⁾에서 동물실험 모델의 유발물질이다. DNCB 또는 DPCP를 이용하면 SPF 조건보다 확실한 피부염 유발이 가능하고, 감각에 의한 세포성 면역 과민 반응이 일어난 후 면역 관련 세포들의 복합 작용에 의해 급격한 염증반응이 일어나는 것으로 알려져 있다¹⁰⁾.

본 연구에서는 황련해독탕(黃蓮解毒湯)을 이용하여 NC/Nga mice에 미치는 영향을 알아보고자 하였다. 황련해독탕(黃蓮解毒湯)은 황련, 황금, 황백, 치자의 복합처방으로 한방에서 예로부터 피부질환 입상에서 널리 사용되고 있으며, 습진, 아토피성 피부염, 접

촉성 피부염, 지루성 피부염 등에 주로 응용되고 있다. 황련에는 berberine¹¹⁾, worenine 등의 각종 알칼로이드가 함유되어 항균 작용이 뛰어나며, 혈압을 저하시키고 담(痰)을 원활하게 하며 해열, 진정, 진통, 국소마비 등의 작용을 한다. 황금은 습사(濕邪)와 열사(濕熱邪)를 제거하고 해독, 지혈하는 효능을 가지며 체외에서도 각종 병원성 피부사상균을 억제하며 baicalin과 baicalein을 다량 함유하고 있어 항염증·항알레르기 작용을 하므로 알레르기성 천식을 완화한다. 황백 또한 berberine과 phellodendrine 성분과 같이 각종 알칼로이드 이외에 obacunone과 obaculactone 성분 등이 함유되어 있다. 황백의 항균 작용은 황련과 같이 피부 진균 및 각종 병원성 세균을 억제하고 담(痰)을 순조롭게 하고 해열하는 작용이 있다. 이와 같이 황금, 황련, 황백은 공통적으로 성질이 차가워 청열, 해독의 기능을 가지므로 이들을 배합하여 사용하면 치료효과가 더 증강될 뿐 아니라 방부효과가 있다. 각종 화장수·목욕제품 등의 배합제로 쓰여 알레르기성 피부염과 각종 피부병을 예방·치료한다¹²⁾.

따라서 황련해독탕은 알레르기 반응을 억제시키고 항산화·항염 효과 및 표피회복능에 효과가 있는 기능성 화장품 재료로 이용하기 위하여 본 연구를 수행하였으며, NC/Nga mice를 DNCB로 인위적인 접촉성 피부염을 유발시킨 후 황련해독탕을 피부병변 부위에 도포하여 TEWL (transepidermal water loss), 홍반, IgE, 표피회복능에 미치는 효과를 관찰하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물의 사육

실험동물은 male NC/Nga mouse 8주령을 중앙실험동물(SLC, Japan)로부터 공급받았으며, 실험군은 1-chloro-2,4-dinitrochlorobenzene(DNCB: Aldrich, USA)를 도포하지 않은 정상 대조군(Normal군), DNCB를 도포한 군(DNCB군), DNCB를 도포하고 황련해독탕을 도포한(HRHD군)으로 나누었다. 각 군에 6마리씩 분리하여 polycarbonate cage에 수용하고, 고형사료(항생제 무첨가, 삼양사료 Co)와 물을 자유롭게 섭취시키면서 2주 동안 적응시킨 후 사용하였다. 이때 사육실은 SPF 조건으로 온도가 21.4±0.0 5℃, 습도는 61±1%, 12시간 명암 조건을 유지했다.

2. 시료의 제조

실험에 사용한 황련해독탕은 미원상사(주)로부터

공급받았으며 추출방법은 다음과 같다. 황금, 황련, 황백, 치자 1 : 1 : 1 : 1 비율에 1,3-butylene glycol을 용매로 하여 85°C에서 추출하였다. 용매 5L와 황련해독탕 처방 4kg 기준으로 최종 추출물의 수득 무게는 3.5kg 이었다. 황련해독탕은 초순수에 3%의 농도로 제조하였으며, 3주 동안 DNCB를 처리하여 아토피 피부염이 유발된 NC/Nga mice의 귀 뒤쪽과 등 부위에 1주일에 5번 150 μ l 씩 3주 동안 마이크로 피펫 팁의 뒤쪽을 이용하여 골고루 도포하였다.

3. 피부염 유도 및 시료 처리

아토피성 피부염을 유발하기 위해 우선 10주령이 된 NC/Nga mice의 등 부위를 깨끗하게 제모 하였다. 제모 후 피부의 미세 상처가 치유되도록 24시간 방치하였고, DNCB의 침투력을 높이기 위해 4% sodium dodecyl sulfate 수용액을 마이크로 피펫 뒤쪽을 이용하여 등 부위, 귀 뒤쪽 피부에 균일하게 도포하고 2~3시간 자연건조 시킨다. 본 실험에 사용된 DNCB는 아세톤과 올리브오일이 3 : 1로 혼합된 용액에 0.4%와 1%로 희석한 다음 사용되었다. 1% DNCB 용액 150 μ l를 등 부위에 도포하였고 4일 동안 면역반응을 유발한 후, 3주 동안 0.4% DNCB 용액 150 μ l를 등 부위에 도포하여 접촉성 피부염을 유발하였다. DNCB군과 HRHDT+DNCB군에서의 접촉성 피부염 유발 여부는 직접 육안으로 확인 할 수 있었다.

4. 경표피수분증발량 측정 (Transepidermal water loss Assay)

시료처치가 끝난 16주령 NC/Nga mice의 등과 귀 뒤쪽 부위가 제모 된 상태에서 경표피수분증발량 (TEWL)을 측정기(Tewameter[®] TM300, Courage & Khazawa, Germany)를 이용하여 아토피 피부염 상태에서 변화하는 표피의 수분증발량을 측정하였다. 측정 장소는 실내 온도 24~25°C, 습도 50~60%가 유지하는 조건에서 30초 동안 계측하였다¹³⁾.

5. 피부홍반 측정(Erythema Assay)

피부홍반 측정기(Mexameter[®] MX18, Courage & Khazawa, Germany)를 이용하여 시료처치가 끝난 16주령 NC/Nga mice의 피부표면에 센서를 접촉한 1초 이내의 홍반 정도를 측정하였다. 측정 장소는 실내 온도 24~25°C, 습도 50~60%가 유지하는 조건에서 계측하였다¹³⁾.

6. 시료의 채취

채혈은 NC/Nga mice를 12시간 절식시킨 다음 에테르로 마취시킨 후 복부를 개방하여 헤파린이 도포된 주사기를 이용해 심장으로부터 혈액을 채취한 후 원심분리(2,000 rpm, 20분, 4°C)하여 혈청을 분리하고, 분석 전까지 -70°C에 보관하였다. 혈액을 채취한 후 즉시 피부조직은 등 주변의 환부를 중심으로 1.5×1.5 cm² 넓이로 생검하여 10% 포르말데히드 용액에 고정된 후 염색 전 까지 4°C에 보관하였다.

7. 피부조직 병리 검사

실험 종료 후 등쪽, 목 부위의 피부를 적출하여 10% paraformaldehyde에서 24시간 동안 포르말린에 고정하였다. 그 조직을 파라핀 포매(paraffin embedding)하여 5 μ m 두께로 block을 만들었다. 그 조직은 epidermis, dermis, keratinocytes, neutrophils, eosinophil 그 외 다른 세포와 부종을 식별할 수 있는 haematoxylin-eosin 염색법을 이용하여 조직염색을 했고, 광학현미경상에서 100배의 배율로 피부의 전반적인 상태를 관찰하였다.

8. Serum IgE 수준 측정

실험 종료 후 혈중 IgE 수준은 Mouse IgE ELISA kit (Shibayagi Co, Shibukawa, Japan)를 사용하여 종합면역분석기 (Wallac OY, Turku, Finland) 450 nm에서 측정하였다.

9. 통계처리

결과 통계처리는 평균 \pm 표준편차로 나타내었으며, 평균치간의 유의성은 Student's T-test를 이용한 후 p값이 0.05미만일 때 유의한 것으로 판정하였다.

결 과

1. 황련해독탕이 경표피수분증발량에 미치는 영향

경표피수분증발량 측정 결과 Normal군 28.87 \pm 18.73 g/m²/hr, Control군 41.75 \pm 7.30 g/m²/hr, HRHDT군 23.28 \pm 11.47 g/m²/hr로 HRHDT군이 Control군에 비해 유의한 감소를 유도하였다(Fig. 1). Hashimoto⁸⁾ 등의 연구에 따르면 아토피 피부질환이 심화 될수록

긁는 행동(scratching behavior)은 증가하는데 이는 경표피 수분증발량과 비례한다는 것으로 보고하여 본 연구와 연관성이 있는 것으로 나타났다.

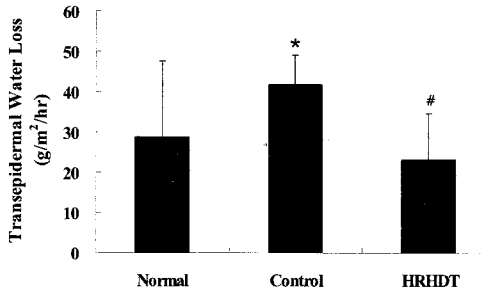


Fig. 1. Changes in barrier function (TEWL) of NC/Nga mice

NC/Nga mice skin Normal group (A), and Control group (B). NC/Nga mice (C) followed by the epicutaneous application of 150 μ l of 3% HRHDT solution 3 weeks. Data were presented as them \pm S.D. * P <0.05 compared with normal, # P <0.05 compared with control.

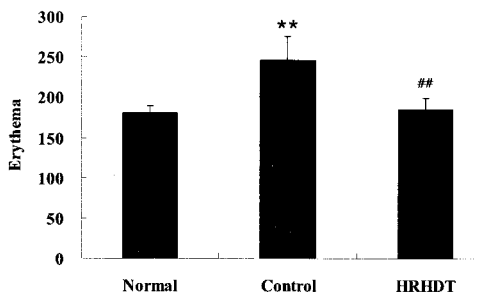


Fig. 2. Erythema measurement result of NC/Nga mice

NC/Nga mice skin Normal group (A), and Control group (B). NC/Nga mice (C) followed by the epicutaneous application of 150 μ l of 3% HRHDT solution 3 weeks. Data were presented as them \pm S.D. ** P <0.01 compared with normal, ## P <0.01 compared with control.

2. 황련해독탕이 피부홍반에 미치는 영향

홍반은 피부의 혈색소(hemoglobin)의 함량과 분포 정도를 기준으로 하며, 측정 결과 Normal군 180.00 \pm 9.96, Control군 245.42 \pm 29.77, HRHDT군 184.68 \pm 14.61로 HRHDT군이 Control군에 비해 유의한 감소를 유도하였다(Fig. 2). DNCB를 처리하면 일시적 또는 장기적으로 피부자극에 의한 충혈 및 민감도가 증가하게 되는데, 이러한 실험 결과는 황련해독탕이 아토피 피부질환의 홍반을 억제할 수 있음을 시사한다.

3. 황련해독탕이 혈청 IgE 농도에 미치는 영향

혈청 IgE 수준은 ELISA에서 450nm로 측정하였으

며 측정된 결과는 Fig. 3과 같다. Normal군, Control군, HRHDT군에서 각각 11.48 \pm 0.55, 21.07 \pm 3.42, 15.55 \pm 3.08(ng/ml)으로 Normal군에 비해 Control군에서 유의하게 증가하였으며, HRHDT군에서 Control군에 비해 정상군의 수준으로 유의하게 감소하였다.

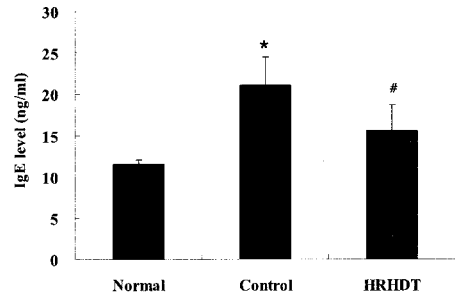


Fig. 3. The effects of HRHDT on IgE levels in serum

NC/Nga mice skin Normal group (A), and Control group (B). NC/Nga mice (C) followed by the epicutaneous application of 150 μ l of 3% HRHDT solution 3 weeks. Data were presented as them \pm S.D. * P <0.05 compared with normal, # P <0.05 compared with control.

4. 황련해독탕이 피부 조직 변화에 미치는 영향

DNCB를 처리한 후 Control군의 귀 등쪽 목 부위에 skin lesions, erythema, erosion, skin dryness가 HRHDT군에 비해 심화된 것을 관찰할 수 있었다(Fig. 4). 실험 종료 후 등쪽 목 부위 피부를 박리한 후 H&E 염색법을 이용하여 피부 조직을 분석한 결과, Normal군은 epidermis, dermis, baseline이 \times 100에서 관찰되었고, DNCB로 피부염을 유발한 Control군은 epidermis가 dermis쪽으로 두껍게 내려가 현저하게 확장된 피부손상을 나타내는 것으로 보아 발진이 많이 진행된 것을 확인할 수 있었으며 백혈구의 침윤도 관찰되었다. DNCB로 피부염을 유발한 후 황련해독탕을 처리한 HRHDT군(C)은 Control군(B)에 비해 epidermis의 두께도 현저히 줄었고, 부종이 많이 사라진 것을 관찰할 수 있었다(Fig. 5).

고찰

서양 의학에서는 아토피 피부염은 주로 전신적 면역 반응의 불균형에 의한 발생으로 보며, 혈액 내 IgE의 농도가 증가되고 호산구증이 나타나는 것이 알레르기성 질환의 초기 증상이다¹⁴⁾. 아토피 피부염 환자에서는 수분증발이 증가되어서 항원의 침투가 용

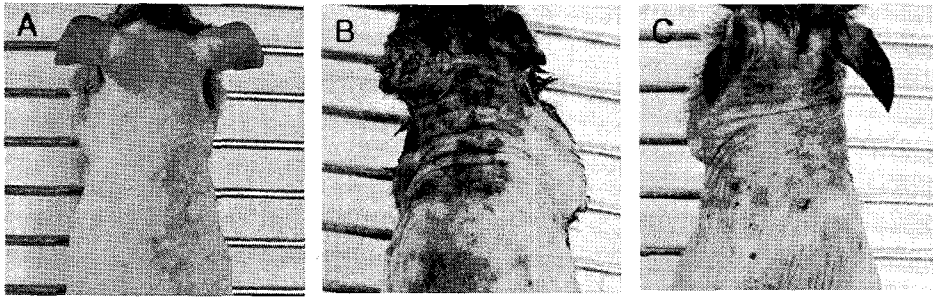


Fig. 4. Clinical skin features of back skin in NC/Nga mice

NC/Nga mice skin Normal group (A), and Control group (B). NC/Nga mice (C) followed by the epicutaneous application of 150 μ l of 3% HRHDT solution 3 weeks.

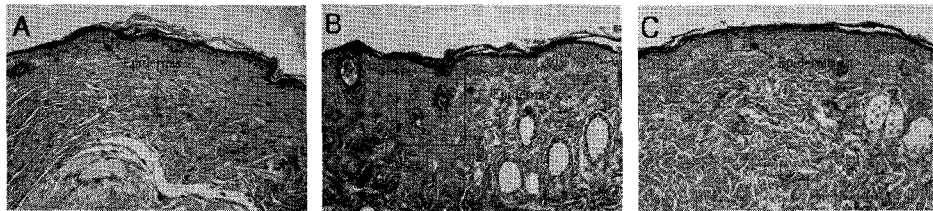


Fig. 5. Histologic features of skin lesion in NC/Nga mice

NC/Nga mice skin Normal group (A), and Control group (B). NC/Nga mice (C) followed by the epicutaneous application of 150 μ l of 3% HRHDT solution 3 weeks. Mice skin biopsy were stained with hematoxylin and eosin (H&E). Bright microscop (Nikon, Japan, Magnification, $\times 100$).

이해지므로 피부의 과민 반응이 더욱 심화되게 되어 세라마이드에 결합하는 매트릭스 구조 단백질에 의해 형성되는 피부장벽을 약화시키게 되므로 감염과 염증에 대한 감수성이 높아지게 된다¹⁵⁾. 아토피 피부염의 치료를 위하여 자극을 일으키는 항원을 제거하는 것이 가장 좋은 방법이지만 특이적 항원을 알 수 없는 경우도 많기 때문에 적절한 조치를 취해야 한다. 보습제 사용 외에 일반적으로 피부상재균을 제거하기 위하여 항생제 투여 및 국소적으로는 스테로이드 제제를 사용하는데 장기간 사용시 안전성이 문제된다. T cell의 세포활성을 억제하는 FK506과 같은 칼시뉴린 저해제가 개발됨으로써 초기 사용으로 스테로이드의 용량을 줄이는 효과를 나타낼 수 있는 것으로 보고되었으나¹⁶⁾, 역시 장기간 사용에 대한 안전성 확보가 된 것은 아니다. 따라서 본 연구에서는 한의학에서 피부질환에 축적된 임상결과를 가진 황련해독탕의 아토피 피부염 치료 보조제로서의 효능을 검증하고자 NC/Nga mice를 이용하여 IgE, 경표피 수분증발량, 피부홍반의 변화와 관련하여 피부개선 효능을 조사하였다.

선천적 아토피 피부질환 모델인 NC/Nga mice는 1957년에 Japanese fancy 생쥐로부터 확립된 실험동물 모델로서 아토피와 관련하여 널리 이용되고 있다. 항원에 노출되는 SPF-free 환경에서 발병되고 면역

학적 변화도 사람의 아토피 피부염 환자에서의 유사한 TH2 세포가 강력히 관련되어 있으며 IgE의 증가가 특징이다. 피부조직에서는 탈과립화가 일어나는 비만 세포와 호산구가 피부 조직에 다수 침윤되며 표피의 과각질화가 관찰된다는 보고가 있다¹⁷⁾.

알레르기 반응은 면역 글로블린I이 항원과 반응하여 방출하는 화학전달 물질이나 T 림프구에 의한 각종 화합물에 의해 혈관의 확장, 모세혈관의 투과성 항진, 점액의 증가 및 점막의 부종과 염증들을 유발시킨다¹⁸⁾.

본 연구 결과에서 DNCB로 아토피 피부질환을 유발한 Control군은, 인위적 피부질환을 유발하지 않은 Normal군에 비교하여 높은 경표피 수분증발량을 확인할 수 있었으며, 황련해독탕을 처치한 실험군에서는 Control군에 비하여 유의성있는 경표피 수분증발량의 감소를 유도하였다. 이러한 결과는 황련해독탕이 피부 표피의 수분증발 개선에 관여함을 시사하는 동시에 아토피 피부염 환자에서의 표피 수분증발을 억제하여 항원의 침투에 의한 피부의 건조 및 과민반응 감소 효과가 기대된다.

IgE의 함량은 Control군이 Normal군에 비교하여 약 2배 가까이 유의성 있게 IgE의 수준을 증가시켰으며, 황련해독탕을 처치한 HRHDT군은 Normal군에 비교하여 유의성있게 감소하였다.

등쪽 목 부위 피부를 박리한 후 H&E 염색법을 이용하여 피부 조직을 분석한 결과, DNCB로 피부염을 유발한 Control군은 표피두께가 증가하고, 표피가 진피 쪽으로 두껍게 내려가 현저하게 확장된 피부손상을 나타내는 것으로 보아 발진이 많이 진행된 것을 확인할 수 있었으며 백혈구의 침윤도 관찰되었다. DNCB로 피부염을 유발한 후 황련해독탕을 처리한 HRHDT군은 Control군에 비해 표피두께도 현저히 줄었고, 부종이 많이 사라진 것을 관찰할 수 있었다.

황련해독탕의 치료로 아토피 피부질환이 유발된 NC/Nga mice의 혈액 내 IgE 농도감소, 경표피 수분증발량 및 피부홍반의 감소, 피부표피각화증의 완화 효과가 나타났다. 이는 금은화(金銀花)추출물을 이용한 Kim 등의 연구¹⁹⁾와도 관련되며, 추출물을 경구투여가 아닌 피부표면에 도포하여 DNCB로 피부염을 유도한 쥐의 혈중 IgE 농도감소에 관여함을 시사하고 있다. 이러한 결과는 황련해독탕이 DNCB로 유발된 NC/Nga mice의 아토피 피부질환에 유용하게 활용될 수 있음을 시사하며 더 나아가 아토피 피부염에 효과적인 응용이 기대된다.

결 론

DNCB로 유발된 아토피 피부질환에 대한 황련해독탕에 대한 효과를 알아보기 위하여 H&E 피부조직 염색, IgE 수준 측정, 경표피 수분증발량, 피부홍반의 변화를 관찰한 결과 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 피부 조직 표변 검사상 황련해독탕을 처리한 군은 시간이 경과함에 따라 정상군에 비해 각질층의 재생이 증가하였다.
2. 황련해독탕을 처리한 실험군에서는 단독 DNCB를 처리한 Control군에 비교하여 유의한 IgE의 감소를 유도하였다.
3. 황련해독탕을 처리한 실험군에서는 단독 DNCB를 처리한 Control군에 비교하여 유의한 경표피수분증발량 감소를 유도하였다.
4. 황련해독탕을 처리한 실험군에서는 단독 DNCB를 처리한 Control군에 비교하여 유의한 피부홍반의 감소를 유도하였다.

감사의 글

본 연구는 산업자원부 지역산업기술개발사업의 지

원(70000823)에 의하여 이루어진 것으로 이에 감사드린다.

참고문헌

1. Leung DY, Boguniewicz M, Howell MD, Nomura I, Hamid QA. New insights into atopic dermatitis. *J Clin Invest.* 2004 ; 113 : 651-7.
2. Heinzmann A, Daser A: Mouse models for the genetic dissection of atopy. *Int Arch Allergy Immunol.* 2002 ; 127 : 170-80.
3. Rousset F, Rorbert J, Andary M, Bonnin JP, Souillet G, Chretien I, Briere F, Pene J, de Vries JE. Shift in interleukin-4 and interferon-gamma production by T cells of patients with elevated serum IgE levels and the modulatory effects of these lymphokines on spontaneous IgE synthesis. *J Allergy Clin Immunol.* 1991 ; 87 : 58-69.
4. Van der Kleij HP, Kraneveld AD, van Houwelingen AH, Kool M, Weitenberg AC, Redegeld FA, Nijkamp FP. Murine model for non-IgE-mediated asthma. *Inflammation.* 2004 ; 28 : 115-25.
5. Oh JW, Pyun BY, Choung JT, Ahn KM, Kim CH, Song SW, Son JA, Lee SY, Lee SI. Epidemiological change of atopic dermatitis and food allergy in school-aged children in Korea between 1995 and 2000. *J Korean Med Sci.* 2004 ; 19 : 716-23.
6. Vestergaard C, Yoneyama H, Matsushima K. The NC/Nga mouse: a model for atopic dermatitis. *Mol Med Today.* 2000 ; 6 : 209-10.
7. Vestergaard C, Yoneyama H, Murai M, Nakamura K, Tamaki K, Terashima Y, Imai T, Yoshie O, Irimura T, Mizutani H, Matsushima K. Overproduction of Th2-specific chemokines in NC/Nga mice exhibiting atopic dermatitis-like lesions. *J Clin Invest.* 1999 ; 104 : 1097-105.
8. Hashimoto Y, Arai I, Nakanishi Y, Sakurai T, Nakamura A, Nakaike S. Scratching of their skin by NC/Nga mice leads to development of dermatitis. *Life Sciences.* 2004 ; 76 : 783-94.
9. Park SH, Jin MR, Koo YS, Kim DH. Effect of BHOSB on various immunological factors related to pathogenesis of atopic dermatitis in

DNCB treated NC/Nga mice. *J Korean Orien Physiol & Pathol.* 2007 ; 21(4) : 849-55.

10. 김진택, 박인식, 안상현. DNCB에 의한 생쥐 복강피부의 지연형 과민반응에 관한 연구. *동국한의 학연구소논문집.* 1997 ; 6(1) : 117-28.

11. 양재현, 은재순, 이남희. 베르베린 제제의 생체 이용율에 관한 연구 (II): 황련과 감초 공침물의 항균 효과 및 생체이용율. *약제학회지.* 1995 ; 25(3) : 185-92.

12. 주영승, 김기연, 장성환. *미용동의보감.* 서울:성보사. 2004 ; 140-3.

13. So BH. Instrumental efficacy evaluation for skin. *J Skin Barrier.* 2006 ; 8(1) : 68-75.

14. Leung D.Y, Boguniewicz M, Michael D.H, Nomura I, Qutayba A.H. New insights into atopic dermatitis. *J Clin Invest.* 2004 ; 113(5) : 651 -7.

15. Sator P.G, Schmidt J.B, Honnigsmann 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.

16. Kapp A, Papp K, Bingham A, Holst R.F, Ortonne J.P, Potter P.C, Gulliver W, Paul C, Molloy S, Barbier N, Thurston M, Prost Y. Long-term management of atopic dermatitis in infants with topical pimecrolimus, a nonsteroid anti-inflammatory drug. *J Allergy Clin Immunol.* 2002 ; 110 : 277-84.

17. Matsuda H, Watanabe N, Geba G.P, Sperl J, Tsudzuki M, Hiroi J, Matsumoto M, Ushio H, Saito S, Askenase P.W, Ra C. Development of atopic dermatitis-like skin lesion with IgE hyperproduction in NC/Nga mice. *Int Immunol.* 1997 ; 9 : 461-6.

18. Ishizaka K. Regulation of IgE synthesis. *Annu Rev Immunol.* 1984 ; 2 : 159-82.

19. Kim SC, Lee JR, Choi KI, Park SJ, Kwon YK, Byun SH. Effect of *Lonicerae Flos*-skin on contact hypersensitivity induced by repeat elicitation of DNCB. 2006 ; 21(1) : 9-15.