J Korean Soc Food Sci Nutr
39(11), 1611~1618(2010)

한국식품영양과학회지
DOI: 10.3746/jkfn.2010.39.11.1611

2,4-Dinitrochlorobenzene으로 유도된 아토피 피부염 동물모델에서 비파엽 및 삼백초 추출발효물의 항아토피 활성

최명진[1] · 정희경[2] · 정유석[2] · 박승춘[1] · 홍주헌[3†]

[1]경북대학교 수의과대학
[2](재)대구테크노파크 바이오산업지원센터
[3]대구가톨릭대학교 외식식품산업학부

Anti-Allergic Activities of Fermented *Eriobotrya japonica* and *Saurus chinensis* Extracts in 2,4-Dinitrochlorobezene-Induced BALB/c Mice

Myung-Jin Choi[1], Hee Kyoung Jung[2], Yoo Seok Jeong[2], Seung-Chun Park[1], and Joo-Heon Hong[3†]

[1]College of Veterinary Medicine, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea
[2]Bio Industry Center, Daegu Technopark, Daegu 704-801, Korea
[3]Dept. of Food Science and Technology, Catholic University of Daegu, Gyeongbuk 712-702, Korea

Abstract

This study was conducted to evaluate the effects of *Eriobotrya japonica* and *Saurus chinensis* extracts and their fermented extracts on immune parameters in BALB/c mice treated with 1% 2,4-dinitrochlorobenzene (DNCB). The groups were *Eriobotrya japonica* extract (BI), *Saurus chinensis* extract (SA), mixture with *E. japonica* extract and *S. chinensis* extract (FB) and fermented mixture with *E. japonica* extract and *S. chinensis* extract (FA) and distilled water treated control. The level of serum immunoglobulin (Ig) E was decreased in FA compared to control group, but significant difference was not observed ($p<0.05$). The histamine and contents in FA and control group were 1.47±0.20 ng/mL and 1.90±0.04 ng/mL, respectively ($p<0.05$). Ceramide contents were significantly increased in FA compared to BI, SA, FB and control group ($p<0.05$). These results suggest that FA supplementation in the DNCB treated BALB/c mice affect anti-allergic activities positively, and may be used as functional material for suppression of atopy dermatitis in food industry.

Key words: *Eriobotrya japonica*, *Saurus chinensis*, atopic dermatitis, BALB/c mice

서 론

비파(*Eriobotrya japonica* L.)는 장미과의 상록 교목으로 우리나라에서는 제주도, 경남 및 전남지방 등 온화한 기후 조건에서 주로 자생하고 예로부터 민간요법으로 청폐, 진해, 거담, 건위, 이뇨, 패혈해소, 기관지염, 구역질, 딸국질 및 부종 등에 효능이 있다고 알려져 있다(1). 비파엽에는 terpenoid와 flavonoid 등의 유용한 화합물을 다량 함유하고 있어 항산화, 항염증, 항HIV, 항돌연변이 및 항암활성이 보고되고 있다(2,3). 삼백초(*Saururus chinensis* Baill)는 삼백초과의 다년생 초본으로 꽃이 피는 7~8월에 3~4개의 잎이 백색이기 때문에 삼백초라 부른다. 삼백초의 주성분은 quercetin, quercitrin, isoquercitrin, rutin 및 수용성 tannin 등이 알려져 있으며 이중 quercetin, quercetrin은 플라보노이드의 일종으로 항균 및 항산화 효과를 나타내는 것으로 보고되며, 항암성 및 모세혈관 강화작용 등의 효과들이 알려져 있다(4,5). Jeong 등(6)은 RBL-2H3 세포를 이용하여 비파엽 열수 추출물이 항염증효과와 항 알레르기 활성이 있음을 확인하였으나 비파엽과 삼백초의 항 알레르기 활성에 대한 *in vivo*상 연구는 거의 없어 기능성 소재로 활용은 여전히 미진한 실정이다.

국내외 소아기의 주요 질환으로 보고되고 있는 아토피는 항원에 따라 말단 장기의 과민 반응이 다르게 나타나는 것을 말하였으나 현재에는 항원 자극으로 IgE가 생산되는 천식과 아토피성 습진까지 모두를 일컫는 제 1형 과민 반응이다(7,8). 아토피가 유발되는 원인은 아직 정확하게 밝혀지지는 않았지만 유전적 소인, 면역학적 요인 및 환경적 영향이 복합적으로 관여되는 것으로 알려져 있다(9). 최근 Lee 등(10)은 아토피 피부염의 발생과 기작을 규명하기 위해 생물정보학적 방법을 기초로 하여 아토피 관련 질병 단백체를 확보하였으며, 아토피 질병 네트워크를 구축하기도 하였다. 그러나 이러한 방법은 분자 수준에서 발병 기작을 해석하는 것으로

†Corresponding author. E-mail: jhhong@cu.ac.kr
Phone: 82-53-850-3218, Fax: 82-53-850-3218

많은 시간과 노력이 필요한 실정이다. 따라서 연구자들은 여전히 면역학적 관점에서 아토피 피부염의 발병 원인을 규명하려고 노력하고 있다(8,11). 아토피 피부염은 그 병인이 불분명함에도 불구하고 환경오염과 공해에 의해 발병률과 질환의 심각성은 지속적으로 높아지고 있으며, 아토피 환자들은 질환의 치료에 있어 염증과 소양감 조절을 위해 부신피질 호르몬제와 항히스타민제를 사용하고 있다(12). 그러나 이는 장기간 투여 시 부작용이 보고되고 있어 최근 천연 항알레르기제의 개발이 고려되고 있다. 현재까지 아토피 저감화에 대한 효능이 기대되는 천연 소재로는 황금 열수 추출물(13), 두충 추출물(14), 천년초 추출물(15), 김치 추출물(16) 등이 보고되고 있다. 이와 더불어 식품 시장에서는 식품의 기능성이 강조됨에 따라 건강기능식품 개발을 위한 다양한 신소재의 개발도 활성화 되고 있다.

따라서 본 연구에서는 국민 보건상의 위협을 가하고 있는 아토피 질환 예방을 위한 기능성 소재의 발굴을 위해 비파엽 열수 추출물과 삼백초 열수 추출물 및 이들 추출 혼합물과 혼합물의 발효물을 대상으로 DNCB로 유도된 아토피 동물 모델에서의 항아토피적 유효성을 조사하였다.

재료 및 방법

재료 및 실험시료 제조

실험 시료인 비파엽(전남 화순군) 및 삼백초(제주도)는 대구시 약령시장에서 구입하였으며, 비파엽과 삼백초 추출물은 각 약재 100 g을 수세하고 20배 가수한 후 압력식 추출기(KyungSeo Machines, Incheon, Korea)에서 95°C, 4시간 열수 추출한 후 여과하고 감압농축기(Rotary Vacuum Evaporator, N-1000, EYELA, Tokyo, Japan)로 농축한 다음 증류수로 100 mL로 하여 준비하였다. 또한 비파엽과 삼백초 혼합물은 상기에서 준비한 비파엽 열수 추출물과 삼백초 열수 추출물을 동일비율로 혼합하여 제조하였으며, 발효물 제조는 대구광역시 소재 젠팩스코리아(주)에서 비파엽과 삼백초 추출물을 1:1 비율로 혼합하고 끓는 물로 세척한 독에 담아 독을 통기가 될 수 있는 천으로 밀봉한 후 상온에서 30일간 햇빛에 노출되지 않게 보관하여 자연 발효시켜 준비하였다.

실험동물

5주령의 특정병원체부재(specific pathogen free) male BALB/c 마우스(Orient Co., Seongnam, Korea)를 구입하여 1주일간 적응시킨 다음 실험에 사용하였다. 실험 기간 동안 사육실의 온도는 21~23°C, 습도는 60% 전후로 유지하였으며 광주기와 암주기는 12시간으로 조절하여 실험동물은 무균적으로 관리하였다. 실험군은 2,4-dinitrochlorobenzene (DNCB, Sigma, St. Louis, MO, USA)를 도포하고 물을 경구투여한 군을 대조군으로 하고 시료 투여군으로써 DNCB 도포 및 비파엽 추출물과 삼백초 추출물을 각각 경구 투여시킨 BI군과 SA군, 그리고 비파엽과 삼백초 열수 추출물을 1:1 비율로 혼합하여 투여시킨 FB군과 이 혼합물을 30일간 자연 발효 시킨 발효물을 투여시킨 FA군 등 총 5개 군으로 나누어 각 군에 5마리씩 배정하여 실험하였다(13).

DNCB 제조 및 아토피 유발

DNCB용액은 아세톤과 올리브유를 3:1로 혼합된 용액에 2.5%와 1%로 희석하여 사용하였다. 실험동물을 1주일간 적응시킨 후 시험물질 도포 하루 전 실험동물의 등 부위를 목에서부터 골반 쪽으로 제모하고 제모의 상처가 치유되도록 24시간 방치하였다. 그 후 2.5% DNCB 용액을 마우스 목뒤 피부에 도포하여 1차 면역반응을 유발한지 4일 후, 1% DNCB 용액 20 μL를 마우스 양쪽 귀에 도포하고, 150 μL를 등 부위에 도포하여 아토피 피부염을 유발하였다. 자연치유에 의한 오차를 막기 위해 경구투여 기간에도 DNCB를 주 2회씩 2주 동안 마우스의 등과 귀 부위에 도포하여 DNCB short-term 모델로 실험에 사용하였다(15,17).

경구투여

각 실험시료는 2차 DNCB 도포와 함께 BI, SA, FB, FA군에 매일 정해진 시간에 각각 0.64 μL/g의 농도로 멸균된 생리식염수 200 μL에 희석하여 경구투여 하였으며, DNCB군은 증류수를 200 μL씩 2주 동안 경구투여 하였다.

혈액 및 조직 채취

채혈은 희생일에 마우스를 12시간 절식시킨 다음 CO_2로 마취시키고 주사기를 이용해 심장으로부터 혈액을 채취하여 일부는 complete blood count(CBC)를 실시하였으며, 나머지 혈액은 4°C에서 1,800 rpm으로 10분간 원심분리를 하여 혈장만 분리하여 -70°C에 보관하였다. 또한 심장 채혈 후 바로 경추탈구로 마우스를 희생시킨 다음 등 부위의 피부조직을 1×2 cm^2 크기로 잘라서 피부조직을 채취하고 이어서 양쪽 귀를 잘라서 채취하였다(17).

혈액 내 혈구 수치 측정

1 cc 주사기로 심장 천자를 시행하여 얻은 혈액을 EDTA tube(EDTA KE/1.3, Sarstedt, Numbrecht, Germany)에 담은 후 충분히 흔들어 혈액의 응고를 방지하였다. 경북대학교 수의과대학 부속 동물병원에 의뢰하여 혈액검사기(Automatic full digital cell counter, Melet Schloesing Laboratories, Cergy-Pontoise, France)로 혈구수치를 측정하였다.

혈장 중 immunoglobulin E(IgE) 및 histamine 변화 측정

각 시험군별 혈장 중의 IgE와 histamine 변화 측정은 희생일에 심장 천자를 통해 얻은 혈액으로부터 분리한 혈장을 이용하여 mouse IgE ELISA kit(Shibayagi Co. Ltd, Gunma, Japan)를 이용하여 측정하였으며, histamine 측정은 mouse histamine ELISA kit(IBL-America, Inc., Minneapolis, MN, USA)를 이용하였다(18,19).

조직에서 세라마이드 총 함량 변화 측정

실험동물의 피부조직으로부터 세라마이드 함량 측정을 위해 우선 채취한 피부조직에 4 mL의 Tris-HCl buffer(1 M, pH 7.5)를 첨가하고 분쇄한 후 동량의 folch 용액(chloroform : methanol=2:1, *v/v*)을 첨가하고 3,000 rpm, 5분간 원심분리를 하였다. 하층액을 N_2 gas로 건조시킨 후 2% isopropanol을 함유한 hexane을 1 mL 첨가하여 필터한 후 이를 HPLC 분석에 이용하였다. 분석에 이용한 column은 APS Hypersil(200 mm×4.6 mm ID, Agilent Technologies, Inc, Santa Clara, CA, USA)이며, mobile phase로는 hexane과 2% isopropanol(IPA) 혼합액을 사용하였다. 또한 flow rate는 0.6 mL/min이며, 흡광도는 230 nm에서 측정하였다(17).

귀 조직에서의 cytokine 변화 조사

Cytokine 측정을 위해 실험동물을 희생 후 바로 양쪽 귀 조직을 채취하여 protease inhibitor가 있는 phosphate buffer 0.5 mL를 첨가한 후 cell strainer(70 μm nylon, Miltenyi Biotec, Auburn, CA, USA)를 이용하여 충분히 분쇄하였다. 이 분쇄액을 20,000 rpm, 30분간 원심분리를 하고 상등액 만을 회수하여 mouse IFN-γ ELISA kit(Koma Biotech, Seoul, Korea)와 mouse IL-1β ELISA kit(Biosource International, Inc., Camarillo, CA, USA)를 사용하여 cytokine의 양을 정량하였다(15).

귀의 무게 변화 측정 및 등 피부 육안병리 소견

희생 일에 채취한 양쪽 귀 조직을 그룹별로 무게를 측정하였다. 피부 육안병변 관찰은 희생 직전 각 시험군별로 시험시료의 경구 투여에 따른 등 피부에 나타나는 염증, 출혈, 홍반, 가피 탈피 등의 피부염 관련된 병변을 육안으로 관찰하여 평가하였다(7).

통계분석

모든 데이터 분석은 Statistical Analysis System(SAS, Ver. 8.01)을 이용하여 기술적인 통계치를 산출하였다. 결과는 평균(mean)과 표준편차(standard deviation, SD)로 표시하였으며, 실험군의 평균 간의 유의성을 one way ANOVA 검증에 따라 Duncan's multiple range test로 $p<0.05$ 수준에서 검증하였다.

결과 및 고찰

식이섭취량 및 체중변화

각 실험군별 식이섭취량 및 체중 변화는 시간이 지남에 따라 증가하는 경향을 나타내었으며, DNCB군, FA군, FB군, BI군, SA군에서 증감의 차이는 있었으나 유의적 차이는 관찰되지 않았다($p<0.05$). 이러한 결과로 미루어 볼 때, 아토피 저감화 효능이 기대되는 삼백초 추출물, 비파엽 추출물 및 이들 추출물의 혼합물, 그리고 추출물 혼합 발효물은 안전성에 큰 영향을 미치지 않음을 확인할 수 있었다(Fig. 1).

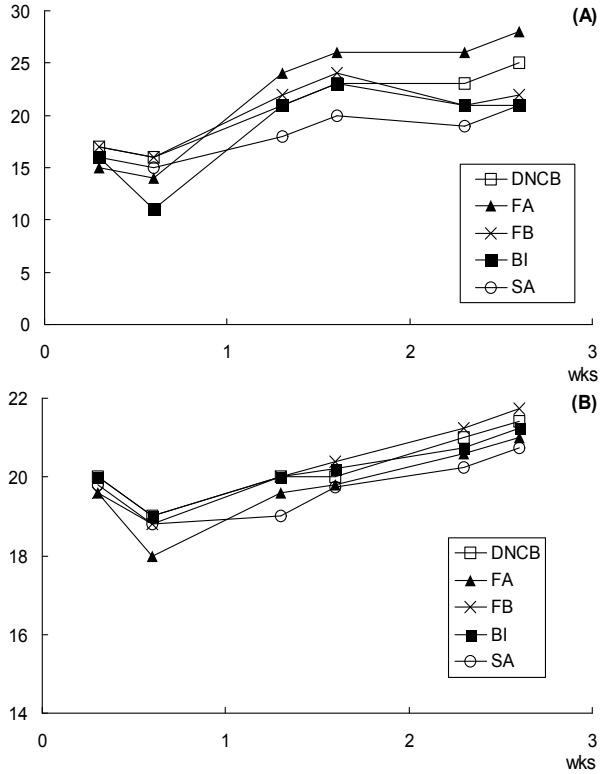

Fig. 1. Food intake (A) and body weight (B) of the experimental groups. DNCB: Treated 1% 2,4-dinitrochlorobenzene and oral inject distilled water, FA: Treated 1% 2,4-dinitrochlorobenzene and fermented *Eriobotrya japonica* and *Saurus chinensis* water extract, FB: Treated 1% 2,4-dinitrochlorobenzene and *Eriobotrya japonica* and *Saurus chinensis* water extract, BI: Treated 1% 2,4-dinitrochlorobenzene and *Eriobotrya japonica* water extract, SA: Treated 1% 2,4-dinitrochlorobenzene and *Saurus chinensis* water extract.

혈구수치의 변화

각 실험군별 혈액 내에서 총 백혈구 수와 호산구, 호염기구 비율의 변화를 측정한 결과, 호염기구 비율에서는 DNCB군과 시험시료 투여군인 FA군, FB군, BI군 및 SA군과 유의적 차이는 관찰되지 않았다($p<0.05$). 그러나 백혈구 수와 호산구 비율에서는 DNCB군과 비교시 FA군, FB군, BI군, SA군 모두에서 유의적 감소를 나타내었다(Fig. 2). 이러한 결과로 미루어볼 때, 실험 시료인 비파엽 및 삼백초 추출물, 그리고 각 추출물의 혼합물과 혼합물의 발효물들은 모두 아토피 실험동물에 있어 유의적으로 호산구 비율을 감소시킬 수 있음을 확인하였다. 아토피 피부염은 호산구의 과다 증식으로 호산구증을 유발하는 것(20)으로 알려져 있으며, Kang 등(21)은 중증 아토피 환자보다 경증 경우에서 호산구수가 유의적으로 증가된다고 보고하였다. 이러한 선행 연구로 미루어 볼 때, 아토피 환자에 있어 초기 임상적 특징은 호산구 증가로 볼 수 있으며, 실험시료의 호산구 증식 억제 효과는 특히 아토피 초기 증상을 가진 환자들에게 호전 효과를 줄 수 있음을 알 수 있다. 또한, 아토피 피부염은 만성 염증성

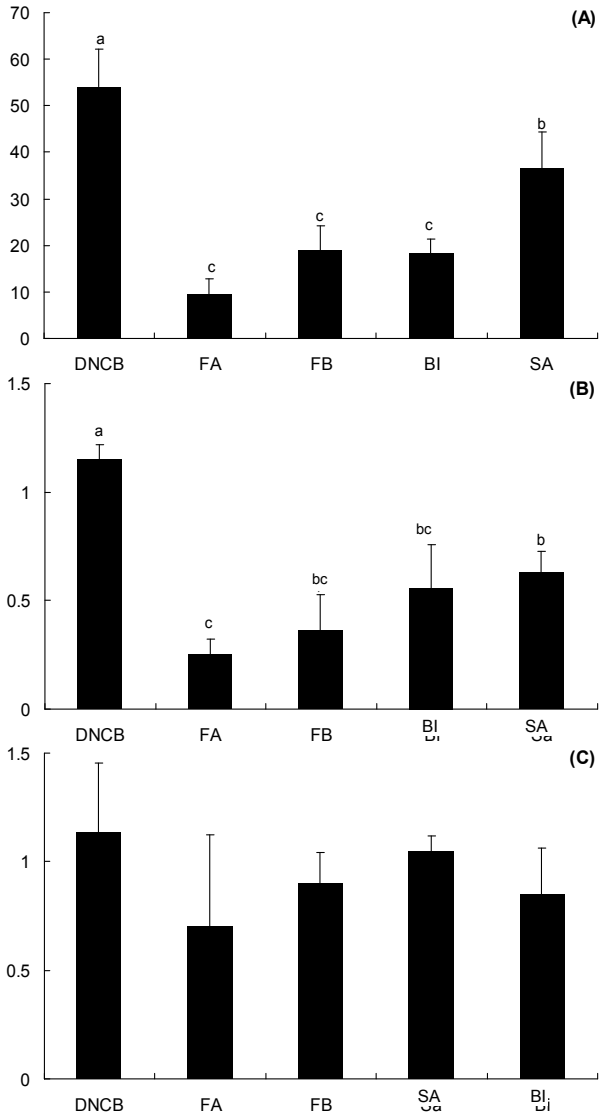

Fig. 2. Changes of WBC (white blood cells), eosinophil and basophil levels in each group. Complete blood count test was done at sacrifice day. DNCB: Treated 1% 2,4-dinitrochlorobenzene and oral inject distilled water, FA: Treated 1% 2,4-dinitrochlorobenzene and fermented *Eriobotrya japonica* and *Saurus chinensis* water extract, FB: Treated 1% 2,4-dinitrochlorobenzene and *Eriobotrya japonica* and *Saurus chinensis* water extract, BI: Treated 1% 2,4-dinitrochlorobenzene and *Eriobotrya japonica* water extract, SA: Treated 1% 2,4-dinitrochlorobenzene and *Saurus chinensis* water extract. Values were expressed as mean ±SD (n=5). Different superscripts on the bars indicate significant differences at $p<0.05$.

피부 질환으로 발생기전이 즉시형 과민반응으로 나타나는 것이다(22). 염증이 발현되면 백혈구의 수가 증가되는 것(23)으로 알려져 있는데 실험시료 투여에 따른 아토피 질환 동물 모델에서의 백혈구 수의 감소는 실험시료가 아토피 피부염의 근본적 원인인 염증 반응을 감소시킬 수 있음을 보여준다.

혈청 중 IgE 및 히스타민의 변화

혈청에서 IgE 수준의 상승은 아토피성 피부염의 면역학

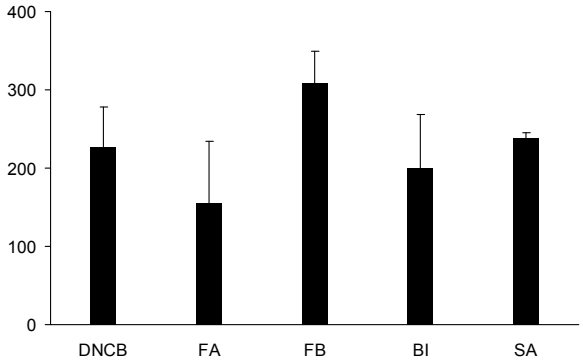

Fig. 3. Total serum IgE levels in male BALB/c mice at sacrifice day. DNCB: Treated 1% 2,4-dinitrochlorobenzene and oral inject distilled water, FA: Treated 1% 2,4-dinitrochlorobenzene and fermented *Eriobotrya japonica* and *Saurus chinensis* water extract, FB: Treated 1% 2,4-dinitrochlorobenzene and *Eriobotrya japonica* and *Saurus chinensis* water extract, BI: Treated 1% 2,4-dinitrochlorobenzene and *Eriobotrya japonica* water extract, SA: Treated 1% 2,4-dinitrochlorobenzene and *Saurus chinensis* water extract. Values were expressed as mean±SD (n=5).

적 지표(8)로 알려져 있는데 본 연구에서도 각 실험시료의 아토피 저감화 유효성을 평가하기 위해 혈청 중의 IgE 수치를 측정한 결과, DNCB군에서 227.21±60.04 ng/mL를 나타내었으며, FA군에서는 154.78±78.99 ng/mL로 IgE 생성량이 감소되었다(Fig. 3). IgE는 피부 백혈구에 결합하여 침입된 항원과 반응하여 알레르기 반응을 일으키는 것으로 보고되고 있다(24). 특히, IgE는 아토피 피부염환자에서 임상적 중증도와 비례하는 것으로 알려져 있다(25). 따라서 비록 유의적 차이는 관찰되지 않았지만 아토피 질환 동물모델에서 비파엽 및 삼백초 추출물 혼합 발효물 섭취는 비파엽과 삼백초 추출물보다 IgE 발현이 크게 억제되는 것으로 보아 아토피 치료에 긍정적 영향을 미칠 수 있을 것으로 판단되어진다.

희생일에 채취한 혈액 중 혈청내의 히스타민 농도는 DNCB군에서 1.90±0.04 ng/mL였으며, FA, FB, BI, SA군에서 각각 1.47±0.20 ng/mL, 1.41±0.07 ng/mL, 1.61±0.05 ng/mL, 1.08±0.07 ng/mL로 DNCB군과 비교 시 유의적인 감소를 나타내었다($p<0.05$, Fig. 4). 아토피 피부염에서 히스타민은 소양감의 주요한 원인으로 정상인과 비교 시 아토피 환자에서 히스타민이 특히 증가되는 것으로 보고되고 있다(26). 따라서 상기의 유의적인 결과는 비파엽 추출물, 삼백초 추출물, 이들의 추출물 혼합물과 혼합물의 발효물들이 모두 히스타민 농도를 감소시켜 소양감 완화에 도움을 줄 수 있음을 나타내며, 이는 항히스타민제 부작용에 대한 대안의 하나로 천연 항히스타민제 개발을 위한 기능성 소재로의 활용이 가능함을 보여준다.

피부 조직에서 세라마이드 총 함량 변화

조직학적 관점에서 살펴볼 때, 아토피 질환이 유발된 피부 조직에서는 수분보유 능력과 장벽 기능 손상이 되어 있는 것으로 보고되고 있다(7). 특히 아토피 환자에서는 각질층의

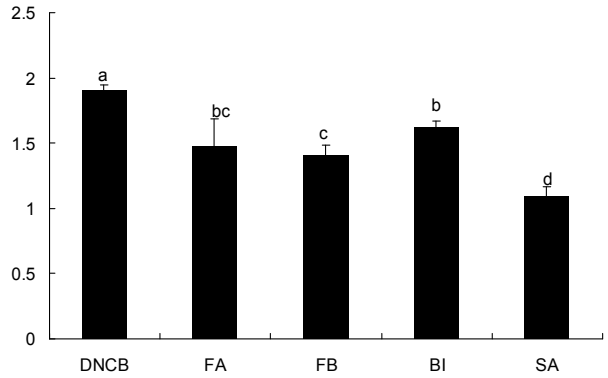

Fig. 4. Total serum histamine levels in male BALB/c mice at sacrifice day. DNCB: Treated 1% 2,4-dinitrochlorobenzene and oral inject distilled water, FA: Treated 1% 2,4-dinitrochlorobenzene and fermented *Eriobotrya japonica* and *Saurus chinensis* water extract, FB: Treated 1% 2,4-dinitrochlorobenzene and *Eriobotrya japonica* and *Saurus chinensis* water extract, BI: Treated 1% 2,4-dinitrochlorobenzene and *Eriobotrya japonica* water extract, SA: Treated 1% 2,4-dinitrochlorobenzene and *Saurus chinensis* water extract. Values were expressed as mean±SD (n=5). Different superscripts on the bars indicate significant differences at $p<0.05$.

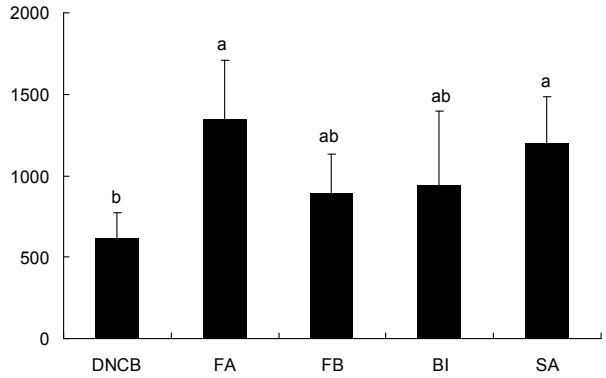

Fig. 5. Total ceramide contents in the epidermis of BALB/c mice. DNCB: Treated 1% 2,4-dinitrochlorobenzene and oral inject distilled water, FA: Treated 1% 2,4-dinitrochlorobenzene and fermented *Eriobotrya japonica* and *Saurus chinensis* water extract, FB: Treated 1% 2,4-dinitrochlorobenzene and *Eriobotrya japonica* and *Saurus chinensis* water extract, BI: Treated 1% 2,4-dinitrochlorobenzene and *Eriobotrya japonica* water extract, SA: Treated 1% 2,4-dinitrochlorobenzene and *Saurus chinensis* water extract. Values were expressed as mean±SD (n=5). Different superscripts on the bars indicate significant differences at $p<0.05$.

전체 지질량이 감소되어 있으며, 지질 중 함습과 장벽기능을 맡고 있는 세라마이드 함량이 감소되어 있어 피부 장벽의 기능을 저하시킨다(27). 따라서 실험시료에 의해 아토피의 면역적 병리 효과의 개선과 함께 피부 장벽기능을 증진시킬 수 있는 가를 조사하고자 2주간 아토피가 유도된 실험군인 DNCB군과 FA, FB, BI, SA군의 피부조직으로부터 HPLC를 이용하여 세라마이드 총 함량을 측정한 결과, FA군에서 1,350±357 μg/g으로 DNCB와 비교 시 세라마이드 함량이 유의적으로 증가되었으며, FB군, BI군에서는 세라마이드 함량은 증가되었으나 통계적 유의성은 없었다($p<0.05$, Fig. 5). 아토피 피부염에서의 피부 건조증에 따른 각질층의 기능 손상은 2차적으로 외부의 자극물질이나 항원에 쉽게 반응하여 면적학적 이상반응을 일으킴으로 더욱 악화시킬 수 있다(9). 따라서 상기의 결과로 미루어볼 때, 삼백초와 비파엽 혼합 추출물의 발효물은 아토피 질환 동물 모델에서 유의적 세라마이드를 증가시킴으로 수분 보유 능력을 향상시켜 피부 건조증을 감화하고 피부 장벽 기능의 강화로 항원에 대한 반응을 완화시켜 아토피 질환 개선에 도움을 줄 수 있을 것으로 사료된다.

귀 부유액에서의 cytokine 수준 변화

아토피 피부염은 염증반응과도 연계되어 있어 inflammatory cytokine도 아토피 질환 호전에 있어 중요한 역할을 한다. IFN-γ의 경우, DNCB군에서 2.5±0.5 ng/mL로 분석되었으며, FA, FB, BI 및 SA군에서 각각 7.1±1.3 ng/mL, 7.7±0.2 ng/mL, 11.5±0.6 ng/mL 및 6.9±0.2 ng/mL로 DNCB 군과 비교 시 모두 유의적인 증가를 나타내었다($p<0.05$). 반면 IL-1β에서는 DNCB군이 82.5±2.9 pg/mL, FA군, FB군, BI군, SA군이 각각 54.0±0.9 pg/mL, 57.0±0.7 pg/mL, 51.6±1.5 pg/mL, 55.5±2.2 pg/mL로 유의적인 감소

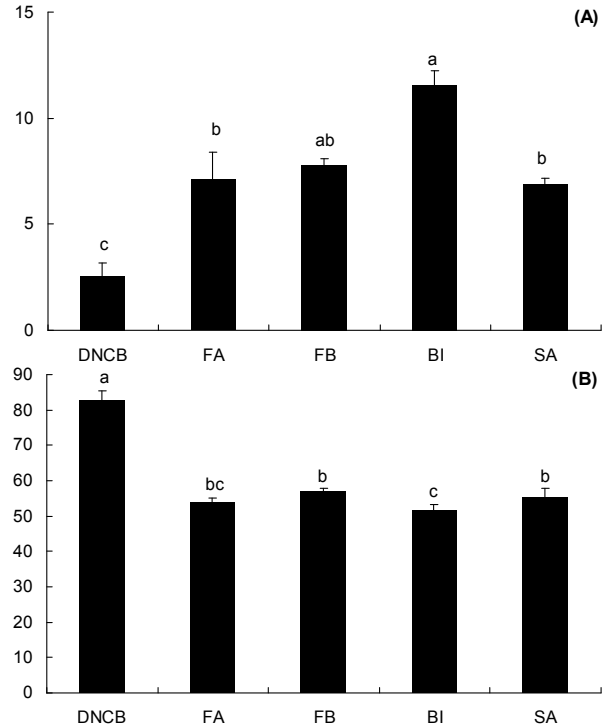

Fig. 6. Changes of IFN-γ (A) and IL-1β (B) in ear of BALB/c mice. DNCB: Treated 1% 2,4-dinitrochlorobenzene and oral inject distilled water, FA: Treated 1% 2,4-dinitrochlorobenzene and fermented *Eriobotrya japonica* and *Saurus chinensis* water extract, FB: Treated 1% 2,4-dinitrochlorobenzene and *Eriobotrya japonica* and *Saurus chinensis* water extract, BI: Treated 1% 2,4-dinitrochlorobenzene and *Eriobotrya japonica* water extract, SA: Treated 1% 2,4-dinitrochlorobenzene and *Saurus chinensis* water extract. Values were expressed as mean±SD (n=5). Different superscripts on the bars indicate significant differences at $p<0.05$.

를 보였으나 각 실험시료별 큰 차이는 없었다($p<0.05$, Fig. 6). 아토피 환자에서는 T-cell의 손상에 의해 IFN-γ 농도가

감소하며, IL-1β는 증가된다고 보고되고 있다(8,12). 특히 IFN-γ는 만성염증단계의 인자로 아토피 피부염에서 중증에서 나타나는 면역적 지표이다(28). 따라서 상기의 결과를 통해 실험 시료인 비파엽 추출물, 삼백초 추출물, 비파엽 및 삼백초 추출물의 혼합물, 이들 혼합물의 발효물들에 의해 아토피질환 동물에서 IFN-γ 및 IL-1β 농도의 조절을 확인할 수 있었으며, 이는 실험시료에 의해 아토피 환자에 있어 염증반응을 개선이 가능할 것으로 사료된다. 그러나 실험시료에 의한 각 cytokine 조절에 대한 상호간 연관성은 향후 연구가 진행되어져야 할 것이다.

양쪽 귀의 무게 변화 및 등 피부의 육안 병리

DNCB에 의한 감작 반응은 알레르겐에 의해 알레르기 및 염증 반응을 유발시켜 귀에서 swelling이 일어나 귀의 무게를 증가시킨다고 보고되고 있다(11). 따라서 본 연구에서는 아토피 저감화가 기대되는 시료들이 알레르기 반응이 저하되어 귀의 무게를 감소시킬 수 있는 지를 조사하였다. 따라서 희생일에 채취한 양쪽 귀의 무게는 측정한 결과, DNCB군에서는 122.5±20.6 mg으로 측정되었으며, FA군에서는 90±28.2 mg으로 감소를 나타내었으나 유의적 차이는 없었다(Fig. 7). 모든 실험군 들의 등 부위 피부의 육안 증상을 관찰한 결과, Lee 등(9)의 보고와 동일하게 2주간 1%의 DNCB를 등 부위에 도포한 DNCB군은 가피형성과 염증 및 발적 소견을 보였으며, FA군과 BI군에서는 가피형성과 발적의 소견이 감소됨을 육안상 관찰할 수 있었다(Fig. 8).

상기의 결과들과 육안적 병리를 관찰한 결과를 종합해 볼 때, 비파엽과 삼백초 추출물의 혼합 발효물 섭취는 아토피 피부염 유발 동물에서 히스타민 생산을 감소시키며, 세라마이드 함량은 증가시켜 아토피 질환에 있어 소양증 감소시키고 피부 장벽은 강화하여 피부 물리적 자극을 최소화하여 아토피 질환의 근본 원인인 피부의 물리적 손상을 감소시킬 수 있음을 제시하였다. 또한 비파엽과 삼백초 추출물의 혼합 발효물 섭취에 의한 만성염증 사이토카인인 IFN-γ 감소는 아토피 피부염에 있어 피부의 물리적 손상 감소가 단지 피부 장벽의 강화뿐만 아니라 알레르기원이나 2차 감염에 의한 염증반응 유발을 보호하여 아토피 질환 악화를 감소시킬 수 있음을 의미한다. 아토피 피부염은 만성적으로 지속되며 재발되는 것이 특징으로 막대한 경제적 비용과 함께 환자뿐만

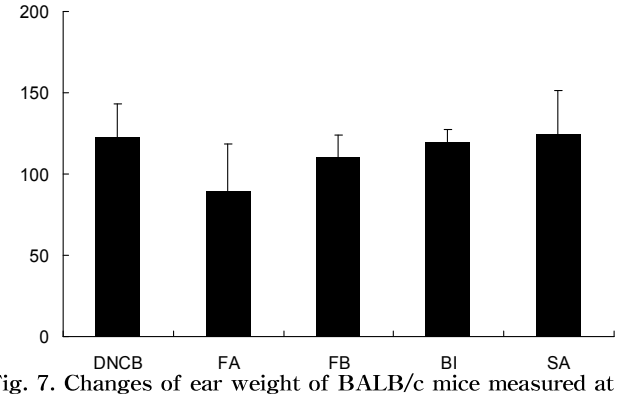

Fig. 7. Changes of ear weight of BALB/c mice measured at sacrifice day. DNCB: Treated 1% 2,4-dinitrochlorobenzene and oral inject distilled water, FA: Treated 1% 2,4-dinitrochlorobenzene and fermented *Eriobotrya japonica* and *Saurus chinensis* water extract, FB: Treated 1% 2,4-dinitrochlorobenzene and *Eriobotrya japonica* and *Saurus chinensis* water extract, BI: Treated 1% 2,4-dinitrochlorobenzene and *Eriobotrya japonica* water extract, SA: Treated 1% 2,4-dinitrochlorobenzene and *Saurus chinensis* water extract. Values were expressed as mean ±SD (n=5).

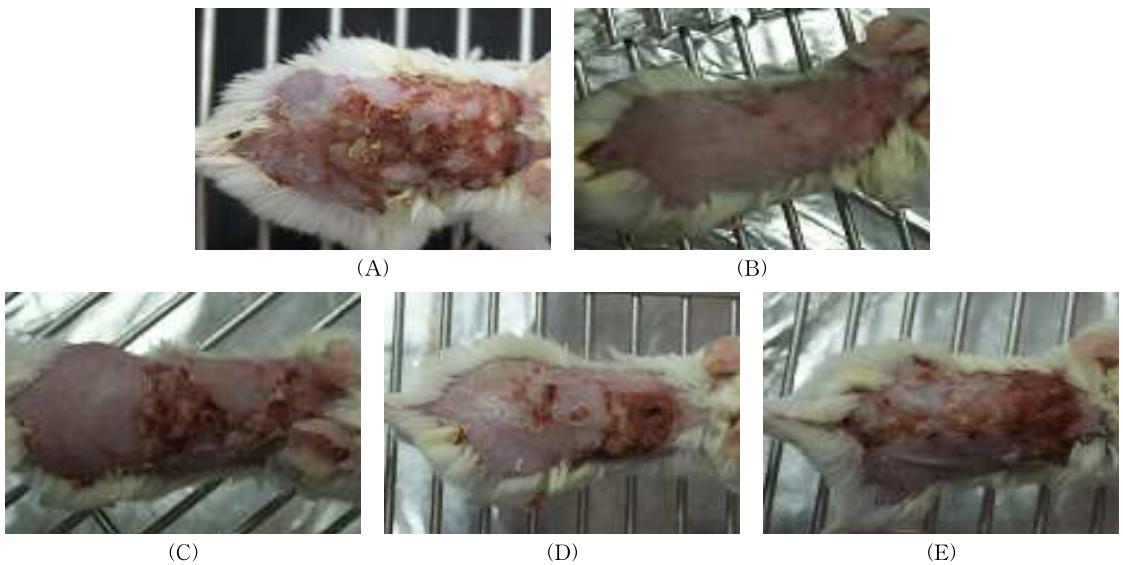

Fig. 8. Clinical skin features and severity of DNCB-induced atopic dermatitis in BALB/c mice. DNCB group (A), FA group (B), FB group (C), BI group (D), and SA group (E) mice skin features. DNCB: Treated 1% 2,4-dinitrochlorobenzene and oral inject distilled water, FA: Treated 1% 2,4-dinitrochlorobenzene and fermented *Eriobotrya japonica* and *Saurus chinensis* water extract, FB: Treated 1% 2,4-dinitrochlorobenzene and *Eriobotrya japonica* and *Saurus chinensis* water extract, BI: Treated 1% 2,4-dinitrochlorobenzene and *Eriobotrya japonica* water extract, SA: Treated 1% 2,4-dinitrochlorobenzene and *Saurus chinensis* water extract.

아니라 보호자의 삶의 질까지 저하시키고 있다(29). 결론적으로 본 연구는 비파엽과 삼백초 추출물의 혼합 발효물 섭취가 아토피 환자에게 있어 피부 보호와 면역 조절에 복합적 영향을 주어 아토피 피부염을 저감화 시키는데 도움을 줄 수 있을 것으로 사료되며 항아토피 관련 기능성식품 소재로의 활용이 기대된다.

요 약

본 연구는 *in vitro* 실험결과 아토피 피부염의 억제 효능이 기대되는 비파엽 추출물(BI군), 삼백초 추출물(SA군), 비파엽 추출물과 삼백초 추출 혼합물(FB군) 그리고 삼백초와 비파엽 추출 혼합 발효물(FA군)을 경구 투여하여 DNCB 처리한 아토피 실험동물을 대상으로 아토피 질환 개선에 대한 유효성을 평가하였다. 혈청 중의 IgE 수치를 측정한 결과, DNCB군에서 227.21±60.04 ng/mL를 나타내었으며, FA군에서는 154.78±78.99 ng/mL로 IgE 생성량이 감소되었다. 혈청내의 히스타민 농도는 DNCB군에서 1.90±0.04 ng/mL였으며, FA, FB, BI, SA군에서 각각 1.47±0.20 ng/mL, 1.41±0.07 ng/mL, 1.61±0.05 ng/mL, 1.08±0.07 ng/mL로 DNCB군과 비교 시 유의적인 감소를 나타내었다. 세라마이드 총 함량을 측정한 결과, FA군에서 1,350±357 μg/g으로 DNCB와 비교 시 세라마이드 함량이 유의적으로 증가되었다. IFN-γ 의 경우, DNCB군에서 2.5±0.5 ng/mL로 분석되었으며, FA, FB, BI 및 SA군에서 각각 7.1±1.3 ng/mL, 7.7±0.2 ng/mL, 11.5±0.6 ng/mL 및 6.9±0.2 ng/mL로 DNCB 군과 비교 시 모두 유의적인 증가를 나타내었다. 특히 비파엽 및 삼백초 추출물 혼합 발효물은 등 부위 피부의 육안 증상을 관찰한 결과, 가피형성과 발적 감소가 가장 우수하여 아토피 피부염 질환 개선에 도움을 줄 수 있을 것으로 기대된다.

문 헌

1. Kim HJ, Jo CH, Kim TH, Kim DS, Park MY, Byun MW. 2006. Biological evaluation of the methanolic extract of *Eriovotrya japonica* and its irradiation effect. *Korean J Food Sci Technol* 38: 684-690.
2. GO JK, Park SI. 2005. Sensory property and keeping quality of curd yoghurt added with *Loquat* (*Eriobotrya japonica* Lindley) extract. *Korean J Food Nut* 18: 192-199.
3. Ferreres F, Gomes D, Valentao P, Goncalves R, Pio R, Chagas EA, Seabra RM, Andrade PB. 2009. Improved loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) cultivars: variation of phenolics and antioxidative potential. *Food Chem* 114: 1019-1027.
4. Shin HH, Kang MJ, Cho HY, Kim BC, Cho EK. 2008. Optimization of extraction conditions for *Houttuynia cordara* Thunb and *Saururus chinensis* Baill mixture by response surface methodology. *Food Eng Prog* 12: 247-255.
5. Kim SK, Ban SY, Kim JS, Chung SK. 2005. Change of antioxidant activity and antioxidant compounds in *Saururus chinensis* by extraction conditions. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 48: 89-92.
6. Jeong YS, Jung HK, Youn KS, Kim MO, Hong JH. 2009. Physiological activities of the hot water extract from *Eriobotrya japonica* Lindl. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 977-982.
7. Yun MY, Noh YH, Shin GR, Cheong KJ. 2008. Effects of ELL on various immunological factors in spleen related to pathogenesis of atopy dermatitis in DNCB-induced NC/Nga mice. *J Kor Soc Cosm* 14: 954-963.
8. Lee SH, Baek SJ, Kim HA, Heo Y. 2006. 2,4-dinitrochlorobenzene-induced atopic dermatitis like immune alteration in mice. *J Toxicol Pub Health* 22: 357-364.
9. Lee SH, Min KJ, Lee KO, Sin JS, Kim YC. 2008. Effect of German chamomile oil application to atopic dermatitis mice on the change of serum IgE level. *J Kor Soc Cosm* 14: 337-345.
10. Lee YK, Yeo MH, Kang TH, Yoo JS, Kim HY. 2008. Identification of diseasomal proteins from atopy-related disease network. *J Kor Contents Association* 9: 114-120.
11. Yun JW, Kim H, Kang HJ, Koh JY, Kim BH. 2008. Comparative evaluation of animal models for atopic dermatitis in NC/Nga mice. *Lab Anim Res* 24: 59-66.
12. Young HT, Choi HJ. 2005. Clinical efficacy of functional herbal extracts liquid in atopic dermatitis patients. *Korean J Food & Nutr* 18: 380-384.
13. Kim YH, Park YS. 2006. Effect of *Scutellaria baicalensis* water extract on antioxidative activity and epidermal thickness in DNCB-induced allergic contact dermatitis animal model. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 35: 543-548.
14. Shon MY, Nam SH. 2007. Effect of *Eucommia ulmoides* extracts on allergic contact dermatitis and oxidative damage induced by repeat elicitation of DNCB. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36: 1517-1522.
15. Kim KS, Ahn MJ, Kim GS, Park SC, Rhee MH, In JG, Kim BH, Nah YL, Kim HH, Han SH. 2007. Effects of *Opuntia humifusa* extract on DNCB-induced allergic contact dermatitis in BALB/c Mice. *Lab Anim Res* 23: 169-173.
16. Lee IH, Lee SH, Lee IS, Park YK, Chung DK, Choue RW. 2008. Effects of probiotic extracts of Kimchi on immune function in NC/Nga mice. *Korean J Food Sci Technol* 40: 82-87.
17. Kim KH, Choi YS, Kim HE, Lee KG, Yeo JH, Jung DH, Kim SH, Cho YH. 2007. Dietary effect of silk protein on ceramide synthesis and the expression of ceramide metabolic enzymes in the epidermis of NC/Nga mice. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36: 554-562.
18. Kim SH, Jung HS, Cho BG, Lee JY, Kim DG. 2004. Effect of *Lithospermum erythrorhizon* on the atopic dermatitis. *J Korean Oriental Pediatrics* 18: 63-75.
19. Kim SH, Kim HJ, Jung JY. 2009. Effects of *Baicalein* on picryl chloride-induced contact dermatitis in BALB/c mice. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 160-165.
20. Yun MY, Noh YH, Cheong KJ. 2007. Suppression of DNCB-induced dermatitis in NC/Nga mouse model by RMC. *J Kor Soc Cosm* 13: 851-861.
21. Kang JW, Jung JJ, Lee EE, Kim WS. 2009. Clinical investigation of children with severe atopic dermatitis. *Pediatr Allergy Respir Dis* 19: 392-400.
22. Kim, HA, Yoon SW, Yum MG, Kim CR, Lee SM, Lee HB, Oh JW. 2008. Long-term effect of recombinant interferon-gamma on moderate and severe atopic dermatitis in childhood. *Pediatr Allergy Respir Dis* 18: 236-242.
23. Aristedis R, Serafim K. 2007. Association of plasma neutrophil elastase levels with other inflammatory mediators and clinical features in adult patients with moderate and

severe pneumonia. *Respiratory Medicine* 101: 1521-1529.
24. Kim YH, Park YS. 2006. Effect of *Acanthopanacis cortex* water extract on antioxidative activity, lipid profile and epidermal thickness in DNCB-induced allergic contact dermatitis animal model. *Korean J Food Sci Technol* 38: 668-673.
25. Ju JH, Cho HH, Lee YS. 2010. Progress on phytochemical and atopic dermatitis-related study of the root of *Lithospermum erythrorhizon*. *Kor J Pharmacogn* 41: 73-88.
26. Paik JH, Lee MS, Kim NI, Haw CR. 1999. Plasma histamine levels in patients with atopic dermatitis. *Korean J Dermatol* 37: 1553-1559.
27. Park BD, Lee SH. 2000. Atopic dermatitis and ceramide. *J Skin Barrier Res* 2: 27-35.
28. Park JH, Lee KH, Kim JW, Ro YS, Park CW, Park WS, Koh HJ, Kim JH, Seo SJ. 2010. The therapeutic efficacy of the moisturizer APDDR-0801 for patients with atopic dermatitis. *Kor J Dermatol* 48: 93-100.
29. Lee SH, Yum HY. 2008. Complementary medicine of atopic dermatitis. *Pediatr Allergy Respir Dis* 18: 326-338.

(2010년 7월 30일 접수; 2010년 9월 29일 채택)