

四物消風飲과 Prednisolone이 NC/Nga mice의 아토피 피부염에 미치는 영향

윤채성 · 주현아 · 황충연
원광대학교 한의과대학 안이비인후피부과학교실

The Effects of *Samulsopungeum* and Prednisolone on NC/Nga Atopic Mice

Chae-Sung Yun · Hyun-A Joo · Chung-Yeon Hwang

Objectives : Atopic dermatitis(AD) is a chronic recurrent skin disease which usually developed in infancy or childhood. AD often repeat improvement and relapse. The cause of AD is so indefinite that many methods of therapies(moisturizer, steroid ointment, antihistamine, immunomodulator, immunosuppressant, herbal medicine, alternative medicine, etc.) are tried. Recently, a lot of studies were made. But there is no report about the effect of *Samulsopungeum*(SM) and Prednisolone(PN) on AD. So, author aimed to investigate the effects of SM and PN on AD of NC/Nga mice.

Methods : Thirty two mice(8 Balb/c mice and 24 NC/Nga mice) were divided into four groups; Balb/c mice was normal group. NC/Nga mice were divide into three group : control, PN, SM group. AD was induced in the control, PN, SM group by spreading DNCB. Then normal saline, PN and SM were orally administered three times in a week for 8 weeks to the control, PN, SM group, respectively. We observed changes of clinical skin severity score, serum IgE, IgG1, IFN- γ , IL-2, IL-4, IL-5, IL-10, IL-13, and so on. We used one-way ANOVA test statistically($p < 0.01$).

Results : The clinical skin severity scores of PN group and SM group in 8th week were decreased compared to the control group. Serum IgE, IgG1 levels of PN group and SM group were significantly decreased compared to the control group. Serum IFN- γ in SM group was significantly increased compared to the control group. But, Serum IFN- γ in PN group was significantly decreased compared to the control group. Serum IL-10 levels of PN group and SM group were significantly decreased compared to the control group. Serum IL-2, IL-4, IL-5, IL-13 levels of PN group and SM group were significantly decreased compared to the control group. mRNA expression levels of IL-2, IL-4, IL-5, IL-13 in the dorsal skin tissues of PN group and SM group were significantly decreased compared to the control group. According to biopsy reports of the ear and skin tissues showed that the tissue damage of PN group and SM group were highly reduced compared to the control group. Creatinine, BUN, ALT, AST levels of PN group and SM group were normal.

Conclusion : According to the above results, it is considered that SM is effective treatment for the AD.

Key words : Samulsoopungeum, Prednisolone, Atopic dermatitis

I. 緒 論

아토피 피부염은 일반적으로 유아기 혹은 소아기에 초발하는 만성 재발성 피부질환으로 유아기에는 얼굴과 사지의 편쪽의 피부염으로 관찰되나 성장하면서 특징적으로 팔오금(antecubital fossa)과 오금(popliteal fossa) 같은 신체의 굽힘쪽의 습진의 형태로 관찰되는 피부질환이다¹⁾.

아토피 피부염은 국내, 국외에서 모두 증가하는 추세^{2,3)}로 환자의 정서적인 측면, 대인관계 및 사회생활뿐만 아니라 정신적인 문제와 삶의 질에 큰 영향을 미칠 수 있다⁴⁾. 아토피 피부염은 증상의 호전과 악화를 반복하는 경향이 있으며, 원인과 발병기전이 정확히 알려져 있지 않아서⁵⁾ 보습제, 국소 스테로이드제, 항히스타민제, 면역반응조절제, 면역억제제, 한방치료, 식이요법, 건강보조식품 등 다양한 치료방법이 시도되고 있는 상황이다⁶⁾.

한의학에서는 아토피 피부염을 奶癬, 胎癬, 胎敏瘡, 濕瘡, 四彎風에 속한다고 본다⁷⁾. 아토피 피부염의 주요 발생원인을 血熱, 濕熱, 血燥 등으로 보고 淸熱, 養血, 除濕, 祛風, 涼血 등의 치법을 제시하고 있다⁸⁾. 養血, 潤燥, 祛風의 효능을 지닌 四物消風飲은 《新編中醫皮膚病學·濕瘡》에서 血燥風盛證에 사용한 처방이다⁹⁾. 최근 한약을 사용한 아토피 피부염에 관한 연구¹⁰⁻¹³⁾가 활발히 이루어졌지만 한약의 효과 및 면역 기전에 관한 연구들이 주를 이루었고, 환자들이 광범위하게 사용하고 있는 스테로이드제와의 비교 연구로는 이¹⁴⁾의 'Effect of *Astragalus membranaceus* on DNFB-induced dermatitis in NC/Nga mice'와 김¹⁵⁾ 등의 '加味生

料四物湯의 抗炎症효과와 止痒膏의 아토피피부염 손상 및 止痒 효과에 미치는 영향' 등이 있다.

저자는 四物消風飲의 효과와 작용기전을 살펴보고 대표적 스테로이드제인 Prednisolone과 그 효능을 비교하기 위하여 四物消風飲과 Prednisolone을 NC/Nga atopic mice 병태 모델에 투여하고 각 약물의 cytokine에 대한 영향 및 다양한 면역학적 기전을 관찰하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 實驗材料 및 方法

1. 재료

가. 동물

웅성(雄性) 6주령 30g내외의 Balb/c계 NC/Nga atopic dermatitis model mice(NC/Nga atopic mice) 24마리와 Balb/c mice 8마리를 중앙실험동물에서 공급받아 실험당일까지 고품사료와 물을 공급하고 실온 22±2℃, 상대습도 50~65%, 조도 200 lux(8시 점등, 20시 소등)를 계속 유지하면서 2주일간 실험실 환경에 적응시킨 후 실험에 사용하였다. Balb/c mice 8마리는 정상군으로, NC/Nga atopic mice는 각 8마리씩 대조군, Prednisolone(PN)군, 四物消風飲(Samulsoopungeum : SM)군의 3그룹으로 나누어 실험하였다.

나. 약물

본 실험에 사용한 SM의 약제는 원광대학교 광주한방병원에서 구입한 후 정선하여 사용하였고, SM 1첩의 내용과 구성은 다음과 같다(Table 1).

Prednisolone은 국제약품공업의 니소론정(Prednisolone 5mg)을 사용하였다.

교신저자 : 황중연, 원광대학교 부속광주한방병원 안이비인후피부과 학교실

(Tel : 062-670-6434 : hwangida@wonkwang.ac.kr)

• 접수 2010/03/05 • 수정 2010/03/25 • 채택 2010/04/05

Table 1. Prescription of SM.

韓藥名 (Herbal Name)	生藥名(Scientific Name)	用量(Dose) (g)
生地黃	Radix Rehmanniae Recens	20
當歸	Radix Angelicae Sinens	8
白芍藥	Radix Paeoniae Alba	8
荊芥	Herba Schizonepetae	6
薄荷	Herba Menthae	6
蟬退	Periostracum Cicadae	6
柴胡	Radix Bupleuri	5
川芎	Rhizoma Chuanxiong	5
黃芩	Radix Scutellariae	5
甘草	Radix Glycyrrhizae	4
總量	Total Amount	73

다. 시약 및 기기

① 시약

본 실험에 사용된 시약으로 formaldehyde, Na₂ EDTA, complete adjuvant, chloroform, NH₄Cl, KHCO₃, collagenase IV, DEPC (diethyl pyrocarbonate), isopropanol, 적혈구 용혈액(ACK lysis solution), EtBr(ethidium bromide), RPMI-1640, D-PBS(Dulbecco's phosphate buffered saline), DMEM (Dulbecco's minimum essential medium), MgCl₂(magnesium chloride), agarose 는 Sigma 사(U.S.A), 우태아혈청 (fetal bovine serum, FBS)은 Gibco BRL 사(U.S.A), RNase inhibitor, Taq polymerase, random primer, dNTP, Moloney murine leukemia virus reverse transcriptase 는 promega 사 (U.S.A.), IL-2, IL-4, IL-5, IL-10, IL-13, IFN- γ 의 ELISA kit는 BD 사(U.S.A), IgE, IgG1의 ELISA kit는 고마바이오텍(Korea), RNazolB는 invitrogen 사(Carlsbad, CA, USA) 제품을 사용하였고, 그 외 사용된 시약 은 Duksan(korea)에서 구입하여 사용하였다.

② 기기

Digital camera (Sony, Japan), CO₂ incubator, deep-freezer (Sanyo Co., Japan), vortex, plate shaker, Clean bench, ELISA reader(Bio-TEK, U.S.A.) autoclave, water bath, 열탕추출기, ice-maker (Vision scientific Co., Korea), micro-pipet (Gilson, France), GeneAmp PCR system 2400(Perkin Elmer, USA)를 사용하였다.

2. 방법

가. 시료 제조

SM 5첩(365g)에 증류수 1.5L를 가하여 열탕 추출기에서 3시간 전탕 후 추출하여 1L의 용액을 얻었다. 원심분리기(한일 Micro 17R)를 이용하여 15,000rpm 으로 30분간 원심분리를 하여 한약의 부유물을 제거하였다. 부유물 제거를 한 원액을 동결건조기(한일 Clean Vac 8)를 이용하여 동결건조를 실시하여 50g의 시료를 얻었다. 시료 1g을 물 20ml에 녹여 이 시료를 0.05g/ml 용액으로 제조하였다. SM용액이 떨어질 때마다 제조하였다.

200mg의 니소론정(Prednisolone 5mg)을 실험실용 막대사발을 이용하여 파쇄하여 100mg (Prednisolone 2.5mg)을 증류수 10ml에 녹여 사용하였다. PN용액은 떨어질 때마다 제조하였다.

나. 염증 유발 및 약물 투여

2주간 대조군, PN군, SM군의 NC/Nga mice를 실험실에 적응시키는 도중, 실험실 적응 10일째 NC/Nga mice의 등 부위를 깨끗이 제모한 후 피부의 미세 상처가 치유되도록 24시간 방치하였다. 실험실 적응 11일째 1% DNCB용액(acetone:olive oil=3:1) 200 μ l를 등 부위에 도포하여 NC/Nga atopic mice에 아토피 피부염을 유발하였다. 그리고 실험 시작일 부터 종료일까지 8주간 일주일에

2번 0.2% DNCB용액 150 μ l를 등 부위에 도포하였다.

SM군은 실험 시작일부터 SM을 8주간 주 3회(월, 수, 금) 0.5ml씩 경구 투여하였다. PN군은 PN용액을 SM과 같은 방법으로 투여하였다. 정상군과 대조군은 생리식염수를 SM과 같은 용량, 용법으로 투여하였다.

다. 피부 손상 정도 측정

NC/Nga mice의 피부염은 아토피 피부염에서 일반적으로 사용되는 임상적 육안 평가법을 이용하여 측정하였다. 육안평가 결과는 다음의 5가지 항목을 각각 평가한 점수의 총 합으로 나타낸다. 평가항목은 홍반, 찰상, 부종과 혈종, 짓무름, 그리고 태선화로 나누어진다. 이 각각의 항목은 없음(0), 약함(1), 중증도(2), 심함(3)으로 나누어서 채점하였다.

라. 혈청 IgE, IgG1, IFN- γ , IL-2, IL-4, IL-5, IL-10, IL-13 측정

혈청 IgE, IgG1, IFN- γ , IL-10량은 실험 0, 2, 5주째 NC/Nga mice를 ethyl ether로 마취한 후 생쥐의 눈에서 capillary tube를 이용하여 약 100 μ l의 혈액을 채혈한 후 원심분리기로 혈청을 분리하여 IgE, IgG1, IFN- γ , IL-10의 양을 ELISA Kit로 측정하였다.

실험 8주째 NC/Nga mice를 ethyl ether로 마취한 후 심장 천자법으로 혈액을 채혈하여 혈청을 분리한 후 혈청 중 IgE, IgG1, IFN- γ , IL-2, IL-4, IL-5, IL-10, IL-13의 양을 ELISA Kit로 정량하였다.

마. 피부 조직에 대한 RT-PCR

(Reverse Transcription Polymerase Chain reaction ; 역전사-중합효소 연쇄반응) 분석

① 피부 조직에서 RNA 분리

NC/Nga mice의 등 부위를 제모한 뒤 피부 조직을 떼어내어 피부 조직(0.1g)과 RNazolB 500 μ l를 넣고 용해될 때까지 분쇄하였다. 이 혼합 부유액에 chloroform (CHCl₃) 50 μ l를 첨가한 후 13,000rpm에서 원심 분리한 후 약 200 μ l의 상층액을 회수하여 2-propanol 200 μ l와 동량 혼합 후 천천히 흔들고 얼음에서 15분간 방치하였다. 이를 다시 13,000rpm에서 원심 분리한 후 70% 에탄올로 수세하고 5분간 vacuum pump에서 건조하여 RNA를 추출하였다. 추출한 RNA는 DEPC로 처리한 20 μ l의 증류수에 녹여 heating block 65 $^{\circ}$ C에서 불활성화 시킨 후 first strand cDNA 합성에 사용하였다.

② RT-PCR

RT 반응은 준비된 total RNA 3 μ g을 65 $^{\circ}$ C에서 5분 동안 변성시키고, 여기에 2.5 μ l 10mM dNTPs, 1 μ l random sequence hexanucleotides (25pmole/25 μ l), RNA inhibitor로서 1 μ l RNase inhibitor (20U/ μ l), 1 μ l 100mM DTT, 4.5 μ l 5X RT buffer (250mM Tris-HCl, pH 8.3, 375mM KCl, 15mM MgCl₂) 가하고 DEPC 처리된 증류수로서 최종 부피가 20 μ l가 되도록 하였다. 이 20 μ l의 반응 혼합액을 잘 섞은 뒤 2,000rpm에서 5초간 원심 침강하여 37 $^{\circ}$ C 항온 수조에서 60분 동안 반응시켜 first-strand cDNA를 합성한 다음, 95 $^{\circ}$ C에서 5분 동안 방치하여 M-MLV RT(Moloney murine leukemia virus reverse transcriptase)를 불활성화 시킨 후 합성이 완료된 cDNA를 PCR에 사용하였다.

③ cDNA PCR

PCR은 GeneAmp PCR system 2400을 이용하여 수행하였다. 반응은 이미 합성된 3 μ l

의 cDNA를 주형으로 사용하고, 주형에 대한 primer는 β -actin, IL-2, IL-4, IL-5, IL-13 유전자를 증폭하기 위하여 sense primer (20pmol/ μ l)와 antisense primer (20pmol/ μ l)를 혼합하여 1 μ l를 가하고, 다시 3 μ l 2.5mM dNTPs, 4 μ l 10xPCR buffer (100mM Tris-HCl, pH 8.3, 500mM KCl, 15mM MgCl₂), 0.18 μ l Taq polymerase (5U/ μ l)를 첨가한 다음 최종 부피가 40 μ l가 되도록 멸균증류수를 가하고 pre-denaturation : 95 $^{\circ}$ C, 5분, denaturation : 95 $^{\circ}$ C, 5분, annealing : 55 $^{\circ}$ C, 1분, elongation : 72 $^{\circ}$ C, 1분을 25cycle한 뒤 post-elongation을 72 $^{\circ}$ C에서 3분 동안의 조건으로 PCR을 수행하였다. 각 PCR product는 20 μ l씩 1.2% agarose gel에 loading하여 120V 조건에서 20분간 전기영동을 통하여 분석하였다.

그리고 IL-2, IL-4, IL-5, IL-13의 mRNA/ β -actin mRNA 발현량(IF)은 ethidium bromide로 염색한 band density를 Fluor-STM Imager (Bio-Rad, Munchen, Germany)로 측정하여 정량하였다.

바. 조직 병리 검사

실험 종료 후에, 왼쪽 귀 끝부분과 등의 피부를 떼어 내어 10% paraformaldehyde에서 24시간 동안 포르말린에 고정하였다. 24시간 후 30%, 50%, 70%, 90%, 95%, 100% ethanol에 차례로 조직을 담아서 탈수를 하였다. xylene 처리 후 파라핀에 조직을 담아서 24시간 동안 52 $^{\circ}$ C incubator에 보관하여 잔여 xylene이 모두 증발하도록 하였다. 조직을 임베딩 틀에 고정하여 파라핀이 충분히 굳은 후에 조직을 5 μ m로 절편하여 슬라이드 글라스에 붙여서 37 $^{\circ}$ C에서 24시간 동안 두어 조직이 슬라이드 글라스에 완전히 접착되도록 하였다. 슬라이드 글라스를 xylene에 담귀 파라핀을 녹인 후,

ethanol로 재수화시켜 hematoxylin-eosin(H&E) 염색을 실시하였다.

사. 혈청내 Creatinine, BUN, ALT, AST 분석

실험 종료 후, NC/Nga 생쥐에서 심장 천자를 통하여 채혈한 후 1500rpm에서 15분간 원심 분리한 뒤 상층액(혈청)을 분리하여 새 튜브에 옮겨 분석 전까지 -80 $^{\circ}$ C 초냉동기에 보관하였다. 일반적인 간기능과 신기능 검사를 위해 혈청 생화학적 검사를 실시하였다.

검사항목으로써 Creatinine(Bayer, USA), BUN (Blood urea nitrogen ; Bayer, USA), ALT (Alanine aminotransferase ; Boehringer Mannheim, Germany), AST(Aspartate aminotransferase ; Boehringer Mannheim, Germany)의 농도는 각각의 측정용 kit를 이용하여 자동 생화학 분석기 (Chemistry Analyzer VetTest[®])를 이용하여 분석하였다.

아. 통계학적 분석

통계학적 유의성 검정은 one-way ANOVA (Analysis of Variance) 방법을 사용하였으며, 유의수준 p(0.01)의 범위 내에서 그 결과들은 평균에 대한 표준 편차로 나타내었다.

III. 實驗結果

1. 피부 손상 정도에 미치는 영향

8주령부터 SM과 PN을 경구 투여하여 NC/Nga mice의 피부손상정도(Clinical skin severity score)를 실험 0주부터 8주까지 2, 3, 3주(2, 5, 8주) 간격으로 피부 손상정도를 측정된 결과 대조군은 2주에 5.20 \pm 0.75, 5주에 7.20 \pm 0.80로 급격한 증가를 나타내었으며, 실험을 종료한 8주에는

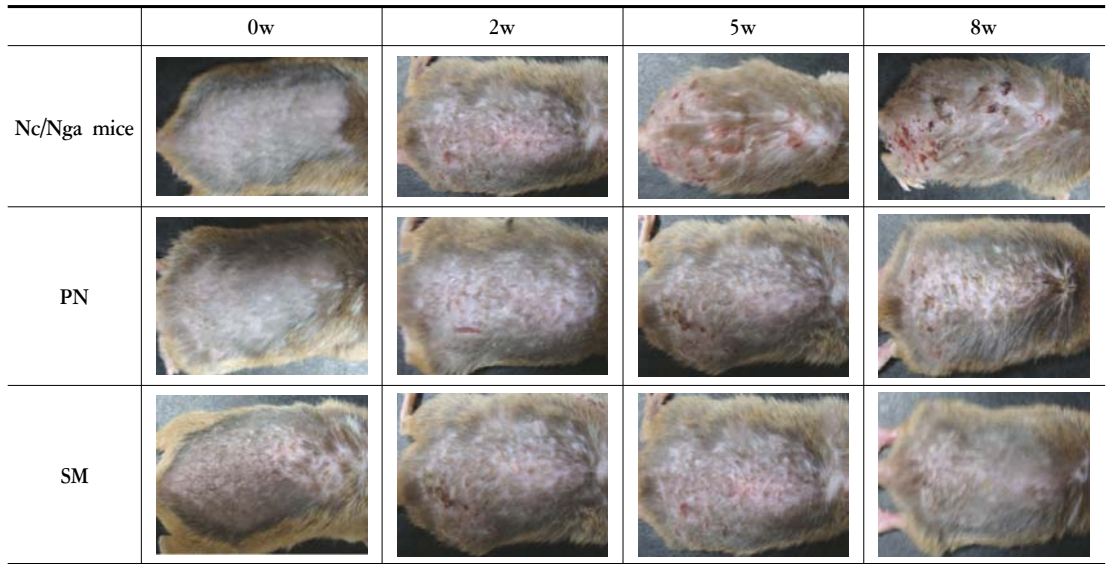


Fig. 1. A. Clinical skin features of dermatitis in NC/Nga atopy dermatitis model mice.

11.23±1.25로 나타났다. 이에 반해 PN군은 2주까지는 대조군에 비해 약간 감소한 2.10±0.40로 관찰되었고, 5주와 8주에는 각각 3.40±0.55와 4.00±0.75으로 나타났으며 SM군은 2주에 2.50±0.45로 관찰되었고, 5주와 8주에는 각각 3.41±0.65와 4.10±0.75로 나타나 PN군과 큰 차이는 없었다(Fig. 1, B).

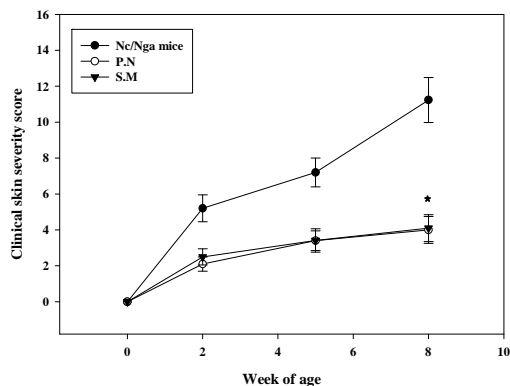


Fig. 1. B. Clinical skin severity of dermatitis in NC/Nga atopic mice.

2. 혈청 IgE 발현에 미치는 영향

혈청 IgE은 정상군은 0주와 2주에서 1.20±0.28 ng/ml, 1.72±0.46 ng/ml 로 측정되었으며, 대조군에서는 각각 5.50±0.80 ng/ml, 362.50±3.54 ng/ml 로 나타났고, PN군에서는 4.50±0.50 ng/ml, 130.50±12.30 ng/ml 로 측정되었으며, SM군은 각각 3.88±0.42 ng/ml, 129.60±10.20 ng/ml 로 측정되어 2주에서 대조군에 비해 PN군과 SM군에서 64% 정도 감소됨을 확인하였다.

5주와 8주에서는 정상군은 각각 1.72±0.47 ng/ml, 1.62±0.31 ng/ml 로 나타났으며, 대조군의 각각 370.20±12.50 ng/ml, 380.00±15.60 ng/ml 로 나타났고, PN군에서는 123.60±11.50 ng/ml, 135.00±15.60 ng/ml 로 측정되었으며, SM군은 각각 116.00±14.35 ng/ml, 124.00±15.11 ng/ml 로 나타나 모두 대조군에 비하여 유의성 있게(p<0.01) 감소하였다(Fig. 2).

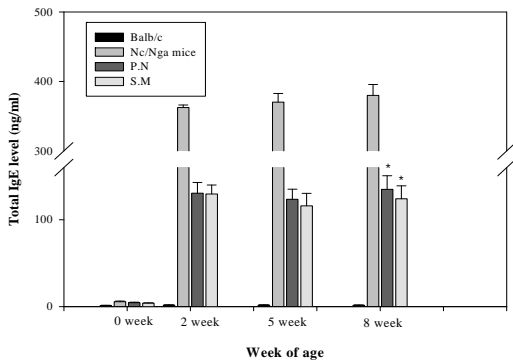


Fig. 2. Serum IgE of dermatitis in NC/Nga atopic mice.

3. 혈청 IgG1 발현에 미치는 영향

혈청 IgG1은 최종 8주째 정상군에서 $500.12 \pm 38.82 \mu\text{g/ml}$ 으로 나타났고, 대조군에서 $3,200.00 \pm 410.36 \mu\text{g/ml}$ 로 나타났다. 이에 비해 PN군은 $1953.60 \pm 203.56 \mu\text{g/ml}$ 으로 감소되었으며, SM군에서는 $2012.30 \pm 201.80 \mu\text{g/ml}$ 로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있게 ($p < 0.01$) 감소하였다 (Fig. 3).

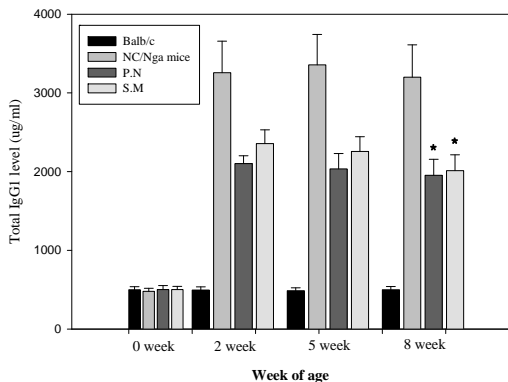


Fig. 3. Serum IgG1 in NC/Nga atopic mice.

4. 혈청 IFN- γ 발현에 미치는 영향

혈청 IFN- γ 은 정상군은 0주와 2주에서 $10.23 \pm 1.20 \text{ ng/ml}$, $11.23 \pm 1.10 \text{ ng/ml}$ 로 측정되었

으며, 대조군에서는 각각 $10.56 \pm 1.10 \text{ ng/ml}$, $582.60 \pm 37.50 \text{ ng/ml}$ 로 나타났고, PN군에서는 각각 $11.20 \pm 0.85 \text{ ng/ml}$, $362.50 \pm 44.32 \text{ ng/ml}$ 로 측정되었으며, SM군은 각각 $9.63 \pm 0.75 \text{ ng/ml}$, $786.90 \pm 50.23 \text{ ng/ml}$ 로 나타나 2주에서 대조군에 비해 PN군은 감소하였으나, SM군에서는 대조군에 비하여 유의성 있게 증가하였다.

5주와 8주에서는 정상군은 각각 $9.63 \pm 1.01 \text{ ng/ml}$, $10.20 \pm 1.30 \text{ ng/ml}$ 로 나타났으며, 대조군의 각각 $595.80 \pm 39.60 \text{ ng/ml}$, $600.14 \pm 42.30 \text{ ng/ml}$ 로 나타났으며, PN군에서는 각각 $375.60 \pm 45.63 \text{ ng/ml}$, $352.30 \pm 50.12 \text{ ng/ml}$ 로 측정되어 대조군에 비하여 감소하는 것을 확인하였고, SM군은 각각 $810.23 \pm 52.36 \text{ ng/ml}$, $820.36 \pm 55.20 \text{ ng/ml}$ 로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있게 ($p < 0.01$) 증가하였다 (Fig. 4).

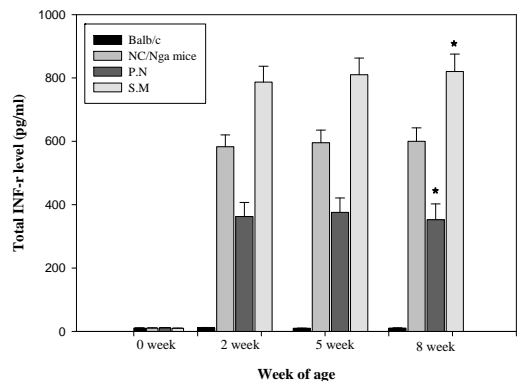


Fig. 4. Serum IFN- γ in NC/Nga atopic mice.

5. 혈청 IL-10 발현에 미치는 영향

혈청 IL-10은 최종 8주에 정상군에서 $411.00 \pm 13.08 \mu\text{g/ml}$ 으로 나타났고, 대조군에서 $3215.60 \pm 278.60 \mu\text{g/ml}$ 로 나타났다. 이에 비해 PN군은 $2578.23 \pm 256.90 \mu\text{g/ml}$ 으로 감소되었으며, SM군에서는 $2815.00 \pm 280.60 \mu\text{g/ml}$ 로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있게 ($p < 0.01$) 감소하였다 (Fig. 5).

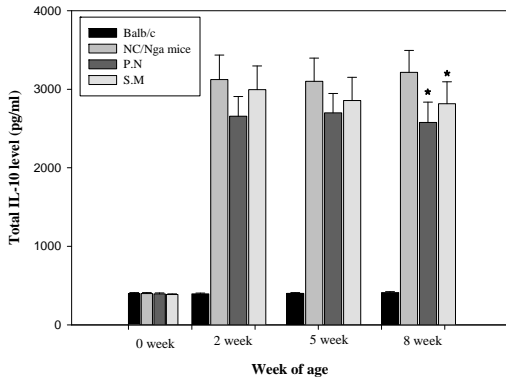


Fig. 5. Serum IL-10 in NC/Nga atopic mice.

6. 혈청 IL-2 발현에 미치는 영향

혈청 IL-2은 8주에서 정상군은 21.3±3.60 pg/ml, 대조군은 75.00±8.60 pg/ml로 나타나 NC/Nga 대조군이 정상군에 비하여 큰 폭으로 증가하였고, PN군은 60.15±5.36 pg/ml, SM군은 67.50±5.98 pg/ml 로 나타났다(Fig. 6).

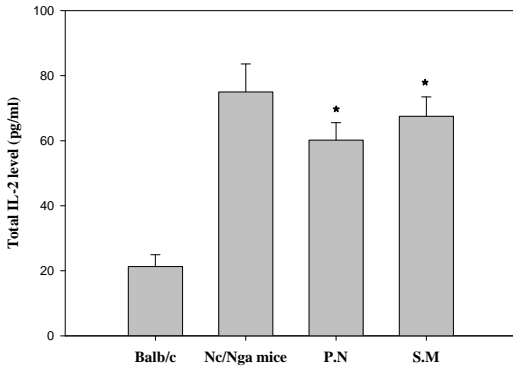


Fig. 6. Serum IL-2 in dermatitis in NC/Nga atopic mice.

7. 혈청 IL-4, IL-5, IL-13 발현에 미치는 영향

혈청 IL-4는 실험 8주에서 정상군은 16.30±1.48 pg/ml, 대조군은 61.56±7.89 pg/ml로 나타나 대조군이 정상군에 비하여 큰 폭으로 증가하였고, PN군은 50.23±5.63 pg/ml, SM군은 48.90±5.12

pg/ml 로 나타나 대조군에 비하여 감소하는 것을 확인하였다(Fig. 7. A).

혈청 IL-5는 실험 8주에서 정상군은 50.23±5.44 pg/ml, 대조군은 200.36±21.30 pg/ml로 나타난 반면, PN군은 151.36±15.48 pg/ml, 실험군은 163.50±17.56 pg/ml 로 나타나 대조군에 비하여 유의성 있게(p < 0.01) 감소하였다(Fig. 7. B).

혈청 IL-13은 8주에서 정상군은 97.00±12.56 pg/ml, 대조군은 300.00 ±30.21 pg/ml로 나타나 NC/Nga 대조군이 정상군에 비하여 큰 폭으로 증가하였고, PN군은 253.00±27.32 pg/ml, SM군은 262.21 ±25.32 pg/ml 로 나타났다(Fig. 7. C).

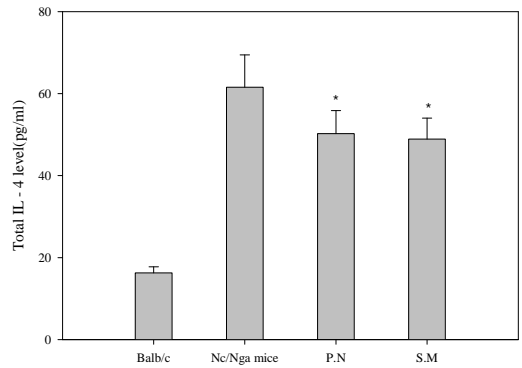


Fig. 7. A. Serum IL-4 in dermatitis in NC/Nga atopic mice.

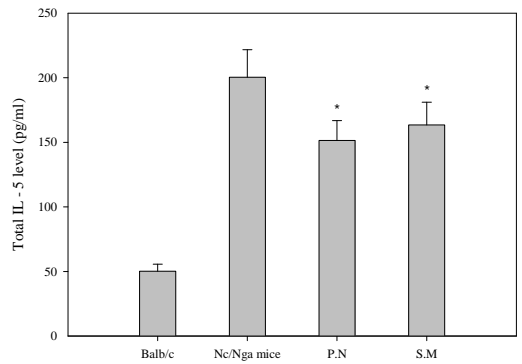


Fig. 7. B. Serum IL-5 in dermatitis in NC/Nga atopic mice.

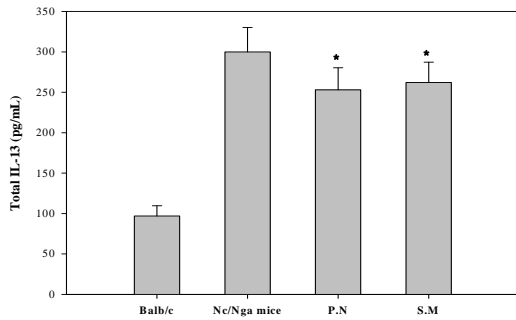


Fig. 7. C. Serum IL-13 in dermatitis in NC/Nga atopic mice.

8. Dorsal skin lesion에서 IL-2, IL-4, IL-5, IL-13 mRNA 발현에 미치는 영향

IL-2 mRNA 발현량(IF)은 정상군이 1 (Index Fold, IF), 대조군이 2.0 (IF)로 나타났으며, 이에 반해 PN군은1.40 (IF) SM군은 1.50 (IF)으로 나타나 대조군에 비하여 감소하였다(Fig. 8).

IL-4 mRNA 발현량(IF)은 정상군이 1 (Index Fold, IF), 대조군이 2.0 (IF)로 나타났으며, 이에 반해 PN군은1.50 (IF), SM군은 1.60 (IF)으로 나타나 대조군에 비하여 감소하였다(Fig. 9).

IL-5 mRNA 발현은 정상군이 1 (IF), 대조군이 2.0 (IF)로 나타났고, PN군은 1.2 (IF), SM군은 1.10 (IF)으로 나타나 대조군에 비하여 감소하였다 (Fig. 10).

IL-13 mRNA 발현은 정상군이 1 (IF), 대조군이 1.8 (IF)로 나타났고, PN군은 1.30 (IF) SM군은 1.20 (IF)으로 나타나 대조군에 비하여 감소하였다(Fig. 11).

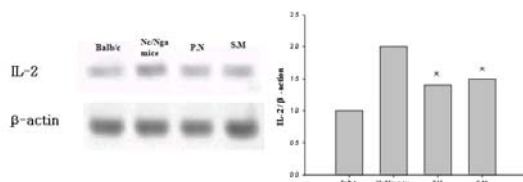


Fig. 8. IL-2 RT-PCR on dorsal biopsy of atopy dermatitis skin lesions in NC/Nga mice.

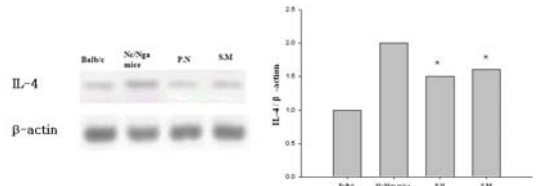


Fig. 9. IL-4 RT-PCR on dorsal biopsy of atopy dermatitis skin lesions in NC/Nga mice.

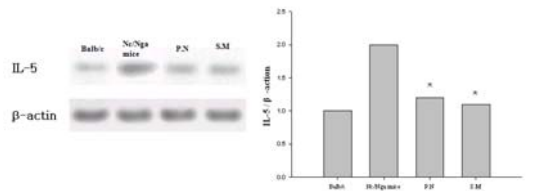


Fig. 10. IL-5 RT-PCR on dorsal biopsy of atopy dermatitis skin lesions in NC/Nga mice.

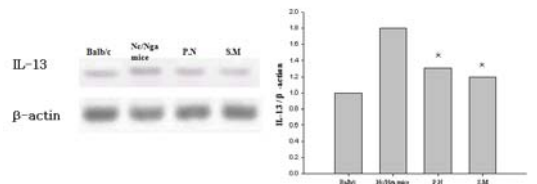


Fig. 11. IL-13 RT-PCR on dorsal biopsy of atopy dermatitis skin lesions in NC/Nga mice.

9. NC/Nga dermatitis ear & skin lesion의 조직 검사

실험 종료 후 각 군의 개체에서 왼쪽 귀 부위를 박리한 후, H&E 염색법을 이용하여 피부 조직을 분석한 결과, 정상군의 귀 조직에서는 표피, 진피, 연골이 정상적으로 관찰되었으나, 대조군은 표피의 각질화가 발생하였으며, 선세포의 비대 및 혈관의 확장이 관찰되었다. PN군과 SM군에서는 대조군에 비하여 확장된 선세포와 혈관의 크기가 경감됨을 확인하였으며, 표피의 각질화도 심하지 않은 것으로 관찰되었다(Fig. 12).

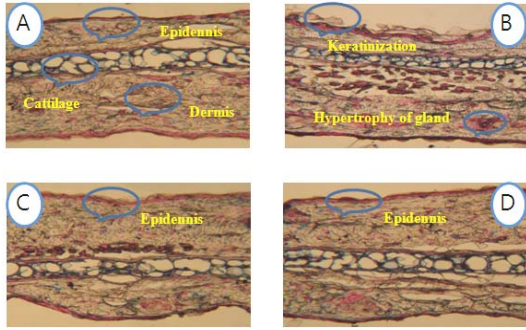


Fig. 12. Histologic features of ear lesion in NC/Nga mice.

A : ear tissues from Balb/c mouse.
 B : ear tissues from NC/Nga mouse with no treatment.
 C : ear tissues from NC/Nga mouse with PN treatment.
 D : ear tissues from NC/Nga mouse with SM treatment.
 * The optical microscope : 400 magnifications

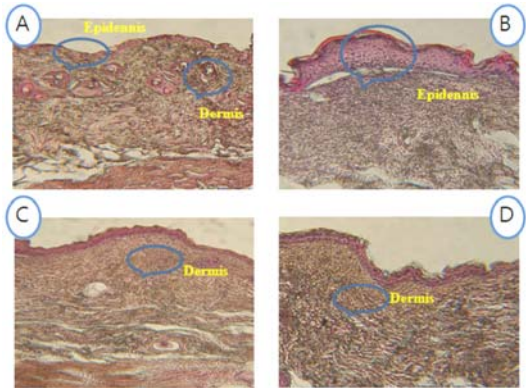


Fig. 13. Histologic features of skin lesion in NC/Nga mice.

A : skin tissues from Balb/c mouse.
 B : skin tissues from NC/Nga mouse with no treatment.
 C : skin tissues from NC/Nga mouse with PN treatment.
 D : skin tissues from NC/Nga mouse with SM treatment.
 * The optical microscope : 400 magnifications

실험 종료 후 각 군의 개체에서 등쪽 피부를 박리한 후, H&E 염색법을 이용하여 피부 조직을 분석한 결과, 정상군의 피부 조직에서는 정상적인 표피, 진피, 기저층이 관찰되나, 대조군에서는 표피의 각질화가 심하였으며, 표피와 진피의 발진과 부종이 많이 진행된 것을 확인할 수 있었다. 반면에, PN군과 SM군은 실험 8주 후 대조군에 비하여 표

피의 각질화와 진피의 부종이 심하지 않고, 많이 사라진 것을 관찰되었다(Fig. 13).

10. 혈청 Creatinine

실험 종료 후 정상군, 대조군, PN군, SM군의 혈청으로부터 creatinine를 측정된 결과 각각 3.15 ± 0.16 mg/dl, 3.05 ± 0.12 mg/dl, 3.20 ± 0.13 mg/dl, 2.96 ± 0.15 mg/dl로 나타나 의미있는 변화는 관찰되지 않았다(Fig. 14).

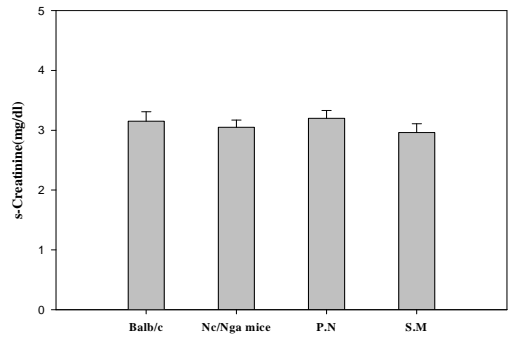


Fig. 14. Creatinine in NC/Nga mice.

11. 혈청 BUN(Blood Urea Nitrogen)

실험 종료 후 정상군, 대조군, PN군, SM군의 혈청으로부터 BUN을 측정된 결과 각각 85.50 ± 2.15 mg/dl, 86.30 ± 3.12 mg/dl, 87.00 ± 2.78 mg/dl, 82.56 ± 2.50 mg/dl로 나타나 의미있는 변화는 관찰되지 않았다(Fig. 15).

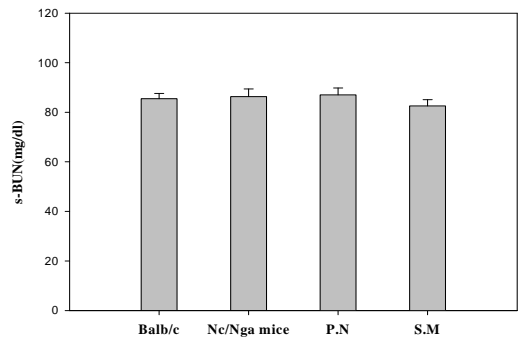


Fig. 15. BUN in NC/Nga mice.

12. 혈청 ALT

실험 종료 후 정상군, 대조군, PN군, SM군의 혈청으로부터 ALT를 측정된 결과 각각 10.50 ± 0.5 mg/dl, 12.50 ± 0.60 mg/dl, 13.00 ± 0.90 mg/dl, 12.50 ± 0.50 mg/dl로 나타났으나, 정상 ALT 범위내의 변화로써 의미가 있다고 보기 어려웠다 (Fig. 16).

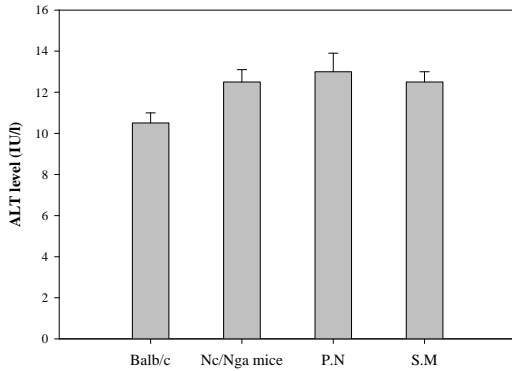


Fig. 16. ALT in NC/Nga mice.

13. 혈청 AST

실험 종료 후 정상군, 대조군, PN군, SM군의 혈청으로부터 AST를 측정된 결과 각각 14.10 ± 0.3 mg/dl, 14.80 ± 0.30 mg/dl, 15.10 ± 0.50 mg/dl, 14.90 ± 0.30 mg/dl로 나타나 의미있는 변화는 관찰되지 않았다 (Fig. 17).

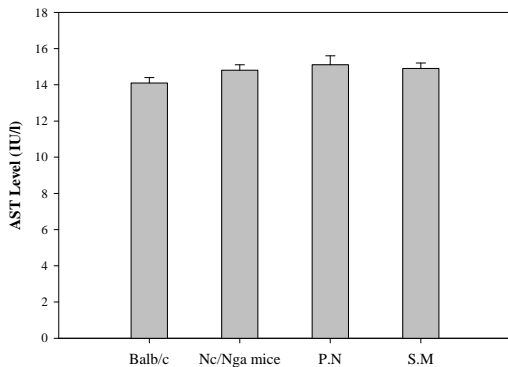


Fig. 17. AST in NC/Nga mice.

IV. 考 察

아토피 피부염은 건조하며 소양감이 심하고 반복적으로 재발되며 각종 자극 특히 긁는 행위에 의해 쉽게 피부염이 유발되며¹⁶⁾, 진물, 소양감, 홍종, 홍반, 각질, 태선화 등의 증상이 나타난다¹⁷⁾.

현대의학에서는 아토피 피부염의 치료지침으로서 경증의 아토피 피부염일 경우에는 기본적 치료로 보습제, 국소 스테로이드제, 국소 calcineurin 억제제, 중증일 경우에는 항히스타민제, 항생제, 항바이러스제 등을 보조적 치료로 사용하고 광선치료, 경구 스테로이드제, IFN- γ 및 Immunoglobulin 같은 면역반응 조절제, leukotriene 등을 선택적 치료로 제시하고 있다¹⁸⁾.

특히 스테로이드제는 탁월한 항염증 및 면역억제 작용¹⁹⁾으로 피부과 영역에서 가장 흔히 사용되는 약제이나, 이들 제제의 남용으로 인한 국소 및 전신적인 부작용이 증가되고 있으며²⁰⁾, 특히 한국에서는 약국에서 일반의약품으로 분류된 스테로이드제의 판매로 오남용 및 부작용이 심각하다고 보고되고 있다²¹⁾. 스테로이드제는 아토피 피부염에 많이 사용되고 있으며, 그 부작용으로는 의인성 쿠싱증후군으로 인하여 체간비대, 고혈압, 무기력, 피로감, 무월경, 다모증, 복부선조, 부종, 당뇨, 골다공증 등이 유발된다. 특히 심각한 부작용으로는 스테로이드성 당뇨병, 고지혈증, 비만증, 고혈압, 저칼륨성 알칼리증, 부신 위축 등이 발생할 수 있다. 또한 위장관 장애, 소화성 궤양, 궤양염, 간비대, 후낭하 백내장, 녹내장, 안구의 세균성 또는 진균성 감염 등이 발생할 수 있다. 스테로이드의 부작용은 일반적으로 약제의 투여량, 기간 및 방법과 관계되어 있다고 알려져 있다²²⁾. 이러한 심각한 부작용으로 인해 스테로이드제가 아토피 피부염의 근본적인 치료약이 될 수 없으므로 대체할 만한 물질이 필요한 실정이다²³⁾.

한의학에서는 아토피 피부염의 발생원인을 血熱,

濕熱, 血燥 등으로 보고 淸熱, 養血, 除濕, 祛風, 涼血 등의 처방을 제시하고 있다⁸⁾. 《新編中醫皮膚病學濕瘡》에서는 皮膚肥厚粗糙, 色素沈着, 或有抓痕, 血痂, 反復發作, 經年不愈, 舌淡, 苔白, 脈沈細或沈緩하는 증상을 나타내는 血燥風盛證에 養血, 潤燥, 祛風의 효능을 지닌 生地黃, 當歸, 白芍藥, 荊芥, 薄荷, 蟬退, 柴胡, 川芎, 黃芩, 甘草로 구성된 SM을 제시하였다⁹⁾.

본 연구에서는 SM과 다용되는 경구 스테로이드제 중 하나인 PN을 각각 NC/Nga atopic mice에 경구 투여하여 그 효과와 면역반응을 비교해보고 SM의 아토피 피부염 치료에 대한 가능성을 알아보고자 하였다.

본 실험에서는 현재까지 보고된 아토피 피부염 생쥐 모델 중 가장 많이 연구가 되어있고, 인체 아토피 피부염과 가장 유사한 모델로 평가되고 있는 NC/Nga atopic mice를 사용하였다²⁴⁾. NC/Nga atopic mice는 자발적인 피부염 유도 비율이 낮고, 유도된 피부염의 정도차이가 심해²⁵⁾ DNCB를 이용하여 균일한 상태의 아토피 피부염을 유발하였다. 아토피 피부염이 유발된 NC/Nga atopic mice에 주 3회 SM과 PN을 각각 경구투여하고 육안적인 피부상태를 관찰하였으며 혈액검사를 시행하여 cytokines의 변화 및 간독성, 신독성의 여부를 살펴보았다.

육안적으로 피부 손상 정도를 살펴본 결과 SM과 PN 투여 후 2주째부터 대조군에 비해 확연하게 피부상태가 양호하였고, 8주째에는 SM군과 PN군에서 대조군에 비해 피부 손상이 각각 64%, 63%정도 감소하였다(Fig. 1. A, B).

혈청 IgE는 증가는 아토피 피부염에서 중요한 면역학적 이상이다²⁶⁾. IgE는 조직 비만세포(tissue mast cell)와 혈액의 호염구, 활성화된 호산구에 있는 Fc 수용체와 결합한다. allergen이 수용체에 결합된 IgE와 교차결합하면 호염구와 비만세포는 세포 내 과립을 원형질막으로 이동시키며, 과립 안

의 내용물을 세포 바깥으로 방출하는 탈과립(degranulation)이 진행된다. 그 결과로 여러 가지 매개체가 방출되며 알레르기 증상을 보이게 된다. IgE의 생산은 Th2 아집단이 분비하는 IL-4에 의해 촉진된다^{27,28)}. 본 실험 2주째부터 대조군에 비해 PN군과 SM군에서 혈청 IgE 발현량이 각각 64%씩 적었고 8주째까지 이러한 추세가 유지되어 각각 64%, 67%씩 감소하였다(Fig. 2).

IgG1은 세포 외 미생물과 독소를 식세포가 섭취하고 파괴하는 것을 용이하게 하며²⁸⁾, IgG1의 생산은 IgE와 마찬가지로 Th2 아집단이 분비하는 IL-4에 의해 촉진된다²⁷⁾. 혈청 IgG1은 대조군에서 2주째부터 증가한 반면 PN군과 SM군에서는 2주째부터 대조군에 비해 감소하여 최종 8주에는 각각 39%, 37%씩 감소한 것으로 측정되었다(Fig. 3).

IFN- γ 는 대식세포를 활성화하고, 대식세포의 항미생물 활성을 증가하도록 자극하며, Th1 림프구의 분화와 활성을 촉진시키는 주된 조절분자의 발현을 상향조절하고 Th2집단의 확장을 저해한다. 또한 B 세포가 IgG1 생산하는 것을 억제하고²⁷⁾, B 세포의 IL-4R mRNA 분해를 촉진하여 mRNA stability를 저하시켜 IgE 생산을 감소시키기도 한다²⁹⁾. 아토피 피부염 환자의 말초혈액과 피부조직에서 IFN- γ 생산저하가 보고되고 있고 IFN- γ 가 IgE 생성 및 Th2 림프구의 증식을 억제한다는 관점에서 IFN- γ 의 치료시도가 이루어지게 되었고 유효한 치료효과를 보인다고 보고되고 있다³⁰⁾. 최근에는 IFN- γ DNA vaccine으로 명명된 IFN- γ 유전자를 DNCB로 아토피 피부염이 유발된 NC/Nga mice에 삽입하여 유효한 결과를 얻었다는 보고도 있다³¹⁾. 본 실험 2주째부터 8주째까지 대조군에 비해 PN군의 IFN- γ 는 감소하였으나, SM군에서는 대조군에 비하여 증가하였다(Fig. 4).

IL-10은 Th2 세포에서 분비되며 Th1 세포를 직접 저해하지는 않으나 단핵구나 대식세포에 작

용하여 Th1 아집단을 활성화시키는 이들의 능력을 방해하여 Th1 세포 집단의 확장을 저해한다²⁷⁾. 본 실험에서 IL-10은 실험기간동안 PN군과 SM군에서 대조군에 비하여 각각 20%, 12.5% 감소하였다(Fig. 5).

IL-2는 Th1 세포에서 분비되는 cytokine으로써 T 세포의 생존과 분화, 증식을 촉진시킨다. 본 연구에서 IL-2를 실험 8주에 측정된 결과 PN군과 SM군에서 대조군에 비하여 각각 20%, 10% 감소하였다(Fig. 6).

IL-4는 Th2 아집단 세포가 분비하는 cytokine으로 B 세포에서 IgE의 생산을 유도하고 회충감염에 대해 호산구가 공격하는 것을 돕는다. 또한 보체 경로를 활성화하지 않는 IgG를 생성하는 클래스 전환을 증진하고, B 세포에서 IgM에서 IgE로 전환하는 정도를 증가시킨다. IL-4는 면역 반응의 초기에 naive Th 세포를 Th2 세포로 분화되게 하며 Th1 세포집단으로의 확장을 저해하기도 한다²⁷⁾. 본 실험 8주째에 IL-4가 대조군에 비해 PN군과 SM군에서 각각 18%, 20% 정도 감소하였다(Fig. 7. A).

IL-5는 Th2 세포가 생산하고 호산구의 발달, 생존에 중요한 역할을 하며³²⁾, 호산구를 활성화시킨다³³⁾. 본 실험에서는 8주째에 IL-5가 대조군에 비해 PN군과 SM군에서 각각 24%, 18% 정도 감소하였다(Fig. 7. B).

IL-13은 Th2 세포가 생산하는 cytokine이고 대식세포가 미생물을 죽이는 활동을 억제한다³³⁾. 본 실험 8주째에 IL-13이 대조군에 비해 PN군과 SM군에서 각각 15%, 12% 정도 감소하였다(Fig. 7. C).

혈청에서 관찰된 여러 cytokines과 피부조직에서 나타나는 cytokines의 변화 연관성을 살펴보기 위해, dorsal skin lesion에서 IL-2, IL-4, IL-5, IL-13 mRNA 발현량을 측정하였다. 그 결과 IL-2 mRNA 발현량(IF)은 대조군에 비해 PN군은 30%,

SM군은 25% 감소하였다(Fig. 8). IL-4 mRNA 발현량(IF)은 대조군에 비해 PN군은 25%, SM군은 20% 감소하였다(Fig. 9). IL-5 mRNA 발현은 대조군에 비해 PN군은 40%, SM군은 45% 감소하였다(Fig. 10). IL-13 mRNA 발현은 대조군에 비해 PN군은 27%, SM군은 33% 감소하였다(Fig. 11). 이를 통해 혈청과 피부조직 내에서의 cytokines의 변화가 유사한 경향으로 나타나는 것을 확인할 수 있었다.

실험 종료 후 NC/Nga atopic mice의 귀와 등의 피부조직을 채취하여 조직검사를 하였는데 PN군과 SM군 모두 대조군에 비해 표피의 각질화와 피부의 염증 반응이 현저하게 적은 것을 관찰할 수 있었다(Fig. 12, 13).

그리고 PN과 SM의 간독성과 신독성 유발 여부를 알아보기 위해 Creatinine, BUN, ALT, AST를 측정하였다. 하지만 PN군과 SM군에서 Creatinine, BUN, ALT, AST의 별다른 변화를 관찰할 수 없었다(Fig. 14, 15, 16, 17).

아토피 피부염의 발병원인 및 기전은 아직 불분명한 점이 많으나³⁴⁾, 최근에는 세포면역을 담당하는 T 세포 및 그 아형의 이상, 그로 인해 나타나는 cytokines의 불균형이 아토피 피부염을 일으키는 주요 기전이라 생각되고 있다³⁵⁾. 아토피 피부염에서 관찰되어지는 면역학적 이상소견으로는 피부 병변과 말초혈액의 항원 특이성 T 세포에서 Th2 cytokines인 IL-4, IL-5, IL-10 및 IL-13의 생산증가와 Th1 cytokines인 IL-2, IFN- γ , TNF- β 의 저하로 인한 Th1/Th2 불균형이 가장 기본적인 이상 소견이다³⁶⁾.

Th1과 Th2 아집단이 만드는 cytokines은 자신을 만드는 아집단의 성장을 증진시키고 상대 아집단의 발달과 활성을 억제하는 교차-조절작용을 한다. IFN- γ 는 Th2 아집단의 증식을 억제하고, IL-4와 IL-10은 Th1 세포분화에 결정적인 cytokines 중 하나인 대식세포와 수지상세포가 만

드는 IL-12의 분비를 하향 조절한다. 또한 INF- γ 는 B 세포의 IgG2a 생산은 촉진시키지만, IgG1과 IgE의 생산은 억제한다. 반면에 IL-4는 IgG1과 IgE의 생산은 증진시키고, IgGa의 생산은 억제한다²⁷⁾.

본 연구에서 PN군은 Th1 cytokines인 IL-2, INF- γ 와 Th2 cytokines인 IL-4, IL-5, IL-10, IL-13 및 Th2 cytokines으로 생산이 증가하는 IgE, IgG1 모두 감소하였다. 이는 PN이 naive Th 세포가 Th1, Th2로 분화가 완료되는 시점 전이나 또는 Th1, Th2 세포에 직접 작용을 미쳐 Th1, Th2 세포의 기능을 억제하는 것으로 사료된다. 반면에 SM군에서는 Th1 cytokines중에서 IL-2는 감소하였지만 INF- γ 는 증가하였으며, Th2 cytokines인 IL-4, IL-5, IL-10, IL-13 및 Th2 cytokines으로 생산이 증가하는 IgE, IgG1 모두 감소하는 결과를 보여주었다. 이 결과를 살펴보면 SM이 INF- γ 를 특징적으로 증가시켜 Th2 세포의 cytokines 분비를 억제함으로써 아토피 피부염에 유효한 효과를 보이는 것으로 보인다.

이상의 실험결과로 보아, SM은 아토피 피부염 치료에 효과가 있고 아토피 피부염에 스테로이드 장기 투여로 인한 부작용을 피할 수 있는 선택이 될 수 있으리라 사료되며, 이에 관한 지속적인 연구가 필요하다 할 수 있다.

V. 結 論

SM의 아토피 피부염 치료 기전을 규명하기위해 NC/Nga mice의 동물 병태 모델을 이용해 다양한 면역 반응을 PN군과 비교관찰 하였던 바, 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. NC/Nga mice의 피부 손상 정도는 8주에 PN군과 SM군이 대조군에 비하여 각각 64%, 63%

감소하였다.

2. 혈청 IgE, IgG1 은 PN군과 SM군 모두 2주와 5주, 8주에 대조군보다 유의성 있게 감소하였다.
3. 혈청 INF- γ 는 2주와 5주, 8주에 PN군에서는 감소하였고, SM군에서는 증가하였다.
4. 혈청 IL-10 은 PN군과 SM군 모두 2주와 5주, 8주 모두 대조군에 비하여 유의성 있게 감소하였다.
5. 혈청 IL-2, IL-4, IL-5, IL-13은 8주째에서 PN군과 SM군 모두 대조군에 비하여 유의성 있게 감소하였다.
6. Dorsal skin lesion에서 IL-2, IL-4, IL-5, IL-13 mRNA 발현은 PN군과 SM군 모두 대조군에 비하여 감소하였다.
7. 귀, 등 피부 조직 변화에서는 표피와 진피의 염증 정도는 PN군과 SM군 모두 대조군에 비하여 현저하게 감소되었다.
8. AST, ALT, BUN, Creatinine은 PN군과 SM군 모두 유의성 있는 변화는 없었다.

감사의 글

본 연구는 2009년 원광대학교 교비지원에 의해 수행되었습니다.

參 考 文 獻

1. 서울대학교 의과대학 피부과학교실. 의대생을 위한 피부과학. 고려의학. 2006;30.
2. 김정희. 아토피 피부염의 최신지견. 대한소아알레르기 및 호흡기학회지. 2004;14(1):12.
3. 오재원, 김규언, 편복양, 이혜란, 정지태, 홍수종, 박강서, 이수영, 송상욱, 김철홍, 안강모, 남승연, 손명현, 김우경, 이미희, 권병철, 최성

- 연, 이소연, 이하백, 이상일, 이준성. 1995년과 2000년의 학동기와 2003년 학동전기 소아에서의 아토피피부염의 역학적 변화에 관한 전국적인 연구. 대한소아알레르기 및 호흡기학회지. 2003;13(4):227-37.
4. 이희정, 박창욱, 이주희, 이광훈. 성인 아토피 피부염 환자에서 삶의 질 평가의 임상적 유용성. 대한피부과학회지. 2007;45(2):159.
 5. 박영민, 변대규, 김진우. 한국인 아토피 피부염 환자에서의 보조 피부 증상(Minor Clinical Features)에 대한 고찰(1);소아 아토피 피부염에서의 보조 피부 증상의 빈도. 대한피부과학회지 1994;32(5):886.
 6. 전현우, 장호선, 장봉석, 조주현, 김문범, 오창근, 권경술, 권유욱. 아토피 피부염 환자의 대체의학 이용 실태에 관한 연구. 대한피부과학회지. 2005;43(7):904.
 7. 양재하, 박순달, 공남미. 아토피 피부염의 양한방적 고찰. 경산대학교 한의과대학 부속 제한동의학술원 논문집. 1999;4(1):416.
 8. 박두병. 涼血除濕湯이 DNCB로 유도된 NC/Nga mice의 아토피 피부염에 미치는 영향. 대전대학교 박사학위논문. 2008.
 9. 歐陽恒, 楊志波. 신변중의피부병학. 인민군의출판사. 2000:258, 608.
 10. 민영규. 消風散加減方과 外治方 병용이 NC/Nga 아토피 생쥐에 미치는 영향. 동신대학교 박사학위논문. 2005.
 11. 조재훈. 六味地黃湯이 NC/Nga mouse의 아토피피부염에 미치는 영향. 경희대학교 박사학위논문. 2009.
 12. 장성은. 小葉麥門冬이 NC/Nga 마우스의 아토피 피부염에 미치는 영향. 경희대학교 박사학위논문. 2008.
 13. 여의주. 현삼이 NC/Nga mice에서 유발된 피부염에 미치는 영향. 대전대학교 석사학위논문. 2007.
 14. 이수진. Effect of Astragalus membranaceus on DNFB-induced dermatitis in NC/Nga mice. 경희대학교 석사학위논문. 2007.
 15. 김정진, 양성완, 손낙원, 안규석. 加味生料四物湯의 抗炎症효과와 止痒膏의 아토피피부염 손상 및 止痒 효과에 미치는 영향. 동의생리병리학회지. 2003;12(2):428-35.
 16. 안성구. COMMON SKIN DISEASE. 퍼시픽출판사. 2003:68.
 17. 도영민. 아토피란 무엇인가. 마이크로. 2003;146.
 18. 이지현, 김규한, 김명남, 김진우, 노영석, 박영립, 박천욱, 이광훈, 이애영, 조상현, 최지호. 아토피 피부염 학회 보고서 : 한국 아토피 피부염의 치료지침. 대한피부과학회지. 2006;44(8):908.
 19. 김정환. 이우주의 약리학 강의 제 4판. 의학문화사. 1997:517.
 20. 김석호, 이일수, 장진요. 수종의 국소 스테로이드 제제가 Rat 피부의 비반세포에 미치는 영향에 관한 연구. 대한피부과학회지. 1988;26(1):22.
 21. 김수찬, 안규중, 한승경, 김진우, 성경제, 계영철, 김낙인, 조광현, 김광중, 윤재일. 피부외용제에 의한 부작용 사례 연구. 대한피부과학회지. 2003;41(9):1134-5.
 22. 안원근, 채구석, 최태진, 윤두희, 김진우, 안석주. 아토피 피부염 환자에서의 의인성 쿠싱 증후군 1예. 대한피부과학회지. 1998;36(3):548-9.
 23. 김윤희. 황금추출물이 NC/Nga mouse에서 아토피질환개선에 미치는 영향. 대구대학교 석사학위논문. 2005.
 24. 김규한. 아토피 피부염의 동물모델. 대한피부과학회초록집. 2007;45(1):96.
 25. 백윤하. DNCB(dinitrochlorobenzene)로 자극한 NC/Nga 생쥐에서 丹參의 아토피 억제 효과.

- 과. 경원대학교 박사학위논문. 2005.
26. 이성훈, 이주홍, 이승철, 김영근. 아토피 피부염 환자의 중증도 지표로서의 혈청 Interleukin-4에 관한 연구. 대한피부과학회지. 1998;36(1):99.
27. Richard A. Goldsby, Thomas J. Kindt, Barbara A. Osborne, Janis Kuby. KUBY 면역학 5판. 윌드사이언스. 2006:104-5, 310, 327-30.
28. Peter Parham. 면역학 제2판. 라이프사이언스. 2006:26, 310.
29. 소의영. Th1과 Th2 cytokine 생산과 반응의 상호 조절 기작에 관한 연구 : T cell의 IL-4와 IFN- γ 의 생산과 B cell에서의 IL-4 수용체의 발현에 대한 조절기작. 성균관대학교 박사학위논문. 2002.
30. 김태윤. 난치성 아토피 피부염의 IFN- γ 치료 효과. 대한피부과학회초록집. 2000;38(10):55.
31. 박성은. 인터페론-감마 DNA 백신이 NC/Nga 생쥐에서 DNCB (dinitrochlorobenzene)에 의해 유발된 아토피성 피부염에 미치는 영향. 전남대학교 석사학위논문. 2009.
32. 박용민. 아토피 피부염 병태생리에 대한 최신 지견. 대한소아알레르기 및 호흡기학회지. 2006;16(3):190.
33. Abul K. Abbas, Andrew H. Lichtman. 최신면역학입문 3판. 이퍼블릭. 2009;123-4.
34. 이주홍. 아토피 피부염의 중증도와 혈청 IgE 및 INF- γ 에 관한 연구. 대한피부과학회지. 2001;39(10):1069.
35. 은희철. 피부면역학. 서울대학교출판부. 1999: 27-34.
36. 임지현, 강훈, 박영민, 조상현, 이승연. Substance P가 아토피 피부염 환자의 말초 혈액 단핵세포로부터 interleukin-12와 interferon-gamma의 생성에 미치는 영향. 대한 천식 및 알레르기학회지. 2001;21(4):637.