대한한의학 방제학회지 제20권 1호 THE KOREAN JOURNAL OF ORIENTAL MEDICAL PRESCRIPTION 20(1):41~49, 2012

HC001의 아토피성 피부염에 대한 항염증 효능 및 기전 연구

최유연[1], 김미혜[1], 금창준[2], 최영진[2], 황만기[2], 손영주[2], 정혁상[2], 양웅모[1]
[1]경희대학교 한의과대학 처방제형학교실, [2]경희대학교 한의과대학 해부학교실

ABSTRACT

Anti-inflammatory effects of HC001 on atopic dermatitis-like skin lesions in mice

You-Youn Choi[1], Mi-Hye Kim[1], Chang-Jun Kum[2], Young-Jin Choi[2], Man-Ki Hwang[2]
Young-Joo Sohn[2], Hyuk-Sang Jung[2], Woong-Mo Yang[1]
[1]Dept. of Physiology, College of Oriental Medicine, Kyung-Hee University
[2]Dept. of Anatomy, College of Oriental Medicine, Kyung-Hee University

Objectives : The purpose of this study is to examine the effects of external application of HC001 on atopic dermatitis. HC001, newly composed herbal medicine combinations contains 9 medicinal herbs which are known to have anti-inflammatory and anti-allergic effects. We investigated the anti-inflammatory effects of HC001 on atopic dermatitis-like skin lesions in mice.

Methods : Seven-week-old BALB/c mice were sensitized with DNCB to develop atopic dermatitis. Animals were divide into three group: Normal, DNCB (Negative control group), HC001 (Experimental group, treated with DNCB and HC001). Skin sections were stained with H&E to measure the thicknesses of the epidermis and dermis, respectively. The expression of NF-κB protein was measured by western blotting analysis in skin lesion.

• Corresponding author : Woong-Mo Yang
• 서울시 동대문구 회기동 1번지 경희대학교 한의과대학 처방제형학교실
• Tel : +82-2-961-2209 Fax : +82-2-961-2209 E-mail : wmyang@khu.ac.kr
• 접수 : 2012/ 05/ 21 수정 : 2012/ 06/ 08 채택 : 2012/ 06/ 11

Results : Topical HC001 treatment significantly restored the skin thickening and hyperplasia of the epidermis and dermis compared with DNCB-sensitized group in histopathological analyse. In addition, HC001 inhibited the expression of NF-κB protein increased in DNCB-induced atopic dermatitis-like skin lesions in mice.

Conclusions : These results suggest that HC001 may be useful as an external application agent for atopic dermatitis based on reductions of various inflammatory responses.

Key word : Atopic dermatitis, Anti-inflammation, HC001, NF-κB

Ⅰ. 서 론

아토피성 피부염(atopic dermatitis)은 산업 발달에 따라 환경오염이 가속화 되면서 발생되는 면역관련성 질환 중에 하나이며[1], 대부분 여러 가지 알레르기성 질환을 동반하여 복합적이며 만성 재발성 피부질환으로 국내에서는 전 인구의 0.5~1%, 어린이의 5~10%가 아토피성 피부염을 앓고 있다[2].

아토피 피부염에 대한 다양한 한의학적 접근이 시도 되었으나, 여전히 대부분의 치료 방법은 스테로이드제, 항히스타민제 도포나 복용 및 최근 개발되고 있는 면역억제제가 전부이다[3]. 한의학적으로는 고전(古典)에서는 아토피성 피부염은 내선(癬), 태선(胎癬), 태렴창(胎斂瘡), 사만풍(四彎風), 유선(乳癬) 등으로 불렸으며[4], 또한 피부는 肺의 相應之處이자 營衛의 순환처로, 『內經』에 瘡瘍등을 비롯하여 피부병과 관련된 30여종의 해부, 생리학적 병명이 기술되어 있으며, 『神農本草經』에는 피부병에 관한 치료법과 360여종의 약물이 기재되어 있다. 이에 대한 기본적인 치료법은 “外病內治”의 원칙하에 다양한 外治法도 병용되고 있다. 또한 염증을 치료하는 한약제의 특징인 차가운 성질의 약을 내복했을 경우 나타나는 부작용을 보완해 주기도 한다. 이로 인해 장기간 사용의 부작용과 효능의 한계성이 나타남으로써 대체의학에 대한 관심이 증가하며, 천연재료인 약용 식물이 우선적으로 선택되고 있다[5].

특히 한의학에서 외용법은 내치법과 병행하거나 따로 국소적으로 이용되는 부분으로서 이미 많은 임상적인 연구 자료가 고전에서부터 기록되고 있다[6]. 일반적으로 외용제(external application)에 의한 아토피의 국소치료는 병소(病所)에 화학적 및 물리적 작용을 통하여 직접적인 효과를 나타낸다[7].

본 실험 전개를 위해 제작된 HC001은 전통적인 한의학 문헌상에서 피부의 감염성 또는 염증성 질환에 항염증(anti-inflammatory)[8] 및 항알레르기(antiallergenic)[9]효과를 통한 가려움증 및 발적 증세를 완화시키며, 상처 회복 속도 증강에 효과를 보이며, 또한 화상 치료 및 살균효과 그리고 지혈 작용 및 종기 치료 등을 위해 외용제(도포, 세척)[10]로서 다양한 방식으로 활용되어 왔던 대표적인 약재들인 고삼(苦蔘), 지유(地楡), 지부자(地膚子), 사상자(蛇床子), 형개(荊芥), 백선피(白鮮

皮), 대황(大黃), 자초(紫草), 어성초(魚腥草) 총 9가지 한약 제제로 구성된 한약 혼합물로 구성되었다[11)12)]. 현재 임상적으로는 어린이와 청소년들의 아토피 피부염 증세 완화를 위한 목적으로 사용되고 있다.

본 실험에서는 피부염을 인위적으로 일으키는 2,4-dinitrochlorobenzene(DNCB) 을 BALB/c mice에 도포하여 아토피성 피부염 유사 동물 모델을 만든 후 실험을 위해 피부질환 치료목적을 위해 외용약으로 제작된 HC001를 국소부위에 도포하여 표피 회복력 및 아토피성 피부염 증상에 미치는 영향과 유효성을 확인하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 실험 동물

생후 7주령된 암컷 BALB/c mice(Hamamatsu, Japan)를 실험 당일 전날까지 고형사료(labanimal, Korea)와 물을 공급하였으며, 온도 23±2°C, 습도 50±10%로 조절된 동물 사육실에서 10일 동안 적응시켰다. 적응 기간이 끝난 mice는 아토피성 피부염을 유발하지 않은 정상군(Positive Control: Normal), 아토피성 피부염을 유발시킨 대조군(Negative Control: DNCB), 아토피성 피부염을 유발 시킨 후 1% HC001를 도포한 군(experiments groups: DNCB + HC001) 로 나누어 각각 5마리씩 배치하였다. 모든 동물실험 과정은 NIH(National Institutes of Health)의 실험동물관리 규정(Principle of Laboratory Animal Care)과 경희 대학교의 실험동물 관리와 사용 지침의 규정에 따라 수행하였다.

2. HC001 추출물 제조

본 실험에 사용한 HC001 처방 약물들은 경북 안동시 Omni herb 회사에서 구매하였다. 처방 구성은 苦蔘, 地楡, 地膚子, 蛇床子, 荊芥, 白鮮皮 각 36 g, 大黃 24 g, 紫草, 魚腥草 각 1.5g 의 약재를 배합한 후 1990L의 증류수를 함께 100°C에서 1시간 동안 추출한 후, 30분 동안 열을 식힌 후, Whatman #2 filter paper에 여과한 후, 3일 동안 동결건조를 하였다. 추출물은 감압 농축과 동결건조를 통해 추출물 30.3 g(수득률: 15.2%)을 얻어 본 연구의 시료로 사용하였다. 실험 전까지는 -20 °C에 보관을 하였으며, 매 실험 처리 전 PBS와 olive oil이 9:1로 혼합된 용매에 추출 시료를 1%의 농도로 녹인 후 1분간 vortex하여 완전히 용해시킨 후 사용하였다.

Table 1. Composition and amount of HC001

Herb Name	Scientific Name	Dose (g)
苦 蔘	*Sophora flavescens Ait.*	36
地 楡	*Sanguisorba officinallis L.*	36
地膚子	*Kochia scoparia Schrader*	36
蛇床子	*Torilis japonica (Houtt.) DC*	36
荊 芥	*Schizonepeta tenuifolia Briquet*	36
白鮮皮	*Dictamnus dsycarpus Turez*	36
大 黃	*Rheum rhabarbarum L.*	24
紫 草	*Lithospermum erythrorhizon Siebold*	1.5
魚腥草	*Houttuynia cordata Thunb*	1.5
총 량		243(g)

3. DNCB 제조와 도포에 의한 알레르기성 접촉 피부염 유발

본 실험에서는 알레르기성 피부염을 모델을 제작을 위해 DNCB를 acetone과 olive oil이 4:1로 혼합된 용매에 1%와 0.5%로 희석시켜 사용하였다. 10 일간 사육환경에 적응시킨 BALB/c mice의 등 부위를 제모하고 피부의 미세 상처가 자연 치유되도록 24시간 방치하였다. 이 후 알레르기성 피부염을 유발하기 위하여 1차로 1% DNCB 용액 100 ul를 하루에 한 번씩 3일(Day 0 - 2) 동안 등 부위에 감작시켰다. DNCB 처리 3시간 전에 먼저 4% sodium dodecyl sulfate(SDS) 100 ul를 뿌려 피부 장벽을 파괴 한 후 처리하였다. 이후 5일 동

안(Day 3 - 7) 아무 처리도 하지 않으며, 염증 유발을 확인한 후, 2차 감작은 10일(Day 8 - 17) 동안 하루에 한번 0.5% DNCB 용액을 등 부위에 도포하였다. DNCB처리 4시간 전에 HC001 처리군에는 1% HC001 100 ul를 도포하였으며, normal 군과 DNCB군에는 PBS 와 olive oil이 9:1로 혼합된 용액으로 처리 하였다. HC001가 완전히 마른 것을 확인한 4시간 후 normal군에는 acetone과 olive oil이 4:1로 혼합된 용액을, DNCB 와 HC001 ** 에는 0.5% DNCB 100 ul를 도포하였다. 실험 목적에 따라 마우스를 17째 되는 날 희생하여 피부 조직은 조직학적 평가와 염증인자 확인을 위해 적출하였다.

[Experiments protocol]

4. 조직학적 평가

피부조직에 어떠한 영향을 미치는지 알아보기 위해 세 군 모두의 표피와 진피의 두께를 측정하여 피부 세포의 과각화증(hyperplasia)을 검사하였다. 피부조직은 4% paraform -aldehyde에서 24시간 동안 포르말린에 고정 한 후 파라핀에 포매[embedding, 包埋]하여 block을 만든 후, 4 μm 두께로 조직을 절편 하였다. 이 조직을 hematoxylin와 eosin으로 이중 염색한 후, 측정된 이미지는 Leica Microsystems 을 사용하여 100×의 배율에서 관찰되었다.

5. Western blot assay

DNCB로 유도된 mice조직에서 HC001의 도포가 염증반응에 직접적으로 관여하는 대표적인 단백질인 NF-κB의 발현에 미치는 영향을 평가하기 위해서 western blot assay를 실시하였다. Mouse 피부 등 조직은 10 mM HEPES(pH 7.9), 10 mM KCl, 0.1 mM EDTA, 0.1 mM EGTA, 1 mM DTT, 0.15% Nonidet P-40, 50 mM β-glycerophosphate, 10 mM NaF and 5 mM Na_3VO_4 와 protease inhibitors cocktail을 넣은 cytosolic lysis buffer를 사용하여 homogenize 하였으며, 15분 간격으로 5번 vortex한 후 cytosol의 상층액을 얻고 남은 pellet에 nuclear lysis buffer(20 mM HEPES, pH 7.9, 400 mM NaCl, 1 mM EDTA, 1 mM EGTA, 1 mM DTT, 0.50% Nonidet P-40, 50 mM β-glycerophosphate, 10 mM NaF and 5 mM Na_3VO_4)를 넣어 cytosolic lysis 방법과 동일하게 실시하여 실험에 사용할 최종 단백질을 추출하였다. 추출한 단백질은 Dc Protein assay kit (Bio-Rad Laboratories, USA)의 방법으로 정량하여, 각 sample 당 30μg의 단백질을 실험에 사용하였다. SDS 12%-polyacrylamide겔을 이용 전기영동을 통해 단백질을 분리한 후, 분리한 단백질은 nitrocellulose 막으로 이동시켜, antibody의 비 특이적인 결합을 막기 위해 TBS-T로 용해한 5% skim milk를 이용하여 blocking 시킨 후, TBS-T로 15분간 3번 세척 후, anti-rabbit β-actin, NF-κB antibody(Cell signaling, USA)를 TBS-T에 1:1,000으로 희석하여 넣고, 4℃에서 overnight binding시켰다. TBS-T로 15분간 3번 세척하고 HRP(horseradish-peroxidase)가 붙어있는 goat-anti-rabbit 2차 항체(Santa cruz biotechnology Inc, USA)를 TBS-T에 1:2,000으로 희석하여 넣고 실온에서 1시간 동안 처리하였다. 다시 TBS-T 15분 정도의 세척을 한 후, ECL kit의 solution을 1:1로 섞어 NC filter에 부어 1분간 흔들어 준 다음, LAS Image Gauge 프로그램을 이용하여 현상하였다. NF-κB 밴드의 밀도를 측정은 anti-mouse β-actin 항체(Santa cruz biotechnology Inc, USA) 밴드를 대조군으로 하여 정량하였다.

6. 통계처리

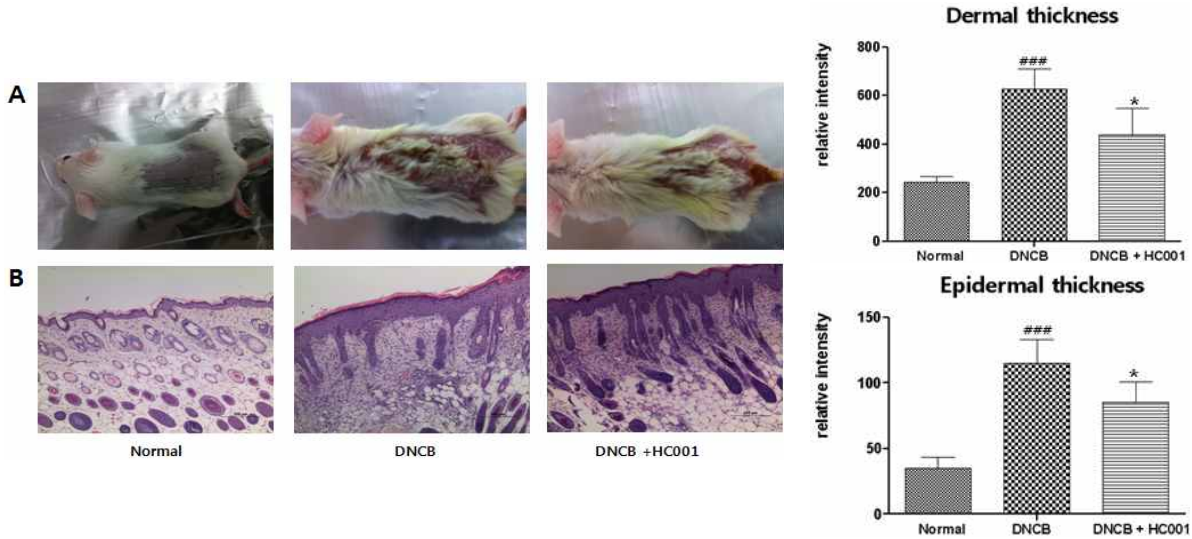
각 data는 Mean ± SD 값으로 표시 하였으며, 각 실험 결과로부터 ANOVA(analysis of variance)를 구한 후 Duncan's multiple range test를 이용

하여 각 군의 평균 간의 유의성을 검정하였다. 일반적으로 p 값이 0.005 이하인 경우 통계학적으로 유의 한 것으로 간주하였다.

III. 결 과

1. HC001 추출물 도포에 대한 피부조직의 변화

DNCB로 유도된 아토피성 피부염 유발 마우스의 피부 변화 상태를 육안으로 확인할 수 있었으며, 정상군에 비하여 각질의 각화와 염증, 홍조, 탈락 증의 현상을 나타내었다. HC001를 처리한 HC001군은 DNCB군에 비해 피부상태가 많이 호전됨을 확인 할 수 있었다(Fig. 1. A). 또한 mice의 등 부위에 실험물질을 도포한 피부 조직을 적출하여 epidermis및 dermis 조직의 변화 양상을 보기 위해 H&E 염색을 수행한 결과 DNCB군은 normal군에 비해 epidermis의 경계가 dermis쪽으로 두꺼워 지는 경향을 보였으며(epidermis 69.44%, dermis 60.91%) 과각화증(hyperplasia)을 확인할 수 있었다. HC001를 처리한 실험군에서는 DNCB군에 비해 epidermis, dermis 각각 15.52%, 30.77%의 hyperplasia감소를 보여 염증이 완화되었음을 확인하였으며, 뿐만 아니라 피부조직 배열이 규칙적인 것도 확인 할 수 있었다(Fig. 1. B). 조직학적 평가를 통해 DNCB로 유도된 아토피성 피부염증 모델 mice에서 피부 과각화증(hyperplasia) 과 육안으로 관찰되는 염증 현상들이 HC001에 의해 호전됨을 확인 할 수 있었다.



	Epidermal thickness	Dermal thickness
Normal	35.09±7.80	244.79±22.84
DNCB	114.82±17.90###	632.29±69.26###
DNCB+ST	71.02±15.07*	364.38±31.68*

Fig. 1. Reduced hyperplasia after HC001 treatment in epidermis and dermis of DNCB-sensitized skin lessons.

Histopathological findings by H&E staining of skin sections (n=5, magnification: × 100). The skin thickness of DNCB group significantly increased compared with the normal group. HC001 treatment significantly decreased thickening and hyperplasia of the epidermis and dermis than DNCB group. Each data represents the mean ± SEM. # indicates significance (### $p < 0.001$) for the difference between normal control group and DNCB group. *indicates(* $p < 0.05$) significantly difference from DNCB group.

2. HC001 추출물이 NF-κB의 활성에 미치는 영향

DNCB로 유도된 아토피성 피부염 모델에서 HC001의 염증 매개물질 생성 억제 기전을 탐색하기 위해서 세포핵내의 NF-κB의 활성을 Western blot을 통해 확인하였다. NF-κB는 전염증성 매개 물질들을 유도하는 중요한 역할을 하는 것으로[13], 본 연구에서도 DNCB군의 NF-κB의 발현 농도는 normal 군에 비해 유의적으로(40.54%) 증가하였으며, HC001를 처리한 실험군에서는 DNCB군에 비해 통계적으로 유의하게(41.4%) 감소되는 것을 확인 할 수 있었다(Fig. 2).

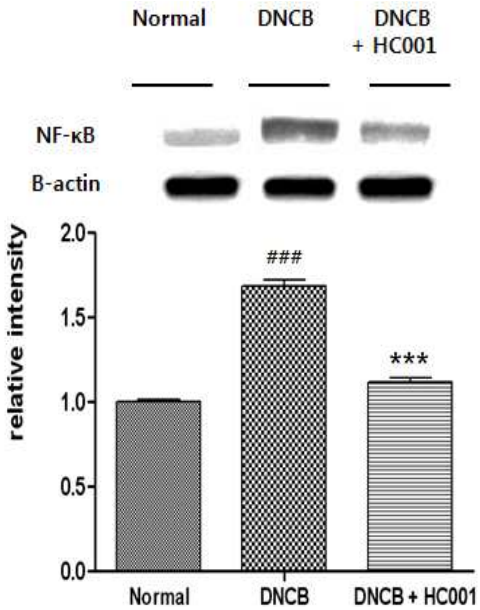


Fig. 2. Down-regulation of NF-κB expression by HC001 application.

To confirm the effect of HC001 on protein expression of NF-κB, western blot analysis was performed. NF-κB activation of HC001-treated group was significantly decreased in the dorsal skin compared with DNCB-sensitized mice. Each data represents the mean ± SEM. # indicates significance (### $p < 0.001$) for the difference between normal control group and DNCB group. * indicates (*** $p < 0.001$) significantly difference from DNCB group.

Ⅳ. 고 찰

최근 염증성 질환이나 피부질환의 치료를 위해 한약물의 생리 활성 물질을 이용하려는 연구가 계속 되고 있다. 다양한 연구를 통해, 다양한 한약물이 인체 내에서 식균 작용[14]뿐만 아니라 피부 질환에 대한 방어력 증가 및 면역 반응 강화에 대해 보고되었다[15]. 본 연구에서는 이미 피부질환에 외용 및 내복약 제재로 널리 쓰이고 있는 피부질환 치료 약물들로 새로운 처방을 구성하여 외용제로서의 효과를 알아보았다.

본 실험에 사용된 HC001는 이미 피부질환 환자의 외용 및 내복약 제제로 널리 쓰이고 있는 苦蔘, 地楡, 地膚子, 蛇床子, 荊芥, 白鮮皮, 大黃, 紫草, 魚腥草 총 9가지 한약재로 구성되었다. HC001은 피부 질환에 유용한 약물들을 配伍하여 치료효과를 높이기 위하여 새로 구성한 처방으로, 현재 임상에서 아토피성 피부염 및 건선 등의 내복 및 외용제로 사용되고 있으며, 우수한 효능을 나타내어, 본 실험을 통해 그 기전 및 효능을 연구하였다. 각 약재를 살펴보면, 苦蔘은『方藥合編』에서 "苦蔘味苦主外科 眉脫腸風下血痢" 기록된 것처럼 쓴 성미와 淸熱燥濕과 殺蟲하는 효능을 이용하여 주로 단약으로 외과적 약물로 사용되거나, 합방(合方)으로 苦蔘과 함께 白鮮皮, 百部, 명반 등과 함께 달인 물로 세척하여 음부 소양, 습진 수족선, 피부 소양증 등을 치료하는 소양성 피부병의 外用制로 사용되는 약물이다[17].『本草學』에서 荊芥는 "荊芥味辛淸頭目 表寒祛風瘡瘡癢"의 특징을 가지고 있어 外感風寒 뿐만 아니라 風熱로 인한 증상에 효과를 보이고 있다. 또한 피부 질환을 치료할 때 荊芥의 配伍로 자주 사용되는 地膚子는 성질이 寒, 無毒하고 味는 苦하여, 淸熱利濕, 祛風止痒, 殺蟲解毒 하는 작용으로 소양증, 담마진, 신경성 피부염, 알레르기성 피부염 등의 피부질환 치료에 내복하거나 사상자, 백반 등을 배합하여

피부습진과 소양증에 전탕액으로 세척하여 사용되고 있다[18]. 大黃은 "大黃苦寒破血瘀 快膈通腸積聚除"의 성질을 이용함으로써 염증을 완화시키며[19], 紫草와 魚星草는 『本草綱目』과 여러 기초 연구에서 斑疹, 痘毒을 치료하며 혈액순환을 촉진시키고, 涼血하며 약리작용으로 항균작용, 면역증강작용, 항염증작용, 이뇨작용 등으로 첨가하여 피부질환에 응용되고 있다고 한다[20,21].

알레르기란 정상적인 경우 인체에 해를 끼치지 않는 물질에 대해 면역 체계가 이상반응을 일으키는 것을 말한다[22]. 아토피성 피부염의 발병기전은 아직 명확하지 않으나 유전적, 환경적 및 면역학적 이상 등이 복잡하게 연관되어 작용하는 것으로 알려져 있다[23]. 이 질환은 소양감, 피부건조증, 피부 각화증 및 태선화 등이 특징이며, 아토피성 피부염 환자의 피부조직을 관찰했을 때 과각화증(hyperplasia) 과 염증세포의 침윤 등을 볼 수 있다[24]. 따라서 피부장벽이 제 기능을 하지 못하게 되고 피부 수분 함량이 감소하고 경피 수분손실이 증가하는 양상을 나타내는 것이 아토피성 피부염의 피부소견이다[25].

본 연구에서 DNCB로 인위적으로 유도된 아토피성 피부염증 mouse 모델에 피부 건조 및 피부박리 증상을 육안으로 확인 할 수 있었으며, 외용제로 사용된 HC001를 처리한 실험군에서는 피부장벽의 기능을 회복시킴으로 개선됨을 확인 할 수 있었다. 또한 H&E 염색을 통해 확인된 표피와 진피의 조직학적의 변화는 DNCB로 유도된 군에서는 표피, 진피 모두 과각화증으로 모두 두께가 증가하는 것을 확인 할 수 있었으며, HC001를 외용제로 도포한 실험군에서는 표피 및 진피의 과각화증이 호전되는 것이 관찰되었다.

NF-κB는 산화 환원 반응에 민감한 전염증성(proimflamatory) 전사 인자(transcriptional factor)로서 유전자의 발현을 조절하여 염증 과정에서 중요한 역할을 한다[26]. 또한 염증 반응뿐만 아니라 면역 반응 등 다양한 유전자의 발현에 관여하여 종양 형성, 자가 면역 질환에 중요한 지표이다[27]. DNCB에 의해 활성화가 유도되어 염증반응의 가속화가 된 DNCB군에서는 세포핵내의 NF-κB의 증가된 활성을 확인 할 수 있었으며, HC001를 처리한 실험군에서는 HC001에 의한 NF-κB활성 억제를 통한 항염증 효과를 확인할 수 있었다.

따라서 HC001의 국소 도포로 아토피 피부질환이 유발된 BALB/c mice의 피부조직 손상의 감소, 피부 표피 과각화증의 완화 효과 및 대표적인 염증인자인 NF-κB의 발현을 억제함으로서 HC001이 피부질환의 외용제로 유용하게 사용될 수 있음을 확인 하였고, 추후 후속 연구를 통해 염증 반응과 면역 반응에 매개되는 cytokine 등 분자생물학적인 연구가 더 필요 할 것으로 사료된다.

Ⅴ. 요 약

본 실험에서는 피부질환을 위한 새로 구성된 HC001의 처방이 외용제로서 아토피성 피부질환에서의 항염증 효능을 확인하였다. H&E염색을 통한 조직학적 검사에서 DNCB로 유도된 진피 및 표피의 과각화증이 HC001 국소도포로 인해 호전되는 것을 관찰되었으며, 염증과정에서 중요한 지표인 NF-κB의 활성이 억제됨을 확인하였다. 이를 통해 HC001이 아토피성 피부질환의 외용제 사용에 있어 일정한 효과를 나타낼 수 있을 것으로 기대 된다.

감사의 글

본 연구는 "서초 아이누리 한의원과 경희 다복한의원"의 지원에 의해 수행되었습니다.

참고 문헌

1. Shultz LF, Hanifin JM. Epidemiology of atopic

dermatitis. Immunol Allergy Clin North Am. 2002;22:1-24.
2. Yoon SP, Kim BS, Ree JH, Lee SC, Kim YK. The environment and lifestyle of atopic dermatitis patients. Korean J Dermatol. 1999;37:983-91.
3. Del Rosso J, Friedlander SF. Corticosteroids: Options in the era of steroid-sparing therapy. J Am Acad Dermatol. 2005;53(Suppl 1):S50-58.
4. 조상현. 아토피 피부염의 면역기전. 대한 피부과 학회 학술 발표회 대회집. 2006;58(2):59.
5. Kimura T, P PH, Guo JX. International collation of traditional and folk medicine(1). World Scientific Singapore. 1986;147-8.
6. Matsuda H, Dai Y, Ido Y, Ko S, Yoshikawa M, Kubo M. Studies on kochiaefructus. Ⅲ. Antinociceptive and antiinflammatory effects of 70% ethanol extract and its component, momordin Ic from dried fruits of Kochia scoparia L. Biol Pharm Bull. 1997;20(10):1086-91.
7. Kim CH, Kim JT, Jung HA, Roh SS. Clinical efficacy of external preparation containing herbal extracts m atopic dermatitis patients. The journal of Korean oriental medical ophthalmology & otolaryngology & demaatology. 2007;20(2):187-98.
8. Lee SE, Lee JH, Kim JK, Kim GS, Kim YO. Anti-inflammatory activity of medicinal plant extracts. Korean J Medicinal Crop Sci. 2011; 19(4):217-26.
9. Choi SH, Kim YR, Lim DG, Bai EO. Anti-allergic action of some medicinal plants. Yakhak hoeji. 1992;36(2):140-9.
10. Pahng SH, Cha WS, Kim NI. Consideration on the paste preparation based on entries from the annals of the chosun dynasty. J Korean Oriental Med. 2009;30(4):37-46.
11. Yoo JS, Kim DK, Kim SH ,Shin TY. Anti-allergic effects of Schizonepeta tenuifolia on mast cell-mediated allergy model. Natural Product Sciences. 2011;17(3):239-44.
12. 전국 한의과학 대학 본초학 교수. 본초학 서울:영림사. 1992:321.
13. Wuertz K, Vo N, Kletsas D. Inflammatory and catabolic signaling in intervertebral discs: The roles of NF-κB and MAP Kinases. Eur Cell Mater. 2012;23:103-20.
14. Tohda C, Kakihara Y, Komatsu K, Kuraishi Y. Inhibitory effects of methanol extracts of herbal medicines on substances P-induced itch-scratch response. Biol Pharm Bull. 2000;23:599-601.
15. Jin R, Wan LL, Mitsuishi T, Kodama K, Kurashige S. Immuno modulative effects of chines herbs in mice treated with anti-tumor agents cyclo phosphaphamide. Yakukaku zasshi. 1994;114(7):533-8.
16. 김동현, 김형민, 류종훈, 엄재영. 한방 약리학. 2009;409-13, 174-7.
17. Chang HM. Pharmacology and application of Chinese material medica. World scientific publishers Philadelphia. 1986;1:736-7.
18. Kim JS, HAN JB, Whang WW, Min BI. Effect of Kochiae fructus on histamine-induces itch, erythema and wheal responses in normal healthy adults. J korea Oriental Med. 2003; 24(1):133-40.
19. Park EK, Choo KM, Yoon HK, Kim DH Antithrombotic and antiallergic activities of rhaponticin from rhei rhizoma are activated by human intestinal bacteria. Arch Pharm Res. 2002;25(4):528-33.
20. Kim YR, Cho SY, Seo DB, Kim SH, Lee SJ, Cho YH. Effects of oral intake of gromwell water fraction on ceramides content and the development of atopic dermatitis in NC/Nga Mice. Korean J food sci technol. 2009;41(5):

547-51.
21. Shin S, Joo SS, Jeon JH, Park D, Jang MJ, Kim TO, Kim HK, Hwang BY, Kim KY, Kim YB. Anti-inflammatory effects of a Houttuynia cordata supercritical extract. J Vet Sci. 2010; 11(3):273-5.
22. Friedmann PS. Contact sensitisation and allergic contact dermatitis: immunobiological mechanisms. Toxicology Letters. 2006;162:49-54.
23. Galli SJ, Tsai M, Piliponsky AM. The development of allergic inflammation. Nature. 2008;454:445-54.
24. Leicht S, Hanggi M. Atopic dermatitis. How to incorporate advances in management. Postgrad Med. 2001;109:119-27.
25. Boguniewicz M, Leung DY. Atopic dermatitis. J Allergy Clin Immunol. 2006;117:475-80.
26. Smahi A. The NF-κB signalling pathway in human diseases: from incontinentia pigmenti to ectodermal dysplasias and immune-deficiency syndromes. Hum Mol Genet. 2002;11:2371-5.
27. Kim SH, Shin TY. Anti-inflammatory effect of leaves of Eriobotrya japonica correlating with attenuation of p38 MAPK, ERK, and NF-κB activation in mast cells. Toxicol in Vitro. 2009;23:1215-9.