

DNCB 유도 BALB/c 생쥐에서 어성초 혼합 한방추출물의 항아토피 효과

박상오 · 박병성 · 류채민 · 안용식[†]

[†]강원대학교 동물생명공학과

(2012년 3월 5일 접수 ; 2012년 6월 12일 수정 ; 2012년 6월 15일 채택)

Effect of Herb Extracts Mixed with *Houttuynia Cordata* on Antiatopic Dermatitis in DNCB-Induced BALB/c Mouse

Sang-Oh Park · Byung-Sung Park · Chae-Min Ryu · Yong-Sik Ahn[†]

[†]Department of Animal Biotechnology, Kangwon National University,
Chuncheon 200-701, Gangwondo, Korea

(Received March 5, 2012 ; Revised June 12, 2012 ; Accepted June 15, 2012)

요약 : 본 연구는 아토피 피부염을 갖는 질환동물에서 어성초를 비롯한 다양한 식물추출물을 이용하여 제조한 크림의 항아토피 피부염증에 대한 효능을 평가하였다. BALB/c 마우스를 이용하여 아토피 피부염 유발 대조군 및 크림 처리군으로 완전 임의 배치하였다. 혈액 IgE와 히스타민 농도는 크림 처리군이 DNCB 유도 아토피 대조군에 비해서 유의하게 감소하였으며, 아토피 피부염이 심각한 상태의 마우스에서 정상적인 피부상태로 회복되었음을 관찰하였다. 본 결과는 아토피질환 모델 BALB/c 마우스에서 어성초 혼합 식물추출물의 투여가 혈액 IgE를 낮추고 동시에 비만세포에서 생성되는 히스타민의 배출량을 억제함으로써 항아토피 효능을 갖는다는 점을 시사 해준다.

주제어 : 아토피피부염, 어성초, BALB/C 마우스, IgE, 히스타민.

Abstract : This study was evaluated the antiatopic activity of cream containing a herb extracts mixed with *Houttuynia cordata* in DNCB-induced BALB/c atopy mouse. The randomized complete block design was done by BALB/c mouse into two groups, of which the control group with atopy and the cream treatment group. It was found that each level of IgE and histamine in blood was significantly decreased in the cream treatment group, compared with the DNCB-induced atopy control group. When the cream was applied to the atopy mouse, it could be observed that its skin recovered to normal condition with the skin surface being clean and smooth without any horny tissue. The results suggest that the application of herb extracts mixed with *Houttuynia cordata* has an antiatopic activity through a inhibition of histamin emissions with reducing the levels of blood IgE in BALB/C atopy mouse.

Keywords : Atopic dermatitis, *Houttuynia cordata* extract, BALB/C mouse, IgE, histamin.

[†]주저자 (E-mail : xkzkzx@hanmail.net)

1. 서 론

최근 우리나라에서 소아·청소년 아토피 피부염 환자수가 급증하고 있다. 2008년 국민건강영양조사 결과에 의하면 아토피 피부염은 1-5세 사이의 어린이에서 19.2%로 5명 중 1명이 앓고 있는 것으로 나타났다[1]. 아토피 피부염은 주로 가려움과 염증을 수반하는 만성 염증성 피부질환으로써 알레르기 원인물질인 알레르겐이 외부로부터 체내로 들어오면 혈액 B-cell에서 IgE가 생성되어 피부의 비만세포(mast cell)로 이동된 다음 백혈구 세포인 호염구와 결합하여 히스타민을 생성, 저장 후 반복적으로 동일한 알레르겐에 노출될 경우 히스타민이 밖으로 배출되면서 알레르기 증상이 발생하는 질환으로 알려져 있다. 아토피 피부염이 유발되는 원인은 명확하게 밝혀지지 않았으나 유전적 소인, 면역학적 요인 및 환경 요인이 복합적으로 작용하여 발생하는 것으로 알려졌다. 굵은 행위와 관련한 가려움증의 치료는 아토피 피부염의 효율적인 치료방법으로써 생각되었다. 항히스타민 처리는 아토피 피부염 환자에게서 가려움증을 억제하기에 충분하지 못하며, 스테로이드의 적용은 잦은 부작용 때문에 장기적으로 이용할 수 없기 때문에 천연물로부터 새로운 물질을 개발하려는 연구가 필요하다[2-5].

천연물로부터 항아토피 소재의 탐색으로는 황금열수추출물, 두충추출물, 천년초추출물, 김치추출물 및 비파엽과 삼백초 추출물에서 보고된 바 있다[6-11]. 전통적으로 어성초(*Houttuynia cordata*), 석창포(*Acorus gramineus* Soland), 방풍(*Saposhnikovia divaricata* Schisck), 황기(*Astragalus membranaceus*), 비파(*Eriobotrya japonica* L), 고삼(*Sophora flavescens* Ait.) 및 삼백초(*Saururus chinensis* Baill) 등의 식물에서 항염증을 비롯한 다양한 약리적 효능을 지닌 것으로 알려져 있다. 어성초의 quercetin, 석창포의 asarone, 방풍의 coumarin, 황기의 formononetin, astragaloside, 비파의 terpenoid, amygdalin, saponin, 삼백초의 quercetin, quercitrin, 그리고 고삼의 flavonoid가 주요한 약리적 성분으로 알려져 있다[12-17].

본 연구는 DNCB에 의해서 유도된 아토피 질환모델 BALB/c 생쥐에서 어성초 혼합 한방

추출물의 항아토피 효과를 평가하여 신약 또는 기능성화장품 개발을 위한 기초자료를 얻기 위하여 수행하였다.

2. 실험

2.1. 실험재료

본 실험에 이용된 어성초, 석창포, 방풍, 황기, 비파잎, 고삼 및 삼백초는 강원도 춘천시 재래시장에서 구입하였다. 각각의 식물 20g에 에틸알코올 1 L을 가하여 80℃에서 3시간 동안 환류냉각장치를 이용하여 추출물을 획득하였다. 추출물을 여과지(Whatman No. 1 filter paper)로 여과한 후 회전식 진공농축기(Rotary vacuum evaporator, N-11, Eyela NE, Tokyo, Japan)에서 감압, 농축하여 동결건조 후 -80℃ deep freezer에 보관하면서 시험제품의 제조에 사용하였다. 추출물을 (주)NJY 생명과학이 지정한 비율로 혼합한 후 연고기제(프로필렌 글리콜, 세라마이드 및 PCA-나트륨 혼합물)를 첨가하여 크림의 형태로써 시험제품을 제조하였다.

2.2. 실험동물

동물을 포함한 모든 과학적 절차는 유럽 실험동물 면허(European Laboratory Animal Treatment License)에서 제시한 기준을 따랐으며 강원대학교 실험동물 윤리위원회의 승인을 얻어서 수행하였다. 5주령의 특수병원체무제 스킷 마우스(BALB/c) 20마리를 대만바이오링크(주)로부터 구입하여 일주일 동안 상업용 펠렛 식이로 사육하면서 환경에 적응시킨 후 본 실험처리를 하였다. 실험처리는 아토피 피부염 유발 대조군 및 실험용 크림 처리군으로 구분하여 완전 임의 배치하였으며, 각 처리군 당 10마리씩 개체별로 반복해서 사육하였다. 실험동물의 사육실 온도는 20± 2℃, 상대습도 60± 5%로 유지하였고 조명은 12시간 주기로 조절하였다. 특히 야행성 동물인 흰쥐의 생리적인 특성을 고려해서 실험절차에 따른 흰쥐의 스트레스를 최소화하기 위해서 낮의 주기를 어둡게(09:00~21:00) 조절하였다. 실험식은 AIN-76[18]에 기초한 정제식이를 배합 후 펠렛 형태로 조제하였다. 정제식이의 조성은 카제인 20.0%, 옥수수전분 15.0%, 설탕 50.0%, α-셀룰로스 5.0%, 옥수수기름 5.0%, 미네랄 혼합제

3.5%, 비타민 혼합제 1.0%, choline bitrate 0.2%, DL-methionine 0.3%로서 구성되었고 식이 내 에너지와 단백질 함량을 동일하게 조절하였다. 실험사료와 물은 무제한 급여하였으며 기타 사양관리는 강원대학교 관행방법으로 실행하였다.

2.3. 피부염 유도 및 시료처리

마우스의 등 부위를 깨끗하게 제모 후 피부의 미세 상처가 치유되도록 24시간 방치하였다. 아세톤과 올리브오일을 3:1로 혼합하여 제조한 면역교란물질로써 2.5% DNCB 용액(2,4-dinitrochloro benzene, Sigma, St. Louis, MO, USA) 200 μ L를 등 부위에 도포하여 면역화 반응을 유도하였다. 3일 후부터 3일에 1회씩 1.0% DNCB 용액 150 μ L를 등 부위에 도포하여 아토피 피부염을 유도하였다. DNCB 용액을 등 부위에 2회 도포 이후부터 가피가 형성되면서 긁는 행동이 심화되었고, 등 부위의 가피가 벗겨지기 시작하여 아토피 피부염이 유발되었다. 4회 도포 이후부터 아토피 피부염이 심각한 상태로 유발되었으며 이때부터 실험용 크림을 염증발생 부위에 충분하게 발라주었다. 실험용 크림은 1일 2회씩(11:00, 17:00) 발라주었다. 실험용 크림을 발라주는 기간 중 자연치유에 의한 오차를 막기 위해 3일에 1회씩(10:00) 1.0% DNCB 용액 150 μ L를 마우스의 등에 도포하였다[19].

2.4. 혈액 채취

실험 종료일에 마우스를 ethyl ether로써 가볍게 마취시키고 심장으로부터 SST튜브(serum separate tube, Ikinbin Technology Co., Limited, Guangzhou, China)를 이용해서 혈액 1.0 mL를 채취한 다음 실온에서 20분 정도 방치하여 혈액이 응고하도록 허용하였다. 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 응고된 혈액으로부터 혈청을 분리하였고 -196°C 의 액화질소에 급속 냉동한 다음 -20°C 에서 보관하였다.

2.5. 혈액 IgE 측정

혈액으로부터 immunoglobulin E 농도는 Mouse IgE ELISA kit(Shibayagi Co., Ltd, Gunma, Japan)를 사용하여 아래와 같이 반응시킨 후 표준용액의 흡광도와 비교하여 계산하였다. well plate와 모든 시약을 실온으로 유지

하였고 농축세척액을 증류수로써 10배 희석하였다. IgE 표준물질과 완충용액을 이용하여 IgE 표준농도(0, 1.0, 10, 25, 50, 75, 100 ng/mL)를 각각 제조하였다. 세척액으로 96 well을 채워서 antibody-coated plates를 3회 세척하였다. 희석시료 및 표준용액을 각각 50 μ L 분주하여 plate shaker(800 rpm, 10 초, 3회 반복)위에서 plate를 서서히 흔들어주었다. 실온에서 2시간 동안 배양한 후 반응 혼합물을 제거하였고, washing buffer로 3회 세척 후 모든 well 속으로 Biotin-conjugated anti-IgE antibody 50 μ L를 분주하고 상기 기술한 과정으로 흔들어주었다. 실온에서 2시간 동안 배양한 후 반응 혼합물을 제거하고 앞의 과정과 동일하게 처리하였다. HRP-conjugated avidin 50 μ L를 분주한 후 앞의 과정과 동일하게 흔들어준 다음에 plate를 실온에서 1시간 동안 배양하였다. 반응 혼합물을 제거하고 3회 세척 후 chromogenic substrate reagent 50 μ L를 첨가해서 앞의 과정과 동일한 방법으로 흔들어준 다음에 plate를 실온에서 20분 동안 배양하였다. 모든 well에 반응중지 시약 50 μ L를 첨가 후 상기와 같이 흔들어주었다. 30분 이내에 precision microplate reader(Molecular Devices Inc, New York, USA)에 의하여 각 well의 흡광도를 측정하였다. IgE 측정은 2회 반복으로 시행하였다.

2.6. 혈액 히스타민 측정

혈액 중의 histamine은 마우스용 histamine ELISA kit(ABL-America, Inc., Minneapolis, MN, USA)를 이용하여 아래와 같이 측정하였다. 혈청 100 μ L를 아실화튜브에 넣고 50 μ L의 아실화 완충용액을 넣어 반응시킨 후 18°C 에서 30분간 방치하였다. 아실화 처리된 혈장 50 μ L를 히스타민 항체가 붙어있는 96 well에 넣고 enzyme conjugate 200 μ L를 첨가한 후 4°C 에서 18시간 배양하였다. test well의 내용물을 흡인한 후 세척액으로 3차례 세척하고 chromogenic substrate reagent 200 μ L를 well에 넣어 20분간 어두운 상온에서 반응시켰다. reaction stopper 50 μ L를 이용하여 효소반응을 정지시킨 후 이용하여 반응시킨 다음 precision microplate reader(Molecular Devices Inc, New York, USA)에 의해서 450 nm에서 흡광도를 측정하여 히스타민 농도를 계산하였다. 히스타

민의 측정은 2회 반복으로 시행하였으며 표준 용액을 상기와 동일한 방법으로 진행한 후 시료의 흡광도를 비교하여 계산하였다.

2.7. 피부 조직세포의 관찰방법

마우스의 피부조직은 등 주변의 환부를 중심으로 $1.5 \times 1.5 \text{ cm}^2$ 넓이로 생검하여 10% 포름알데히드 용액에 고정한 후 조직염색 직전까지 4°C 에서 보관하였다. 시료를 4% glutaraldehyde 용액(0.1M cacodylate buffer, pH 7.4)으로 고정시킨 다음 dehydration, substitution, infiltration and embedding, polymerization, semi-thin sectioning 과정을 거친 후 에너지 여과 투과 전자현미경(EF-TEM, Leo 912AB, Carl Zeiss Inc., Germany)으로 촬영하였다. 피부조직은 피부의 전반적인 상태, 비만세포의 침윤과 탈과립화, 호산구의 침윤을 중심으로 관찰하였다.

2.8. 통계처리

분석된 자료의 통계처리는 SAS program을 이용하였으며 각 처리구의 평균과 표준오차를 구하고 분산분석을 실시한 다음 Duncan's multiple range test에 의하여 95%수준에서 유의성을 검증하였다[20].

3. 결과 및 고찰

3.1. 혈액 내 IgE 및 히스타민 농도 변화

혈액 IgE 농도는 실험용 크림 처리군이 DNCB 유도 아토피 대조군에 비해서 mL 당 32.53 ng이 감소한 것으로 측정되었으며 57.80%의 유의한 감소율($p < 0.05$)을 나타냈다. 혈액 히스타민 농도는 실험용 크림 처리군이 DNCB 유도 아토피 대조군에 비해서 mL 당 23.81 ng이 감소한 것으로 측정되었으며 59.41%의 유의한 감소율($p < 0.05$)을 나타냈다 (Table 1, Fig. 1). 이상의 결과는 아토피 피부염 생쥐에게 실험용 크림을 발라주면 혈액 IgE의 생성을 낮추고 히스타민의 분비가 억제됨으로써 아토피 피부염의 치료효과를 갖는다는 점을 시사해준다.

혈청에서 IgE 수준의 상승은 아토피성 피부염의 면역학적 지표로 알려져 있으며, 특히 IgE는 아토피 피부염 환자에게서 임상적 중증도와 비례하는 것으로 알려져 있다. IgE는 피부 비만

Table 1. Effects of Anti-atopic Preparations Containing a Herb Extracts Mixed with *Houttuynia Cordata* on Serum IgE and Histamine Level in DNCB-induced Atopic Dermatitis BALB/c mouse (ng/mL)

Item	Atopic control	Test cream
IgE	56.28±5.36*	23.75±2.48
Histamine	40.08±3.51*	16.27±4.12

Values are mean±SE (n=10). * $p < 0.05$.

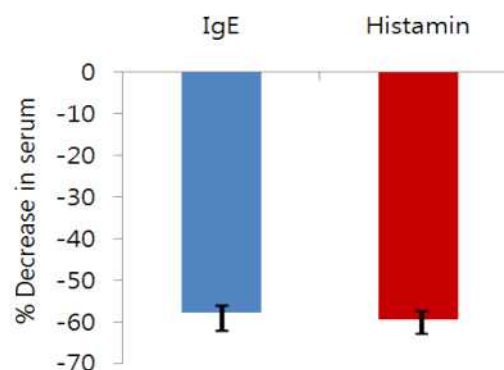


Fig. 1. % Decrease of serum IgE and histamine by cream containing a herb extracts mixed with *Houttuynia cordata* in DNCB-induced atopic dermatitis BALB/c mouse. Bars are mean±SE (n=10). * $p < 0.05$.

세포의 백혈구와 결합하여 히스타민을 생성, 침입된 항원과 반응하여 알레르기 반응을 일으키는 것으로 보고되었다[21-25]. 피부 알레르기 반응은 면역글로블린 IgE가 항원과 반응하여 방출하는 화학 전달물질 히스타민이나 T 림프구에 의한 각종 화합물에 의해 혈관의 확장, 모세혈관의 투과성 항진, 점액의 증가 및 점막의 부종과 염증을 유발시킨다[26-27]. 아토피 피부염에서 히스타민은 소양감의 주요한 원인으로 정상인과 비교 시 아토피 환자에서 히스타민은 증가되는 것으로 보고되었다. 피부는 외부환경과 체내의 경계를 이루면서 수많은 항원에 접촉할 기회를 갖는다. 아토피성 피부염이 발병하면 피부의 과민반응과 소양증에 대한 역치의

감소로 인해서 피부를 붉게 되고 붉은 자극과 염증반응은 피부의 각질 세포에서 사이토카인을 분비시켜 염증 반응을 심화시켜서 각질층의 변형을 유도하며 면역세포를 활성화시킨다. 면역세포의 활성화는 IgE 생성증가와 항체반응 증가를 유도하고 IgE 의존성 히스타민 유리체의 활성성을 증가시켜 히스타민 분비를 촉진시킨다. 히스타민 등은 호산구의 침윤을 유도하고 급성 과민반응과 소양감을 유발한다[28-29].

3.2. 육안관찰

Fig. 2는 DNCB 유도에 의해 제작된 아토피 피부염 마우스의 모습을 나타낸 것이다. 마우스를 제모 후(Fig. 2a) DNCB 용액을 도포하면 가피가 형성되면서(Fig. 2b) 가려움을 견디기 힘든 마우스가 심하게 긁고 가피가 떨어지면서 피부반점, 홍반, 피부건조, 태선화, 부종 및 출혈을 비롯한 다양한 아토피 피부염증이 진행되어 아토피 피부염증이 심각한 상태로 유발되었음을 알 수 있다(Fig. 2c). 심각한 아토피 피부염이 발현된 마우스는 실험용 크림 처리군과 비교할 때 홍반, 상처침식, 털 손실, 피부건조, 출혈 및 염증과 같은 피부손상이 나타났다. 이러한 상태의 마우스에 실험용 크림을 1일 2회씩 3일 동안 발라주면 환부의 피부염은 급격히 호전되었으며 6일 동안 발라주게 되면 거의 정

상적인 피부상태로 회복되었고 피부 표면의 각질이 없어진 깨끗하고 매끄러운 상태로 회복되었음을 관찰할 수 있다(Fig. 2d). 가려움증은 피부질환에서 가장 일반적인 증상의 하나로써 염증, 압, 대사성질환, 감염, 정신질환, 약물복용, 스트레스 및 기타 요인에 의해서 일어날 수 있으며 비만세포의 활성화는 사람의 아토피 피부염을 악화시킨다[30-32]. 아토피 피부염 생쥐에게 실험용 크림을 발라주었을 때 혈액 IgE의 감소 및 히스타민의 분비억제 효과가 나타났다는 사실은 이러한 점을 지지해 준다(Table 1).

3.3. 조직병리학적 소견

실험용 크림을 바른 후 피부표면을 관찰한 결과 정상군(Fig. 3a)과 비교할 때 DNCB에 의해서 유도된 아토피 피부염이 심각한 처리군(Fig. 3b)에서 표피층의 표면두께가 균일하고 표층이 부드럽게 형성되었으며 결합조직도 더욱 일정한 방향으로 형성되어 정상군과 비슷하게 회복되는 것을 확인하였다(Fig. 3c). 진피층의 경우 실험용 크림을 처리한 군에서는 DNCB에 의해서 유도된 아토피 피부염이 심각한 처리군에 비하여 모낭 및 피지선 등의 재형성이 활발하게 일어남을 볼 수 있다. 피부 상피조직의 재생과 각질층의 형성 및 기저층에서 망상층의 증식 및 부속기관의 형성은 뚜렷하게

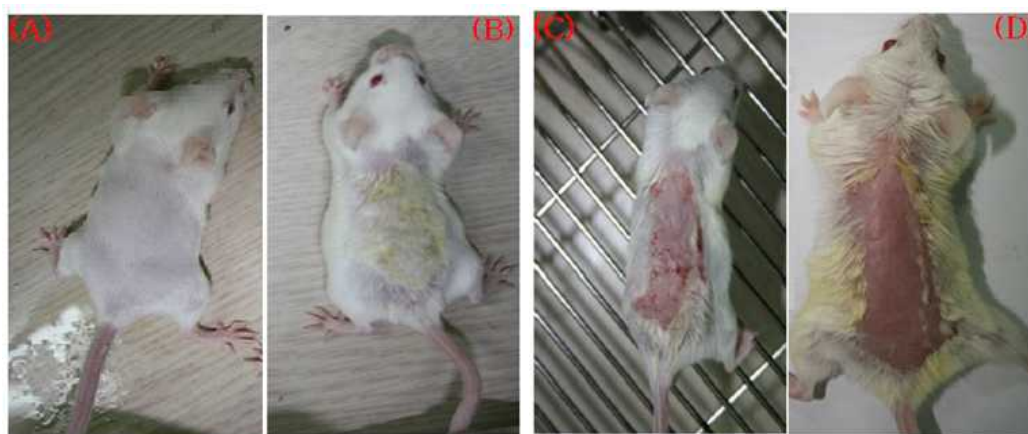


Fig. 2. The effects of cream containing a herb extracts mixed with *Houttuynia cordata* in DNCB-induced atopic dermatitis BALB/c mouse. A: hair removed, B: groups treated with DNCB for 7 days, C: atopic dermatitis groups treated with DNCB for 14 days, D: recovered groups after the application of cream from C for 6 days.

활성화되었으며, 조직 형성층이 두껍고 치밀할 뿐만 아니라 일정한 방향으로 균일하게 형성되었다. 실험용 크림 처리군에서는 피부표면이 깨끗하고 매끄러운 형태로 나타났으나, 조직학적으로 실험용 크림 처리군의 피부조직은 피부표면의 출혈과 표피의 비대화가 두드러져 아토피 피부염 마우스의 표피에 비해 상당히 두꺼워진 형태로 나타났다(Fig. 3c). 그러나 이와 반대로 아토피 피부염 마우스 군의 피부표면은 수많은 각질로 인해 매우 거친 상태였으며 국소적으로 부종이 확인되었다. 아토피 피부염 마우스의 표피 내에서는 기저층 세포의 소멸이 두드러지게 나타나며 임파구, 비만세포, 호중성 백혈구 및 호산성 백혈구와 같은 염증과 관련된 세포들이 표피와 진피층에서 관찰되었다(Fig. 3b). 그러나 실험용 크림을 도포한 처리군에서는 이러한 세포들이 거의 나타나지 않았으며 표피층의 두께도 점차 정상 대조군과 비슷한 두께로 회복되고 있음을 관찰하였다(Fig. 3c). 알레르기성 접촉피부염의 피부조직에서는 탈과립화가 일어나

는 비만세포와 호산구가 피부조직에 침윤하며 표피의 과각질화가 일어나게 된다[28,33-34]. 알레르기성 접촉 피부염이 유발되면 피부표면의 수분 증발이 증가되어서 항원의 침투가 용이해지므로 피부의 과민반응이 더욱 심화되어 세라마이드에 결합하는 매트릭스 구조단백질에 의해 형성되는 피부장벽을 약화시키므로 감염과 염증에 대한 감수성이 높아지게 되는 것으로 알려져 있다. 따라서 면역반응에 의한 피부염의 치료를 위해서는 자극을 일으키는 항원을 제거하는 것이 제일 좋은 방법이지만, 특이적 항원을 알 수 없는 경우도 많기 때문에 일반적으로 항생제와 국소적으로 스테로이드 제제를 사용하여 치료하는데 장기간 사용에 대한 안정성에 문제가 많은 것으로 보고되고 있다[32].

4. 결 론

DNCB 유도에 의한 BALB/c 아토피마우스에

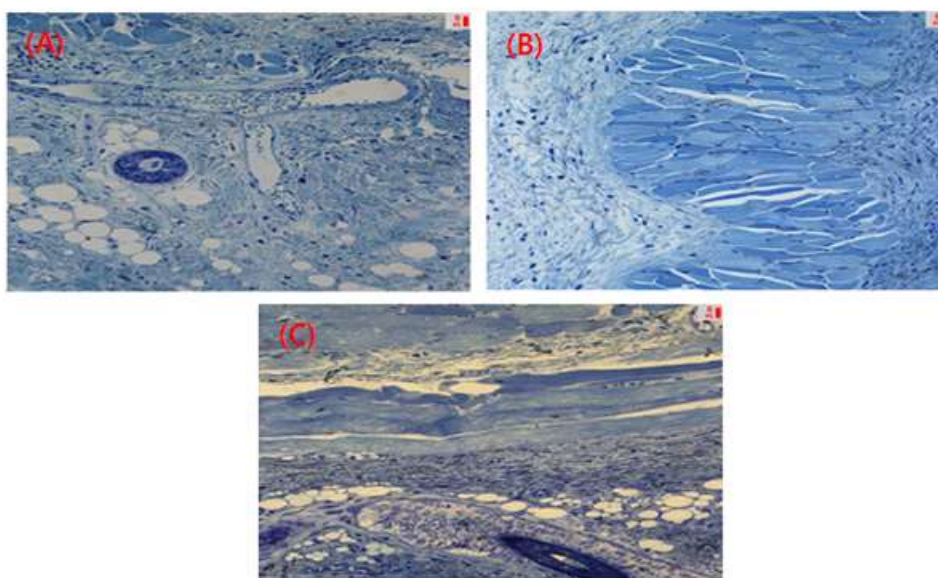


Fig. 3. The effects of cream containing a herb extracts mixed with *Houttuynia cordata* in DNCB-induced atopic dermatitis BALB/c mouse by microscopic comparison. A: control groups, B: atopic dermatitis groups treated with DNCB for 14 days, C: recovered groups after the application of cream from B for 6 days.

서 어성초 혼합 한방추출물을 이용하여 제조한 크립의 항아토피 피부염증에 대한 효능을 평가한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 혈액 IgE와 히스타민 농도는 크립 처리군이 DNCB 유도 아토피 대조군에 비해서 각각 57.80%, 59.41%의 유의한 감소율을 나타냈다.
2. 아토피 피부염이 심각한 상태의 마우스에게 크립을 발라주었을 때 정상적인 피부상태로 회복되었고 피부 표면의 각질이 없어진 깨끗하고 매끄러운 상태로 회복되었음을 관찰할 수 있었다.
3. 크립을 바른 마우스는 아토피 피부염이 심각한 처리군에 비해서 표피층의 표면두께가 균일하고 표층이 부드럽게 형성되었으며 결합조직도 더욱 일정한 방향으로 형성되어 정상군과 비슷하게 회복되는 것을 확인하였다.
4. 본 결과는 아토피 마우스에게 어성초 혼합 한방추출물의 처리가 혈액 IgE를 낮춤과 동시에 비만세포에서 생성되는 히스타민의 배출량을 억제함으로써 항아토피 효능을 갖는다는 점을 시사해준다.

감사의 글

본 연구에 도움을 (주)NJY 생명과학 및 강원대학교 동물자원 공동연구소에 감사드립니다.

참고문헌

1. NHNS, National Health and Nutrition Survey Results, National Institutes of Health, Korea. (2009).
2. V. Jiang, Y. N. F. Kuhara, P. Fan, R. Ueki, H. Suto, Y. Kase, S. Ikeda, and H. Ogawa, Oral Administration of Yokukansan Inhibits the Development of Atopic Dermatitis-like Lesions in Isolated NC/Nga Mice, *J. Dermatol. Sci*, **56**, 37 (2009).
3. C. S Koblenzer, Itching and the Atopic Skin, *J. Allergy Clin. Immun*, **104**, S109 (1999).
4. K. Mihara, K. Kuratani, T. Matusui, and K. Yokota, Vital Role of the Itch-scratch Response in Development of Spontaneous Dermatitis in NC/Nga Mice, *Brit. J. Dermatol*, **151**, 335 (2004).
5. J. W Yun, H. Kim, H. J. Kang, J. Y. Koh, and B. H. Kim, Comparative Evaluation of Animal Models for Atopic Dermatitis in NC/Nga Mice, *Lab. Anim. Res*, **24**, 59 (2008).
6. M. J Choi, H. K. Jung, Y. S. Jeong, S. C. Park, and J. H. Hong, Anti-allergic Activities of Fermented *Eriobotrya Japonica* and *Saurus Chinensis* Extracts in 2,4-dinitrochlorobezene-induced BALB/c Mice, *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr*, **39**, 1611 (2010).
7. K. S Kim, M. J. Ahn, G. S. Kim, S. C. Park, M. H. Rhee, B. H. Kim, Y. L. Nah, H. H. Kim, and S. H. Han, Effects of *Opuntia humifusa* extract on DNCB-induced allergic contact dermatitis in BALB/c mice, *Lab. Anim. Res*, **23**, 169 (2007).
8. Y. H. Kim, and Y. S. Park, Effect of *Scutellaria Baicalensis* Water Extract on Antioxidative Activity and Epidermal Thickness in DNCB-induced Allergic Contact Dermatitis Animal Model, *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr*, **35**, 543 (2006).
9. T. K Kwon, K. B. Lim, and J. C. Kim, The Effect of Antiatopic Cosmetic in Hairless Mice, *Appl. Chem. Eng*, **22**, 91 (2011).
10. I. H., Lee, S. H Lee, I. S. Lee, Y. K. Park, D. K. Chung, and R. W. Choue, Effects of Probiotic Extracts of Kimchi on Immune Function in NC/Nga Mice, *Kor. J. Food Sci. Tech*, **40**, 82 (2008).
11. M. Y. Shon and S. H. Nam, Effect of *Eucommia Ulmoides* Extracts on Allergic Contact Dermatitis and Oxidative Damage Induced by Repeat Elicitation of DNCB, *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr*, **36**, 1517 (2007).

12. F. Ferreres, D. Gomes, P. Valentao, R. Goncalves, R. Pio, E. A. Chagas, R. M. Seabra, and P. B. Andrade, Improved Loquat (*Eriobotrya Japonica* Lindl) Cultivars: Variation of Phenolics and Antioxidative Potential, *Food Chem*, **114**, 1019 (2009).
13. Y. S. Jeong, K. S. Youn, M. O. Kim, and J. H. Hong, Physiological Activities of the Hot Water Extract from *Eriobotrya Japonica* Lindl, *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr*, **38**, 977 (2009).
14. M. K. Jung and D. H. Cho, Tannic Acid and Quercetin Display a Therapeutic Effect on Atopic Dermatitis via Suppression of Angiogenesis and The Polarization, *J. Immunology*, 184(Meeting Abstract Supplement), 97 (2010).
15. S. K. Kim, S. Y. Ban, J. S. Kim, S. K, and S. K. Chung, Change of Antioxidant Activity and Antioxidant Compounds in *Saururus Chinensis* by Extraction Conditions, *J. Kor. Soc. Appl. Biol. Chem*, **48**, 89 (2005).
16. S. H. Kwon and H. J. Shin, Isolation and Purification of β -asarone Methanol Extracts from *Acorus calmus* and *Acorus gramineus* Using High Performance Countercurrent Chromatography, *J. Adv. Engin. Tech*, **2**, 207 (2009).
17. B. K. Ro, M. K. Shin, and H. J. So, Studies on the Antiallergic Reactions of the Herba *Houttuyniae* Extract, *Kor. J. Herbology*, **13**, 171 (1998).
18. American Institution of Nutrition, AIN Report of the AIN Ad Hoc Committee on Standards for Nutritional Studies, *J. Nutr*, **107**, 1340 (1977).
19. H. Suto, Matsuda and H. Mitsuisha, NC/Nga Mice: a Mouse Model for Atopic Dematitis, *Int. Arch. Allergy Immunol*, **120**, 70 (1999).
20. SAS, SAS User's Guide: Statistics, Version 6.12 Ed. SAS Institute Inc., Cary, NC (2000).
21. M. Ban and D. Hetich, Relationship between IgE Positive Cell Numbers and Serum Total IgE Levels in Mice Treated with Trimellitic Anhydride and Dinitrochlorobenzene, *Toxicol. Lett*, **118**, 129 (2001).
22. J. Latvala, J. Hietala, H. Koivisto, P. Anttila, and O. Niemela, Immune Response to Ethanol Metabolites and Cytokine Profiles Differential Alcoholics with or without Liver Disease, *Am. J. Gastroenterol*, **100**, 1303 (2005).
23. H. Matsuda, H., N. Watanabe, G. P. Geba, J. Sperl, M. Tsudzuki, J. Hiroi, M. Matsumoto, H. Ushio, S. Saito, P. W. Askenase, and C. Ra, Development of Atopic Dermatitis-like Skin Lesion with IgE Hyperproduction in NC/Nga Mice, *Int. Immunol*, **9**, 461 (1997).
24. D. D. Metcalfe, M. Kaliner, and M. A. Donlon, The Mast Cell, *Crit. Rev. Immunol*, **3**, 23 (1981).
25. H. C. Sung, W. J. Lee, S. J. Lee, and D. W. Kim, A Study on the Relationship of Allergy Related Laboratory Findings with the Clinical Severity of Atopic Dermatitis, *Kor. J. Dermatol*, **44**, 1051 (2006).
26. M. L. Church and F. Levi-Schaffer, The Human Mast Cell, *J. Allergy. Clin. Immunol*, **99**, 155 (1997).
27. K. Ishizaka, Regulation of IgE Synthesis, *Ann. Rev. Immunol*, **2**, 159 (1984).
28. I. K. Budde, D. Heer, S. Natter, V. Mahler, J. S. Zee, R. Valenta, and R. C. Alberse, Studies on the Association between Immunoglobulin E Autoreactivity and Immunoglobulin E-dependent Histamin-releasing Factor, *Immunology*, **107**, 243 (2002).
29. M. Ennis, F. L. Pearce, and P.M. Weston, Some Studies on the Release of Histamine from Mast Cells Stimulated with Polylysine, *Br. J. Pharmacol*, **70**, 329 (1980).
30. I. J. Elenkov, Neuroharmomal-cytokine Interactions: Implications for

- Inflammation, Common Human Diseases and Well-being, *Neurochem. Int.*, **52**, 40 (2008).
31. R. Paus, M. Schmelz, T. Biro, and M. Steinhoff, Frontiers in Pruritus Research: Scratching the Brain for More Effective Itch Therapy, *J. Clin. Invest.*, **116**, 1174 (2006).
32. S. Stander, M. Steinhoff, M. Schmelz, E. Weisshaar, D. Metzger, and T. Luger, Neurophysiology of Pruritus: Cutaneous Elicitation of Itch, *Arch. Dermatol.*, **139**, 1463 (2003).
33. P. G. Sator, J. B. Schmitt, and H. Honigsmann, Comparison of Epidermal Hydration and Skin Surface Lipids in Healthy Individuals and in Patients with Atopic Dermatitis, *J. Am. Acad. Dermatol.*, **48**, 352 (2003).
34. C. Vestergaard, H. Yoneyama, M. Murai, K. Nakamura, K. Tamaki, Y. Terashima, T. Imai, O. Yoshie, T. Irimura, H. Mizutani, and K. Matsushima, Overproduction of Th2-specific Chemokines in NC/Nga Mice Exhibiting Atopic Dermatitis like Lesions, *J. Clin. Invest.*, **104**, 1097 (1999).