

참치심장 에탄올 추출물의 항아토피 효과

강보경¹ · 김꽃봉우리² · 김민지² · 박시우¹ · 박원민¹ · 김보람¹ · 안나경¹
최연욱¹ · 배난영¹ · 박지혜¹ · 안동현¹

¹부경대학교 식품공학과/식품연구소

²부경대학교 수산과학연구소

Anti-Atopic Activity of Tuna Heart Ethanol Extract

Bo-Kyeong Kang¹, Koth-Bong-Woo-Ri Kim², Min-Ji Kim², Si-Woo Park¹, Won-Min Pak¹,
Bo-Ram Kim¹, Na-Kyung Ahn¹, Yeon-Uk Choi¹, Nan-Young Bae¹,
Ji-Hye Park¹, and Dong-Hyun Ahn¹

¹Department of Food Science & Technology/Institute of Food Science and

²Institute of Fisheries Sciences, Pukyong National University

ABSTRACT Atopic dermatitis (AD) is a form of allergic skin inflammatory characterized by late eczematous skin lesions. The incidence of AD is increasing, and it causes problems with administrative costs. Therefore, development of an AD treatment with no side effects is needed. The purpose of this study was to evaluate tuna heart ethanol extract (THEE), a functional extract from by-product of tuna. AD was induced by spreading 2,4-dinitrochlorobenzene (DNCB) on the backside of BALB/c mice. The effect of THEE was tested by measuring skin clinical severity score, secretion of cytokines and IgE, and proliferation. Secretion of TNF- α , IL-4, IL-5, IL-13, and IgE significantly decreased in a THEE-independent manner. In contrast, levels of IL-10 and IFN- γ significantly increased in mice sera and splenocytes. In addition, THEE alleviated AD symptoms compared to the DNCB only group. In conclusion, these results demonstrate that THEE has an inhibitory effect on AD and may be a useful substance for the development of cosmeceuticals.

Key words: tuna heart ethanol extract, atopic dermatitis, IgE, skin severity score

서 론

아토피 피부염은 주로 영유아기에 시작하는 대표적인 난치성 질환으로 일반적으로 피부 건조, 가려움, 염증을 동반한 아토피성 습진을 말한다(1). 아토피 피부염이 유발하는 원인은 정확히 밝혀져 있지는 않으나 유전, 알레르기, 피부 장벽의 이상, 대기오염, 모유 수유 감소, 스트레스 등 다양한 발병 원인이 복합적으로 작용하여 발생하는 것으로 알려져 있다(2,3). 알레르기 원인물질이 외부로부터 체내에 들어오면 Th1과 Th2 cytokine 사이의 균형이 깨지게 되고, 과잉 생산된 Th2 cytokine으로부터 B cell이 자극되어 IgE가 생성된다. 증가된 IgE는 피부의 비만세포(mast cell)로 이동하고 백혈구 세포인 호염구와 결합하게 되는데 반복적으로 동일한 알레르겐에 노출될 경우 비만세포 내에 저장되어 있는 히스타민, 류코트리엔 등의 화합물질의 탈과립 현상이 일어

난다. 이러한 탈과립 물질들이 원인이 되어 알레르기 증상이 나타나게 되고 피부에 붉은 반점과 부종 또는 가려움증을 동반한 아토피 피부염을 유발하거나 악화시킨다(4).

현재 아토피 피부염을 치료하기 위해 사용되고 있는 피부염 치료제들은 대부분 외용제 중심의 증상 완화제로 국소적인 피부염 치료에 사용하고 있다. 하지만 항히스타민 처리는 아토피 피부염 환자의 가려움증을 증가시키며, 스테로이드의 적용은 독성으로 인한 잦은 부작용으로 장기적인 치료 및 아토피의 근본적인 치료에 부적합하다(5). 특히 빈번하게 아토피 피부염에 노출되어 있는 소아나 유아에 있어서는 안전성을 보장하는 치료제가 없는 실정이다(6). 따라서 안전하고 효과적인 새로운 아토피 치료법이 요구되며 아토피 피부염에 대한 개선 효능이 있는 물질을 천연물로부터 찾고자 하는 연구가 활발하다(7).

참치(*Katsuwonus pelamis*)는 고단백 식품으로 영양적으로 우수할 뿐만 아니라 혈중 콜레스테롤 농도를 감소시켜 동맥 경화를 예방하고 항암작용이 있다고 보고되어 있다(8,9). 또한 ω -3계 고도불포화지방산인 eicosapentaenoic acid(EPA)와 docosahexaenoic acid(DHA)의 항암효과가 있다는 보고와 함께 참치에 다량 함유되어 있는 DHA의 항

Received 3 November 2014; Accepted 30 December 2014

Corresponding author: Dong-Hyun Ahn, Department of Food Science & Technology/Institute of Food Science, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

E-mail: dhahn@pknu.ac.kr, Phone: +82-51-629-5831

암효과 및 기능성 연구가 국내외에서 활발히 추진되고 있다(10). 어획된 참치는 주로 통조림 제조에 이용되며 간편성과 고기능성 식품을 추구하는 현대인들의 사회적 시각 변화로 인해 참치를 이용한 수산가공품의 수요가 늘어나고 있다. 하지만 참치와 같은 수산물의 가공과정에서는 전체 원료의 30~35% 정도의 부산물들이 발생되고 있으며, 일부만이 저가의 조미료나 식품 중간 소재로 이용되고 대부분 사료로 이용되거나 폐기물로 처리되고 있는 실정이다(11). 참치 부산물에는 심장, 어피살, 어피, 꼬리, 혈함육, 복육, 내장 등이 있으며, 참치 부산물의 기능성에 관한 연구는 참치 지느러미 추출물의 암세포 독성 및 quinone reductase 활성 증가 효과(12), 참치 정소 핵산복합물질이 면역 활성화에 미치는 영향(13) 등 일부만이 보고가 되고 있어 다른 부산물에 대한 면역생리활성을 알아본 연구는 미미한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 참치 부산물의 하나인 참치심장을 에탄올로 추출하여 아토피 억제 효과를 밝히고 기능성 소재로서의 이용 가능성을 제시하고자 하였다.

재료 및 방법

참치심장 에탄올 추출물 제조

참치심장 분말은 (주)동원 F&B(Seongnam, Korea)에서 제공받았으며, 참치심장 분말에 10배량의 95% 에탄올을 가하고 교반기(H-0820, Dongwon Science Co., Busan, Korea)를 이용하여 24시간 추출하였다. 원심분리기(UNION 32R, Hanil Co., Incheon, Korea)를 이용하여 3,000 rpm에서 10분간 원심분리 한 후 상층액을 취하였고, 남은 잔사를 이와 동일한 방법으로 2회 반복하여 추출하였다. 추출한 상층액은 37°C에서 감압농축기(RE200, Yamato Co., Tokyo, Japan)로 농축하여 사용하였다.

실험동물

생후 4주령의 수컷 BALB/c 마우스를 사용하였다. 마우스는 오리엔트바이오(Seongnam, Korea)로부터 구입하여 온도 20±2°C, 습도 50±10%, 12시간 명암주기가 유지되는 동물실에서 1주간 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 동물실험은 부경대학교 동물실험 윤리위원회의 승인을 받아 시행되었으며, 부경대학교 동물실험 윤리지침을 준수하였다.

아토피 피부염 유발 및 시료처리

Ahn 등(14)의 방법을 약간 변형하여 다음과 같이 아토피 피부염을 유발하였다. 생후 4주령의 수컷 BALB/c 마우스의 등 부위를 깨끗하게 제모한 후, 미세상처가 치유되도록 24시간 방치하였다. 24시간 후 아세트산과 올리브오일을 3:1로 혼합하여 제조한 1% DNCB(2,4-dinitrochlorobenzene, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) 200 µL를 일주일 동안 세 번 마우스의 귀 뒤쪽과 등 부위에 도포하고, 일주일 후부터는 0.3% DNCB 200 µL를 하루에 한 번 동일한 부위

에 고르게 도포하였다. 시료는 30 mg/mL의 농도로 0.3% DNCB 용액과 12시간 간격으로 하루에 한 번, 200 µL씩 2주 동안 마우스의 귀 뒤쪽과 등 부위에 고르게 도포하였다.

비장 세포 분리 및 배양

아토피 피부염을 유발시킨 생후 4주령의 수컷 BALB/c 마우스를 diethyl ether로 마취하여 희생시킨 후, 비장을 무균적으로 적출하였다(15). 적출한 비장은 RPMI 배지(RPMI Medium 1640, Gibco, Grand Island, NY, USA)로 세척한 후, tissue grinder로 균질화하여 세포를 유리시켰다. 세포 현탁액을 1,800 rpm, 4°C에서 5분간 원심분리 한 후, RBC (red blood cells, Tris-buffered ammonium chloride; 0.87% NH₄Cl, pH 7.2) lysis buffer에 10분간 정치시켜 적혈구를 제거하였다. 그 후 10% FBS(fetal bovine serum)-RPMI 배지를 첨가하여 2×10⁶ cells/mL 농도로 희석된 비장 세포 현탁액을 37°C, CO₂ incubator(MCO-15 AC, Sanyo, Osaka, Japan)에서 72시간 배양하였다.

비장 세포의 증식능 측정

비장 세포 현탁액을 2×10⁶ cells/mL 농도로 96 well-plate에 분주한 후 37°C, CO₂ incubator에서 70시간 배양하였다. 배양 후 5 mg/mL MTT(thiazol blue tetrazolium bromide, Sigma Chemical Co.) 용액을 첨가하고 2시간 재배양하여 formazan crystal 형성을 유도하였다. 이를 2,000 rpm, 4°C에서 10분간 원심분리 한 후 상층액을 제거하고 DMSO(dimethyl sulfoxide, Sigma Chemical Co.)를 첨가하고 micro-plate reader(model 550, Bio-Rad, Richmond, VA, USA)를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 비장 세포 증식능은 다음 식에 의해 계산하였다.

$$\text{Proliferation index (\%)} = \frac{\text{Sample의 흡광도}}{\text{Control의 흡광도}} \times 100$$

Cytokine 분비량 및 total IgE 함량 측정

비장 세포로부터 생성되는 IFN- γ , IL-4, IL-5 및 마우스 혈청 내 total IgE, TNF- α , IL-4, IL-10 cytokine은 BD Bioscience(San Diego, CA, USA)에서 구매한 ELISA-kit를 이용하고, IL-13 cytokine의 분비량은 R&D Systems(Minneapolis, MN, USA)에서 구매한 ELISA kit를 이용하였다. 각각 BD Bioscience와 R&D Systems가 제공하는 방법에 준하여 측정하고 정량하였다.

혈액 채취

실험 종료일에 마우스를 diethyl ether로 마취시키고 대동맥으로부터 disposable syringe(Sungshim Medical Co., Ltd., Bucheon, Korea)를 이용해서 혈액을 대략 1.0 mL 채취하였다. 혈액은 10,000 rpm, 4°C에서 5분간 원심분리하여 혈청을 분리하였다. 분리한 혈청은 실험에 사용하기 전까지 -20°C에서 보관하며 실험에 사용하였다.

Skin clinical severity score

시험 물질 도포 후 0, 7, 14일이 되는 시점에 실시하였다. 본 평가 방법은 아토피성 피부염에서 일반적으로 사용되는 임상적 육안 평가 방법으로써 아토피성 피부염의 심각성 정도를 다음의 5가지 항목을 각각 평가한 점수의 총합으로 나타내었다. 평가 항목은 홍반(erythema), 가려움과 건조피부(pruritus & dry skin), 부종과 혈종(edema & excoriation), 깃무름(erosion) 및 태선화(lichenification)로 나누었고 각각의 항목을 없음(0), 약함(1), 보통(2), 심함(3)으로 채점한 후 합산함으로써 최소 0점에서 최고 15점 사이의 점수를 부여하였다(16).

통계 처리

모든 실험에 대한 통계 처리는 SAS program(Statistical Analytical System V8.2, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)을 이용하여 one way ANOVA법으로 분산 분석을 실시하였으며, 조사 항목들 간의 유의성 검정은 Duncan의 다중 검정법으로 $P < 0.05$ 수준에서 실시하였다.

결과 및 고찰

비장 세포의 증식능 측정

DNCB로 아토피 피부염을 유발한 마우스에 참치심장 에탄올 추출물(THEE)을 2주간 도포한 후 비장 세포를 분리 및 배양하여 MTT assay를 실시하였다. 그 결과(Fig. 1) DNCB로 아토피를 유발한 경우 비장 세포의 증식능이 확연히 증가한 반면, THEE 처리군의 경우 negative control (NC) 대조군과 유사한 수준까지 감소함을 보였다. 따라서 본 연구에 사용된 THEE의 도포는 DNCB에 의해 자극된 비장 세포의 증식을 억제시키며 비장 세포의 증식능에 있어 세포독성을 보이지 않는 것을 확인하고 다음 실험을 진행하였다.

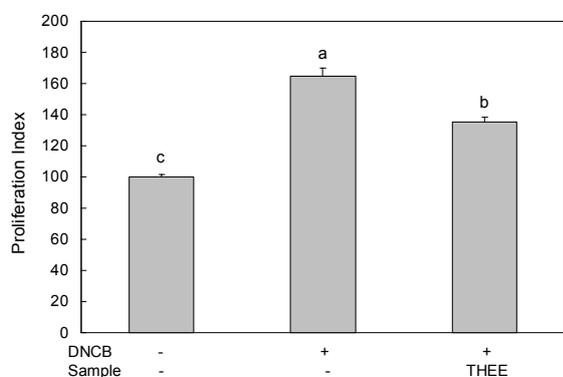


Fig. 1. Effect of tuna heart ethanol extract (THEE) on the proliferation of mice splenocytes. Proliferation index=(Sample O.D/Control O.D)×100. Values are mean±SD. Means with different letters (a-c) above the bars are significantly different ($P < 0.05$). DNCB: 2,4-dinitrochlorobenzene.

비장 세포 배양액의 cytokine 분비량 측정

본 연구에서 아토피를 유발한 마우스 비장 세포의 IFN- γ 분비량(Fig. 2A)은 35.83 ± 1.94 pg/mL로 NC 대조군 (100.26 ± 4.14 pg/mL)과 비교하여 현저히 낮은 값을 나타냈으며, THEE 처리군의 경우 그 분비량이 74.90 ± 0.97 pg/mL로 DNCB 단독 처리군보다 증가함을 보였다. Munoz 등(17)에 따르면 IFN- γ 는 Th1 세포에서 생산되는 cytokine으로써 macrophage의 활성을 강력히 유도하고 natural killer cell의 활성을 증가시켜 암의 감시 및 감염에 대한 세포성 면역 효과를 증진시키며, Th2 세포의 증식을 억제하여 IL-4의 생산을 저해함으로써 알레르기에 대한 보호 효과를 갖는다고 보고되어 있다. 따라서 비장 세포의 IFN- γ 생산을 촉진시킴으로써 Th1 세포의 기능을 활성화시켜 세포성 면역을 증진시킬 것으로 사료된다. 또한 Th2 cytokine인 IL-4, IL-5 및 IL-13의 분비량을 측정된 결과 DNCB 단독 처리군에 비해 THEE 처리군에서 각 cytokine 분비량 생성이 유의적으로 억제됨을 확인할 수 있었다(Fig. 2B, 2C, 2D). 특히 IL-4 cytokine의 경우 THEE 처리군이 26.03 ± 6.38 pg/mL로 DNCB 단독 처리군이 64.91 ± 3.63 pg/mL인 것에 비해 59% 감소한 수치를 보였다. 아토피 반응은 항원에 의해 Th1과 Th2 cytokine 사이의 균형이 깨지게 되면 과잉 생산된 Th2 cytokine이 B cell을 자극하게 되고 이로 인해 혈청 내 IgE의 분비량을 증가시킴으로써 발생된다(18). 따라서 DNCB로 아토피 피부염을 유발한 동물 모델에 THEE를 도포함으로써 Th1 세포와 Th2 세포의 각기 특징적인 cytokine의 분비량을 조절하는 효과를 확인하였다.

혈청 내 total IgE 함량 측정

THEE의 항아토피 효과를 평가하기 위해 아토피 피부염의 면역학적 지표로 알려진 혈청 내 IgE 함량을 확인하였다(18). 그 결과 DNCB 단독 처리군의 혈청 중 총 IgE 함량이 362.45 ± 7.02 pg/mL인 것에 비해 THEE 처리군에서는 166.52 ± 22.90 pg/mL의 IgE 농도를 나타내어 THEE 도포에 의해 혈청 중 IgE의 생성이 유의적으로 억제된 것을 확인하였다(Fig. 3A). 일반적으로 아토피 피부염 발생 시 알레르기 유발 물질을 가장 먼저 인지하는 것은 피부에 존재하는 IgE이며, 아토피 피부염 환자의 급성 질환에서 Th1 cytokine인 IFN- γ 가 감소했고 이는 IgE 과생산과 Th2 면역 반응을 유도한다(19). 그러므로 아토피 피부염 완화를 위해서는 혈청 내 IgE 함량을 조절할 수 있어야 한다. 따라서 본 연구에서 보인 혈청 내 total IgE 함량의 유의적 감소는 아토피 피부염 완화 및 치료제로서 긍정적인 효과를 가질 것으로 사료된다.

혈청 내 cytokine 분비량 측정

아토피 피부염을 유발한 마우스의 혈청 내 cytokine 분비량에 미치는 THEE의 효과를 측정하였다. 아토피 피부염의 대표적인 임상적 특징 중 하나는 염증반응이며, 아토피 피부

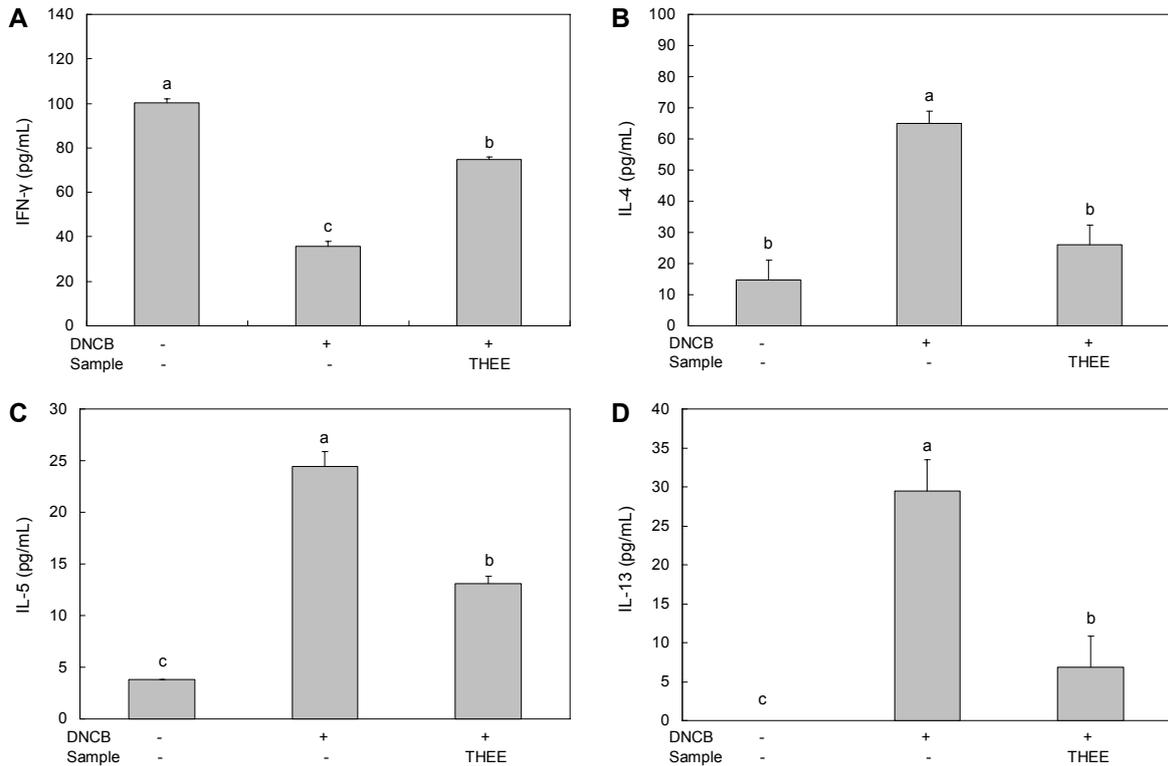


Fig. 2. Effects of tuna heart ethanol extract (THEE) on the production of IFN- γ (A), IL-4 (B), IL-5 (C), and IL-13 (D) in mice splenocytes. Values are mean \pm SD. Means with different letters (a-c) above the bars are significantly different ($P < 0.05$).

염이 심화되면 Th1 cytokine의 증가와 동시에 염증반응을 더욱 악화시킨다고 알려져 있다(20). 비만세포(mast cell)는 염증질환 매개 물질을 생성하는 주요 세포 중 하나이며, 활성화된 비만세포에서는 세포질 과립에 저장된 매개물질들과 많은 cytokine(TNF- α , IL-4, IL-13 등)을 분비하여 여러 면역반응과 염증반응에 관여하게 되는데 이러한 사이토카인들의 분비 조절은 아토피 피부염 질환을 치료할 수 있는 원인적 방법이 된다(21). TNF- α 는 Th1 세포에서 생성되는 종양괴사인자로 그람음성세균과 그 외의 감염균에 의한 급성염증반응의 주된 매개자로 알려져 있다(22). 실험 결과 혈청 내 TNF- α 분비량이 DNCB 단독 처리군에서 224.12 ± 50.23 pg/mL인 것에 비해 THEE 처리군에서는 29.84 ± 13.86 pg/mL로 현저히 감소함을 확인하였다(Fig. 3B). 또한 혈청 내 IL-4 cytokine의 경우 DNCB 단독 처리군에서 124.71 ± 11.48 pg/mL의 분비량을 보였으며 THEE 처리군에서 58.02 ± 16.25 pg/mL로 약 53%의 분비량 감소를 보였다(Fig. 3C). Th2 림프구에서 분비되는 IL-10의 경우 THEE 처리 후 분비량이 0.08 ± 8.66 pg/mL로 DNCB 단독 처리군(0.0317 ± 0.02 pg/mL)보다 증가함을 보였다(Fig. 3D). IL-10은 항염증 효과를 갖는 대표적인 cytokine으로 주로 단핵구와 림프구에서 분비되어 TNF- α 와 같은 염증성 cytokine의 분비 및 활성 정도를 감소시키는 역할을 한다(23). 따라서 혈청 내 IL-4 분비량 및 TNF- α 분비량 감소와 IL-10 분비량 증가는 아토피 피부염 반응을 호전시키는 데

효과적일 것으로 생각된다.

Skin clinical severity score

THEE의 아토피 피부염에 대한 회복 정도를 조사하기 위하여 NC 대조군과 DNCB 단독 처리군 및 DNCB로 유발 후에 THEE를 도포한 처리군으로 나누어 mice의 등 부위를 관찰하여 아토피 피부염의 형태학적 변화를 확인하였다(Fig. 4A). 또한 아토피 피부염의 임상적 육안 평가법에 따라 홍반, 가려움과 건조피부, 부종과 혈종, 짓무름, 태선화와 같은 5가지 항목을 각각 평가한 점수의 총합을 나타내었다(Fig. 4B). THEE 처리 1주 후 DNCB 단독 처리군은 등 부위에 피부 반점, 홍반, 피부 건조, 부종 및 출혈 등이 심하게 나타났으나 THEE를 1주간 지속적으로 도포한 경우 환부의 피부염이 어느 정도 회복되는 양상을 볼 수 있었으며, 2주간 지속적으로 도포했을 경우에는 거의 정상 피부 상태로 회복되는 것을 확인하였다. 또한 severity score 그래프도 육안 평가 결과와 같은 양상으로 나타났다. DNCB 단독 처리군과 비교 시 유의적인 차이는 없었으나 2주째까지 THEE를 지속적으로 도포하였을 경우에는 DNCB 단독 처리군과 비교하여 score가 현저히 감소한 것을 확인할 수 있었다. 아토피 피부염 증상으로 손상된 피부 장벽을 통해 여러 자극 물질들이 피부 내로 침투할 경우 더 심각한 소양증 및 염증반응을 유발하게 된다(24). 따라서 THEE를 피부에 도포함으로써 아토피 피부염을 효과적으로 완화시킬 것으로 사료된다.

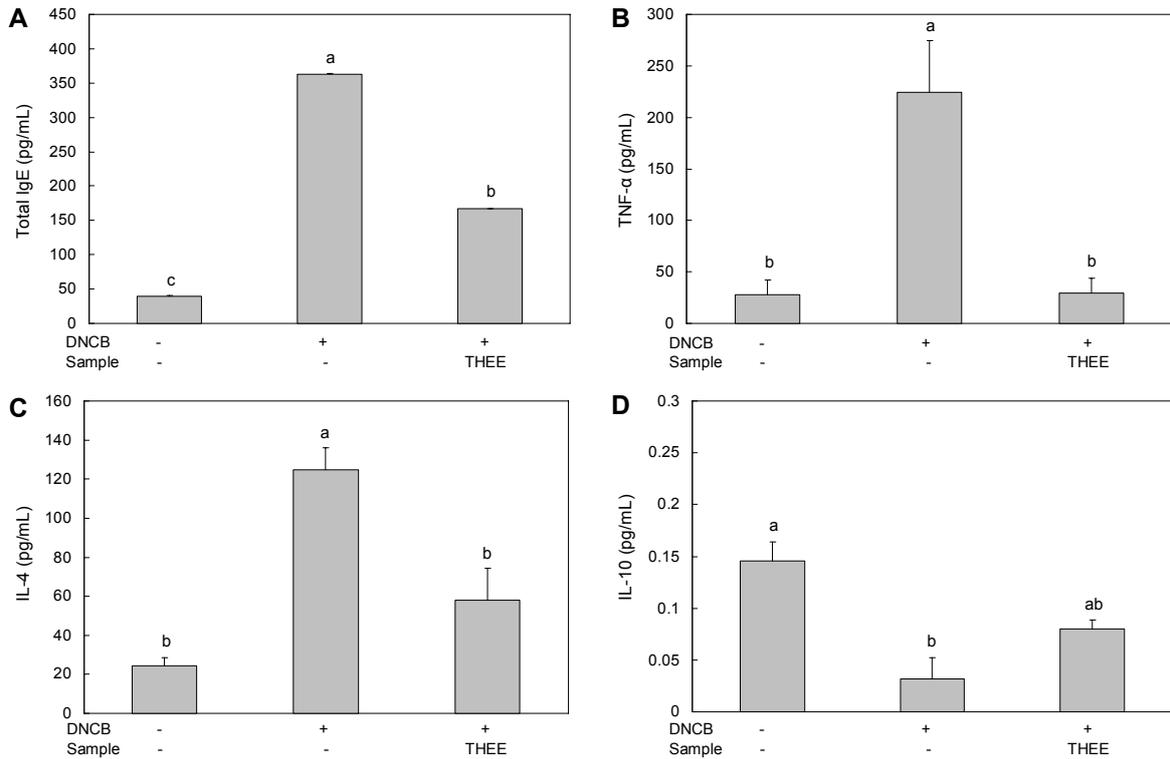


Fig. 3. Effects of tuna heart ethanol extract (THEE) on the production of total IgE (A), TNF- α (B), IL-4 (C), and IL-10 (D) in mice sera. Values are mean \pm SD. Means with different letters (a-c) above the bars are significantly different ($P < 0.05$).

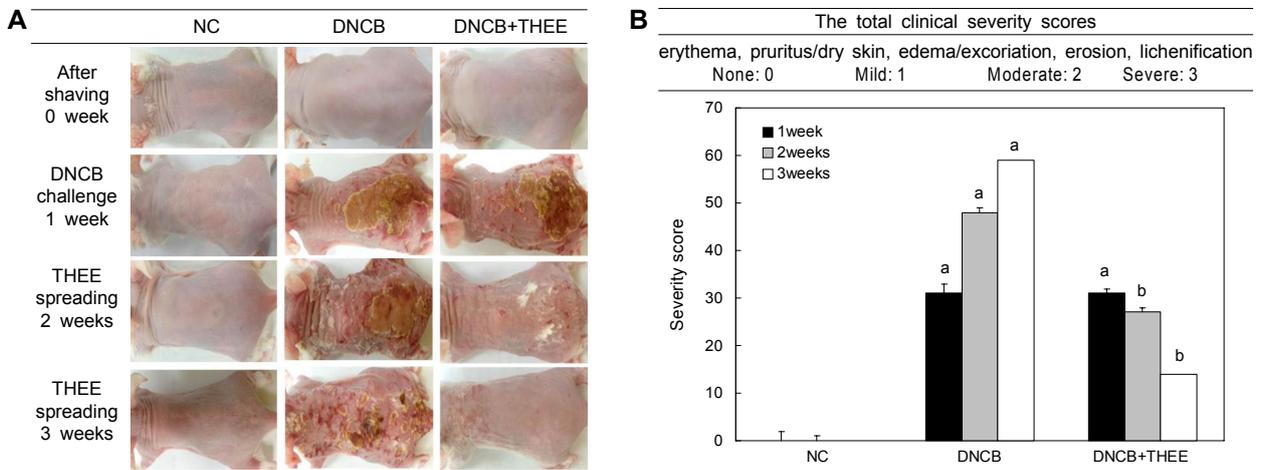


Fig. 4. Effects of tuna heart ethanol extract (THEE) on clinical skin features (A) and the total clinical severity scores (B) of DNCB-applied BALB/c mice. Negative control (NC, n=5): untreated. Values are mean \pm SD. Means with different letters (a,b) above the bars are significantly different ($P < 0.05$).

요 약

본 연구는 DNCB(2,4-dinitrochlorobenzene) 도포를 통해 아토피 피부염을 유발시킨 BALB/c mice에 참치심장 에탄올 추출물(THEE)을 2주 동안 지속적으로 처리하여 THEE의 아토피 피부염 완화 효과에 대해 연구하였다. 이를 위해 Th1 및 Th2 cytokines의 분비량, 비장 세포 증식능, 혈청 중 총 IgE 함량, 육안 평가 및 skin clinical severity score

를 실시하였다. 그 결과 THEE를 지속적으로 도포함으로써 혈청 내 총 IgE의 분비량이 현저히 감소함을 나타내었다. Th1 세포로부터 생성되는 IFN- γ cytokine은 증가하고 염증증대성 cytokine인 TNF- α 의 분비량은 감소함을 확인하였다. 또한 Th2 cytokine에 속하는 IL-4, IL-5, IL-13 분비량은 감소하였으며 항염증성 cytokine인 IL-10의 분비량이 증가함을 보여 항아토피 효과를 나타내었다. 육안 평가를 통해서 THEE를 2주간 지속적으로 도포 처리하였을 때 그

증상이 눈에 띄게 완화되는 것을 확인할 수 있었으며, skin clinical severity score에서도 DNCB 단독 처리군과 비교 시 유의적으로 그 값이 감소하였다. 이상의 결과들로부터 THEE는 Th1과 Th2 cytokine의 생성 및 활성을 조절하고 IgE의 과다 발현을 억제함으로써 아토피 피부염의 개선에 뛰어난 효능을 가지고 있는 것으로 사료된다.

감사의 글

이 논문은 2014년도 해양수산부 수산실용화기술개발사업에 의해 이루어진 것으로 이에 감사드립니다.

REFERENCES

1. Leung DYM, Boguniewicz M, Howell MD, Nomura I, Hamid QA. 2004. New insights into atopic dermatitis. *J Clin Invest* 113: 651-657.
2. Ahn KM. 2004. Role of mast cells in allergic inflammation and innate immunity. *Korean J Pediatr* 47: 1137-1141.
3. Epstein PR. 2005. Climate change and human health. *N Engl J Med* 353: 1433-1436.
4. Leung DYM. 1999. Pathogenesis of atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 104: S99-108.
5. Kevin DC. 1994. Atopic dermatitis: recent trends in pathogenesis and therapy. *J Invest Dermatol* 102: 128-137.
6. Novak N, Simon D. 2011. Atopic dermatitis-from new pathophysiologic insights to individualized therapy. *Allergy* 66: 830-839.
7. Sidbury R, Hanifin JM. 2000. Old, new, and emerging therapies for atopic dermatitis. *Dermatol Clin* 18: 1-11.
8. Choi J, Kim JH, Lee JW. 2011. Physiological properties of tuna cooking drips hydrolysate prepared with gamma irradiation. *Process Biochem* 46: 1875-1878.
9. Je JY, Qian ZJ, Byun HG, Kim SK. 2007. Purification and characterization of an antioxidant peptide obtained from tuna backbone protein by enzyme hydrolysis. *Process Biochem* 42: 840-846.
10. Hwang WI, Baik NG, Hwang YK, Lee SD. 1992. Antitumor and immunological effects of tuna extract. *J Korean Soc Food Nutr* 21: 353-366.
11. Jung HS. 2007. Antioxidant effect of histidine containing low molecular weight peptide isolated from skipjack boiled extract. *Korean J Food Cookery Sci* 23: 221-226.
12. Shin MO, Ku MJ, Bae SJ. 2007. Cytotoxicity and quinone reductase activity stimulating effects of fin of *Thunnus thynnus* extracts in various cancer cells. *Korean J Nutr* 40: 147-153.
13. Park SE, Kim HW, Lee SR, Kim BK. 2000. Effects of nucleic acids complex of tuna testis on immunological activities. *J Korean Assoc Cancer Prev* 5: 15-23.
14. Ahn JY, Im LR, Park JH, Kim DH, Lee MY. 2009. Effects of Rumecis Radix water extract on development of atopic dermatitis in BALB/c mice. *Kor J Pharmacogn* 40: 218-223.
15. Renz H, von Mutius E, Illi S, Wolkers F, Hirsch T, Weiland SK. 2002. T(H)1/T(H)2 immune response profiles differ between atopic children in eastern and western Germany. *J Allergy Clin Immunol* 109: 338-342.
16. Suzuki R, Shimizu T, Kudo T, Ohtsuka Y, Yamashiro Y, Oshida K. 2002. Effects of n-3 polyunsaturated fatty acids of dermatitis in NC/Nga mice. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 66: 435-440.
17. Munoz C, Carlet J, Fitting C, Misset B, Blériot JP, Cavaillon JM. 1991. Dysregulation of *in vitro* cytokine production by monocytes during sepsis. *J Clin Invest* 88: 1747-1754.
18. Lee YH. 2007. Effect of *Phellinus linteus* grown in germinated brown rice on atopic dermatitis. *J Kor Soc Cosm* 13: 514-519.
19. Powrie F, Coffman RL. 1993. Cytokine regulation of T-cell function: potential for therapeutic intervention. *Trends Pharm Sci* 14: 164-168.
20. Novak N, Bieber T. 2003. Allergic and nonallergic forms of atopic diseases. *J Allergy Clin Immunol* 112: 252-262.
21. Beltrani VS. 1999. The clinical spectrum of atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 104: S87-98.
22. Smith JR, Hart PH, Williams KA. 1998. Basic pathogenic mechanisms operating in experimental models of acute anterior uveitis. *Immunol Cell Biol* 76: 497-512.
23. Moore KW, O'Garra A, de Waal Malefyt R, Vieira P, Mosmann TR. 1993. Interleukin-10. *Annu Rev Immunol* 11: 165-190.
24. Gonzalez-Rey E, Chorny A, Delgado M. 2007. Regulation of immune tolerance by anti-inflammatory neuropeptides. *Nat Rev Immunol* 7: 52-63.