

2,4-Dinitrochlorobenzene 유도 아토피 피부염 모델 마우스에 대한 외톨개 모자반(*Myagropsis myagroides*) 에탄올 추출물의 억제 효과

김꽃봉우리¹ · 강보경² · 안나경² · 최연욱² · 배난영² · 박지혜² · 박선희² · 김민지¹ · 안동현¹

¹부경대학교 수산과학연구소
²부경대학교 식품공학과/식품연구소

Inhibitory Effects of *Myagropsis myagroides* Ethanol Extract on 2,4-Dinitrochlorobenzene-Induced Atopic Dermatitis-Like Skin Lesions in Mice

Koth-Bong-Woo-Ri Kim¹, Bo-Kyeong Kang², Na-Kyung Ahn², Yeon-Uk Choi², Nan-Young Bae², Ji-Hye Park², Sun-Hee Park², Min-Ji Kim¹, and Dong-Hyun Ahn²

¹Institute of Fisheries Sciences and ²Department of Food Science & Technology/
Institute of Food Science, Pukyong National University

ABSTRACT This study investigated the effects of *Myagropsis myagroides* ethanol extract (MMEE) on 2,4-dinitrochlorobenzene (DNCB)-induced atopic dermatitis (AD)-like skin lesions in BALB/c mice. The effects of MMEE on DNCB-induced BALB/c mice were evaluated by examining skin symptom severity, levels of total immunoglobulin E (IgE), tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin (IL)-4, and IL-10 in serum, and levels of IL-4, IL-5, IL-13, and interferon- γ (IFN- γ) in splenocytes. MMEE significantly reduced the total clinical severity score, total IgE levels, as well as TNF- α and IL-4 production in an AD mouse model but increased IL-10 production. Production of IL-4, IL-5, and IL-13 in splenocytes was reduced by MMEE, whereas IFN- γ production increased. These results suggest that MMEE can inhibit the development of AD-like skin lesions in BALB/c mice by modulating the immune response and may be an effective potential therapeutic agent for AD.

Key words: *Myagropsis myagroides*, atopic dermatitis, IgE, cytokine, DNCB

서 론

아토피 피부염은 심한 가려움과 습진성 피부 질환을 특징으로 하는 만성 염증성 피부 질환이다. 아토피 피부염 질환의 발생은 피부 장벽의 손상과 면역체계에서 T-helper type 1(Th1)과 T-helper type 2(Th2) cell의 불균형에 의해 발생한다(1). 아토피 피부염 증상 초기는 건조 증상과 같은 피부 이상 증상으로 가려움증을 유발하게 되고 이는 피부점막을 손상시켜 염증성 cytokine의 생산을 증가시키게 된다(2). 이러한 염증 과정은 뒤이어 백혈구수의 증가를 가져오게 되고, 가려움은 직접적으로 습진성 피부 질환의 발달을 가져오게 된다(3). 아토피 피부염 질환은 Th2형이 관여되며, Th2 cytokine, blood eosinophilia, 혈청 immunoglobulin E (IgE)의 생산이 증가된다(4). 특히 Th2 cytokine 중에서 IL-4, IL-5, IL-13 cytokine의 발현이 증가하는 것으로 알려져 있다(5).

아토피 피부염 치료제로서 효과가 좋은 것으로 알려진 steroid제인 glucocorticoids가 많이 사용되고 있지만, 장기간 고농도로 사용 시에는 다양한 부작용이 발생한다고 알려져 있다. 이러한 부작용에도 불구하고 steroid제는 강력한 항아토피 치료제로서 사용되고 있다(6,7). 최근에는 안전성이 입증되고 강한 면역 조절 효과를 지닌 해조류가 면역 이상 질환 치료제의 대체 물질로 관심이 증가하고 있다. 그중 잔가시 모자반(*Sargassum micracanthum*)(8) 및 짝잎 모자반(*Sargassum hemiphyllum*) 추출물(9)에서 아토피 피부염 억제 효과에 대한 결과들이 보고되고 있다. 외톨개 모자반(*Myagropsis myagroides*)은 갈조류로서 주로 남해안 및 제주도 일대에 서식하고 있으며, 지금까지 항균(10), 항염증(11), 항당뇨(12) 등의 생리활성이 보고되고 있다.

따라서 본 연구에서는 아토피 피부염 질환 증상에 대한 외톨개 모자반 에탄올 추출물(MMEE)의 치료 효과를 확인하기 위하여 아토피 피부염 모델로 사용되고 있는 BALB/c mouse를 사용하여 2,4-dinitrochlorobenzene(DNCB)으로 아토피 피부염을 유발하였다. MMEE를 mouse의 등 부위에 도포하여 skin severity score 및 육안평가와 함께 비장세포 및 혈청으로부터 염증성 cytokine, Th1 및 Th2 cy-

Received 9 June 2015; Accepted 20 July 2015

Corresponding author: Dong-Hyun Ahn, Department of Food Science & Technology/Institute of Food Science, Pukyong National University, Busan 48513, Korea
E-mail: dhahn@pknu.ac.kr, Phone: +82-51-629-5831

tokine, 혈청 IgE의 분비량을 측정하여 MMEE의 아토피 피부염 억제 효과에 대해 알아보았다.

재료 및 방법

외톨개 모자반 에탄올 추출물 제조

외톨개 모자반은 2011년 부산 송정에서 채취하여 수세한 후 자연건조 시켜 동결건조 하고 분말화하였다. 분말에 10 배량의 95% 에탄올을 가하고, 교반기(H-0820, Dongwon Science Co., Busan, Korea)를 이용하여 24시간 추출하였다. 추출물은 3,000 rpm에서 10분간 원심분리(UNION 32 R, Hanil Co., Incheon, Korea) 한 후 상층액을 취하였고, 남은 잔사는 이와 동일한 방법으로 2회 반복하여 추출하였다. 상층액은 여과한 후 37°C에서 감압농축기(RE200, Yamoto Co., Tokyo, Japan)로 농축하여 37°C에서 건조시킨 다음 -20°C에 보관한 후 실험에 사용하였다.

실험동물

생후 4주령의 수컷 BALB/c 마우스를 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 준수하여 실험을 진행하였다.

아토피 피부염 유발 및 시료처리

Ahn 등(13)의 방법을 약간 변형하여 아토피 피부염을 유발하였다. BALB/c(n=5/group)는 normal 군, DNCB 처리군, DNCB+MMEE 처리군으로 총 3군으로 나누어 다음과 같이 실험을 진행하였다. 마우스의 등 부위를 깨끗하게 제모한 후 미세상처가 치유되도록 24시간 방치하였다. 아세트산과 올리브오일(3:1, v/v)을 혼합한 용액으로 1% DNCB(Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)를 제조하여 일주일에 3번 마우스의 귀 뒤쪽과 등 부위에 200 µL를 도포하고, 일주일 후부터는 0.3% DNCB 200 µL를 하루에 한 번 동일한 부위에 고르게 도포하였다. MMEE는 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 피부염 유발이 종료된 후 마우스를 diethyl ether로 마취하여 희생시킨 다음 비장을 무균적으로 적출하였다. 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% fetal bovine serum-RPMI 배지를 첨가하여 2×10⁶ cells/mL 농도로 희석된 비장 세포 현탁액을 37°C, CO₂ incubator(MCO-15AC, Sanyo, Osaka, Japan)에서 72시간 배양하였다.

비장세포의 증식능 측정

실험 종료일에 마우스로부터 비장을 채취하여 비장세포 현탁액을 2×10⁶ cells/mL 농도로 96 well-plate에 분주한 후 37°C, CO₂ incubator에서 70시간 배양하였다. 배양 후 5 mg/mL MTT(thiazolyl blue tetrazolium bromide, Sigma-Aldrich Co.) 용액을 첨가하고 2시간 동안 재 배양하여 formazan crystal 형성을 유도하였다. 이를 2,000 rpm, 4°C에서 10분간 원심분리 한 후 상층액을 제거하고 DMSO(dimethyl sulfoxide, Sigma-Aldrich Co.)를 첨가하여 formazan을 용해시킨 다음 microplate reader(Model 550, Bio-rad, Richmond, VA, USA)를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 비장 세포 증식능은 다음 식에 의해 계산하였다.

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

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.

Cytokine 분비량 및 total IgE 함량 측정

비장세포로부터 생성되는 interferon-γ(IFN-γ), interleukin(IL)-4, IL-5 및 마우스 혈청 내 total immunoglobulin E(IgE), tumor necrosis factor-α(TNF-α), IL-4, IL-10 cytokine은 BD Bioscience(San Diego, CA, USA)에서 구매한 ELISA kit을 이용하고, IL-13 cytokine의 분비량은 R&D Systems(Minneapolis, MN, USA)에서 구매한 ELISA kit을 이용하였다. 각각 BD Bioscience와 R&D Systems 사가 제공하는 방법에 준하여 측정하고 정량하였다.

Skin clinical severity score

시험 물질 도포 후 0, 7, 14일이 되는 시점에 실시하였다. 본 평가 방법은 아토피성 피부염에서 일반적으로 사용되는 임상적 육안 평가 방법으로 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), 짓무름(erosion) 및 태선화(lichenification)로 나누

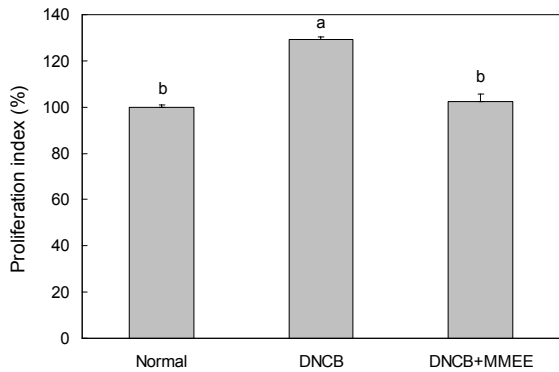


Fig. 1. Effect of *Myagropsis myagroides* ethanol extract (30 mg/mL) on the proliferation of mice splenocytes. Normal, vehicle group; DNCB, DNCB treatment only group; DNCB+MMEE, DNCB and *M. myagroides* ethanol extract treatment group. Proliferation index (%)=(Sample O.D./ Control O.D.)×100. Means with different letters (a,b) above the bars are significantly different ($P<0.05$).

있고 각각의 항목을 없음(0), 약함(1), 보통(2), 심함(3)으로 채점한 후 합산함으로써 최소 0점에서 최고 15점 사이의 점수를 부여하였다(14).

통계 처리

실험 결과의 통계처리는 SAS program(statistical analytical system, ver 8.2, SAS Institute Inc., Cary, NC,

USA)을 이용하여 one way ANOVA법으로 분산 분석을 실시하였으며, 실험군 간 통계적인 유의성 검증은 Duncan의 다중검정법으로 $P<0.05$ 수준에서 실시하였다.

결과 및 고찰

비장 세포 증식능

MMEE가 비장세포의 생존에 미치는 영향을 알아보기 위해 MTT로 측정하였다(Fig. 1). DNCB 단독 처리군은 normal 군보다 세포 생존율이 유의적으로 증가하였고, MMEE 처리군은 normal 군과 유의적으로 차이가 나지 않았다. 따라서 MMEE 도포는 비장세포의 생존에 영향이 없는 것으로 확인되었다. 본 연구 결과에서와 같이 Jeong 등(8) 및 Zhang 과 Zhu(15)의 결과에서도 DNCB 도포에 의해 비장세포 생존율 및 세포수가 증가하였다고 보고하였다. 이는 DNCB에 의해 면역반응이 활성화되어 T 림프구 등이 현저하게 증가한 결과로 Th 세포가 Th2 세포로 분화가 촉진된다고 알려져 있어 Th2와 관련된 면역 반응의 증가에 기인한 것으로 사료된다(16).

혈청에서 total IgE 함량 및 cytokine 분비량

혈청에서의 IgE 함량은 아토피 피부염의 중증도와 관련이 높으며(17), 비만세포 표면의 FCεRI 수용체와 IgE가 교차 결합하여 다양한 염증성 매개물질을 방출함으로써 아토피

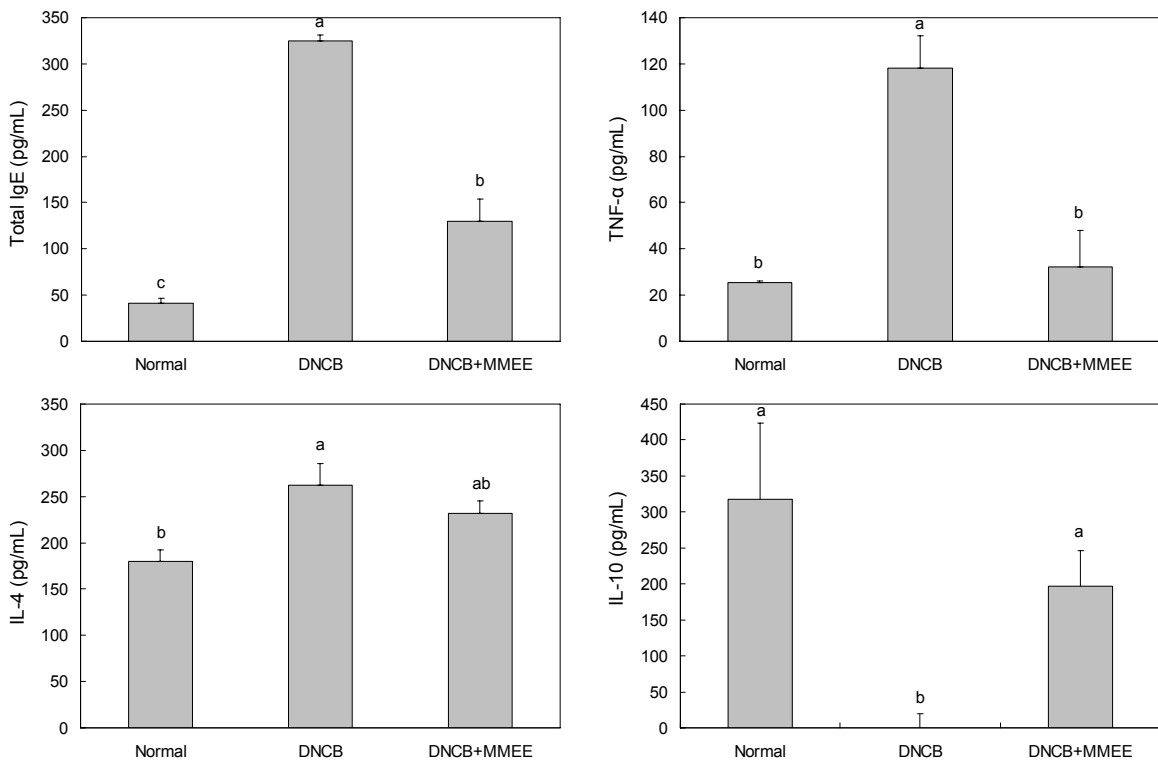


Fig. 2. Effects of *Myagropsis myagroides* ethanol extract (30 mg/mL) on the production of total IgE, TNF-α, IL-4, and IL-10 in mice sera. Normal, vehicle group; DNCB, DNCB treatment only group; DNCB+MMEE, DNCB and *M. myagroides* ethanol extract treatment group. Means with different letters (a-c) above the bars are significantly different ($P<0.05$).

피 피부염, 홍반 증상 등이 나타난다(18). MMEE 처리에 의한 혈청에서의 total IgE 함량을 측정된 결과(Fig. 2), total IgE 함량은 DNCB 단독 처리군은 325.24 pg/mL로 normal 군에 비해 상당히 증가하였지만 MMEE 처리에 의해 129.35 pg/mL로 60% 감소하였다. 따라서 MMEE는 total IgE 분비량을 억제시켜 아토피 피부염 증상을 완화시키는 것으로 사료된다. TNF- α 는 피부 염증 반응의 중요한 매개물질로서 염증성 cytokine인 TNF- α 의 억제는 알레르기 접촉 피부염 치료에 유용하다고 보고되고 있다(19). 아토피 피부염 초기 단계에서 TNF- α 의 분비 증가는 피부 내의 백혈구의 소집과 증식의 원인이 되는 다양한 chemokine과 부착 분자를 생산하게 한다(20). 염증성 cytokine인 TNF- α 분비량은 DNCB 단독 처리군은 118.13 pg/mL로 normal 군보다 증가하였으며, MMEE 처리군은 32.26 pg/mL로 약 73% 정도 감소하였다(Fig. 2). Th2 세포의 대표적인 cytokine인 IL-4의 분비는 아토피 피부염 증상을 보인 환자에서 증가하는 것으로 알려져 있다(21). 혈청에서의 IL-4의 분비량은 정상군이 180.13 pg/mL였으며, DNCB 단독 처리군은 262.32 pg/mL로 증가하였다. MMEE 처리군은 231.79 pg/mL로 DNCB 단독 처리군과 비교 시 유의적으로 감소하였으나 큰 차이를 나타내지 않았다(Fig. 2). Treg 세포에서 발현되는 IL-10 cytokine은 IgE 및 Th2 cytokine의 생산을 억제하는 역할을 한다(21). 심한 아토피 피부염 증상을 보인 환자의 혈장에서 IL-10의 분비는 약한 아토피 피부염

증상을 보인 환자 및 건강한 환자와 비교 시 낮게 나타났다고 보고되고 있다(22). 본 결과에서도 IL-10의 분비량은 normal 군에서 317.4 pg/mL였으나 DNCB 단독 처리군은 유의적인 감소를 보였으며, MMEE 처리군은 196.5 pg/mL로 DNCB 단독 처리군에 비해 유의적으로 증가하는 경향을 보였다(Fig. 2). 따라서 MMEE 처리에 의한 아토피 피부염 증상의 호전은 혈청에서의 IL-4, TNF- α 및 total IgE 분비량 억제와 IL-10 분비량 증가에 기인한 것으로 사료된다.

비장세포에서 cytokine 분비량

아토피 피부염은 Th2 반응에 의해 발생되는데, Th2 cytokines 중 IL-4, IL-5, IL-13은 아토피 피부염의 중증도와 관련이 있다(5). IL-4와 IL-13은 basophil과 Th2 cell에서 분비가 되는 것으로 알려져 있으며, B cell을 자극하여 IgE의 생산을 증가시키며(23), IL-5는 eosinophils의 생존 및 활성을 조절하고 호산구 과다증 및 피부로의 침윤을 증가시킨다(24). 본 연구 결과에서 IL-4 및 IL-13 cytokine의 분비량은 DNCB 단독 처리군에서 각각 88.58 pg/mL 및 32.34 pg/mL로 normal 군에 비해 유의적으로 상당히 증가하였으나, MMEE 처리군은 DNCB 단독 처리군에 비해 각각 24.90 pg/mL 및 4.93 pg/mL로 약 67% 및 85% 감소하였다(Fig. 3). 따라서 MMEE 처리군은 Th2 반응에서 IL-4 및 IL-13의 분비가 억제됨으로써 혈청 IgE의 분비가 감소된 것으로 사료된다. IL-5의 분비량은 normal 군이 6.23 pg/

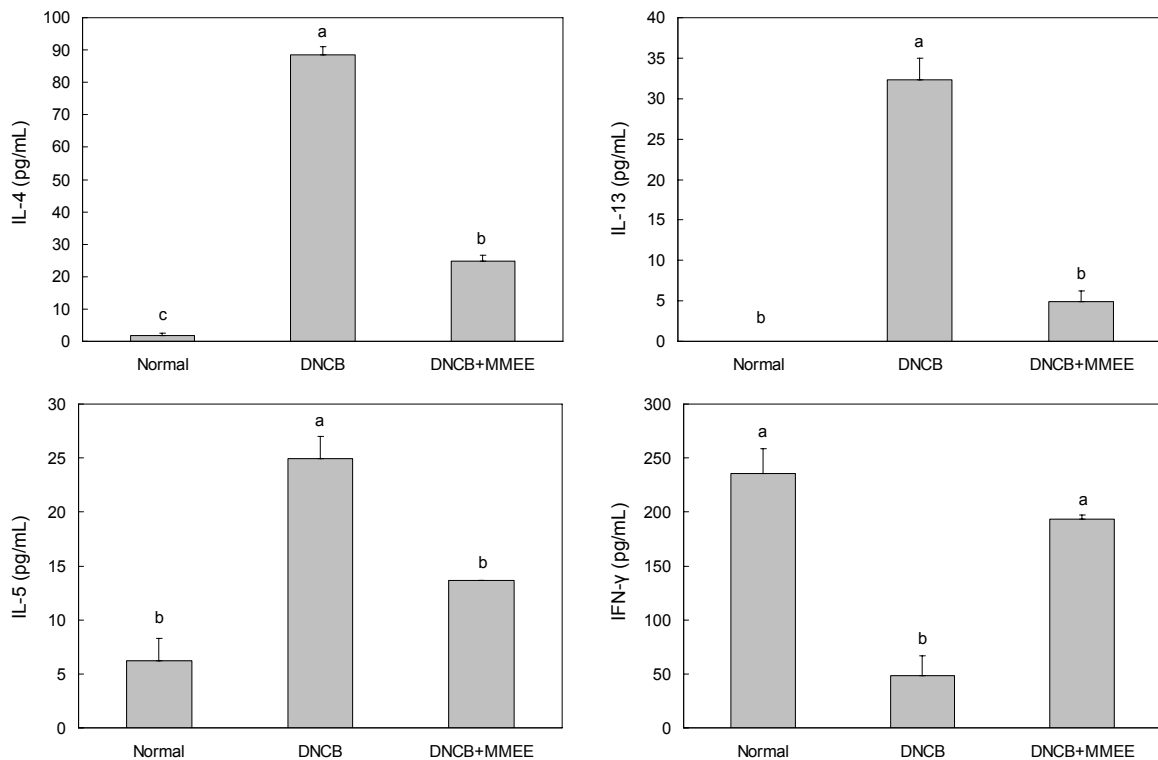


Fig. 3. Effects of *Myagropsis myagroides* ethanol extract (30 mg/mL) on the production of IL-4, IL-13, IL-5, and IFN- γ in mice splenocytes. Normal, vehicle group; DNCB, DNCB treatment only group; DNCB+MMEE, DNCB and *M. myagroides* ethanol extract treatment group. Means with different letters (a-c) above the bars are significantly different ($P < 0.05$).

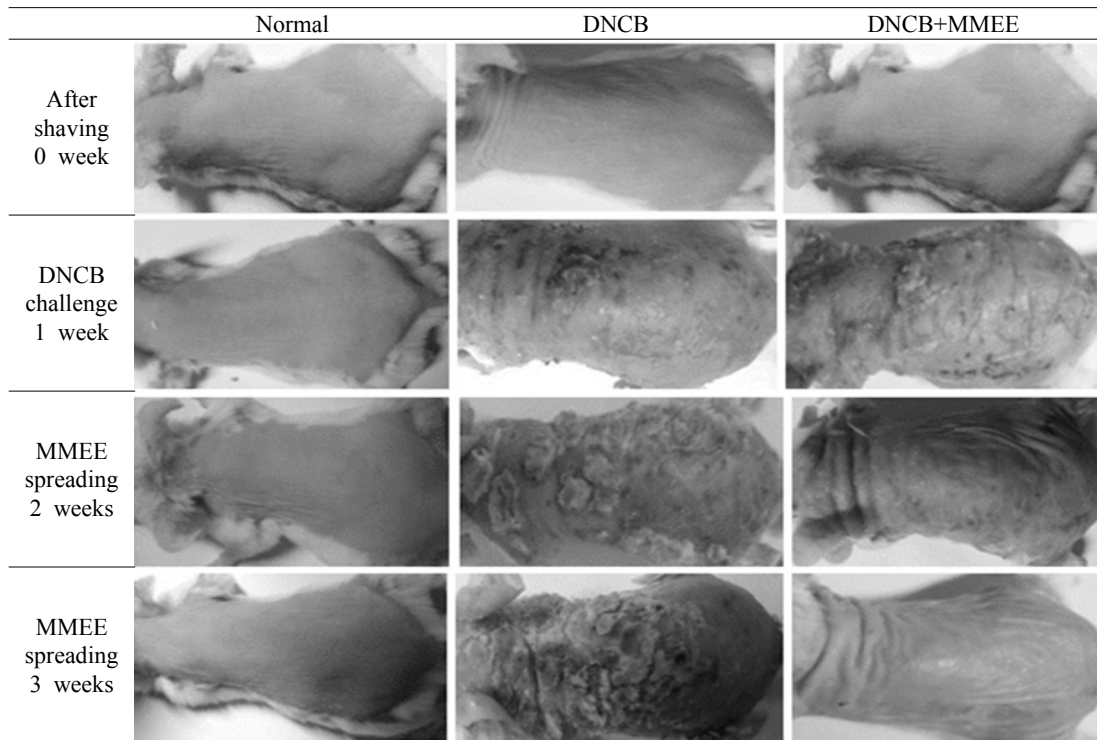


Fig. 4. Effects of *Myagropsis myagroides* ethanol extract (30 mg/mL) in atopic dermatitis-like skin lesions mice. Normal, vehicle group; DNCB, DNCB treatment only group; DNCB+MMEE, DNCB and *M. myagroides* ethanol extract treatment group.

mL였으며, DNCB 단독 처리군은 24.95 pg/mL로 증가하였고, MMEE 처리군은 13.62 pg/mL로 DNCB 단독 처리군에 비해 약 45% 감소 효과를 나타내었다(Fig. 3). 일반적으로 Th1 cytokine인 IFN- γ 는 IgE 합성, Th2 cell 증식, T cell에서 IL-4 수용체 발현에 대한 강한 억제제로서 역할을 한다(25). 본 연구에서도 IFN- γ 의 분비량은 DNCB 단독 처리군이 48.26 pg/mL로 normal 군에 비해 감소하였으나 MMEE 처리군은 193.13 pg/mL로 증가하였으며, normal 군과 유의적인 차이를 나타내지 않았다(Fig. 3). 따라서 MMEE는 Th1과 Th2 세포 관련 cytokine의 발현 조절을 통해 아토피 피부염 증상을 억제시키는 것으로 사료된다.

육안평가 및 skin severity score

마우스 귀 및 등 부위에 DNCB를 3주간 도포한 결과(Fig. 4) 다른 연구 결과에서와 같은 증상을 보였으며(26), DNCB를 1주간 도포 시 홍반, 출혈이 나타났고 지속적인 DNCB 도포로 부종, 짓무름, 건조 등 아토피 피부염 증상이 심화되었다. 하지만 MMEE 처리군은 2주간 지속적인 도포에 의해 DNCB 단독 처리군과 비교 시 아토피 피부염 증상이 억제됨을 확인하였으며, normal 군과 유사한 결과를 보였다. 육안평가와 함께 skin severity score 법을 사용하여 피부 상태를 일주일에 한 번씩 평가하였다. Fig. 5의 결과에서 DNCB 단독 처리군은 DNCB 도포가 반복될수록 점수가 급격하게 증가하였다. 하지만 MMEE 처리군은 DNCB 단독 처리군과 비교 시 MMEE를 1주간 도포 후(2주차)에는 severity score

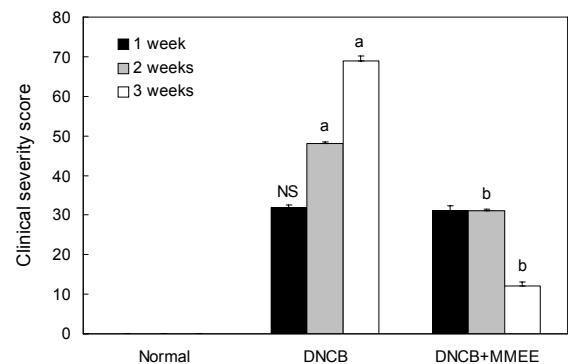


Fig. 5. Effect of *Myagropsis myagroides* ethanol extract (30 mg/mL) on clinical severity score of atopic dermatitis in BALB/c mice (n=5). Normal, vehicle group; DNCB, DNCB treatment only group; DNCB+MMEE, DNCB and *M. myagroides* ethanol extract treatment group. Means with different letters (a,b) at the same color bar are significantly different ($P < 0.05$ DNCB group vs. DNCB+MMEE group). NS: not significantly different between DNCB and DNCB+MMEE at 1 week.

가 유의적으로 감소하여 2주간 도포 후(3주차)에는 2주차보다 더 증상이 완화되어 severity score가 상당히 낮아짐을 확인하였다. 아토피 피부염에서의 피부 장벽의 파괴는 경피수분 손실 및 건조 증상을 나타내며, 건조 증상은 ‘가려움-긁기’ 악순환을 가져와 심화된 피부 염증 반응을 일으키므로 피부 장벽 보호는 아토피 피부염 치료에 중요하다(27). 따라서 MMEE는 건조 개선으로 인한 피부 장벽을 보호하는 데 효과적임을 확인하였고, Th1과 Th2 세포 반응 조절을 통해

아토피 피부염의 염증 반응을 조절하여 아토피 피부염 증상을 완화시키는 것으로 사료된다.

요 약

2,4-Dinitrochlorobenzene(DNCB) 유도 아토피 피부염 BALB/c 모델에서 외톨개 모자반 에탄올 추출물(MMEE)의 항아토피 효과를 알아보기 위해 육안평가, severity score, 혈청 내 total immunoglobulin E(IgE), interleukin(IL)-4, tumor necrosis factor- α (TNF- α), IL-10 분비량 및 비장 세포 배양액 내 IL-4, IL-5, IL-13, interferon- γ (IFN- γ) 분비량을 측정하였다. DNCB 반복 도포로 아토피 피부염 증상인 건조, 홍반, 짓무름 등의 증상이 두드러지게 나타남을 확인하였고, 이러한 아토피 피부염의 증상은 MMEE의 처리로 인해 증상이 감소되는 것으로 나타났다. Severity score에서도 MMEE의 처리로 인해 DNCB 단독 처리군에 비해 점수가 낮아짐을 확인하였다. 혈청에서 total IgE 및 cytokine의 분비량을 측정한 결과 total IgE, TNF- α , IL-4의 분비량은 DNCB 단독 처리군에서 증가하였으나 MMEE 처리군에서 normal 군과 유사한 수준으로 감소됨을 확인하였다. 반면 IL-10의 분비량은 DNCB 단독 처리군에서는 normal 군에 비해 감소하였으나 MMEE 처리군에서는 증가하였다. 비장세포 배양액 내에서 cytokine의 분비량을 측정한 결과 IL-4, IL-13 및 IL-5의 분비량은 DNCB 단독 처리군에서는 증가하였으나 MMEE 처리군에서는 normal 군과 유사한 수준으로 감소하였으며, IFN- γ 의 분비량은 DNCB 단독 처리군에서는 감소하였으나 MMEE 처리군에서는 증가하여 정상군과 유의적인 차이를 보이지 않았다. 따라서 MMEE는 DNCB 유도 아토피 피부염 동물 모델에서 Th1/Th2 cytokine의 활성 조절 및 total IgE 분비 억제제를 통해 아토피 피부염 증상 개선에 효과를 가지는 것으로 사료된다.

감사의 글

이 논문은 2014년도 정부(교육부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 기초연구사업입니다(No. 2012R1A6A1028677).

REFERENCES

- Berke R, Singh A, Guralnick M. 2012. Atopic dermatitis: An overview. *Am Fam Physician* 86: 35-42.
- Kabashima K. 2013. New concept of the pathogenesis of atopic dermatitis: interplay among the barrier, allergy, and pruritus as a trinity. *J Dermatol Sci* 70: 3-11.
- Ley K. 1996. Molecular mechanisms of leukocyte recruitment in the inflammatory process. *Cardiovasc Res* 32: 733-742.
- Akdis CA, Akdis M, Trautmann A, Blaser K. 2000. Immune regulation in atopic dermatitis. *Curr Opin Immunol* 12: 641-646.
- Leung DY, Boguniewicz M, Howell MD, Nomura I, Hamid QA. 2004. New insights into atopic dermatitis. *J Clin Invest* 113: 651-657.
- Furie M, Terao H, Rikihisa W, Urabe K, Kinukawa N, Nose Y, Koga T. 2003. Clinical dose and adverse effects of topical steroids in daily management of atopic dermatitis. *Br J Dermatol* 48: 128-133.
- Hanifin JM, Cooper KD, Ho VC, Kang S, Krafchik BR, Margolis DJ, Schachner LA, Sidbury R, Whitmore SE, Sieck CK, Van Voorhees AS. 2004. Guidelines of care for atopic dermatitis, developed in accordance with the American Academy of Dermatology (AAD)/American Academy of Dermatology Association "Administrative Regulations for Evidence-Based Clinical Practice Guidelines". *J Am Acad Dermatol* 50: 391-404.
- Jeong DH, Kim KBWR, Kim MJ, Kang BK, Bark SW, Pak WM, Kim BR, Park HM, Im MH, Ahn DH. 2014. Anti-atopic activity of *Sargassum micracanthum* ethanol extracts. *Korean J Microbiol Biotechnol* 42: 82-88.
- Na HJ, Moon PD, Ko SG, Lee HJ, Jung HA, Hong SH, Seo Y, Oh JM, Lee BH, Choi BW, Kim HM. 2005. *Sargassum hemiphyllum* inhibits atopic allergic reaction via the regulation of inflammatory mediators. *J Pharmacol Sci* 97: 219-226.
- Lee SY, Kim KBWR, Lim SI, Ahn DH. 2014. Antibacterial mechanism of *Myagropsis myagroides* extract on *Listeria monocytogenes*. *Food Control* 42: 23-28.
- Jeong DH, Kim KB, Kim MJ, Kang BK, Ahn DH. 2014. Anti-inflammatory activity of methanol extract and n-hexane fraction mojabanchromanol b from *Myagropsis myagroides*. *Life Sci* 114: 12-19.
- Pak WM, Kim KB, Kim MJ, Cho JY, Ahn DH. 2015. Inhibitory effect of hexane fraction from *Myagropsis myagroides* on pancreatic α -amylase *in vitro*. *J Microbiol Biotechnol* 25: 328-333.
- Ahn JY, Im LR, Kim JH, Park JH, Kim DK, Lee YM. 2009. Effects of *Rumecis radix* water extract on development of atopic dermatitis in BALB/c mice. *Kor J Pharmacogn* 40: 218-223.
- Leung DY, Hirsch RL, Schneider L, Moody C, Takaoka R, Li SH, Meyerson LA, Mariam SG, Goldstein G, Hanifin JM. 1990. Thymopentin therapy reduces the clinical severity of atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 85: 927-933.
- Zhang EY, Zhu BT. 2014. Estriol strongly inhibits DNCB-induced contact dermatitis: role of antigen-specific antibodies in pathogenesis. *Endocr Connect* 3: 161-172.
- Zhang EY, Chen AY, Zhu BT. 2009. Mechanism of dinitrochlorobenzene-induced dermatitis in mice: role of specific antibodies in pathogenesis. *PLoS ONE* 4: 1-12.
- Matsuda H, Watanabe N, Geba GP, Sperl J, Tsudzuki M, Hiroi J, Matsumoto M, Ushio H, Saito S, Askenase PW, Ra C. 1997. Development of atopic dermatitis-like skin lesion with IgE hyperproduction in NC/Nga mice. *Int Immunol* 9: 461-466.
- Novak N, Bieber T, Leung DY. 2003. Immune mechanisms leading to atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 112: S128-139.
- Homey B, Steinhoff M, Ruzicka T, Leung DY. 2006. Cytokines and chemokines orchestrate atopic skin inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 118: 178-189.
- Choi EJ, Lee S, Kim HH, Singh TS, Choi JK, Choi HG, Suh WM, Lee SH, Kim SH. 2011. Suppression of dust mite extract and 2,4-dinitrochlorobenzene-induced atopic dermatitis by the water extract of *Lindera obtusiloba*. *J Ethno-*

- pharmacol* 137: 802-807.
21. Pate MB, Smith JK, Chi DS, Krishnaswamy G. 2010. Regulation and dysregulation of immunoglobulin E: A molecular and clinical perspective. *Clin Mol Allergy* 8: 3.
 22. Niwa Y. 2000. Elevated RANTES levels in plasma or skin and decreased plasma IL-10 levels in subsets of patients with severe atopic dermatitis. *Arch Dermatol* 136: 125-126.
 23. Sallusto F, Lanzavecchia A, Mackay CR. 1998. Chemokines and chemokine receptors in T-cell priming and Th1/Th2-mediated responses. *Immunol Today* 19: 568-574.
 24. Simon D, Braathen LR, Simon HU. 2004. Eosinophils and atopic dermatitis. *Allergy* 59: 561-570.
 25. Leung DY, Bieber T. 2003. Atopic dermatitis. *Lancet* 361: 151-160.
 26. Yang G, Lee K, Lee MH, Kim SH, Ham IH, Choi HY. 2011. Inhibitory effects of *Chelidonium majus* extract on atopic dermatitis-like skin lesions in NC/Nga mice. *J Ethnopharmacol* 138: 398-403.
 27. De Benedetto A, Agnihothri R, McGirt LY, Bankova LG, Beck LA. 2009. Atopic dermatitis: A disease caused by innate immune defects? *J Invest Dermatol* 129: 14-30.