

Original Article / 원저

## 이온화된 맥반석이 아토피 피부염 유발 Nc/Nga mice의 피부손상 및 염증 완화에 미치는 영향

김종채 · 홍승욱

동국대학교 대학원 한의학과 안이비인후피부과교실

### The Effects of Ionized Maifanite on Skin Damages of Nc/Nga Mice after Atopic Dermatitis Elicitation

*Jong-Chae Kim · Seung-Ug Hong*

Dept. of Oriental Medicine Ophthalmology & Otolaryngology & Dermatology,  
College of Oriental Medicine, Dongguk University

#### Abstract

**Objectives** : Atopic dermatitis accompanies with severe pruritus and collapse of skin barrier, inflammation. Maifanite could be used as an ointment for skin disease. However, there have been few studies about maifanite uses for atopic dermatitis. We report the anti-inflammatory and promoting skin recovery effects of ionized maifanite on damaged skin barrier with experimentally elicited atopic dermatitis.

**Methods** : Nc/Nga mice were divided into 3 groups: control group(CON), atopic dermatitis elicited group(AE group), ionized maifanite treated group after atopic dermatitis elicitation(MT group).

After 5% SDS was applied D. pteronyssinus crude extract also applied for 3 weeks to elicit atopic dermatitis-like skin disease. MT group was treated for 3 weeks with ionized maifanite. Ionized maifanite was applied once a day and voluntarily administrated. AE group and control group were treated with normal saline in the same way.

**Results** : In MT group, skin lesions like eczema were more improved than AE group. p-ERK1/2 positive reaction was reduced in MT group. MMP-9 and substance P positive reaction at dermal papillae was also reduced in MT group. With skin angiogram, capillary vessel decreased in MT group. Also, IL-4 positive reaction cell and STAT-6 positive reaction cell reduced more in MT group than in AE group. NF- $\kappa$ B p65 positive reaction cell and iNOS positive reaction cell also declined more in MT group than in AE group.

© 2017 the Society of Korean Medicine Ophthalmology & Otolaryngology & Dermatology

This is an Open Access journal distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

**Conclusions** : It is supposed that ionized maifanite has anti-inflammatory effects on NC/Nga mice's atopic dermatitis with suppressing IL-4 production and Th2 cell differentiation, and controlling NF- $\kappa$ B activation.

**Key words** : Atopic dermatitis; Maifanite; anti-inflammatory; Th2 cell; IL-4; iNOS

## 1. 서 론

아토피 피부염(Atopy dermatitis, AD)은 면역학적, 유전학적, 약리 및 생리학적, 그리고 환경 등 다인자적인 요인에 의해 발병되는 피부 질환이다<sup>1)</sup>. 원인이 명확하게 밝혀져 있지 않지만, 감염, 스트레스, 계절, 자극 인자 등에 따라 반복적으로 일어나는 만성적인 염증성 피부질환으로서, 영유아에서부터 성인에 이르기까지 광범위하게 나타난다<sup>2)</sup>. 임상적 특징은 심한 가려움으로 인한 피부 장벽의 붕괴, 염증, 혈청 내 IgE의 증가, 염증 부위에 호산구의 침윤 및 Th2(제2형 helper T) 세포의 편향된 발달을 들 수 있다<sup>1,3)</sup>. Th2 세포에 의한 IL-4 등의 발현이 증가하고, 혈중 IgE 항체의 양이 증가하는 반면, IFN- $\gamma$ 의 발현은 저하되어 Th2가 Th1보다 우세하게 되어 Th2의 반응 편향화가 나타나게 된다<sup>4)</sup>.

아토피 피부염은 한의학에서 내선(奶癬), 태선(胎癬), 사만풍(四彎風), 침음창(浸淫瘡), 태렴창(胎癢瘡), 습렴창(濕癢瘡) 등의 범주에 속하며<sup>5)</sup>, 품성불내(稟性不耐), 습열내온(濕熱內蘊)한 상태에서 다시 풍습열사(風濕熱邪)가 침습한 후 내외 병사(內外 病邪)가 상박(相薄)하여 피부에 병이 발생하는 것이 특징이다<sup>6)</sup>. 발병 원인은 혈열(血熱), 습열(濕熱), 혈조(血燥) 등이며, 청열(淸熱), 해독(解毒), 제습(除濕), 거풍(祛風), 양혈(養血) 등 치법을 주로 활용하고 있다<sup>7)</sup>.

맥반석(Maifanite, 麥飯石)은 《本草綱目》<sup>7)</sup>에 수록되어 있으며, 《東醫寶鑑 湯液編》에 백맥반석이라

하여 맺돌을 만드는 돌로 불에 달구었다가 식초에 담구어 수치하여 사용하며 웅저(癰疽)에 효과가 좋고, 《東醫寶鑑 雜病篇》에 수록된 영응고(靈應膏)의 주요 구성 약재로서 웅저(癰疽), 악창(惡瘡), 나력(癩癧), 결핵(結核), 유옹(乳癰)을 치료한다고 하였다<sup>8)</sup>. 이는 풍(風), 한(寒), 습(濕), 열사(熱邪)에 의한 피부 질환에 효과가 있을 것으로 사료된다.

맥반석에 대한 최신 연구로는 알츠하이머 모델 마우스 동물실험에서 학습, 기억능력을 향상시키고 항산화 효과가 있는 것으로 보고되었으며<sup>9)</sup>, 카드뮴 섭취 돼지 실험에서 카드뮴의 조직 내 잔류와 독성을 완화시키는 등<sup>10)</sup>의 연구 결과가 보고되었다. 또한 맥반석의 주요 성분 중 규산염은 마우스 동물실험에서 알루미늄 규산염을 식이로 급여 시에 면역 활성을 증진시키는 것으로 보고되었으며, 더불어 바이러스 감염 돼지에서도 규산염 급여는 바이러스의 체내 청소율(clearance)을 증진시켰다고 보고되어<sup>11)</sup> 면역기능에 영향을 미치는 바가 있음을 시사한다고 할 수 있다.

이에 저자는 맥반석의 아토피 피부염에서 항염증 작용 및 피부 손상의 회복에 대한 효과를 검증하기 위해 쥐의 피부에 sodium dodecyl sulfate (SDS)와 D. pteronyssinus crude extract striper를 사용한 아토피 피부염 모델에 대해서 이온화된 맥반석 용액을 투여 및 도포하여 피부 상피내 세포 활성화, 신생혈관형성, 아교섬유, 비만세포, Th2 분화, 염증 전사인자인 NF- $\kappa$ B, iNOS 등의 변화를 조사하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

Corresponding author : Seung-ug Hong, PhD, Professor of Ophthalmology & Dermatology Dongguk University Ilsan Hospital, donggukro 27, Ilsan donggu, Goyang city, Gyeonggi-do, 10326, South Korea  
(Tel: 82-31-961-9082, E-mail: heenthsu@duih.org)

• Received 2017/1/5 • Revised 2017/2/8 • Accepted 2017/2/15

## II. 재료 및 방법

### 1. 실험 동물

대한실험동물센터에서 분양 받은 태령 6주된 Nc/Nga 암컷 생쥐를 무균사육장치내에서 standard protocol에 따라 조절된 온도( $20 \pm 2^\circ\text{C}$ )와 습도 (55-65%)에서 2주일 동안 적응시킨 후 체중 20 g된 생쥐를 선별하여 사용하였다. 대조군(CON), 아토피 피부염 유발군(AE군), 아토피 피부염 유발 후 이온화된 맥반석 투여군(MT군)으로 나누었으며, 각 군에 각 10마리씩 배정하였다.

### 2. 아토피 피부염의 유발

본 실험에서는 인위적으로 아토피 피부염을 유발하기 위해 우선 생쥐 등쪽 부위 피부를 면도한 다음 계면활성제(surfactant)인 5% sodium dodecyl sulfate (SDS: Sigma, USA) 1 ml를 면봉으로 20회 문질러서 각질층 내 세포간 지질막(lipid lamella)를 제거한 후<sup>12)</sup>, 집먼지 진드기 antigen인 D. pteronyssinus crude extract striper(100mg, Biostir, Japan)를 3주 동안 주 6회씩 도포하여 유발하였다<sup>13)</sup>.

### 3. 이온화 된 맥반석의 제조

맥반석은 국내산을 사용하였으며, 맥반석(80%)에 무수탄산나트륨(20%)을 이온화 용매로 함께 전기 가열식 용광로에서  $1,700^\circ\text{C}$  이상 가열하여 용융시킨 후, 규산염 농도 14%로 정제수에 최대 용해도로 이온화 하였다. 용융 시설과 이온화 시설은 주식회사 국송(대한민국 충청남도 연기군)시설을 이용하였다.

### 4. 시료의 희석 및 투여

MT군은 아토피 피부염 유발 후 3주 동안 이온화된 맥반석을 생리식염수에 4% 희석액으로 voluntary administration을 시켰고, 아토피 피부염 유발 부위에

도 생리식염수에 25% 희석액 100  $\mu\text{l}$ 를 매일 1회씩 도포하였다.

AE군은 아토피 피부염 유발 후 3주 동안 일반 생리식염수를 voluntary administration 시켰고, 아토피 피부염 유발 부위에도 일반 생리식염수 100  $\mu\text{l}$ 를 매일 1회씩 도포하였다.

CON군은 AE군과 같은 방법으로 3주 동안 일반 생리식염수를 voluntary administration 시켰고, 등쪽 피부에 일반 생리식염수 100  $\mu\text{l}$ 를 매일 1회씩 도포하였다.

### 5. 피부 조직 표본 제작

D. pteronyssinus crude extract striper 처리 후 각 군을 sodium pentobarbital 용액으로 마취하고 vascular rinse와 10% 중성 포르말린용액 (NBF: neutral buffered formalin)으로 심장 관류 고정을 실시하였다. 얻어진 등쪽 피부를 10% NBF에 실온에서 24시간 동안 고정한 후 통상적인 방법으로 paraffin에 포매하고 5  $\mu\text{m}$  두께로 연속 절편을 만들었다. 만들어진 연속 절편은 hematoxyline과 eosin으로 염색하여 표본을 제작하였다.

### 6. 피부 손상에 대한 효과 관찰

#### 1) 상피 세포 과형성 변화

피부 상피 내 세포활성 변화를 조사하기 위해 phosphorylated-extracellular-signal-related kinase(p-ERK) 1/2를 이용한 면역조직화학적 염색을 실시하였다. 우선 피부 절편을 proteinase K(20  $\mu\text{g}/\text{ml}$ )에 5분 동안 단백질 가수분해 과정을 거친 후 blocking serum인 10% normal goat serum에서 2시간 동안 반응시켰다. 그리고 1차 항체인 mouse anti-p-ERK 1/2(1:100, Santa Cruz Biotech, USA)에  $4^\circ\text{C}$  humidified chamber에서 72시간 동안 반응시켰다. 그런 다음 2차 항체인 biotinylated goat anti-mouse IgG2a(1:100, DAKO, USA)에 실온에서

24시간 link하였고, 그런 다음 avidin biotin complex kit(Vector Lab, USA)에 1시간 동안 실온에서 반응시켰다. 0.05% 3,3'-diaminobenzidine과 0.01% HCl이 포함된 0.05M tris-HCl 완충용액(pH 7.4)에서 발색시킨 후, hematoxylin으로 대조 염색하였다. 영상분석을 통해 피부 상피 내 p-ERK1/2의 반응을 계산하였다.

## 2) 진피 내 아교섬유 분포 변화

아교섬유(collagen fiber)의 변화를 관찰하기 위해 Masson trichrome 염색을 실시하였다. 우선 50-60°C bouin 용액에서 1시간 동안 매염 처리한 다음 70% 에탄올에서 picric acid를 제거하였다. Weigert's iron hematoxylin에서 10분 동안 반응시켜 핵 염색하고, biebrich scalet-acid fuchsin과 phosphomolybdic-phosphotungstic acid에서 각각 15분간, aniline blue에 5분간 처리하여 아교섬유(청색)를 염색한 후 관찰하였다.

## 3) 아교섬유분해효소 변화

아교섬유분해효소인 matrix metalloproteinases (MMP)-9 분포변화를 관찰하기 위해 goat anti mouse MMP-9(1:100, Santa Cruz Biotech, USA) 항체를 이용한 면역조직화학적 염색을 실시한 후 관찰하였다.

## 4) 비만세포 변화

신경펩티드를 분비하는 비만세포의 분포와 형태 변화를 조사하기 위해 Luna's method를 실시하였다. 우선 진피 내 비만세포 과립을 aldehyde fuchsin에 30분간 염색하였다. 그런 다음 weigert's iron hematoxylin과 methyl orange 용액에 각각 1분, 5분 동안 대조 염색한 후 관찰하였다.

## 5) 진피 내 신경펩티드 변화

진피 내에서 동통 및 소양증에 관여하는 신경펩티드 중 하나인 substance P 분포변화를 관찰하기 위해

goat anti mouse substance P(1:250, Santa Cruz Biotech, USA) 항체를 이용한 면역조직화학적 염색을 실시한 후 관찰하였다.

## 7. 신생혈관형성 억제 효과 관찰

### 1) 신생혈관형성의 영상분석 변화

피부를 절개하여 젖힌 후 나타난 혈관을  $\times 4$  배율로 촬영한다. Image pro Plus(Media Cybernetic, USA)에서 먼저 image 기능의 sharpen low-filter를 사용하여 혈관을 명확하게 한다. 그런 다음 binary morphology에서 invert 기능을 선택하여 모세혈관을 intensity 180-200으로 전환·부각시킨 후 관찰하였다.

### 2) 진피 유두 내 혈관분포 변화

진피 유두에 분포하는 혈관의 변화를 관찰하기 위해 Phloxine-tartrazine 염색법을 실시하였다. Mayer's hematoxylin에 5분간 핵 염색한 후 phloxine 용액에 30분간 반응시켰다. 그런 다음 tartrazine 용액에서 분별 후 관찰하였다.

## 8. IL-4 생성 억제 효과 관찰

Interleukin(IL)-4의 분비 변화를 조사하기 위해 goat anti-mouse IL-4 (1:250, Santa Cruz Biotech, USA)항체를 이용한 면역조직화학적 염색을 실시하였다.

한편 IL-4의 Janus family tyrosine kinase(Jak) - signal transducers and activators of transcription (STAT)에 관여하는 STAT-6의 활성 변화를 조사하기 위해 rabbit goat anti-STAT-6(1:250, Santa Cruz Biotech, USA)항체를 이용한 면역조직화학적 염색을 실시하였다.

## 9. NF- $\kappa$ B 조절을 통한 항염증 효과 관찰

염증유발유전자들을 조절하는 전사인자 nuclear factor(NF)- $\kappa$ B의 분포 변화를 조사하기 위해 NF- $\kappa$

B p65(1:250, Santa Cruz Biotech, USA)항체를 이용한 면역조직화학적 염색을 실시하였다. 또한 염증 효소인 inducible nitric oxide synthase(iNOS)의 조직 내 분포를 조사하기 위해 rabbit anti-mouse iNOS(1:250, Santa Cruz Biotech, USA)를 이용한 면역조직화학적 염색을 실시하였다.

### 10. 영상분석과 통계처리

혈관 분포와 면역조직화학 결과의 수치화를 위해 Image pro Plus (Media Cybernetic, USA)을 이용한 영상분석(image analysis)을 실시하였다. 영상분석 결과는 Sigma Plot 2000(Sigma)을 통한 Student t-test(p < 0.05)로 유의성을 검증하였다.

## III. 결 과

### 1. 피부 손상에 대한 효과

#### 1) 외부 피부 형태 및 조직 손상 완화

AE군의 피부 대부분의 지역에서 각질층이 손상된 습진(eczema)이 나타났으며, 일부 가장자리 지역에서는 탈락과정에 있는 혈병(blood clot)과 표피 잔재도 관찰되었다(Fig. 1. A~E). 이에 반해 MT군은 일부 지역을 제외하고는 정상적인 외부 형태로 관찰되었다(Fig. 1. F~J).

#### 2) 상피 세포 과형성 조절을 통한 세포 증식 억제

AE군의 피부에서는 각질층의 탈락, 세포 과형성, 과립백혈구와 림프구의 기저층으로 침윤 증가가 관찰되었다. 이에 반해 MT군은 일부 지역을 제외하고는 각질층 탈락, 상피층 증가, 침윤 과립백혈구와 림프구의 출현이 감소하였다(Fig. 2. A~C).

한편, 상피에서 관찰되는 p-ERK1/2 양성반응은 세포질에서 강하게 나타났으며, AE군에 비해 MT군에서 p-ERK1/2 양성반응이 감소된 것으로 관찰되었다.

AE군은 대조군에 비해 1190% 증가한 반면 MT군에서는 AE군에 비해 43% 감소한 것으로 관찰되었다(Fig. 2. D~F, Table 2).

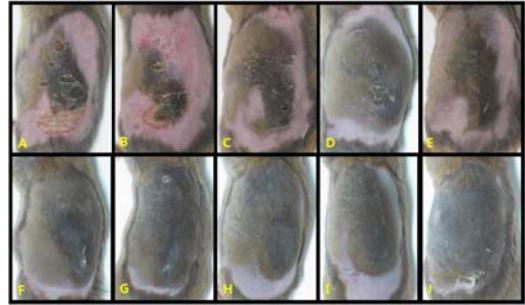


Fig. 1. The effect of ionized maifanite on external morphology.

A-E, The skin damages as eczema were shown in AE. F-J, The skin damages were mitigated in MT.

#### Abbreviations

AE : Atopic dermatitis (AD) elicited group, MT : ionized maifanite treated group after AD elicitation.

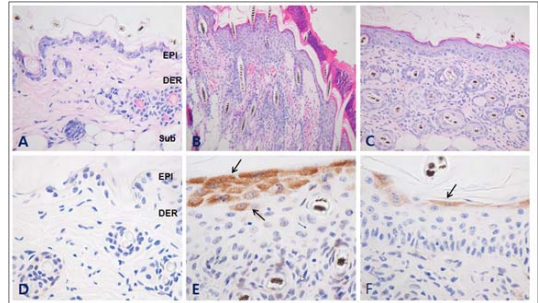


Fig. 2. Regulation of epidermal hyperplasia.

A, CON. B, AE. C, MT. The damage of intercellular space of stratum corneum, hyperplasia, edema, infiltration of lymphocytes, and congestion, were increased in AE, but decreased in MT(H&E,  $\times 200$ ). D, CON. E, AE. F, MT. The phosphorylated-extracellular-signal-related kinase(p-ERK) 1/2 positive reacted epithelial cell (arrow) in MT remarkably decreased(p-ERK 1/2 immunohistochemistry,  $\times 400$ ).

#### Abbreviations

CON : No treated group, AE : Atopic dermatitis (AD) elicited group, MT : ionized maifanite treated group after AD elicitation, EPI : epithelium, DER : dermis, Sub : subcutaneous layer

### 3) 진피 내 아교 섬유 분포 변화

AE군의 진피유두에서 피하 인접부까지 아교섬유의 분포가 적었지만, MT군에서는 AE군에 비해 많은 수가 관찰되었다(Fig. 3. A~C).

한편, 진피 유두에서 관찰되는 MMP-9 양성반응은 세포질에서 강하게 나타났으며, AE군에 비해 MT군에서 MMP-9 양성반응세포가 감소된 것으로 관찰되었다. AE군은 대조군에 비해 6260% 증가한 반면 MT군에서는 AE군에 비해 69% 감소한 것으로 관찰되었다(Fig. 3. D~F, Table 2).

### 4) 비만세포 분포 변화

AE군의 진피 유두에서 피하 인접부까지 많은 수의 비만세포가 분포하였으며 주로 탈과립형(degranulated type)으로 관찰되었다. 이에 반해 MT군에서는 AE군에 비해 적은 수가 관찰되었으며, 주로 과립형이었다(Fig. 4. A~C).

### 5) 진피 내 신경펩티드 변화

진피 유두에서 관찰되는 substance P 양성반응은 세포질에서 강하게 나타났으며, AE군에 비해 MT군

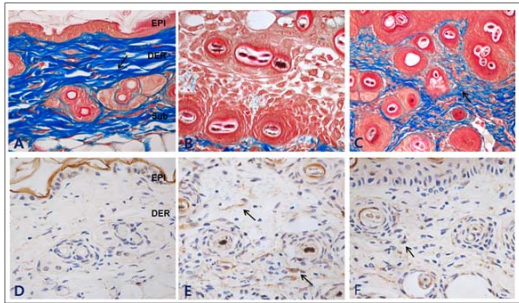


Fig. 3. The effect of ionized maifanite on edema.

A. CON. B. AE. C. MT. The distribution of collagen fiber were decreased in AE, but increase in MT (Masson trichrome method,  $\times 400$ ).

D. CON. E. AE. F. MT. The MMP-9 positive reacted cell (arrow) in MT remarkably decreased (MMP-9 immunohistochemistry,  $\times 400$ ).

Abbreviations

MMP : matrix metalloproteinases, Other abbreviations are the same as in Fig. 2.

에서 substance P 양성반응세포가 감소된 것으로 관찰되었다. AE군은 대조군에 비해 1234% 증가한 반면 MT군에서는 AE군에 비해 81% 감소한 것으로 관찰되었다(Fig. 4. D~F, Table 2).

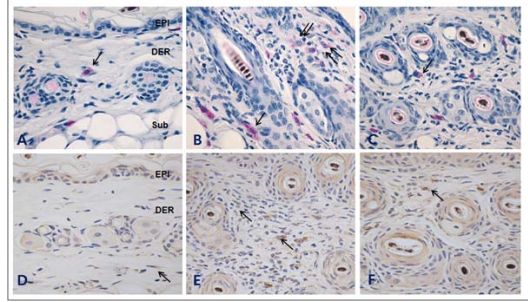


Fig. 4. The effect of ionized maifanite on mast cell, substance P.

A. CON. B. AE. C. MT. The degranulated mast cell (double arrow) in dermal papillae were increased in AE, but decreased in MT (arrow, granulated mast cell, Luna's method,  $\times 400$ ).

D. CON. E. AE. F. MT. The substance P positive reacted cell (arrow) in MT remarkably decreased (substance P immunohistochemistry,  $\times 400$ ).

Abbreviations same as Fig. 2.

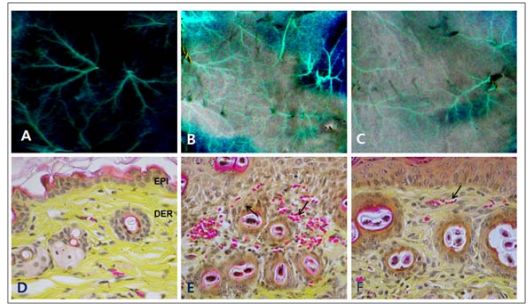


Fig. 5. The effect of ionized maifanite on capillary distribution.

A. CON. B. AE. C. MT. The angiogenesis were increased in AE, but decreased in MT ( $\times 4$ ).

D. CON. E. AE. F. MT. The distribution of capillary (arrow) in dermal papillae were increased in AE, but decreased in MT (Phloxine-tartrazine method,  $\times 400$ ).

Abbreviations same as Fig. 2.

## 2. 신생혈관형성 억제 효과

아토피 유발 피부를 절개하여 진피 쪽 피부를 영상 분석 한 결과, 대조군에 비해 AE군에서는 그 가지수가 증가한 반면, MT군에서는 AE군에 비해 유의성 있는 감소를 보였다. 대조군에 비해 AE군은 1250%나 증가한 반면, MT군에서는 AE군에 비해 72% 감소된 것으로 나타났다(Table 1, Fig. 5. A~C).

AE군에서 손상이 심했던 상피주변의 진피 유두에서는 많은 수의 모세혈관이 관찰되었다. 이에 반해 MT군의 진피 유두에서는 모세혈관의 수가 AE군에 비해 적었다(Fig. 5. D~F).

Table 1. The Image Analysis of Angiogenesis in Ionized Maifanite-treated Mice after Atopic Dermatitis(AD) Elicitation.

Angiogram	Group		
	CON	AE	MT
	6541±305	88276±2030	24286±678*

(image analysis for 10,000,000 particles / range of intensity : 80-100)

### Abbreviations

M ± S,D : Mean ± Standare Deviation,  
 CON : No treated mice, AE : AD elicited group, MT : ionized maifanite treated group after AD elicitation  
 \*, P < 0,05 compared with AE.

## 3. IL-4 생성 억제 효과

상피 기저부근처 진피에서 관찰되는 IL-4 양성반응은 세포질에서 강하게 나타났으며, AE군에 비해 MT군에서 IL-4 양성반응세포가 감소된 것으로 관찰되었다. AE군은 대조군에 비해 1918% 증가한 반면 MT군에서는 AE군에 비해 83% 감소한 것으로 관찰되었다(Fig. 6. A~C, Table 2).

한편 상피 기저부근처 진피에서 관찰되는 STAT-6 양성반응은 세포질 가장자리에서 강하게 나타났으며, AE군에 비해 MT군에서 STAT-6 양성반응세포가 감소된 것으로 관찰되었다. AE군은 대조군에 비해 3489% 증가한 반면 MT군에서는 AE군에 비해 95%

감소한 것으로 관찰되었다(Fig. 6. D~F, Table 2).

## 4. NF-κ B 활성화 억제 효과

상피 기저부와 진피유두에서 관찰되는 NF-κ B p65 양성반응은 핵 일부분과 핵막주변의 세포질에서

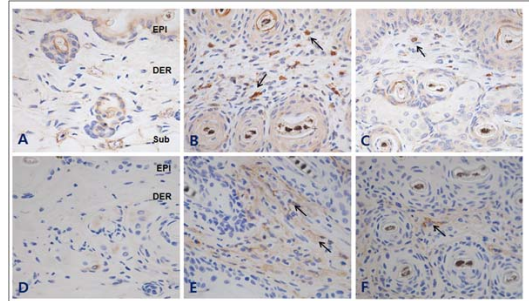


Fig. 6. Regulation of Th2 differentiation.

A, CON. B, AE. C, MT. The IL-4 positive reacted cell (arrow) in MT remarkably decreased(IL-4 immunohistochemistry, ×400).

D, CON. E, AE. F, MT. The STAT-6 positive reacted cell (arrow) in MT remarkably decreased(STAT-6 immunohistochemistry, ×400).

### Abbreviations

IL : interleukin, STAT : signal transducers and activators of transcription, Other abbreviations are the same as in Fig. 2.

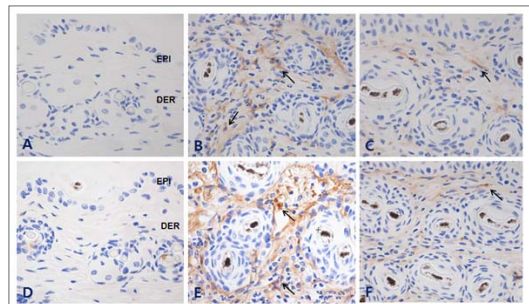


Fig. 7. Regulation of inflammation.

A, CON. B, AE. C, MT. The NF-κ B p65 positive reacted cell (arrow) in MT remarkably decreased (NF-κ B p65 immunohistochemistry, ×400).

D, CON. E, AE. F, MT. The iNOS positive reacted cell (arrow) in MT remarkably decreased (iNOS immunohistochemistry, ×400).

### Abbreviations

NF-κ B : nuclear factor-κ B, iNOS : inducible nitric oxide synthase, Other abbreviations are the same as in Fig. 2.

강하게 나타났으며, AE군에 비해 MT군에서 NF- $\kappa$ B p65 양성반응세포가 감소된 것으로 관찰되었다. AE군은 대조군에 비해 4889% 증가한 반면 MT군에서는 AE군에 비해 66% 감소한 것으로 관찰되었다(Fig. 7. A~C, Table 2).

한편, 상피 기저부근처 진피유두에서 관찰되는 iNOS 양성반응은 세포질에서 강하게 나타났으며, AE군에 비해 MT군에서 iNOS 양성반응세포가 감소된 것으로 관찰되었다. AE군은 대조군에 비해 1294% 증가한 반면 MT군에서는 AE군에 비해 59% 감소한 것으로 관찰되었다(Fig. 7. D~F, Table 2).

Table 2. The Image Analysis of Immunohistochemistry in Ionized Maifanite-treated Mice after Atopic Dermatitis(AD) Elicitation.

Objective	Group		
	CON	AE	MT
p-ERK 1/2	3416±63	44068±1013	24954±899*
MMP-9	639±44	40621±813	12520±724*
SP	1367±17	19603±655	3668±145*
IL-4	1767±87	35636±910	6218±223*
STAT-6	251±12	87849±1614	4039±138*
NF- $\kappa$ B p65	846±22	472211±715	14212±475*
iNOS	803±26	11200±745	4563±286*

(image analysis for 10,000,000 particles / range of intensity : 80-100)

Abbreviations

M ± S.D : Mean ± Standare Deviation,  
 p-ERK : phosphorylated-extracellular-signal-related kinase,  
 MMP-9 : matrix metalloproteinases-9, SP : Substance P, IL-4 : interleukin 4, STAT-6 : signal transducers and activators of transcription 6, NF- $\kappa$ B p65 : nuclear factor- $\kappa$ B p65, iNOS : inducible nitric oxide synthase, CON : No treated mice, AE : AD elicited group, MT : ionized maifanite treated group after AD elicitation.

\*, P < 0.05 compared with AE.

IV. 고 찰

아토피 피부염은 심한 가려움증이 주된 증상으로 호전과 악화를 반복하는 만성적 재발을 특징으로 하는 알러지성 피부 질환이다. 산업화된 사회에서 급증

하고 있으나, 현재까지 만족할 만한 효과가 있는 치료제는 없는 실정이다.

Hanifin 등<sup>14)</sup>은 아토피 피부염의 관리에 대한 근거 중심 임상진료 지침에서 한 가지 약물을 사용하기 보다는 효능이 있는 여러 가지 약물을 동시에 복용 또는 도포해야 보다 효과적이라는 보고를 한 바 있다. 즉, 일반적으로 다용되는 국부성 corticosteroid, calcineurin 억제제, 항생제, 항히스타민 등의 약물 뿐 아니라 알러젠 제한 또는 차단, 비약물성 치료, 한약재를 이용한 치료 및 최면요법, 마사지요법 등 다양한 보완 대체적인 치료도 복합적으로 관리에 활용되어야 한다고 제시했다.

이처럼 아토피 피부염은 다양한 치료법과 약물을 병행하여 치료하는 난치성 피부 질환이다. 피부 건조화, 표피 과증식, 홍반, 부종, 심한 소양증, 삼출과 가피를 특징으로 하고, 급성기에는 표피 내에 수포를 형성하며 만성기에는 피부에 비후가 생기는 피부 염증 등과 같은 여러 증상을 수반하는 질환이다<sup>15)</sup>.

면역학적으로 Th1세포와 Th2세포에서 분비되는 cytokine의 불균형으로 Th2세포/Th1세포의 비가 높아지며, IgE 혈청 농도의 증가를 보인다. cytokine의 불균형은 이들 세포에서 분비되는 cytokine에 의한 상호 활성 저해 때문인데, Th2세포는 IL-4, IL-5, IL-10, IL-13의 cytokine을 분비하며 Th1세포는 TNF- $\beta$ , IFN- $\gamma$ , IL-2의 cytokine을 분비한다. IgE는 Th2세포에서 분비되는 IL-4와 IL-13의 자극에 의하여 B-세포에서 생성된다. Th1 세포에서 분비되는 INF- $\gamma$ 는 IL-4와 IL-13의 분비를 저해 하는데 Th1세포 활성화와 INF- $\gamma$  농도가 감소되기 때문에 IL-4와 IL-13에 의한 B-세포로부터의 IgE 생성은 더욱 증가된다. 또한 Th2세포에서 분비된 IL-5는 호산구(eosinophil) 활성을 유도하여 알레르기성 과민 반응 유도에 직접적인 원인이 되는 호산구과다증(eosinophilia)을 유발한다<sup>16)</sup>. 그 밖에 혈관 작용성 매개체의 분비와 약리학적인 반응의 변형도 아토피성 피부염의 병리 상태에 중요한 역할을 한다고 보고되



고 있다<sup>17)</sup>.

한의학에서는 내선(奶癬), 태선(胎癬), 태렴창(胎斂瘡) 등으로 다양하게 한의서에 표현되고 있으며, 현재 중국에서는 이위성 피부염(異位性 皮膚炎)으로 명명하고 있고, 국내에서는 최근 내선(奶癬)으로 용어를 통일하여 사용하고 있다. 원인은 체내 풍(風), 습(濕), 열(熱)이 조합되어 발생하는 것으로 인식하였고, 변증은 실증(實證)과 허증(虛證)을 분별하여, 실증에는 풍열(風熱), 습열(濕熱) 등이, 허증에는 비허(脾虛), 음허(陰虛), 혈허(血虛) 등으로 분류한다<sup>5)</sup>. 이는 초기 급성기의 삼출성 병변에 관하여 습(濕), 열(熱)이 관련된 것으로 보고, 만성기에서의 피부 건조에 관하여 조(燥), 풍(風), 허증(虛證)으로 보았다고 생각된다.

《本草綱目》<sup>7)</sup>에서는 “...世傳麥飯石膏，治發背瘡甚效。乃中嶽山人呂子華秘方...” 이라 하여 맥반석이 일절의 용저(癰疽)에 효과가 좋으며, 맥반석고를 만들어 사용할 수 있다 하였고, 《東醫寶鑑》<sup>8)</sup>에서는 맥반석이 감(甘), 온(溫)하고 무독하여 피부병에 탁월한 효능이 있다고 하였다.

맥반석은 석영반암, 장석반암류에 속하는 반심성암으로  $KAlSi_3O_8$ ,  $NaAlSi_3O_8$ ,  $CaAl_2Si_2O_8$ ,  $MgAl_2Si_2O_8$  등의 화학조성을 가지고 있으며, 오래 전부터 잘 알려진 광석으로 경상도와 전라도를 중심으로 전국적으로 분포한다. 각종 미네랄을 함유하고 있는 천연 광물로 수중에서는 이온교환 작용, 흡착 작용을 함으로서, 수질 개선의 효과, 용해 시 용존산소량의 상승, 원적외선의 증가와 미네랄 성분의 함유량의 증가 효과가 있다<sup>18)</sup>.

맥반석을 이용한 연구는 맥반석 첨가 식이의 조류에 대한 무기질 함량, 혈액지수, 신장 기능 또는 식물의 생장에 대한 연구<sup>19-21)</sup>, 광물성 한약제로 인한 청정활성수 이화학적 측면의 연구<sup>18)</sup>가 대다수이며, 의약학 분야의 연구로는 알츠하이머 모델 마우스를 대상으로 맥반석 추출물의 적용이 항산화 기능의 증진을 통해 학습, 기억 능력을 향상시킨다고 보고하였으<sup>9)</sup>, 카드뮴 오염 사료의 섭취 돼지에서 맥반석을 첨가한 경우

성장부진 방지와 간과 신장에서의 카드뮴 축적과 부작용을 방지한다고 보고하였다<sup>10)</sup>.

이처럼 맥반석을 아토피 피부염에 직접 이용한 기존의 연구는 없었으나, 아토피 관리에서 맥반석을 목욕 요법에 활용하거나<sup>22)</sup>, 섬유, 내장 타일 등에 활용<sup>23)</sup> 하는 등 아토피 증상 경감에 활용되고 있으며, 맥반석에 다량 함유된 규산염이 면역계에 영향을 미침을 시사하는 연구 결과<sup>24)</sup>도 보고되고 있다.

한의학 의서에는 옹저, 등창, 종기 등 습열(濕熱)의 특징을 지닌 피부질환에도 단독 또는 복합 고제의 형태로 처방된 외용제로서<sup>25)</sup>, 이온화 된 맥반석이 IL-4 분비 억제를 통한 Th2 세포 분화조절과 NF-κB 활성화 억제를 통해 아토피 피부염의 급성기 피부 손상과 염증 반응에 효과가 있을 것이라 사료되어 본 실험을 수행하였다.

본 실험에서 인위적으로 아토피 피부염을 유발하기 위해 일으킨 피부 병변이 사람의 아토피 피부염에서 나타나는 외견상 특징 및 면역학적 특징이 매우 유사한 것으로 보고되었으며, 집먼지 진드기 추출물에 의해서 민감하게 반응하여 아토피 피부염이 가속되는 것으로 알려진 NC/Nga 마우스를 이용하였다<sup>26)</sup>. 피부장벽 결손을 유도하기 위해 Minehiro 등<sup>12)</sup>의 방법으로 계면활성제인 SDS(sodium dodecyl sulfate)를 도포하여 각질층의 지질을 제거하고<sup>27)</sup>, 아토피 피부염의 유발원으로 보고된 D. pteronyssinus를 처리하여<sup>28)</sup> 피부장벽 기능의 손상과 혈청 내 IgE의 급격한 증가와 병변 부위의 eosinophil, basophil, mast cell, Th2 세포, macrophage 등의 급격한 증가와 같은 일련의 알려지지 않은 면역학적 특징을<sup>26)</sup> 가진 아토피 피부염 모델을 유발하였다.

그 결과 Sudan black B 염색을 통한 각질층의 지질 분포 감소와 항 ceramide를 이용한 면역조직화학법을 통한 ceramide 분포 감소로 확인되었고, 아토피 피부염의 대표적 지표로 보고 된<sup>1)</sup> 케양성 구진성 홍반(pruritic erythematous papules), 아급성 피부손상(subacute skin lesion), 상피세포 과형성, 과립 백혈

구, 림프구, 탈과립형 비만세포의 침윤과 진피 유두 내 신경펩티드 증가 등이 나타났다.

피부 장벽 기능의 손상과 이와 관련된 면역 반응은 아토피 피부염의 주요한 병인이 된다는 연구 결과는 많은 연구에서 설명된 바 있으며<sup>29)</sup>, 최근에는 아토피 피부염 환자의 병변 부위 뿐 만 아니라 비 병변부의 피부에서도 경피 수분 손실의 증가, 각질층 내 수분량의 감소, 피부 표면 pH의 증가와 같은 피부 장벽의 기능 이상이 관찰되면, 질병의 중증도와 연관이 있다는 결과가 지속적으로 보고되고 있다<sup>30)</sup>.

또한 동통 및 소양증의 신경전달물질인 substance P는 아토피 피부염 조직 내에서 증가되어, 혈관 내피 의존성 혈관확장, 비만세포의 탈과립 유도, 염증세포 이주 및 증식에 관여하는 것으로 알려져 있다<sup>31)</sup>. 실험 결과 AE군에서 eczema 뿐 아니라 혈병, 표피 잔재가 관찰되었고, substance P 양성반응 세포가 진피유두에서 증가된 양상을 보였으며, MT군에서는 AE군에 비해 감소된 양상을 보였다.

아토피 피부염에는 T lymphocytes, langerhans cells, eosinophils, keratinocytes 등 세포와 cytokine 들과 immunoglobulin과 같은 면역 인자들이 관여한다<sup>32)</sup>. 생성되는 cytokine의 종류에 따라 Th1과 Th2로 구분되며 불균형이 나타나게 되는데, 급성기 아토피 피부염에서는 Th2세포가 우세하게 나타난다<sup>33)</sup>.

Th1 세포는 IL-2, IFN- $\gamma$ , TNF 등을 생산하여 macrophage를 활성화시켜 지연형 면역반응을 유발하고, 반대로 Th2 세포는 IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13을 생산하여 IgE 합성을 증가시키고 mast cells 과 eosinophils 분화를 유도해 type1 과민 반응을 유발한다<sup>34)</sup>. 급성기 아토피 피부염에서 Th2 면역반응이 우세한 이유는 IL-4 수용체 유전자의 다형성과 같은 유전적 요인이 관여하고 항원 노출 시 증가되는 cytokine이나 항원 전달 세포들이 Th2 면역 반응을 우세하게 나타내는데 기여하기 때문이라고 알려져 있다. 또한, Th2세포에 의해서 생성된 cytokines은 B림프구의 생성과 분화를 유도하고 Th1세포 활성을 억

제시킨다. 이렇게 급성기 아토피 피부염에서 우세한 Th2 세포와 cytotoxic cell은 granzyme B를 발현하여 피부의 염증 반응에 관여한다<sup>35)</sup>.

또한 Th2 면역반응으로 생성된 cytokine이 직접적으로 피부 장벽 기능을 저하시킨다는 보고가 있어 피부 장벽 이상과 면역학적 이상에 대한 새로운 개념이 제시되고 있다<sup>36)</sup>. Th2 cytokine인 IL-4는 피부 장벽 손상 후 회복을 저해하고, ceramide 합성과 항균 펩타이드의 발현 및 filaggrin, desmoglein3, loricrine, involucrin의 발현을 억제한다. 또한 S100/A11과 p21이 감소되어 있으며, IL-4/IL-13에 의한 human beta defensin-3와 filaggrin의 억제는 이들에 의해서 나타난다고 보고 되었다<sup>37)</sup>. 이 외에도 serine protease 활동의 증가는 피부 장벽의 이상을 초래할 뿐 아니라 활성화된 IL-1을 증가시킨다.

IL-4는 Th2 세포의 pleiotropic cytokine으로, Th2 세포의 분화에 관여하고 Th1 관련 면역 반응을 억제하고, macrophage 에서 IL-6의 생산을 촉진하며, IL-6는 keratinocyte proliferation을 유발한다<sup>38)</sup>. 실험 결과 MT군이 AE군에 비해 IL-4 양성 반응세포가 유의하게 감소되었을 뿐 아니라 IL-4에 의해 활성화되는 STAT-6 역시 AE군에 비해 MT군에서 유의하게 발현이 감소된 것을 확인하였다. 이는 이온화된 맥반석의 복용 및 도포 처치가 IL-4의 발현을 억제하여 Th2 세포의 성장을 억제하고, IL-4에 의해 유도되는 STAT-6의 활성 역시 억제하는 것으로 보여진다.

DNA 전사인자인 NF- $\kappa$ B는 세포 기질에 존재하며 NF- $\kappa$ B를 억제하는 I $\kappa$ B와 결합한 형태로 존재한다<sup>39)</sup>. NF- $\kappa$ B는 선천, 후천적 면역 반응과 관련되어, 많은 염증성 질환에서 나타나는 대표적인 pro-inflammatory cytokine이다. 아토피 피부염에서는 각질층 내 ceramide 감소로 인해 protein kinase C(PKC) 활성이 유도되고, I $\kappa$ B kinase (IKK  $\alpha$ ,  $\beta$ )의 활성에 의한 I $\kappa$ B protein의 serine residue 인산화 일어난다, 그 후 I $\kappa$ B protein은 ubiquitination 되어 26S proteasom에 의해서 분해되고 그 결과, 유

리된 전사인자 NF- $\kappa$ B가 핵으로 들어가 target 유전자의 NF- $\kappa$ B binding site에 결합하여 iNOS 발현에 의한 NO 생성이 증가되어 염증 반응이 유도된다<sup>40)</sup>.

실험 결과 AE 군에 비해 MT군에서 NF- $\kappa$ B p65 양성반응세포가 유의하게 감소되었으며, NF- $\kappa$ B에 의해 발현되는 iNOS 양성반응세포 역시 유의하게 감소되었음을 확인하였다. 이로서 이온화된 맥반석의 복용 및 도포가 아토피 피부염에서의 NF- $\kappa$ B 활성을 조절하여 염증 반응을 경감시키고 피부 손상을 완화하는 것으로 생각된다.

이상의 실험 결과로 볼 때 혈액학적, 조직학적 관점에서 이온화 된 맥반석이 급성(알러젠성) 아토피 피부염에 피부장벽의 기능 회복과 염증 반응의 조절을 통한 증상 완화에 효과가 있음을 알 수 있었다. 이러한 결과들은 맥반석이 아토피 피부염의 치료제로서 활용 가능성을 시사하는 것으로 향후 지속적인 연구가 필요할 것으로 생각된다.

다만 본 실험에서는 이온화된 맥반석을 경구 투여 및 국부 도포 방식을 동시에 활용하였는데, 개별 적용 방법에 따른 피부 손상 회복 효과 및 맥반석 활용 치료제의 다양한 제조 방법에 따른 효과에 대해 향후 추가적인 연구가 필요하리라 보며, 또한 맥반석이 광물성 약제임을 고려하여 섭취 및 국소 도포 시의 간, 신장을 비롯한 주요 장기에의 축적 및 독성 반응에 대한 연구도 보완되어야 할 것으로 사료된다.

## V. 결 론

맥반석의 항염증작용에 의한 아토피 피부염 유사 피부손상 치료 효과를 조사하기 위해 Nc/Nga 생쥐에 아토피 피부염을 유발시키고, 이온화 된 맥반석을 투여, 병소에 도포한 후 피부 손상, 피부 장벽, 신생혈관 형성, IL-4 생성과 STAT-6발현, NF- $\kappa$ B 활성과 iNOS 등의 변화를 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 피부 손상 (상피 세포 과형성, 탈과립형 비만세포 증가, 과립백혈구와 림프구의 증가, substance P 증가) 부위에서 피부 장벽 보호, 부종의 감소가 관찰되었다.
2. 진피 유두내 모세혈관의 분포가 감소하여 신생혈관형성이 대조군에 비해 유의성 있게 억제되었다.
3. IL-4 생성과 STAT-6 발현도 대조군에 비해 유의성 있게 감소하여 Th2 분화가 조절되었다.
4. NF- $\kappa$ B의 활성 억제를 통한 염증효소 iNOS의 생성 억제가 유도됨이 관찰되었다.

이상의 결과로 이온화 된 맥반석이 아토피 피부염의 피부 장벽 기능의 이상을 완화시키고, 부종을 감소시키며, 급성기 아토피 피부염의 진행을 차단하고, 항염증 작용으로 피부 손상을 완화시켜 초기 아토피 피부염의 증상 완화에 사용 가능할 것으로 사료된다.

## References

1. Boguniewicz M, Leung DY. Atopic dermatitis: a disease of altered skin barrier and immune dysregulation. *Immunological Reviews*. 2011;242(1):233-46.
2. Leung DY, Boguniewicz M, Howell MD, Nomura I, Hamid QA. New insights into atopic dermatitis. *The Journal of Clinical Investigation*. 2004;113(5):651-7.
3. Cork MJ, Danby SG, Vasilopoulos Y, Hadgraft J, Lane ME, Moustafa M, et al. Epidermal barrier dysfunction in atopic dermatitis. *Journal of Investigative Dermatology*. 2009;129(8):1892-908.
4. Eun H. *Immunodermatology*:Seoul university publisher. 1999:27-34.
5. Administration KFD. Clinical trial guidelines

- of herbal medicinal products about atopic dermatitis, 2009.
6. Park MC, Kim JM, Hong SH, Hwang CY. A literature study about the comparison of Oriental-Occidental medicine on the Atopic dermatitis. *J Korean Med Ophthlmal Otolaryngol Dermatol*. 2002;15(1):226-52.
  7. I Si-Jin. *Bonchogangmok*, Seoul:Uiseongdang, 1993:618-9.
  8. Heo Jun. *Dong-uibogam*, Seoul:Daeseong Munwhasa, 1996:287, 510.
  9. Jiang LF, Liao HL, Huang HM, Zhou LX, Li L, Cheng SX, et al. Potential Prevention and Treatment of Maifanite for Alzheimer's Disease Based on Behavior Test, Oxidative Stress Assay, and Trace Element Analysis in Hippocampus of  $A\beta$  (25-35)-Induced AD Rats. *Biological Trace Element Research*, 2013;152(1):50-6.
  10. Du J, Cheng S, Hou W, Shi B, Shan A. Effectiveness of maifanite in reducing the detrimental effects of cadmium on growth performance, cadmium residue, hematological parameters, serum biochemistry, and the activities of antioxidant enzymes in pigs. *Biological Trace Element Research*, 2013; 155(1):49-55.
  11. Jung BG, Toan NT, Cho SJ, Ko JH, Jung YK, Lee BJ. Dietary aluminosilicate supplement enhances immune activity in mice and reinforces clearance of porcine circovirus type 2 in experimentally infected pigs. *Veterinary microbiology*. 2010;143(2-4):117-25.
  12. Okuda M, Yoshiike T, Ogawa H. Detergent-induced epidermal barrier dysfunction and its prevention. *Journal of Dermatological Science*, 2002;30(3):173-9.
  13. Yun MY. NC/Nga Mouse Preventive Effect of the Hydrolyzate is the Scutellanae radix Extracts Atopic Dermatitis Model on Skin Lesion. *Kor J Aesthet Cosmetol*. 2015; 13(6):917-25.
  14. Hanifin J, Cooper K, Ho V, Kang S, Krafchik B. Guideline 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 guideline.". *J Am Acad Dermatol*, 2004;50:391-404.
  15. Lee GS, Pena ID, Choi JY, Yoon SY, Choi JH, Kang TJ, et al. Effect of SPZZC, a Composition of Herb Extracts, on Atopic Dermatitis in BALB/c and NC/Nga Mouse. *Yakhak Hoeji*. 2008;52(3):232-9.
  16. Park YC, Lim JD, Park YK, Yoon MS, Lee SD. Review : Clinical application and efficacy of herbal medicines by modulating cytokines in atopic dermatitis-induced animal model. *The Korea Journal of Herbology*. 2012;27(4): 33-44.
  17. Kim KH, Lee JY, Kim DG. Effects Of Mori Folium On The Atopic Dermatitis. *J Kyung Hee Univ Med Cent*. 2004;20(1):37-45.
  18. Kim GC. Study on the production of the ceramic by the mineral-Oriental medicine and the property of the clean active water depositing on the ceramic stone. *Journal of Physiology & Pathology in Korean Medicine*. 2004;18(4):1159-62.
  19. Cha JY, Cho YS, Ihm JB, Kim DJ. Effect of quartz porphyry supplemented diet on

- mineral content in tissues of common finch, *Journal of Life Science*, 2000;10(6):543-7.
20. Cha JY, Cho YS, Ihm JB, Hong SS, Kim DJ. Effect of quartz porphyry supplemented diet on clinical chemical parameters of serum in white java sparrow. *Journal of Life Science*, 2001;11(1):70-5.
  21. Cha JY, Cho YS, Hong SH, Ihm JB, Kim DJ. Effect of quartz porphyry on the functional and morphological changes of liver and kidney in common finch and white java sparrow. *Journal of Life Science*, 2001;11(2):126-32.
  22. Lee HL, Han JK, Kim YH. Analysis of Baby Bath Preparation, *The Journal of Korean Oriental Pediatrics*, 2011;25(2):102-10.
  23. Kim Dj, An JS. Elvan Tiles Have Built Research and Development Utilizing the Functionality. *The Journal of the Korea Society of Art&Design*, 2011;14(3):10-27.
  24. Al-Mogairen SM. Role of sodium silicate in induction of scleroderma-related autoantibodies in brown Norway rats through oral and subcutaneous administration, *Rheumatology international*, 2011;31(5):611-5.
  25. Hong YJ, Song JC, Shim HA, Keum KS, Lee SH. A Study of external ointment treatment in "Dongeuibogam". *J Korean Med Ophtahlmol Otolaryngol Dermatol*, 2010;23(3):84-108.
  26. Yamamoto M, Haruna T, Yasui K, Takahashi H, Iduhara M, Takaki S, et al. A novel atopic dermatitis model induced by topical application with dermatophagoides farinae extract in NC/Nga mice. *Allergology International*, 2007;56(2):139-48.
  27. Kawakami Y, Yumoto K, Kawakami T. An improved mouse model of atopic dermatitis and suppression of skin lesions by an inhibitor of Tec family kinases. *Allergology International*, 2007;56(4):403-9.
  28. Vestergaard C, Bang K, Gesser B, Yoneyama H, Matsushima K, Larsen CG. A Th2 chemokine, TARC, produced by keratinocytes may recruit CLA<sup>+</sup>CCR4<sup>+</sup> lymphocytes into lesional atopic dermatitis skin. *Journal of Investigative Dermatology*, 2000;115(4):640-6.
  29. Kim BE, Leung DY. Epidermal barrier in atopic dermatitis. *Allergy, Asthma & Immunology Research*, 2012;4(1):12-6.
  30. Knor T, Meholjić-Fetahović A, Mehmedagić A. Stratum corneum hydration and skin surface pH in patients with atopic dermatitis. *Acta Dermatovenerologica Croatica*, 2010; 19(4):242-7.
  31. Misery L. Skin, immunity and the nervous system. *British Journal of Dermatology*, 1997;137(6):843-50.
  32. Abramovits W. Atopic dermatitis. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 2005;53(1 Suppl 1):S86-93.
  33. Morren MA, Przybilla B, Bamelis M, Heykants B, Reynaers A, Degreef H. Atopic dermatitis: triggering factors. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 1994; 31(3):467-73.
  34. Van Reijsen F, Bruijnzeel-Koomen C, Kalthoff F, Maggi E, Romagnani S, Westland J, et al. Skin-derived aeroallergen-specific T-cell clones of Th2 phenotype in patients with atopic dermatitis. *Journal of Allergy and*

- Clinical Immunology, 1992;90(2):184-93.
35. Yawalkar N, Schmid S, Braathen L, Pichler W. Perforin and granzyme B may contribute to skin inflammation in atopic dermatitis and psoriasis. *British Journal of Dermatology*. 2001;144(6):1133-9.
  36. Kim HJ, Shin JU, Lee KH. Atopic dermatitis and skin barrier dysfunction. *Allergy Asthma & Respiratory Disease*. 2013;1(1):20-8.
  37. Howell MD, Fairchild HR, Kim BE, Bin L, Boguniewicz M, Redzic JS, et al. Th2 cytokines act on S100/A11 to downregulate keratinocyte differentiation. *Journal of Investigative Dermatology*. 2008;128(9):2248-58.
  38. Ogawa H, Mukai K, Kawano Y, Minegishi Y, Karasuyama H. Th2-inducing cytokines IL-4 and IL-33 synergistically elicit the expression of transmembrane TNF- $\alpha$  on macrophages through the autocrine action of IL-6. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2012;420(1):114-8.
  39. Perkins ND. Integrating cell-signalling pathways with NF- $\kappa$ B and IKK function. *Nature reviews Molecular Cell Biology*. 2007;8(1):49-62.
  40. Aktan F. iNOS-mediated nitric oxide production and its regulation. *Life Sciences*. 2004;75(6):639-53.