

유산균제제(*Lactobacillus helveticus* HY7801)의 경구 투여가 아토피 피부염 동물모델의 면역 반응 및 피부 개선에 미치는 효과

박양규 · 조정휘 · 최진영* · 김영필* · 유선정* · 김옥진** · †오홍근***

(주)휴벳 책임연구원, *(주)휴벳 연구원, **원광대학교 동물자원개발연구센터 교수, ***(주)휴벳 대표이사

Effect of *Lactobacillus helveticus* HY7801 Oral Administration on Immune Response and Skin Improvement in Animal Model of Atopic Dermatitis

Yang-Gyu Park, Jeong-Hwi Cho, Jinyoung Choi*, Youngpil Kim*,
Seon-Jeong Yu*, Okjin Kim** and †Hong-Geun Oh***

Specialist, HUVET Co., Ltd., Jeongeup 56212, Korea

*Researcher, HUVET Co., Ltd., Jeongeup 56212, Korea

**Professor, Center for Animal Resources Development, Wonkwang University, Iksan 54538, Korea

***CEO, HUVET Co., Ltd., Jeongeup 56212, Korea

Abstract

Probiotics improve the immune system. However, the effects of its lactic acid bacteria on atopic dermatitis relief and inflammation improvement is not fully understood. Recently, one of the probiotics, *Lactobacillus helveticus* HY7801 (HY7801), was found to have an anti-inflammatory effect. In this study, we investigated the effects of HY7801 on atopic dermatitis-induced animal models. After four weeks of oral administration, the group treated with HY7801 showed amelioration of the atopic dermatitis compared to the group receiving placebo. In the HY7801 treated group, the epidermal hyper-proliferation and collagen deposition were inhibited compared to the placebo group, and the secretion amount of the inflammatory factors, such as TNF- α , IL-4 were reduced. In conclusion, these results suggest that HY7801 acts as a functional probiotic via amelioration of the atopic dermatitis such as a decrease of epidermal hyper-proliferation, and collagen deposition and anti-inflammatory effects.

Key words: canine, atopic dermatitis, probiotic, HY7801, house dust mite

서 론

아토피 피부염(atopic dermatitis)은 염증과 가려움증을 주 증상으로 하는 만성 난치성 피부염이다(Ryu 등 2017; Wong 등 2017). 아토피 피부염은 주로 소아에서 흔히 발생하는 것으로 알려져 있다. 아토피 피부염의 누적 발생률은 전세계적으로 8~30% 정도로 점점 증가하는 추세이며, 국내 또한 유사한 양상을 띄고 있다(Lee 등 2016). 최근, 국내 International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC)의 조사 결과에 따르면, 국내 초등학생의 아토피 피부염 누

적률이 과거 19.7%에서 35.6%로 증가하는 것으로 밝혀져 있다(Lee 등 2011).

이러한, 아토피 피부염의 병인은 아직 명확하지 않으나, 유전적 요인, 환경적 요인, 면역학적 이상, 식품항원 감작 등 여러 요인들이 아토피 피부염의 발생에 관여를 한다고 알려져 있다(Sehgal 등 2015; Werfel 등 2016). 아토피 피부염환자 중 특히 소아의 경우, 음식과 아토피 피부염 사이에 관련성이 있다고 알려져 있다(Greenhawt M 2010; Kang 등 2012). 최근 밝혀진 연구결과에 의하면, 식품과 관련된 알레르기 반응은 3세 이하의 소아에서 6~8%로 연령이 증가함에

† Corresponding author: Hong-Geun Oh, CEO, HUVET Co., Ltd., Jeongeup 56212, Korea. Tel: +82-63-851-7061, Fax: +82-303-0944-7061, E-mail: dvmoh@hanmail.net

따라 감소하는 양상을 띄고 있다(Lee 등 2016). 또한, 아토피 질환이 있을 경우, 정상인에 비해 식품 관련 알레르기 비율이 20~80%로 증가한다고 알려져 있다(Hill 등 2000). 종합해 보면, 소아에서 관찰되는 아토피 피부염의 경우, 식품 섭취의 조절이 아토피 피부염의 예방 및 치료에 관련이 있음을 예상할 수 있다.

일반적으로, 아토피 피부염을 치료하기 위해서는 발병의 원인을 밝혀 제거하고, 염증요인의 감소를 통해 가려움증을 완화시키는 방법을 주로 사용하고 있다. 즉, 염증요인을 감소시킴으로써, 아토피 피부염의 전반적인 양상을 완화시키는 것이 치료의 주목적이다. 따라서, 항염 효과를 가지는 소재가 아토피 피부염의 완화에 효과를 미칠 수 있음을 예상할 수 있다. 그러나, 아토피 피부염의 명확한 병인요인이 밝혀지지 않은 상태에서, 약물을 이용한 인위적인 치료는 근본적인 치료방법이라 보기 어렵기 때문에, 이번 연구에서는 아토피 피부염의 근본적인 원인을 해결할 목적으로 기능성 식품 소재가 아토피 피부염에 미치는 영향을 밝히고자 하였다.

기능성 식품의 하나인 유산균 소재는, 적당량을 섭취할 경우 숙주의 건강에 유익한 영향을 미치는 것으로 밝혀져 있다(Kim 등 2015a; Yoon & Shin 2017). 염증성 질환에서, 유산균 소재는 Th1/Th2 세포의 비율을 조절하고, 혈청 내 IgE와 사이토카인들의 분비를 조절하여 항염 효과를 나타낸다고 알려져 있다(Shin 등 2016; Ding 등 2017). 여러 유산균 소재들의 항염 효과가 밝혀져 있음에도, 아토피 피부염에 대한 유산균의 효과는 아직 명확하지 않다. 유산균 소재의 하나인 *Lactobacillus helveticus* HY7801(HY7801)은 TNF- α , IL-1b 및 NF- κ B의 활성화를 억제하여 칸디다에 의한 질염을 개선시킬 수 있고, 염증성 사이토카인들의 분비를 조절하여 류마티스성 관절염을 억제할 수 있음이 밝혀졌다(Joo 등 2012; Kim 등 2015b). 따라서, 이번 연구에서는 항염 효과가 검증된 HY7801 유산균을 이용하여, HY7801이 아토피 피부염 개선에 미치는 효과를 확인하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물 및 시약

실험에 사용한 동물은 총 10마리 (각 군별로 5마리, 수컷)의 6개월령 Beagle dog(비글)을 오리엔트(Seongnam, Gyeonggi-do, Korea)로부터 구입하여 사용하였다. 각 비글들이 실험 환경에 잘 적응할 수 있도록, 고형사료(puppy chow, Purina)와 물을 자유롭게 급여하면서 1주간 실험 환경에 적응시켰다. 경구 투여에 사용된 위약과 HY7801은 다음과 같은 방식을 이용하여 제작되었다. HY7801(1×10^9 CFU)과 부형제(이산화 규소, 스테아린산 마그네슘)를 혼합한 뒤, 경질 캡슐 충전기를 이용하여 경질 캡슐(중량 450 mg)을 제작하였고, 위약은 이 조건에서 HY7801만 제외한 뒤 경질 캡슐로 제작되었다. 실험에 사용된 위약과 HY7801은 한국야쿠르트(Yongin, Gyeonggi-do, Korea)로부터 공급받았다.

2. 실험동물 처치

실험군은 크게, 투여 전군(Baseline), 아토피를 유발 후 위약 투여군(AD-Con), 아토피 유발 후 HY7801 투여군(AD-HY7801)으로 나누었다. 아토피 피부염 유발 전에 무작위로 5마리를 선정하여 Baseline군으로 설정하여 샘플을 확보하였고, 개체의 이상 여부를 확인한 뒤 왼쪽 귀에 아토피 피부염을 유발하였다. 아토피 피부염 병변을 유발하기 위해, 각 개체의 왼쪽 귓바퀴를 제모한 뒤, 아토피 피부염을 유발하는 것으로 알려진 2,4-dinitrochlorobenzene(DNCB)와 house dust mite(HDM)를 왼쪽 귀의 내측 부위에 도포하였다(Martel 등 2017; Jang 등 2018; Ku 등 2018). DNCB는 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA) 제품을 사용하였고, HDM 연고는 Biostir-AD(Biostir Inc., Kobe, Japan) 제품을 사용하였다. 본 실험에서는 HDM 31 mg/mL, DNCH 용액 2.5% DNCB (in acetone:Olive oil=1:3)로 Stock을 만들어, HDM은 1.6 mL 용량을 주 1회, 2.5% DNCB는 150 μ L 용량을 주 2회 왼쪽 귀에 도포하여 아토피 피부염을 유발하였다(Fig. 1). 실험이 진행되는 동안, 위약과 HY7801 경질 캡슐은 1일 1회

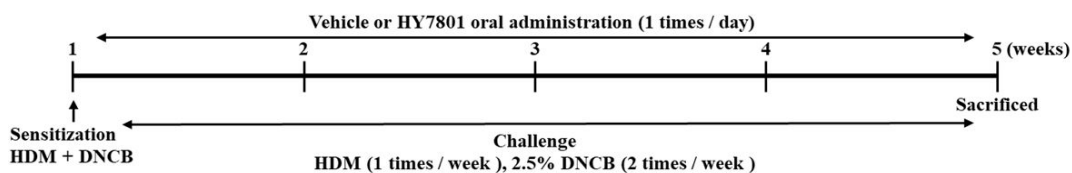


Fig. 1. Schedule for atopic dermatitis-induced in Beagle dog and oral administration of HY7801. Experimental protocol for induction of atopic dermatitis in dog, HY7801 and placebo oral-administration. For atopic dermatitis sensitization, the ear skin was applied atopic dermatitis inducer (2.5% DNCB+HDM ointment) on day 1. After the sensitization was completed, the following process was performed. On the sensitized region, 2.5% DNCB was applied at 3-day intervals and HDM at 1-week intervals, respectively. The dogs were sacrificed 4 weeks after to evaluate the effects of HY7801 oral-administration.

강제 경구 투여하였다. 본 연구는 원광대학교 연구윤리위원회의 승인을 받아 시행하였다(WKU18-03).

3. 육안평가

육안평가는 아토피 피부염에서 사용되는 임상적 육안 평가 방법인 CADESI를 이용하였다(Olivry 등 2007). CADESI는 임상에서 아토피 피부염 증상의 심각성 정도를 측정하기 위해 널리 쓰이는 방법으로, 사람에게 이용되는 SCORAD에서 고안된 것이다(Murray 등 2016). 본 실험에서는 Table 1에 나타난 바와 같이, 홍반(erythema), 가려움과 피부건조(pruritus & dry skin), 부종과 혈종(edema & excoriation), 짓무름(erosion) 그리고 태선화(lichenification) 항목을 선택하여 각각 항목에 대해 증상 없음(0점), 약함(1점), 보통(2점), 심함(3점)으로 채점한 후, 합산하여 최소 0점에서 최고 15점 사이의 점수를 부여하여 평가하였다.

4. 혈액을 이용한 cytokine 분석

Baseline군, AD-Con군, AD-HY7801군에서 획득한 혈액 샘플(각 3 mL)을 가지고 혈액 분석을 진행하였다. 이후, 혈액 샘플은 1,500×g, 4°C에서 5분간 원심 분리하여 혈청을 분리하였다. 분리한 혈청에서 각 군별, IgE의 농도 및 cytokine(TNF- α , IL-4, IL-10, IL-31, INF- γ)들의 농도는 ELISA kit을 이용하여 측정하였다. Abcam(Cambridge, UK)의 ELISA kit을 이용하여 IgE, TNF- α , IL-10, INF- γ 를 측정하였고, MyBioSource(San Diego, CA, USA)의 ELISA kit을 이용하여 IL-4, IL-31을 측정하였다. 측정은 각 제조사의 프로토콜을 따라 진행하였다.

5. 조직검사

조직검사를 위해 Baseline군을 제외한 AD-Con, AD-HY7801군의 병변이 있는 왼쪽 내측 귀(pinna)의 피부조직을 직경 0.5 cm로 생검하여 샘플을 준비하고, 5 μ m 파라핀 절편을 만들었다. 각 표본을 Hematoxylin과 Eosin(H&E), Masson's-Trichrome(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)으로 염색하여 각각 표피 두께 및 콜라겐 밀도를 확인하였다.

Table 1. Intensity criteria of clinical skin severity score

Symptoms	Score
Erythema	0: None
Pruritus / dry skin	1: Mild
Edema / excoriation	2: Moderate
Erosion	3: Severe
Lichenification	(Maximum: 15)

표피 두께와 콜라겐 밀도는 각 표본($\times 200$)의 5부분을 무작위로 측정하고, 측정된 값의 평균값을 구하였다. 표피 두께는 현미경상에서 진피층 위의 표피층을 측정하였다. 콜라겐 밀도는 image J(NIH, USA)를 이용하여 콜라겐 염색 정도를 측정하였으며, AD-Con군을 기준으로 모든 군을 표준화하였다.

6. 통계처리

본 연구에서 얻은 결과는 평균 \pm 표준편차로 표시하였고, 통계 분석은 Prism 5.0(Graphpad Software Inc., San Diego, CA, USA)을 사용하여 수행했으며, 유의성은 *t*-test (Two-sample and Paired)를 사용하여 결정하였다(유의수준 $p < 0.05$).

결과 및 고찰

1. 아토피 피부염 육안평가

육안평가는 아토피 피부염에서 일반적으로 사용되는 임상적 평가방법인 CADESI를 이용하였다(Murray 등 2016). 본 실험에서는 5가지 항목(홍반, 가려움 및 피부건조, 부종과 혈종, 짓무름, 태선화)을 각각 점수화하여 평가(Table 1)한 뒤 이를 수치분석하였다(Fig. 2). 병변의 양상을 관찰하기 위해 각 개체들의 왼쪽 귀 내측을 매주 1회 관찰하였다. 아토피 피부염 유발 1주차에 AD-Con군과 AD-HY7801군 모두 아토피 피부염이 유발되어 있는 것을 확인하고, 매주 병변 부위를 관찰하였다. 그 결과, AD-HY7801군은 AD-Con군에 비해 아토피 피부염이 육안상으로 감소하는 양상을 띄

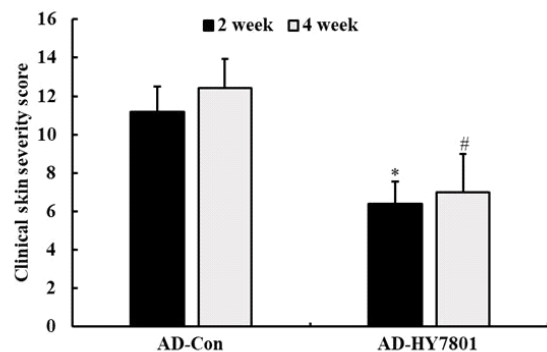


Fig. 2. Effect of HY7801 on clinical score of atopic dermatitis-induced Beagle dogs. The clinical score of the clinical severity in atopic dermatitis-induced skin lesions was monitored every 2 weeks. Values represent the mean \pm SD of the total score from 5 dogs for each group(* $p < 0.05$ compared with the 2-week AD-Con group, # $p < 0.05$ compared with the 4-week AD-Con group).

었다(Fig. 3). 이러한 육안평가 결과를 명확히 하고자, CADESI 분석을 수행하였고, 2주차에 AD-Con군은 11.2 ± 1.30 , AD-HY7801군은 6.4 ± 1.14 를 나타냈고, 4주차에는 각각 12.4 ± 1.52 , 7 ± 2 의 점수를 나타내었다. 이를 바탕으로 육안평가상, AD-HY7801군은 AD-Con군에 비해 아토피 피부염의 병변이 감소되는 것을 확인하였다.

2. 표피두께 및 진피 콜라겐 밀도 변화

연구에 사용된 각 군별 5마리의 실험동물 중, 병변 부위를 무작위로 선정하여 조직 샘플을 얻은 뒤, H&E, Masson's trichrome stain을 수행하였다. 아토피 피부염을 유발함에 따라 AD-Con군, AD-HY7801군 모두 Baseline군에 비해 표피 조직이 증식되어 있음을 확인하였다. 표피의 두께는 Baseline군 $43.5 \pm 5.54 \mu\text{m}$, AD-Con군 $86.22 \pm 9.48 \mu\text{m}$, AD-HY7801군 $72.63 \pm 6.4 \mu\text{m}$ 로 관찰되었다. 증가된 표피조직의 증식은 HY7801의 섭취를 통해, 유의하게 감소($p=0.0290$)된 것을 확인하였다 (Fig. 4). 콜라겐의 밀도 변화를 확인한 결과, 아토피 피부염을 유발함에 따라 Baseline군에 비해 AD-Con군에서 증가되는 것을 확인하였고($p=0.0009$), 증가된 콜라겐의 밀도는 HY7801 섭취에 의해 유의하게 감소되었다($p=$

0.0110). AD-Con군을 기준으로 콜라겐의 밀도를 확인한 결과, HY7801를 섭취함에 따라 콜라겐의 밀도가 눈에 띄게 감소하는 양상을 확인하였다.

3. 혈청 내 total IgE 함량 및 사이토카인 분비량 측정

실험 최종일 모든 실험동물의 경정맥에서 혈액을 채취하여 Total IgE의 함량 및 사이토카인 분비량을 측정하였다 (Fig. 5, Fig. 6). 혈청 내 IgE의 과발현은 아토피 피부염의 대표적인 표식으로, 본 실험에서도 HY7801의 섭취가 혈청 내 IgE의 함량에 미치는 영향을 확인하였다. 그 결과, 혈청 내 IgE의 함량은 Baseline군 $45.83 \pm 15.01 \text{ ng/mL}$, AD-Con군 $53.06 \pm 21.66 \text{ ng/mL}$, AD-HY7801군 $50.48 \pm 11.98 \text{ ng/mL}$ 로 나타났다. 일반적으로 아토피 피부염이 유발될 경우, 혈중 IgE의 함량은 증가되는 양상을 띤다. 그러나, 본 실험 결과에서는 Baseline군 및 AD-Con, AD-HY7801군 모두 IgE의 수치가 아토피 유발 전후에서 큰 차이가 관찰되지 않았다.

이 결과는, 다음과 같은 원인에 기인된 것으로 예상된다. 첫째, 아토피 피부염을 유발한 부위가 실험동물로 사용한 개의 귀에 국한되어 있기 때문에, 혈청 내 IgE의 변화 양상이 미미하게 관찰될 가능성이 있다. 둘째, 실험 모델로 이용

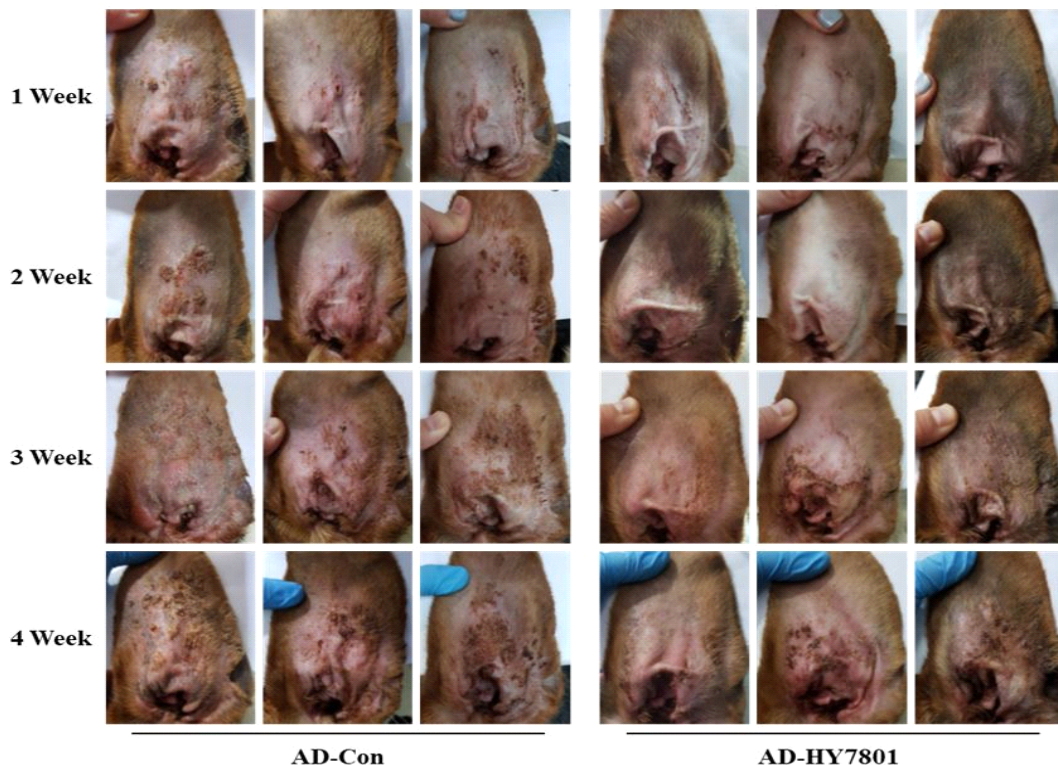


Fig. 3. Effect of HY7801 on clinical skin features of atopic dermatitis-induced Beagle dogs. Photographs of the clinical severity in atopic dermatitis-induced skin lesions were monitored every 1 week. AD-Con: the atopic dermatitis-induced group was treated orally with placebo, AD-HY7801: the atopic dermatitis-induced group was treated orally with HY7801.

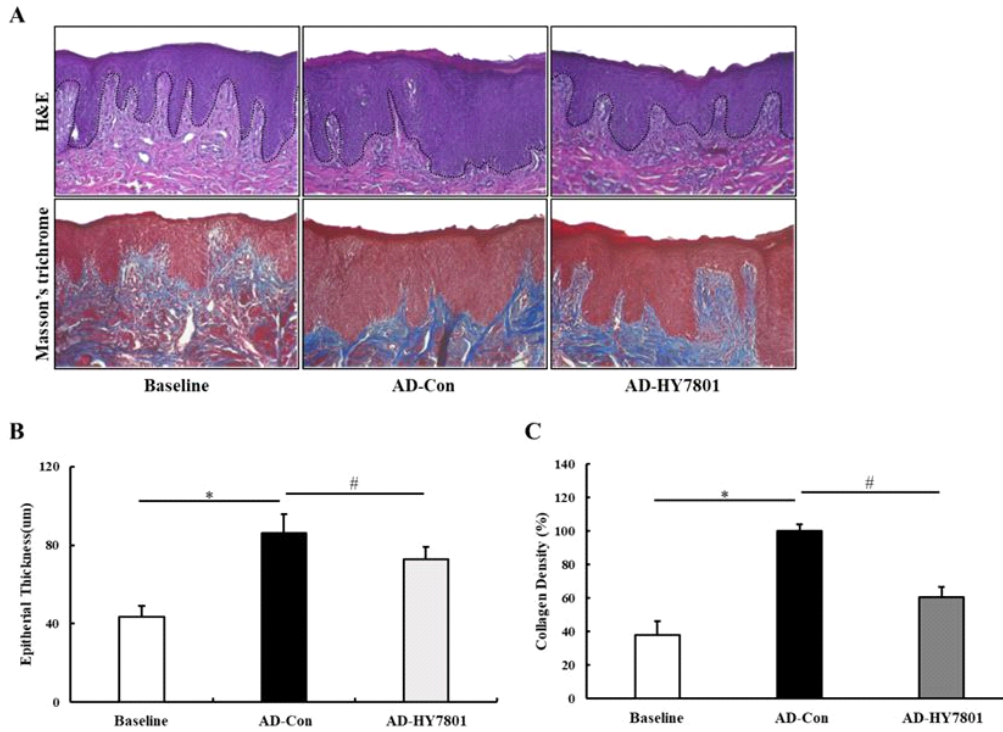


Fig. 4. Effect of HY7801 oral administration on epidermal thickness and collagen density of atopic dermatitis-induced Beagle dogs. Skin tissue was dissected with 5 µm and stained with H&E and Masson's trichrome(A; ×200). The epidermis was described above the dotted line (A). Epidermal thickness (µm) was measured in micrometer for each group and presented as a graph and semi-quantitative analysis of fibrosis with Masson's-Trichrome staining on dog skin (B) (×200). All the data has been shown as the average of each group and presented with mean values±S.D. **p*<0.05 compared with the Baseline group, #*p*<0.05 compared with the AD-Con group.

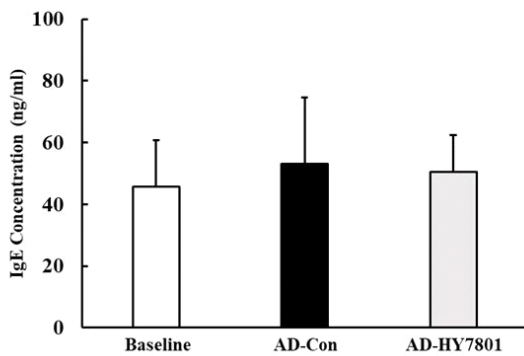


Fig. 5. Effect of HY7801 on total IgE production in serum from atopic dermatitis-induced Beagle dogs. Total IgE in serum was measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Total IgE in serum was measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Serum from the normal group was taken before the induction atopic model. All the data has been depicted as the average of each group with the mean value±S.D.

한 개의 선천적인 IgE 함량이 높기 때문에 나타난 결과로 추측된다(Hammerberg B 2009). 실제로 이전 연구들에서도 개의 IgE가 높은 수준임을 확인할 수 있다(Foster 등 2003; Tarpataki 등 2018). 이전 연구내용들을 바탕으로 본 실험의 IgE 결과를 고찰해 보면, 개의 경우 선천적으로 IgE의 수치가 높고, 본 실험에서는 국소부위인 귀에 아토피를 유발하여 혈중 내의 IgE를 측정하였기 때문에, 국소부위의 변화가 전체 혈액 내 IgE의 수준을 변화시키기에는 그 정도가 미약했던 것으로 예상된다. 이로 인해, 혈중 내 IgE의 수치가 큰 차이를 보이지 않은 것으로 판단되며, 추후 개에서 IgE의 변화는 해당 병변 부위를 선택하여 IgE의 차이를 관찰하는 것이 정확한 결과 해석을 위한 방법이라 예상된다. 아토피 피부염이 나타나게 되면, 염증 관련 인자들의 이상이 관찰된다. 이전 연구 결과에서, HY7801은 염증 관련 인자들의 발현을 조절하여 칸디다 질염을 개선시킬 수 있음이 밝혀져 있다(Joo 등 2012). 이러한 사실을 기초로, 아토피 피부염에 의해 조절된 염증 관련 인자들이 HY7801에 의해 조절되는

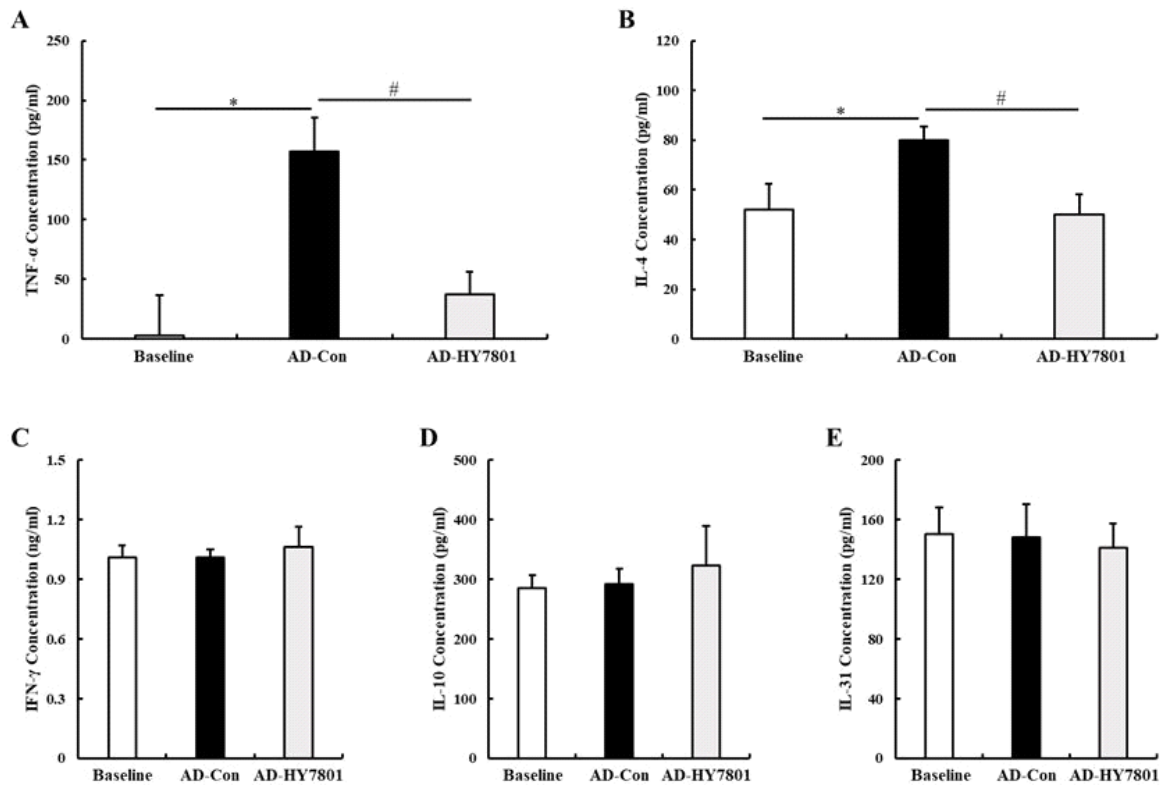


Fig. 6. Effect of HY7801 on cytokine production in atopic dermatitis-induced Beagle dog. Serum TNF- α amounts and cytokine in normal and AD-Con, AD-HY7801 treated beagle dogs. TNF- α and cytokine in serum was measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). All the data has been shown as the average of each group and presented with mean values \pm S.D. * p <0.05 compared with the Baseline group, # p <0.05 compared with the AD-Con group.

양상을 확인하였다. 아토피 피부염의 염증반응에서, TNF- α , IL-4, IL-10, IL-31, INF- γ 와 같은 염증 관련 인자들은 세포의 신호전달 과정을 통해 면역반응에 관여하는 것으로 알려져 있다(Brandt & Sivaprasad 2011; Danso 등 2014; Biedermann 등 2015; Marsella 등 2018; Kanoh 등 2019). 따라서, HY7801의 섭취가 염증성 사이토카인 TNF- α , 급성아토피 사이토카인 IL-4, IL-10, IL-31, 만성아토피 사이토카인 INF- γ 등과 같은 염증 관련 인자들에 미치는 영향을 확인하고자 하였다 (Fig. 6). TNF- α 의 분비량은 Baseline군 2.72 ± 34.11 pg/mL, AD-Con군 157.11 ± 28.15 pg/mL, AD-HY7801군 37.192 ± 18.89 pg/mL의 농도로 관찰되었다(Fig. 6). Baseline군에 비해, AD-Con군에서 TNF- α 는 100배 가까이 증가하는 것을 확인하였다. 아토피를 유발하여 증가된 초기 염증반응은 HY7801을 섭취함에 따라 3배 가까이 낮아지는 것을 확인하였다. TNF- α 는 초기 염증반응에 관련이 있는 것으로 알려져 있다(Popa 등 2007). 이 결과는 HY7801의 섭취가 초기 아토피 염증반응을 낮출 수 있음을 의미한다. IL-4의 분비량은 Baseline군 52.08 ± 10.47 pg/mL, AD-Con군 79.89 ± 5.7 pg/mL,

AD-HY7801군 50.21 ± 8.06 pg/mL를 나타내었고, 아토피 피부염에 의해 증가된 IL-4는 HY7801의 섭취에 의해 약 29.68 pg/mL 정도 감소하는 것을 확인하였다(Fig. 6B). 급성 아토피 피부염에 관여하는 사이토카인인 IL-4는 아토피 피부염의 증상인 소양감, 염증세포의 침윤 등에 관련이 있고, 항염과 관련 있는 IL-10을 억제하여 급성에서 만성으로 넘어가는 과정에 중요한 역할을 수행한다(Yoshizawa 등 2002; Raap 등 2012). 본 실험을 통해 아토피 피부염 유발에 의해 증가된 IL-4의 분비량은 HY7801의 섭취에 의해 유의하게 감소됨을 확인하였다. Treg 세포에 의해 생성되는 사이토카인인 IL-10은 아토피의 주요 시그널인 JAK-STAT를 억제하며, 여러 사이토카인(TNF- α , INF- γ)들을 억제한다고 알려져 있다(Kawahara 등 2018). 본 실험에서는 IL-10의 농도가 모든 군에서 유의한 차이가 관찰되지 않았다(Fig. 6C). HY7801의 섭취는 초기 급성 아토피 유발 지표들만 반응하는 것으로 보아, 급성에서 만성으로 넘어가는 단계인 IL-10은 아직 영향을 덜 받은 것으로 판단된다. 아토피 환자에서 관찰되는 높은 농도의 IL-31은 주로 병의 증증도와 혈청 IgE와 상관

관계가 있다(Marsella 등 2018). 본 실험에서는 IL-31의 분비량은 모든 군에서 유의적인 차이가 관찰되지 않았다(Fig. 6D). 이러한 결과는 HY7801의 섭취가 초기 TNF- α , IL-4 시그널 이후에는 영향을 미치지 못한 것으로 판단된다. Th1 세포에서 생성되는 INF- γ 는 STAT1을 통해 Th1 세포의 분화를 촉진시키고, 각질형성세포의 성숙과 분화를 촉진한다(Li 등 2018). 이를 통해 INF- γ 는 피부 방벽의 기능을 높여주지만, 만성적인 유발은 표피의 두께를 두껍게 만든다. 본 실험에서는 INF- γ 의 분비량 차이가 관찰되지 않았다(Fig. 6E). 아토피 피부염 초기에 증가된 두꺼운 표피는 INF- γ 가 아닌 TNF- α 의 농도에 따른 결과로 판단된다. 이전 연구에서도 피부 장벽의 장애에 대해 TNF- α 가 관련이 있음이 밝혀져 있다(Song 등 2019).

종합해 보면, 초기 아토피 피부염의 증상은 HY7801의 섭취에 의해 개선됨을 확인하였다. 구체적으로, 병변 부위의 피부 두께를 개선하고, 콜라겐의 밀도를 감소시킬 수 있으며, 아토피 초기에 증가하는 TNF- α , IL-4와 같은 사이토카인의 농도를 적절히 낮추어 염증반응은 진행하되, 그 정도가 완만히 진행되도록 조절작용을 한다는 것이다.

본 실험 결과는 HY7801의 섭취가 초기 아토피 증상의 완화에 대한 결과를 확인한 연구로, 만성 아토피 증상의 개선에 대한 효과는 추가적인 연구가 필요하다. 결론적으로, HY7801의 섭취는 아토피 피부염에서 관찰되는 염증반응과 관련된 사이토카인들의 분비량을 조절함으로써, 초기 면역과민반응 및 피부질환 개선에 효과를 미치는 것으로 판단된다.

요약 및 결론

아토피 피부염이 유도된 개 모델을 이용하여 기능성 식품 소재인 유산균 HY7801이 아토피 피부염의 완화에 미치는 효과를 확인해 보았다. 그 결과, HY7801의 섭취는 아토피 피부염의 증상 완화에 효과가 있음을 확인하였다. 아토피 피부염에 의해 관찰된 육안 병변은 HY7801을 섭취할 경우, 그 중증도가 완화되는 것을 확인하였고, 실제로, 아토피 피부염에 의해 과증식된 표피조직이, HY7801을 섭취함에 따라 감소되는 양상을 확인하였다. 뿐만 아니라, 아토피 피부염에 의해 증가된 콜라겐의 침착은 HY7801의 섭취에 따라 유의하게 감소되는 양상을 하였다. TNF- α , IL-4와 같은 혈청 내 사이토카인들의 분비량은 HY7801의 섭취에 따라 TNF- α 와 IL-4의 분비량은 유의하게 감소하는 것을 확인하였다. 반면에, IL-10, IL-31, INF- γ 의 변화 및 혈청 내 IgE의 변화에는 유의미한 결과를 나타내지 않았다. 이러한 결과들을 종합해 보면, 기능성 식품 소재인 유산균 HY7801의 섭취는 아토피 피부염의 초기에 관여하여 TNF- α , IL-4과 같은

염증관련 사이토카인들의 분비량을 감소시킴으로써, 초기 면역과민반응 및 피부질환의 개선에 도움을 줄 수 있을 것으로 판단된다.

References

- Biedermann T, Skabytska Y, Kaesler S, Volz T. 2015. Regulation of T cell immunity in atopic dermatitis by microbes: The Yin and Yang of cutaneous inflammation. *Front Immunol* 6:353
- Brandt EB, Sivaprasad U. 2011. Th2 cytokines and atopic dermatitis. *J Clin Cell Immunol* 2:110
- Danso MO, van Drongelen V, Mulder A, van Esch J, Scott H, van Smeden J, El Ghalbzouri A, Bouwstra JA. 2014. TNF- α and Th2 cytokines induce atopic dermatitis-like features on epidermal differentiation proteins and *Stratum corneum* lipids in human skin equivalents. *J Invest Dermatol* 134:1941-1950
- Ding YH, Qian LY, Pang J, Lin JY, Xu Q, Wang LH, Huang DS, Zou H. 2017. The regulation of immune cells by *Lactobacilli*: A potential therapeutic target for anti-atherosclerosis therapy. *Oncotarget* 8:59915-59928
- Foster AP, Knowles TG, Moore AH, Cousins PD, Day MJ, Hall EJ. 2003. Serum IgE and IgG responses to food antigens in normal and atopic dogs, and dogs with gastrointestinal disease. *Vet Immunol Immunopathol* 92: 113-124
- Greenhawt M. 2010. The role of food allergy in atopic dermatitis. *Allergy Asthma Proc* 31:392-397
- Hammerberg B. 2009. Canine immunoglobulin E. *Vet Immunol Immunopathol* 132:7-12
- Hill DJ, Sporik R, Thorburn J, Hosking CS. 2000. The association of atopic dermatitis in infancy with immunoglobulin E food sensitization. *J Pediatr* 137:475-479
- Jang HY, Koo JH, Lee SM, Park BH. 2018. Atopic dermatitis-like skin lesions are suppressed in fat-1 transgenic mice through the inhibition of inflammasomes. *Exp Mol Med* 50:1-9
- Joo HM, Kim KA, Myoung KS, Ahn YT, Lee JH, Huh CS, Han MJ, Kim DH. 2012. *Lactobacillus helveticus* HY7801 ameliorates vulvovaginal candidiasis in mice by inhibiting fungal growth and NF- κ B activation. *Int Immunopharmacol* 14:39-46
- Kang SA, Choi HJ, Kim JH. 2012. Development and

- application of nutrition education program for prevention and management of atopic dermatitis. *Korean J Food Nutr* 25:383-392
- Kanoh H, Ishitsuka A, Fujine E, Matsuhaba S, Nakamura M, Ito H, Inagaki N, Banno Y, Seishima M. 2019. IFN- γ reduces epidermal barrier function by affecting fatty acid composition of ceramide in a mouse atopic dermatitis model. *J Immunol Res* 2019:3030268
- Kawahara T, Hanzawa N, Sugiyama M. 2018. Effect of *Lactobacillus* strains on thymus and chemokine expression in keratinocytes and development of atopic dermatitis-like symptoms. *Benefic Microbes* 9:643-652
- Kim EY, Jo KG, Ahn SH, Park SS, Son HS, Han SH. 2015a. Effect of lactic acid bacteria powder on loperamide-induced constipation in rat. *Korean J Food Nutr* 28: 956-964
- Kim JE, Chae CS, Kim GC, Hwang W, Hwang JS, Hwang SM, Kim Y, Ahn YT, Park SG, Jun CD, Rudra D, Im SH. 2015b. *Lactobacillus helveticus* suppresses experimental rheumatoid arthritis by reducing inflammatory T cell responses. *J Funct Foods* 13:350-362
- Ku JM, Hong SH, Kim SR, Choi HS, Kim HI, Kim DU, Oh SM, Seo HS, Kim TY, Shin YC, Cheon C, Ko SG. 2018. The prevention of 2,4-dinitrochlorobenzene-induced inflammation in atopic dermatitis-like skin lesions in BALB/c mice by Jawoongo. *BMC Complement Altern Med* 18:215
- Lee JH, Hong SW, Kim SA, Choi HJ, Kim MK, Suh YS. 2016. Beneficial effect of diet intervention on school children with atopic dermatitis. *Korean J Health Promot* 16:32-36
- Lee SI, Kim J, Han Y, Ahn K. 2011. A proposal: Atopic Dermatitis Organizer (ADO) guideline for children. *Asia Pac Allergy* 1:53-63
- Li T, Gu M, Liu P, Liu Y, Guo J, Zhang W, Qian C, Deng A. 2018. Clinical significance of decreased interleukin-35 expression in patients with psoriasis. *Microbiol Immunol* 62:454-461
- Marsella R, Ahrens K, Sanford R. 2018. Investigation of the correlation of serum IL-31 with severity of dermatitis in an experimental model of canine atopic dermatitis using beagle dogs. *Vet Dermatol* 29:69-e28
- Martel BC, Lovato P, Bäumer W, Olivry T. 2017. Translational animal models of atopic dermatitis for preclinical studies. *Yale J Biol Med* 90:389-402
- Murray C, Ahrens K, Devalaraja M, Dymond M, Fagura M, Hargreaves A, Holt A, Peers I, Price S, Reens J, Riley R, Marsella R. 2016. Use of a canine model of atopic dermatitis to investigate the efficacy of a CCR4 antagonist in allergen-induced skin inflammation in a randomized study. *J Invest Dermatol* 136:665-671
- Olivry T, Marsella R, Iwasaki T, Mueller R. 2007. Validation of CADESI-03, a severity scale for clinical trials enrolling dogs with atopic dermatitis. *Vet Dermatol* 18:78-86
- Popa C, Netea MG, van Riel PL, van der Meer JW, Stalenhoef AF. 2007. The role of TNF-alpha in chronic inflammatory conditions, intermediary metabolism, and cardiovascular risk. *J Lipid Res* 48:751-762
- Raap U, Weissmantel S, Gehring M, Eisenberg AM, Kapp A, Fölster-Holst R. 2012. IL-31 significantly correlates with disease activity and Th2 cytokine levels in children with atopic dermatitis. *Pediatr Allergy Immunol* 23:285-288
- Ryu DH, Oh SR, Jung TS, Ryu DS. 2017. The effect of *Angelica gigas* Nakai extract and *Bacillus polyfermenticus* KJS-2 on atopic dermatitis induced by DNCB in mice. *J Korean Med* 38:30-42
- Sehgal VN, Khurana A, Mendiratta V, Saxena D, Srivastava G, Aggarwal AK. 2015. Atopic dermatitis; etio-pathogenesis, An overview. *Indian J Dermatol* 60:327-331
- Shin JH, Chung MJ, Seo JG. 2016. A multistrain probiotic formulation attenuates skin symptoms of atopic dermatitis in a mouse model through the generation of CD4⁺Foxp3⁺ T cells. *Food Nutr Res* 60:32550
- Song DU, Min GY, Hong SY, Lim SE, Huh J, Sohn YH, Jung HS. 2019. Effects of KMS on the DNCB induced animal model of atopic dermatitis. *J Korean Med* 40:63-77
- Tarpataki N, Thuróczy J, Fischer N, Jacquenet S, Rostaher A, Richard C, Zwickl L, Olivry T, Favrot C. 2018. A pilot study of total and allergen-specific IgE serum levels during anestrus, estrus and pregnancy in healthy female dogs. *Vet Dermatol* 29:329-e115
- Werfel T, Allam JP, Biedermann T, Eyerich K, Gilles S, Guttman-Yassky E, Hoetzenecker W, Knol E, Simon HU, Wollenberg A, Bieber T, Lauener R, Schmid-Grendelmeier P, Traidl-Hoffmann C, Akdis CA. 2016. Cellular and molecular immunologic mechanisms in

- patients with atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 138:336-349
- Wong LS, Wu T, Lee CH. 2017. Inflammatory and noninflammatory itch: Implications in pathophysiology-directed treatments. *Int J Mol Sci* 18:E1485
- Yoon JA, Shin KO. 2017. Studies on the function of lactic acid bacteria and related yeasts in probiotics: A review. *Korean J Food Nutr* 30:395-404
- Yoshizawa Y, Nomaguchi H, Izaki S, Kitamura K. 2002. Serum cytokine levels in atopic dermatitis. *Clin Exp Dermatol* 27:225-229
-
- Received 23 January, 2020
Revised 07 April, 2020
Accepted 07 April, 2020