

ORIGINAL ARTICLE

황납추출물이 도파민세포 보호효과 및 파킨슨병 행동장애에 미치는 영향

임혜선 · 문병철 · 박건혁*

한국한의학연구원 한약자원연구센터

Cera Flava Improves Behavioral and Dopaminergic Neuronal Activities in a Mouse Model of Parkinson's Disease

Hye-Sun Lim, Byeong Cheol Moon, Gunhyuk Park*

Herbal Medicine Resources Research Center, Korea Institute of Oriental Medicine, Daejeon 34054, Korea

Abstract

Parkinson's Disease (PD) is a chronic neurodegenerative disorder caused by the progressive loss of dopaminergic neurons, leading to decreased dopamine levels in the midbrain. Although the specific etiology of PD is not yet known, oxidative stress, inflammation, and subsequent apoptosis have been proposed to be closely related to PD pathophysiology. Cera Flava (CF) is a natural extract obtained from beehives and is isolated through the heating, compression, filtration, and purification of beehives. CF has been used in traditional medicines for its various clinical and pharmacological effects. However, its effects on neurodegenerative diseases are unknown. Therefore, we investigated the effects of CF against 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP)-induced PD in mice and explored the underlying mechanism of action. In MPTP-induced PC12 cells, CF protected NADH dehydrogenase activity and inhibited lactate dehydrogenase. In the mouse model, CF promoted recovery from movement impairments, prevented dopamine depletion, and protected against MPTP-induced dopaminergic neuronal degradation. Moreover, CF downregulated glial and microglial activation. Taken together, our results suggest that CF improves behavioral impairments and protects against dopamine depletion in MPTP-induced toxicity by inhibiting glial and microglial activation.

Key words : Cera flava, Parkinson's disease, Dopaminergic neuron

1. 서론

파킨슨병(Parkinson's Disease, PD)은 중뇌 흑질(substantia nigra)의 도파민성 신경세포(dopaminergic, neuron, DA neuron)의 퇴행으로 인한 신경질환으로, 주요 병인에는 중금속/탄화수소 노출 등의 환경적 인자, 중추 노화 관련인자, 산화스트레스, α -synuclein을 포함한

다양한 유전인자 등으로 보고되고 있다(Cilia et. al. 2020). 이러한 주요 병인들에 의해 생체 내 조직에서 활성산소(Ractive Oxygen Secies, ROS)를 과생성시키고, 이는 신경세포의 사멸 및 염증을 증대시키는 주요 원인으로 알려져 있다(Cilia et al., 2020; Dorszewska et al., 2021).

현재까지 임상에서 사용되는 PD의 약물치료 방법

Received 23 March, 2022; Revised 12 April, 2022;

Accepted 28 April, 2022

*Corresponding author: Gunhyuk Park, Herbal Medicine Resources Research Center, Korea Institute of Oriental Medicine, Daejeon 34054, Korea
Phone: +82-61-338-7112
E-mail: parkgunhyuk@gmail.com/gpark@kiom.re.kr

© The Korean Environmental Sciences Society. All rights reserved.

© This is an Open-Access article 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.

으로는 일차적으로 도파민 효용제 및 도파민전구체를 투여하는 요법이 주로 시행되고 있다(Cilia et al., 2020; Han et al., 2020). 그러나 이를 증명하기 위한 비임상연구에 따르면 장기간의 도파민 전구체 요법은 오히려 ROS가 과생성되며 DA neuron 독성이 발생한다고 발표되었고, PD 환자에서 도파민전구체의 장기투여 시 약물 효능이 감소될 뿐만 아니라 이상운동증, 운동동요 및 다른 합병증이 유발된다고 보고되었다(Dorszewska et al., 2021). 이러한 약물치료 요법에 대한 부작용을 최소화할 수 있는 약물 또는 대체될 수 있는 약물의 개발이 반드시 필요한 실정이다.

황납(Cera Flava, CF)은 꿀과 함께 있는 왁스라는 의미로, 벌집을 물에 넣고 가열한 뒤 여과 후 굳혀서 얻어진 것을 뜻한다(Park et al., 2021). 논문에 따르면, CF의 주 성분은 hydrocarbons, free fatty acids, monoesters, diesters, triesters, hydroxy monoesters, hydroxy polyesters, fatty acid polyesters, and unidentified compounds으로 구성되어 있다고 알려져 있다(Park et al., 2021). 동의보감에서는 탕액편의 층부에 수록되어 있으며, 주로 외용으로 사용하며, 궤양, 상처, 화상, 티눈, 이질, 기관지천식에 쓰며, 연고 기초제로 쓴다고 서술되어 있다(Park 2022; Heo 2009). 또한 최근에는 항산화 작용, 항균작용, 방부작용, 피부 염증 치료 효능에 대하여 보고되었으며, 이를 활용한 뇌신경계 질환에 적용되어 검증된 바가 없다(Park et al., 2021).

본 연구는 신경세포사멸을 억제력을 통해 CF의 유효성을 검증하였으며, 이를 PD 동물모델에 적용하여 효능을 응용한 결과 유의미한 결과를 얻었다.

2. 재료 및 방법

2.1. 재료 및 시약

Roswell Park Memorial Institute (RPMI), Fetal Bovine Serum (FBS), penicillin/streptomycin(P/S)은 Gibco Industries Inc.(Auckland, NZ)에서 구입하였다. Dimethyl sulfoxide (DMSO), 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2, 5-diphenyltetrazolium bromide (MTT), hydrogen peroxide (H₂O₂), 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP), 1-methyl-4-phenylpyridinium (MPP+), vectashield mounting medium, Phosphate Buffer

Saline (PBS), collagen 등은 Sigma-Aldrich사(St. Louis, CA, USA)에서 구입하였다. 또한, Labor Diagnostika Nord사(GmbH, Nordhorn, Germany)의 dopamine concentration ELISA fluorometric assay kit(#BAE-5300) 및 Dojindo사(Rockville, MD, USA)의 Cytotoxicity lactate dehydrogenase (LDH) Assay Kit-WST를 활용하여 측정하였다. 실험에 사용된 모든 시약은 분석용 등급 이상으로 사용하였다. 본 연구에 사용된 CF의 동정 및 추출물제조는 기발표된 논문에 따랐으며(Park et al., 2021), 표본은 한국한의학연구원 한약표준표본관에 보관하였다(KIOM-2-18-190).

2.2. 세포 배양, NADH dehydrogenase activity 및 LDH levels

세포 실험 방법은 이전 논문에 상세하게 기술되어 있으며, 간략하게 서술하였다(Lim et al., 2019). PC12세포는 한국세포주은행을 통해 구매하여 사용하였으며, 37°C의 5% CO₂, 95% 조건에서 10% FBS, 1% P/S를 포함하는 high-glucose RPMI 배지를 사용하였다. 96-well plate에 PC12 cell은 1.5×10⁴/well로 seeding하고 12시간 배양한 후, CF추출물 1-300 µg/mL 농도별로 1시간 동안 전처리 후 23 시간 H₂O₂를 함께 처리하였다. 반응이 끝난 후 상층액을 회수하여 LDH를 측정하였으며, 제거된 세포는 MTT를 2시간 처리 후 DMSO를 이용해 decrystallize시켜 NADH dehydrogenase activity를 측정하였다.

2.3. 사육과 투여

C57BL/6 생쥐 8주령을 두얼바이오택(Seoul, Korea)을 통해 구입하였으며, 물과 사료는 자유롭게 섭취하도록 하였고, 온도 (22 ± 2°C), 습도 (53 ± 3%) 및 명암 주기(12시간)는 자동적으로 조절되도록 하였다. 본 실험은 한국한의학연구원 동물실험 윤리위원회의 승인을 받아 진행하였다(승인 번호: 21-039). 제1군(대조군) 및 제2군(MPTP군)은 식염수를 5일간 1일 1회 경구 투여하였고, 제3, 4군(CF 투여군)은 식염수에 용해시킨 CF를 100 또는 300 mg/kg으로 5일간 1일 1회 경구 투여하였다. 본 연구에서는 MPTP acute 모델을 사용하였으며, 투여 3일차가 되는 날 제1군은 생리식염수를 생쥐 체중 kg당 5 mL로 2시간 간격으로 4회 복강 내 투여하였으며, 나머지 군은 MPTP를 20 mg/kg 체중의 농도로 생리식

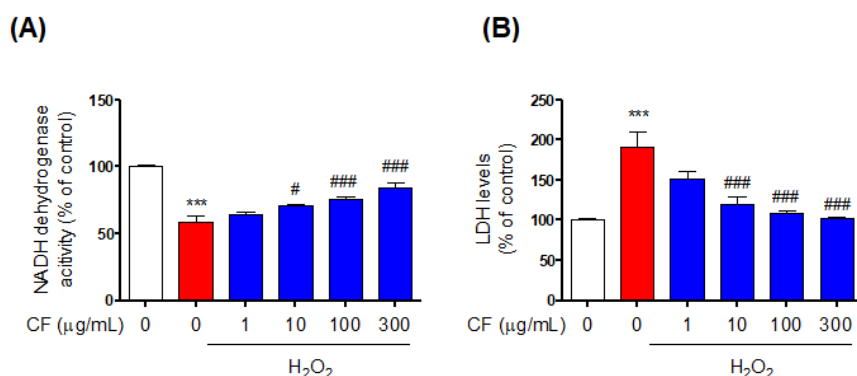


Fig. 1. Effect of Cera Flava on H₂O₂-induced NADH dehydrogenase activity and lactate dehydrogenase levels in PC12 cells. NADH dehydrogenase activity was measured using MTT. Lactate dehydrogenase levels were measured using an ELISA kit. Values are presented as mean \pm SEM. *** p <0.001, # p <0.05, and ### p <0.001; one-way analysis of variance followed by Tukey's post hoc test was performed using the GraphPad Prism software.

염수 5 mL에 용해시켜 2시간 간격으로 4회 복강 내 투여하였다.

2.4. 행동평가

PD의 운동기능 이상을 확인하기 위해 rotarod 및 pole test를 실시하였으며, MPTP 투여 7일 후, 직경 3 cm, 4 rpm 회전 봉 위에 마우스를 올려놓고 30 rpm까지 속도를 조절하여 연습 후, 35 rpm에서 본 실험을 시행하였다. 연습은 5분 간격으로 2회 실시하였으며, 3회 본 실험을 수행 후 평균값을 사용하였다. 또한, 높이 55 cm, 지름 8 mm의 막대에서 pole test를 수행하였으며, 막대 위에 마우스를 올리고, 생쥐가 도는 시간을 'time to turn (T-turn)', 돌아서 내려오는 시간을 'time for locomotion activity(T-LA)'로 표현하였다. 각 실험은 3회 연습 후 2회 본 실험의 평균값을 사용하였다.

2.5. 면역염색법

고정 후 30 μ m로 절단된 뇌조직의 흑질 부분을 골라 PBS워싱 후, BSA를 30분간 처리하였다. 그 후 rabbit-anti-TH, rabbit-anti-GFAP 및 rabbit-anti-iba1을 각각 12시간씩 반응시켰으며, Alexa Fluor-conjugated secondary antibody를 1시간동안 처리하였다. 그 후 vectashield mounting medium으로 커버슬라이드로 덮어 보관하였다. 이후 fluorescence microscope (Olympus Microscope System BX53; Olympus, Tokyo, Japan)

를 사용하여 사진을 각각 촬영하였으며, ImageJ software (Bethesda, MD, USA)를 활용하여 DA neuron, astrocytes 및 microglia 양성세포의 개수를 측정하였다.

2.6. 도파민 측정법

MPTP 투여 후 7일 후 뇌조직 내 선조체를 확보하였으며, dopamine concentration ELISA fluorometric assay kit를 활용하여 매뉴얼에 따라 실험을 진행하였다.

2.7. 통계처리

모든 측정값은 mean \pm S.E.M으로 표시하였다. 본 연구의 통계처리는 Graphpad Prism 5.0 (San Diego, CA) 프로그램을 사용하였으며, one-way ANOVA를 이용하였으며, 사후검정은 Tukey test를 이용하여 평균값의 유의성을 5% 미만의 한계로 조사하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 산화스트레스에 대한 CF의 신경세포 보호효과

우리는 CF의 1차적인 신경세포에 미치는 영향을 확인하기 위해 신경세포에 과산화수소를 활용한 산화스트레스를 생성시킨 모델을 제작하여 영향을 확인하였다. Tetrazolium염인 MTT는 미토콘드리아의 dehydrogenase에 의해 formazan으로 환원되어 이는 생존하는 세포 수와 비례한다(Lobner, 2000). 이러한 이유로 MTT 실험법은 신경세포의 미토콘드리아의 기능을 검토하는데 주로

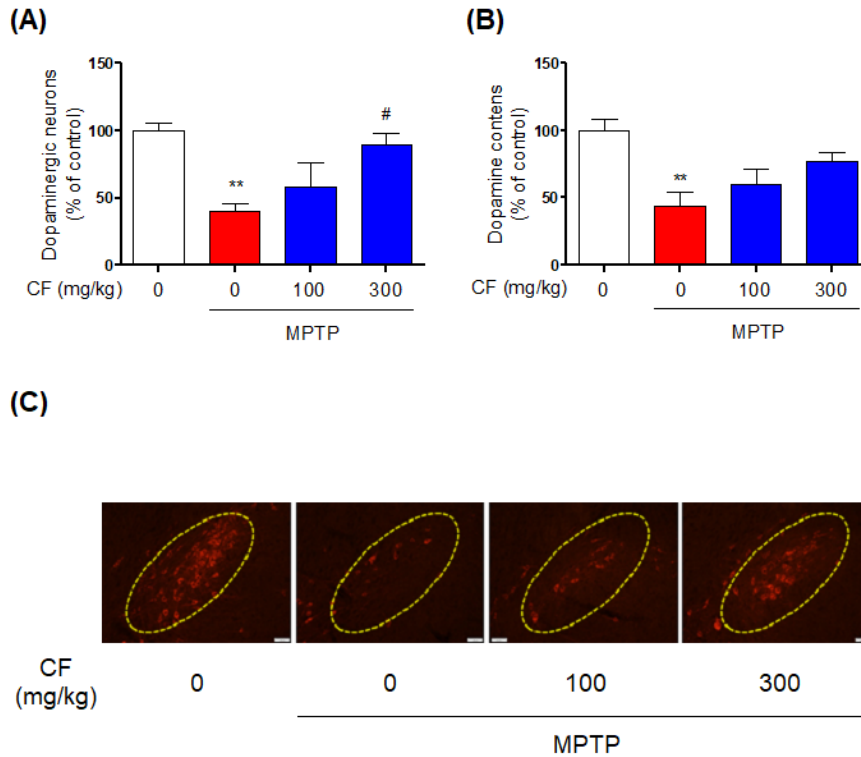


Fig. 2. Protective effect of Cera Flava on MPTP-induced dopaminergic neuronal death in the substantia nigra (SN). The number of TH-immunopositive neurons in the SN was counted (A). Dopamine levels in the ST were measured using ELISA (B). Dopaminergic neurons were visualized by TH-specific immunostaining (C). Values are presented as mean \pm SEM. ** $p < 0.01$ and # $p < 0.05$; one-way analysis of variance followed by Tukey's post hoc test was performed using the GraphPad Prism software.

사용된다(Lobner, 2000). 또한 LDH는 세포질에 존재하는 stable enzyme으로 통상적으로는 세포막을 통과하지 못하여 세포 밖으로 배출되지 않으나, 세포막이 손상되거나 세포가 죽는 경우 배지로 방출된다(Lobner, 2000). 따라서, LDH 양은 손상된 신경세포의 수와 비례하게 되어 신경세포 생존 정도를 확인하는 실험법으로 사용된다(Lobner, 2000). 실험 결과 황납은 10-300 μ g/mL에서 통계적으로 유의하게 미토콘드리아의 기능 및 신경세포 보호하는 것을 알 수 있다.

3.2. 파킨슨병 동물모델을 활용한 CF의 DA neuron

보호효과 및 도파민함량 측정

다음으로 우리는 in vitro에서 연구결과를 토대로 CF의 MPTP 신경독성으로 유도한 PD 동물모델을 활용하

여 CF의 DA neuron 및 도파민함량변화를 측정하였다. 이번 연구에서는 가장 많이 사용되는 MPTP를 신경독성으로 사용하여 PD를 유도했으며, 그 외에도 많은 신경독성(paraquat, rotenone, amphetamine 등)이 존재한다(Lewis and Przedborski, 2007). MPTP는 생체내로 유입되면 뇌에서 MPP+로 변환되며, 이는 dopaminergic transporter에 친화성이 높아 중뇌의 흑질부위 DA neuron 내로 침투하여 이를 비가역적으로 파괴한다(Lewis and Przedborski, 2007). 현재까지 MPTP의 신경 독성을 완화시킨다고 알려진 것은 vitamine E, allopurinol, selenium, centrophenoxine 등이 있으며, 주로 활성 산소를 제거하여 도파민성 신경 세포의 파괴를 완화하거나, 생체 내에서의 monoamine oxidase B

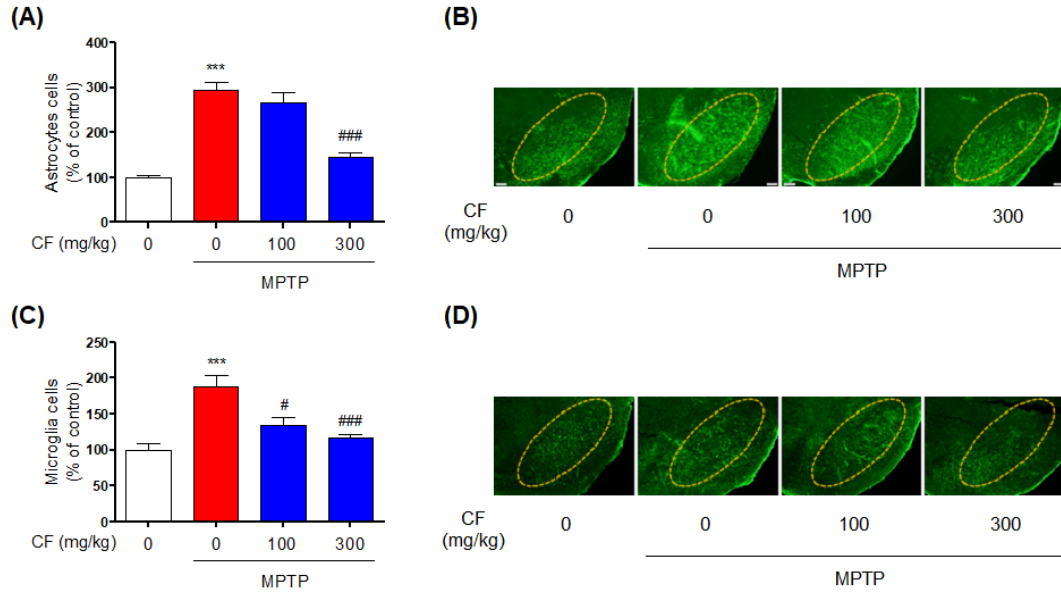


Fig. 3. Inhibitory effect of Cera Flava on MPTP-induced glial and microglial activations in the substantia nigra (SN). The number of glial fibrillary acidic protein (GFAP)-immunopositive cells in the SN was counted (A) and visualized (B). The number of ionized calcium-binding adapter molecule 1 (Iba1)-immunopositive cells in the SN was counted (C) and visualized (D). *** $p < 0.001$, # $p < 0.05$, and ### $p < 0.001$; one-way analysis of variance followed by Tukey's post hoc test was performed using the GraphPad Prism software.

inhibitor로 작용하여 MPTP 대사를 저해시키는 기전으로 PD 치료에 활용되고 있다(Lewis and Przedborski, 2007). 우리는 이번연구에서 산화스트레스에 대하여 신경세포를 보호하는 효능을 보인 CF를 MPTP 동물 모델에 적용해 보았으며, 그 결과 CF는 흑질의 DA neuron을 보호할 뿐만 아니라, 선조체의 도파민 함량 또한 유지시키는 것으로 확인되었다.

3.3. 파킨슨병 동물모델을 활용한 CF의 신경교세포활성 억제 효과

현재까지 보고에 따르면 glia 세포는 독자적으로 신경전달을 생성시키지 못하지만, 신경세포에 영양물질을 공급, 신경전달이 이루어지도록 하는 세포외액의 조절, 슈반세포에서처럼 보다 효과적인 신호전달을 위해 세포 절연, 신경세포의 면역작용 등의 역할을 수행하고 있다(Dorszewska et al., 2021). PD 환자들의 경우 아직 섬유화되지 않은 α -synuclein이 발병초기부터 glia 세포 내부에 축적되고, 시간이 지나 축적된 α -synuclein이 세

포 내의 단백질 응집체 형태를 띠면서 glia 세포의 기능에 영향을 준다고 알려져 있다(Dorszewska et al., 2021). α -synuclein 이 축적된 glia 세포는 염증성 cytokine 과 chemokine 을 분비하고, interferon- γ 와 tumor necrosis factor- α 를 비롯한 신경염증반응 매개물질을 분비하는데, PD 동물모델에서 이는 glia 세포와 microglia 세포를 활성화시킴이 확인되었다(Matejuk and Ransohoff, 2020; Dorszewska et al., 2021). 또한 α -synuclein 발현으로 인한 glia 세포의 이상은 PD 환자에서 신경세포의 손상이 주로 일어나는 영역인 중뇌, 뇌줄기, 척수의 microglia 세포를 활성화시킨다(Matejuk and Ransohoff, 2020; Dorszewska et al., 2021). 이때 microglia 세포의 활성을 억제하면, 신경세포의 생존율이 증가하는 것으로 확인되었고, glia 세포에 의한 microglia 세포 활성화 및 이에 따른 신경염증 및 신경세포의 손상에 매우 큰 영향을 주는 것으로 생각되어지고 있다(Matejuk and Ransohoff, 2020; Dorszewska et al., 2021). 따라서, 본 연구에서는 DA neuron 보호효과를

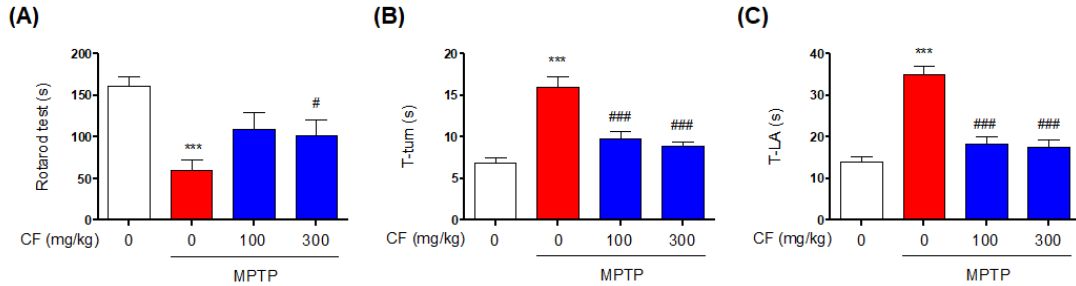


Fig. 4. Inhibitory effect of Cera Flava (CF) on MPTP-induced behavioral impairments. CF was administered for 5 days. On day 3, 2 h after CF administration, MPTP was injected four times. 7 days after MPTP injection, latency time on the rotating rod was recorded with a 300-s cut-off limit (A). On day 7 after MPTP injection, the time to turn completely downward (B) and time to fall off the rod onto the floor (C) were recorded with a 60-s cut-off limit. *** $p < 0.001$, # $p < 0.05$, and ### $p < 0.001$; one-way analysis of variance followed by Tukey's post hoc test was performed using the GraphPad Prism software.

보인 CF의 glia 세포 활성 억제 및 microglia 활성 억제를 확인하기 위해 각 세포의 마커를 면역염색법을 활용하여 측정하였다. 그 결과 glia 및 microglia 세포의 활성이 통계적으로 유의미하게 억제되는 것을 확인하였다.

3.4. CF의 행동장애 개선 효과

우리는 마지막으로 CF의 PD 행동장애를 개선하는지를 확인하기 위해 pole test와 rotarod test를 활용하여 분석하였다. Pole test는 앞발의 근육조절 기능을 확인할 수 있는 실험으로 PD의 근육의 경직증상을 확인할 수 있는 행동실험이다(Lim et al., 2019). 또한 rotarod test는 회전속도를 견디는 시간을 측정하는데 이는 운동기능의 전체적인 감퇴정도를 파악하는 실험으로 알려져 있다(Lim et al., 2019). MPTP를 투여 시 총 운동거리가 감소되고, T-trun 및 T-LA의 증가를 보임에 따라 PD의 대표적인 행동장애인 서동이 유발됨을 알 수 있으며, CF는 이를 통계적으로 유의하게 억제하는 것으로 판단된다.

4. 결론

현재까지 PD는 단지 해로운 환경이나 생활습관이 유전요인과 상승 작용을 하여 발병한다는 가설만이 존재할 뿐 원인 규명이 되어있지 않은 퇴행성뇌질환 중 하나이다(Cilia et al., 2020). 최근 흥미로운 연구로는 이론으로만 존재하였던 대기오염(이산화질소 과생성)에 의한 뇌질환유발 학설에 대한 연구가 과학적으로 밝혀짐으로써

산업화가 진행된 나라에서의 유병율이 높은 PD에 원인 또한 일부 규명되고 있다(Jo et al., 2021). 의학적으로 이를 치료하는 수단은 존재하지 않으며 도파민 전구체 또는 효용제를 투여하는 방식처럼 증상의 속도를 늦추는 방법만이 존재한다(Cilia et al., 2020). 많은 연구자들은 이러한 질환을 치료하고자 수많은 방법을 고안하고 있으며, 우리는 이를 한국의 전통의학서인 동의보감에서 찾고자 시도하였다. 동의보감은 한국의 한의학을 대표하는 중요한 문화유산으로서 1613년에 허준이 왕명을 받고 편찬한 백과사전식 의서이다(Park, 2022). 2009년 유네스코 지정 세계기록유산으로 등재된 이래 한의학 뿐 아니라 다양한 분야에서도 연구되고 활용되어 왔다. 전임상 및 임상에서 이미 많은 한약재 및 처방에 대한 연구가 활발히 진행된 반면 오늘날 유통의 어려움, 현대과학적 근거 부재 등의 이유로 연구가 진행되어야 하는 한약재도 다수 존재한다(Heo, 2009; Park, 2022). 대표적으로 파충류, 양서류, 갑각류, 패류 등 곤충에 이르기까지 포함되어 있는 탕액편 내 충부약재이며, 본 연구진은 CF의 효능에 집중하여 연구하였다(Heo, 2009; Park, 2022). 한의학적으로 CF는 성질이 평(平)하고, 독(毒)이 없다고 알려져 있으며, 오장(五臟)을 편안하게 하고 기(氣)를 더하며 중기(中氣)를 보(補)하고 통증을 멎게 한다고 한다(Heo, 2009). 특히, 익기(益氣)하여 허약한 원기(元氣)를 돕는 역할을 하며, 내로(耐老)하여 늙는 것을 방지할 수 있다고 기술되어 있다(Heo, 2009). 이는 오늘날 면역을

증진시키고, 노화를 억제시킬 수 있다는 의미로 해석될 수 있으며, 뇌에서 면역기능을 담당하는 신경교세포의 일종인 glia 및 microglia 세포의 활성 억제는 뇌염증 반응을 감소시켜 DA neuron을 보호 및 이에 따른 PD 행동장애 개선 효과로 해석해 볼 수 있다.

결과적으로 CF는 이번 연구를 통해 산화스트레스를 억제하여 신경세포를 보호하고, 나아가 DA neuron 보호 및 도파민함량 유지 기능을 가졌으며, PD 행동장애를 개선시킬 수 있었다. 이러한 연구는 향후 파킨슨병을 포함하는 다양한 유사질환의 치료 및 예방 약물로 생각될 수 있으며, 나아가 임상적으로 사용하는 기초자료로서 활용될 수 있다. 그러나 더욱 상세한 분자생물학적 연구가 추가될 필요가 있으며, 본 연구에서는 유효성을 입증하여 기능성 소재로서의 가치를 1차적으로 확보하는데 그 의미가 있다고 할 수 있다.

감사의 글

본 연구는 한국한의학연구원 ‘지속가능한 한약표준자원 활용기술 개발’(KSN2021320) 사업 및 한국연구재단 ‘미활용 생물자원의 연구기반 구축 및 활성화 연구: 동물성 자원 중심’(NRF-2020R111A2073003)의 지원으로 수행되었다.

REFERENCES

Cilia, R., Cereda, E., Akpalu, A., Sarfo, F. S., Cham, M., Laryea, R., Obese, V., Oppon, K., Sorbo, F. D., Bonvegna, S., Zecchinelli, A. L., Pezzoli, G., 2020, Natural history of motor symptoms in Parkinson's disease and the long-duration response to levodopa, *Brain*, 143, 2490-2501.

Dorszewska, J., Kowalska, M., Prendecki, M., Piekut, T., Kozowska, J., Kozubski, W., 2021, Oxidative stress factors in Parkinson's disease, *Neural. Regen. Res.*, 16, 1383-1391.

Han, Q. W., Yuan, Y. H., Chen, N. H., 2020, The therapeutic role of cannabinoid receptors and its agonists or

antagonists in Parkinson's disease, *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.*, 96, 109745.

Heo, J., 2009, *Dongui-Bogam: Treasured Mirror of Eastern Medicine*, Namsandang Publishers Co, Seoul.

Jo, S., Kim, Y. J., Park, K. W., Hwang, Y. S., Lee, S. H., Kim, B. J., Chung, S. J., 2021, Association of NO₂ and other air pollution exposures with the risk of parkinson disease, *JAMA. Neurol.*, 78, 800-808.

Lewis, V. J., Przedborski, S., 2007, Protocol for the MPTP mouse model of Parkinson's disease, *Nat. Protoc.*, 2, 141-151.

Lim, H. S., Kim, J. S., Moon, B. C., Choi, G., Ryu, S. M., Lee, J., Ang, M. J., Jeon, M., Moon, C., Park, G., 2019, Cicadidae Periostracum, the Cast-Off Skin of Cicada, Protects Dopaminergic Neurons in a Model of Parkinson's Disease, *Oxid Med Cell Longev*, 2019, 5797512.

Lobner, D., 2000, Comparison of the LDH and MTT assays for quantifying cell death: validity for neuronal apoptosis?, *J. Neurosci. Methods.*, 96, 147-152.

Matejuk, A., Ransohoff, R. M., 2020, Crosstalk between astrocytes and microglia: An overview, *Front. Immunol.*, 11-1416.

Park, G., Moon, B. C., Choi, G., Lim, H. S., 2021, Cera Flava alleviates atopic dermatitis by activating skin barrier function via immune regulation, *Int. J. Mol. Sci.*, 22, 7531.

Park, G., 2022, Oxidative damage in Korean medicine, *Antioxidants*, 11, 600.

-
- Researcher. Hye-Sun Lim
Herbal Medicine Resources Research Center, Korea Institute of Oriental Medicine
qp1015@kiom.re.kr
 - Principal Researcher. Byeong-Cheol Moon
Herbal Medicine Resources Research Center, Korea Institute of Oriental Medicine
bcmoon@kiom.re.kr
 - Senior Researcher. Gun-Hyuk Park
Herbal Medicine Resources Research Center, Korea Institute of Oriental Medicine
parkgunhyuk@gmail.com/gpark@kiom.re.kr