피부각질세포에서 梔子柏皮湯의 아토피 피부염 개선효과

은소영[1,2,3] · 윤정주[1,2,3] · 김혜윰[1,2,3] · 안유미[1,2,3] · 한병혁[1,2,3] · 홍미현[1,3] · 손찬옥[1,2,3] · 나세원[1,2,3] · 이윤정[1,2,3] · 강대길[1,2,3] · 이호섭[1,2,3*]

1 : 원광대학교 한의과대학 생리학교실, 2 : 한의학전문대학원 천연물개발학, 3 : 원광대학교 한방심신중후군센터

Protective Effects of Chijabaegpi-tang on Atopic Dermatitis in TNF-α/IFNγ-induced HaCaT Cells

So Young Eun[1,2,3], Jung Joo Yoon[1,2,3], Hye Yoom Kim[1,2,3], You Mee Ahn[1,2,3], Byung Hyuk Han[1,2,3], Mi Hyeon Hong[1,2,3], Chan Ok Son[1,2,3], Se Won Na[1,2,3], Yun Jung Lee[1,2,3], Dae Gill Kang[1,2,3], Ho Sub Lee[1,2,3]*

1 : Department of Phygiology, College of Korean Medicine,
2 : Department of herbal Resources, Professional Graduate School of Korean Medicine,
3 : Hanbang Cardio-Renal Syndrome Research Center, Wonkwnag University

Chijabaegpi-tang (CHG) is an oriental herbal medicine that has been used for its various pharmacological effects, which include anti-inflammatory, anti-oxidant and immunoregulation activities. In the present study, we investigated which skin inflammations are involved in the TNF-α/IFNγ-induced HaCaT cells. We investigated the suppressive effect of CHG on TNF-α/IFNγ-induced HaCaT cell production of the following chemokines: macrophage-derived chemokine (MDC)/CCL22; regulated on activation, normal T-cell expressed and secreted (RANTES)/CCL5; and interleukin-8 (IL-8); thymus and activation-regulated chemokine (TARC)/CCL17. The pre-treatment of HaCaT cells with CHG suppressed TNF-α/IFNγ-induced nuclear transcription factor kappa-B (NF-κB). In addition, CHG inhibited TNF-α/IFNγ-induced phosphorylation of ERK and p38. TNF-α/IFNγ suppressed the expression of skin barrier proteins, including filaggrin (FLG), Involucrin (IVL) and loricrin (LOR). By contrast, CHG restored the expression of FLG, IVL and LOR. Taken together, our findings suggest that CHG could be a therapeutic agent for prevention of skin disease, including atopic dermatitis.

keywords : Chijabaegpi-tang, Skin inflammation, HaCaT, Atopic dermatitis

서 론

아토피 피부염 (atopic dermatitis, AD)은 주로 유아 및 소아기에 발병하는 만성 혹은 재발성의 염증성 피부질환이며, 심한 가려움증과 홍반, 부종 및 피부건조 등의 증상과 수면장애 및 정서불안 등의 증상이 함께 동반된다고 보고되어 있다[1,2]. 또한, 피부장벽 결함, 면역학적, 유전적 및 환경적 요인 등 다양한 요인들이 복합적으로 결합되어 유발되는 것으로 알려져 있다[3].

현재까지 알려진 치료방법으로는 스테로이드 및 칼시뉴린 (calcineurin) 억제제와 같은 국소치료제가 있으며, 만성적인 아토피 피부염은 사이클로스포린 (cyclosporine)과 같은 전신 면역억제제, 경구투여 및 광선치료요법이 사용된다[4,5]. 이러한 치료법은 장기치료 시 나타나는 부작용이 심각한 문제점으로 대두되면서 보다 안전한 한약제제 및 천연물 제제를 소재로 하는 치료방법 및 제제 등이 연구되고 있다.

Thymus and activation-regulated chemokine (TARC/CCL17)와 macrophage-deraived chemokine (MDC/CCL22)는 CC cheomokine에 속하며 피부각질세포를 포함한 다양한 세포에서 생성된다[6]. TARC와 MDC는 Th2 림프구가 염증부위로 이동을 유도하며 아토피 피부염과 같은 Th2 세포에 민감한 염증성 피부질환에 중요한 cheomokine으로 알려져 있다[7]. 또한 아토피 피부염 환자의 혈청 농도에서 TARC와 MDC가 유의하게 상승되어 있었으며, 이는 아토피 피부염 질환과 상관관계가 있음을 보여주었다[8]. 따라서, 피부각질세포에서 TARC와 MDC 생성의 감소는 아토피 피부염과 같은 염증성 피부질환에서 효과적인 치료법이 될 수 있다. 이전 보고에 의하면 피부각질세포에서 TNF-α/IFNγ에 유도되는 부착단백질과 염증성 cytokine/chemokine들의 발현을 p38 및 ERK와 같은 MAPK, 그리고 NF-κB 활성을 억제에 의해 저해 된다고 알려

* Corresponding author
Ho Sub Lee, Department of Phygiology, College of Korean Medicine, Wonkwang University, 460, Iksan-daero, Iksan, Jeonbuk 54538, Republic of Korea
·E-mail : host@wku.ac.kr ·Tel : +82-63-850-6447

·Received : 2018/03/15 ·Revised : 2018/08/24 ·Accepted : 2018/08/27

© The Society of Pathology in Korean Medicine, The Physiological Society of Korean Medicine

pISSN 1738-7698 eISSN 2288-2529 http://dx.doi.org/10.15188/kjopp.2018.08.32.4.226
Available online at https://kmpath.jams.or.kr

져 있다[9]. 이러한 기전에서 치자백피탕은 피부각질세포에서 항염증 및 그 조절 기전에 대해서는 아직까지 없었다.

피부의 주된 구성세포인 각질형성 세포는 표피의 95% 이상을 차지하고 있으며, 분화가 시작되면 기저층에서 증식되어 점차적으로 표피의 과립층과 각질층에서 loricrin, filaggrin 등의 피부장벽단백질 분화가 촉진되는데, 분화의 마지막 단계인 각질층은 신체를 보호하고 피부의 수분 증발을 방지하는 역할을 하기 때문에 각질형성세포의 분화는 매우 중요하다[10,11]. 또한, 피부장벽단백질 손상이 지속되면 염증성 cytokine/chemokine이 분비되면서 염증과 비정상적 증식과 같은 증상이 나타나며, 피부건조를 일으켜 아토피 피부염과 같은 피부질환으로 이어질 수 있다[12,13]. 따라서, 아토피 피부염에서 피부장벽기능을 강화시키는 것은 아토피 피부염 치료에 중요한 기반이 될 수 있다.

치자백피탕(梔子柏皮湯證)은 습열(濕熱), 피부소양증(皮膚瘙痒證), 안구(眼球) 적황(赤黃)의 증상에 사용되는 처방으로 치자(梔子), 황백(黃柏), 감초(甘草)의 총 3종의 약재로 구성된다[14,15]. 치자백피탕 구성 약재 중 피부각질세포에서 치자 단독처리에 의한 항염증 연구는 보고되어 있으나[16], 그 외 구성 약재 단독처리에 의한 연구는 미비한 실정이다. 그러므로 치자를 포함하는 치자백피탕의 아토피 개선효과를 유추할 수 있으나 TNF-α/IFNγ에 의한 치자백피탕의 염증억제 및 아토피에 관한 연구는 보고되지 않았다.

이에 본 연구에서는 피부의 면역반응실험에 주로 사용하는 HaCaT 세포를 이용하여 TNF-α/IFNγ로 조성된 염증환경에서 치자백피탕을 다양한 농도로 처리하였을 때, 피부각질세포의 아토피 염증관련 chemokine의 활성과 피부장벽단백질의 회복에 미치는 영향과 그 기전에 대하여 알아보고자 한다.

재료 및 방법

1. 시료의 제조

치자백피탕 (Herbarium voucher No. HBJ162-01) 1첩 분량을 성인 한약 탕전 분량인 3 L의 물에 재래식 탕전 기구를 사용하여 2시간 전탕 후 환류 추출하였다. 여과지를 이용하여 여과한 다음, 여과액을 evaporator (EYELA, Japan)을 이용하여 감압농축하고 농축액을 동결 건조하여 냉동보관 하였다.

Table 1. The composition of Chijabaegpi-tang

Herbal medicine	Herbal name	Dose amount
甘草	Glycyrrhizae Radix	40 g
梔子	Gardeniae Fructus	15 ea
黃柏	Phellodendri Cortex	80 g

2. 피부각질 세포의 배양

인체 유래피부 keratinocyte인 HaCaT 세포주로 Dulbecco's modified Eagle medium (DMEM, Gibco, Grand Isaland, NY)에 10%(v/v) fetal bovine serum (FBS, Gibco, Grand Isaland, NY)과 penicillin을 첨가한 후 37℃, 5% CO_2의 배양기 (Model 3154, Forma Scientific Inc, Marietta, OH, USA)에서 배양하였다. 계대배양은 2~3일 간격으로 계대배양 하여 유지하였다.

3. 치자백피탕의 세포독성 평가

HaCaT 세포에서 치자백피탕의 세포독성을 분석하기 위하여 MTT 분석법을 이용하여 분석하였다. 세포를 1 × 10^5cells/ml로 24 well 세포 배양용기에 분주하여 24 시간 동안 안정화 한 후, 혈청이 결핍된 DMEM 배지로 24 시간 동안 배양하여 세포주기를 동일화 하였다. 치자백피탕을 농도별 (10, 50, 100, 200, 500 μg/ml)로 24 시간 처리한 후, 5 mg/ml 농도의 MTT (3-(4,5-dimethylthiazole-2-yl)-2,5-biphenyl tetrazolium bromide) 시약을 각 well (0.1 mg/ml)에 넣고 4 시간 동안 배양하였다. 배양 후 상등액을 제거하고 300 μl DMSO (dimethyl sulfoxide)를 넣어 formazan 결정체를 용해 후, 96-well 배양용기에 200 μl/well에 옮겨 microplate reader (Tecan, San Jose, CA)를 이용하여 570 nm에서 흡광도를 측정하였다. Phase-contrst microscope (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA)를 이용하여 변화된 HaCaT 세포의 형태학적 특징과 세포 독성을 관찰하고 100배로 사진 촬영하였다.

4. 실시간 정량적 역전사 중합 효소 연쇄반응 (Real-Time RT-PCR)

HaCaT 세포를 6-well 배양용기에 5×10^5cells/ml로 분주하고, 치자백피탕을 1시간 전처리 하였다. TNF-α (10 ng/ml) 및 IFNγ (10 ng/ml)를 분주하여 24 시간 동안 세포를 자극하였으며, 각 well당 1 ml의 Trizol 용액 (Invitrogen/Life Technologies, Carlsbad, CA, USA)을 넣어 세포막을 파괴하고 total RNA를 추출하였다. 1 μg RNA를 reverse transcription kit (Roche, Indianapolis, IN, USA)를 이용하여 cDNA를 합성한 후, SYBR Green PCR Master Mix (Applied Biosystem, Foster City, CA, USA) 와 StepOne™Real-Time PCR system (Applied Biosystem)을 사용하여 real-time PCR을 수행하였다. PCR은 95℃에서 10분 동안 초기 변성 후, 95℃에서 15초, 60℃에서 1분, 40 cycles의 조건으로 수행하였고, housekeeping 유전자인 GAPDH를 동시에 측정하여 RNA량을 보정하였다. 표적유전자는 특이적인 primer를 제작하여 사용하였으며, 각 primer의 염기서열은 Table 2에 나타내었다.

Table 2. Reverse transcriptase PCR primer sequence.

Gene Name	Primer sequence
MDC	Forward-CCTGCCAAAAGGCAGTTA Reverse-TGGGGGAAGAAAGGT
TARC	Forward-GTCTTGAAGCTCCTCACCC Reverse-GGATCTCCCTCACTGTGGCT
Filaggrin	Forward-CAGTCAGACTCTAGTACCGCTAAGG Reverse-CACTACCATAGCTGCCATGTCTC
Involucrin	Forward-CCCATCAAAGCAAGAGGAAA Reverse-AGCTGCTGATCCCTTTGTGT
Loricrin	Forward-GTGGGAGCGTCAAGTACTCC Reverse-GAGACGCCTCCGTAGCTCTG

5. 단백질 추출 및 Western blot 분석

세포를 PBS로 세척한 후, RIPA buffer를 사용하여 세포를 용해 시켜 단백질을 추출하였다. 용해 된 세포를 13,000 rpm으로 4℃에서 15 분간 원심 분리하여 획득한 상등액을 이용하여

Bradford법을 이용하여 단백질 동량을 SDS-polyacrylamide gel로 전기 영동하여 분리한후 Hybond-P+ polyvinylidene difluoride membranes (Amersham Bioscience, Buckinghamshire, UK)으로 transfer하였다. 5 % skim milk가 함유된 Tris-buffered saline containing 0.05% Tween 20 (TBS-T) 용액에 상온에서 1시간 blocking하였다. Blocking 후 1차 항체와 반응시킨 후 2차 항체인 horseradish peroxidase-conjugated anti-rabbit IgG를 반응시키고 ECL detection reagents를 사용하여 단백질의 발현 정도를 확인하였다.

6. 핵과 세포질 분리

세포질에서 핵으로 이동하는 NF-κB의 양을 측정하기 위해 NE-PER Nuclear and Cytoplasmic Extraction Reagents (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA)를 이용하여 분리하였다. 분리된 핵과 세포질은 -80℃에 보관하였다.

7. 효소면역측정법 (ELISA)에 의한 MDC와 TARC의 측정

Chemokine (MDC, TARC) 측정은 각각 ELISA kit (Invitrogen, Carlsbad, CA)를 사용해 세포 상층액 내에 존재하는 MDC 및 TARC 분비량을 microplate reader (Tecan, San Jose, CA)를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

8. 통계분석

본 시험의 모든 결과는 각 실험군 간의 평균치와 표준편차로 표시하였으며, Graphpad InStat ver.5.04 (Graphpad software, Inc. San Diego, CA, USA)을 이용하여 산출되었으며, mean±SD으로 표시하였다. Student t-test를 시행하여 $p<0.05$ 미만의 경우 유의성이 있는 것으로 검증하였다.

결 과

1. 치자백피탕의 HaCaT 세포에 대한 세포독성

치자백피탕의 세포독성 범위를 확인하기 위하여 MTT assay 방법을 이용하여 세포독성을 확인하였다. 치자백피탕을 10, 50, 100, 200, 그리고 500 μg/ml의 농도로 처리했을 때 모든 처리군에서 세포독성이 나타나지 않았다(Fig. 1A). 또한, 동일 조건에서 TNF-α/IFNγ를 처리하였을 경우에도 세포 생존이 치자백피탕에 의해 농도 의존적으로 증가되었으며 세포 모양도 대조군과 비교했을 때 유사하게 나타났다(Fig. 1B). 따라서 이후 실험은 독성이 없는 상기 농도 범위에서 수행하였다.

2. 치자백피탕의 MDC와 TARC의 생성에 미치는 영향

아토피 염증반응 중 생성되는 chemokine의 일종인 MDC와 TARC의 mRNA 발현과 세포 내 생성양을 측정 하기위해 실시간 정량적 역전사 중합 효소 연쇄반응과 효소면역측정법으로 측정하였다. 그 결과, TNF-α/IFNγ 자극에 의해 MDC와 TARC mRNA 발현이 증가되었고(Fig. 2A), 세포배양액 내 MDC와 TARC의 농도도 증가되었다(Fig. 2B). 그러나 치자백피탕 농도의존적으로 MDC와 TARC의 mRNA 발현과 세포배양액 내 농도를 억제시켰다(Fig. 2). 결과적으로 치자백피탕은 피부각질세포에서 MDC 및 TARC를 효과적으로 억제함으로써 아토피 피부염 항염증 반응에 효과적임을 확인하였다.

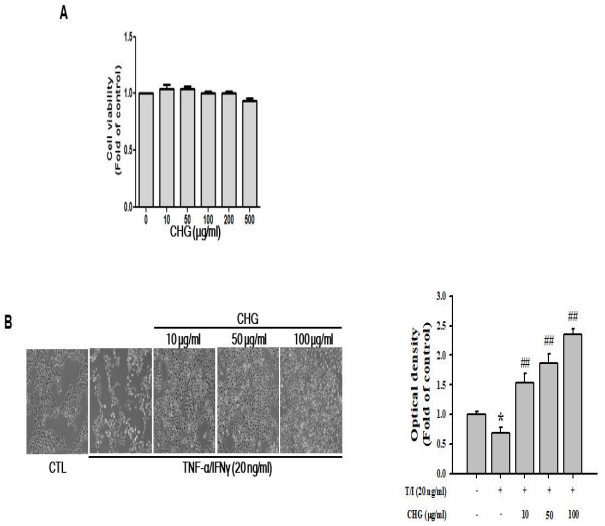

Fig. 1. Effects of CHG on cell viability and Th2 chemokine expression in HaCaT cells. (A) Cell viability was measured was using the MTT assay. HaCaT cells were treated with various concentrations of CHG extract for 24 h. (B) Phase-contrast photograph of changes in HaCaT cel1s cellular morpology. Magnications × 100. Cells were pretreated with CHG for 30 min, and then stimulated TNF-α/IFNγ for 24 h.

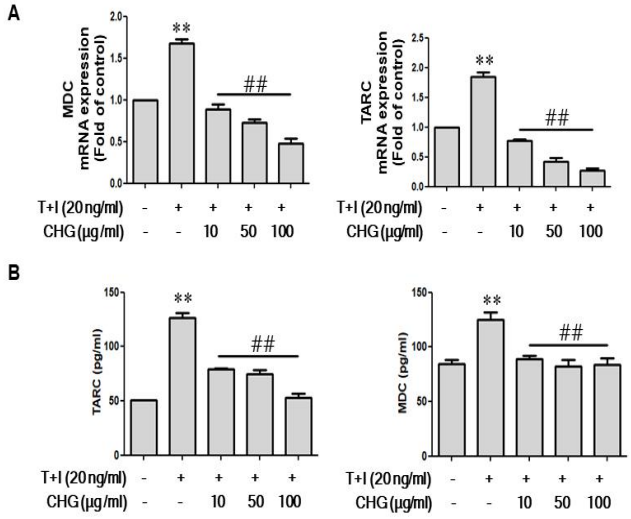

Fig. 2. Effects of CHG on Th2 chemokine expression in HaCaT cells. Cells were pretreated with CHG for 30 min, and then stimulated TNF-α/IFNγ (T+I) for 24 h. (A) mRNA levels of MDC and TARC were measured by Q-PCR. (B) Culture supernatants were collected, and ELISAs were used to measure production of MDC and TARC. The results were confirmed by repeated experiments. Data are presented as the mean ± SD of three experiments. **$p<0.01$ vs. control; ##$p<0.01$ vs. T+I (TNF-α/IFNγ) alone.

3. 치자백피탕이 NF-κB 활성에 미치는 영향

염증 반응을 조절하는 전사조절인자인 NF-κB의 활성과 p-Iκb α 분해에 대한 치자백피탕의 영향을 알아보기 위해 핵과 세포질을

분리하여 단백질 수준에서 발현 변화를 비교하였으며, 면역형광염색법을 통해 NF-κB의 핵 내 분포양상을 비교하였다. 그 결과, TNF-α/IFNγ 자극에 의해 NF-κB 핵 내 단백질 발현이 증가되었고, p-Iκbα의 경우도 세포질에서의 분해가 증가되었다. 그러나 치자백피탕 전처리에 의해 TNF-α/IFNγ에 의한 NF-κB 핵으로의 이동과 p-Iκbα의 분해가 현저하게 억제 되었다(Fig. 3A). 또한 면역형광염색법을 이용한 결과에서도 TNF-α/IFNγ로 유도된 NF-κB 핵 내 분포가 증가한 반면 치자백피탕에 의해 핵 내 이동이 현저하게 억제되었다(Fig. 3B). 이러한 결과는 치자백피탕이 TNF-α/IFNγ로 유도된 NF-κB 핵 내 이동과 p-Iκbα의 분해를 억제함으로써 염증신호전달 경로인 NF-κB 신호전달을 차단할 수 있음을 확인하였다.

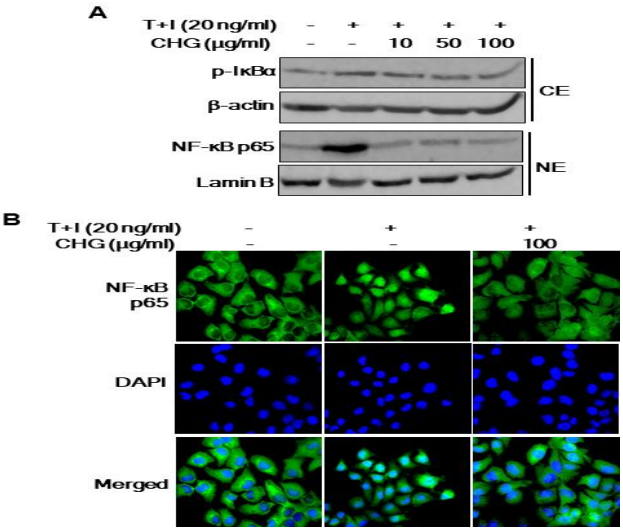

Fig. 3. Effects of CHG on TNF-α/IFNγ-induced NF-kB signaling pathway. (A) Cells were pretreated with the indicated concentrations of CHG for 30 min and then stimulated with TNF-α/IFNγ for 30 min. The level of IκBα protein in cytosol and NF-κB protein present in the nucleus were determined by western blot analysis. (B) Immunofluorescence fluorescence microscopy showing NF-κB in HaCaT cells. Representative images from three independent determinations are shown. Scale bar, 10㎛.

4. 치자백피탕이 ERK 및 p38 MAPK 활성에 미치는 영향

MAPK는 전사인자인 NF-κB를 활성화 시키는 인자로 치자백피탕의 영향을 알아보고자 ERK 및 p38 MAPK 활성을 확인하였다. 그 결과, TNF-α/IFNγ을 단독 처리하였을 때 ERK 및 p38 MAPK을 활성화 시켰고, 치자백피탕을 전처리 하였을 때는 ERK 및 p38 MAPK 활성이 농도 의존적으로 억제 되었다(Fig. 4). 이와 같은 결과는 치자백피탕의 항염증 효능이 ERK와 p38 MAPK의 신호전달 경로 억제를 통하여 이루어 질 수 있음을 확인하였다.

5. 치자백피탕이 피부 장벽 조절 인자에 미치는 영향

Fig. 5.에서는 치자백피탕에 의한 피부 장벽 기능 조절인자에 미치는 영향을 알아보기 위해 피부장벽조절 단백질에 의해서 물리적 장벽의 정상적인 기능을 유지하게 하는 피부장벽단백질의 mRNA와 단백질 발현을 확인하였다. 그 결과, 대조군에 비해 TNF-α/IFNγ 자극에 의해 Filaggrin, Involucrin 및 Loricrin의 mRNA 발현과 단백질 발현이 억제 되었고, 치자백피탕에 의해 회복되는 것을 확인하였다. 특히, 100 μg/ml의 농도에서 높은 회복력을 보였다. 따라서 본 결과는 치자백피탕이 피부의 물리적 장벽을 회복시킬 수 있음을 확인하였다.

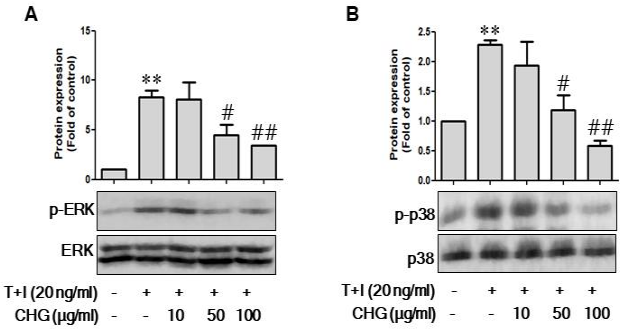

Fig. 4. Effects of CHG on TNF-α/IFNγ-induced activation of ERK and p38 MAPKs in HaCaT cells. HaCaT cells were pretreated with CHG for 30 min, and then stimulated with TNF-α/IFNγ (20 ng/ml) for 10 min. Phosphorylation and total protein expression of ERK and p38 MAPKs were detected by Western blot analysis using specific antibodies. The band densities are expressed as percentage of TNF-a alone. Data are presented as the means ± SD of three experiments. **p<0.01 vs. control; #p< 0.05, ##p<0.01 vs. T+I alone.

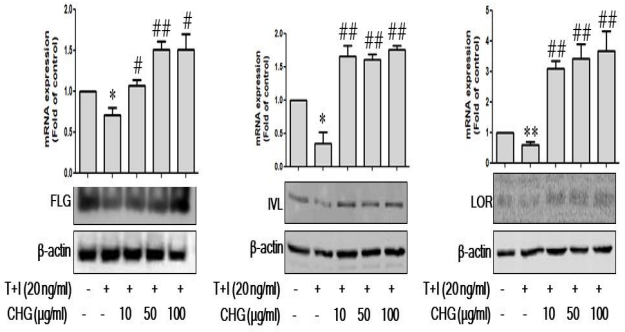

Fig. 5. Effects of CHG on TNF-α/IFNγ-induced expression of Filaggrin, Involucrin and loricrin in HaCaT cells. Cells were pretreated with CHG for 30 min, and then stimulated TNFá/IFNã for 24 h. mRNA levels of Filaggrin, Involucrin and Loricrin were measured by Q-PCR. Cells were pretreated with CHG for 30 min, and then stimulated TNF-α/IFNγ for 24 h. Protein levels of Filaggrin, Involucrin and Loricrin were measured by western blot analysis. *p<0.05 **p<0.01 vs. control; #p<0.05, ##p<0.01 vs. T+I alone.

고 찰

치자백피탕은 상한(傷寒)으로 몸이 누렇고 열(熱)이 나는 사람에 사용되어 왔다[14]. 그러나 치자백피탕의 아토피 피부염에 대한 개선 효능에 관련한 과학적인 증명이 이루어지지 않았다. 이에 본 연구는 TNF-α/IFNγ로 유도한 사람 피부각질세포에서 아토피 피부염과 관련된 염증 인자 및 피부장벽단백질 개선효과를 통하여 치자백피탕의 아토피 피부염 효과 검증 및 그 기전에 대해 알아보았다.

먼저 치자백피탕에 의한 피부각질세포의 독성 및 세포 생존능력을 조사하여 세포보호 효과를 확인하였다. MTT assay를 통해 피부각질세포의 독성을 확인한 결과 500 μg/ml의 농도까지 세포

독성이 관찰되지 않았으며, phase-contrast를 통해서도 TNF-α/IFNγ로 감소된 세포 생존이 치자백피탕 전처리에 의해 증가함을 보였다. 이는 치자백피탕 및 염증유발인자인 TNF-α/IFNγ에 의한 세포 보호 효과를 확인 할 수 있었다.

아토피 관련 대표적인 Th2 chemokine인 TARC/CCL17과 MDC/CCL22는 염증부위로 Th2 세포의 이동을 다양한 부착분자들의 발현과 함께 염증부위로 유도하는 것으로 알려져 있다[17]. 또한 아토피 피부염 환자의 혈청에서 다량 검출되어 아토피 피부염 발생의 매개물질임이 규명되었다[18]. 따라서 본 연구에서는 치자백피탕 처리에 따른 염증 반응을 유도한 피부각질세포에서 아토피 피부염에서 생성되는 대표적인 chemokine에 대해 실험하였다. 그 결과, 피부각질세포에서 TNF-α/IFNγ에 의해 TARC 및 MDC mRNA 수준의 발현 뿐 만 아니라 세포내 생성량 역시 증가시켰으며 이는 치자백피탕에 의해 억제됨을 보였다. 본 실험을 통하여 치자백피탕의 항염증 효과를 확인하였으며, 이와 같은 효과는 염증부위로 염증관련매개인자의 유도를 억제시킴으로써 아토피 피부염 개선에 대한 가능성을 확인한 것으로 사료된다.

NF-κB는 TNF-α/IFNγ와 같은 다양한 자극에 활성화되는 중요한 전사인자이다. 다양한 염증성 자극에 의해 세포질 내의 NF-κB는 핵으로 이동하게 되고 p-Iκ-Bα가 분해되어 염증성 매개물질의 생성을 유도하게 한다[19]. 이전 보고에 따르면 TARC 및 MDC에 NF-κB 결합부위를 가지고 있으므로 두 chemokine의 생성에 관여한다고 알려져 있다[20]. 이를 통해 NF-κB와 같은 전사인자의 활성이 아토피 피부염 진행에 관련된 chemokine인 TARC 및 MDC 생성에 중요한 기전임을 알 수 있다. 본 연구에서도 이를 확인하기 위해 NF-κB, p-Iκ-Bα의 발현변화, 그리고 형광현미경을 통한 NF-κB 핵 내 이동에 대한 치자백피탕의 영향을 연구하였다. 그 결과, TNF-α/IFNγ에 의해 유도된 NF-κB 핵 내 발현 및 이동, 그리고 Iκ-Bα의 분해를 치자백피탕이 억제시켰다. 이를 통해 치자백피탕이 NF-κB 활성 및 p-Iκ-Bα 분해를 억제 시킴으로써 TARC 및 MDC 생성을 저해하는 효과를 가지며 이는 결과적으로 치자백피탕이 아토피 피부염으로의 진행을 억제하는데 영향을 미칠 것으로 사료된다. 또한, 피부각질세포에서 TNF-α/IFNγ에 의해 유도된 TARC 및 MDC 생성에 MAPK가 관련되어 있으며, 이는 TNF-α/IFNγ에 의해 유도된 p38 및 ERK 활성이 치자백피탕에 효과적으로 억제됨을 발견할 수 있었다.

손상된 피부 장벽 기능은 아토피 피부염 및 건선과 같은 피부질환을 유도한다고 알려져 있다. Filaggrin, Involucrin, 그리고 Loricrin은 피부장벽을 형성하는 주요 단백질이며 이들 단백질의 생산과 기능결함이 아토피 피부염 발병기전에 영향을 끼치는 것으로 알려져 있다[21]. 이에 본 연구에서는 치자백피탕이 물리적 장벽에 미치는 영향에 대해 실험하였다. 그 결과, 피부각질세포에서 TNF-α/IFNγ는 피부장벽단백질을 억제시켰으며 이는 치자백피탕에 의해 회복시켰다. 이를 통해 피부의 물리적 장벽기능을 향상시키고, 손상된 피부장벽 회복에도 영향을 미칠 것으로 사료된다.

이상의 결과를 종합하면, 치자백피탕은 아토피 관련 피부염증인자들을 억제 시키고 피부장벽 기능 향상 및 개선 효과 가지는 것으로 나타났으며, 이는 치자백피탕이 NF-κB와 p38 및 ERK 경로 억제가 주요 작용기전으로 관여하는 것으로 판단된다.

따라서 본 연구를 통해 치자백피탕이 피부 염증 및 피부장벽 기능 개선을 통해 아토피 피부염 진행에 있어서 보호효과의 가능성을 알 수 있었으며, 향후 임상적 효능 및 안전성 검증을 위한 추가 연구를 통해 부작용이 없는 아토피 피부염 치료제 소재로 개발될 가치가 매우 높을 것으로 사료된다.

감사의 글

본 논문의 연구는 원광대학교 (2017)의 지원을 받아 수행되었으며 이에 감사드립니다.

References

1. Howlett S. Emotional dysfunction, child-family relationships and childhood atopic dermatitis. Br J Dermatol. 1999;140:381-4.
2. Foolad N, Brezinski EA, Chase EP. Armstrong AW. Effect of nutrient supplementation on atopic dermatitis in children. Arch Dermatol. 2012;17:1-6.
3. Leung DY. Atopic dermatitis: new insights and opportunities for therapeutic intervention. J Allergy Clin Immunol. 2000;105:860-76.
4. Mohan GC, Lio PA. Comparison of dermatology and allergy guidelines for atopic dermatitis management. JAMA Dermatol. 2015;151:1009-13.
5. Lyons JJ, Milner JD, Stone KD. Atopic dermatitis in children: clinical features, pathophysiology, and treatment. Immunol Allergy Clin North Am. 2015;35:161-83.
6. Saeki H, Tamaki K. Thymus and activation regulated chemokine (TARC)/CCL17 and skin diseases. J Dermatol Sci. 2006;43:75-84.
7. Jahnz-Rozyk K, Targowski T, Paluchowska E, Owczarek W, Kucharczyk A. Serum thymus and activation-regulated chemokine, macrophage-derived chemokine and eotaxin as markers of severity of atopic dermatitis. Allergy. 2005;60:685-88.
8. Nakazato J, Kishida M, Kuroiwa R, Fujiwara J, Shimoda M, Shinomiya N. Serum levels of Th2 chemokines, CCL17, CCL22, and CCL27, were the important markers of severity in infantile atopic dermatitis, Pediatr. Allergy Immunol. 2008;19:605-13.
9. Kwon DJ, Bae YS, Ju SM, Goh AR, Choi SY, Park J. Casuarinin suppresses TNF-α-induced ICAM-1 expression via blockade of NF-κB activation in HaCaT cells, Biochem Biophys Res Commun. 2011;409:780-85.
10. Choi M, Lee C. Immortalization of Primary Keratinocytes and Its Application to Skin Research. Biomol Ther.

2015;23:391-99.
11. Taïieb A. Hypothesis: from epidermal barrier dysfunction to atopic disorders. Contact Dermatitis. 1999;41:177-80.
12. Chin SP, Lee DH. Epidermal structure and skin barrier. J Skin Barrier Res. 2014;16:5-11.
13. Kim HJ, Jeong SK, Yum HY, Lee SH. Atopic dermatitis skin barrier and Integrated care. J Skin Barrier Res. 2010;12:67-78.
14. Zhang ZJ. Shanghanzabinglun, Han dinasty, 200-210: Seoul:Daesungmunhwasa; 1993. 386 p.
15. Jeon HW. JipDaeSung GoBangYoRak. 2013. p. 386-8.
16. Park J, Seok JK, Suh HJ, Boo YC. Gardenia jasminoides Extract Attenuates the UVB-Induced Expressions of Cytokines in Keratinocytes and Indirectly Inhibits Matrix Metalloproteinase-1 Expression in Human Dermal Fibroblasts. Evid Based Complement Alternat Med. 2014;2014:429246
17. Campbell JJ, Haraldsen G, Pan J, Rottman J, Qin S, Ponath P. The chemokine receptor CCR4 in vascular recognition by cutaneous but not intestinal memory T cells. Nature. 1999;400:776-80.
18. Song TW, Kwon BC, Choi SY, Shin YH, Lee KE, Yang HS. Increased Serum Thymus and Activation-regulated Chimokine (TARC) Levels in Children with Atopic Dermatitis. Allergy Asthma & Respiratory Disease. 2005;15:250-6.
19. Makarov SS. NF-kappaB as a therapeutic target in chronic inflammation: recent advances. Molecular Medicine Today. 2000;6:441-8.
20. Nakayama T, Hieshima K, Nagakubo D, Sato, Nakayama M, Kawa K, Yoshie O, Selective induction of Th2-attracting chemokines CCL17 and CCL22 in human B cells by latent membrane protein 1 of Epstein-Barr virus, J Virol. 78;4:1665-74.
21. Batista DI, Perez L, Orfali RL, Zaniboni MC, Samorano LP, Pereira NV, Sotto MN, Ishizaki AS, Oliveira LM, Sato MN, Aoki V. Profile of skin barrier proteins (filaggrin, claudins 1 and 4) and Th1/Th2/Th17 cytokines in adults with atopic dermatitis. J Eur Acad Dermato and Venereol. 2015;29:1091-5.