

아토피피부염에서 갈근황금황련탕 추출물의 ECS 조절을 통한 염증 완화 효과

김기봉^{1,2} · 안상현^{3,*}

¹부산대학교 한의학전문대학원 한방소아과학교실, ²부산대학교한방병원 한방소아과,

³세명대학교 한의과대학 해부학교실

Abstract

Inflammation Relief Effect through ECS Control of Galgeunhwanggeumhwangryeon-tang Extract in Atopic Dermatitis

Kim Ki Bong^{1,2} · Ahn Sang Hyun^{3,*}

¹School of Korean Medicine, Pusan National University

²Dept. of Korean Pediatrics, Korean Medicine Hospital, Pusan National University

³Dept. of anatomy, college of Korean Medicine, Semyung University

Objective

The purpose of this study was to confirm the effects of Galgeunhwanggeumhwangryeon-tang in reducing inflammation through the endocannabinoid system (ECS) control in atopic dermatitis.

Methods

8-week-old Balb/C mice were divided into 4 groups: control group (Ctrl), lipid barrier elimination group (ADE), palmitoylethanolamide treated group after lipid barrier elimination (PEA), and Galgeunhwanggeumhwangryeon-tang applied group after lipid barrier elimination (GGRT). After inducing atopic dermatitis, cannabinoid receptor (CB) 1, CB2, CD68, phosphorylated inhibitor kappa B (p-IkB), inducible nitric oxide synthase (iNOS), substance P and serotonin were observed to confirm the regulation of the ECS, macrophage activity and mast cell activity.

Results

CB1 and CB2 showed higher positive reactions in the GGRT than in the LBE and PEA. CD68, p-IkB and iNOS showed higher positive reaction in the LBE, PEA and GGRT than in the Ctrl, but the increase in the positive reaction was lower in the GGRT compared to the LBE and PEA. Substance P and serotonin showed higher positive reaction in the LBE, PEA and GGRT than in the Ctrl, but the increase in the positive reaction was lower in the GGRT compared to the LBE and PEA.

Conclusions

The effects of Galgeunhwanggeumhwangryeon-tang were confirmed through the regulation of the ECS, macrophage activity and mast cell activity.

Key words: Galgeunhwanggeumhwangryeon-tang, Atopic Dermatitis, Endocannabinoid system (ECS), cannabinoid receptor 1 (CB1), cannabinoid receptor 2 (CB2), Mast cell

• Received: October 17, 2021 • Revised: November 17, 2021 • Accepted: November 18, 2021

*Corresponding Author: Sanghyun Ahn

Dept. of Anatomy, College of Korean Medicine, Semyung University, Semyung-ro 65,
Jecheon, Chungcheongbukdo, 27136, Republic of Korea

TEL: +82-43-649-1684 / FAX: +82-43-649-1702

E-mail: smkmana@semyung.ac.kr

© The Association of Pediatrics of Korean Medicine. 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.

I. Introduction

아토피피부염 (Atopic dermatitis)은 만성 염증성 피부질환으로, 5세 미만 소아에 발병이 집중되어 있는 소아유병률이 높은 질환이다¹⁾. 원인은 다양하며 복합적으로 작용하여 발생하며, 홍반과 부종, 심한 가려움, 삼출, 인설 등의 증상을 호소한다²⁾. 유전적 소인이 관여하는 것으로 알려져 있으며, 아토피피부염을 가진 소아는 알레르기 비염과 천식으로 발전하는 경우가 많다³⁾. 최근 산업화로 인한 환경의 변화와 부적절한 식생활 습관, 스트레스 등으로 만성으로 진행되어 성인까지 지속되고 있다⁴⁾.

한의학적으로 아토피 피부염은 奶癬, 胎癬, 濕疹, 濕瘡, 淫瘡 등의 범주에 해당된다⁵⁾. 선천적으로 약하여 습열이 생기거나, 외부의 풍열이 침입하고 내부에 습열이 쌓여서 발생하며, 거풍청열 (祛風清熱), 양혈윤조 (養血潤燥) 등의 치법이 사용된다⁶⁾. 따라서 임상현장에서 아토피피부염 치료에는 청열 (清熱) 효과가 있는 한약재들이 많이 사용되고 있다⁷⁾.

갈근황금황련탕 (Galgeunhwanggeumhwangryeon-tang, GGRT)은 갈근 (葛根, *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi), 황금 (黃芩, *Scutellaria baicalensis* George), 황련 (黃連, *Coptis japonica* Makino), 감초 (*Glycyrrhiza uralensis* Fischer)로 구성되어 있으며, 『상한론』에서 설사를 하법으로 오치한 경우에 사용되는 처방이다. 그러나 구성약물인 갈근, 황금, 황련은 청열해독하는 효과가 있어 피부의 염증질환에 다양하게 연구되어져 왔다⁸⁻¹⁴⁾. 갈근은 콩과에 속한 칩의 뿌리로서, 발한해기 (發汗解肌), 해표투진 (解表透疹), 생진지갈 (生津止渴), 해주독 (解酒毒) 하는 효능이 있으며, Interleukin (IL)-3, IL-4, Tumor necrosis factor α (TNF- α) 등의 분비를 억제시켜서 아토피 피부염의 염증반응을 조절한다⁸⁾. 황금은 청열조습 (清熱燥濕), 청열해독 (清熱解毒)하여 옹종(癰腫), 정창 (疔瘡) 같은 질환에 사용되며, 임상적으로 아토피피부염이나 습진 같은 피부 염증질환에 많이 사용된다⁹⁾. 또한 황금은 피부에서 항염증과 표피 회복 효과가 우수하다^{10,11)}. 황련은 청열조습 (清熱燥濕), 사화해독 (瀉火解毒)하는 효능이 있고, 항바이러스, 항균 등의 효능도 있다^{12,13)}. 이전 연구¹⁴⁾를 보면, 황련은 청열해독하는 효능이 있어 염증을 억제하고 화상의 피부손상을 회복하는데도 효과가 있다. 따라서, 갈근황금황련탕의 피부 손상 억제와 손상된 피부장벽 회복을 통하여 아토피피부염의 치료제로서의 가능성을 확인하고자 하였다.

본 연구는 갈근황금황련탕 추출물의 cannabinoid receptor (CB)1, CB2를 통하여 Endocannabinoid system (ECS)조절을 확인하였다. 또한 Cluster of Differentiation 68 (CD68), phosphorylated inhibitor kappa B (p-I κ B), inducible nitric oxide synthase (iNOS) 변화를 통한 Macrophage 활성화 조절과 Substance P, Serotonin 변화를 통한 Mast cell 활성 조절을 확인하였다. 이를 통해 갈근황금황련탕 추출물이 아토피피부염의 염증반응을 완화시킬 수 있는 가능성을 확인하였기에 보고하는 바이다.

II. Materials and Methods

1. Materials

1) 실험동물

자바이오 (수원, 대한민국)에서 분양 받은 무균사육 장치내에서 2주일동안 적응시킨 후 선별한 체중 20 ± 1.5 g의 태령 6주 수컷 Balb/C계 생쥐를 사용하였다. 대조군 (Control, Ctrl), 지방장벽제거군 (lipid barrier elimination group, LBE), 지방장벽제거 후 palmitoylethanolamide (PEA) 투여군 (PEA treated group after atopy dermatitis elicitation, PEA), 지방장벽제거 후 갈근황금황련탕 투여군 (Galgeunhwanggeumhwangryeon-tang extract treated group after lipid barrier elimination, GGRT)으로 나누었다. 각 군에 10마리씩 배정하였다. 동물실험은 세명대학교 동물실험윤리위원회의 승인 (IACUC No. smecae 21-08-01) 후 실시되었고, 실험실 동물의 관리와 사용에 대해서는 NIH 가이드라인에 따라 시행되었다.

2) 실험약물

갈근황금황련탕 105 g (Table 1) - 갈근 (*Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi) 52 g, 황금 (*Scutellaria baicalensis* George) 20 g, 황련 (*Coptis japonica* Makino) 13 g, 감초 (*Glycyrrhiza uralensis* Fischer) 20 g -을 증류수 2000 ml에 넣고 3시간 동안 전탕한 후 여과하였다. 그 여액을 rotary evaporator를 이용하여 100 ml로 감압 · 농축한 후 동결 건조하여 추출물 20.4 g (수득률 19.4%) 획득했다. GGRT 추출물을 생리식염수에 녹인 후 0.2 ml씩 지방장벽제거 후 5일 동안 340 mg/kg 경구투여하였다. 한편 대조약물

로 사용된 PEA (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO)을 각각 생리식염수 (100 μ l)에 녹인 후 아토피피부염 유발 후 5일동안 10 mg/kg 경구투여하였다.

Table 1. Prescription of Galgeunhwanggeumh-wangryeon-tang

Herb	Scientific Name	Dose
葛根	<i>Pueraria lobata</i> (Willd.) Ohwi	52
黄芩	<i>Scutellaria baicalensis</i> George	20
黄连	<i>optis japonica</i> Makino	13
甘草	<i>Glycyrrhiza uralensis</i> Fischer	20
Total Dose		105

2. Methods

1) 지방장벽제거

지방장벽제거는 생쥐 등쪽 부위 피부를 면도한 다음 Tape (3M, St. Paul, MN)를 이용하여 각질층의 탈락막 (desquamation)을 제거하였다. 10% sodium dodecyl sulfate (SDS : Sigma-Aldrich) 500 μ l를 도포한 후 면봉을 이용하여 30회 문질러서 각질층의 lipid lamella를 제거하였다.

2) 면역조직화학

피부는 vascular rinse와 10% 중성 포르말린용액 (neutral buffered formalin, NBF)으로 심장관류고정을 실시하였다. 얻어진 등쪽 피부를 10% NBF에 실온에서 24시간 동안 고정한 후 통상적인 방법으로 paraffin에 포매하고 5 μ m 두께로 연속절편을 만들었다.

피부 진피내 ECS 변화는 항 CB1, 항 CB2로, 큰포식세포의 활성 변화는 항 CD68, p-IkB, iNOS로, 그리고 비만세포 활성변화는 항 Substance P와 Serotonin의 항체를 이용한 면역조직화학적 염색을 실시하였다.

우선 피부절편을 proteinase K (20 μ g /ml, Agilent Dako, Santa Clara, CA)에 5분 동안 proteolysis 과정을 거친 후 1% fetal bovine serum (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO)이 포함된 10% normal goat serum (Vector Lab, Burlingame, CA)에서 12시간동안 blocking 반응시켰다. 1차 항체인 mouse anti-CB1 (1:100, Santa Cruz Biotech, Dallas, TX), mouse anti-CB2 (1:50, Santa Cruz Biotech), mouse anti-CD68 (1:50, Santa Cruz Biotech), mouse anti-p-IkB (1:500, Abcam, Cambridge, UK), mouse anti-iNOS (1:250, Abcam), mouse anti-substans P (1:100,

Santa Cruz Biotech) 그리고 mouse anti-serotonin (1:50, Santa Cruz Biotech)에 4°C humidified chamber에서 72시간 동안 반응시켰다. 2차 항체인 biotinylated goat anti-mouse IgG (1:100, Abcam)에 실온에서 24시간 link하였고, avidin biotin complex kit (Vector Lab)에 1시간 동안 실온에서 반응시켰다. 0.05% 3,3'-diaminobenzidine과 0.01% HCl이 포함된 0.05 M tris-HCl 완충용액 (pH 7.4)에서 발색시킨 후, hematoxylin으로 대조염색하였다.

3) 영상분석

면역조직화학의 결과는 image Pro 10 (Media cybernetics, Rockville, MD)를 이용한 영상분석을 통해 수치화 (means $\pm$ standard error) 되었다. 각 군의 피부표본 10개를 임의로 선정한 후 x200 배율에서 촬영한 다음 positive pixels (intensity 80~100) /20,000,000 pixels로 영상분석하였다.

4) 통계

통계는 SPSS software (SPSS 25, SPSS Inc., Chicago, IL)를 이루어졌으며, one-way ANOVA 시행을 통해 유의성 ($p < 0.05$)을 검증하고, 사후 검증은 Tukey HSD를 실시하였다.

III. Results

1. ECS 조절

CB1 양성반응은 Ctrl (6,170 $\pm$ 387 /20,000,000 pixel)에 비해 LBE, PEA, GGRT 모두에서 증가하였다. LBE (49,633 $\pm$ 1,775 /20,000,000 pixel)는 Ctrl에 비해 704% 증가하였고, PEA (66,616 $\pm$ 1,373 /20,000,000 pixel)는 978%, GGRT (80,796 $\pm$ 1,527 /20,000,000 pixel)는 1,210% 증가하였다. GGRT는 LBE에 비해 63%, PEA에 비해 21% 유의성있게 증가하였다 (Figure 1).

CB2 양성반응은 Ctrl (6,554 $\pm$ 373 /20,000,000 pixel)에 비해 LBE, PEA, GGRT 모두에서 증가하였다. LBE (33,941 $\pm$ 1,322 /20,000,000 pixel)는 Ctrl에 비해 418% 증가하였고, PEA (47,312 $\pm$ 1,503 /20,000,000 pixel)는 622%, GGRT (63,806 $\pm$ 2,048 /20,000,000 pixel)는 874% 증가하였다. GGRT는 LBE에 비해 88%, PEA에 비해 35% 유의하게 증가하였다 (Figure 2).

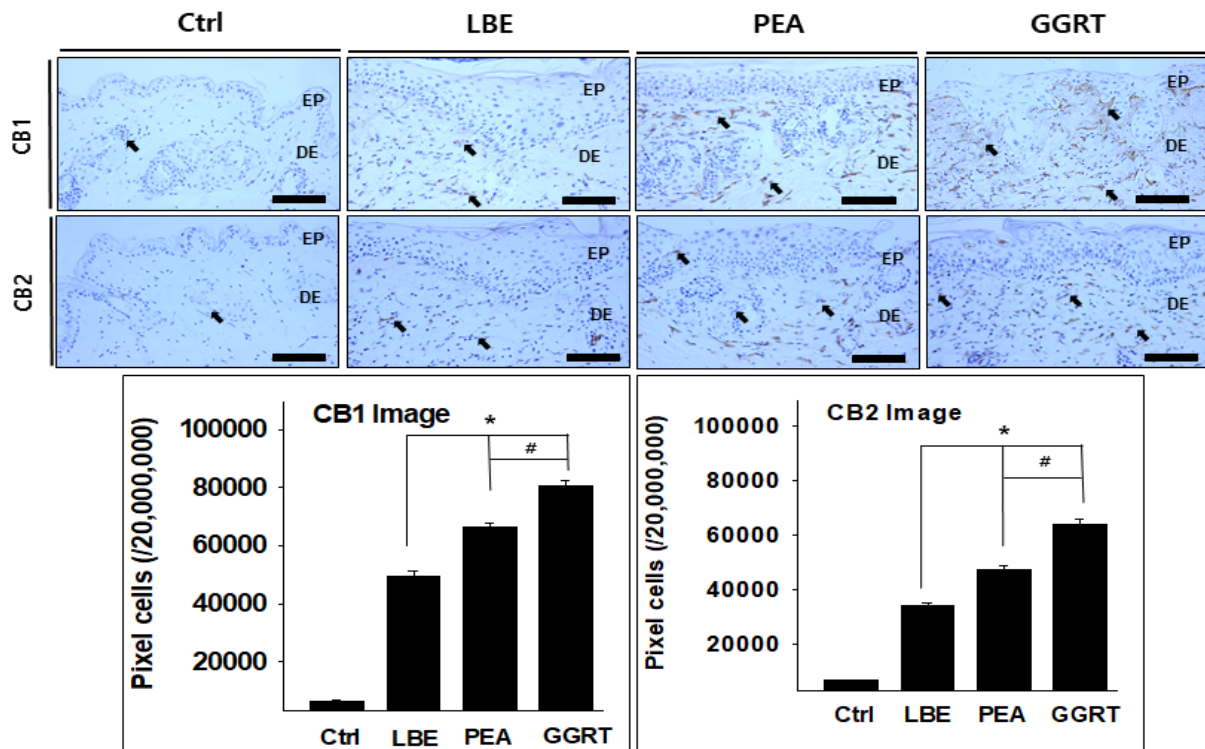


Figure 1. The regulation on ECS by application of Galgeunhwanggeumhwangryeon-tang.

This applications activated ECS on the lipid barrier destruction-induced skin lesions. The expression of CB1 & CB2 (indicates light brown particle) was significantly decreased in GGRT as compared with LBE. *Abbreviations.* Ctrl, normal; LBE, lipid barrier eliminate treat mouse; PEA, palmitoylethanolamide (PEA) feeding treated mouse after lipid barrier elimination; GGRT, Galgeunhwanggeumhwangryeon-tang extract treated group after lipid barrier elimination; ECS, endocannabinoid system; CB1, cannabinoid receptor 1; CB2, cannabinoid receptor 2; EP, epitelium; DE, Dermis; Bar size, 50 μ m.

2. Macrophage 활성 조절

CD68 양성반응은 Ctrl (6,992 $\pm$ 318 /20,000,000 pixel)에 비해 LBE, PEA, GGRT 모두에서 증가하였다. LBE (81,081 $\pm$ 2,738 /20,000,000 pixel)는 Ctrl에 비해 1,060% 증가하였고, PEA (47,972 $\pm$ 1,314 /20,000,000 pixel)는 586%, GGRT (32,548 $\pm$ 3,240 /20,000,000 pixel)는 366% 증가하였다. GGRT는 LBE에 비해 60%, PEA에 비해 32% 유의성있게 덜 증가하였다 (Figure 2).

p-IkB 양성반응은 Ctrl (6,464 $\pm$ 319 /20,000,000 pixel)에 비해 LBE, PEA, GGRT 모두에서 증가하였다. LBE (76,843 $\pm$ 2,084 /20,000,000 pixel)는 Ctrl에 비해 1,089% 증가하였고, PEA (45,102 $\pm$ 1,964 /20,000,000 pixel)는 598%, GGRT (27,906 $\pm$ 2,007 /20,000,000 pixel)는 332% 증가하였다. GGRT는 LBE에 비해 64%, PEA에 비해 38% 유의성있게 덜 증가하였다 (Figure 2).

iNOS 양성반응은 Ctrl (5,875 $\pm$ 311 /20,000,000 pixel)에 비해 LBE, PEA, GGRT 모두에서 증가하였다. LBE (65,877 $\pm$ 2,053 /20,000,000 pixel)는 Ctrl에 비해 1,021% 증가하였고, PEA (40,631 $\pm$ 1,517 /20,000,000

pixel)는 592%, GGRT (23,598 $\pm$ 1,352 /20,000,000 pixel)는 302% 증가하였다. GGRT는 LBE에 비해 64%, PEA에 비해 42% 유의성있게 덜 증가하였다 (Figure 2).

3. Mast cell 활성 조절

Substance P 양성반응은 Ctrl (7,013 $\pm$ 255 /20,000,000 pixel)에 비해 LBE, PEA, GGRT 모두에서 증가하였다. LBE (77,614 $\pm$ 1,722 /20,000,000 pixel)는 Ctrl에 비해 1,007% 증가하였고, PEA (58,824 $\pm$ 1,749 /20,000,000 pixel)는 739%, GGRT (26,935 $\pm$ 4,965 /20,000,000 pixel)는 284% 증가하였다. GGRT는 LBE에 비해 65%, PEA에 비해 54% 유의성있게 덜 증가하였다 (Figure 3).

Serotonin 양성반응은 Ctrl (6,962 $\pm$ 429 /20,000,000 pixel)에 비해 LBE, PEA, GGRT 모두에서 증가하였다. LBE (81,334 $\pm$ 1,501 /20,000,000 pixel)는 Ctrl에 비해 1,068% 증가하였고, PEA (50,685 $\pm$ 1,574 /20,000,000 pixel)는 628%, GGRT (32,632 $\pm$ 1,453 /20,000,000 pixel)는 369% 증가하였다. GGRT는 LBE에 비해 60%, PEA에 비해 36% 유의성있게 덜 증가하였다 (Figure 3).

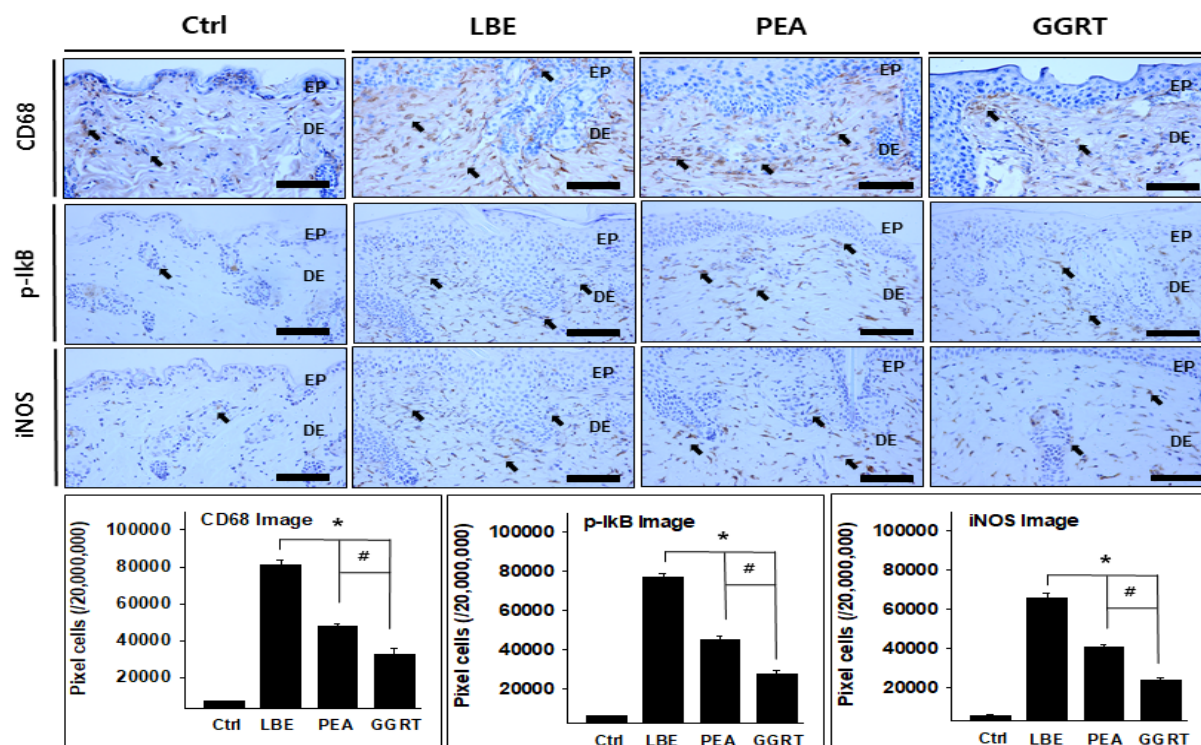


Figure 2. The regulation on macrophage by application of Galgeunhwanggeumhwangryeon-tang.

The expression of CD68, p-IkB, & iNOS (indicates light brown particle) was significantly decreased in GGRT as compared with LDE. Abbreviations same as Fig. 1. CD68, Cluster of Differentiation 68; p-IkB, phosphorylated inhibitor kappa B; iNOS, inducible nitric oxide synthase.

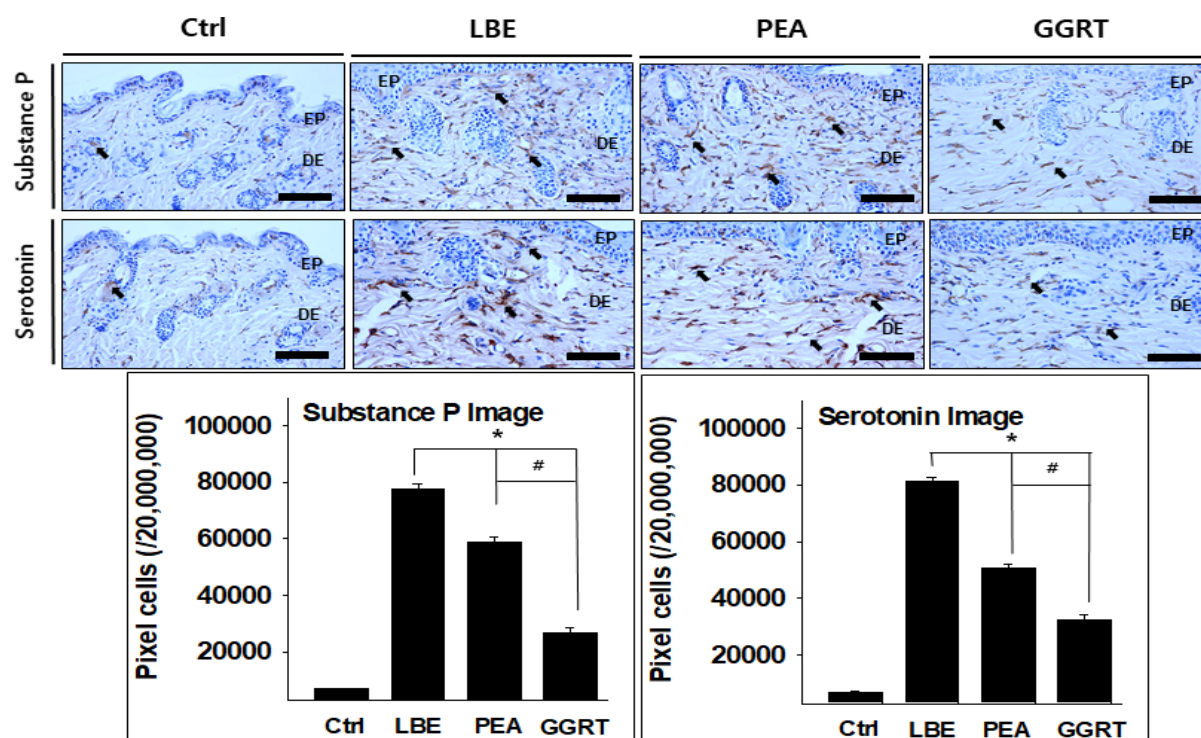


Figure 3. The regulation on mast cell by application of Galgeunhwanggeumhwangryeon-tang.

The expression of substance P & Serotonin (indicates light brown particle) was significantly decreased in GGRT as compared with LDE. Abbreviations same as Fig. 1.

IV. Discussion

아토피피부염은 다양한 연령에서 재발과 증상악화로 삶의 질을 저하시키는 만성질환이다. 아토피피부염의 원인은 다양하며, 현재는 증상을 완화시키거나 더 이상 악화되지 않도록 방지할 뿐 근본적인 치료법은 부재하다. 현재 아토피피부염의 치료제는 항히스타민제, 국소 스테로이드 외용제, 경구 스테로이드제를 사용하고 있으나, 근본적인 치료보다는 일시적인 증상완화에 불과한 정도이다¹⁵⁾.

갈근황금황련탕은 갈근, 황금, 황련, 감초로 구성되어 있으며, 청열해독하는 효능이 있어 염증을 억제하고 피부손상을 회복하는데 효과가 있다⁸⁻¹⁴⁾. 따라서, 갈근황금황련탕의 피부손상 억제와 손상된 피부장벽 회복을 통하여 아토피피부염의 치료제로서의 가능성을 확인하고자 하였다.

Endocannabinoid system (ECS)은 식욕, 통증 감각, 기분, 기억 등을 조절하는 생물학적 시스템으로, cannabinoid receptors (CBRs), CBRs의 endogenous ligands 및 CB의 합성 및 분해에 관여하는 효소로 구성된다¹⁶⁾. ECS의 증가나 감소는 다양한 병리적 상태와 연관되어져 있다¹⁷⁾. 이로 인해 ECS의 부적절한 작동은 아토피피부염의 피부장벽의 기능 장애 같은 피부 병리에 영향을 줄 수 있다¹⁸⁾. ECS 작용의 일시적 변화는 다양한 인체 보상 반응이나 질병의 진행을 감소시키거나 늦출 수 있다. 반면 ECS 작용의 활성화는 신체 결함을 반영하거나 병원성으로 작용할 수 있다¹⁹⁾. 특히 ECS는 피부세포의 다양한 반응에 관여하는데²⁰⁾, 표피 세포에서 CB1 및 CB2의 활성화는 각질세포 증식과 분화를 억제하고²¹⁾, 염증을 유발하고²²⁾, 세포사멸 (apoptosis)을 유도한다²³⁾. 또한 다양한 CB는 CB1을 통한 통증 및 가려움증과 같은 감각 현상을 억제한다^{24,25)}. ECS는 피부에서 세포 분화뿐 아니라 면역과 염증 반응을 조절한다. 이러한 ECS는 미세한 조정으로도 아토피피부염 같은 피부질환을 촉진하거나 완화시킬 수 있다²⁶⁾. 이러한 이유로 피부질환의 새로운 치료법으로 ECS를 이용한 연구가 대두되고 있다²⁷⁾.

본 연구에서는 GGRT에서 CB1, CB2 양성반응이 모두 LBE와 PEA보다 유의성있게 증가하였다. 이러한 연구결과는 GGRT가 CB1, CB2와 같은 ECS 구성요소를 생성한다는 것을 의미하며, GGRT가 ECS 작용에 개입하여 아토피피부염 증상을 완화시킬 가능성을 제

시한다.

Extracellular signal-regulated kinase (ERK)와 c-Jun N-terminal kinases (JNK)를 포함한 Mitogen-activated protein kinases (MAPKs)는 nuclear factor-kappa B (NF- κ B) 활성화를 통해 염증 반응을 조절한다²⁸⁾. NF- κ B는 세포염증반응에서 핵심적인 자리에 있는 regulator로 I κ B와 결합을 이룬 상태로 세포질 내에 비활성 상태로 존재한다²⁹⁾. 세포가 손상을 받거나 스트레스를 받으면 I κ B kinase인 IKK (IKK α)에 의해 NF- κ B가 I κ B로 분리되고 핵 안으로 들어가 염증반응을 일으킨다³⁰⁾. 그리고 NF- κ B에 의해 생성된 전염증성 효소에 의해 전사되는 iNOS는 nitric oxide (NO)를 과도하게 생성하여 산화적 스트레스를 일으켜 조직손상과 염증반응을 유발한다³¹⁾.

본 연구에서는 GGRT의 CD68, p-I κ B, iNOS 양성반응이 모두 LBE와 PEA에 비해 작게 증가하였다. 이러한 연구결과는 GGRT가 아토피피부염에서 피부장벽 손상으로 발생하는 염증반응을 억제하여 macrophage 활성을 조절할 수 있는 가능성을 제시한다.

심한 소양감 같은 아토피피부염 증상은 IgE에 의해 매개된 비만세포 (Mast cell)의 탈과립화로 인해 시작된다³²⁾. 비만세포 표면에서 발현되는 수용체에 IgE와 항원이 결합하면, 비만세포가 활성화되고, 활성화된 비만세포는 substance P, matrix metalloproteinase 9 (MMP-9) 같은 염증성 매개물질을 분비하여 염증반응을 유발한다. Substance P는 다양한 cytokine의 분비 조절 뿐 아니라, 혈관이완과 투과성 증가, histamin 분비 유발을 통해 염증반응에 관여하고, 가려움을 유발하므로, 소양감을 확인하는 지표라 할 수 있다.

본 연구에서는 GGRT의 substance P, serotonin 양성반응이 모두 LBE와 PEA에 비해 작게 증가하였다. 이러한 연구결과는 GGRT가 아토피피부염에서 발생하는 심한 가려움증을 억제하고 mast cell 활성을 조절할 수 있음을 의미한다.

본 연구에서 GGRT는 피부장벽의 병리적 증상과 아토피피부염 피부 손상을 억제하고 상피 증식을 감소시켰다. 또한 CB1, CB2와 같은 ECS 성분 생성을 촉진하고, 염증 세포의 증식 및 침윤을 억제시켰다.

이러한 결과를 종합해 보면, GGRT는 ECS 개입을 통해 피부 항상성을 유지하고, 피부 장벽 형성을 개선하고 염증을 억제함으로써 아토피피부염 증상을 완화시킬 수 있을 것으로 기대된다. 다만 본 연구는 동물실험에서 제한적으로 진행된 연구이므로 향후 추가적인

임상연구가 필요하다.

V. Conclusion

본 연구는 갈근황금황련탕 추출물의 CB1, CB2를 통한 ECS조절과 CD68, p-IkB, iNOS 변화를 통한 Macrophage 활성 조절, Substance P, Serotonin 변화를 통한 Mast cell 활성 조절을 관찰한 결과 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. CB1의 양성반응은 GGRT는 LBE에 비해 63%, PEA에 비해 21% 유의하게 증가하였다.
2. CB2의 양성반응은 GGRT는 LBE에 비해 88%, PEA에 비해 35% 유의하게 증가하였다.
3. CD68 양성반응은 GGRT는 LBE에 비해 60%, PEA에 비해 32% 유의하게 덜 증가하였다.
4. p-IkB 양성반응은 GGRT는 LBE에 비해 64%, PEA에 비해 38% 유의하게 덜 증가하였다.
5. iNOS의 양성반응은 GGRT는 LBE에 비해 64%, PEA에 비해 42% 유의하게 덜 증가하였다.
6. Substance P의 양성반응은 GGRT는 LBE에 비해 65%, PEA에 비해 54% 유의하게 덜 증가하였다.
7. Serotonin의 양성반응은 GGRT는 LBE에 비해 60%, PEA에 비해 36% 유의하게 덜 증가하였다.

VI. Acknowledgement

이 논문은 2021학년도 세명대학교 교내학술연구비 지원에 의해 수행된 연구임.

VII. References

1. Kim JH. Current understanding of atopic dermatitis. *Pediatr Allergy Respir Dis.* 2004;14(1):12-23.
2. Weidinger S, Novak N. Atopic dermatitis. *Lancet* (London, England). 2016;387(10023):1109-22.
3. Lee JY, Kim DG. The clinical study of atopic dermatitis. *J Pediatr Korean Med.* 1999;13(2):171-86.
4. Jee HM, Kim KW, Kim CS, Sohn MH, Shin DC, Kim KE. Prevalence of asthma, rhinitis and eczema in Korean children using the international study of asthma and allergies in childhood (ISAAC) questionnaires. *Pediatr Allergy Respir Dis.* 2009;19(2):165-72.
5. Ahn KM, Kim JH, Kwon HJ, Chae YM, Hahm MI, Lee KJ, Park YM, Lee SY, Han MY, Kim WK. The prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis, and eczema in Korean children: nationwide cross-sectional survey using complex sampling design. *J Korean Med Assoc.* 2011;54(7):769-78.
6. Kim MJ, Lee SY. A literature study of atopic dermatitis for children. *J Pediatr Korean Med.* 2000;14(2):167-82.
7. Muluye RA, Bian Y, Alemu PN. Anti-inflammatory and antimicrobial effects of heat-clearing Chinese herbs: a current review. *J Tradit Complement Med.* 2014;4(2):93-8.
8. Kim HB, Kang KH, Hwang WD, Lyu SA, Lee SY. The effects of *Puerariae Radix* on allergic inflammation. *J Korean Oriental Pediatrics.* 2009;23(3):217-31.
9. Ahn SH, Kim KB. Effect of anti-inflammation through creation of skin fat barrier on *Scutellaria baicalensis* extract. *J Pediatr Korean Med.* 2021;35(1):40-7.
10. Yang BD, Kim SR, Choi CH, Jeoung HW, Kim HW. Effects of *Scutellaria baicalensis* extract on skin lesion of contact dermatitis induced by DNFB in Mice. *J Physiol & Pathol Korean Med.* 2017;31(1):59-64.
11. Kim YH, Park YS. Effect of *Scutellaria baicalensis* water extract on antioxidative activity and epidermal thickness in DNCB-induced allergic contact dermatitis animal model. *Korean Soc Food Sci Nutr.* 2006;35(5):543-8.
12. Chin LW, Cheng YW, Lin SS, Lai YY, Lin LY, Chou MY, Chou MC, Yang CC. Anti-herpes simplex virus effects of berberine from *Coptidis Rhizoma*, a major component of a Chinese herbal medicine, Ching-Wei-San. *Arch Virol* 2010;155(12):1933-41.
13. Yu YE, Park EY, Jung DH, Byun SH, Kim SC, Park SM. Antibacterial activity of oriental medicinal herb extracts against skin pathogens. *J Life Sci.* 2010;20(7):1143-50.
14. Kim HK, Hong SU. The anti-inflammatory effects of Huang-Lyun (*Coptidis Rhizoma*, CR) on injured tissue after burn elicitation. *J Korean Oriental Med.* 2011;

- 32(2):1-13.
15. Baron ED, Barzilai D, Johnston G, Kawashima M, Takigawa M, Nakagawa H, Graham-Browh R, Stevens SR. Atopic dermatitis management: comparing the treatment patterns of dermatologists in Japan, U.S.A. and U.K. *Br J Dermatol.* 2002;147:710-5.
16. Salzet M. Invertebrate molecular neuroimmune processes. *Brain Res Rev.* 2000;34(1):69-79.
17. Pacher P, Batkai S, Kunos G. The endocannabinoid system as an emerging target of pharmacotherapy. *Pharmacol Rev.* 2006;58(3):389-462.
18. Kupczyk P, Reich A, Szepietowski JC. Cannabinoid system in the skin - a possible target for future therapies in dermatology. *Exp Dermatol.* 2009;18(8):669-79.
19. Miller LK, Devi LA. The highs and lows of cannabinoid receptor expression in disease: mechanisms and their therapeutic implications. *Pharmacol Rev.* 2011;63(3):461-70.
20. Luger TA. Neuromediators--a crucial component of the skin immune system. *J Dermatol Sci.* 2002;30(2):87-93.
21. Maccarrone M, Rienzo M, Battista N, Gasperi V, Guerrieri P, Rossi A, Finazzi-Agro A. The endocannabinoid system in human keratinocytes: evidence that anandamide inhibits epidermal differentiation through CB1 receptor-dependent inhibition of protein kinase C, activation protein-1, and transglutaminase. *J Biol Chem.* 2003;278(36):33896-903.
22. Karsak M, Gaffal E, Date R, Wang-Eckhardt L, Rehnelt J, Petrosino S. Attenuation of allergic contact dermatitis through the endocannabinoid system. *Science.* 2007;316(5830):1494-97.
23. Casanova ML, Blazquez C, Martinez-Palacio J, Villanueva C, Fernandez-Acenero MJ, Huffman JW, Jorcano JL, Guzman M. Inhibition of skin tumor growth and angiogenesis *in vivo* by activation of cannabinoid receptors. *J Clin Invest.* 2003;111(1):43-50.
24. Walker JM, Hohmann AG. Cannabinoid mechanisms of pain suppression. *Handb Exp Pharmacol.* 2005;168:509-54.
25. Jhaveri MD, Richardson D, Chapman V. Endocannabinoid metabolism and uptake: novel targets for neuropathic and inflammatory pain. *Br J Pharmacol.* 2007;152(5):624-32.
26. Tóth BI, Dobrosi N, Dajnoki A, Czifra G, Olah A, Szollosi AG, Juhasz I, Sugawara K, Paus R, Biro T. Endocannabinoids modulate human epidermal keratinocyte proliferation and survival via the sequential engagement of cannabinoid receptor-1 and transient receptor potential vanilloid-1. *J Invest Dermatol.* 2011;131(5):1095-104.
27. Tóth KF, Ádám D, Bíró T, Olah A. Cannabinoid signaling in the skin: therapeutic potential of the "C(ut)annabinoid" system. *Molecules.* 2019;24(5):918.
28. Arbabi S, Maier RV. Mitogen-activated protein kinases. *Crit Care Med.* 2002;30(1) Suppl:s74-9.
29. Chung, HY, Cesari M, Anton S, Marzetti E, Giovannini S, Seo AY, Carter C, Yu BP, Leeuwenburgh C. Molecular inflammation: underpinnings of aging and age-related diseases. *Ageing Res Rev.* 2009;8(1):18-30.
30. Baeuerle PA, Baltimore D. NF-kappa B: ten years after. *Cell.* 1996;87(1):13-20.
31. Aktan F. iNOS-mediated nitric oxide production and its regulation. *Life Sciences.* 2004;75(6):639-53.
32. Kay AB. Allergy and allergic diseases. First of two parts. *N Engl J Med.* 2001;344(1):30-7.