



### 저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원 저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리와 책임은 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)



2016년 2월

박사학위논문

달맞이꽃종자유와  
달맞이꽃종자유-로즈마리혼합오일이  
아토피 피부염유발 동물모델에  
미치는 효과

조선대학교 대학원

보완대체의학과

김 선 주

달맞이꽃종자유와  
달맞이꽃종자유-로즈마리혼합오일이  
아토피 피부염유발 동물모델에  
미치는 효과

Effect of Evening Primrose Oil and Mixed Oil of  
Evening Primrose-Rosemary on Atopic  
Dermatitis-Induced Animal Model

2016년 2월 25일

조선대학교 대학원

보완대체의학과

김 선 주

달맞이꽃종자유와  
달맞이꽃종자유-로즈마리혼합오일이  
아토피 피부염유발 동물모델에  
미치는 효과

지도교수 이 미 자

이 논문을 보완대체의학 박사학위신청 논문으로  
제출함

2015년 10월

조선대학교 대학원

보완대체의학과

김 선 주

# 김선주의 박사학위논문을 인준함

위원장 조선대학교 교수 문 경 래 印

위원 원광대학교 교수 박승택 印

위원 조선대학교 교수 소금영 印

위원 조선대학교 교수 홍란 印

위원 조선대학교 교수 이미자 印

2015년 12월

조선대학교 대학원

# 목 차

표목차 .....	ii
도목차 .....	iii
<b>ABSTRACT .....</b>	v
<b>I. 서 론 .....</b>	1
<b>II. 연구재료 및 방법 .....</b>	3
A. 실험동물 .....	3
B. 재료 및 시약 .....	3
C. 실험방법 .....	3
1. 오일성분 및 제조 .....	3
2. 아토피피부염 유발 및 오일 도포 .....	5
3. 체중 및 장기무게 측정 .....	5
4. 관능평가 .....	5
5. 전자공여능 분석 .....	6
6. 지질과산화능 분석 .....	6
7. 표피두께 측정 .....	6
8. IgE 분석 .....	7
9. 비만세포 측정 .....	7
D. 통계처리 .....	8
<b>III. 결과 .....</b>	9
A. 체중 및 장기무게 측정 .....	9
B. 관능평가 .....	10
C. 전자공여능 측정 .....	12
D. 지질과산화능 측정 .....	16
E. 표피두께 측정 .....	20
F. IgE 측정 .....	24
G. 비만세포 측정 .....	26
<b>IV. 고찰 .....</b>	30
<b>V. 결론 .....</b>	35
<b>참고문헌 .....</b>	36

## 표 목 차

- Table 1. The component of evening primrose (*Oenothera biennis*) oil
- Table 2. The component of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) oil
- Table 3. The weight changes of body and organs in NC/Nga mice
- Table 4. The sensory assessment in NC/Nga mice
- Table 5. The electron donating value of evening primrose oil
- Table 6. The electron donating value of evening primrose-rosemary oil
- Table 7. The lipid peroxidation value of evening primrose oil
- Table 8. The lipid peroxidation value of evening primrose-rosemary oil
- Table 9. The epidermal thickness on oil treatment in NC/Nga mice
- Table 10. The changes of IgE level in serum of NC/Nga mice
- Table 11. The numerical changes of degranulated mast cells in NC/Nga mice

## 도 목 차

- Fig. 1. The sensory assessment. A: control, B: atopic dermatitis-induced mouse, C: evening primrose oil-treated mouse, D: evening primrose-rosemary oil-treated mouse
- Fig. 2. The electron donating activity(EDA) of evening primrose oil(E oil). DPPH was reacted with 20, 50 and 80 ul of E oil. The data indicates the mean±SD for triplicate experiments and significantly different from the control. \* $p<0.05$ , \*\* $p<0.01$ , \*\*\* $p<0.001$
- Fig. 3. The electron donating activity(EDA) of evening primrose-rosemary oil (ER oil). DPPH was reacted with 20, 50 and 80 ul of ER oil. The data indicates the mean±SD for triplicate experiments and significantly different from the control. \*\* $p<0.01$ , \*\*\* $p<0.001$
- Fig. 4. The lipid peroxidation activity(LPA) of evening primrose oil(E oil). The activity of E oil was assessed at concentrations of 20, 50 and 80 ul. The data indicates the mean±SD for triplicate experiments and significantly different from the control. \* $p<0.05$ , \*\* $p<0.01$ , \*\*\* $p<0.001$
- Fig. 5. The lipid peroxidation activity(LPA) of evening primrose-rosemary oil(ER oil). The activity of ER oil was assessed at concentrations of 20, 50 and 80 ul. The data indicates the mean±SD for triplicate experiments and significantly different from the control. \*\* $p<0.01$ , \*\*\* $p<0.001$
- Fig. 6. The epidermal thickness of atopic dermatitis(AD)-induced mice were measured after treating with evening primrose oil(E oil) and evening primrose-rosemary oil(ER oil) for 6 days. The data indicates the mean±SD for triplicate experiments and significantly different from the positive control (AD). \*\* $p<0.01$ , \*\*\* $p<0.001$

Fig. 7. The photography of epidermal thickness. A: control, B: atopic dermatitis-induced group, C: evening primrose oil-treated group, D: evening primrose-rosemary oil-treated group. x 200

Fig. 8. The changes of IgE in serum. atopic dermatitis(AD)-induced mice were treated with evening primrose oil(E oil) and evening primrose-rosemary oil(ER oil) for 6 days, respectively. The data indicates the mean $\pm$ SD for triplicate experiments and significantly different from the positive control (AD). \*p<0.05, \*\*p<0.01

Fig. 9. The numerical changes of degranulated mast cells. atopic dermatitis(AD)-induced mice were treated with evening primrose oil(E oil) and evening primrose-rosemary oil(ER oil) for 6 days. The data indicates the mean $\pm$ SD for triplicate experiments and significantly different from the positive control (AD). \*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001

Fig. 10. The photography of degranulated mast cells. A: control, B: atopic dermatitis-induced group, C: evening primrose oil-treated group, D: evening primrose-rosemary oil-treated group. x 200

## ABSTRACT

### Effect of Evening Primrose Oil Mixed Oil of Evening Primrose-Rosemary on Atopic Dermatitis-Induced Animal Model

Kim, Seon Ju

Advisor : Prof. Lee, Mi Ja

Department of Complementary and Alternative Medicine,  
Graduate School of Chosun University

Recently more studies have been focused on atopic dermatitis (AD) due to its rapid increase every year in all generations, especially children. Nevertheless, not a lot known about its mechanism and effective therapeutic agents. It is suggested that aromatherapy using herb oil is very effective in for the treatment of atopic dermatitis. But there are only few experimental reports about the actual effects of or either single compound herb oil. Some studies demonstrated that evening primrose oil, rosemary oil or breeding of the two could serve as a putative agent in AD treatment for its antioxidative effect.

This study aimed to evaluate the effects of evening primrose oil and the mixed oil of evening primrose-rosemary on AD-induced NC/Nga mice. Experiments were performed to examine not only the changes in their body and organ weights but also sensory assessment and antioxidative effects such as electron donating activity (EDA) and lipid peroxidation activity (LPA) of the compound oil. It also examined the changes in epidermal thickness, IgE level, and the number of mast cells from the tissues of AD-induced NC/Nga mice. As for the result of four different groups were made for this study: a control

group, AD-induced group, evening primrose oil-treated group, and evening primrose-rosemary mixed oil-treated group. There were no significant differences in the weights of body and organs among the control group, AD-induced group and oil-treated groups. Oil-treated groups showed significantly sensory assessment and antioxidative effects such as EDA and LPA compared with AD-induced group.

As for the changes of epidermal thickness using quantitative assay and light microscopy, both the evening primrose oil-treated group and mixed oil-treated groups showed significantly decrease compared with AD-induced group. The decrease in thickness was especially prominent in the mixed oil-treated group. While both single and compound oil-treated groups showed a significantly decreased IgE level in serum than AD-induced group, and especially mixed oil-treated group. In the degranulation of mast cells by quantitative assay and light microscopy, evening primrose oil- and mixed oil-treated groups showed significant decreased changes of degranulation compared with AD-induced group, and especially mixed oil-treated group.

This study is believed to contribute as the utilization value in the aromatherapy field of alternative medicine in AD treatment.

**Key Words:** Evening primrose oil, Mixed oil of evening primrose-rosemary, Atopic dermatitis, Antioxidative effect, Aromatherapy

## I. 서 론

아토피피부염(atopic dermatitis, AD)은 피부알러지의 대표적인 질환으로서 최근 발병율이 증가추세에 있다[1]. 흔히 태열이라고도 불리우는 만성피부질환으로서 소양감을 비롯한 피부건조 및 염증과 같은 현상이 임상적 병변의 주된 현상이다[2]. 어린이에서 성인에 이르기 까지 다양한 연령에서 발병되는데 2000년대로 접어들면서 유병율이 15-30%로 크게 증가하였으며, 특히 어린이에게서 더 많이 발병되는 추세에 있다. 어린이의 5-10%가 아토피피부염에 이완되어 있으며 1세 미만에서 가장 많이 발병되고 85%가 5세 이전에 나타난 것으로 보고되었다[3-4]. 발병요인은 잘 밝혀져 있지 않으나 유전적인 요인과 환경적인 요인 및 이들의 복합적인 요인으로 알려져 있으며, 활성산소(reactive oxygen species, ROS)를 비롯한 IgE 및 CD4<sup>+</sup> 보조 T림프구( $T_H$ 세포)에 의한 IL-4나 TNF- $\alpha$ 와 같은 사이토카인들이 관여하고 있는 것으로 알려져 있다[5-6].

특히  $T_H$  세포는 아토피피부염에 중요한 역할을 하는데 예를 들면  $T_{H1}$  세포는 IFN- $\gamma$ 나 TNF- $\alpha$ 를 분비하여 피부의 진피층의 비후나 염증에 관여하는 반면,  $T_{H2}$  세포는 IL-4와 같은 사이토카인을 분비하여 IgE의 아형변화(isotype switching) 및 병변부위로의 호산구의 이송을 촉진시켜 염증유발을 유도한다[7]. 특히 아토피피부염에서는 대식세포나 단핵구의 표면에 IgE 수용체 표현이 증가되어 있는데 항원이 IgE의 수용체(Receptor)를 자극하게 될 경우 단핵구나 대식세포가 활성화되면서 granulocyte-macrophage colony stimulating factor (GM-CSF)를 분비하여 염증반응을 더욱 가속화한다[8]. 더욱이 자극을 받은 식세포들은 이들의 세포형질막에 존재하는 NADPH oxidase가 갑자기 ROS의 증가를 유발하는 호흡분출(respiratory burst)을 유도한다[9]. 동시에 IgE 수용체는 탈과립된 비만세포와 결합하여 아토피피부염의 임상적 특징의 하나인 소양감을 유발함으로서 병변을 더욱 악화시킨다고 한다[10-11]. 따라서 IgE를 비롯한 비만세포 및 ROS와 같은 인자들의 상호복합적인 작용의 결과에 기인한다고 알려져 있다[12-13].

아토피피부염의 빠른 이완율의 증가추세에 비하여 아직까지 아토피피부염에 대한 자세한 작용기전은 물론, 병변치료에 효과적인 약물의 개발 또한 미흡한 상태에 있다. 특히 ROS가 병변의 요인 하나로 밝혀지면서 항산화 측면에서 이의 치료적 접

근을 시도하고 있다[14-15].

최근 허브를 비롯한 한약재 및 약용식물들의 성분에는 항산화를 비롯한 항암, 항염 및 항균 등과 같은 다양한 생리활성을 나타내는 물질들이 함유되어 있다고 밝혀져 있다[15-16]. 예를 들면, 이들 성분에는 플라보노이드와 폴리페놀과 같은 폐놀화합물(phenolic compound)을 비롯하여 타닌 및 카로티노이드와 같은 여러 물질들이 함유되어 있다고 알려져 있다[17]. 특히 허브에서 생성되는 오일과 같은 추출물들은 항산화나 항염 및 항균 등에 좋은 terpineol이나 santalol, menthol, pinene과 같은 유효성분들을 다양 가지고 있어 서양에서는 오래전부터 의약품의 대용으로 사용하여 왔다[18-19]. 허브오일 중 로즈마리오일(Rosemary oil)과 달맞이꽃종자유(Evening primrose oil)는 아토피피부염과 같은 염증병변에 좋은 효능이 있다고 알려져 있다 [20]. 예를 들면 로즈마리오일은 cineol을 비롯한 camphor, pinene, bornyl acetate 및 limonene 등의 성분을 함유하고 있으며 이들은 항산화를 비롯한 항염, 항암 등에 유효한 생리활성을 가지고 있다고 알려져 있다[21]. 또한 달맞이꽃종자유는 항산화에 좋은 linoleic acid를 비롯한 palmitic acid, stearic acid, gamma linolenic acid 및 oleic acid와 같은 성분을 가지고 있어 항산화 및 항균, 항알러지 등에 유효한 효능이 있다고 한다[22]. 그러나 아토피피부염에 대한 달맞이꽃종자유나 로즈마리오일의 각각에 대한 효능은 물론이지만 이들의 혼합오일에 대한 연구는 소수에 불과하다. 최근 서로 다른 두 종류 이상을 혼합한 오일에 대한 효능을 보기 위한 연구들이 시도되고 있는데 이는 통계적으로 단일 오일보다 두 종류이상의 혼합오일이 더욱 좋은 결과를 나타낸다는 보고가 되고 있기 때문이다[23]. 그러나 이에 대한 연구는 아직은 시작단계에 있으며 소수에 불과하다[24].

본 연구는 아토피피부염에 대한 달맞이꽃종자유 및 이와 로즈마리오일과의 혼합오일(Evening primrose- Rosemary oil)을 재료로, 아토피피부염 모델인 NC/Nga 생쥐로부터 체중과 장기무게변화 및 관능평가를 비롯하여, 항산화 측면에서 이들 오일의 영향분석과 함께 생쥐의 조직으로부터 면역지표인 IgE의 측정과 동시에 비만세포의 탈과립 및 피부장벽의 변화를 조사함으로서 천연추출물을 이용한 아토피피부염의 치료적 대체물질의 소재탐색을 위한 일환으로 본 연구를 시행하였다.

## II. 연구재료 및 방법

### A. 실험동물

본 실험에 사용한 동물은 태령 6주령인 NC/Nga 생쥐를 중앙실험동물(주) (Seoul,Korea)에서 구입 한후 케이지에 넣고 고형사료(Samyang Co., Korea)와 물을 충분히 공급하면서 각각 온도는  $21\pm3^{\circ}\text{C}$ , 습도는  $57\pm13\%$ , 밤과 낮의 주기는 각각 12/12시간(light/dark cycle)으로 조절된 환경에서 1주일 동안 적응기간을 거친 후 본 실험에 사용하였다. 대조군과 각 실험군은 아토피피부염 유발군, 달맞이꽃종자유 처치군 및 달맞이꽃종자유-로즈마리오일인 혼합오일 처치군으로 나누어 6일 동안 처치하였다. 각 군당 개체수는 Festing[25]의 오차자유도의 공식에 따라 6마리씩 24마리를 무작위로 배정하였다.

### B. 재료 및 시약

본 실험에 사용한 에센셜오일은 달맞이꽃종자오일(*Oenothera biennis*, Evening primrose oil)과 달맞이꽃종자오일-로즈마리오일(*Rosmarinus officinalis*, Rosemary oil)의 혼합오일(Evening primrose-Rosemary oil)을 사용하였으며, 각 오일은 G.R. Davis Pty. 사(Queanbeyan, Australia)의 제품을 구입하여 사용하였다.

2,2-diphenol-2-picrylhydrazyl (DPPH), 1-chloro-2,4-dinitrobenzene (DNCB), Ammonium thiocyanate, Linoleic acid, Olive oil, Ferrous chloride, Aceton, Tris-HCl[Tris(hydroxymethyl)-amniomethane], Ethanol은 Sigma사(St Luis Mo, U.S.A.), IgE 측정을 위한 IgE ELISA Kit는 Komabiotech 사에서 구입하여 사용하였다.

### C. 실험 방법

#### 1. 오일성분 및 제조

달맞이꽃종자오일과 로즈마리오일의 성분은 Table 1과 2와 같다. 혼합오일의 제조는 Battaglia[20]의 사용지침서의 권장에 따라 로즈마리오일을 100 ml의 달맞이꽃종자유에 넣어 2%로 만들어 사용하였으며, 오일제조 후 차광병에 보관하여 사용하였다. 오일의 시료액 제조는 각 오일을 전체 총액의 1%에 해당하는 에탄올에 넣고 녹인 후 각각 10, 50, 100, 150 및 200  $\mu\text{l}$ 의 저장액을 각각 만들어 냉암소에 보관하였다. 실험에 필요한 오일농도는 저장액을 최종 농도로 희석 후 사용하거나 또는 직접 필요한 농도를 배양액에 첨가 사용하였다.

Table 1. The component of evening primrose (*Oenothera biennis*) oil

Component	Compound	Content
Saturated fatty acid	Palmitic acid	6.5%
	Stearic acid	1.3%
	Arachidic acid	0.3%
Monounsaturated fatty acid	Oleic acid	6.3%
Poly unsaturated fatty acid	Linoleic acid	72(65.0-75)%
	Gamma linoleic acid	9.5(8.0-10.0)%
	Alpha linoleic acid	0.2%

Table 2. The component of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) oil

Component	Compound	Content
oxides	1,8-cineole	40.1-49.1%
	$\alpha$ -pinene	10.3-26.9%
Monoterpene hydrocarbons	$\beta$ -pinene	4.3-7.7%
	Limonene	2.0-4.9%
Kentones	Camphor	9.9-20.7%
Esters	bornyl acetate	1.0-13.2%
Sesquiterpene hydrocarbons	Caryophyllene	0.01-0.21%

---

## 2. 아토피피부염유발 및 오일도포

아토피피부염의 유발을 위하여 아세톤과 올리브유를 3 : 1의 비율로 섞어 총량을 100 ml 만든 후 여기에 DNCB 1 g을 첨가하여 잘 섞어 1%의 저장액을 만든 후 냉암소에 넣어 보관한 다음 실험에 사용하였다. 아토피피부염유발 유도 및 오일도포는 Hirochi[26]의 방법에 따랐다. 즉 NC/Nga 생쥐의 등부위를 깨끗이 제모한 후 일정시간 진정한 다음 1% DNCB 용액을 200  $\mu$ l를 도포한 다음 4일 후 0.2% DNCB 용액 150  $\mu$ l를 2회씩 3주간 도포하였다. 아토피피부염 유발에 대한 병변상태는 Yamashita 등[27]의 판정에 따라 확인하였다. 즉 병변에 따른 총 점수 (Modified SCORAD index)를 15점으로 할 경우 10점 이상을 아토피피부염 유발로 판정하였다. 오일도포는 하루전에 조제한 달맞이꽃종자유와 혼합오일 150  $\mu$ l를 각각 아토피피부염 유발 후 매일 2회씩 6일 동안 도포한 후 회복효과를 조사하였다.

## 3. 체중 및 장기무게 측정

체중(Body)과 장기(Organ)의 무게측정은 아토피피부염 유발 직전과 아토피피부염 유발 종료 직후 및 오일 처치종료 직후에 대하여 각각 측정하였다. 체중과 장기무게의 측정은 전자체중계(Mettler Toledo, Switzerland)를 사용하였다. 장기무게의 측정시 경추탈골을 시행한 직후 개복 한 다음 측정하였다.

## 4. 관능평가

관능평가(Sensory assessment)에 의한 병변의 진행정도를 측정하기 위하여 Yamashita 등[27]의 판정방법에 따라 홍반(erythema), 부종(edema), 소양(pruritus), 찰과상(excoriation), 각피/건조(scaling/dryness)로 나누고, 각각 Modified SCORAD index를 3점씩 총 15점으로 하였다. 0점은 변화없음, 1점은 작은 변화나 약간의 증상임, 2점은 중등도의 변화(유발부위의 1/3정도), 3점은 심한 변화(유발부위의 2/3 정도)로 하였다.

## 5. 전자공여능 분석

전자공여능(Electron donating activity, EDA)의 측정은 Blois[28]의 방법에 따라 에탄올에 녹인 시료용액 2 ml에 1 ml의 0.2 mM의 DPPH를 넣은 후 이를 vortex mixer를 이용하여 잘 혼합하였다. 혼합 후 실온에서 30분 동안 정치한 다음 ELISA reader로 517 nm에서 흡광도를 측정하여 대조군과 비교 조사하였다. 전자공여능은 시료용액 첨가군과 무첨가군의 흡광도 감소율을 백분율로 표시하였다.

## 6. 지질과산화능 분석

지질과산화능(Lipid peroxidation activity, LPA)의 측정은 Kikuzaki와 Nakatani[29]의 방법에 따라 에탄올에 녹인 시료용액을 에탄올에 녹인 2.52% linoleic acid와 0.05 M phosphate buffered saline (PBS, pH 7.0)의 혼합용액에 넣어 40°C의 암소에서 24시간 동안 배양하였다. 배양 완료 후 0.1 ml의 반응액을 취하여 30% ammonium thiocyanate와 0.02 M ferrous chloride를 첨가하여 실온에서 일정 시간 동안 방치하였다. 방치 후 ELISA reader로 500 nm에서 흡광도를 측정하여 대조군과 흡광도를 비교 조사하였다. 지질과산화는 대조군에 대한 백분율로 표시하였다.

## 7. 표피두께 측정

표피두께(Epidermal thickness)의 측정을 위하여 생검한 조직을 10% neutral buffer formalin (NBF)으로 고정한 후 파라핀으로 포매한 다음 포매된 조직을 초박 절편기를 이용하여 5 um의 두께로 절편하였다. 탈파라핀 과정과 알코올 함수과정을 거쳐 Harris hematoxin 용액과 1% HCl-alcohol의 처리를 거친 후 ammonia수와 lithium carbonate에 다시 처리후 중류수로 수세하였다. 수세가 완료된 후 절편을 1% eosin-alcoholdehydrate 용액에 3분 동안 처리하였다. 처리 완료 후 탈수와 투명과정을 거쳐 봉입후 광학현미경(Olympus BX 50, Japan)으로 관찰하였다. 모든 영상은 광학현미경으로 확대한 후 영상카메라로 포착하여 TIF (tagged image file)

로 저장하였고 포착한 영상은 현미경의 빛강도와 영상분석프로그램을 통하여 450 MHz 펜티엄 프로세스와 영상보드(Media Cybernetics, U.S.A.)가 장착된 컴퓨터시스템을 이용하여 측정하였다.

## 8. IgE 분석

혈액채취를 위하여 생쥐의 눈외자를 혜파린이 도포된 capillary tube를 이용하여 찔러 1.5 ml를 채혈한 후 4°C, 3,000 rpm에서 20분간 원침한 다음 상등액을 취하여 분석 전까지 -70°C에 보관하였다. IgE 분석은 IgE ELISA kit (Koma biotech)를 이용하여 일차항체와 이차항체(HRP-conjugate goat anti mouse IgE, 1:10,000)를 1시간 동안 처리 후 발색 처리한 다음 반응을 중지시켜 ELISA reder로 450 nm에서 흡광도를 측정하였다. IgE 정량은 대조군에 대한 실험군의 백분율로 표시하였다.

## 9. 비만세포 측정

비만세포(mast cell)의 탈파립 변화에 대한 조사를 위하여 10% neutral buffer formalin (NBF)으로 고정된 조직을 파라핀으로 포매한 다음 초박절편기를 이용하여 5 um의 두께로 절편하였다. 절편조직은 탈파라핀 과정과 알코올 합수과정을 거쳐 중류수로 수세한 다음 수세가 완료된 절편조직을 toluidine blue (pH 0.5)로 1시간 동안 염색한 다음 중류수로 수세하였다. 수세후 탈수와 투명과정을 거쳐 봉입하여 광학현미경(Olympus BX 50, Japan)으로 관찰하였다. 모든 영상은 영상카메라로 포착하여 TIF (tagged image file)로 저장하였고 이는 현미경의 빛 강도와 영상분석프로그램을 통하여 450 MHz 펜티엄 프로세스와 영상보드(Media Cybernetics, U.S.A.)가 장착된 컴퓨터시스템을 이용하여 측정하였다.

## D. 통계 처리

본 실험의 모든 자료는 SPSS 12.0 program에 의하여 처리하였으며 모든 실험 자료값은  $mean \pm SD$ 로 나타냈다. Student's t-test에 의하여 통계적 유의성을 비교하였고 p가 0.05 미만을 유의한 수준으로 하였다.

### III. 결과

#### A. 체중 및 장기무게 측정

아토피피부염모델인 NC/Nga 생쥐에 대한 체중 및 장기무게 변화에 대한 측정결과는 Table 3과 같다. 체중에 있어서 대조군과 실험군인 아토피피부염 유발군, 달맞이꽃종자유 처리군, 달맞이꽃종자유-로즈마리오일의 혼합오일 처리군간에 유의한 차이가 나타나지 않았다( $p>0.05$ ). 심장, 장, 비장, 간, 폐와 같은 장기무게에 있어서도 대조군과 실험군간에 유의한 차이가 나타나지 않았다( $p>0.05$ )(Table 3).

Table 3. The weight changes of body and organs in NC/Nga mice

Assess \ Exp. group	Control	AD	E oil(6 days)	ER oil(6 days)
Body weight	25.5±1.43	26.8±3.26	26.6±1.59	26.7±1.92
Heart	0.183±0.04	0.185±0.05	0.181±0.03	0.180±0.02
Intestine	2.474±0.15	2.458±0.26	2.511±0.19	2.443±0.14
Spleen	0.156±0.03	0.158±0.06	0.153±0.04	0.151±0.05
Liver	1.685±0.18	1.729±0.15	1.693±0.17	1.632±0.15
Lung	0.179±0.07	0.164±0.05	0.161±0.09	0.172±0.08

AD : atopic dermatitis E oil : evening primrose oil

ER oil : evening primrose- rosemary oil.  $p>0.05$

## B. 관능평가

관능평가를 위한 총 15점 중에서 아토피피부염 유발군은  $13\pm1.62$ 로 나타났으며, 달맞이꽃종자유의 처리에서는  $4\pm0.71$ 로 나타나 아토피피부염 유발군에 비하여 유의한 차이를 보였다( $p<0.01$ ). 또한 위의 두 종류를 혼합한 달맞이꽃종자유-로즈마리오일의 경우,  $1\pm0.07$ 로 나타나 아토피피부염 유발군에 비하여 유의한 차이를 나타냈다( $p<0.001$ ). 이 결과로 부터 오일 처리군이 아토피피부염 유발군에 비하여 관능 평가의 점수가 유의하게 낮게 나타났으며, 달맞이꽃종자유-로즈마리오일의 혼합오일이 달맞이꽃종자유 보다 더욱 낮은 점수를 나타냈다(Table 4). 또한 관능평가에 따른 동물실험의 사진 결과에서도 위와 일치함을 알 수 있었다(Fig. 1).

Table 4. The sensory assessment in NC/Nga mice

Assess \ Exp. group	Total score	AD	E oil(6 days)	ER oil(6 days)
Erythema	3	3	1	1
Edema	3	2	1	0
Pruritus	3	3	1	0
Excoriation	3	3	1	0
Scaling/Dryness	3	2	0	0
Total	15	$13\pm1.62$	$4\pm0.71^{**}$	$1\pm0.07^{***}$

AD : atopic dermatitis-induced, E oil : evening primrose oil- treated,

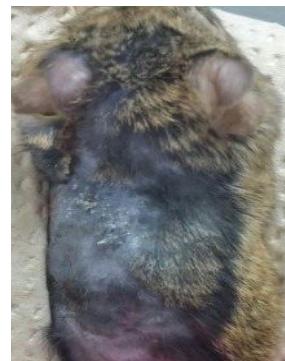
ER oil : evening primrose-rosemary oil-treated. \*\* $p<0.01$ , \*\*\* $p<0.001$



A



B



C



D

Fig. 1. The sensory assessment.

- A: control, B: atopic dermatitis-induced mouse,  
C: evening primrose oil-treated mouse,  
D: evening primrose-rosemary oil-treated mouse.

## C. 전자공여능(EDA) 측정

### 1. 달맞이꽃종자유의 전자공여능 측정

달맞이꽃종자유의 전자공여능(EDA)을 알아보기 위하여 달맞이꽃종자오일이 각각 20, 50, 80  $\mu\text{l}$ 가 각각 포함된 에탄올시료를 측정한 결과 20  $\mu\text{l}$ 의 에탄올시료 처리에서는 전자공여값(EDV)이 84.2%로 나타났으며, 50  $\mu\text{l}$ 의 처리에서는 63.3%로 나타났다. 또한, 80  $\mu\text{l}$ 의 에탄올시료의 처리에서는 전자공여값이 47.6%로 각각 나타났다(Table 5). 따라서 전자공여능(EDA)은 20, 50, 80  $\mu\text{l}$ 의 에탄올시료에서 각각 15.8% ( $p<0.05$ ), 36.7% ( $p<0.01$ ), 52.4% ( $p<0.001$ )로 나타났으며 이는 모두 대조군에 비하여 유의한 증가를 나타냈다(Fig. 2).

Table 5. The electron donating value of evening primrose oil

Evening primrose oil(ul)	Electron donating value
	% of control
Control	100 (1.213±0.15)
20	84.2 (1.021±0.09)*
50	63.3 (0.768±0.08)**
80	47.6 (0.577±0.05)***

DPPH was reacted with 20, 50 and 80 ul of E oil. The data indicates the mean±SD for triplicate experiments and significantly different from the control. \*p<0.05, \*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001

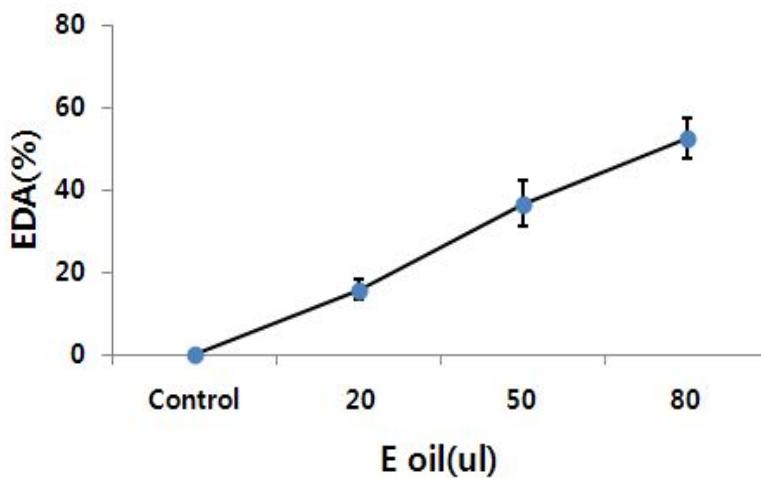


Fig. 2. The electron donating activity (EDA) of evening primrose oil (E oil). DPPH was reacted with 20, 50 and 80 ul of E oil. The data indicates the mean±SD for triplicate experiments and significantly different from the control. \*p<0.05, \*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001

## 2. 달맞이꽃종자유-로즈마리오일의 전자공여능 측정

달맞이꽃종자유-로즈마리 혼합오일의 전자공여능(EDA)을 알아보기 위하여 달맞이꽃종자유-로즈마리오일이 각각 20, 50, 80 ul가 각각 포함된 에탄올시료를 측정한 결과 20 ul의 에탄올시료 처리에서는 전자공여값(EDV)이 67.5%로 나타났으며, 50 ul의 시료처리에서는 41.1%로 나타났다. 또한, 80 ul의 처리에서는 17.4%로 나타났다(Table 6). 따라서 전자공여능(EDA)은 20, 50, 80 ul의 에탄올시료에서 각각 32.5% ( $p<0.01$ ), 58.9% ( $p<0.001$ ) 및 82.6% ( $p<0.001$ )로 나타났으며 이는 모두 대조군에 비하여 유의한 증가를 나타냈다(Fig. 3).

Table 6. The electron donating value of evening primrose- rosemary oil

Evening primrose-Rosemary oil(ul)	Electron donating value
	% of control
Control	100 (1.372±0.15)
20	67.5 (0.926±0.06)**
50	41.1 (0.564±0.03)***
80	17.4 (0.239±0.05)***

DPPH was used for the reacted with 20, 50 and 80 ul of ER oil. The data indicates the mean±SD for triplicate experiments and significantly different from the control. \*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001

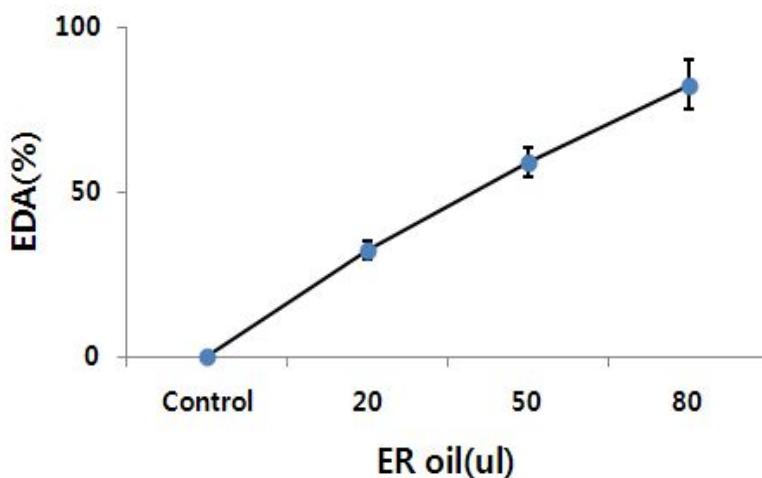


Fig. 3. The electron donating activity (EDA) of evening primrose-rosemary oil (ER oil). DPPH was used for the reacted with 20, 50 and 80 ul of ER oil. The data indicates the mean±SD for triplicate experiments and significantly different from the control. \*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001

## D. 지질과산화능(LPA) 측정

### 1. 달맞이꽃종자유의 지질과산화능 측정

달맞이꽃종자유의 지질과산화능(LPA)을 알아보기 위하여 달맞이꽃종자오일이 각각 20, 50, 80  $\mu\text{l}$ 가 포함된 에탄올시료를 측정한 결과 20  $\mu\text{l}$ 의 시료 처리에서는 지질과산화값(LPV)이 대조군인 100%에 비하여 78.6%로 나타났으며, 50  $\mu\text{l}$ 의 처리에서는 57.5%로 나타났다. 또한 80  $\mu\text{l}$ 의 시료 처리에서는 지질과산화값이 36.8%로 각각 나타났다(Table 7). 따라서 지질과산화능(LPA)은 20, 50, 80  $\mu\text{l}$ 의 에탄올시료에서 각각 21.4% ( $p<0.05$ ), 42.5% ( $p<0.01$ ), 63.2% ( $p<0.001$ )로 나타났으며 이는 모두 대조군에 비하여 유의한 증가를 나타냈다(Fig. 4).

Table 7. The lipid peroxidation value of evening primrose oil

Evening primrose oil(ul)	Lipid peroxidation value
	% of control
Control	100 (0.857±0.06)
20	78.6 (0.674±0.04)*
50	57.5 (0.493±0.05)**
80	36.8 (0.315±0.02)***

The value of E oil was assessed at concentrations of 20, 50 and 80 ul. The data indicates the mean±SD for triplicate experiments and significantly different from the control. \* $p<0.05$ , \*\* $p<0.01$ , \*\*\* $p<0.001$

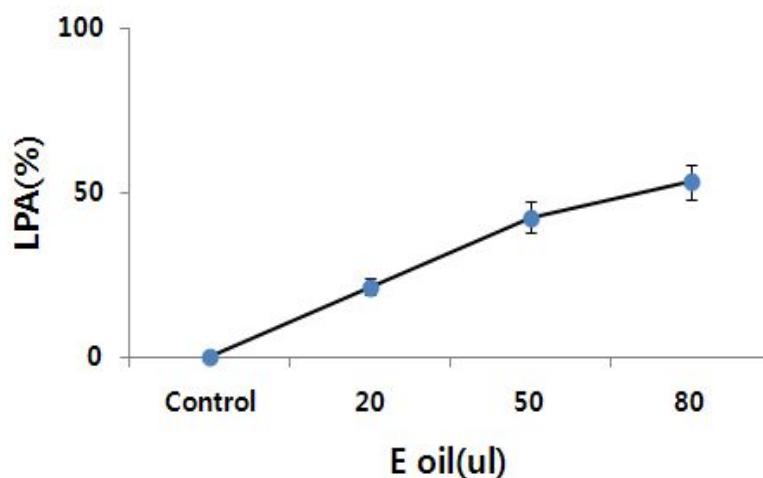


Fig. 4. The lipid peroxidation activity (LPA) of evening primrose oil (E oil). The activity of E oil was assessed at concentrations of 20, 50 and 80 ul. The data indicates the mean±SD for triplicate experiments and significantly different from the control. \* $p<0.05$ , \*\* $p<0.01$ , \*\*\* $p<0.001$

## 2. 달맞이꽃종자유-로즈마리오일의 지질과산화능 측정

달맞이꽃종자유-로즈마리 혼합오일의 지질과산화능(LPA)을 알아보기 위하여 달맞이꽃종자유-로즈마리 오일이 각각 20, 50, 80  $\mu\text{l}$ 가 각각 포함된 에탄올시료를 측정한 결과 20  $\mu\text{l}$ 의 시료 처리에서는 지질과산화값(LPV)이 대조군인 100%에 비하여 58.8%로 나타났으며, 50  $\mu\text{l}$ 의 처리에서는 30.6%로 나타났다. 또한 80  $\mu\text{l}$ 의 시료 처리에서는 지질과산화값이 13.0%로 각각 나타났다(Table 8). 따라서 지질과산화능(LPA)은 20, 50, 80  $\mu\text{l}$ 의 에탄올시료에서 각각 41.2% ( $p<0.01$ ), 69.4% ( $p<0.001$ ), 87.0% ( $p<0.001$ )로 나타났으며 이는 모두 대조군에 비하여 유의한 증가를 나타냈다(Fig. 5).

Table 8. The lipid peroxidation value of evening primrose- rosemary oil

Evening primrose- Rosemary oil(ul)	Lipid peroxidation value
	% of control
Control	100 (0.782±0.05)
20	58.8 (0.460±0.03) <sup>**</sup>
50	30.6 (0.239±0.04) <sup>***</sup>
80	13.0 (0.102±0.06) <sup>***</sup>

The value of ER oil was assessed at concentrations of 20, 50 and 80 ul. The data indicates the mean±SD for triplicate experiments and significantly different from the control. \*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001

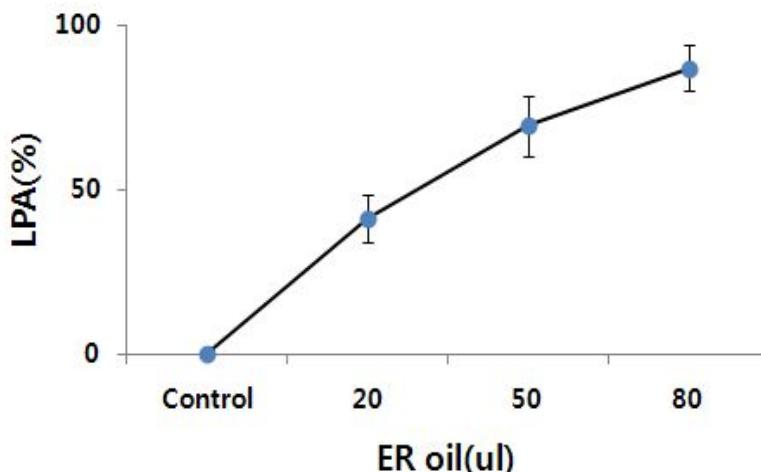


Fig. 5. The lipid peroxidation activity (LPA) of evening primrose- rosemary oil(ER oil). The activity of ER oil was assessed at concentrations of 20, 50 and 80 ul. The data indicates the mean±SD for triplicate experiments and significantly different from the control. \*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001

## E. 표피두께 측정

### 1. 표피두께

표피두께의 측정에 있어서, 대조군인 100% ( $17.86\pm1.32$ )에 비하여 아토피피부염 유발군에서는 614.3% ( $109.71\pm11.85$ )로 나타났다. 한편, 달맞이꽃종자유의 처리에서는 표피두께가 314.5% ( $56.17\pm8.27$ ) ( $p<0.01$ )로 나타났으며, 달맞이꽃종자유-로즈마리 오일의 처리에서는 200.8% ( $35.87\pm2.94$ ) ( $p<0.001$ )로 나타나 이는 모두 아토피 피부염 유발군에 비하여 유의한 감소를 보였다(Table 9, Fig. 6).

Table 9. The epidermal thickness on oil treatment in NC/Nga mice

Experimental group	Epidermal thickness
	% of control
Control	100 (17.86±1.32)
Atopic Dermatitis	614.3 (109.71±11.85)
Evening primrose oil	314.5 (56.17±8.23)**
Evening primrose- Rosemary oil	200.8 (35.87±2.94)***

The data indicates the mean±SD for triplicate experiments and significantly different from the positive control (AD). \*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001

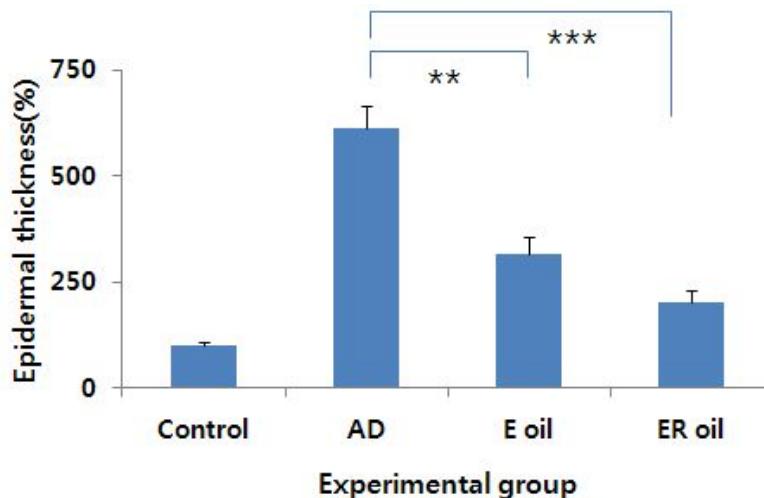


Fig. 6. The epidermal thickness of atopic dermatitis(AD)-induced mice were measured after treating with evening primrose oil (E oil) and evening primrose- rosemary oil (ER oil) for 6 days. The data indicates the mean±SD for triplicate experiments and significantly different from the positive control (AD). \*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001

## 2. 표피두께의 광학현미경적 관찰

대조군에서는 각질층과 표피층이 잘 관찰되었고 진피층에서는 지선과 털이 관찰된 반면(Fig. 7A), 아토피피부염 유발군에서는 현저한 표피두께의 비후가 관찰되었다(Fig. 7B). 한편 달맞이꽃종자유의 처리군에서는 아토피피부염 유발군에 비하여 표피두께가 유의하게 감소되었으며(Fig. 7C), 달맞이꽃종자유-로즈마리 오일의 처리군에서도 표피의 두께가 아토피피부염 유발군에 비하여 현저하게 감소되어 대조군과 비슷한 회복양상을 보였으며 지선 및 털세포도 관찰되었다(Fig. 7D).

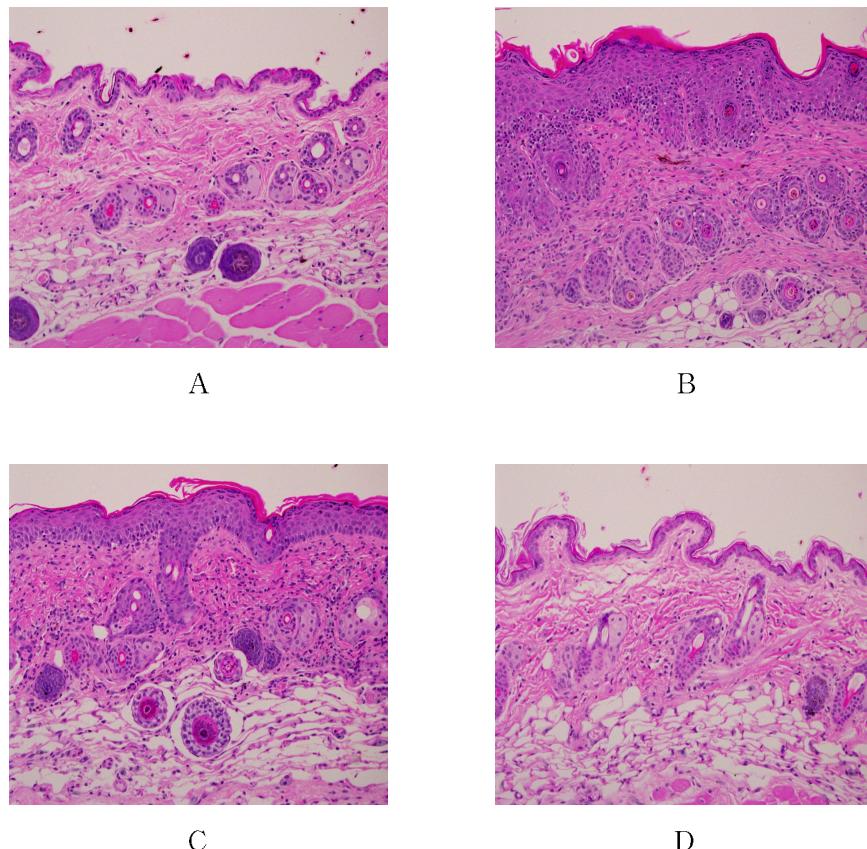


Fig. 7. The photography of epidermal thickness. A: control,  
B: atopic dermatitis-induced group, C: evening primrose oil-treated group, D: evening primrose- rosemary oil-treated group. x 200

## F. IgE 측정

IgE의 양적 측정에서 아토피피부염 유발군은 대조군인 100% ( $0.053\pm0.007$ )에 비하여 152.8% ( $0.081\pm0.009$ )로 대조군에 비하여 많이 증가하였다. 이에 비하여, 달맞이꽃종자유의 처리에서는 IgE가 141.5% ( $0.075\pm0.004$ ) ( $p<0.05$ )로 나타났으며, 달맞이꽃종자유-로즈마리 오일 처리에서는 113.2% ( $0.060\pm0.003$ ) ( $p<0.01$ )로 이는 모두 아토피피부염 유발군에 비하여 유의한 감소를 나타냈다(Table 10, Fig. 8).

Table 10. The changes of IgE level in serum of NC/Nga mice

Experimental group	IgE level
	% of control
Control	100 (0.053±0.007)
Atopic Dermatitis	152.8 (0.081±0.009)
Evening primrose oil	141.5 (0.075±0.004)*
Evening primrose- Rosemary oil	113.2 (0.060±0.003)**

Atopic dermatitis(AD)-induced mice were treated with evening primrose oil(E oil) and evening primrose-rosemary oil(ER oil)for 6 days, respectively. The data indicates the mean±SD for triplicate experiments and significantly different from the positive control (AD). \*p<0.05, \*\*p<0.01

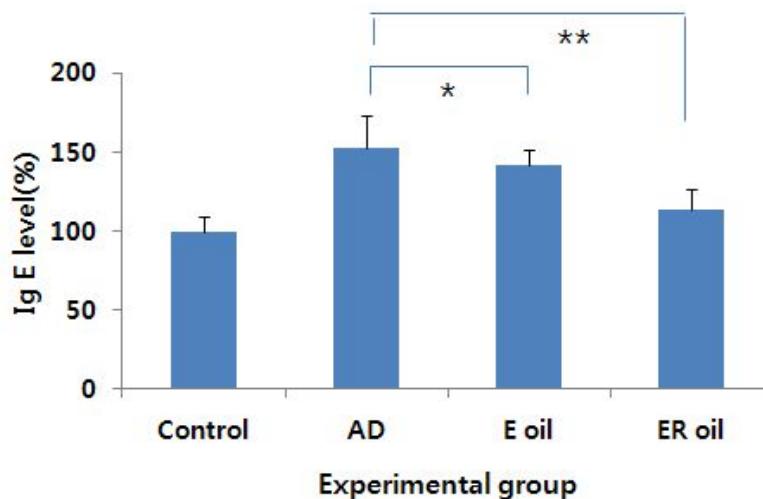


Fig. 8. The changes of IgE in serum. atopic dermatitis(AD)-induced mice were treated with evening primrose oil(E oil) and evening primrose-rosemary oil(ER oil)for 6 days, respectively. The data indicates the mean±SD for triplicate experiments and significantly different from the positive control (AD). \*p<0.05, \*\*p<0.01

## G. 비만세포 측정

### 1. 탈과립 수

비만세포의 탈과립의 조사에 있어서 대조군에서는 탈과립 수가 1.4%로 나타난데 비하여 아토피피부염 유발군에서는 28.6%로 매우 높게 나타났다. 이에 비하여 달맞이꽃종자유의 처리에서는 탈과립 수가 10.9% ( $p<0.01$ )로 이는 아토피피부염 유발군에 비하여 유의하게 감소하였다. 한편 달맞이꽃종자유-로즈마리 오일의 처리에 있어서는 탈과립 수는 6.2% ( $p<0.001$ )로 나타나 이 역시 아토피피부염 유발군에 비하여 유의한 감소를 보였다(Table 11, Fig. 9).

Table 11. The numerical changes of degranulated mast cells in NC/Nga mice

Experimental group	Degranulation of mast cells	
	% of control	
Control	1.4±0.3	
Atopic Dermatitis	28.6±5.6	
Evening primrose oil	10.9±1.4**	
Evening primrose-Rosemary oil	6.2±0.9***	

Atopic dermatitis-induced mice were treated with evening primrose oil and evening primrose-rosemary oil for 6 days. The data indicates the mean±SD for triplicate experiments and significantly different from the positive control (AD).

\*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001

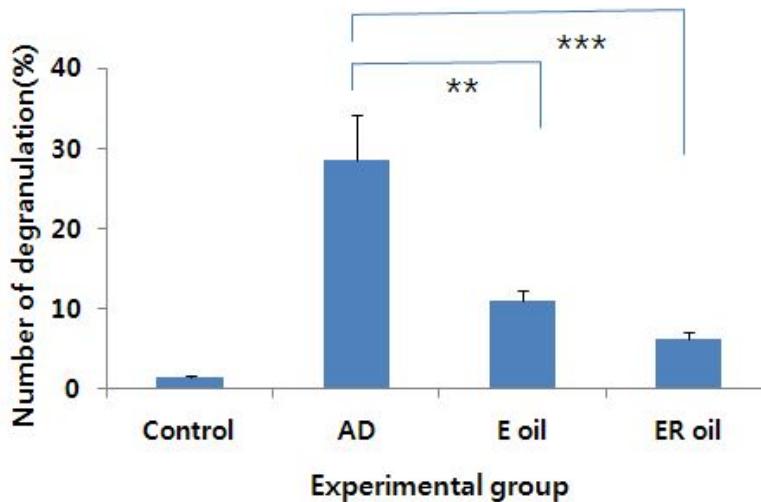
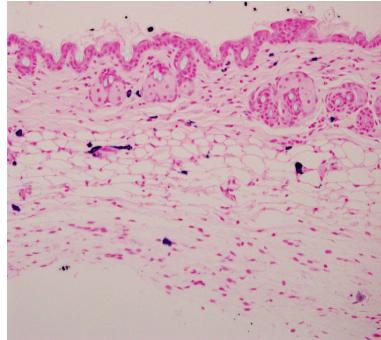


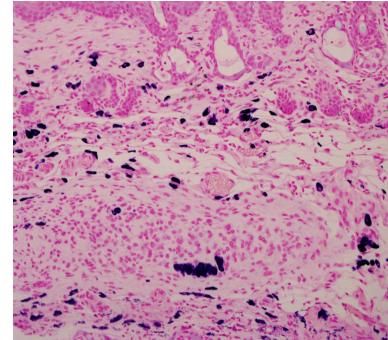
Fig. 9. The numerical changes of degranulated mast cells. atopic dermatitis(AD)-induced mice were treated with evening primrose oil(E oil) and evening primrose-rosemary oil(ER oil) for 6 days. The data indicates the mean±SD for triplicate experiments and significantly different from the positive control (AD). \*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001

## 2. 비만세포의 현미경적 관찰

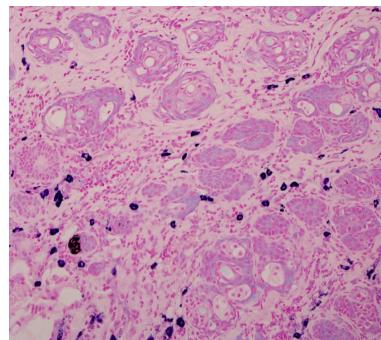
대조군에서는 소수의 비만세포가 관찰된 반면(Fig. 10A), 아토피피부염 유발군에서는 많은 수의 비만세포가 관찰되었으며 또한 탈과립된 세포도 많이 관찰되었다(Fig. 10B). 이에 비하여 달맞이꽃종자유의 처리군에서는 아토피피부염 유발군에 비하여 비만세포의 수와 탈과립이 많이 감소되었으며(Fig. 10C), 달맞이꽃종자유-로즈마리 오일의 처리에서도 아토피피부염 유발군에 비하여 현저한 비만세포의 수와 탈과립의 감소를 나타냈다(Fig. 10D).



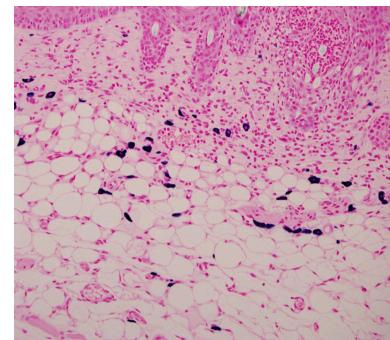
A



B



C



D

Fig. 10. The photography of degranulated mast cells. A: control,  
B: atopic dermatitis-induced group, C: evening primrose oil-treated  
group, D: evening primrose- rosemary oil-treated group. x 200

## IV. 고 칠

아토피피부염(Atopic dermatitis)은 소양감을 동반한 만성염증성 피부질환으로 기관지천식이나 알레르기성 비염 또는 결막염 등과 같은 질환과 동반하는 경향이 많다[30]. 치료로는 현재 스킨케어 및 약물요법이 있는데 약물요법으로는 스테로이드 계통의 외용제나 연고, 외용보습제 및 항히스타민제와 같은 처방이 사용되고 있다[31]. 최근 활성산소(ROS)가 아토피피부염의 유발요인의 하나로 알려지면서 아토피피부염과 ROS간의 상호작용을 밝히려는 연구가 시도되고 있으며[32], 특히 허브에서 생산되는 오일이나 추출물이 항산화를 비롯한 항염, 항균 등에 유효한 효능이 있다고 밝혀지면서 이를 이용한 피부병변의 대체적인 치료제의 개발을 시도하고 있다[18]. 본 연구에서는 NC/Nga 생쥐의 아토피피부염 유발모델에 대한 달맞이꽃 종자유와 여기에 로즈마리오일을 혼합한 오일의 영향을 조사하였다. 먼저 달맞이꽃 종자유와 달맞이꽃종자유-로즈마리 혼합 오일이 NC/Nga 생쥐의 체중 및 심장, 장, 비장, 간, 폐와 같은 장기에 미치는 영향을 조사하였다. 그 결과 체중과 장기의 무게는 대조군, 아토피피부염 유발군, 달맞이꽃종자유및 달맞이꽃종자유-로즈마리 오일 처리군간에 유의한 차이를 보이지 않았다( $p>0.05$ ). 본 실험 결과는 아토피피부염 유발이나 오일 처리는 체중과 장기무게에 영향을 미치지 않는다는 것을 말해주고 있으며, 이는 Han 등[33]의 아토피피부염을 유발한 NC/Nga 생쥐에서 허브의 혼합오일이 체중과 장기에 아무런 영향을 주지 않았다는 연구 결과와도 일치하였다.

한편 아토피피부염에 대한 관능평가에 있어서, 아토피피부염 유발군은 13점으로 아토피피부염 유발 점수인 10점 이상인 것으로 나타났다. 이에 비하여 달맞이꽃종자유 처리군에서는 4점 ( $p<0.01$ )으로 나타났으며, 달맞이꽃종자유-로즈마리 오일의 처리군에서는 1점 ( $p<0.001$ )으로 각각 나타남으로서 이는 아토피피부염 유발군에 비하여 모두 유의한 감소를 보였다.

본 결과는 아토피피부염에 대하여 달맞이꽃종자유와 달맞이꽃종자유-로즈마리 오일의 처리가 치료적 효능이 있다는 것을 알 수 있으며, 특히 혼합오일인 달맞이꽃종자유-로즈마리 오일이 달맞이꽃종자유 보다 더 높은 효과가 있음을 제시하고 있다. 이는 Han 등[33]의 브랜딩한 허브오일의 상승효과를 보고한 결과와도 일치

하였다.

본 연구에서는 달맞이꽃종자유와 달맞이꽃종자유-로즈마리 오일에 대한 항산화 능력의 조사를 위하여 전자공여능(EDA) 및 지질과산화능(LPA)을 측정하였다. 먼저 EDA분석에 있어, 달맞이꽃종자유의 경우 20 ul ( $p<0.05$ ), 50 ul ( $p<0.01$ )의 처리에서는 대조군에 비하여 모두 유의한 증가를 보였으며, 특히 80 ul의 처리에서는 52.4%로 매우 유의한 증가를 나타냈다( $p<0.001$ ). 한편 달맞이꽃종자유-로즈마리 오일의 경우에 있어서, 이 역시 20 ul ( $p<0.01$ )와 50 ul ( $p<0.001$ ) 처리에서 대조군에 비하여 모두 유의한 증가를 나타냈으며, 80 ul 처리에서도 82.6% ( $p<0.001$ )로 대조군에 비하여 유의한 증가를 나타냈다. 본 실험 결과에서 EDA에 대한 효과는 달맞이꽃종자유와 달맞이꽃종자유-로즈마리 오일 모두에서 유의하게 나타났으며, 특히 혼합오일인 달맞이꽃종자유-로즈마리 오일의 처리가 달맞이꽃종자유의 단독 처리보다 더 높은 활성을 나타냄으로서 치료적 상승효과가 있음을 증명하고 있다. 또한 본 결과는 Cha 등[23]이 4종류 이상 허브오일을 브랜딩한 혼합오일의 연구에서 각각의 단독 오일보다 혼합오일의 효능이 더 높았다고 보고한 결과와도 일치하였다.

한편 지질과산화능(LPA)의 측정에 있어서, 20 ul 달맞이꽃종자유의 처리에서는 지질과산화능이 대조군에 비하여 21.4% ( $p<0.05$ )로 유의한 증가를 나타냈으며, 50 ul와 80 ul의 처리에서도 각각 42.5% ( $p<0.01$ )와 63.2% ( $p<0.001$ )로 모두 유의하게 증가하였다. 한편 달맞이꽃종자유-로즈마리 오일의 처리에서는 20 ul의 처리에서는 지질과산화능이 대조군에 비하여 41.2%로 나타나 유의한 증가를 보였으며( $p<0.01$ ), 50 ul와 80 ul의 처리에서는 각각 69.4%와 87.0%로 이는 모두 대조군보다 유의한 증가를 보였다( $p<0.001$ ). 본 실험의 결과에서 달맞이꽃종자유와 달맞이꽃종자유-로즈마리 오일은 대조군에 비하여 높은 지질과산화능을 가지고 있으며, 특히 달맞이꽃종자유-로즈마리 오일의 처리가 달맞이꽃종자유오일만의 처리보다 더 높은 지질과산화능을 나타냄으로서 혼합오일의 상승효과를 증명하고 있다. 본 결과는 Choi 등 [34]이 허브의 브랜딩한 혼합오일의 치료가 단독 오일의 치료보다 체구성물인 지방 변화와 체형에 대한 효능이 더 높았다는 연구 보고와 일치하였다. 본 연구에서 달맞이꽃종자유와 달맞이꽃종자유-로즈마리 오일은 모두 항산화능을 가지고 있음을 알 수 있다. Huh 등[14]은 아토피피부염 병변에 대한 연구에서 아토피피부염 병변의 진행정도에 비례하여 ROS가 증가함으로서 아토피피부염 병변에 산화적 손상이

관여하고 있다는 연구 보고를 고려해 볼 때 아토피피부염은 산화적 손상간에 밀접한 관련이 있음을 제시하고 있으며 이는 본 연구의 관능평가에서 높은 항산화능을 가지고 있는 달맞이꽃종자유와 달맞이꽃종자유-로즈마리오일이 아토피피부염에 미치는 치료적 효능 결과가 이를 증명하고 있음을 알 수 있다.

Han 등[33]의 3개의 허브오일을 브랜딩한 혼합오일이 각각의 단독 오일보다 현저한 표피두께의 감소를 나타냈다는 연구가 보고된 바 있다. 표피의 두께증가는 아토피피부염이나 산화적 손상과 같은 병변에 의하여 IFN- $\gamma$ 나 TNF- $\alpha$ 와 같은 사이토카인에 의하여 피부의 진피층의 비후나 염증에 의한 현상이나[7], 또는 표피의 각질층이 급성이나 만성으로 손상될 경우 표피에 존재하는 NMDA 수용체의 과활성에 의한 ROS의 생성 및 피부손상에 따른 항상성 회복을 위한 대사과정이 진행되어 활발한 표피증식이 일어남으로서 피부장벽의 비후를 초래한다고 알려져 있다 [35].

한편, 본 연구의 표피두께에 대한 조사에 있어서, 아토피피부염 유발군에서는 대조군인 100%에 비하여 614.3%로 매우 높은 표피두께 증가를 나타냈다. 이에 비하여, 달맞이꽃종자유의 처리에서는 표피두께가 314.5% ( $p<0.01$ )로 나타나 이는 아토피피부염 유발군에 비하여 유의하게 감소한 것으로 나타났다. 또한 달맞이꽃종자유-로즈마리 오일의 경우, 표피두께는 200.8% ( $p<0.001$ )로 나타나 이는 아토피피부염 유발군에 비하여 유의한 두께감소를 나타냈다. 본 연구에서 행한 광학현미경적 관찰에 있어서도 아토피피부염 유발군은 표피의 두께가 대조군에 비하여 현저히 비후된 반면, 달맞이꽃종자유와 달맞이꽃종자유-로즈마리오일 처리에서는 모두 아토피피부염 유발군에 비하여 유의한 두께의 감소를 보임으로서 정량적인 분석 결과와도 일치하였다. 본 연구 결과는 달맞이꽃종자유와 달맞이꽃종자유-로즈마리오일 처리군은 아토피피부염유발군에 비하여 모두 표피두께를 현저히 감소시켰으며, 달맞이꽃종자유-로즈마리오일의 처리가 달맞이꽃종자유만의 처리에 비하여 더 높은 감소능을 보였다. 이는 앞에서 행한 항산화능의 분석에서와 같이 달맞이꽃종자유-로즈마리오일의 처리가 달맞이꽃종자유만의 단독처리 보다 높은 효능을 나타냄으로서 혼합오일의 상승효과를 증명하고 있다. 따라서 본 연구에서 달맞이꽃종자유-로즈마리오일을 비롯한 달맞이꽃종자유가 피부두께를 감소시킨 것은 일부 TNF- $\alpha$ 의 발현 억제도 있겠지만 그 보다는 아토피피부염 유발에 따른 표피손상으로 인해

유도되는 산화적 손상을 억제시킴으로서 그 결과 이로 인한 피부장벽의 손상을 저해한 결과일 가능성이 클 것으로 생각된다.

아토피피부염 병변의 주된 임상적 특징의 하나인 소양감 원인으로는 혈청내 높은 IgE의 수준과 비만세포의 탈파립에 기인한 것으로 알려져 있다[10-11].

Liu 등[36]이 아토피피부염 이완시 IgE 수준이 높게 나타났다는 연구 결과를 보고하였으며, Seo [32]도 아토피피부염 모델에서 3종류 허브의 혼합오일이 단독 오일보다 유의한 IgE의 감소를 나타냈다고 보고하였다. TNF- $\alpha$ 와 ROS는 NF-kB를 자극하고 이는 IL-4의 생성을 유도하며 이같이 유도된 IL-4는 IgE의 생성에 관여한다고 한다 [37-38].

따라서 본 연구에서는 혈청 내 IgE의 양적 변화에 대하여 조사하였다. IgE의 양적변화에 있어서 아토피피부염 유발군에서는 대조군에 비하여 152.8%로 높게 나타난 반면, 달맞이꽃종자유 처리에서는 141.5% ( $p<0.05$ )로 아토피피부염 유발군에 비하여 유의한 감소를 보였다. 한편, 달맞이꽃종자유-로즈마리오일의 처리에서는 113.2% ( $p<0.01$ )로 나타나 이는 아토피피부염 유발군에 비하여 유의한 IgE의 양적 감소를 나타냈다. 따라서 오일 처리군이 아토피피부염 유발군에서 높게 나타난 IgE를 유의하게 감소시켰으며, 또한 달맞이꽃종자유-로즈마리오일의 처리가 달맞이꽃종자유만의 처리에 비하여 높게 나타남으로서 혼합오일이 단독 오일보다 더 높은 상승효과가 있음을 말해주고 있다. 본 연구에서 사용한 달맞이꽃종자유와 달맞이꽃종자유-로즈마리오일에 의한 IgE의 감소는 이들이 전자공여능(EDA) 및 지질과 산화능(LPA)과 같은 항산화 효과에 의하여 ROS의 생성저해는 물론 일부 TNF- $\alpha$ 의 발현 억제에도 영향을 준 결과일 것으로 생각된다.

한편 비만세포의 탈파립의 숫자 변화에 있어서, Cha 등[23]의 3종류의 허브오일을 브랜딩한 혼합오일이 각 단독 오일보다 비만세포와 탈파립 수를 유의하게 감소시켰다는 연구결과가 보고되었다.

본 실험의 비만세포와 탈파립의 변화에서 대조군에서는 탈파립이 1.4%로 나타난 데 비하여 아토피피부염 유발군에서는 28.6%로 매우 높게 나타났다. 이에 비하여, 달맞이꽃종자유와 달맞이꽃종자유-로즈마리오일의 처리에서 각각 10.9% ( $p<0.01$ ) 와 6.2% ( $p<0.001$ )로 이는 아토피피부염 유발군에 비하여 모두 유의한 감소를 보였다. 한편 비만세포에 대한 광학현미경적 관찰에서도 아토피피부염 유발군에서는

다수의 비만세포와 탈과립이 관찰된 대신 오일 처리군에서는 아토피피부염 유발군에 비하여 유의한 숫자 감소를 보임으로서 정량적 결과와 일치하였다.

본 실험 결과에서, 달맞이꽃종자유와 달맞이꽃종자유-로즈마리오일의 처리가 아토피피부염 유발군에 비하여 탈과립 수의 감소를 나타냈으며, 달맞이꽃종자유-로즈마리오일과 같은 혼합 오일이 달맞이꽃종자유만의 단독 오일에 비하여 더 높은 감소현상을 보임으로서 혼합오일의 상승효과를 증명하였다. 이같은 현상은 TNF- $\alpha$ 와 ROS에 의해 활성화된 NF-kB는 세포고사인자인 caspase-3의 발현이나, 비만세포의 탈과립을 유도한다는 것을 고려해 볼 때[39], 오일들의 항산화 작용이 NF-kB의 활성을 방해함으로서 그 결과 비만세포에 영향을 준 것으로 생각된다.

이상의 결과에서 아토피피부염 유발모델인 NC/Nga 생쥐에서 아토피피부염 유발 직후와 오일처치가 끝난 직후에 있어 체중과 장기무게에는 대조군에 비하여 유의한 차이가 나타나지 않았으며, 관능평가에 있어 달맞이꽃종자유 또는 달맞이꽃종자유-로즈마리오일의 처리군과 아토피피부염 유발군 간에 유의한 차이를 보였다. 또한 본 실험에 사용된 달맞이꽃종자유 및 혼합오일인 달맞이꽃종자유-로즈마리오일은 전자공여능(EDA) 및 지질과산화능(LPA)과 같은 항산화를 보여주었으며, 특히 달맞이꽃종자유-로즈마리오일이 달맞이꽃종자유만의 단독처리보다 더욱 유의한 항산화 효과를 보여 주었다. 또한 아토피피부염 유발 모델인 NC/Nga 생쥐의 조직으로부터 측정한 표피두께를 비롯한 IgE 및 비만세포의 탈과립 조사에 있어서, 달맞이꽃종자유와 달맞이꽃종자유-로즈마리오일은 아토피피부염 유발군에 비하여 모두 유의한 감소 양상을 보였으며, 특히 혼합오일인 달맞이꽃종자유-로즈마리오일은 단독 오일인 달맞이꽃종자유에 비하여 더욱 유의한 감소를 보였다.

본 연구에서처럼 아토피피부염 유도 병변에 서로 다른 두 종류 이상의 허브오일에 대한 단독 또는 혼합오일의 생리활성을 항산화 및 병인적 측면에서 조사함은 향후 이를 바탕으로 아로마테라피적 접근을 위한 과학적인 가능성을 제시하는데 기여할 수 있을 것으로 판단된다.

## V. 결 론

본 연구에서는 아토피피부염(Atopic dermatitis) 유발모델인 NC/Nga 생쥐를 대상으로 허브오일인 달맞이꽃종자유 및 달맞이꽃종자유-로즈마리오일의 혼합오일에 대하여, 체중, 장기무게 및 관능평가를 비롯한 전자공여능(EDA)과 지질과산화능(LPA)과 같은 항산화능 및 아토피피부염이 유발된 생쥐의 조직으로부터 표피두께, IgE 양적 변화 및 비만세포의 탈과립에 대하여 상호 비교 조사하였다.

본 연구의 체중과 장기무게 측정에 있어서 대조군, 아토피피부염 유발군, 오일 처치군간에 유의한 차이가 나타나지 않았다. 또한 달맞이꽃종자유와 달맞이꽃종자유-로즈마리오일은 관능평가를 비롯하여 전자공여능(EDA) 및 지질과산화능(LPA)과 같은 항산화능에 있어서 아토피피부염 유발군에 대하여 모두 유의한 차이를 나타냈으며, 특히 혼합오일인 달맞이꽃종자유-로즈마리오일 처리가 단독오일인 달맞이꽃종자유의 처리에 더 높은 항산화능을 나타냈다. 한편, 표피두께의 정량 및 현미경적 관찰에 있어서 달맞이꽃종자유와 달맞이꽃종자유-로즈마리오일의 처리가 아토피피부염 유발군에 비하여 모두 유의한 두께의 감소를 나타냈으며, 달맞이꽃종자유-로즈마리오일이 달맞이꽃종자유 보다 더 높은 감소를 보였다. 또한 혈청내 IgE의 양적변화에 있어서, 달맞이꽃종자유와 달맞이꽃종자유-로즈마리오일을 각각 처리한 실험군에서는 아토피피부염 유발군에 비하여 모두 유의한 IgE의 감소를 나타냈으며, 동시에 달맞이꽃종자유-로즈마리오일 처리군이 단독오일의 처리군에서 보다 높은 IgE의 감소를 보였다. 비만세포의 탈과립 조사에 있어서는 달맞이꽃종자유와 달맞이꽃종자유-로즈마리오일을 각각 처리한 실험군에서는 아토피피부염 유발군에 비하여 모두 유의한 탈과립의 감소를 나타냈으며, 동시에 달맞이꽃종자유-로즈마리오일 처리군이 단독오일의 처리군에서 보다 높은 탈과립의 감소를 보였다.

이는 향후 아토피피부염의 치료에 있어 허브오일을 이용한 아로마테라피적 측면에서 병변에 효능이 높은 치료적 접근을 위한 자료적 활용가치가 클 것으로 판단된다.

## 참 고 문 헌

1. Horiuchi Y, Bae SJ, Katayama I, Nishioka K. Therapeutic effects of streptococcal preparation OK-432 on atopic dermatitis-like lesions in NC/Nga mice: Possible shift from a Th2-to Th1-predominance. *J. Dermatol. Sci*(2004); 35: 187-197.
2. Horrobin DF. Essential fatty acid metabolism and its modification in atopic eczema. *Am. J. Clin. Nutr.*(2000); 71: 367S-372S.
3. Yoon SP, Kim BS, Ree JH, Lee SC, Kim YK. The environment and lifestyle of atopic dermatitis patients. *Korean J. Dermatol.*(1999); 37: 983-991.
4. Heo JH, Song HN, Jang SL. Effects of gagambojungikgi-tang on the immune mediators regulation and wound healing in the rSj26 or chemical antigen induced atopic dermatitis model mice. *Kor. J. Herbology.*(2008); 23(1): 53-61.
5. Hanifin JM. Atopic dermatitis. *J. Am. Acad. Dermatol.*(1982); 6: 1-13.
6. Kalliomaki M, Kirjavainen P, Eerola E, Kero P, Salminen S, Islauri E. Distinct patterns of neonatal gut microflora in infants in whom atopy was and was not developing. *J. Allergy Clin. Immun.*(2001); 107: 129-134.
7. Fridovich I. Superoxide dismutase. *Ann. Rev. Biochem.*(1975); 44: 147-159.
8. Bratton DL, Hamid Q, Boguniewicz M, Doherty DE, Kailey JM, Leung DY. Granulocyte macrophage colony-stimulating factor contributes to enhanced monocyte survival in chronic atopic dermatitis. *J. Clin. Invest.*(1995); 95: 211-218.
9. Jung HA, Jung MJ, Kim JY, Chung HY, Choi JS. Inhibitory activity of flavonoids from prunus davidiana and other flavonoids on total ROS and hydroxyl radical generation. *Archives of Pharmacal Research.*(2003); 26(10): 809-815.
10. Sudo N, Yu XN, Kubo C. Dehydroepiandrosterone attenuates the

- spontaneous elevation of serum IgE level in NC/Nga mice. *Immunology Letters.*(2001); 79(3): 177-179.
11. Yamashita H, Michibata Y, Mizukami H, Ogihara Y, Morita A, Nose M. Dermal mast cells play a central role in the incidence of scratching behavior in mice induced by multiple application of the hapten, 2,4,6-trinitrochlorobenzene. *Experimental Dermatology.*(2005); 14(6): 438-444.
  12. Metzger H. The high affinity receptor for IgE, Fc $\epsilon$ RI. *Novartis Found Symp.*(2004); 257: 51-59: discussion 59-285.
  13. Oh HM, Kang YJ, Kim SH, Lee YS, Park MK, Heo JM, et al. Agastache rugosa leaf extract inhibits the iNOS expression in ROS 17/2.8 cells activated with TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$ . *Archives of Pharmacal Research.*(2005); 28(3): 305-310.
  14. Huh EJ, Yu GH, Huh JY, Yun JS, Kim YH, Kim JT et al. Increased reactive oxygen species production by peripheral blood mononuclear leukocytes, not by polymorphonuclear leukocytes, in atopic dermatitis. *The Korean Academy of Allergy Asthma & Respiratory Disease.*(2004); 14(1): 53-61.
  15. Seo YM. Recovery effect of blending oil on skin barrier damaged by atopic dermatitis. *Journal of East-West Nursing Research.*(2014); 20(1): 57-62.
  16. Oh YL, Seo YM, Yang HO. Effect of rosemary extract on antioxidative activity and melanogenesis in cultured SK-MEL-3 cells. *Korean Journal of Aesthetics and Cosmetic Society.*(2011); 9(4): 247-256.
  17. Krizkova L, Nagy M, polonyi J, Dobias J, Elicova A, Granca D, Krajcovic J. Phenolic acids inhibit chloroplast mutagenesis in Euglena gracilis. *Mutat Res.*(2000); 469(1): 107-114.
  18. Parviz O, Iraj R, Hhoieh S. Antistreptococcal and Antioxidant Activity of Essential Oil from Matricaria chamomilla L. *Biological Sciences.*(2007); 2(2): 155-160.
  19. Hou Bin-bin, Li Yue. The study of antioxidant activity of grapefruit

- essential oil on edible oils. *Food Research and Development.*(2011); 2(3): 55–62.
20. Battaglia S. *The complete guide to aromatherapy* (second Edition).Australia. The International Centre of Holistic Aromatherapy.(2003); 742.
  21. Peng C, Su J, Chyau C, Sung T, Ho S, Peng C, et al. Supercritical fluid extracts of rosemary leaves exhibit potent anti-inflammation and antitumor effects. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry.*(2007); 71(9): 2223.
  22. 한선희, 허명행, 박진희, 이은진, 박미경. *여성건강과 아로마테라피.*서울.현문사. (2002); 261.
  23. Cha JH, Kim MJ, Kim HS, Kim YI. Effects of aromatherapy in blending oil of basil, lavender, rosemary, and rose on headache, anxiety and serum cortisol level in the middle-aged women. *Journal of Korean Biological Nursing Science.*(2010); 12(3): 133–139.
  24. Seo YM. Effect of herbs grown in korea on recovery of skin barrier function in atopic dermatitis. *J. Korea Soc. People Plants Environ.*(2015); 18(1): 35–40.
  25. Festing, MFW, Baumans V, Robert DC, Halder M, Hendriksen CFM, Bryan R, H, et al. Reducing the use of laboratory animals in biomedical research: Problems and possible solutions. *Atla-Nottingham.*(1998); 26: 283–302.
  26. Hirochi Matshda. Development of atopic dermatitis-like skin lesion with IgE hyperproduction in NC/Nga mice. *International Immunology.*(1997); 9: 461–466.
  27. Yamashita H, Tasaki D, Makino T, Matsuoka K, Nose M, Inagaki N, et al. The role of IgE and repeated challenge in the induction of persistent increases in scratching behavior in a mouse model of allergic dermatitis. *European Journal of Pharmacology.*(2009); 605(1): 153–157.
  28. Blois MS. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Natruel.*(1958); 26: 1199–1204.

29. Kikuzaki H, Nakatani N. Antioxidant effects of some ginger constituents. *J. Food Sci.*(1993); 58: 1407-1410.
30. Beltrani VS. The role of house dust mites and other aeroallergens in atopic dermatitis. *Clin Dermatol.*(2003); 21(3): 177-182.
31. 이지현, 김규한, 김명남, 김진우, 노영석, 박영립, 이광훈, 이애영, 조상현, 최지호. 아토피피부염학회보고서-한국 아토피피부염의 치료지침. *대한피부과학회지*.(2006); 44(8): 907-913.
32. Seo YM. Study on the antioxidant and therapeutic effects of essential oil on atopic dermatitis induced in NC/Nga mouse model. PhD Dissertation, Wonkwang Univ Iksan Korea.(2010); 66.
33. Han SH, Seo YM. The Effect of Essential Oil on Atopic Dermatitis Model of NC/Nga Mice. *Journal of Korean Biological Nursing Science.*(2014); 16(3): 221-225.
34. Choi MO, Kim JY. The effects of abdominal meridian massage on the body composition and body change according to essential blending or not. *Journal of Korean Society of Cosmetology.*(2009); 15(4): 1220-1228.
35. 최용호, 오윤석. 아토피피부염에서 피부장벽이상 천식 및 알레르기. *대한천식 및 알레르기학회*.(2008); 28(3): 175-181.
36. Liu FT, Goodarzi H, Chen HY. IgE mast cells and eosinophils in atopic dermatitis. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology.*(2011); 41(3): 298-310.
37. Lim BO, Yamada K, Yoshimura K, Watanabe T, Pham H, Taniguchi S, Sugano M. Free bile acids inhibit IgE production by mouse spleen lymphocytes stimulated by lipopolysaccharide and interlukins. *Biosci. Biotech. Biochem.*(1995); 59: 624-627.
38. Lee SH, Min KJ, Lee KO, Sin JS, Kim YC. Effect of German chamomile oil application to atopic dermatitis mice on the change of serum IgE level. *Jounal of The Korean Society of Cosmetology.*(2008); 14(2): 337-345.
39. Petrache I, Otterbein LE, Alam J, Wiegand GW, Choi AMK. Heme

oxygenase-1 inhibits TNF- $\alpha$ -induced apoptosis in cultured fibroblasts. American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology.(2000); 278(2): L312-L319.