



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 원저작자를 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 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

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

[Disclaimer](#)

2018년 2월

박사학위 논문

녹차 카테킨이 Nc/Nga 생쥐 아토피
피부염의 염증 개선에 미치는 영향

조선대학교 대학원

의 학 과

박 정 혜

녹차 카테킨이 Nc/Nga 생쥐 아토피 피부염의 염증 개선에 미치는 영향

Effects of catechin on dermatitic skin lesion in
atopic Nc/Nga mice

2018년 2월 23일

조선대학교 대학원

의 학 과

박 정 혜

녹차 카테킨이 Nc/Nga 생쥐 아토피 피부염의 염증 개선에 미치는 영향

지도교수 이 병 래

이 논문을 의학박사 학위신청 논문으로 제출함

2017년 10월

조선대학교 대학원

의 학 과

박 정 혜

박정혜의 박사학위논문을 인준함

위원장	조선대학교 교수	<u>배학연 (인)</u>
위원	건국대학교 교수	<u>오재욱 (인)</u>
위원	조선대학교 교수	<u>김태형 (인)</u>
위원	조선대학교 부교수	<u>송희상 (인)</u>
위원	조선대학교 교수	<u>이병래 (인)</u>

2017년 12 월

조선대학교 대학원

목 차

ABSTRACT	xi
I. 서론	1
A. 아토피성 피부염	1
B. 녹차	8
C. 녹차와 아토피성 피부염	10
II. 재료 및 방법	12
A. 실험재료	12
B. 실험동물사육	12
C. 아토피성 피부염 유발 및 카테킨 투여	12
D. 생쥐의 피부 긁는 횟수 측정	13
E. 조직검사	13
F. 피부 조직 전사체(Transcriptome) 검사	14
G. 통계처리	15
III. 결과	16
A. 카테킨 투여가 아토피성 피부염 생쥐의 피부 가려움증에 미치는 영향	16

B. 카테킨 투여가 아토피성 피부염 생쥐의 피부 증상에 미치는 영향	16
C. 카테킨 투여가 아토피성 피부염 생쥐의 피부의 조직소견에 미치는 영향	17
D. 카테킨 투여 아토피성 피부염 생쥐의 피부조직 유전자 발현의 변화	18
E. 아토피성 피부염 생쥐의 피부조직 유전자 세트 (Gene set) 발현 변화	18
F. 아토피성 피부염군과 아토피성 피부염+카테킨 전처치군 생쥐의 피부조직 유전자 세트(Gene set) 발현 비교	19
G. 아토피성 피부염군과 아토피성 피부염+카테킨 후처치군 생쥐의 피부조직 유전자 세트(Gene set) 발현 비교	19
H. 아토피성 피부염군 생쥐의 피부조직 각질세포 분화(Keratinocyte differentiation) 관련 유전자 발현 변화	20

I. 아토피성 피부염군과 아토피성 피부염+카테킨 전처치군 생쥐의 피부조직 각질세포 분화 (Keratinocyte differentiation) 관련 유전자 발현 변화	21
J. 아토피성 피부염군과 아토피성 피부염+카테킨 후처치군 생쥐의 피부조직 각질세포 분화 (Keratinocyte differentiation) 관련 유전자 발현 변화	21
K. 아토피성 피부염군 생쥐의 피부조직 엔도펩티다제 활성음성조절(negative regulation of endopeptidase activity) 관련 유전자 발현 변화	22
L. 아토피성 피부염군과 아토피성 피부염+카테킨 전처치군 생쥐의 피부조직 엔도펩티다제 활성음성조절(negative regulation of endopeptidase activity) 관련 유전자 발현 변화	23
M. 아토피성 피부염군과 아토피성 피부염+카테킨 후처치군 생쥐의 피부조직 엔도펩티다제 활성 음성조절(negative regulation of endopeptidase activity) 관련 유전자 발현 변화	24

N. 아토피성 피부염군 생쥐의 피부조직 펩티다제 활성음성조절(negative regulation of peptidase activity)관련 유전자 발현 변화	24
O. 아토피성 피부염군과 아토피성 피부염+카테킨 전처치군 생쥐의 피부조직 펩티다제 활성 음성조절(negative regulation of peptidase activity)관련 유전자 발현 변화	25
P. 아토피성 피부염군과 아토피성 피부염+카테킨 후처치군 생쥐의 피부조직 펩티다제 활성 음성조절(negative regulation of peptidase activity)관련 유전자 발현 변화	26
Q. 아토피성 피부염군 생쥐의 피부조직 각질화 (Keratinization)관련 유전자 발현 변화	27
R. 아토피성 피부염군과 아토피성 피부염+카테킨 전처치군 생쥐의 피부조직 각질화 (Keratinization) 관련 유전자 발현 변화	27
S. 아토피성 피부염군과 아토피성 피부염+카테킨 후처치군 생쥐의 피부조직 각질화 (Keratinization) 관련 유전자 발현 변화	28

T. 대조군과 아토피성 피부염군 생쥐의 피부조직 염증반응(inflammatory response)관련 유전자 발현 변화	28
U. 아토피성 피부염군과 아토피성 피부염+카테킨 전처치군 생쥐의 피부조직 염증반응 (inflammatory response)관련 유전자 발현 변화	29
V. 아토피성 피부염군과 아토피성 피부염+카테킨 후처치군 생쥐의 피부조직 염증반응 (inflammatory response)관련 유전자 발현 변화	30
IV. 고찰	31
V. 결론	42
참고문헌	45

표 목 차

Table 1. Experimental design	57
Table 2. Differential expressed genes(DEGs) analysis from the skin of NC/Nga mice	58
Table 3. Gene set analysis from the skin differential expressed genes selected by $\log_2(\text{FC}) \geq 1$ & P-value ≤ 0.05 in the comparison unit of control mice vs atopic dermatitic mice	59
Table 4. Gene set analysis from the skin differential expressed genes selected by $\log_2(\text{FC}) \geq 1$ & P-value ≤ 0.05 in the comparison unit of atopic dermatitic mice vs catechin-pretreated atopic dermatitic mice	60
Table 5. Gene set analysis from the skin differential expressed genes selected by $\log_2(\text{FC}) \geq 1$ &	

	P-value ≤ 0.05 in the comparison unit of atopic dermatitic mice vs catechin-posttreated atopic dermatitic mice	61
Table 6.	Select skin transcripts in control mice versus atopic dermatitic mice related to keratinocyte differentiation	62
Table 7.	Select skin transcripts in atopic dermatitic mice versus catechin- pretreated atopic dermatitic mice related to keratinocyte differentiation	63
Table 8.	Select skin transcripts in atopic dermatitic mice versus catechin- posttreated atopic dermatitic mice related to keratinocyte differentiation	64
Table 9.	Select skin transcripts in control mice versus atopic dermatitic mice related to negative regulation of endopeptidase activity	65

Table 10. Select skin transcripts in atopic dermatitic mice versus catechin-pretreated atopic dermatitic mice related to negative regulation of endopeptidase activity 66

Table 11. Select skin transcripts in atopic dermatitic mice versus catechin-posttreated atopic dermatitic mice related to negative regulation of endopeptidase activity 67

Table 12. Select skin transcripts in control mice versus atopic dermatitic mice related to negative regulation of peptidase activity 68

Table 13. Select skin transcripts in atopic dermatitic mice versus catechin-pretreated atopic dermatitic mice related to negative regulation of peptidase activity 69

Table 14. Select skin transcripts in atopic dermatitic mice versus catechin-posttreated atopic dermatitic mice related to negative regulation of

	peptidase activity	70
Table 15.	Select skin transcripts in control mice versus atopic dermatitic mice related to keratinization	71
Table 16.	Select skin transcripts in atopic dermatitic mice versus catechin-pretreated atopic dermatitic mice related to keratinization	72
Table 17.	Select skin transcripts in atopic dermatitic mice versus catechin-posttreated atopic dermatitic mice related to keratinization	73
Table 18.	Select skin transcripts in control mice versus atopic dermatitic mice related to inflammatory response	74
Table 19.	Select skin transcripts in atopic dermatitic mice versus catechin-pretreated atopic dermatitic mice related to inflammatory response	75
Table 20.	Select skin transcripts in atopic dermatitic mice versus catechin-posttreated atopic dermatitic mice related to inflammatory response	76

도 목 차

Fig.1. T_h1/T_h2 model for helper T cells	77
Fig.2. Allergic immune response	78
Fig.3. Effects of catechin on the frequency of scratching behaviors in the NC/Nga mice	79
Fig.4. Clinical skin features of the dorsal skin in the control mice and in the NC/Nga mice given oral administration of catechin	80
Fig.5. Histological features of the dorsal skin in the control mice and in the NC/Nga mice at 8 weeks after the start of mite extract administration	81
Fig.6. Keratinocytes differentiation. The epidermis is the outermost layer of the skin and is separated from the underlying dermis by the basement membrane.....	82

ABSTRACT

Effects of catechin on dermatitic skin lesion in atopic Nc/Nga mice

Park Jeung-Hye

Advisor : Prof. Lee Byoung-rai, Ph.D.

Department of Medicine,

Graduate School of Chosun University

Background : Atopic dermatitis(AD) is one of the most common inflammatory diseases of the skin and its cause is not well known. It is known that genetic, environmental or psychological factors interact with each other to cause atopic dermatitis. An effective and fundamental treatment for atopic dermatitis has not yet been developed. Many studies have been carried out to develop atopic dermatitis treatments. Recently, there have been many searches for natural products. Flavonoids, which are abundant in plants, attracts much research interest because their physiological activities such as antioxidant, antibacterial and anticancer effects are known.

Purpose: The purpose of this study is to investigate the effect of catechin, a type of flavonoid, on the improvement of atopic dermatitis symptoms.

Experimental Method : Nc/Nga mice, an experimental animal model of atopic disease, were used for the experiment. The experimental group was divided into 4 groups as control group, atopic dermatitis group,

atopic dermatitis+catechin pretreatment group and atopic dermatitis+catechin posttreatment group. In atopic dermatitis, atopic dermatitis+catechin pretreatment group, and atopic dermatitis+catechin posttreatment group, hair was removed from the back of the experimental animal, and Biosta AD cream was applied to the back skin for 8 weeks twice a week. In the control group and atopic dermatitis group, tap water was supplied as drinking water, while in the atopic dermatitis+catechin pretreatment group, tap water containing 0.2% catechin as drinking water was supplied from 1 week before to 8 weeks after application of AD cream. In the atopic dermatitis+catechin posttreated group, tap water containing 0.2% catechin was supplied to drinking water from 1 week to 8 weeks after AD cream application. At 4 weeks and 8 weeks after application of AD cream, skin symptoms observed and the skin was taken photograph. The number of scratches was measured by taking CCTV images of experimental animals at 1 week, 4 weeks and 8 weeks after application of AD cream. At 8 weeks after application of AD cream, the animals were sacrificed and the skin of AD cream application site was excised and histological examination and transcriptome analysis were performed.

Result: The number of skin scratches in atopic dermatitis group increased by 100% after 1 week of AD cream application, by 770% at 4 weeks, and by 1350% at 8 weeks. The number of skin scratches in the atopic dermatitis + catechin pretreatment group was 50% higher than that of the control at 1 week of AD cream application, and was not changed at 4 weeks and decreased by 30% at 8 weeks. The number of skin scratches in atopic dermatitis + catechin treated group was 126% higher than that of the control group at 1 week, 28% lower at 4 weeks than at 1 week, and 84% lower at 8 weeks than 1 week. At the 8th week of AD

cream application, atopic skin symptoms such as erythema, papules and crust formation on the back skin of the atopic dermatitis group were remarkable. In atopic dermatitis+catechin pretreatment group, dermatitis symptoms were recovered compared to atopic dermatitis group, and skin of dermatitis+catechin posttreated group showed almost no symptoms of atopic dermatitis. Histological findings of the atopic dermatitis group showed that the epidermal layer thickness was increased due to the epidermal cell proliferation, the boundary between the dermal layer and the epidermal layer disappeared, and the stratum corneum was not seen. In the catechin-treated groups, the thickness of the epidermal layer was decreased, the boundary between the dermal layer and the epidermal layer was seen, and the stratum corneum was seen. Skin transcriptomes analysis from atopic dermatitis group showed 14 keratinocyte differentiation related genes, 10 negative regulation of peptidase related genes, 10 inflammatory response related genes were changed compared to the control group. In the atopic dermatitis + catechin pretreatment group and the atopic dermatitis + catechin posttreatment group, the expression of genes related to keratinocyte differentiation associated with negative control of peptidase and inflammatory response was recovered as compared with the atopic dermatitis group.

Conclusion : Catechin oral administration is effective in improving the skin symptoms of atopic dermatitis, suggesting that the effect of catechin may be developed as a treatment agent for atopic dermatitis.

Key words : catechin, atopic dermatitis, Nc/Nga mouse, transcriptome

1. 서 론

A. 아토피성 피부염

1. 아토피성 피부염이란?

아토피성 피부염은 알레르기성 질환 중 대표적인 난치성 질환으로 지속적인 소양증을 일으키는 피부 표층의 만성 염증성 질환이다(1). 아토피(atopy)는 그리스어로 a-topos가 어원이며 “이상한”, “특이한” 또는 “비정상적인 반응”이라는 뜻으로 1923년 Coca와 Cooke에 의해 “부적당한(without place)” 또는 “이상 반응(adverse reactions to foods)”이라는 의미로 처음 사용되다(2). 1933년 Wise와 Sulzberger에 의해 처음으로 제안된 피부질환인 아토피 피부염은(3). 1980년 Hanifin과 Rajka가 규정한 4개 주요 소견과 23개의 보조 소견의 진단기준을 따르고 있다(4). 그러나 항목의 수가 너무 많고 혈청 총 IgE 및 피부단자시험이 부소견에 포함되어 임상에서 간단히 적용하기에 어려운 점이 많아서 일반인을 대상으로 하는 건강검진이나 유병률 조사에 적용하기에는 한계가 있다(5). 대한 아토피 피부염학회에서 2005년 제정한 한국인 아토피피부염 진단기준 3에는 3개의 주소견과 14개의 부소견 중 주소견 2개와 부소견 4개 이상을 만족하는 경우를 아토피피부염으로 진단하고 있다(6).

2. 아토피성 피부염의 증상

아토피성 피부염은 알레르기성 난치성 질환으로 피부 건조, 가려움, 홍반, 부종, 인설, 가피, 태선화 등을 특징으로 하는 만성, 재발성 염증 질환이다(7). 아토피 피부염은 진단을 위해서 Hanifin과 Rajka가 규정한 4개 주요 소견과 23개의 보조 소견은 가려움증, 특징적 발진 모양과 분포, 만성 또는 재발성 경과 및 아토피 가족력이며, 부증상으로 피부 건조증, 어린선, IgE 증

가, 손발의 습진, 구순염, 두피 피부염, 피부 감염증, 모낭주위 발진 등이 있다(4, 5).

3. 아토피성 피부염의 발병기전

면역반응에는 면역세포와 다양한 화학매개체(chemical mediators)들이 관여하는데, 염증 반응에 관여하는 세포는 T cell, B cell, 호산구, 호중구, 비만세포 등이 있다. 아토피 피부염에 관여하는 여러 가지 면역세포들 중에서도 T cell의 기능 항진이나 저하가 발병기전에 매우 중요하다. naive CD4⁺ T Cell은 IL-1, IL-2, IL-4, IL-12, INF- γ 등 사이토카인의 영향으로 Th1 cell과 Th2 cell로 분화한다(7). Th1 cell은 IFN- γ , TNF- α , IL-2 및 IL-10의 생산을 촉진하여 세포 독성 림프구(Cytotoxic T cell: CD8⁺ T Cell)와 대식세포의 분화를 유도하여 세포 매개 면역반응(cellular immunity)에 관여한다. Th2 cell은 IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10 및 IL-13의 생산을 촉진하여 B 림프구(B cell), 호산구(eosinophil)와 비만세포(mast cell)의 분화를 유도하여 체액성면역반응(humoral immunity)에 관여한다(8, 9)(Fig.1). 항원이 유입되어 Th1과 Th2 세포의 면역학적 불균형이 일어나 Th2 세포가 우세적으로 되면 B 세포에 의한 IgE의 생산증가, 비만세포에서 히스타민 분비증가, 호산구에서 염증 유발 물질의 분비 등으로 염증반응이 일어나고 알레르기성 질환이 유발된다(10, 11). 비만세포 및 호산구, 단핵세포는 알레르기 질환의 발생과 밀접한 연관이 있는 면역세포들로서 IL-4, IL-5, IL-8, IL-13 및 Monocyte Chemotactic Protein-1 (MCP-1) 등을 분비하는 것으로 알려져 있다. 비만세포는 아토피성 피부염, 천식, 알레르기성 비염, 류마티스 관절염 등 여러 가지 알레르기 질환의 발생과도 밀접한 연관이 있다(12). 비만세포는 피부를 포함한 림프계, 호흡기계 등의 인체 내의 결합조직에 널리 분포되어 있는데, 비만세포 표면에 존재하는 IgE 수용체에 과잉 발현된 IgE의 Fc 부분이 결합되어 있는 상태에서 항원이 결합되면 비만세포가 활성화되어 Leukotriens(LT)나 히스타민 등의 화학전달 물질과 IL-4, IL-5, TNF- α ,

Granulocyte-Macrophage Colony Stimulating Factor (GM-CSF) 등의 사이토카인 분비로 과민반응을 일으키게 된다. TNF- α 는 면역반응에 관여하는 중요한 매개체 중 하나로 호중구와 호산구의 활성화를 유도하고 백혈구가 염증부위에 유입되도록 유도하며, 양이 증가하면 내인성 발열원으로 작용해서 열을 발생시킬 수 있다. TNF- α 는 비만세포, 각질형성세포, 대식세포 등에서 생산되어 여러 가지 사이토카인의 생성과 세포의 성장과 분화 등에 관여하며 아토피 피부염에도 영향을 준다. Th1 cell은 TNF- α , IFN- γ , IL-12를 분비하여 세포성 면역을 관여하고, Th2 cell에서 생산된 IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13은 체액성 면역에 관여하며 Th1과 Th2 반응은 상호 길항작용을 하는데 IFN- γ 와 IL-12는 Th2 cell을 억제하며, IL-4와 IL-10은 Th1 cell의 반응을 억제한다(13). 피부나 점막 표면을 통해서 적은 양의 아토피 유발 항원이 인체 내로 들어와서 Th2 세포가 활성화되면 IL-4와 IL-13 생산이 증가되고 IgE 생산 B cell과 호산구의 활성화가 일어난다. IgE는 비만 세포에서 히스타민 분비를 증가시키고, 호산구는 염증 유발 물질의 분비를 증가시켜서 아토피 피부염의 특징적 증상이 나타나게 된다(14).

4. 아토피성 피부염의 원인

아토피 피부염의 원인은 뚜렷하게 밝혀져 있지 않지만 유전적인 소인, 환경적인 요소, 면역학적 기능 이상 등 여러 가지 요인이 복합적으로 작용하여 발생하는 것으로 알려져 있다(15, 16). 아토피성 피부염은 건조 피부, 보습제 사용 시 병변의 호전, 경피수분손실량(TEWL, transepidermal water loss) 증가 등의 특성이 있어서 표피 장벽의 이상과 연관된 것으로 생각된다(17).

a. 유전적 요인 : 아토피 환자의 70~80%에서 가족력이 있다고 알려져 있다. 부모 중 한쪽이 아토피성 피부염이 있는 경우 자녀에게 일어날 확률이 50%, 부모 두 명이 모두 있으면 75%에서 나타난다(18). 아토피성 피부염 환자의 약 30%에서 Filaggrin (filament aggregating protein) 유전자의 변이 (mutation)가 나타난다(19). Filaggrin은 피부의 표피세포에서 합성되며 피

부 방어(barrier), 피부 수소이온 농도(cutaneous pH) 및 수분유지에 관여하여 피부의 항상성 유지에 중요한 역할을 한다(20). Serine Protease Inhibitor Kazal-Type 5 (SPINK5), human leukocyte antigen (HLA), innate Immune genes, cytokines and related genes, chemokines and related genes 및 drug-metabolizing genes 등 많은 유전자들이 아토피성 피부염의 발생과 연관이 있는 것으로 알려져 있다(21).

b. 환경적 요인 : 20세기 이후 급속한 과학기술의 발달과 함께 인구의 급증, 도시화, 공업화 등으로 인간의 생활터전인 환경을 위협하고 있으며, 환경보전을 외면한 경제개발 정책으로 인해 환경성 질환(아토피 피부염)이 증가하여 우리나라를 포함 국제적으로 새로운 환경문제로 대두되고 있다(22). 환경오염으로 인해 자동차 매연, 분진, 미세먼지, 휘발성 유기화합물 등 각종 환경의 공해물질의 증가로 악화되기도 하며 새로운 알레르기 항원의 등장 및 주거환경 변화로 인한 항원에 대한 노출의 증가(23) 실내 공기오염과 관련하여 건물증후군(Sick Building Syndrome, SBS), 새학교증후군(Sick School Syndrome, SSS), 새집증후군(Sick House Syndrome, SHS), 화학물질 과민증(Multiple Chemical Sensitivity, MCS) 등 환경성 질환이 국제적으로 새로운 환경문제로 점차 대두되고 있다. 도시화에 따른 식습관 변화 및 공해, 피부건조, 집먼지 진드기, 동물의 털과 분비물 등 다양한 환경적인 요인들이 유발물질로서 작용하기도 한다(24, 25).

c. 면역적 요인 : 아토피성 피부염은 면역과민반응 1형 과민반응(type 1 hypersensitivity reaction)과 관련이 있는 것으로 알려져 있다. 1형 과민반응은 항원에 의해서 CD4⁺ Th2 cell에 의해서 IgE를 생산하는 특정 B cell이 활성화 되어 나타난다. 항원에 의해 Th1과 Th2 cytokine 사이의 균형이 깨지게 되고, 과잉 생산된 Th2 cytokine인 IL-4, 5, 9, 13이 B cell을 자극하여 면역 글로블린 E(IgE) 생산 분비를 증가시킨다. 증가된 IgE는 비만세포(mast cell) 표면의 수용체에 결합을 하며(cross-linked), 항원이 다시 인체

에 침투하는 경우, 이 알레르겐과 비만세포에 결합된 allergen-specific IgE가 결합해 비만세포를 감작시켜서 히스타민 등의 화학물질들을 분비된다(Fig.2). 이러한 화학물질들은 혈관과 피부를 자극하여 피부에 붉은 반점과 부종 그리고 가려움증을 일으키며, 아토피성 피부염을 유발하거나 악화시킨다. 피부 장벽의 손상도 아토피성 피부염을 악화시키는 요인으로 알려져 있으며, 피부에 포도상구균과 같은 세균이나 바이러스 등에 의해서 2차적으로 피부 염증이 악화된다는 보고도 있다(26, 27, 28). 아토피 피부염 환자의 약 80% 이상이 혈청 IgE가 증가 하는데 환자의 대부분이 특정 항원에 대한 IgE 항체가 나타난다. 아토피성 피부염은 면역학적으로 T 림프구의 활성화, 사이토카인 체계의 이상, IgE의 증가, 세포매개성 면역의 감소 등이 중요한 특징으로 보고되고 있다(29).

d. 기타요인 : 유전적인 요인, 환경적인 요인 및 면역학적 요인만으로는 아토피 피부염의 다양한 임상 양상과 증세를 설명하기에는 무리가 있다. 피부 장벽 기능의 저하 및 수분유지 기능의 저하와 같이 피부의 항상성 유지 기능 이상은 아토피성 피부염 발생의 중요한 요인으로 추측되고 있다(30). 표피 장벽의 이상이 아토피 피부염과 연관이 있다는 보고는 많다. 아토피 피부염 환자에서 병변 부위나 건조피부 뿐만 아니라 정상으로 보이는 피부에서도 경피수분손실량이 정상인보다 증가되어 있다(31). 정상인의 피부는 각질층의 수분 함량이 높은 경우 경피수분손실량도 증가하나, 아토피 피부염 환자의 피부에서는 각질층의 수분함량은 정상이거나 낮은데 비하여 경피수분손실량은 증가되어 있다. 또 아토피 피부염 환자에서 각질층의 수분 함량은 비록 피부 소견이 임상적으로 정상으로 보여도 정상인의 각질층의 수분 함량보다 감소되어 있을 수 있다(26).

5. 아토피성 피부염 현황

아토피성 피부염은 대부분 영아기에 발생한다. 성인이 되었을 때까지도 지속되며 비염이나 천식의 형태로 옮겨지는 것도 있다. 5세 이전에 아토피성

피부염이 관찰된 환자를 7세까지 추적한 결과 이들의 43%에서 천식이 발생하였고 45%에서 알레르기 비염이 관찰되었다(32). 아토피성 피부염의 유병률은 아동 15 ~ 30%, 성인 2 ~ 10%로 추정되며, 30년 전과 비교하여 유병률이 2~3배 정도로 증가하였으며, 현재 선진국에서의 AD 발병률은 2배에서 3배까지 증가하고 있다(33). 또한 세계 인구의 30%이상이 아토피성 질환자이고, 2013년 국민건강영양조사 결과에 따르면, 우리나라 아토피성 피부염 의사진단 유병률은 1~11세 19%, 1~18세 16.9%, 12~18세 14.4%, 19세 이상 3%로 유·소아 연령층에서 높은 유병률을 보이고 있다(34). 특히 영·유아시기에 AD에 대한 적절한 치료가 이루어지지 않으면 3명 중 2명은 천식이나 알레르기비염으로 이행한다는 보고가 있다(35). 심한 아토피피부염은 유소아기에 가려움증, 통증, 수면 부족 등을 유발하고 만성 재발성 경과 후 대인관계에 영향을 주어 환자의 삶의 질을 저하시킬 수 있기 때문에 환자와 가족뿐만 아니라 사회 전반적으로 큰 문제가 발생할 수 있다. 또한 정서적인 스트레스, 불안, 우울감 등이 발생하여 정신적 건강에도 영향을 줄 수 있어, 피부과 영역에서 정신 신체장애를 동반할 수 있는 대표적인 질환으로 알려져 있다. 아토피피부염 환자에서 주의력결핍 과잉행동장애(Attention deficit hyperactivity disorder : ADHD), 우울감, 불안, 자폐증 등의 위험성이 증가한다고 보고하였다(36, 37).

6. 아토피성 피부염 치료

아토피성 피부염 치료는 기본 치료, 보조 치료, 선택적 치료 및 유지 관리 네 가지 치료법으로 분류 할 수 있다(38). 치료제들을 살펴보면 국소 치료제로 스테로이드제 연고와 항생제 연고 형태로 사용되고 있으며(39) 전신 치료제로 부신피질호르몬제, 항히스타민제, 인터페론감마, 사이모펜틴, 스테로이드제제, 사이클로스포린, DNA합성 저해제, calcinulin 저해제인 FK-506 (tacrolimus) 등이(40) 아토피성 피부염 치료에 보습제, 소염제, 가려움증 억제제 및 면역 억제제 등 다양한 방법으로 이용되고 있으나 아직까지 질병

이 완치되기는 어려우며, 면역 억제제나 소염제등을 장기간 사용하면 부작용이 발생하는 경우가 많아서 치료가 매우 힘들다(41, 42). 따라서 효과적이고 부작용이 적은 안전한 아토피 피부염의 치료제 개발을 위해 다양한 연구가 진행되고 있으나 현재까지 아토피 피부염을 완치하는 방법은 개발되지 않았다(42).

7. 천연물질 제시

지구상의 식물은 250,000-500,000여 종에 달하나 이중 불과 10% 이하만이 인간이나 다른 동물에 의해 식용이나 약용으로 사용되고 있다. 식물에 함유되어 있는 물질을 분리 정제하여 항균, 항산화 및 항암 작용 등 여러 가지 기능을 탐색하여 그 유효성을 관찰하는 연구가 최근에 많이 진행되고 있다. 식물 유래물질 중 phenolic, polyphenol, quinine, flavone, flavonoid, flavonol, tannin, coumarin, terpenoid, alkaloid, lectin, polypeptide 등의 연구가 활발하다(43). 식물유래 천연 물질 중 phenolic acids, triterpenoids acids, essentials oil and catechin-type tannins (salviatannin)은 항균 및 항염증 작용이 있어서 피부 염증을 완화시키고(44) terpenoid와 phenolic은 항균작용을 나타낸다고 한다(43). Triterpene saponins, triterpene alcohol 및 flavonoids (케르세틴과 아이소 램네티) 항염증 효과가 있고, phenol과 flavonoid는 미생물의 성장을 억제하며, coumarin과 alkaloid는 미생물의 성장을 억제한다고 알려져 있다(43, 44). 카모마일(Matricaria)꽃은 피부 염증, 습진, 알레르기 질환에 효과가 있다는 보고가 있고, 개암나무의 탄닌(tannins)과 프로안토시아니딘(proanthocyanidins), 프로 안토시니딘(proanthocyanidins)을 함유한 추출물이 아토피성 습진 치료에 효과가 있었다고 하고[44], 플라보노이드가 많이 들어 있는 코코아추출물은 염증성 사이토카인을 감소시킴으로써 알레르기 증상을 호전시켰다고 한다(45).

B. 녹차

1. 차의 종류

녹차는 차나무의 어린잎을 따서 열처리한 후, 바로 건조시켜 제조한 차로써 세계적으로 널리 이용되는 음료이다(46). 차나무[*Camellia sinensis*(L.) O. Kuntze]는 산차목(Theales) 산차과(Theaceae)에 산차목(Theaceae) *Camellia* 속으로 연평균 기온 13℃ 이상에 분포하는 아열대성 목본 상록식물로 아시아, 아프리카, 남아메리카 등 50여 국가에서 중요한 경제작물로 재배되고 있다(47). 녹차는 *Camellia* 속으로 90여종이 있으며, 현재 많이 음용되고 있는 중국 종은 *Camellia sinensis* var. *sinensis* 이고, 아쌈(Assam)종은 *Camellia sinensis* var. *Assamica* 로 알려져 있다. 우리나라에 차가 처음 들어온 시기는 신라 27대 선덕여왕(AD 632-647) 때이며(48) 흥덕왕 3년(AD 828)에 경남 하동의 지리산에 파종 한 이후부터 재배된 뒤 후 보성과 하동을 중심으로 전라남도, 전라북도, 경상남도, 제주 등에서 현재 재배되고 있다(49). 차는 차 잎을 따서 가공 방법과, 발효 상태에 따라 녹차, 백차, 청차, 황차, 홍차로 나뉘는데, 그 중에서 발효시키지 않은 찻잎을 사용하여 만든 차가 녹차이고 완전히 발효시켜서 만든 차가 홍차이다(50). 차는 발효 정도를 기준으로 분류하면 비발효차, 반발효차, 발효차로 나눌 수 있다. 비발효차는 차 잎이 전혀 산화되지 않아서 찻물의 색이 녹색에서 연한 황색을 띠는 녹차가 여기에 해당된다. 반발효차는 차 잎이 10~70% 정도 산화된 차로서 차 잎은 산화정도에 따라서 청록색에서 갈색까지 다양한 색을 띠며 우롱차, 청차, 황차 등이 여기에 해당된다. 발효차는 차 잎이 85% 이상 산화되어 검은색을 띠는 차로서 차를 우리면 찻물 색은 붉은빛을 띤다. 홍차와 보이차가 여기에 해당된다.

2. 녹차의 성분

녹차 생엽의 75-80%는 수분이고 나머지가 고형물로 폴리페놀 화합물(flavanols, flavandiol, flavonoid, phenolic acid)을 포함하고 있다(51).

차의 폴리페놀 화합물의 대부분은 플라보놀에 속하는 카테킨(cathechin)으로 녹차 잎 건조 중량의 7-13%를 차지한다. 이 외에도 차 잎에는 비타민류(A, B₁, B₂, B₆, β-카로틴, C, E, K 등), 알칼로이드류(caffeine, Methylxanthine, theophylline, theobromine), 색소류, 데아닌과 글루타민산을 포함한 아미노산류, 무기질, 여러 가지 효소(polyphenoloxidase, peroxidase, catalase, invertase 등), 유기산 그리고 탄수화물 등을 함유하고 있다(52). 녹차의 맛은 떫은맛, 쓴맛, 감칠맛과 단맛이 혼합되어 나타나는데, 쓰고 떫은맛 성분인 카테킨, 쓴맛 성분인 카페인, 감칠맛 성분인 아미노산, 단맛 성분인 당류 그리고 방향성 물질과 각종 화합물이 조화를 이루어 독특한 향기와 맛을 만들어 낸다(53). 녹차에 함유되어 있는 대표적인 생리활성물질인 카테킨류는 Catechin (C), Epicatechin (EC), Epicatechin gallate (ECG), Epigallocatechin (EGC), Epigallocatechin gallate (EGCG), Gallocatechin (GC), Catechin gallate (CG), Gallocatechin gallate (GCG) 등의 여러 종류가 있으나 EC, ECG, EGC 및 EGCG 등 4가지 종류가 다량 포함되어 있다(54). 녹차에 카테킨 중 EGCG의 함량이 가장 높아서 전체 카테킨의 50~60%를 차지하며 생리활성도 EGCG가 가장 뛰어나다고 알려져 있다. EGCG는 비타민 E보다 25배, 비타민 C보다 100배 정도의 강한 항산화 효과를 가지고 있고, 항균작용, 항암작용 및 항염 작용이 있는 것으로 알려져 있다(55).

3. 녹차의 효능

1980년대 이후 녹차 카테킨을 이용하여 항암, 항산화, 항균, 항바이러스, 항알레르기, 혈압상승 억제작용, 혈중 콜레스테롤 저하작용, 충치예방 등에 관한 다양한 연구 결과가 보고되고 있어 녹차의 효능에 대한 연구개발이 활발히 진행되고 있다(56, 57). 차 카테킨 중에서는 EGCG는 생리활성이 가장 강한 것으로 알려져 항균, 항진균 및 항바이러스 작용에 대한 많은 연구보고가 있는데, EGCG는 *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) 내성균에 대한 감수성을 증가시키며(58), 메트로니다졸 및 클라리트로 마이신

에 대해 내성이 있는 헬리코박터 파일로리 (*Helicobacter pylori*) 56 균주에서 항생제의 감수성을 증가시키고(59), 대장균 0157에서 생물막(biofilm) 균락(colony) 형성을 억제하여 항균 효과를 증가 시킨다고 한다(60).

C. 녹차와 아토피성 피부염

세균이나 곰팡이 및 효모균의 감염이 AD 발생과 연관이 있는 것으로 알려져 있는데, 특히 *Staphylococcus aureus*, *Malasseziada* 및 *Trichophyton rubrum* 등은 AD와 상관관계가 높은 것으로 알려져 있다(61, 62, 63). Staphylococcal superantigens (SsAgs)는 AD를 악화시키는 요인 중 하나로 알려져 있는데(61), 카테킨은 포도상 구균 장독소 B (SEB)에 작용하여 기능을 억제하는 작용이 알려져 있다(64). 카테킨을 BALB/c 마우스에 복강 내 투여 하면 SEB의 치사 독성과 SEB에 의한 TNF- α , IFN- γ 및 IL-4 생산이 억제된다고 하며, 인간 PBMC에서 SEB 유도 된 TNF- α 및 IFN- γ 생산 및 IL-2, IFN- γ , IL-10 및 IL-12 mRNA 발현을 용량 의존적으로 억제된다고 한다(64). Catechin에 의한 SsAg 유도 T-세포 활성화(SsAg-induced T-cell activation)의 억제는 *in vivo* 및 *in vitro* 연구 모두에서 관찰되었고 이러한 카테킨의 작용은 AD의 치료에 유용하게 이용될 수 있음을 시사한다고 할 수 있다(64). 두경부에서 발생하는 AD 병변부위에서 *Malassezia* 균이 83%가 검출되므로 *Malassezia* 균은 AD와 밀접한 연관이 있는 것으로 알려져 있다(65). AD 병변부위에서 *Malassezia* 균이 검출된 사람에서 녹차 추출물을 이용한 목욕 요법을 시행하면 scoring atopic dermatitis (SCORAD) score와 가려움증에 대한 visual analogue scale (VAS)에서 현저한 증상 개선이 나타난다고 하였다. 녹차 추출물 목욕요법은 카테킨의 항염증 효과와 *Malassezia* 균에 대한 항진균 효과로 인해서 아토피성 피부염 증상이 개선된다고 하였다(65). 먼지 진드기는 0.2~0.3 mm 정도 크기의 8개의 다리를 가지고 있는 절지동물로서 적어도 13 종이 알려져 있으며, 온도 20°C ~ 25°C, 습도 70% ~ 80% 정도 조건을 좋아하며, 사람의 피부 각질 조각을 주로 먹고 산다(66). 진드기의 내장

에 들어있는 강력한 소화 효소(특히 Peptidase 1)나 진드기의 외골격은 기관지 천식과 같은 알레르기 반응이나 아토피성 피부염을 유도하는 것으로 알려져 있다(67). AD 모델 실험동물인 NC/Nga 생쥐를 집먼지 진드기 (*Dermatophagoides pteronissinus*) 추출물을 도포하여 AD 피부 병변을 만든 후, EGCG를 도포하면 피부증상이 개선되고 병변의 Migration inhibition factor (MIF), TNF- α , IFN- γ , IL-2 및 IL-12의 mRNA 발현이 감소되어 AD 유사 피부 병변을 개선시킬 수 있다고 하였다(68). 카테킨이 AD의 증상 개선에 관한 연구가 발표되고 있으나 아직까지는 발표된 연구결과가 많지 않으며, 특히 카테킨 응용으로 인한 AD의 발생 예방과 증상 개선에 관한 연구결과는 거의 없다. 본 연구는 아토피성 피부염의 발생 예방과 증상 개선에 미치는 카테킨의 응용효과를 관찰하고자 아토피성 피부염 모델 실험동물인 Nc/Nga 생쥐에 집먼지 진드기 추출물(AD star) 도포하여 AD를 유발하고 녹차카테킨을 응용시켜서 실험을 실시하였다.

II. 재료 및 방법

A. 실험재료

본 실험에 사용된 카테킨은 polyphenon 60(P60)로서 Sigma-Aldrich Co.(St. Louis, MO, USA)에서 구매하여 사용하였다. 비오스타 AD 연고는 Biostir 사(Yodogawa-ku,Osaka, Japan)에서, 제모크림(카모마일 제모크림, 바디네이처, 한국)은 시중에서 구매하여 사용하였다. TRIzol® RNA Isolation Reagents는 Life technologies 사(Carlsbad, CA, USA)에서 구매하여 사용하였다. Sodium dodesylsulfate (SDS), paraformaldehyde, xylene 및 ethanol은 Sigma-Aldrich Co.(St. Louis, MO, USA)에서 구매하여 사용하였다.

B. 실험동물사육

실험동물은 아토피 동물모델로 알려진 Nc/Nga 종 생쥐로 8주령의 수컷을 사용하였다. Nc/Nga 종 생쥐는 Japan SLC (Hamamatsu, Shizuoka, Japan)에서 구매하였고, 12시간 명암주기, 온도 $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 상대습도 $60 \pm 5\%$ 의 환경에서 사육하였다. 동물실험은 조선대학교 동물실험 윤리 위원회 승인(승인번호: CIACUC2015-A0003)을 받아 실험윤리 규정을 준수하여 실험을 실시하였다.

C. 아토피성 피부염 유발 및 카테킨 투여

아토피성 피부염 유발은 비오스타사의 아토피 유발용 연고인 AD 크림을 이용하였다. 실험군은 4군으로 대조군, 아토피성 피부염군, 아토피성 피부염+카테킨 전처치군 및 아토피성 피부염+카테킨 후처치군으로 나누었고, 각 실험군의 동물 수는 5마리로 하였다. 실험동물의 등 부위를 $3 \times 5\text{cm}^2$ 크기로 제모용 클리퍼와 제모 크림을 이용하여 털을 제거하였다. 대조군은 제모부위에 4%(W/V) SDS 용액을 도포하였고, 아토피성 피부염군, 아토피성 피부염+카

테킨 전처치군 및 아토피성 피부염+카테킨 후처치군은 제모부위에 4% SDS 용액을 도포하고 난 후 AD 크림 100 mg/mouse을 도포하였다. 4% SDS 용액과 AD 크림의 도포는 1주일에 2회씩 8주간 실시하였다. 대조군(control)과 아토피성 피부염군(AD)은 식수로 수돗물을 공급하였고, 아토피성 피부염+카테킨 전처치군(AD+PreC)은 AD 크림 도포 1주일 전부터 AD 크림 도포 후 8주까지 P60을 0.2%(W/V) 농도로 수돗물에 용해시켜 식수로 공급하였으며 아토피성 피부염+카테킨 후처치군(AD+PostC)은 AD 크림 도포 1주일 후부터 8주까지 0.2%(W/V) P60 용액을 식수로 공급하였다(Table 1).

D. 생쥐의 피부 긁는 횟수 측정

AD 크림 도포 후 1주, 4주 및 8주에 실험동물을 CCTV (closed circuit television; SNH-V6430BNH, 한화테크윈, 성남, 한국)로 촬영하여 긁는 횟수를 산출하였다. CCTV 촬영을 위해서 각 실험군의 동물사육 케이지 모서리에 CCTV용 카메라를 설치하여 2시간 동안 생쥐의 동태를 녹화하였다. 녹화된 영상을 모니터로 확인하여 각 실험군 각각의 실험동물별로 나누어서 피부 긁는 횟수를 산출하여 분석하였다.

E. 조직 검사

AD 크림 도포 후 8주에 실험동물을 질소가스로 마취시켜 등 쪽 피부를 절제하여 일부는 RNA 검사를 위한 시료로 이용하고 나머지는 조직검사용 시료로 이용하였다. 생쥐로부터 절제한 피부조직을 0.5cm x1cm 크기로 잘라서 10% paraformaldehyde 용액에서 12시간 고정시킨 후, 99% ethanol로 탈수과정을 거쳐서 파라핀에 포매(embedding)하였다. 파라핀에 포매된 조직은 microtome (Finesse 325; Thermo Scientific, Rockford, IL, USA)을 이용하여 6 μ m 두께의 절편으로 잘라 슬라이드 글라스 위에 붙여 파라핀을 제거하는 과정(xylene I, II, III \rightarrow 100% EtOH I, II \rightarrow 95% EtOH I, II \rightarrow 90% EtOH \rightarrow 80%

EtoH→70% EtoH, 각 10분씩)을 진행하였다. 파라핀이 제거된 피부조직 절편은 hematoxylin (Merck Co., Darmstadt, Germany)과 1% eosin (Sigma-Aldrich Chemical Co., St. Louis, MO, USA)을 이용하여 염색 후 광학 현미경(BX51; Olympus Ltd., Tokyo, Japan)으로 조직학적 소견을 관찰하였다.

F. 피부 조직 전사체(Transcriptome) 검사

피부조직을 일부 절제하여 TRIzol® RNA Isolation Reagents (Life technologies, Carlsbad, CA, USA)를 이용하여 total RNA를 분리하였다. Agilent RNA 6000 Pico Kit (Agilent, Santa Clara, CA, USA)와 BioAnalyzer 2100 automated electrophoresis system (Bio-Rad, Hercules, CA, USA)을 이용하여 피부조직에서 분리한 total RNA의 안정성은 분석하였다. 피부조직에서 분리한 RNA는 안정성을 확인한 후, TruSeq stranded mRNA sample preparation kit (illumina, San Diego, CA, USA)을 이용하여 제조사의 실험 방법에 따라서 mRNA sequencing library를 만들었다. 피부조직 mRNA library는 Agilent DNA High sensitivity Kit (Agilent, Santa Clara, CA, USA)를 이용하여 BioAnalyzer 2100로 분석하고, CFX96 real time system (BioRad, Hercules, CA, USA)을 이용하여 정량분석 하였다. 각각의 피부조직 mRNA library는 Illumina HiSeq 2500를 이용하여 RNA sequencing 분석을 실시하였다. 피부조직 cDNA libraries는 TruSeq flow cell을 이용하여 cDNA libraries의 clusters를 만든 다음 TruSeq 200 cycle SBS kit (Illumina, San Diego, CA, USA)를 이용하여 100bp-end read로서 염기서열을 분석하였다. cDNA libraries의 염기서열 정보는 FASTQ format에 저장된 정보와 비교하여 분석하였고, Gene set의 분석은 DAVID Bioinformatics Resources6.7, NIH (<http://david.abcc.ncifcrf.gov>)에서 Functional Annotation Tool을 이용 하였다(69). 실험군 간의 유전자 발현량 차이(differentially expressed genes : DEGs)는 reads per kilobase per million mapped reads (RPKM) 값을

이용하여 fold-change false discovery rate (FDR)을 측정하여 $p < 0.05$ 인 것을 유의한 것으로 하였다.

G. 통계처리

전사체를 제외한 모든 측정 결과는 평균± 표준편차(mean± SD)로 표시하였고, 실험결과는 SPSS (Statistical Package for the Social Science, Ver. 12.0. SPSS Inc., Chicago, IL, USA) 통계 프로그램을 이용하여 분산분석(ANOVA)을 실시하였고, 시료 간 유의성은 Duncan's multiple range test에 의해서 $P < 0.05$ 수준에서 검증하였다.

III. 결 과

A. 카테킨 투여가 아토피성 피부염 생쥐의 피부 가려움증에 미치는 영향

카테킨 투여가 아토피성 피부염 생쥐의 피부 가려움증에 미치는 영향을 관찰하기 위해 아토피 모델 생쥐인 Nc/Nga 생쥐의 등에 AD 크림을 1주에 2회씩 8주간 바르고 0.2% 카테킨을 경구 투여하면서 생쥐의 피부 긁는 횟수를 측정 결과는 Fig. 3과 같다. 대조군의 피부 긁는 횟수는 AD 크림을 바르기 시작하여 1주에 64.67 ± 13.01 회/hr, 4주에 21.56 ± 14.66 회/hr 및 8주에 17.11 ± 3.40 회/hr를 각각 나타냈다. 아토피성 피부염군의 피부 긁는 횟수는 AD 크림을 바르기 시작하여 1주에 124.67 ± 17.46 회/hr, 4주에 183.07 ± 31.75 회/hr 및 8주에 248.13 ± 32.91 회/hr를 각각 나타내서 AD 크림을 바르기 시작 한 후, 시간이 경과 될수록 긁는 횟수가 증가됨을 보여주고 있다. 아토피성 피부염+카테킨 전처치군의 피부 긁는 횟수는 AD 크림을 바르기 시작하여 1주에 96.56 ± 18.92 회/hr, 4주에 103.11 ± 33.72 회/hr 및 8주에 67.33 ± 26.10 회/hr를 각각 나타내서 AD 크림을 바르기 시작하여 8주에 긁는 횟수가 감소됨을 보여주고 있다. 아토피성 피부염+카테킨 후처치군의 피부 긁는 횟수는 AD 크림을 바르기 시작하여 1주에 145.20 ± 19.69 회/hr, 4주에 103.87 ± 9.05 회/hr 및 8주에 22.27 ± 8.47 회/hr를 각각 나타내서 AD 크림을 바르기 시작하여 4주와 8주에 긁는 횟수가 감소됨을 보여주고 있다.

B. 카테킨 투여가 아토피성 피부염 생쥐의 피부 증상에 미치는 영향

카테킨 투여가 아토피성 피부염 생쥐의 피부 증상에 미치는 영향을 관찰하기 위해 아토피 모델 생쥐인 Nc/Nga 생쥐의 등에 AD 크림을 1주에 2회씩 8주간 바르고 0.2% 카테킨을 경구 투여하면서 생쥐의 피부 상태를 관찰한 결과

는 Fig. 4와 같다. 대조군의 피부 증상을 AD 크림을 바르기 시작하여 4주와 8주에 관찰한 결과 피부 발진, 구진 및 가피 형성 등의 피부염 증상이 전혀 나타나지 않았다. 아토피성 피부염군의 피부 증상을 AD 크림을 바르기 시작하여 4주와 8주에 관찰한 결과 4주와 8주에 모두 피부 발진, 구진, 습진 및 가피 형성 등의 피부염 증상이 현저히 나타났다. 아토피성 피부염+카테킨 전처치군의 피부 증상을 AD 크림을 바르기 시작하여 4주와 8주에 관찰한 결과 4주와 8주에 피부 발진, 구진, 습진 및 가피 형성 등의 피부염 증상이 나타났으나 아토피성 피부염군보다는 그 수가 현저히 감소되었다. 아토피성 피부염+카테킨 후처치군의 피부 증상을 AD 크림을 바르기 시작하여 4주와 8주에 관찰한 결과 4주에 피부 발진, 구진, 습진 및 가피 형성 등의 피부염 증상이 나타났으나 아토피성 피부염군보다는 그 수가 현저히 감소되었고, 8주에는 피부 발진, 구진 및 습진 증상이 거의 없었고, 가피 형성이 일부 관찰되었다.

C. 카테킨 투여가 아토피성 피부염 생쥐의 피부의 조직소견에 미치는 영향

카테킨 투여가 아토피성 피부염 생쥐의 피부 조직소견에 미치는 영향을 관찰하기 위해 아토피 모델 생쥐인 Nc/Nga 생쥐에 0.2% 카테킨을 경구 투여하고, 생쥐 등에 AD 크림을 1주에 2회씩 8주간 바른 후, 생쥐를 희생시키고 피부를 절제하여 고정시킨 후 H&E 염색하여 광학현미경으로 관찰한 결과는 Fig. 5와 같다. 대조군은 피부 표피층이 얇고 진피층과 경계가 뚜렷이 보였고, 아토피성 피부염군은 표피층의 두께가 매우 증가되어 표피층의 증식이 나타났고, 진피층과 표피층의 경계가 거의 구분되지 않았다. 아토피성 피부염+카테킨 전처치군은 표피층의 두께가 증가되었으나 아토피성 피부염군보다는 더 얇았고, 진피층과 표피층의 경계가 어느 정도 구분되어 나타났다. 아토피성 피부염+카테킨 후처치군은 표피층의 두께가 대조군보다는 증가되었으

나 아토피성 피부염군이나 아토피성 피부염+카테킨 전처치군보다 더 얇았고, 진피층과 표피층의 경계가 확연하게 구분되었다.

D. 카테킨 투여 아토피성 피부염 생쥐의 피부조직 유전자 발현의 변화

카테킨 투여가 아토피성 피부염 생쥐의 피부 조직 유전자 발현 변화에 미치는 영향을 관찰하기 위해 아토피 모델 생쥐인 Nc/Nga 생쥐에 0.2% 카테킨을 경구 투여하고, 생쥐 등에 AD 크림을 1주에 2회씩 8주간 바른 후, 생쥐를 희생시키고 피부를 절제하여 total RNA를 분리하여 전사체 검사를 통하여 각 실험군 사이에 유전자 발현의 차이가 나는 유전자(DEGs)를 분석한 결과는 Table 2와 같다. 대조군과 아토피성 피부염군 사이에 $P \leq 0.05$ 수준에서 발현의 차이가 나는 유전자는 모두 1238(증가 631, 감소 607)개, $Q \leq 0.05$ 수준에서 발현의 차이가 나는 유전자는 모두 169(증가 43, 감소 126)개, $Q \leq 0.01$ 수준에서 발현의 차이가 나는 유전자는 모두 103(증가 24, 감소 79)개였다. 아토피성 피부염군과 아토피성 피부염+카테킨 전처치군 사이에 $P \leq 0.05$ 수준에서 발현의 차이가 나는 유전자는 모두 686(증가 458, 감소 228)개, $Q \leq 0.05$ 수준에서 발현의 차이가 나는 유전자는 모두 70(증가 52, 감소 18)개, $Q \leq 0.01$ 수준에서 발현의 차이가 나는 유전자는 모두 42(증가 32, 감소 10)개였다. 아토피성 피부염군과 아토피성 피부염+카테킨 후처치군 사이에 $P \leq 0.05$ 수준에서 발현의 차이가 나는 유전자는 모두 682(증가 206, 감소 476)개, $Q \leq 0.05$ 수준에서 발현의 차이가 나는 유전자는 모두 99(증가 8, 감소 91)개, $Q \leq 0.01$ 수준에서 발현의 차이가 나는 유전자는 모두 75(증가 6, 감소 69)개였다.

E. 아토피성 피부염 생쥐의 피부조직 유전자 세트(Gene set) 발현 변화

아토피성 피부염 생쥐의 피부 조직 유전자 발현 변화에 미치는 영향을 관

찰하기 위해 아토피 모델 생쥐인 Nc/Nga 생쥐 등에 AD 크림을 1주에 2회씩 8주간 바른 후, 생쥐를 희생시키고 피부를 절제하여 total RNA를 분리하여 전사체 분석 통하여 대조군과 유전자 발현의 차이를 비교하여 $\log_2(\text{FC})$ 값이 1 이상이고 p 값이 0.05이하인 유전자 세트는 Table 3과 같다. 각질세포 분화(keratinocyte differentiation) 관련 유전자 14개는 p 값이 0.000001이하면서 $\log_2(\text{FC})$ 값은 22.9였다. 엔도펩티다제 활성음성조절(negative regulation of endopeptidase activity) 관련 유전자 8개, 펩티다제 활성음성조절(negative regulation of peptidase activity) 관련 유전자 10개, 각질화(keratinization) 관련 유전자 6개 및 염증반응(inflammatory response) 관련 유전자 10개가 발현차이를 나타냈다.

F. 아토피성 피부염군과 아토피성 피부염+카테킨 전처치군 생쥐의 피부조직 유전자 세트(Gene set) 발현 비교

카테킨 전처치가 아토피성 피부염 생쥐의 피부 조직 유전자 발현 변화에 미치는 영향을 관찰하기 위해 아토피 모델 생쥐인 Nc/Nga 생쥐에 AD 크림을 바르기 1주일 전부터 0.2% 카테킨을 경구 투여하고, 생쥐 등에 AD 크림을 1주에 2회씩 8주간 바른 후, 생쥐를 희생시키고 피부를 절제하여 total RNA를 분리하여 전사체 분석 통하여 아토피성 피부염군과 유전자 발현의 차이를 비교하여 $\log_2(\text{FC})$ 값이 1이상이고 p 값이 0.05이하인 유전자 세트는 Table 4와 같다. 각질세포분화(keratinocyte differentiation) 관련 유전자 10개는 p 값이 0.000001이하면서 $\log_2(\text{FC})$ 값은 38.7이었다. 각질화(keratinization) 관련 유전자 5개 및 표피 발달(epidermis development) 관련 유전자 5개에서 발현차이가 있었다.

G. 아토피성 피부염군과 아토피성 피부염+카테킨 후처치군 생쥐의 피부조직 유전자 세트(Gene set) 발현 비교

카테킨 후처치가 아토피성 피부염 생쥐의 피부 조직 유전자 발현 변화에

미치는 영향을 관찰하기 위해 아토피 모델 생쥐인 Nc/Nga 생쥐에 AD 크림을 바르고 1주일 후부터 0.2% 카테킨을 경구 투여하고, 생쥐 등에 AD 크림을 1주에 2회씩 8주간 바른 후, 생쥐를 희생시키고 피부를 절제하여 total RNA를 분리하여 전사체 분석 통하여 아토피성 피부염군과 유전자 발현의 차이를 비교하여 $\log_2(FC)$ 값이 1이상이고 p 값이 0.05이하인 유전자 세트는 Table 5와 같다. 근육수축(muscle contraction) 관련 유전자 10개는 p 값이 0.000001이하면서 $\log_2(FC)$ 값은 49.40이었다. 각질세포분화(keratinocyte differentiation) 관련 유전자 9개, 근육수축조절(regulation of muscle contraction) 관련 유전자 6개, 근육수축단위인 살코메어 조직화(sarcomere organization) 관련 유전자 6개 및 각질화(keratinization) 관련 유전자 5개의 발현차이가 있었다.

H. 아토피성 피부염군 생쥐의 피부조직 각질세포 분화(keratinocyte differentiation) 관련 유전자 발현 변화

아토피 모델 생쥐인 Nc/Nga 생쥐 등에 AD 크림을 1주에 2회씩 8주간 바른 후 생쥐를 희생시키고 피부를 절제하여 total RNA를 분리하여 전사체 분석 통하여 AD 크림을 바르지 않은 대조군과 유전자 발현의 차이를 비교하여 $\log_2(FC)$ 값이 1이상이거나 -1이하이고 p 값이 0.05이하인 각질세포 분화(keratinocyte differentiation) 관련 유전자는 Table 6과 같다. 아토피성 피부염군의 피부조직 late cornified envelope 3A (LCE3A), late cornified envelope 3B (LCE3B), late cornified envelope 3C (LCE3C), small proline-rich protein 2H (SPRR2H), small proline-rich protein 2F (SPRR2F), small proline-rich protein 2K (SPRR2K), late cornified envelope 1J (LCE1J), late cornified envelope 1G (LCE1G), late cornified envelope 1F (LCE1F), small proline-rich protein 2D (SPRR2D), small proline-rich protein 1B (SPRR1B), transglutaminase 5 (TGM5) 및 late cornified envelope 1K (LCE1K) mRNA 량은 대조군에 비하여 감소되었고,

late cornified envelope 1M (LCE1M) mRNA 량은 대조군에 비하여 증가되었다.

I. 아토피성 피부염군과 아토피성 피부염+카테킨 전처치군 생쥐의 피부조직 각질세포 분화(keratinocyte differentiation) 관련 유전자 발현 변화

아토피 모델 생쥐인 Nc/Nga 생쥐에 AD 크림을 바르기 1주일 전부터 0.2% 카테킨을 경구 투여하고, 생쥐 등에 AD 크림을 1주에 2회씩 8주간 바른 후, 생쥐를 희생시키고 피부를 절제하여 total RNA를 분리하여 전사체 분석 통하여 아토피성 피부염군과 유전자 발현의 차이를 비교하여 log₂(FC) 값이 10 이상이거나 -10이하이고 p 값이 0.05이하인 각질세포 분화(keratinocyte differentiation) 관련 유전자는 Table 7과 같다. 아토피성 피부염+카테킨 전처치군의 피부조직 late cornified envelope 3A (LCE3A), late cornified envelope 3B (LCE3B), late cornified envelope 3C (LCE3C), small proline-rich protein 2F (SPRR2F), small proline-rich protein 2K (SPRR2K), late cornified envelope 1J (LCE1J), late cornified envelope 1G (LCE1G), late cornified envelope 1F (LCE1F), small proline-rich protein 2D (SPRR2D) 및 late cornified envelope 1K (LCE1K) mRNA 량은 아토피성 피부염군에 비하여 증가되었다.

J. 아토피성 피부염군과 아토피성 피부염+카테킨 후처치군 생쥐의 피부조직 각질세포 분화(keratinocyte differentiation) 관련 유전자 발현 변화

아토피 모델 생쥐인 Nc/Nga 생쥐에 AD 크림을 바르고 1주일 후부터 0.2% 카테킨을 경구 투여하고, 생쥐 등에 AD 크림을 1주에 2회씩 8주간 바른 후

생쥐를 희생시키고 피부를 절제하여 total RNA를 분리하여 전사체 분석 통하여 아토피성 피부염군과 유전자 발현의 차이를 비교하여 $\log_2(FC)$ 값이 10이상이거나 -10이하이고 p 값이 0.05이하인 각질세포 분화(keratinocyte differentiation) 관련 유전자는 Table 8과 같다. 아토피성 피부염+카테킨 후처치군의 피부조직 late cornified envelope 3A (LCE3A), late cornified envelope 3B (LCE3B), late cornified envelope 3C (LCE3C), small proline-rich protein 2F (SPRR2F), small proline-rich protein 2K (SPRR2K), late cornified envelope 1J (LCE1J), late cornified envelope 1G (LCE1G), late cornified envelope 1F (LCE1F), small proline-rich protein 2D (SPRR2D), small proline-rich protein 1B (SPRR1B), transglutaminase 5 (TGM5) 및 late cornified envelope 1K (LCE1K) mRNA 량은 아토피성 피부염군에 비하여 증가되었다.

K. 아토피성 피부염군 생쥐의 피부조직 엔도펩티다제 활성음성조절(negative regulation of endopeptidase activity) 관련 유전자 발현 변화

아토피 모델 생쥐인 Nc/Nga 생쥐 등에 AD 크림을 1주에 2회씩 8주간 바른 후 생쥐를 희생시키고 피부를 절제하여 total RNA를 분리하여 전사체 분석 통하여 AD 크림을 바르지 않은 대조군과 유전자 발현의 차이를 비교하여 $\log_2(FC)$ 값이 10이상이거나 -10이하이고 p 값이 0.05이하인 엔도펩티다제 활성음성조절(negative regulation of endopeptidase activity) 관련 유전자는 Table 9와 같다. 아토피성 피부염군의 피부조직 serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade A (alpha-1 antiproteinase, antitrypsin), member 9 (SERPINA9), fetuin beta (FETUB), secretory leukocyte peptidase inhibitor (SLPI), serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade B (ovalbumin), member 12 (SERPINB12), serine (or cysteine) peptidase

inhibitor, clade B (ovalbumin), member 3A (SERPINB3A), stefin A1 (STFA1), stefin A2 (STFA2) 및 serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade B (ovalbumin), member 3B (SERPINB3B) mRNA 량은 대조군에 비하여 감소되었다.

L. 아토피성 피부염군과 아토피성 피부염+카테킨 전처치군 생쥐의 피부조직 엔도펩티다제 활성음성조절(negative regulation of endopeptidase activity) 관련 유전자 발현 변화

아토피 모델 생쥐인 Nc/Nga 생쥐에 AD 크림을 바르기 1주일 전부터 0.2% 카테킨을 경구 투여하고, 생쥐 등에 AD 크림을 1주에 2회씩 8주간 바른 후 생쥐를 희생시키고 피부를 절제하여 total RNA를 분리하여 전사체 분석 통하여 아토피성 피부염군과 유전자 발현의 차이를 비교하여 $\log_2(FC)$ 값이 1 이상이거나 -1 이하이고 p 값이 0.05 이하인 엔도펩티다제 활성음성조절(negative regulation of endopeptidase activity) 관련 유전자는 Table 10 과 같다. 아토피성 피부염+카테킨 전처치군의 피부조직 serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade A (alpha-1 antiproteinase, antitrypsin), member 9 (SERPINA9), fetuin beta (FETUB), secretory leukocyte peptidase inhibitor (SLPI), serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade B (ovalbumin), member 12 (SERPINB12), serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade B (ovalbumin), member 3A (SERPINB3A), stefin A1 (STFA1), stefin A2 (STFA2) 및 serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade B (ovalbumin), member 3B (SERPINB3B) mRNA 량은 아토피성 피부염군에 비하여 감소되었다.

M. 아토피성 피부염군과 아토피성 피부염+카테킨 후처치군 생쥐의 피부조직 엔도펩티다제 활성음성조절(negative regulation of endopeptidase activity) 관련 유전자 발현 변화

아토피 모델 생쥐인 Nc/Nga 생쥐에 AD 크림을 바르고 1주일 후부터 0.2% 카테킨을 경구 투여하고, 생쥐 등에 AD 크림을 1주에 2회씩 8주간 바른 후 생쥐를 희생시키고 피부를 절제하여 total RNA를 분리하여 전사체 분석 통하여 아토피성 피부염군과 유전자 발현의 차이를 비교하여 $\log_2(FC)$ 값이 10 이상이거나 -10이하이고 p 값이 0.05이하인 엔도펩티다제 활성음성조절(negative regulation of endopeptidase activity) 관련 유전자는 Table 11 과 같다. 아토피성 피부염+카테킨 후처치군의 피부조직 serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade A (alpha-1 antiproteinase, antitrypsin), member 9 (SERPINA9), fetuin beta (FETUB), secretory leukocyte peptidase inhibitor (SLPI), serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade B (ovalbumin), member 12 (SERPINB12), serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade B (ovalbumin), member 3A (SERPINB3A), stefin A1 (STFA1), stefin A2 (STFA2) 및 serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade B (ovalbumin), member 3B (SERPINB3B) mRNA 량은 아토피성 피부염군에 비하여 감소되었다.

N. 아토피성 피부염군 생쥐의 피부조직 펩티다제 활성음성조절(negative regulation of peptidase activity) 관련 유전자 발현 변화

아토피 모델 생쥐인 Nc/Nga 생쥐 등에 AD 크림을 1주에 2회씩 8주간 바른 후 생쥐를 희생시키고 피부를 절제하여 total RNA를 분리하여 전사체 분석

통하여 AD 크림을 바르지 않은 대조군과 유전자 발현의 차이를 비교하여 $\log_2(\text{FC})$ 값이 10이상이거나 -10이하이고 p 값이 0.05이하인 펩티다제 활성음성조절(negative regulation of peptidase activity) 관련 유전자는 Table 12와 같다. 아토피성 피부염군의 피부조직 WAP four-disulfide core domain 12 (WFDC12), serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade A (alpha-1 antiproteinase, antitrypsin), member 9 (SERPINA9), cystatin A1 (CSTA1), fetuin beta (FETUB), secretory leukocyte peptidase inhibitor (SLPI), serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade B (ovalbumin), member 12 (SERPINB12), WAP four-disulfide core domain 18 (WFDC18), serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade B (ovalbumin), member 3A (SERPINB3A), stefin A2 (STFA2), serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade B (ovalbumin) 및 member 3B (SERPINB3B) mRNA 량은 대조군에 비하여 감소되었다.

0. 아토피성 피부염군과 아토피성 피부염+카테킨 전처치군 생쥐의 피부조직 펩티다제 활성음성조절(negative regulation of peptidase activity) 관련 유전자 발현 변화

아토피 모델 생쥐인 Nc/Nga 생쥐에 AD 크림을 바르기 1주일 전부터 0.2% 카테킨을 경구 투여하고, 생쥐 등에 AD 크림을 1주에 2회씩 8주간 바른 후 생쥐를 희생시키고 피부를 절제하여 total RNA를 분리하여 전사체 분석 통하여 아토피성 피부염군과 유전자 발현의 차이를 비교하여 $\log_2(\text{FC})$ 값이 10이상이거나 -10이하이고 p 값이 0.05이하인 펩티다제 활성음성조절(negative regulation of peptidase activity) 관련 유전자는 Table 13과 같다. 아토피성 피부염+카테킨 전처치군의 피부조직 WAP four-disulfide core domain 12

(WFDC12), serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade A (alpha-1 antiproteinase, antitrypsin), member 9 (SERPINA9), fetuin beta (FETUB), secretory leukocyte peptidase inhibitor (SLPI), serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade B (ovalbumin), member 12 (SERPINB12), serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade B (ovalbumin), member 3A (SERPINB3A), stefin A2 (STFA2), serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade B (ovalbumin) 및 member 3B (SERPINB3B) mRNA 양은 아토피성 피부염군에 비하여 감소되었다.

P. 아토피성 피부염군과 아토피성 피부염+카테킨 후처치군 생쥐의 피부조직 펩티다제 활성음성조절(negative regulation of peptidase activity) 관련 유전자 발현 변화

아토피 모델 생쥐인 Nc/Nga 생쥐에 AD 크림을 바르고 1주일 후부터 0.2% 카테킨을 경구 투여하고, 생쥐 등에 AD 크림을 1주에 2회씩 8주간 바른 후 생쥐를 희생시키고 피부를 절제하여 total RNA를 분리하여 전사체 분석 통하여 아토피성 피부염군과 유전자 발현의 차이를 비교하여 $\log_2(FC)$ 값이 10 이상이거나 -10이하이고 p 값이 0.05이하인 펩티다제 활성음성조절(negative regulation of peptidase activity) 관련 유전자는 Table 14와 같다. 아토피성 피부염+카테킨 후처치군의 피부조직 WAP four-disulfide core domain 12 (WFDC12), serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade A (alpha-1 antiproteinase, antitrypsin), member 9 (SERPINA9), fetuin beta (FETUB), secretory leukocyte peptidase inhibitor (SLPI), serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade B (ovalbumin), member 12 (SERPINB12), serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade B (ovalbumin), member 3A

(SERPINB3A), stefin A2(STFA2), serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade B (ovalbumin) 및 member 3B (SERPINB3B) mRNA 량은 아토피성 피부염군에 비하여 감소되었다.

Q. 아토피성 피부염군 생쥐의 피부조직 각질화(keratinization) 관련 유전자 발현 변화

아토피 모델 생쥐인 Nc/Nga 생쥐 등에 AD 크림을 1주에 2회씩 8주간 바른 후 생쥐를 희생시키고 피부를 절제하여 total RNA를 분리하여 전사체 분석 통하여 AD 크림을 바르지 않은 대조군과 유전자 발현의 차이를 비교하여 $\log_2(FC)$ 값이 1이상이거나 -1이하이고, p 값이 0.05이하인 각질화(keratinization) 관련 유전자는 Table 15와 같다. 아토피성 피부염군의 피부조직 keratin 6B (KRT6B), small proline-rich protein 2D (SPRR2D), small proline-rich protein 2B (SPRR1B), small proline-rich protein 2 (SPRR2H), small proline-rich protein 2F (SPRR2F) 및 small proline-rich protein 2K (SPRR2K) mRNA 량은 대조군에 비하여 감소되었다.

R. 아토피성 피부염군과 아토피성 피부염+카테킨 전처치군 생쥐의 피부조직 각질화(keratinization) 관련 유전자 발현 변화

아토피 모델 생쥐인 Nc/Nga 생쥐에 AD 크림을 바르기 1주일 전부터 0.2% 카테킨을 경구 투여하고, 생쥐 등에 AD 크림을 1주에 2회씩 8주간 바른 후 생쥐를 희생시키고 피부를 절제하여 total RNA를 분리하여 전사체 분석 통하여 아토피성 피부염군과 유전자 발현의 차이를 비교하여 $\log_2(FC)$ 값이 1이상이거나 -1이하이고, p 값이 0.05이하인 각질화(keratinization) 관련 유전자는 Table 16과 같다. 아토피성 피부염+카테킨 전처치군의 피부조직

keratin 6B (KRT6B), small proline-rich protein 2D (SPRR2D), small proline-rich protein 2B (SPRR1B), small proline-rich protein 2F (SPRR2F) 및 small proline-rich protein 2K (SPRR2K) mRNA 양은 아토피성 피부염군에 비하여 감소되었다.

S. 아토피성 피부염군과 아토피성 피부염+카테킨 후처치군 생쥐의 피부조직 각질화(keratinization) 관련 유전자 발현 변화

아토피 모델 생쥐인 Nc/Nga 생쥐에 AD 크림을 바르고 1주일 후부터 0.2% 카테킨을 경구 투여하고, 생쥐 등에 AD 크림을 1주에 2회씩 8주간 바른 후 생쥐를 희생시키고 피부를 절제하여 total RNA를 분리하여 전사체 분석 통하여 아토피성 피부염군과 유전자 발현의 차이를 비교하여 $\log_2(FC)$ 값이 10 이상이거나 -10 이하이고, p 값이 0.05이하인 각질화(keratinization) 관련 유전자는 Table 17과 같다. 아토피성 피부염+카테킨 후처치군의 피부조직 keratin 6B (KRT6B), small proline-rich protein 2D (SPRR2D), small proline-rich protein 2B (SPRR1B), small proline-rich protein 2F (SPRR2F) 및 small proline-rich protein 2K (SPRR2K) mRNA 양은 아토피성 피부염군에 비하여 감소되었다.

T. 아토피성 피부염군 생쥐의 피부조직 염증반응 (inflammatory response) 관련 유전자 발현 변화

아토피 모델 생쥐인 Nc/Nga 생쥐 등에 AD 크림을 1주에 2회씩 8주간 바른 후 생쥐를 희생시키고 피부를 절제하여 total RNA를 분리하여 전사체 분석 통하여 AD 크림을 바르지 않은 대조군과 유전자 발현의 차이를 비교하여 $\log_2(FC)$ 값이 10 이상이거나 -10 이하이고, p 값이 0.05이하인 염증반응

(inflammatory response) 관련 유전자는 Table 18과 같다. 아토피성 피부염군의 피부조직 interleukin 1 family, member 9 (IL1F9) mRNA 량은 대조군에 비하여 감소되었고, interleukin 23, alpha subunit p19 (IL23A), S100 calcium binding protein A8 (S100A8), interleukin 17F (IL17F), interleukin 19 (IL19), interleukin 24 (IL24) 및 interleukin 1 family, member 6 (IL1F6) mRNA 량은 대조군에 비하여 증가되었다.

U. 아토피성 피부염군과 아토피성 피부염+카테킨 전처치군 생쥐의 피부조직 염증반응(inflammatory response) 관련 유전자 발현 변화

아토피 모델 생쥐인 Nc/Nga 생쥐에 AD 크림을 바르기 1주일 전부터 0.2% 카테킨을 경구 투여하고, 생쥐 등에 AD 크림을 1주에 2회씩 8주간 바른 후, 생쥐를 희생시키고 피부를 절제하여 total RNA를 분리하여 전사체 분석 통하여 아토피성 피부염군과 유전자 발현의 차이를 비교한 염증반응 (inflammatory response) 관련 유전자는 Table 19와 같다. 아토피성 피부염+카테킨 전처치군의 피부조직 interleukin 1 family, member 9 (IL1F9) mRNA 량은 아토피성 피부염군에 비하여 증가되었고, S100 calcium binding protein A8 (S100A8) mRNA 량은 아토피성 피부염군에 비하여 감소되었다. 아토피성 피부염+카테킨 전처치군의 피부조직 interleukin 23, alpha subunit p19 (IL-23A), interleukin 17F (IL-17F), interleukin 19 (IL-19), PYD and CARD domain containing (PYCARD), interleukin 1 beta (IL-1B), interleukin 24 (IL-24) 및 interleukin 1 family, member 6 (IL-1F6) mRNA 량은 아토피성 피부염군과 차이를 나타내지 않았다.

V. 아토피성 피부염군과 아토피성 피부염+카테킨 후처치군 생쥐의 피부조직 염증반응(inflammatory response) 관련 유전자 발현 변화

아토피 모델 생쥐인 Nc/Nga 생쥐에 AD 크림을 바르고 1주일 후부터 0.2% 카테킨을 경구 투여하고, 생쥐 등에 AD 크림을 1주에 2회씩 8주간 바른 후 생쥐를 희생시키고 피부를 절제하여 total RNA를 분리하여 전사체 분석 통하여 아토피성 피부염군과 유전자 발현의 차이를 비교한 염증반응 (inflammatory response) 관련 유전자는 Table 20과 같다. 아토피성 피부염+카테킨 후처치군의 피부조직 interleukin 1 family, member 9 (IL1F9) mRNA량을 아토피성 피부염군과 비교한 결과 $\log_2(FC)$ 값이 2.3, p 값이 0.0051로 아토피성 피부염군에 비하여 증가되었고, $\log_2(FC)$ 값이 -2 이하이고, p 값이 0.05 이하인 유전자는 S100 calcium binding protein A8 (S100A8), interleukin 17F (IL-17F), interleukin 19 (IL-19), interleukin 1 beta (IL-1B) 및 interleukin 24 (IL-24)였으며, interleukin 23, alpha subunit p19 (IL-23A), PYD and CARD domain containing (PYCARD) 및 interleukin 1 family, member 6 (IL-1F6) mRNA량은 아토피성 피부염군과 차이를 나타내지 않았다.

IV. 고 찰

본 연구는 아토피성 피부염의 발생 예방과 증상개선에 미치는 카테킨의 응용효과를 관찰하고자 Nc/Nga 생쥐에 비오스타 AD 연고를 도포하여 아토피성 피부염 유발하고 녹차카테킨을 응용시킨 실험에서 카테킨 응용이 아토피성 피부염 증상을 개선시키는 것으로 나타났다. Nc/Nga 생쥐는 일본 나고야 대학교(Nagoya University)에서 1957년에 근친교배 (inbred mice)로 개발된 아토피성 피부염 모델 실험동물로서 피부증상이나 조직소견이 사람의 아토피성 피부염과 매우 유사하여 아토피성 피부염 모델 실험동물로서 많이 이용되고 있다(70). 본 실험에서 아토피성 피부염 증상을 유도하기 위하여 Nc/Nga 생쥐의 등 쪽 털을 제모한 후 피부에 비오스타 AD 연고를 1주에 2회씩 실험 끝까지 도포하였는데, 도포 1주일 후 부터 피부에 홍반과 구진 등 피부염 증상이 나타나서 비오스타 AD 연고 도포로 피부염이 유도됨을 알 수 있었다. 비오스타 AD 연고는 집먼지 진드기 추출물을 함유하고 있으며 아토피성 피부염을 유발시키는 유도제로 이용되고 있는 제제이다. 카테킨이 아토피성 피부염의 가려움증에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 대조군, 아토피성 피부염, 아토피성 피부염+카테킨 전처치군 및 아토피성 피부염+카테킨 후처치군으로 나누어 피부 긁는 횟수를 비교한 결과 비오스타 AD 연고 도포 후 1주일에는 대조군 64.67 ± 13.01 회/hr, 아토피성 피부염군 124.67 ± 17.46 회/hr, 아토피성 피부염+카테킨 전처치군 96.56 ± 18.92 회/hr 및 아토피성 피부염+카테킨 후처치군 145.20 ± 19.69 회/hr을 나타내서 대조군에 비하여 비오스타 AD 연고 도포군에서 모두 긁는 횟수가 증가되어 피부염증상이 악화된 것으로 생각된다. 또한 비오스타 AD 연고 도포한 실험군 중에서 아토피성 피부염+카테킨 전처치군은 아토피성 피부염군이나 아토피성 피부염+카테킨 후처치군에 비하여 피부 긁는 횟수가 감소되어 카테킨 응용이 아토피성 피부염 증상의 발생을 억제하는 기능이 있는 것으로 추측된다. 아토피성 피부염+카테킨 전

처치군의 피부 긁는 횟수는 4주 103.11 ± 33.72 회/hr, 8주 67.33 ± 26.10 회/hr 로 아토피성 피부염군에 비하여 4주 43%, 8주 72%가 각각 감소되었고, 아토피성 피부염+카테킨 후처치군의 피부 긁는 횟수는 4주 103.87 ± 9.05 회/hr, 8주 22.27 ± 8.47 회/hr로 아토피성 피부염군에 비하여 4주 43%, 8주 91%가 각각 감소되어 4주에는 두 군의 감소율이 같았으나 8주에는 아토피성 피부염+카테킨 후처치군의 감소율이 더 높아서 카테킨 후처치군에서 가려움증 개선효과가 가장 큰 것으로 나타났다. 가려움증은 아토피성 피부염 증상 중 가장 특징적인 증상으로 피가 날 때까지 긁기도 하며, 긁는 것은 피부 증상을 악화시킬 수 있으며, 밤에 유발되는 가려움증은 잠을 설치게 되어 삶의 질이 저하될 수도 있다(71). 가려움의 증상은 피부 긁는 것으로 나타날 수 있기 때문에 긁는 횟수의 감소는 아토피성 피부염의 증상 개선으로 볼 수 있다. 따라서 카테킨 투여에 의한 피부 긁는 횟수의 감소는 가려움증의 개선 결과로 나타났다고 할 수 있으며 이는 아토피성 피부염 증상 개선으로 볼 수 있다. 아토피성 피부염은 피부 건조, 가려움(pruritus), 홍반(erythema), 구진(papule), 부종(edema), 습진(eczema), 가피형성(crust) 및 피부 갈라짐(cracked skin) 등의 증상이 나타나는 만성 피부 염증 질환이다. 카테킨이 아토피성 피부염의 피부증상에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 대조군, 아토피성 피부염, 아토피성 피부염+카테킨 전처치군 및 아토피성 피부염+카테킨 후처치군으로 나누어 비오스타 AD 연고 도포 후 4주일과 8주일에 피부를 촬영하여 관찰한 결과 아토피성 피부염+카테킨 전처치군의 피부에서 4주와 8주에 피부 발진, 구진, 습진 및 가피 형성 등의 피부염 증상이 아토피성 피부염군보다는 그 수가 감소되었고, 아토피성 피부염+카테킨 후처치군의 피부에서는 4주에 피부 발진, 구진, 습진 및 가피 형성 등이 나타났으나 아토피성 피부염군보다는 현저히 감소되었고, 8주에는 피부 발진, 구진 및 습진 증상은 거의 없었고, 가피 형성만 일부에서 관찰되어 카테킨 처치로 아토피성 피부염 증상이 개선됨을 보여주고 있다. 노 등은(72) 2.5% EGCG를 피부에 바르

면 아토피성 피부염 증상이 개선된다고 하였고, 김 등은(73) 5% 녹차 추출물
 에 목욕을 하면 아토피성 피부염 증상이 개선된다고 하였는데 본 실험에서는
 카테킨 전처치군이나 후처치군에서 모두 피부염증상이 개선됨을 보여주고 있
 어서 0.2% 녹차 카테킨 용액의 음용으로 아토피성 피부염증상이 개선 될 수
 있음을 시사하고 있다. 본 실험에서 카테킨 투여가 아토피성 피부염 생쥐의
 피부조직소견에 미치는 영향을 관찰하기 위해 Nc/Nga 생쥐 피부를 포르말린
 으로 고정시킨 후 H&E 염색하여 관찰한 결과 아토피성 피부염군은 표피층의
 세포가 증식되어 두께가 증가되었고, 진피층과 표피층의 경계가 거의 구분되
 지 않았으며 각질층이 거의 보이지 않았다. 아토피성 피부염+카테킨 전처치
 군은 표피층의 두께가 증가되었으나 아토피성 피부염군보다는 더 얇았고, 진
 피층과 표피층의 경계가 구분되었으며 각질층이 보였다. 아토피성 피부염+카
 테킨 후처치군은 표피층의 두께가 대조군보다는 증가되었으나 아토피성 피부
 염군이나 아토피성 피부염+카테킨 전처치군보다 더 얇았고, 진피층과 표피층
 의 경계가 확연하게 구분되었으며 각질층이 뚜렷하게 보였다. 만성 피부염증
 질환에서 피부의 표피층(epidermis) 두께가 증가하는 것은 흔히 나타날 수
 있는 현상으로 임상적으로는 태선화(lichenification)로, 조직학적으로는 가
 시세포 증식(acanthosis)으로 나타난다(71). 본 실험에서도 비오스타 AD 연
 고 도포 8주일에 표피층의 두께가 증가되고 세포증식이 일어나서 아토피성
 피부염군의 생쥐 피부에 만성 염증성 소견을 보여주고 있으며 카테킨 전처치
 군이나 후처치군에서 모두 피부 표피세포층의 두께가 감소되고 진피층과 표
 피층의 경계가 나타나고 각질층이 보여서 0.2% 녹차 카테킨 용액의 음용으로
 아토피성 피부염에 의한 표피세포 증식의 변화가 개선되고 각질층이 회복됨
 을 보여주고 있다. 아토피 피부염 병변부위에서 피부 각질세포
 (keratinocytes)는 hemokines 이나 cytokines과 같은 화학매개체(chemical
 mediators)를 분비하여 면역 세포를 유인하고 염증반응이 유발된다(74). 각
 질세포는 성장 분화과정의 변화를 통해 아토피성 피부염의 발병기전에 관여

하며, 각질세포의 과다 증식은 비만세포(mast cell)에서 분비되는 히스타민이나 세로토닌 또는 염증 매개체인 Transforming growth factor beta (TGF- β)와 Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF)에 기인한 것으로 알려져 있다(75, 76). RNA 염기서열분석기술(RNA sequencing technology)은 처음 시작 할 때에 비하여 최근에 급격히 발전되어 total RNA를 sequencing 하여 분석하는 전사체 분석 단계에 이르게 되었다. 전사체 분석은 많은 생체 정보와 발전된 생화학적 기술의 조합을 통해서 이루어 질 수 있으며, RNA sequencing (RNA-Seq) 데이터 분석을 통하여 정밀하고 정확한 유전자 발현에 대한 정보를 얻을 수 있게 되었다. 본 실험에서 카테킨이 아토피성 피부염 생쥐의 피부 조직 유전자 발현 변화에 미치는 영향을 관찰하기 위해 Nc/Nga 생쥐의 피부에서 total RNA를 분리해 전사체 분석을 실시한 결과 대조군과 아토피성 피부염군 사이에 $Q \leq 0.05$ 수준에서 발현의 차이가 나는 유전자는 169(증가 43, 감소 126)개, 아토피성 피부염군과 아토피성 피부염+카테킨 전처치군 사이에 $Q \leq 0.05$ 수준에서 발현의 차이가 나는 유전자는 70(증가 52, 감소 18)개, 아토피성 피부염군과 아토피성 피부염+카테킨 후처치군 사이에 $Q \leq 0.05$ 수준에서 발현의 차이가 나는 유전자는 99(증가 8, 감소 91)개였다. 발현량이 변화된 유전자는 단백질량에 영향을 주기 때문에 아토피성 피부염이나 카테킨 투여에 의해서 발현의 변화가 일어나는 유전자는 질병의 발생이나 경과에 영향을 줄 수 있을 것으로 추측된다. 아토피성 피부염 생쥐와 대조군 생쥐의 피부 조직 전사체 분석 통하여 유전자 발현의 차이가 나는 유전자를 기능별로 유전자 세트로 분류하고 두 실험군 사이에 $\log_2(FC) > 1$ 이고, $p < 0.05$ 인 기능성 유전자 세트는 각질세포 분화(keratinocyte differentiation) 관련 유전자 14개, 엔도펩티다제 활성 음성 조절(negative regulation of endopeptidase activity) 관련 유전자 8개, 펩티다제 활성음성조절(negative regulation of peptidase activity) 관련 유

전자 10개, 각질화(keratinization) 관련 유전자 6개 및 염증반응(inflammatory response) 관련 유전자 10개였다. 표피(epidermis)는 피부(skin)의 가장 바깥쪽 층이며 기저막(basement membrane)에 의해 진피(dermis)와 분리되어 있다. 표피를 구성하는 각질세포(keratinocyte)는 기저막에 부착된 기저 세포(basal cell) 층에서 증식한다. 각질세포는 분화가 진행됨에 따라 기저층(basal layer), 유극층(spinous layer), 과립층(granular layer) 및 각질층(cornified layer)으로 변화되고 각질층이 피부 표면에 노출되어 손상되면 피부에서 떨어져 나간다(Fig. 6). 아토피성 피부염군과 대조군의 각질세포 분화(keratinocyte differentiation) 관련 유전자 발현을 비교하여 아토피성 피부염군의 피부조직에서 유전자 발현량이 2배 이상 증가($p < 0.05$)된 유전자는 late cornified envelope 1M (LCE1M)이고, 유전자 발현량이 1/20이하로 감소($p < 0.05$)된 유전자는 late cornified envelope 3A (LCE3A), late cornified envelope 3B (LCE3B), late cornified envelope 3C (LCE3C), small proline-rich protein 2H (SPRR2H), small proline-rich protein 2F (SPRR2F), small proline-rich protein 2K (SPRR2K), late cornified envelope 1J (LCE1J), late cornified envelope 1G (LCE1G), late cornified envelope 1F (LCE1F), small proline-rich protein 2D (SPRR2D), small proline-rich protein 1B (SPRR1B), transglutaminase 5 (TGM5) 및 late cornified envelope 1K (LCE1K) 등 13개 유전자였다. 각질세포는 분화과정을 통해 각질화 외피(cornified envelope)를 형성하여 피부표면을 덮어서 외부 환경으로부터 다른 물질이 들어오는 것을 차단하여 피부를 보호하는 작용을 한다(77). 각질세포는 분화가 일어나면 최종적으로 핵이 없어지고, 케라틴 단백질이 서로 엉겨 붙고, 세포막이 불용성 단백질로 대체되고 이들이 지질과 가교를 형성함으로써 각질화 외피를 형성하여 외부 환경으로부터 피부 내부를 완전히 격리시키는 차단막 역할을 한다(78). 각질

화 외피(cornified envelope) 형성과정에서 세포막 단백질과 세포질의 단백질 사이에 가교 형성이 필수적이며 이 때 표피 글루타민전이효소(epidermal transglutaminases)가 작용한다(78,79). 각질화 외피 구조형성(cornified envelope structural assembly)에 관여하는 구조 단백질은 involucrin, envoplakin 및 periplakin 등이 있고 표피 글루타민 전이효소(epidermal transglutaminases)가 작용하여 가교 형성이 이루어지고, 그 후 loricrin, elafin, S100 및 small proline-rich region proteins (SPRRs) 등이 각질화 외피 형성에 관여한다(80). SPRR은 세포질 단백질로 표피 글루타민전이효소에 의해서 세포막 단백질과 가교를 형성하여 불용성 각질화 외피 형성에 참여함으로써 각질세포 분화 및 각질화에 관여한다(81). LCE 유전자(gene cluster)는 염색체의 epidermal differentiation complexes (1q21 in human, 3F2.1 in mouse and 2q34 in rat)에 존재하며 작은 유전자 여러 개가 모여 있으며(80), 다른 각질화 외피형성 단백질과 마찬가지로 glycine-serine-cysteine-rich motif를 가지고 있으며, N-terminal과 C-terminal은 표피 글루타민전이효소의 다른 기질과 같다(82). 사람에서 LCE cluster는 17개 유전자로 구성되어 있고 이들은 특성에 따라 group 1, group 2 및 group 3로 나눈다. Group 1과 group 2는 주로 external epithelia를 형성하는 피부 각질세포에서 발현되고 group 3는 internal stratum corneum-forming epithelia를 형성하는 혀와 같은 장기에서 발현이 많이 일어난다(83). 설치류는 20-22개 정도의 LCE 유전자를 가지고 있으며 group 1과 group 3로 되어 있다(84). 본 실험에서 아토피성 피부염군에서 H&E 염색 피부조직 사진에서 피부 각질층이 대부분 소실되었는데, 이는 피부의 각질화 외피 형성에 관여하는 단백질 LCE3A, ILCE3B, LCE3C, LCE1J, LCE1G, LCE1F, LCE1K mRNA 와 SPRR2H, SPRR2F, SPRR2K, SPRR2D, SPRR1B mRNA 량이 감소되고, 글루타민전이효소 GM5가 감소되어 피부의 각질화 외피 형성이 억제되어

나타난 결과로 추측된다. 아토피성 피부염군에서 변화된 LCE와 SPRR 유전자 발현의 감소는 카테킨 전처치군과 카테킨 후처치군에서 모두 회복되었는데 카테킨 전처치군과 카테킨 후처치군의 피부조직 LCE3A, ILCE3B, LCE3C, LCE1J, LCE1G, LCE1F, LCE1K mRNA 와 SPRR2H, SPRR2F, SPRR2K, SPRR2D, SPRR1B mRNA 양이 아토피성 피부염군 보다 증가되고, 글루타민 전이효소 GM5 가 증가되어 아토피성 피부염군보다 카테킨 전처치군과 카테킨 후처치군에서 피부의 각질화 외피 형성이 더 잘 될 것으로 추측되며, H&E 염색 피부조직 사진에서 피부 각질층이 나타나서 피부염이 회복됨을 보여주고 있다. Endopeptidase는 단백질의 펩티드 결합을 말단이 아닌 중간에서 끊는 효소로서 trypsin, chymotrypsin, elastase, thermolysin, pepsin, glutamyl endopeptidase 및 neprilysin 등이 여기에 해당된다. 아토피성 피부염군과 대조군의 엔도펩티다제 활성음성조절(negative regulation of endopeptidase activity) 관련 유전자 발현을 비교하여 아토피성 피부염군의 피부조직에서 유전자 발현량이 1/20이하로 감소된($p < 0.05$) 유전자는 serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade A (alpha-1 antiproteinase, antitrypsin), member 9 (SERPINA9), fetuin beta (FETUB), secretory leukocyte peptidase inhibitor (SLPI), serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade B (ovalbumin), member 12 (SERPINB12), serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade B (ovalbumin), member 3A (SERPINB3A), stefin A1 (STFA1), stefin A2 (STFA2) 및 serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade B (ovalbumin), member 3B (SERPINB3B) 등 13개 유전자였다. SERPIN 유전자는 serine proteinase inhibitors로부터 유래된 이름으로 사람에서는 36개, 생쥐에서는 60개의 유전자가 알려져 있다(85). SERPIN은 대부분 세포외액에 존재하며 serine proteases 활성을 억제하는 작용을 하며 일부는 caspase나 cathepsin과 같은

cysteine proteases 활성을 억제한다. SERPINA는 안티트립신 유사 세포외액 단백질(antitrypsin-like, extracellular proteins) 종류이며 SERPINA9는 nave B cell의 유지(maintenance)에 관여하는 것으로 알려져 있다(86). SERPINB12는 세포내에 존재하는 trypsin-like serine proteinase inhibitor로서 여러 조직에 분포되어 있으며(87), SERPINB3는 papain-like cysteine proteases, cathepsins K, L 및 S 억제제로서 작용하는 것으로 알려져 있다(88). Fetubin은 cysteine protease inhibitors로서 골형성과 재흡수(osteogenesis and bone resorption), 인슐린 수용체 조절, 간 성장인자 수용체 조절 및 염증반응에 관여하는 것으로 알려져 있다(89). SLPI 양하전을 띤 펩티드(peptide)로서 leukocyte elastase, cathepsin G, trypsin, elastase (neutrophil) 및 chymase (mast cell) 활성을 억제하며, serine proteases 에 의한 표피층의 공격을 방어하는 역할을 한다(90). Stfa 는 세포내에서 papain-like cysteine proteases 억제제로 작용하며 단백질 회전(protein turnover)에서 작용하며, Stfa1 과 Stfa2는 papain, cathepsins L 과 S 의 강력한 억제제이다(91). 아토피성 피부염군에서 SERPINA9, FETUB, SLPI, SERPINB12, SERPINB3A, STFA1, STFA2 및 SERPINB3B 등 엔도펩티다제 활성 억제 유전자 발현이 감소되면 엔도펩티다제 활성이 증가되기 때문에 피부의 단백질 손상이 증가되어 염증반응이 유도되거나 악화가 일어날 것으로 생각된다. 아토피성 피부염군에서 변화된 엔도펩티다제 활성 억제 유전자 발현의 감소는 카테킨 전처치군과 카테킨 후처치군에서 모두 회복되었는데 카테킨 전처치군과 카테킨 후처치군의 피부조직 SERPINA9, FETUB, SLPI, SERPINB12, SERPINB3A, STFA1, STFA2 및 SERPINB3B mRNA 량이 아토피성 피부염군 보다 증가되어 있어서 아토피성 피부염군보다 카테킨 전처치군과 카테킨 후처치군에서 피부의 엔도펩티다제 활성이 낮아서 피부 단백질 손상이 더 감소될 것으로 추측된다. 아토피성 피부염군과 대조군의 염증반응(inflammatory response)관련 유전자 발현을 비교하여 아토피성 피부염군의

피부조직에서 유전자 발현량이 1/2 이하로 감소된($p < 0.05$) 유전자는 interleukin 1 family, member 9 (IL-1F9)이고 유전자 발현량이 2배 이상 증가된($p < 0.05$) 유전자는 interleukin 23, alpha subunit p19 (IL-23A), S100 calcium binding protein A8 (S100A8), interleukin 17F (IL-17F), interleukin 19 (IL-19), PYD and CARD domain containing (PYCARD), interleukin 1 beta (IL-1B), interleukin 24 (IL-24) 및 interleukin 1 family, member 6 (IL-1F6)이었다. IL-1F9는 Interleukin-36 gamma로도 알려져 있으며 Interferon-gamma, tumor necrosis factor-alpha 및 IL-1 β 에 의해서 각질세포에서 생산이 증가되는 cytokine이다(92). 아토피성 피부염군에서 IL-1F9 유전자 발현이 증가되는 것으로 나타났는데 이는 각질세포가 증식되어 있고 IL-1B 가 증가되어 나타난 결과로 생각되며, 카테킨 전처치군과 카테킨 후처치군에서 모두 아토피성 피부염군에 비하여 감소되어서 IL-1B 감소는 피부염증 증상회복과 관련이 있는 것으로 추측된다. IL-23A은 수지상 세포(dendritic cells)나 대식세포(macrophages)에서 생산되는 염증반응에 관여하는 cytokine이다(93). S100A8는 세포질이나 핵에 존재하는 칼슘결합 단백질로서 세포주기(cell cycle)나 세포분화(cell differentiation)에 관여하며 염증반응에도 관여하는 것으로 알려져 있다(94). IL-17F는 helper T cell에서 생산되어 염증반응을 유발시키는 사이토카인(pro-inflammatory cytokine)이다(95). IL-19는 단핵구(monocyte)에서 생산되어 signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3)를 활성화시키고 IL-6 나 TNF- α 생산을 증가시키며 세포사멸(apoptosis)를 유도하여 염증반응에 관여하는 사이토카인이다(96). PYCARD는 단핵구(monocytes)나 대식세포(macrophages)의 핵에서 발견되는 단백질로 N-terminal PYRIN-PAAD-DAPIN domain (PYD)과 C-terminal caspase-recruitment domain (CARD)으로 되어 있으며 염증반응과 caspases 활성화에 의한 apoptotic signaling pathway에 관여하는 단백질이다(97). IL-1B는 활성화대식구(activated macrophage)에서

생산되어 염증반응과 세포증식, 분화 및 세포사멸(apoptosis)에 관여하는 매우 중요한 사이토카인이다(98). IL-24는 활성화된 단핵구, 대식세포 및 Th2 cell에서 분비되어 피부, 폐 및 생식기관에 작용하여 세포의 생존과 증식을 촉진하고 손상 부위 회복(wound healing)에 관여 하는 것으로 알려져 있다(99). 아토피성 피부염군에서 IL-23A, S100A8, IL-17F, IL-19, PYCARD, IL-1B, IL-24 및 IL-1F6 등 염증반응 유발 유전자 발현이 증가되어서 피부조직의 염증반응이 증가될 것으로 생각된다. 아토피성 피부염군에서 변화된 염증반응 유발 유전자 발현의 증가는 카테킨 전처치군과 카테킨 후처치군에서 아토피성 피부염군 보다 감소되어 있어서 피부의 염증반응도 회복될 것으로 생각되는데 조직학적소견과 피부증상에서 일치하는 소견을 보이고 있다.

이상의 실험 결과 아토피성 피부염은 삶의 질이 저하될 정도의 심한 가려움증을 유발하는 것으로 알려져 있는데, 카테킨 경구 투여로 피부 긁는 횟수가 감소되었고, 피부를 촬영하여 관찰한 결과 피부 발진, 구진, 습진 및 가피 형성 등의 피부염 증상이 카테킨 경구 투여로 현저히 감소되어 카테킨이 아토피성 피부염 증상을 개선시킬 수 있음을 보여 주고 있다. 피부조직소견도 아토피성 피부염군은 표피층의 세포가 증식되어 두께가 증가되었고, 진피층과 표피층의 경계가 거의 구분되지 않았으며 각질층이 거의 보이지 않았으나, 카테킨 경구투여로 표피 세포층의 두께가 감소되고 진피층과 표피층의 경계가 나타나고 각질층이 보여서 피부염에 의한 표피세포 증식이 개선되고 각질층이 회복됨을 보여주고 있어서 피부 증상의 개선과 일치되는 소견을 나타내고 있다. 피부조직 전사체 분석결과 아토피성 피부염군에서 피부의 각질화 외피 형성에 관여하는 단백질 LCE3A, ILCE3B, LCE3C, LCE1J, LCE1G, LCE1F, LCE1K mRNA 와 SPRR2H, SPRR2F, SPRR2K, SPRR2D, SPRR1B mRNA 량이 감소되고, 글루타민전이효소 GM5 mRNA 량이 감소되어 피부의 각질화 외피 형성이 억제될 것으로 생각되었는데, H&E 염색 피부조직 사진에서 피부 각질층

이 대부분 소실되어 있어서 조직소견과 전사체 분석결과가 일치된 견해를 보여 주었다. 아토피성 피부염군에서 변화된 LCE 와 SPRR 유전자 발현의 감소는 카테킨 투여로 회복되었는데 피부조직 소견에서도 피부 각질층이 나타나서 각질화 외피 형성이 회복됨을 보여주었다. 아토피성 피부염군에서 피부조직 SERPINA9, FETUB, SLPI, SERPINB12, SERPINB3A, STFA1, STFA2 및 SERPINB3B 등 엔도펩티다제 활성 억제 유전자 발현이 감소되어 엔도펩티다제에 의한 단백질 손상으로 염증반응이 유도되거나 악화가 일어나며, 카테킨 투여로 피부조직 엔도펩티다제 활성 억제 유전자 발현이 아토피성 피부염군보다 증가되어 엔도펩티다제 활성을 억제하여 피부 단백질 손상이 더 감소되고 염증이 개선될 것으로 생각되는데, H&E 염색 피부조직 사진에서 피부 각질세포층이 더 얇아지는 등 세포증식이 완화를 나타나는 등 염증작용이 완화되는 소견을 보이고 있어서 조직소견과 전사체 분석결과가 일치된 견해를 보여 주었다. 아토피성 피부염군에서 IL-23A, S100A8, IL-17F, IL-19, PYCARD, IL-1B, IL-24 및 IL-1F6 등 염증반응 유발 관련 유전자 발현이 증가되었고, 카테킨 투여로 아토피성 피부염군보다 염증반응 유발 관련 유전자 발현이 감소되어 피부의 염증반응도 회복될 것으로 생각되는데 조직학적소견이나 피부증상과 일치하는 소견을 보이고 있다. 이상의 실험 결과로서 아토피성 피부염 발생 전에 카테킨을 투여하면 피부염 발생을 억제하는 예방효과가 있고, 아토피성 피부염 발생 후에 카테킨을 투여하면 피부염의 증상 완화시키는 치료효과가 있는 것으로 나타났는데, 피부 긁는 피부염증 증상 회복 등에서 카테킨 전처치군보다 카테킨 후처치군에서 개선효과가 더 크기 때문에 예방효과보다는 치료효과가 더 큰 것으로 생각된다. 카테킨 경구 투여에 의한 아토피성 피부염 증상완화 효과는 아토피성 피부염의 예방 및 치료제로 개발 가능성을 제시한다고 할 수 있다. 따라서 카테킨을 아토피성 피부염의 예방 및 치료제로 개발하기 위한 지속적인 연구가 진행되어야 할 것으로 생각된다.

V. 결 론

본 연구는 아토피성 피부염의 발생 예방과 증상개선에 미치는 카테킨의 응용 효과를 관찰하고자 Nc/Nga 생쥐에 비오스타 AD 연고를 도포하여 아토피성 피부염을 유발하고 녹차 카테킨을 응용시켜 아토피성 피부염 증상과 피부조직 소견 및 피부조직 전사체 조사를 실시하여 카테킨 응용이 아토피성 피부염 개선에 미치는 영향을 관찰하였다. 실험동물은 Nc/Nga 생쥐를 이용하였고 실험군은 대조군, 아토피성 피부염, 아토피성 피부염+카테킨 전처치군 및 아토피성 피부염+카테킨 후처치군 등 4군으로 나누었다. 아토피성 피부염은 Nc/Nga 생쥐의 등 쪽 털을 제모한 후 피부에 비오스타 AD 연고를 1주에 2회씩 실험 끝까지 도포하였다. 카테킨이 아토피성 피부염의 가려움증에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 대조군, 아토피성 피부염, 아토피성 피부염+카테킨 전처치군 및 아토피성 피부염+카테킨 후처치군으로 나누어 피부를 긁는 횟수를 비교한 결과 비오스타 AD 연고 도포 후, 1주일에는 대조군 64.67 ± 13.01 회/hr, 아토피성 피부염군 124.67 ± 17.46 회/hr, 아토피성 피부염+카테킨 전처치군 96.56 ± 18.92 회/hr 및 아토피성 피부염+카테킨 후처치군 145.20 ± 19.69 회/hr을 나타내서 대조군에 비하여 비오스타 AD 연고 도포군에서 모두 긁는 횟수가 증가되어 피부염증상이 악화된 것으로 생각된다. 아토피성 피부염+카테킨 전처치군의 피부 긁는 횟수는 4주 103.11 ± 33.72 회/hr, 8주 67.33 ± 26.10 회/hr로 아토피성 피부염군에 비하여 4주 43%, 8주 72%가 각각 감소되었고, 아토피성 피부염+카테킨 후처치군의 피부 긁는 횟수는 4주 103.87 ± 9.05 회/hr, 8주 22.27 ± 8.47 회/hr로 아토피성 피부염군에 비하여 4주 43%, 8주 91%가 각각 감소되어 4주에는 두 군의 감소율이 같았으나 8주에는 아토피성 피부염+카테킨 후처치군의 감소율이 더 높아서 카테킨 후처치군에서 가려움증 개선효과가 가장 큰 것으로 나타났다.

이상의 실험 결과 아토피성 피부염은 삶의 질이 저하될 정도의 심한 가려움증을 유발하는 것으로 알려져 있는데, 카테킨 경구 투여로 피부를 긁는 횟수가 감소되었고, 피부를 촬영하여 관찰한 결과 피부 발진, 구진, 습진 및 가피형성 등의 피부염 증상이 카테킨 경구 투여로 현저히 감소되어 카테킨이 아토피성 피부염 증상을 개선시킬 수 있음을 보여 주고 있다. 피부조직소견도 아토피성 피부염군은 표피층의 세포가 증식되어 두께가 증가되었고, 진피층과 표피층의 경계가 거의 구분되지 않았으며 각질층이 거의 보이지 않았으나, 카테킨 경구 투여로 표피 세포층의 두께가 감소되고 진피층과 표피층의 경계가 나타나고 각질층이 보여서 피부염에 의한 표피세포 증식이 개선되고 각질층이 회복됨을 보여주고 있어서 피부 증상의 개선과 일치되는 소견을 나타내고 있다. 피부조직 전사체 분석결과 아토피성 피부염군에서 피부의 각질화 외피 형성에 관여하는 단백질 LCE3A, ILCE3B, LCE3C, LCE1J, LCE1G, LCE1F, LCE1K mRNA 와 SPRR2H, SPRR2F, SPRR2K, SPRR2D, SPRR1B mRNA 량이 감소되고, 글루타민전이효소 GM5 mRNA 량이 감소되어 피부의 각질화 외피 형성이 억제될 것으로 생각되었는데, H&E 염색 피부조직 사진에서 피부 각질층이 대부분 소실되어 있어서 조직소견과 전사체 분석결과가 일치된 견해를 보여 주었다. 아토피성 피부염군에서 변화된 LCE 와 SPRR 유전자 발현의 감소는 카테킨투여로 회복되었는데 피부조직 소견에서도 피부 각질층이 나타나서 각질화 외피 형성이 회복됨을 보여주었다. 아토피성 피부염군에서 피부조직 SERPINA9, FETUB, SLP1, SERPINB12, SERPINB3A, STFA1, STFA2 및 SERPINB3B 등 엔도펩티다제 활성 억제 유전자 발현이 감소되어 엔도펩티다제에 의한 단백질 손상으로 염증반응이 유도되거나 악화가 일어나며, 카테킨 투여로 피부조직 엔도펩티다제 활성 억제 유전자 발현이 아토피성 피부염군 보다 증가되어 엔도펩티다제 활성을 억제하여 피부 단백질 손상이 더 감소되고 염증이 개선될 것으로 생각되는데, H&E 염색 피부조직 사진에서 피부 각질세포층이 더 얇아지는 등 세포증식이 완화를 나타내는 등 염증작용이 완화되는 소견을

보이고 있어서 조직소견과 전사체 분석결과가 일치된 견해를 보여 주었다. 아토피성 피부염군에서 IL-23A, S100A8, IL-17F, IL-19, PYCARD, IL-1B, IL-24 및 IL-1F6 등 염증반응 유발 관련 유전자 발현이 증가되었고, 카테킨 투여로 아토피성 피부염군 보다 염증반응 유발 관련 유전자 발현이 감소되어 피부의 염증반응도 회복될 것으로 생각되는데 조직학적 소견이나 피부증상과 일치하는 소견을 보이고 있다. 이상의 실험 결과로서 아토피성 피부염 발생 전에 카테킨을 투여하면 피부염 발생을 억제하는 예방효과가 있고, 아토피성 피부염 발생 후에 카테킨을 투여하면 피부염의 증상 완화시키는 치료효과가 있는 것으로 나타났는데, 피부를 긁는 피부염증 증상회복 등에서 카테킨 전 처치군보다 카테킨 후처리군에서 개선효과가 더 크기 때문에 예방효과보다는 치료효과가 더 큰 것으로 생각된다. 카테킨 경구 투여에 의한 아토피성 피부염 증상 완화 효과는 아토피성 피부염의 예방 및 치료제로 개발 가능성을 제시한다고 할 수 있다. 따라서 카테킨을 아토피성 피부염의 예방 및 치료제로 개발하기 위한 지속적인 연구가 진행되어야 할 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

1. Ahn C, Huang W. Clinical presentation of atopic dermatitis, *Adv Exp Med Biol.* 2017;1027:39-46.
2. Kramer ON, Strom MA, Ladizinski B, Lio PA. The history of atopic dermatitis, *Clin Dermatol.* 2017;35:344-348.
3. Fortson EA, Li B, Bhayana M. Introduction. *Adv Exp Med Biol.* 2017;1027:1-10.
4. Lee SC, Various diagnostic criteria for atopic dermatitis, *J Korean Med Assoc.* 2014;57:212-217.
5. Thomsen SF, Atopic dermatitis: natural history, diagnosis, and treatment. *ISRN allergy.* 2014;2014:1-7.
6. Wahab MA, Rahman MH, Khondker L, Hawlader AR, Ali A, Hafiz MA, Ansari NP. Minor criteria for atopic dermatitis in children, *Mymensingh Med J.* 2011;20:419-24.
7. Eichenfield LF, Tom WL, Chamlin SL, Feldman SR, Hanifin JM, Simpson EL, Berger TG, Bergman JN, Cohen DE, Cooper KD, Cordoro KM, Davis DM, Krol A, Margolis DJ, Paller AS, Schwarzenberger K, Silverman RA, Williams HC, Elmets CA, Block J, Harrod CG, Smith Begolka W, Sidbury R. Guidelines of care for the management of atopic dermatitis: section 1. Diagnosis and assessment of atopic dermatitis. *J Am Acad Dermatol.* 2014;70:338-51.
8. Aral M, Arican O, Gul M, Sasmaz S, Kocturk SA, Kastal U, Ekerbicer HC. The relationship between serum levels of total IgE, IL-18, IL-12 IFN-gamma and disease severity in children with atopic dermatitis. *Mediators Inflamm.* 2006;2006:1-4.

9. Okamura H, Tsutsi H, Komatsu T, Yutsudo M, Hakura A, Tanimoto T, Torigoe K, Okura T, Nukada Y, Hattori K, et al. Cloning of a new cytokine that induces IFN-gamma production by T cells. *Nature*. 1995;378:88-91.
10. Sánchez-Ramón S, Eguíluz-Gracia I, Rodríguez-Mazariego ME, Paravisini A, Zubeldia-Ortuño JM, Gil-Herrera J, Fernández-Cruz E, Suárez-Fernández R. Sequential combined therapy with omalizumab and rituximab: a new approach to severe atopic dermatitis. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2013;23:190-6.
11. Arkwright PD, Cookson BD, Haeney MR, Sanyal D, Potter MR, David TJ. Children with atopic dermatitis who carry toxin-positive *Staphylococcus aureus* strains have an expansion of blood CD5- B lymphocytes without an increase in disease severity. *Clin Exp Immunol*. 2001;125(2):184-9.
12. He R, Geha RS. Thymic stromal lymphopoietin, *Ann N Y Acad Sci*. 2010 ;1183:13-24.
13. Vakharia P, Silverberg JI, Monoclonal antibodies for atopic dermatitis: progress and potential. *BioDrugs*. 2017;31:409-422.
14. 권혜영, 은행잎 프라보놀 성분의 비만세포 및 DNCB로 유도된 아토피 AC/ga 생쥐모델에 대한 항아토피 효과, 대전대학교 대학원 박사학위논문 2013.
15. David Boothe W, Tarbox JA, Tarbox MB. Atopic dermatitis: Pathophysiology, *Adv Exp Med Biol*. 2017;1027:21-37.
16. Aleks J, Hendricks, Alexandra R. Vaughn, Ashley K. Clark, Gil Yosipovitch, Vivian Y. Shi, Sweat mechanisms and dysfunctions in atopic dermatitis, *J Dermatol Sci*. 2017;3279:1-7.

17. Tollefson MM, Bruckner AL. Atopic dermatitis: skin-directed management. *Pediatrics*. 2014;134:1735-44.
18. Cookson WO. The genetics of atopic dermatitis: strategies, candidate genes, and genome screens. *J Am Acad Dermatol*. 2001;45:7-9.
19. Irvine AD, McLean WH. Irwin, Leung DY. M. Filaggrin mutations associated with skin and allergic diseases. *N Engl J Med*. 2011;365:1315-1327.
20. Sandilands A, Sutherland C, Irvine AD, McLean WH. Filaggrin in the frontline: role in skin barrier function and disease. *J Cell Sci*. 2009;122:1285-1294.
21. Al-Shobaili HA, Ahmed AA, Alnomair N, Alobead ZA, Rasheed Z. Molecular Genetic of Atopic dermatitis: An Update. *Int J Health Sci(Qassim)*. 2016;10:96-120.
22. 박병무, 아토피 피부염에 영향을 미치는 환경적 요인에 관한 연구, 전주대학교 대학원 박사학위 2012.
23. 유정양, 금은화, 연교 및 황현해독탕 약침이 아토피 피부염 유발 NC/Nga 생쥐에 미치는 영향, 우석대학교 대학원 박사학위 2012.
24. Bielory L, Lyons K, Goldberg R. Climate change and allergic disease, *Curr Allergy Asthma Rep*. 2012;12:485-494.
25. Kim BJ, Lee SY, Kim HB, Lee E, Hong SJ. Environmental Changes, Microbiota, and Allergic Diseases. *Allergy Asthma Immunol Res*. 2014;6:389-400.
26. Vakharia PP, Silverberg JI, Monoclonal antibodies for atopic dermatitis: progress and potential. *BioDrugs*. 2017;31:409-422.

27. Galli SJ, Gordon JR, Wershil BK. Mast cell cytokines in allergy and inflammation. *Agents Actions Suppl.* 1993;43:209-20.
28. Kim HI, Hong SH, Ku JM, Kang S, Kim TY, Shin YC, Ko SG, Tonggyu-tang, a traditional Korean medicine, suppresses pro-inflammatory cytokine production through inhibition of MAPK and NF- κ B activation in human mast cells and keratinocytes. *BMC Complement Altern Med.* 2017;17:186-193
29. Wölfle U, Haarhaus B, Schempp CM. Amarogentin displays immunomodulatory effects in human mast cells and keratinocytes. *Mediators Inflamm.* 2015;2015:1-8.
30. 이상주, 아토피 피부염 환자에서 wet-wrap 드레싱이 표피 장벽에 미치는 영향, 연세대학교 대학원 박사학위 2005.
31. David Boothe W, Tarbox JA, Tarbox MB. Atopic dermatitis: pathophysiology. *Adv Exp Med Biol.* 2017;1027:21-37.
32. 김유진, 의료커뮤니케이션 양식변화와 의사와 환자의 관계: 아토피 피부염 사례를 중심으로, 고려대학교 석사학위 2014.
33. Bieber. T. Atopic Dermatitis. *Ann Dermatol*, 2010;22:125-137.
34. 국민건강통계(2013). 국민건강영양조사 제5기 4차년도. 보건복지부. 질병관리본부.
35. 승윤철, 아토피 피부염에 대한 淸肌解毒湯의 면역조절작용에 관한 연구, 대전대학교 대학원 박사학위 2014.
36. Yang CF, Yang CC, Wang IJ. Association between allergic diseases, allergic sensitization and attention-deficit/hyperactivity disorder in children: A large-scale, population-based study. *J Chin Med Assoc.* 2017;24:1-7.

37. 성준영, 이지호, 방수영, 최유성, 서호석. 학동기 아토피피부염 환자의 삶의 질 및 정신과적 증상. *대한피부과학회지* 2015;53:671-676.
38. Lee DH, Anti-oxidant and anti-atopic dermatitis effects of high hydrostatic pressure pretreated red ginseng (Panax ginseng). The Graduate School Yonsei University 2014.
39. Schmid GP, Ballmer WB, Atopic dermatitis-current insights into path physiology and management. *Ther Umsch.* 2010;67:175-185.
40. Wollenberg A, Kraft S, Opiel T, Bieber T. Atopic dermatitis: pathogenetic mechanisms. *Clin Exp Dermatol.* 2000;25:530-534.
41. Boguniewicz M, Leung DY, Atopic dermatitis: a disease of altered skin barrier and immune dysregulation, *Immunol rev.* 2011;242:233-246.
42. 안현진, 봉독과 그 주요성분인 멜리틴의 아토피 피부염 동물모델과 세포모델에서의 치료효과, 대구카톨릭대학교 대학원 박사학위 2016.
43. 조미희. 배은경, 하상도, 박지용, 천연항균제의 식품산업에의 응용, *식품과학과산업* 2005;38:6-45.
44. Dawid-Paó R, Medicinal plants used in treatment of inflammatory skin diseases. *Postep Derm Alergol.* 2013;30:170-177.
45. Kang H, Lee CH, Kim JR, Kwon JY, Son MJ, Kim JE, Lee KW. Theobroma cacao extract attenuates the development of Dermatophagoides farinae-induced atopic dermatitis-like symptoms in NC/Nga mice. *Food Chem.* 2017;216:19-26.
46. George DE, Shetty R, Shetty PJ, Gomes LA, An In vitro Study to Compare the Effect of Different Types of Tea with Chlorhexidine on Streptococcusmutans. *J Clin Diagn Res.* 2017;11:5-7.

47. 한규, 녹차씨 외피추출물 및 녹차잎추출물의 항산화 활성 비교, 공주대학교 대학원 석사학위 2017.
48. 차문석, 녹차추출물의 항균 및 항산화작용에 관한 연구, 경산대학교 대학원 석사학위 2000.
49. 임계화, 전세은, 최미나, 녹차의 에피갈로카테킨(EGCG) 활성기전이 신체 내외적으로 미치는 영향에 대한 고찰, *Kor. J. Aesthet. Cosmetol.*, 2015;13:701-711.
50. Zhang XB, Du XF. Effects of exogenous enzymatic treatment during processing on the sensory quality of summer tieguanyin oolong tea from the chinese anxi county. *Food Technol Biotechnol.* 2015;53:180-189.
51. Williamson G, The role of polyphenols in modern nutrition. *Nutr Bull.* 2017;42:226-235.
52. Bhardwaj P, Khanna D. Green tea catechins: defensive role in cardiovascular disorders. *Chin J Nat Med.* 2013;11:345-353.
53. Alasalvar C, Topal B, Serpen A, Bahar B, Pelvan E, Gökmen V. Flavor characteristics of seven grades of black tea produced in Turkey. *J Agric Food Chem.* 2012;60:6323-6332.
54. Johnson R1, Bryant S, Huntley AL. Green tea and green tea catechin extracts: an overview of the clinical evidence. *Maturitas.* 2012;73:280-287.
55. Singh BN, Shankar S, Srivastava RK. Green tea catechin, epigallocatechin-3-gallate (EGCG): mechanisms, perspectives and clinical applications. *Biochem Pharmacol.* 2011;82:1807-1821.

56. Fan FY, Shi M, Nie Y, Zhao Y, Ye JH, Liang YR, Differential behaviors of tea catechins under thermal processing: Formation of non-enzymatic oligomers. *Food Chem.* 2016;196:347-354.
57. Hirao K, Yumoto H, Nakanishi T, Mukai K, Takahashi K, Takegawa D, Matsuo T. Tea catechins reduce inflammatory reactions via mitogen-activated protein kinase pathways in toll-like receptor 2 ligand-stimulated dental pulp cells. *Life Sci.* 2010;86:654-660.
58. Zhi-Qing Hu, Wei-Hua Zhao, Nozomi Asano, Yoshiyuki Yoda, Yukihiro Hara and Tadakatsu Shimamura Epigallocatechin Gallate Synergistically Enhances the Activity of Carbapenems against Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus, *Antimicrob Agents Chemother.* 2002;46:558-560.
59. Yanagawa Y, Yamamoto Y, Hara Y, Shimamura T. A combination effect of epigallocatechin gallate, a major compound of green tea catechins, with antibiotics on Helicobacter pylori growth in vitro. *Curr Microbiol.* 2003;47:244-249.
60. Blanco AR, Sudano-Roccaro A, Spoto GC, Nostro A, Rusciano D. Epigallocatechin gallate inhibits biofilm formation by ocular staphylococcal isolates. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005;49:4339-4343.
61. Hepburn L, Hijnen DJ, Sellman BR, Mustelin T, Sleeman MA, May RD, Strickland I. The complex biology and contribution of Staphylococcus aureus in atopic dermatitis, current and future therapies. *Br J Dermatol.* 2017;177:63-71.
62. Darabi K, Hostetler SG, Bechtel MA, Zirwas M. The role of Malassezia in atopic dermatitis affecting the head and neck of adults. *J Am Acad Dermatol.* 2009;60:125-136.

63. Klein PA, Clark RA, Nicol NH. Acute infection with *Trichophyton rubrum* associated with flares of atopic dermatitis. *Cutis*. 1999; 63:171-172.
64. Hisano M, Yamaguchi K, Inoue Y, Ikeda Y, Iijima M, Adachi M, Shimamura T. Inhibitory effect of catechin against the superantigen staphylococcal enterotoxin B (SEB). *Arch Dermatol Res*. 2003;295:183-189.
65. Kim HK, Chang HK, Baek SY, Chung JO, Rha CS, Kim SY, Kim BJ Kim MN. Treatment of Atopic Dermatitis Associated with *Malassezia sympodialis* by Green Tea Extracts Bath Therapy: A Pilot Study, *Mycobiology*. 2012;40:124-128.
66. Arlian, LG. Water balance and humidity requirements of house dust mites. *Exp Appl Acarol*. 1992;16:15-35.
67. Platts-Mills, TAE and Chapman, MD. Dust mites: immunology, allergic disease, and environmental control. *J ALLERGY CLIN IMMUNOL*. 1987; 80:755-775.
68. Noh SU, Cho EA, Kim HO, Park YM. Epigallocatechin-3-gallate improves *Dermatophagoides pteronissinus* extract-induced atopic dermatitis-like skin lesions in NC/Nga mice by suppressing macrophage migration inhibitory factor. *Int Immunopharmacol*. 2008;8:1172-1182.
69. Huang DW, Sherman BT, Lempicki RA. Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources. *Nature Protocols*. 2008;4:44-57.
70. Suto H, Matsuda H, Mitsuishi K, Hira K, Uchida T, Unno T, Ogawa H, Ra C. NC/Nga mice: a mouse model for atopic dermatitis. *Int Arch Allergy Immunol*. 1999;120 1:70-75.

71. Hong J, Buddenkotte J, Berger TG, Steinhoff M. Management of Itch in Atopic Dermatitis. *Semin Cutan Med Surg.* 2011;30:71-86.
72. Noh SU, Cho EA, Kim HO, Park YM. Epigallocatechin-3-gallate improves Dermatophagoides pteronissinus extract-induced atopic dermatitis-like skin lesions in NC/Nga mice by suppressing macrophage migration inhibitory factor. *International Immunopharmacology* 2008;8:1172-1182.
73. Kim HK, Chang HK, Baek SY, Chung JO, Rha CS, Kim SY, Kim BJ and Kim MN. Treatment of Atopic Dermatitis Associated with *Malassezia sympodialis* by Green Tea Extracts Bath Therapy: A Pilot Study, *Mycobiology* 2012;40:124-128.
74. Carmi-Levy I, Homey B, Soumelis V. A modular view of cytokine networks in atopic dermatitis. *Clin Rev Allergy Immunol* 2011;41:245-253.
75. Maurer, M., Opitz, M., Henz, B.M., and Paus, R. The mast cell products histamine and serotonin stimulate and TNF-alpha inhibits the proliferation of murine epidermal keratinocytes in situ. *J Dermatol Sci.* 1997;16:79-84.
76. Braunstein S, Kaplan G, Gottlieb AB, Schwartz M, Walsh G, Abalos RM. GM-CSF activates regenerative epidermal growth and stimulates keratinocyte proliferation in human skin in vivo. *J Invest Dermatol.* 1994;103:601-604.
77. Djalilian AR, McGaughey D, Patel S, et al. Connexin 26 regulates epidermal barrier and wound remodeling and stimulates a psoriaform response. *J Clin Invest* 2006;116:1243-1253.
78. Nemes Z, Steinert P M. *Exp Mol Med.* 1999;31:5-19.

79. Tesfaigzi J, Carlson D M. *Cell Biochem Biophys*. 1999;30:243-265.
80. Hoh D. Formation of the cornified envelope. *Exp Dermatol* 2005;14:777-780.
81. Jackson B, Tilli CL, Hardman M, Avilion A, Macleod M, Ashcroft G. Late cornified envelope family in differentiating epithelia - response to calcium and ultraviolet irradiation. *J Invest Dermatol* 2005;124:1062-1070.
82. Steinert PM, Parry DA, Marekov LN. Trichohyalin mechanically strengthens the hair follicle: multiple cross-bridging roles in the inner root sheath. *J Biol Chem* 2003;278:41409-41419.
83. Brown SJ, Tilli CM, Jackson B, Avilion AA, MacLeod MC, Maltais LJ, Lovering RC, Byrne C. Rodent Lce Gene Clusters: New Nomenclature, Gene Organization, and Divergence of Human and Rodent Genes, *J Invest Dermatol* 2007;127:1782-1786.
84. Mammalian Genome : Official Journal of the International Mammalian Genome Society Mouse Sprr locus: a tandem array of coordinately regulated genes. 2003;14:140-148.
85. Heit C, Jackson BC, McAndrews M, Wright MW, Thompson DC, Silverman GA, Nebert DW, Vasiliou V. Update of the human and mouse SERPIN gene superfamily. *Hum Genomics*. 2013;7:22-35.
86. Frazer JK, Jackson DG, Gaillard JP, Lutter M, Liu YJ, Banchereau J, Capra JD, Pascual V. Identification of centerin: a novel human germinal center B cell-restricted serpin. *Eur J Immunol* 2000;30:3039-3048.

87. Askew YS, Pak SC, Luke CJ, Askew DJ, Cataltepe S, Mills DR, Kato H, Lehoczky J, Dewar K, Birren B, Silverman GA. SERPINB12 is a novel member of the human ov-serpin family that is widely expressed and inhibits trypsin-like serine proteinases. *J Biol Chem* 2001;276:49320-49330.
88. Turato C, Pontisso P. SERPINB3 (serpin peptidase inhibitor, clade B (ovalbumin), member 3). *Atlas Genet Cytogenet Oncol Haematol*. 2015;19:202-209.
89. Denecke B, Gräber S, Schäfer C, Heiss A, Wöltje M, Jahnke-Dechent W. Tissue distribution and activity testing suggest a similar but not identical function of fetuin-B and fetuin-A. *Biochem J*. 2003;376:135-145.
90. Ashcroft GS, Lei K, Jin W, Longenecker G, Kulkarni AB, Greenwell-Wild T, Hale-Donze H, McGrady G, Song XY, Wahl SM. Secretory leukocyte protease inhibitor mediates non-redundant functions necessary for normal wound healing. *Nat Med*. 2000;6:1147-1153.
91. Mihelic M, Teuscher C, Turk V, Turk D. Mouse stefins A1 and A2 (Stfa1 and Stfa2) differentiate between papain-like endo- and exopeptidases. *FEBS Lett*. 2006;580:4195-4199.
92. Garlanda C, Dinarello CA, Mantovani A. The interleukin-1 family: back to the future. *Immunity*. 2013;39:1003-1018.

93. Parham C, Chirica M, Timans J, Vaisberg E, Travis M, Cheung J, Pflanz S, Zhang R, Singh KP, Vega F, To W, Wagner J, O'Farrell AM, McClanahan T, Zurawski S, Hannum C, Gorman D, Rennick DM, Kastelein RA, de Waal Malefyt R, Moore KW. A receptor for the heterodimeric cytokine IL-23 is composed of IL-12Rbeta1 and a novel cytokine receptor subunit, IL-23R. *Journal of Immunology*. 2002;168:5699-5708.
94. Roth J, Vogl T, Sorg C, Sunderkötter C. Phagocyte-specific S100 proteins: a novel group of proinflammatory molecules. *Trends Immunol*. 2004;24:155-158.
95. Kolls JK, Lindén A. Interleukin-17 family members and inflammation. *Immunity*. 2004;21:467-476.
96. Chang C, Magracheva E, Kozlov S, Fong S, Tobin G, Kotenko S, Wlodawer A, Zdanov A. Crystal structure of interleukin-19 defines a new subfamily of helical cytokines. *J Biol Chem*. 2003;278:3308-3313.
97. Srinivasula SM, Poyet JL, Razmara M, Datta P, Zhang Z, Alnemri ES. The PYRIN-CARD protein ASC is an activating adaptor for caspase-1. *J Biol Chem*. 2002;277:21119-21122.
98. Smirnova MG, Kiselev SL, Gnuchev NV, Birchall JP, Pearson JP. Role of the pro-inflammatory cytokines tumor necrosis factor-alpha, interleukin-1 beta, interleukin-6 and interleukin-8 in the pathogenesis of the otitis media with effusion. *Eur Cytokine Netw*. 2003;13:161-172.
99. Wang M, Liang P. "Interleukin-24 and its receptors". *Immunology*. 2005;114:166-170.

Table 1. Experimental design.

Experimental groups	Treatment	
	AD cream (200mg/mouse)	Drinking water
Control ¹⁾	No	Tap water
AD ²⁾	2/week for 8 weeks	Tap water
AD+PreC ³⁾	2/week for 8 weeks	0.2% catechin for 9 weeks
AD+PostC ⁴⁾	2/week for 8 weeks	0.2% catechin for 7 weeks

Control¹⁾: tap water feeding, AD²⁾: atopic dermatitis, AD+PreC³⁾: catechin pretreatment; 0.2% catechin feeding from 1 week before AD cream application, AD+PostC⁴⁾: catechin posttreatment 0.2% catechin feeding from 1 week after AD cream application.

Table 2. Differential expressed genes(DEGs) analysis from the skin of NC/Nga mice.

Sample		Number of DEGs with the significance level of								
Control	Case	P value ≤ 0.05			Q value ≤ 0.05			Q value ≤ 0.01		
		All	Up	Down	All	Up	Down	All	Up	Down
AD	CT	1238	631	607	169	43	126	103	24	79
AD	AD+PreC	686	458	228	70	52	18	42	32	10
AD	AD+PostC	682	206	476	99	8	91	75	6	69

Up: up regulated DEGs, Down: down regulated DEGs.

CT: control, AD: atopic dermatitis, PreC: catechin pretreatment, PostC: catechin posttreatment.

Table 3. Gene set analysis from the skin differential expressed genes selected by $\log_2(\text{FC}) \geq 1$ & $P\text{-value} \leq 0.05$ in the comparison unit of control mice vs atopic dermatitic mice.

Functional categories	Transcripts	Fold Enrich	P value
Keratinocyte differentiation	LCE3A, LCE3B, LCE3C, SPRR2H, SPRR2F, SPRR2K, LCE1J, LCE1G, LCE1F, SPRR2D, SPRR1B, TGM5, LCE1M, LCE1K	22.9	2.80E-14
Negative regulation of endopeptidase activity	SERPINA9, FETUB, SLPI, SERPINB12, SERPINB3A, STFA1, STFA2, SERPINB3B	21.8	6.68E-08
Negative regulation of peptidase activity	WFDC12, SERPINA9, CSTA1, FETUB, SLPI, SERPINB12, WFDC18, SERPINB3A, STFA2, SERPINB3B	10.3	5.05E-07
Keratinization	KRT6B, SPRR2D, SPRR1B, SPRR2H, SPRR2F, SPRR2K	23.0	5.36E-06
Inflammatory response	IL1F9, IL23A, S100A8, CHIL1, IL17F, IL19, PYCARD, IL1B, IL24, IL1F6	4.1	6.54E-04

LCE3A : late cornified envelope 3A, LCE3B : late cornified envelope 3B, LCE3C : late cornified envelope 3C, SPRR2H : small proline-rich protein 2H, SPRR2F : small proline-rich protein 2F, SPRR2K : small proline-rich protein 2K, LCE1J : late cornified envelope 1J, LCE1G : late cornified envelope 1G, LCE1F : late cornified envelope 1F , SPRR2D : small proline-rich protein 2D, SPRR1B : small proline-rich protein 1B, TGM5 : transglutaminase 5, LCE1M : late cornified envelope 1M , LCE1K : late cornified envelope 1K. SERPINA9 : serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade A (alpha-1 antiproteinase, antitrypsin), member 9, FETUB : fetuin beta, SLPI : secretory leukocyte peptidase inhibitor, SERPINB12 : serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade B (ovalbumin), member 12, SERPINB3A : serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade B (ovalbumin), member 3A, STFA1 : stefin A1, STFA2 : stefin A2, SERPINB3B : serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade B (ovalbumin), member 3B. WFDC12 : WAP four-disulfide core domain 12, CSTA1 : cystatin A1, WFDC18 : WAP four-disulfide core domain 18, KRT6B : keratin 6B, IL1F9 : interleukin 1 family, member 9, IL23A : interleukin 23, alpha subunit p19, S100A8 : S100 calcium binding protein A8, CHIL1 : chitinase-like 1, IL17F : interleukin 17F, IL19 : interleukin 19, PYCARD : PYD and CARD domain containing, IL1B : interleukin 1 beta, IL24 : interleukin 24, IL1F6 : interleukin 1 family, member 6.

Table 4. Gene set analysis from the skin differential expressed genes selected by $\log_2(\text{FC}) \geq 1$ & $P\text{-value} \leq 0.05$ in the comparison unit of atopic dermatitic mice vs catechin-pretreated atopic dermatitic mice.

Functional categories	Transcripts	Fold Enrich	P value
keratinocyte differentiation	LCE3A, LCE3B, LCE3D, SPRR2B, SPRR2F, LCE3F, SPRR2E, SPRR2K, SPRR2I	38.7	2.18E-08
keratinization	SPRR2B, SPRR2F, SPRR2E, SPRR2K, SPRR2I	43.2	4.79E-06
epidermis development	SPRR2B, SPRR2F, SPRR2E, SPRR2K, SPRR2I	26.6	3.42E-05

LCE3A : late cornified envelope 3A, LCE3B : late cornified envelope 3B, SPRR2B : small proline-rich protein 2B, SPRR2F : small proline-rich protein 2F, SPRR2E : small proline-rich protein 2E, SPRR2K : small proline-rich protein 2K, SPRR2I : small proline-rich protein 2I.

Table 5. Gene set analysis from the skin differential expressed genes selected by $\log_2(\text{FC}) \geq 1$ & $P\text{-value} \leq 0.05$ in the comparison unit of atopic dermatitic mice vs catechin-posttreated atopic dermatitic mice.

Functional categories	Transcripts	Fold Enrich	P value
muscle contraction	MYBPC2, MYH1, MYBPC1, MYL1, RYR1, MYH4, ACTN2, ACTN3, MYOM1, TTN	49.4	3.05E-13
keratinocyte differentiation	LCE3A, LCE3B, LCE3D, SPRR2B, SPRR2F, LCE3F, SPRR2E, SPRR2K, SPRR2I	24.3	2.91E-09
regulation of muscle contraction	TNNT3, ATP2A1, RYR1, ATP1A2, CASQ1, TNNI2	57.8	4.66E-08
sarcomere organization	TCAP, NEB, LDB3, ACTN2, TTN, CASQ1	41.9	2.64E-07
keratinization	SPRR2B, SPRR2F, SPRR2E, SPRR2K, SPRR2I	31.6	1.70E-05

MYBPC2 : myosin binding protein C, fast-type, MYH1 : myosin, heavy polypeptide 1, skeletal muscle, adult, MYBPC1 : myosin binding protein C, slow-type, MYL1 : myosin, light polypeptide 1, RYR1 : ryanodine receptor 1, skeletal muscle, MYH4 : myosin, heavy polypeptide 4, skeletal muscle, ACTN2 : actinin alpha 2, ACTN3 : actinin alpha 3, MYOM1 : myomesin 1, TTN : titin, LCE3A : late cornified envelope 3A, LCE3B : late cornified envelope 3B, LCE3D : late cornified envelope 3D, SPRR2B : small proline-rich protein 2B, SPRR2F : small proline-rich protein 2F, LCE3F : late cornified envelope 3F, SPRR2E : small proline-rich protein 2E, SPRR2K : small proline-rich protein 2K, SPRR2I : small proline-rich protein 2I, TNNT3 : troponin T3, skeletal, fast, ATP2A1 : ATPase, Ca⁺⁺ transporting, cardiac muscle, fast twitch 1, skeletal muscle, ATP1A2 : ATPase, Na⁺/K⁺ transporting, alpha 2 polypeptide, CASQ1 : calsequestrin 1, TNNI2 : troponin I, skeletal, fast 2, TCAP : titin-cap, NEB : nebulin, LDB3 : LIM domain binding 3.

Table 6. Select skin transcripts in control mice versus atopic dermatitic mice related to keratinocyte differentiation.

Transcripts	CT RPKM mean	AD RPKM mean	AD/CT Fold change	p-value	q-value
Lce3a	294.4	6.2	-5.5	0.0001	0.009
Lce3b	788.7	4.6	-7.4	0.0001	0.009
Lce3c	1006.6	26.4	-5.2	0.0001	0.009
Sprr2h	1239.6	191.4	-2.6	0.0001	0.009
Sprr2f	412.2	6.6	-5.9	0.0001	0.009
Sprr2k	111.6	0.0	-inf	0.0001	0.009
Lce1j	144.5	33.9	-2.0	0.0002	0.013
Lce1g	524.2	51.0	-3.3	0.0001	0.009
Lce1f	673.4	122.6	-2.4	0.0001	0.009
Sprr2d	2744.9	9.6	-8.1	0.0001	0.009
Sprr1b	1616.5	105.0	-3.9	0.0001	0.009
Tgm5	28.0	6.2	-2.1	0.0002	0.033
Lce1m	83.1	611.1	2.8	0.0001	0.009
Lce1k	169.9	43.3	-1.9	0.0004	0.047

CT : control, AD : atopic dermatitis, RPKM : read per kilobase of transcript per million mapped reads, LCE3A : late cornified envelope 3A, LCE3B : late cornified envelope 3B, LCE3C : late cornified envelope 3C, SPRR2H : small proline-rich protein 2H, SPRR2F : small proline-rich protein 2F, SPRR2K: small proline-rich protein 2K, LCE1J : late cornified envelope 1J, LCE1G : late cornified envelope 1G, LCE1F : late cornified envelope 1F, SPRR2D : small proline-rich protein 2D, SPRR1B : small proline-rich protein 1B, TGM5 : transglutaminase 5, LCE1M : late cornified envelope 1M, LCE1K : late cornified envelope 1K.

Table 7. Select skin transcripts in atopic dermatitic mice versus catechin-pretreated atopic dermatitic mice related to keratinocyte differentiation.

Transcripts	AD RPKM mean	PreC+AD RPKM mean	PreC+AD/AD Fold change	p-value	q-value
Lce3a	6.2	72.9	3.5	0.0003	0.043
Lce3b	4.6	141.0	4.9	0.0004	0.004
Lce3c	26.4	388.3	3.8	0.0005	0.009
Sprr2h	191.4	470.8	1.2	0.9999	0.999
Sprr2f	6.6	58.0	3.1	0.0051	0.019
Sprr2k	0.0	12.5	inf	0.0005	0.009
Lce1j	33.9	225.6	2.7	0.0251	0.533
Lce1g	51.0	565.4	3.4	0.0554	0.290
Lce1f	122.6	943.0	2.9	0.0517	0.009
Sprr2d	9.6	618.7	6.0	0.0005	0.009
Sprr1b	105.0	1206.5	3.5	0.0589	0.004
Tgm5	6.2	27.9	2.1	0.9999	0.999
Lce1m	611.1	218.1	-1.4	0.9997	0.999
Lce1k	43.3	231.9	2.4	0.0041	0.014

AD : atopic dermatitis, PreC : Catechin pretreatment, RPKM : read per kilobase of transcript per million mapped reads, LCE3A : late cornified envelope 3A, LCE3B : late cornified envelope 3B, LCE3C : late cornified envelope 3C, SPRR2H : small proline-rich protein 2H, SPRR2F : small proline-rich protein 2F, SPRR2K: small proline-rich protein 2K, LCE1J : late cornified envelope 1J, LCE1G : late cornified envelope 1G, LCE1F : late cornified envelope 1F , SPRR2D : small proline-rich protein 2D, SPRR1B : small proline-rich protein 1B, TGM5 : transglutaminase 5, LCE1M : late cornified envelope 1M , LCE1K : late cornified envelope 1K.

Table 8. Select skin transcripts in atopic dermatitic mice versus catechin-posttreated atopic dermatitic mice related to keratinocyte differentiation.

Transcripts	AD RPKM mean	PostC+AD RPKM mean	PostC+AD/AD Fold change	p-value	q-value
Lce3a	6.2	57.9	3.2	0.0003	0.043
Lce3b	4.6	114.8	4.6	0.0001	0.017
Lce3c	26.4	315.3	3.5	0.0001	0.009
Sprr2h	191.4	473.9	1.3	0.2512	0.009
Sprr2f	6.6	51.6	2.9	0.0001	0.009
Sprr2k	0.0	6.1	inf	0.0001	0.009
Lce1j	33.9	260.6	2.9	0.0002	0.033
Lce1g	51.0	680.8	3.7	0.0001	0.009
Lce1f	122.6	927.6	2.9	0.0002	0.009
Sprr2d	9.6	564.0	5.8	0.0001	0.009
Sprr1b	105.0	1181.6	3.4	0.0001	0.009
Tgm5	6.2	28.6	2.2	0.0002	0.033
Lce1m	611.1	231.4	-1.4	0.9999	0.999
Lce1k	43.3	262.6	2.6	0.0014	0.036

AD : atopic dermatitis, PostC : Catechin posttreatment, RPKM : read per kilobase of transcript per million mapped reads, LCE3A : late cornified envelope 3A, LCE3B : late cornified envelope 3B, LCE3C : late cornified envelope 3C, SPRR2H : small proline-rich protein 2H, SPRR2F : small proline-rich protein 2F, SPRR2K: small proline-rich protein 2K, LCE1J : late cornified envelope 1J, LCE1G : late cornified envelope 1G, LCE1F : late cornified envelope 1F , SPRR2D : small proline-rich protein 2D, SPRR1B : small proline-rich protein 1B, TGM5 : transglutaminase 5, LCE1M : late cornified envelope 1M , LCE1K : late cornified envelope 1K.

Table 9. Select skin transcripts in control mice versus atopic dermatitic mice related to negative regulation of endopeptidase activity.

Transcripts	CT RPKM mean	AD RPKM mean	AD/CT Fold change	p-value	q-value
Serpina9	22.2	1.8	-3.5	0.0021	0.029
Fetub	109.7	3.8	-4.8	0.0001	0.009
Slpi	360.2	5.3	-6.0	0.0001	0.009
Serpinb12	361.5	27.4	-3.7	0.0001	0.009
Serpinb3a	312.0	1.0	-8.1	0.0003	0.009
Stfa1	4337.9	104.9	-5.3	0.0001	0.009
Stfa2	781.9	49.4	-3.9	0.0001	0.009
Serpinb3b	38.2	3.2	-3.5	0.0001	0.009

CT : control, AD : atopic dermatitis, RPKM : read per kilobase of transcript per million mapped reads, SERPINA9 : serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade A (alpha-1 antiproteinase, antitrypsin), member 9, FETUB : fetuin beta, SLPI : secretory leukocyte peptidase inhibitor, SERPINB12 : serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade B (ovalbumin), member 12, SERPINB3A : serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade B (ovalbumin), member 3A, STFA1 : stefin A1, STFA2 : stefin A2 , SERPINB3B : serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade B (ovalbumin), member 3B.

Table 10. Select skin transcripts in atopic dermatitic mice versus catechin-pretreated atopic dermatitic mice related to negative regulation of endopeptidase activity.

Transcripts	AD RPKM mean	PreC+AD RPKM mean	PreC+AD/AD Fold change	p-value	q-value
Serpina9	1.8	13.0	2.8	0.0004	0.039
Fetub	3.8	49.8	3.7	0.0001	0.009
Slpi	5.3	103.7	4.2	0.0001	0.009
Serpinb12	27.4	262.5	3.2	0.0001	0.009
Serpinb3a	1.0	98.7	6.6	0.0003	0.038
Stfa1	104.9	1280.7	3.6	0.0001	0.009
Stfa2	49.4	484.1	3.2	0.0001	0.009
Serpinb3b	3.2	16.5	2.3	0.0572	0.259

AD : atopic dermatitis, PreC : Catechin pretreatment, RPKM : read per kilobase of transcript per million mapped reads, SERPINA9 : serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade A (alpha-1 antiproteinase, antitrypsin), member 9, FETUB : fetuin beta, SLPI : secretory leukocyte peptidase inhibitor, SERPINB12 : serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade B (ovalbumin), member 12, SERPINB3A : serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade B (ovalbumin), member 3A, STFA1 : stefin A1, STFA2 : stefin A2 , SERPINB3B : serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade B (ovalbumin), member 3B.

Table 11. Select skin transcripts in atopic dermatitic mice versus catechin-posttreated atopic dermatitic mice related to negative regulation of endopeptidase activity.

Transcripts	AD RPKM mean	PostC+AD RPKM mean	PostC+AD/AD Fold change	p-value	q-value
Serpina9	1.8	9.8	2.4	0.0004	0.047
Fetub	3.8	88.7	4.5	0.0001	0.009
Slpi	5.3	66.0	3.6	0.0001	0.009
Serpinb12	27.4	304.8	3.4	0.0001	0.009
Serpinb3a	1.0	97.3	6.6	0.0001	0.038
Stfa1	104.9	921.2	3.1	0.0001	0.009
Stfa2	49.4	379.2	2.9	0.0001	0.009
Serpinb3b	3.2	16.7	2.3	0.0745	0.009

AD : atopic dermatitis, PostC : Catechin posttreatment, RPKM : read per kilobase of transcript per million mapped reads, SERPINA9 : serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade A (alpha-1 antiproteinase, antitrypsin), member 9, FETUB : fetuin beta, SLPI : secretory leukocyte peptidase inhibitor, SERPINB12 : serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade B (ovalbumin), member 12, SERPINB3A : serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade B (ovalbumin), member 3A, STFA1 : stefin A1, STFA2 : stefin A2 , SERPINB3B : serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade B (ovalbumin), member 3B.

Table 12. Select skin transcripts in control mice versus atopic dermatitic mice related to negative regulation of peptidase activity.

Transcripts	CT RPKM mean	AD RPKM mean	AD/CT Fold change	p-value	q-value
Wfdc12	231.6	18.7	-3.6	0.0001	0.009
Serpina9	22.2	1.8	-3.5	0.0004	0.047
Csta1	376.8	56.2	-2.7	0.0001	0.016
Fetub	109.7	3.8	-4.8	0.0001	0.009
Slpi	360.2	5.3	-6.0	0.0001	0.009
Serpinb12	361.5	27.4	-3.7	0.0001	0.009
Wfdc18	141.4	20.9	-2.7	0.0002	0.033
Serpinb3a	312.0	1.0	-8.1	0.0003	0.038
Stfa2	781.9	49.4	-3.9	0.0001	0.009
Serpinb3b	38.2	3.2	-3.5	0.0001	0.009

CT : control, AD : atopic dermatitis, RPKM : read per kilobase of transcript per million mapped reads, WFDC12 : WAP four-disulfide core domain 12, SERPINA9 : serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade A (alpha-1 antiproteinase, antitrypsin), member 9, CSTA1 : cystatin A1, FETUB : fetuin beta, SLPI : secretory leukocyte peptidase inhibitor, SERPINB12 : serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade B (ovalbumin), member 12, WFDC18 : WAP four-disulfide core domain 18, SERPINB3A : serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade B (ovalbumin), member 3A, STFA2 : stefin A2, SERPINB3B : serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade B (ovalbumin), member 3B.

Table 13. Select skin transcripts in atopic dermatitic mice versus catechin-pretreated atopic dermatitic mice related to negative regulation of peptidase activity.

Transcripts	AD RPKM mean	PreC+AD RPKM mean	PreC+AD/AD Fold change	p-value	q-value
Wfdc12	18.7	204.3	3.4	0.0001	0.009
Serpina9	1.8	13.0	2.8	0.0004	0.034
Csta1	56.2	143.5	1.3	0.9999	0.999
Fetub	3.8	49.8	3.7	0.0001	0.009
Slpi	5.3	103.7	4.2	0.0001	0.009
Serpinb12	27.4	262.5	3.2	0.0001	0.009
Wfdc18	20.9	57.3	1.4	0.9999	0.99
Serpinb3a	1.0	98.7	6.6	0.0003	0.038
Stfa2	49.4	484.1	3.2	0.0001	0.009
Serpinb3b	3.2	16.5	2.3	0.0572	0.259

AD : atopic dermatitis, PreC : Catechin pretreatment, RPKM : read per kilobase of transcript per million mapped reads, WFDC12 : WAP four-disulfide core domain 12, SERPINA9 : serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade A (alpha-1 antiproteinase, antitrypsin), member 9, CSTA1 : cystatin A1, FETUB : fetuin beta, SLPI : secretory leukocyte peptidase inhibitor, SERPINB12 : serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade B (ovalbumin), member 12, WFDC18 : WAP four-disulfide core domain 18, SERPINB3A : serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade B (ovalbumin), member 3A, STFA2 : stefin A2, SERPINB3B : serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade B (ovalbumin), member 3B.

Table 14. Select skin transcripts in atopic dermatitic mice versus catechin-posttreated atopic dermatitic mice related to negative regulation of peptidase activity.

Transcripts	AD RPKM mean	PostC+AD RPKM mean	PostC+AD/AD Fold change	p-value	q-value
Wfdc12	18.7	401.4	4.4	0.0001	0.009
Serpina9	1.8	9.8	2.4	0.0057	0.147
Csta1	56.2	120.0	1.0	0.9999	0.999
Fetub	3.8	88.7	4.5	0.0001	0.009
Slpi	5.3	66.0	3.6	0.0001	0.009
Serpinb12	27.4	304.8	3.4	0.0001	0.009
Wfdc18	20.9	52.9	1.3	0.9999	0.999
Serpinb3a	1.0	97.3	6.6	0.0001	0.038
Stfa2	49.4	379.2	2.9	0.0054	0.009
Serpinb3b	3.2	16.7	2.3	0.0745	0.009

AD : atopic dermatitis, PostC : Catechin posttreatment, RPKM : read per kilobase of transcript per million mapped reads, WFDC12 : WAP four-disulfide core domain 12, SERPINA9 : serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade A (alpha-1 antiproteinase, antitrypsin), member 9, CSTA1 : cystatin A1, FETUB : fetuin beta, SLPI : secretory leukocyte peptidase inhibitor, SERPINB12 : serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade B (ovalbumin), member 12, WFDC18 : WAP four-disulfide core domain 18, SERPINB3A : serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade B (ovalbumin), member 3A, STFA2 : stefin A2, SERPINB3B : serine (or cysteine) peptidase inhibitor, clade B (ovalbumin), member 3B.

Table 15. Select skin transcripts in control mice versus atopic dermatitic mice related to keratinization.

Transcripts	CT RPKM mean	AT RPKM mean	AT/CT Fold change	p-value	q-value
Krt6b	3801.3	80.4	-5.5	0.0003	0.038
Sprr2d	2744.9	9.6	-8.1	0.0001	0.009
Sprr1b	1616.5	105.0	-3.9	0.0001	0.009
Sprr2h	1239.6	191.4	-2.6	0.0001	0.009
Sprr2f	412.2	6.6	-5.9	0.0001	0.009
Sprr2k	111.6	0.0	-inf	0.0001	0.009

CT : control, AD : atopic dermatitis, RPKM : read per kilobase of transcript per million mapped reads, KRT6B : keratin 6B, SPRR2D : small proline-rich protein 2D, SPRR1B : small proline-rich protein 2B, SPRR2H : small proline-rich protein 2, SPRR2F : small proline-rich protein 2F, SPRR2K : small proline-rich protein 2K.

Table 16. Select skin transcripts in atopic dermatitic mice versus catechin-pretreated atopic dermatitic mice related to keratinization.

Transcripts	AD RPKM mean	PreC+AD RPKM mean	PreC+AD/AD Fold change	p-value	q-value
Krt6b	80.4	2032.4	4.6	0.0001	0.009
Sprr2d	9.6	618.7	6.0	0.0001	0.009
Sprr1b	105.0	1206.5	3.5	0.0001	0.009
Sprr2h	191.4	470.8	1.2	0.9992	0.999
Sprr2f	6.6	58.0	3.1	0.0001	0.009
Sprr2k	0.0	12.5	inf	0.0001	0.009

AD : atopic dermatitis, RPKM : read per kilobase of transcript per million mapped reads, KRT6B : keratin 6B, SPRR2D : small proline-rich protein 2D, SPRR1B : small proline-rich protein 2B, SPRR2H : small proline-rich protein 2, SPRR2F : small proline-rich protein 2F, SPRR2K : small proline-rich protein 2K.

Table 17. Select skin transcripts in atopic dermatitic mice versus catechin-posttreated atopic dermatitic mice related to keratinization.

Transcripts	AD RPKM mean	PostC+AD RPKM mean	PostC+AD/AD Fold change	p-value	q-value
Krt6b	80.4	1250.7	3.9	0.0001	0.023
Sprr2d	9.6	564.0	5.8	0.0001	0.009
Sprr1b	105.0	1181.6	3.4	0.0001	0.009
Sprr2h	191.4	473.9	1.3	0.9995	0.999
Sprr2f	6.6	51.6	2.9	0.0145	0.047
Sprr2k	0.0	6.1	inf	0.0001	0.009

AD : atopic dermatitis, RPKM : read per kilobase of transcript per million mapped reads, KRT6B : keratin 6B, SPRR2D : small proline-rich protein 2D, SPRR1B : small proline-rich protein 2B, SPRR2H : small proline-rich protein 2, SPRR2F : small proline-rich protein 2F, SPRR2K : small proline-rich protein 2K.

Table 18. Select skin transcripts in control mice versus atopic dermatitic mice related to inflammatory response.

Transcripts	CT RPKM mean	AD RPKM mean	AD/CT Fold change	p-value	q-value
Il1f9	113.5	19.0	-2.5	0.0025	0.009
Il23a	0	1.5	Inf	0.0001	0.022
S100a8	201.3	16241.0	6.3	0.0001	0.009
Il17f	0	1.6	Inf	0.0214	0.022
Pycard	28.4	99.1	1.8	0.9975	0.999
Il1b	17.3	121.0	2.8	0.1745	0.999
Il24	0.0	4.7	Inf	0.0001	0.259
Il1f6	12.6	320.6	4.6	0.0001	0.009

AD : atopic dermatitis, RPKM : read per kilobase of transcript per million mapped reads, IL1F9 : interleukin 1 family, member 9, IL23A : interleukin 23, alpha subunit p19, S100A8 : S100 calcium binding protein A8, IL17F : interleukin 17F, IL19 : interleukin 19, PYCARD : PYD and CARD domain containing, IL1B : interleukin 1 beta, IL24 : interleukin 24, IL1F6 : interleukin 1 family, member 6.

Table 19. Select skin transcripts in atopic dermatitic mice versus catechin-pretreated atopic dermatitic mice related to inflammatory response.

Transcripts	AD RPKM mean	PreC+AD RPKM mean	PreC+AD/AD Fold change	p-value	q-value
Il1f9	19.0	93.8	2.3	0.0257	0.154
Il23a	1.5	0.3	-2.3	0.1614	0.742
S100a8	16241.0	1818.5	-3.1	0.0054	0.019
Il17f	1.6	0.5	-1.6	0.2145	0.942
Pycard	99.1	74.0	-0.4	0.9995	0.999
Il1b	121.0	71.6	-0.7	0.9999	0.999
Il24	4.7	5.7	0.2	0.9999	0.999
Il1f6	320.6	239.1	-0.4	0.9999	0.999

AD : atopic dermatitis, RPKM : read per kilobase of transcript per million mapped reads, IL1F9 : interleukin 1 family, member 9, IL23A : interleukin 23, alpha subunit p19, S100A8 : S100 calcium binding protein A8, IL17F : interleukin 17F, IL19 : interleukin 19, PYCARD : PYD and CARD domain containing, IL1B : interleukin 1 beta, IL24 : interleukin 24, IL1F6 : interleukin 1 family, member 6.

Table 20. Select skin transcripts in atopic dermatitic mice versus catechin-posttreated atopic dermatitic mice related to inflammatory response.

Transcripts	AD RPKM mean	PostC+AD RPKM mean	PostC+AD/AD Fold change	p-value	q-value
Il1f9	19.0	98.6	2.3	0.0051	0.069
Il23a	1.5	0.0	-Inf	0.0535	0.472
S100a8	16241.0	202.1	-6.3	0.0001	0.009
Il17f	1.6	0.1	-4	0.0001	0.012
Pycard	99.1	73.8	-0.4	0.6335	0.999
Il1b	121.0	29.7	-2.0	0.0125	0.239
Il24	4.7	0.3	-3.9	0.0051	0.072
Il1f6	320.6	290.5	-0.1	0.977	0.999

AD : atopic dermatitis, RPKM : read per kilobase of transcript per million mapped reads, IL1F9 : interleukin 1 family, member 9, IL23A : interleukin 23, alpha subunit p19, S100A8 : S100 calcium binding protein A8, IL17F : interleukin 17F, IL19 : interleukin 19, PYCARD : PYD and CARD domain containing, IL1B : interleukin 1 beta, IL24 : interleukin 24, IL1F6 : interleukin 1 family, member 6.

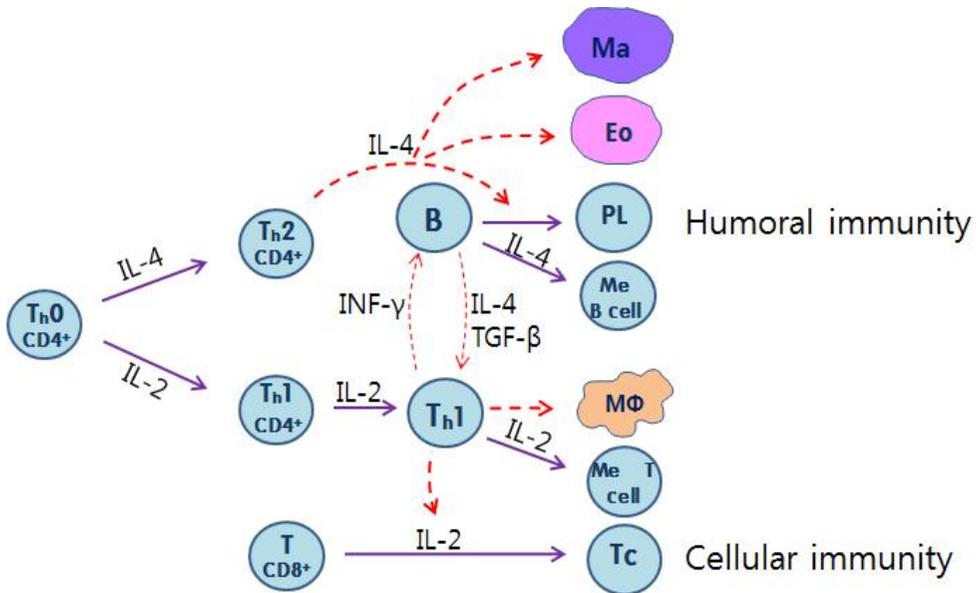


Fig. 1. Th1/Th2 model for helper T cells. IFN- γ , interferon γ ; TGF- β , transforming growth factor β ; IL-2, interleukin 2; IL-4, interleukin 4; Ma, mast cell; Eo, eosinophil PL, plasma cell; Me, memory cell; m ϕ , macrophage; Tc, cytotoxic T cell.

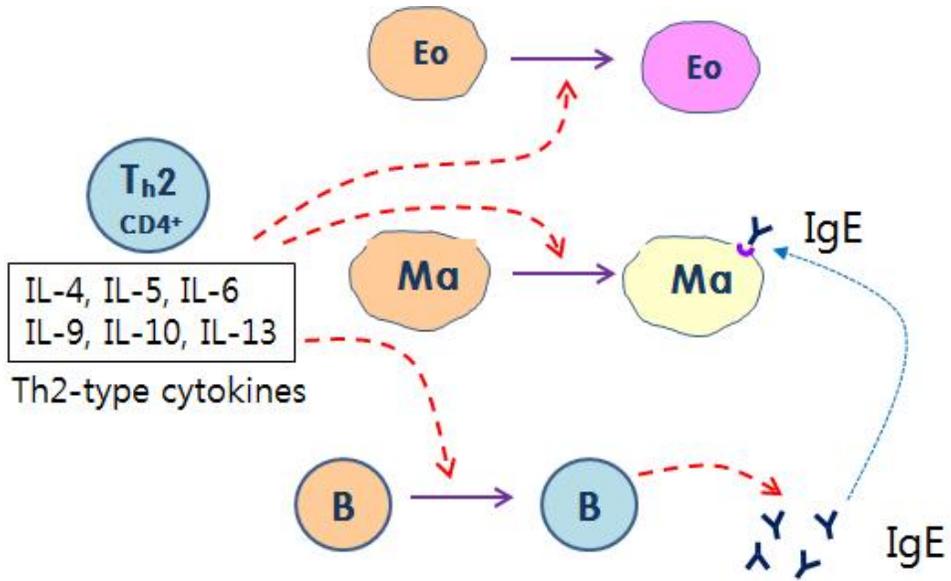


Fig.2. Allergic immune response. T_H2 cells produce cytokines IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10 and IL-13, which are named T_H2 -type cytokines. B cells switch to produce IgE and bind to specific $Fc\epsilon$ receptors on mast cells. Ma, mast cell; Eo, eosinophil.

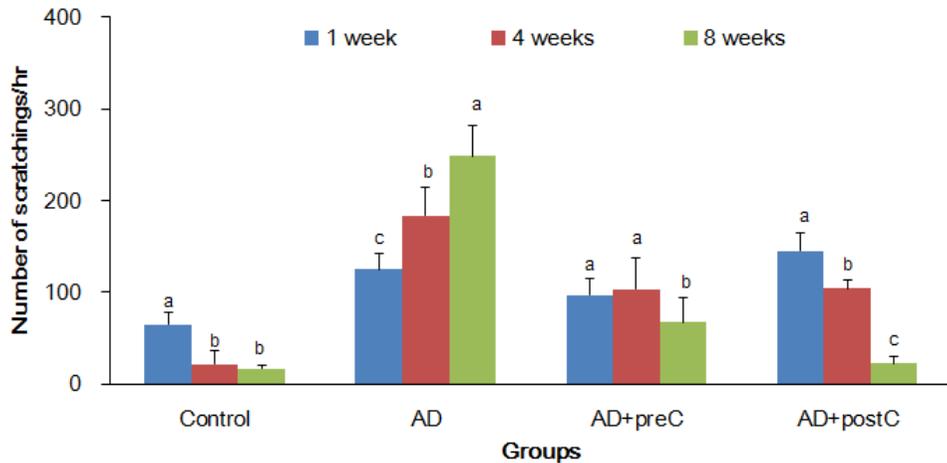


Fig. 3. Effects of catechin on the frequency of scratching behaviors in the NC/Nga mice. The frequencies of scratching behaviors were evaluated at 1, 4 and 8 weeks after the start of mite administration. Values are mean±SD (n=5). Values with different letters(a-c) above the bars within the same group is significantly different at the level of $p < 0.05$ by Duncan's multiple range.

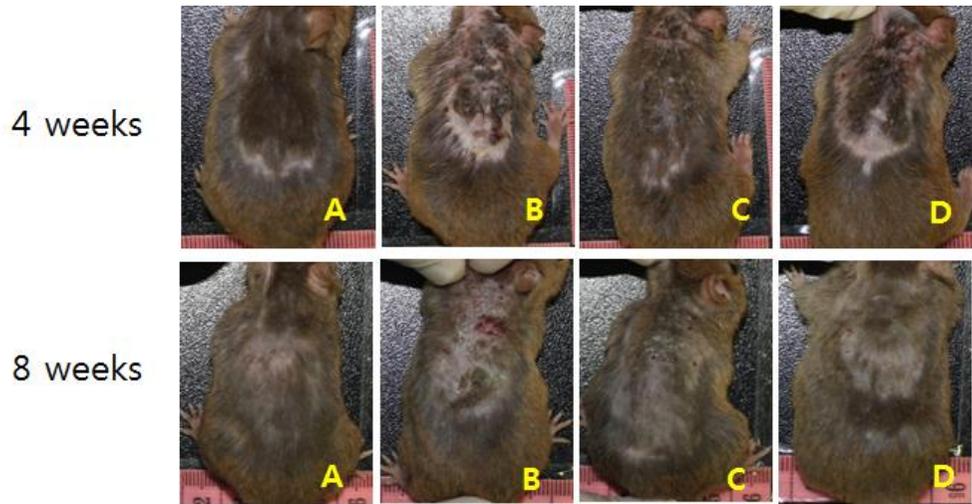


Fig. 4. Clinical skin features of the dorsal skin in the control mice and in the NC/Nga mice given oral administration of catechin. A : control, B : AD, C : AD+PreC, D: AD+PostC.

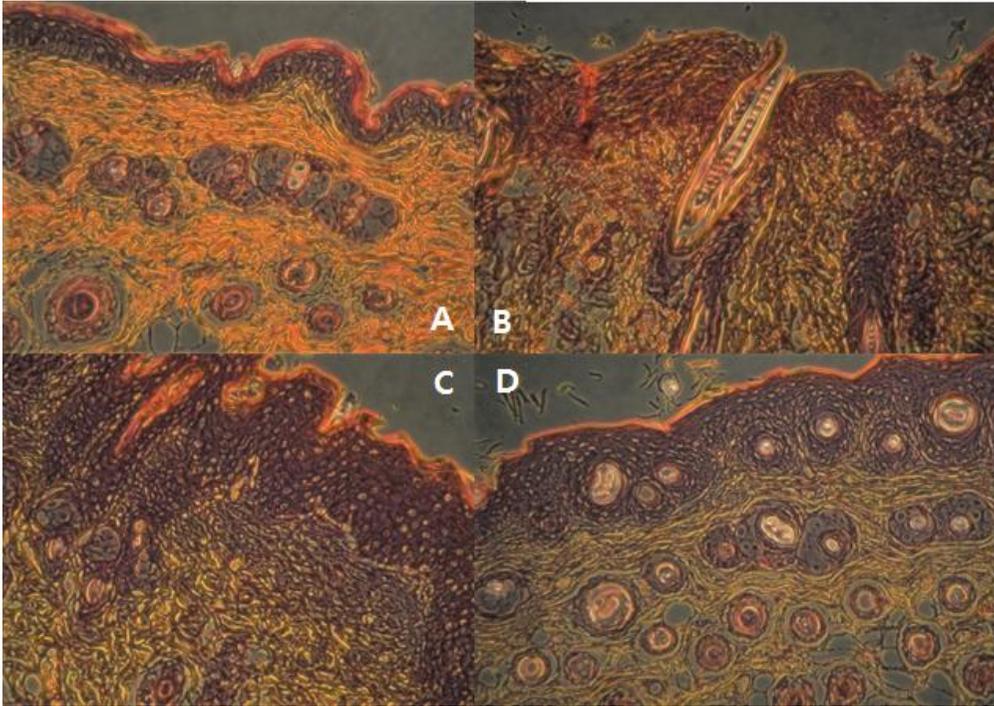


Fig. 5 Histological features of the dorsal skin in the control mice and in the NC/Nga mice at 8 weeks after the start of mite extract administration. Skin sections were stained with H&E and examined at 200× magnification. A : control, B : AD, C : AD+PreC, D: AD+PostC

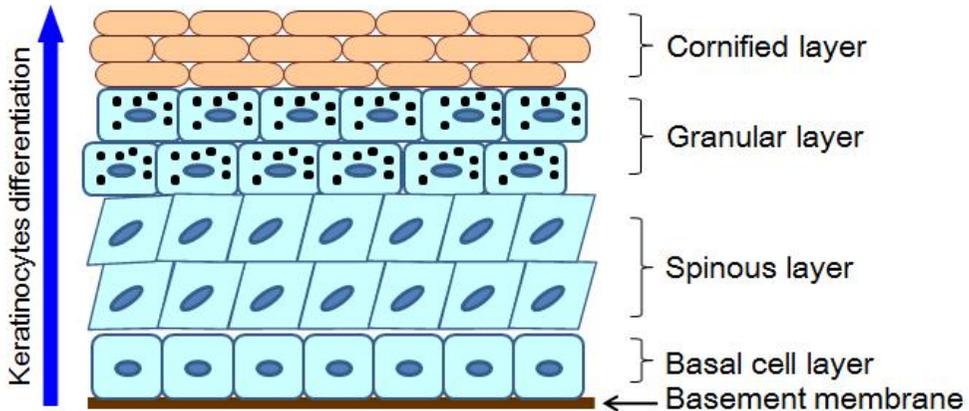


Fig 6. Keratinocytes differentiation. The epidermis is the outermost layer of the skin and is separated from the underlying dermis by the basement membrane. Keratinocytes, which compose the epidermis, proliferate within the basal cell layer. As differentiation proceeds, keratinocytes progress upwards through the different epidermal layers (the spinous layer, granular layer and cornified layer), becoming anucleated and increasingly compacted in size, before being eventually lost from the skin surface by desquamation. The black dots in the cells of the granular layer represent keratohyalin granules.