

## BALB/c 마우스를 이용한 몰로키아의 항아토피 피부염 효능 평가

이기만<sup>1</sup> · 박진홍<sup>1</sup> · 김지훈<sup>1</sup> · 김병학<sup>2</sup> · 이희환<sup>2</sup> · 김창열<sup>3</sup> · 김희연<sup>3</sup> · 손다희<sup>3</sup> · 정연수<sup>4\*</sup>

<sup>1</sup>록야(주) 그린바이오연구소, <sup>2</sup>(주)메디언스 기업부설연구소,  
<sup>3</sup>대구가톨릭대학교 의료보건산업대학원 화학물질독성평가학과,  
<sup>4</sup>경북대학교 의료보건학부 반려동물보건과

## The Anti-atopic Dermatitis Effects of *Corchorus olitorius* in BALB/c Mice

Kimman Lee<sup>1</sup>, Jin Hong Park<sup>1</sup>, Jihun Kim<sup>1</sup>, Byung Hak Kim<sup>2</sup>, Hee Hwan Lee<sup>2</sup>, Chang Yul Kim<sup>3</sup>,  
Hee Eon Kim<sup>3</sup>, Da Hee Son<sup>3</sup>, Yeonsoo Chung<sup>4\*</sup>

<sup>1</sup>R&D Center, Rokya Co., Ltd., Chuncheon, Korea

<sup>2</sup>R&D Center, Medience Co., Ltd., Chuncheon, Korea

<sup>3</sup>Department of Toxicity Assessment Graduate of Medical and Health Industry, Daegu Catholic University, Gyeongsan, Korea

<sup>4</sup>Department of Veterinary Nursing, College of Health Sciences, Kyungbuk University, Namyangju, Korea

(Received August 29, 2024/Revised October 8, 2024/Accepted October 22, 2024)

**ABSTRACT** - We investigated the anti-atopic dermatitis (AD) effects of *Corchorus olitorius* (*C. olitorius*) *in vivo*. AD is a chronic inflammatory allergic disease that is partly driven by type 2 inflammation. To examine the anti-AD activity of *C. olitorius*, we measured clinical skin severity and levels of disease-related immunoglobulin E (IgE) and cytokines (IL-4, IFN- $\gamma$ , and TNF- $\alpha$ ) in BALB/c mice with human-like AD induced by 2,4-dinitrochlorobenzene. Body weights consistently increased in all groups treated with the test article, whereas the dexamethasone-treated positive control group showed a decrease in body weight over the 7-day dosing period, indicating that *C. olitorius* had no harmful effects on the mice. The group dosed with *C. olitorius* at 200 mg/kg/day showed the most significant skin curative effects. Additionally, all test article-treated groups exhibited reduced type 2 inflammation-related IgE and cytokine levels. These findings suggest *C. olitorius* extract may serve as a potential therapeutic agent for AD.

**Key words:** *Corchorus olitorius*, Anti-atopic dermatitis, Body weight changes, Type 2 inflammation related-immunoglobulin and cytokines, BALB/c mouse

아토피 피부염(atopic dermatitis, AD)은 알레르기 비염, 천식 등과 같은 알레르기성 만성 질환으로 다양한 면역학적 이상과 속발 증상을 보이는 염증성 피부 질환이다<sup>1)</sup>. 아토피 피부염은 건조증, 소양증, 홍반성 습진과 같은 증상을 특징으로 하며 영유아기에 흔히 발생하지만 일부 환자들의 경우 높은 확률로 유병기간이 11년 이상으로 장기간으로 진행될 수 있다고 보고 되었으며 우리나라의 성인에서도 증가하고 있는 추세이다<sup>2)</sup>. 아토피 피부염은 치료 비

용에 대한 부담 뿐만 아니라 정신적으로 상당한 스트레스를 야기함으로써 삶의 질을 급격하게 떨어뜨리는 대표적인 질환이다<sup>3)</sup>.

일반적으로 아토피 피부염은 발병 원인에 따라 외인성과 내인성으로 나눌 수 있는데 대다수의 환자는 외인성 아토피 피부염에 해당하며, 외인성 아토피 피부염 환자의 대표적인 특징은 type 2 helper T (Th2) 세포 면역 반응과 관계된 혈중 immunoglobulin (IgE)의 수치가 눈에 띄게 증가한다는 것이다<sup>4)</sup>. 외부항원의 유입에 의하여 생성된 IgE는 비만세포의 Fc 수용체와 결합하여 비만세포와 호염구를 활성화시키며 즉각적인 피부 반응에 관여한다<sup>5,6)</sup>. 비만세포는 알레르기 항원의 재 노출 시 소양증과 홍반이 나타나는 것과 밀접한 관련이 있다<sup>6)</sup>. 반면에 내인성 아토피 피부염 환자는 type 1 helper T (Th1) 세포 면역 반응과 관계된 interferon gamma (IFN)- $\gamma$ 의 수치가 증가한다<sup>4)</sup>. 따

\*Correspondence to: Yeonsoo Chung, Department of Veterinary Nursing, Kyungbuk University, Namyangju 12051, Korea  
Tel: +82-31-539-5472  
E-mail: yeonsoo.chung@kbu.ac.kr

Copyright © The Korean Society of Food Hygiene and Safety. All rights reserved. The Journal of Food Hygiene and Safety is an Open-Access journal distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License(<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

라서, 본 연구에서는 대다수의 아토피 피부염 환자에서 보여지는 Th2 매개 염증 반응을 모사할 수 있는 2,4-dinitrochlorobenzene (DNCB)로 유도한 마우스 아토피 피부염 동물 모델을 활용하였다<sup>7)</sup>.

아토피 피부염은 소양감과 염증반응 뿐만 아니라 표피 과증식, 피부 건조화 등의 여러 증상을 포함하고 있으며 치료를 위하여 스테로이드와 같은 면역 억제제, 피부 보습제, 항히스타민제 등과 같은 치료제가 사용된다<sup>8)</sup>. 하지만, 스테로이드제의 경우 내성화, 난치성화, 면역 저하 등의 부작용이 나타나며 항히스타민제의 경우 일시적인 진정효과, 졸림, 집중력 장애 발생 등의 부작용이 발생한다고 보고되었다<sup>9)</sup>. 따라서, 이와 같은 부작용이 적은 새로운 치료 방법에 대한 필요성이 증가하고 있다.

몰로키아(*Corchorus olitorius*)는 열대지방이 원산지인 고온성 식물로써 Vitamin A, Vitamin C, 섬유질을 비롯하여 미네랄 등이 풍부하다<sup>10)</sup>. 특히, 몰로키아의 씨앗은 설사를 촉진시키는 하제로, 잎은 이노제와 만성 방광염을 치료하는데 널리 활용되고 있다<sup>11)</sup>. 이와 같은 특성을 바탕으로 몰로키아에 대한 보습, 항산화, 항균, 항곰팡이, 항염증 효과에 대한 선행 연구는 많이 이루어져 있다<sup>11-14)</sup>. 하지만, 아토피 피부염 동물모델을 활용하여 치료 효과를 확인한 연구는 현재까지 없는 것이 사실이다. 이에 본 연구에서는 풍부한 생리활성 물질을 포함한 몰로키아의 아토피 피부염에 대한 치료 효과를 동물모델을 통하여 확인하고자 하였다.

## Materials and Methods

### 실험동물

실험동물은 (주)코아텍으로부터 6주령의 수컷 BALB/c 마우스를 구입하여 1주일 순화 후, 사용하였다. 마우스는 대구가톨릭대학교 GLP센터 내 실험동물실에서 명암주기(12시간)의 조명의 환경과 상온(22±3°C), 상대습도(50±20%)의 조건에서 사육하였다. 깔집은 (주)코아텍에서 구입하여 사용하였고 주 1회 깔집 교체와 정기적으로 설치류 사료(tekla certified irradiated global 18% protein rodent diet, Envigo, Indianapolis, IN, USA)와 멸균수 등을 제공하였다. 실험군 설정 후 개체식별은 꼬리마킹법을 활용하였으며, 케이지에는 개체식별카드(시험군, 시험번호, 개체번호, 시험일, 성별 등)를 부착하였다. 모든 실험절차는 대구가톨릭대학교 동물실험윤리위원회의 승인을 받아 규정에 따라 진행하였다(승인번호 제 IACUC-2023-042호).

### 아토피 동물 모델 제작

1주일의 순화 기간 이후 제모기를 사용하여 마우스의 등에 면적이 가로 2 cm×세로 4 cm 크기가 되도록 제모하였다. 1% DNCB (Sigma-Aldrich, ST. Louis, MO, USA)를

용매물질(acetone:olive oil=4:1)에 녹여 제조한 후, 1% DNCB 100 µL를 일주일에 3일 간격으로 2회 등 부위에 도포하여 감작시켰다(sensitization). 다음 1주일 동안에는 0.2% DNCB 100 µL를 3일 간격으로 2회 등 부위에 도포하였다(challenge). 이때 정상대조군(아토피 피부염 비유도군) 마우스에는 제모 후, 동량의 용매물질만을 같은 방법으로 도포하였다. Acetone과 olive oil은 Sigma-Aldrich에서 구입하여 사용하였다.

### 몰로키아주정추출분말

몰로키아는 록야(株)의 스마트팜에서 생산하였으며, 설정된 생산공정도에 따라 수분함량 8% 이하의 건조된 잎을 세정 후 70% 주정(20배수)을 이용하여 70±5°C에서 6시간씩 2회 추출하였다. 추출액을 여과한 뒤 60±5°C에서 감압하고 말토덱스트린(Roquette Frères, Lestrem, France)과 혼합 후 분부건조하여 몰로키아주정추출분말로 제조하였다.

### 몰로키아 추출물 투여

아토피 피부염 유도 후, 그룹간에 평균 체중에 큰 차이가 없도록 정상대조군, 음성대조군, 양성대조군, 3가지 투여 용량(50, 100, 200 mg/kg/day)의 몰로키아주정추출분말 처치군으로 그룹을 분류하였다(n=8/group). 투여 부피가 10 mL/kg이 되도록 7일간 1일 1회씩 몰로키아주정추출분말을 부형제인 멸균중류수에 녹여 경구투여 하였다. 정상대조군, 음성대조군에는 멸균중류수를 경구투여하였으며, 양성대조군에는 dexamethasone (Sigma, ST. Louis, MO, USA) 10 mg/kg을 경구투여 하였다.

### 체중 측정

체중은 day 0(군 분리 후), day 1(투여 1일), day 3(투여 3일), day 8(부검일)로 총 4회 측정하였다.

### Skin Severity Scoring

시험물질 투여 후 1, 3, 7일이 되는 시점에 육안으로 피부를 관찰한 후, 점수를 측정하였다. 유병(morbidity), 탈모(fur loss), 기모(piloerection), 피부상처(wound), 피부염증(pruritis), 피부출혈(hemorrhage), 피부에 붉은 반점(erythema), 피부 갈라짐(crack), 표피가 허물 또는 비듬처럼 벗겨져 나오는 현상(scaling), 미란(erosion), 찰과상(excoriation), 건조(dryness)의 12가지 증상에 대해 평가하였으며 각각의 항목을 0-10점으로 채점 후 평균을 계산하여 점수를 산출하였다.

### 혈중 IgE 함량 측정

부검일(day 8)에 심장채혈을 통하여 혈액을 채취하였다. 혈액을 1,505 ×g, 30분, 4°C 조건으로 원심 분리한 후, 상층액을 분석 전까지 -20°C에 보관하였다. 이후, Sandwich

ELISA 방법으로 혈중 IgE 함량을 측정하였다. IgE의 함량을 측정하기 위해서 BD (Franklin Lakes, NJ, USA)의 purified rat anti-mouse IgE, purified mouse IgE  $\kappa$  isotype control, biotin rat anti-mouse IgE와 Sigma-Aldrich의 avidin-peroxidase를 활용하였다.

### 비장 T cell 활성화 및 cytokine 함량 측정

부검일(Day 8)에 비장을 적출하였다. 비장을 채취하여 균질화한 후 RPMI 배지로 2회 세척하였다. 원심분리(4°C, 377 ×g, 15분)후, 상층액을 제거하고 RBC lysis buffer에 3분간 반응시켰다. PBS를 첨가하여 pipetting 후 원심분리하고 pellet에 RPMI 배지를 넣어 suspension 하였다. 세포 수를 확인하고 immobilized anti-CD3 mAb (5  $\mu$ g/0.5×10<sup>6</sup> cells, purified NA/LE hamster anti-mouse CD3e, BD)와 human recombinant IL-2 (5U/0.5×10<sup>6</sup> cells, Roche, Switzerland)를

첨가한 후, 48시간 동안 배양하여 CD4+ T 림프구를 활성화하였다<sup>15)</sup>. 세포는 48시간 동안 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 조건으로 배양한 후 4°C, 9,408 ×g, 15분 조건으로 원심분리하였다. 상층액은 분석 전까지 -20°C에 보관하였다. 이후, Sandwich ELISA 방법으로 interleukin (IL)-4, IFN- $\gamma$  및 TNF- $\alpha$  함량을 측정하였다. IL-4, IFN- $\gamma$ , tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ) 함량 측정은 각각 BD의 OptEIA™ Mouse IL-4 ELISA Set, OptEIA™ Mouse IFN- $\gamma$  ELISA Set, OptEIA™ Mouse TNF ELISA Set을 활용하였다.

### 통계처리

데이터 분석을 위해 GraphPad Prism (Version 10.3.0, GraphPad Software, USA)를 사용하였다. 그룹 간의 유의성 검정과 사후검정은 각각 one-way analysis of variance (ANOVA)와 Tukey's honest significant difference (HSD)

**Table 1.** Body weight changes

Group	Dose level (mg/kg/day)	Body weight (g, mean±SD <sup>1)</sup> )			
		Day 0 (n=8)	Day 1 (n=8)	Day 3 (n=8)	Day 8 (n=8)
G1 <sup>2)</sup>	0	23.89±0.98	25.53±1.31	25.39±1.47	25.45±1.55
G2 <sup>3)</sup>	0	24.05±0.81	24.41±0.86	23.80±1.34	24.77±1.44
G3	50	23.69±1.07	24.38±1.03	24.15±0.98	24.96±1.27
G4	100	23.73±0.60	25.10±0.38 <sup>5)</sup>	25.56±0.86 <sup>b)</sup>	26.03±0.89
G5	200	24.05±0.78	24.95±0.79	25.57±1.07 <sup>b)</sup>	26.05±0.90
G6 <sup>4)</sup>	10	24.10±0.80	25.74±1.15	23.80±0.83	23.00±0.68 <sup>a,b)</sup>

<sup>1)</sup> Standard deviation.

<sup>2)</sup> Vehicle control.

<sup>3)</sup> Only atopic dermatitis induced group as negative-control.

<sup>4)</sup> Dexamethasone treated group as positive-control.

<sup>5)</sup> The number of statistically analyzed data was 7 due to excluded 1 outlier.

<sup>a)</sup> P<0.01, compared to G1.

<sup>b)</sup> P<0.05, compared to G2.

**Table 2.** Skin severity score and variation between day 0 and day 8

Group	Dose level (mg/kg/day)	Skin severity score (mean±SD <sup>1)</sup> )				Skin severity score variation <sup>5)</sup> (mean±SD)
		Day 0 (n=8)	Day 1 (n=8)	Day 3 (n=8)	Day 8 (n=8)	Day 0-8 (n=8)
G1 <sup>2)</sup>	0	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
G2 <sup>3)</sup>	0	7.88±1.81	5.50±1.07	4.75±1.04	3.50±1.07	4.38±1.60
G3	50	8.75±0.89	8.75±0.89	5.50±1.60	3.63±1.41	5.13±1.55
G4	100	8.13±1.36	8.13±1.36	5.13±1.96	3.63±0.92	4.50±1.51
G5	200	9.38±0.74	9.38±0.74	6.88±0.83	2.38±1.06	7.00±1.31 <sup>a)</sup>
G6 <sup>4)</sup>	10	8.25±1.49	8.25±1.49	6.25±1.28	4.13±1.81	4.13±1.46

<sup>1)</sup> Standard deviation.

<sup>2)</sup> Vehicle control.

<sup>3)</sup> Only atopic dermatitis induced group as negative-control.

<sup>4)</sup> Dexamethasone treated group as positive-control.

<sup>5)</sup> Skin severity score variation was calculated by subtracting skin severity score on day 8 from that on day 0.

<sup>a)</sup> P<0.01, compared to G2, G4 and G6, respectively.

test를 활용하였으며, 이상치(outlier) 확인은 robust regression and outlier removal (ROUT) test를 활용하였다.

### Results

#### 체중 측정

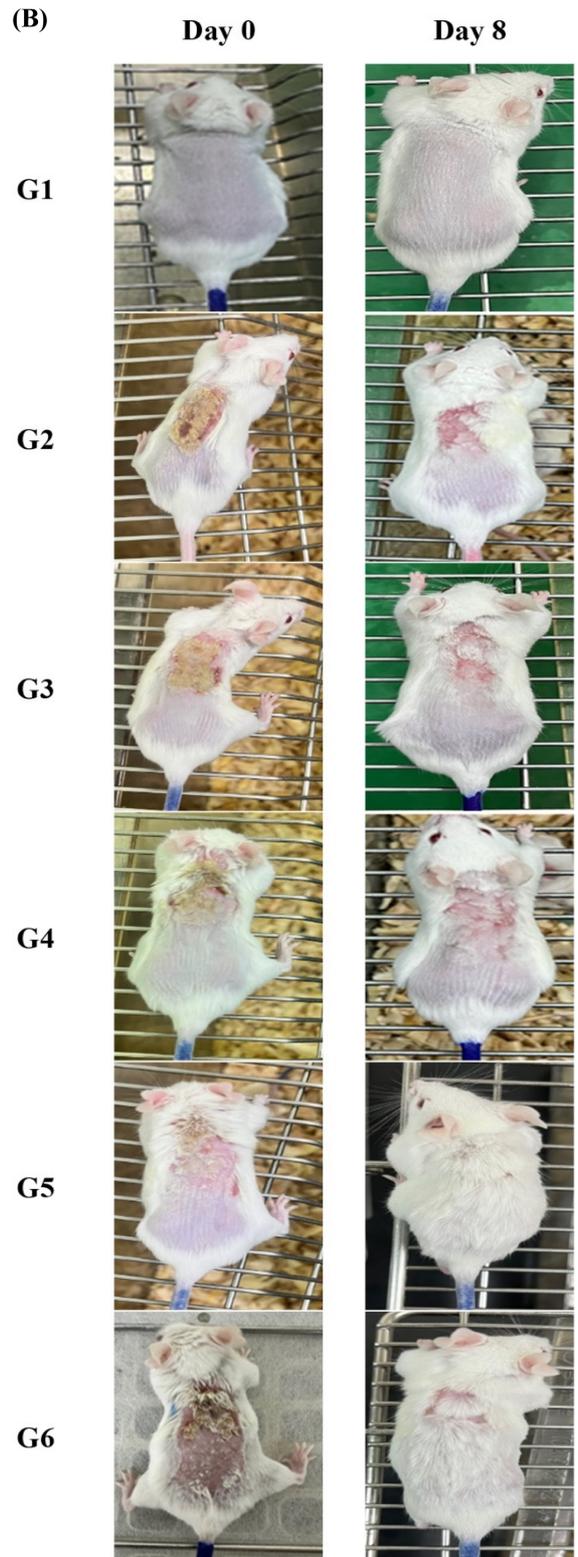
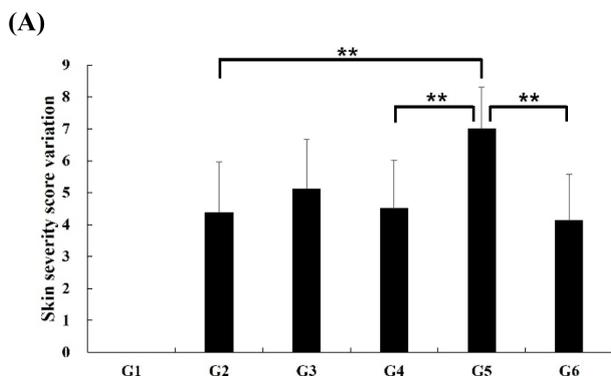
각 그룹별 체중의 변화는 Table 1과 같았다. Day 0과 day 1에는 그룹간에 유의미한 체중 차이가 없었다. G1-G5의 체중은 시험 기간 동안 꾸준히 증가하였지만, dexamethasone 10 mg/kg/day를 7일동안 경구투여한 G6의 경우에는 day 1 이후로 체중이 점차 감소하였다. 그 결과, day 8에는 G6의 체중 값이 G1과 G2에 비하여 유의적으로 감소하였다.

#### 아토피 피부염 점수 측정

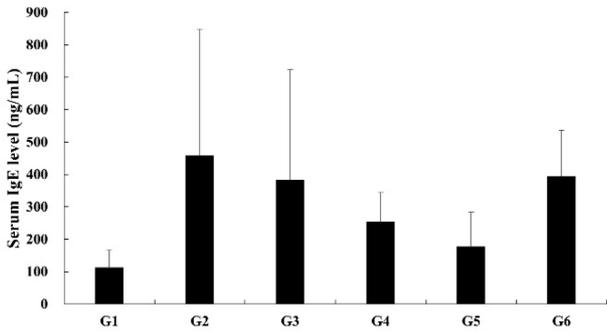
아토피 피부염 점수를 육안으로 측정하여 몰로키아 추출물의 치료 효과를 확인하였다(Table 2). 그룹별 치료 효과는 day 0에 측정된 아토피 피부염 점수에서 day 8에 측정된 아토피 피부염 점수를 뺀 차이 값의 평균을 산출하여 확인하였다(Table 2 and Fig. 1A). 아토피 피부염을 유도하지 않은 G1을 제외한 모든 그룹에서 시간이 경과함에 따라 아토피 피부염의 수준이 점차 감소하였다(Table 2). 몰로키아 추출물 200 mg/kg/day를 7일동안 경구투여한 G5의 치료 효과가 가장 우수하였으며(Table 2 and Fig. 1), G2, G4, G6에 비하여 치료 효과가 통계적으로 유의하게 높았다(G2 대비 59.8%; G3 대비 36.6%; G4 대비 55.6%; G6 대비 69.5% 치료 효과 증가).

#### 혈액내 IgE 농도 측정

Day 8에 측정된 그룹별 IgE의 농도는 Fig. 2와 같았다. 몰로키아 추출물의 용량 의존적으로 IgE의 수준이 감소하



**Fig. 1.** Skin severity score variation (A) and representative skin feature (B) between day 0 and day 8. Skin severity score variation was calculated by subtracting skin severity score on day 8 from that on day 0. The individual skin severity score (range: 0 to 10) was measured according to 12 clinical signs (morbidly, fur loss, piloerection, wound, pruritis, hemorrhage, erythema, crack, scaling, erosion, excoriation and dryness). G1, vehicle control (n=8); G2, only atopic dermatitis induced group as negative-control (n=8); G3, *C. olitorius* 50 mg/kg/day (n=8); G4, *C. olitorius* 100 mg/kg/day (n=8); G5, *C. olitorius* 200 mg/kg/day (n=8); G6, dexamethasone 10 mg/kg/day as positive-control (n=8). \*\**P*<0.01 compared to G2, G4 and G6, respectively. Data were presented as the mean and standard deviation.



**Fig. 2.** Serum IgE level on day 8. G1, vehicle control (n=8); G2, only atopic dermatitis induced group as negative-control (n=8); G3, *C. olitorius* 50 mg/kg/day (n=8); G4, *C. olitorius* 100 mg/kg/day (n=8); G5, *C. olitorius* 200 mg/kg/day (n=8); G6, dexamethasone 10 mg/kg/day as positive-control (n=8). The number of statistically analyzed IgE data of G4 was 7 due to excluded 1 outlier. Data were presented as the mean and standard deviation.

였으며, G2 대비 G3, G4, G5, G6의 IgE 수준은 각각 16.4%, 44.5%, 61.3%, 13.8% 감소하였다(data not shown). 특히, G4와 G5의 경우에는 dexamethasone 10 mg/kg/day를 7일동안 경구투여한 G6에 비하여 IgE의 수준이 낮았다(G6 대비 각각 35.6%, 55.1% IgE 농도 감소; data not shown).

**비장 T cell 활성화에 따른 IL-4, IFN- $\gamma$  및 TNF- $\alpha$  농도 측정**

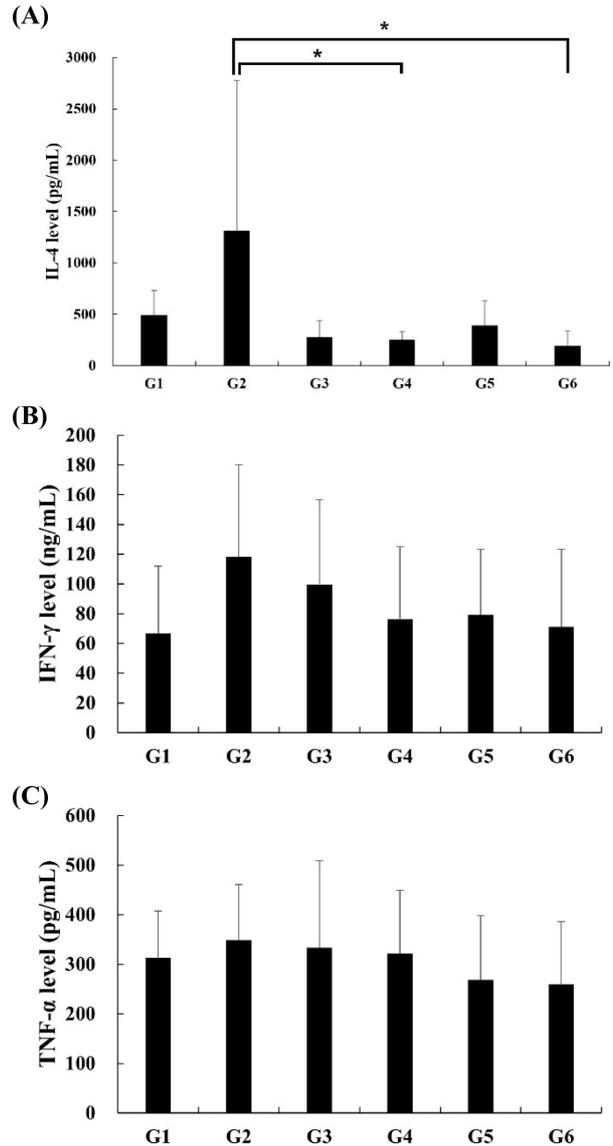
Day 8에 그룹별로 측정된 IL-4의 농도는 Fig. 3A와 같았다. 몰로키아 추출물을 투여한 G3-G5와 양성대조물질인 dexamethasone을 경구투여한 G6 모두 아토피 피부염만을 유도한 G2에 비하여 IL-4의 수준이 정상대조군인 G1의 IL-4 수준으로 현저히 감소하였다. 특히, 몰로키아 추출물 100 mg/kg/day를 7일동안 경구투여한 G4와 양성대조물질인 dexamethasone 10 mg/kg/day를 7일동안 경구투여한 G6는 G2에 비하여 IL-4의 수준이 통계적으로 유의하게 낮았다(G2 대비 각각 80.7%, 85.3% IL-4 농도 감소; data not shown).

Day 8에 그룹별로 측정된 IFN- $\gamma$ 의 농도는 Fig. 3B와 같았다. 몰로키아 추출물과 양성대조물질인 dexamethasone을 7일동안 경구투여한 G3-G6 모두 IFN- $\gamma$  수준이 아토피 피부염만을 유도한 G2에 비하여 감소하였다. 특히, G4-G6의 IFN- $\gamma$  수준은 정상대조군의 수준으로 감소하였다(G2 대비 각각 35.4%, 32.9%, 39.8% IFN- $\gamma$  농도 감소; data not shown).

Day 8에 그룹별로 측정된 TNF- $\alpha$ 의 농도는 Fig. 3C와 같았다. 정상대조군을 포함하여 모든 그룹간에 주목할만한 차이는 없었다.

**Discussion**

체중 감소는 시험물질의 독성을 확인할 수 있는 중요한



**Fig. 3.** IL-4 (A), IFN- $\gamma$  (B) and TNF- $\alpha$  (C) levels on day 8. G1, vehicle control (n=8); G2, only atopic dermatitis induced group as negative-control (n=8); G3, *C. olitorius* 50 mg/kg/day (n=8); G4, *C. olitorius* 100 mg/kg/day (n=8); G5, *C. olitorius* 200 mg/kg/day (n=8); G6, dexamethasone 10 mg/kg/day as positive-control (n=8). The number of statistically analyzed IL-4 data of G3 and G4 was 6 due to excluded 2 outliers, respectively (Fig. 3A). \* $P$ <0.05 compared to G4 and G6, respectively. Data were presented as the mean and standard deviation.

지표이다<sup>16)</sup>. 몰로키아 추출물을 경구투여한 G3-G5 모두 시험 기간 동안 사망한 개체가 없었을 뿐만 아니라 체중이 꾸준히 증가하였으므로 몰로키아 추출물 50, 100, 200 mg/kg/day의 7회 반복 투여는 동물에게 위해한 영향이 없는 것으로 사료된다. 반면에 양성대조물질인 dexamethasone 10 mg/kg/day를 7일 동안 반복 투여한 G6는 day 0 대비 체중이 약 4.6% 감소하였다(Table 1). Koorneef 등<sup>17)</sup>의 연

구에 따르면, dexamethasone 1 mg/kg/day을 23일동안 경구투여한 수컷 C57BL/6J 마우스의 체중이 확연히 감소하였다고 보고하였다. 일반적으로 비임상 독성 시험에서는 체중의 변화와 사료 섭취량을 함께 측정하며, 사료 섭취량과 체중의 변화는 밀접한 관계에 있는 것으로 알려져 있다<sup>18)</sup>. Jahng 등<sup>19)</sup>은 dexamethasone 0, 0.1, 1.0 mg/kg을 SD rat에 4일간 복강내 투여하였을 때, 용량 의존적으로 사료 섭취량과 체중이 함께 감소하였다고 보고하였으며, Malkawi 등<sup>20)</sup>은 dexamethasone을 장기간 투여함으로써 발생한 체중 감소는 근위축과 비정상적인 아미노산 대사에 의한 단백질 합성 저해와 밀접한 관련이 있다고 보고하였다.

정상대조군(G1)을 제외한 모든 그룹에서 DNCB에 의한 아토피 피부염이 유발되었음을 확인하였다(Table 2와 Fig. 1). 일반적으로 아토피 피부염은 주로 type 2 면역 반응 매개 질환이라는 것은 익히 잘 알려져 있는 사실이다<sup>21)</sup>. 또한, IgE와 immunoglobulin G (IgG)1의 isotype switching을 유도하는 IL-4를 중심으로 한 type 2 cytokine과 이러한 cytokine들의 역할에 길항작용을 하는 IFN- $\gamma$  등의 type 1 cytokine들의 생산능력을 비교하는 것은 세포면역능의 편향성을 평가하는 방법으로 활용된다<sup>22,23)</sup>. 아토피 피부염만을 유도한 G2의 Th2 cell 관련 면역 인자인 IgE와 IL-4의 수준이 정상대조군인 G1에 비하여 2배 이상 높았던 반면(각각 G1 대비 4배, 2.7배; Fig. 2 & 3A; data not shown), G2의 Th1 cell 관련 면역 인자인 IFN- $\gamma$ 와 TNF- $\alpha$ 의 수준은 정상대조군에 비하여 큰 차이가 없었다(각각 G1 대비 1.8배, 1.1배; Fig. 3B & 3C; data not shown). 이와 같은 결과를 바탕으로 본 연구에서 확립한 동물 모델은 Th2 cell 매개 편향성을 보이는 아토피 피부염의 효능을 평가하는데 적합하였다고 판단된다.

육안으로 치료 효과를 확인하였을 때, 몰로키아 추출물 200 mg/kg/day 투여군의 효과가 가장 뛰어났다(Fig. 1B). Lee 등<sup>14)</sup>의 연구에 따르면, *in vitro* 수준에서 몰로키아 추출물의 항염증과 상처 치료 효과를 확인한 결과, 염증 관련 지표인 nitric oxide, TNF- $\alpha$ , IL-6의 수치가 용량 의존적으로 감소하였으며, cell migration을 촉진하였다고 보고하였다. 또한, Yokoyama 등<sup>24)</sup>의 연구에 따르면, polysaccharide가 제외된 몰로키아 추출물로 만든 크림을 아토피 피부염이 유도된 마우스에 14일동안 도포하였을 때, 피부의 수분량 손실량 감소와 함께 아토피 피부염이 육안적으로 개선된 것을 확인하였다. 이와 같은 연구 결과는 몰로키아 추출물을 활용한 항아토피 피부염 치료제의 제형을 경구용뿐만 아니라 피부 도포 등의 다양한 형태로 개발할 수 있음을 시사한다. 하지만, 해당 선행 연구 결과에서 아토피 피부염과 관련한 주요한 지표인 IgE의 수치는 감소하지 않았는데 이는 IgE 감소 효과를 가지고 있는 polysaccharide가 도포했던 크림에서 제외되었기 때문인 것으로 사료된다.<sup>25)</sup>

염증 반응 관련 IgE와 cytokine (IL-4, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ ) 수준을 확인하였을 때, 50 mg/kg/day 이상의 몰로키아 추출물은 관련 수치들을 감소시키는데 효과가 있었다(Fig. 2, 3). 특히, 몰로키아 추출물 200 mg/kg/day은 양성대조물질인 dexamethasone 10 mg/kg/day와 비교하여도 동등 또는 그 이상의 항염증 효과를 나타냈다.

앞선 결과들을 바탕으로 몰로키아 추출물은 여러 번 반복 투여하였음에도 체중 감소라는 부작용이 없었으며, 아토피 환자들에게 흔히 처방되는 dexamethasone 수준의 항염증 효과를 나타냈다. 이에 몰로키아 추출물은 아토피 치료제로 충분히 활용될 수 있다고 판단된다.

## Acknowledgement

본 연구는 중소벤처기업부와 중소기업기술정보진흥원의 “지역특화산업육성사업 R&D(S3363307)”으로 수행된 연구 결과이며, 이에 감사드립니다.

## 국문요약

아토피 피부염은 만성 염증을 동반한 알레르기성 질환이며, 일반적으로 Type 2 염증 반응과 관련이 깊다고 알려져 있다. *Corchorus olitorius* (*C. olitorius*)의 아토피 피부염 치료 효과를 확인하기 위하여 2,4-dinitrochlorbenzene로 아토피 피부염 모델을 유도한 BALB/c 마우스를 대상으로 피부 염증 개선도를 육안으로 확인하였으며, 질환 관련 IgE와 사이토카인(IL-4, IFN- $\gamma$  and TNF- $\alpha$ )의 수준을 측정하였다. 7일간의 투여기간동안 양성대조약물인 Dexamethasone 투여군의 체중은 감소하였던 반면에 모든 *C. olitorius* 투여군의 체중은 꾸준히 증가하였다. 이와 같은 결과는 *C. olitorius*이 동물에 위해한 영향이 없었다는 것을 의미한다. *C. olitorius* 200 mg/kg/day 투여군의 치료 효과가 가장 뛰어났으며, 모든 *C. olitorius* 투여군의 염증 관련 면역글로불린과 사이토카인의 수준은 감소하였다. 따라서, *C. olitorius*는 아토피 치료제로 충분히 활용될 수 있다고 판단된다.

## Conflict of interests

The authors declare no potential conflict of interest.

## ORCID

Kimman Lee	<a href="https://orcid.org/0000-0001-6772-9734">https://orcid.org/0000-0001-6772-9734</a>
Jin Hong Park	<a href="https://orcid.org/0000-0002-9809-0352">https://orcid.org/0000-0002-9809-0352</a>
Jihun Kim	<a href="https://orcid.org/0009-0002-8532-5930">https://orcid.org/0009-0002-8532-5930</a>
Byung Hak Kim	<a href="https://orcid.org/0000-0001-7746-6616">https://orcid.org/0000-0001-7746-6616</a>
Hee Hwan Lee	<a href="https://orcid.org/0009-0002-3542-8165">https://orcid.org/0009-0002-3542-8165</a>

Chang Yul Kim <https://orcid.org/0000-0002-7356-1605>  
 Hee Eon Kim <https://orcid.org/0009-0008-1305-8187>  
 Da Hee Son <https://orcid.org/0009-0006-4710-1265>  
 Yeonsoo Chung <https://orcid.org/0009-0006-6273-6605>

## References

- Lee, G.S., Lee, K.M., Shim, H., Kim, J.H., Cheong, J.H., Kang, T.J., Effects of herbal complex, YJ-1, on atopic dermatitis in NC/Nga mice model. *Yakhak Hoeji*, **56**, 92-98 (2012).
- Grobe, W., Bieber, T., Novak, N., Pathophysiology of atopic dermatitis. *J. Dtsch. Dermatol. Ges.*, **17**, 433-440 (2019).
- Koszorú, K., Borza, J., Gulácsi, L., Sárdy, M., Quality of life in patients with atopic dermatitis. *Cutis*, **104**, 174-177 (2019).
- Tokura, Y., Extrinsic and intrinsic types of atopic dermatitis. *J. Dermatol. Sci.*, **58**, 1-7 (2010).
- David Boothe, W., Tarbox, J.A., Tarbox, M.B., 2017. Atopic dermatitis: pathophysiology. Management of atopic dermatitis: methods and challenges, Springer, Berlin, Germany, pp. 21-37.
- Werfel, T., The role of leukocytes, keratinocytes, and allergen-specific IgE in the development of atopic dermatitis. *J. Invest. Dermatol.*, **129**, 1878-1891 (2009).
- Riedl, R., Kühn, A., Rietz, D., Hebecker, B., Glowalla, K.G., Peltner, L.K., Jordan, P.M., Werz, O., Lorkowski, S., Wiegand, C., Wallert, M., Establishment and characterization of mild atopic dermatitis in the DNCB-induced mouse model. *Int. J. Mol. Sci.*, **24**, 12325 (2023).
- Frazier, W., Bhardwaj, N., Atopic dermatitis: diagnosis and treatment. *Am. Fam. Physician*, **101**, 590-598 (2020).
- Saeki, H., Furue, M., Furukawa, F., Hide, M., Ohtsuki, M., Katayama, I., Sasaki, R., Suto, H., Takehara, K., Committee for guidelines for the management of atopic dermatitis of Japanese Dermatological Association, Guidelines for management of atopic dermatitis. *J. Dermatol.*, **36**, 563-577 (2009).
- Matsufuji, H., Sakai, S., Chino, M., Goda, Y., Toyoda, M., Takeda, M., Relationship between cardiac glycoside contents and color of *Corchorus olitorius* seeds. *J. Health Sci.*, **47**, 89-93 (2001).
- Ilhan, S., Savaroğlu, F., Çolak, F., Antibacterial and antifungal activity of *Corchorus olitorius* L.(molokhia) extracts. *IJNES*, **1**,(2007).
- Öztürk, N., Savaroğlu, F., 2011. Antioxidant activities of molokhia (*Corchorus olitorius* L.) extracts. Survival and Sustainability: Environmental concerns in the 21st Century, Springer, Berlin, Germany, pp. 535-543.
- Yan, Y.Y., Wang, Y.W., Chen, S.L., Zhuang, S.R., Wang, C.K., Anti-inflammatory effects of phenolic crude extracts from five fractions of *Corchorus olitorius* L. *Food Chem.*, **138**, 1008-1014 (2013).
- Lee, K., Park, J.H., Lee, D.H., Jo, S.M., Park, Y., Kang, T.J., *Corchorus olitorius* ethanolic extract has anti-inflammatory and wound healing effects in vitro. *Nat. Prod. Sci.*, **29**, 291-296 (2023).
- Kusma, S., Maharjan, A., Acharya, M., Lee, D.E., Kim, S.Y., Hwang, C.W., Kim, K.S., Kim, H.A., Heo, Y., Kim, C.Y., Oral subacute polypropylene microplastics administration effect on potential immunotoxicity in ICR mice. *J. Toxicol. Environ.*, **87**, 371-380 (2024).
- Chapman, K., Sewell, F., Allais, L., Delongea, J.L., Donald, E., Festag, M., Kervyn, S., Ockert, D., Nogues, V., Palmer, H., Popovic, M., Roosen, W., Schoenmakers, A., Somers, K., Stark, C., Stei, P., Robinson, S., A global pharmaceutical company initiative: An evidence-based approach to define the upper limit of body weight loss in short term toxicity studies. *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, **67**, 27-38 (2013).
- Koorneef, L.L., van der Meulen, M., Kooijman, S., Sánchez-López, E., Scheerstra, J.F., Voorhoeve, M.C., Ramesh, A.N.N., Rensen, P.C.N., Giera, M., Kroon, J., Meijer, O.C., Dexamethasone-associated metabolic effects in male mice are partially caused by depletion of endogenous corticosterone. *Front. Endocrinol. (Lausanne)*, **13**, 960279 (2022).
- Malashetty, V., Deshpande, R., Patil, S., Seventy-day toxicity study in juvenile sprague-dawley rats with semicarbazide (SEM) from weaning to sexual maturity. *J. Toxicol.*, **2022**, 5059761 (2022).
- Jahng, J.W., Kim, N.Y., Ryu, V., Yoo, S.B., Kim, B.T., Kang, D.W., Lee, J.H., Dexamethasone reduces food intake, weight gain and the hypothalamic 5-HT concentration and increases plasma leptin in rats. *Eur. J. Pharmacol.*, **581**, 64-70 (2008).
- Malkawi, A.K., Alzoubi, K.H., Jacob, M., Matic, G., Ali, A., Al Faraj, A., Almuhanna, F., Dasouki, M., Abdel Rahman, A.M., Metabolomics based profiling of dexamethasone side effects in rats. *Front. Pharmacol.*, **9**, 46 (2018).
- Boguniewicz, M., Leung, D., 2020. Atopic dermatitis, anti-infective applications of interferon-gamma, 1st ed, CRC Press, Boca Raton, FL, USA, pp. 67-84.
- Snapper, C.M., Paul, W.E., Interferon- $\gamma$  and B cell stimulatory factor-1 reciprocally regulate Ig isotype production. *Science*, **236**, 944-947 (1987).
- Heo, Y., Parsons, P.J., Lawrence, D.A., Lead differentially modifies cytokine production in vitro and in vivo. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **138**, 149-157 (1996).
- Yokoyama, S., Hiramoto, K., Fujikawa, T., Kondo, H., Konishi, N., Sudo, S., Iwashima, M., Ooi, K., Skin hydrating effects of *Corchorus olitorius* extract in a mouse model of atopic dermatitis. *JCDSA*, **4**, 1-6,(2014).
- Sugihara, R., Matsumoto, Y., Ohmori, H., Suppression of IgE antibody response in mice by a polysaccharide, AZ9, produced by *Klebsiella oxytoca* strain TNM3. *Immunopharmacol. Immunotoxicol.*, **24**, 245-254 (2002).