

<연구논문(학술)>

아토피성 피부염병변에 치료효과가 있는 천연염료 연구(II)

- 솔잎 추출물 -

이정순[†] · 우효정

충남대학교 의류학과

A Study on Natural Dye Having the Effects on the Atopic Dermatitis (Part II)

- Pine Needles Extract -

Jung Soon Lee[†] and Hyo Jung Woo

Department of Clothing and Textiles, Chungnam National University, Daejeon, Korea

(Received: June 16, 2012 / Revised: July 12, 2012 / Accepted: August 4, 2012)

Abstract: The purpose of this study was to investigate usefulness of the pine needles extract on Atopic Dermatitis(AD)-like skin lesions. To investigate the effect of pine needles extract in vivo, atopic dermatitis (NC/Nga) mice using DNCB (2,4-Dinitrochlorbenzene) was used. NC/Nga mice were challenged with DNCB during 2 weeks to develop AD-like skin lesion. After that, pine needles extract was applied to AD-like skin lesion on the backs of the NC/Nga mice during 3 weeks. The efficacy of pine needles extract in the NC/Nga mice was evaluated by measurement of the skin lesion severity(NC mouse score), the serum IgE level, epidermal thickness changes, and mast cell number. Blood was collected from the retro-orbital area and the level of IgE in the blood was measured. The epidermal thickness and mast cell number were observed by microscopic method after H&E stain. The serum IgE levels were decreased after treatment with pine needles extract. The epidermal thickness and mast cell number were decreased after treatment with pine needles extract. To conclude, the topical application of pine needles extract suppressed the progression of AD-like skin lesion.

Keywords: pine needles extract, natural dye, atopic dermatitis, NC/Nga mice, DNCB

1. 서 론

아토피피부염은 심한 가려움증을 동반한 만성 염증성 피부 질환으로 유아에서부터 성인에 이르기까지 다양한 연령에서 발생하는 알레르기 질환이다. 아토피(atopy)는 이상한 혹은 부적절한이라는 의미를 지닌 용어로서, 음식물 또는 흡입성 물질에 대한 알레르기 반응이 유전적으로 발생하는 경우를 일컫는데, 1925년 Coca가 선천적으로 음식물이나 흡입성 물질에 대한 알레르기 반응의 결과로 피부염이나 천식, 고초열이 나타나는 경향을 아토피라고 기술한 이후부터 쓰이게 되었는데, 아토피성 질환에는 아토피 피부염 이외에 천식, 알레르기성 비염, 알레르기성 결막염 등이 있다¹⁾.

아토피의 원인은 아직까지 정확한 원인을 규명하지 못하고 있으나 유전적인 가족력과 음식 섭취 등으로 인한 생활-환경의 영향, 결손된 피부층을 통해 유입된 항원 물질에 대한 면역반응에 따른 혈중 IgE 항체의 수준이 증가함으로써 나타나는 복합적 질환으로 알려져 있다²⁾.

아토피피부염의 유병율은 세계적으로 증가하고 있는 추세인데³⁾ 우리나라의 경우에도 최근 알레르기 질환의 급증으로 매년 아토피 피부염 환자가 꾸준히 증가하고 있는 같은 현상을 보이고 있다. 질병관리본부가 실시한 「어린이-청소년 천식 및 알레르기질환 조사」 결과에 따르면, 1995년부터 2010년까지 최근 15년간 아토피피부염은 어린이는 9.2%에서 20.6%로 2.2배, 청소년은 4.0%에서 12.9%로 3.2배 증가된 것으로 조사되었다⁴⁾.

아토피 피부염은 아토피피부염 환자의 삶의 질 저하를 일으킬 수도 있음이 인식되면서 질환자체에 초

[†]Corresponding author: Jung Soon Lee (jungsoon@cnu.ac.kr)
Tel.: +82-42-821-6830 Fax.: +82-42-821-8887
©2012 KSDF 1229-0033/2012-09/196-203

점을 맞춘 약물위주의 치료만이 아닌 정서적인 문제에도 관심을 가져야 할 것이 지적되고 있다⁵⁾. 실제로 소아 아토피피부염 환자보호자의 인식도에 관한 설문조사 연구의 결과⁶⁾ 살펴보면 아토피피부염 치료방법에 대해서 자가치료가 36%, 한의원이 13%의 비율로 나타났고, Chang 등의 연구에서는⁷⁾ 대체보완요법을 한번이라도 사용하는 경우는 전체 환자의 87.6%였으며 한약을 가장 많이 사용하였다고 보고되어 천연물을 이용한 치료효능에 대한 기대가 큰 것을 알 수 있다. 최근 국내산 자생식물의 항균활성연구를 비롯하여⁸⁾ 천연물을 이용한 피부면역질환 치료 효능에 대한 관심이 높아지면서, 천연 추출물을 이용한 항아토피 성능평가와 관련된 많은 연구가 이루어지고 있으나⁹⁻¹⁵⁾ 주로 아토피 피부염 치료용 약재 개발에 초점이 맞추어져 있고, 이들 천연추출물을 염색성과 같이 연결하여 아토피피부염효과를 갖는 천연염료 개발 가능성에 대하여는 언급된 바가 없다.

최근 항균·방취 등의 건강 기능성제품에 대한 관심에 힘입어 천연물을 이용한 기능성 천연염료에 대한 연구들이 진행되고 있는데^{16,17)}, 그 중 솔잎은 중국이나 일본, 한국 등 전 아시아 지역의 임야에서 널리 자생하는 소나무로부터 손쉽게 얻을 수 있는 장점과 약리적 효능까지 가지고 있어 기능성 천연염료로 활용하려는 다양한 연구가 이루어지고 있다¹⁸⁻²³⁾. 솔잎의 성분에는 α -pinene, β -pinene, camphene 등으로 조성된 terpenes 같은 정유성분과 폴리페놀(polyphenol), 플라보노이드(flavonoid)류, 무기 및 유기성분, 비타민류 등 다양한 성분이 함유되어 있는데, 이 중 terpenes 성분은 곰팡이 및 세균 등의 성장을 저해하는 항미생물 효과를 나타내는 것으로 보고되어 있다²⁴⁾. 또한 솔잎의 성분 중에는 폴리페놀 성분인 수용성 탄닌의 함량이 높는데²⁵⁾, 탄닌은 항균작용 및 항바이러스작용과 항산화능, 아질산염 제거능 및 부패성 미생물 생육 저해능이 있다고 보고되어 있어²⁶⁾ 솔잎 추출물은 항미생물성을 갖는 기능성 의류소재로서 이용 가능성이 높음을 시사한다. 선행연구^{22,23)} 통해 솔잎 추출물로 염색한 직물은 황색포도상구균(*Staphylococcus aureus*)과 폐렴균(*Kiebsiella pneumoniae*)에서 99%의 높은 항균성을 보이는 것이 확인되었는데, 아토피 피부염 환자는 다른 피부염 환자에 비해 *Staphylococcus aureus*에 의한 세균성 피부염이 자주 발생하는 것으로 알려져 있어²⁷⁾ 솔잎 추출물의 *Staphylococcus aureus*에서의 높은 항균성은 아토피 치료효과를 갖는 천연염료로

서의 개발의 가능성을 보여준다고 사료된다.

따라서 본 연구에서는 NC/Nga 마우스에 DNCB(2,4-Dinitrochlorbenzene)를 도포하여 아토피 피부염을 유발시킨 다음, 저비용으로 손쉽게 얻을 수 있을 뿐만 아니라 *Staphylococcus aureus*에 대한 항균성을 갖고 있는 솔잎 추출물을 도포함으로써 보이는 피부병변의 중증도 측정, 혈청 IgE 측정(ELISA), 마우스 피부 표피 두께 변화, Mast cell 변화를 측정하여, 솔잎 추출물의 아토피 피부염 치료 효과를 갖는 천연염료로서의 적용 가능성에 대해 검증하고자 하였다.

2. 실험

2.1 솔잎 추출물의 제조

본 연구에 사용된 소나무(*Pinus densiflora*)는 대전 계족산에서 2009년 7월에 채집하여 사용하였다. 채집한 솔잎은 잘게 자른 후 솔잎 200g당 메탄올 800ml와 증류수 200ml를 가하여 48시간 침지 후 침지액을 Rotary vacuum evaporator(RV10, IKA®, Germany)를 이용하여 온도 40~60°C, 회전속도 180rpm에서 감압 농축하여 분말화 한 후 1% 농도로 제조하여 실험에 사용하였다.

2.2 실험동물

아토피 피부질환의 동물모델로는 NC/Nga 마우스가 잘 알려져 있으므로¹¹⁾ 본 연구에서는 실험동물로 NC/Nga 마우스를 이용하였다. NC/Nga 마우스는 무균 환경에서는 정상이고 건강하지만 보통의 환경에서는 소양증으로 부종, 상처 등의 임상증상을 보이며 혈청 내 IgE 수치가 증가하는 등 사람의 아토피 피부염을 대체할 수 있는 모델로 알려져 있다^{28,29)}. 6주령 수컷 NC/Nga 마우스를 중앙실험동물(Seoul Korea)에서 공급 받아 입수 시 외관을 육안으로 검사한 후 마우스를 3군으로 나누어 각 군 별로 우리에 격납시키고 25°C, 30% 습도 조건에서 일반 실험사육 환경 하에 약 2주 동안 적응 시킨 후 실험을 실시하였다. 실험동물의 사육과 보관은 동물실험실의 지침에 의거하였으며, 본 실험은 충남대학교 공동동물실험관의 동물실험윤리위원회의 규정을 준수하여 설계, 수행하였다. 실험군의 구성은 15마리 중 건강한 12마리의 NC/Nga 마우스를 다음과 같은 3개의 실험군으로 나누어 5주간 실험을 진행하였다. 첫 번째 실험군은 아무것도 처리하지 않은 정상 대조군(Control), 두 번째 실험군은 DNCB만 도포한 군(DNCB), 세 번째 실험군은 솔잎 추출물과 DNCB

0.5%를 도포한 군(DNCB+Pine needles)으로 나누어 실험을 진행하였다.

2.3 NC/Nga 마우스의 아토피 유발 및 솔잎 추출물의 처치

화학적 면역 유도 물질인 2,4-Dinitrochlorbenzene (이하 DNCB)를 NC/Nga 마우스에 도포 후 발생한 피부병변은 아토피피부염과 유사한 접촉성 과민반응으로 IgE의 증가 등 아토피피부염이 있을 때와 동일한 면역반응이 유발되므로 인간에서의 아토피피부염과 유사한 병변으로 볼 수 있어 유용한 아토피피부염 연구 모델로 DNCB와 NC/Nga 마우스를 사용할 수 있다고 보고된 바 있으므로¹⁰⁾ 본 연구에서는 NC/Nga 마우스에 DNCB 용액을 도포하여 아토피피부염을 유발시켰다.

본 실험에 사용된 DNCB는 씨그마알리드리치코리아(유)(Korea)에서 구입하였으며, 아세톤과 올리브오일이 4:1로 혼합된 용액에 0.5%와 1%로 희석한 다음 사용하였다. 실험시작 4일 전에 모든 마우스의 등에 1% DNCB 용액 150μl를 도포하였고 4일 동안 면역반응을 유발한 후, 모든 마우스에 1주일 2~3회씩 2주 동안 0.5% DNCB 용액 150μl를 등 부위에 도포하여 접촉성 피부염을 유발하였다. 아토피 피부염을 2주간 유도한 다음 3주간 주 5회 첫 번째 실험군은 미처리, 두 번째 실험군은 0.5% DNCB, 세 번째 실험군은 솔잎 추출물과 DNCB 0.5%를 각각 등 부위에 도포하였다. 처리과정은 Figure 1에 나타내었다.

2.4 피부 병변의 측정

피부 병변의 측정은 아토피 피부염을 2주간 유도한 다음 1회, 3주간의 솔잎 추출물 처리 종료 후 1회 총 2회 측정하였다.

측정은 NC/Nga 마우스의 등에 도포한 부분을 관찰하여 NC mouse score를 이용하여¹⁵⁾ 육안 평가를 실시하였는데, NC mouse score는 NC mouse score 판

정사진을 기준으로 관찰자가 육안으로 관찰하여 등급을 매기는 방법으로, 최소는 0에서 최대는 13이다.

2.5 혈청 IgE의 측정(ELISA)

혈청 IgE의 측정은 시험시작 전, 아토피 피부염을 2주간 유도한 다음, 3주간의 솔잎 추출물 처리 종료 후 3회 측정하였다. 마우스의 안와에서 헤파린이 도포된 주사기를 이용하여 혈액을 채취하여 8000rpm에서 10분간 원심 분리로 얻은 혈청을 모아 -70℃의 냉동고에 보관하였다. 상용화된 ELISA set(BD OptEIA™, BD Biosciences, USA)를 이용하여 혈청 IgE를 측정하였다.

2.6 피부 조직 채취 및 병리 검사

실험 종료 후 NC/Nga 마우스의 등 쪽 부분의 피부조직을 10% 포르말린에 24시간 이상 고정시킨 후 파라핀 블록을 제작하고 5μm로 절편한 후 hematoxylin & eosin 염색법(H&E stain)을³⁰⁾ 이용하여 조직염색을 한 후 광학현미경으로 확인하였다.

2.7 통계처리

각 데이터는 평균, ±표준편차로 나타내었으며, 평균치간의 유의성은 paired t-test를 이용한 후 p값이 .05 미만일 때 유의한 것으로 판정하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1 NC/Nga 마우스에 아토피피부염 병변 유도 후 피부 병변의 발생 정도 측정 비교

접촉성 자극 물질을 실험쥐에 장기적으로 도포하면 혈청 내 총 IgE와 IgG가 증가하는 것을 확인할 수 있으며²⁸⁾, Th1형이 우세한 접촉 과민반응이 유도되어 아토피 피부염과 유사한 피부 병변의 자연적 발생을 촉진하는 것으로 알려져 있다³¹⁾. 알려진 바와 같이 실험 기간 동안 DNCB 자극을 받은 모든

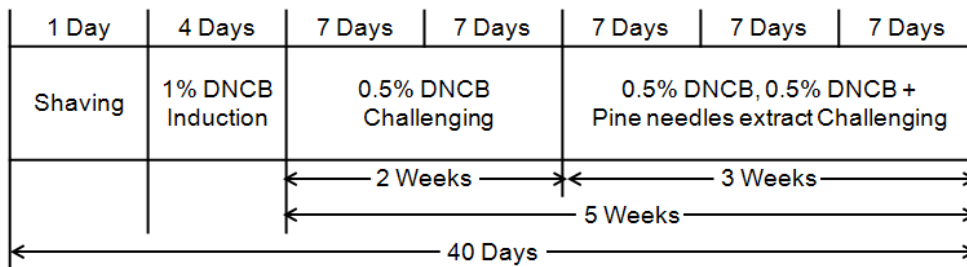


Figure 1. Procedure of treatment.

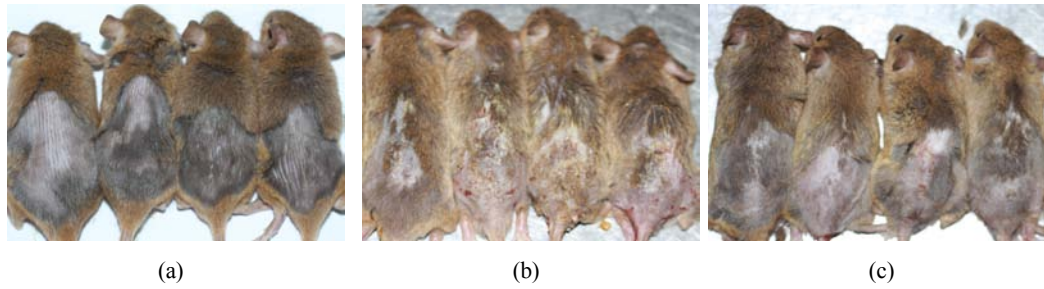


Figure 2. Clinical skin features of back skin in NC/Nga mice. (a) Control (b) DNCB treated (c) DNCB+Pine needles extract treated.

마우스에서 아토피피부염과 유사한 피부 발진이 발생하였는데, Figure 2의 (b)와 같이 DNCB를 직접 도포한 등 부위에 가장 심하게 발생하였다. 피부 병변의 형태는 홍반, 인설, 부종뿐만 아니라 소양증으로 외부 마찰에 의해 발생한 찰과상도 확인되는데, 솔잎 추출물을 처리한 (c)의 경우 홍반과 인설이 거의 사라지고 약간의 흔적만 관찰되어 등 부위가 정상 대조군(Control)인 (a)의 상태에 가깝게 치료가 됨을 볼 수 있다.

NC/Nga 마우스의 등에 도포한 부분을 마우스 score를 이용하여 육안 관찰하여 얻어진 세 그룹의 점수를 Figure 3에 나타내었다. 아토피 피부염을 2주간 유도한 후 첫 번째 측정에서는 정상 대조군(Control)을 제외한 두 그룹의 Total clinical skin score는 12.33 ± 1.16 과 11.25 ± 2.36 을 나타내었으나 3주간의 솔잎 추출물 처리 종료 후 측정에서는 DNCB만 도포한 군(DNCB)은 11.67 ± 1.16 을 나타내었고 솔잎 추출물을 처리한 군은 4.25 ± 1.50 으로 $p < .05$ 에서 유의하게 감소하였다. 따라서 솔잎 추출물을 처리한 군은 아토피피부염 유사 병변의 발현 억제 효과가 있는 것으로 나타났다. NC 마우스 score는 NC 마우스 score 판정사진을 기준으로 관찰자가 육안으로 관찰하여 등급을 매기는 방법으로 등급이 높을수록 아토피성 피부염이 심각함을 나타낸다.

3.2 솔잎 추출물이 혈청 IgE 농도에 미치는 영향

Figure 4는 혈청 내 IgE를 측정한 결과를 나타낸 것이다. IgE는 알레르기 반응과 관련된 면역글로블린으로 일반적으로 수치가 증가하면 알레르기 반응이 증가한다. DNCB 자극 후 혈청내 IgE 농도는 정상 대조군보다 상당히 증가하는 것을 볼 수 있다.

이것은 아토피 유발에 의해 IgE의 농도가 증가함을 알 수 있으며 면역반응이 증가하여 피부 민감성이 증가 했다는 것을 보여준다.

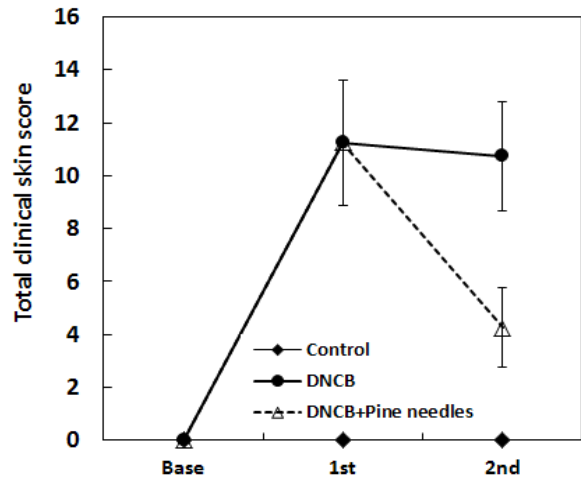


Figure 3. Effect of daily topical application of DNCB on modified SCORAD score of NC/Nga mice with Pine needles extracts under conventional condition.

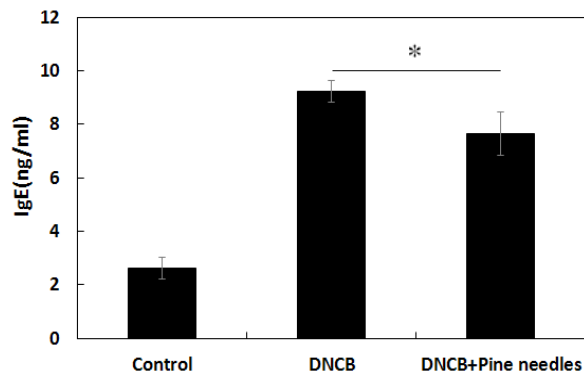


Figure 4. The effect of pine needles extract on IgE levels in serum. (* $p < .05$).

반면 솔잎 추출물로 처리한 군에서는 IgE의 값이 7.66 ± 0.81 ng/ml로 DNCB군의 9.22 ± 0.39 ng/ml 보다 낮은 값을 보이고 있어 피부 민감성을 효과적으로 낮추고 있는 것을 보여준다. 이것은 솔잎추출물에 포함되어 있는 폴리페놀성분이 혈청 내 염증 매개물질인 IgE 수치를 감소시켜 아토피성 피부염

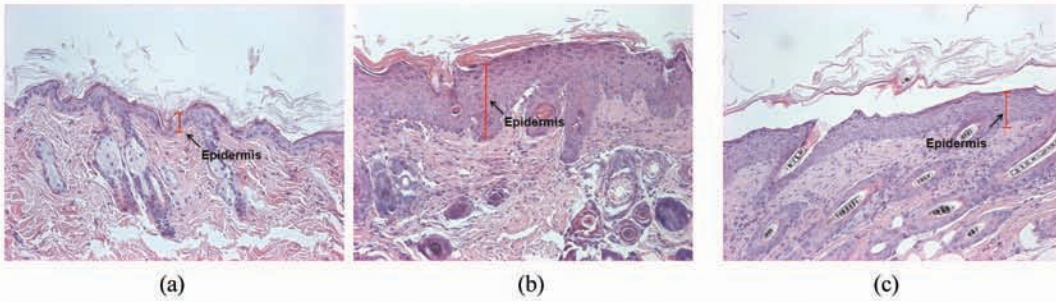


Figure 5. Histological features($\times 200$) of epidermis in NC/Nga mice. (a) Control (b) DNCB treated (c) DNCB+Pine needles extract treated.

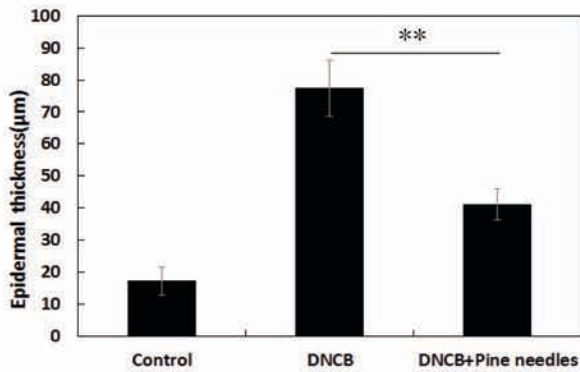


Figure 6. Change of thickness of epidermis in mice skin treated with DNCB, DNCB+Pine needles extract. (** $p < .01$).

증상을 억제 및 완화시키는 것으로 설명할 수 있다⁸⁾.

3.3 솔잎 추출물이 피부조직 변화에 미치는 영향

Figure 5와 Figure 6은 각각의 군에 대한 조직검사 결과이다. 아토피 증상은 피부병소(skin lesion)에서 피부의 부드러운 정도가 감소하고, 과각화증, 이상각화증과 함께 염증세포의 침윤증상을 동반하게 되어 표피(epidermis)의 두께가 증가하게 된다.

정상 대조군의 경우 표피의 두께가 $17.06 \pm 4.30 \mu\text{m}$ 로 얇게 관찰되나 DNCB군은 자극과 상처 및 재생으로 인해 두께가 $77.33 \pm 8.87 \mu\text{m}$ 로 두꺼워진 것을 알

수 있다. 솔잎 추출군의 경우 정상 대조군 보다는 두 겹지만 $41.06 \pm 4.83 \mu\text{m}$ 로 DNCB군 보다는 얇은 것을 볼 수 있다. 대조군에 비해서 DNCB군은 발진이 많이 진행되어 표피가 진피(dermis)쪽으로 두껍게 내려가 현저하게 확장된 피부손상을 나타내었다. 이에 반해 솔잎 추출물로 처리한 추출물군은 DNCB군에 비해 표피의 두께도 눈에 띄게 줄어들어 DNCB군보다는 더 나은 결과를 확인 할 수 있다.

Figure 7과 Figure 8은 비만세포염색법을 통해 관찰된 비만 세포(mast cell)의 결과이다.

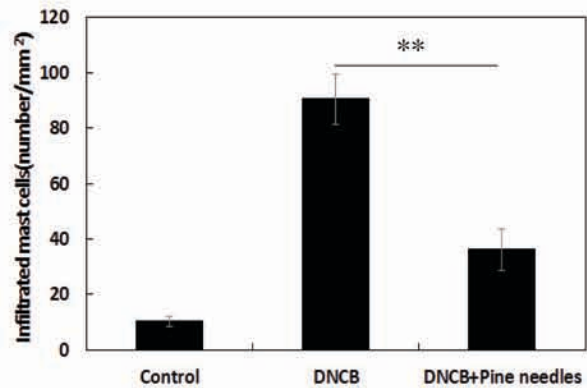


Figure 8. Change of infiltrated mast cell number in mice skin treated with DNCB, DNCB+Pine needles extracts. (** $p < .01$).

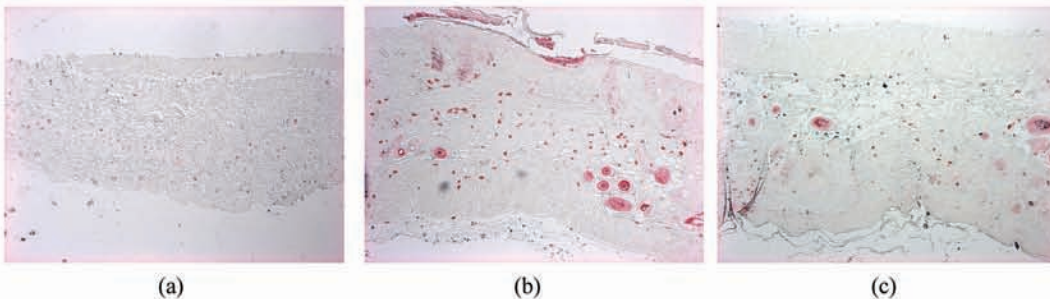


Figure 7. Histological features($\times 100$) of mast cell infiltration in dermis of mice skin. (a) Control (b) DNCB treated (c) DNCB+Pine needles extract treated.

알레르기의 주역 중 하나인 비만세포의 개수는 DNCB를 감작시킨 군에서 90.6 ± 9.13 으로 정상대조군의 10.2 ± 1.92 보다 기하급수적인 증가를 보였으나, 솔잎 추출물 처리 후 36.17 ± 7.57 로 그 수가 현저히 감소하여 솔잎 추출물 처리가 아토피 피부염을 완화시킨 것을 알 수 있다.

4. 결 론

본 연구의 목적은 솔잎 추출물의 아토피 피부염 치료 효과를 갖는 천연염료로서의 적용 가능성을 알아보기 위한 것이다. 아토피 피부질환에 대한 솔잎 추출물의 효과를 알아보기 위하여 본 연구에서는 인체 아토피피부염과 유사한 피부 병변을 DNCB로 유발시킨 NC/Nga 마우스의 피부에 솔잎 추출물을 도포하고, 피부 병변 및 혈청 내 총 IgE 농도변화, 두께변화, 비만세포(mast cell)의 개수를 확인하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 솔잎 추출물을 처리한 군이 단독 DNCB만 처리한 군에 비하여 NC 마우스 score 등급이 낮게 나타나 아토피피부염 유사 병변의 발현 억제 효과를 나타내었다.
2. 솔잎 추출물을 처리한 실험군에서는 단독 DNCB만 처리한 군에 비하여 유의한 IgE의 감소를 유도하였다.
3. 솔잎 추출물을 처리한 실험군에서는 단독 DNCB만 처리한 군에 비하여 표피의 두께가 얇게 측정되었고, 비만세포의 개수가 감소하였다.
4. 이상의 결과는 인체 아토피피부염과 유사한 피부 병변을 유발시킨 NC/Nga 마우스에 솔잎 추출물을 피부 도포 했을 때 아토피피부염의 피부 병변을 호전시킬 수 있는 가능성이 있음을 확인하였으므로 솔잎 추출물은 아토피 피부염 치료 효과를 갖는 천연염료로서의 적용이 가능할 것으로 판단된다.

감사의 글

본 연구는 교육과학기술부와 한국연구재단의 기초연구사업(과제번호:2010-0017295) 지원으로 수행되었음.

참고문헌

1. C. E. Kim, D. G. Byun, H. C. Eun, and Y. K. Kim, "Dermatology in Korean Dermatological Association (Ed.), Eczema 4th ed.", Ryo Moon Gak, Seoul,

pp.154-183, 2001.

2. F. Rousset, J. Rorbert, M. Andary, J. Bonnin, G. Souillet, I. Chrétien, F. Brière, J. Pène, and J. de Vries, Shifts in Interleukin-4 and Interferon- γ Production by T cells of Patients with Elevated Serum IgE Levels and the Modulatory Effects of these Lymphokines on Spontaneous IgE Synthesis, *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, **87**(1), 58(1991).
3. J. Suh, Natural History of Cow's Milk Allergy in Children with Atopic Dermatitis, M.S. Thesis, Sungkyunkwan University, 2011.
4. [http://www.cdc.go.kr/Indoor environment management](http://www.cdc.go.kr/Indoor%20environment%20management) is a shortcut to prevent allergic diseases, 2012.2.16.
5. J. H. Kim, H. Kim, C. W. Park and C. H. Lee, Quality of Life in Adults with Atopic Dermatitis, *Korean Journal of Dermatology*, **49**(11), 983(2011).
6. J. B. Lee, Y. H. Rha and S. H. Choi, A Questionnaire Survey of Care-givers Understanding Atopic Dermatitis, *Korean Journal of Asthma, Allergy and Clinical Immunology*, **29**(3), 179(2009).
7. E. Y. Chang, S. W. Chung, K. M. Ahn and S. I. Lee, A Study on the Use of Complementary Alternative Medicine in Children with Atopic Dermatitis, *Korean Journal of Asthma, Allergy and Clinical Immunology*, **25**(2), 110(2005).
8. S. H. Han, N. R. Y. Woo, S. D. Lee and M. H. Kang, Antioxidative and Antibacterial Activities of Endemic Plants Extracts in Korea, *Korean Journal of Medicinal Crop Science*, **14**(1), 49(2006).
9. J. Y. Kim, M. S. Jeong, S. E. Choi, J. Y. Kim, K. Y. Park, K. H. Park, D. I. Lee, S. S. Joo, C. S. Lee, H. Bang, M. Lee, Y. W. Choi, M. W. Lee, and S. J. Seo, The Effects of Acer Ginnala Leaves Extraction on the Atopic Dermatitis-like Skin Lesions in NC/Nga Mice, *Korean Journal of Dermatology*, **48**(11), 913(2010).
10. Y. H. Joo, C. H. Won, J. Y. Kim, K. H. Cho, K. U. Min, and K. H. Kim, Developing an Atopic Dermatitis Model and the Effects of Actinidia Extract on Dermatitis in NC/Nga Mice, *Korean Journal of Dermatology*, **47**(10), 1105(2009).
11. B. A. Kim, M. S. Kim, B. M. Kang, S. H. Byeon, I. H. Park, J. H. Park, J. W. Jung, E. M. Ahn,

- H. A. Jung, J. H. Jang, W. Bae, H. Y. Lee, P. N. Choi, and C. I. Park, Inhibitory Studies of Hwangryunhaedok-tang on Development of Atopic Dermatitis in NC/Nga Mice, *Korean Journal of Herbology*, **23**(2), 59(2008).
12. M. Kotani, M. Matsumoto, A. Fujita, S. Higa, W. Wang, M. Suemura, T. Kishimoto, and T. Tanaka, Persimmon Leaf Extract and Astragalin Inhibit Development of Dermatitis and IgE Elevation in NC/Nga Mice, *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, **106**(1), 159(2000).
 13. H. Lee, G. Kang, W. Yoon, H. Kang, Y. Kim, S. Kim, and E. Yoo, Anti-inflammatory Effect of Unripe Fruit of Citrus Frandis Osbeck in RAW 264.7 and HaCaT Cells, *Korean Journal of Pharmacognosy*, **37**(2), 74(2006).
 14. W. Jung and J. Jeong, Change of Antioxidative Activity at Different Harvest Time and Improvement of Atopic Dermatitis Effects for Persimmon Leaf Extract, *Korean Journal of Herbology*, **27**(1), 41(2012).
 15. D. Park and Y. U. Kim, Screening of Anti-atopic Dermatitis Material by using NC/Nga Mouse Whole Blood System, *Immune Network*, **8**(2), 98(2008).
 16. Y. Jang, Y. Choi, H. Lee, M. Tak, W. S. Lyoo, and J. Jang, Color Deepening and Antimicrobial Finish in the Dyeing of Cotton Fabrics using *Rhus Verniciflua* Extract, *Textile Coloration and Finishing(J. Korean Soc. Dyers & Finishers)*, **23**(1), 28(2011). <http://dx.doi.org/10.5764/TCF.2011.23.1.28>.
 17. E. Im and H. Lee, A Study on Function of Natural Dyeing with Cotton Fabrics using Jeju Scoria, *Textile Coloration and Finishing(J. Korean Soc. Dyers & Finishers)*, **23**(3), 179(2011). <http://dx.doi.org/10.5764/TCF.2011.23.3.179>.
 18. Y. H. Park, A Study on the Functionality of the Fabrics Dyed with Pine Needles Extract (1), *Journal of the Korean Society of Costume*, **56**(2), 147(2006).
 19. Y. H. Park, A Study on the Antibacterial Activity and Deodorization of Fabrics Dyed with Pine Needles Extract, *Journal of Fashion Business*, **14**(1), 176(2010).
 20. M. S. Joen and M. J. Park, Dyeing Properties of the Fabrics Dyed with Pine Needles Extract, *The Research Journal of the Costume Culture*, **17**(6), 1129(2009).
 21. M. S. Joen and M. J. Park, Components of Pine Needles Extract and Functionality of the Dyed Fabrics, *The Research Journal of the Costume Culture*, **18**(2), 371(2010).
 22. H. J. Woo and J. S. Lee, Dyeability and Functionality of Pine Needles Extract (Part 1) -Characteristics of Pine Needles Extract and Dyeing Properties of Cellulose Fiber-, *Journal of the Korean Society of Clothing and Textiles*, **35**(2), 218(2011).
 23. H. J. Woo and J. S. Lee, Dyeability and Functionality of Pine Needles Extract (Part 2) -Dyeing Properties of Protein Fiber-, *Journal of the Korean Society of Clothing and Textiles*, **35**(4), 466(2011).
 24. J. H. Kuk, S. J. Ma and K. H. Park, Isolation and Characterization of Benzoic Acid with Antimicrobial Activity from Needle of Pinus densiflora, *Korean Journal of Food Science and Technology*, **29**(2), 204(1997).
 25. H. J. Chung, G. H. Hwang, M. J. Yoo and S. J. Rhee, Chemical Composition of Pine Sprouts and Pine Needles for the Production of Pine Sprout Tea, *Journal of the Korean Society of Dietary Culture*, **11**(5), 635(1996).
 26. J. H. Seo, Y. J. Jeong and K. S. Kim, Physiological Characteristics of Tannins Isolated from Astringent Persimmon Fruits, *Korean Journal of Food Science and Technology*, **32**(1), 212(2000).
 27. D. H. Song, Anti-atopic Effect in NC/Nga Mouse by Oxymatrine, Matrine, Trifolirhizin, Kurarinone of Sophora Flavescens Solander ex Aiton, Ph.D. Thesis, Konkuk University, 2010.
 28. C. Vestergaard, H. Yoneyama, M. Murai, K. Nakamura, K. Tamaki, Y. Terashima, T. Imai, O. Yoshie, T. Irimura, H. Mizutani, and K. Matsushima, Overproduction of The-specific Chemokines in NC/Nga Mice Exhibiting Atopic Dermatitis-like Lesions, *Journal of Clinical Investigation*, **104**(8), 1097(1999).
 29. A. Hennino, M. Vocanson, Y. Toussaint, K. Rodet, J. Benetière, A. Schmitt, M. Aries, F. Bérard, A. Rozières, and J. Nicolas, Skin-Infiltrating CD8+ T Cells Initiate Atopic Dermatitis Lesions, *The Journal of Immunology*, **178**(9), 5571(2007).

30. W. Kim, C. Y. Choi, M. Jang and J. Nah, Anti-bacterial and Immune Activities of Mixture of Oligochitosan and Herbal Honey, *Journal of Chitin Chitosan*, **16**(2), 98(2011).
31. S. Matsukura, M. Aihara, T. Hirasawa and Z.

Ikezawa, A Effects of TNCB Sensitization in DS-Nh Mice, Serving as a Model of Atopic Dermatitis, in Comparison with NC/Nga Mice, *International Archives Allergy and Immunology*, **136**(2), 173(2005).