

BALB/c 마우스에서 Ovalbumin으로 유발된 아토피피부염 양 병변에 Dehydroepiandrosterone의 경구투여가 미치는 영향

전남대학교 의과대학 ¹피부과학교실, ²알레르기학교실

원준호¹ · 김성진¹ · 최인선² · 원영호¹

Effect of DHEA Ingestion on Atopic Dermatitis-like Lesion in BALB/c Mice Sensitized by Ovalbumin

June-Ho Won¹, Seong-Jin Kim¹, Inseon S. Choi² and Young-Ho Won¹

Departments of ¹Dermatology, ²Allergy, Chonnam National University Medical School, Gwangju, Korea

Background: Atopic dermatitis (AD) is a chronic cutaneous inflammatory disorder. Dehydroepiandrosterone (DHEA) is a sex hormone normally secreted from the adrenal gland and is used to treat various disorders. It decreases in the serum of AD patients and is known to attenuate dust mite-induced airway allergic responses associated with reduced Th2 cytokine.

Objective: The authors attempted investigate the effect of DHEA on AD-like skin lesions by reviewing the cytokine profile and specific IgE production in BALB/c mice sensitized with ovalbumin (OVA).

Method: Mice were sensitized by intraperitoneal injection of OVA, followed by epicutaneous sensitization for 5 weeks. DHEA was given by the oral route. After all mice

were sacrificed at the end of the experiment, skin, spleen tissue and blood were harvested.

Result: Gross and histological examinations of skin lesions showed inflammation. The severity was mild or absent in DHEA-ingested mice and the number of inflammatory cells was significantly reduced. The IL-5 levels in the cultured splenocytes significantly decreased in the sensitized mice than in the control group. The IFN- γ /IL-5 ratio significantly increased in the sensitized mice.

Conclusion: DHEA ingestion may suppress OVA-induced AD-like skin lesions and prevents the cytokine production of Th2 cells. (Korean J Asthma Allergy Clin Immunol 2009;29:269-276)

Key words: Atopic dermatitis, Dehydroepiandrosterone, Mice, Ovalbumin

서 론

아토피피부염은 심한 가려움증을 동반하는 만성 재발성 피부염 증 질환이다. 그리고 면역기전과 관련된 습진성 질환으로 간주되지만, 피부장벽기능의 장애, 알레르기 반응, 유전학적 경향이 관련된 복합적인 질환이다. 그러나 아토피피부염에 대한 근본적인 원인과 치료는 아직 확실치 않으며, 특히 아토피피부염에 대한 다양한 치료가 개발되고 있지만, 아직 어떠한 것도 만족스러운 것은 없다.¹⁾

Dehydroepiandrosterone (DHEA)은 부신에서 분비되는 성 호

이 논문은 전남대학교병원 임상의학 연구소의 연구비 지원으로 이루어졌음.

책임저자 : 원영호, 광주시 동구 제봉로 671

전남대학교병원 피부과, 우: 501-757

Tel: 062) 220-6681, Fax: 062) 222-4054

E-mail: yhwon@chonnam.ac.kr

투고일: 2009년 3월 13일, 심사일: 2009년 10월 2일

게재확정일: 2009년 10월 7일

르몬으로서 말초에서 androgen과 estrogen으로 변하여 작용하여 노화, 만성질환, 골다공증 등에 이로운 효과를 보인다.^{2,3)} 이 외에도 DHEA는 T helper (Th) 1과 Th2 림프구 관련 사이토카인의 생산에 관여하여 알레르기, 자가면역질환에서도 질병의 발생과 악화를 억제 또는 방어 한다는 많은 보고가 있다.³⁻⁷⁾ 일부에서는 아토피피부염과 천식, 만성 담마진 환자 등에서 DHEA의 혈중 농도가 저하되어 있다는 보고도 있다.^{8,9)}

대표적 알레르기 질환인 천식의 동물실험에서 Yu 등⁶⁾은 집먼지 진드기에 의해 유발된 호흡기 알레르기 반응이 DHEA에 의하여 완화되며 그 정도는 Th2 사이토카인 감소에 비례한다고 하였다. 또 다른 최근의 연구는 BALB/c 쥐에서 BCG와 DHEA의 처치에 의해 기관지 과민성이 감소하며 감소 정도에 비례하여 Th2 사이토카인의 생성이 억제됨을 관찰하였다.¹⁰⁾ 그러나 아토피피부염을 대상으로 DHEA에 대한 연구는 매우 적으며, 제한되어있다. Sudo 등¹¹⁾은 환경의 변화에 의하여 아토피피부염이 유발되는 NC/Nga 마우스에서

DHEA가 혈중 총 IgE와 IL-6의 증가를 완화시킨다고 하였으나, 아직까지 경피 감작으로 유발된 아토피피부염을 대상으로 DHEA의 효과가 연구된 바는 없다. 아토피피부염의 동물 실험 방법은 다양하지만, 특징적인 Th2 면역반응과 습진양 병변을 일으킬 수 있는 간편한 방법 중 가장 적합한 것은 경피 감작법이다.¹²⁾ 따라서 저자들은 BALB/c 생쥐를 이용하여 유발된 아토피피부염에서, DHEA가 피부 병변 발생에 미치는 효과 및 Th1과 Th2 사이토카인, 그리고 특이 IgE의 생산에 미치는 효과를 보고자 연구를 시행하였다.

대상 및 방법

1. 실험동물과 DHEA의 투여

생후 6주된 암컷 BALB/c 마우스(대한 BioLink, 음성, 한국)를 구입하여, 전남대학교 의과대학연구소 동물 사육실에서, 전남대학교 의과대학연구소 연구심의회의 규정에 따라 사육하여 연구에 사용하였다. 실험동물은 3개의 집단으로 구분하였다. 즉 대조군, 피부염 유발군, 피부염 유발군에서 DHEA 복용한 3군으로 구분하고 각 집단에 5마리씩 분배하였다. DHEA 복용은 다음과 같이 하였다. 표준사료에 DHEA (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA)를 혼합하여 복용 시켰으며, 농도는 이전 실험의 결과에 근거하여, DHEA 0.01% (w/w)로 하였다.¹⁰⁾ 예비실험에서 대조군과 DHEA 투여군 모두 1일 먹는 사료의 양이 평균 3.53 g으로 차이가 없었으며, 대상 동물의 평균 체중은 17.8 g이었고 0.01% DHEA 투여군의 DHEA 1일 섭취량은 약 20 mg/kg이었다. 그리고 표준사료에 혼합된 DHEA를 섭취한 집단과 그렇지 않은 집단 사이에 몸무게의 유의한 차이가 없었다.

2. Ovalbumin (OVA)와 경피 감작에 의한 피부염 유발

Ovalbumin에 의한 피부감작은 복강 내 주사와 병용하여 실험 종료 시까지 시행하였으며, 전반적인 감작일정은 Fig. 1과 같다(Fig. 1). Ovalbumin (Grade V; Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) 20 µg과 2.25 mg aluminum hydroxide (Imject Alum; Pierce

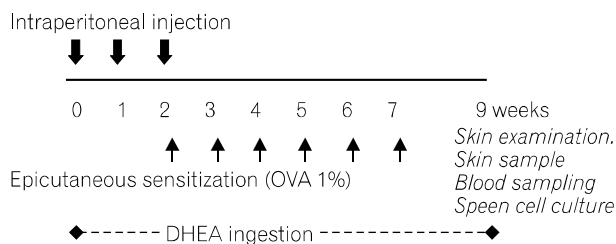


Fig. 1. Schematic representation of the study design and schedule. OVA = ovalbumin; DHEA = dehydroepiandrosterone.

Biotechnology, Rockford, USA)을 포함한 200 µg 수용액을 3군의 쥐에 1주 간격으로 3차례 복강 내에 주사하였다. 이후 5주간 Wang 등¹²⁾의 방법에 따라 피부감작을 시행하였다. 약술하면, 전기면도기로 쥐 등쪽의 피부털을 깎은 후에 면도한 부위에 항원이 잘 흡수되도록 Durapore[®] (3M, Maplewood, USA)로 3회 스트립핑하여 잔털을 제거하고 손상을 만들었다. 위의 과정을 거친 마우스의 등 피부에, 정상 생리식염수 100 µL 당 100 mg OVA를 녹여서 20 mM OVA 용액을 흡수시킨 1×1 cm² 크기의 소독된 거즈를 Tegaderm[®] (Johnson and Johnson Medical Inc., Arlington, USA)을 이용하여 부착시켰다. 이 과정을 1주에 2차례씩 시행하였다.

3. 피부의 육안 및 조직학적 연구

실험의 종료 시점에 모든 쥐를 ethyl ether (Mallinckrodt Baker, Phillipsburg, USA)로 흡입 마취를 시킨 후 육안 관찰을 위해 사진촬영을 하고 피부조직 시료를 2군데에서 채취한 후 심장 천자를 통해 채혈하여 희생시켰다. 피부 조직 채취는 등의 첩포 부착 부위와 첩포 부위 가장자리에서 5 cm 이상 거리가 있는 정상 피부에서 각각 시행하였다. 사진을 이용하여 2명의 평가자가 피부염의 중등도에 대해 평가하였으며 일치하지 않을 때에는 제3의 평가자에게 의뢰하였다. 채취한 조직은 10% buffered formalin에 고정하고, 파라핀에 포매(embedding)하였다. 4 µm 두께로 절편을 만들고 hematoxylin & eosin (H&E) 염색을 시행하였다. 염증세포 침윤의 정도를 측정하기 위하여 400배율에서 5군데를 선정하여 모든 염증세포를 세어, 필드 당 세포 수(cells/HPF)를 평균과 표준편차로 표현하였다.

4. 사이토카인 및 OVA 특이 IgE 측정

실험 종료 시에 채취한 혈액에서 분리한 혈청과, 비장을 적출하여 얻은 염증세포에서 사이토카인 분비를 측정하였다. 비장 조직은 Rosewell Park Memorial Institute-1640 (BioWhittaker, Walkersville, USA), 10% fetal bovine serum (FBS; BioWhittaker), 1% penicillin-streptomycin-amphotericin B mixture (BioWhittaker)로 이루어진 배양액에서 조직을 수술용 칼로 찢어 채취하였다. 이 조직을 세포농도가 1×10⁶ cell/mL가 되도록 배양한 후 concanavalin A (Sigma-Aldrich) 2.5 µg/mL로 자극한 다음 48시간 배양시켰다. 이 상층액을 -70°C에서 보관 후 ELISA kit (BioSource International, Camarillo, USA)를 이용하여 IFN-γ, IL-4, IL-5를 정량하였다.

혈청의 OVA 특이 IgE의 측정을 위해 실험종료 시기에 채취한 혈액을 2,000 rpm으로 약 10분간 원심 분리한 다음 혈청을 얻어 -20°C 이하에서 냉동보관 하였다. ELISA Plate (Maxisorp[™]; Nunc, Roskilde, Denmark)에 20 µg/mL 농도로

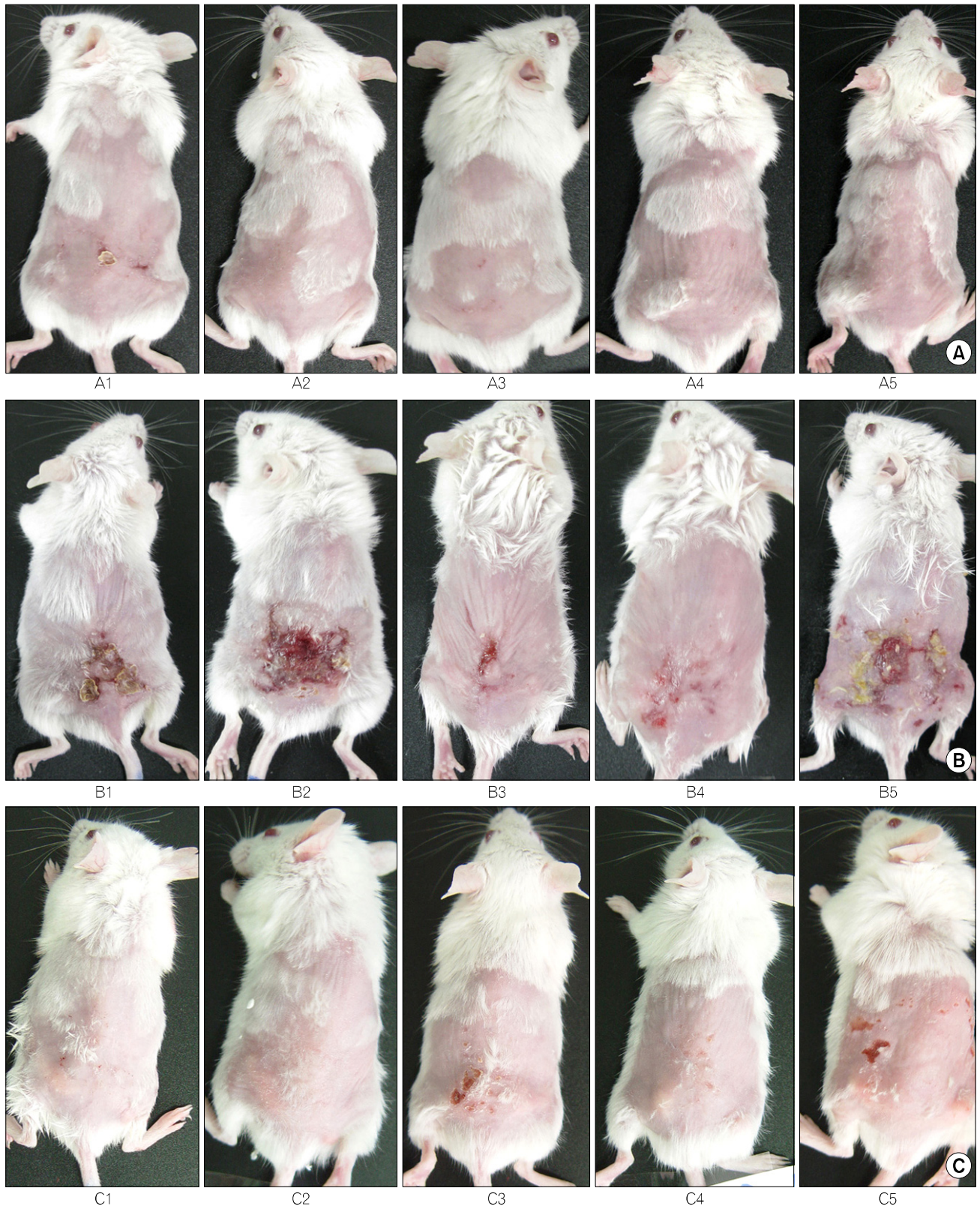


Fig. 2. Photographs of the mice at the end of experiment. Oozing and crusted skin lesion were formed on the patch area in all mice of group B (dermatitis induced group), however the skin lesions were mild or absent in both group C (DHEA ingested group) and normal control (group A).

OVA를 녹인 carbonate/bicarbonate 완충액(pH 9.5)을 100 μ L씩 분주하여 4°C에서 12시간 이상 부착시켰다. 그 후 phosphate buffered solution with tween 20 (PBST)로 3회 세척한 다음, 혈청을 PBST에 1 : 20으로 희석하여 micro-ELISA plate의 각 well에 100 μ L씩 분주하여 36°C에서 2시간 반응시켰다. 다시 plate를 꺼내서 PBST로 3회 세척 후 PBS에 1 : 100으로 희석된 peroxidase conjugated anti-mouse IgE (Sigma-Aldrich)를 micro-ELISA plate의 각 well에 100 μ L씩 분주한 후, 37°C에서 2시간 반응시켰다. 그 후 다시 PBST로 3회 세척한 다음 ortho-phenylene-diamine (Sigma-Aldrich)을 기질로 하여 20분 발색시킨 후 2.5 M 황산으로 발색반응을 정지시켜 ELISA reader (Thermo; Molecular Devices, Menlo Park, USA)로 492 nm 흡광도를 측정하였다. 각 쥐에서의 OVA 특이 IgE 값은 ELISA 단위

(EU/mL)로 나타냈는데, 표준혈청은 5마리의 BALB/c 생쥐를 대상으로 하여 OVA 20 μ g과 aluminum hydroxide 2.25 mg을 0, 3, 6주째 3회 피하주사하고 7주째에 생쥐의 혈청을 얻어 측정한 OVA 특이 IgE 흡광도 값을 임의로 2,000 EU/mL로 정하였으며, 이 값과 비교하여 각 쥐에서의 OVA 특이 IgE 값을 계산하였다.

통계학적 처리는 마이크로소프트사 엑셀 프로그램을 이용하여 평균과 표준편차를 구하였으며, student t-test를 시행하여, 유의수준을 $P < 0.05$ 로 하였다.

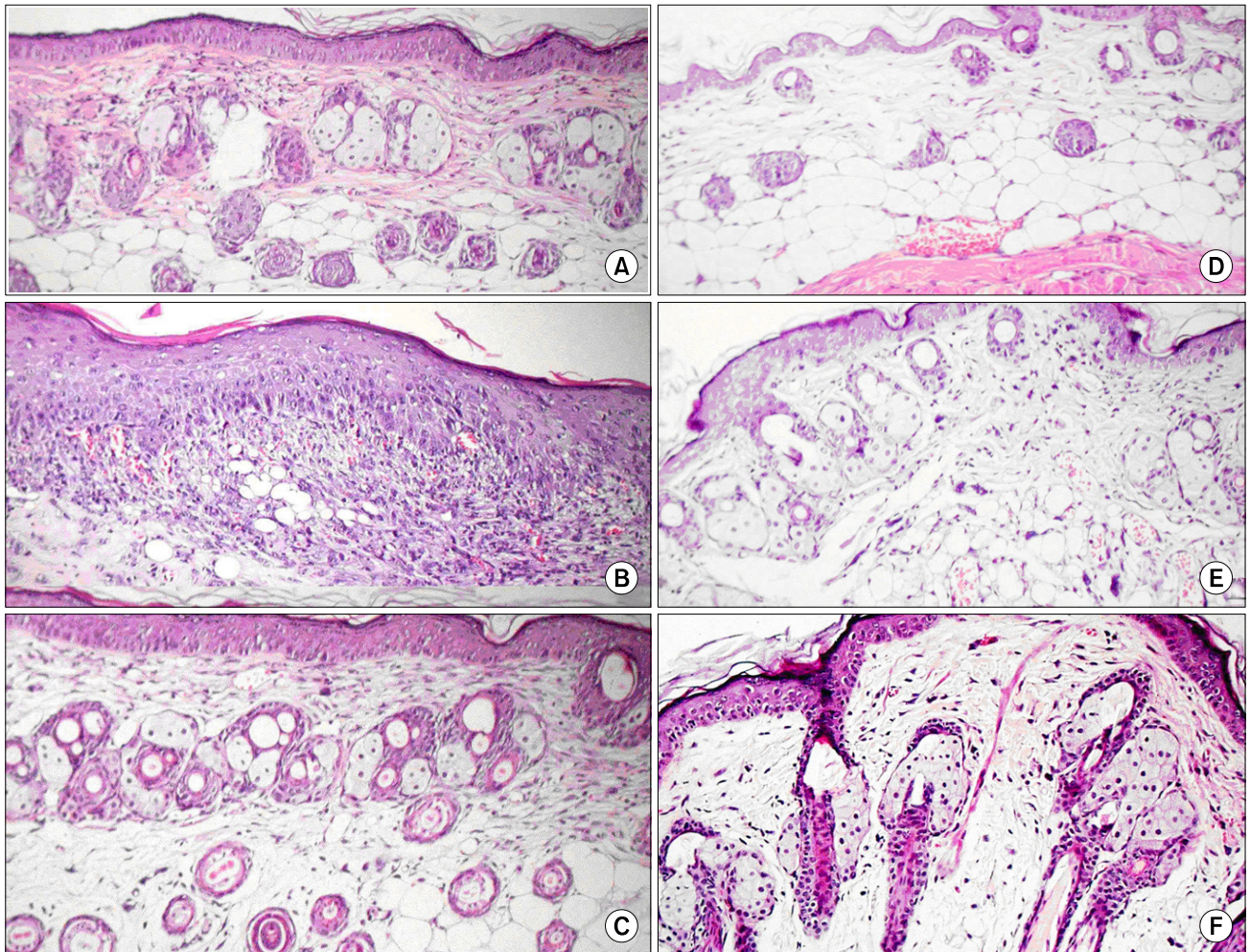


Fig. 3. Histopathology of the mice skin at the end of experiment (H&E $\times 40$). (A, D) Normal control, (B, E) Dermatitis induced group, (C, F) DHEA ingested group. Specimens from patch applied area showed acanthosis and hyperkeratosis in the epidermis, dense inflammatory cell infiltrate and extravasated red blood cells in the dermis (A~C). Severe inflammatory signs were observed in the sensitized skins (B) which it is significantly decreased in DHEA ingested mice skin (C). The skin biopsy taken from outside of the patch (D~F) showed milder inflammatory findings compared to the sensitized sites (A~C).

결 과

1. 육안적 관찰

정상군(Fig. 2A)에서는 육안적으로 보이는 피부염은 관찰되지 않았으며, 피부염 유발군(Fig. 2B)은 항원 철폐 부착 부위에 삼출물과 딱지가 덮여있었으며, 일부에서는 미란 또는 표재성 궤양을 보였다. 반면에 DHEA 0.01%를 섭취하면서 감작을 일으킨 DHEA 섭취군에서는 4개의 실험 동물의 철폐 부위에서 유의한 피부염 소견을 관찰하지 못했으며 1개의 개체에서는 피부염 유발군에 비해 현저히 감소된 피부의 염증 소견을 보였다(Fig. 2C).

2. 조직학적 양상

피부염 유발군의 쥐들에서 경피 감작을 시행한 철폐 부위의 피부생검 조직은 심한 염증 소견을 보였다(Fig. 3). 상피에서 극세포증(acanthosis)과 과각화증이 현저한 만성 피부염의 소견과 표피 내 세포침윤과 해면화(spongiosis)가 현저한 급성 피부염의 소견이 모두 관찰되었다. 진피 역시 혈관의 확장, 부종, 적혈구 삼출(extravasation), 다양한 정도의 염증세포 침윤을 보였다. 염증세포는 주로 단핵구로 구성되어 있었으며,

Table 1. Number of inflammatory cells in the biopsy specimen

	Group A	Group B	Group C
Patch area	225.5±49	342.7±60*	220.7±50 [†]
Outside of patch	134.3±19	145.5±56	163.8±19

Cells per 400× field, Mean±SE; Group A = normal control; Group B = dermatitis induced; Group C = DHEA ingested. * $P<0.05$ compared with group A; [†] $P<0.05$ compared with group B.

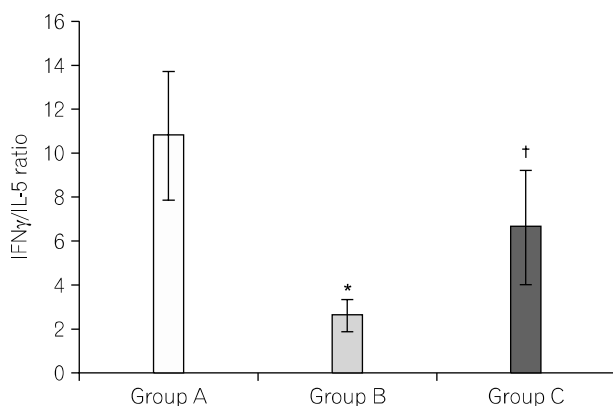


Fig. 4. The graph for IFN- γ /IL-5 ratio in the supernatants of cultured splenocytes. Group A = normal control; Group B = dermatitis induced group; Group C = DHEA ingested group; * $P<0.05$ compared with group A; [†] $P<0.05$ compared with group B.

심한 경우에 섬유화도 관찰되었다(Fig. 3B). DHEA 섭취군에서는 유의하게 저하된 염증 소견을 보였다(Fig. 3C). 400배 현미경으로 집계한 평균 염증세포의 수는, 정상군이 225.5±49 cells/HPF인 반면에 피부염 유발군에서는 342.7±60 cells/HPF로 유의한 증가를 보였다. 그리고 DHEA 섭취군에서는 220.7±50 cells/HPF로 염증세포의 침윤이 유의 있는 감소를 보였다(Table 1).

철폐가 부착된 주변부의 생검에서는 전반적으로 염증세포가 크게 감소되어 있었다. 피부염 유발군의 일부에서는 심한 진피 혈관의 확장 및 부종 소견을 보였다. 염증세포의 수는 정상군(134.3±19)보다 피부염 유발군(145.5±56)과 DHEA 섭취군(163.8±19)에서 각각 평균값의 증가를 보였으나, 통계적인 차이를 보이지는 않았다.

3. 사이토카인 생산과 혈청 OVA 특이 IgE 측정

비장세포의 배양에 concanavalin A (2.5 μ g/mL) 자극 후 측정된 INF- γ 는 정상군이 649.1±31.1 pg/mL인데 반하여 피부염 유발군(413.3±65.1 pg/mL)과 DHEA 섭취군(406.4±46.9 pg/mL)에서 각각 유의한 감소를 보였다.

IL-5는 정상군의 54.5±20.6 pg/mL와 비교할 때 피부염 유발군에서 104.6±35.2 pg/mL로 통계적 유의한 증가를 보였다($P<0.05$). DHEA 섭취군에서는 50.9±23.2 pg/mL로 정상군과 유사한 수치를 보였으며, 피부염 유발군에 비하여 의미있는 감소를 보여 DHEA가 IL-5의 감소에 관여함을 시사하였다.

IL-5에 대한 INF- γ 의 비는 정상 대조군(10.73±2.9)에 비해 피부염 유발군(2.57±0.7)에서 의미있게 감소되어 있었다(Fig. 4). DHEA 섭취군에서는 6.61±2.6으로 피부염 유발군에 비해 INF- γ /IL-5의 값이 감소되어 있었다. Concanavalin A 자극 전의 상층액과 혈청 내의 사이토카인은 지나치게 소량이었어서

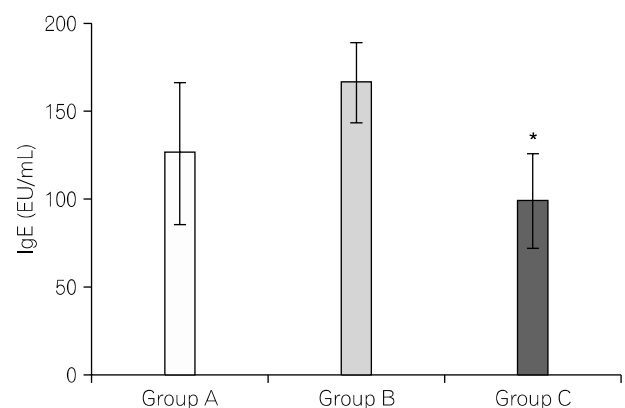


Fig. 5. The graph of ovalbumin-specific IgE concentration (EU/mL) in group A (normal control), group B (dermatitis induced group), and group C (DHEA ingested group). * $P<0.05$ compared with B.

정량하지 못하였다.

혈청의 OVA 특이 IgE (Fig. 5)는 정상에서 125.9 ± 40 EU/mL 인데 반하여, 피부염 유발군에서 165.9 ± 23 EU/mL로, 증가소견을 보였으나, 의미 있는 차이는 아니었다. DHEA 섭취군은 98.7 ± 27 EU/mL로 피부염 유발군에 대하여만 유의하게 감소하였다.

고 찰

습진의 대표적 질환인 아토피 피부염은 병인 및 예후가 불분명하며 치료결과 역시 만족스럽지 못하다.^{1,13)} DHEA와 그 활성 대사물인 DHEA sulfate (DHEAS)는 약한 androgenic 활성도를 띄며, 혈중에서 가장 높은 농도의 부신 호르몬이다.³⁾ 이들이 작용하는 조직의 말초에는 각각의 고유한 전환효소와 수용체가 존재하여 각각 특이적인 생물학적 효과를 보이며 피부의 다양한 조직들도 호르몬에 따라서 구조 및 생리적인 변화가 서로 다르게 나타난다.^{14,17)}

사람에서 DHEA 투여 시 얻어지는 효과는 다양하게 연구되어 보고되어 있으며 현재에도 지속적으로 연구되고 있다.^{15,16,18)} 최근 연구에서 Matsuda 등¹⁹⁾은 DHEA 전처치를 시행한 동물실험에서 패혈증으로 억제된 toll-like receptor (TLR)-2와 TLR-4 발현이 정상적으로 복구되는 것을 관찰하여, DHEA가 선천면역의 증강에도 관여할 것이라고 주장하였다. 이와 같이 DHEA와 DHEAS의 임상적 기능은 다양하게 알려져 있지만 정확한 작용기전은 아직은 확실치 않다.²⁰⁾

DHEA를 비롯한 성호르몬은 면역기능과 염증에 중요한 역할을 하지만, 면역세포들의 사이토카인 분비와 면역반응에 미치는 효과 및 기전은 아직도 많은 연구가 이루어지고 있는 분야이다. 생리적으로 분비되는 수준의 적은 양의 glucocorticoids는 마우스 T세포의 IL-4의 분비를 항진시키고 IL-2의 분비를 감소시키는 Th2 사이토카인 유도작용을 하지만, 고농도의 DHEA 또는 DHEAS 투여는 항원이나 mitogen에 대한 림프구의 IL-2의 분비를 증가시켜 glucocorticoid에 의한 IL-2 분비 억제를 정상화시킨다.^{7,21)} 사람의 말초혈액 단핵구의 사이토카인의 분비도 호르몬의 영향을 받으며, 특히 IFN- γ 의 분비는 DHEAS의 농도와 밀접한 관련을 보인다.⁸⁾

본 실험과 같은 BALB/C 마우스를 이용한 실험에서 Araghi 등²²⁾은 DHEA가 leukemia retrovirus 감염 쥐에서, IL-2와 IFN- γ 감소를 방지하고, IL-6와 TNF α 의 분비를 억제하는 등 비정상적인 사이토카인 분비를 예방하며, 정상에서도 IL-2와 IFN- γ 의 생산을 항진시킨다고 하였다. 이러한 결과는 피부염을 유발한 군보다 DHEA를 복용한 군에서 IFN- γ 의 감소 폭이 줄어든 본 실험의 결과와 유사하다.

쥐의 비장에 DHEA를 처리한 후 in vitro로 관찰한 실험에

서는 mitogen에 의해 유발되는 IL-1과 IL-2, IFN- γ 등의 Th1 사이토카인의 분비를 유의 있게 억제하며, 고농도에서 Th2 사이토카인인 IL-10의 생산을 증가시켰으나 IL-4, TNF- α , IL-6 등에는 영향이 없었다.^{24,25)} 즉 DHEA는 일부 Th2 사이토카인의 생산은 증가시키는 반면, Th1 반응과 전염증성 사이토카인들은 억제 하였는데 본 실험의 IFN- γ /IL-5 값 감소와 다른 결과를 보인 것이다. 이러한 차이는 in vitro로 고농도 DHEA를 처리하여 시행한 실험이기 때문에 발생한 것으로 보인다.

다른 연구에서는 남성 아토피피부염 환자 47명에서 DHEA의 혈청치가 같은 집단의 정상 남자에 비하여 유의 있게 감소되었음을 확인하였고, DHEA 처치를 시행한 인간 말초혈액의 단핵구에서 concanavalin-A에 의한 IL-4와 IL-5의 생산이 억제됨을 보고하였다.^{26,27)} 즉, DHEA의 감소가 이들 아토피 피부염 환자에서 IgE의 생산과 호산구의 증식에 관여하는 중요한 인자가 되었을 것으로 생각된다. 그렇기 때문에 DHEA를 섭취한 감작된 쥐의 비장세포에서 concanavalin-A의 자극에 의한 IL-5의 생산이 감작만을 시행한 실험군에 비해 크게 억제되고 INF γ 는 유의하게 증가한 것으로 보인다.

아토피 질환은 면역병리기전에 있어서, 우세한 Th2 면역 반응의 결과로서 발생하며, 우세한 Th1 면역반응으로 발생되는 tuberculin 양성반응이 높을수록 소아의 아토피 질환의 발생빈도가 낮다.²⁸⁾ 따라서 아토피 질환의 면역학적인 불균형을 수정하기 위하여, Th1 림프구의 반응을 유도하는 Mycobacterium 감염과 BCG (Bacillus Calmette-Guerin) 주사의 유용성에 대한 여러 연구가 시행되었다. DHEA 역시 사이토카인의 분비에 많은 영향을 주기 때문에, 아토피 질환에서 그 유용성에 대한 연구가 많다. 암컷 BALB/c 마우스에서 집먼지 진드기로 유발된 알레르기 천식 모델에서, DHEA가 Th2 면역반응을 억제하고 천식을 완화시킨다고 하였다.⁶⁾ 최근에 저자들도 BALB/c 마우스에서 난황의 피하주사로 천식을 유도한 후에, 면역조절 작용을 가진 BCG와 DHEA를 각각 투여하였을 때는 의미있는 억제작용을 발견하지 못하였으나 동시에 투여할 때 기관지 과민성이 억제됨을 보고하였다.²⁹⁾

사람의 아토피피부염의 연구에는 BALB/c, NC/Nga, C3H/HeJ, C57BL/6 마우스 등의 다양한 동물 모델들이 이용된다.^{19,22)} 이들 동물에서 외부환경의 변화, 또는 난황, 집먼지진드기 등의 항원, Glutathion S-transferase, CpG oligodeoxynucleotide 등의 복강 내 또는 피하 주사로 유발된다. 본 실험에서도 사용한 경피감작(epicutaneous sensitization)은 Wang 등³⁰⁾이 1996년 BALB/c 쥐에서 처음 기술하였는데, 단핵항원을 직접 피부에 도포하는 방법이다. 이 방법을 통해 복강이나 피하주사 보다 현저한 특이 IgE항체의 생산과 림프구의 IL-4 생산 증가와 INF- γ 감소를 보였다고 하였다.²³⁾ 최근에 동일한

방법으로 감각된 쥐의 피부병변에서 특징적 CD3+T세포, 호산구, 호중구의 침윤이 관찰되었고 IL-1 β , TNF- α , IL-4, IL-10, INF- γ 의 mRNA 표현이 증가되는 특징적인 아토피피부염 소견을 나타남이 보고되었다. 같은 방법으로 암컷 BALB/c 마우스에서 난황의 경피감작 만으로 Th2 면역반응을 보이는 천식과 피부염이 동시에 유도하였다.³¹⁾

본 실험에서는 실험 초기에는 경피감작만을 시행하였으나 난황에 의한 피부 감작 보다 자극에 의한 피부염이 선행되어 BALB/c 마우스에 처음 2주간의 복강 내 주사 후에, 경피감작을 하여 비교적 초기에 감작을 유도할 수 있었다. 이와 같이 빠른 감작이 필요 시 2가지를 병행하면 좋은 결과가 있을 것으로 기대된다. 그리고 이들 마우스는, 난황 특이 IgE의 상승과 IL-5 생산의 유의한 증가 그리고 INF- γ 의 감소를 보이는 등의 아토피피부염의 특징적인 Th2 면역반응 소견을 보였다. 조직학적인 침윤세포에 대한 분석은 시행하지 못하였지만, 전형적인 피부염증을 확인하였다. DHEA의 처치에 의하여 IL-5의 감소가 통계적으로 유의하게 억제되었으나, INF- γ 는 큰 변화를 보이지 않아 기존의 연구들과 약간 다른 결과를 보였다. 그러나 Th1과 Th2의 상대적 비율을 중심으로 본다면 DHEA 섭취가 난황으로 유발된 강한 Th2 반응 상태에서 Th2와 Th1 반응의 균형적인 상태가 되도록 염증 반응을 유도하였다. 즉 DHEA는 면역반응의 불균형 상태를 해소하여 아토피피부염의 완화에 기여하는 것으로 보인다. 그리고 육안 및 조직학적 관찰을 통해서도 DHEA가 난황에 의한 아토피피부염 병변의 발생을 크게 완화시키는 것을 관찰하였다.

결론

본 연구는 DHEA의 경구 투여가 아토피피부염에 미치는 영향을 알고자 시행하였다. 난황으로 감작을 시행한 피부염 유도 집단의 마우스들은 항원 부착 부위에 심한 피부염 소견을 보였으나 DHEA를 섭취한 쥐에서는 피부염이 억제되는 것을 육안 및 조직학적 소견으로 확인할 수 있었다. 침윤된 염증세포의 수는 정상군에 비해 피부염 유발군에서 통계적으로 유의하게 증가하였으며 DHEA 섭취 후에는 유의하게 감소 소견을 보였다.

비장세포의 배양에 concanavalin A 자극 후 측정된 INF- γ 는 피부염 유발군에서 정상군 보다 통계적으로 유의한 수준의 감소를 보였다. 반면에 IL-5는 정상군에 비해 피부염 유발군에서 현저한 증가를 보였으며 DHEA 섭취군에서는 피부염 유발군에 비하여 의미있게 감소되었다. IL-5에 대한 INF- γ 의 비율은 정상 대조군의 수치에 비하여 피부염 유발군은 크게 감소된 전형적인 Th2 사이토카인 양상을 보였다. DHEA

섭취군의 IL-5, INF- γ 비율은 정상대조군과 피부염 유발군의 값의 평균과 유사하였다.

이 연구는 DHEA의 섭취가 아토피피부염 양 발진을 효과적으로 억제하며, 또한 Th2 면역반응의 사이토카인의 생산을 억제함을 보였으며 DHEA는 아토피피부염의 발생을 예방하는데 역할을 할 것으로 기대된다. 본 실험의 한계점은 표본 집단이 적다는 것인데, 추후 이를 보완하기 위한 추가 실험이 필요할 것으로 판단된다. 그리고 DHEA의 정확한 작용기전을 파악하기 위해 염증세포의 분석을 포함한 추가적 연구가 진행되어야 할 것으로 생각된다.

참고 문헌

- 1) Leung DY, Boguniewicz M, Howell MD, Nomura I, Hamid QA. New insights into atopic dermatitis. *J Clin Invest* 2004;113: 651-67
- 2) Pepping J. DHEA: dehydroepiandrosterone. *Am J Health Syst Pharm* 2000;15:2048-56
- 3) Dillon JS. Dehydroepiandrosterone, dehydroepiandrosterone sulfate and related steroids: their role in inflammatory, allergic and immunological disorders. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy* 2005;4:377-85
- 4) Daynes RA, Dudley DJ, Araneo BA. Regulation of murine lymphokine production in vivo. II. Dehydroepiandrosterone is a natural enhancer of interleukin 2 synthesis by helper T cells. *Eur J Immunol* 1990;20:793-802
- 5) Verthelyi D, Klinman DM. Sex hormone levels correlate with the activity of cytokine-secreting cells in vivo. *Immunology* 2000;100: 384-90
- 6) Yu CK, Yang BC, Lei HY, Chen YC, Liu YH, Chen CC, et al. Attenuation of house dust mite *Dermatophagoides farinae*-induced airway allergic responses in mice by dehydroepiandrosterone is correlated with down-regulation of TH2 response. *Clin Exp Allergy* 1999;29:414-22
- 7) Van Vollenhoven RF, Engleman EG, McGuire JL. Dehydroepiandrosterone in systemic lupus erythematosus. Results of a double-blind, placebo-controlled, randomized clinical trial. *Arthritis Rheumatism* 1995;38:1826-31
- 8) Kasperska-Zajac A, Brzoza Z, Rogala B. Serum concentration of dehydroepiandrosterone sulfate and testosterone in women with severe atopic eczema/dermatitis syndrome. *J Invest Allergol Clin Immunol* 2007;17:160-3
- 9) Kasperska-Zajac A, Brzoza Z, Rogala B. Lower serum concentration of dehydroepiandrosterone sulphate in patients with chronic idiopathic urticaria. *Allergy* 2006;61:1489-90
- 10) Cui Y, Choi IS, Koh YA, Lin XH, Cho YB, Won YH. Effects of combined BCG and DHEA treatment in preventing the development of asthma. *Immunol Invest* 2008;37:191-202
- 11) Sudo N, Yu XN, Kubo C. Dehydroepiandrosterone attenuates the spontaneous elevation of serum IgE level in NC/Nga mice.

- Immunol Lett 2001;79:177-9
- 12) Wang G, Savinko T, Wolff H, Dieu-Nosjean MC, Kemeny L, Homey B, et al. Repeated epicutaneous exposures to ovalbumin progressively induce atopic dermatitis-like skin lesions in mice. *Clin Exp Allergy* 2007;37:151-61
 - 13) Won YH, Lee SC, Kim SJ, Shin SS. The relationship among disease severity, family history and immunologic analysis in atopic dermatitis. *Korean J Dermatology* 1999;37:1399-406
 - 14) Azzi L, El-Alfy M, Martel C, Labrie F. Gender differences in mouse skin morphology and specific effects of sex steroids and dehydroepiandrosterone. *J Invest Dermatol* 2005;124:22-7
 - 15) Kritz-Silverstein D, von Mühlen D, Laughlin GA, Bettencourt R. Effects of dehydroepiandrosterone supplementation on cognitive function and quality of life: the DHEA and Well-Ness (DAWN). *J Am Geriatr Soc* 2008;56:1292-8
 - 16) Rabkin JG, Ferrando SJ, Wagner GJ, Rabkin R. DHEA treatment for HIV+ patients: effects on mood, androgenic and anabolic parameters. *Psychoneuroendocrinology* 2000;25:53-68
 - 17) Mills SJ, Ashworth JJ, Gilliver SC, Hardman MJ, Ashcroft GS. The sex steroid precursor DHEA accelerates cutaneous wound healing via the estrogen receptors. *J Invest Dermatol* 2005;125:1053-62
 - 18) Tchernof A, Labrie F. Dehydroepiandrosterone, obesity and cardiovascular disease risk: a review of human studies. *Eur J Endocrinol* 2004;151:1-14.
 - 19) Matsuda A, Furukawa K, Suzuki H, Matsutani T, Tajiri T, Chaudry IH. Dehydroepiandrosterone modulates toll-like receptor expression on splenic macrophages of mice after severe polymicrobial sepsis. *Shock* 2005;24:364-9
 - 20) Kroboth PD, Salek FS, Pittenger AL, Fabian TJ, Frye RF. DHEA and DHEA-S: a review. *J Clin Pharmacol* 1999;39:327-48
 - 21) Daynes RA, Araneo BA. Contrasting effects of glucocorticoids on the capacity of T cells to produce the growth factors interleukin 2 and interleukin 4. *Eur J Immunol* 1989;19:2319-25
 - 22) Araghi-Niknam M, Zhang Z, Jiang S, Call O, Eskelson CD, Watson RR. Cytokine dysregulation and increased oxidation is prevented by dehydroepiandrosterone in mice infected with murine leukemia retrovirus. *Pro Soc Exp Biol Med* 1997;216:386-91
 - 23) Suitters AJ, Shaw S, Wales MR, Porter JP, Leonard J, Woodger R, et al. Immune enhancing effects of dehydroepiandrosterone and dehydroepiandrosterone sulphate and the role of steroid sulphatase. *Immunology* 1997;91:314-21
 - 24) Powell JM, Sonnenfeld G. The effects of dehydroepiandrosterone (DHEA) on in vitro spleen cell proliferation and cytokine production. *J Interferon Cytokine Res* 2006;26:34-9
 - 25) Geraciotti TD. DHEA supplementation of systemic glucocorticoids for treatment of poison ivy dermatitis. *Int J Dermatol* 2005;44:974-6
 - 26) Ebata T, Itamura R, Aizawa H, Niimura M. Serum sex hormone levels in adult patients with atopic dermatitis. *J Dermatol* 1996;23:603-5
 - 27) Tabata N, Tagami H, Terui T. Dehydroepiandrosterone may be one of the regulators of cytokine production in atopic dermatitis. *Arch Dermatol Res* 1997;289:410-4
 - 28) Shirakawa T, Enomoto T, Shimazu S, Hopkin JM. The inverse association between tuberculin responses and atopic disorder. *Science* 1997;275:77-9
 - 29) Koh YI, Choi IS, Kim WY. BCG infection in allergen-prensensitized rats suppresses Th2 immune response and prevents the development of allergic asthmatic reaction. *J Clin Immunol* 2001;21:51-9
 - 30) Wang LF, Lin JY, Hsieh KH, Lin RH. Epicutaneous exposure of protein antigen induces a predominant Th2-like response with high IgE production in mice. *J Immunol* 1996;156:4077-82
 - 31) Spergel JM, Mizoguchi E, Brewer JP, Martin TR, Bhan AK, Geha RS. Epicutaneous sensitization with protein antigen induces localized allergic dermatitis and hyperresponsiveness to methacholine after single exposure to aerosolized antigen in mice. *J Clin Invest* 1998;101:1614-22