

건강기능식품 기능성 평가 가이드

(민원인 안내서)

면역과민반응 관련

2020. 9.



식품의약품안전처

식품의약품안전평가원

지침서·안내서 제·개정 점검표

명칭

건강기능식품 기능성 평가 가이드
(면역과민반응 관련)

아래에 해당하는 사항에 체크하여 주시기 바랍니다.

등록대상 여부	☐ 이미 등록된 지침서·안내서 중 동일·유사한 내용의 지침서·안내서가 있습니까?	☐ 예 ☒ 아니오
	☞ 상기 질문에 '예'라고 답하신 경우 기존의 지침서·안내서의 개정을 우선적으로 고려하시기 바랍니다. 그럼에도 불구하고 동 지침서·안내서의 제정이 필요한 경우 그 사유를 아래에 기재해 주시기 바랍니다. (사유 :)	
	☐ 법령(법·시행령·시행규칙) 또는 행정규칙(고시·훈령·예규)의 내용을 단순 편집 또는 나열한 것입니까?	☐ 예 ☒ 아니오
	☐ 단순한 사실을 대외적으로 알리는 공고의 내용입니까?	☐ 예 ☒ 아니오
	☐ 1년 이내 한시적 적용 또는 일회성 지시·명령에 해당하는 내용입니까?	☐ 예 ☒ 아니오
	☐ 외국 규정을 번역하거나 설명하는 내용입니까?	☐ 예 ☒ 아니오
	☐ 신규 직원 교육을 위해 법령 또는 행정규칙을 알기 쉽게 정리한 자료입니까?	☐ 예 ☒ 아니오
☞ 상기 사항 중 어느 하나라도 '예'에 해당되는 경우에 지침서·안내서 등록 대상이 아닙니다. 지침서·안내서 제·개정 절차를 적용하실 필요는 없습니다.		
지침서·안내서 구분	☐ 내부적으로 행정사무의 통일을 기하기 위하여 반복적으로 행정사무의 세부기준이나 절차를 제시하는 것입니까? (공무원용)	☐ 예(☞지침서) ☒ 아니오
	☐ 대내외적으로 법령 또는 고시·훈령·예규 등을 알기 쉽게 풀어서 설명하거나 특정한 사안에 대하여 식품의약품안전처의 입장을 기술하는 것입니까? (민원인용)	☒ 예(☞안내서) ☐ 아니오
기타 확인 사항	☐ 상위 법령을 일탈하여 새로운 규제를 신설·강화하거나 민원인을 구속하는 내용이 있습니까?	☐ 예 ☒ 아니오
	☞ 상기 질문에 '예'라고 답하신 경우 상위법령 일탈 내용을 삭제하시고 지침서·안내서 제·개정 절차를 진행하시기 바랍니다.	
상기 사항에 대하여 확인하였음. 2020년 9월 일 담당자 확 인(부서장) 이 혜 영		

이 안내서는 건강기능식품 기능성 원료 평가에 대하여 이해를 돕고자, 현재의 과학기술 수준에서 일반적인 사항과 시험방법 등이 제시된 참고자료이며, 질병에 관련된 내용이 포함되는 경우 기능성에 대한 전반적인 이해를 돕기 위한 것이지, 질병의 치료 및 예방을 목적으로 기능성을 설명하는 것은 아닙니다.

본 안내서는 대외적으로 법적 효력을 가지는 것이 아니므로 본문의 기술방식('~하여야 한다' 등)에도 불구하고 민원인 여러분께서 반드시 준수하셔야 하는 사항이 아님을 알려드립니다. 또한, 본 안내서는 2020년 9월 현재의 과학적·기술적 사실 및 유효한 법규를 토대로 작성되었으므로 이후 최신 개정 법규 내용 및 구체적인 사실관계 등에 따라 달리 적용될 수 있음을 알려드립니다.

※ "민원인 안내서"란 대내외적으로 법령 또는 고시·훈령·예규 등을 알기 쉽게 풀어서 설명하거나 특정한 사안에 대하여 식품의약품안전처의 입장을 기술하는 것(식품의약품안전처 지침서등의 관리에 관한 규정 제2조)

※ 본 안내서에 대한 의견이나 문의사항이 있을 경우 식품의약품안전평가원 식품위해평가부 영양기능연구과로 문의하시기 바랍니다.

전화번호: 043-719-4402, 4416, 4421, 4422, 4423, 4425, 4426, 4430

팩스번호: 043-719-4420

제·개정 이력

연번	제·개정번호	승인일자	주요내용
1	B-2011-1-002	2016.6.	제정
2	안내서-0135-01	2017.6.1.	「식약처 지침서등의 관리에 관한 규정」에 따른 등록번호 일괄 정비 (규제개혁담당관실-3761호, 2017.5.16.)
3	안내서-0135-02	2020.9.	개정 (기능성 시험방법 등 업데이트)

CONTENTS

※ 건강기능식품의 기능성 개요	1
※ 약어	3
 Ⅰ 서 론	4
 Ⅱ 일반적 사항	4
1. 개요	4
2. 보건학적 중요성	16
 Ⅲ 기능성 시험 방법	17
1. 바이오마커의 선정	17
2. 주요 바이오마커의 측정 방법	24
3. 시험 설계 시 고려사항	30
 Ⅳ 참고문헌	34

건강기능식품의 기능성 개요

□ 기능성 정의

「건강기능식품에 관한 법률」제3조(정의) : 기능성이란 인체의 구조와 기능에 대하여 영양소를 조절하거나 생리학적 작용 등과 같은 보건용도에 유용한 효과를 얻는 것을 말한다.

□ 기능성 구분

건강기능식품의 기능성은 3가지로 구분할 수 있다.

○ 건강기능식품의 기능성 구분

기능성 구분	기능성 내용	기능성을 가진 원료 또는 성분
영양소 기능	인체의 정상적인 기능이나 생물학적 활동에 대한 영양소의 생리학적 작용	영양소
생리활성 기능	인체의 정상기능이나 생물학적 활동에 특별한 효과가 있어 건강상의 기여나 기능 향상 또는 건강유지·개선을 나타내는 기능	기능성 원료
질병발생 위험감소 기능	질병의 발생 또는 건강상태의 위험감소와 관련한 기능	

□ 건강기능식품 기능성 원료의 기능성 내용과 인정기준

건강기능식품 기능성 원료의 기능성 내용과 인정기준은 다음과 같다.

○ 건강기능식품 기능성 원료의 기능성 내용과 인정기준

구분	기능성 내용	인정기준
질병발생 위험 감소 기능 ¹⁾	○○발생위험 감소에 도움을 줌	기반연구 자료를 통해 생리학적인 효과 또는 기전이 명확하게 입증되어야 하고 일관성 있는 바이오마커의 개선효과가 다수의 인체적용시험 (RCT)에서 확보되어야 함 ※ 질병 관련 바이오마커의 확인
생리활성 기능 ²⁾	○○에 도움을 줄 수 있음	기반연구 자료를 통해 기능성 있는 생리학적인 효과 또는 기전을 추측할 수 있어야 하고 일관성 있는 바이오마커의 개선효과가 최소 1건 이상의 인체적용시험(RCT)에서 확보되어야 함(추측 제안기전과 관련한 바이오마커가 기반연구시험과 인체적용시험에서 일관성 있게 확인되어야 함) ※ 생리활성 관련 바이오마커의 확인

- 1) 제출된 기능성 자료가 질병의 발생 위험 감소를 나타내며, 확보된 과학적 근거 자료의 수준이 상당한 과학적 합의(Significant Scientific Agreement)에 이를 수 있을 정도로 높을 경우 인정. 상당한 과학적 합의(Significant Scientific Agreement)란 성분 또는 원료와 건강효과 간의 상관성이 새로운 과학에 의해 뒤집어지지 않을 정도의 수준으로 관련 분야의 전문가들에 의한 만장일치에 가까운 합의 수준을 말함
- 2) 제출된 기능성 자료가 인체의 정상기능이나 생물학적 활동에 특별한 효과가 있어 건강상의 기여나 기능향상 또는 건강유지개선을 나타내는 경우 인정

약 어

BALFs	Bronchoalveolar lavage fluids
EASI	(Eczema area and severity Index
ECP	Eosinophil cationic protein
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
Fc ϵ RI	high affinity IgE receptor
FLG	Filaggrin gene
H&E	Hematoxylin and eosin
HPLC	High performance liquid chromatography
ICAM-1	Intercellular adhesion molecule-1
IgE	Immunoglobulin E
IGA	Investigator's global assessment
MAST	Multiple allergen simultaneous test
PAR-2	Protease-activated receptor-2
PBMC	Peripheral blood mononuclear cells
PCA	Pyrrolidone carboxylic acid
RAST	Radioallergosorbent test
SCORAD	Scoring of Atopic Dermatitis
SPC	Sphingosylphosphorylcholine
SPINK5	Serine protease inhibitor Kazal type 5
SSH	Skin surface hydration
TARC	Thymus and activation-regulated chemokine
TEC	Total eosinophil count
TEWL	Transepidermal Water Loss
Th1/Th2	Type 1/2 helper
TLRs	Toll like receptors
TSLP	Thymic stromal lymphopoietin
UCA	Urocanic acid

I

서론

이 가이드는 건강기능식품 기능성원료를 개발하는 연구자 및 영업자에게 식품의약품안전처의 기능성(면역과민반응 관련 피부상태 개선) 평가 원칙 및 기준 등을 알림으로써 산업체의 기능성 원료 연구개발에 적정을 기하고 효율성을 높이고자 작성되었다.

II

일반적 사항

1. 개요

가. 피부의 구조 및 역할

(1) 피부의 구조

피부는 표피, 진피, 피하지방으로 구성되어 있으며, 그 안에 신경과 혈관, 한선, 피지선, 아포크린한선, 모발이 존재한다. 피부 전체의 두께는 1.5-4.0 mm이며 표피의 평균 두께는 0.4-1.5 mm 정도이다.

(가) 표피(Epidermis)

표피는 피부의 가장 바깥쪽 층으로 신체의 표면을 덮는 방수 및 보호 기능을 한다. 표피는 지속적으로 재생성되는 중층편평상피(stratified squamous epithelium)이며 각질형성세포(keratinocyte)가 80 %, 수지상세포(dendritic cell)가 20%를 차지한다. 수지상세포에는 멜라닌세포(melanocyte), 랑게르한스세포(Langerhans cell), 메르켈세포(Merkel cell)가 있다. 다양하게 분화되는 각질형성세포는 여러 층으로 이루어져 있다. 멜라닌세포, 랑게르한스세포, 메르켈세포는 기저층과 기저층 직상부 사이에 존재한다. 표피에는 혈관이 없고 신경이 거의 존재하지 않는다. 진피로부터 확산에 의해 영양분을 공급받는다.

표피의 주 구성성분인 각질형성세포는 분화정도에 따라 형태가 변하여 4개의 층으로 나누어 지는데, 내측으로부터 기저층(basal layer), 유극층(prickle layer, spinous layer), 과립층(granular layer), 각질층(horny layer, cornified layer, stratum corneum)으로 구분된다. 신생 세포는 잇달아 위로 밀려올라가며 그 사이에 분화하며 변형해 간다. 유극층에서는 많은 돌기로 세포들이 결합되어 있고, 과립층에서 세포는 점차 편평하게 되어간다. 표층으로 이동하면 세포는 점점 편평해짐과 동시에 각화를 일으켜 핵이 소실되고 결국에는 표면에서 떨어져

나간다. 표피의 심층은 알칼리성(pH 7.0-7.4)인데, 표층은 피지선에서의 분비물 등으로 인해 산성(pH 4.0-5.0)이 되어 미생물의 번식을 저지한다.

각질층은 우리 몸에서 외부로의 수분과 전해질의 손실을 막고, 외부의 물리적, 화학적 손상으로부터 우리 몸을 보호하는 기능을 갖고 있다. 각질층은 단백질로 이루어진 각질세포(corneocyte)와 각질세포를 둘러싸고 있는 지질로 구성되어 있다. 건강한 피부 상태를 유지하기 위해 각질층은 약 30 % 정도의 수분을 함유하여야 하며, 크게 1) 피지, 2) 아미노산, 요소, 유기산 등의 자연보습인자, 3) 각질 세포 간 지질이 관여한다. 각질층 내의 지질은 각질 세포 사이에 다층의 라멜라(lamella) 구조로 존재하며, 건조 각질층 무게의 14 % 정도를 차지하며 세라마이드(40-50 %), 유리지방산(15-25 %), 콜레스테롤(20-25 %) 및 콜레스테롤 설페이트(5-10 %)로 구성되어 있다. 건조 피부는 이러한 요소들의 균형이 깨어지거나 결핍될 때 유발될 수 있다.

(나) 진피(dermis)

진피는 결합 조직으로 이루어진 표피 밑의 피부 층으로, 완충작용을 하여 신체를 압력과 장력으로부터 보호한다. 진피는 기저막을 통해 표피와 단단히 연결되어 있다. 진피에는 접촉과 열을 감지하는 많은 수의 신경 말단이 있고, 모낭, 땀샘, 피지선, 아포크린샘, 림프관, 혈관 등이 있다. 진피 안의 혈관은 세포에 영양분을 공급해주고 노폐물을 제거해준다.

진피는 구조적으로 표피에 인접한 위쪽 영역인 유두층(papillary region)과 깊고 굽은 아래쪽 영역인 망상층(reticular region)으로 구분된다. 표피에 접하는 결합 조직층은 교원 섬유가 촘촘한 그물 모양으로 되어있다. 진피의 일부는 곳곳에서 표피 내부로 들어가 있는데, 이를 진피 유두라고 하며, 혈관망이나 감각기가 있다. 표피 심층부의 세포는 멜라닌 색소를 갖고 있는데, 진피 중에서 여기에 접하는 부분의 세포에도 멜라닌 색소를 함유하는 것이 있다. 모발은 피부 부속 기관의 하나로서 표피의 세포가 진피 속에 깊숙이 침입하여 피하 조직과의 경계에서 결합 조직과 함께 모근을 형성하여 이곳에서 모발이 만들어져 위로 보내어진다.

(다) 피하 지방

진피 밑에 자리 잡고 있는 조직으로서 지방이 축적되는 층이다. 열의 발산을 막아주고, 수분을 조절하며, 탄력성을 유지하여 외부의 충격으로부터 몸을 보호하는 기능을 한다.

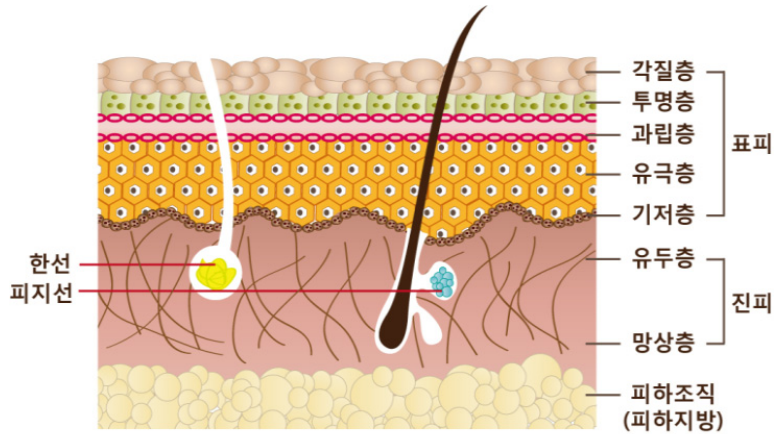


그림 1. 피부의 구조

[출처: 이해하기 쉬운 건강기능식품, 2019]

(2) 피부의 기능

피부는 다음과 같은 기능을 수행한다.

- 신체보호: 압력·충격·마찰, 세균과 미생물 침입, 광선 등으로부터 신체를 보호한다.
- 배설: 신체 내에서 만들어진 노폐물을 피지나 땀을 통해서 배설한다.
- 체온조절: 외부 기온에 반응하여 체온을 유지하는 기능을 한다.
- 호흡: 적은 양의 호흡을 통해 피부 신진대사 결과로 나오는 탄산가스 배출 및 산소 흡수 등의 기능을 한다.
- 감각: 많은 수의 신경 말단을 지니고 있어서 압각, 촉각, 통각, 온각, 냉각 등에 반응한다.
- 영양소 저장과 합성: 지질과 수분의 저장고이며 비타민 D 합성 기능을 수행한다.
- 흡수: 지방이나 수분에 용해된 물질을 흡수하는 기능을 한다.

나. 피부의 면역과민반응 기능 관련 인자

(1) 개요

과민반응이란 특정 항원에 대해 과도한 면역반응이 일어나 조직 손상 등의 부적절한 피해를 주는 면역 반응을 지칭한다. 과민반응은 제 1형부터 제 4형까지 분류되며, 제 1형 과민반응은 알레르기로 잘 알려져 있다. 알레르기(allergy)란 그리스어인 “allos”에서 유래되었으며 이는

“변형된 것”을 의미하며 1906년 프랑스 학자 Clemens Von Pirquet가 처음으로 알레르기란 용어를 사용하였다. 그는 알레르기를 ‘이물질에 대한 신체의 잘못 변환된 능력’으로 정의하였는데, 이는 면역학적 반응을 포함하는 극히 광범위한 정의로 간주된다. 현재 알레르기는 ‘다양한 항원에 대한 면역계의 반응으로 발생하는 질병’으로 보다 제한된 의미로 정의된다. 알레르기는 과민반응(hypersensitivity reactions)으로서 면역 반응들의 여러 유해반응들 중 하나이며, 이런 유해 반응들은 조직 손상을 일으키며 심각한 질병을 일으킬 수 있다.

피부는 대다수 알레르겐들의 출입구에 대한 효과적인 방어벽을 형성하나, 소량의 알레르겐이 국소적으로 주입되면 방어벽은 무너질 수 있다. 표피나 진피로의 알레르겐 침입은 국소적인 알레르기 반응을 유발한다. 피부에서 국소적으로 비만세포(mast cell)가 활성화되면 즉시 혈관투과성을 국소적으로 증가시켜 수분(혈장 단백질과 혈장액)을 혈관 외로 이동시키며 부종을 일으킨다. 알레르겐에 의해 활성화된 비만세포가 분비한 히스타민, 세로토닌, 류코트리엔, 헤파린 등은 피부에 가려움을 동반하는 붉은 팽창을 일으킨다. 때로는 보다 오래 지속되는 염증반응이 피부에서 나타나는데, 이것은 주로 알레르기 소인이 있는 어린이들에서 발생하고, 사춘기나 성인기까지도 지속되는 경우가 있다. 이들에게서는 습진 혹은 아토피 피부염이라 부르는 지속적인 피부 발적이 생기는 만성염증을 유발한다.

아토피 피부염은 피부의 면역과민반응을 특징으로 하며, 산업이 발달하고 서구화된 나라에서 더욱 흔히 나타나는 질환으로 소아는 10-20 %, 성인은 1-3 % 정도의 유병률을 보이며 우리나라도 이와 유사한 유병률을 나타내고 있다. 아토피피부염은 70-80 % 정도에서 가족력이 있을 만큼 유전적인 소인이 매우 중요하게 작용하지만, 환경적인 요인도 강력하게 영향을 미치는 것으로 알려져 있다. 대표적인 증상은 건조하고 가려운 피부, 얼굴과 팔꿈치 안쪽과 무릎 뒤 및 손발의 발진 등이다.

(2) 주요 작용기전

(가) 비정상적인 면역반응 (면역조절기능 이상)

피부의 면역과민반응시에는 혈청 immunoglobulin E(IgE) 및 알레르겐 감작 증가, 급성 병변에서 type 2 helper(Th2) 사이토카인 증가, 피부 림프구 관련 항원(cutaneous lymphocyte-associated antigen)이 발현된 T세포의 증가, 랑게르한스 세포와 염증성 수지상 표피세포(inflammatory dendritic epidermal cell)에서 FcεRI 발현 증가 등이 나타난다. 피부장벽이 손상되면 외부 항원 및 균의 침투를 막기 위하여 피부에서는 각질형성세포와 항원전달세포들을 통하여 즉각적인 선천면역반응이 일어나고 후천면역반응도 이어지는데, 피부가 면역과민반응 상태인 자에서는 이들 선천면역계와 후천면역계가 비정상적으로 반응하여 알레르기 염증반응이 발생하는 것으로 알려져 있다.

① 혈청 IgE 및 알레르겐 감작 증가

피부의 면역과민반응과 IgE의 연관성은 혈청 IgE 증가가 습진의 증상 정도와 비례하며, 천식 및 알레르기 비염에서도 혈청 IgE가 증가하며, 항원 노출 후 호염구(basophil)에서 IgE 분비가 증가하고, 비만세포(mast cell)와 호염구에서 IgE 수용체가 발견되는 것 등으로 설명되었다. 하지만 경구 면역억제제를 사용하여 증상을 개선시켜도 혈청 IgE 수치는 비례하여 감소하지 않고 자가 IgE 항체가 발견되어 IgE 이외에 다른 요소들 또한 주목받기 시작했다.

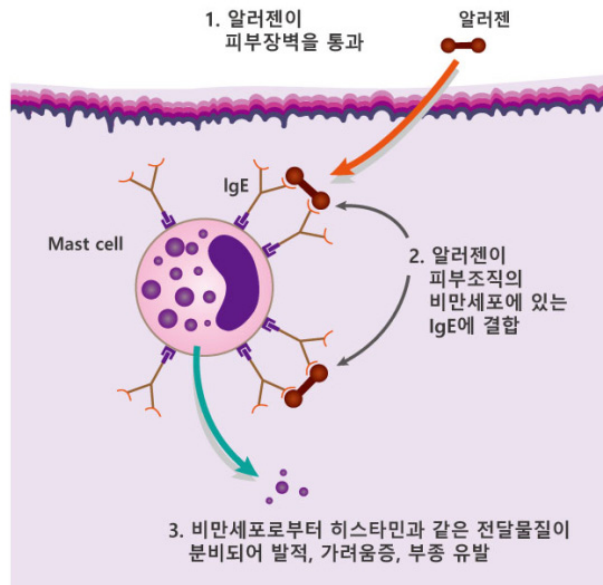


그림 2. IgE에 의한 면역과민반응 발생 과정

[출처: Clin Dev Immunol 2013;968549, 2013]

② 선천면역계 이상반응

피부의 각질형성세포와 항원전달세포는 많은 수의 pattern recognition receptors라고 불리는 선천면역 수용체를 발현하는데 이중 toll like receptors(TLRs)가 가장 널리 알려져 있다. 피부장벽의 손상이나 외부 균에 의하여 TLRs가 자극을 받으면 항균 펩타이드, 사이토카인, 케모카인 등을 분비하고, 더 이상의 외부 균 침투를 막기 위하여 밀착연접(tight junction)을 강화하도록 유도한다. 피부가 면역과민반응 상태인 자에서는 이런 TLRs의 기능이 저하되어 있는 것이 발견되었다. 즉, 이러한 자들에서 나타나는 대표적인 선천면역계 이상은 TLR2 유전자의 과오돌연변이(missense mutation)로서 TLR2 변이를 가진 자는 임상적 중증도가 심하고, 혈청 IgE가 높다. 또한 Th2 사이토카인에 의해 표피 항균 펩타이드 발현이 감소하는데 이것은 피부 면역과민반응 상태인 자가 세균과 바이러스 노출에 취약하게 만드는데 관여한다.

③ 후천면역계 이상반응

피부가 면역과민반응 상태인 자에서 후천면역반응은 급성기 동안에 일어나는 Th2 사이토카인(IL-4, 13, 31)과 Th22 사이토카인(IL-22)의 증가와 연관된다. 관련 부위에는 피부 림프구 관련 항원이 발현된 T세포가 증가되어 있다. 손상된 피부장벽을 통하여 외부 항원이 침투하게 되면 수지상 세포가 항원을 인식하여 Th2 세포를 활성화시킨다. 활성화된 Th2 세포에서 IL-4, 5, 10, 13, 17, 31 등의 사이토카인이 분비되며, IL-4, 13에 의해 B 세포가 활성화되어 IgE가 분비된다. IL-5에 의해 호산구가 모여들며, 분비된 IgE가 비만세포와 호염구의 IgE 수용체에 결합한 후 히스타민, 중성 단백질분해효소, 프로스타글란딘 D₂, 류코트리엔 C₄/D₄/E₄ 등의 다양한 염증매개물질을 분비시켜 피부 면역과민반응 상태의 임상증상을 만든다. Th2 사이토카인인 IL-4, 5, 13 등은 표피분화 단백질인 필라그린(filaggrin) 등의 발현을 억제하고 항균 펩타이드 생성을 감소시킨다. 유전학적인 측면에서는 사이토카인 관련 유전자에 변이가 발생하면 여러 Th2 염증반응에 영향을 주어 피부 면역과민반응을 유발할 수 있다. 또한 IL-4, IL-4 수용체, IL-13 등의 유전자 변이와 피부 면역과민반응의 상관성이 보고되었다.

Th22 세포는 IL-22를 생산하며 만성적인 피부 면역과민반응 상태인 자의 피부 부위에서 증가되어 있다. 또한 IL-22 수용체가 각질형성세포에서 높게 발현되며, IL-22의 증가는 표피에서 각질형성세포의 최종분화 결합과 표피의 과도한 증식 등을 일으키는 요인이 된다. 따라서 피부가 면역과민반응 상태인 자의 피부장벽 손상을 더욱 악화시키는 데에는 Th2 세포와 Th22 세포가 모두 관여한다. Th17 세포는 IL-17과 IL-22를 분비하며 급성기 피부 면역과민반응 상태인 자의 혈액과 피부에서 증가되고, 만성기에는 Th2 세포에서 분비되는 사이토카인에 의해 IL-17의 분비가 줄어든다. Th22 세포에서는 IL-22를 분비하여 표피의 증식을 야기하며, 주로 만성기에 높게 나타는 것으로 알려져 있다. 따라서 급성기에는 피부 장벽 손상에 의해 외부항원이 쉽게 침투하여 랑게르한스 세포에 의해 감각이 일어나며, Th2와 Th17의 염증반응이 우세하여 관련 사이토카인들에 의해 호산구와 호중구가 모이게 되지만, 만성기에는 반복되는 자극물질과 알레르겐 등의 노출에 의해 Th1, Th2, Th22의 염증반응이 우세하게 되어 관련 사이토카인에 의해 표피의 증식 및 각질형성세포 손상 등의 반응이 나타난다. 이 과정에서 IgE의 분비가 증가되며 면역과민반응 상태인 피부 부위의 랑게르한스 세포와 염증성 수지상 표피세포에서는 FcεRI의 발현이 증가하게 된다.

Th1 및 Th2 세포와는 다른 종류의 사이토카인을 생산하여 정상적으로 면역억제 기능을 가지는 조절T세포(Treg cell)가 피부 면역과민반응 상태인 자의 말초혈액 내에 증가되어 있으나, 초항원(superantigen)인 포도상구균 내독소(staphylococcal enterotoxin B)에 의해 이런 면역억제능이 소실된다. 이는 초항원이 T세포를 활성화시켜서 피부의 염증을 더 악화시키는 기전을 설명해 준다. 그러나 많은 경우에 전신과 피부 면역반응 사이에 차이를

보이듯이 피부 면역과민반응 상태의 피부병변에서는 조절 T세포가 결핍되어 있다.

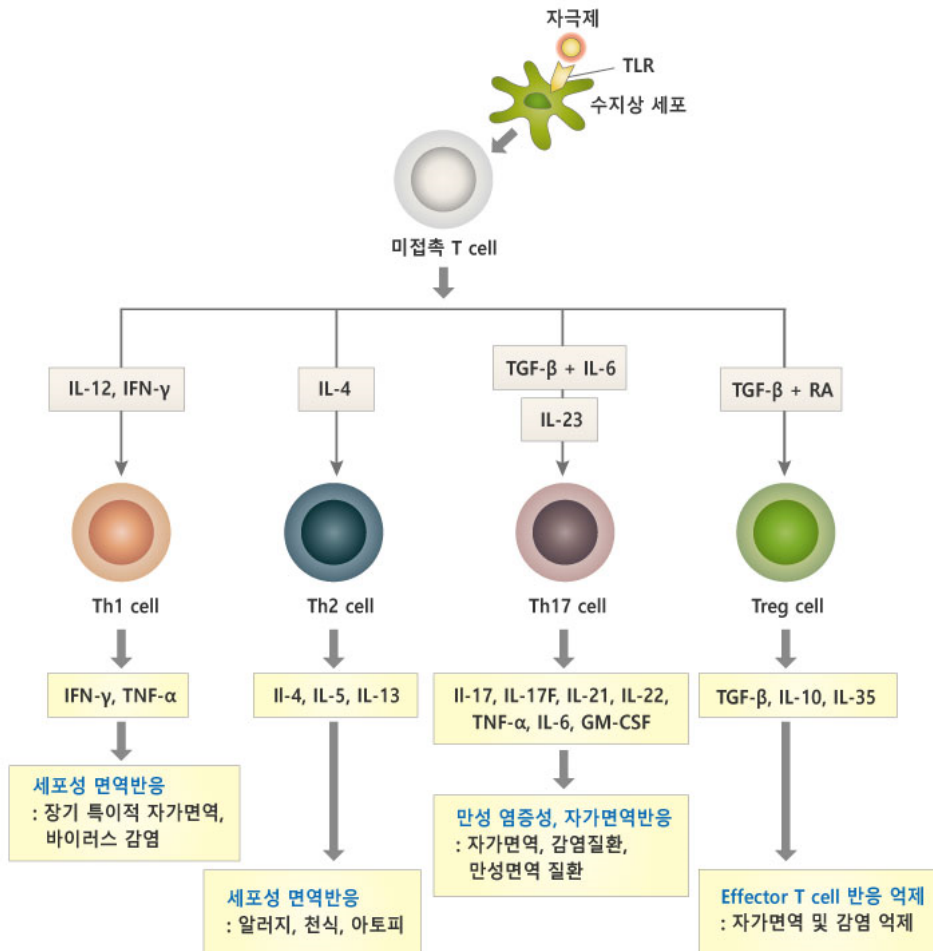


그림 3. 미접촉 T cell의 분화

[출처: Clin Dev Immunol 2013;968549, 2013]

아토피 피부염에서 유전 및 여러 환경 요인에 의해 피부장벽이 손상되면 외부로부터 침투한 각종 알레르겐에 쉽게 노출되고, 각질형성세포에서는 IL-7과 유사한 사이토카인인 thymic stromal lymphopoietin(TSLP)을 분비한다. TSLP는 알레르기 염증반응의 ‘master switch’라고도 불리는데 비만세포, 호염구, 호산구 등 피부염증을 일으키는 주요 세포에 영향을 주고, 선천면역 및 후천면역반응 모두에 영향을 주며, Th2 면역반응을 유도하여 피부를 면역과민 반응 상태로 이르게 함에 있어 매우 중요한 요소로 인식되고 있다. 피부가 면역과민반응 상태인 자의 피부와 혈액에서는 TSLP가 증가되는데, 알레르겐에 의해 각질형성세포의 Protease-

activated receptor-2(PAR-2) 발현이 증가되면 표피에서 TSLP 분비가 증가되고 이로 인하여 Th2 염증반응이 우세하게 일어나서 아토피 피부염의 임상양상으로 나타난다. TSLP 유전자에 돌연변이가 있을 경우에 TSLP 분비가 더 증가되고 Th2 면역반응이 더 심하게 나타난다.

또한 피부 면역과민반응의 원인에 대한 환경적인 요소로서 거론되는 위생가설은 과도한 깨끗함이 영유아와 어린이들에게 면역계를 자극할만한 자극원을 없앴으로서 감염 자극의 노출이 줄어들게 되며, 이로 인해 면역계에서 감염반응과 알레르기 반응의 불균형을 초래한다는 것이다. 이것은 Th1/Th2 면역상태의 균형이 Th2 위주로 유지됨으로써 피부의 면역과민반응이 발생한다는 면역학적 기전에 근거를 제공하는 것으로, 출생 전후의 위생조건이 이물질에 대한 면역 반응 결정에 큰 영향을 준다는 가능성을 설명하고 있다. 즉, 세균에서 나오는 내독소 또는 장내 세균의 분포에 의해 알레르기질환이 영향을 받는다는 것으로 장내 세균의 분포와 관련된 피부 면역과민반응의 원인을 설명하는 근거가 되고 있다.

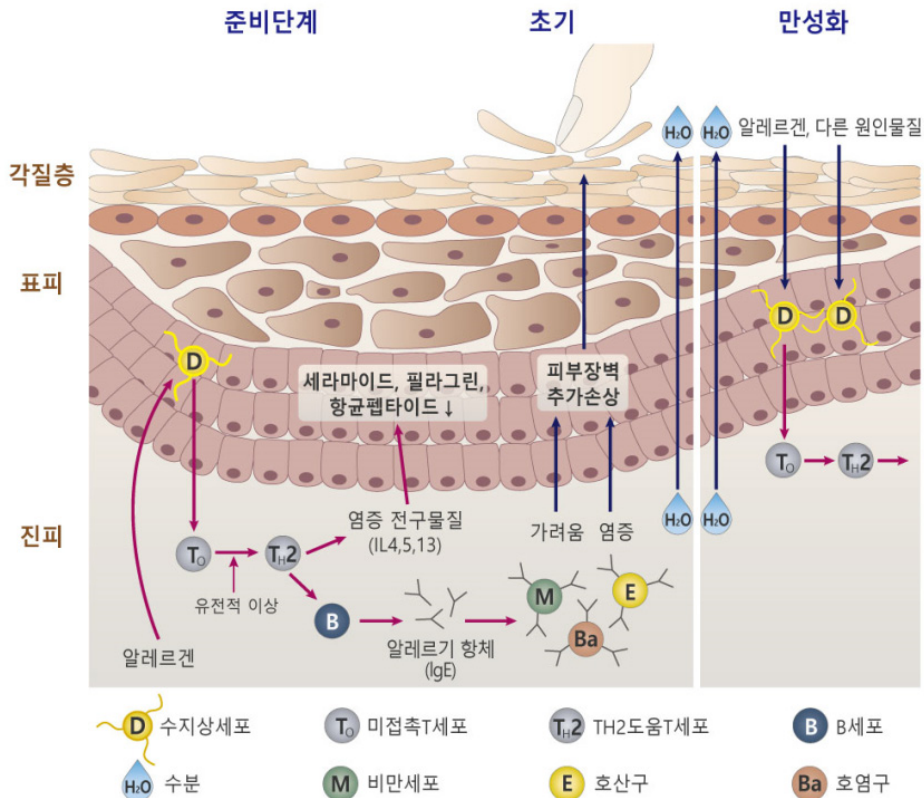


그림 4. 면역조절 기능 이상에 의한 과민피부상태 발생기전

[출처: Nat Med, 2012]

(나) 피부장벽 기능 이상

피부의 면역과민반응 상태에 대한 원인으로, 위와 같이 비정상적인 면역기능 이외에 최근에는 피부장벽 기능 이상 또한 매우 중요하게 다루어지고 있다. 물과 전해질의 투과를 조절하는 표피투과장벽(epidermal permeability barrier) 기능은 피부의 가장 중요한 기능으로 간주되며 표피의 가장 바깥층인 각질층이 이러한 기능을 담당하고 있다. 각질세포(corneocyte)는 각질형성세포(keratinocyte)의 최종 분화 단계 세포로 핵과 세포 내 기관이 소실되고 keratin fiber로 응축되어 납작해져 있고, ‘벽돌’의 역할을 담당한다. 각질세포간 지질은 과립세포(granular cell)에서 층판 과립(lamellar granule)의 형태로 세포 외로 분비되어 형성되며, 각질세포를 둘러싸는 ‘회반죽(mortar)’의 역할을 한다. 각질교소체(corneodesmosome)는 각질세포를 견고히 연결시켜 각질층의 구조를 유지하는데 중요한 작용을 하며, 벽의 장력을 유지하기 위한 역할을 한다.

피부 면역과민반응에 대한 원인은 유전적인 소인과 환경적인 원인, 면역학적 이상 반응과 피부 장벽의 이상 등이 주요 발병 원인으로 생각되고 있다. 여기에 두 가지 가설이 크게 대두되고 있다. 하나는 일차적인 면역학적 이상으로 말미암아 특정 알레르겐에 대한 면역글로불린E(immunoglobulin E) 감작이 일어나서 혈청 면역글로불린E를 상승시키고 제2형 보조 T세포 활성화, 수지상 세포, 호산구 등의 활성이 일어난 후 염증반응의 결과로 피부 장벽의 이상을 초래한다는 설(inside-outside 가설)이고 또 하나는 일차적으로 피부 장벽의 이상을 일으키는 유전적 변이가 선행되고 그로 인해 면역학적 변화가 발생한다는 설(outside-inside 가설)이다. 피부의 면역과민반응에 대한 기전은 두 가지 가설이 있다. “outside-inside”과 “inside-outside” 가설은 반대되는 것이지만 어느 한 가설로는 모두 설명될 수 없다. 피부의 면역과민반응에 대한 발생 단계와 중증도, 내인성 또는 외인성 여부에 따라 두 가지 가설이 각기 다르게 작용할 가능성이 크다.

피부장벽 기능이상과 관련된 병인들 중 대표적인 것으로 필라그린 유전자(filaggrin gene, FLG) 돌연변이, 각질층 세라마이드 감소, 항균 펩타이드 감소, 세린계단백질분해효소 억제제(serine proteases inhibitor) 감소, 밀착연접(tight junction) 이상 등이 있다.

① 필라그린 유전자(FLG) 돌연변이

피부가 면역과민반응 상태인 자의 비병변 피부에서 표피분화 단백질 중 필라그린 발현만이 유일하게 감소되었다는 결과가 보고된 이후로 피부 면역과민반응에 대한 원인으로 필라그린에 대한 많은 연구가 진행되었다. FLG 변이율은 인종에 따른 뚜렷한 차이를 보이고 있다. 필라그린은 표피 과립층에서 케라토히알린 과립(keratohyalin granule)을 형성하는 단백질인 프로필라그린(profilaggrin)의 형태로 존재하다가, 각질형성세포의 최종분화과정에서 필라그린으로 분해된 후에 각질세포막을 형성할 때 케라틴 필라멘트를 응집하여 각질세포의 단단

하고 편평한 구조를 만듦으로써 피부장벽에서 벽돌의 역할을 수행하게 된다. 이후 필라그린은 각질층 상부로 올라가면서 아미노산으로 분해되어 자유아미노산, pyrrolidone carboxylic acid(PCA), urocanic acid(UCA), 다양한 유기산 등으로 변화하게 된다. 자연보습인자 중에서 자유아미노산이 40%, PCA가 12%를 차지하며, 이들 필라그린 분해산물은 각질층의 수화뿐 아니라 각질층 pH의 정상화, 투과장벽, 각질층의 견고함, 항균 및 항염작용 등에서 다양한 역할을 수행한다. FLG 변이가 발생하면 필라그린 단백질 생성이 감소되어 각질세포막 형성을 약화시키고 각질세포 사이의 접착력을 감소시키며 경표피 수분손실(transepidermal water loss)이 증가됨으로써 전반적인 피부장벽기능이 감소되어 외부 알레르겐의 체내 침투 증가에 의한 감작 및 이로 인한 알레르기 반응이 쉽게 일어난다.

② 각질층의 세라마이드(ceramide) 및 항균 펩타이드(antimicrobial peptide)의 감소

세라마이드는 각질층을 구성하는 지질성분 중 50~60%를 차지하는 중요한 성분으로 피부의 수분을 유지시켜 피부를 촉촉하게 해주는데 가장 큰 역할을 한다. 면역과민반응 상태인 자의 피부는 각질세포간 지질막을 형성하는 주성분인 세라마이드가 뚜렷하게 감소한다. 세라마이드의 감소는 필라그린 분해산물인 자연보습인자의 감소와 함께 거의 모든 피부 면역과민반응 상태인 자에서 관찰되는 건조피부의 중요한 원인으로 간주되고 있다. 이러한 사람들의 피부는 항균 펩타이드가 감소되어있고 특히 각질층에서 세라마이드 분해산물이며 가장 강력한 항균작용을 하는 스펅고신(sphingosine)의 생성이 감소되어 있어 세균, 바이러스, 진균 등의 노출에 취약하게 된다.

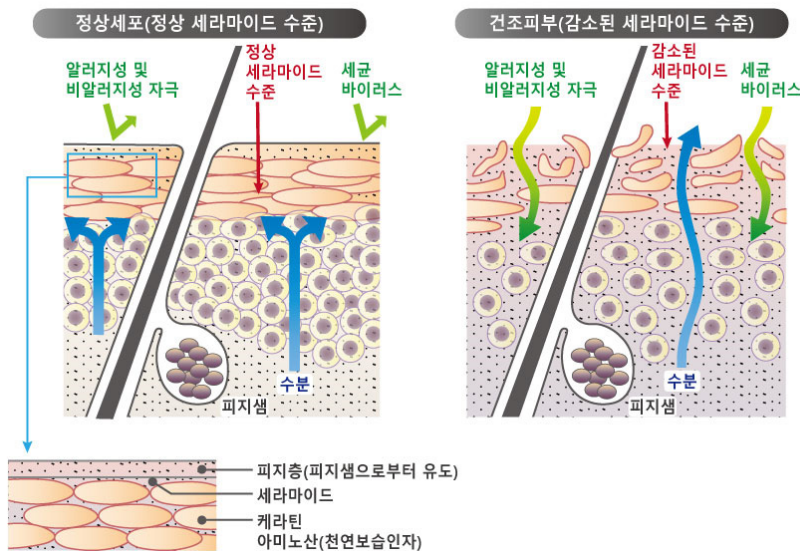


그림 5. 정상피부와 건조피부의 비교

[출처: Ecotoxicol Environ Saf. 184:109607, 2019]

③ 세린계 단백질분해효소(serine protease) 억제제의 감소

피부가 면역과민반응 상태인 자의 피부표면 pH는 정상인보다 높는데, 각질층 pH가 증가하면 각질세포의 탈락을 유도하는 세린계 단백질분해효소의 활성이 촉진되고 protease-activated receptor-2(PAR-2)의 활성이 증가되어 Th2 면역반응이 우선하는 알레르기 염증반응이 일어나게 된다. 이 분해효소의 작용을 억제시키는 역할을 수행하는 단백질은 lympho-epithelial Kazal type-related inhibitor(LEKTI)로 serine protease inhibitor Kazal type 5 유전자(SPINK5)의 산물이다. 염색체 5q32에 위치한 SPINK5 변이가 보고되었고, 이들에서는 활성화된 세린계 단백질분해효소의 작용을 적절하게 억제하지 못하여 알레르기 염증반응이 증가하는 것으로 설명된다.

④ 밀착연접(tight junction) 이상

밀착연접은 상피세포에 존재하며 이웃한 세포막 측면을 서로 고정시키고 세포 측면 공간을 통한 수분과 체액의 흐름을 방지하는 장벽이다. 각질층이 손상되면서 각질층과 과립층 사이에 존재하는 체액의 경표피수분손실과 함께 갈숨이온 농도가 감소하면 바로 아래의 과립층 상부의 밀착연접이 열리고, 밀착연접 바로 아래까지 위치하고 있던 랑게르한스 세포의 수지(dendrite)가 밀착연접 위로 올라오게 된다. 이때 손상된 각질층을 통과하여 들어온 분자량이 큰 단백질 항원들은 랑게르한스 세포의 수지에 의해 포집되고 인식되어 국소 림프절로 이동하고, 이들 단백질 항원의 세린계 단백분해효소 성분은 각질형성세포막에 존재하는 PAR-2를 활성화시킨다. 한편 각질층을 통해 침투한 균들은 toll-like receptor(TLR)를 활성화하게 된다. 이후 각질형성세포에서 여러 케모카인과 TNF- α , IL-1, thymic stromal lymphopoietin (TSLP) 등의 사이토카인들이 분비되어 아토피 피부염을 촉진하고 악화시킨다. 또한 밀착연접 단백질의 발현이 피부가 면역과민반응 상태인 자의 피부에서 정상인에 비하여 현저하게 감소하여 있음이 보고되었다.

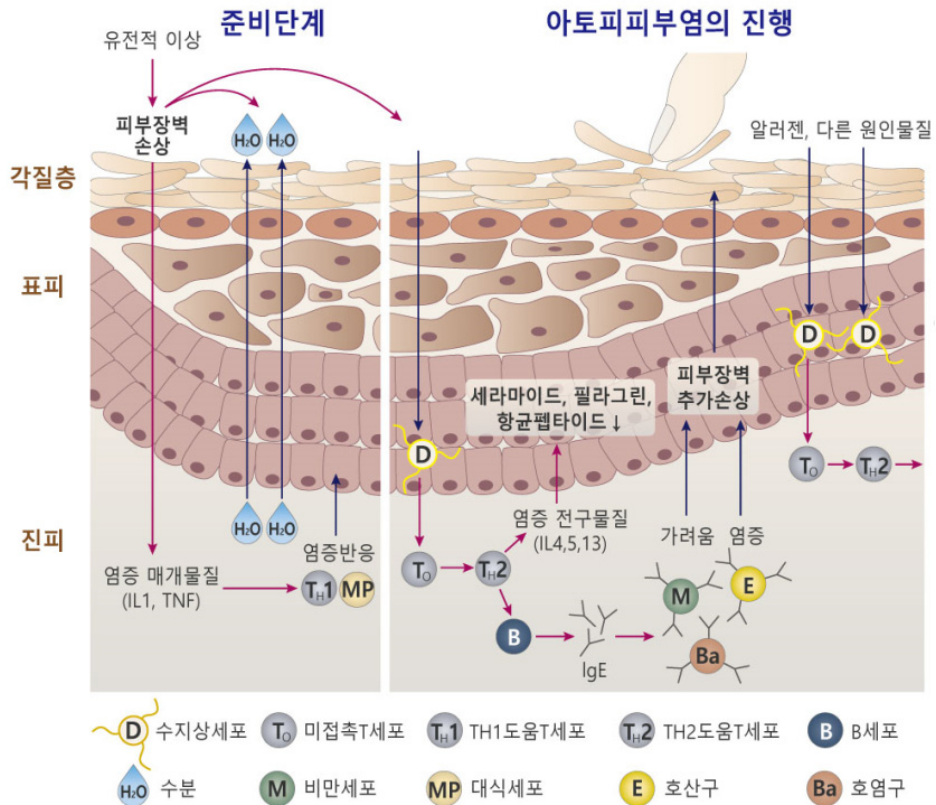


그림 6. 피부장벽 기능이상으로 인한 건조피부 발생기전

[출처: J Allergy Clin Immunol., 2016]

2. 보건학적 중요성

피부의 면역과민반응은 우리나라를 포함한 산업이 발달하고 서구화된 나라에서 흔히 나타나고 있다. 대개 유·소아기에 시작하여 장기간 지속되며 사춘기까지 약 90 %는 자연 치유되는 경향이 있으나 나머지 10 %의 경우 성인이 되어서도 지속될 수 있다. 피부면역과민반응의 대표적인 증상인 아토피 피부염은 정도의 차이가 있지만 어린 소아에서 발생하여 영·유아기에는 유병률이 20%에 육박하고, 학령기는 10% 전후이며, 최근 증가하고 있는 성인기 아토피 피부염은 1~3%로써 전 연령에 걸쳐 영향을 미치는 질환이다. 최근 건강보험심사평가원 통계자료에 따르면 아토피 피부염으로 진료를 받은 인원은 2017년 93.4만명으로 나타났고, 그 중 0~9세의 소아 아토피가 41.4%로 가장 높았다. 성별로는 여성이 52.4%, 남성이 47.6%였다(그림 7). 어린 시절에 발생한 아토피피부염은 장기간 지속되기 때문에 정상적인 성장발달과정을 저해할 수 있으며, 여러 가지 환경 항원의 노출이나 심한 소양감으로 인해 긁는 행위 자체가 피부 상태를 더욱 악화시킨다는 특성상 이를 돌보는 가족에게 육체적 피로뿐만 아니라 정서적인 면, 가족 관계 및 사회생활 등 여러 가지 면에서 영향을 끼치게 된다. 또한 장기간의 지속적인 치료가 필요하다는 점에서 경제적 비용 또한 상당하다. 따라서 피부의 면역과민반응 상태를 개선시킬 수 있는 건강기능식품은 피부의 정상적인 기능 유지에 도움을 줄 수 있다.

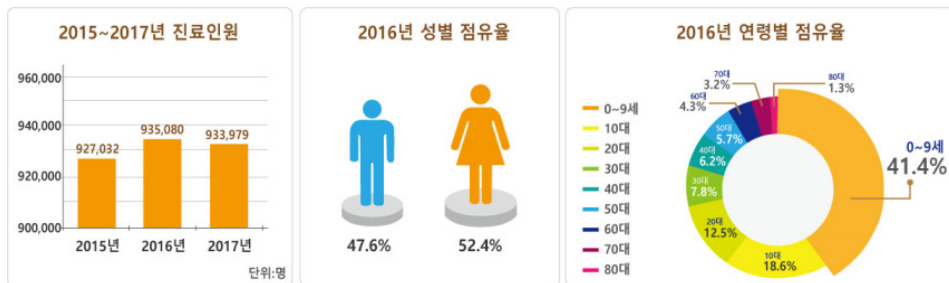


그림 7. 국내 아토피피부염 진료 현황

[출처: 건강보험심사평가원, 2018]

Ⅲ

기능성 시험 방법

1. 바이오마커의 선정

가. 유형별 바이오마커

면역과민반응에 의한 피부상태 개선 기능성 평가 시 각 바이오마커 별 측정 가능한 시험 연구유형은 다음과 같다.

표 2. 면역과민반응에 의한 피부상태 개선 기능성 확인을 위한 바이오마커

구 분	바이오마커	측정 가능한 연구유형		
		in vitro	in vivo	Human
면역조절 기능이상 평가	IgE	○	○	○
	호산구 내 Fcε 수용체	○	○	○
	Th1 cytokine(IL-12, IFN- γ 등)	○	○	○
	Th2 cytokine(IL-4, IL-5, IL-13, IL-31 등)	○	○	○
	Th1 cytokine/Th2 cytokine ratio	○	○	○
	Treg cytokine(IL-10, TGF- β)	○	○	○
	CD4 ⁺ T cell/CD8 ⁺ T cell ratio	○	○	○
	TSLP(thymic stromal lymphopoietin)	○	○	○
	TARC(thymus and activation-regulated chemokine)	○	○	○
	총 호산구수(total eosinophil count; TEC)		○	○
	호산구 양이온단백질(eosinophil cationic protein; ECP)		○	○
	Eotaxin		○	○
	Scratching behavior frequency(itching time)*		○	
	Dermatitis Severity 평가*		○	
	조직 병리학적 검사(histological analysis)*		○	
	피부단자검사			○
	MAST(multiple allergen simultaneous test)			○
	ImmunoCAP			○

구 분	바이오마커	측정 가능한 연구유형		
		in vitro	in vivo	Human
피부장벽 기능이상 평가	필라그린(filaggrin)		○	○
	세라마이드(ceramide)		○	○
	Serine palmitoyltransferase	○	○	
	Ceramidase	○	○	
	Sphingomyelin deacylase			○
	Serine hydroxymethyl transferase	○		
	Serine protease activity			○
	피부 pH		○	○
	경표피 수분 손실량 (transepidermal water loss; TEWL)		○	○
	피부 수분함유량(skin surface hydration, SSH) - 각질층 수분함량, 수분결합력, 수분유지력		○	○
임상적 개선	SCORAD score(scoring of atopic dermatitis)			○
	EASI score (eczema area and severity index)			○
	IGA score (investigator's global assessment)			○

*피부장벽 기능이상 평가에도 측정 가능함

나. 바이오마커 설명

면역과민반응에 의한 피부상태 개선 관련 바이오마커는 생리학적 작용 또는 과정을 설명하는 기전인 면역조절 기능이상과 피부장벽 기능이상을 평가할 수 있는 바이오마커와 피부상태 개선에 대한 기능성을 평가할 수 있는 임상적 개선 관련 바이오마커로 구분되어 있다.

(1) 면역조절 기능이상 평가

① IgE

혈청 IgE 검사는 감작된 원인 항원을 확인하는데 사용된다. 이는 아토피 피부염 환자의 약 80%에서 혈중 총 IgE 수치가 높고 중증도와 상관관계가 있다. 하지만 소위 내적(intrinsic) 소인 아토피 피부염 환자에서는 정상 수치를 보인다. 따라서 혈청 IgE 검사는 필수적인 소견은 아니지만 진단이 애매한 환자, 증상의 중증도를 예측할 때, 또는 악화인자를 찾아내는 데 도움이 된다.

② 호산구 내 Fcε 수용체

IgE는 비만 세포(mast cell)와 호염기구(basophil) 표면에 있는 Fc 수용체에 결합하여 IgE 매개 알레르기 반응을 개시하고, 사람의 Fc 수용체는 호산구, 단핵구, 대식세포 및 혈소판에도 존재한다. Fcε 수용체는 FcεRI(제I형 Fcε 수용체)와 FcεRII(제II형 Fcε 수용체) 두 가지가 있으며, IgE는 두 Fcε 수용체 모두를 더 많이 발현하도록 조절할 수 있다.

③ Th1 cytokine(IL-12, IFN-γ 등)

Th1 세포는 IL-12, IFN-γ, TNF-α 등을 생산하고 대식세포(macrophage)를 활성화시켜 세포매개성 지연형 면역반응(type 4 hypersensitivity)을 유발한다. 아토피 피부염 급성기에는 피부병변에 CLA(cutaneous lymphocyte antigen)+Th2 세포의 생산이 증가하여 IL-4, IL-5, IL-13 등의 사이토카인들의 발현이 증가하며 혈액 내 IgE 농도가 증가한다. 하지만 만성기로 가면서 Th2 보다 Th1 세포의 생산이 증가하여 IL-12, IFN-γ 등의 사이토카인들의 발현이 촉진되며 혈액 내 호산구와 대식세포 등의 염증세포들이 지속적으로 조직으로 유출되어 정상조직의 파괴를 야기한다.

④ Th2 cytokine(IL-4, IL-5, IL-13, IL-31 등)

Th2 세포는 IL-4, IL-5, IL-13, IL-31을 생산하고 IgE 합성을 증가시키며 호산구(eosinophil)의 분화를 유도하여 알레르기성 속효성 면역반응(type 1 hypersensitivity)을 유발한다.

⑤ Th1 cytokine/Th2 cytokine

제 1형 피부의 면역과민반응 상태에서는 Th1 세포반응보다 Th2 세포반응이 우세하게 관찰된다. 즉, 과민피부상태는 T 세포 기능의 조절 이상과 연관이 있고, Th2 세포 반응이 Th1 세포 반응보다 우세한 사이토카인 생성의 불균형이 특징이다.

⑥ Treg cytokine(IL-10, TGF-β)

조절 T 세포는 수지상 세포의 기능을 억제하며, TGF-β와 IL-10을 생산하여 항원 특이적인 Th2 세포의 활성화를 차단한다. 인간을 대상으로 한 연구에서도 알레르기 질환이 없는 사람에서 알레르기 질환을 가진 사람에 비해 조절 T 세포 혹은 조절 T 세포 유래 항염증 사이토카인인 IL-10이 증가되어 있는 반면, 알레르기 질환이 있는 사람에서는 IL-4를 분비하는 Th2 세포가 증가되어 있음이 알려져 있다.

⑦ CD4⁺ T cell/CD8⁺ T cell

피부의 면역과민반응 상태의 병변에 존재하는 T 세포는 CD4⁺ T 세포뿐만 아니라 CD8⁺ T 세포도 존재하기 때문에 CD4⁺ T 세포에서 생성한 cytokine만 있는 것이 아니다. 억제 T

세포(CD8⁺ T cell)도 생성된 cytokine에 따라 Th1, Th2와 같이 type 1 CD8⁺ T cells (Tc1)과 type 2 CD8⁺ T cells (Tc2)로 구분할 수 있다. 과민피부상태에서는 CD4⁺/CD8⁺ T 세포 ratio가 감소하는 것으로 알려져 있다.

⑧ TSLP(Thymic stromal lymphopoietin)

피부의 면역과민반응 상태에서 또 하나의 중요한 사이토카인인 thymic stromal lymphopoietin (TSLP)는 CD11c⁺ myeloid dendritic cell을 유도하여 Th2 염증 반응을 일으키는 것으로 알려져 있다. 이러한 TSLP는 과민피부상태에 따른 병변부에서 증가되어 있으며 과민피부상태의 중증도와도 연관되어 있다.

⑨ TARC(Thymus and activation-regulated chemokine)

TARC/CCL17(Thymus and activation-regulated chemokine)은 CCR4 세포(CC chemokine receptor 4-positive)의 반응을 불러일으키는 Th2 chemokine의 하나로서 피부의 면역과민반응 상태에서 표피의 각질형성세포, 혈관내피세포, T 세포와 수지상 세포에서 발현하는 것으로 알려져 있다.

⑩ 총 호산구수

호산구는 말초혈액 백혈구의 1~3 %를 차지하고 있는 과립구의 일종으로 피부의 면역과민 반응 상태에서 혈청 중 총 호산구 수의 증가는 임상적 중증도와 상관관계가 있는 것으로 보고된다. 특히, 과민피부상태가 IgE 매개성인 경우 총 호산구수 증가가 더욱 현저하게 관찰된다고 보고되고 있다.

⑪ 호산구 양이온단백질(eosinophil cationic protein; ECP)

호산구 양이온단백질은 호산구 과립에서 분비되는 물질로서, 염증 반응을 야기하는 것으로 알려져 있다. 호산구의 탈과립(degranulation)은 IgA, IgG, IgE 등의 항체가 호산구 표면에 존재하는 수용체에 결합하는 것에서도 유발된다.

⑫ Eotaxin

Eosinophil chemotactic proteins로 CC 계열 chemokine의 일종으로서 호산구에 작용하여 조직 내 호산구 축적에 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 수치가 낮을수록 염증개선 효과가 있다고 판정한다.

⑬ Scratching behavior frequency(itching time)

동물시험에서 육안 관찰로 일정시간 동안 긁는 횟수를 측정한다. 예를 들어 10분간 총 5회 (총 50분 동안) 긁는 횟수를 측정한다. 긁는 횟수가 많을수록 피부염 증세가 심함을 의미한다.

⑭ Dermatitis Severity 평가

동물시험에서 육안 관찰을 통해서 피부염 증상을 평가할 수 있다. 총 점수가 높을수록 피부염 증세가 심함을 의미한다.

⑮ 조직 병리학적 검사

조직병리검사는 생검 혹은 수술로 절제된 검체를 육안 검색, 고정 및 탈수, 파라핀 포매, 박절, 염색 등의 과정을 거쳐 현미경으로 관찰 후 진단을 내리게 되는데 이로써 동물시험이나 인체적용시험에서 피부염의 증상 및 개선여부를 판단할 수 있다.

⑯ 피부단자검사

알레르기 질환의 원인물질을 규명하기 위한 진단 방법으로 비교적 간편하게 시행할 수 있고 신속하게 검사결과를 알 수 있다는 장점이 있다. 음성으로 나오면 해당 알레르겐은 원인이 아니라고 할 수 있으나, 양성으로 나오는 경우에도 해당 알레르겐이 원인이라고 확진할 수는 없다.

⑰ MAST(Multiple Allergen Simultaneous Test)

화학발광법을 이용하여 혈청에 총 IgE와 여러 알레르겐 특이 IgE 항체를 동시에 측정하는 방법이다. 검사결과가 반정량적이고, RAST(radioallergosorbent test) 및 피부단자시험과 비교하여 예민도가 낮지만, 여러 항원을 동시에 검색하여 경제적이고 쉬운 장점이 있다.

⑱ ImmunoCAP

원리는 RAST와 동일하나 고형상으로 paper 대신 cyanogens bromide activated nitrocellulose carrier를 사용한다. 이 방법은 기존의 paper disc 방법에 비하여 알레르겐 결합능이 3배 이상 높아 검체와 쉽게 결합하며 20분만에 알레르겐-항체 결합이 평형상태에 도달한다. 특히 특이도를 유지하면서 예민도를 높였으며, 혈청 중 총 IgE 농도가 높은 경우에도 위양성 반응이 없으며, 분석과정이 표준화, 자동화되어 사용이 편리하며 정량적으로 분석이 가능하여 혈청 내 특이 항체를 측정하는데 가장 적절한 방법으로 알려져 있다.

(2) 피부장벽 기능이상 평가

① 필라그린(Filaggrin)

필라그린은 표피의 과립세포에 존재하는 keratohyaline granule을 구성하는 profilaggrin이 분해됨으로써 생성되는 histidine이 풍부한 양이온 단백질로서 각질형성세포 내에서 케라틴 필라멘트를 응집하여 피부장벽에 중요한 역할을 담당한다. 정상부위에 비하여 급성 과민피부 상태에서는 IL-4와 IL-13의 발현이 증가되어 분화된 각질형성세포에서 필라그린 발현이 현저히 감소되고 따라서 피부장벽의 손상이 유발된다.

② 세라마이드(Ceramide)

세라마이드는 피부 각질층의 각질세포간 지질의 주성분으로 각질층 전체 지질의 약 50%를 차지하고, 수분(결합수)과 함께 지질 2중막을 형성하여 합습과 장벽기능을 갖게 하는 주성분이다. 세라마이드가 층상구조로 나란히 배열되고, 그 사이에 물이 보충되어 수분유지능력을 갖게 하며, 이 층상구조가 전체적인 장벽기능을 발휘하고 있다. 과민피부상태에서는 정상인과 비교하여 상대적인 세라마이드 함량이 감소되어 피부 장벽기능이 저하되는 것으로 알려져 있고, 세라마이드의 생성량은 glucocerebrosidase, sphingomyelinase, ceramidase 등의 활성화에 의해서 결정되는 것으로 알려져 있다.

③ Serine palmitoyltransferase

표피에서 serine은 palmitoyl-CoA와 결합하여 serine palmitoyltransferase에 의해 세라마이드를 생성하여 보습인자로서의 역할을 한다.

④ Ceramidase

피부에서 세라마이드의 분해에 관여한다.

⑤ Sphingomyelin deacylase

과민피부상태에서는 ceramidase 외에도 sphingomyelin deacylase라는 효소가 특이하게 발현하여 세라마이드 함량을 감소시킨다고 보고되었으며, 이 효소의 작용으로 세라마이드 대신 생성된 SPC(sphingosylphosphorylcholine)는 세포의 성장과 분화를 조절하고, ICAM-1 (intercellular adhesion molecule-1) 발현과 arachidonic acid cascade를 자극하여 피부 면역반응 과민상태에서 염증 반응을 일으키는 것으로 알려져 있다.

⑥ Serine hydroxymethyl transferase

Serine은 glycine의 전구체로서 serine hydroxymethyl transferase에 의해 glycine으로 전환되며, 이는 피부에서 보습인자로서 역할을 한다.

⑦ Serine protease activity

과민피부상태에서는 피부표면의 pH가 증가하고, serine protease inhibitor 단백질인 LEKTI 1의 활성도가 감소하면 각질세포의 탈락을 유도하는 serine protease의 활성이 촉진된다.

⑧ 피부 pH

피부표면의 pH는 산성이며, 이는 피부장벽의 항상성 유지에 매우 중요하다. 피부 장벽 기능의 악화는 피부 알칼리화와 연관되므로, 피부 pH를 측정함으로써 피부 장벽 기능을 평가할 수 있다.

⑨ 경표피 수분 손실량(Transepidermal Water Loss; TEWL)

피부의 면역과민반응 상태에서는 경표피 수분 손실량이 증가한다.

⑩ 피부 수분함유량(Skin surface hydration; SSH) - 각질층 수분함량, 수분결합력, 수분유지력

피부의 면역과민반응 상태에서는 각질층 수분함량이 저하된다. 따라서 각질층을 통해서 유입되는 수분과 각질층 내의 수분함량이 중요하다.

다. 임상적 개선

면역과민반응에 의한 피부상태 개선을 확인하기 위해서는 SCORAD, EASI, IGA 등의 score를 대조군과 비교, 평가하는 것이 필요하다.

① SCORAD score(Scoring of Atopic Dermatitis)

SCORAD score는 아토피 피부염의 임상적인 경과를 평가하기 위하여 현재까지 개발된 등급 체계 중에서 가장 객관적이고 널리 사용되는 임상평가의 방법이다.

② EASI score (Eczema Area and Severity Index)

피부병변의 범위와 심각성을 본다는 점에서 oSCORAD(objective SCORAD)와 거의 동일하며, 유효성이 충분히 검증된 평가방법이다. EASI는 습진의 주요 증상들의 심한 정도에 대하여 몸을 해부학적으로 4 부분으로 나누어 평가한다.

③ IGA score (Investigator's Global Assessment)

IGA는 임상시험의 평가도구로서 아토피 피부염의 전반적인 피부징후 정도를 0(clear)-4(severe)까지 5단계로 평가하며, 임상가가 간단하게 종합적 평가를 할 수 있다.

2. 주요 바이오마커의 측정 방법

가. 면역조절 기능이상

① IgE

세포실험에서 IgE 생성을 측정할 수 있고, 실험동물의 혈액에서 혈장 또는 혈청을 분리하여 효소면역측정법(enzyme-linked immunosorbent assay; ELISA)을 이용한 IgE detection kit로 측정할 수 있다.

② 호산구 내 Fcε 수용체

Fcε 수용체는 세포실험이나 실험동물과 사람의 혈액으로부터 호산구를 분리하여 정제한 후, IL-4, IgE를 처리하고, Flow-Cytometric Analysis 방법을 이용하여 Fcε 수용체 발현을 분석할 수 있다. 호산구를 모아 PBS(3 % FCS, 0.1 % NaN₃ 함유)로 2회 세정한다. 그 다음 CRA-1 또는 control mAb(IgG2bκ)를 5 μg/ml 첨가하여 60분 동안 얼음 속에 둔다. 다시 세포를 세정하여 FITC-conjugated F(ab')₂ fragment of goat anti-mouse IgG(7μg/ml)로 30분 동안 얼음 속에서 염색한다. 염색된 세포를 세정하고, 각 세포에 대한 형광강도를 유세포 분석기(flow cytometry)를 이용하여 측정한다.

③ Th1 cytokine(IL-12, IFN-γ 등)

세포실험의 경우 세포에 시험물질을 처리하고 일정시간 후 배양상층액을 취하여 각각의 사이토카인을 효소면역측정법으로 측정한다. 동물시험에서 진드기 항원 및 아토피 피부염 유발 물질을 통해 아토피 피부염 병변을 유발시킨 후, 병변의 생검을 통한 피부조직의 균질상층액 등에서 ELISA kit를 사용하여 분석한다. 사람의 경우 혈청(serum), 혈장(plasma), 말초혈액 단핵구(peripheral blood mononuclear cells, PBMC)에서 효소면역측정법으로 정량한다.

④ Th2 cytokine(IL-4, IL-5, IL-13, IL-31 등)

세포실험의 경우 세포에 시험물질을 처리하고, 일정시간 후 배양상층액을 취하여 각각의 사이토카인을 효소면역측정법으로 측정한다. 동물시험에서 분리된 피부 조직 세포를 배양한 배양상층액, 생검을 통한 피부조직의 균질상층액 등에서 ELISA kit를 사용하여 분석할 수 있다. 사람의 경우 혈청, 혈장, 말초혈액 단핵구에서 효소면역측정법으로 정량한다.

⑤ Th1 cytokine/Th2 cytokine ratio

세포실험의 경우 시험물질을 처리하고 일정시간 후 배양상층액을 취하여 각각의 사이토카인을 효소면역법으로 측정하고, Th1 cytokine/Th2 cytokine ratio를 구한다. 실험동물의 조직을

떼어내고, 세포를 배양하여 배양상층액에서 Th1 cytokine, Th2 cytokine의 농도를 ELISA kit를 사용하여 측정하고, Th1 cytokine/Th2 cytokine ratio를 구할 수 있다. 사람의 혈청, 혈장 등에서 사이토카인의 농도를 효소면역측정법으로 정량하고, Th1 cytokine/Th2 cytokine ratio를 구한다.

⑥ Treg cytokine(IL-10, TGF- β)

세포실험의 경우, 세포에 시험물질을 처리하고, 일정시간 후 배양상층액을 취하여 각각의 사이토카인을 효소면역측정법으로 측정한다. 동물시험에서 분리된 피부 조직 세포를 배양한 배양상층액, 생검을 통한 피부조직의 균질상층액 등에서 ELISA kits를 사용하여 분석할 수 있다. 사람의 경우, 혈청, 혈장, 말초혈액 단핵구에서 효소면역측정법으로 정량한다.

⑦ CD4⁺ T cell/CD8⁺ T cell ratio

세포실험이나 동물이나 사람의 전혈(whole blood)에서 유세포분석기를 이용하여 CD4⁺/CD8⁺ T 세포 ratio의 증감을 측정할 수 있다.

⑧ TSLP(Thymic stromal lymphopoietin)

세포실험, 실험동물의 피부생검 조직 등에서 TSLP의 mRNA 발현을 RT-PCR 방법을 이용하여 측정할 수 있다. 사람의 경우, 혈액에서 혈청을 분리하여 ELISA kit를 사용하여 분석할 수 있다.

⑨ TARC(Thymus and activation-regulated chemokine)

피부 생검을 이용하여 실험동물의 피부에서 TARC 수준을 ELISA 방법으로 측정할 수 있다. 실험동물에서 병변이 있는 피부를 잘라내어 lysis buffer로 용해한 후, BCA용액으로 총 세포 단백질을 함유한 상층액을 정량하고 TARC 농도를 측정하여 결과값을 조직 용해액 내 총 단백질을 이용하여 환산한다. 사람의 경우 혈액의 혈청을 분리하여 효소면역측정법으로 측정할 수 있다.

⑩ 총 호산구수

실험동물의 혈액을 채취하여 헤파린을 처리하고 혈구계를 이용하여 총 백혈구수와 총 호산구수를 측정할 수 있다. 사람의 경우 자동혈구계산기를 이용하여 측정할 수 있다.

⑪ 호산구 양이온단백질(eosinophil cationic protein; ECP)

실험동물이나 사람의 혈청에서 효소면역측정법으로 측정할 수 있다.

⑫ Eotaxin

피부 생검을 이용하여 실험동물의 피부에서 eotaxin 수준을 효소면역측정법으로 측정할

수 있다. 병변이 있는 피부를 잘라내어 lysis buffer로 용해한 후, BCA용액으로 총 세포 단백질을 함유한 상층액을 정량하고 eotaxin 농도를 측정하여, 결과 값을 조직 용해액 내 총 단백질량을 이용하여 환산한다. 사람의 경우, 혈액에서 혈청을 분리하여 ELISA 방법으로 측정할 수 있다.

⑬ Scratching behavior frequency(itching time)

동물시험에서 육안 관찰로 일정시간 동안 긁는 횟수를 측정한다. 예를 들어 10분간 총 5회 (총 50분 동안) 긁는 횟수를 측정한다.

⑭ Dermatitis Severity 평가

동물시험에서 육안 관찰을 통해서 피부염 증상을 평가할 수 있다. Dermatitis severity에 대한 총 점수는 5가지 징후나 증상(itch, erythema/hemorrhage, edema, excoriation/erosion, scaling/dryness) 각각에 대한 점수, 즉 0; 증상 없음, 1; 경증, 2; 중등, 3; 중증의 합으로 판정한다. 총 점수가 높을수록 피부염 증세가 심함을 의미한다.

⑮ 조직 병리학적 검사

동물시험에서 실험동물의 피부조직을 취하여 염색(staining)한 후, 피부두께(각질상태), 피부 염증세포의 침윤(mast cell의 infiltration, eosinophil 축적 등)을 평가할 수 있다. 예를 들어, 마우스의 안면피부와 등피부를 생검하여 10% phosphate-buffered formalin(pH 7.2)에 고정시킨 후 파라핀 포매한다. 4mm로 잘라 hematoxylin and eosin(H&E), toluidine blue로 염색하여 현미경을 이용하여 다양한 염증세포와 비만 세포(mast cells)의 변화를 관찰한다.

⑯ 피부단자검사

여러 가지 항원이 들어있는 액체를 등이나 팔에 올려놓고 그 부위를 소독된 침 혹은 주사 바늘로 피부를 약간 들어 올려 점적한 검사액이 표피에 도달하도록 한다. 15분이 경과한 후 관찰하여 붉은 발진과 부어오른 팽진의 정도에 따라 알레르기 반응 정도를 판단하며, 팽진의 크기가 음성대조 (negative control)보다 3 mm 이상 큰 경우 양성으로 판독한다. 음성으로 나오면 해당 알레르겐은 원인이 아니라고 할 수 있으나, 양성으로 나오는 경우에도 해당 알레르겐이 원인이라고 확진할 수는 없다.

⑰ MAST(Multiple Allergen Simultaneous Test)

우리나라 알레르기질환 환자들에서 가장 흔하고 중요한 항원으로 알려진 35종의 호흡기 및 음식물 알레르겐을 기준으로 MAST사(MAST Immunology, Inc., California, USA)가 만든 MAST-CLA Allergen-specific IgE Assay kit 중 Korean inhalant panel을 사용하여 판정한다.

⑱ ImmunoCAP

Phadia 100 (ImmunoDiagnostics, Uppsala, Sweden) 장비로 전용시약을 사용하여 측정한다. 장비 내의 검사 과정은 혈청 40 μ L를 반응컵에 담긴 cellulose sponge 형태의 시약과 실온에서 30분간 반응시킨 후 세척하고 β -galactosidase가 결합된 항 IgE 항체를 첨가하여 실온에서 30분간 반응시킨다. 2차 세척후 기질액을 넣고 30분간 반응 후 반응정지 용액을 넣고 형광 강도를 측정하면 보정곡선에 의해 0.0-100 IU/mL 범위 내에서 WHO 표준 IgE 농도 값으로 보정되어 산출되고 0.35 IU/mL (class 1) 이상을 양성으로 판정한다.

나. 피부장벽 기능이상 평가

① 필라그린(Filaggrin)

실험동물의 표피조직에서 필라그린의 발현량을 Western blot analysis 방법으로 측정할 수 있다. 사람의 경우 펀치생검(punch biopsy) 등으로 얻은 피부조직에서 real-time RT-PCR과 western blotting의 방법으로 mRNA 발현량과 단백질 발현량을 측정할 수 있다.

② 세라마이드(Ceramide)

피부의 세라마이드 함량을 측정할 수 있으며, 동물시험에서 피부생검 조직에 Tris-HCl buffer(1M, pH 7.5)를 가하고 균질화한 후, 동량의 folch 용액(클로로포름 : 메탄올=2:1 v/v)을 가한 후 3,000 $\times$ g에서 5분 동안 원심분리한다. 2회 반복 후 모아진 하층액을 N₂ gas로 건조시키고, hexane(2% isopropanol 함유)을 첨가하여 필터링한다. 필터링하여 얻은 샘플을 HPLC(high performance liquid chromatography)를 이용하여 분석한다. 사람의 경우 팔 안쪽에서 각질층을 취하여 지질을 추출하고 추출된 지질을 박층크로마토그래피(thin layer chromatography, TLC)를 이용하여 세라마이드 함량을 측정할 수 있다.

③ Serine palmitoyltransferase

세포실험과 시험동물의 피부생검 조직 등에서 serine palmitoyltransferase의 발현을 RT-PCR이나 western blotting 등의 방법을 이용하여 측정한다. 또한 de novo 세라마이드 합성능을 측정하는 방법으로 효소의 활성을 측정할 수 있는데, 검체에 ¹⁴C-serine을 처리하고 16시간 배양하여 HPTLC를 이용하여 세라마이드를 분획하고 세라마이드에 병합된 ¹⁴C를 분석함으로써 효소의 활성을 측정할 수 있다.

④ Ceramidase

세포실험과 시험동물의 피부생검 조직 등에서 ceramidase의 발현을 RT-PCR이나 western blotting 등의 방법을 이용하여 측정할 수 있다.

⑤ Sphingomyelin deacylase

사람의 경우, tape-stripping 방법에 의한 피부각질, 펀치생검(punch biopsy) 등으로 얻은 피부조직을 검체로 하여 측정할 수 있고, sphingomyelin deacylase 활성의 직접적인 측정을 위해 16-(9-anthroyloxy) hexadecanoylsphingosylphosphorylcholine이나 [palmitic acid-¹⁴C]sphingomyelin을 합성하고, 이들을 기질로 이용하여 sphingomyelin deacylase 활성에 의해서 생성되는 표지된(labeled) 유리지방산을 측정함으로써 효소 활성을 측정할 수 있다.

⑥ Serine hydroxymethyl transferase

세포실험에서 serine hydroxymethyl transferase의 발현을 RT-PCR이나 western blotting 등의 방법을 이용하여 측정할 수 있다.

⑦ Serine protease activity

사람의 팔에 반복적인 tape strippings를 실시하고, tape strippings의 단백질 함량을 850 nm에서 측정하고, 측정 직후에 tape stripping을 1.5 mL 튜브에 넣고, 750 μ L의 buffer(0.1 mol/L Tris/HCl, 0.5 % Triton X-100, pH 8.0)를 넣어 25 $^{\circ}$ C, 1000 rpm에서 15분 동안 추출한다. 추출액 250 μ L에 1.25 μ L의 5 mmol L⁻¹ fluorogenic peptide substrates(dimethylsulphoxide에 녹임)를 처리한다(최종 substrate 농도가 25 μ mol L⁻¹이 되도록 함). 용액을 37 $^{\circ}$ C, 1000 rpm에서 혼합하고, 2시간 후에 반응용액 100 μ L에 아세트산 1 %를 100 μ L 처리하여 반응을 종료시킨다. Aminomethyl coumarin(AMC)을 reverse-phase high-performance liquid chromatography(HPLC)로 정량한다.

⑧ 피부 pH

실험동물이나 사람의 피부표면에서 pH 측정기를 사용하여 측정한다. 21-22 $^{\circ}$ C, 습도 45-50%의 조건에서 측정하도록 한다.

⑨ 경표피 수분 손실량(Transepidermal Water Loss; TEWL)

실험동물과 사람의 피부표면에서 측정기기를 이용하여 측정할 수 있으며, 측정할 수 있는 기기는 개방형과 폐쇄형으로 구분되며, 개방형은 측정 시 피부에 정확히 수직으로 세워야 하고, 측정 시간이 길며, 외부 공기의 흐름에 영향을 받는 단점이 있다. 폐쇄형은 이러한 단점을 보완한 방법으로 알려져 있다.

⑩ 피부 수분함유량(Skin surface hydration; SSH) - 각질층 수분함량, 수분결합력, 수분유지력

수분함유량 측정기기는 정전부하용량(capacitance)을 이용한 측정기기와 전기전도도(conductance)를 이용한 기기가 있다. 시험동물 표피의 수분함량은 22-24℃, 습도 55-60%에서 등 피부 표면(dorsal skin surface)에서 측정기기를 이용하여 측정할 수 있고, 사람의 피부 표면에서도 측정기기를 사용하여 측정한다.

다. 임상적 개선

① SCORAD score(Scoring of Atopic Dermatitis)

European Task Force on atopic dermatitis에서 제안한 방법에 따라 병변의 범위 (A), 임상적 강도 (B), 소양감과 수면 박탈의 두 가지 주관적 증상 (C)의 세 가지 항목으로 나누어 점수화 한다. 병변의 범위는 0~100 %로 구하고, 임상적 강도는 홍반, 찰상, 부종 및 구진, 삼출물/가피, 건조함, 태선화의 6가지를 각각 0~3등급으로 나누며, 주관적 증상은 가려움증과 수면박탈을 각각 0~10등급으로 나누어 평가한다. 세 가지 항목의 점수를 통해 $SCORAD\ score = A/5 + 7B/2 + C$ 의 식에 따라 SCORAD score를 계산한다. SCORAD score는 관찰자 간의 편견을 없애기 위해 전문가 1인에 의해 평가되도록 한다.

② EASI score (Eczema Area and Severity Index)

EASI는 습진의 주요 증상들의 심한 정도에 대하여 몸을 해부학적으로 4 부분으로 나누어 평가한다. EASI score는 환자의 머리/목, 몸통, 상지, 하지에서 홍반, 부종/경결, 찰상, 태선화 정도를 관찰하고, 이를 각각 0~3점(0=없음, 1=경증, 2=중등도, 3=중증)으로 점수화하였다. 이 임상 소견 점수에 신체 부위별 병변 면적 점수(0=없음, 1≤10%, 2=10~29%, 3=30~49%, 4=50~69%, 5=70~89%, 6≥90%)를 곱한다. 이 신체 부위별 점수에 머리/목은 0.1, 상지는 0.2를, 몸통은 0.3을, 하지는 0.4를 곱하여 모두 합산한다.

③ IGA score (Investigator's Global Assessment)

시험자의 전반적 평가는 두경부, 상지, 체간, 하지의 4부분으로 나누어 심한 정도를 측정하여 평가한다. 심한정도와 해당 부위의 개수를 평가하여 표 4와 같이 “분명한 개선(Clear), 거의 개선(Almost clear), 약간의 개선(Mild), 중등도 증상(Moderate), 심각한 증상(Severe), 매우 심각한 증상(Very Severe)”으로 평가한다. 심한정도는 홍반, 부종 및 구진, 찰상, 삼출 및 가피, 인설, 태선화의 정도를 각각 0~3점으로 점수화하여 측정한다.

3. 시험 설계 시 고려사항

가. 시험관 시험

(1) 시험계

HaCaT cell(human keratinocyte cell)과 Rat basophilic leukemia cell인 RBL-2H3 (rat basophilic leukemia cell) 등과 같은 세포주를 사용하여 시험물질의 효능을 평가한다.

(2) 바이오마커

시험물질의 작용 기전을 설명하기 위하여 예상되는 대사 경로에 위치하고 있는 바이오마커의 양, 활성, 단백질 발현, mRNA 발현 등을 측정한다.

(3) 통계처리

시험결과는 대조군과 시험군을 통계적으로 비교하여 $p < 0.05$ 수준에서 유의성을 판정한다.

나. 동물시험

(1) 실험동물

건강한 동물이나 물리적, 화학적 방법에 의해 아토피 피부염을 유발시킨 동물모델을 이용하여, 시험물질을 투여한 후 피부개선과 관련된 바이오마커를 측정한다. 관찰하고자 하는 목적에 따라 다양한 모델을 사용하여 피부개선기능에 대한 효과를 종합적으로 판단한다. 아토피 피부염에 사용되는 동물모델의 예는 표 2와 같다.

표 2. 아토피 피부염의 동물모델

동물모델		Target condition
피부자극모델	BALB/c 또는 NC/Nga mouse	- 화학물질을 이용한 모델 • DNCB(dinitrochlorobenzene) • DNFB(dinitrofluorobenzene) • PiCl(picryl chloride)
		- 항원물질을 이용한 모델 • 집먼지 진드기 추출물(DME, dust mite extract) • Staphylococcal enterotoxin + DME • 오브알부민(OVA)
아토피모델	Flaky tail 마우스	FLG 및 Tmem79의 돌연변이
식이유도모델	Hairless Rat	- 식이를 조절하여 아토피피부염을 유발하는 모델 • Magnesium deficient diet 모델이 대표적

(2) 바이오마커

시험물질의 작용기전을 설명하기 위해 바이오마커의 양, 활성, 단백질 발현, mRNA 발현 등을 측정한다. 한 가지 지표의 변화 보다는 기전에 따른 일련의 바이오마커의 변화를 종합적으로 평가한다.

(3) 통계처리

시험결과는 대조군과 시험군을 통계적으로 비교하여 $p < 0.05$ 수준에서 유의성을 판정한다.

다. 인체적용시험

(1) 시험대상

(가) 시험대상자(예시)

- 만 2세~65세
- SCORAD(SCORing of Atopic Dermatitis) 20~50점(mild~moderate)이거나 EASI(Eczema Area and Severity Index), IGA(Investigator's Global Assessment) 등의 기타 척도에서 경증~중등증에 해당되는 자
- 6개월 이상 간헐적 또는 지속적인 아토피 피부염 증상이 있는 자

(나) 대상자 제외기준(예시)

- 질병상태
 - 아토피 피부염 이외에 접촉피부염, 건선, 심한 피부감염, 혹은 그 외의 중증 피부 질환이나 전신질환이 있는 자
 - 심혈관질환/부정맥/심부전/심근경색/심장조율기 사용 이력자
 - 고혈압 질환자
 - 약물치료중이거나 조절되지 않는 당뇨병자
 - 간 질환자
 - 신장 질환자
 - 폐, 호흡기질환자
 - 근골격 질환자
 - 갑상선 질환자
 - 신경·정신장애(우울증, 조현병)를 가진 자
 - 암환자
 - 갑상선 또는 호르몬 이상증세/이상 갑상선 수치
- 생리적 상태
 - 임신부, 임신을 준비하는 사람
 - 수유부
 - 올바른 피임방법을 사용하지 않는 여성
 - 출산 후 6개월 이내 여성
- 약물복용 및 치료
 - 약물중독
 - 인체적용시험 시작 4주 이내에 아토피 피부염과 관련하여 항생제, 코르티코스테로이드제, 면역억제제를 투여한 자
 - 인체적용시험 시작 2주 이내에 아토피 피부염과 관련하여 항히스타민제를 투여한 자
 - 인체적용시험 시작 4주 이내에 아토피 피부염 개선을 위해 의약품, 한약, 건강기능식품을 투여한 자
 - 인체적용시험 시작 2주 이내에 아토피 피부염 병변 부위에 국소용 스테로이드나 국소 항생제/항진균제, 국소면역억제제를 도포한 자
- 생활 습관
 - 과도한 알코올 섭취(> 2g/일)
 - 흡연자

- 알러지
 - 실험물질에 대한 알레르기/부작용
- 기타
 - 최근 3개월 내 다른 임상시험에 참가한 자
 - 연구자에 의해 실험에 부적합하다고 판단되는 자

(2) 시험설계

무작위배정, 위약대조연구(Randomized, controlled trial; RCT)를 기본으로 한다.

(3) 바이오마커

시험물질의 작용기전을 설명하기 위해 바이오마커의 양, 활성, 단백질 발현, mRNA 발현 등을 측정한다. 한 가지 지표의 변화가 아닌 일련의 바이오마커의 변화를 종합적으로 평가한다.

(4) 통계처리

시험결과는 대조군과 시험군을 통계적으로 비교하여 $p < 0.05$ 수준에서 유의성을 판정한다.

(5) 소아 대상 인체적용시험에서의 고려사항

소아는 취약한 집단으로 연령에 따라 고유한 특징을 가지므로 아동(2~11세), 청소년(12~18세)에 따라 다른 시험설계가 요구될 수 있다. 소아를 대상으로 한 인체적용시험에서는 성인 대상의 노출결과가 충분히 확보된 후 임상시험에서의 소아 용량을 설정하는 것이 타당하다. 소아에 대한 용량설정은 연령, 체표면적, 체중을 고려한 설정이 필요하다. 소아를 대상으로 한 인체적용시험에서 이상반응이 나타날 경우, 전문가의 의견에 따라 투여기간을 조정하고, 투여기간 중에도 이상반응을 주의하여 관찰하여야 한다.

IV

참고문헌

1. 강유리, 최형태. 먹물버섯 키틴질 분해효소에 의한 인체유해성 *Cryptococcus neoformans* 세포벽 생성억제 및 *Alternaria alternata*에 기인한 생쥐의 피부알레르기의 감소. 미생물학회지 52(2):226-229, 2016
2. 강문선, 이영근, 김한수, 정현식, 황대연, 김동섭. 항알레르기에 대한 *Pediococcus inopinatus* Y2 유산균 발효 두유 커드의 치료 효과. 생명과학회지 29(4):478-483, 2019
3. 「건강기능식품 기능성 원료 및 기준·규격 인정에 관한 규정」, 식품의약품안전처 고시
4. 건강기능식품(개정판), 김미경, 권오란, 전향숙, 원혜숙, 김지연, 강병철, 제정환, 한재갑, 홍성화, 복혜숙, 김우선, 피재호, 박현용, 김현정, 교문사, 2010
5. 건강기능식품 기능성평가 해설서, 식품의약품안전처, 2008
6. 건강기능식품 시험법 가이드(I), 식품의약품안전처, 2005
7. 기현희, 이지현, 문광현, 이정호, 김대근, 정경옥, 임소연, 이영미, 김대. 아로니아 및 모링가 종자 복합물의 항아토피 상승효과. 한국식품영양과학회지 46(3):298-305, 2017
8. 김대성, 전병국, 임난영, 문연자, 이영은, 우원홍. 마 에탄올추출물의 피부 collagen 합성 촉진 및 MMPs 활성 억제효과. 동의생리병리학회지 27(2):183~188, 2013
9. 김보라, 김현수. 루꼴라(*Eruca sativa*) 추출물의 항균활성과 피부장벽 개선 효과. 한국식품저장유통학회 24(2):320-324, 2017
10. 김선주, 박신희. 달맞이꽃종자유와 달맞이꽃종자유-로즈마리 혼합오일이 아토피피부염 동물 모델에 미치는 효과. 아시안뷰티화장품학술지 15(4):399-410, 2017
11. 김정숙, 박영미, 정진부, 임재환, 정형진, 서울원. 대두 추출물 LES가 DNCB로 유도된 랫드의 알레르기성 접촉피부염에 미치는 영향. 생명과학회지 21(5):713-719, 2011
12. 김정희, 김대환, 김극준. 포도전정가지 추출물이 UVB에 유도된 피부 손상에 대한 알레르기과 피부증식 억제효과. KJCLS = 대한임상검사와과학회지 49(4):329-336, 2017
13. 김중채, 홍승옥. 이온화된 맥반석이 아토피 피부염 유발 Nc/Nga mice의 피부손상 및 염증 완화에 미치는 영향. 한방안이비인후피부과학회지 30(1):29-42, 2017
14. 도영복, 송영순. 부채마 에탄올 추출물의 아토피 피부염 억제 효과. Journal of Digital Convergence 17(8):257-264, 2019
15. 랑문정. 약용식물 추출물의 아토피성 피부염에 대한 항염증 및 항알레르기 효과 (제 2 보). 한국유화학회지 30(1):173-182, 2013
16. 류덕현, 오사랑, 정태성, 류덕선. DNCB로 유도된 아토피 피부염에 대한 당귀 추출물과 *Bacillus polyfermenticus* KJS-2의 효과. 대한한의학회지 38(3):30-42, 2017

17. 류진협, 안주희, 우용규, 조현정. LPS로 유도한 Raw 264.7 세포에서 A.C.C. 추출물의 항염증 효과. 한국산화기술학회논문지 18(12):503-511, 2017
18. 성준모, 박나영, 이신호. 여드름 원인균의 성장에 미치는 오미자와 솔잎의 효과. 한국미생물·생명공학회지 31(1):69-74, 2003
19. 박장순, 권혜진. 토복령 추출물의 여드름 균에 대한 항균활성. 한국융합학회논문지 8(12):425-430, 2017
20. 신길란, 김양원. NC/Nga 마우스의 아토피 피부염에 미치는 카모마일, 라벤더, 샌달우드 혼합오일 도포의 치유효과. 감성과학 19(2):27-34, 2016
21. 안상현, 김재규, 천진홍, 김기봉. 두시 하태독법의 IL-4 활성 조절이 *D. farinae* 유도 아토피 유사피부염 발병 조절에 미치는 효과. 대한한방소아과학회지 31(1):43-51, 2017
22. 엄미선, 류희욱. *Bacillus subtilis natto* 균주로 발효한 병아리콩 낫토를 이용한 mask pack의 피부 개선 효과. 한국유화학회지 35(1):62-69, 2018
23. 윤홍화, 조병옥, 이혜승, 추정임, 장선일. 포도가지와 새송이버섯 혼합 추출물의 항염증과 아토피 피부염 개선 상승효과. 한국식품과학회지 48(6):582-589, 2016
24. 은소영, 윤정주, 김혜음, 안유미, 한병혁, 홍미현, 손찬옥, 나세원, 이윤정, 강대길, 이호섭. 피부각질세포에서 梔子柏皮湯의 아토피 피부염 개선효과. J Physiol & Pathol Korean Med 32(4):226~231, 2018
25. 이경인, 김수민, 김선민, 표병식. 완속 복분자 부위별 지방산 조성과 여드름 원인균에 대한 항균 활성. 한국식품영양과학회지 40(3):466 ~ 469, 2011
26. 이선숙, 한영숙, 임지영. 연잎 추출물의 여드름 피부 개선 효과. 아시안뷰티화장품학술지 10(2):405-413, 2012
27. 이응지, 배성운, 남궁우, 이용화. 천연 약용식물 추출물의 여드름 원인균에 대한 항균 및 항염증 효과. 大韓化粧品學會誌 36(1):57-63, 2010
28. 임정희, 서병주, 김정은, 채창석, 임신혁, 한운수, 박용하. 김치에서 분리한 *Lactobacillus sakei* proBio65의 면역 조절 특성. Korean J Microbiol Biotechnol 39(3) p313-316, 2011
29. 장문석, 고은빛, 이호진, 김주성, 김진수, 지성원, 김휴영, 엄명훈, 김덕희, 김한곤, 박성규. 연잎, 연꽃, 연꽃 수술 추출물이 UVB 자외선 조사에 의한 각질형성세포의 보호 및 피부 노화 방지에 미치는 영향. 大韓本草學會誌 26(2):45-49, 2011
30. 정경아, 정민주. DNCB로 유도된 생쥐에서 아토피 피부염에 대한 야관문추출물의 효과. 한국융합학회논문지 7(4):67-73, 2016
31. 정아람, 안상현, 정한솔, 김기봉. 황련 추출물의 아토피피부염 유발 생쥐에서 피부손상 완화 효과. J Physiol & Pathol Korean Med 33(2):102-108, 2019

32. 주영현, 원종현, 김지윤, 조광현, 민경업, 김규한. NC/Nga 마우스에서의 아토피 피부염 모델 개발 및 피부염 병변에 대한 다래 추출물(actinicia Extract)의 효과. 대한피부과학회지 47(10) p1105-1112, 2009
33. 조병옥, 윤홍화, 신재영, 방승주, 채 데니스 창, 장선일. 고욤잎, 감잎 및 뽕잎 복합추출물의 항아토피 효과. 한국식품영양과학회지 45(4):501-509, 2016
34. 조주성, 지래원, 장보국, 정현상, 이철희. 여드름 유발균 *Propionibacterium acnes*에 대한 녹나무과 10종의 항균활성 韓國資源植物學會誌 31(5):423-432, 2018
35. 최동준, 조옥민, 최다희, 황형서. 제니스테인 Cyclodextrin 포접체의 항염 및 피부장벽에 미치는 영향. J. Soc. Cosmet. Sci. Korea 44(2):171-181, 2018
36. 최미옥, 김배진, 조성경, 정희경, 이진태, 김학운, 권대준. 유산균 발효에 의한 올피(*Castanea crenata* inner shell) 열수추출물의 아토피 피부 질환에 관한 효과 연구. 한국식품저장유통학회지 20(4):583-591, 2013
37. 최은주, 김은경, 지용석, 이창진. 버섯류 추출물의 피부각질세포(HaCaTcell) 내 염증성 사이토카인 억제효과. 한국버섯학회지 13(3):170-174, 2015
38. 호성현, 박은진, 최재혁, 어해관, 홍은실, 김선영, 김선희. 개의 아토피성 피부염에 대한 다래(*Actinidia aguta*) 열매의 열수 추출물, PG 102의 치료효과. 생약학회지 40(1) p59-64, 2009
39. 홍승철, 김영지, 송주연, 박송원, 이찬술, 정지천. 한약 및 침치료 후 피부습진의 SCORAD점수를 호전시킨 성인 아토피성 피부염 환자 증례보고. 대한한방내과학회지 39(5):1004-101, 2018
40. 홍창의, 전영희, 유수연. 대추 추출물의 항산화 및 아토피 피부염 관련 항염증 효과. 생약학회지 50(2):86-95, 2019
41. Bernardini C, Zannoni A, Bertocchi M, Tubon I, Fernandez M, Forni M. Water/ethanol extract of *Cucumis sativus* L. fruit attenuates lipopolysaccharide-induced inflammatory response in endothelial cells. BMC Complement Altern Med 18(1):194, 2018
42. Callewaert C, Nakatsuji T, Knight R, Kosciolk T, Vrbanac A, Kotol P, Ardeleanu M5, Hultsch T, Guttman-Yassky E, Bissonnette R, Silverberg JI, Krueger J, Menter A, Graham NMH, Pirozzi G, Hamilton JD, Gallo RL. IL-4R α Blockade by Dupilumab Decreases *Staphylococcus aureus* Colonization and Increases Microbial Diversity in Atopic Dermatitis. J Invest Dermatol 2019
43. Cha KJ, Kashif A, Hong MH, Kim G, Lee JS, Kim IS. *Poncirus Trifoliata* (L.) Raf. Extract Inhibits the Development of Atopic Dermatitis-like Lesions in Human

- Keratinocytes and NC/Nga mice. *Int J Med Sci* 16(8):1116-1122, 2019
44. Cho K, Kang MC, Parveen A, Yumnam S, Kim SY. Anti-Inflammatory Effect of Chloroform Fraction of *Pyrus Ussuriensis* Maxim. Leaf Extract on 2, 4-Dinitrochlorobenzene-Induced Atopic Dermatitis in nc/nga Mice. *Nutrients* 11(2), 2019
 45. Choi EJ, Park ZY, Kim EK. Chemical Composition and Inhibitory Effect of *Lentinula edodes* Ethanolic Extract on Experimentally Induced Atopic Dermatitis in Vitro and in Vivo. *Molecules* 21(8), 2016
 46. Di Pierro F, Basile I, Danza ML, Venturelli L, Contini R, Risso P, Colombo M. Use of a probiotic mixture containing *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB12 and *Enterococcus faecium* L3 in atopic children. *Minerva Pediatr* 70(5):418-424, 2018
 47. Ermakov IV, Ermakova M, Sharifzadeh M1, Gorusupudi A, Farnsworth K, Bernstein PS, Stookey J, Evans J, Arana T, Tao-Lew L, Isman C, Clayton A, Obana A, Whigham L, Redelfs AH, Jahns L, Gellermann W. Optical assessment of skin carotenoid status as a biomarker of vegetable and fruit intake. *Arch Biochem Biophys* 646:46-54, 2018
 48. Farahnik B, Beroukhi K, Nakamura M, Abrouk M, Zhu TH, Singh R, Lee K, Bhutani T, Koo J, Liao W. Use of an oral phosphodiesterase-4 inhibitor (apremilast) for the treatment of chronic, severe atopic dermatitis: a case report. *Dermatol Online J* 23(5), 2017
 49. Fiedler F, Stangl GI, Fiedler E, Taube KM. Acne and Nutrition: A Systematic Review. *Acta Derm Venereol* 97(1):7-9, 2017
 50. Galli SJ, Tsai M. IgE and mast cells in allergic disease. *Nat Med* 18(5):693-704, 2012
 51. Giavina-Bianchi MH, Giavina-Bianchi P, Rizzo LV. Dupilumab in the treatment of severe atopic dermatitis refractory to systemic immunosuppression: case report. *Einstein (Sao Paulo)* 17(4):1-4, 2019
 52. Gil TY, Kang YM, Eom YJ, Hong CH, An HJ. Anti-Atopic Dermatitis Effect of Seaweed *Fulvescens* Extract via Inhibiting the STAT1 Pathway. *Mediators Inflamm* 2019
 53. Gomes PJ, Abelson MB, Stein L, Viirre E, Villafranca JE, Lasser EC. Iodixanol nasal solution reduces allergic rhinoconjunctivitis signs and symptoms in Allergen

- BioCube®: a randomized clinical trial. *J Asthma Allergy* 12:71-81, 2019
54. Han Y, Kim B, Ban J, Lee J, Kim BJ, Choi BS, Hwang S, Ahn K, Kim J. A randomized trial of *Lactobacillus plantarum* CJLP133 for the treatment of atopic dermatitis. *Pediatr Allergy Immunol* 23(7) p667-673, 2012
 55. Hide M, Suzuki T, Tanaka A, Aoki H. Long-term safety and efficacy of rupatadine in Japanese patients with itching due to chronic spontaneous urticaria, dermatitis, or pruritus: A 12-month, multicenter, open-label clinical trial. *J Dermatol Sci* 94(3):339-345, 2019
 56. Hoppenbrouwers T, Cvejić Hogervorst JH, Garssen J, Wichers HJ, Willemsen LEM. Long Chain Polyunsaturated Fatty Acids (LCPUFAs) in the Prevention of Food Allergy. *Front Immunol* 10:1-9, 2019
 57. Jimoh AA, Lin J. Biosurfactant: A New Frontier for Greener Technology and Environmental Sustainability. *Biosurfactant: A new frontier for greener technology and environmental sustainability. Ecotoxicol Environ Saf.* 184:109607, 2019
 58. Kang MC, Cho K, Lee JH, Subedi L, Yumnam S, Kim SY. Effect of Resveratrol-Enriched Rice on Skin Inflammation and Pruritus in the NC/Nga Mouse Model of Atopic Dermatitis. *Int J Mol Sci* 20(6), 2019
 59. Kang SJ, Choi BR, Kim SH, Yi HY, Park HR, Song CH, Ku SK, Lee YJ. Beneficial effects of dried pomegranate juice concentrated powder on ultraviolet B-induced skin photoaging in hairless mice. *Exp Ther Med* 14(2):1023-1036, 2017
 60. Kawahara T, Tsutsui K, Nakanishi E, Inoue T, Hamauzu Y. Effect of the topical application of an ethanol extract of quince seeds on the development of atopic dermatitis-like symptoms in NC/Nga mice. *BMC Complement Altern Med* 17(1), 2017
 61. Kawamura A, Ooyama K, Kojima K, Kachi H, Abe T, Amano K, Aoyama T. Dietary supplementation of gamma-linolenic acid improves skin parameters in subjects with dry skin and mild atopic dermatitis. *J Oleo Sci* 60(12) p597-607, 2011
 62. Kawashima H, Tateishi N, Shiraishi A, Teraoka N, Tanaka T, Tanaka A, Matsuda H, Kiso Y. Oral administration of dihomo-gamma-linolenic acid prevents development of atopic dermatitis in NC/Nga mice. *Lipids* 43(1) p37-43, 2008
 63. Kano M, Kubota N, Masuoka N, Hori T, Miyazaki K, Ishikawa F. Oral Administration of Fermented Soymilk Products Protects the Skin of Hairless Mice

- against Ultraviolet Damage. *Nutrients* 8(8):1-12, 2016
64. Kim D, Choi J, Kim MJ, Kim SH, Cho SH, Kim S. Reconstitution of anti-allergic activities of PG102 derived from *Actinidia arguta* by combining synthetic chemical compounds. *EXp Biol Med* 238(6) p631-640, 2013
 65. Kim HK. Protective Effect of Garlic on Cellular Senescence in UVB-Exposed HaCaT Human Keratinocytes. *Nutrients* 8(8):1-13, 2016
 66. Kim K, Kim KI, Lee J. Inhibitory effects of Cheongsangbangpoong-tang on both inflammatory acne lesions and facial heat in patients with acne vulgaris: A randomized controlled trial protocol. *BMC Complement Altern Med* 16:21, 2016
 67. Kim M, Lee SH, Kim Y, Kwon Y, Park Y, Lee HK, Jung HS, Jeoung D. Human Adipose Tissue-Derived Mesenchymal Stem Cells Attenuate Atopic Dermatitis by Regulating the Expression of MIP-2, miR-122a-SOCS1 Axis, and Th1/Th2 Responses. *Front Pharmacol* 9:1-19, 2018
 68. Kim JY, Park BK, Park HJ, Park YH, Kim BO, Pyo S. Atopic dermatitis-mitigating effects of new *Lactobacillus* strain, *Lactobacillus sakei* probio 65 isolated from Kimchi. *J Appl Microbiol* 115(2) p517-526, 2013
 69. Kim SH, Kim S, Lee SH, Park HW, Chang YS, Min KU, Cho SH. The effects of PG102, a water-soluble extract from *Actinidia arguta*, on serum total IgE levels: a double-blind, randomized, placebo-controlled exploratory clinical study. *Eur J Nutr* 50(7) p523-529, 2011
 70. Kwon HK, Song MJ, Lee HJ, Park TS, Kim MI, Park HJ. *Pediococcus pentosaceus*-Fermented *Cordyceps militaris* Inhibits Inflammatory Reactions and Alleviates Contact Dermatitis. *Int J Mol Sci* 19(11):1-15, 2018
 71. Li YF, Chen XY, Lei TC. Inhibitory effect of timolol on topical glucocorticoid-induced skin telangiectasia. *Mol Med Rep* 18(3):2823-2831, 2018
 72. Lu CL, Liu XH, Stub T, Kristoffersen AE, Liang SB, Wang X, Bai X, Norheim AJ, Musial F, Alræk. T, Fonnebo V, Liu JP. Complementary and alternative medicine for treatment of atopic eczema in children under 14 years old: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *BMC Complement Altern Med* 18(1), 2018
 73. Maruki-Uchida H, Morita M, Yonei Y, Sai M. Effect of Passion Fruit Seed Extract Rich in Piceatannol on the Skin of Women: A Randomized, Placebo-Controlled, Double-Blind Trial. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)* 64(1):75-80, 2018

74. Matsuo K, Hatanaka S, Kimura Y, Hara Y, Nishiwaki K, Quan YS, Kamiyama F, Oiso N, Kawada A, Kabashima K, Nakayama T. A CCR4 antagonist ameliorates atopic dermatitis-like skin lesions induced by dibutyl phthalate and a hydrogel patch containing ovalbumin. *Biomed Pharmacother* 109:1437-1444, 2019
75. Mokhtari F, Faghihi G, Basiri A, Farhadi S, Nilforoushzadeh M, Behfar S. Comparison effect of azithromycin gel 2% with clindamycin gel 1% in patients with acne. 5:72, 2016
76. Nakata J, Hirota T, Umemura H, Nakagawa T, Kando N, Futamura M, Nakamura Y, Ito K. Additive effect of *Lactobacillus acidophilus* L-92 on children with atopic dermatitis concomitant with food allergy. *Asia Pac Allergy* 9(2):1-12, 2019
77. Paller AS, Tom WL, Lebwohl MG, Blumenthal RL, Boguniewicz M, Call RS, Eichenfield LF, Forsha DW, Rees WC, Simpson EL, Spellman MC, Stein Gold LF, Zaenglein AL, Hughes MH, Zane LT, Hebert AA. Efficacy and safety of crisaborole ointment, a novel, nonsteroidal phosphodiesterase 4 (PDE4) inhibitor for the topical treatment of atopic dermatitis (AD) in children and adults. *J Am Acad Dermatol* 75(3):494-503, 2016
78. Palmqvist N, Siller M, Klint C, Sjodin A. A human and animal model-based approach to investigating the anti-inflammatory profile and potential of the 5-HT2B receptor antagonist AM1030. *J Inflamm (Lond)* 13:20, 2016
79. Park CW, Youn M, Jung YM, Kim H, Jeong Y, Lee HK, Kim HO, Lee I, Lee SW, Kang KH, Park YH. New functional probiotic *Lactobacillus sakei* probio 65 alleviates atopic symptoms in the mouse. *J Medicinal Food* 11(3) p405-412, 2008
80. Park EJ, Kim B, Eo H, Park K, Kim Y, Lee HJ, Son M, Chang YS, Cho SH, Kim S, Jin M. Control of IgE and selective Th1 and Th2 cytokines by PG102 isolated from *Actinidia arguta*. *J Allergy Clin Immunol* 116(5) p1151-1157, 2005
81. Park EJ, Park KC, Eo H, Seo J, Son M, Kim KH, Chang YS, Cho SH, Min KU, Jin M, Kim S. Suppression of spontaneous dermatitis in NC/Nga murine model by PG102 isolated from *Actinidia arguta*. *J Invest Dermatol* 127(5) p1154-1160, 2007
82. Rittchen S, Heinemann A. Therapeutic Potential of Hematopoietic Prostaglandin D2 Synthase in Allergic Inflammation. *Cells* 8(6):1-22, 2019
83. Rottboell L, de Foenss S, Thomsen K, Christiansen H, Andersen SM, Dam TN, Rosada C, Stenderup K. Exploring Valrubicin's Effect on *Propionibacterium Acnes*-Induced Skin Inflammation in Vitro and in Vivo. *Dermatol Reports*

- 7(3):39-43, 2015
84. Simpson EL, Paller AS, Boguniewicz M, Eichenfield LF, Feldman SR, Silverberg JI, Chamlin SL, Zane LT. Crisaborole Ointment Improves Quality of Life of Patients with Mild to Moderate Atopic Dermatitis and Their Families. *Dermatol Ther (Heidelb)* 8(4):605-619, 2018
 85. Schwarz A, Bruhs A, Schwarz T. The Short-Chain Fatty Acid Sodium Butyrate Functions as a Regulator of the Skin Immune System. *J Invest Dermatol* 137(4):855-864, 2017
 86. Tan H, Sonam T, Shimizu K. The Potential of Triterpenoids from Loquat Leaves (*Eriobotrya japonica*) for Prevention and Treatment of Skin Disorder. *Int J Mol Sci* 18(5):1-12, 2017
 87. Tan SP, Brown SB, Griffiths CE, Weller RB, Gibbs NK. Feeding filaggrin: effects of l-histidine supplementation in atopic dermatitis. *Clin Cosmet Investig Dermatol* 10:403-411, 2017
 88. Takemura M, Nakahara T, Hashimoto-Hachiya A, Furue M, Tsuji G. Glyteer, Soybean Tar, Impairs IL-4/Stat6 Signaling in Murine Bone Marrow-Derived Dendritic Cells: The Basis of Its Therapeutic Effect on Atopic Dermatitis. *Int J Mol Sci* 19(4), 2018
 89. Van Gool CJ, Thijs C, Henquet CJ, van Houwelingen AC, Dagnelie PC, Schrander J, Menheere PP, van den brandt PA. Gamma-linolenic acid supplementation for prophylaxis of atopic dermatitis--a randomized controlled trial in infants at high familial risk. *Am J Clin Nutr* 77(4) p943-951, 2003
 90. Werfel T, Allam JP, Biedermann T, Eyerich K, Gilles S, Guttman-Yassky E, Hoetzenecker W, Knol E, Simon HU, Wollenberg A, Bieber T, Lauener R, Schmid-Grendelmeier P, Traidl-Hoffmann C, Akdis CA. Cellular and molecular immunologic mechanisms in patients with atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 138(2) p336-349, 2016
 91. Won TJ, Kim B, Song DS, Lim YT, Oh ES, Lee do I, Park ES, Min H, Park SY, Hwang KW. Modulation of Th1/Th2 balance by *Lactobacillus* strains isolated from Kimchi via stimulation of macrophage cell line J774A.1 in vitro. *J Food Sci* 76(2) H55-61, 2011
 92. Won TJ, Kim B, Lim YT, Song DS, Park SY, Park ES, Lee DI, Hwang KW. Oral administration of *Lactobacillus* strains from Kimchi inhibits atopic dermatitis

- in NC / Nga mice. J Appl Microbiol 110(5) p1195-1202, 2011
93. Won TJ, Kim B, Lee Y, Bang JS, Oh ES, Yoo JS, Hyung KE, Yoon J, Hwang S, Park ES, Park SY, Hwang KW. Therapeutic potential of *Lactobacillus plantarum* CJLP133 for house-dust mite-induced dermatitis in NC/Nga mice. Cell Immunol 277 p49-57, 2012
 94. Won TJ, Kim B, Oh ES, Bang JS, Lee YJ, Yoo JS, Yu H, Yoon J, Hyung KE, Park SY, Hwang KW. Immunomodulatory activity of *Lactobacillus* strains isolated from fermented vegetables and infant stool. Can J Physiol Pharmacol 89(6) p429-434, 2011
 95. You BR, Yoo JM, Baek SY, Kim MR. Anti-inflammatory effect of aged black garlic on 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate-induced dermatitis in mice. Nutr Res Pract 13(3):189-195, 2019
 96. Zhang GQ, Hu HJ, Liu CY, Zhang Q, Shakya S, Li ZY. Probiotics for Prevention of Atopy and Food Hypersensitivity in Early Childhood: A PRISMA-Compliant Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. Medicine (Baltimore) 95(8):1-10, 2016

건강기능식품 기능성 평가 가이드(민원인 안내서)

- 면역과민반응 관련 -

발 행 인 : 이동희

편 집 위 원 장 : 황인균

편 집 위 원 : 이해영, 김종수, 윤태형, 권광일, 국주희, 김규현,
김준영, 주도영, 오재명, 방수진, 류은채, 안정선,
조정화, 김선후, 문상은, 김아름

발 행 처 : 식품의약품안전평가원

발 행 일 : 2020년 9월

문 의 처 : 식품위해평가부 영양기능연구과

(043-719-4402, 4416, 4421, 4422, 4423,
4425, 4426, 4430)

건강기능식품 기능성 평가 가이드 (민원인 안내서)

면역과민반응 관련



【부패. 공익신고】 신고자 및 신고내용은 보호됩니다.

- ▶ 식약처 홈페이지 “국민소통 > 국민신문고 > 부패.공익신고” 코너
- ▶ 식약처 홈페이지 “국민소통 > 신고센터 > 부패.공익신고 상담” 코너