(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2015-0006741
(43) 공개일자 2015년01월19일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12Q 1/48 (2006.01) *G01N 33/68* (2006.01)
G01N 33/53 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2013-0080578
(22) 출원일자 2013년07월09일
심사청구일자 2013년07월09일

(71) 출원인
고려대학교 산학협력단
서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)
(72) 발명자
손상욱
서울특별시 종로구 이화장1길 29 (이화동)
김진희
서울특별시 성북구 안암로 145 고려대학교
(74) 대리인
이처영, 장제환

전체 청구항 수 : 총 3 항

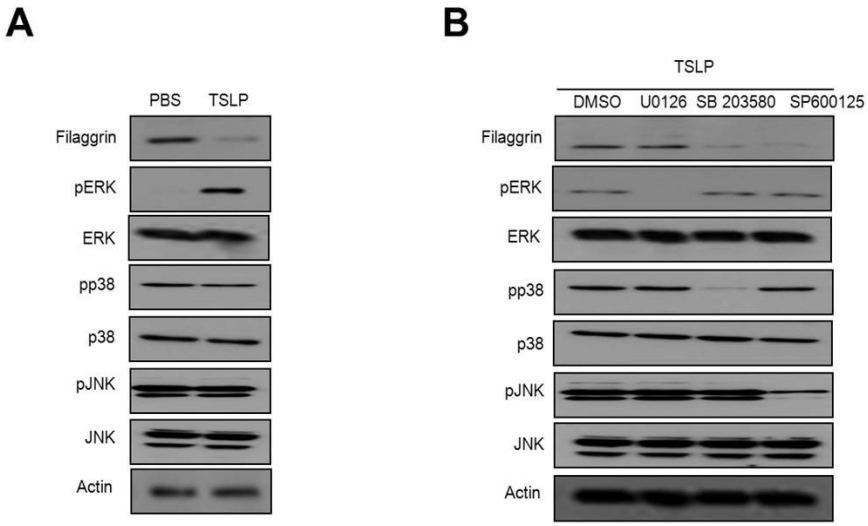
(54) 발명의 명칭 **아토피 피부염 또는 피부건조증 치료제의 스크리닝 방법**

(57) 요 약

본 발명은 아토피 피부염 또는 피부건조증 치료제의 스크리닝 방법에 관한 것으로, 구체적으로는 피부 세포에 시험 대상물질을 처리한 후, 피부 세포에서 ERK(extracellular-signal-regulated kinase)의 발현 또는 ERK의 활성 정도를 감소시키는 물질을 유효물질로 판단하는 것을 특징으로 하는 아토피 피부염 또는 피부건조증 치료제의 스크리닝 방법에 관한 것이다.

본 발명에 따르면, 피부 세포에 시험 대상물질을 처리하고 ERK의 발현 또는 활성 정도를 확인함으로써, 신속하고 효율적으로 아토피 피부염 또는 피부건조증의 예방 또는 치료 물질을 스크리닝 할 수 있다.

대 표 도 - 도3



특허청구의 범위

청구항 1

다음 단계를 포함하는 아토피 피부염 또는 피부건조증 치료제의 스크리닝 방법:

(a) 피부 세포에 아토피 피부염 또는 피부건조증 치료제 후보물질을 처리한 다음, 피부 세포에서 ERK(extracellular-signal-regulated kinase)의 발현 또는 활성 정도를 확인하는 단계; 및

(b) 대조군에 비해 상기 ERK의 발현 또는 활성 정도를 감소시키는 후보물질을 치료제로 선택하는 단계.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 피부세포는 피부 각질 세포인 것을 특징으로 하는 아토피 피부염 또는 피부건조증 치료제의 스크리닝 방법.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 ERK의 발현 또는 활성 정도를 감소시키는 물질은 TSLP 수용체에 의한 신호전달을 억제하는 것을 특징으로 하는 아토피 피부염 또는 피부건조증 치료제의 스크리닝 방법.

명 세 서

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 아토피 피부염 또는 피부건조증 치료제의 스크리닝 방법에 관한 것으로, 구체적으로는 피부 세포에 치료제 후보물질을 처리한 후, ERK(extracellular-signal-regulated kinase)의 발현 또는 ERK의 활성 정도를 감소시키는 후보물질을 치료제로 선택하는 것을 특징으로 하는 아토피 피부염 또는 피부건조증 치료제의 스크리닝 방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 아토피피부염은 심한 가려움증과 전체적인 건조피부를 동반하며 습진 병변이 특정부위에 반복하여 재발하는 만성 염증성 피부질환으로, 유전적인 소인을 나타내고 음식물 알레르기, 알레르기 천식, 알레르기 비염 등 알레르기 질환과 동반하는 알레르기 행진을 하는 특징을 가지고 있다(Akiharu Kubo *et al., J Clin Invest.* 122(2):440?447, 2012; Hywel CW *et al., N Engl J Med*, 352:2314-2324, 2005). 오늘날 아토피 피부염의 병인은 크게 피부장벽과 연관된 병인과 비정상적인 면역반응과 연관된 병인으로 나누어지는데, 필라그린 유전자의 돌연변이가 아토피피부염 환자의 40% 정도에서 나타나며 심한 증상을 나타내거나 성인까지 지속되는 경우에는 더 흔하게 나타난다고 보고된 이후에는 선천적으로 손상된 피부장벽을 가진 사람에서 외부의 알레르겐이 더 쉽게 각질층을 통과하여 몸에 감작을 일으킴으로써 아토피 피부염을 유발시킨다.

[0003] 한편, 피부장벽을 구성하는 핵심 단백질이 필라그린 (Filaggrin), 로리크린 (Loricrin) 그리고 인볼루크린 (Involucrin) 이라고 알려져 있다.

[0004] 그 중, 필라그린은 과립층에서는 keratohyalin granule을 구성하는 단백질인 프로필라그린 형태로 존재하다가, 각질형성세포의 최종분화 과정에서 필라그린으로 분해되어서 각질세포막을 형성할 때에 케라틴 필라멘트를 응집하여 각질세포의 단단하고 편평한 구조를 만들어 피부장벽에서 벽돌의 역할을 수행한다. 이후 각질층 상부로 올라가면서 필라그린은 아미노산으로 분해되고, 함습에 매우 중요한 자유아미노산과 pyrrolidone carboxylic acid (PCA) 로 변화한다. 필라그린의 분해산물이 피부를 촉촉하게 유지하는데 가장 중요한 역할을 수행하는 것으로 보고 되고 있다(McGrath JA *et al., Trends in Molecular Medicine*, 14:20-27, 2008; Brown SJ *et al., Journal of Investigative Dermatology*, 132:751-762, 2012).

[0005] 필라그린은 분해과정을 통하여 citrulline, PCA, trans-UCA를 생성하며 이들은 각질층 수화, 각질층 pH의 정상화, 투과장벽, 각질층의 견고함 (integrity/cohesion), 항균 및 항염작용을 수행한다. 필라그린 유전자(FLG) 의 돌연변이에 의해 발생하는 보통 어린선(Ichthyosis vulgaris)은 매우 심한 피부건조를 나타낸다. 즉, 필라그린 유전자의 돌연변이는 필라그린 단백질의 생성을 감소시키고 자연보습인자의 생성을 감소시켜서 건조피부를 유발

하게 된다. 아토피피부염 환자의 비병변 피부에서 표피 분화 단백질 중 많은 비중을 차지하는 loricrine이나 involucrin 등은 차이가 없는데 유독 필라그린의 발현만이 감소되었다는 보고가 있으며 이를 통해서 필라그린이 아토피피부염 병인으로 대두 되어 활발히 연구 되고 있다.

[0006] 발견 초기와 달리 필라그린 유전자의 Loss of function mutation을 가지지 않은 아토피 환자들이 보고 됨에 따라 유전적 요인이 아닌 다른 외부 환경적 요인에 의한 필라그린의 감소 현상에 대한 연구들이 진행 되었다.

[0007] 아토피 피부염 환자들에서 증가 되어 있는 것으로 보고되고 있는 Th2 사이토 카인에 의한 필라그린의 발현 감소 현상이 몇몇 논문들에 의해보고 되었다(Kim BE et *al.*, *Journal of Investigative Dermatology*, 131:1272?1279, 2011; Howell MD *et al.*, *J Allergy Clin Immunol*,120:150-5, 2007). 아토피 피부염 환자의 각질형성세포에는 고농도의 TSLP가 존재한다. 비정상적 신호전달의 최상위 단백질이 바로 TSLP(thymic stromal lymphopoietin) 싸이토카인이다. 알러젠이 몸에 침투되면 TSLP 등의 물질이 수지상 세포를 자극하여 반응을 하게 되는데, 이 과정에서 아토피 피부염의 증상이 나타나는 것이다. TSLP는 $CD11c^{+}$ 수지상세포를 자극해서 TARC(thymus and activation-regulated chemokine)와 MDC 생성을 증가시킨다. 이러한 cytokine의 농도는 아토피피부염의 증상과 밀접한 연관성을 가지고 있다(Holgate ST *et al.*, *Trends in immunology*, 28:248-251, 2007).

[0008] 이에 본 발명자들은 아토피 피부염 또는 피부건조증 치료제의 스크리닝 방법을 개발하고자 예의 노력한 결과, TSLP에 의하여 ERK(extracellular-signal-regulated kinase) 신호전달체계가 활성화되는 경우, 필라그린의 발현을 억제하여 아토피 피부염 및 피부건조증을 초래하는 것을 확인하고, 본 발명을 완성하게 되었다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 본 발명의 목적은 아토피 피부염 또는 피부건조증 치료제의 스크리닝 방법을 제공하는 데 있다.

과제의 해결 수단

[0010] 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 (a) 피부 세포에 아토피 피부염 또는 피부건조증 치료제 후보물질을 처리한 다음, 피부 세포에서 ERK(extracellular-signal-regulated kinase)의 발현 또는 활성 정도를 확인하는 단계; 및 (b) 대조군에 비해 상기 ERK의 발현 또는 활성 정도를 감소시키는 후보물질을 치료제로 선택하는 단계를 포함하는 아토피 피부염 또는 피부건조증 치료제의 스크리닝 방법을 제공한다.

발명의 효과

[0011] 본 발명에 따르면, 피부 세포에 치료제 후보물질을 처리하고 ERK의 발현 또는 활성 정도를 확인함으로써, 신속하고 효율적으로 아토피 피부염 또는 피부건조증 치료제를 스크리닝 할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0012] 도 1은 각질세포에서 TSLP수용체의 발현을 확인한 사진이다 (A: RT-PCR을 통해 확인한 각질세포내 TSLP수용체의 발현, B; 면역 형광 염색법으로 확인한 각질세포내 TSLP수용체 발현).

도 2는 각질세포에서 농도별 TSLP처리 후 filaggrin의 발현 변화를 확인한 사진이다(A: RT-PCR을 통해 확인한 filaggrin RNA 발현 변화, B: 웨스턴블랏을 통해 확인한 filaggrin 단백질 발현 변화).

도 3은 TSLP에 의한 filaggrin 발현 감소에 관계한 신호전달체계를 확인한 사진이다 (A: TSLP에 의해 활성화 되는 신호전달체계 확인, B: ERK 활성도 의존적인 filaggrin의 발현 감소 확인).

도 4는 TSLP에 의한 필라그린 감소를 생쥐에서 확인한 사진이다 (A: 실험 계획 모식도, B: filaggrin에 대한 면역화학염색 결과).

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0013] 본 발명에서는, TSLP 자극에 의한 피부장벽 단백질의 발현 감소에 관여하는 신호전달체계를 조사한 결과, mitogen-activated protein kinases(MAPK) 중 ERK의 활성화가 TSLP에 의한 필라그린 발현 감소에 중요한 역할을 함을 확인하였다.

[0014] 본 발명의 일 실시예에서는, 사람 각질세포에서 TSLP 자극에 의한 필라그린의 발현이 감소를 확인하고, MAPK family에 속하는 각 신호전달체계에 대한 억제제를 사용하여 시험한 결과, TSLP에 의한 필라그린 감소에 ERK 신호전달체계의 활성화가 가장 중요한 역할을 함을 확인하였다.

[0015] 따라서 본 발명은 일 관점에서, (a) 피부 세포에 아토피 피부염 또는 피부건조증 치료제 후보물질을 처리한 다음, 피부 세포에서 ERK(extracellular-signal-regulated kinase)의 발현 또는 활성 정도를 확인하는 단계; 및 (b) 대조군에 비해 상기 ERK의 발현 또는 활성 정도를 감소시키는 후보물질을 치료제로 선택하는 단계를 포함하는 아토피 피부염 또는 피부건조증 치료제의 스크리닝 방법에 관한 것이다.

[0016] 본 발명의 피부세포는 피부 각질 세포인 것을 특징으로 할 수 있다.

[0017] 본 발명의 ERK의 발현 또는 활성 정도를 감소시키는 물질은 TSLP 수용체에 의한 신호전달을 억제하는 것을 특징으로 할 수 있다.

[0018] 이하, 본 발명을 하기 실시예에 의해 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 단지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 범위가 이들 실시예에 국한되지 않는다는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 자명할 것이다.

[0019] 실시예 1: 각질세포에서 TSLPR의 발현

[0020] TSLP 시그널은 TSLPR과 IL-7Ra 수용체를 통해 세포내로 전달 되는 것으로 알려져 있으나, 사람 각질세포에서 이들 수용체의 발현 여부가 알려지지 않았기 때문에 RT-PCR과 면역 형광 염색법을 통하여 확인해 보았다.

[0021] 사람 각질세포주, HaCaT cell line(German Cancer Research Center, Heidelberg, Germany)를 5% 이산화탄소, 37℃ 인큐베이터(Thermo,미국)에서 배양하였다. 배양 배지는 10% fetal bovine serum (FBS: Gibco, 미국), penicillin(100 units/ml: Gibco, 미국) 그리고 streptomycin(100 mg/ml: Gibco, 미국)이 포함된 Dulbecco's modified Eagle medium (DMEM: Gibco, 미국) 을 사용하였다. 배양한 후 TRIzol 시약(invitrogen, 미국) 을 첨가하고 균질기(homogenizer) (OMNI-inc, 미국)를 이용하여 잘게 갈아준 뒤 제조사의 지시에 따라 RNA를 분리 하였다. 분리된 RNA는 역 전사효소(Super-bio, Korea)를 이용하여 각 조직의 cDNA를 제조하였다. 제조된 cDNA를 주형으로 하여 TSLPR 프라이머(forward: 5'-GAGTGGCAGTCCAAACAGGAA-3', reverse: 5'-ACATCCTCCATAGCCTTCACC-3'), IL-7Ra 프라이머(forward:5'-TGGACGCATGTGAATTTATC-3, reverse:5'-CATTCACTCCAGAAGCCTTT-3') 그리고 Actin 프라이머 (forward: 5'-TTCTACAATGAGCTGCGTGTG-3', reverse: 5'-GGGGTGTTGAAGGTCTCAAA-3')를 이용하여 변성단계(95℃, 30초), 어닐링단계(56℃, 30초) 및 연장단계(72℃, 40초)를 1 싸이클로 하여 35 싸이클을 실시하여 PCR로 증폭하였다. 증폭된 시료를 1% 아가로즈 젤에서 발현 양상을 관찰한 결과, 사람 각질세포가 TSLPR과 IL-7Ra의 유전자를 발현하는 것을 확인하였다 (도 1A).

[0022] 한편, 배양된 사람 각질세포주, HaCaT cell line(German Cancer Research Center, Heidelberg, Germany)에 cytoperm/cytofix(BD, 미국)를 제공된 실험법에 따라 처리하여 세포를 고정하고 TSLPR 항체(Abcam, 미국)를 PBS에 1:100으로 희석하여 4℃에서 1시간동안 반응 시켰다. 이 후 PBS로 세척 한 뒤 FITC가 부착된 2차 항체(BD, 미국)를 1:100으로 희석하여 4℃에서 1시간동안 반응 시키고 PBS로 세척 한 뒤 형광현미경하에서 TSLPR의 발현을 확인 하였다 (도 1B). 그 결과 단백질 레벨에서 사람 각질세포가 표면에 TSLP 수용체를 발현하는 것을 확인하였다.

[0023] 실시예 2: TSLP 처리에 의한 filaggrin 발현 변화

[0024] TSLP에 의한 filaggrin의 발현 변화를 확인 하기 위하여 각질세포에 TSLP를 농도별로 처리 한 후 RNA와 단백질 레벨에서의 filaggrin의 발현양 변화를 확인 해 보았다.

[0025] 사람 각질세포주 사람 각질세포주, HaCaT cell line(German Cancer Research Center, Heidelberg, Germany)를

5% 이산화탄소, 37℃ 인큐베이터(Thermo, 미국)에서 배양하였다. 배양 배지는 10% fetal bovine serum (FBS: Gibco, 미국), penicillin(100 units/ml: Gibco, 미국) 그리고 streptomycin(100 mg/ml: Gibco, 미국)이 포함된 Dulbecco's modified Eagle medium (DMEM: Gibco, 미국) 을 사용하였다. 배양 후 0, 1, 10, 100ng/ml 의 TSLP를 16 시간동안 배양액에 처리한 후 TRIzol 시약(Invitrogen, 미국)을 첨가하고 균질기(homogenizer: OMNI-inc, 미국)를 이용하여 잘게 갈아준 뒤 제조사의 지시에 따라 RNA를 분리 하였다. 분리된 RNA는 역 전사효소(Super-bio,Korea)를 이용하여 각 조직의 cDNA를 제조하였다. 제조된 cDNA를 주형으로 하여 filaggrin 프라이머(forward: 5'-ggtctggacgttcagggtct-3', reverse: 5'-ggatgtggtgtggctgtgat-3)과 GAPDH 프라이머(forward:5'-AGCAATGCCTCCTGCACCACCAAC-3', reverse:5'-CCGGAGGGGCCATCCACAGTCT-3)를 이용하여 변성단계(95℃, 30초), 어닐링단계(56℃, 30초) 및 연장단계(72℃, 40초)를 1 싸이클로 하여 35 싸이클을 실시하여 PCR로 증폭하였다. 증폭된 시료를 1% 아가로즈 젤에서 발현 양상을 관찰한 결과, TSLP 농도에 의존적으로 filaggrin의 유전자 발현이 감소하는 것을 관찰하였다 (도 2A).

[0026] 한편, 사람 각질세포주를 상기와 동일조건으로 배양하여 0, 1, 10, 100ng/ml 의 TSLP를 16 시간 동안 배양액에 처리하였다. 단백질 추출을 위해 RIPA버퍼(Elpis, Korea)에 넣어 얼음에 30분간 정치 시킨 후 냉장원심분리기에서 13000rpm 30분간 원심분리하고, 상층액만을 취하여 단백질 정량 후 50㎍의 단백질을 SDS-PAGE 젤에 로딩하였다. 그 후 PVDF에 로딩된 젤을 트랜스퍼한 후 5% BSA 로 1시간 동안 블로킹하고 1:1000으로 희석한 filaggrin 항체(santa cruz, 미국)와 인큐베이션 하였다. HRP가 부착된 2차 항체(santa cruz, 미국)반응과 세척과정을 거친 후 ECL용액(Pierce, 미국)을 이용하여 단백질의 밴드를 확인하였다. 그 결과, TSLP에 의하여 filaggrin 단백질의 발현이 억제되는 것을 확인하였다 (도 2B).

[0027] 실시예 3: TSLP에 의한 ERK활성화와 ERK 활성도 의존적인 filaggrin의 발현 감소

[0028] TSLP처리에 의한 filaggrin의 발현 감소 현상에 관여하는 신호전달체계를 확인 하기 위하여 MAPK들의 활성도를 확인하고 각각의 저해제를 처리하여 어떤 MAPK의존적으로 filaggrin의 발현이 감소되는지 확인해 보았다.

[0029] 사람 각질세포주를 상기 실시예 1과 동일한 방법으로 배양한 후 100ng/ml 의 TSLP를 16 시간동안 배양액에 처리하였다. 단백질을 추출하기 위하여 RIPA버퍼(Elpis, Korea)에 넣어 얼음에 30분간 정치 시킨 후 냉장원심분리기에서 13000rpm 30분간 원심분리하고, 상층액만을 취하여 단백질 정량 후 50㎍의 단백질을 SDS-PAGE 젤에 로딩하였다. 그 후 PVDF에 로딩된 젤을 트랜스퍼한 후 5% BSA 로 1시간 동안 블로킹하고 1:1000으로 희석한 filaggrin(Abcam, USA), p-ERK(Cell Signaling, USA), ERK(Cell Signaling, USA), pp38(Cell Signaling, USA), p38(Cell Signaling, USA), pJNK(Cell Signaling, USA), JNK (Cell Signaling, USA) 그리고 Actin 항체(Santa Cruz, USA)와 함께 인큐베이션 하였다. HRP가 부착된 2차 항체 반응과 세척과정을 거친 후 ECL용액을 이용하여 단백질의 밴드를 확인하였다.

[0030] 그 결과, 도 3A에 나타난 바와 같이 TSLP처리시에 ERK의 활성화 형태인 pERK의 양이 증가 하는 것을 확인 할 수 있었다.

[0031] 다음으로 ERK 활성에 의존하여 filaggrin의 발현 감소 현상이 나타나는지 확인 하기 위하여 신호전달체계에 관한 단백질에 대한 각각의 저해제를 처리 한 후 TSLP를 처리하고 filaggrin의 단백질 발현 변화를 웨스턴블랏으로 확인하였다.

[0032] 사람 각질세포주를 배양하여 3시간동안 5uM U0126(ERK 저해제; calbiochem, USA), 5uM SB203580(p38 저해제; Calbiochem, USA) 그리고 1uM SP600125(JNK 저해제; Calbiochem, USA)를 전 처리하고, 100ng/ml 의 TSLP를 16 시간동안 배양액에 처리 하였다. DMSO는 대조군으로 사용하였다. 이렇게 준비된 세포에 RIPA버퍼에 넣어 얼음에 30분간 정치 시킨 후 냉장원심분리기에서 13000rpm 30분간 원심분리하고, 상층액만을 취하여 단백질 정량 후 50㎍의 단백질을 SDS-PAGE 젤에 로딩하였다. 그 후 PVDF에 로딩된 젤을 트랜스퍼한 후 5% BSA 로 1시간 동안 블로킹하고 1:1000으로 희석한 filaggrin(Abcam, USA), p-ERK(Cell Signaling, USA), ERK(Cell Signaling, USA), pp38(Cell Signaling, USA), p38(Cell Signaling, USA), pJNK (Cell Signaling, USA), JNK (Cell Signaling, USA) 그리고 Actin 항체(Santa Cruz, USA)와 함께 인큐베이션 하였다. HRP가 부착된 2차 항체 반응과 세척과정을 거친 후 ECL용액을 이용하여 단백질의 밴드를 확인하였다.

[0033] 그 결과, 각 저해제들을 처리 하여 정상적으로 ERK, p38, JNK의 활성이 저해 되었으며 그 중 EKR저해제에 의해 TSLP에 의한 filaggrin의 발현 감소 현상이 없어지는 것을 확인하였다(도 3B). 따라서, TSLP에 의한 filaggrin의 발현 저해 현상이 ERK활성화를 통해 이루어 지는 것임을 확인 할 수 있었다.

[0034] 실시예 4: 생체 내 TSLP에 의한 filaggrin의 발현 감소

[0035] 시험관내 실험을 통해 확인한 TSLP에 의한 filaggrin의 발현 감소 현상이 생체 내에서도 나타나는 현상인지 확인 하기 위하여 마우스 피부에 TSLP를 주입한 후 filaggrin의 발현 변화를 면역 조직 화학 염색법으로 확인 하였다(도 4A).

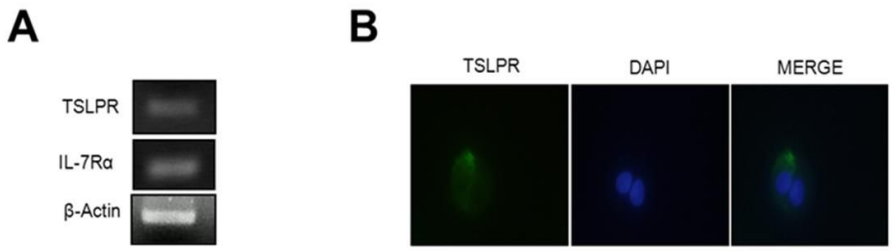
[0036] 5주령, 암컷 Balb/c 마우스(오리엔트, 한국) 복부에 4ug의 TSLP를 50ul의 PBS에 녹여 12일 동안 하루에 한 차례씩 피하 주사 하였다. 13일째에 마우스를 희생시켜 피부 조직을 채취하여 4% 포름알데하이드 (sigma, USA)에 고정 후 파라핀에 포매 하여 슬라이드를 제작 하였다. 탈파린화 과정과 탈수화 과정을 거친 조직 슬라이드를 시트레이트 버퍼에 담구고, 전자레인지에서 10분간 처리 후 실온에서 한 시간 동안 식혀 주었다. 증류수로 세척하여 실온에서 5% 염소 혈청으로 한 시간 동안 반응시킨 후 filaggrin 항체(Abcam, USA)를 1:50으로 희석하여 인큐베이션 하였다. HRP가 부착된 2차 항체를 반응 시킨 후 DAB 키트(Cell signaling, 미국)를 이용하여 발색시켜 조직 내 filaggrin의 발현 변화를 확인 하였다.

[0037] 면역화학염색 결과, PBS를 투여한 대조군에 비하여 TSLP를 투여한 마우스 피부 조직내 filaggrin의 발현이 현저히 감소 되어, TSLP에 의한 filaggrin의 발현 감소 현상이 생체 내에서도 일어나는 현상임을 확인하였다(도 4B).

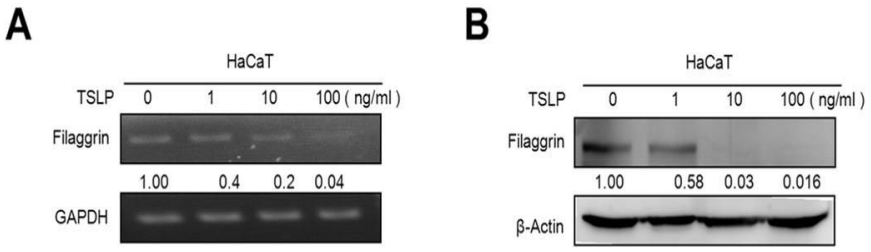
[0038] 이상으로 본 발명 내용의 특정한 부분을 상세히 기술하였는바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서, 이러한 구체적 기술은 단지 바람직한 실시 양태일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백할 것이다. 따라서 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의해 정의된다고 할 것이다.

도면

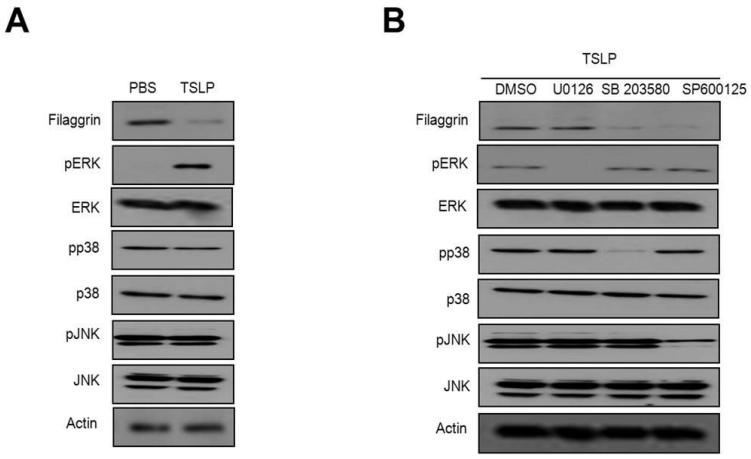
도면1



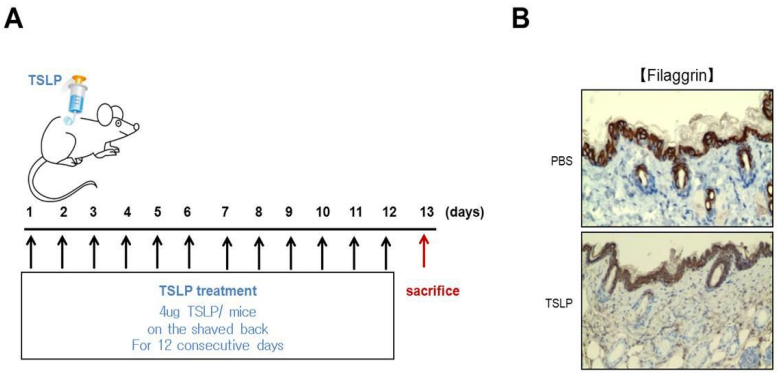
도면2



도면3


A
PBS
TSLP
Filaggrin
pERK
ERK
pp38
p38
pJNK
JNK
Actin
B
TSLP
DMSO
U0126
SB 203580
SP600125
Filaggrin
pERK
ERK
pp38
p38
pJNK
JNK
Actin

도면4


A
TSLP
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
(days)
TSLP treatment
4ug TSLP/ mice
on the shaved back
For 12 consecutive days
sacrifice
B
【Filaggrin】
PBS
TSLP