

1 **Effect of *Diospyros kaki* extracts on atopic dermatitis-related cytokines**

2 감 추출물이 아토피 피부염 관련 사이토카인 분비에 미치는 효과

3
4 Abstract

5 *Diospyros kaki* (*D. kaki*), also known as persimmon, has been used in traditional
6 medicine for its potential health benefits. In this study, we employed 1,3-butylene
7 glycol extract (DBG) and ethanol extract (DET) to investigate their anti-atopic
8 dermatitis activity. The results showed that DBG and DET were effective in reducing
9 atopic dermatitis-related cytokines such as IL-8, TNF- α , and IgE. Additionally, DBG
10 and DET both upregulated the Th1 cytokine, IL-2. Furthermore, both extracts exhibited
11 significant superoxide dismutase (SOD)-like activities. These findings collectively
12 suggest that *D. kaki* extracts may be beneficial in improving atopic dermatitis due to
13 their immunomodulatory and antioxidant properties.

14 Keywords: atopic dermatitis, *Diospyros kaki*, cytokine

15
16 Running title: Effect of *Diospyros kaki* extracts on atopic dermatitis

17
18 **서론**

19 아토피 피부염(atopic dermatitis, AD)은 자주 재발하는 만성 염증성
20 피부질환이다(Asher et al., 2006). 특히 최근 선진국에서 AD 발병률은 2-3배
21 증가하여 전 세계 어린이의 약 20%, 성인의 1 - 3%에서 발생한다(Avena-
22 Woods, 2017; Huang and Ong, 2018). 어느 신체 부위에서든 발생할 수 있으나,
23 주로 손과 발, 발목, 손목, 얼굴, 목 및 가슴에 자주 발생한다(Thestrup-

24 Pedersen, 2000). AD는 수면을 크게 방해하는 등 삶의 질에 지대한 영향을
25 미칠 뿐 아니라, 매우 높은 의료 비용을 유발하기도 한다(Ali et al., 2020;
26 Bawany et al., 2021). AD의 대표적인 증상은 지속적인 가려움이며, 부종,
27 건선증, 흥분, 흥반, 삼출, 미란 등이 동반되지만 이는 사람마다 다르다(Ellis
28 et al., 2012). 많은 연구를 통해 AD의 원인이 면역 조절 장애와 피부 장벽
29 기능 장애라는 것은 밝혀졌지만, 아직 병태생리가 완전히 이해되고 있지는
30 않다(Kim et al., 2019). 특히 면역 조절과 관련하여 AD는 초기 또는 급성
31 단계에서 Th1, Th2 및 Th17 세포들로 인해 만성 단계로 발전하는 특징을
32 가지고 있다(Laughter et al., 2021). 또한 Th2 유래 사이토카인(cytokine)은
33 비만세포 같은 면역세포에 의해 방출되는 염증 매개체(e.g. immunoglobulin E,
34 IgE)와 함께 피부의 염증을 더욱 악화시킨다(Fania et al., 2022).

35 일반적으로 자유 라디칼과 활성산소종(reactive oxygen species, ROS) 생성,
36 그리고 항산화 방어 기작 사이에 균형이 유지되지만, 이 균형이 무너지면
37 산화적 스트레스(oxidative stress)를 유발할 수 있다. 자유 라디칼은 세포막
38 파괴와 세포 손상의 주요 기전으로 여겨지는 지질 산화(lipid peroxidation)을
39 중재하며, 항산화 물질(antioxidants)은 자유 라디칼의 생성을 억제하는
40 물질이다(Dormandy, 1978; Sen, 1995; Sivaranjani et al., 2013). 이러한 산화적
41 스트레스와 무너진 항산화 방어 기작은 AD의 급성 악화와 관련이 있다고
42 보고된 바 있다(Sivaranjani et al., 2013; Tsukahara et al., 2003).

43 감(*Diospyros kaki* L., *D. kaki*)은 Ebenaceae과에 속하며 한국, 중국, 일본 등
44 아시아 지역에서 널리 생산되고 있다(Direito et al., 2021). 감의 중요한
45 성분으로는 카로테노이드, 탄닌산, 페놀화합물, 프로안토시아니딘, 카테킨,

46 올레아놀릭산 등이 있으며, 산화적 스트레스, 고혈압, 당뇨, 죽상동맥경화증
47 등에 효과가 있다고 알려져 있다(Butt et al., 2015). 본 연구진은 이미 감 1,3-
48 butylene glycol 및 ethanol 추출물의 항산화, 항노화 및 미백 기능을
49 규명하였다(Hong and Lyu, 2022). 본 연구에서는 감 1,3-butylene glycol 및
50 ethanol 추출물들의 아토피 관련 사이토카인(IL-2, IL-8, TNF- α) 및 IgE 조절
51 기능을 알아보고 이에 더해 항산화 효소인 superoxide dismutase(SOD) 활성
52 증가로 인한 항산화 작용도 함께 알아보고자 한다.

53

54 재료 및 방법

55 실험 재료

56 감은 청도군(Korea)에서 재배된 청도반시를 구입하여 사용하였다. 감을
57 씻은 후 70% EtOH로 소독하고 건조하였다. 소독된 감 100 g을 직경 1×1
58 cm로 자른 후 1,3-butylene glycol과 ethanol로 각각 추출하였다. 감 1,3-butylene
59 glycol 추출물(DBG)의 경우 400 g의 1,3-butylene glycol과 D.W. 600 g을 넣고
60 7일간 상온에서 침지시켰다. 감 ethanol 추출물(DET)의 경우 1,000 g의
61 ethanol을 넣은 후 48 시간 동안 상온에서 침지시켰다. 이후 두 추출물들을
62 400 mesh filter로 filter하고 0.45 μ m 필터로 다시 한 번 filter한 후 사용하였다.
63 최종 회수한 원료의 건조 잔량은 0.87%(DBG)와 5.52%(DET)였다.

64

65 세포 배양 및 세포 생존률 측정

66 사람 각질형성세포인 HaCaT, 사람 B세포인 U266B1, 그리고 사람
67 상피세포인 Caco-2는 America Type Culture Collection(ATCC, University Blvd.

68 Manassas, VA, USA)에서 분양 받아 사용하였으며, 사람 단핵구 세포인 THP-
69 1와 사람 T 세포인 Jurkat은 한국세포주은행(Seoul, Korea)에서 분양 받아
70 사용하였다. HaCaT 세포는 10% fetal bovine serum(FBS, GibcoBRL, Grandland,
71 NY, USA), 1% penicillin/streptomycin(GibcoBRL)이 첨가된 Dulbecco's Modified
72 Eagle's Medium(DMEM, GibcoBRL) 배지로 배양하였다. Caco-2 세포는 10%
73 fetal bovine serum(FBS, GibcoBRL), 1% penicillin/streptomycin(GibcoBRL)이
74 첨가된 Eagle's Minimum Essential Medium(EMEM, GibcoBRL) 배지로
75 배양했으며, U266B1, THP-1, Jurkat 세포는 세포는 10% fetal bovine serum(FBS,
76 GibcoBRL), 1% penicillin/streptomycin(GibcoBRL)이 첨가된 RPMI-
77 1640(GibcoBRL) 배지를 사용하였다. 모든 세포는 CO₂ incubator(Sanyo, Tokyo,
78 Japan, 5% CO₂, 95% air, 37°C)에서 배양하였다. 세포 생존율을 측정하기 위하여
79 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide(MTT) assay를
80 사용하였다. 96-well plate(Thermo Fisher Scientific, Rochester, NY, USA)에 1×10^4
81 cells/well씩 seeding한 후 감 추출물을 다양한 농도로 200 μ L씩 분주하여 48
82 시간 배양하였다. 이후 well에 MTT solution(3 mg/mL, Sigma-Aldrich, St. Louis,
83 MO, USA)을 50 μ L씩 넣고 incubator에서 4 시간 동안 반응시켰다. 상등액을
84 제거한 뒤 dimethylsulfoxide(DMSO) 150 μ L씩 넣고 570 nm에서 흡광도를
85 측정하였다.

86

87 세포 분화와 자극 및 감 추출물 처리

88 Jurkat 세포는 10 pg/mL의 lipopolysaccharide(LPS)와 5 μ g/mL의
89 phytohemagglutinin(PHA), 10 ng/mL phorbol myristate acetate(PMA)으로 IL-2
90 분비를 유도하였다. THP-1 세포는 50 ng/mL PMA로 분화(differentiation)를

91 유도한 뒤, 100 ng/mL LPS로 자극시켜 IL-8 분비를 유도하였으며, U266B1
92 세포는 4 µg/mL LPS와 100 U/mL IL-4로 자극시켜 IgE 분비를 유도하였다. 그
93 밖에 Caco-2와 HaCaT 세포는 100 ng/mL LPS로 자극시켜 IL-8 분비를
94 유도하였다. 이후 다양한 농도로 감 추출물을 처리한 뒤 모든 세포는 48
95 시간 동안 CO₂ incubator(Sanyo, 5% CO₂, 95% air, 37°C)에서 배양하였다. 배양
96 후 상등액만 모아 사이토카인 분비 변화를 측정하였다.

97

98 SOD 유사 활성도 측정

99 SOD 활성은 pyrogallol의 자가 산화를 저해하는 정도를 측정하였다. 1 mM
100 diethylenetriamine pentaacetic acid가 포함된 50 mM Tris-HCl buffer(pH 8.2)에 0.2
101 mM pyrogallol을 넣고 420 nm에서 3분 동안 흡광도 변화를 측정하였다.

102

103 사이토카인 분비 측정

104 사이토카인 분비 변화를 측정하기 위하여 enzyme-linked immunosorbent
105 assay(ELISA) 세트(IL-2, IL-8, TNF- α , IgE)는 BD Biosciences(Franklin Lakes, NJ,
106 USA)에서 구입하였다. Capture antibody를 coating buffer(0.1 M sodium carbonate,
107 pH 9.5)에 희석하여 96-well plate에 분주한 후 4°C에서 24 시간 두었다. Plate를
108 PBS/Tween-20으로 3회 세척한 후 1% bovine serum albumin(BSA)로 blocking한
109 후 상온에서 1 시간 동안 방치하였다. PBS/Tween-20으로 3회 세척 후
110 standard와 샘플을 분주하고 2 시간 동안 상온에서 방치하였다. 다시
111 PBS/Tween-20으로 5회 세척하고 detection antibody와 streptavidin-horseradish
112 peroxidase를 mix하여 분주한 후 1 시간 동안 상온에 방치하였다. 마지막으로
113 PBS/Tween-20으로 5회 세척 후 TMB substrate reagent(BD Biosciences)를 분주한

114 후 상온에서 30 분 방치하였다. 이후 stop solution(1 M phosphoric acid)로
115 반응을 정지시킨 후 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

116

117 통계처리

118 모든 실험은 세 번 반복되었으며, 결과는 평균값과 표준편차로 표기하였다.
119 결과 통계 처리는 Minitab Express 1.5.2(State College, PA, USA)를 이용하였으며,
120 유의차 검증은 Dunnet's test에 따라 분석하였으며 p 값이 0.05 이하일 경우
121 통계적으로 유의하다고 판정하였다.

122

123 결과 및 고찰

124 세포 독성

125 감 추출물이 세포 독성에 미치는 영향을 알아보기 위하여 MTT assay를
126 수행하였다. 우선 Caco-2, HaCaT, THP-1, Jurkat, U266B1 세포에 각각 감
127 추출물인 DBG와 DET 추출물을 농도 별로 처리하고 48 시간 동안 37°C에서
128 CO₂ incubator에 배양하여 세포 생존율을 확인하였다. 그 결과 두 추출물
129 모두 1 mg/mL에서 세포들에 대하여 80% 이상의 생존율을 보여, 추후 실험은
130 상기 농도 이하로 진행하였다(Fig. 1).

131

132 사이토카인 및 IgE 분비

133 AD의 면역학적 특징은 Th1/Th2의 균형이 무너진 것이다. Th2가 우세하게
134 되면 꽃가루, 집먼지 진드기와 같은 환경 알레르겐에 대한 반응, IgE 생성 및
135 호산구 과립 세포의 활성화가 나타난다(Lugović et al., 2005). Th2 사이토카인

136 중 하나인 IL-4는 IgE 합성을 유도하며, Th1 세포 생성을 억제한다(Leung and
137 Bieber, 2003). Th1 세포의 활성이 억제되므로 Th1 사이토카인 인 IL-2, IFN-
138 γ 는 감소하게 되는 반면, Th2 사이토카인 인 IL-4, IL-5, IL-6 등은 더욱
139 증가하게 된다(Baek et al., 2007). 실제로 AD 환자들의 말초혈액단핵구를
140 조사한 결과, 비환자군인 대조군에 비해 IL-2 생산량이 유의성 있게
141 낮았다(Takahashi et al., 1992). 본 실험에서는 감 1,3-butylene glycol 추출물인
142 DBG와 감 ethanol 추출물인 DET을 사람 T-세포(Jurkat cell)에 처리하니 10-
143 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서 DBG와 DET 모두 IL-2 분비량을 현저하게 증가시켰다.
144 특히 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서 대조군에 비해 DBG는 4.83배, DET는 5.73배 IL-2의
145 분비량을 증가시켰다. 이는 감 추출물이 AD의 세포면역반응에서 Th1 반응을
146 증가시킬 수 있다고 볼 수 있다(Fig. 2). 다만 AD에서는 T세포
147 분극(polarization)이 이중상(biphasic)으로 나타나서, 급성기인 경우 Th2가
148 우세하지만 만성기로 갈수록 Th1 반응이 우세해지므로(Brandt and Sivaprasad,
149 2011; Meagher et al., 2002), 만성기에서는 사용을 조심해야 할 것으로 사료된다.

150 AD 초기 단계에서 피부 각질세포는 기계적인 손상과 피부 장벽 파괴 후
151 사이토카인과 케모카인이 생성된다(Novak and Leung, 2011). 이는 염증 반응이
152 시작되는 초기 단계로서 가려움증을 일으킨다(Bieber, 2010). 이후 각질세포는
153 IL-1, TNF- α , IL-8, CCL2/MCP-1 등을 생산하기 시작하고 이로 인해 AD의
154 특징적인 임상 및 조직학적 모습이 나타나기 시작한다(Wüthrich and Schmid-
155 Grendelmeier, 2003). 특히 TNF- α 는 다양한 염증성 질환에서 해로운 역할을
156 하는 것으로 보고되어 있다(Wu and Siegel, 2011). 각질세포와 섬유아세포에서
157 TNF- α , IL-8, CXCL10 등의 분비량이 증가하면 이는 IL-17 증가로 이어져서

158 염증성 반응이 유도된다(Eyerich et al., 2009). 현재까지 건선과 같은 자가면역
159 염증성 질환에 대한 항-TNF 치료법이 임상에서 개발되었으며, 이러한
160 환자들에게 효과적임이 입증되었다(Bouguen et al., 2020; Guilloteau et al., 2010).
161 본 실험에서는 감 추출물을 사람 각질형성세포인 HaCaT 및 사람 T 세포인
162 THP-1에 처리한 뒤 TNF- α 생성량을 ELISA를 통해 확인하였다. 그 결과,
163 양성 대조군에 비해 두 감 추출물 모두에서 TNF- α 생성량이 유의성 있게
164 감소하였다. 특히 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이상의 농도에서 DBG와 DET는 HaCaT 세포에서
165 TNF- α 의 분비량을 현저히 감소시킬 수 있었으며, 1,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서는
166 TNF- α 의 분비량을 DBG가 23.4%, DET가 24.8%씩 억제하였다(Fig. 3A). 반면
167 THP-1 세포에서는 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 DBG만이 TNF- α 의 분비량을 12.4%
168 감소시켰다(Fig. 3B). 그러므로 감 추출물, 특히 1,3-butylene glycol 추출물이
169 TNF- α 분비를 억제하여 TNF- α 유도로 인한 피부 장벽 기능 붕괴로부터
170 각질형성세포, 상피 세포 등을 보호할 수 있으리라 예상되며, TNF- α 에 의해
171 매개되는 기타 염증성 질환도 완화시킬 수 있으리라 기대된다.

172 AD에 있어서 또 하나의 중요한 biomarker는 IgE이다. 특정 항원에 대한
173 IgE는 mast cell 등과 결합하고 있다가 동일한 항원에 다시 노출되면 histamine
174 등을 유리하여 AD를 발생시킨다(Sada et al., 2000). 일반적으로 혈중 IgE
175 농도는 AD 환자에게서 증가되어 있다(Meagher et al., 2002). AD 환자의
176 말초혈액단핵구를 살펴보면 IFN- γ 생산능력이 감소되어 있으며, 이는 혈청
177 IgE와 역상관 관계에 있다. 알레르겐에 대한 IgE 민감성 정도는 아토피
178 피부염의 심각 정도와 직접적으로 관련이 있다(Leung and Bieber, 2003). 감
179 추출물인 DBG와 DET를 사람 B 세포(U266B1 cells)에 처리하고 ELISA를

180 이용하여 IgE의 분비량을 살펴본 결과, 두 실험군에서 모두 IgE 분비가
181 유의성 있게 감소하였다. 특히 사이토카인 결과와 비교해 볼 때, 매우 낮은
182 농도(1 µg/mL)에서도 유의성 있게 IgE 분비를 억제할 수 있었으며, 최고
183 농도인 100 µg/mL에서 DBG는 34.6%, DET는 26.0%씩 IgE 분비를
184 억제하였다(Fig. 4).

185 IgE는 특히 알레르기성 질환 초기에 혈액 내에서 농도가 증가하므로(Leung
186 et al., 2004), 감 추출물은 급성 AD 초기에 효과가 좋을 것으로 생각된다.

187 또한 이와 관련하여, 집먼지 진드기(*Dermatophagoides pteronissinus*)는 AD,
188 천식, 비염 등을 일으키는 주요 원인이며, AD 환자가 *D. pteronissinus*에
189 노출되면 특이적인 IgE가 증가한다고 한다. 이러한 AD를 유발하는 *D.*
190 *pteronissinus*가 사람 호흡기 상피세포 및 T 세포에서 IL-8 분비를
191 증가시킨다고 알려져 있다(Lee et al., 2008; Sohn et al., 2007; Ziyaei et al., 2017).

192 본 실험에서는 사람 상피세포(Caco-2 cells), 각질세포(HaCaT cells), 그리고 T-
193 세포(Jurkat cells)에 감 추출물인 DBG, DET를 처리하고 IL-8 분비량을
194 ELISA를 통해 조사하였다. 그 결과, DBG는 사람의 상피세포, 각질형성세포,
195 단핵구에서 모두 IL-8의 분비를 현저히 감소시킬 수 있었으며, 특히 사람
196 상피세포인 Caco-2에서 최고 37.0%까지 IL-8 분비를 억제할 수 있었다(Fig.
197 5A-C). 반면, DET는 상기 세포들에서 IL-8 분비를 유의성 있게 억제시키지
198 못했다. 이 결과는 감 1,3-butylene glycol 추출물이 ethanol 추출물보다 우수한
199 효과를 보인 본 연구진의 과거 연구(Hong and Lyu, 2022)와 비교적
200 일치하기도 한다. 차나무(*Camellia sinensis*) 1,3-butylene glycol 추출물의 경우,
201 ethanol 추출물보다 생리활성 물질(bioactive component) 함량이 더 높았으며,

202 이로 인해 ethanol 추출물보다 항산화 활성 등이 더 높은 것으로 보고되어
203 있다(Myo et al., 2023). 그러므로, DBG와 DET의 항염증 활성 차이는 각각의
204 추출물에 함유되어 있는 생리활성 물질의 차이로 기인하는 것으로 생각되며,
205 이에 대한 후속 연구가 필요하다. 결론적으로, 감 추출물, 특히 1,3-butylene
206 glycol 추출물은 IgE의 분비를 억제시키고, 이는 IL-8의 분비 억제로 이어져
207 AD를 개선시킬 수 있으리라 사료된다.

208

209 **SOD 유사 활성**

210 많은 연구들을 통해 산화적 스트레스가 아토피 피부염과 관련이 있다는
211 것이 알려져 있다(Wüthrich and Schmid-Grendelmeier, 2003). 손상된 산소/질소
212 라디칼 항상성과 증가된 산화적 스트레스가 소아 AD의 병태생리학적
213 원인으로 지목되고 있으며, AD가 있는 유치원생들과 대조군을 비교해보았을
214 때 혈액 항산화 능력이 현저하게 떨어진다고 보고되어 있다(Chung et al.,
215 2009). 최근에는 대조군과 비교했을 때 습진 환자군 혈청 속의 비타민 A, C
216 및 E와 같은 항산화 물질의 농도가 낮다는 것을 발견했다(Amin et al., 2015).
217 또한 AD와 밀접한 관련이 있는 염증성 피부 질환인 탈모 환자에서도
218 산화적 스트레스 증가가 보고되었다(Bakry et al., 2014; Mohan and Silverberg,
219 2015). 산화적 스트레스는 항산화 효소의 유전자 발현을 활성화하기 위해
220 NF- κ B 경로를 활성화할 수 있음이 알려져 있다. 그러나 NF- κ B 경로가
221 활성화되면 IL-6, IL-8 및 IL-9 같은 염증성 사이토카인의 발현이 유도되어
222 이로 인해 피부 염증이 악화될 수 있다(Koren Carmi et al., 2015; Kruk and
223 Duchnik, 2014; Wullaert et al., 2011; Yao et al., 2011). 또한 산화적 스트레스는
224 피부 표피 각질세포에서 DNA 손상, 세포 효소 손상, 지질 산화를 통한

225 세포막 구조 손상 등을 일으킬 수 있다(Ichiishi et al., 2016).
226 본 실험에서는 감 추출물 두 종류가 SOD의 효소 활성도를 현저히
227 증가시킴을 확인할 수 있었다. 특히 음성 대조군에 비해 100 mg/mL DBG는
228 SOD-유사활성을 28.5% 증가시켰으며, 동일 농도에서 DET는 26.2%
229 증가시켰다(Fig. 6). 생체 내 활성산소가 방어기작인 SOD, catalase, glutathione
230 peroxidase 등의 항산화효소 등에 의해 제거되므로(Cassatella et al., 1989), 감
231 추출물이 SOD 활성도를 증가시켜 AD의 증상을 완화시킬 수도 있다고
232 사료된다.

233

234 결론

235 종합해보면, 감 추출물은 항산화 효소 활성을 증가시키고 Th1 세포를
236 활성화시키며 Th2 세포를 억제함으로써 AD 개선에 효과적일 수 있음을
237 확인할 수 있었다. 다만, 상기했듯이 만성 AD보다는 급성 AD 초기에 더 잘
238 적용될 것으로 여겨지며, 기존 외용제들과의 병용 효과 등을 추가로
239 연구해야 할 것으로 보인다.

240

241 References

- 242 Ali F, Vyas J, Finlay AY. 2020. Counting the burden: Atopic dermatitis and health-
243 related quality of life. *Acta Derm Venereol* 100:adv00161.
- 244 Amin MN, Liza KF, Sarwar MS, Ahmed J, Adnan MT, Chowdhury MI, Hossain MZ,
245 Islam MS. 2015. Effect of lipid peroxidation, antioxidants, macro minerals and
246 trace elements on eczema. *Arch Dermatol Res* 307:617-623.

247 Asher MI, Montefort S, Björkstén B, Lai CK, Strachan DP, Weiland SK, Williams H.
248 2006. Worldwide time trends in the prevalence of symptoms of asthma, allergic
249 rhinoconjunctivitis, and eczema in childhood: Isaac phases one and three repeat
250 multicountry cross-sectional surveys. *Lancet* 368:733-743.

251 Avena-Woods C. 2017. Overview of atopic dermatitis. *Am J Manag Care* 23:S115-s123.

252 Bakry OA, Elshazly RM, Shoeib MA, Gooda A. 2014. Oxidative stress in alopecia
253 areata: A case-control study. *Am J Clin Dermatol* 15:57-64.

254 Bawany F, Northcott CA, Beck LA, Pigeon WR. 2021. Sleep disturbances and atopic
255 dermatitis: Relationships, methods for assessment, and therapies. *J Allergy Clin.*
256 *Immunol. Pract.* 9:1488-1500.

257 Butt MS, Sultan MT, Aziz M, Naz A, Ahmed W, Kumar N, Imran M. 2015. Persimmon
258 (diospyros kaki) fruit: Hidden phytochemicals and health claims. *Excli j* 14:542-
259 561.

260 Cassatella MA, Berton G, Agostini C, Zambello R, Trentin L, Cipriani A, Semenzato G.
261 1989. Generation of superoxide anion by alveolar macrophages in sarcoidosis:
262 Evidence for the activation of the oxygen metabolism in patients with high-
263 intensity alveolitis. *Immunology* 66:451-458.

264 Chung J, Oh SY, Shin YK. 2009. Association of glutathione-s-transferase
265 polymorphisms with atopic dermatitis risk in preschool age children. *Clin Chem*
266 *Lab Med* 47:1475-1481.

267 Direito R, Rocha J, Sepodes B, Eduardo-Figueira M. 2021. From diospyros kaki l.
268 (persimmon) phytochemical profile and health impact to new product
269 perspectives and waste valorization. *Nutrients* 13.

270 Dormandy TL. 1978. Free-radical oxidation and antioxidants. *Lancet* 1:647-650.

271 Ellis CN, Mancini AJ, Paller AS, Simpson EL, Eichenfield LF. 2012. Understanding and

272 managing atopic dermatitis in adult patients. *Semin Cutan Med Surg* 31:S18-22.

273 Fania L, Moretta G, Antonelli F, Scala E, Abeni D, Albanesi C, Madonna S. 2022.

274 Multiple roles for cytokines in atopic dermatitis: From pathogenic mediators to

275 endotype-specific biomarkers to therapeutic targets. *Int J Mol Sci* 23.

276 Hong CE, Lyu SY. 2022. Identification of anti-oxidant, anti-aging, and whitening effects

277 of *diospyros kaki* extracts. *J. Soc. Cosmet. Sci. Korea* 48:275-285.

278 Huang E, Ong PY. 2018. Severe atopic dermatitis in children. *Curr. Allergy Asthma Rep.*

279 18:35.

280 Ichiishi E, Li XK, Iorio EL. 2016. Oxidative stress and diseases: Clinical trials and

281 approaches. *Oxid Med Cell Longev* 2016:3458276.

282 Kim J, Kim BE, Leung DYM. 2019. Pathophysiology of atopic dermatitis: Clinical

283 implications. *Allergy Asthma Proc* 40:84-92.

284 Koren Carmi I, Haj R, Yehuda H, Tamir S, Reznick AZ. 2015. The role of oxidation in

285 fsl-1 induced signaling pathways of an atopic dermatitis model in hacat

286 keratinocytes. *Adv Exp Med Biol* 849:1-10.

287 Kruk J, Duchnik E. 2014. Oxidative stress and skin diseases: Possible role of physical

288 activity. *Asian Pac J Cancer Prev* 15:561-568.

289 Laughter MR, Maymone MBC, Mashayekhi S, Arents BWM, Karimkhani C, Langan

290 SM, Dellavalle RP, Flohr C. 2021. The global burden of atopic dermatitis:

291 Lessons from the global burden of disease study 1990-2017. *Br J Dermatol*

292 184:304-309.

293 Mohan GC, Silverberg JI. 2015. Association of vitiligo and alopecia areata with atopic

294 dermatitis: A systematic review and meta-analysis. *JAMA Dermatol* 151:522-

295 528.

296 Myo H, Yaowiwat N, Pongkorpsakol P, Aonbangkhen C, Khat-Udomkiri N. 2023.

297 Butylene glycol used as a sustainable solvent for extracting bioactive
298 compounds from camellia sinensis flowers with ultrasound-assisted extraction.
299 ACS Omega 8:4976-4987.

300 Sen CK. 1995. Oxygen toxicity and antioxidants: State of the art. Indian J Physiol
301 Pharmacol 39:177-196.

302 Sivaranjani N, Rao SV, Rajeev G. 2013. Role of reactive oxygen species and
303 antioxidants in atopic dermatitis. J Clin Diagn Res 7:2683-2685.

304 Thestrup-Pedersen K. 2000. Clinical aspects of atopic dermatitis. Clin Exp Dermatol
305 25:535-543.

306 Tsukahara H, Shibata R, Ohshima Y, Todoroki Y, Sato S, Ohta N, Hiraoka M, Yoshida A,
307 Nishima S, Mayumi M. 2003. Oxidative stress and altered antioxidant defenses
308 in children with acute exacerbation of atopic dermatitis. Life Sci 72:2509-2516.

309 Wüthrich B, Schmid-Grendelmeier P. 2003. The atopic eczema/dermatitis syndrome.
310 Epidemiology, natural course, and immunology of the ige-associated
311 ("extrinsic") and the nonallergic ("intrinsic") aeds. J Investig Allergol Clin
312 Immunol 13:1-5.

313 Wullaert A, Bonnet MC, Pasparakis M. 2011. Nf- κ b in the regulation of epithelial
314 homeostasis and inflammation. Cell Res 21:146-158.

315 Yao W, Tepper RS, Kaplan MH. 2011. Predisposition to the development of il-9-
316 secreting t cells in atopic infants. J Allergy Clin Immunol 128:1357-1360.e1355.

317