

Original Article / 원저

네트워크 약리학을 이용한 소양증을 동반한 피부 염증에 대한 枳實의 잠재적 치료기전 탐색

서광일¹ · 김준동¹ · 김병현¹ · 김규석² · 남혜정² · 김윤범²

경희대학교 한의과대학 안이비인후피부과학교실(¹수련의, ²교수)

Analysis of Potential Active Ingredients and Treatment Mechanism of Ponciri Fructus Immaturus for Dermatitis Accompanied by Pruritus Using Network Pharmacology

GwangYeel Seo · Jundong Kim · Byunghyun Kim · Kyu-Seok Kim · Hae-jeong Nam · Yoon-Bum Kim

Department of Ophthalmology, Otolaryngology and Dermatology of Korean Medicine, Kyung Hee University College
of Korean Medicine, Kyung Hee University Medical Center, Seoul, Republic of Korea

Abstract

Objectives : To identify the active ingredient of Poncirus Trifoliata Immaturus and to explore the mechanism expected to potentially act on dermatitis accompanied by pruritus.

Methods : We conducted the network pharmacological analysis. We selected effective ingredients among the active compounds of Poinciri Fructus Immaturus. We found the target protein of the selected active ingredient, disease(dermatitis accompanied by pruritus) and fexofenadine. Then we established the network between the proteins which Poinciri Fructus Immaturus and fexofenadine intersected with disease respectively, and the coregene was also extracted. After that, the active pathways in the human body involving the groups and coregenes were searched.

Results : Total of 7 active ingredients were selected, and 202 target proteins were collected. There were 756 proteins related to inflammatory skin disease accompanied by pruritus, and 75 proteins were related to fexofenadine. 42 proteins crossed by Poinciri Fructus Immaturus with a disease, and 31 proteins crossed by fexofenadine with a disease. 12 proteins were found as a coregene from the proteins that cross Poinciri Fructus Immaturus and disease. Coregenes are involved in 'Nitric-oxide synthase regulator activity', 'Epidermal growth factor receptor signaling pathway'. 2 groups that extracted are involved in 'Fc receptor signaling pathway', 'Central carbon metabolism in cancer', 'Phosphatidylinositol 3-kinase complex, class IB', and 'omega-hydroxylase P450 pathway'.

Conclusion : It is expected that Poinciri Fructus Immaturus will be able to show direct or indirect anti-pruritus and anti-inflammatory effects on skin inflammation accompanied by pruritus in the future. And it is also expected to have a synergy effect with fexofenadine on skin disease.

Key words : Pruritus; Dermatitis; Eczema; Ponciri fructus immaturus; Network pharmacology

© 2022 the Society of Korean Medicine Ophthalmology & Otolaryngology & Dermatology

This is an Open Access journal distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

I. 서 론

소양감(가려움)은 피부를 긁거나 문지르고 싶은 충동을 일으키는 불쾌한 감각이며, 누구나 경험할 수 있는 흔한 증상이다¹⁾. 가려움은 다양한 피부과 질환, 전신적 질환, 정신적 질환 등에서 나타날 수 있는 가장 일반적인 이면성도 고통스러운 증상 중 하나이다²⁾. 가려움증은 감각 자체로도 괴롭지만 가려워서 긁는 행위를 통해 피부 염증과 말초신경의 손상이 유발되고, 이는 가려움을 더욱 악화시킬 수 있기 때문에 이에 대한 적절한 조치가 필요하다¹⁾. 현재 서양의학에서 가려움을 완화하기 위해 여러 치료법이 적용되고 있으나 가려움의 병태생리는 알려져 있는 바가 제한적이기 때문에 치료법도 그 효능에 대한 충분한 근거 없이 경험적으로 사용되는 경우가 많다. 현재 표준 진료지침상 소양감을 호소하는 환자에게 일차적으로 1세대 혹은 2세대 항히스타민제를 처방하도록 권고되어 있다. 그러나 경구용 항히스타민제의 항소양효과에 대한 충분한 임상연구는 이루어지지 않았으며, 부작용도 상당수 보고되어 임신부나 소아에게는 일부 항히스타민제의 사용을 주의하도록 권고하고 있다³⁾.

현재 가려움의 유발 기전에 대하여 많은 연구가 진행 중이나, 밝혀진 바는 제한적이다^{2,3)}. 따라서, 가려움의 다양하고 복잡한 유발 기전과 이에 영향을 미칠 수 있는 다양한 요인으로 인하여 단일 표적을 대상으로 하는 치료 전략은 예상했던 효과를 보이지 못할 가능성이 있다.

네트워크 약리학은 시스템 생물학을 기반으로 한 약리학적인 방법론으로 약물들은 대부분의 경우에서 다수의 표적에 작용한다는 개념을 기반으로 하고 있으며, 신약 발견의 새로운 패러다임으로 여겨지고 있다⁴⁾. 네트워크 약리학의 포괄성, 체계성 및 전체론적 개념은

한약이 가지고 있는 다중 표적 및 다중 경로에 작용한다는 특성과 일치한다⁵⁾. 대부분의 본초 및 한약의 효과는 경험적 지식에서 발전한 것으로, 이는 임상에서 다년간 유효성이 검증되었지만 과학적이고 합리적인 메커니즘 해석이 부족하다는 문제가 제기되고 있다. 이에 대하여 네트워크 약리학은 경험 기반 의학에서 근거 기반 의학으로의 변화를 이룰 수 있는 방안으로 볼 수 있다⁵⁾.

枳實은 운향과(Rutaceae)에 속한 탕자나무(*Poncirus trifoliata* Rafinesque)의 익지 않은 열매로 약성은 쓰고 맵고 시고 약간 차다. 담을 없애고 적체된 것을 없애며, 기가 정체된 것을 깨뜨려 소통시키고 痞氣를 흩어서 통하게 하여 암, 염증 및 위장 장애에 다용되고 있다⁶⁾. 枳實의 활성성분으로는 citral, hesperidin, linalool, limonene, neohesperidin, naringin, poncirin 등이 있으며 이들 성분에 대하여 항암작용, 항알레르기작용, 항염증작용, 위장관 조절작용, 항산화작용 등이 보고되었다⁶⁾.

또한 枳實은 in vitro 및 in vivo 연구에서 아토피성 피부염에 대하여 염증성 사이토카인의 생성을 억제하고, 각질층에서 필라그린의 발현을 회복시켰음이 보고되었다⁷⁾. 이처럼 枳實은 가려움을 동반한 피부 염증에 대하여 효과가 있는 것으로 나타났지만 그 치료 기전은 완전히 설명되지 않았다. 따라서 본 연구에서는 네트워크 약리학을 활용하여 소양증을 동반하는 피부 염증에 대한 枳實의 잠재적인 목표 단백질 및 작용 메커니즘에 대해 탐색하고 해당 메커니즘과 연관 있는 유효 활성 성분을 밝혀 기존의 표준 약제를 보완하거나 대체할 수 있는 잠재력이 있는지 그 여부를 확인하고자 한다.

II. 연구 방법

1. 枳實의 활성 화합물 수집 및 유효 성분 선별

枳實의 활성 화합물 중 유효한 성분을 선별하기 위하여 Traditional Chinese Medicine Integrated Database(TCMID)를 활용하였다. 검색어로 활용할 한

Corresponding author : Yoon-Bum Kim, Department of Ophthalmology, Otorhinolaryngology and Dermatology of Korean Medicine, Kyung Hee University College of Korean Medicine, Kyung Hee University Medical Center, 23, Kyunghheedaero, Dongdaemun-gu, Seoul, 02447, Korea.
(Tel : 02-958-9181, E-mail : kyb0517@khu.ac.kr)

•Received 2022/10/12 •Revised 2022/10/31 •Accepted 2022/11/7

약재의 명칭은 한국에서 활용하는 枳實인 탕자나무의 익지 않은 열매(Ponciri Fructus Immaturus)를 선정하였다⁶⁾. 이후 TCMID에 검색하여 결과로 나타난 성분 중 경구생체이용률(oral bioavailability, OB)은 30% 이상, 약물유사도(drug likeness, DL)는 0.18 이상인 성분만을 선별하여 유효성분으로 간주하였다^{8,9)}. 스크리닝 후 Pubchem에서 화합물의 분자구조와 Smile number를 TCMID에서 제시된 분자구조와 비교하여 동일하지 여부를 확인하였다.

2. 枳實의 유효 성분에 대한 잠재적 표적 수집

선별된 枳實의 유효 성분의 잠재적인 목표 단백질을 규명하기 위하여, Swiss Target Prediction database을 활용하였다. Pubchem에서 확인된 분자구조 및 표준 SMILE number를 검색하여 잠재적인 단백질 타겟을 얻었고, 실제로 유효 성분이 목표 단백질에 작용을 나타낼 probability가 0인 단백질은 잠재적인 목표 단백질이 아닌 것으로 보고 제외하였다¹⁰⁾. 그 후 枳實의 유효성분과 그 표적 단백질 간의 네트워크를 Cytoscape 3.8.2를 통하여 네트워크를 시각화하였다.

3. 소양증을 동반하는 염증성 피부질환의 잠재적 표적 수집

소양증을 동반하는 피부 염증에 관여하는 것으로 알려진 단백질을 검색하기 위하여 Genecards database를 활용하였다. 검색에 사용한 검색식은 'Itch' AND 'Pruritus' AND 'Dermatitis' AND 'Eczema'로 구성하였다. Genecards는 multiple omics 및 기능 정보와 관련하여 homo sapiens 종에 대하여 알려져 있거나 예측된 유전자를 제공하는 복합 데이터베이스이다¹⁰⁾.

4. 소양감을 주요 증상으로 하는 피부 염증에 쓰이는 표준 약제 선정 및 관련 표적 수집

유럽의 소양증에 대한 임상 진료 지침과^{2,3)} 국내 소양증 치료에 대한 문헌¹⁾을 기반으로 비교 대상으로 3세대

항히스타민제 중 fexofenadine을 선정하였다. 그 후에 Genecards에 fexofenadine을 검색하여 그 표적 단백질들을 수집하였다.

5. PPI network 구축

1) 단백질-단백질 간의 상호작용 분석

위 과정을 통하여 추출한 소양증을 동반한 피부 염증과 枳實, 그리고 fexofenadine이 작용할 것으로 알려진 단백질들 간의 관계를 알아보기 위하여 먼저 벤다이 어그램을 활용하여 교집합이 되는 목표 단백질들을 얻었다¹¹⁾. 그 후 교차 단백질 표적들을 이용해 STRING database에서 목표 단백질들 간 상관관계를 분석하여 protein-protein interaction network(PPI network)를 구축하였다. 인간에 대한 작용 메커니즘을 연구하는 것이 목표이므로 Organism은 'Homo sapiens'로 설정하였고 상호작용 점수는 보다 높은 상관성을 보이는 메커니즘을 추출하고자 'highest confidence' > 0.700로 설정하였다.

이후 MCODE plugin을 통해 앞서 구축했던 PPI network에서 보다 긴밀하게 연결된 단백질의 조합을 확인하였다. MCODE의 설정값은 degree cutoff ≥ 2, node score cutoff ≥ 0.2, k-score ≥ 2, maximum depth = 100을 사용하였다¹²⁾.

2) Coregene 및 모듈 추출

각 네트워크에서 핵심적으로 작용하는 단백질 표적들을 선별하기 위해 CytoNCA application을 통해 위상학적 분석을 실행하였다. Betweenness centrality(BC), Closeness centrality(CC), Degree centrality(DC), Eigenvector centrality(EC)의 네 가지 매개변수의 평균값을 구하고 평균값 이상을 갖는 Coregene을 추출하였다¹³⁾. PPI 네트워크의 모듈은 단백질 복합체, 대사 경로 또는 신호 전달 시스템과 같은 특정 기능에 참여하는 단백질 그룹을 말한다. 이러한 모듈은 상대적으로 더 많은 edges를 갖는 node 그룹이거나 공통의 생물학적 기능을 공유하는 node 그룹이다. 이러한 node

그들은 위상학적, 기능적 속성을 모두 갖는데 이를 찾아냄으로써 PPI 네트워크의 생물학적 메커니즘의 전반적인 이해를 도울 수 있다¹³⁾.

6. Gene Ontology(GO) 분석 및 Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway 분석

枳實과 fexofenadine, 그리고 소양증을 동반한 피부염증에 공통으로 관여하는 것으로 밝혀진 단백질들을 대상으로 작용 메커니즘 분석을 수행하기 위하여 Cytoscape 3.8.2 의 ClueGO plugin(version 2.5.8.)을 활용하였다. 이를 통해 Biological Process(BP), Immune system Process(IP), Cell Component(CC), 그리고 molecular Function(MF)에서의 Gene Ontology(GO) terms, Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes(KEGG) pathway를 검색하여 시각화하였다¹⁴⁾. P-value $\leq$ 0.05, Kappa value $\geq$ 0.7인 메커니즘만 검색되도록 설정하여 작업을 수행하였다¹⁵⁾.

그 후 같은 방법으로 fexofenadine과 소양증을 동반한 피부질환에 공통으로 관여하는 단백질들이 관여하는 메커니즘을 탐색한 뒤 枳實과 fexofenadine이 관여하는 메커니즘의 차이를 비교하였다.

III. 결 과

1. 연구 대상 한약재의 잠재적 활성 성분 및 표적 단백질 수집

TCMID database를 통해 枳實(Ponciri Fructus Immaturus)의 잠재적 활성 화합물을 추출하였다. 이후 OB $\geq$ 30%, DL $\geq$ 0.18의 기준을 충족시키는 화합물을 선별하여 총 7가지의 활성 화합물이 추출되었다(Table 1). 선별한 枳實의 활성 성분에 대한 단백질 표적을 추출하여 202개의 단백질 표적을 수집하였다(Fig. 1, Appendix 1).

Table 1. Active Compounds of Ponciri Fructus Immaturus

	Active compound	Pubchem ID	OB(%)	DL
1	Sinensetin	145659	50.56	0.45
2	5,7,4'-Trimethylapigenin	79730	39.83	0.3
3	Hesperetin	72281	70.31	0.27
4	Isosinensetin	632135	51.15	0.44
5	Lophenol	160482	38.13	0.71
6	Nobiletin	72344	61.67	0.52
7	Poncirin	442456	36.55	0.74

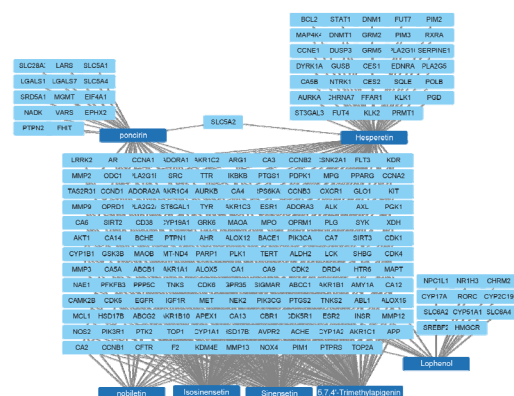


Fig. 1. Network between Active Ingredients of Compounds(Ponciri Fructus) and Target Proteins

2. 질병 및 표준약제의 표적 단백질 수집

또한 소양증을 동반하는 염증성 피부질환에 관련된 표적 단백질을 찾기 위하여 Genecards를 사용하여 756개의 표적 단백질을 수집하였다. 그리고 유럽 및 국내 표준 진료지침에 근거하여 선정한 표준약제(fexofenadine)에 대하여 Genecards를 사용하여 75개의 표적 단백질을 수집하였다(Appendix 2, 3).

3. 단백질 표적 간의 교차대상

벤다이어그램을 통해 枳實(Poncirus fructus

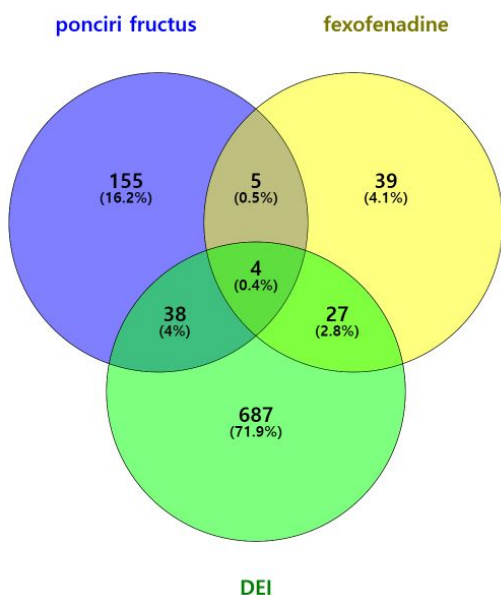
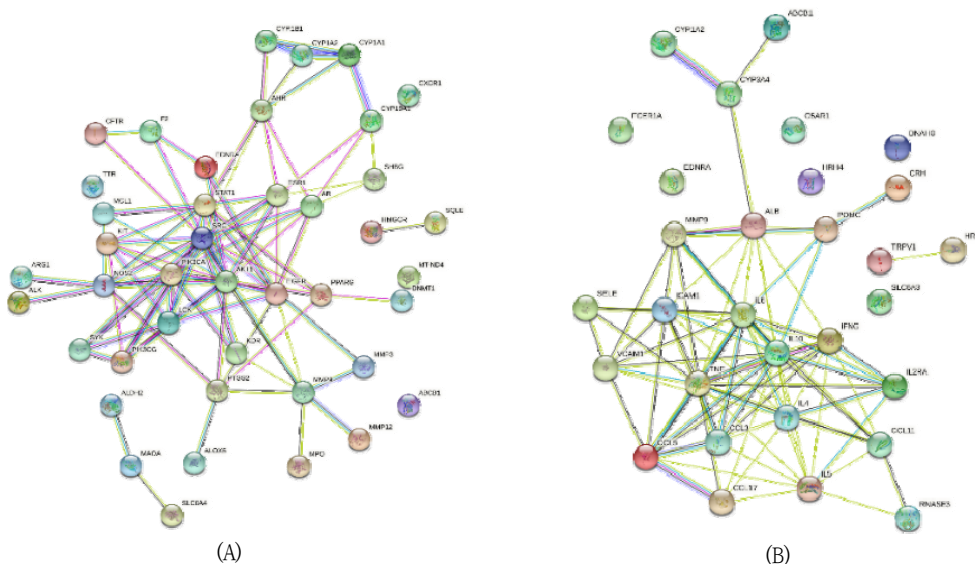


Fig. 2. Venn Diagram Showing Intersection Targets between Compounds(*Poncirus Fructus*), Disease(Dermatitis and Eczema with Pruritus, DEI) and Drugs(Fexofenadine)

immaturus)의 유효성분들의 표적 단백질과 소양증을 동반하는 염증성 피부질환의 표적, 그리고 fexofenadine의 표적등 간 교차대상을 확인하였다(Fig. 2). 세 가지 군집의 교차대상은 4개로 ABCB1(ATP-binding cassette sub-family B member 1), CYP1A1 (Cytochrome P450 1A1), DNMT1(DNA-methyltransferase 1), MMP3(Stromelysin-1)이다. 枳實의 유효성분들의 표적과 소양증을 동반하는 피부염증의 표적의 교차 대상은 총 42개이며 fexofenadine의 표적과 소양증을 동반한 피부염증의 표적의 교차 대상은 31개이다.

4. 枳實의 활성 화합물과 잠재적 표적 간의 네트워크

벤다이어그램에서 확인된 枳實 혹은 fexofenadine과 소양증을 동반한 피부염증이 공유하는 표적 단백질을 STRING database를 통하여 단백질들 간 상관관계를 분석하였다. 세 군집의 교차대상 4개에 대한 PPI



네트워크는 high confidence의 기준을 적용한 결과 edge가 발견되지 않았다. 소양증을 동반한 피부 염증에 대하여 枳實의 유효성분과 교차하는 42개의 표적에 대한 PPI 네트워크의 상호작용 edge는 90개, node는 42개이며 평균 node degree는 4.29로 나타났다(Fig. 3A). 소양증을 동반한 피부 염증에 대하여 fexofenadine과 교차하는 31개의 표적에 대한 PPI 네트워크의 상호작용 edge는 85개, node는 30개이며, 평균 node degree는 5.67로 나타났다(Fig. 3B).

또한 枳實과 가려움을 동반한 피부염증에서 공통으로 관여한다고 나타난 단백질들을 MCODE version 2.0.2를 통해 그들 중 보다 긴밀하게 연관되어 있는 묶음을 찾기 위한 추가적인 분석을 진행한 결과 총 2개의 group이 산출되었다(Fig. 4A, B).

Cluster 1(PIK3CG, AKT1, LCK, KIT, SRC, SYK, EGFR, AR, PIK3CA)의 경우 9개의 nodes, 27개의 edges를 가지고 있고, MCODE score는 6.75로 측정되었다(Table 2). Cluster 2(CYP1A1, CYP1B1, CYP1A2)의 경우 3개의 nodes, 3개의 edges를 가지고 있고, MCODE score는 3.00로 측정되었다(Table 2).

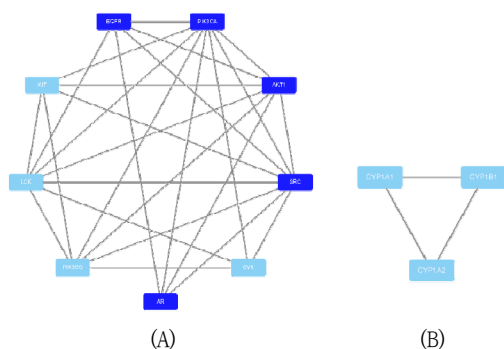


Fig. 4. Total Protein-Protein Network and Modules Including Coregene Selected through cytoNCA and MCODE Plugin between Compounds(*Ponciri Fructus*) and Disease(Dermatitis or Eczema with Pruritus)

(A) Cluster 1, Score : 6.750 Node : 9 Edge : 27

(B) Cluster 2, Score : 3.000 Node : 3 Edge : 3

Table 2. MCODE Analysis of Intersection Targets between Compounds(*Fructus Arctii*) and Disease(Dermatitis or Eczema with Pruritus)

Cluster	Score (Density*#Nodes)	Nodes	Edges	Node IDs
1	6.75	9	27	PIK3CG, AKT1, LCK, KIT, SRC, SYK, EGFR, AR, PIK3CA
2	3	3	3	CYP1A1, CYP1B1, CYP1A2

5. Coregene 및 모듈 추출

가려움을 동반한 피부염증에 연관된 gene protein과 枳實의 유효성분이 target으로 하는 gene protein 간 PPI 네트워크의 잠재적 표적 및 상호작용을 더욱 명확히 하기 위해 Corgene과 모듈을 추출하였다. CytoNCA를 통한 topology 분석 결과 枳實과 가려움을 동반한 피부염증 군집의 교차대상에 대한 PPI 네트워크 분석 결과 평균 BC, CC, DC, EC 값은 각 38.5789, 0.1246, 4.7368, 0.11762363이다. 이 네 가지 매개 변수의 평균값보다 높은 값을 가지는 Coregene은 총 12개이다(Table 3).

6. 주요 표적의 GO 및 KEGG pathway 분석

앞서 얻은 PPI network들을 cytoscape 내 ClueGO version 2.5.9를 통해 그들이 인체 내에서 어떤 경로로 작용할 수 있는지를 알아보았다. 먼저 세 가지 군집의 교차 대상 4개에 대해 BP, MF, IP, CC, KEGG pathway에 대해 p-value<0.05에서 분석 시 의미 있는 결과를 얻지 못하였다. 가려움을 동반한 피부염증과 枳實이 공통적으로 가지는 protein을 대상으로 분석한 결과 83가지의 Functional group과 총 252개의 GO term을 얻었다. 이들 중 Coregene들만

을 대상으로 다시 분석한 결과 11가지의 Functional group과 53개의 GO term을 얻었다. Coregene들이 주로 관여하는 생체내 경로는 'Nitric-oxide synthase regulator activity', 'Epidermal growth factor receptor signaling pathway' 등이 포함되었다(Fig. 5A).

MCODE 분석을 통해 얻어진 두 그룹을 대상으로 분석을 시행한 결과, cluster 1에서는 13개의 Functional groups와 55개의 GO terms를 얻었다. 이중 KEGG pathway는 5개, CC는 3개, BP는 47개였으며, MF, IP에 대한 결과는 없었다. Cluster 1에 포함된 목표 단백질들이 관여하는 생체내 경로는 'Fc receptor signaling pathway', 'Central carbon metabolism in cancer', 'phosphatidylinositol 3-kinase(PI3K) complex, class 1B' 등이 포함되었다(Fig. 5B). Cluster 2의 경우, 2개의 Functional groups와 7개의 GO terms와 연관이 있었으며, 그 중 KEGG pathway는 1개, BP는 6개 포함되었다. 이들이 관여하는 생체내 경로는 'omega-hydroxylase P450 pathway'와 'Xenobiotic catabolic process'가 포함되었다(Fig. 5C).

마지막으로 枳實과 fexofenadine이 작용하는 coregenes를 대상으로 각각이 관여하는 GO terms & KEGG pathway를 분석하여 비교하였다(Fig. 5D). 枳實이 주로 관여하는 생체 내 경로는 'Estrogen signaling pathway', 'Transcription coregulator activity' 등으로 나타났고, fexofenadine이 주로 관여하는 생체 내 경로는 'Inflammatory bowel syndrome', 'Asthma' 등으로 나타났다.

IV. 고 찰

가려움은 가장 흔한 증상 중 하나이지만 치료가 어렵고 재발이 잦은 특징을 가진다. 또한 가려움의 양상은 따끔함이나 화끈거림으로 나타나기도 하며 참을 수 없을 정도로 심한 경우도 있어 환자들의 일상생활에 중대한 영향을 미치며 심신을 쇠약하게 만들 수 있다¹⁶⁾. 그렇기 때문에 가려움증의 효과적인 치료법의 확립은 필수적이나, 현재 가려움증에 주된 치료 약제로 선택되는 경구 항히스타민제는 효과가 단기적이며 두드러기 등 일부 질환을 제외하고는 그 효과에 대한 근거도 부족한

Table 3. Coregenes of PPI Network of Intersection Targets between Compounds(*Ponciri Fructus*) and Disease(Dermatitis or Eczema with Pruritus)

Protein name	Betweenness	Closeness	Degree	Eigenvector
SRC	326.5875	0.155462	17	0.400926
AKT1	172.7779	0.152893	15	0.38189
EGFR	102.166	0.149194	11	0.300265
PIK3CA	88.62698	0.14741	11	0.295912
STAT1	73.17609	0.149194	10	0.280089
ESR1	74.88208	0.14741	8	0.230545
AR	64.66621	0.146825	7	0.196903
MMP9	147.0203	0.145669	8	0.169802
NOS2	72.40722	0.143411	6	0.157882
AHR	158.3911	0.143969	7	0.144069
PPARG	67.88817	0.142857	5	0.145992
PTGS2	76.28571	0.141762	6	0.139572

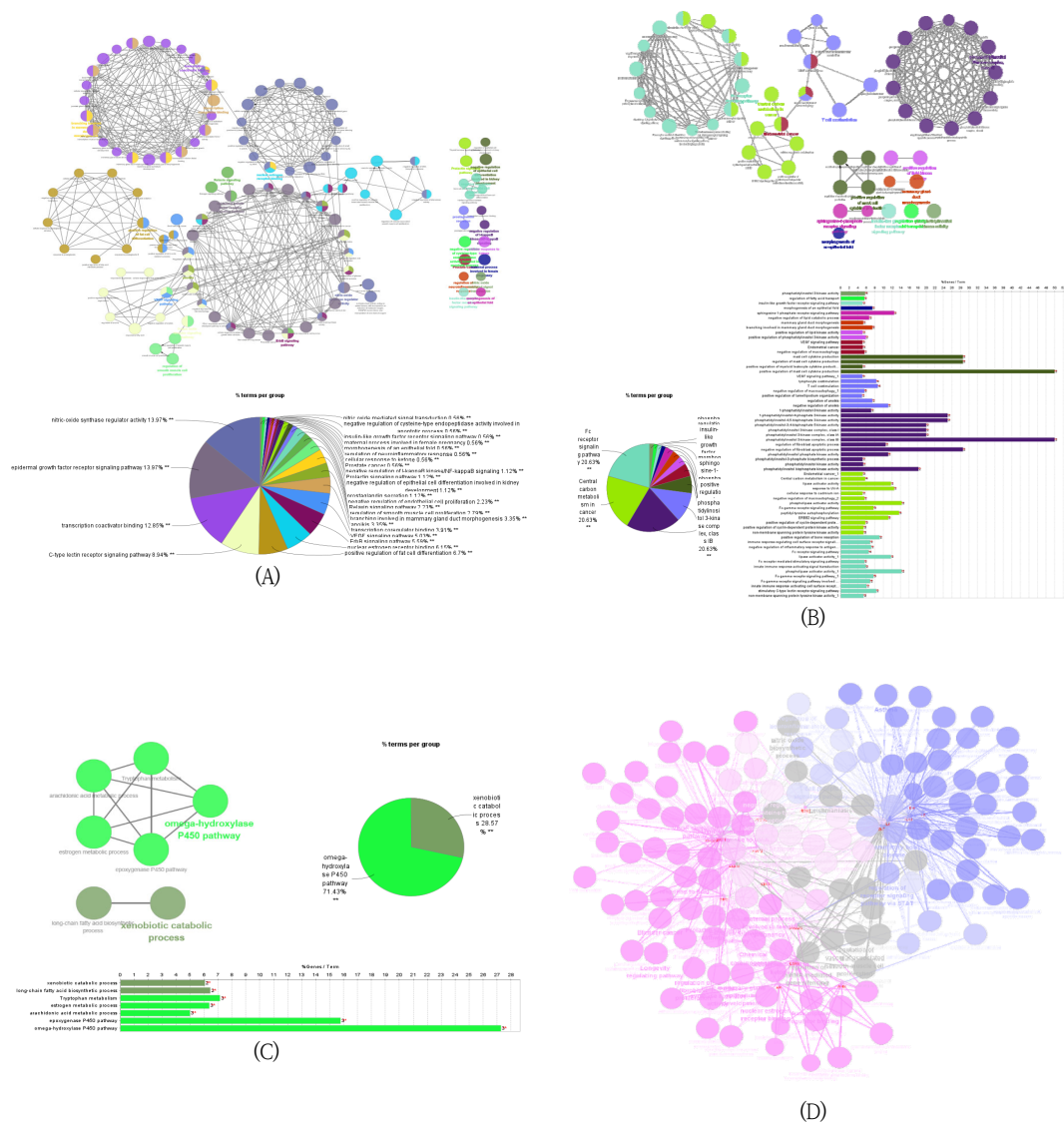


Fig. 5. (A) GO Analysis of Module in PPI Network of Intersection Targets between Coregenes of Compounds(*Ponciri Fructus*) and Disease(Dermatitis or Eczema with Pruritus); BP, KEGG Pathway
(B) GO Analysis of Intersection Targets between Compounds(*Ponciri Fructus*), Disease (Dermatitis or Eczema with Pruritus) and Drugs; Cluster 1, Analyzed by MCODE Plugin
(C) GO Analysis of Module in PPI Network of Intersection Targets between Coregenes of Compounds(*Ponciri Fructus*) and Disease(Dermatitis or Eczema with Pruritus); Cluster 2, Analyzed by MCODE Plugin
(D) GO Terms and KEGG Pathway Analysis of Coregenes between Compounds(*Ponciri Fructus*) and Drug(Fexofenadine)

실정이다³⁾. 이와 같이 현재까지도 이에 대한 표준화된 치료법이 없으며 항소양제에 대한 연구도 아직 부족하기 때문에 임상 진료 가이드라인의 많은 부분이 사례 연구나 전문가의 의견을 기반으로 한다. 그러므로 만성 소양증을 호소하는 염증성 피부질환은 병태생리에 초점을 맞춘 새로운 치료법이 필요하며 다인적인 특성에 따라 다중 표적을 갖는 한의학이 효과적인 솔루션이 될 수 있다¹⁷⁾.

가려움 자극은 표피 및 표피와 진피의 경계 부위에서 발생하여 비수초성 C 신경섬유로 전달된다. 명확히 밝혀지지 않았지만 소양증을 일으키는 신경경로로는 히스타민 감수성 및 비히스타민 감수성 말초 C 신경섬유에 따른 신호 전달이 관여한다. 소양감을 전달하는 일차 구심성 C 신경섬유는 이차 전달 뉴런과 시냅스를 형성하고 척추의 dorsal horn을 지나 반대측 척수 시상 경로를 경유하여 시상으로 올라간다. 그 후 소양증은 대뇌피질로 전달되어 굵고자 하는 욕구가 발생된다¹⁾. 또한 사이토카인, 프로테아제 및 신경펩타이드의 방출 증가와 함께 T 세포, 비만세포, 호중구, 호산구, 각질형성 세포 및 신경세포 사이의 복잡한 상호작용이 소양감을 악화시킨다. 이러한 경로를 방해하는 것은 비정상적인 소양증 인식을 유발할 수 있다. 따라서 이에 대한 모든 구성 요소를 소양증의 잠재적 치료 표적으로 삼을 수 있다.

본 연구에서 枳實의 구성 성분 중 인체 내에서 유효하게 작용할 것으로 생각되는 성분들을 선택하였는데, 이 중 가려움 및 염증에 대하여 유효하다는 연구결과가 있는 성분들이 존재하였다. Sinensetin의 경우 NF- κ B 매개 염증 유발 경로에 작용하여 IL-6, TNF- α , NO, COX-2, PGE2의 발현과정을 억제하여 염증을 억제한다는 효과가 있다는 것이 보고된 바 있다¹⁸⁾. 5,7,4'-Trimethoxyflavone에 대해서도 복수의 연구에서 항콜린, lipolytic, 신경보호, 항염 효과가 있다는 것이 발표되었다.

세포연구에서 5,7,4'-trimethoxyflavone는 지질의 축적을 억제하며 성숙한 지방세포의 증식을 감소시키는

작용이 있다는 결과가 보고되었다¹⁹⁾. NO에 대한 작용도 보고되었는데, 동물세포를 대상으로 한 연구에서 체내 iNOS의 발현을 조절하여 NO의 생성을 줄이는 효과가 있음이 보고된 바 있다²⁰⁾. 이를 통해 枳實이 소양감을 동반한 피부 염증에서 다양한 염증 신호전달 과정 및 염증 세포에 관여하여 항염증 및 신경보호 효과를 나타낼 것임을 알 수 있다.

枳實의 활성성분을 분석하여 각 성분이 작용하는 단백질을 추출한 후, 그 중 보다 높은 정도로 관여할 것으로 예상되는 coregene을 선별한 결과 NOS2, MMP9, AhR, EGFR, PIK3CA, AKT1, PTGS2, SRC, KIT 등이 coregene으로 작용하고 있는 것으로 나타났다. NOS2 는 NO를 만들어내는 효소로, 생성된 NO는 TLR의 susceptibility를 증가시켜 대식세포를 활성화시킨다. 또한 활성화된 대식세포나 소교세포(microglial cell)들은 NOS2의 발현을 증가시켜 염증을 가속화시킨다²¹⁾. 또한 표피의 염증상황에서 IL-13에 의해 활성화된 각질세포에서 MMP9가 높은 정도로 활성화되어 있고, MMP9는 대식세포의 이동에 관여하므로 NOS와 MMP9는 대식세포 활성화로 이어진 피부 염증에 관여한다고 생각할 수 있다. NO에 의한 활성산소의 활성화는 신경계 질환에 중대한 영향을 미치는 NO 스트레스의 유도에 의해 세포 손상을 일으킬 수 있고, glutamate 매개 흥분독성에 기여하고, 신경계에서는 수초 및 신경조직 파괴와 같은 NO 스트레스 장애를 촉진하며, 중추신경계뿐만 아니라 말초신경계에서도 활동전위 전달의 차단을 유도하여 신경장애를 유발한다²²⁾. AhR(Aryl hydrocarbon receptor)는 SRC, EGFR, MAPK등과 상호작용하여 피부장벽기능 유지에 관여하는데, AhR/ARNT 신호전달 과정을 통해 filagrin 및 loricin의 표현을 증가시켜 각질세포의 분화를 촉진한다. 또한 AhR에 의한 신호전달 경로는 랑게르한스 세포의 성숙 및 항원에 대한 면역작용에 필수적인 것으로 알려져있다. 더욱이, Th17 세포에서도 높은 수준의 AhR 발현이 나타나며 이러한 림프구에서 IL-22 분비 또한 AhR 활성화에 영향을 받기 때문에 피부장벽기능

유지 및 면역반응에 AhR이 관여하고 있음을 알 수 있다²³⁾. 또한 EGFR, PIK3CA, AKT1, PTGS2, SRC은 모두 세포 내 신호전달에 관여하는 단백질들이며, COX-2 대사에 관여하여 염증을 유발하는 과정에 관여하는 것이 알려져 있고²⁴⁾, PPAR과 함께 세포증식작용에도 관여하는 것이 알려져 있으므로 간접적으로 피부 장벽 기능 및 염증발생에 관여하는 것으로 생각된다²⁵⁾. 또한 KIT는 Tyrosine protein kinase로서 PI3K/AKT, SRC경로를 활성화시키고, STAT1, STAT3, STAT5A, STAT5B, RAS, RAF, MAPK/ERK 등 다양한 단백질들의 발현을 유도하여 cytokine ligand의 활성화, stem cell factor의 활성화를 통해 다양한 세포들의 증식, 분화, 이동 및 자멸사 과정에 중요한 역할을 담당하여 조혈, 줄기세포분화, 멜라닌세포 생성, 비만세포 분화, 이동 및 기능에 관여함이 알려져 있다²⁶⁾. 이상의 coregene들의 생체 내 기능으로 미루어 볼 때, 枳實을 가려움을 동반한 염증에 사용할 경우 표피의 각질세포, 랑게르한스 세포 및 대식세포의 발현을 조절하여 염증의 발생 및 확산을 억제하는 한편, NO와 COX-2의 염증신호전달과정에 관여하여 염증유발 물질이 발현되지 못하도록 함으로써 표피의 염증 억제효과가 나타나고, 이를 통해 가려움을 억제할 것으로 기대할 수 있다.

枳實과 가려움을 동반한 피부 염증에 모두 관여하는 단백질 중 coregene으로 선별된 목록을 대상으로 GO 및 KEGG pathway 분석한 결과 'Nitric oxide synthase regulator activity', 'Epidermal growth factor receptor signaling pathway'가 주로 연관되어 있는 것으로 나타났다. Nitric Oxide는 신경전달물질 그리고 신경조절제로서의 기능을 하는 분자로, 일부 가려움증 피부 질환 및 가려움증에서 NO의 역할이 명확해지고 있다. In vitro 연구의 경우 아토피 피부염의 쥐 모델에서 NO가 substance P 및 serotonin 유도 가려움증을 향상시킨다는 것이 보고된 바 있으며²⁷⁾, 임상적으로도 아토피 피부염 및 건선과 같은 소양증 피부 질환 환자의 경우 피부 및 혈청 NO의 농도가 증가하는

것으로 나타났으며, 피부의 NO 발현을 억제하는 약제를 투여하는 경우 가려움증이 완화되는 경향을 보였다²⁸⁾. 또한 NO는 신경성 염증에도 기여하는 것으로 알려져 있는데, 가려움 수용체에서 받은 신호를 전달하는 채널 중 하나인 TRPV1이 활성화되어 Ca²⁺ 유입이 일어날 때 내피 세포 및 평활근 세포에서 산화질소(NO)를 방출시켜 혈관 확장을 유도한다는 것이 보고된 바 있다²⁹⁾. Epidermal growth factor receptor(EGFR) 또한 다양한 피부 질환에서 관찰되는 표피 위축, 증식 및 비정상적인 분화와 연관이 있음이 알려져 있으며³⁰⁾, EGFR inhibitor를 적용했을 경우 각질세포 성장 및 장벽기능에 긍정적인 영향을 미쳤다는 것이 보고된 바 있다³¹⁾. 피부 장벽 기능이 불완전할 경우 신경성 염증 및 가려움의 발생이 밀접한 연관이 있음을 고려할 때, 枳實의 가려움에 대한 억제효과는 손상된 피부장벽기능을 정상화시킴으로써 얻어지게 되는 것임을 추측해볼 수 있다.

본 연구에서는 枳實과 소양감을 동반한 피부염증에 모두 관여하는 단백질들을 Mcode plugin을 통해 다시 그들 간의 관계에 따라 두 개의 cluster로 나누어 분석해보았다. Cluster 1에 포함된 단백질들이 관여하는 것으로 나타난 경로는 'Fc receptor signaling pathway', 'Central carbon metabolism in cancer', 'Phosphatidylinositol 3-kinase complex, class IB'인 것으로 나타났다. Fc receptor(FCR)는 항원이 아닌 항체의 Fc 부분을 인식하는 수용체로, 많은 FcR은 B cell receptor 및 T cell receptor와 활성화 경로를 공유하며 적절한 조건에서 항원 수용체와 동일한 전달 경로를 사용하여 세포 반응을 유도한다. FcR은 모든 종류의 항체에 대하여 존재하는데, 최근 Fc receptor가 피부 염증 및 가려움 유발에 관여할 수 있다는 연구보고가 나오고 있으며, in vitro 및 in vivo 연구에 따르면 삼차신경의 일부인 통각수용성 뉴런에서 발현된 FcεRI가 IgE에 의해 직접 활성화되고 알레르기성 안구 가려움증에 기여할 수 있음을 보고한 바 있다³²⁾. 해당 연구에서 쥐에게 항원을 처리하여 유발된 긁기 반응은 비만

세포 안정제 또는 히스타민 I 수용체 길항제의 처리 후에는 부분적으로만 완화된 반면 FcεRIa에 대한 차단 항체의 국소 적용으로 크게 완화되었다³²⁾. 다른 한편 Fc gamma receptor를 통한 억제성 신호는 IgG를 매개로 하여 발생하는 음식물 관련 알레르기 반응을 차단한다. 비만세포와 호염구들은 음식물 알레르기 관련 제 2형 면역반응의 부수적인 중요한 기능을 담당하는데, Fc gamma receptor를 통해서 전달되는 IgG를 통한 억제성 신호는 비만세포와 호염구의 활성을 억제한다³³⁾. IgM에도 fc receptor가 존재하는데, B cell의 성숙과 분화, 활성화를 조절하고 B cell이 생존을 유지할 수 있도록 하는데 관여한다. 항원이 도달했을 때는 체액성 면역의 일부로서 B cell을 활성화시켜 IgM을 분비하도록 하고, 자가항체가 접촉 시 fc mu receptor가 BCR과 상호작용하여 해당 B cell을 자멸사 혹은 면역성결핍 상태로 유도하여 B cell의 관용형성에도 기여한다는 것이 보고되었다³⁴⁾.

중심탄소대사(central carbon metabolism)는 T 세포가 여러 생체 내 대사에 관여할 수 있는 에너지, 산화/환원력을 제공하고 세포의 항상성을 유지시켜주는 경로로 T세포의 활성 및 유지에 필요한 대사 중 하나이다³⁵⁾. 피부 가려움증에 대한 중심탄소대사의 작용에 대한 연구는 없으나 T cell의 활성에 기여함으로써 간접적으로 피부 염증 및 가려움 억제에 기여할 것으로 생각된다.

Phosphatidylinositol 3-kinase(PI3K)는 증식, 접착, 생존 및 운동성을 비롯한 다양한 세포 과정을 조절하는 지질 인산화효소이며 본래 암과 관련이 깊다고 알려져으나 최근 PI3K와 피부 병변에 대한 연구가 다수 진행되고 있다. 피부에서 PI3K/AKT/mTOR 경로의 조절장애는 피부암, 건선 및 아토피 피부염(AD)을 포함하여 제어되지 않는 증식을 특징으로 하는 여러 병리학 적 상태에 기여하며³⁶⁾, 당뇨병성 상처모델에서 PI3K/Akt 경로의 활성이 저산소 상태에의 저항력을 높이고 상처치유를 촉진할 수 있음이 보고되었다³⁷⁾.

Cluster 2에 포함된 단백질들이 관여하는 것으로 나타난 경로는 'Omega hydroxylase p450 pathway',

'Xenobiotic catabolic process'인 것으로 나타났는데, omega hydroxylase p450 경로는 표피 지질을 구성하는 필수적인 성분 중 하나인 acylceramide의 생산에 필수적인 요소로 작용하여 표피투과장벽 형성에 중요한 역할을 수행한다³⁸⁾.

이를 통해 枳實이 가려움을 동반한 피부 염증을 개선하는 주된 작용 기전은 표피장벽의 각질증식 및 분화 조절, 각질세포간 지질 형성을 통한 표피투과장벽기능 정상화, 랑게르한스 세포, 대식세포, 비만세포 뿐만 아니라 T세포, B 세포 등 체내 면역반응을 담당하는 세포들의 과활성 저하를 유도하고 NO에 의한 염증세포 활성이나 신경성 염증을 억제하는 것으로 볼 수 있다.

본 연구에서는 한약재로 枳實을 선택하고, 가려움을 동반한 염증에 대한 표준약제로 fexofenadine을 선정하여 두 가지 약의 coregene이 각각 관여하는 생체 내 경로를 비교하였다. 枳實의 coregene 분석 결과 에스트로젠 신호 전달경로, 전사 공조절자 접합경로 등과 연관되어 있었고, fexofenadine의 coregene 분석 결과 염증성 장 질환 등과 연관되어 있었다. 에스트로젠 신호전달경로는 표피 지질 형성을 통하여 피부투과장벽 형성에 기여하는 경로이며, 염증세포의 활성을 조절하여 피부염증에도 관여하는 것으로 알려져 있다³⁹⁾. 전사 공조절자(transcription coregulator) 또한 저산소 상태, shear stress, cytokine, chemokine, Growth factor에 의해 자극을 받으면 하위 신호전달 연쇄반응을 통해 세포증식을 촉진하고 전염증성 반응을 유발한다는 것이 알려져 있다⁴⁰⁾. 이것과 비교하여 fexofenadine의 coregene 분석 결과 염증성 장질환, 천식 등의 병리와 연관되어 있음을 확인할 수 있었다. 요약하면, fexofenadine은 항원-항체반응 또는 알레르기 반응에 직접적으로 작용하고, 枳實은 피부장벽의 기능을 유지하면서 염증세포의 활성을 억제하여 쉽게 염증이 발생하지 않도록 조절하는 부분에 작용하는 양상으로 치료 기전의 방향성이 달라진다. 그러나 두 가지 방향의 치료 기전은 서로 관련있는 부분이 많으므로 枳實과 fexofenadine을 함께 적용했을 때 가려움 및 피

부 염증을 억제하는데 시너지효과를 낼 수 있을 것으로 생각한다.

본 연구에는 분명한 한계점이 존재한다. 단일 약재를 대상으로 분석한 결과를 바탕으로 하였기 때문에, 다수의 약재가 복합된 처방으로 작용했을 경우에 다른 약재들과 어떤 상호작용이 있을지에 대한 것은 불분명하다. 또한 본 연구의 결과는 세포 혹은 동물 수준의 실험을 통해 검증되지 않았으므로 추후 이에 대한 실험 연구가 추가적으로 필요할 것이다.

V. 결 론

본 연구는 네트워크 약리학을 기반으로 하여 소양증을 동반한 피부 염증에 대한 枳實의 잠재적인 활성 성분과 관여되는 그 표적들을 탐색하고 그들이 연관된 생체 내 메커니즘을 분석한 후, 피부 가려움 및 염증과의 연관성을 확인하였다. 枳實의 주요 활성 성분과 잠재적 표적들의 네트워크가 구성되었으며 이들이 소양증을 동반한 피부 염증에서 표피투과장벽기능 정상화, 체내 면역반응을 담당하는 세포들의 과활성 저하 및 NO에 의한 염증세포 활성화나 신경성 염증을 억제하는 효과가 있을 가능성을 확인하였다. 이를 통해 枳實이 소양증을 동반하는 피부 염증에 대해 직접적, 간접적으로 항소양 효과를 나타낼 수 있을 것으로 기대되며, 피부장벽기능이 정상적이지 않은 병리적 상황에도 활용할 수 있을 가능성을 확인하였다. 또한 표준 약제인 fexofenadine과의 비교를 통하여 병용 시 서로의 효능을 보완하여 시너지효과를 낼 수 있을 가능성을 확인하여 소양증을 동반하는 염증성 피부질환에 긍정적 효과를 보일 것으로 예측한다. 또한 기존의 枳實에 대한 항소양 연구 경향을 벗어나 새로운 연구 방향을 제시했다는 데 의미가 있다.

ORCID

GwangYeel Seo

(<https://orcid.org/0000-0002-5235-6194>)

Jundong Kim

(<https://orcid.org/0000-0002-3919-1508>)

Byunghyun Kim

(<https://orcid.org/0000-0003-1958-415X>)

Kyu-Seok Kim

(<https://orcid.org/0000-0002-3802-8717>)

Hae-jeong Nam

(<https://orcid.org/0000-0002-9974-0863>)

Yoon-Bum Kim

(<https://orcid.org/0000-0002-1254-7797>)

References

1. Jung MJ, Choi YW, Chung BY, Park CW, Kim HO. Pathophysiology and new treatment of itch. J Korean Med Assoc. 2018;61(11):670-7.
2. Millington GWM, Collins A, Lovell CR, Leslie TA, Yong ASW, Morgan JD, et al. British Association of Dermatologists' guidelines for the investigation and management of generalized pruritus in adults without an underlying dermatosis, 2018. Br J Dermatol. 2018;178(1):34-60.
3. Weisshaar E, Szepietowski JC, Dalgard FJ, Garcovich S, Gieler U, Giménez-Arnau AM, et al. European S2k Guideline on Chronic Pruritus. Acta Derm Venereol. 2019;99(5):469-506.
4. Zhang R, Zhu X, Bai H, Ning K. Network pharmacology databases for traditional Chinese medicine: Review and assessment. Front Pharmacol. 2019;10:1-14.
5. Luo T, Lu Y, Yan S, Xiao X, Rong X, Guo J. Network Pharmacology in Research of Chinese Medicine Formula: Methodology,

- Application and Prospective. *Chin J Integr Med*. 2020;26(1):72-80.
6. Korea Institute of Oreintal Medicine. Jisil(枳實)A. Kor Intellectual Property Office. 2007:1-5.
7. 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*. 2019;16(8):1116-22.
8. Song Y, Yang J, Jing W, Wang Q, Liu Y, Cheng X, et al. Systemic elucidation on the potential bioactive compounds and hypoglycemic mechanism of Polygonum multiflorum based on network pharmacology. *Chinese Med (United Kingdom)*. 2020;15(1):1-15.
9. Xu X, Zhang W, Huang C, Li Y, Yu H, Wang Y, et al. A novel chemometric method for the prediction of human oral bioavailability. *Int J Mol Sci*. 2012;13(6):6964-82.
10. Ding S, Wang W, Song X, Ma H. Based on Network Pharmacology and Molecular Docking to Explore the Underlying Mechanism of Huangqi Gegen Decoction for Treating Diabetic Nephropathy. *Evidence-based Complement Altern Med*. 2021:1-16.
11. Fang Y, Liu X, Su J. Network Pharmacology Analysis of Traditional Chinese Medicine Formula Shuang Di Shou Zhen Tablets Treating Nonexudative Age-Related Macular Degeneration. *Evidence-based Complement Altern Med*. 2021:1-14.
12. Lu Y, Li A, Lai X, Jiang J, Zhang L, Zhong Z, et al. Identification of differentially expressed genes and signaling pathways using bioinformatics in interstitial lung disease due to tyrosine kinase inhibitors targeting the epidermal growth factor receptor. *Invest New Drugs*. 2019;37(2):384-400.
13. Vella D, Marini S, Vitali F, Di Silvestre D, Mauri G, Bellazzi R. MTGO: PPI Network Analysis Via Topological and Functional Module Identification. *Sci Rep [Internet]*. 2018;8(1):1-13.
14. Yin B, Bi YM, Fan GJ, Xia YQ. Molecular mechanism of the effect of Huanglian Jiedu decoction on type 2 diabetes mellitus based on network pharmacology and molecular docking. *J Diabetes Res*. 2020:2020.
15. Moradifard S, Hoseinbeyki M, Ganji SM, Minuchehr Z. Analysis of microRNA and Gene Expression Profiles in Alzheimer's Disease: A Meta-Analysis Approach. *Sci Rep [Internet]*. 2018;8(1):1-17.
16. Ahn YH, Kang HR. Pathophysiology, diagnosis, and management of chronic pruritus. *Allergy, Asthma Respir Dis*. 2021;9(4):189-202.
17. Pereira MP, Zeidler C, Storck M, Agelopoulos K, Philipp-Dormston WG, Zink A, et al. Challenges in clinical research and care in pruritus. *Acta Derm Venereol*. 2020;100(2):45-51.
18. Wang X, Li S, Wei C, Huang J, Pan M, Shahidi F, et al. Anti-inflammatory effects of polymethoxyflavones from citrus peels: a review. *J Food Bioact*. 2018;3:76-86.
19. Okabe Y, Shimada T, Horikawa T, Kinoshita K, Koyama K, Ichinose K, et al. Suppression

- of adipocyte hypertrophy by polymethoxyflavonoids isolated from *Kaempferia parviflora*. *Phytomedicine*. 2014;21(6):800-6.
20. Sae-Wong C, Matsuda H, Tewtrakul S, Tansakul P, Nakamura S, Nomura Y, et al. Suppressive effects of methoxyflavonoids isolated from *Kaempferia parviflora* on inducible nitric oxide synthase (iNOS) expression in RAW 264.7 cells. *J Ethnopharmacol*. 2011;136(3):488-95.
21. Cole C, Thomas S, Filak H, Henson P, Lenz L. Nitric Oxide Increases Susceptibility of Toll-like Receptor-Activated Macrophages to Spreading *Listeria monocytogenes*. *Immunity*. 2012;36(5):807-20.
22. Stojanović I, Ljubisavljević S, Stevanović I, Pavlović R, Cvetković T, Dorđević VB, et al. Nitric oxide-mediated signalization and nitrosative stress in neuropathology. *J Med Biochem*. 2012;31(4):295-300.
23. Szelest M, Walczak K, Plech T. A new insight into the potential role of tryptophan-derived ahr ligands in skin physiological and pathological processes. *Int J Mol Sci*. 2021;22(3):1-31.
24. Lai ZZ, Yang HL, Ha SY, Chang KK, Mei J, Zhou WJ, et al. Cyclooxygenase-2 in endometriosis. *Int J Biol Sci*. 2019;15(13):2783-97.
25. Ramot Y, Mastrofrancesco A, Camera E, Desreumaux P, Paus R, Picardo M. The role of PPAR γ -mediated signalling in skin biology and pathology: New targets and opportunities for clinical dermatology. *Exp Dermatol*. 2015;24(4):245-51.
26. Lennartsson J, Rönstrand L. Stem cell factor receptor/c-Kit: From basic Science to clinical implications. *Physiol Rev*. 2012;92(4):1619-49.
27. Andoh T, Kuraishi Y. Nitric oxide enhances substance P-induced itch-associated responses in mice. *Br J Pharmacol*. 2003;138(1):202-8.
28. Haddadi NS, Shakiba S, Afshari K, Haj-Mirzaian A, Vesaghati S, Gharagozlou S, et al. Possible Involvement of Nitric Oxide in the Antipruritic Effect of Metformin on Chloroquine-Induced Scratching in Mice. *Dermatology*. 2020;236(2):151-9.
29. Choi JE, Nardo A. Skin neurogenic inflammation. *Semin Immunopathol*. 2018;40(3):249-59.
30. Peus D, Hamacher L, Pittelkow MR. EGF-receptor tyrosine kinase inhibition induces keratinocyte growth arrest and terminal differentiation. *J Invest Dermatol*. 1997;109(6):751-6.
31. Joly-Tonetti N, Ondet T, Monshouwer M, Stamatas GN. EGFR inhibitors switch keratinocytes from a proliferative to a differentiative phenotype affecting epidermal development and barrier function. *BMC Cancer*. 2021;21(1):1-10.
32. Liu F, Xu L, Chen N, Zhou M, Li C, Yang Q, et al. Neuronal Fc-epsilon receptor I contributes to antigen-evoked pruritus in a murine model of ocular allergy. *Brain Behav Immun*. 2017;61:165-75.
33. Kanagaratham C, El Ansari YS, Lewis OL, Oettgen HC. IgE and IgG Antibodies as Regulators of Mast Cell and Basophil Functions in Food Allergy. *Front Immunol*.

- 2020;11:1-22.
34. Liu J, Wang Y, Xiong E, Hong R, Lu Q, Ohno H, et al. Role of the IgM Fc receptor in immunity and tolerance. *Front Immunol.* 2019;10:1-9.
35. Chen X, Sherman JW, Wang R. Radioisotope-Based Protocol for Determination of Central Carbon Metabolism in T Cells. *T-Cell Recept Signal.* 2020;2111:257-65.
36. Mercurio L, Albanesi C, Madonna S. Recent Updates on the Involvement of PI3K/AKT/mTOR Molecular Cascade in the Pathogenesis of Hyperproliferative Skin Disorders. *Front Med.* 2021;8:1-10.
37. Wang J, Wu H, Peng Y, Zhao Y, Qin Y, Zhang Y, et al. Hypoxia adipose stem cell-derived exosomes promote high-quality healing of diabetic wound involves activation of PI3K/Akt pathways. *J Nanobiotechnology.* 2021;19(1):1-13.
38. Ohno Y, Nakamichi S, Ohkuni A, Kamiyama N, Naoe A, Tsujimura H, et al. Essential role of the cytochrome P450 CYP4F22 in the production of acylceramide, the key lipid for skin permeability barrier formation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2015;112(25):7707-12.
39. Wu H, Zeng L, Ou J, Wang T, Chen Y, Nandakumar KS. Estrogen Acts Through Estrogen Receptor- β to Promote Mannan-Induced Psoriasis-Like Skin Inflammation. *Front Immunol.* 2022;13:1-15.
40. Humbert M, Guignabert C, Bonnet S, Dorfmueller P, Klinger JR, Nicolls MR, et al. Pathology and pathobiology of pulmonary hypertension: State of the art and research perspectives. *Eur Respir J.* 2019;53(1):1-14.

Appendix 1. The Information of 202 Targets of Compounds(Ponciri Fructus Immaturus)

Protein name								
ABCB1	APEX1	CAMK2B	CYP17A1	FUT7	LGALS7	NR1H3	PPARG	SQLE
ABCC1	APP	CBR1	CYP19A1	GLO1	LRRK2	NTRK1	PPP5C	SRC
ABCG2	AR	CCNA1	CYP1A1	GPR35	MAOA	ODC1	PRMT1	SRD5A1
ABL1	ARG1	CCNA2	CYP1A2	GRK6	MAOB	OPRD1	PTGS1	SREBF2
ACHE	AURKA	CCNB1	CYP1B1	GRM2	MAP4K4	OPRM1	PTGS2	ST3GAL3
ADORA1	AURKB	CCNB2	CYP2C19	GRM5	MAPT	PARP1	PTK2	ST6GAL1
ADORA2A	AVPR2	CCNB3	CYP51A1	GSK3B	MCL1	PDPK1	PTPN1	STAT1
ADORA3	AXL	CCND1	DNM1	GUSB	MET	PFKFB3	PTPN2	SYK
AHR	BACE1	CCNE1	DNMT1	HMGCR	MGMT	PGD	PTPRS	TAS2R31
AKR1A1	BCHE	CD38	DRD4	HSD17B1	MMP12	PGK1	RORC	TERT
AKR1B1	BCL2	CDK1	DUSP3	HSD17B2	MMP13	PIK3CA	RPS6KA2	TNKS
AKR1B10	CA1	CDK2	DYRK1A	HTR6	MMP2	PIK3CG	RXRA	TNKS2
AKR1C1	CA12	CDK4	EDNRA	IGF1R	MMP3	PIK3R1	SERPINE1	TOP1
AKR1C2	CA13	CDK5	EGFR	IKBKB	MMP9	PIM1	SHBG	TOP2A
AKR1C3	CA14	CDK5R1	EIF4A1	INSR	MPG	PIM2	SIGMAR1	TTR
AKR1C4	CA2	CDK6	EPHX2	KDM4E	MPO	PIM3	SIRT2	TYR
AKT1	CA3	CES1	ESR1	KDR	MT-ND4	PLA2G10	SIRT3	VARS
ALDH2	CA4	CES2	ESR2	KIT	NADK	PLA2G1B	SLC28A3	XDH
ALK	CA5A	CFTR	F2	KLK1	NAE1	PLA2G2A	SLC5A1	SQLE
ALOX12	CA5B	CHRM2	FFAR1	KLK2	NEK2	PLA2G5	SLC5A2	SRC
ALOX15	CA6	CHRNA7	FHIT	LARS	NOS2	PLG	SLC5A4	SRD5A1
ALOX5	CA7	CSNK2A1	FLT3	LCK	NOX4	PLK1	SLC6A2	SREBF2
AMY1A	CA9	CXCR1	FUT4	LGALS1	NPC1L1	POLB	SLC6A4	ST3GAL3

Appendix 2. The Information of 756 Targets of Disease(Dermatitis or Eczema with Pruritus)

Protein name								
A2ML1	ABCA1	ABCA12	ABCB1	ABCB10	ABCB7	ABCC9	ACE	ACO1
ACP1	ACTL9	ADA	ADA2	ADAM10	ADAR	ADIPOQ	ADRB2	AFF4
AGER	AHR	AKT1	ALAD	ALAS1	ALAS2	ALB	ALDH2	ALK
ALOX12B	ALOX5	ALOXE3	ANXA5	AOC1	AOC3	APOE	AR	AREG
ARG1	ARVCF	ASPRV1	ATM	ATOD1	ATOD3	ATOD5	ATOD6	ATOD7
ATOD8	ATOD9	ATP12A	ATP4A	AUTS2	B2M	BCL6	BCL7B	BDNF
BGLAP	BRAF	BRCA2	BTD	BTK	BTNL2	C3AR1	C4A	C4B
C5	C5AR1	CALCA	CALR	CAMK4	CAMP	CARD11	CARD14	CARMIL2
CASP1	CASP14	CASP3	CASP8	CAT	CBL	CCHCR1	CCL1	CCL11
CCL13	CCL17	CCL18	CCL19	CCL2	CCL20	CCL21	CCL22	CCL24
CCL26	CCL27	CCL3	CCL4	CCL5	CCL7	CCN2	CCR1	CCR10
CCR3	CCR4	CCR5	CCR6	CCR7	CCR9	CD19	CD1A	CD1B
CD1C	CD1D	CD1E	CD2	CD247	CD274	CD28	CD34	CD36
CD3G	CD4	CD40	CD40LG	CD5	CD69	CD7	CD79A	CD80
CD83	CD86	CD8A	CDC23	CDH1	CDKN1A	CDKN2A	CDSN	CEACAM3
CEACAM5	CETP	CFLAR	CFTR	CHI3L1	CHIT1	CHRM3	CHST8	CHUK
CIITA	CLC	CLEC4E	CLEC7A	CLPX	CLU	CMA1	COL17A1	COL6A5
COL7A1	COMT	CPOX	CRH	CRLF2	CRNN	CRP	CSF1	CSF2
CSF3	CSK	CSN1S1	CSN3	CSTA	CTLA4	CTSE	CTSG	CTSL
CX3CR1	CXCL1	CXCL10	CXCL11	CXCL12	CXCL8	CXCL9	CXCR1	CXCR2
CXCR3	CXCR4	CXCR5	CYBB	CYP19A1	CYP1A1	CYP1A2	CYP1B1	CYP3A4
CYP4F22	CYSLTR1	CYSLTR2	DCAF8	DCD	DCLRE1C	DDX39B	DEFB103A	DEFB103B
DEFB4A	DNAH8	DNASE1L3	DNMT1	DOCK8	DPP4	DRD2	DSC1	DSG1
DSG3	DSP	DST	EDA	EDAR	EDARADD	EDN1	EDNRA	EGFR
EGR2	ELANE	ELN	EMSY	ENPP3	EPHX1	EPO	EPRS1	EPX
ERBB2	ERBB3	ERBB4	ERCC2	ERCC3	ERCC6	ESR1	ETS1	F13A1
F2	F2RL1	FABP5	FAF2	FAS	FASLG	FBN1	FCER1A	FCER2

Protein name								
FCGR1A	FCGR2A	FCGR2B	FCGR3A	FECH	FERMT1	FGF7	FIP1L1	FLG
FLG2	FLG-AS1	FLI1	FLII	FOXN1	FOXP3	FURIN	FUT2	GAST
GATA1	GATA3	GBA	GCG	GGT1	GIMAP5	GJB2	GJB6	GLI3
GLRX5	GNA11	GNAS	GPT	GSN	GSR	GSTM1	GZMB	H2AC18
H2AX	HAVCR1	HAVCR2	HBG2	HDAC2	HFE	HLA-A	HLA-B	HLA-C
HLA-DMA	HLA-DPA1	HLA-DPB1	HLA-DQA1	HLA-DQB1	HLA-DRA	HLA-DRB1	HLA-E	HLA-G
HLCS	HMBS	HMGB1	HMGCR	HMOX1	HNMT	HP	HRAS	HRH1
HRH4	HRNR	HTR1A	HTR3A	ICAM1	ICAM3	ICOS	ICOSLG	IDO1
IFIH1	IFNA1	IFNA2	IFNB1	IFNG	IFNGR1	IGES	IGF1	IGF2
IGFBP3	IGHE	IGHG1	IKBKG	IL10	IL10RA	IL11	IL12B	IL12RB1
IL12RB2	IL13	IL15	IL16	IL17A	IL17D	IL17F	IL17RA	IL17RB
IL18	IL18R1	IL19	IL1A	IL1B	IL1R1	IL1RAPL2	IL1RL1	IL1RN
IL2	IL21	IL21R	IL22	IL23A	IL23R	IL25	IL27	IL2RA
IL2RB	IL2RG	IL3	IL31	IL31RA	IL32	IL33	IL36A	IL36G
IL36RN	IL37	IL4	IL4R	IL5	IL6	IL6R	IL6ST	IL7
IL7R	IL9	INS	IQGAP1	IRAK1	IRAK3	IREB2	IRF1	IRF2
IRF3	IRF7	ITGA3	ITGA4	ITGA6	ITGAL	ITGAM	ITGAX	ITGB2
ITGB4	ITK	IVL	JAK1	JAK2	JAZF1	JUN	KCNJ11	KDR
KIF3A	KIT	KITLG	KLK5	KLK6	KLK7	KLRC1	KLRD1	KNG1
KRAS	KRT1	KRT10	KRT14	KRT15	KRT16	KRT18	KRT19	KRT20
KRT5	KRT6B	KRT7	KRT74	KRT8	LAD1	LALBA	LAMA3	LAMB3
LAMC2	LBR	LCE3B	LCE3C	LCK	LCN2	LEP	LGALS3	LGMN
LIG4	LMNA	LORICRIN	LRP1	LRRC32	LTA	LTB4R	LTF	LY9
LYN	MAOA	MAP2K1	MAP2K2	MAPK1	MAPK14	MBL2	MBTPS2	MCL1
MEFV	MERTK	MICA	MICB	MIF	MIR100	MIR106A	MIR10A	MIR122
MIR124-1	MIR125B1	MIR126	MIR133B	MIR141	MIR142	MIR146A	MIR146B	MIR148A
MIR148B	MIR150	MIR152	MIR155	MIR17	MIR197	MIR200A	MIR200C	MIR203A
MIR20A	MIR21	MIR215	MIR22	MIR223	MIR30E	MIR31	MIR326	MIR34A

Protein name								
MIR381	MIR518B	MIR99B	MIRLET7E	MLANA	MME	MMEL1	MMP1	MMP12
MMP3	MMP8	MMP9	MPDU1	MPO	MRGPRD	MRGPRX2	MS4A2	MSMO1
MSN	MT-ATP6	MT-CO1	MT-CYB	MT-ND4	MTOR	MUC1	MUC5AC	MVK
MX1	MXRA8	MYD88	MYH11	NACA	NAT1	NAT2	NCAM1	NCSTN
NF1	NFE2L2	NFKB1	NFKBIA	NGF	NGFR	NIPAL4	NLRP3	NOD1
NOD2	NOS2	NPSR1	NPY	NR3C1	NSMCE3	NTF3	NTS	OCLN
OSMR	PAH	PDCD1	PDE4A	PDGFRA	PDGFRB	PEPD	PERP	PGM3
PGR	PHB1	PHF11	PI3	PIK3CA	PIK3CG	PIP	PLA2G4A	PLEC
PLS3	PNPLA1	POFUT1	POLE	POMC	PON1	PPARA	PPARG	PPBP
PPIA	PPOX	PRF1	PRG2	PRKCA	PRL	PRMT7	PRODH	PRTN3
PSIP1	PSMB8	PSMB9	PSORS1C1	PSORS1C2	PSTPIP1	PTGDR	PTGDR2	PTGS2
PTH	PTPN11	PTPN22	PTPRC	PVALB	PYY	RAC1	RAG1	RAG2
RBCK1	REN	RIPK1	RNASE2	RNASE3	RNU4ATAC	RORA	RPTN	RREB1
RUNX1	S100A12	S100A7	S100A7A	S100A8	S100A9	SCT	SDC4	SDHB
SELE	SELL	SELP	SEMA3A	SERPINA1	SERPINA3	SERPINB13	SERPINB3	SERPINB4
SERPINB7	SERPINB8	SERPINF2	SFTPD	SHBG	SHOC2	SIGLEC1	SKIV2L	SLAMF1
SLAMF7	SLC22A4	SLC25A28	SLC25A37	SLC25A38	SLC2A4	SLC6A3	SLC6A4	SMAD2
SMAD3	SMAD7	SNRNP70	SOCS1	SOCS3	SOD1	SOS1	SPINK5	SPP1
SPRR1B	SPRR2D	SPRR3	SPTLC1	SQLE	SRC	SSB	SST	STAT1
STAT3	STAT4	STAT5A	STAT5B	STAT6	STS	SUOX	SYK	TAC1
TACR1	TAP1	TAP2	TARS1	TBC1D4	TBX1	TBX21	TCHH	TECR
TET2	TFRC	TGFA	TGFB1	TGFB2	TGM1	TGM2	TGM3	TGM5
TH	THPO	TIA1	TIMP1	TJP1	TKT	TLR2	TLR3	TLR4
TLR5	TLR9	TMC6	TMC8	TMEM79	TMPO	TNF	TNFAIP3	TNFRSF10A
TNFRSF13B	TNFRSF1A	TNFRSF1B	TNFRSF25	TNFRSF4	TNFRSF8	TNFSF11	TNFSF12	TNFSF13
TNFSF13B	TNFSF4	TNFSF8	TNIP1	TNXB	TP53	TP63	TPMT	TPO
TPSAB1	TPT1	TRAF3IP2	TRAF6	TRIM21	TRPV1	TRPV3	TSLP	TTR
TXK	TXN	TYK2	UBAC2	UBE2L3	UBE3A	UROD	UROS	VCAM1

Protein name								
VDR	VEGFA	VIP	WAS	WIPF1	XRCC5	ZAP70	ZNF341	ZNF750
TNFRSF13B	TNFRSF1A	TNFRSF1B	TNFRSF25	TNFRSF4	TNFRSF8	TNFSF11	TNFSF12	TNFSF13
TNFSF13B	TNFSF4	TNFSF8	TNIP1	TNXB	TP53	TP63	TPMT	TPO
TPSAB1	TPT1	TRAF3IP2	TRAF6	TRIM21	TRPV1	TRPV3	TSLP	TTR
TXK	TXN	TYK2	UBAC2	UBE2L3	UBE3A	UROD	UROS	VCAM1
VDR	VEGFA	VIP	WAS	WIPF1	XRCC5	ZAP70	ZNF341	ZNF750

Appendix 3. The Information of 75 Targets of Drugs(Fexofenadine)

Protein name								
ABCB1	APOA1	COX5A	CYP4B1	HRH3	IL6	ORM2	SLC22A2	TNF
ABCB11	BCR	CRH	DNAH8	HRH4	ITCH	PGP	SLC22A7	TRPV1
ABCC1	C5AR1	CYP1A2	EDNRA	ICAM1	ITGB1	POMC	SLC22A8	VCAM1
ABCC2	CCK	CYP2C9	ESRRB	IFNG	KCNA5	PSS	SLC6A3	
ABCC3	CCL11	CYP2E1	FCER1A	IGHE	KCNH2	PTGS1	SLCO1A2	
ABCG2	CCL17	CYP3A4	GUSB	IL10	MMP9	RNASE3	SLCO1B1	
ACE2	CCL3	CYP3A5	HDC	IL2RA	MVP	SELE	SLCO1B3	
ALB	CCL5	CYP3A7	HRH1	IL4	NR1I2	SLC10A1	SLCO2B1	
ALOX15	CD81	CYP4A11	HRH2	IL5	ORM1	SLC10A2	TIMP2	