

지실 추출물의 전사인자 SREBP-1 활성화에 의한 지질 생성 촉진

김대성 · 전병국 · 문연자* · 이강태** · 이건국** · 우원홍*#

원광대학교 한의학전문대학원, *원광대학교 한의과대학, **코리아나화장품 기술연구소

(Received July 9, 2012; Revised August 20, 2012; Accepted August 23, 2012)

Ponciri Fructus Extract Induces Lipogenesis through Transcription Factor SREBP-1 Activation

Dae Sung Kim, Byoung Kook Jeon, Yeun Ja Mun*, Ghang Tai Lee**,
Kun Kuk Lee** and Won Hong Woo*#

Dept. of Herbal Resources, Professional Graduate School of Oriental Medicine,

*Dept. of Anatomy, College of Oriental Medicine, Wonkwang University, Iksan 570-749, Korea

**Coreana Cosmetics Ltd., R&D Center, Cheonan 330-833, Korea

Abstract — This study was to explore the lipogenic effect by ethanol extract of ponciri fructus (EPF) and possible molecular mechanisms in sebocyte. When SZ95 sebocyte cell line were treated with the EPF, lipid droplets were accumulated in the majority of cells. EPF increased expression of sterol regulatory element-binding protein-1 (SREBP-1) and fatty acid synthase (FAS) in the SZ95 cells. EPF augmented expression of PPAR- β and PPAR- γ but not that of PPAR- α . These results suggest that EPF induces lipogenesis in SZ95 cells through SREBP-1, PPAR- β and PPAR- γ activations.

Keywords □ *Ponciri fructus*, lipogenesis, SREBP-1, PPARs, sebocyte

지실은 운향과(Rutaceae)에 속하는 낙엽관목인 탕자나무 (*Poncirus trifoliata* Rafinesque)의 익지 않은 과실을 말린 것으로 창만, 변비, 알레르기 및 염증 등의 증상을 개선시켜주는 목적으로 사용되었다.^{1,2)} 최근 지실의 생물학적 활성화에 대한 연구가 이루어지면서 항암, 항혈전, 항박테리아, 항바이러스, 멜라닌 합성 억제 및 자궁수축 작용과 알레르기와 과민반응 억제 효과 등이 보고되었다.³⁻⁷⁾ 지실의 성분으로는 poncirin, naringin, hesperidin, neohesperidin 등과 같은 flavonoids 성분, umbelliferone, auraptene, imperatorin 등과 같은 coumarins 성분 및 limonene, linalool, camphene 등과 같은 정유성분이 보고되어 있다.⁸⁻¹⁰⁾

피부장벽은 피부를 구성하는 구조 중 표피의 가장 바깥쪽에 위치하는 각질층에 존재하며, 수분 증발과 외부로부터 이물질의 침입을 막아줌으로써 인체를 보호한다. 피부의 적절한 수분 유지는 각질세포간지질, 천연보습인자 및 피지 등에 의해 이루어지고 있으며, 피부 노화 억제 및 아토피 피부염, 어린선, 만성 습

진, 만성신부전증, 당뇨병 등의 질환과도 밀접하게 관련되어 있다.¹²⁾ 따라서 피부의 지질은 피부장벽 기능 유지에 중요한 역할을 하고 있으며, 각질세포에서 합성되어 분비되는 지질과 피지선세포에서 분비되는 피지로 이루어져 있다.

현재까지 손상된 피부장벽의 회복과 각질세포간지질에 대한 많은 연구가 이루어져 왔으나 피지선의 기능에 대한 연구는 미미하다. 피지선(sebaceous gland)은 주로 얼굴과 머리, 앞가슴, 겨드랑이, 배꼽주위, 목 등에 주로 분포하는데, 모발의 줄기로 피지를 분비하는 전분비선(holocrine gland)이며 하루에 약 2g 정도 분비 된다.¹³⁾ 피지선은 항균 활성이 있는 지질을 생성할 뿐만 아니라 cutaneous steroidogenesis 조절, local androgen synthesis 조절, neuropeptides와의 상호작용, pro-inflammatory 및 anti-inflammatory properties 등의 기능을 수행하고 있으며 피부에서 피지선의 역할이 점차 밝혀지고 있다.¹⁴⁻¹⁶⁾

지질의 합성(lipogenesis)은 sterol regulatory element-binding proteins(SREBPs)과 peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) 등의 전사인자에 의해 조절되며, SREBPs는 콜레스테롤(cholesterol)과 지방산(fatty acid)의 합성을 조절하는 것으로 보고되었다.^{17,18)} 본 연구는 알레르기와 과민반응 억제 효과가 보고된 지실이 피지선에서 지질 합성을 촉진하는 효과를 확인하고

#본 논문에 관한 문의는 저자에게로
(전화) 053-810-2811 (팩스) 053-810-4654
(E-mail) hwchang@yu.ac.kr

지질 합성을 촉진하는 전사인자 sterol regulatory element-binding protein-1(SREBP-1)와 peroxisome proliferator-activated receptors(PPARs) 및 fatty acid synthase(FAS)의 변화를 조사하였다.

실험재료 및 방법

지질 추출물

본 실험에 사용된 지질(ponciri Fructus)은 경북 영천시에서 채취한 국산 규격품을 정선하여 사용하였다. 지질 200 g에 EtOH 2 l를 가하고 2일 후 거즈와 여과지(No. 2)로 여과하고 감압 농축하여 3.53 g(수득률: 1.77%)의 시료를 얻었으며, DMSO에 녹여 사용하였다.

세포배양

사람의 피지선세포주인 SZ95 세포는 독일 베를린자유대학의 대학의학센터 벤자민 프랭크린(The Free University of Berlin, University Medical Center Benjamin Franklin)의 Dr. Zouboulis로부터 분양받았다. SZ95 세포는 10% fetal bovine serum(FBS), 5 ng/ml human epidermal growth factor, 1 mM CaCl₂가 첨가된 Dulbecco's modified eagle medium(DMEM)/F12(1:1)을 사용하여 CO₂ incubator(37°C, 5% CO₂)에서 배양했고, 배지는 2~3일 주기로 교체하였다.

세포생존율 측정

지질 에탄올추출물이 SZ95 세포의 생존율에 미치는 영향은 MTT assay로 측정하였다. 24 well plate에 SZ95 세포 2×10⁴개를 분주하여 24시간 동안 배양한 후 지질 추출물을 농도별로 처리한 다음 3일 배양하였다. 배양완료 후 0.5 mg/ml MTT 용액을 넣어 2시간 동안 37°C에서 배양한 다음 상층액을 제거하고 formazan 침전물에 1 ml의 DMSO를 넣어 약 15분간 실온에서 방치한 후 570 nm의 파장에서 ELISA reader로 흡광도를 측정하여 세포생존율을 계산하였다.

세포내 지질분석 및 정량

SZ95 세포를 chamber slide에 분주 후 3일 동안 배양하고 세포내 지방소적(lipid droplet)을 관찰하기 위해 propylene glycol에 녹인 0.8% Oil red O 용액에 1시간 염색하고 85% propylene glycol 용액에 1분간 처리하였다. 3차 증류수로 2회 세척한 후 Harris hematoxylin 염색하였다. Glass slide를 glycerin jelly로 봉입하여 현미경으로 SZ95 세포의 지방소적을 관찰하였다. 지질 정량은 Nile red로 염색 후 유세포 분석기(Flow cytometry)로 측정하였다. Nile red는 DMSO에 1 mg/ml로 녹인 것을 -70°C에 보관하고, PBS에 1 µg/ml로 희석하여 사용하였다. 배양된 세

포는 PBS로 3회 씻어준 후 formaldehyde 4% 용액으로 5분간 고정하고, Nile red 용액으로 15분간 실온에서 염색한 다음 PBS로 3회 씻어 주었다. 염색된 세포는 형광현미경(fluorescence microscopy)를 사용하여 관찰하였다. 유세포 분석기로 측정하기 위하여 배양된 세포를 수거하고 PBS에 1 µg/ml로 희석된 Nile red 용액에 15분간 반응시켰다. 염색된 세포는 PBS로 씻어준 다음 유세포 분석기를 이용하여 세포내 지질의 양을 측정하였다.

고성능 박층 크로마토그래피(high performance thin layer chromatography)

SZ95 세포로부터 지질을 추출하기 위하여 15 cm dish에 2×10⁶개씩 분주하고 시료를 처리하여 3일간 배양하였다. SZ95 세포에 lysis buffer(50 mM Tris-HCl pH 7.4, 150 mM NaCl, 0.25% deoxycholic acid, 1% NP-40, 1 mM EDTA, 1 mM PMSE, 1 µg/ml leupeptin)를 처리하고 초음파로 분쇄한 뒤 단백질을 정량하였다. 세포용해액 0.8 ml, chloroform 1 ml, methanol 2 ml를 각각 첨가하고 잘 섞어준 후 실온에서 1시간 반응시켰다. 반응이 끝난 후 chloroform 2 ml, 0.2 M KCl 0.7 ml을 넣고 혼합한 다음 원심분리(2000 rpm, 15분)하여 하층의 chloroform을 취하여 질소 가스로 농축시켰다. 지질 추출물과 표준물질은 Silica gel 60이 도포된 glass plate(20 cm×10 cm, Merck, Germany)에 점적하였다. 전개 용매는 chloroform/methanol/acetic acid(190:9:1.5)이었고 점적된 위치부터 8 cm를 전개시켰다.

Western blot

SZ95 세포를 10cm 배양용기에 1.2×10⁶ 세포/dish의 밀도로 분주하여 부착시키고 지질에탄올추출물을 3일간 처리하였다. 배양된 세포를 모두 수거하여 lysis buffer로 4°C에서 30분간 용해시킨 후, 15,000 rpm에서 30분간 원심분리하여 얻은 세포 용해액은 Bradford 방법을 이용하여 단백질정량을 하였다. 세포 용해액은 2×sample buffer와 혼합하여 95°C에서 5분간 끓인 후 7.5% SDS-polyacrylamide gel에 전기영동하여 단백질을 분리하였다. 전기영동이 끝난 후 polyvinylidene difluoride membrane (Millipore, Bedford, MA, USA)에 전이시켰다. Membrane은 5% skim milk-TBST(20 mM Tris-HCl, pH 7.5, 150 mM NaCl, 0.05% Tween 20)에서 1시간 동안 blocking하고, SREBP-1, Fatty acid synthase(FAS), PPAR-α, PPAR-β, PPAR-γ 항체를 blocking buffer에 첨가하여 4°C에서 16시간 반응시켰다. TBST로 세척한 후 이차항체 anti-rabbit, anti-mouse IgG conjugated horseradish peroxidase와 1시간 반응시킨 후 WEST-ZOL®(plus) Western blot detection system(iNtRON, Korea)을 사용하여 ChemiDoc으로 band의 사진을 촬영하였다.

실험결과

지질의 지질생성 촉진 효과

지질이 SZ95 세포 생존율에 미치는 영향은 12.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 96.8 \pm 9.0%, 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 93.0 \pm 13.9%, 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 91.7 \pm 6.0%, 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 89.8 \pm 8.5%로 측정되었다(Fig. 1). 지질이 lipid 합성에 미치는 영향을 조사하기 위하여 지질 12.5와 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$

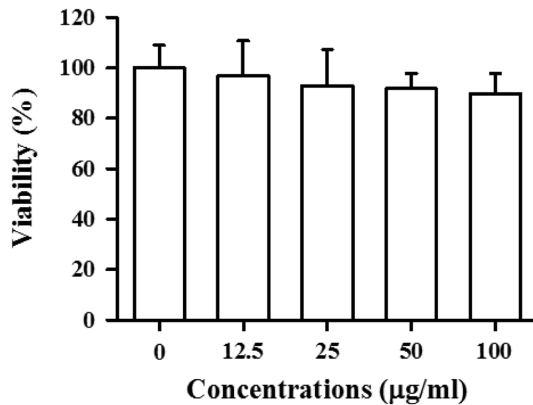
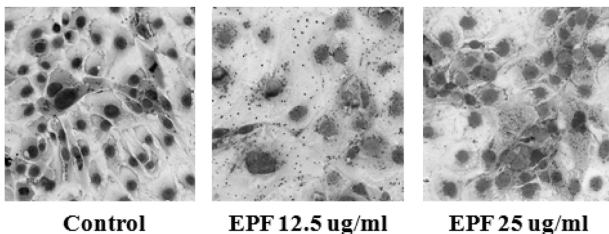


Fig. 1 – Effects of ethanol extract of EPF on viability in SZ95 cells. The cells were treated with EPF at different concentrations for 3 days. The proportion of survival cells was measured by MTT assay. The experiments were performed in triplicate. Data presented as means \pm S.D. of three independent experiments.

A



B

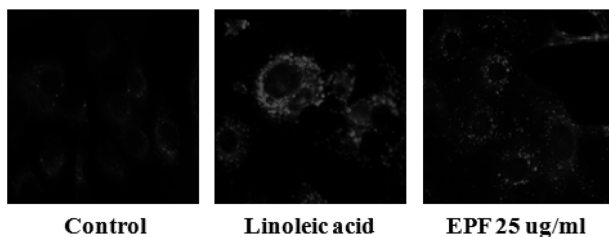


Fig. 2 – EPF induces accumulation of lipid droplets in the SZ95 cells. (A) The SZ95 cells were treated with vehicle, EPF 12.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ and 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$. At the end of treatment, lipid droplets in the SZ95 cells were stained by Oil Red O and examined by a light microscope. (B) The SZ95 cells were treated with vehicle, linoleic acid 100 μM and EPF 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Lipid droplets in cells were stained by Nile red and examined by a fluorescence microscope.

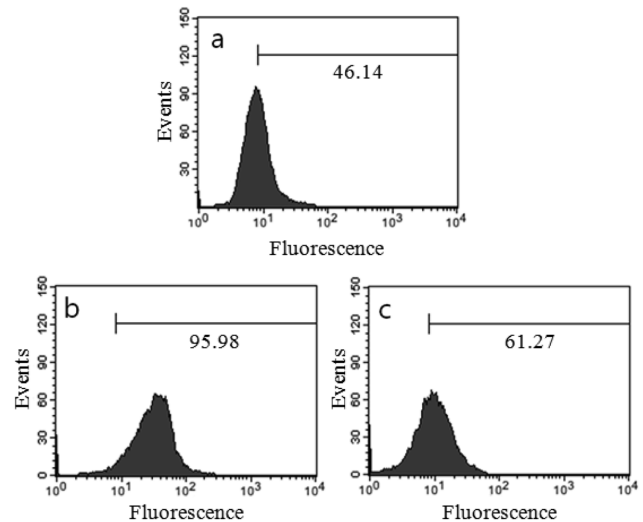


Fig. 3 – EPF induces lipid synthesis in the SZ95 cells. The SZ95 cells were treated with vehicle, linoleic acid 100 μM , and EPF 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Flow cytometry was performed after cells were stained with Nile red. a: vehicle, b: linoleic acid 100 μM , c: EPF 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$.

ml 농도에서 Oil red O 염색을 실시하여 세포내 지방소적의 변화를 관찰하였다. SZ95 세포에서 지방소적이 핵 주위의 세포질에서 관찰되었고, 지질을 처리한 군에서 지방소적이 증가됨을 관찰할 수 있었다(Fig. 2A). 또한 Nile red 염색 결과에서도 지질을 처리한 군에서 지질 생성이 증가하였으며, 양성 대조군으로 사용한 linoleic acid에서도 지질 생성이 현저하게 증가되었다(Fig. 2B). 한편 유세포 분석기를 이용한 지방소적 분석에서도 대조군은 46.14%, 양성 대조군으로 사용한 linoleic acid는 95.98%, 지질 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 처리군은 61.27%로 측정되었다(Fig. 3).

세포내 지질 성분 분석

SZ95 세포에서 생성된 지질 성분들의 변화를 확인하기 위하여 지질을 추출하고, HPTLC를 이용하여 지질 성분을 분석하였다. 표준물질은 squalene, cholesterol, fatty acid, ceramide를 사용하였다. 실험 결과 SZ95 세포로부터 추출된 지질 중 squalene과 cholesterol이 확인되었고, 지질 처리군에서 squalene의 양이 증가되었다. 또한 양성 대조군으로 사용한 linoleic acid 처리군은 squalene의 양이 현저하게 증가되었다(Fig. 4).

지질생성 관련 단백질 분석

Lipogenesis가 일어나는 동안 SREBP-1과 FAS 같은 지질생성 관련 유전자의 발현이 증가한다.^{19,20} SREBP-1은 유전자 이식 생쥐의 간에서 squalene synthase의 전사를 증가시키고, squalene synthase mRNA는 SZ95 세포에서 발현되고 있음이 보고되었다. 따라서 본 실험에서 지질이 SZ95 세포의 SREBP-1과 FAS의 발현에 관여하는지 조사하였다. 지질 추출물을 농도별로 처리하고

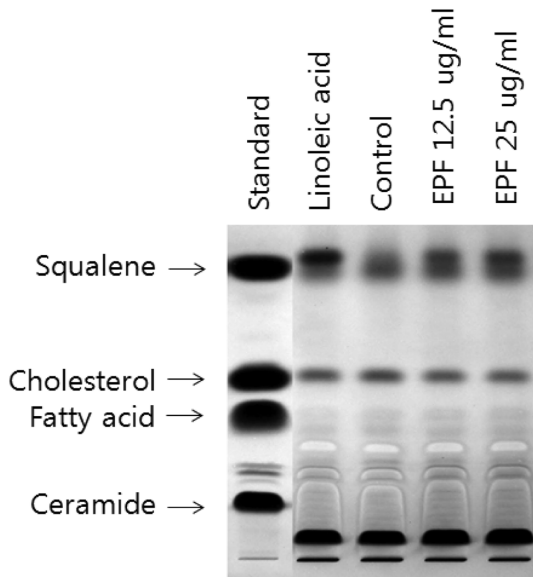


Fig. 4 – Lipid contents were analyzed by HPTLC to assess the SZ95 sebocyte lipid profile. Analysis of lipid by HPTLC was performed to investigate SZ95 sebocyte lipid induced by EPF and linoleic acid. EPF and linoleic acid (100 μ M) increased synthesis of squalene, comparing with control.

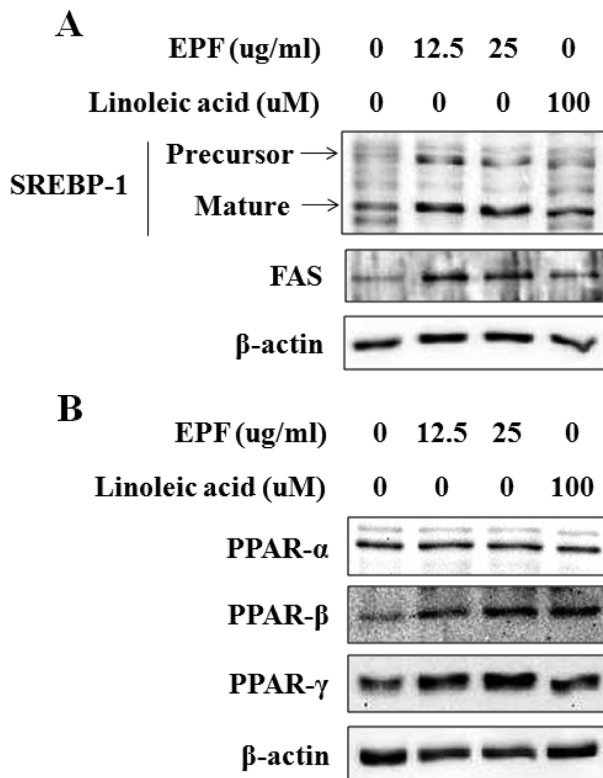


Fig. 5 – Effects of EPF on the protein expression of SREBP-1, FAS (A), and PPAR subtypes (B). Cells were treated with various concentration of EPF for 3 days. Cell lysates were analyzed by Western blot with a primary antibody against SREBP-1, FAS, PPAR- α , PPAR- β , and PPAR- γ .

3일간 배양한 후 단백질 발현을 조사한 결과 SREBP-1과 FAS 단백질 발현이 증가됨을 관찰할 수 있었고, 양성 대조군으로 사용한 linoleic acid 또한 단백질 발현이 증가되었다(Fig. 5A).

PPARs는 피부의 일반적인 생리기능에 중요한 역할을 하고 있으며 인체 피지선 세포에서 지질생성을 유도하고, PPAR isotypes 이 인체 피지선과 SZ95 피지선 세포주에서 발현되는 것으로 알려져 있다.^{20,21)} 그러므로 지질 추출물이 SZ95 세포에서 PPAR들의 단백질 발현에 어떠한 영향을 미치는지 조사하였다. 지질 추출물을 처리하고 3일간 배양한 후 PPAR- α , - β , - γ 단백질 발현을 조사한 결과 PPAR- β 와 - γ 의 발현이 확인 되었으며 농도의존적인 단백질 발현 증가를 보여주었다(Fig. 5B). 양성 대조군인 linoleic acid 또한 PPAR- β 와 - γ 의 발현이 증가시켰다.

고 찰

인체 피지선은 피지 생성과 더불어 protection, pro- & anti-inflammatory lipid, Toll-like receptor 2로 인한 지질생성 증가, antibacterial peptide와 cytokine의 합성 등 피부에서 다양한 기능이 보고되고 있으며, 태어에서는 태지(vernix caseosa)를 생성하고 있다.²²⁻²⁴⁾ 지질생성은 피지선 세포의 분화에 있어 중요한 단계이며, 인체에서 생성되는 피지는 포화지방산과 단불포화지방산 같은 지질 혼합물을 포함하고 있고 특히 단불포화지방산은 살균제의 특성을 갖고 있다.²⁵⁻²⁷⁾ 이러한 지질 생성에 지질 추출물이 어떠한 영향을 미치는지 조사한 결과 지질 추출물은 SZ95 세포의 세포질에 지질 소구의 축적을 증가시켰으므로 지질생성을 증가시켰다. 본 연구에서 양성 대조군으로 사용한 linoleic acid는 인체 피지선 세포에서 PPAR의 리간드로 작용하여 지질생성을 조절한다고 알려져 있는데,²⁸⁾ 본 연구 결과에서도 linoleic acid는 SZ95 세포의 지질생성을 증가시켰다.

피지선의 지방성분은 Downing 등에 의하면 평균적으로 glycerides가 30~50%, free fatty acid가 15~30%, wax ester 26%, squalene 12%, cholesterol ester 3% 그리고 cholesterol이 1.5%로 구성되어 있다.²⁹⁾ 본 실험에서도 피지선에서 특징적으로 분비되는 squalene이 지질에 의하여 증가하였고, 세포독성이 거의 없는 농도구간에서 실험이 수행되었다.

지금까지의 연구를 통해 지방 조직과 간에서 지질생성을 조절하는 기전이 밝혀져 왔고 몇 가지 전사조절 인자들이 확인되었다. 그 중 SREBP-1과 PPAR이 지질생성에 매우 중요한 역할을 하고 있음이 보고되었다.¹⁷⁾ SREBP-1은 cholesterol과 fatty acid의 합성을 조절하는 핵 전사 인자로서 fatty acid synthase(FAS), long-chain fatty acyl elongase, stearoyl CoA desaturase(SCD), HMG CoA synthase, HMG CoA reductase, squalene synthase와 같은 지질 생성과 관련된 유전자의 프로모터에 결합한다.¹⁸⁾ 핵 내의 SREBP-1 과발현은 배양된 세포나 transgenic

mice에서 FAS 유전자 발현을 유도한다고 하였고,^{30,31)} 본 연구에서도 지질 추출물은 SZ95 세포에서 SREBP-1과 FAS 단백질 발현을 증가시켰다.

PPAR은 PPAR- α , PPAR- β/δ , PPAR- γ 의 세가지 유형이 있다. PPAR- α 는 fatty acid의 β -oxidation의 활성화, 염증반응의 조절, 피지선 세포의 분화와 관련되어 있는 것으로 보여진다.³²⁾ PPAR- β/δ 는 피지선 세포의 분화를 조절하고 지질생성을 자극하며,³³⁾ PPAR- γ 는 피지선 세포의 증식과 지질생성을 활성화시키고 PGE₂ 생성과 COX2 발현을 유도하는 산화적 스트레스와 관련되어 있음이 보고되었다.³⁴⁾ 특히 PPAR- γ 는 UVB가 조사된 SZ95 세포에서 발현되고 활성화되며, PPAR- γ agonist 처리 후 COX2 mRNA와 단백질 발현이 증가했고 PGE₂ 생성이 확인되었다.³⁵⁾ 본 연구 결과 지질 추출물은 PPAR- β 와 PPAR- γ 단백질 발현을 농도 의존적으로 증가시켰고, 이는 지질 추출물이 SZ95 세포의 분화와 지질생성 조절에 PPAR- β , γ 와 연관되어 있음을 나타낸다.

이상의 결과를 종합하면 지질 추출물은 세포 독성을 나타내지 않았으며, 세포내 지질 소구의 축적을 유도하였다. 또한 Nile red 염색 후 flow cytometry로 측정된 결과 지질생성이 증가되었다. 지질 추출물에 의해 증가된 지질 성분을 HPTLC를 이용하여 분석한 결과 squalene의 생성이 증가되었다. 선행된 연구 결과들에서 지질생성에 관여하는 것으로 보고된 SREBP-1, FAS, PPAR- β , PPAR- γ 가 지질 추출물에 의해 단백질 발현이 증가되었다. 따라서 지질 추출물은 피부 지질생성 감소로 인한 피부 질환과 피부 보습을 개선시켜줄 소재로서 개발 할 수 있을 것으로 기대되며 보다 깊이 있는 연구가 필요할 것으로 생각된다.

감사의 말씀

이 논문은 2011년도 글로벌코스메틱연구개발사업단의 지원을 받아 수행된 연구임[과제번호: A103017].

참고문헌

- 1) Lee, T. B. : Illustrated flora of Korea 5nd ed., Hyangmoonsa, Seoul, p. 502 (1993).
- 2) KAPE : Handbook of the korea pharmacopoea 9nd ed., Shinilbooks, Seoul, p. 1176 (2008).
- 3) Chung, H. S., Hwang, S. H. and Youn, K. S. : Physicochemical characteristic of Poncirus trifoliata in relation to drying treatment. *Korean J. Food Preserv.* **27**, 449 (2005).
- 4) Wong, A. L. and Chan, T. Y. : Interaction between warfarin and the herbal product quilinggao. *Ann. Phaemacother.* **37**, 836 (2003).
- 5) Ko, J. S., Lee, J. C., Jang, Y. M., Mun, Y. J., Woo, W. H., Lim, K. S. and Lee, Y. C. : Inhibitory effect on melanogenesis of *Poncirus trifoliata* ethanol extract. *Korean J. Oriental Physiology & Pathology* **22**, 829 (2008).
- 6) Kim, H. M., Kim, H. J. and Park, S. T. : Inhibition of immunoglobulin E production by Poncirus trifoliata fruit extract. *J. Ethnopharmacol.* **66**, 283 (1999).
- 7) Lee, Y. M., Kim, D. K., Kim, S. H., Shin, T. Y. and Kim, H. M. : Antianaphylactic activity of Poncirus trifoliata fruit extract. *J. Ethnopharmacol.* **54**, 77 (1996).
- 8) Park, M. S. and Chun, S. B. : Studies on the change of chemical composition of *Poncirus trifoliata*. *Korean J. Food Sci. Technol.* **216**, 749 (1969).
- 9) Kim, T. J., No, J. Y., Ko, J. S. and Lee, J. S. : The separation and determination of flavonoid glycosides from *Poncirus trifoliata* raf. and *Citrus aurantium* L. *Analytical science & Technology* **2**, 749 (1989).
- 10) Guiotto, A., Rodighiero, P., Pastorini, G. and Celon, E. : Coumarins from unripe fruits of *Poncirus trifoliata*. *Phytochemistry* **16**, 1257 (1977).
- 11) Proksch, E., Folster-Holst, R. and Jensen, J. M. : Skin barrier function, epidermal proliferation and differentiation in eczema. *J. Dermatol. Sci.* **43**, 159 (2006).
- 12) Zouboulis, C. C. and Boschnakow, A. : Chronological ageing and photoageing of the human sebaceous gland. *Clin. Exp. Dermatol.* **26**, 600 (2001).
- 13) Eisinger, M., Li, W. H., Anthonavage, M., Pappas, A., Zhang, L., Rossetti, D., Huang, Q. and Seiberg, M. : A melanocortin receptor 1 and 5 antagonist inhibits sebaceous gland differentiation and the production of sebum-specific lipids. *J. Dermatol. Sci.* **63**, 23 (2011).
- 14) Hong, I., Lee, M. H., Na, T. Y., Zouboulis, C. C. and Lee, M. O. : LXR- α enhances lipid synthesis in SZ95 sebocytes. *J. Invest. Dermatol.* **128**, 1266 (2008).
- 15) Komine, M. : Analysis of the mechanism for the development of allergic skin inflammation and the application for its treatment: keratinocytes in atopic dermatitis - their pathogenic involvement. *J. Pharmacol. Sci.* **110**, 260 (2009).
- 16) Makrantonaki, E., Ganceviciene, R. and Zouboulis, C. : An update on the role of the sebaceous gland in the pathogenesis of acne. *Dermatoendocrinol.* **3**, 41 (2011).
- 17) Rosen, E. D., Walkey, C. J., Puigserver, P. and Spiegelman, B. M. : Transcriptional regulation of adipogenesis. *Genes Dev.* **14**, 1293 (2000).
- 18) Horton, J. D. : Sterol regulatory element-binding proteins: transcriptional activators of lipid synthesis. *Biochem. Soc. Trans.* **30**, 1091 (2002).
- 19) Seo, J. B., Moon, H. M., Kim, W. S., Lee, Y. S., Jeong, H. W., Yoo, E. J., Ham, J., Kang, H., Park, M. G., Steffensen, K. R., Stulnig, T. M., Gustafsson, J. A., Park, S. D. and Kim, J. B. : Activated liver X receptors stimulate adipocyte differentiation

- through induction of peroxisome proliferator-activated receptor gamma expression. *Mol. Cell. Biol.* **24**, 3430 (2004).
- 20) Chen, W., Yang, C. C., Sheu, H. M., Seltmann, H. and Zouboulis, C. C. : Expression of peroxisome proliferator-activated receptor and CCAAT/enhancer binding protein transcription factors in cultured human sebocytes. *J. Invest. Dermatol.* **121**, 441 (2003).
- 21) Alestas, T., Ganceviciene, R., Fimmel, S., Müller-Decker, K. and Zouboulis, C. C. : Enzymes involved in the biosynthesis of leukotriene B₄ and prostaglandin E₂ are active in sebaceous glands. *J. Mol. Med.* **84**, 75 (2006).
- 22) Zouboulis, C. C., Baron, J. M., Böhm, M., Kippenberger, S., Kurzen, H., Reichrath, J. and Thielitz, A. : Frontiers in sebaceous gland biology and pathology. *Exp. Dermatol.* **17**, 542, (2008).
- 23) Oudshoorn, M. H., Rissmann, R., van der Coelen, D., Hennink, W. E., Ponc, M. and Bouwstra, J. A. : Development of a murine model to evaluate the effect of vernix caseosa on skin barrier recovery. *Exp. Dermatol.* **18**, 178 (2009).
- 24) Nakatsuji, T., Kao, M. C., Zhang, L., Zouboulis, C. C., Gallo, R. L. and Huang, C. M. : Sebum free fatty acids enhance the innate immune defense of human sebocytes by upregulating b-defensin-2 expression. *J. Invest. Dermatol.* **130**, 985 (2010).
- 25) Zouboulis, C. C. : Acne and sebaceous gland function. *Clin. Dermatol.* **22**, 260 (2004).
- 26) Zouboulis, C. C., Schagen, S. and Alestas, T. : The sebocyte culture - a model to study the pathophysiology of the sebaceous gland in seborrhea, seborrhoea and acne. *Arch. Dermatol. Res.* **300**, 397 (2008).
- 27) Wille, J. J. and Kydonieus A. : Palmitoleic acid isomer (C16:1 Δ 6) in human skin in sebum is effective against Gram-positive bacteria. *Skin Pharmacol. Appl. Skin Physiol.* **16**, 176 (2003).
- 28) Makrantonaki, E. and Zouboulis, C. C. : Testosterone metabolism to 5 α -dihydrotestosterone and synthesis of sebaceous lipids is regulated by the peroxisome proliferator-activated receptor ligand linoleic acid in human sebocytes. *Br. J. Dermatol.* **156**, 428 (2007).
- 29) Downing, D. T., Stewart M. E., Wertz, P. W., Colton, S. W., Abraham, W. and Strauss, J. S. : Skin lipids: an update. *J. Invest. Dermatol.* **88**, 2s (1987).
- 30) Kim, J. B. and Spiegelman, B. M. : ADD1/SREBP1 promotes adipocyte differentiation and gene expression linked to fatty acid metabolism. *Genes Dev.* **10**, 1096 (1996).
- 31) Shimano, H., Horton, J. D., Hammer, R. E., Shimomura, I., Brown, M. S. and Goldstein, J. L. : Overproduction of cholesterol and fatty acids causes massive liver enlargement in transgenic mice expressing truncated SREBP-1a. *J. Clin. Invest.* **98**, 1575 (1996).
- 32) Alestas, T., Ganceviciene, R., Fimmel, S., Müller-Decker, K. and Zouboulis, C. C. : Enzymes involved in the biosynthesis of leukotriene B₄ and prostaglandin E₂ are active in sebaceous glands. *J. Mol. Med.* **84**, 75 (2006).
- 33) Di-Poi, N., Michalik, L., Desvergne, B. and Wahli, W. : Functions of peroxisome proliferator-activated receptors (PPAR) in skin homeostasis. *Lipids* **39**, 1093 (2004).
- 34) Trivedi, N., Cong, Z., Nelson, A., Albert, A., Rosamilia, L., Sivarajah, S., Gilliland, K., Liu, W., Mauger, D., Gabbay, R. and Thiboutot, D. : Peroxisome proliferator-activated receptors increase human sebum production. *J. Invest. Dermatol.* **126**, 2002 (2006).
- 35) Zhang, Q., Seltmann, H., Zouboulis, C. C. and Konger, R. L. : Involvement of PPAR γ in oxidative stress-mediated prostaglandin E₂ production in SZ95 human sebaceous gland cells. *J. Invest. Dermatol.* **126**, 42 (2006).