

## 순채 점액질 다당체 추출물의 피부 보습 효과 연구

안 세 연<sup>†</sup> · 길 소 연 · 권 오 선 · 장 윤 희 · 진 무 현

(주)LG생활건강 기술연구원  
(2017년 7월 28일 접수, 2017년 9월 8일 수정, 2017년 9월 8일 채택)

### Skin Hydration Effect of *Brasenia schreberi* Mucilage Polysaccharide Extract

Seyeon Ahn<sup>†</sup>, Soyeon Gil, Ohsun Kwon, Yunhee Chang, and Mu Hyun Jin

Research Park, LG Household & Health Care Ltd., 175 Gajeong-ro, Youseong-gu, Daejeon 34114, Korea  
(Received July 28, 2017; Revised September 8, 2017; Accepted September 8, 2017)

**요약:** 본 연구는 순채 점액질 다당체의 인체 피부와 *in vitro*에서의 피부 보습효과를 확인하고 화장품 원료로서의 가능성을 평가하기 위한 것이다. 다양한 환경적 스트레스와 노화로부터 피부를 보호하기 위해서는 피부의 수분 보유량을 증가시키고 수분의 손실을 예방해야 한다. 본 연구진은 순채의 점액질로부터 추출한 다당체를 인체 피부에 도포했을 때, 특이적인 윤활성으로 피부에서의 거칠기(roughness)를 개선시켰다는 것을 확인했다. *In vitro*에서 각질형성세포에 순채 점액질 다당체를 처리했을 때, 피부장벽의 가교 역할을 하는 transglutaminase 1 (TGM1) 유전자의 발현이 증가하였다. 또한 물과 글리세롤의 이동을 조절하는 막관통 단백질 aquaporin 3 (AQP3)와 수분 보유 기질 히알루론산을 합성하는 효소인 hyaluronan synthase 3 (HAS3) 유전자의 발현 또한 증가함을 확인했다. 추가적으로 화장품 원료로서의 가능성을 평가하기 위한 실험에서, 항염증과 콜라겐 합성 촉진 효능을 보였다. 결과적으로 순채의 점액질 다당체는 기존에 없는 새로운 천연 원료로서, 피부에 보습 효과와 항염증, 콜라겐 합성 촉진 효능이 있음을 밝혔다.

**Abstract:** In this study, we evaluated the skin moisturizing effect of *Brasenia schreberi* (*B. schreberi*) mucilage polysaccharide on human skin and *in vitro* and the potent cosmetic ingredient for skin. To protect skin from various environmental stresses and aging, we should increase moisture content of skin and prevent water loss. We have found that polysaccharides extracted from mucilage of *B. schreberi* improved the roughness of skin with its lubricating behavior. *In vitro*, the expression of transglutaminase 1 (TGM1) gene, which plays a role in cross-linking the skin barrier, was increased when the keratinocytes were treated with *B. schreberi* polysaccharides. In addition, the expression of hyaluronan synthase 3 (HAS3) gene, an enzyme that synthesizes water-binding matrix hyaluronic acid, aquaporin 3 (AQP3), which regulates the movement of water and glycerol were also increased. In addition, an experiment to evaluate its potential as a cosmetic ingredient has shown anti-inflammatory and collagen synthesis-promoting effects. As a result, the mucilaginous polysaccharide from natural products which has not existed before, showed moisturizing effect, anti-inflammation and collagen synthesis-promoting effects for skin protection and hydration.

**Keywords:** *Brasenia schreberi*, skin hydration, polysaccharide, AQP3, HAS3

---

<sup>†</sup> 주 저자 (e-mail: seyeon43@gmail.com)  
call: 042)860-8264

## 1. 서 론

피부는 인체의 1차적인 보호장벽으로 체내 수분을 보존하고 외부 환경으로부터 피부를 지키는 역할을 한다. 피부는 크게 표피, 진피, 그리고 피하지방으로 이루어져 있으며, 표피는 다시 각질층, 과립층, 유극층, 기저층으로 구분된다. 각질층은 건조한 환경으로부터 피부의 수분보유량을 지키는 중요한 역할을 하는데, 구조체 역할을 하는 각질형성세포(corneocyte)와 간극을 채워주는 각질세포간 지질막으로 이루어진다. 각질형성세포는 수분을 잡아두는 기능, 그리고 각질세포간 지질막은 수분손실을 방해하는 기능으로 우리 피부의 수분보유량을 약 30%로 유지시켜준다. 따라서 노화 혹은 외부 환경적 스트레스로 인한 피부장벽의 손상은 피부의 수분 보유량 감소를 초래한다.

각질형성세포는 피부의 최외각층에서 각질막(cornified envelope)을 형성하면서 몇 가지 중요한 역할을 수행한다. 각질막은 자외선으로부터, 여러 병원균의 감염과 물리적, 화학적 자극으로부터 인체의 보호, 그리고 수분의 출입에 관여하여 피부의 수분보유량 조절에 영향을 미친다[1]. 각질형성세포는 표피 기저층의 줄기세포(epidermal stem cells)로부터 분열 및 증식되고 평균적으로 14일 동안 각질층까지 이동하며 분화과정을 거친다. 14일 후에는 체외로 탈락되며 다시 새로운 세포로 대체된다. 분화가 진행되면서 발현이 증가하는 유전자는 transglutaminase (TGM) 1, 3과 involucrin, loricrin, cornifin, filaggrin 등이 있다. 이 중, TGM1은 구조 단백질인 involucrin, loricrin, cornifin의 가교역할을 수행해서 피부장벽을 강화시키고, 각질형성막이 형성될 때 안정한 isotope peptide bond의 촉매작용을 함으로써 저항성과 불용성을 부여한다[2].

한편, 사람의 각질형성세포에서는 특이적으로 수분과 글리세롤을 세포 내로 수송하는 역할을 하는 막관통 단백질 aquaporins (AQP) 중 AQP3가 발현되어 있다. 글리세롤은 다양한 지질의 기질이면서, 표피층의 수분함유량을 증가시켜 탄력과 상처치유에 긍정적인 영향을 미친다[3]. AQP3는 세포간에 수분과 글리세롤의 이동을 조절하는 단백질로, AQP3 유전자의 발현이 억제된 쥐 모델에서 피부장벽이 손상되며 피부의 탄력과 수분함유능력이 저하된다[4]. 또한, 히알루론산(hyaluronic acid)은 피부의 천연 보습인자로 표피층에서 수분을 잡아두는 중요 기질 중 하나이다. 히알루론

산을 합성하는 효소인 hyaluronan synthase (HAS) 2와 3는 피부 표피에서 발현되며, 자외선에 노출된 피부에서 유의적으로 감소한다[5]. 따라서 피부의 각질형성세포에서 피부의 보습능력을 평가하는 지표가 되기도 한다[6].

순채(*Brasenia schreberi*, *B. schreberi*)는 미나리아재비목 수련과의 다년생 수생식물로서 생육지가 극히 제한되어 있다. 유기물이 풍부한 연못이나 약산성인 호수에서 발견되며, 멸종 위기 식물 II급 8호 2005년 2월 10일부터 시행 중인 동식물 보호법에 의하여 보호되고 있는 식물이다. 원줄기와 어린잎은 식용 및 이노제로 사용된 기록이 있으며, 국내에서는 제주도를 비롯하여 주로 전라남북도에 분포하는 것으로 알려져 있다[7]. 순채 줄기를 감싸고 있는 점액 다당체는 D-galactose (34.1%), D-glucuronic acid (17.3%), D-mannose (13.4%), L-rhamnose (11.4%), L-fucose (10.9%), D-xylose (7.0%), L-arabinose (5.9%)로 이루어져 있다[8]. 또한 이 점액체의 물 함량은 대략 98%이며 그 유효성에 대한 연구가 다수 보고되어 있다[9,10].

기존 연구에 의하면 알로에 베라(*Aloe vera*)를 제외하고 점액체로부터 추출한 천연물 다당체의 피부에 대한 영향과 그 효과에 대한 보고는 많지 않다. 따라서 본 연구에서는 신규 천연 소재인 순채 점액질 다당체(*B. schreberi* mucilage polysaccharides, BSP)가 인체 피부와 함께 *in vitro*에서 각질형성세포에 미치는 영향을 알아보고자 한다. 나아가, 피부 보습에 도움을 줄 수 있는 기능으로 항염증과 콜라겐 합성 촉진 효능을 시험해 봄으로써 화장품 원료로서의 가능성을 평가해 보고자 한다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1. 시료 및 추출법

본 실험에서 사용한 순채는 (주)대한종묘조경(Gurye, Korea)에서 구입하여 실험에 사용하였다. 순채 약 500 g에 20 °C의 1차 증류수로 3회 세척 후, 증류수 3 L를 가하여 실온에 24 h 동안 침지하였다. 1차 증류수로 3회 세척 후 체에 받쳐 증류수를 제거하였다. 물기를 없앤 후 한약 달임 면포를 이용하여 순채 다당체 점액질을 압축 추출하였으며 냉장보관 후 사용하였다. 압출기(Hurom, Korea)를 이용하여 순채로부터 점액질 다당체 추출물 200 g을 얻었다.

## 2.2. 인체 피부결 개선 시험

인체 피부결 평가는 LG생활건강의 기관윤리 심의위원회(institutional review board)의 심의를 받은 다음 실시하였다(SKEP-2017-0601). 시험을 실시하기 전, 기관 내부 가이드라인에 따라 1차 피부자극 평가(human patch test)를 통해 자극이 ‘매우 낮음’을 확인하였다. 본 시험의 피험자는 볼 부위의 피부 상태가 평가에 적합한 20대 여성(평균나이  $27.2 \pm 0.8$ 세)을 대상으로 모집을 실시하였다. 이 중 피험자 선정 및 제외 기준에 따라, 분석 통계처리 최소 가능 N수인 5명을 선별하였다. 본 시험은 물질의 효능을 보기 위한 목적으로, 시험군만 대상으로 한 단일 공개 시험이다. 본 시험에 들어가며 관련 정보와 주의사항을 구두로 전달했고, 자발적 참여 의사를 밝힌 피험자를 대상으로 인체적용시험 참여 동의서를 받았다. 피부결 개선 시험에 참여하는 피험자들은 하루 2번 BSP 추출물을 피부에 도포하고, 2주와 4주차의 변화를 관찰하였다. 5명의 피험자들을 대상으로 항온( $24 \pm 2$  °C), 항습(40-60%) 조건에서 PRIMOS Lite  $45 \times 30$  (GFMesstechnik GmbH, Germany)를 이용해 피부결을 평가했다. 피부결 평가는 피험자 볼 부위를 3번 측정 후, 전용 소프트웨어 PRIMOS Lite version 5.6E (GFMesstechnik GmbH, Germany)를 이용하여 피부결의 영상분석을 시행 하고 피부결 개선 값(Sa)을 분석하여 평가하였다[11]. 분석 값의 단위는 micro meter ( $\mu\text{m}$ )이며 수치가 감소할수록 피부 거칠기는 감소한다.

## 2.3. 세포독성 실험

V79-4 (chinese hamster, CCL of lung tissue fibroblast)를  $37$  °C,  $5\%$   $\text{CO}_2$  조건에서  $3\%$  FBS (Gibco, USA)와  $1\%$  penicillin-streptomycin (Gibco, USA)이 포함된 Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM)에서  $24$  h 배양하였다. 96-well cell culture plate에 분주한 후 순채 다당체 추출물을 최고 농도  $10\%$ 부터  $10$ 배씩 희석하여 세포에 처리하였다. 표준 대조군으로 sodium lauryl sulfate (SLS)를 최고농도  $0.1\%$ 부터 사용하였고,  $24$  h 배양 후 차광상태에서 MTT solution (Sigma, USA)를 처리하여  $2$  h 동안 반응시켰다. 그 후 상등액을 제거하고 formazan을 DMSO (Duchefa, Netherlands)에 용해시킨 후 microplate reader (BioTek Synergy-HT, USA)로  $540$  nm에서 흡광도를 측정하였다[12].

## 2.4. 각질형성촉진 효과 확인 실험

인간의 각질형성세포(HaCaT)를  $60$  mm cell culture dish에 각  $6 \times 10^5$ 씩 분주하여  $10\%$  FBS DMEM으로 하루 동안 배양했다. 그 후 DMEM, high glucose, no glutamine, no calcium (Gibco, USA)로 교체한 후  $\text{Ca}^{2+}$   $0.03$  mM과 함께 순채 다당체 추출물을 배지에 희석하여 처리하였다. 양성대조군으로  $\text{Ca}^{2+}$   $3$  mM이 포함된 배지를 사용하였다. 샘플이 포함된 배지를  $2$ 일 혹은  $3$ 일에 한 번씩 교체해주며  $7$ 일 동안 배양하였다. 세포를 회수하기 위해 PBS로  $3$ 회 세척한 후, M-PER (mammalian protein extraction reagent, Thermo Fisher, USA)  $300$   $\mu\text{L}$ 를 처리했다. 회수한 세포를  $1,400$  rpm에서  $15$  min 동안 원심분리 시킨 후 상층액을 회수하였고, 불용성 각질막 침전물은 PBS  $1$  mL에 풀어준 후 96-well clear plate로  $200$   $\mu\text{L}$  옮긴다.  $340$  nm에서의 흡광도를 EPOCH (BioTek, USA)를 이용해서 측정 후 분석했다[13].

## 2.5. 실시간 중합효소 연쇄반응(qRT-PCR)을 통한 유전자 발현 평가

인간의 각질형성세포(HaCaT)를 6-well cell culture plate에 각  $2 \times 10^5$ 씩 분주하여  $24$  h 동안  $10\%$  FBS DMEM으로 배양했다. 그 후 DMEM, high glucose, no glutamine, no calcium로 교체한 후 순채 다당체 추출물을 배지에 희석하여  $24$  h 처리하였다. 세포를 회수하여 PBS로 세척한 후, RNeasy mini kit (Qiagen, Germany)를 이용하여 전체 RNA를 추출했다. 정량 후  $2.5$   $\mu\text{g}$ 의 RNA를 cDNA synthesis kit (PhileKorea, Korea) 이용하여 역전사하였다. 역전사 반응은 Veriti 96-well thermal cycler (Applied Biosystems, USA)를 이용하여 수행하였으며 합성된 cDNA는 반응 당  $100$  ng을 사용하였다. TaqMan® universal master mix II (Thermo Fisher, USA)와 TGM1, AQP3, HAS3 TaqMan® gene expression assays (Thermo Fisher, USA)를 사용하였으며, 실시간 중합 효소 연쇄 반응(qRT-PCR)을 StepOnePlus® real-time PCR system (Applied Biosystems, USA)를 이용하여 수행하였다. qRT-PCR을 통해 얻은 실험 결과는 하우스키퍼 유전자(housekeeping gene) glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH)를 기준으로  $\Delta\Delta\text{Ct}$  방법[14]으로 계산하여 나타내었다. 또한, 음성 대조군의 mRNA 발현량은 약  $1.0$ 으로 기준하여 순채 다당체 추출물 실험군의 mRNA 발현량을 수치화하였다. 양성 대조군으로 EGF

recombinant human protein (Life Technologies, USA) 10 ng/mL를 사용하였다.

## 2.6. 항염증 효능 평가

RAW264.7 (한국세포주은행)을 10% FBS와 1% penicillin-streptomycin이 추가된 DMEM으로 T-75 cell culture flask (SPL, Korea)에서 70-80%까지 배양 후 96-well cell culture plate에 분주하여 24 h 동안 37 °C, 5% CO<sub>2</sub> 조건에서 배양하였다. 이어서 serum free media (Lonza, USA)로 교체한 후 lipopolysaccharides (LPS, Sigma, USA) 1 ppm과 각 농도별로 희석한 순채 다당체 추출물을 세포에 처리하여 24 h 동안 세포배양 조건에 배양한다. 각 well의 상층액을 회수하여 Griess reagent (Sigma, USA)와 동일한 비율로 섞어 10 min 동안 차광시킨 후 microplate reader (BioTek Synergy-HT, USA)로 540 nm에서 흡광도를 측정하였다[15].

## 2.7. 콜라겐 합성 촉진 효능 평가

사람의 진피 섬유아세포(human dermal fibroblast, Lonza, Swiss)를 10% FBS와 1% penicillin-streptomycin이 추가된 DMEM으로 계대 배양 후 96-well cell culture plate에 분주하여 24 h 동안 37 °C, 5% CO<sub>2</sub> 조건에서 배양하였다. 그 후 serum free media로 교체한 후 희석한 시료를 세포에 처리하여 24 h 배양 후 상층액을 회수하여 procollagen type I C-peptide PIP EIA kit (Takara, Japan)을 이용해 collagen 합성량을 간접 측정하였다[16]. 각 well의 상층액 20 µL를 취하여 상온에서 녹인 antibody-POD conjugate solution 100 µL와 혼합해 3 h 반응시킨다. 그 후 phosphate-buffered saline (Lonza, Swiss) 500 µL로 3회 세척한 후 발색시약을 100 µL씩 처리한다. 15 min 반응 후 1 N sulfuric acid (Samchun chemical, Korea)를 동량 넣어 반응시킨 후 microplate reader (BioTek Synergy-HT, USA)로 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

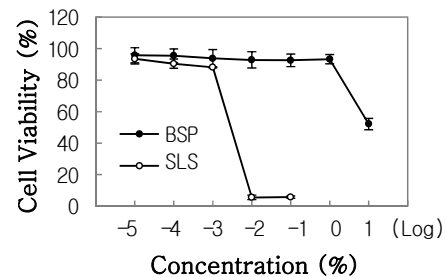
## 2.8. 통계 분석

본 연구에서 시행된 실험은 총 2회 이상 반복하였으며, 실험 군에 따른 데이터 사이의 통계적 유의성 검정은 Student's *t*-test 양측검정(two-tailed)으로 시행하였다. 결과값들을 mean ± standard deviation (S.D.)으로 나타내었다. *p* 값이 0.05 이하일 경우 \*, 0.01 이하일 경우

**Table 1.** Skin Texture Change by Topical BSP Application

	Before	Week 2	Week 4
Sa (µm)	30.17	28.84	26.99
Standard deviation (µm)	4.13	5.04	3.99
Improvement (%)	-	4.40	10.50
p-value	-	0.38	0.03*

After treatment of BSP on skin, the skin texture was measured at week 2 and week 4. The Sa values were the mean ± S.D. of experiments (n = 5). \**p* < 0.05, \*\**p* < 0.01, \*\*\**p* < 0.001



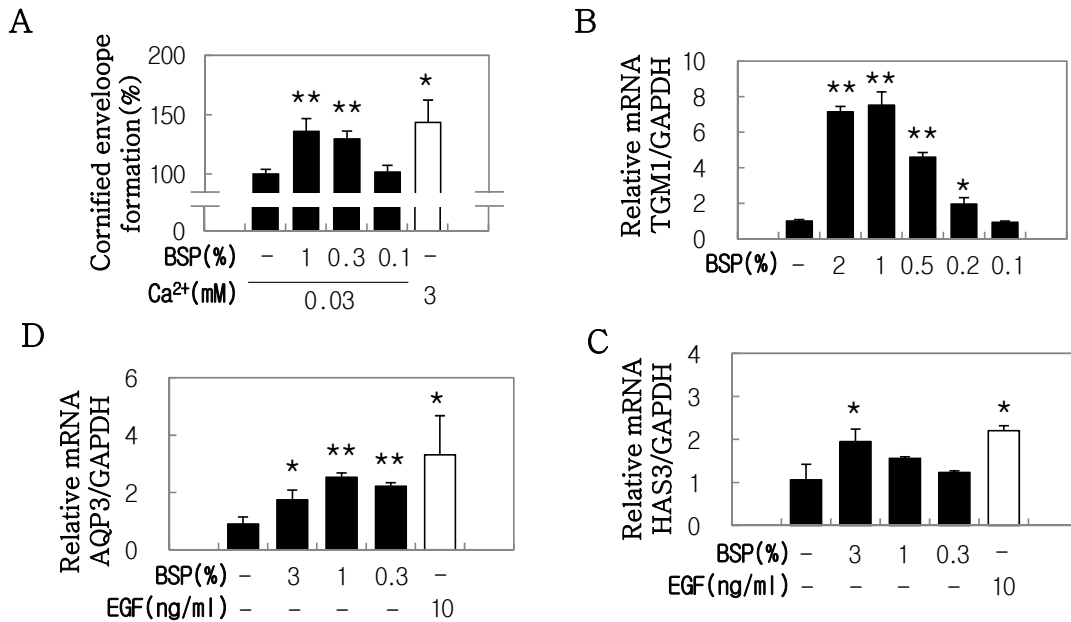
**Figure 1.** Cell viability of BSP. Cells were cultured with BSP 24 h and cell viability was measured by MTT assay. The values were the mean ± S.D. of experiments using four independent cells (n = 4).

\*\*, 그리고 0.001 이하일 경우 \*\*\*로 통계적 유의성을 표시하였다.

## 3. 결과 및 고찰

### 3.1. 인체 피부결 개선 평가 및 세포독성 평가

특이적 유효성에 대한 선행연구로부터 착안하여 [9,10], 순채의 점액질 다당체의 피부결 개선효능을 확인하고자 하였다. BSP를 피부에 도포하고 2주와 4주 후 피부결 개선을 평가한 결과는 다음과 같다(Table 1). 다당체 적용 4주 후 피부결은 10.5% 개선되었으며 통계적으로 유의성을 나타냈으며(*p* < 0.05), 피부결 개선에 도움을 주는 것으로 판단된다. 또한 V79-4를 이용한 *in vitro* 세포 독성확인 시험을 통해 상대적인 고농도에서 안전한 순채 다당체의 특성을 확인할 수 있었다(Figure 1). 대조 물질인 SLS의 IC<sub>50</sub>는 0.005%인 것에 비해서 순채 다당체는 10%의 농도에서도 52%의 세포 생존율을 보였다. 따라서 세포독성이 굉장히 낮음 (extremely low)이라고 해석할 수 있다.



**Figure 2.** Cornified envelop formation and transcriptional expression profile of TGM1, AQP3 and HAS3 in BSP-treated HaCaT. HaCaT were incubated 24 h with BSP-treated medium. After lysis of protein, cornified envelope was separated and measured at absorbance 340 nm (A). Total RNA was extracted and qRT-PCR was performed for TGM1 (B), AQP3 (C) and HAS3 (D). GAPDH was used as an internal control for qRT-PCR standardization. Results are the mean ± S.D. of experiments using three independent hBM-MSCs (n = 3). \**p* < 0.05, \*\**p* < 0.01, \*\*\**p* < 0.001

3.2. 각질형성세포에서의 각질막 형성 유도 효과

피부의 각질형성세포는 최종적으로 각질막을 형성 하는데, 이는 피부의 보습에 중요한 역할을 한다. 외부 환경으로부터의 피부 보호와 경피수분손실량의 저하에 도움을 주며, 정상적인 주기의 각질막의 생성과 탈락은 피부를 건강하게 유지시킨다. 본 연구에서 BSP는 각질형성세포에서 각질막의 형성을 유도한다. 7일간의 배양 후, Ca<sup>2+</sup> 3 mM은 약 44% 증가, BSP 1%, 0.3%, 0.1%를 처리했을 때, 대조군에 비해 각각 약 36%, 30%, 2%의 각질막 형성을 증가시켰다(Figure 2A). BSP 1%와 0.3%의 각질막 형성 증가 수치는 통계적으로 유의함을 확인했다.

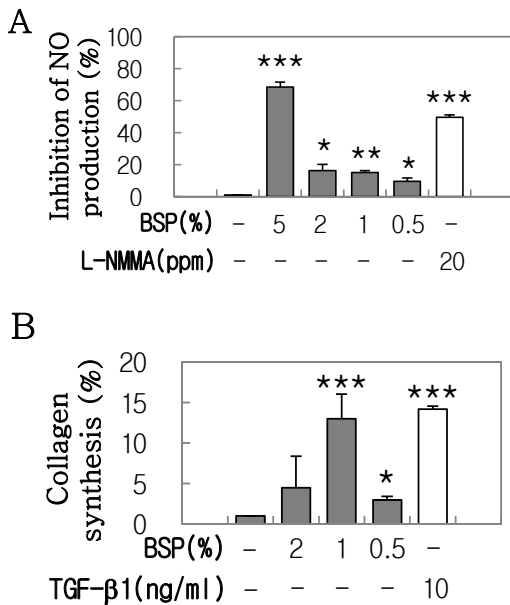
3.3. 순채 점액질 다당체의 TGM1 발현 유도 효과

피부장벽 유지 및 보습과 관련 있는 TGM1 유전자의 발현량을 상대적으로 측정하였다. 음성 대조군으로 Ca<sup>2+</sup>이 포함되지 않은 DMEM을 처리했다. 대조군의 하우스키핑 유전자 GAPDH 발현량에 대비하여 TGM1 발현량을 1로 정규화하여 유전자 발현량을 수치화하였다. Ca<sup>2+</sup>이 포함되지 않은 DMEM에 희석한 BSP 2%,

1%, 0.5%, 0.2%, 0.1% 농도에서 각각 TGM1/GAPDH 수치는 각각 7.15, 7.52, 4.60, 1.95, 0.93이었다(Figure 2B). 결과적으로 2%, 1%, 0.5%, 0.2%에서 통계적으로 유의성이 있음을 확인하였다. 농도의존적인 TGM1 유전자 발현의 증가는 BSP가 피부 표피층에서 피부장벽의 형성에 긍정적인 영향을 줄 수 있음을 시사한다.

3.4. 순채 점액질 다당체의 AQP3, HAS3 유전자 발현 유도 효과

순채의 점액질로부터 추출한 다당체를 피부각질형성세포에 처리했을 때, AQP3의 유전자 발현이 증가함을 확인했다(Figure 2C). 이로 인해 물과 글리세롤의 피부로의 침투성을 증가시켜 피부에 보습효과를 줄 수 있다는 가능성을 보였다. BSP의 농도의존적인 AQP3 유전자 발현의 증가양상은 음성대조군과 양성대조군을 이용한 상대적인 수치화를 통해 분석했다. Ca<sup>2+</sup>이 포함되지 않은 DMEM에 희석한 BSP 3%, 1%, 0.3% 농도에서 각각 AQP3/GAPDH 수치는 각각 1.75, 2.53, 2.22이었다(Figure 2C). 양성대조군 EGF 10 ng/mL 처리군의 상대적 수치는 3.32였으며, 이는 실험의 신뢰성을



**Figure 3.** Anti-inflammation and collagen synthesis-promoting effects of BSP.

RAW264.7 cells were stimulated with LPS (1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) in the presence or absence of BSP. After incubation for 24 h, the amount of NO in the supernatants was determined by Griess reagent (A). Collagen synthesis was evaluated using pro-collagen EIA assay (B). \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$

입증하며, 양성대조군과 BSP 3%에서 통계적인 유의성을 확인할 수 있었다[17]. 마찬가지로 방법으로 BSP를 3%, 1%, 0.3% 농도로 처리했을 때, HAS3/GAPDH의 수치는 1.95, 1.56, 1.23이었으며, 양성대조군 EGF 10 ng/mL의 경우 2.20의 수치를 보였다(Figure 2D). 이는 피부의 핵심 보습 인자 중 하나인 히알루론산의 합성을 촉진시키는 효소의 유전자 발현이 농도의존적으로 증가했음을 보여준다.

### 3.5. 순채 점액질 다당체의 항염증과 콜라겐 합성 촉진 효능

BSP의 화장품 원료로서의 가능성을 평가하기 위해 항염증 테스트를 시행하였다. NO의 생성 저해율은 LPS 1 ppm 처리를 하지 않은 무처리군을 100%라고 가정했을 때, BSP 5%, 2%, 1%, 0.5% 모두에서 통계적 유의성을 보였는데, 각각 68.57%, 16.19%, 15.05%, 9.52%의 저해율을 확인했다(Figure 3A). 양성대조군 L-NMMA 20 ppm 처리군은 49.52%의 NO 생성 저해율을 보였으

며 본 실험의 유의성을 확인할 수 있다.

또한, BSP가 사람의 진피 섬유아세포에서 유의미한 콜라겐 합성 촉진 효능을 보였다. BSP 2%, 1%, 0.5%에서의 콜라겐 합성량을 측정했을 때, 대조군에 비해 4.47, 13.01, 2.95배 콜라겐 합성이 증가됐음을 확인했다(Figure 3B). 양성대조군 TGF- $\beta$ 1 10 ng/mL 처리군은 음성대조군에 비하여 14.18배의 콜라겐 합성 촉진 효능을 보였다. BSP 1%, 0.5%에서 통계적인 유의성을 확인했다. 2%에서 통계적 유의성이 떨어지는 현상이 관찰됐는데, 앞서 세포독성 실험을 통해 2% BSP의 독성이 원인은 아니라는 것을 알 수 있었다. 효소면역분석법(EIA) 실험의 특성상, 상층액을 활용하는데, 고농도의 다당체가 포함돼 있기 때문에 원료 자체가 효소 반응의 방해 요인이 됐을 수 있다.

## 4. 결 론

본 연구는 멸종위기생물인 순채의 점액질 다당체의 피부 보습 효과를 확인하기 위해 진행되었다. 환경적 스트레스와 노화에 대응하여 피부의 보습을 유지하기 위해서는, 피부 장벽의 보호와 표피층 수분 손실의 예방이 필요하다. 따라서 BSP의 인체 피부결 개선 평가와 동시에 *in vitro* 실험을 통해 보습효과를 분자생물학적 수준에서 확인했다.

표피층에서 각질화(cornification)가 진행되면서 각질 형성세포가 분열을 멈추고 분화가 일어난다. 이는 표피 피부장벽의 가교역할을 하는 분화 마커 중 하나인 TGM1의 TGMs의 가교화 작용을 통해서 안정화된다[18]. 이러한 각질막 형성에서의 TGM1의 역할은 TGM1 유전자에 돌연변이가 있는 증판비늘증과 선천성어린선양홍피증 환자로부터 확인할 수 있는데, 피부장벽의 형성과 수분의 막관통 통로의 손상, 그리고 피부 염증이 특징적이다[18,19]. 따라서 본 연구를 통해 BSP로 인해 유도되는 각질막 형성과 TGM1 유전자의 발현의 증가는 연관돼 있으며, TGM1 유전자의 발현이 선행되어 있다는 가설을 뒷받침해 준다.

AQP3은 표피에서 수분과 글리세롤의 출입에 중요한 역할을 하는 막관통 단백질로, 표피층에서 환경적 변화에 따라 그 발현이 조절된다. 히알루론산은 수분을 보유하는 기능을 하는 주요 기질로서 피부의 수분 유지에 필수적인 요소이며 피부의 각질형성세포 성장

인자와도 관련돼 있다. 각질형성세포 성장인자는 세포의 이동과 상처치유를 촉진함과 동시에, HAS2와 HAS3의 유전자 발현을 증가시켜 중간 크기의 히알루론산의 합성량을 증가시킨다[20]. 따라서 본 연구에서 확인한 순채 다당체의 농도의존적인 AQP3와 HAS3 유전자의 증가 양상과 각질막의 증식 유도 결과를 각질형성세포의 성장인자 증가에 따른 결과로 설명할 수 있다.

기존 관련 화장품 소재 연구로는 알로에 베라 다당체의 피부 경피수분손실량(TEWL) 저하 효과와 화장품 원료로서의 평가가 있었다[21]. 또한 녹차잎에서 다당체와 폴리페놀을 추출해, 피부보호 효능을 연구한 보고가 있었다[22]. 그러나 식물성 점액질 다당체가 피부에 미치는 영향에 대해서 많이 연구돼 있지 않다. 순채의 점액성 다당체의 피부에서의 보습 효능을 평가한 본 실험을 통해, 신규한 식물의 점액성 다당체가 피부에까지 활용될 수 있는 가능성을 보였다. 또한, 실제 사람피부에서의 피부결 개선효과와 *in vitro* 효능을 동시에 확인함으로써, 화장품 원료로서의 가능성을 평가했다. 향후 순채의 점액질 다당체를 원료로 이용한 화장품 제형을 제작하여 추가적인 임상시험을 진행할 예정이다.

## Reference

1. K. C. Madison, Barrier function of the skin: "La raison d'être" of the epidermis, *J. Invest. Dermatol.*, **121**(2), 231 (2003).
2. E. Candi, R. Schmidt, and G. Melino, The cornified envelope: a model of cell death in the skin, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **6**(4), 328 (2005).
3. J. W. Fluhr, R. Darlenski, and D. Surber, Glycerol and the skin: holistic approach to its origin and functions, *Br. J. Dermatol.*, **159**(1), 23 (2008).
4. M. Hara, T. Ma, and A. S. Verkman, Selectively reduced glycerol in skin of aquaporin-3 deficient mice may account for impaired skin hydration, elasticity and barrier recovery, *J. Biol. Chem.*, **277**(48), 46616 (2002).
5. M. Hašová, T. Crhák, B. Safránková, J. Dvořáková, T. Muthný, V. Velebný, and L. Kubala, Hyaluronan minimizes effects of anti-aging effect of *Psoraleae fructus* UV irradiation on human keratinocytes, *Arch. Dermatol. Res.*, **303**(4), 277 (2011).
6. J. Malaisse, V. Bourguignon, E. De Vuyst, C. Lambert de Rouvroit, A. F. Nikkels, B. Flamion, and Y. Poumay, Hyaluronan metabolism in human keratinocytes and atopic dermatitis skin is driven by a balance of hyaluronan synthases 1 and 3, *J. Invest. Dermatol.*, **134**(8), 2174 (2014).
7. Y. K. Ahn, H. K. Joo, and H. J. Sheo, Limnological study on the *Brasenia purpurea* wild growing reservoirs, Keum ho and Cheok po jae, *한국육수학회지*, **10**, 3 (1977).
8. M. Kakuta and A. Misaki, Polysaccharide of junsai (*Brasenia schreberi* J. f. Gmel) mucilage-constitution and linkage analysis, *Agric. Biol. Chem.*, **43**, 993 (1979).
9. J. J. Li, Y. H. Liu, J. B. Luo, P. X. Liu, and C. H. Zhang, Excellent lubricating behavior of *Brasenia schreberi* mucilage, *Langmuir*, **28**(20), 7797 (2012).
10. P. X. Liu, Y. H. Liu, Y. Yang, Z. Chen, J. J. Li, and J. B. Luo, Mechanism of biological liquid superlubricity of *Brasenia schreberi* mucilage, *Langmuir*, **30**(13), 3811 (2014).
11. J. Ryu and J. Yim, Effects of *in vitro* antioxidant and *in vivo* anti-aging improvement of finished cosmetic products containing ramalin, *Kor. J. Aesthet. Cosmetol.*, **10**(2), 345 (2012).
12. T. Mosmann, Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays, *J. Immunol. Methods*, **65**(1-2), 55 (1983).
13. S. Phillai and D. D. Bikle, Role of intracellular-free calcium in the cornified envelope formation of keratinocytes: differences in the mode of action of extracellular calcium and 1,25 dihydroxyvitamin D3, *J. Cell Physiol.*, **146**(1), 94 (1991).
14. K. J. Livak and T. D. Schmittgen, Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) method, *Methods.*, **25**(4), 402 (2001).

15. D. A. Geller, A. K. Nussler, M. Di Silvio, C. J. Lowenstein, R. A. Shapiro, S. C. Wang, R. L. Simmons, and T. R. Billiar, Cytokines, endotoxin, and glucocorticoids regulate the expression of inducible nitric oxide synthase in hepatocytes, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **90**(2), 522 (1993).
16. M. B. Taubman, B. Goldberg, and C. Sherr, Radioimmunoassay for human procollagen, *Science*, **186**(4169), 1115 (1974).
17. C. Cao, Y. Sun, S. Healey, Z. Bi, G. Hu, S. Wan, N. Kouttab, W. Chu, and Y. Wan, EGFR-mediated expression of aquaporin-3 is involved in human skin fibroblast migration, *Biochem. J.*, **400**(2), 225 (2006).
18. E. Candi, R. Schmidt, and G. Melino, The cornified envelope: a model of cell death in the skin, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **6**(4), 328 (2005).
19. L. J. Russell, J. J. DiGiovanna, G. R. Rogers, P. M. Steinert, N. Hashem, J. G. Compton, and S. J. Bale, Mutations in the gene for transglutaminase 1 in autosomal recessive lamellar ichthyosis, *Nat. Genet.*, **9**(3), 279 (1995).
20. S. Karvinen, S. Pasonen-Seppänen, J. M. Hyttinen, J. P. Pienimäki, K. Törrönen, T. A. Jokela, and R. Tammi, Keratinocyte growth factor stimulates migration and hyaluronan synthesis in the epidermis by activation of keratinocyte hyaluronan synthases 2 and 3, *J. Biol. Chem.*, **278**(49), 49495 (2003).
21. S. E. Dal’Belo, L. Rigo Gaspar, B. G. M. Campos, and P. Maria, Moisturizing effect of cosmetic formulations containing *Aloe vera* extract in different concentrations assessed by skin bioengineering techniques, *Skin Res. Technol.*, **12**(4), 241 (2006).
22. X. Wei, Y. Liu, J. Xiao, and Y. Wang, Protective effects of tea polysaccharides and polyphenols on skin, *J. Agric. Food Chem.*, **57**(17), 7757 (2009).