

*Propionibacterium acnes*에 의해 유도되는 염증반응에서 *Cnestis palala* (Lour.) Merr. 추출물의 억제효과

신진학^{1†} · 이은혜^{1†} · 김선숙¹ · Kongamany Sydara² · 서수련^{1*}

¹강원대학교 분자생명과학과, ²라오스 전통 의학 연구소

Cnestis palala (Lour.) Merr. extract suppresses *Propionibacterium acnes*-induced inflammation

Jin Hak Shin^{1†}, Eun Hye Lee^{1†}, Seon Sook Kim¹, Kongmany Sydara², and Su Ryeon Seo^{1*}

¹Department of Molecular Bioscience, College of Biomedical Science, Institute of Bioscience & Biotechnology, Kangwon National University, Chuncheon 24341, Republic of Korea

²Ministry of Health, Institute of Traditional Medicine, Vientiane, Laos

(Received November 27, 2017; Revised January 24, 2018; Accepted January 25, 2018)

Acne is an inflammatory skin disease that occurs in puberty and young people. *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*) is known to be a major cause of inflammation in acne. *P. acnes* proliferates within hair follicles blocked by overproduced sebum in the skin, and thereby activates monocytic cells to promote the secretion of pro-inflammatory cytokines. In this study, we investigated the possibility of *Cnestis palala* (Lour.) Merr. extract to diminish *P. acnes*-mediated inflammatory responses. We found that *C. palala* extract significantly attenuated *P. acnes*-induced pro-inflammatory cytokine expressions, such as IL-1 β , IL-6, TNF- α , iNOS, and COX-2 in mouse macrophage RAW264.7 cells. Moreover, we observed that *C. palala* extract inhibited NF- κ B transcriptional activation, which is the major transcription factor of inflammatory cytokine expression. Therefore, it is expected that *C. palala* extract has a potential as a therapeutic agent or supplement for the treatment *P. acnes*-induced inflammatory responses.

Keywords: *Propionibacterium acnes*, *Cnestis palala* (Lour.) Merr., inflammation, pro-inflammatory cytokine

여드름은 구진, 모낭염, 결절, 낭포 및 농포를 포함하는 증상이 나타나는 만성 염증성 피부 질환이다(Korean Dermatological Association Textbook Compilation Committee, 2008). 여드름은 여러 가지 요인이 복합적으로 작용하는 것으로 알려져 있다. 특히 사춘기에는 남성호르몬 과잉으로 인해 피지선 분비가 증가하고 모낭이 막혀서 면포를 형성하게 된다.

그람 양성균인 *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*)는 여드름의 염증반응에 주요하게 기여하는 것으로 알려져 있다(Bhatia et al., 2004). *P. acnes*는 종양괴사인자(Tumor necrosis factor)- α 와 인터루킨(Interleukin)-1 β 와 IL-6을 포함한 염증성 사이토카인을 단핵구와 각질세포에서 생산하도록 유도한다(Nakatsuji et al., 2009). *P. acnes*에 의한 염증성 사이토카인의 발현 유도는 병원체에 대한 선천 면역반응에 중요한 역할을 하는 막관통 단백질인 Toll-like receptor (TLR) 2에 의해 매개된다(Vowels et al., 1995; Pawin et al., 2004). TLR 단백질 패밀리의 pattern recognition receptors (PRRs)는 *P. acnes* responsive receptor로 분류되어 있으며, *P. acnes*에 감염된 각질세포와 단핵구, 대식세포에서 TLR2의 발현이 증가되어 있다는 것이 보고된 바 있다(Kim, 2005).

IL-1 β , TNF- α 등의 염증성 사이토카인의 발현은 전사인자 인 NF- κ B의 활성화에 의하여 조절된다. NF- κ B는 세포질에서 I κ

[†]These authors contributed equally to this work.

*For correspondence. E-mail: suryeonseo@kangwon.ac.kr;
Tel.: +82-33-250-8541; Fax: +82-33-241-4627

B와 결합하여 비활성형으로 존재하다 자극에 의해 I κ B α 가 인산화되면서 떨어져 나온다. 인산화된 I κ B α 는 분해되고 NF- κ B는 핵으로 이동하여 IL-1 β 와 같은 염증성 사이토카인의 전사를 유도한다(Boone *et al.*, 2002). 특히, 염증성 여드름 피부 조직의 상피세포와 주변 세포에서 NF- κ B의 활성화와 핵 내로의 이동이 보고된 바 있다(Fisher *et al.*, 1996; Yamamoto and Gaynor, 2001; Kang *et al.*, 2005).

여드름 치료에는 피지 생성을 억제하는 항안드로젠제와 같은 스테로이드 제제와 그 밖의 다양한 항생제 및 레티노익산과 같은 비타민 A의 유도체를 이용한 방법이 많이 사용되고 있다. 특히 항생제는 가장 많이 사용되는 여드름 치료제이지만, 그에 따른 부작용이 큰 문제점으로 여겨지고 있는 실정이다(Kim *et al.*, 2002). 최근에는 부작용은 적고, 항균작용은 강한 새로운 식물 유래물질을 발굴함으로써, 여드름 치료제로 개발하고자 하는 연구가 활발히 진행되고 있다.

Cnestis palala (Lour.) Merr. 은 콘나루스과에 속하며 미얀마, 라오스, 베트남, 태국, 필리핀과 같은 동남아시아에 널리 분포하고 있다(Lemmens and Bunyaphatsara, 2003). *C. glabra*, *C. polyphylla* 및 *C. ferruginea*와 같은 *Cnestis* 속의 일부 식물은 지사제(Akindele and Adeyemi, 2006), 항산화제(Akindele *et al.*, 2010), 항염증제(Akindele and Adeyemi, 2007), 항균, 항말라리아(He *et al.*, 2006) 활성을 가지고 있는 것으로 알려져 있다.

본 논문에서는 *P. acnes*에 의해 유도되는 염증반응에서 *C. palala* 추출물이 항염효능을 나타낼 수 있는지 여부를 염증성 사이토카인의 발현량과 관련 전사인자의 활성 검증을 통해 확인하였다.

재료 및 방법

실험재료

Cnestis palala (Lour.) Merr. 은 라오스의 전통 의학 연구소에서 수집되었다. 식물 표본은 한국생명공학연구원(KRIBB) 해외생물소재센터에 기탁되었다. *C. palala*의 덩굴을 99.9% 메탄올로 처리하여 상온에서 3일 동안 2시간 간격으로 15분씩 초음파 처리하였다. 추출물은 여과 후 회전증발기(N-1000SWD, EYELA)를 이용하여 농축하였다. 농축된 시료는 건조기(Modul spin 40, Biotron Corporation, Modul spin 40)로 건조하였다. 추출과정은 한국생명공학연구원 해외생물소재센터에서 이루어졌으며 분양받은 추출물은 DMSO에 녹여서 실험에 사용하였다(분양번호 FBM165-033).

P. acnes 준비

KCTC 생물자원센터에서 여드름 유발균인 *Propionibacterium acnes* (KCTC3314)를 분양 받아 사용하였다. 여드름 유발균은 reinforced clostridial medium (Merck Millipore)에서 37°C, 혐기 조건으로 배양하였다. FOCUS™ Membrane Proteins extraction kit (G Biosciences)를 사용하여 *P. acnes*의 membrane fraction을 분리하였다.

세포배양

RAW264.7 및 HaCaT 세포주는 ATCC에서 구입하였고, 10% fetal bovine serum (FBS) (Gibco), 1% penicillin과 streptomycin (Gibco)을 첨가한 DMEM (Gibco) 배지를 사용하여 37°C, 5% CO₂ incubator에서 배양하였다.

Cell viability assay

RAW264.7 세포주를 24시간 배양 후 이들 세포를 50 μ g/ml 농도의 *C. palala* 추출물을 처리하여 3, 6, 12, 24, 48시간 배양하거나 10, 20, 50, 100, 200 μ g/ml 농도의 *C. palala* 추출물을 처리하여 12시간 배양하였다. Trypan blue dye (Sigma Aldrich)를 이용하여 세포를 염색하고 hemocytometer를 이용하여 살아있는 세포 수를 센 후 단위 부피당 세포 수를 계산하였다.

MTT assay

RAW264.7 세포주를 24시간 배양 후 이들 세포를 50 μ g/ml 농도의 *C. palala* 추출물을 처리하여 3, 6, 12, 24, 48시간 배양하거나 10, 20, 50, 100, 200 μ g/ml 농도의 *C. palala* 추출물을 처리하여 12시간 배양하였다. MTT stock solution (5 mg/ml) (Sigma Aldrich)을 각 well에 25 μ l씩 넣고 37°C, 5% CO₂ incubator에서 배양하였다. 이후 200 μ l의 DMSO를 넣어 formazan을 용해하였다. 10분 뒤 Microplate Reader를 이용하여 570 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Reporter gene assay

RAW264.7 세포주에 NF- κ B reporter gene을 transfection하고 24시간 후 50 μ g/ml의 *C. palala* 추출물을 처리한다. 30분 후, 200 μ g/ml의 *P. acnes*의 membrane fraction을 처리하고 6시간 배양하였다. 이 후 세포를 lysis하고 luminometer를 이용하여 luciferase activity를 측정하였다.

RNA 분리 및 quantitative PCR

배양한 세포에서 배지를 제거하고 RiboEx (GeneAll) 1 ml

을 처리하여 RNA를 분리한다. M-MLV reverse transcriptase (Promega)를 이용하여 cDNA를 합성한 후 quantitative PCR을 수행한다. Quantitative PCR은 SYBR Green real-time PCR master mix (TOYOBO)를 사용하여 수행한다. 모든 결과는 CFX Manager™ software version 3.0 (Bio-Rad)을 이용하여 분석하였다. 사용한 primer는 다음과 같다. β -actin forward: 5'-AGAGGGAAATCGTGCGTGAC-3', β -actin reverse: 5'-C GATAGTGATGACCTGACCGT-3'; IL-6 forward: 5'-AGTT GCCTTCTTGGGACTGA-3', IL-6 reverse: 5'-TTCTGCAA GTGCATCATCGT-3'; iNOS forward: 5'-ATCATGGACCA CCACACAGC-3', iNOS reverse: 5'-GGTGTGAAGGCGT AGCTGA-3'; COX-2 forward: 5'-CATTCTTTGCCAGCA CTTAC-3', COX-2 reverse: 5'-GACCCGGCACCAGACC AAAGAC-3', TNF- α forward: 5'-TAGCCCACGTCGTAGC AAAC-3', TNF- α reverse: 5'-GGAGGGTGACTTCTCCTGG-3'.

Western blot

RAW264.7 세포주에 *C. palala* 추출물을 20, 50 μ g/ml을 30 분간 전처리 한 후 200 μ g/ml의 *P. acnes*의 membrane fraction을 6시간 처리한다. Lysis buffer [150 mM NaCl, 20 mM Tris-Cl; pH 7.9, 1 mM EGTA, 10% glycerol, 1% Nonidet P-40, 10 mM NaF, 1 mM Na₃VO₄, 1 μ g/ml leupeptin, 1 μ g/ml aprotinin, and 0.2 mM phenylmethylsulfonyl fluoride]를 이용하여 세포를 lysis한다. Cell lysates는 SDS-PAGE를 수행한 후 anti-GAPDH (Santa Cruz Biotechnology)와 anti-mouse IL-1 β /IL-1F2 (R&D systems)를 이용하여 단백질 발현 여부를 확인한다.

통계처리

모든 실험결과는 3회 반복 실험에 대한 평균(mean) \pm 표준

편차(SD)로 표시하였고, unpaired Student's *t*-test를 시행하여 $P < 0.05$ 인 경우 유의적인 것으로 판정하였다.

결 과

Cnestis palala (Lour.) Merr. 추출물에 의한 세포독성 측정

C. palala 추출물의 항염 효능을 확인하기 위해, 염증반응의 주요 조절 세포로 알려진 대식세포에 *C. palala* 추출물이 독성을 나타내는 농도와 시간을 먼저 확인하였다. 이를 위해 Trypan blue dye exclusion을 이용하여 생존 세포수를 측정하였다. 마우스 대식세포주인 RAW264.7 세포주에 *C. palala* 추출물을 50 μ g/ml의 농도로 처리하고 3, 6, 12, 24, 48시간 동안 배양하였다. 그 결과 *C. palala* 추출물을 50 μ g/ml의 농도로 처리 후 3시간이 지났을 때 세포생존율은 95.4%, 6시간에서는 90%, 12시간에서는 72.6%, 24시간이 지나자 45.8%, 48시간 후에는 32.2%로 나타났다(Fig. 1A). 같은 농도와 시간으로 MTT assay를 수행한 결과 3시간이 지났을 때 세포생존율은 96.7%, 6시간에서는 90.5%, 12시간에서는 76.4%, 24시간이 지나자 43.5%, 48시간 후에는 31.9%로 나타났다(Fig. 1B).

다음으로 *C. palala* 추출물의 농도에 따른 세포독성을 확인하기 위해 5, 10, 20, 50, 100 μ g/ml의 농도로 RAW264.7 세포주에 처리하였다. 12시간 후 Trypan blue dye exclusion과 MTT assay를 각각 수행하여 세포생존율을 확인하였다. Trypan blue dye exclusion으로 확인한 결과 5 μ g/ml의 농도에서 세포생존율은 95.7%, 10 μ g/ml의 농도에서 91.1%, 20 μ g/ml의 농도에서 82.3%, 50 μ g/ml의 농도에서 62.3%, 100 μ g/ml의 농도에서 30.7%로 나타났다(Fig. 2A). 같은 조건에서 MTT assay로 측정 한 세포생존율은 5 μ g/ml의 농도에서 97%, 10 μ g/ml의 농도

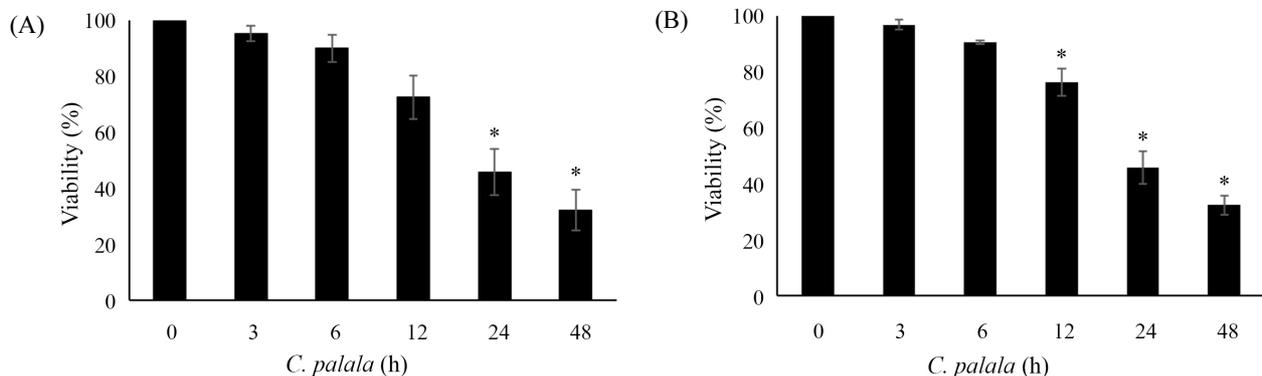


Fig. 1. Time-dependent cytotoxicity of *C. palala* (Lour.) Merr. extract. RAW264.7 cells were treated with *C. palala* extract (50 μ g/ml) for the indicated times. (A) The viability of cells was estimated by counting with trypan blue dye exclusion. (B) The viability of cells was estimated by MTT assay. The results are represented as the means \pm SD of three independent experiments. * $P < 0.05$ versus control.

에서 94.5%, 20 µg/ml의 농도에서 83.7%, 50 µg/ml의 농도에서 64.8%, 100 µg/ml의 농도에서 45.2%로 나타났다(Fig. 2B).

세포독성은 적지만 염증반응 억제 효과를 나타낼 수 있는 *C. palala* 추출물의 농도를 찾기 위해 이후의 실험에서는 세포 생존율이 60% 이상을 나타내는 20, 50 µg/ml의 농도를 사용하였고 처리 시간은 6시간으로 고정하였다.

Cnestis palala (Lour.) Merr. 추출물에 의한 IL-1β 발현 억제 효과

이전 연구들에서 *P. acnes*가 대식세포주에서 염증성 사이토카인의 발현을 증가시키는 것이 보고된 바 있다(Lee *et al.*, 2016). 대식세포주에서 생산하는 염증성 사이토카인 중 하나인 IL-1β의 단백질 발현을 유도할 수 있는 *P. acnes*의 membrane fraction 농도를 확인하기 위해 RAW264.7 세포주에 *P. acnes*의 membrane fraction을 50 µg/ml과 200 µg/ml로 처리하였다(Fig. 3A). 6시간 후 Western blot을 통해 IL-1β의 단백질 발현량을 확인하였다. 그 결과 *P. acnes*의 membrane fraction 농도 의존적으로 IL-1β의 단백질 발현량이 증가하였고 특히 200 µg/ml에서 IL-1β의 단백질 발현량이 크게 증가하는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 3A). 따라서 이후 실험에서는 *P. acnes*의 membrane fraction을 200 µg/ml로 6시간 처리하여 염증성 사이토카인의 발현을 유도하였다.

C. palala 추출물이 *P. acnes*에 의해 증가된 염증성 사이토카인의 발현을 억제할 수 있는지 확인하기 위해 RAW264.7 세포주에 *C. palala* 추출물을 20 µg/ml과 50 µg/ml로 30분간 전처리 하였다. 이후 *P. acnes*의 membrane fraction을 200 µg/ml의 농도로 처리하고 6시간 후 Western blot을 통해 IL-1β의 단백질 발현량을 확인하였다. 그 결과 *P. acnes*에 의해 증가했던 IL-1β의 단백질 발현량이 *C. palala* 추출물 농도 의존적으로

감소하는 것을 확인하였다(Fig. 3B).

IL-1β의 발현은 NF-κB 전사인자에 의해 조절 받는다는 것이 잘 알려져 있고, 유칼립투스 추출물은 NF-κB 전사인자 활성 억제제를 통해 *P. acnes*에 의한 염증반응을 감소시킨다는 것이 보고된 바 있다(Liu and Malik, 2006; Lee *et al.*, 2016). *C. palala* 추출물에 의한 IL-1β의 단백질 발현량의 감소가 NF-κB 전사인자 활성 감소에 의한 것인지 확인하기 위해 reporter gene assay를 수행하였다. RAW264.7 세포주에 NF-κB-luciferase reporter vector를 transfection한 후 *C. palala* 추출물을 20 µg/ml과 50 µg/ml로 30분간 전처리 하였다. 이후 *P. acnes*의 membrane fraction을 200 µg/ml의 농도로 처리하고 6시간 뒤 세포를 lysis하여 luciferase 활성 정도를 확인하였다. 그 결과 *P. acnes*에 의해 증가했던 luciferase 활성이 *C. palala* 추출물 농도 의존적으로 감소하는 것을 확인하였다(Fig. 3C).

한편, *C. palala* 추출물에 의한 IL-1β 및 NF-κB 전사활성 억제제가 세포 독성에 의한 효과인지 확인하기 위해 동일한 조건에서 MTT assay를 통해 RAW264.7 세포생존율을 확인하였다(Fig. 3D). 그 결과, 세포생존율에 유의적인 차이가 없음을 확인할 수 있었다. 이러한 결과는 *C. palala* 추출물에 의한 IL-1β 및 NF-κB 전사활성 억제제가 세포 독성에 의한 효과가 아님을 보여준다. 또한 *C. palala* 추출물이 다른 종류의 세포주에 독성을 나타내는지 확인하기 위해 인간 각질세포인 HaCaT 세포주에 같은 농도와 시간으로 *C. palala* 추출물과 *P. acnes*의 membrane fraction을 처리하였다(Fig. 3E). MTT assay를 통해 세포생존율을 확인한 결과, HaCaT 세포주 역시 세포생존율의 유의적인 변화가 나타나지 않음을 확인할 수 있었다(Fig. 3E). 이를 통해 *C. palala* 추출물은 NF-κB 전사인자 활성을 억제함으로써 염증성 사이토카인인 IL-1β의 단백질 발현량을 감소시킨다는 것을 알 수 있었다.

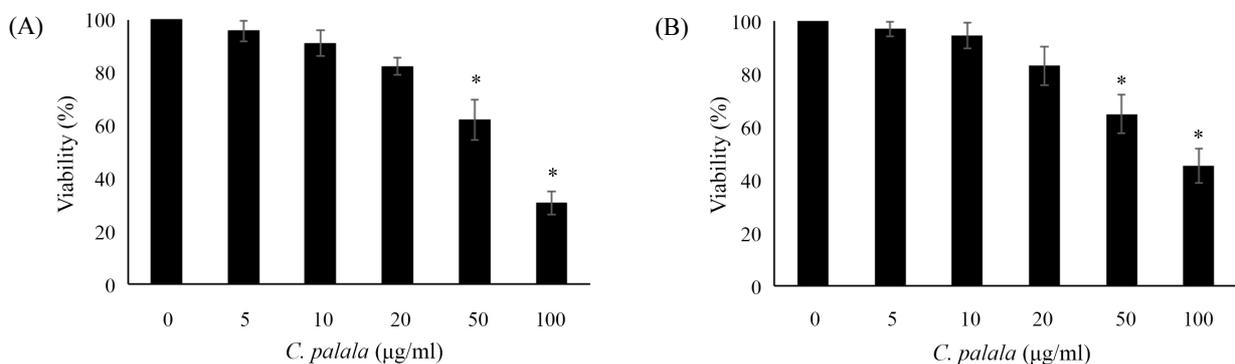


Fig. 2. Dose-dependent cytotoxicity of *Cnestis palala* (Lour.) Merr. extract. RAW264.7 cells were treated with *C. palala* extract for the indicated concentrations. (A) After 12 h of incubation, the viability of cells was estimated by counting with trypan blue dye exclusion. (B) After 12 h of incubation, the viability of cells was estimated by MTT assay. The results are represented as the means ± SD of three independent experiments. **P* < 0.05 versus control.

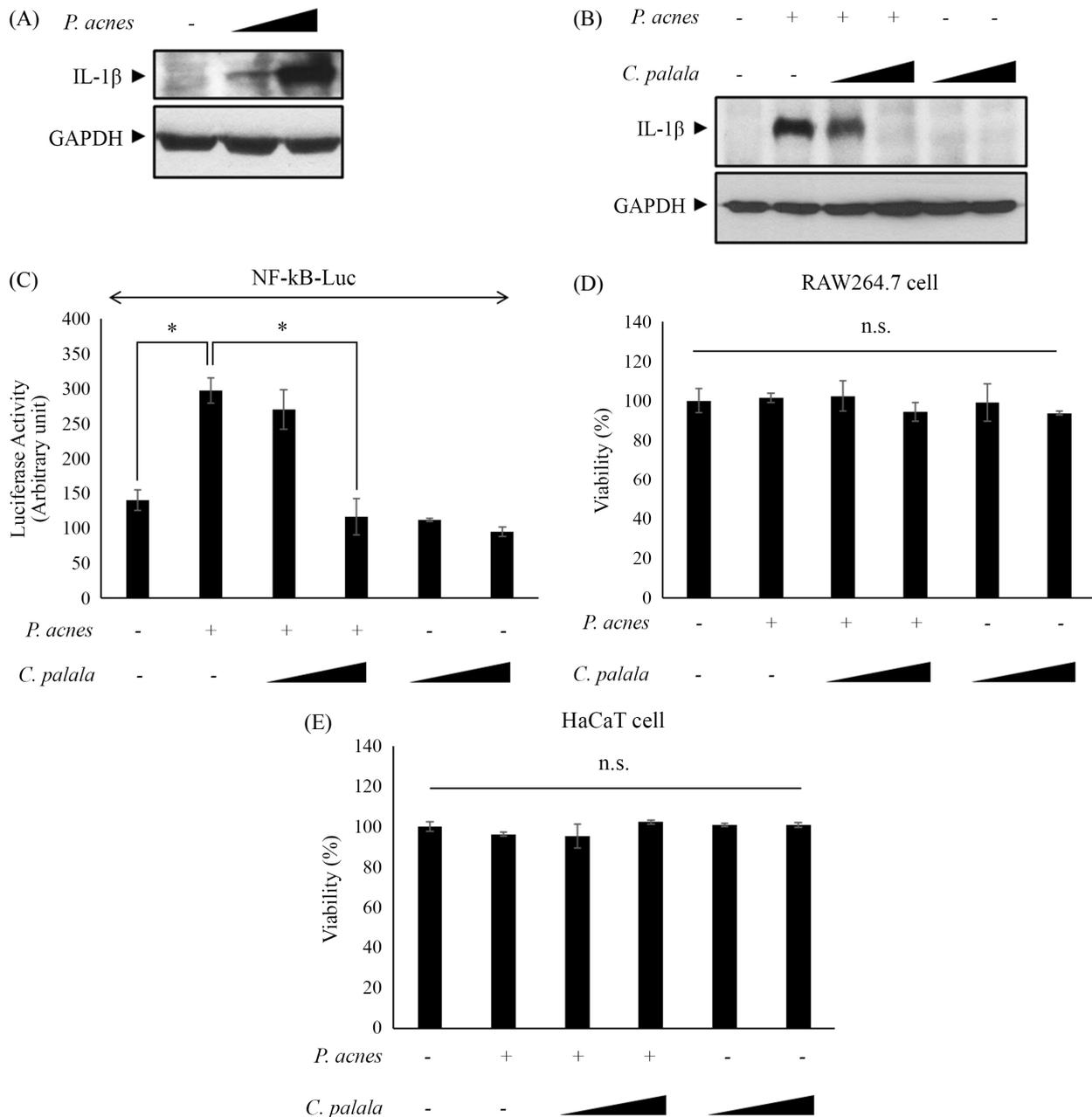


Fig. 3. The effect of *Cnestis palala* (Lour.) Merr. extract in *P. acnes*-induced IL-1 β signaling pathway. (A) RAW264.7 cells were treated with membrane fraction of *P. acnes* (50 or 200 μ g/ml) for 6 h. IL-1 β and GAPDH protein levels were analyzed by Western blot analysis. (B) RAW264.7 cells were pretreated with the *C. palala* extract (20 or 50 μ g/ml) for 30 min followed by the treatment with membrane fraction of *P. acnes* (200 μ g/ml) for 6 h. IL-1 β and GAPDH protein levels were analyzed by Western blot analysis. (C) RAW264.7 cells were transfected with NF- κ B-luciferase reporter vectors. After 24 h, cells were pretreated with the *C. palala* extract (20 or 50 μ g/ml) for 30 min followed by the treatment with membrane fractions of *P. acnes* (200 μ g/ml) for 6 h. Cell lysates were analyzed for luciferase activity. (D and E) RAW264.7 cells or HaCaT cells were pretreated with the *C. palala* extract (20 or 50 μ g/ml) for 30 min followed by the treatment with membrane fractions of *P. acnes* (200 μ g/ml). After 6 h of incubation, the viability of cells was estimated by MTT assay. The results are represented as the means \pm SD of three independent experiments. * P < 0.05; n.s. non significant.

Cnestis palala (Lour.) Merr. 추출물에 의한 염증성 사이토카인의 mRNA 발현 억제 효과

C. palala 추출물이 *P. acnes* 에 의해 증가되는 다른 염증성

사이토카인의 발현 역시 감소시킬 수 있는지 확인하기 위해 이들의 mRNA 발현량을 조사하였다. RAW264.7 세포주에 *C. palala* 추출물을 20 μ g/ml 과 50 μ g/ml 로 30 분간 전처리 한 후

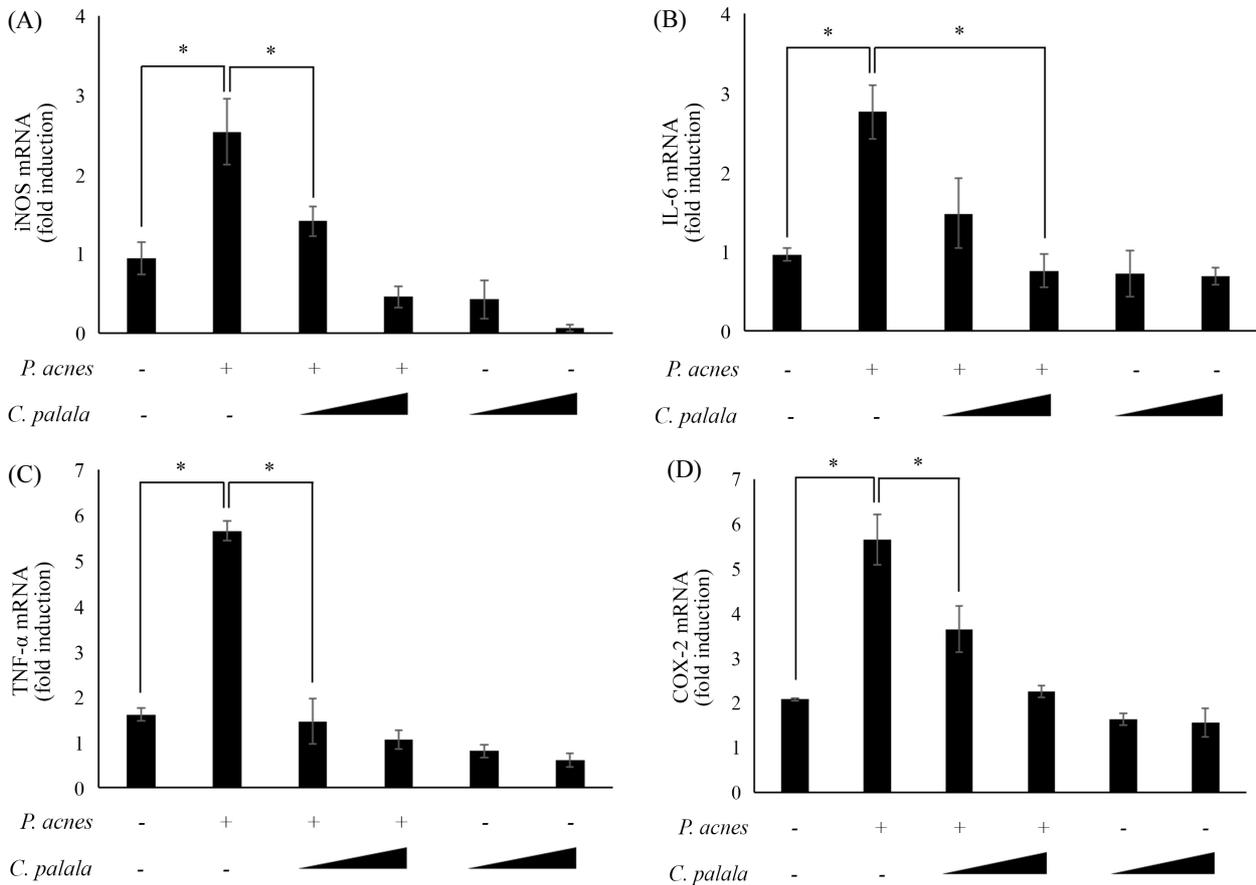


Fig. 4. The effects of *Cnestis palala* (Lour.) Merr. extract in *P. acnes*-induced inflammatory response. RAW264.7 cells were pretreated with the *C. palala* extract (20 or 50 μg/ml) for 30 min followed by the treatment with membrane fraction of *P. acnes* (200 μg/ml) for 6 h. The expression mRNA levels of iNOS (A), IL-6 (B), TNF-α (C), and COX-2 (D) were determined by qPCR. The results are represented as the means ± SD of three independent experiments. **P* < 0.05.

*P. acnes*의 membrane fraction을 200 μg/ml의 농도로 처리하였다. 6시간 후 RNA를 분리하여 quantitative PCR을 수행하였다. *P. acnes*에 의해 크게 증가하였던 iNOS, IL-6, TNF-α, COX-2의 mRNA 발현량이 *C. palala* 추출물 농도 의존적으로 감소하는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 4A-D). TNF-α의 경우 20 μg/ml에서도 대조군 수준으로 발현량이 감소하는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 4C). 따라서, *C. palala* 추출물이 염증성 사이토카인을 비롯한 염증반응 관련 유전자의 발현을 감소시킴으로써 *P. acnes*에 의해 유도되는 염증반응을 억제할 수 있음을 알 수 있었다.

고찰

*P. acnes*는 과잉 생산된 피지로 인해 막힌 모낭 내에서 증식하고, 피부 내의 단핵구를 활성화시켜 염증성 사이토카인들의

분비를 촉진하는 것으로 알려져 있다(Webster and Leyden, 1980; Vowels *et al.*, 1995; Cunliffe *et al.*, 2004). 단핵구에서 *P. acnes*에 의해 분비가 증가되는 염증성 사이토카인으로는 IL-1β, IL-8, IL-12, TNF-α가 있으며 모낭 각질세포에서 분비되는 IL-6 및 IL-8 역시 염증반응에 기여할 수 있다고 보고된 바 있다(Gollnick, 2003; Zouboulis *et al.*, 2005; Kurokawa *et al.*, 2009).

여드름 치료에 이용되는 항생제는 주로 테트라사이클린계 또는 클린다마이신 계열이 사용되나, 이러한 화학적 항생제는 장기간 투여 시 부작용을 유발하거나 항생제내성을 갖게 되는 부작용이 있다(Lim *et al.*, 1995). 이러한 문제로 인해 최근에는 식물성 원료, 해양원료 등 다양한 천연추출물을 이용한 연구가 활발히 이루어지고 있다. 하지만 *P. acnes*에 의한 염증반응 억제와 관련하여 *C. palala* 추출물의 효능에 관한 연구는 전무한 실정이다.

*C. palala*의 뿌리는 동남아시아 지역에서 위통, 말라리아 등

의 치료를 위해 사용되는 전통적인 약제이다. 또한 열매의 씨앗은 독성이 있는 것으로 알려져 있으며, 잎과 뿌리, 껍질의 에탄올 추출물의 항균활성에 대한 연구가 보고된 바 있다(Dej-adisai et al., 2015).

본 연구에서는 여드름 원인균으로 알려진 *P. acnes* 의 membrane fraction 을 대식세포주에 처리하였을 때 증가하는 IL-1 β , IL-6, TNF- α 과 같은 염증성 사이토카인과 iNOS, COX-2 와 같은 면역반응 관련 유전자의 발현이 *C. palala* 추출물에 의해 억제될 수 있다는 것을 최초로 확인하였다. 또한 이것이 NF- κ B 전사인자의 활성을 *C. palala* 추출물이 감소시킴으로써 나타나는 기전임을 확인하였다. *C. palala* 추출물에 의한 이러한 염증반응 관련 유전자의 발현 억제는 세포독성이 없는 농도에서 일어남을 확인하였다.

IL-1 β 는 인플라마솜(inflammasome) 신호 전달 기전에 의해 생산 및 활성화되는데, NF- κ B에 의한 IL-1 β 의 발현 증가는 인플라마솜 신호 전달 기전의 signal 1 (priming)으로 알려져 있다(Guo et al., 2015). 이외에도 IL-6, iNOS, COX-2와 같은 염증성 사이토카인 및 면역반응 관련 유전자들의 발현에는 NF- κ B가 주요 전사인자로서 작용하는 것이 잘 알려져 있다(Libermann and Baltimore, 1990; Hatano et al., 2001; Lim et al., 2001). *C. palala* 추출물이 NF- κ B의 전사 활성을 억제할 수 있는 기전으로 생각해 볼 수 있는 것은 IKK (I κ B kinase)의 활성화 저해, I κ B 분해 억제, NF- κ B의 translocation 억제 등이다. 향후 추가적인 연구를 통해 *C. palala* 추출물이 NF- κ B의 전사 활성 억제 기전을 구체적으로 밝히고자 한다.

적 요

여드름은 사춘기와 젊은 연령층에서 나타나는 염증성 피부 질환이다. *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*)는 여드름에서 염증을 유발하는 주요한 균으로 알려져 있다. *P. acnes* 는 피부에서 과잉생산된 피지에 의해 막힌 모낭 내에서 증식하며, 피부 내의 단핵구를 활성화시키고 염증성 사이토카인(pro-inflammatory cytokine)의 분비를 촉진하여 염증반응을 증가시키는 것으로 알려져 있다.

본 논문에서는 *Cnestis palala* (Lour.) Merr. 추출물이 *P. acnes* 에 의한 염증반응을 감소시킬 수 있는지 확인하고자 하였다. 마우스 대식세포주인 RAW264.7 에서 *C. palala* 추출물은 *P. acnes* 에 의해 증가하는 염증성 사이토카인인 IL-1 β 의 단백질 발현량과 IL-6, TNF- α , COX-2 의 mRNA 발현량을 감소시켰다. 또한 염증성 사이토카인 발현의 주요 전사인자(transcription

factor)인 NF- κ B 의 전사 활성 역시 *C. palala* 추출물에 의해 감소하는 것을 확인하였다.

따라서 *C. palala* 추출물이 *P. acnes* 에 의해 발생하는 여드름의 치료제나 그 보조제로 사용될 가능성이 있음을 제안할 수 있다.

감사의 말

이 논문은 2015년도 강원대학교 학술연구조성비(관리번호 520150306), 한국연구재단(NRF-2015R1D1A1A09057991), 한국연구재단 바이오·의료기술개발사업(No. NRF-2016K1A1A8A01939075)의 지원을 받아 수행 되었음.

References

- Akindede, A.J. and Adeyemi, O.O. 2006. Evaluation of the antidiarrhoeal activity of *Byrsocarpus coccineus*. *J. Ethnopharmacol.* **108**, 20-25.
- Akindede, A. and Adeyemi, O. 2007. Antiinflammatory activity of the aqueous leaf extract of *Byrsocarpus coccineus*. *Fitoterapia* **78**, 25-28.
- Akindede, A.J., Ezenwanebe, K.O., Anunobi, C.C., and Adeyemi, O.O. 2010. Hepatoprotective and *in vivo* antioxidant effects of *Byrsocarpus coccineus* Schum. and Thonn. (Connaraceae). *J. Ethnopharmacol.* **129**, 46-52.
- Bhatia, A., Maisonneuve, J., and Persing, D.H. 2004. *Propionibacterium acnes* and chronic diseases, pp. 74-80. In Knobler, S.L., O'Connor, S., Lemon, S.M., and Najafi, M. (eds.), *The Infectious Etiology of Chronic Diseases: Defining the Relationship, Enhancing the Research, and Mitigating the Effects*. Workshop Summary, National Academies Press, Washington, DC, USA.
- Boone, D.L., Lee, E.G., Libby, S., Gibson, P.J., Chien, M., Chan, F., Madonia, M., Burkett, P.R., and Ma, A. 2002. Recent advances in understanding NF- κ B regulation. *Inflamm. Bowel Dis.* **8**, 201-212.
- Cunliffe, W.J., Holland, D., and Jeremy, A. 2004. Comedone formation: etiology, clinical presentation, and treatment. *Clin. Dermatol.* **22**, 367-374.
- Dej-adisai, S., Tinpun, K., Wattanapiromsakul, C., and Keawpradub, N. 2015. Bio-activities and phytochemical investigation of *Cnestis palala* (Lour.) Merr. *Afr. J. Trad. Compl. Altern. Med.* **12**, 27-37.
- Fisher, G.J., Datta, S.C., Talwar, H.S., Wang, Z., Varani, J., Kang, S., and Voorhees, J.J. 1996. Molecular basis of sun-induced premature skin ageing and retinoid antagonism. *Nature* **379**, 335-339.
- Gollnick, H. 2003. Current concepts of the pathogenesis of acne.

Drugs **63**, 1579-1596.

- Guo, H., Callaway, J.B., and Ting, J.P.** 2015. Inflammasomes: mechanism of action, role in disease, and therapeutics. *Nat. Med.* **21**, 677-687.
- Hatano, E., Bennett, B.L., Manning, A.M., Qian, T., Lemasters, J.J., and Brenner, D.A.** 2001. NF- κ B stimulates inducible nitric oxide synthase to protect mouse hepatocytes from TNF- α - and Fas-mediated apoptosis. *Gastroenterology* **120**, 1251-1262.
- He, Z., Ma, C., Tan, G.T., Sydara, K., Tamez, P., Southavong, B., Bouamanivong, S., Soejarto, D.D., Pezzuto, J.M., and Fong, H.H.** 2006. Rourinoside and rouremin, antimalarial constituents from *Rourea minor*. *Phytochemistry* **67**, 1378-1384.
- Kang, S., Cho, S., Chung, J.H., Hammerberg, C., Fisher, G.J., and Voorhees, J.J.** 2005. Inflammation and extracellular matrix degradation mediated by activated transcription factors nuclear factor- κ B and activator protein-1 in inflammatory acne lesions *in vivo*. *Am. J. Pathol.* **166**, 1691-1699.
- Kim, J.** 2005. Review of the innate immune response in acne vulgaris: activation of Toll-like receptor 2 in acne triggers inflammatory cytokine responses. *Dermatology* **211**, 193-198.
- Kim, J., Ochoa, M.T., Krutzyk, S.R., Takeuchi, O., Uematsu, S., Legaspi, A.J., Brightbill, H.D., Holland, D., Cunliffe, W.J., Akira, S., et al.** 2002. Activation of toll-like receptor 2 in acne triggers inflammatory cytokine responses. *J. Immunol.* **169**, 1535-1541.
- Korean Dermatological Association Textbook Compilation Committee.** 2008. *Dermatology*, 5th ed., pp. 446-454. Ryo Moon Gak, Seoul, Korea.
- Kurokawa, I., Danby, F.W., Ju, Q., Wang, X., Xiang, L.F., Xia, L., Chen, W., Nagy, I., Picardo, M., and Suh, D.H.** 2009. New developments in our understanding of acne pathogenesis and treatment. *Exp. Dermatol.* **18**, 821-832.
- Lee, S.J., Lee, E.H., Shin, J.H., Kim, S.S., Kim, N.K., Choi, E., and Seo, S.R.** 2016. *Eucalyptus globulus* extracts inhibit *Propionibacterium acnes*-induced inflammation signaling. *Korean J. Microbiol.* **52**, 421-427.
- Lemmens, R. and Bunyaphatsara, N.** 2003. Plant resources of South-East Asia.
- Libermann, T.A. and Baltimore, D.** 1990. Activation of interleukin-6 gene expression through the NF- κ B transcription factor. *Mol. Cell. Biol.* **10**, 2327-2334.
- Lim, J.W., Kim, H., and Kim, K.H.** 2001. Nuclear factor- κ B regulates cyclooxygenase-2 expression and cell proliferation in human gastric cancer cells. *Lab. Invest.* **81**, 349-360.
- Lim, Y.S., Myung, K.B., Chung, N.E., and Chung, W.S.** 1995. A study on the MIC of antibiotics for *Propionibacterium acnes* in patients with acne. *Korean J. Dermatol.* **33**, 437-444.
- Liu, S.F. and Malik, A.B.** 2006. NF- κ B activation as a pathological mechanism of septic shock and inflammation. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* **290**, L622-L645.
- Nakatsuji, T., Kao, M.C., Fang, J., Zouboulis, C.C., Zhang, L., Gallo, R.L., and Huang, C.** 2009. Antimicrobial property of lauric acid against *Propionibacterium acnes*: its therapeutic potential for inflammatory acne vulgaris. *J. Invest. Dermatol.* **129**, 2480-2488.
- Pawin, H., Beylot, C., Chivot, M., Faure, M., Poli, F., Revuz, J., and Dreno, B.** 2004. Physiopathology of acne vulgaris: recent data, new understanding of the treatments. *Eur. J. Dermatol.* **14**, 4-12.
- Vowels, B.R., Yang, S., and Leyden, J.J.** 1995. Induction of proinflammatory cytokines by a soluble factor of *Propionibacterium acnes*: implications for chronic inflammatory acne. *Infect. Immun.* **63**, 3158-3165.
- Webster, G.F. and Leyden, J.J.** 1980. Characterization of serum-independent polymorphonuclear leukocyte chemotactic factors produced by *Propionibacterium acnes*. *Inflammation* **4**, 261-269.
- Yamamoto, Y. and Gaynor, R.B.** 2001. Role of the NF- κ B pathway in the pathogenesis of human disease states. *Curr. Mol. Med.* **1**, 287-296.
- Zouboulis, C., Eady, A., Philpott, M., Goldsmith, L., Orfanos, C., Cunliffe, W., and Rosenfield, R.** 2005. What is the pathogenesis of acne? *Exp. Dermatol.* **14**, 143-143.