大韓本草學會誌 제34권 제1호(2019년 1월)
Kor. J. Herbol. 2019 ; 34(1) : 51-57

ISSN 1229-1765(Print), ISSN 2288-7199(Online)
http://dx.doi.org/10.6116/kjh.2019.34.1.51.

TNF-α로 유도된 HaCaT 각질형성세포의 염증반응에서 해죽순의 항염증 효과

배기상[1,2#], 박성주[1,2*]

1 : 원광대학교 한의과대학 본초학교실, 2 : 원광대학교 심신증후군연구센터

Anti-inflammatory Effect of *Nypa fruticans* Wurmb. on tumor necrosis factor (TNF)-α-induced Inflammatory response in HaCaT cells

Gi-Sang Bae[1,2#], Sung-Joo Park[1,2*]

1 : Department of Herbology, College of Oriental Medicine, Wonkwang University
2 : Hanbang cardiorenal syndrome research Center, Wonkwang University

ABSTRACT

Objectives : *Nypa fruticans* Wurmb. (NF) have been used as a traditional medicine to treat inflammatory diseases in East-South Asia. However, it is largely undiscovered whether NF water extract could exhibit anti-inflammatory activities against tumor necrosis factor-α (TNF-α)-induced inflammatory responses on human keratinocytes, HaCaT cells. Therefore, this study was aimed to investigate the anti-inflammatory activity of NF water extract on TNF-α-induced inflammatory responses in HaCaT cells.

Methods : To investigate the anti-inflammatory activites of NF water extract in HaCaT cells, the inflammatory model of HaCaT cells was established under a suitable concentration (10 ng/ml) of human TNF-α (hTNF-α). HaCaT keratinocyte cells were pre-treated with NF water extract for 1 h, and then stimulated with hTNF-α. Then, the cells were harvested to measure the inflammatory mediators such as inducible nitric oxide synthase (iNOS), cyclooxygenase (COX)-2 and prostaglandin E_2 (PGE_2), and pro-inflammatory cytokine including TNF-α and interleukin (IL)-6. In addition, we examined the inhibitory mechanisms of NF, mitogen activated protein kinases (MAPKs) and inhibitory kappa B alpha (Iκ-Bα)

Results : The treatment of NF inhibited the hTNF-α-induced elevation of iNOS, COX-2, and PGE_2 in HaCaT cells. In addition, NF treatment inhibited the hTNF-α-induced elevation of TNF-α and IL-6. Furthermore, NF treatment inhibited the activation of MAPKs but not degradation of Iκ-Bα.

Conclusions : Taken together, our result suggest that treatment of NF could inhibit the hTNF-α-induced inflammatory responses via deactivation of MAPKs in HaCaT cells. This study could suggest that NF could be a beneficial agent to prevent skin damage or inflammation.

Key words : Human keratinocytes, Inflammatory mediators, *Nypa fruticans* Wurmb. (NF), Tumor necrosis factor-α

Ⅰ. 서 론

피부는 인체의 표면을 덮고 있는 물리적 장벽으로서 외부 환경에 직접적으로 노출되어있어 자외선 등의 물리 · 화학적

*Corresponding author : Sung-Joo Park, Department of Herbology, School of Oriental medicines, Wonkwang University, Iksandaero 460, Iksan, Jeonbuk 54538, South Korea.
· Tel : +82-63-850-6450 · E-mail : parksj08@wku.ac.kr
#First author : Gi-Sang Bae, Department of Herbology, School of Oriental medicines, Wonkwang University, Iksandaero 460, Iksan, Jeonbuk 54538, South Korea.
· Tel : +82-63-850-6837 · E-mail : baegs888@daum.net
· Received : 11 December 2018 · Revised : 07 January 2019 · Accepted : 25 January 2019

인 자극으로부터 신체를 보호하는 기관으로 신체의 일차적인 방어기능을 담당한다[1]. 특히 각질형성세포는 각질층을 형성하여 세균이나 화학물질의 침투에 대하여 효율적인 방어벽을 이루고 전염증성 사이토카인인 tumor necrosis factor(TNF)−α와 interleukin(IL)−6을 생산하여 다양한 염증반응과 면역반응에 관여한다[2−4]. 전염증성 사이토카인의 과도한 생성은 피부 세포의 손상, 세포증식 속도 감소 등을 유도하여 피부 노화, 아토피성 피부염, 건선등과 같은 피부 염증 질환을 발생시킨다[5]. 따라서 피부 손상 및 염증 질환을 치료하기 위해서는 피부각질형성세포의 염증반응을 조절하는 것이 중요하다[5]. 현재까지 피부 염증 질환의 치료 소재로서 염증 및 면역 반응 조절을 위한 스테로이드 등이 흔히 사용되어 왔으나, 이 방법은 일시적으로 증상을 완화시키고, 과다 사용 시 부작용을 초래하는 단점을 지니고 있다[6]. 따라서 부작용이 없고, 피부 염증 억제 효능이 탁월한 소재의 발굴이 필요하다.

웰빙(Well−being)이 각광받고 있는 현대에서 단순 의식주를 만족시키기 위한 삶을 넘어, 본인을 아름답게 가꾸고 삶의 질을 향상시킬 수 있는 방법에 대한 관심이 증가하고 있다. 건강하고 아름다운 삶을 위하여, 보조 식품에 대한 관심이 높아지고 있으며, 그에 따라 항산화 혹은 항염증 효능이 뛰어난 천연물 소재를 주목하고 있다[7−9]. 본 연구에 사용한 해죽순(*Nypa fruticans* Wurmb., NF)은 니파야자로서 천남성과에 속하고, 말레이시아, 미얀마, 인도네시아, 스리랑카, 필리핀 등 동남아시아 열대 지방에 분포하고, 해안갯벌이나 맹그로브 지대 등의 습지에서 자라는 식물이다[10]. 해죽순은 동남아시아에서 전통적으로 항균작용이 뛰어나서 치통 등에 사용하던 식물로서, 최근에 한국에 수입되고 있다[11]. 기존의 보고에 따르면 해죽순은 다량의 페놀산과 플라보노이드를 함유하고 있고, 항산화 효과 및 콜레스테롤 억제 효과 등이 탁월하다고 보고되고 있다[12, 13]. 또한, 본 연구자는 Lipopolysaccharide (LPS)로 인한 대식세포 염증 반응에서 해죽순의 항염증 효능을 보고하였다[14]. 다양한 염증 질환에서 해죽순의 항염증 효과가 보고되고 있으나, TNF−α로 유도된 피부각질형성세포의 염증 반응에 관한 연구는 미비한 실정이다.

이에 본 연구에서는 사람 각질 형성 세포주인 (Human Adult low Calcium High Temperature: HaCaT)세포에서 해죽순 물 추출물의 항염증 효과 및 항염증 기전을 연구하였다. HaCaT 세포에 TNF−alpha로 피부 염증을 유도하여 염증반응을 조사하였고, 항염증 기전을 조사하기 위하여 Mitogen activated protein kinases (MAPKs)의 활성과 inhibitory kappa B alpha (Iκ−Bα)의 분해를 조사하였다.

Ⅱ. 재료 및 방법

1. 재료

1) 시료 준비

해죽순은 토디팜코리아(서울, 대한민국)에서 구입하여 사용하였다. 해죽순은 미얀마에서 수입되어 건조된 것을 원광대학교 한의과대학 본초학교실에서 정선한 후 사용하였다. 해죽순 물 추출물을 얻기 위하여 증류수 1 ℓ에 해죽순 100 g을 넣고 150분 동안 전탕한 액을 여과한 후, 여과액을 동결 건조하여 3차 증류수에 녹여서 필터한 후 사용하였다. 동결 건조시킨 후 나온 분말 가루는 16.7 g으로 수율은 16.7 %였다

2) 시약

Fetus bovine serum (FBS), dulbecco modified eagle medium (DMEM) high glucose, antibiotics (Gaithersburg, MD, USA)에서 구입하여 사용하였다. Diethylpyrocarbonate (DEPC), trizol 용액은 Invitrogen (Carlsbad, CA, USA), high−capacity RNA−to−cDNA kit는 Applied biosystems (ABI, San Diego, CA, USA), 2X taq PCR pre−mix kit는 Solgent (Daejeon, South Korea)사에서 각각 구입하여 사용하였다. Human TNF−α (hTNF−α) 재조합 단백질 및 prostaglandin E_2 (PGE_2), TNF−α, IL−6 enzyme linked immunosorbant assay (ELISA) 분석을 위한 항체는 R&D Systems (Minneapolis, MN, USA), total 및 phospho−specific mitogen activated protein kinases (MAPKs)항체 (extracellular signal−regulated kinase 1/2 [ERK 1/2], c−Jun NH2−terminal protein kinase [JNK], p38)는 Cell Signaling Technology (Beverly, MA, USA), inhibitory kappa (Iκ)−Bα는 Santa Cruz Biotechnology (Santa Cruz, CA, USA)사의 제품을 사용하였다. 3,3′,5,5′−tetramethylbenzidine (TMB), dimethyl sulfoxide (DMSO), avidin peroxidase (AP), 2−propanol, 3−(4,5−Dimethylthiazol−2−yl)−2, 5−diphenyl−2H−tetrazolium bromide (MTT)는 Sigma Aldrich (Saint Louis, Missouri, USA)에서 구입하였다.

3) 세포주

본 실험에서는 정상 사람 피부의 각질형성세포와 형태 및 반응 양식이 동일하면서, 계대배양이 제한되어 있지 않다는 장점을 지닌 형질 전환 각질형성세포인 HaCaT 세포를 한국세포주은행(KCLB; Seoul, Korea)로부터 분양 받아 실험에 사용하였다. HaCaT 세포주는 DMEM high glucose 배지에 10% FBS와 1%penicillin/streptomycin을 첨가하여 37℃에서 5% CO_2 조건에서 배양하였다.

2. 방법

1) MTT 분석

사람각질형성세포에 해죽순 물 추출물을 처리한 후 24시간 동안 배양한 뒤 MTT용액을 첨가하고 다시 30분 동안 배양하였다. 30분 후, 배양액을 제거하고 Formazan생성물은 DMSO로 용해했다. Formazan용해액을 96−well plate에 loading한 후, spectrophotometer (MD, USA)를 이용하여 540 nm에 흡수되는 양을 측정하였다. 세포의 생존율은 어떠한 처리도 가하지 않은 naive cell과의 비율로 나타내었다.

2) Total RNA 추출 및 mRNA 발현 측정

세포를 획득한 후, trizol 용액을 1 ㎖ 넣어서 세포를 용해시킨 후 100 ㎕의 chloroform 용액을 가하고 잘 섞어준 뒤

Table 1. The sequences of RT-PCR primer

TNF-α	Forward	5 '-GAC TGA CAA GCC TGT AGC CCA TGT TGT AGC A-3'
	Reverse	5 '-GCA ATG ATC CCA AAG TAG ACC TGC CCA GAG-3'
IL-6	Forward	5 '-CCA CAC AGA CAG CCA CTC ACC-3'
	Reverse	5 '-CTA CAT TTG CCG AAG AGC CCT C-3'
COX-2	Forward	5 '-ACT CAC TCA GTT TGT TGA GTC ATT C-3'
	Reverse	5 '-TTT GAT TAG TAC TGT AGG GTT AAT G-3'
iNOS	Forward	5 ′-ACA AGC TGG CCT CGC TCT GGA AAG A-3′,
	Reverse	5 ′-TCC ATG CAG ACA ACC TTG GGG TTG AAG-3′
GAPDH	Forward	5 '-ACC ACA GTC CAT GCC ATC AC-3'
	Reverse	5 '-TCC ACC ACC CTG TTG CTG TA-3'

15,000 rpm에서 15분간 원심 분리하여 상층액을 얻어, 2-propanol과 1:1로 섞은 뒤 15,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 위에 상층액은 버리고 남은 침전물에 80% ethanol로 2회 씻고 침전물을 건조시켰다. 그리고 침전물에 DEPC 처리한 증류수를 15 μl씩 넣어 RNA를 용해시키고 정량하였다. 추출한 RNA는 cDNA Kit를 이용하여 Master mix 11 μL, RNA 1 μg을 튜브에 넣고 PCR machine (Bio-rad, Hercules, CA, USA)에서 cDNA로 합성하였다. 그 후에 PCR machine을 이용하여 Reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR)은 2X Taq PCR Pre-Mix kit를 사용해 각각의 튜브에 합성한 cDNA를 1 μL 넣고 95℃에서 2분 반응시켰다. 그 후에 95℃에서 20초 합성 후, 각각 primer 합성 조건에 따라서 iNOS는 50℃, cyclooxygenase (COX)2는 55℃, TNF-α 는 60℃, IL-6는 65℃, glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (GAPDH)는 60℃에서 40초 후, 72℃에서 1분 합성하였으며 primer 발현조건에 따라서 iNOS는 30 cycle, COX-2는 40 cycle, TNF-α는 30 cycle, IL-6는 25 cycle, GAPDH 30 cycle 반복하였으며, 마지막으로 72℃에서 5분간 합성하였다. 사용한 primer는 다음과 같다 (Table 1). PCR 반응이 끝난 후 1% agarose gel에 10 μL씩을 넣고 전기영동한 후에 mRNA 발현 정도를 확인하였다.

3) 효소 면역 측정법 (ELISA)

전염증성 사이토카인의 염증매개물질은 세포 상층액에서 Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)법으로 정량하였다. ELISA는 BD pharmingen (CA, USA)에서 Human ELISA kit for PGE_2, IL-6, TNF-α를 구입하여 시행하였다.

4) Western blot 분석

세포를 획득하여 RIPA lysis buffer를 넣어 단백질을 lysis 시켜서 원심분리 (15,000 rpm, 20 min)하여 pellet을 가라앉히고 단백질을 정량하였다. 동일한 양의 단백질을 샘플링 버퍼 (4X)를 같이 넣어 섞은 다음 샘플을 전기영동 한 후 membrane에 옮기고 나서 5% skim milk로 2 시간 blocking 하였다. 단백질 발현은 ECL detection 용액 (Amersham)으로 확인하였다.

5) 통계처리

모든 실험 결과는 3회 이상 실시하여 그 평균값을 기초로 Mean ± S.E. 로 나타내었다. 실험결과에 대한 통계처리는 SPSS 분석프로그램의 one way ANOVA 분석 후least-significant differences (LSD) test로 사후검증을 실시하였고, p-value가 0.05 미만일 경우 유의한 것으로 판정하였다.

Ⅲ. 결 과

1. 해죽순 물 추출물의 HaCaT 세포에 대한 독성

HaCaT 세포에 해죽순 물 추출물을 1, 5, 10, 20, 50, 100, 200, 250 및 500 μg/ mL의 농도로 처리하여 24시간 동안 배양한 후, 세포 생존율을 관찰하였다. 그 결과, 해죽순 물 추출물은 50 μg/ml농도까지는 유의성 있는 세포 독성을 보이지 않았고, 100 μg/ml농도에서 부터는 유의성 있게 세포 독성을 보였다. 이에 50 μg/ml 이하의 농도를 이 연구의 유효 농도로 설정하였다 (Fig. 1).

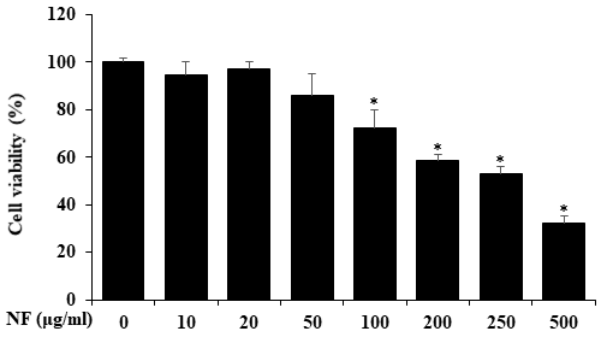

Fig. 1. Effect NF water extract on cytotoxity in HaCaT cells. HaCaT cells were incubated with NF water extract as indicated concentration. After 24h, cell viability was measured by MTT assay as described in materials and methods. The similar results were obtained from three additional experiments. *$P<0.05$: significant as compared to saline

2. 해죽순 물 추출물이 hTNF-α로 유도된 염증성 매개물질 생성에 미치는 영향

HaCaT 세포에 해죽순 물 추출물을 1, 10, 20, 및 50, μg/ mL의 농도로 1시간 전처리하고, hTNF-α 로 24시간 동안 자극 후, iNOS, COX-2, PGE_2의 변화를 관찰하였다. 그 결

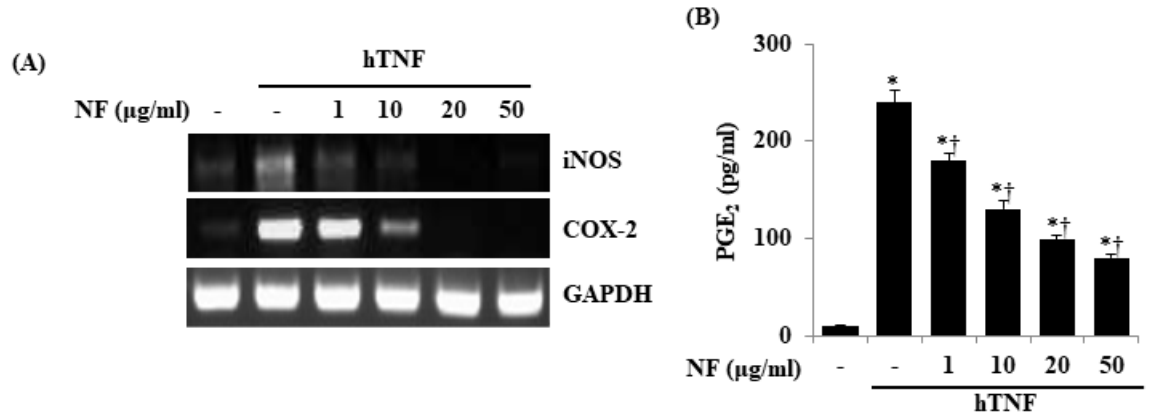

Fig. 2. Effect NF water extract on hTNF-α induced iNOS, COX2 and PGE2 production in HaCaT cells. The cells were pre-treated with or without NF water extract for 1 h, and then incubated with hTNF-α (10 ng/mL) for 24 h. (A) mRNA expression of iNOS, and COX-2 were measured by RT-PCR, and (B) protein expression of PGE_2 were measured by ELISA. Detail methods were described Materials and Methods. The similar results were obtained from three additional experiments. $^{*}P<0.05$: significant as compared to saline alone, $^{+}P<0.05$: significant as compared to hTNF-α alone.

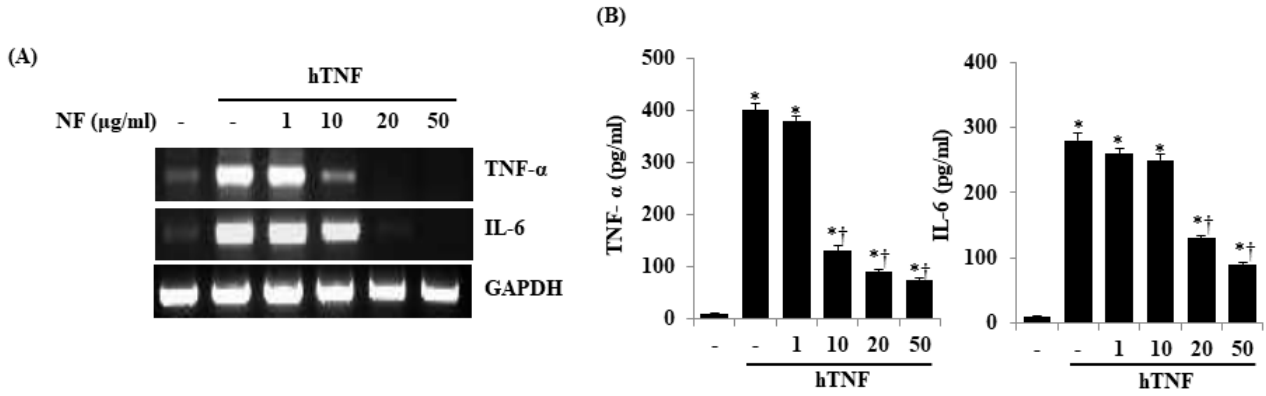

Fig. 3. Effect NF water extract on hTNF-α induced TNF-α and IL-6 production in HaCaT cells. The cells were pre-treated with or without NF water extract for 1 h, and then incubated with hTNF-α (10 ng/mL) for 24 h. (A) mRNA expression of TNF-α, and IL-6 were measured by RT-PCR, and (B) protein expression of TNF-α, and IL-6 were measured by ELISA. Detail methods were described Materials and Methods. The similar results were obtained from three additional experiments. $^{*}P<0.05$: significant as compared to saline alone, $^{+}P<0.05$: significant as compared to hTNF-α alone

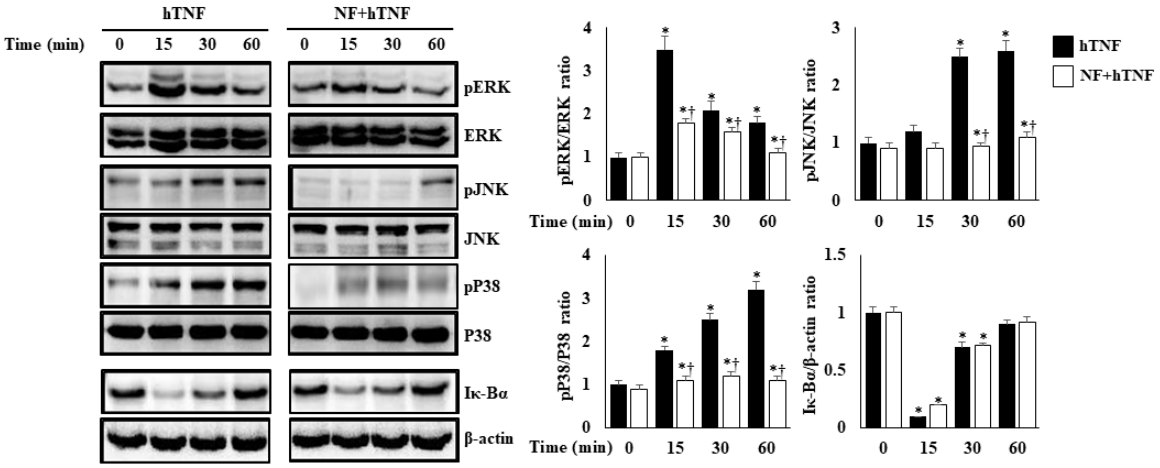

Fig. 4. Effects of NF water extract on the activation of MAPKs and the degradation of Iκ-Bα in HaCaT cells. The cells were pre-treated with or without NF water extract for 1 h, and then incubated with hTNF-α (10 ng/mL) for indicated times. Quantitative analysis of western blot is indicated by left graphs. Detail methods were described Materials and Methods. The similar results were obtained from three additional experiments. $^{*}P<0.05$: significant as compared to saline alone, $^{+}P<0.05$: significant as compared to hTNF-α alone

과, 정상군에 비하여 hTNF-α를 처리한 군에서 염증반응 매개물질인 iNOS, COX-2의 생성이 mRNA 수준에서 증가되었다 (Fig. 2A). 그러나 해죽순 물 추출물 처리에 의하여 hTNF-α로 인한 iNOS, COX-2 증가가 mRNA 수준에서 농도 의존적으로 감소하였다 (Fig. 2A). 또한, hTNF-α 의하여 증가한 PGE_2의 생성도 해죽순 물 추출물에 의하여 억제되었다.

3. 해죽순 물 추출물이 hTNF-α로 유도된 전염증성 사이토카인 생성에 미치는 영향

HaCaT 세포에 해죽순 물 추출물을 1, 10, 20, 및 50, μg/mL의 농도로 1시간 전처리하고, hTNF-α로 24시간 동안 자극 후, TNF-α, IL-6의 변화를 관찰하였다. 그 결과, 정상군에 비하여 hTNF-α를 처리한 군에서 염증반응 매개물질인 TNF-α, IL-6의 생성이 mRNA 및 단백질 수준에서 증가되었다 (Fig. 3A). 그러나 해죽순 물 추출물 처리에 의하여 hTNF-α로 인한 TNF-α, IL-6 생성이 mRNA 및 단백질 수준에서 농도 의존적으로 감소하였다 (Fig. 3A and B).

4. 해죽순 물 추출물이 MAPKs 활성 및 Iκ-Bα 분해에 미치는 영향

HaCaT 세포에 해죽순 물 추출물을 50 μg/ mL의 농도로 1시간 전처리하고, hTNF-α로 세포 자극 후, MAPKs 활성과 Iκ-Bα 분해(degradation)를 관찰하였다. 그 결과, hTNF-α를 활성화된 MAPKs가 해죽순 물 추출물에 의하여 억제되었으나, NF-κB 활성에 따른 Iκ-Bα의 degradation에 대하여 해죽순 물 추출물은 유의한 억제효과를 보여주지 못했다.

Ⅳ. 고 찰

해죽순은 니파팜, 니파야자라고 부르기도 하며, 최근 차세대 항산화 식품으로 각광받는 식물이다. 솟아서 자라는 모습이 죽순을 닮았다고 하여 우리나라에서는 해죽순으로 명명되었다. 국내에서는 생소한 소재이지만, 동남아시아 등지에서는 활발하게 연구가 되고 있는 소재이다. 해죽순을 이용하여, 항산화 효능을 보일 수 있는 폴리페놀 및 활성성분 연구도 활발하며, 혈당억제, 인지개선 효과도 탁월하다고 보고되어있다[12, 13, 15]. 최근 본 연구팀은 해죽순 물 추출물의 항염증 효과를 보고한 바가 있으며[14], 그 연구 결과를 바탕으로 해죽순 물 추출물이 피부 염증 개선에 유의성 있는 효과가 있을 것으로 판단되어 본 연구를 진행하였다. 연구를 진행한 결과, 해죽순 물 추출물은 각질형성세포 염증 시 발생하는 다량의 염증성 매개물질을 억제하였고, 또한 염증성 매개물질 조절하는 주요 기전인 MAPKs를 억제하는 것을 발견할 수 있었다.

피부의 염증반응은 다양한 매개인자들에 의하여 조절되며, 그중 NO synthase (NOS)와 COX는 염증반응 매개물질인 NO와 PGE_2를 각각 생성하는 대표적인 효소(enzyme)이다[16, 17]. NOS중 iNOS는 피부각질 형성세포에서 생성되며, 염증 반응상태에서 iNOS에 의해 생성된 NO는 혈관 투과성, 부종 등을 증가시킬 뿐만 아니라, COX-2와 같이 TNF-α/IL-6와 같은 염증성 사이토카인에 의해 발현이 증가되어 피부 염증을 유발 한다[18]. 실제로 피부 노화, 아토피성 피부염, 건성 등과 같은 피부 염증 질환에서 전염증성 사이토카인인 TNF-α와 IL-6가 다량 발현된다[5]. 따라서 피부 염증 반응 시, 각질형성세포에서 분비되는 전염증성 사이토카인 및 염증성 매개물질의 조절 및 억제는 염증 반응 및 염증 질환에서 중요하다. 본 연구에서는 해죽순 물 추출물을 전 처리한 후 TNF-α로 각질형성세포를 자극하였을 때, 전염증성 사이토카인 및 염증성 매개물질이 억제되었다. 이는 대식세포 염증 시 해죽순이 염증성 매개물질 및 전염증성 사이토카인을 억제했던 것과 비슷한 결과로[14], 해죽순 물 추출물이 대식세포 염증 외에도 피부 염증 반응 억제에 유익한 효과가 있음을 보여준다 (Fig. 2 and 3).

염증 반응이 진행되면 염증성 매개물질 및 전염증성 사이토카인들의 발현에 관여하는 염증신호전달 전사인자인 MAPKs (ERK, JNK, p38)와 NF-κB가 활성화 된다[19]. 외부 자극에 의하여 염증 반응이 진행되면, MAPKs 기전은 phosphorylation 되며 활성화되어 염증성 매개물질 및 전염증성 사이토카인을 분비하게 되고, NF-κB 기전은 세포질 내의 Iκ-Bα가 degradation과 동시에 Iκ-Bα와 결합하고 있던 p65와 p50이 세포질에서 세포핵 내로 이동하게 되면서 NF-κB 활성화가 일어나고 염증반응을 촉진하게 된다[20, 21]. 따라서 MAPKs와 NF-κB의 활성을 조사하는 것은 염증성 매개물질 및 전염증성 사이토카인 발현 기전 조사에 있어서 아주 중요하며, 실제로 최근 한 연구에서 피부 염증에서 MAPK의 중요성을 보고하였다[22]. 본 연구에서는 hTNF-α를 HaCaT세포에 처리하였을 때, MAPKs의 phosphorylation와 Iκ-Bα의 degradation 을 통해 MAPKs와 NF-κB의 활성이 일어남을 알 수 있었다 (Fig. 4). 하지만 MAPKs 인산화 및 활성이 해죽순 물 추출물 투여로 인하여 억제됨을 발견하였고, 이는 해죽순 물 추출물이 MAPKs 억제를 통해 염증성 매개인자 및 전염증성 사이토카인을 억제할 수 있었음을 추측할 수 있었다.

이상의 결과를 종합하면, 해죽순 물 추출물은 MAPKs의 활성 억제를 통해 iNOS, COX-2, PGE_2와 TNF-α, IL-6의 생성을 억제하였다. 피부 염증 질환의 치료약 개발이 미비한 상황에서, 해죽순을 이용하여 항염증 효과를 처음 보고한 것은 큰 의미가 있다고 생각된다. 추후, 해죽순의 피부 세포 보호를 기반으로 아토피 등 염증성 피부 질환 동물실험 및 기타 염증 모델에 응용하여 추가적으로 연구할 가치가 있다고 사료된다.

Ⅴ. 결 론

사람각질형성세포 HaCaT세포에 TNF-α로 염증 반응을 일으켰을 때, 해죽순 물 추출물의 항염증 효과와 항염증 기전을 조사하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 해죽순 물 추출물은 HaCaT세포에서 50 μg/ml이하의 농도에서 세포독성을 나타내지 않았다.
2. 해죽순 물 추출물은 HaCaT세포에서 iNOS, COX-2, PGE_2

의 생성을 억제하였다.
3. 해죽순 물 추출물은 HaCaT세포에서 IL-6, TNF-α와 같은 전염증성 cytokine의 생성을 억제하였다.
4. 해죽순 물 추출물은 HaCaT세포에서 MAPK의 활성을 억제하였다.

이상의 결과는 해죽순 물 추출물이 HaCaT 세포에서 MAPKs의 활성 억제를 통하여 iNOS, COX-2, PGE_2와 TNF-α, IL-6의 생성을 억제하였음을 보여준다. 해죽순은 추후 다양한 피부 염증 질환에 응용하여 화장품 및 질병 치료제 개발에 응용될 수 있다고 사료된다.

감사의 글

본 연구는 2017년도 원광대학교 교비지원에 의해 수행되었으므로 이에 감사드립니다.

References

1. Athar M. Oxidative stress and experimental carcinogenesis. Indian J. Exp. Biol. 2002 ; 40 : 656-667.
2. Kim NM, Koo BS, Lee SK, Hwang EI, So SH, Do JH, Effect of Korean red ginseng on collagen biosynthesis and MMP-I activity in human dermal fibroblast. J. Ginseng Res. 2007 ; 31 : 86-92.
3. Beissert S, Cavazzana I, Mascia F, Meroni P, Pastore S, Tessari G, Girolomoni G. Mechanisms of immune-mediated skin diseases: an overview. Clin. Exp. Rheumatol. 2006 ; 24 : S1-6.
4. Seo SH, Bae GS, Choi SB, Jo IJ, Kim DG, Shin JY, Song HJ, Park SJ, Choi MO. The antioxidative and cytoprotective effect of Lonicerae japonicae Flos water extracts on the ultraviolet(UV)B-induced human HaCaT keratinocyte. Kor. J. Herbology. 2014 ; 29(6) : 63-71.
5. Kwon DJ. Bae YS, Ju SM, Goh AR, Choi SY, Park J. Casuarinin suppresses TNF-α-induced ICAM-1 expression via blockade of NF-κB activation in HaCaT cells. Biochem. Biophys. Res. Commun. 2011 ; 409 : 780-85.
6. Gates T. Atopic dermatitis : diagnosis, treatment, and aeromedical implications. Aviat. Space Environ. Med. 2007 ; 78 : 29-37.
7. Jo IJ, Kim MS, Kim KY. Anti-inflammatory Effect of Nardostachys jatamansi on TNF-alpha-induced Inflammatory Response in HaCaT Cells. J. Invest. Cosmetol. 2017 ; 13(4) : 321-329.
8. Seo SH, Choi MO. Protectvie effects of Lonicerae Japonicae Flos against hydrogen peroxidase-induced oxidative stress on Human keratinocyte, HaCaT cells. Kor. J. Herbology. 2013 ; 28(4) : 57-62.
9. Kim BA. Anti-inflammation effect of extract from Zostera marina using UVB-induced damage on keratinocytes. Kor J. Herbology. 2016 ; 31(4) : 87-91.
10. Tamunaidu P, Saka S. Chemical characterization of various parts of nipa palm (Nypa fruticans). Ind. Crop Prod. 2011 ; 34: 1423-28.
11. Tang SY, Hara S, Melling L, Goh KJ, Hashidoko Y. Burkholderia vietnamiensis isolated from root tissues of nipa palm (Nypa fruticans) in Sarawak, Malaysia, proved to be its major endophytic nitrogen-fixing bacterium. Biosci. Biotech. Bioch. 2010 ; 74(9) : 1972-7.
12. Prasad N, Yang B, Kong KW, Khoo HE, Sun J, Azlan A, Ismail A, Romli ZB. Phytochemicals and Antioxidant Capacity from Nypa fruticans Wurmb. Fruit. Evid-Based Compl. Alt. 2013 ; 2013 : 154606.
13. Yusoff NA, Ahmad M, Al-Hindi B, Widyawati T, Yam MF, Mahmud R, Razk KN, Asmawi MZ. Aqueous Extract of Nypa fruticans Wurmb. Vinegar Alleviates Postprandial Hyperglycemia in Normoglycemic Rats. Nutrients. 2015 ; 7(8) : 7012-26.
14. Bae GS, Park SJ. The Anti-inflammatory Effect of Nypa fruticans Wurmb. Fruit on Lipopolysaccharide-induced Inflammatory response on RAW 264.7 cells. Kor. J. Herbology. 2016 ; 31(5) : 79-84.
15. Reza H, Haq WM, Das AK, Rahman S, Jahan R, Rahmatullah M. Anti-hyperglycemic and antinociceptive activity of methanol leaf and stem extract of Nypa fruticans Wurmb. Pak. J. Pharm. Sci. 2011 ; 24(4) : 485-8.
16. Cho NJ, Lee BK, Lee WH, Kim KK, Kim KE, Han HS. Investigation of the effect of Lithospermi Radix on tight-junction related genes in HaCaT cells. Kor. J. Herbology. 2017 ; 32(3) : 55-61,
17. Hur S, Lee YS, Yoo H, Yang JH, Kim TY. Homoi-soflavanone inhibits uvb-induced skin inflammation through reduced cyclooxygenase-2 expression and nf-kappab nuclear localization. J. Dermatol. Sci. 2015 ; 59 : 163-9.
18. Sirsjö A, Karlsson M, Gidlöf A, Rollman O, Törmä H. Increased expression of inducible nitric oxide synthase in psoriatic skin and cytokine-stimulated cultured keratinocytes. Br. J. Dermatol. 1996 ; 134 : 643-48.
19. Zhang M, Zhou J, Wang L, Li B, Guo J, Guan X, Han Q, Zhang H. Caffeic acid reduces cutaneous tumor necrosis factor alpha (TNF-α), IL-6 and IL-1β levels and ameliorates skin edema in acute

and chronic model of cutaneous inflammation in mice. Biol. Pharm. Bull. 2014 ; 37 : 347-54.
20. Cobb MH, Goldsmith EJ. Dimerization in map-kinase signaling. Trends Biochem. Sci. 2000 ; 25 : 7-9.
21. Celec P. Nuclear factor kappa b-molecular biomedicine: the next generation. Biomed. Pharmacother. 2004 ; 58 : 365-71.
22. Qi T, Huan Y, Enmie L, Hya W. P38/ERK MAPK signaling pathways are involved in the regulation of filaggrin and involucrin by IL-17. Mol, Med. Rep. 2017 ; 16(6) : 8863-7.