

Atorvastatin and Fluvastatin Can Reduce IL-1 β -induced Inflammatory Responses in Human Keratinocytes

Yeong-In Choe¹, Kyoung Mi Moon¹, Jae Cheal Yoo¹, June-Ho Byun², Sun-Chul Hwang³, Dong Kyu Moon^{3*} and Dong Kyun Woo^{1*}

¹College of Pharmacy and Research Institute of Pharmaceutical Sciences, Gyeongsang National University, Jinju 52828, Korea

²Department of Oral and Maxillofacial Surgery and Institute of Health Sciences, School of Medicine and Hospital, Gyeongsang National University, Jinju 52727, Korea

³Department of Orthopedic Surgery and Institute of Health Sciences, School of Medicine and Hospital, Gyeongsang National University, Jinju 52727, Korea

Received January 12, 2021 / Revised April 2, 2021 / Accepted April 14, 2021

Skin inflammation (dermatitis) is caused by varying skin damage due to ultraviolet radiation and microbial infection. Currently prescribed drugs for dermatitis include anti-histamine and steroid drug classes that soothe inflammation. However, incorrect or prolonged use of steroids can cause weakening of skin barriers as well as osteoporosis. Therefore, treating dermatitis with a drug that has minimal side effects is important. Statins, also known as 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase inhibitors, are cholesterol-lowering drugs that have been widely treated for hyperlipidemia and cardiovascular diseases. Interestingly, recent studies have shown the anti-inflammatory effects of statins in both experimental and clinical models for osteoarthritis. This study investigated the possible anti-inflammatory effects of atorvastatin and fluvastatin in human keratinocytes (HaCaT cells), which are crucial components of skin barriers. Stimulation of HaCaT cells with IL-1 β increased the expression of the COX2 protein, a major player of inflammatory responses. However, this induction of the COX2 protein was downregulated by pretreatments with atorvastatin and fluvastatin. Treatment with IL-1 β -induced the upregulation of other inflammatory genes (such as iNOS and MMP-1) and these expressions were similarly lowered by these two statin drug treatments. Taken together, these results indicated that atorvastatin and fluvastatin can reduce IL-1 β -induced inflammatory responses in HaCaT cells. In conclusion, the findings suggest that atorvastatin and fluvastatin can be potential modulators for ameliorating skin inflammation.

Key words : Atorvastatin, fluvastatin, inflammation, keratinocyte, skin

서 론

Statin은 고지혈증과 심혈관질환에서 혈청 콜레스테롤(cholesterol) 수치를 낮추기 위해 처방되고 있는 약물이다[3, 5, 11]. Statin은 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA 환원효소의 경쟁적 억제제로 콜레스테롤 생합성 경로를 저해한다. 흥미롭게도, 최근 여러 연구에서 statin은 혈청 콜레스테롤 수준을 낮추는 효능에 더하여 항염증 효과가 있는 것으로 보고되고 있다[1, 3, 14]. Statin은 interleukin-1 β (IL-1 β), tumor necrosis factor- α (TNF- α) 등의 염증성 사이토카인(pro-inflammatory cy-

tokines) 자극에 대한 세포내 신호전달 물질인 NF- κ B 및 API의 활성을 억제함으로써, 염증반응을 매개하는 cyclooxygenase2 (COX2), inducible nitric oxide synthase (iNOS), matrix metalloproteinases (MMPs) 유전자 발현을 감소시키는 것으로 보고되고 있다[4, 16, 25]. 이러한 statin 계열 약물의 항염증 효과는 골관절염에 대한 여러 실험모델 및 임상모델 연구에서 활발히 보고되고 있으나, 피부염에서 statin 약물의 항염증 효능을 분석한 연구는 아직 미비한 실정이다[8, 11, 14, 26].

피부는 신체의 가장 큰 주변 기관이며, 외부 환경에 대한 보호 장벽을 만드는 것이 주요 기능이다[13]. 다양한 물리적/화학적 자극과 병원미생물 감염으로 야기되는 자극에 기인하여 피부 장벽의 손상이 발생하게 되면 피부 건조와 염증반응이 유도된다[19, 27, 29]. 인체의 피부 장벽을 구성하는 대표적인 세포인 각질형성세포(keratinocyte)는 피부조직 손상으로 유도되는 IL-1 β , TNF- α 등의 염증성 사이토카인에 반응함으로써 보호적인 면역반응에 관여한다. 그러나 지속적이거나 과도한 피부 손상은 결국 피부염을 유발하여 각종 피부질환으로 발전하게 된다[9, 30]. 각질형성세포는 초기 피부조직 손상으

*Corresponding authors

Tel : +82-55-772-2428, Fax : +82-55-772-2429

E-mail : dongkyun.woo@gnu.ac.kr (Dong Kyun Woo)
sidero17@hanmail.net (Dong Kyu Moon)

This is an Open-Access article 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.

로 유도된 IL-1 β 와 TNF- α 에 반응하여, 세포 내의 NF- κ B를 포함하는 일련의 신호전달과정을 통해 COX2, iNOS, MMPs 등과 같은 주요 염증 관련 유전자의 발현을 증가시킨다[10, 12, 13, 18]. COX2와 iNOS 단백질은 각각 염증반응 매개체인 prostaglandin E2 및 nitric oxide를 생성하여 염증반응을 매개하고 증폭함으로써 피부질환을 일으킬 수 있다[4, 22, 23, 28]. MMP 단백질은 세포외 기질(extracellular matrix)을 가수분해하는 효소로서, 염증반응 시 피부조직의 remodeling에 관여한다[25]. Collagenase-1으로 알려진 MMP-1은 collagen 섬유를 분해하여, 피부 장벽에 영향을 미치는 결합조직을 분해하는 것으로 알려져 있다[17, 24].

최근 들어 피부염 및 피부질환의 발병률은 지속적으로 증가하고 있으며, 치료제로 항히스타민제나 스테로이드제가 처방되고 있다[7, 20]. 그러나 이러한 약물의 장기 복용은 피부 장벽 약화 및 골다공증 발생 등의 부작용을 일으키는 것으로 보고되고 있다[7, 20]. 따라서 부작용이 적으며 항염증 및 항산화 등의 효능을 가진 새로운 피부질환 치료 약물을 발굴하는 연구가 활발히 진행되고 있다[19, 27]. 앞서 언급되었듯이, 최근 들어 statin 계열 약물이 갖는 항염증 효과가 골관절염 질환 연구에서 꾸준히 보고되고 있다. 그러나 피부염에서 statin의 항염증 효능에 대한 연구는 다소 미비한 실정이다[14, 21, 26]. 특히, 피부 장벽의 주요 구성 세포인 피부각질형성세포에서 statin의 항염증 효능에 관한 보고는 아직 발표되지 않고 있다. 따라서, 본 연구에서는 인체 각질형성세포주인 HaCaT 세포주를 이용하여, IL-1 β 에 의해 유도되는 염증반응에 대한 statin (atorvastatin 그리고 fluvastatin) 약물의 억제 효능을 분석하였다.

재료 및 방법

실험시료(reagents)

본 연구에 사용된 atorvastatin과 fluvastatin은 Sigma-Aldrich (St. Louis, USA)로부터 구입하였으며, Chemsketch software (ACD Labs, Toronto, Canada)을 사용하여 생성한 각각의 statin 약물에 대한 화학구조와 특성은 Table 1에 제시하였다. IL-1 β 는 Peprotech (Rocky Hill, USA)으로부터 구입하였다. Anti-COX2 (sc-376861) antibody는 Santa Cruz Biotechnology (Dallas, USA) 그리고 anti- β -Actin (A5441) antibody는 Sigma-Aldrich (St. Louis, USA)로부터 각각 구입하였다.

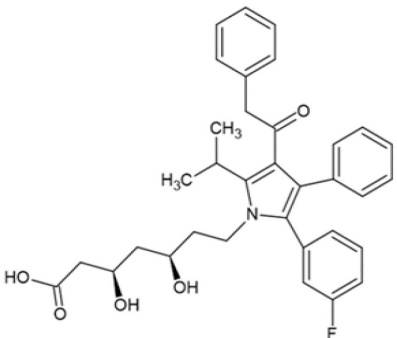
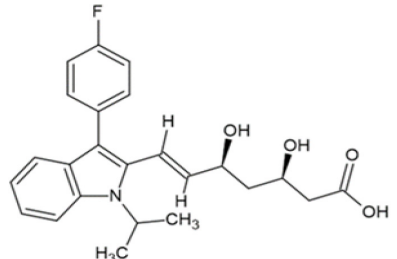
HaCaT 세포주의 세포배양

사람 각질형성세포주인 HaCaT 세포의 세포배양은 10% fetal bovine serum과 1% penicillin/streptomycin이 첨가된 Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM배양액)을 사용하여 통상적인 37 $^{\circ}$ C, 5% CO $_2$ 의 배양조건에서 이루어졌다.

MTT 분석

HaCaT 세포를 24-well plate에 3 \times 10 4 cells/ml의 농도로 seeding한 후 24시간 동안 배양하였다. 이후 배지를 제거한 뒤, atorvastatin 및 fluvastatin 약물을 다양한 농도로 처리한 후 48시간 동안 배양하였다(atorvastatin 처리는 0, 0.5, 1, 2, 5 μ M; fluvastatin 처리는 0, 0.05, 0.5, 1, 2, 5 μ M). 다음으로 통상적인 MTT 분석 반응을 시행하였으며, 각 반응의 결과물에 대해 microplate reader (Molecular Devices, San Jose, USA)를 이용한

Table 1. Structures and characteristics of atorvastatin and fluvastatin

Drug	Structure	Molecular weight	Lipophilicity	References
Atorvastatin		558.6	Yes	[11, 16, 21]
Fluvastatin		411.5	Yes	[2, 15, 26]

흡광도(absorbance) 595 nm를 측정하여 세포독성(cytotoxicity)을 평가하였다.

Protein 추출 및 Western blotting 분석

HaCaT 세포를 6-well plate에 1.5×10^5 cells/ml의 농도로 seeding한 후 24시간 동안 배양하였다. 이후 세포배양액에 atorvastatin (1 μ M 및 2 μ M)과 fluvastatin (0.2 μ M 및 2 μ M)을 12시간 동안 처리하였다. 다음으로 IL-1 β 를 10 ng/ml의 농도로 24시간 동안 처리 후에, NP40 Cell Lysis Buffer (Life Technologies, Carlsbad, USA)를 사용하여 세포용해(cell lysis)를 실시하였다. 여기서 얻어진 cell lysates로부터 단백질을 추출하고, BCA assay를 통해 단백질을 정량하였다. 정량한 단백질(20 μ g)을 10% SDS-polyacrylamide gel에서 전기영동하여 분리한 후에, PVDF membrane에 transfer하였다. 5% skim milk를 사용하여 PVDF membrane을 blocking 한 후에, 1차 항체(anti-COX2 antibody)를 4 $^{\circ}$ C에서 overnight 처리하였다. 다음으로 2차 항체와 반응시키고 ECL kit를 사용하여 chemiluminescence 화학반응으로 COX2 단백질을 검출하였다. 검출된 COX2 단백질의 정량은 imaging system (Microchemi 4.2, Shimadzu, Kyoto, Japan)을 사용하였으며, 정량화된 수치는 Image J software (NIH, Bethesda, USA)을 이용하여 분석하였다.

RNA 추출 및 quantitative PCR (qPCR) 분석

HaCaT 세포를 seeding하여 배양하고, 먼저 atorvastatin 및 fluvastatin을 처리한 후에, IL-1 β 처리로 염증반응을 유도하였다. 이렇게 배양/약물 처리된 세포에서 QIAzol[®] Lysis Reagent (Qiagen, Hilden, Germany)로 total RNA를 추출/분리하였다. Nanodrop 2000c (ThermoFisher Scientific, Waltham, USA)를 사용하여 분리된 RNA를 정량하였다. 다음으로 QuantiTect[®] Reverse Transcription kit (Qiagen, Hilden, Germany)를 사용하여 total RNA (1 μ g)로부터 cDNA를 합성하였다. 이렇게 합성된 cDNA를 qPCR template로 사용하였다. Rotor-Gene Q cycler (Qiagen, Hilden, Germany)를 사용한 qPCR을 실시해 iNOS와 MMP-1 유전자의 mRNA 수준을 분석하였다. qPCR은 먼저 pre-denaturation step (95 $^{\circ}$ C, 10 min)을 실시한 후에, 총 40 회의 cycle [denaturation (95 $^{\circ}$ C, 15 sec), annealing and extension (60 $^{\circ}$ C, 60 sec)]을 반복하였다. qPCR primer의

Table 2. qPCR primers used in this study

Gene	Direction	Sequence (5' - 3')	Species
iNOS	Forward	CCTTACGAGGCGAAGAAGGACAG	Human
	Reverse	CAGTTTGAGAGAGGAGGCTCCG	
MMP-1	Forward	GGGAATAAGTACTGGGCTGTTCAG	Human
	Reverse	CCTCAGAAAGAGCAGCATCGATATG	
β -actin	Forward	CCAACCGCGAGAAGATGA	Human
	Reverse	CCAGAGGCGTACAGGGATAG	

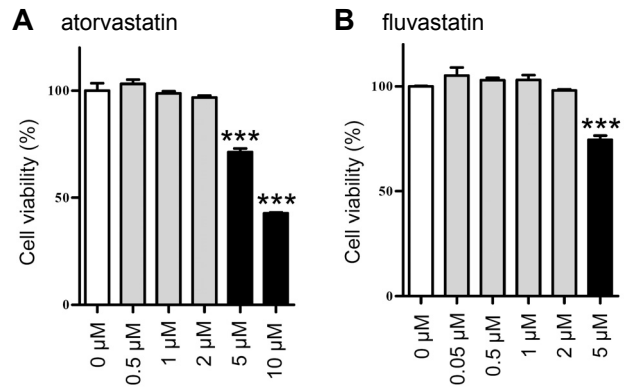


Fig. 1. Effects of atorvastatin and fluvastatin treatments on viabilities of HaCaT cells. Overall, atorvastatin and fluvastatin treatments (up to 2 μ M) do not affect HaCaT cell viability. HaCaT cell viabilities were assessed via MTT assay. *** $p < 0.001$.

염기서열은 Table 2에 제시하였다.

통계분석

모든 실험은 최소한 3회 이상의 독립적인 반복을 실시하였고, 반복실험에서 얻은 결과는 Graphpad Prism 7 software (GraphPad, La Jolla, USA)를 이용하여 분산분석을 수행하였고, 평균 \pm 표준편차로 나타내었다. 각 실험군의 평균값 차이를 통계분석하여 $p < 0.05$ 인 경우에 통계학적으로 유의하다고 판단하였다.

결과 및 고찰

HaCaT 세포의 생존능력에 대한 atorvastatin 그리고 fluvastatin 의 영향 분석

Atorvastatin과 fluvastatin이 HaCaT 세포의 생존능력에 미치는 영향을 알아보기 위하여 MTT 분석을 실시하였다. HaCaT 세포에 atorvastatin (0, 0.5, 1, 2, 5, 10 μ M)이나 fluvastatin (0, 0.05, 0.5, 1, 2, 5 μ M)을 처리하여 2일 동안 배양하였다. 이후 세포독성 분석을 위한 MTT assay를 수행하였고, 각각의 statin을 처리하지 않은 대조군과 비교하였다. 각각의 statin이 HaCaT 세포의 생존능력에 미치는 영향은 Fig. 1에 제시되었다. Atorvastatin은 5 μ M 이상의 농도로 처리할 경우에는

HaCaT 세포에서 뚜렷한 세포독성을 보였다(Fig. 1A). 비슷하게, fluvastatin 약물의 경우에도, 5 μ M 농도 처리는 HaCaT 세포에서 유의한 세포독성을 유발하였다(Fig. 1B). 이러한 세포독성 실험결과를 반영하여, 이후의 실험에서 사용될 atorvastatin 및 fluvastatin 약물 처리 농도는 HaCaT 세포에 뚜렷한 세포독성을 보이지 않는 2 μ M 이하의 농도로 결정하였다.

HaCaT 세포에서 IL-1 β 매개의 COX2 단백질 발현에 대한 atorvastatin 그리고 fluvastatin 의 영향 분석

HaCaT 세포에 대표적인 염증성 사이토카인인 IL-1 β (10 ng/ml)를 처리하여 염증반응을 유도하였다. 이렇게 유도된 HaCaT 세포의 염증반응을 잘 알려진 염증반응 표지자인 COX2 단백질의 발현양을 측정하여 분석하였다. Fig. 2A의 Western blotting assay 실험결과에서 보여지듯, IL-1 β 를 처리하지 않은 대조군에 비해서, IL-1 β 처리는 COX2 단백질의 발현양을 2배 이상 뚜렷하게 증가시켰다. 이러한 실험결과는 HaCaT 세포가 IL-1 β 에 반응하여 COX2 단백질 발현양을 증가시키며 염증반응에 관여함을 제시한다. 흥미롭게도, 이러한 IL-1 β 처리로 유도/증가된 COX2 단백질 발현양은 atorvastatin (1 그리고 2 μ M) 처리로 약 1.5 배 수준으로 감소하는 경향을 보였다(atorvastatin 1 μ M 농도 처리시 $p=0.0514$). 이러한 실험결과는 IL-1 β 처리로 유도된 HaCaT 세포의 염증반응을 atorvastatin 약물 처리로 감소시킬 수 있다는 것을 제시한다. Fluvastatin (Fig. 2B) 약물의 경우에도, IL-1 β 처리는 HaCaT 세포에서 COX2 단백질 발현양을 대조군보다 약 2배 증가시켰다. 이러한 IL-1 β 처리로 유도된 COX2 단백질의 발현양 증가는 fluvastatin (0.2 그리고 2 μ M) 약물 처리로 통계적으로 유의하게 감소됨을 알 수 있었다. 이러한 실험결과를 종합하면, HaCaT 세포는 IL-1 β 에 반응하여 COX2 단백질 발현을 증가시키며 염증반응에 관여함을 알 수 있고, 또한 이러한 염증반응이 atorvastatin과 fluvastatin 약물 처리로 감소될 수 있다는 것이 제시된다.

HaCaT 세포에서 IL-1 β 매개의 iNOS와 MMP-1 유전자 발현에 대한 atorvastatin 그리고 fluvastatin 의 영향 분석

IL-1 β 처리로 유도된, COX2 단백질의 발현양 증가를 포함하는 HaCaT 세포의 염증반응이 다른 염증성 유전자인 iNOS나 MMP-1의 발현 증가를 포함하는지, 또한 그렇다면 IL-1 β 처리로 유도된 iNOS나 MMP-1 유전자의 발현 증가가 atorvastatin 또는 fluvastatin 약물 처리에 의해 다시 감소될 수 있는지에 대한 분석을 수행하였다. 염증성 사이토카인인 IL-1 β (10 ng/ml)를 처리로 염증반응이 유도된 HaCaT 세포에서 total RNA를 추출하였고, qPCR 기법으로 iNOS 및 MMP-1 유전자의 mRNA 양을 분석하였다. Fig. 3A에서 보여지는 바와 같이, IL-1 β 를 처리하지 않은 대조군에 비해서, IL-1 β 처리는 염증성 유전자인 iNOS와 MMP-1의 mRNA 양을 약 2배 증가시켰다. 이러한 결과는 HaCaT 세포가 IL-1 β 에 반응하여 COX2 유전자 이외에도, 다른 염증 관련 유전자인 iNOS와 MMP-1 유전자의 발현도 함께 증가시킴을 보여준다. 앞서 실험결과와 유사하게, 이러한 IL-1 β 처리로 유도/증가된 iNOS 그리고 MMP-1 mRNA 양은 atorvastatin 약물 처리로 유의하게 감소하였다(Fig. 3A). 따라서, 이러한 실험결과는 IL-1 β 처리로 유도된 HaCaT 세포의 염증반응이 atorvastatin 약물 처리로 하향 조절될 수 있다는 것을 제시한다. 비슷하게 Fig. 3B에서, IL-1 β 처리로 증가된 iNOS와 MMP-1의 mRNA 양이 fluvastatin 약물 처리로 통계적으로 유의하게 다시 감소됨을 관찰할 수 있다. 종합하면, HaCaT 세포는 IL-1 β 에 반응하여 iNOS 및 MMP-1 유전자 발현을 증가시키며 염증반응에 관여함을 알 수 있고, 또한 이러한 염증반응이 atorvastatin과 fluvastatin 약물 처리로 저해될 수 있다는 것이 제시된다.

HaCaT 세포에서 statin 계열 약물이 갖는 항염증 효능

최근 들어 피부염 및 피부질환의 발병은 지속적으로 증가하고 추세이다. 그러나 현재 처방되는 관련 치료제는 다양한 부작용을 포함한다. 예를 들어, 기존 치료제는 골다공증, 골괴사,

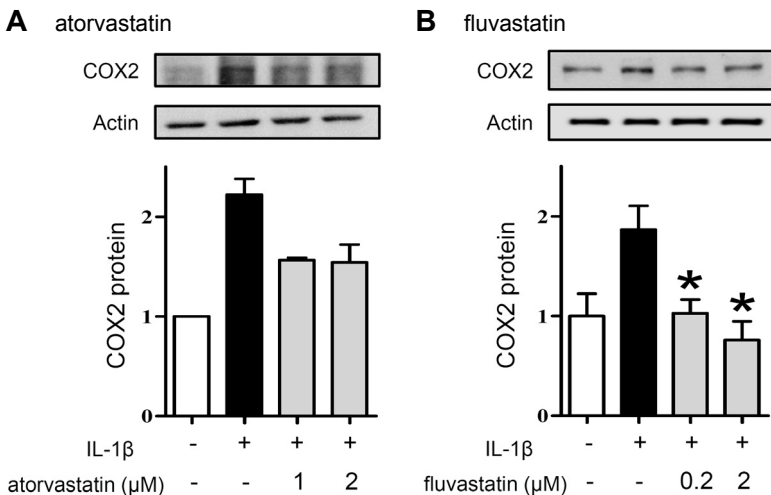


Fig. 2. Effects of atorvastatin and fluvastatin on inflammatory COX2 protein levels in HaCaT cells treated with IL-1 β . A representative Western blotting image of the COX2 protein and a quantitative plot from independent experiments are shown. Actin protein was used as a loading control. * $p < 0.05$. (A) atorvastatin and (B) fluvastatin.

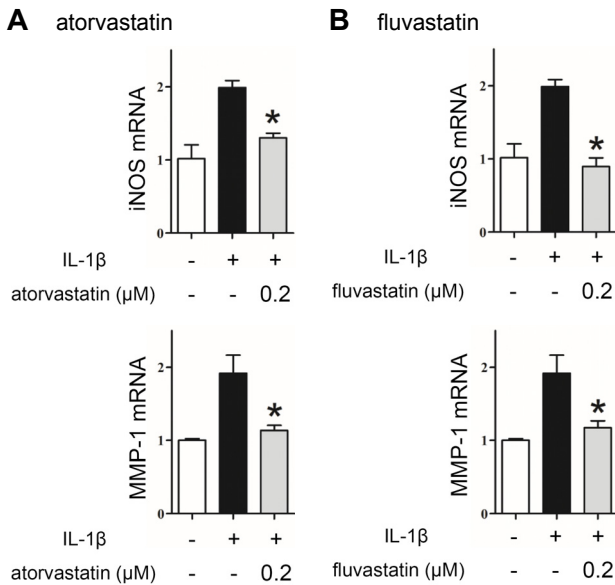


Fig. 3. Effects of atorvastatin and fluvastatin on iNOS and MMP-1 mRNA levels in HaCaT cells treated with IL-1 β . Plots generated from independent qPCR experiments are presented to show relative iNOS or MMP-1 mRNA levels in response to IL-1 β /atorvastatin or IL-1 β /fluvastatin treatments in HaCaT cells. Actin was used as a reference gene for quantification. * p <0.05. (A) atorvastatin and (B) fluvastatin.

근육병증, 소화성 궤양, 동맥경화증, 이상지질혈증 등의 질환에 영향을 미친다는 보고가 있다[6, 7, 20]. 따라서 이러한 부작용이 적으며 항염증 및 항산화 등의 효능을 가진 치료약물을 개발 및 발굴하는 연구가 주목받고 있다[19, 26, 30]. 본 연구는 고지혈증 치료에 사용되는 statin 계열 약물인 atorvastatin 과 fluvastatin 을 사용하여 HaCaT 세포주에서의 항염 효과를 처음으로 분석하였다. 피부 장벽의 주요 구성 세포인 피부각질 세포의 염증반응을 조절하는 atorvastatin 과 fluvastatin 약물의 효과는, 향후 후속연구가 진행된다면, 피부질환의 치료에 적용될 수 있을 것이라 기대된다. 이에 더하여, statin 은 고지혈증 및 심혈관질환 치료에 널리 처방되는 약물이라 안전성이 확보된 장점이 있다[1, 3, 5, 11]. 요약하면, 본 연구는 atorvastatin과 fluvastatin 약물이 COX2, iNOS, 그리고 MMP-1 등의 염증성 유전자 발현을 감소시킴으로써 HaCaT 세포에서 IL-1 β 처리로 유도된 염증반응을 저해할 수 있음을 보여주었다. 따라서, 본 연구결과는 atorvastatin과 fluvastatin 약물이 갖는 피부염증 완화제 혹은 치료제로의 응용성을 제시한다.

감사의 글

본 연구는 교육부와 미래창조과학부의 재원으로 한국연구재단의 지원(과제번호: NRF-2019R1F1A1060013 및 NRF-2020R1C1C1008973)을 받아 이루어졌으며 이에 대해 감사드립니다.

The Conflict of Interest Statement

The authors declare that they have no conflicts of interest with the contents of this article.

References

1. Abeles, A. M. and Pillinger, M. H. 2006. Statins as anti-inflammatory and immunomodulatory agents: a future in rheumatologic therapy? *Arthritis Rheum.* **54**, 393-407.
2. Adams, S. P., Sekhon, S. S., Tsang, M. and Wright, J. M. 2018. Fluvastatin for lowering lipids. *Cochrane Database Syst. Rev.* **3**, CD012282.
3. Akasaki, Y., Matsuda, S., Nakayama, K., Fukagawa, S., Miura, H. and Iwamoto, Y. 2009. Mevastatin reduces cartilage degradation in rabbit experimental osteoarthritis through inhibition of synovial inflammation. *Osteoarthritis Cartilage* **17**, 235-243.
4. Aktan, F. 2004. iNOS-mediated nitric oxide production and its regulation. *Life Sci.* **75**, 639-653.
5. Arnaud, C., Braunersreuther, V. and Mach, F. 2005. Toward immunomodulatory and anti-inflammatory properties of statins. *Trends Cardiovasc. Med.* **15**, 202-206.
6. Cha, W. S., Kim, Y. S., Shin, H. J. and Yoo, J. H. 2010. The effect of complex mushroom extracts on the improvement in skin conditions with atopic dermatitis and acne symptoms. *Biotechnol. Bioprocess Eng.* **2010**, 220-221.
7. Choi, E. J., Kim, E. K., Ji, Y. S. and Lee, C. J. 2015. Inhibitory effect of mushrooms extract on TNF- α /INF- γ induced-cytokine in human keratinocytes, HaCaT. *J. Mushrooms* **13**, 170-174.
8. Gkretsi, V., Simopoulou, T. and Tsezou, A. 2011. Lipid metabolism and osteoarthritis: lessons from atherosclerosis. *Prog. Lipid Res.* **50**, 133-140.
9. Haw-Yueh, Thong. and Howard, I. Maibach. 2008. Irritant dermatitis as a model of inflammation. *Drug Discov. Today Dis. Mech.* **5**, 1740-6765.
10. Herouy, Y., Mellios, P., Bandemir, E., Dichmann, S., Nockowski, P., Schöpf, E. and Norgauer, J. 2001. Inflammation in stasis dermatitis upregulates MMP-1, MMP-2 and MMP-13 expression. *J. Dermatol. Sci.* **25**, 198-205.
11. Hosseinzadeh, A., Bahrampour Juybari, K., Kamarul, T. and Sharifi, A. M. 2019. Protective effects of atorvastatin on high glucose-induced oxidative stress and mitochondrial apoptotic signaling pathways in cultured chondrocytes. *J. Physiol. Biochem.* **75**, 153-162.
12. Ishida, H., Ray, R. and Ray, P. 2008. Sulfur mustard downregulates iNOS expression to inhibit wound healing in a human keratinocyte model. *J. Dermatol. Sci.* **49**, 207-216.
13. Jana, J., Jana, F. and Jitka, U. 2017. The role of keratinocytes in inflammation. *J. Appl. Biomed.* **15**, 169-179.
14. Jowkar, F. and Namazi, M. R. 2010. Statins in dermatology. *Int. J. Dermatol.* **49**, 1235-1243.
15. Jouneau, S., Bonizec, M., Belleguic, C., Desrués, B., Brinchault, G., Galaine, J., Gangneux, J. P. and Martin-Chouly,

- C. 2011. Anti-inflammatory effect of fluvastatin on IL-8 production induced by *Pseudomonas aeruginosa* and *Aspergillus fumigatus* antigens in cystic fibrosis. *PLoS One* **6**, e22655
16. Juybari, K. B., Hosseinzadeh, A. and Sharifi, A. M. 2019. Protective effects of atorvastatin against high glucose-induced nuclear factor- κ B activation in cultured C28I2 chondrocytes. *J. Recept. Signal Transduct. Res.* **39**, 1-8.
 17. Kähäri, V. M. and Saarialho-Kere, U. 1997. Matrix metalloproteinases in skin. *Exp. Dermatol.* **6**, 199-213.
 18. Kang, S. H. and Kim, G. J. 2013. Effects of Lithospermum erythrorhizon on the cytokine gene expression in human keratinocytes. *J. Kor. Med. Ophthalmol. Otolaryngol Dermatol.* **26**, 50-62.
 19. Kim, S. B., Kang, O. H., Joung, D. K., Mun, S. H., Seo, Y. S., Cha, M. R., Ryu, S. Y., Shin, D. W. and Kwon, D. Y. 2013. Anti-inflammatory effects of tectroside on UVB-induced HaCaT cells. *Int. J. Mol. Med.* **31**, 1471-1476.
 20. Kim, J. M. and Park, S. H. 2009. Risk and benefit of steroid therapy. *Kor. J. Intern. Med.* **77**, 298-303.
 21. Kulkarni, N. M., Muley, M. M., Jaji, M. S., Vijaykanth, G., Raghul, J., Reddy, N. K., Vishwakarma, S. L., Rajesh, N. B., Mookkan, J., Krishnan, U. M. and Narayanan, S. 2015. Topical atorvastatin ameliorates 12-o-tetradecanoylphorbol-13-acetate induced skin inflammation by reducing cutaneous cytokine levels and NF- κ B activation. *Arch. Pharm. Res.* **38**, 1238-1247.
 22. Lee, H. J. and Chang, Y. C. 2012. Suppression of TNF- α -induced inflammation by extract from different parts of moringa in HaCaT cells. *J. Life Sci.* **22**, 1254-1260.
 23. Lee, K. E., Nam, J. J., Kim, S. M., Kim, H. K., Moon, S. J. and Youm, J. K. 2014. Anti-inflammatory effects of the mixture of *Sorbus commixta*, *Urtica dioica*, *Phyllostachys* *gra*, and *Rhus semialata* gall extracts on LPS-induced inflammation in HaCaT cells. *J. Soc. Cosmet. Sci. Kor.* **40**, 45-54.
 24. Lee, S. J., Choi, H. R., Lee, J. C., Park, H. J., Lee, H. K., Jeong, J. T. and Lee, T. B. 2014. The anti-aging effects of various berries in the human skin keratinocyte (HaCaT) cells. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **46**, 198-204.
 25. McCawley, L. J. and Matrisian, L. M. 2000. Matrix metalloproteinases: multifunctional contributors to tumor progression. *Trends Mol. Med.* **6**, 149-156.
 26. Qi, X. F., Kim, D. H., Yoon, Y. S., Li, J. H., Jin, D., Teng, Y. C., Kim, S. K. and Lee, K. J. 2009. Fluvastatin inhibits expression of the chemokine MDC/CCL22 induced by interferon-gamma in HaCaT cells, a human keratinocyte cell line. *Br. J. Pharmacol.* **157**, 1441-1450.
 27. Seo, S. H. and Jeong, G. S. 2015. Fisetin inhibits TNF- α -induced inflammatory action and hydrogen peroxide-induced oxidative damage in human keratinocyte HaCaT cells through PI3K/AKT/Nrf-2-mediated heme oxygenase-1 expression. *Int. Immunopharmacol.* **29**, 246-253.
 28. Sirsjö, A., Karlsson, M., Gidlöf, A., Rollman, O. and Törmä, H. 1996. Increased expression of inducible nitric oxide synthase in psoriatic skin and cytokine-stimulated cultured keratinocytes. *Br. J. Dermatol.* **134**, 643-648.
 29. Welss, T., Basketter, D. A. and Schröder, K. R. 2004. *In vitro* skin irritation: facts and future. State of the art review of mechanisms and models. *Toxicol. In Vitro* **18**, 231-243.
 30. Wilmer, J. L., Burleson, F. G., Kayama, F., Kanno, J. and Luster, M. I. 1994. Cytokine induction in human epidermal keratinocytes exposed to contact irritants and its relation to chemical-induced inflammation in mouse skin. *J. Invest. Dermatol.* **102**, 915-922.

초록 : Atorvastatin 그리고 fluvastatin 약물의 IL-1 β -유도 염증반응 억제 효과최영인¹ · 문경미¹ · 유재철¹ · 변준호² · 황선철³ · 문동규^{3*} · 우동균^{3*}(¹경상대학교 약학과, ²경상대학교병원 구강악안면외과, ³경상대학교병원 정형외과)

자외선과 병원미생물 감염 등으로 야기되는 다양한 피부조직의 손상은 피부염증을 일으킨다. 피부염 치료제로 염증을 완화시키는 항히스타민 또는 스테로이드 계열 약물이 처방되고 있다. 하지만 부적절한 스테로이드 복용은 피부 장벽 약화나 골다공증 등의 부작용을 초래할 수 있어, 부작용이 적은 피부염 치료 약물은 임상적으로 중요하다. 콜레스테롤 합성에 필요한 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A 환원효소를 억제하는 statin은 혈청 콜레스테롤 수준을 낮추는 약물로 고지혈증이나 심혈관질환에 널리 처방되고 있다. 이러한 콜레스테롤 생성 억제 기능에 더하여, 흥미롭게도, statin 약물은 골관절염과 관련된 여러 연구에서 항염증 효과가 있는 것으로 보고되고 있다. 본 연구에서는 피부 장벽의 주요 구성 세포인 각질형성세포(HaCaT 세포주)에서 atorvastatin 및 fluvastatin의 잠재적인 항염증 효과를 조사하였다. IL-1 β 자극에 반응하여 HaCaT 세포에서 염증반응의 주요한 인자인 COX2 단백질의 발현이 증가하였다. 이러한 COX2 단백질의 발현 증가는 atorvastatin 또는 fluvastatin 약물 처리로 억제되었다. 비슷하게, IL-1 β 에 의해 발현이 증가된 다른 염증반응 유전자(iNOS 그리고MMP-1 등)의 발현양도 atorvastatin 또는 fluvastatin 약물 처리로 감소되었다. 종합하면, 본 연구결과는 HaCaT 세포에서 IL-1 β 로 유도된 염증반응이 atorvastatin 및 fluvastatin 약물 처리로 하향 조절될 수 있음을 보여준다. 따라서, 본 연구결과는 atorvastatin 및 fluvastatin 약물이 피부염증을 완화시키는 조절제로 응용될 수 있다는 것을 제시한다.