

락토바실러스 람노서스 유래 엑소좀의 항염증, 항산화 효능 및 피부 장벽 개선에 관한 연구

김희식[†] · 현종우^{*} · 김민우^{*} · 이지연^{*} · 장준환^{***} · 배준태^{††}

^{*}주제이투케이바이오 기술연구소

^{**}충북대학교 약학대학, 박사과정생

(2023년 8월 25일 접수, 2023년 10월 4일 수정, 2023년 10월 6일 채택)

A Study on Anti-Inflammatory, Antioxidant Activity and Skin Barrier Improvement of *Lactobacillus rhamnosus*-derived Exosomes

Hee-Sik Kim[†], Jong Woo Hyeon¹, Min Woo Kim¹, Ji Yeon Lee¹, Jun-Hwan Jang^{1,2}, and Jun-Tae Bae^{1,††}

¹R&D Center, J2KBIO, 50-3, Dureungyuri-ro, Ochang-eup, Cheongwon-gu,
Cheongju-si, Chungcheongbuk-do 28103, Korea

²College of Pharmacy, Chungbuk National University

(Received August 25, 2023; Revised October 4, 2023; Accepted October 6, 2023)

요약: 본 연구에서는 락토바실러스 람노서스(*Lactobacillus rhamnosus*) J2K-821 균주로부터 한외여과를 통해 엑소좀을 분리하고, 피부에 대한 여러 효능을 평가했다. 나노입자추적분석 결과 3.22×10^8 particles/mL 농도의 크기가 50 ~ 200 nm인 락토바실러스 람노서스 유래 엑소좀(LRDEs)을 확인하였다. 염증 완화 효과를 검증하기 위해 LRDEs를 lipopolysaccharide (LPS)로 염증반응을 유도시킨 RAW 264.7 대식세포에서의 nitric oxide (NO) 생성 저해능을 확인한 결과, 농도 의존적으로 NO 생성을 저해하였다. 그리고 항산화 및 피부 장벽 개선 효능을 평가하기 위해 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) 라디칼 소거 활성, hyaluronidase 억제 활성을 확인한 결과, 농도 의존적으로 항산화 및 hyaluronidase 억제 활성이 증가하는 것을 확인하였다. 이를 통하여 LRDEs는 항염증, 항산화 및 피부 장벽 개선에 효과적인 천연 화장품 소재로 사용 가능할 것으로 사료된다.

Abstract: In this study, exosomes were isolated by ultrafiltration from *Lactobacillus rhamnosus* J2K-821 and their various effects for skin were evaluated. Their size and concentration were identified 50 ~ 200 nm and 3.22×10^8 particles/mL, respectively through nanoparticle tracking analysis. In order to verify the inflammatory relief effect of *Lactobacillus rhamnosus*-derived exosomes (LRDEs), their nitric oxide (NO) production inhibitory ability in RAW 264.7 macrophages induced an inflammatory reaction with lipopolysaccharide (LPS) was confirmed. It was revealed that they inhibited NO production in a concentration-dependent manner. To evaluate the antioxidant activity and skin barrier improvement effect of LRDEs, their 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity and hyaluronidase inhibitory activity were confirmed. It was also revealed that their activities were increased by concentration-dependent manner. Through these results, It is believed that LRDEs can be used as a effective natural cosmetic ingredient for anti-inflammation, antioxidation and skin barrier improvement.

Keywords: lactobacillus, exosome, anti-inflammatory, antioxidation, skin barrier improvement

†주 저자 (e-mail: hskim@j2kbio.com)
call: 043-280-9044

†† 교신저자 (e-mail: jtbae@j2kbio.com)
call: 043-280-9040

1. 서 론

피부는 수분 증발을 막고 외부인자로부터 인체를 보호하는 가장 기초적이면서 중요한 기관이다. 하지만 피부는 자외선, 화학물질 등에 지속적으로 노출될 시 항상성을 잃고 그 기능을 상실하게 된다[1,2]. 최근 자외선, 미세먼지 등 피부에 영향을 주는 외부 환경 스트레스 요인이 다양해지며 노출되는 빈도 역시 증가됨에 따라 피부 건강에 대한 사람들의 관심도 계속해서 증가하고 있다. 이런 추세로 인해 화학적 원료보다는 천연 원료와 프로바이오틱스(probiotics) 원료에 대한 관심이 높아지고 있으며, 이에 대한 연구도 활발히 진행되고 있다[3,4].

프로바이오틱스란 사람이나 동물 숙주에게 좋은 영향을 주는 단일 또는 복합 균주 형태의 살아있는 균을 말한다. 현재까지 알려진 대부분의 프로바이오틱스는 유산균(lactic acid bacteria)들이며, 락토바실러스(*Lactobacillus*) 속이 가장 많은 부분을 차지하고 있다[5]. 락토바실러스는 면역력 증강, 항균 활성 및 항산화 등 다양한 효능을 갖는 것으로 보고되고 있다[6-11]. 또한 차세대 염기서열 분석(next generation sequencing, NGS) 기술 발전으로 장내 균총(gut microbiome)에 대한 전 세계적인 이목이 집중되고, 연구개발이 활발히 이루어지고 있다. 특히 장내 균총의 균형을 조절하여 비만, 당뇨 등 여러 질병의 예방과 치료를 목적으로 하는 연구 분야로 더욱 확장되고 있다[7].

박테리아를 포함하여 모든 생물의 세포들은 세포의 소포체(extracellular vesicles)를 분비하며, 이는 진화적으로 보존된 현상이다. 세포의 소포체는 크게 엑소솜(exosome)과 마이크로베지클(microvesicle)로 분류되며, 그중 엑소솜은 세포가 외부로 분비하는 나노(50 ~ 200 nm) 크기의 소포체이다[12,13]. 엑소솜은 지질 이중층 구조로 이뤄져 있으며, 내부에는 DNA와 RNA, 지질, 단백질 등 다양한 물질들을 포함하고 있다[14,15]. 엑소솜은 기원한 세포의 특성을 반영하여 특정한 조성을 띄며, 이는 세포 간에 물질 교환 및 생리적/병리적 신호를 전달하는 매개체 등 다양한 역할과 기능을 수행할 수 있게 한다[15-17].

화장품 산업 분야에서는 프로바이오틱스를 이용하여 피부 장벽 개선, 미백, 항산화, 보습 및 아토피피부염 등에 관한 연구들이 끊임없이 진행되고 있다[5,11,18-20]. 식물 및 인체 세포 유래 엑소솜과 인위적으로 만든 엑소솜 유사 나노베지클에 대한 연구는 보고되었으나, 프로바이오틱스 유래 엑소솜을 이용한 피부 효능에 대한 연구는 아직 미미

한 실정이다. 이에 따라 본 연구에서는 세라미드 생합성 강화, 피부 장벽 개선, 미백, 항산화 등에 대한 효능이 확인된 락토바실러스 람노시스(*Lactobacillus rhamnosus*, *L. rhamnosus*) 균주의 엑소솜을 추출하여, NO 억제 활성을 통한 항염증 효능, 항산화 효능 및 피부 장벽 개선 효과를 확인하여 유효한 유산균 유래 엑소솜 소재를 개발하고자 하였다[18-20].

2. 재료 및 실험

2.1. 재료 및 기기

De Man, Rogosa and Sharpe (MRS) agar, MRS broth, Dulbecco's modified eagle medium (DMEM) powder, thiazolyl blue tetrazolium bromide, dimethyl sulfoxide (DMSO), lipopolysacchride (LPS), 1-naphthylmethylamide, sulfanilamide, quercetin, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), ascorbic acid 및 6-O-palmitoyl-L-ascorbic acid (PPA)는 Sigma (USA)에서 구입하여 사용하였다. Fetal bovine serum (FBS), antibiotic antimycotic solution은 Corning (USA) 제품을 사용하였으며, NucleoZOL은 Macherey-Nalgel (Germany)에서 구입하여 사용하였다. HiSenScript™ RH(-) RT PreMix Kit는 intron biotechnology (Korea) 제품을 사용하였으며, BioFact™ 2X Real-Time PCR Master Mix는 Biofact (Korea)에서 구입하여 사용하였다. 그 외의 시약은 특급 및 일급시약을 구입하여 사용하였다.

발효조는 5 L Jar fermentor (KoBioTech, Korea) 제품을 사용하였고, 원심분리기는 Supra R17 (HANIL SCIENCE, Korea) 제품, 한외여과는 Pellicon® XL50 with Biomax® Membrane (Millipore, USA) 제품, microplate reader는 spectramax abs plus (Molecular Devices, USA) 제품, real-time PCR은 QuantStudio™ 3 Real-Time PCR System (AppliedBiosystems, USA) 제품을 사용하였다.

2.2. 균주의 분리 및 동정

본 실험에 사용된 균주는 제주도(Korea)에서 구매한 유기농 하귤로부터 분리하였다. 유기농 하귤을 멸균 증류수에 넣고 1 h 진탕시킨 후, MRS agar에 100 µL씩 평판도말하였다. 35 °C에서 48 h 배양한 뒤, 백색 colony를 선별하였고, 3 회 계대 배양하여 순수 분리하였다. 분리한 균주는 J2K-821로 명명하였고, MRS broth에 접종하여 35 °C에서 48 h 배양한 뒤 50% glycerol 용액에 현탁하여 -80 °C에 보

관하였다. 그리고 분석기관인 (주)마크로젠(Korea)에 의뢰하여 16S ribosomal RNA 유전자 염기서열을 분석하였다. 이 서열을 기반으로 미국 국립생물정보센터(national center for biotechnology information, NCBI, USA)의 basic local alignment search tool (BLAST) 프로그램을 이용하여 유사성이 높은 균주들의 염기서열을 선별하고, MEGA 11 프로그램의 neighbour-joining (NJ), maximum-parsimony (MP), maximum-likelihood (ML) 알고리즘을 이용한 계통학적 분석을 진행하였다.

2.3. 락토바실러스 람노시스 유래 엑소좀(LRDEs)의 분리

L. rhamnosus J2K-821를 MRS broth로 계대배양하여 활성화시킨 뒤, 5 L 발효조를 이용하여 MRS broth 3 L에 접종하고 35 °C에서 48 h 배양하였다. 배양 종료 후 배양액을 10,000 rpm, 15 min 원심분리하여 균체를 제거한 상등액을 얻고, 한외여과를 통해 배지 성분을 제거하였다. 이후 0.1 µm PVDF membrane (Millipore, USA) 여과를 통해 200 nm 이상의 입자를 제거하여 락토바실러스 람노시스 유래 엑소좀(*L. rhamnosus*-derived exosomes, LRDEs)을 수득하였다.

2.4. 락토바실러스 람노시스 유래 엑소좀(LRDEs)의 분석

LRDEs의 분석을 위하여, 현재 가장 많이 이용되는 나노 입자추적분석법(nanoparticle tracking analysis, NTA)을 이용하였다. NanoSight NS300 (Malvern Panalytical, UK) 제품을 이용하여 입자의 크기, 분포 및 농도 등을 측정하였다. 또한 초저온 투과 전자 현미경(cryogenic transmission electron microscopy, Cryo-TEM)을 이용하여 엑소좀의 지질 이중층 구조를 확인하였다. 액체질소를 사용하여 동결 시편을 제작한 뒤, Tecnai G2 Spirit TWIN (FEI, USA) 제품을 이용하여 150,000 배율에서 관찰하였다.

2.5. 세포 배양

실험에 사용한 RAW 264.7 세포는 쥐 유래 macrophage로 한국세포주은행(Korea)에서 분양받아 이용하였다. 배지는 10% FBS 와 1% antibiotic antimycotic solution을 첨가한 DMEM 배지를 사용하였다. 5% CO₂가 공급되는 37 °C 배양기에서 배양하였으며, 3 일에 한 번씩 계대 배양을 시행하였다.

2.6. 세포 생존율 평가

RAW 264.7 세포의 생존율은 MTT 분석 방법을 사용하

여 측정하였다. RAW 264.7 세포를 96 well plate에 1.0×10^4 cells/well이 되도록 180 µL 분주하여 5% CO₂가 공급되는 37 °C 배양기에서 overnight 배양하였다. LRDEs을 농도별로 계열희석하여 20 µL씩 처리한 뒤 5% CO₂가 공급되는 37 °C 배양기에서 24 h 동안 반응시켰다. 96 well plate에 well 당 5 mg/mL의 MTT 용액을 20 µL씩 처리하고 약 2 h 동안 37 °C에서 반응시켰다. 상층액을 제거하고 100 µL의 DMSO에 생성된 formazan을 완전히 녹여주었다. Microplate reader로 590 nm에서 흡광도를 측정하였으며, MTT시약은 thiazolyl blue tetrazolium bromide을 5 mg/mL의 농도가 되도록 phosphate buffered saline (PBS)에 용해하여 사용하였다.

2.7. NO 생성량 억제 활성

NO 생성량은 griess 시약 반응을 이용하여 측정하였다. RAW 264.7 세포를 96 well plate에 1.0×10^4 cells/well로 분주하여 5% CO₂가 공급되는 37 °C 배양기에서 overnight 배양하였다. 각 well에 세포독성이 없는 농도로 계열 희석한 LRDEs을 처리하여 2 h 배양한 후, 0.5 µg/mL의 lipopolysaccharide (LPS)를 처리하여 24 h 배양하였다. 배양액의 상층액을 취하여 동량의 griess 시약과 혼합하였다. 96 well plate에서 10 min 동안 반응시킨 후 microplate reader로 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. Griess 시약 A, B는 각각 0.2% 1-naphthylmethylamide와 5% phosphoric acid 및 1% sulfanilamide를 DW에 용해 1 : 1의 비율로 혼합하여 사용하였으며, 양성대조군으로 퀴세틴을 사용하였다.

2.8. DPPH 라디칼 소거 활성

DPPH 라디칼 소거 활성 실험은 Blois의 방법을 변형하여 진행하였다[21]. 96 well plate에 시료 20 µL와 0.2 mM DPPH 용액 180 µL를 넣고 30 min 반응 후 분광광도계를 사용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 양성대조군으로는 아스코르브산을 사용하였고, 라디칼 소거 활성은 시료 첨가군과 무첨가군을 비교하여 감소율로 나타내었다.

2.9. Hyaluronidase 억제 활성

Hyaluronidase 억제 활성 측정은 hyaluronidase inhibitor screening assay kit (Abnova, Taiwan)를 이용하여 수행하였다. 실험에 사용된 hyaluronidase의 경우는 bovine hyaluronidase (Calzyme, USA)를 이용하였다. Hyaluronidase를 10 U/mL의 농도로 enzyme buffer를 이용하여 녹여주었다. 96 well plate

에 40 μL 와 반응액 20 μL 를 혼합하여 상온에서 15 min 반응시켰다. Substrate : assay buffer를 10 : 35 비율로 혼합하여 working reagent를 제조하였고, 반응이 완료된 96 well plate 각 well에 working reagent를 각각 40 μL 씩 넣어준 뒤, 상온에서 20 min 간 반응시켰다. Stop reagent를 160 μL 를 넣어 혼합하여 상온에서 10 min 반응시켜 준 뒤, 600 nm로 흡광도 측정하여 억제율을 계산하였다. 대조군으로 6-O-palmitoyl-L-ascorbic acid (PPA)를 사용하였다.

2.10. 통계처리

본 연구의 실험은 3 회 반복하여 수행하였으며, 실험 결과는 mean \pm standard deviation (SD)로 나타내었다. 통계분석은 excel (Microsoft, USA)의 데이터분석도구를 이용하여 F -검정을 통해 분산의 동질성을 확인하였고, t -검정을 이용하여 유의성을 검증하였다. 유의성 수준은 * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ 로 표시하였다.

3. 실험결과

3.1. 균주의 분리 및 동정 결과

제주도 유기농 하골에서 분리한 J2K-821 균주의 16S ribosomal RNA 염기서열은 BLAST 프로그램을 통해 *L. rhamnosus*와 99% 이상의 상동성을 갖는 균주임을 확인하였다. 그리고 MEGA 11 프로그램의 NJ, MP, ML 알고리즘을 이용한 계통학적 분석을 통해 *L. rhamnosus* J2K-821로 명명하였고(Figure 1), 한국생명공학연구원 생물자원센터 (Korea)에 기탁하여 KCTC 15192BP를 부여받았다.

3.2. 락토바실러스 람노시스 유래 엑소솜(LRDEs)의 특성 확인

LRDEs를 NTA로 분석한 결과, 입자크기의 평균값은 188.2 nm, 최빈값은 178.5 nm, 표준편차는 50.3 nm로 관찰되었으며, 시료의 측정된 입자의 수 농도는 3.22×10^8

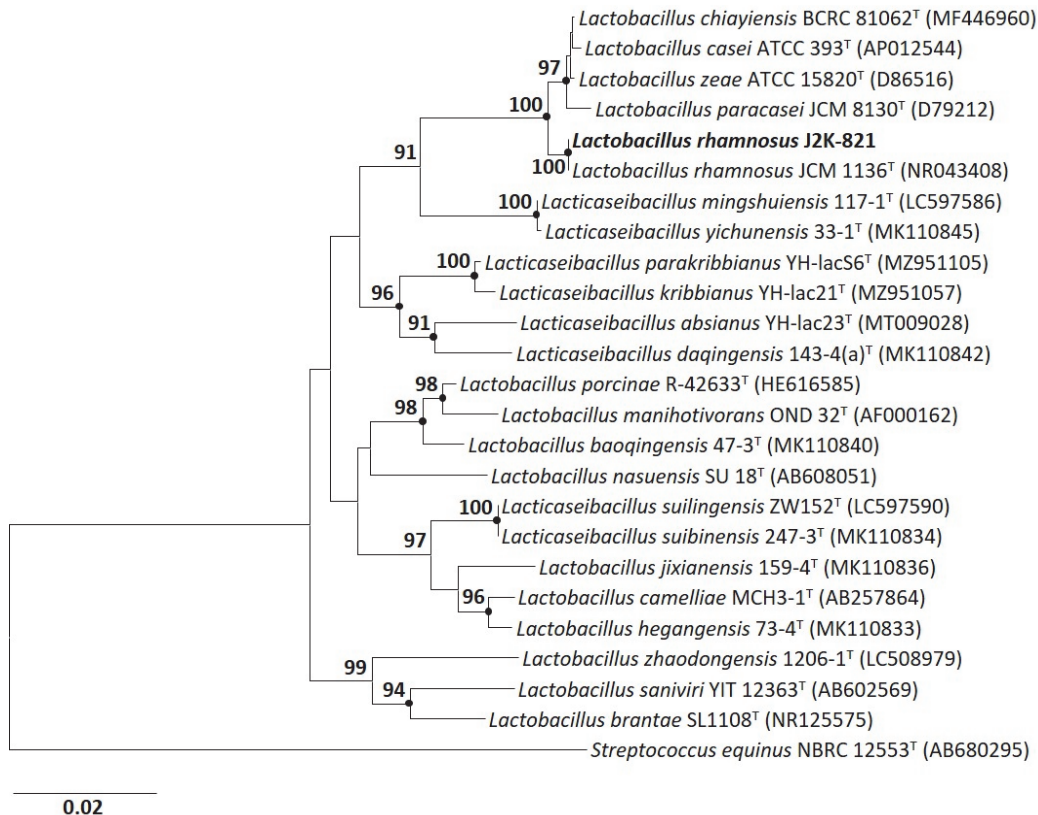


Figure 1. NJ tree based on 16S rRNA gene sequences showing the phylogenetic relationships of strain J2K-821 and related taxa. Bootstrap values are shown on nodes in percentages of 1,000 replicates, only when values were over 70 %. Filled circles (•) indicate that the corresponding nodes were also recovered in the trees generated with the ML and MP algorithms. *Streptococcus equinus* NBRC 12553T (AB680295) was used as an outgroup. Bar, 0.02 changes per nucleotide position.

particles/mL로 나타났다(Figure 2, Table 1). Cryo-TEM을 이용하여 관찰한 결과, 50 ~ 200 nm 크기의 입자들을 관찰할 수 있었으며, 지질 이중층 구조 또한 확인할 수 있었다(Figure 3).

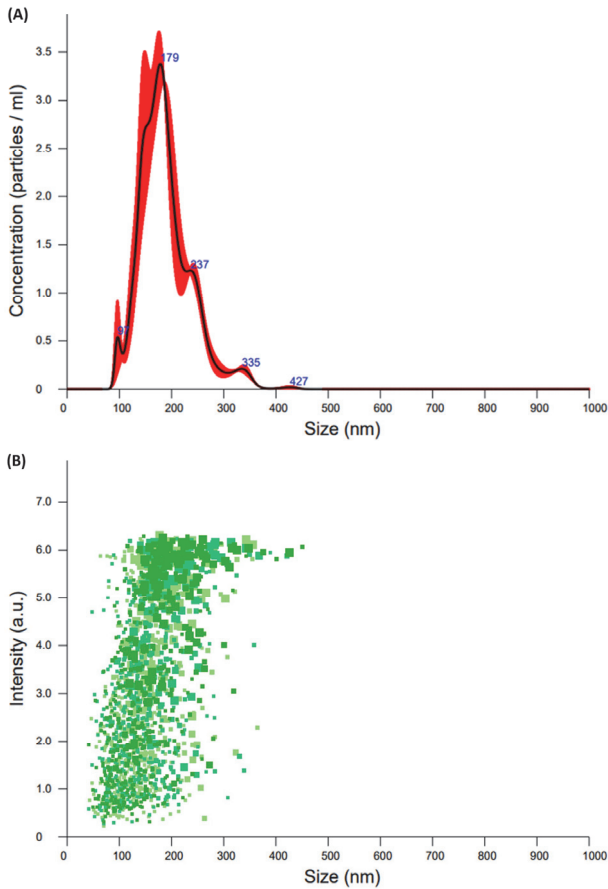


Figure 2. Nanoparticle tracking analysis of exosomes isolated from *Lactobacillus rhamnosus* J2K-821. (A) Representative graph shows particle concentration and their size measurements. (B) The scattering distributions are presented from three consecutive 30 s runs for nanoparticles.

Table 1. Results of Nanoparticle Tracking Analysis

Mean	188.2 nm
Mode	178.5 nm
Standard deviation	50.3 nm
D10	134.0 nm
D50	180.3 nm
D90	252.6 nm
Concentration	3.22×10^8 particles/mL

3.3. 세포 생존율 확인

LRDEs이 대식세포인 RAW 264.7 세포의 생존에 미치는 영향을 확인하고자 MTT assay를 진행하였다. LRDEs을 다양한 농도로 계열 희석하여 처리한 결과, 10% 아래의 농도에서 95% 이상의 세포 생존율을 나타냈다(Figure 4). 해당 농도를 참고하여 이후 항염증 관련 세포 실험 시 세포 독성이 없는 농도에서 실험을 진행하였다.

3.4. NO 생성량 억제 활성 확인

대표적인 염증 매개물질인 NO의 생성을 억제하는지 확인하기 위해 RAW 264.7 세포에 LRDEs을 세포독성이 없는 농도로 계열 희석하여 NO assay를 진행하였다. Raw 264.7 대식세포는 면역반응에 중요한 역할을 하는 세포로

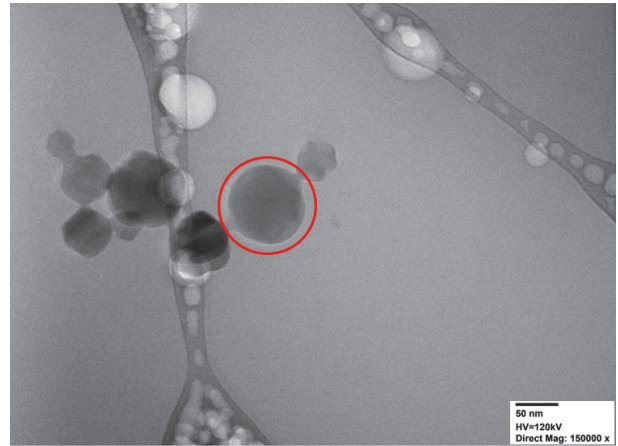


Figure 3. Cryo-TEM image of exosomes derived from *Lactobacillus rhamnosus* J2K-821.

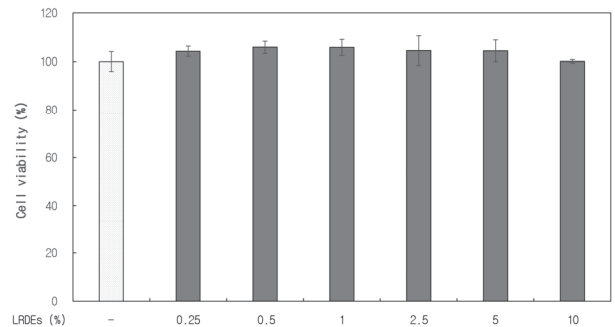


Figure 4. Cell viability of RAW 264.7 macrophage cell on each concentration of LRDEs. Each value presents the mean \pm SD of triplicate determinations. * $p < 0.05$ indicate a significant difference from sample not treated group.

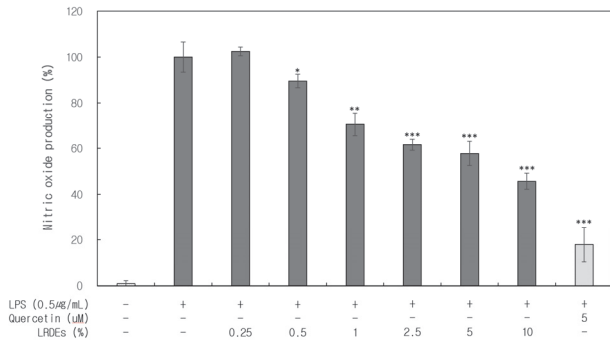


Figure 5. Nitric oxide production of LPS-stimulated RAW 264.7 macrophage cell on each concentration of LRDEs. Each value presents the mean \pm SD of triplicate determinations. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ indicate a significant difference from sample not treated group.

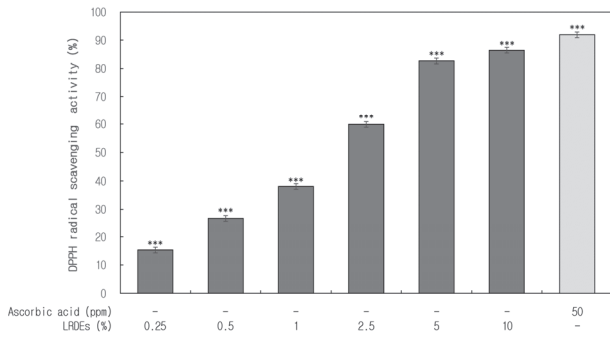


Figure 6. DPPH radical scavenging activity of LRDEs. Each value presents the mean \pm SD of triplicate determinations. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ indicate a significant difference from sample not treated group.

서 LPS와 같은 자극물질에 노출되면 NO를 생성하는 것으로 알려져 있다. 그 결과, LRDEs은 0.25% 농도에서는 NO 생성 억제에 큰 영향을 미치지 못하였으나, 0.5 ~ 10%의 농도로 처리한 구간에서는 LPS에 의해 증가한 NO의 생성량을 농도 의존적으로 감소시키는 것으로 나타났으며, LRDEs를 10% 처리하였을 때 54.35%의 NO 생성 억제율을 확인하였다(Figure 5). 이를 통해 LRDEs가 LPS로 자극시킨 RAW 264.7 세포에서 염증 매개물질인 NO의 생성을 유의성 있게 저해시킨다는 것을 확인하였고, 항염증 소재로서 활용이 가능할 것으로 사료된다.

3.5. DPPH 라디칼 소거 활성 확인

LRDEs의 항산화 효능을 확인하기 위해 DPPH 라디칼

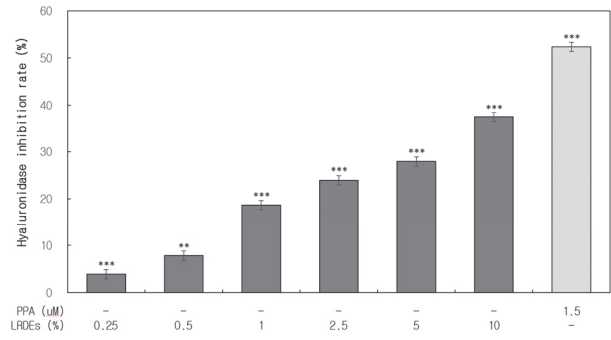


Figure 7. Hyaluronidase inhibition activity of LRDEs. Each value presents the mean \pm SD of triplicate determinations. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ indicate a significant difference from sample not treated group.

소거 활성을 측정하였다. DPPH는 517 nm에서 최대 흡광도를 나타내며, 시료 첨가에 의해 흡광도가 감소하게 되고 이는 항산화 효능을 측정하는 척도로 사용된다. LRDEs를 0.25 ~ 10%의 농도로 처리하였을 때, 농도 의존적으로 항산화 활성이 증가하는 것을 확인할 수 있었으며, 10% 처리 시 86.39%의 항산화 활성을 보였다(Figure 6). 이를 통해 LRDEs가 항산화 소재로서 사용 가능함을 알 수 있다.

3.6. Hyaluronidase 억제 활성 확인

히알루론산(hyaluronic acid, HA)은 피부에 존재하는 세포외 기질(extracellular matrix)중 하나로서 세포간 3차원적 가교역할을 하며, 피부 노화에 관여하는 핵심물질로 알려져 있다. Hyaluronidase는 HA의 분해에 관여하는 효소로서 hyaluronidase 억제 활성은 피부 장벽 개선 및 피부 노화 방지 효과를 확인하는 데 이용되고 있다. LRDEs의 hyaluronidase 억제 활성을 확인한 결과, 0.25 ~ 10%까지 농도 의존적으로 hyaluronidase 억제에 유의적인 효과를 보였으며, 10% 농도에서 약 41.85%의 억제 활성을 나타냈다(Figure 7). 이 결과를 토대로 LRDEs가 피부 장벽 개선에 효과가 있을 것으로 판단된다.

4. 결론

본 연구에서는 프로바이오틱스 균주인 *L. rhamnosus* J2K-821로부터 엑소좀을 분리하였고, NTA와 Cryo-TEM을 이용하여 50 ~ 200 nm 크기의 지질 이중층 구조의 엑소좀 입자를 확인하였다. 대식세포인 RAW 264.7 세포를 이용한

NO 생성 억제 활성, DPPH 라디칼 소거 활성, hyaluronidase 억제 활성 실험을 통해 분리한 LRDEs가 항염증, 항산화 효능 및 피부 장벽 개선 효과가 있는 화장품 원료로서의 가능성을 검토하였다.

NO assay 결과, LRDEs는 0.5 ~ 10% 농도 범위에서 LPS로 유도한 NO 생성을 농도 의존적으로 저해시키는 효과가 있음을 확인하였고, 10% 농도에서 최대 54.35%의 NO 생성 억제율을 보였다. 이 결과를 토대로 LRDEs가 항염증 소재로 활용이 가능하다는 것을 확인하였다.

LRDEs의 DPPH 라디칼 소거 활성은 0.25 ~ 10%의 농도로 처리하였을 때, 모든 농도에서 농도 의존적으로 증가하는 것을 확인하였다. 5%와 10% 농도에서 각각 82.63%, 86.39%의 항산화 활성을 보였으며, 이는 LRDEs가 항산화 소재로서 효과를 보여주는 결과이다.

피부에서 세포의 기질로서 세포간 가교역할 및 피부 노화에 관여하는 HA를 분해하는 hyaluronidase의 억제 활성 또한 LRDEs에 의해 농도 의존적으로 증가하는 것을 확인하였다. 10% 농도에서 약 41.85%의 억제 활성을 나타냈으며, LRDEs가 피부 장벽 개선에 효과가 있을 것으로 판단된다.

엑소솜의 내부에는 기원한 세포에서 유래한 다양한 DNA와 RNA, 지질, 단백질 등을 포함하고 있다. 기존의 연구들에서 락토바실러스 람노서스의 다양한 효능들에 대해 이미 알려져 있으며, 이러한 락토바실러스 람노서스의 특성이 반영되어 LRDEs에서도 항염증, 항산화 및 hyaluronidase 억제 효능들이 확인된 것으로 판단된다. 따라서 본 연구 결과를 토대로 LRDEs는 항염증, 항산화 및 피부 장벽 개선에 효과적인 천연 화장품 소재로 사용 가능할 것으로 사료된다.

Acknowledgement

본 연구는 중소벤처기업부와 중소기업기술정보진흥원의 “지역특화산업육성(R&D, S3264754)” 사업의 지원을 받아 수행된 연구결과입니다.

This research was financially supported by the Ministry of Small and Medium-sized Enterprises(SMEs) and Startups(MSS), Korea, under the “Regional Specialized Industry Development Plus Program(R&D, S3264754)” supervised by the Korea Technology and Information Promotion Agency for SMEs(TIPA).

References

1. S. J. Yang, K. M. Kim, J. W. Song, and S. H. Lee, Relaxing effect of novel cosmetic ingredient using *Lactobacillus gasseri* HDB1102 on skin problems caused by particulate matter, *J. Kor. Soc. Cosmetol.*, **27**(5), 1152 (2021).
2. H. C. Kim and J. D. Wu, Review in the effects influencing skin aging and its prevention and cure, *Asian J. Beauty. Cosmetol.*, **9**(1), 161 (2011).
3. G. Y. Kim, A. K. Kim, S. S. Han, and S. H. Lee, A study on the comparison of skin effects by natural cosmetics and general cosmetics, *Kor. J. Aesthet. Soc.*, **7**(4), 225 (2009).
4. S. Puebla-Barragan and G. Reid, Probiotics in cosmetic and personal care products: Trends and challenges, *Molecules*, **26**(5), 1249 (2021).
5. H. S. Wang, K. S. Lee, and Y. W. Kang, Skin barrier improvement effect of exosomal nanovesicles derived from lactic acid bacteria, *J. Soc. Cosmet. Sci. Korea*, **47**(2), 171 (2021).
6. K. S. Lim, J. W. Jeong, S. J. Oh, Y. I. Moon, and J. H. Koh, Current market trends and perspectives of probiotics, *Curr. Top. Lact. Acid Bact. Probiotics*, **3**(2), 46 (2015).
7. J. W. Kim, Direction and new concept in probiotics R&D, *Curr. Top. Lactic Acid Bac. Probio.*, **6**(1), 9 (2020).
8. M. G. Gareau, P. M. Sherman, and W. A. Walker, Probiotics and the gut microbiota in intestinal health and disease, *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.*, **7**(9), 503 (2010).
9. G. Q. Zhang, H. J. Hu, C. Y. Liu, Q. Zhang, S. Shakya, and Z. Y. Li, Probiotics for prevention of atopy and food hypersensitivity in early childhood: a PRISMA-compliant systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials, *Medicine (Baltimore)*, **95**(8), e2562 (2016).
10. M. He and B. Shi, Gut microbiota as a potential target of metabolic syndrome: the role of probiotics and prebiotics, *Cell Biosci.*, **7**(1), 1 (2017).
11. H. Kimoto-Nira, R. Aoki, K. Sasaki, C. Suzuki, and K. Mizumachi, Oral intake of heat-killed cells of *Lactococcus lactis* strain H61 promotes skin health in women, *J. Nutr. Sci.*, **1**, e18 (2012).

12. E. Van der Pol, A. N. Böing, P. Harrison, A. Sturk, and R. Nieuwland, Classification, functions, and clinical relevance of extracellular vesicles, *Pharmacol. Rev.*, **64**(3), 676 (2012).
13. D. Rudraprasad, A. Rawat, and J. Joseph, Exosomes, extracellular vesicles and the eye, *Exp Eye Res.*, **214**, 108892 (2022).
14. N. P. Hessvik and A. Llorente, Current knowledge on exosome biogenesis and release, *Cell. Mol. Life Sci.*, **75**(2), 193 (2018).
15. O. Kose, A. Botsali, and E. Caliskan, Role of exosomes in skin diseases, *J. Cosmet. Dermatol.*, **21**(8), 3219 (2022).
16. D. S. Choi, J. S. Yang, E. J. Choi, S. C. Jang, S. Park, O. Y. Kim, D. Hwang, K. P. Kim, Y. K. Kim, S. Kim, and Y. S. Gho, The protein interaction network of extracellular vesicles derived from human colorectal cancer cells, *J. Proteome Res.*, **11**(2), 1144 (2012).
17. A. Bobrie, M. Colombo, G. Raposo, and C. Théry, Exosome secretion: molecular mechanisms and roles in immune responses, *Traffic*, **12**(12), 1659 (2011).
18. M. S. Kim, M. J. Lee, H. N. Oh, W. S. Seo, G. S. Kim, O. H. Ban, M. H. Shin, Y. H. Jung, and J. W. Yang, Enhanced ceramides production by *Lactobacillus rhamnosus* IDCC 3201 and its proposed mechanism, *Appl Biol Chem*, **64**(50), 1 (2021).
19. Y. O. Jung, H. D. Jeong, Y. J. Cho, E. O. Lee, H. W. Jang, J. W. Kim, K. T. Nam, and K. M. Lim, Lysates of a probiotic, *Lactobacillus rhamnosus*, can improve skin barrier function in a reconstructed human epidermis model, *Int. J. Mol. Sci.*, **20**(17), 4289 (2019).
20. C. C. Tsai, C. F. Chan, W. Y. Huang, J. S. Lin, P. Chan, H. Y. Liu, and Y. S. Lin, Applications of *Lactobacillus rhamnosus* spent culture supernatant in cosmetic antioxidation, whitening and moisture retention applications. *Molecules*, **18**(11), 14161 (2013).
21. M. S. Blois, Antioxidant determinations by the use of a stable free radical, *Nature*, **181**(4617), 1199 (1958).