

한국 고유 식물 울릉도 돌외 식물 세포 배양추출물의 항염증 효과

목보람¹, 김수윤², 백승혜², 장영수¹, 신정우¹, 모상현^{2*}

¹CHA의과대학교 분당차병원 피부과학교실, ²(주)바이오에프디엔씨 안티에이징연구소

Anti-inflammatory Effect of the Extract of *Gynostemma pentaphyllum* cell from Ullengdo Island as Korean Endemic Plant

Bo-Ram Mok¹, Soo-Yun Kim², Seung hye Paek²,
Young-su Jang¹, Jung U Shin¹, Sang Hyun Moh^{2*}

¹Department of Dermatology, Bundang CHA Medical Center, CHA University School of Medicine, Korea

²Anti-aging Research Institute of BIO-FD&C Co.,Ltd.

요약 이 논문의 목적은 울릉도 자생식물인 돌외식물(GP: *Gynostemma pentaphyllum*)을 이용하여 지속가능한 화장품 원료 개발을 위해 피부장벽개선 및 아토피피부염 개선 효능을 평가하고 검증하는 데 있다. 자연을 훼손하지 않으며 지속가능한 항노화 소재개발을 위하여 울릉도 자생식물인 돌외에서 식물세포를 유도하여 대량배양 조건을 확립, 대량배양된 식물세포로부터 다양한 용매로 추출 후, HPLC 분석을 통하여 adenosine, guanosine 및 tyrosine, phenylalanine 변화를 확인하였다. 또한, 돌외 식물세포의 피부장벽개선효능 및 항가려움증 효능평가를 위해 Th2 사이토카인을 이용한 *in vitro* 염증 모델에서 피부장벽관련 인자인 FLG, Zo-1의 유전자 발현에 유의미한 변화가 확인이 되지 않았지만 항가려움증 관련 인자인 TSLP, IL-33의 유전자 발현에 유의미한 감소 변화를 확인하였다. 따라서 돌외 식물세포 추출물이 가려움증을 개선시키는 데 유의미한 효능이 있을 것으로 확인되며, 나아가 돌외 식물세포 추출물이 지속가능한 자연친화적 활성 소재로써, 아토피피부염 개선을 위한 화장품에 널리 활용될 수 있을 것이라 사료된다.

Abstract The purpose of this study was to evaluate and verify the effectiveness of sustainable cosmetic raw materials developed from *Gynostemma pentaphyllum*, a plant native to Ullengdo, in improving the skin barrier function and treating atopic dermatitis. Cells were derived from adult *Gynostemma pentaphyllum* plants, and suitable conditions for mass culture of the cells were established in a bioreactor. DNA components and amino acids extracted from this mass culture were identified from the HPLC fraction. In the *in vitro* efficacy evaluation results, changes in the expression levels of skin barrier-related proteins such as filaggrin (FLG) and Zonula occludens-1 (Zo-1) were insignificant. It was confirmed that the expression levels of the proteins thymic stromal lymphopoietin (TSLP) and interleukin-33 (IL-33) were significantly reduced. These results lead to the conclusion that *Gynostemma pentaphyllum* cell extracts have significant anti-inflammatory effects and that these extracts can be widely used as sustainable, nature-friendly active material in cosmetics with anti-inflammatory effects and targeted at improving atopic dermatitis. They may find use in anti-aging cosmetic products as well.

Keywords : Anti-inflammation, *Gynostemma pentaphyllum*, Korean endemic plant, Ullengdo, Cosmetic active ingredient

본 논문은 보건복지부의 재원으로 한국보건산업진흥원의 보건의료기술 연구개발사업 지원에 의하여 수행되었음.
(과제고유번호 : HP20C0029)

*Corresponding Author : Sang Hyun Moh(BIO-FD&C CO.,Ltd.)

email: likesomeone@cha.ac.kr, shmoh@biofdnc.com

Received November 3, 2020

Revised December 4, 2020

Accepted February 5, 2021

Published February 28, 2021

1. 서론

아토피피부염의 만성적인 염증/가려움증은 항히스타민제와 보습제만으로는 잘 조절되지 않는다[1]. T helper type 2(Th2) 림프구(Th2 세포)에서 분비되는 IL-4와 IL-13은 아토피피부염과 같은 알레르기 질환에서 증가되어 있으며, 아토피피부염의 병인 기전에 중요한 역할을 한다. IL-4/IL-13은 피부에서 피부장벽단백 및 밀착연접단백의 발현을 감소시켜 피부장벽 기능을 손상시키고, TSLP 및 IL-33 사이토카인 발현 및 분비를 유도하여 가려움증을 유발한다[2]. TSLP는 Th2 면역반응을 유도하는 사이토카인으로 아토피피부염 환자에서 매우 증가되어 있으며, IL-33 또한 염증성 사이토카인으로 아토피피부염 환자의 각질형성세포에서 과발현하여 분비된다. 각질형성세포에서 분비된 TSLP와 IL-33은 다시 T 세포와 여러 면역세포를 자극하여 IL-4/IL-13 사이토카인을 비롯하여 IL-31 등 다양한 사이토카인/케모카인의 분비를 유도하고, 이들은 다시 피부 장벽을 손상시키고 가려움증을 유발하여 각질형성세포로부터 TSLP 및 IL-33의 분비를 유도한다. 이러한 악순환의 고리로 인해 아토피피부염의 만성적인 염증과 가려움증을 유발되는 것으로 이해된다[3-5]. 아토피피부염 악순환의 고리를 차단하기 위해서는 아토피염증/가려움증을 완화시키는 것이 중요하다.

울릉도는 우리나라 경상북도 동북단 동해상에서 약 130 km 떨어진 바다로 둘러싸여 있는 천혜의 자연환경을 품고 있는 섬이다[6]. 울릉도에는 화산폭발 후 수 백만년의 시간의 흐름 속에 다양한 식물군락이 형성되었으며, 자생하는 약초의 보고라고 할 수 있다. 울릉도는 해양으로 둘러싸여 있는 섬의 환경 및 한반도와는 독립적인 자연생태환경을 갖고 있어서, 매우 독특한 식생과 식물분포학적 특성을 나타낸다[7]. 현재 울릉도 자생식물로는 50여종의 귀화식물, 법정 보호종 9종(환경부), 울릉도 천연기념물 9종, 자생지 희귀멸종식물 46종, 울릉도 특산식물 31종으로 총 550여종의 자생식물이 있다[8,9].

울릉도 자생 식물인 박과(Cucurbitaceae)에 속하는 돌의는 다년생 덩굴성 초본류로서, 예로부터 칠엽담(七葉膽) 또는 덩굴차 및 교고랍(絞股藍)이라고도 불린다. 돌의는 아시아 지역에 전반적으로 분포가 되어있으며 우리나라 남부와 일본, 중국등에서 자라고 있다[10,11]. 돌의 추출물은 항산화, 항균, 항당뇨 효능이 보고되어져 있으며 Wing-Yan Wong 연구그룹은 돌의 추출물에 함유되어 있는 사포닌 성분에 의해 염증 관련 인자인 NF- κ B와

STAT3의 발현이 억제되었다고 보고한 바 있다[12-15].

위와 같이 돌의 추출물에 대한 효능 평가나 기능에 대한 연구는 진행 되고 있지만 식물조직배양기술에 의해 돌의 식물세포를 이용한 효능 평가에 대해 알려진 바가 없다.

따라서 본 연구는 울릉도 자생식물 돌의식물 성체로부터 식물조직배양기술을 활용한 돌의식물세포를 유도하고, 생물반응기 내에서 대량생산 조건을 확립하였다. 대량배양된 돌의 식물세포로부터 세 가지 용매를 사용하여 식물세포 배양체로부터 추출하여 실험에 이용하였다. HPLC 분획물로 다양한 물질을 규명하였으며, *In vitro* 효능평가에서 돌의 식물세포 추출물이 아토피피부염 개선을 지니는 화장품 소재로서 가능성이 있는지를 확인하고자 하였다.

2. 연구 방법

2.1 식물세포 유도 및 최적화 배지조성

돌의(*Gynostemma pentaphyllum*) 식물체로부터 식물세포를 유도하기 위하여 돌의 잎을 채취한 후 70% 에탄올과 0.3% 차아염소산나트륨(Sodium hypochlorite, Waco, Cat no. 197-02206, Japan)으로 살균하였고 멸균수로 세척하였다. 소독 된 잎 조직에서 물기를 완전히 제거한 후 0.5~1 cm 크기로 잘라서 옥신과 사이토키닌류의 식물생장조절제(Plant Growth Regulator, PGR)를 단독 또는 각각 0.1 mg/mL~5 mg/mL 가 함유된 배양배지에서 25±2°C 조건으로 암배양하였다. 소독 된 조직을 배지에 치상한 후 2~3주마다 새로운 배지로 계대배양 하였다 8주부터 식물세포의 색상, 형태 및 분화 정도를 비교하여 최적의 식물생장조절물질의 조합비율을 선발하였다. 고체배지에서 현탁배양에 적합한 라인으로 선발된 돌의 식물세포는 플레이트에서 대량증식 하였다. 100 mL 플라스크에 돌의 식물세포를 20 g씩 현탁배양한 후 생물반응기(Bio-reactor)로 Scale-up 하였다 배양이 완료된 식물세포는 정제수로 수세하여 배지를 완전히 제거하고 열풍건조 하였다.

2.2 식물세포 추출 방법

돌의 식물세포를 수확하여 충분히 수분을 제거한 후 60°C로 2일 동안 건조기에서 건조하였다. 건조된 식물세포 분말 2 g을 용기에 담고, 정제수, 30% (v/v) Butylene

Glycol (BG) 및 50% (v/v) Propanediol에 각각 넣은 후 121°C에서 15분 동안 추출하였다. 추출 후, mesh로 여과하여 고형분을 제거하고, 여과하여 나온 돌의 식물세포 배양 정제수, 30% BG, 50% Propanediol을 각 동결 건조하여 5 mg/mL의 농도로 정제수에 녹여 실험에 사용하였다.

2.3 HPLC 분석

식물조직배양기법을 통해 얻어진 식물세포 추출물의 유효 성분 및 지표물질 확인을 위해 HPLC를 사용하였다. 분석을 위해 사용된 기기 조건은 다음과 같다.

Instrument	HPLC 1260 InfinityII system (Agilent, U.S.A)
Column	Shim-Pack GIS C18 (4.6 × 250 mm, 5 μm)
Injection Volume	20 μL
Column Temp.	30°C
Detector	Diode Array Detector (210 nm)
Mobile Phase A	0.1% Trifluoroacetic acid in Water
Mobile Phase B	0.1% Trifluoroacetic acid in Acetonitrile

Mobile Phase Gradient Condition		
Time (min)	%A	%B
0	100	0
5	100	0
75	30	70

모든 샘플은 기기분석을 위해 0.45 μm syringe filter (PTFE, Advantec, Japan)로 여과 후 기기에 주입하였다.

2.4 세포배양 및 분화

인간 표피 조직으로부터 분리한 일차 배양 각질형성세포를 세포 배양판 (culture plates)에 분주하여, Dermal Cell Basal Medium (ATCC, USA)에 배양하였다. 분화를 위해 80-90% confluence 상태에서 1.5 mM Ca²⁺를 배양 배지에 첨가하여 5일 동안 분화를 유도하였으며, IL-4/IL-13 사이토카인 및 돌의 식물세포를 동시에 첨가하였다.

2.5 세포독성 및 증식률

세포 독성 및 증식률은 EZ-Cytox Plus (Dogencio, Korea) assay kit을 이용하여 측정하였다. 48 well 플레이트에 각질형성세포를 1.0×10⁴ cell/well의 농도로 분주하고 4일 후 0.02, 0.04, 0.2, 0.4, 2, 4 ug/mL의 돌의 식물세포시료를 처리하여 24시간 동안 배양하였다. 무혈청 배지와 시약을 10:1로 섞어 각 well에 첨가하고 2시간 동안 37°C 배양기 반응시킨 후, 시약이 섞인 배지 100 μL를 96 well plate에 옮겨 450 nm에서 흡광도를 측정하였다. 위해 48 well plate의 각 well에서 남은 배지 제거 후, 1 N NaOH 200 uL를 첨가하여 단백질을 얻은 뒤 BSA로 정량하고 총 단백질의 양을 구하였다. 450 nm에서 측정된 흡광도를 총 단백질 양으로 보정하고 대조군에 대한 퍼센트로 계산하여 세포 증식률을 나타내었다.

2.6 실시간 중합효소연쇄반응 (qRT-PCR)

세포 내 filaggrin 및 cytokine mRNA 발현량을 측정하기 위해 실시간 중합효소연쇄반응(Quantitative real-time PCR)을 실시하였다. TRIzol® (Invitrogen™, USA)을 이용하여 total RNA를 얻은 뒤 제조사의 프로토콜에 따라 mRNA를 분리하였다. 이후 M-MLV RT (Invitrogen, USA)을 이용하여 cDNA를 합성하고 qRT-qPCR에 이용하였다. SYBR Green (Bioneer, Korea) master mix로 Filament aggregating protein (*FLG*), Zonula occludens-1 (*ZO-1*), Thymic stromal lymphopoietin (*TSLP*), Interleukin-33 (*IL-33*) 유전자에 대한 qRT-PCR을 실시하여 Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (*GAPDH*)로 보정한 후 대조군에 대한 상대적 발현량을 계산하여 그래프로 나타내었다.

2.7 통계분석

모든 실험에 대한 통계분석은 One-way ANOVA로 실시하였으며, 유의차 검정을 위해 Dunnett's multiple comparisons test를 이용하였다.

3. 연구결과 및 고찰

3.1 식물조직배양기술을 이용한 식물세포의 생산

돌의 잎 조직을 소독하여 무균조직을 확보한 후 조직

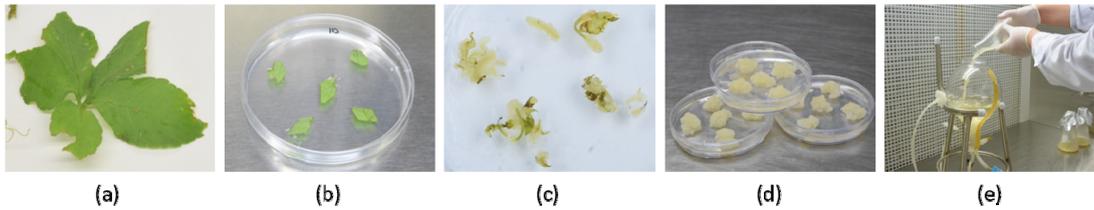


Fig. 1. Callus induction of *Gynostemma pentaphyllum*
 (a) Sterilized Leaf blotting (b) Tissue plating (c) Callus induction (d) Callus line selection (e) Bioreactor culture

을 잘라서 식물생장조절물질이 포함된 배지에서 치상하였다 (Fig. 1 (a)~(b)). 2~3주마다 새로운 배지로 계대배양하였고 4주 후부터 조직의 단면에서 돌의 식물세포가 분화하기 시작하였다 (Fig. 1 (c)). 8주 이후로 다수의 황색 계열의 식물세포가 나타나기 시작하였고, 증식 속도가 빠르고 갈변 현상이 적은 세포라인을 분화시키는 옥신계열의 성장조절물질 2,4-D를 단독으로 1 mg/L 농도로 제조한 배지를 선발하였다 (Figure 1 (d)). 배지조건 선발 후 2주마다 계대배양을 반복하면서 라인을 증식시키면서 대량 배양에 적합한 세포라인을 선발하였다. 고체배지에서 배양되던 식물세포는 플라스크 배양을 통해 현탁 배양에 적합한 라인으로 선발된 후 3 L, 5 L, 10 L 생물반응기 (Bio-reactor)로 Scale-up 하여 배양하였다 (Figure 1 (e)). 최종 10 L 배양기에서 생산된 세포를 수확하여 본 실험에 사용되었다.

3.2 HPLC 분석

돌의 식물세포로부터 추출물을 제조하기 위해 화장품에서 사용되는 3가지 용매 (정제수, 30% (v/v) Butylene Glycol 및 50% (v/v) Propanediol)로 추출물을 제조하였고, 각 용매 별 추출물에 함유된 물질을 확인하기 위해 HPLC로 분석을 실시하였다 (Fig. 2). 본 조건으로 분석 및 UV 210 nm에서 검출하였을 때 크로마토그램 초기에 등장한 수용성 성분들을 포함하여 약 40 분 정도에 걸쳐 다양한 피크들을 확인하였다. 각 피크들이 어떤 물질인지 규명하는 것은 좀 더 연구를 진행해야 할 수 있겠지만, 식물세포라는 특성상 세포 생장에 필요한 핵산 계열인 adenosine, guanosine 및 아미노산 계열인 tyrosine, phenylalanine으로 추정되는 피크들이 검출되었다. 이 외에도 어떤 성분의 피크인지 현재로서 규명은 되지 않았지만 11분의 피크 및 24~33분경의 작은 피크들이 등장하였다 (30% BG 추출물에서만 등장한 34~37분의 피크들은 추출 용매로부터 기인한 피크들임).

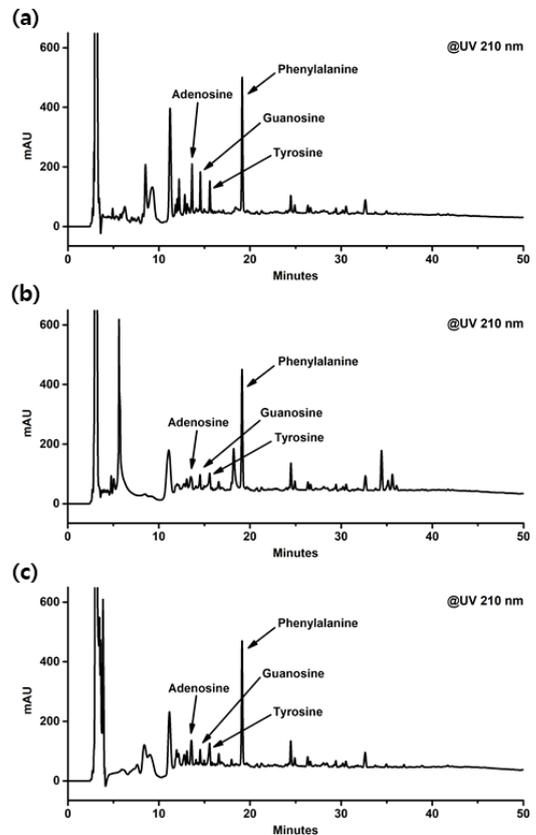


Fig. 2. Comparison of HPLC chromatograms (detecting at UV 210 nm) of the the extracts
 (a) Water extract
 (b) 30% butylene glycol extract
 (c) 50% propanediol extract

각 용매별로 추출한 추출물의 크로마토그램을 비교하였을 때 전반적으로 물 추출물에서 피크들이 좀 더 다양하며 피크 크기도 다른 추출물들에 비해 다소 높은 것이 확인되었다. 특히 8분, 11분의 unknown 피크가 다른 추출물들에 2~3 배 가량 높았으며 이외에도 adenosine, guanosine, tyrosine으로 추정되는 피크는 2~4 배 가

량 높은 것을 확인 할 수 있었다. 이 기기 조건으로 모든 성분이 검출 및 분석이 가능한 것은 아니다. 컬럼, 이동상을 바꾸거나, 정상 (normal phase) 조건으로 진행, 또는 다른 종류의 검출기(detector)를 사용하여 분석을 진행한다면 다른 양상이 나오거나 2~3분에 나왔던 수용성 물질들 피크의 분리를 통해 다른 결과를 도출할 수도 있다.

3.3 세포독성 및 세포 증식을 변화

돌의 식물세포 농도변화에 따른 세포독성 및 세포 증식을 평가하기 위해 CCK 검사를 실시하였다. Fig. 3 (a)에서 보는 바와 같이 0.02 $\mu\text{g/mL}$ 부터 2 $\mu\text{g/mL}$ 까지 세포독성이 없었으나 4 $\mu\text{g/mL}$ 에서 독성이 나타나 세포 생존률이 감소하였다. 0.2 $\mu\text{g/mL}$ 의 돌의 식물세포는 세포 증식을 유의미하게 증가시켰으나 4 $\mu\text{g/mL}$ 의 돌의 식물세포는 세포 증식을 감소시켰다(Fig. 3 (b)).

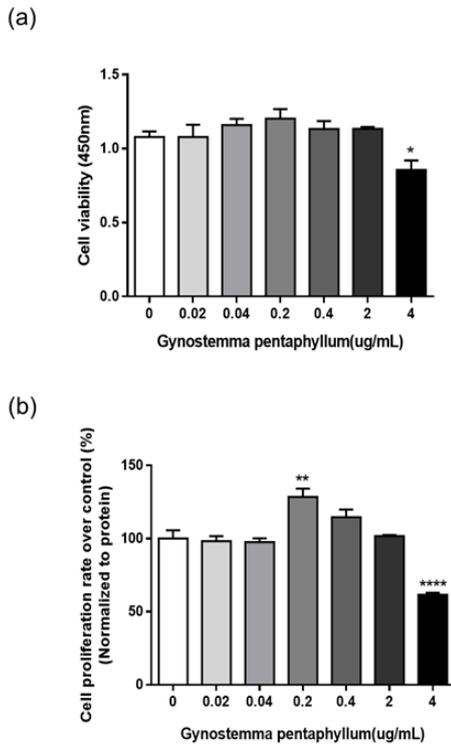
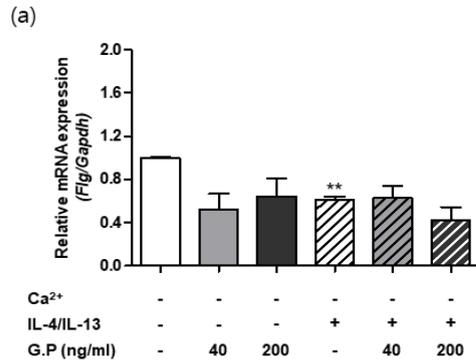


Fig. 3. The effect of G.P on cell viability and proliferation
 G.P was applied to culture medium for 24h. (a) Variation of cell viability by concentration of G.P. (b) Variation of cell proliferation rate by concentration of G.P.
 * $p < 0.05$ vs G.P non-treated control; ** $p < 0.01$ vs G.P non-treated control; **** $p < 0.001$ vs G.P non-treated control

3.4 피부장벽 기능 저하에 대한 효능평가

Fig. 3의 결과를 바탕으로 0.04 $\mu\text{g/mL}$ 및 2 $\mu\text{g/mL}$ 돌의 식물세포의 피부 장벽 기능 회복에 대한 효과를 평가하였다. *FLG* 유전자로부터 만들어지는 필라그린 단백질은 피부의 가장 바깥층의 각질세포막을 구성하는 주요 단백질로 피부 장벽 기능에 중요한 역할을 한다[16]. 필라그린은 각질세포를 단단하게 붙여주는 역할을 할 뿐 아니라 자연보습인자로 분해되어 피부의 pH 유지에 중요한 역할을 한다[17, 18, 19]. 아토피피부염에서는 필라그린 단백질의 발현이 저하되어 있으며, 이는 아토피피부염의 피부장벽 기능 저하와 밀접한 연관이 있다[20, 21]. *TJP-1* 유전자로부터 만들어지는 ZO-1 단백질은 밀착연접 단백질 중 하나로 표피의 과립층에서 발현되어있으며, 정상적인 밀착연접은 피부의 수분 손실을 방지하고 외부 물질이 들어오지 않도록 하는데 중요한 역할을 담당한다[22]. 아토피피부염에서 필라그린 단백질과 ZO-1 단백질의 발현이 저하되어 있고, 이와 더불어 피부장벽 기능이 현저하게 저하되기 있기 때문에[23] Th2 사이토카인 (IL-4/IL-13)으로 유도한 아토피피부염 모사 각질형성세포 모델에서 돌의 식물세포 추출물에 의한 피부장벽 기능 회복 여부를 평가하였다. 분화되지 않은 각질형성세포 (Fig. 4 (a)~(b)) 및 분화된 각질형성세포 (Fig. 4 (c)~(d)) 모두에서 IL-4/IL-13에 의하여 *FLG* 유전자 발현이 감소하였으나, 감소한 *FLG* 유전자 발현은 돌의 식물세포 추출물에 의해 회복되지 않았다. 밀착연접단백인 ZO-1의 경우 분화 여부와 상관없이 Th2 사이토카인 및 돌의 식물세포 추출물에 의한 *TJP-1* 유전자 발현 변화를 보이지 않았다 (Fig. 4).



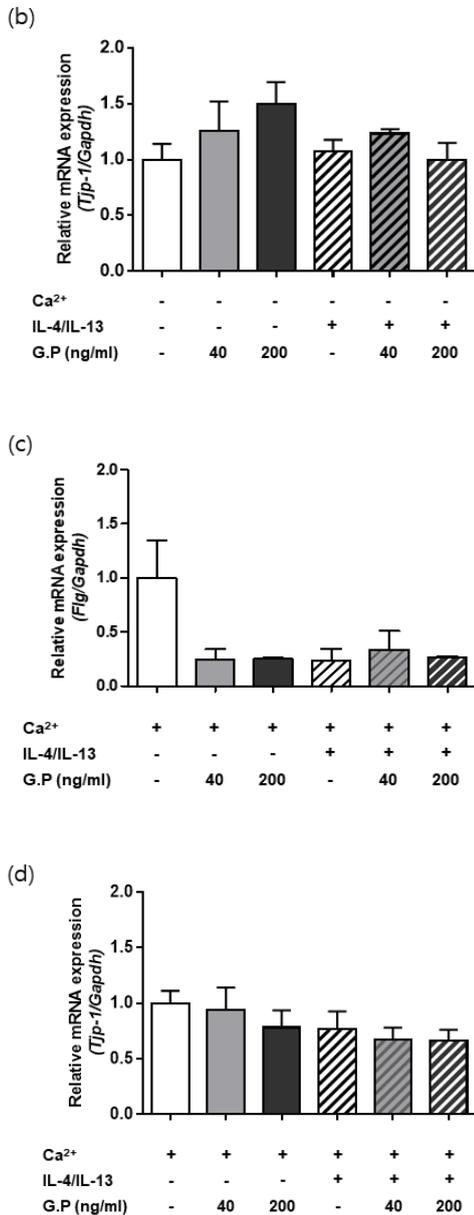
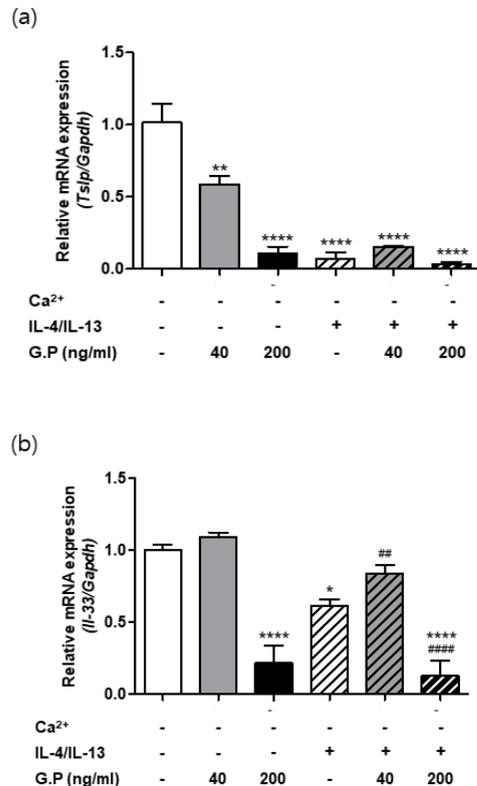


Fig. 4. G.P doesn't improve skin barrier function in Th2 cytokine-mediated inflammation
 Vehicle or G.P was applied to the culture medium for 5 days with or without IL-4/IL-13 in the absence (a~b) or presence (c~d) of 1.5mM Ca²⁺. (a~b) *FLG* and *TJP-1* mRNA expression in keratinocytes. (c~d) *FLG* and *TJP-1* mRNA expression in Ca²⁺-differentiated keratinocytes.
 **p<0.01 vs non treated control

3.5 IL-4/IL-13 사이토카인에 대한 가려움증 완화 효능평가

Thymic stromal lymphopoietin (TSLP)와 IL-33은 각질형성세포로부터 분비되어 피부 가려움증을 유발하는 사이토카인으로 아토피피부염에서 발현이 증가되어 있다[24]. TSLP는 각질형성세포로부터 분비되어 T세포를 Th2 세포로 분화시키는 역할을 함과 동시에, 최근에는 신경세포 말단에 존재하는 TSLP 수용체에 작용하여 가려움증을 유발하는 것으로 보고되고 있다[25]. IL-33은 T세포로부터 가려움증 유발에 중요한 IL-31의 발현을 증가시키고, 비만세포, 호산구, ILC2 세포 등으로부터 여러 가지 사이토카인 및 케모카인의 발현 및 분비를 증가시켜 염증반응을 유발하는 것으로 알려져 있다[26]. 본 실험에서 돌의 식물세포 추출물을 분화되지 않은 각질형성세포에 처리 시 *TSLP*와 *IL-33* 유전자 발현이 모두 감소되었으며 (Fig. 5 (a)~(b)), 분화된 각질형성세포에서 Th2 사이토카인에 의해 증가한 *TSLP*와 *IL-33* 유전자 발현이 증가되었으며, 이는 돌의 식물세포 추출물에 의해 유의하게 감소하였다 (Fig. 5 (c)~(d)).



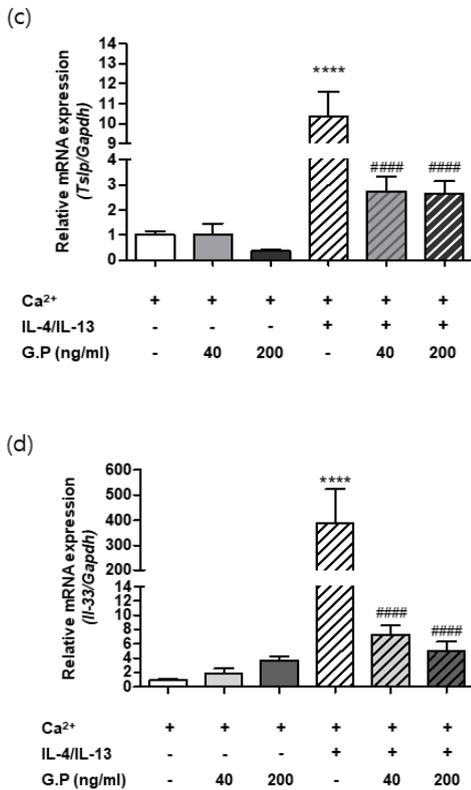


Fig. 5. G.P reduces Th2 cytokine-mediated inflammation in Ca²⁺-differentiated keratinocytes
 Vehicle or G.P was applied to the culture medium for 5 days with or without IL-4/IL-13 in the absence (a~b) or presence (c~d) of 1.5mM Ca²⁺. (a~b) *TSLP* and *IL-33* mRNA expression in keratinocytes. (c~d) *TSLP* and *IL-33* mRNA expression in Ca²⁺-differentiated keratinocytes.
 p*(0.05 vs G.P non-treated control; *p*(0.01 vs non-treated control; *****p*(0.001 vs non-treated control; ##*p*(0.01 vs IL-4/IL-13-treated control; ####*p*(0.001 vs IL-4/IL-13-treated control

4. 결론

본 실험에서는 울릉도 자생식물인 돌외(*Gynostemma pentaphyllum*) 에서 식물세포 유도를 성공하였고, 이 유도된 식물세포를 바탕으로 대량배양을 진행하였다. 대량배양을 통해 확보한 돌외 식물세포를 각각 열수, 30% BG, 50% Propanediol로 추출하여 HPLC로 분석하였고, 용매 종류에 따른 추출물의 크로마토그램을 통해 각 피크의 성분 확인 및 비교를 진행하였다. 그 결과 해당 조건으로 분석 시 열수 추출물이 다른 용매 추출물들보다 크로마토그램에서 확인된 피크들의 크기가 컸기에 각 성분들의 함유량이 더 높은 것을 확인하게 되었다. 돌외

식물세포는 상당부분 세포라는 특성에 따른 DNA를 함유하고 있는데, HPLC 분석 스펙트럼에서 Adenosine, Guanosine 같은 DNA 구성성분들이 검출되었다. 한편, 벤젠링을 가진 Phenylalanine, Tyrosine 같은 아미노산들 또한 검출되었으며, 이는 일반적인 돌외식물 성체에서는 분석되기 어려운 지표성분 및 유효성분들이다. 유효성분이 많은 증류수 추출 분획물을 이용하여 효능평가를 진행하였다. 증류수로 추출한 돌외 식물세포에서 각 농도 0.04 ug/mL 및 2 ug/mL 를 처리를 하여 피부 장벽 개선 및 아토피피부염 항염증 개선 효능 평가 시험을 진행하였다. 본 실험 결과를 종합해볼 때, 돌외 식물세포 추출물은 분화된 각질형성세포에서 IL-4/IL-13 사이토카인에 의해 감소한 피부장벽 기능을 회복시키지는 못하였으나, TSLP 및 IL-33의 발현을 현저하게 감소시키는 것으로 확인되었다. 이를 통해 돌외 식물세포 추출물은 아토피피부염의 만성적인 가려움증을 완화시키는데 효과적일 수 있을 것으로 생각되며, 가려움증/염증악화의 악순환 고리를 끊어줌으로서 만성적인 염증반응과 피부장벽 기능 저하의 회복에도 도움이 될 수 있을 것으로 기대한다.

따라서, 돌외 식물체에서 유도한 돌외 식물세포추출물은 자연친화적이고 친환경적인 소재로 아토피피부염 개선을 위한 항염증 관련 제품 보급뿐만 아니라 국내 자생 식물을 활용한 다양한 산업에 좋은 소재로 활용할 수 있을 것으로 예상된다.

References

- [1] Y. Renert-Yuval, E. Guttman-Yassky, "What's New in Atopic Dermatitis", *Dermatologic Clinics*, Vol.37, No.2, pp.205-213, April. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.det.2018.12.007>
- [2] M. Kim, J. Kim, "Phenotypes and endotypes of atopic dermatitis: Clinical implications", *Allergy Asthma & Respiratory Disease*, Vol.8, No.1, pp.9-14, Jan. 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.4168/aard.2020.8.1.9>
- [3] M. S. Kim, K. H. Kim, H. S. Yook, "Antioxidative Effects of *Campanula takesimana* Nakai Extract", *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, Vol.41, No.10, pp.1331-37, Oct. 2012. DOI: <http://dx.doi.org/10.3746/jkfn.2012.41.10.1331>
- [4] E. H. Choi, M. Q. Man, P. Xu, S. Xin, Z. Liu, D. A. Crumrine, Y. J. Jiang, J. W. Fluhr, K. R. Feingold, P. M. Elias, T. M. Mauro, "Stratum corneum acidification is impaired in moderately aged human and murine skin", *Journal of Investigative Dermatology*, Vol.127, No.12, pp.2847-56, Dec. 2007.

- DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/sj.iid.5700913>
- [5] J. M. Leyva-Castillo, P. Hener, H. Jiang, M. Li, "TSLP produced by keratinocytes promotes allergen sensitization through skin and thereby triggers atopic march in mice" *Journal of Investigative Dermatology*, Vol.133, No.1, pp.154-63, Jul. 2013.
DOI: <https://doi.org/10.1038/iid.2012.239>
- [6] S. K. Hwang, S. J. Lee, K. S. Oh, "Relationship between vesicularities of pumice clasts and eruption types in the Maljandeung Tuff, Ulleung Island, Korea" *Journal of the Geological Society of Korea*, Vol.56, No.4, pp.453-468, Aug. 2020.
DOI: <https://doi.org/10.14770/jgsk.2020.56.4.453>
- [7] S. Yang, H. D. Jang, B. M. Nam, G. Y. Chung, R. Y. Lee, J. H. Lee, B. U. O, "A floristic study of Ulleungdo Island in Korea" *Korean Journal of Plant Taxonomy*, Vol.45, No.2, pp.192-212, June. 2015.
DOI: <https://doi.org/10.11110/kjpt.2015.45.2.192>
- [8] G. Y. Chung, M. S. Park, B. M. Nam, K. N. Hong, J. Jang, C. H. Lee, "The Regional Folk Plants in Inland of Gyeongsangbuk-do (I)" *The Plant Resources Society of Korea*, Vol.23, No.5, pp.465-479, 2010.
- [9] Y. H. Choi, H. S. Jung, M. J. Cho, M. Y. Song, H. H. Seo, S. H. Moh, "Efficacy of callus induced from Ullengdo niche plants for skin protection" *Journal of the Korea Academia-Industrial cooperation Society*, Vol.15, No.8, pp.5070-5077, Aug. 2014.
DOI: <http://dx.doi.org/10.5762/KAIS.2014.15.8.5070>
- [10] K. M. Kim, A. R. Kim, A. Y. Kim, J. H. Ha, S. H. Xuan, Y. J. Jeong, Y. M. Park, H. J. Jeong, I. G. Hong, S. N. Park, "Antioxidative and Cellular Protective Effects of Dolwoe (*Gynostemma pentaphyllum* Makino) Extracts against Oxidative Stress" *The Korean Society of Pharmacognosy*, Vol.48, No.2, pp.125-133, 2017.
- [11] T. F. Tsang, B. Chan, W. C. S. Tai, G. Huang, J. Wang, X. Li, Z. H. Jiang, W. L. W. Hsiao, "*Gynostemma pentaphyllum* saponins induce melanogenesis and activate cAMP/PKA and Wnt/ β -catenin signaling pathways" *Phytomedicine*, Vol.60, Jul. 2019.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2019.153008>
- [12] H. J. Kim, D. J. Lee, J. J. Ku, K. Choi, K. W. Park, S. H. Kang, C. Moon, P. J. Lee, "Anti-inflammatory Effect of Extracts from Folk Plants in Ulleung Island" *Korean Journal of Plant Resources*, Vol.26, No.2, pp.169-177, April. 2013.
DOI: <http://dx.doi.org/10.7732/kjpr.2013.26.2.169>
- [13] V. T. T. Huyen, D. V. Phan, P. Thang, P. T. Ky, N. K. Hoa, C. G. Ostenson, "Antidiabetic Effects of Add-On *Gynostemma pentaphyllum* Extract Therapy with Sulfonylureas in Type 2 Diabetic Patients" *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, Vol 2012, Oct. 2012.
DOI: <https://doi.org/10.1155/2012/452313>
- [14] P. L uthje, E. F. Lokman, C. Sandstr om, C. G.  stenson, A. Brauner, "*Gynostemma pentaphyllum* exhibits anti-inflammatory properties and modulates antimicrobial peptide expression in the urinary bladder" *Journal of Functional Foods*, Vol 17, pp283-292, Aug. 2015.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.03.028>
- [15] W. Y. Wong, M. M. L. Lee, B. D. Chan, V. W. S. Ma, W. Zhang, T. T. C. Yip, W. T. Wong, W. C. S. Tai, "*Gynostemma pentaphyllum* saponins attenuate inflammation in vitro and in vivo by inhibition of NF- κ B and STAT3 signaling" *Oncotarget*, Vol 8, No 50, pp. 87401-87414, Sep. 2017.
DOI: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.20997>
- [16] S. J. Brown, W. H. I. McLean, "One remarkable molecule: filaggrin" *Journal of Investigative Dermatology*, Vol 132, No 3, pp. 751-62, Mar. 2012.
DOI: <https://doi.org/10.1038/iid.2011.393>
- [17] L. Eckhart, S. Lippens, E. Tschachler, W. Declercq, "Cell death by cornification" *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, Vol 1833, No 12, pp. 3471-3480, Dec. 2013.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2013.06.010>
- [18] R. Sun, A. Celli, D. Crumrine, M. Hupe, L. C. Adame, S. D. Pennypacker, K. Park, Y. Uchida, K. R. Feingold, P. M. Elias, D. Ilic, T. M. Mauro, "Lowered Humidity Produces Human Epidermal Equivalents with Enhanced Barrier Properties" *Tissue Engineering Part C: Methods*, Vol 21, No 1, Jun. 2014.
DOI: <https://doi.org/10.1089/ten.tec.2014.0065>
- [19] H. Miajlovic, P. G. Fallon, A. D. Irvine, T. J. Foster, "Effect of filaggrin breakdown products on growth of and protein expression by *Staphylococcus aureus*" *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, Vol 126, No 6, pp. 1184-1190, Dec. 2010.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2010.09.015>
- [20] H. Baurecht, A.D. Irvine, N. Novak, T. Illig, B. B uhler, J. Ring, S. Wagenpfeil, S. Weidinger, "Toward a major risk factor for atopic eczema: Meta-analysis of filaggrin polymorphism data" *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, Vol 120, No 6, pp. 1406-1412, Dec. 2007.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2007.08.067>
- [21] J. Esparza-Gordillo, A. Matanovic, I. Marenholz, et al., "Maternal filaggrin mutations increase the risk of atopic dermatitis in children: an effect independent of mutation inheritance" *PLoS Genetics*, Vol 11, No 3, Mar. 2015.
DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1005076>
- [22] C. M. Niessen, "Tight junctions/adherens junctions: basic structure and function" *Journal of Investigative Dermatology*, Vol 127, No 11, pp. 2525-32, Nov. 2007.
DOI: <https://doi.org/10.1038/sj.iid.5700865>
- [23] D. I. S. Batista, L. Perez, R. L. Orfali, M. C. Zaniboni, L. P. Samorano, N. V. Pereira, M. N. Sotto, A. S. Ishizaki, L. M. S. Oliveira, M. N. Sato, V. Aoki, "Profile of skin barrier proteins (filaggrin, claudins 1 and 4) and Th1/Th2/Th17 cytokines in adults with atopic dermatitis" *Journal of the European Academy of*

Dermatology and Venereology, Vol 29, No 6, pp. 1091-5, Jun. 2015.
DOI: <https://doi.org/10.1111/jdv.12753>

- [24] J. Klonowska, J. Gleń, R. J. Nowicki, M. Trzeciak, "New Cytokines in the Pathogenesis of Atopic Dermatitis—New Therapeutic Targets" *International Journal of Molecular Sciences*, Vol 19, No 10, pp. 3086, Oct. 2018.
DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms19103086>
- [25] S. R. Wilson, L. Thé, L. M. Batia, K. Beattie, G. E. Katibah, S. P. McClain, M. Pellegrino, D. M. Estandian, D. M. Bautista, "The epithelial cell-derived atopic dermatitis cytokine TSLP activates neurons to induce itch" *Cell*, Vol 155, No 2, pp. 285-95, Oct. 2013.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.08.057>
- [26] I. Yasutomo, "Interleukin-33 in atopic dermatitis" *Journal of Dermatological Science*, Vol 96, No 1, pp. 2-7, Oct. 2019.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jdermsci.2019.08.006>

목 보 람(Bo-Ram Mok)

[정회원]



- 2012년 8월 : 건국대학교 동물생명과학대학원 식품생명공학학과 (이학석사)
- 2017년 2월 : 고려대학교 생명공학대학원 생명공학과 (이학박사 수료)
- 2017년 3월 ~ 현재 : 차의과학대학교 의생명공학과 박사과정

<관심분야>
생명과학

김 수 윤(Soo-Yun Kim)

[정회원]



- 2003년 2월 : 경희대학교 생명공학대학원 농생명공학 전공 (이학석사)
- 2009년 9월 : 경희대학교 생명공학대학원 농생명공학 전공 (이학박사)
- 2010년 2월 ~ 2013년 12월 : 국립 원예특작과학원 박사후연구원
- 2014년 3월 ~ 현재 : (주)바이오프디엔씨 근무

<관심분야>
생명과학, 조직배양

백 승 혜(Seung-Hye Paek)

[정회원]



- 2018년 2월 : 단국대학교 동물자원학과 전공 (농학사)
- 2020년 2월 : 단국대학교 생명자원과학과 동물자원학 전공 (이학석사)
- 2020년 3월 ~ 현재 : (주)바이오에프디엔씨 근무

<관심분야>
생명과학

장 영 수(Young-su Jung)

[준회원]



- 2020년 2월 : 인천대학교 화학과 전공 (이학학사)
- 2020년 3월 ~ 현재 : 차의과학대학교 의학과 생화학교실 석사과정

<관심분야>
생명과학

신 정 우(Jung U Shin)

[정회원]



- 2009년 2월 : 연세대학교 의학대학원 의학학과 (의학석사)
- 2014년 2월 : 연세대학교 의학대학원 의학과 (의학박사)
- 2003년 3월 ~ 2006년 2월 : 한국연구소 책임연구원
- 2019년 3월 ~ 현재 : 차의과학대학교 의학과 교수

<관심분야>
생명과학

모 상 현(Sang Hyun Moh)

[종신회원]



- 2003년 8월 : 광주과학기술원 생명과학과 (이학석사)
- 2013년 2월 : 성균관대학교 나노과학기술협동학부 (이학박사)
- 2005년 11월 ~ 현재 : (주)바이오에프디엔씨 대표이사

〈관심분야〉

생명과학, 나노과학