



RESEARCH ARTICLE

Open Access

Anti-inflammatory and Matrix Metalloproteinase-1-Inhibitory Effects of the *Cassia obtusifolia* L. Seed Extract on Particulate Matter-induced Skin

Jung-Wook Kang¹, In-Chul Lee^{2*}¹College of Fusion and Convergence, Seowon University, Cheongju-si, Chungcheongbuk-do, Korea²Department of Cosmetic Science and Technology, Seowon University, Cheongju-si, Chungcheongbuk-do, Korea

*Corresponding author: In-Chul Lee,
Department of cosmetic science and
technology, Seowon University, 377-3,
Musimseo-ro, Seowon-gu, Cheongju-si,
Chungcheongbuk-do, Korea.
Tel.: +82 43 299 8680
Fax: +82 43 299 8683
Email: 5229418@hanmail.net

Received July 8, 2021

Revised August 13, 2021

Accepted September 7, 2021

Published September 30, 2021



Abstract

Purpose: This study aimed to investigate the effects of the *Cassia obtusifolia* L. seed extract (CSE) on particulate matter (PM)-induced skin. **Methods:** The effects of CSE on cell viability were evaluated using a skin cell line. To determine the anti-inflammatory effects and matrix metalloproteinase-1 (MMP-1)-inhibitory effects of CSE on PM-induced skin, NO and MMP-1 expressions were measured using an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kit. Also, the effects of CSE was investigated the induction of IL-8 and TNF- α treated PM on reconstructed human full thickness skin models. **Results:** It was observed that CSE decreased NO production in PM-induced RAW 264.7 cells without cytotoxicity. In addition, CSE decreased the expression of MMP-1 in PM-induced cells in a dose-dependent manner. CSE decreased IL-8 and TNF- α production in a PM-reconstructed human skin model. **Conclusion:** These results indicate that CSE could be used as a cosmetic material to induce anti-inflammation and inhibition of MMP-1 in PM-induced skin.

Keywords: *Cassia obtusifolia* L., Anti-inflammation, Matrix metalloproteinase-1, Particulate matter, Cosmetic materials

Introduction

최근 미세먼지(particulate matter)등 대기오염이 호흡기질환을 비롯한 여러 질환을 유발시키면서 건강을 위협하고 있다. 우리나라는 미세먼지 농도가 가장 높은 국가로 지정되어 있으며, 경제협력개발기구(Organization for Economic Cooperation and Development; OECD)에서 발표한 자료에 의하면 우리나라의 미세먼지 농도는 상당히 높은 편으로 확인되었다(OECD, 2016). 미세먼지에 노출되면 천식, 기관지염 등의 호흡기질환은 물론 피부질환 등 각종 질병에 노출될 수 있다(Dockery & Pope III, 1994) 대기에 있는 총 부유 분진 중 입자의 크기가 10 μm 이하인 먼지를 미세먼지 (PM10) 입자의 크기가 2.5 μm 이하인 먼지를 초미세먼지 (PM2.5)로 대기오염물질을 규제하고 있다. 미세먼지를 포함한 대기오염이 아토피 등 염증반응을 일으키는 원인이 된다고 보고되고 있다(Jang *et al.*, 2020). 미세먼지

는 피부의 항산화 능력을 가지는 glutathione peroxidase, superoxide dismutase 등과 같은 효소적 항산화(enzymatic antioxidant capacity)와 Vitamin E, Vitamin C과 같은 비효소적항산화 활성(Non-enzymatic antioxidant capacity)을 방해하는 산화 스트레스(oxidative stress)를 증가시켜 염증을 유발시킨다(Jun *et al.*, 2020; Puri *et al.*, 2017; Lee *et al.*, 2016). 이는 증가된 활성산소종(reactive oxygen species, ROS) 생성을 통해 피부 세포의 손상과 사멸을 유도하고 피부의 주름 생성 등의 피부노화를 증가시킨다고 확인되었다(Park & Shim, 2016). 또한, 미세먼지에 의해 활성화된 염증인자들은 피부장벽에 손상되고 활성산소로 인해 콜라겐 단백질을 분해하는 효소인 matrix metalloproteinase-1 (MMP-1)의 생성을 촉진하여 피부의 탄력을 감소하는 등의 피부노화를 일으킨다고 확인되었다(Vierkötter & Krutmann, 2012; Pentland *et al.*, 1995). A. Vierkötter 등에 의한 연구에서 미세먼지 표면에 흡착된 다환방향족

탄화수소(polycyclic aromatic hydrocarbon, PAH)를 방출하여 aryl hydrocarbon receptor (AhR)의 리간드(ligand)에 의해 세포 증식을 통해 피부노화를 일으킨다고 보고되었다(Vierkötter *et al.*, 2010).

결명자(*Cassia semen*)는 콩과(*Leguminosae*)에 속하는 결명(*Cassia obtusifolia* L.)의 성숙한 종자이며, 활성연구는 항균, 항암, 항산화등 다양한 분야에서 효능이 나타나고 있다고 연구되었다(Doughari *et al.*, 2008; Kowalczyk *et al.*, 2020). 결명자는 anthraquinones, naphthopyrones, volatile oils 등 70여개가 넘는 피토케미칼 성분이 포함된 것으로 알려져 있으며 특히, emodin 과 alaternin 등의 성분에 의해 항산화 효능을 가진 것으로 보고되었다(Choi *et al.*, 2000; Zhang *et al.*, 2009).

본 연구에서는 대기중에 존재하는 미세먼지를 포집하여 피부세포에 적용한 후 결명자 씨 추출물이 나타내는 변화를 관찰하였다. 결명자 씨앗 추출물이 미세먼지 PM10 및 PM2.5로 처리된 피부세포에 Nitric oxide 생성 및 콜라겐분해효소의 변화를 확인하여 미세먼지에 의해 피부를 보호할 수 있는 새로운 화장품 원료로서 가능성을 확인하고자 한다.

Methods

1. 결명자 씨앗 추출물 제조

결명자 씨앗 추출물 제조에 사용된 결명자는 충북 제천에서 수집 및 가공한 결명자 씨를 구입(주토종마을, Korea)하여 사용하였다. 결명자 씨를 분쇄 후 시료에 70% 에탄올을 넣고 60°C에서 5 h 동안 가온 추출 후, 감압 농축(EYELA; Rotary evaporator, Japan)하여 얻어진 수득물에 10% NaHCO₃ 수용액을 넣고 고온에서 교반하였다. 추출물은 여과지(Whatman No. 2; all for Lab, Korea)를 이용하여 여과한 후 감압 농축하여 용매를 제거하였다. 이후 동결 건조하여 -20°C에 보관하여 본 실험의 시료로 사용하였다.

2. 미세먼지 (PM10, PM2.5) 제조

본 시험에서 사용된 미세먼지(PM 10, PM 2.5)는 보건환경연구원에서 공급받아 실험을 진행하였다. 샘플 채취는 low volume air sampler (PMS-103; APM Co., Korea)를 사용하였으며 흡인유량은 16.7 L/min으로 진행하였다. 공급받은 샘플을 추출하기 위해 PM 10, PM 2.5가 샘플링 된 필터를 잘게 자른 후 정제수가 담긴 비커에 마그네틱 바로 교반 하면서 12 h 동안 추출하였다. 추출액을 회수하고 남은 필터를 초음파로 2차 추출 후 농축 후 제조된 미세먼지를 희석하여 실험에 사용하였다.

3. 세포주 배양

인체각질세포(human keratinocyte)인 HaCaT 세포와 murine macrophage인 RAW 264.7 세포를 페니실린과 스트렙토마이신

(WELGENE, Korea), 10% fetal bovine serum (FBS) (Thermo Fisher Scientific, USA)를 함유하는 Dullbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) (Thermo Fisher Scientific, USA) 배지에 넣고 37°C, 5% 이산화탄소를 포함하는 배양기(FORMA STERI-CYCLE 371; Thermo Fisher Scientific, USA) 내에서 배양하였다.

인체섬유아세포(human fibroblast)를 페니실린과 스트렙토마이신, 보조제를 함유하는 fibroblast basal medium (FBM) (LONZA, Switzerland) 배지에 넣고 37°C, 5% 이산화탄소를 포함하는 배양기 내에서 배양하였다.

4. 세포 생존율 측정

96 Well plate에 HaCaT세포를 1.5×10⁴ cells/well씩 분주한 후, 24 h 동안 세포가 plate에 잘 붙도록 37°C, 5% CO₂ 세포 배양기에 배양하였다. 24 h 후 배양액을 버리고 Dulbecco's phosphate-buffered saline (DPBS; Thermo Fisher Scientific, USA)로 세척한 다음 FBS를 포함하지 않은 DMEM 배지를 사용하여 세포를 기아상태로 만들어 주었다. 다음 날, 일정 농도의 시험물질을 처리하여 24 h 배양하였다. 배지에 10 배 희석시킨 WST-1 시약(Dogenbio, Korea)을 각 well에 100 μL씩 넣고 2 h 배양 후, microplate reader를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

$$\text{세포생존율(\%)} = \text{시료첨가군의 흡광도} / \text{대조군의 흡광도} \times 100$$

5. NO 생성능 평가

96 well plate에 RAW 264.7을 6×10⁴ cells/well씩 분주한 후, 세포 배양조건에서 배양하였다. 24 h 후 배양액을 버리고 PBS로 세척한 다음 FBS를 함유하지 않은 DMEM 배지를 사용하여 세포를 기아상태로 만들어주었다. 다음날 1 μg/mL의 lipopolysaccharides (LPS; Sigma, USA)와 함께 일정 농도의 시험물질을 처리하여 배양하였다. 24 h 후 세포 배양액과 griess reagent를 동량 넣어 혼합 후, 15 min 간 상온에서 반응시켰다. 560 nm에서 흡광도를 측정하였으며, NO의 양은 sodium nitrite (Daejung, Korea)로부터 얻은 표준곡선을 이용하여 결정하였다. 최종 NO의 양은 일정 단백질 당 NO의 양으로 환산하여 음성대조군과 비교하였다. 단백질 보정은 세포 배양액을 회수하고 PBS로 세척 후 1 N의 수산화나트륨을 처리하여 세포를 용해시켜 주었다. 단백질 정량법 중 하나인 BCA 방법(BCA protein assay kit; Thermo Fisher Scientific, USA)으로 측정하여 보정하였다.

6. MMP-1 생성 억제 평가

PBS 완충용액 2%를 첨가한 음성대조군을 기준으로 MMP-1 합성량 측정은 MMP-1 ELISA kit (GE, UK)를 이용한 enzyme linked immunosorbent assay (ELISA)방법으로 실시하였다. 먼저 48시간 배양한 배지를 MMP-1에 대한 단일클론 항체(monoclonal anti-MMP-1; GE healthcare, USA)로 coating된 microplate의 각 well

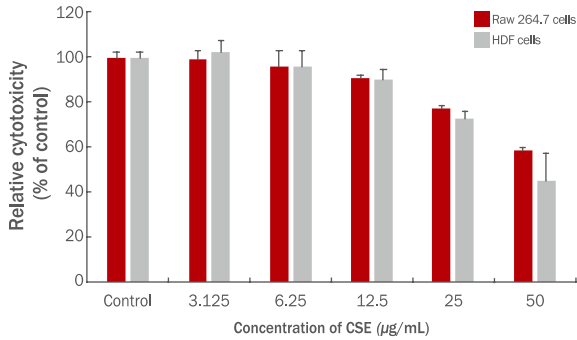


Figure 1. Effects of CSE on cell viability.

Raw 264.7 and human dermal fibroblast cells were treated with various concentrations of CSE at 37°C for 4 h. The proportion of cells that survived was measured using a WST-1 assay. The results are expressed as the average of triplicate samples with SD.

에 100 µL씩 분주한 후, 뚜껑을 덮어 실온에서 2 h 동안 보온하였다. 각 well의 내용물을 제거한 후 세척용 완충제로 세척과정을 3회 반복하였다. 세척액을 완전히 제거한 다음 각 well의 MMP-1에 대한 다클론 항체(polyclonal anti-MMP-1) 100 µL씩 분주한 후, 뚜껑을 덮어 실온에서 2시간 동안 보온하였다. 각 well의 내용물을 제거한 후 세척용 완충제의 세척과정을 3회 반복하였으며, 세척액을 완전히 제거한 후 각 well에 peroxidase conjugate 100 µL씩 분주한 후 실온에서 1 h 동안 보온하였다. 보온이 끝난 후 세척용 완충제 (Wash buffer, 0.01M sodium phosphate buffer pH 7.0 with 0.05% Tween 20)의 세척과정을 3회 반복하여 미반응 항체를 제거하였으며, 희석된 기질(substrate) 용액을 각 well에 100 µL씩 분주한 후 실온에서 30 min간 보온하였다. 동일한 시간에 반응을 종료시키기 위하여 stop 용액(2NH₄SO₄)을 각 well에 100 µL씩 넣고 30 min 내에 micro plate reader (GM3000; Promega, USA)를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였다. 측정된 표준품에 대한 시료의 농도를 산출 후 최종적으로 BCA protein assay kit를 이용하여 정량한 총 단백질로 보정하였다.

7. 인공피부모델을 이용한 IL-8 및 TNF-α 측정

인공피부모델에서 결명자 뿌리 추출물의 TNF-α 발현을 확인하고자 reconstructed human full thickness skin model (T-SkinTM; episkin, France)을 구입 후 사용하였다. 인공피부모델을 PBS로 세척하여 잔여물을 제거 후 37°C, 5% 이산화탄소를 포함하는 배양기내에서 24 h 배양하였다. 배양 후 희석된 미세먼지를 처리 후 3 h 동안 배양 후 시료를 제거 후 72 h 동안 배양하였다. 이후 결명자 씨앗 추출물의 세포독성이 나타나지 않는 농도에서 인공피부모델에 시료를 처리 후 ELISA kit를 이용하여 IL-8 및 TNF-α의 생성량을 확인하였다.

8. 자료분석 및 통계처리

결과는 각 실험그룹별 평균 표준편차 (Standard deviation, S.D.)로 표기하였고, 실험데이터는 대조군과 샘플처리 그룹 간 Student's t-test를 이용하여 처리하였다. 통계적 유의성은 p-value가 0.05 미만인 것으로 판정하였다.

Results and Discussion

1. 결명자 씨앗 추출물의 세포 독성 결과

결명자 씨앗 추출물의 세포 독성을 알아보기 위해서 대식세포와 인체섬유아세포의 생존에 미치는 영향을 알아보기 위해 WST-1 assay로 확인하였다. 살아있는 세포 내의 미토콘드리아 탈수소효소에 의해 테트라졸리움 염이 formazan 색소로 변환되는 것을 원리로 한 실험법으로(Peskin & Winterbourn, 2000), 결명자 씨앗 추출물을 농도별로 처리하여 확인하였다. 결명자 씨앗 추출물을 대식세포 및 섬유아세포에서 최고 12.5 µg/mL 처리 시에도 세포 생존율이 90% 이상으로 나타났다(Figure 1). 이에 본 실험에서 결명자 씨앗 추출물은 12.5 µg/mL 이하의 범위에서 세포독성이 거의 없는 것으로 사료되어 농도 범위의 기준을 설정하여 실험을 진행하였다.

2. 미세먼지 유도에 의한 NO 생성억제 확인

대식세포는 염증반응과 면역기능을 조절하고 항상성을 유지하는데 외부 자극에 의한 면역 세포가 반응하면서 TNF-α, IL-6 등의 전염성 cytokine을 분비하며 nitric oxide (NO)와 prostaglandin E₂ (PEG₂) 등과 같은 염증 매개 물질을 분비한다(Iontcheva *et al.*, 2004). 미세먼지 PM 10 과 PM 2.5를 염증 유발 물질로 사용하여 RAW 264.7 세포에 처리하여 NO 생성에 대한 결명자 씨앗 추출물의 효과를 확인한 결과 PM 10 및 PM 2.5에 의해 증가된 Raw 264.7 세포가 농도 의존적으로 NO 생성이 억제되는 것을 확인하였다(Figure 2). PM 10 과 PM 2.5에 의한 NO 발생 억제는 12.5 µg/mL 농도에서 각각 최대 21.92%, 55.16%의 생성 저해율을 확인하였다. 미세먼지의 노출과 같은 염증 유발 인자는 NO 분비를 증가시켜 면역반응을 일으킨다. 이 때 NO 분비는 염증반응 조절, 면역체계 조절 등에 관여하는 단백질인 NF-kB의 활성을 유도하여 다양한 유전자 발현을 조절한다고 보고되었다(Chae, 2005). 미세먼지에 의해 증가된 NO 활성은 초기 반응으로 COX-2와 iNOS 등의 친염증성 매개물(proinflammatory mediator)들에 의해 영향을 미치는 것으로 확인되었다(Park & Kim, 2011). COX-2 효소 활성 억제를 통한 항염증 효과를 나타내는 indomethacin은 항염증제로 알려져 있다(Hong *et al.*, 2017). 항염효능을 가진 indomethacin과 비교하였을 때는 결명자 씨앗 추출물이 보다 낮은 효과를 나타내었지만, 선행연구를 통해 미세먼지에 유도된 달맞이꽃 추출물의 10 µg/mL에서 약 73%의 NO 억제 효능을 가진 것으로 보고되었다(Shin *et al.*, 2020). 결론적으로

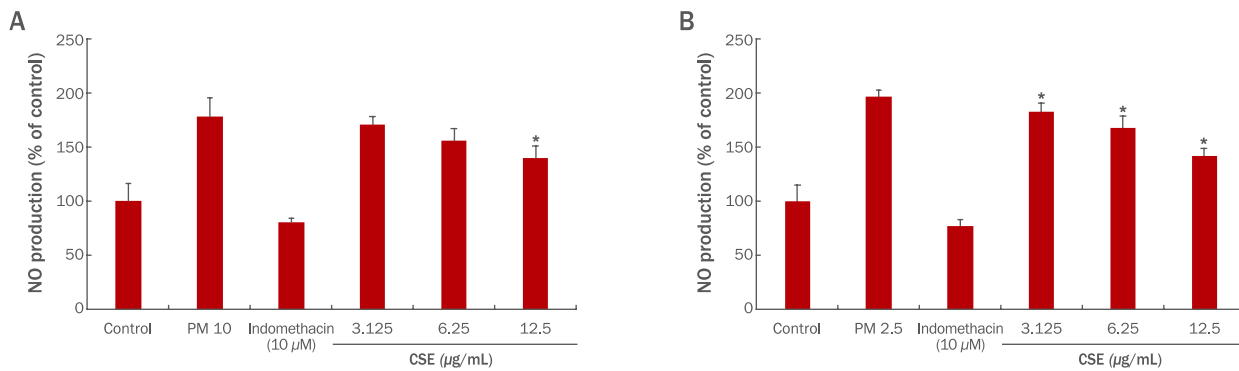


Figure 2. Inhibitory effects of CSE on the production of NO in particulate matter-induced RAW 264.7 cells.

(A) CSE was administered at 3.125, 6.25, and 12.5 µg/mL concentrations in particulate matter 10-induced RAW 264.7 cells. (B) CSE was administered at 3.125, 6.25, and 12.5 µg/mL concentrations in particulate matter 2.5-induced RAW 264.7 cells. Indomethacin (10 µM) was used as a positive control. Each bar represents the mean±SD from three independent experiments. **p*<0.05 indicates statistical significance.

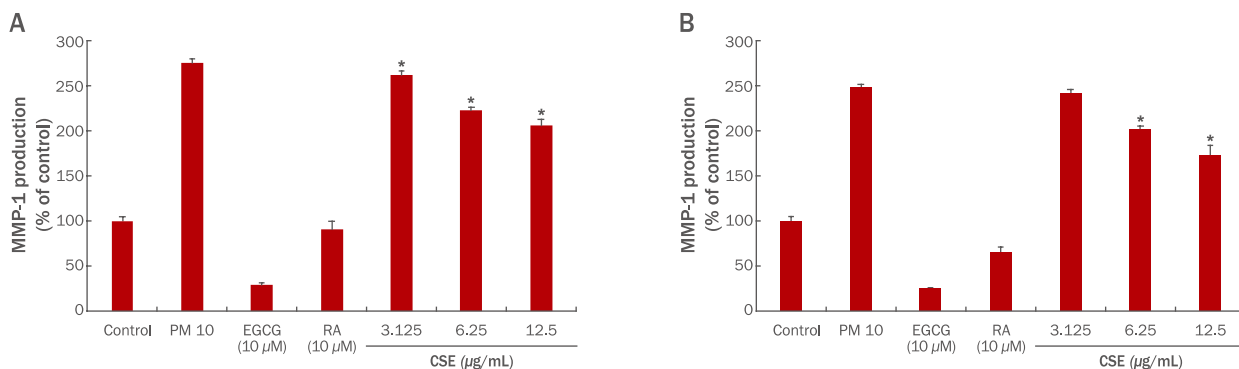


Figure 3. Effects of CSE treatment on the expression of MMP-1 in particulate matter-induced fibroblasts.

(A) CSE was administered at 3.125, 6.25, and 12.5 µg/mL concentrations in particulate matter 10-induced fibroblasts. (B) CSE was administered at 3.125, 6.25, and 12.5 µg/mL concentrations in particulate matter 2.5-induced fibroblasts. Epigallocatechin gallate (EGCG, 10 µM) and retinoic acid (RA, 10 µM) were used as positive controls. Each bar represents the mean±SD from three independent experiments. **p*<0.05 indicates statistical significance.

결명자 씨앗 추출물이 미세먼지에 의해 증가된 NO 활성을 저농도에서 유의적으로 억제시킴을 확인함으로써 항염 효능을 나타내는 것으로 사료된다.

3. 미세먼지 유도에 의한 MMP-1 생성 억제 확인

피부세포에서 콜라겐의 손상은 각질형성세포와 섬유아세포에서 방출되는 MMPs에 의해 분해로 이루어진다(Varani *et al.*, 2000). 외부의 미세먼지 자극에 의해 유도된 섬유아세포에 결명자 씨앗 추출물의 MMP-1 생성 억제능을 확인하였다. PM 10에 유도된 섬유아세포는 농도의존적으로 유의하게 MMP-1 발현 억제를 확인하였으며, 12.5 µg/mL에서 최대 70% 억제능을 확인하였다(Figure 3A). PM 2.5에 의해 유도에 의해서 MMP-1 발현 효능을 확인한 결과 유의적으로 12.5 µg/mL에서 최대 77%의 발현 억제를 확인하였다

(Figure 3B). 선행 연구에서 진피 섬유아세포가 인체 피부에서 외부 자극에 의해 MMPs에 노출되면 단편화되어 MMP-1 (interstitial collagenase)과 type I collagen의 감소가 확인되었다(Fligiel *et al.*, 2003). 콜라겐 분해효소인 MMP-1의 활성 억제는 Mitogen-activated protein kinase (MAPKs) 활성을 저해시켜 콜라겐 합성을 증가시키는 것으로 보고되었다 (Kim *et al.*, 2013). 특히, 양성대조군으로 사용한 epigallocatechin gallate (EGCG)와 Retinoic acid (RA)와 비교하였을 때 결명자 씨앗 추출물의 MMP-1 억제 효능이 낮게 확인되었지만, 선행연구를 통해 보골지 추출물의 50 µg/mL의 농도에서 항노화 효능이 나타난 보고와 비교하였을 때(Park & Shim, 2016) 결명자 씨앗 추출물의 저농도에서도 MMP-1 발현 억제 효능을 나타내어 주름개선 효능의 가능성을 확인하였다.

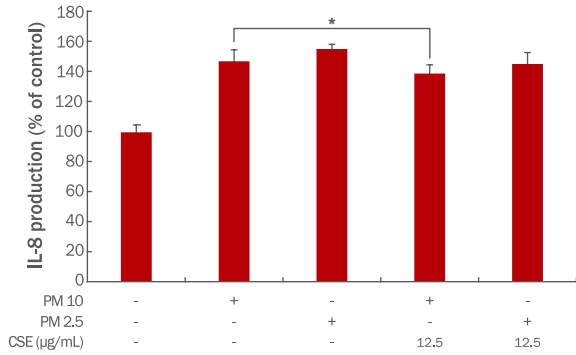


Figure 4. CSE decreased IL-8 production in a particulate matter 10 or 2.5-reconstructed human skin model.

CSE was administered at a concentration of 12.5 µg/mL without cytotoxicity in a particulate matter 10 or 2.5-induced skin model. IL-8 expression was measured using an ELISA kit. IL-8, Interleukin-8. Each bar represents the mean±SD from three independent experiments. **p*<0.05 indicates statistical significance.

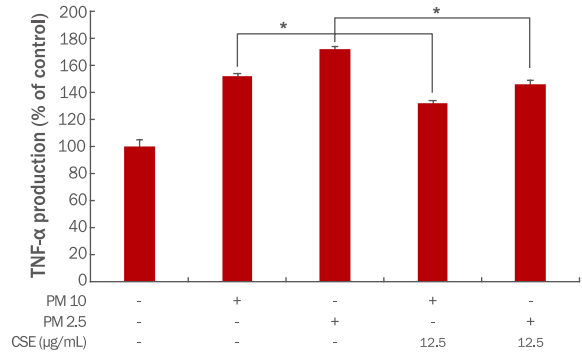


Figure 5. CSE reduced TNF-α expression in a particulate matter 10 or 2.5-reconstructed human skin model.

CSE was administered at a concentration of 12.5 µg/mL without cytotoxicity in a particulate matter 10 or 2.5-induced skin model. TNF-α production was measured using an ELISA kit. TNF-α, tumor necrosis factor α. Each bar represents the mean±SD from three independent experiments. **p*<0.05 indicates statistical significance.

4. 인공피부모델을 이용한 IL-8 및 TNF-α 생성 억제 확인

미세먼지 등에 의한 외부자극에 의해 피부 손상을 유발하여 다양한 염증 매개체를 방출하여 염증반응을 조절한다(Shim, 2019). 외부 자극에 의해 사이토카인 등의 증가에 의한 결명자 씨앗 추출물의 염증 완화효과를 확인하고자 IL-8 및 TNF-α 생성능을 확인하였다. 인공피부모델에 결명자 씨앗 추출물을 PM 10 과 PM 2.5 등의 미세먼지를 처리 후 IL-8 활성을 확인한 결과, 12.5 µg/mL의 농도에서 각각 8.3%, 9.5%의 저해효과를 가진 것으로 확인되었다(Figure 4). 또 다른 염증성 사이토카인 인자인 TNF-α의 발현의 변화를 확인한 결과, 인공피부모델에 미세먼지로 인해 증가된 염증반응에 결명자 씨앗 추출물 12.5 µg/mL를 처리 시 PM 10은 약 21.5%, PM 2.5는 약 27% 정도의 발현 억제를 유의적으로 확인하였다(Figure 5). TNF-α는 염증 초기에 염증 부위에 부종을 유발시켜 급성 면역 반응을 유도하는 인자로 다른 사이토카인들과 상호작용에 의해 복잡한 조절 기능을 가지고 있다고 보고되었다(Kim & Kim, 2013). 본 연구에서 확인한 결과 결명자 씨앗 추출물은 미세먼지로 인한 증가된 염증반응에 TNF-α, IL-8 등의 사이토카인의 발현을 억제하면서 항염 효과를 나타내는 것으로 확인되었다.

Conclusion

피부의 미세먼지의 지속적인 노출은 피부염, 자극 등을 유발시키면서 민감성 피부로 변화될 가능성을 가지고 있다(Kim *et al.*, 2021). 미세먼지 등의 노출에 의한 피부는 피부장벽 붕괴, 피부 노화 등을 유발시킬 수 있기에 이를 보호하기 위한 연구가 필요한 실정이다. 본 연구

는 결명자 씨앗 추출물을 이용하여 미세먼지에 유도된 피부세포의 염증 완화 및 노화 억제 효능을 확인하였다.

결명자 씨앗 추출물의 섬유아세포 및 대식세포에서 세포 독성능을 확인한 결과, 최대 12.5 µg/mL 이하의 농도에서 세포 독성이 나타나지 않는 것을 확인하였다. 이에 해당 농도를 근거로 염증 완화 및 노화 방지 효능을 확인하였다. PM 10 및 PM 2.5에 유도된 대식세포의 NO 생성 억제능을 확인한 결과 결명자 씨앗 추출물은 농도 의존적으로 NO 생성 억제 효능을 확인하였다. 특히 12.5 µg/mL에서 각각 21.92%, 55.16% 등의 유의적인 효과를 확인하였다. 미세먼지에 의한 피부장벽의 손상을 통해 콜라겐 분해효소인 MMP-1의 발현에 영향을 미치는지 확인하기 위해 인체 섬유아세포에서 자극된 미세먼지 PM 10 및 PM 2.5에 대한 발현 억제능을 확인하였다. 그 결과 농도 의존적으로 결명자 씨앗 추출물의 MMP-1 발현 억제가 나타남을 확인하였다. 이를 근거로 인공피부모델에서 염증성 사이토카인인 TNF-α와 IL-8의 생산능을 확인하여 결명자 씨앗 추출물이 염증성 매개 인자에 영향을 미치는지 확인하였다. PM 10과 PM 2.5에 의해 증가된 TNF-α와 IL-8의 발현을 결명자 씨앗 추출물이 억제함을 확인하였다.

결론적으로 결명자 씨앗 추출물은 미세먼지 PM 10과 PM 2.5에 의해 유도된 염증반응을 TNF-α와 IL-8 등의 염증 매개 인자의 발현을 억제하여 NO 및 MMP-1의 생성을 억제시키는 것으로 증명하였다. 이는 결명자 씨앗 추출물이 미세먼지로 노출된 피부에 염증 및 노화를 억제시키는 화장품 소재로서의 가능성을 확인하였음을 나타낸다.

Author's contribution

JW Kang designed all experimental investigations and performed experiments and wrote manuscript. IC Lee

designed the overall experiments together. All authors read and confirmed the final version of the manuscript.

Author details

Jungwook Kang (Assistant Professor), College of Fusion and Convergence, Seowon University, 377-3 Musimseoro, Seowon-gu, Cheongju, Chungbuk, 28674, Korea; In Chul Lee (Associate Professor), Department of cosmetic science and technology, Seowon University, 377-3, Musimseoro, Seowon-gu, Cheongju-si, Chungcheongbuk-do 28674, Korea.

References

- Chae SW. Function and activation of NF- κ B in immune system. *Korean Journal of Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery*, 48: 284-288, 2005.
- Choi JS, Chung HY, Jung HA, Park HJ, Yokozawa T. Comparative evaluation of antioxidant potential of alaternin (2-hydroxyemodin) and emodin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48: 6347-6351, 2000.
- Dockery DW, Pope III CA. Acute respiratory effects of particulate air pollution. *Annual Review of Public Health*, 15: 107-132, 1994.
- Doughari, JH, El-mahmood, Tyoyina. Antimicrobial activity of leaf extracts of *Senna obtusifolia* (L). *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2: 7-13, 2008.
- Fligel SEG, Varani J, Datta SC, Kang S, Fisher GJ, Voorhees JJ. Collagen degradation in aged/photodamaged skin in vivo and after exposure to matrix metalloproteinase-1 *in vitro*. *Journal of Investigative Dermatology*, 120: 842-848, 2003.
- Hong EJ, Park HJ, Kim NH, Jo JB, Lee JE, Lim SB, Ahn DH, Jung HY, Cho YJ. Inhibitory effect of Hypericum ascyron on pro-inflammatory responses in lipopolysaccharide-induced raw 264.7 cells. *Journal of Applied Biological Chemistry*, 60: 343-372, 2017.
- Iontcheva I, Amar S, Zawawi KH, Kantarci A, Van Dyke TE. Role for moesin in lipopolysaccharide-stimulated signal transduction. *Infection and Immunity*, 72: 2312-2320, 2004.
- Jang SY, Min TK, Park S, Lee J, Lee S, Jeon YH, Kim S, Pyun BY. The impact of indoor environmental factors on skin hydration of children with atopic dermatitis: preliminary study. *Soonchunhyang Medical Science*, 26: 62-66, 2020.
- Jun MS, Kwack MH, Kim MK, Kim JC, Sung YK. Particulate matters induce apoptosis in human hair follicular keratinocytes. *Annals of Dermatology*, 32: 388-394, 2020.
- Kim HJ, Kim GJ. Effects of whitmania pigra on the expression of cytokine genes in human THP-1 cells. *The Journal of Korean Medical Ophthalmology & Otolaryngology & Dermatology*, 26: 19-34, 2013.
- Kim MK, Kim MJ, Kim JW, Kim JH. Control effect of palmitoyl teterapeptide-7 gel to inflammatory responses elicited by PM10. *Asian Journal of Beauty and Cosmetology*, 19: 165-174, 2021.
- Kim SR, Jung YR, An HJ, Kim DH, Jang EJ, Choi YJ, Moon KM, Park MH, Park CH, Chung KW, et al. Anti-wrinkle and anti-inflammatory effects of active garlic components and the inhibition of MMPs via NF- κ B signaling. *PLOS one*, 8: 73877-73889, 2013.
- Kowalczyk T, Sitarek P, Toma M, Picot L, Wielanek M, Skala E, Śliwinski T. An extract of transgenic *Senna obtusifolia* L. hairy roots with overexpression of PgSS1 gene in combination with chemotherapeutic agent induces apoptosis in the leukemia cell line. *Biomolecules*, 10: 510-530, 2020.
- OECD. The economic consequences of outdoor air pollution. OECD Publishing, Paris, pp1-18, 2016.
- Lee MY, Han JH, Kang MH. Protective effect of Korean diet food groups on lymphocyte DNA damage and contribution of each food group to total dietary antioxidant capacity (TDAC). *Journal of Nutrition and Health*, 49: 277-287, 2016.
- Park JS, Kim MH. Anti-inflammatory effects of rice bran ethanol extract in murine macrophage RAW 264.7 cells. *Yakhak Hoeji*, 55: 456-461, 2011.
- Park S, Shim JH. Anti-aging effect of psoraleae fructus extract in UVA-irradiated HaCaT cells. *Asian Journal of Beauty and Cosmetology*, 14: 119-126, 2016.
- Pentland AP, Shapiro SD, Welgus HG. Agonist-induced expression of tissue inhibitor of metalloproteinases and metalloproteinases by human macrophages is regulated by endogenous prostaglandin E2 synthesis. *Journal of*

- Investigative Dermatology*, 104: 52-5, 1995.
- Peskin AV, Winterbourn CC. A microtiter plate assay for superoxide dismutase using a water-soluble tetrazolium salt (WST-1). *Clinica Chimica Acta*, 293: 157-166, 2000.
- Puri P, Nandar SK, Ramesh SKV. Effects of air pollution on the skin: A review. *Indian Journal of Dermatology, Venereology, and Leprology*, 83: 415-423, 2017.
- Shim JH. Anti-inflammatory effect of brazilin in RAW264.7 cells. *Asian Journal Beauty cosmetology*, 1: 107-115, 2019.
- Shin MG, Park EY, Park D, Kim CT. Relaxing effect of evening primrose root on skin irritation caused by particulate matter in subway tunnel. *Journal of Society of Cosmetic Scientists of Korea*, 46: 119-131, 2020.
- Varani J, Warner RL, Gharaee-Kermani M, Phan SH, Kang S, Chung JH, Wang ZQ, Datta SC, Fisher GJ, Voorhees JJ. Vitamin A antagonizes decreased cell growth and elevated collagen-degrading matrix metalloproteinases and stimulates collagen accumulation in naturally aged human skin. *Journal of Investigative Dermatology*, 114: 480-486, 2000.
- Vierkötter A, Krutmann J. Environmental influences on skin aging and ethnic-specific manifestations. *Dermato-Endocrinology*, 4: 227-231, 2012.
- Vierkötter A, Schikowski T, Ranft U, Sugiri D, Matsui M, Krämer U, Krutmann J. Airborne particle exposure and extrinsic skin aging. *Journal of Investigative Dermatology*, 130: 2719-2726, 2010.
- Zhang C, Li GL, Xiao YQ, Li L, Pang Z. Two new glycosides from the seeds of *Cassia obtusifolia*. *Chinese Chemical Letters*, 20: 1097-1099, 2009.

국문초록

미세먼지로 유도된 피부세포에 결명자 씨앗 추출물의 항염 및 MMP-1 발현 억제 효과

강정욱¹, 이인철^{2*}¹서원대학교 융복합대학, 충청북도 청주시, 한국²서원대학교 바이오코스메틱학과, 충청북도 청주시, 한국

목적: 결명자 씨앗 추출물이 미세먼지 PM10 및 PM2.5로 처리된 피부세포에 nitric oxide 생성 및 콜라겐분해효소의 변화를 확인하여 미세먼지에 의해 피부를 보호할 수 있는 새로운 화장품 원료로서 가능성을 확인하고자 한다. **방법:** 결명자 씨앗 추출물의 피부세포에서 세포독성을 확인하였다. 미세먼지에 유도된 피부세포의 항염 및 MMP-1 발현을 확인하기 위해 NO 및 MMP-1 생성능을 확인하였다. 세포 독성이 없는 농도에서 인공피부모형을 이용하여 미세먼지 PM 10과 2.5에 의해 유도된 IL-8 및 TNF- α 등의 발현 억제를 확인하였다. **결과:** 미세먼지에 유도된 대식세포에 결명자 씨앗 추출물의 NO 생성 억제능을 확인한 결과, 세포 독성이 없는 농도에서 농도 의존적으로 발현을 억제시키는 것으로 확인하였다. 피부 섬유아세포에서 MMP-1 생성 저해능을 확인한 결과, 미세먼지에 의해 발현된 MMP-1 증가가 결명자 씨앗 추출물에 의해 감소됨을 확인하였다. 인공피부모형을 이용하여 PM 10 및 2.5에 증가된 IL-8 및 TNF- α 의 생성 억제능을 조사한 결과, 결명자 씨앗 추출물이 발현을 억제시키는 것으로 나타났다. **결론:** 종합적으로 결명자 씨앗 추출물은 미세먼지에 의해 유도된 피부세포에 항염 및 MMP-1 발현 억제능의 효능을 가진 것으로 확인됨으로써 기능성 화장품 원료로서의 가능성을 확인하였다.

핵심어: 결명자씨앗추출물, 항염, 콜라겐분해효소, 미세먼지, 화장품 소재

참고문헌

- 김민경, 김민정, 김주원, 김정희. Palmitoyl Tetrapeptide-7 Gel이 PM10에 의해 유발된 염증 반응 제어 효과. *아시아뷰티화장품학술지*, 19: 165-174, 2021.
- 김현지, 김경준. 수질(水蛭)이 THP-1세포의 사이토카인 유전자 발현에 미치는 영향. *한방안이비인후피부과학회지*, 26:19-34, 2013.
- 박선영, 심중현. 자외선 조사에 의해 노화된 HaCaT 세포에서 보골지 추출물의 항노화 효능. *아시아뷰티화장품학술지*, 14: 119-126, 2016.
- 박정숙, 김미혜. 미강에탄올추출물의 RAW264.7 세포에서 항염증효과. *약학회지*, 55: 456-461, 2011.
- 심중현. 브라질린의 RAW267.7 세포에서의 항염효과. *아시아뷰티화장품학술지*, 1: 107-115, 2019.
- 신명걸, 박을용, 박덕신, 김종태. 지하철 미세먼지에 의하여 유발되는 피부염증에 대한 달맞이꽃 뿌리 추출물의 완화 효과. *대한화장품학회지*, 46: 119-131, 2020.
- 장소영, 민택기, 박수정, 이정은, 이상운, 전유훈, 김성렬, 편복양. 실내 환경요인이 소아 아토피피부염 환자의 피부수분도에 미치는 영향: 사전 연구. *Soonchunhyang Medical Science*, 26: 62-66, 2020.
- 이민영, 한정화, 강명희. 한식 식품군의 in vitro 총 항산화능 (TDAC)과 ex vivo DNA 손상 보호효과와의 관련성. *Journal of Nutrition and Health*, 49: 277-287, 2016.
- 채성원. NF- κ B의 활성화와 면역학적 기능. *대한이비인후-두경부외과학회지*, 48: 284-288, 2005.
- 홍은진, 박혜진, 김나현, 조재범, 이재은, 임수빈, 안동현, 정희영, 조영제. Lipopolysaccharide로 유도된 Raw 264.7 cell에서 몰레나물(Hypericum asctron)의 Pro-inflammatory 억제 효과. *한국응용생명화학회지*, 60: 363-372, 2017.

中文摘要

决明子种子提取物对颗粒物诱导皮肤的抗炎和MMP-1抑制作用

姜政旭¹, 李仁澈²

¹西原大学校融合大学, 忠清北道青州市, 韩国

²西原大学生物化妆品学科, 忠清北道青州市, 韩国

目的: 探讨决明子种子提取物 (*Cassia obtusifolia* L. seed extract, CSE) 对颗粒物 (PM) 诱导的皮肤损伤的影响。**方法:** 使用皮肤细胞系评估CSE对细胞活力的影响。为了确定CSE对PM诱导的皮肤的抗炎作用和基质金属蛋白酶-1 (MMP-1) 抑制作用, 使用酶联免疫吸附试验 (ELISA) 试剂盒测定NO和MMP-1的表达。此外, 还研究了CSE对IL-8和TNF- α 处理的PM在重建的全层人体皮肤模型上的诱导作用。**结果:** 在PM诱导的RAW 264.7细胞中观察到CSE可减少NO的产生, 但无细胞毒性。此外, CSE以剂量依赖性方式降低PM诱导细胞中MMP-1的表达。在PM重建的人类皮肤模型中, CSE降低IL-8和TNF- α 的产生。**结论:** 决明子种子提取物被证实对PM诱导的皮肤细胞具有抗炎和 MMP-1 表达抑制作用, 证实了其作为功能性化妆品原料的潜力。

关键词: 决明子, 抗炎, 基质金属蛋白酶-1, 颗粒物, 化妆品材料

