

TNF- α /IFN- γ 로 유도된 각질형성세포 및 LPS로 유도된 대식세포에서 열처리 맥문동 에탄올 추출물의 CCL22 및 NO 생성 억제 효능

Suppression of TNF- α /IFN- γ -Induced CCL22 Production in Keratinocytes and LPS-Induced NO Production in Macrophages by Roasted *Liriope* *Platyphylla* Roots Ethanol Extracts

김경아¹⁾ · 남유리²⁾ · 배은영³⁾ · 이선영^{1),*}

충남대학교 식품영양학과 교수¹⁾ · 충남대학교 식품영양학과 박사과정²⁾ · 엘로힘연구소 소장³⁾

Kim, Kyung Ah¹⁾ · Nam, You Ree²⁾ · Bae, Eun Young³⁾ · Ly, Sun Yung^{1),*}

Department of Food & Nutrition, Chungnam National University^{1),2)} ·

R&D Center, Elohim³⁾

Abstract

Atopic Dermatitis, a chronic inflammatory skin condition, is a significant health concern affecting individuals of all ages, with a high global prevalence. This study investigated the potential of functional materials from *Liriope platyphylla* root and examined their inhibitory effects on NO production and CCL22 expression. *Liriope platyphylla* extracts were obtained from dried *Liriope platyphylla* roots (LP) and heat-treated *Liriope platyphylla* roots (LP-H) using water and various concentrations of ethanol (100%, 80%, 60%, 40%, and 20%) as solvents. When J774 macrophages were treated to evaluate the anti-inflammatory effects of the extracts from LP and LP-H, it was observed that the increased NO levels induced by LPS were reduced after treatment with 80% and 100% ethanol extracts. Experimental results on the inhibition of CCL22 expression with the treatment of extracts in HaCaT keratinocytes indicated that 80% and 100% of ethanol extracts had an inhibitory effect on atopic dermatitis. There was a significant improvement in NO production and CCL22 expression in the LP-H group compared to the LP group. These results suggest that heat-treated *Liriope platyphylla* root ethanol extracts may serve as functional materials for managing inflammatory conditions and skin disorders. However, it is essential to conduct further research on the heightened bioactive components in heat-treated *Liriope platyphylla* roots ethanol extracts due to heat processing.

Keywords: *Liriope platyphylla* root, Inflammation, Nitric oxide, Atopic dermatitis, Chemokine

본 논문은 농촌진흥청 연구사업(육성품종 활용 지역특화 약용작물 기능성소재 이용 확대 연구, 과제번호: RS-2022-RD010228)의 지원에 의해 이루어진 것임

* Corresponding author: Ly, Sun Yung

Tel: +82-42-821-6838, Fax: +82-42-821-8968

E-mail: sunly@cnu.ac.kr

© 2023, Korean Association of Human Ecology. All rights reserved.

I. 서론

염증은 외부의 자극이나 바이러스 등과 같은 항원에 대한 생체 내 방어 반응이며, 그 반응으로 염증 매개 물질들을 분비하여 체내 세포의 조직이나 장기의 손상 등을 회복시키는 중요한 역할을 담당하고 있다(Ashley et al., 2012; Coleman, 2001; Zamora et al., 2000). 염증 반응이 일어나면 주로 대식세포가 관여하는데 대식세포는 nitric oxide (NO), prostaglandin E₂ (PGE₂), interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor- α (TNF- α) 등 염증매개 물질을 분비한다(Maleki et al., 2019). 염증반응의 지표물질인 NO는 nitric oxide synthase에 의해 조절되며, lipopolysaccharide (LPS) 등의 약물이나 외부자극을 통해 발현되어 많은 양의 NO를 생성한다(Moeslinger et al., 2006; Guzik et al., 2003). NO는 체내의 신경계 및 면역계의 생리적 기능을 담당하고, 여러 방어 메카니즘 등에 관여하지만 과도한 NO의 생성은 염증을 유발하여 신경 및 조직손상과 같은 많은 부정적인 문제를 초래한다(Zhao et al., 2015). NO 생성의 증가로 염증 반응이 유도되는 대표적인 문제로 아토피 피부염이 있으며, 아토피 피부염은 각질층 내의 세라마이드(ceramide) 감소와 스피고신(sphingosine) 저하로 활성화된 protein kinase C (PKC)와 유리된 NF- κ B에 의해 궁극적으로 NO 생성이 증가되어 염증 반응을 유도한다고 보고되었다(Oizumi et al., 2014; Aktan, 2004; Aktan et al., 2003).

피부는 외부의 자극으로부터 장벽의 역할을 수행하며 많은 항원에 접촉되는데 아토피 피부염(atopic dermatitis)은 외부 항원과의 접촉에 의해 과민하게 반응하는 면역이상 반응으로 피부에 만성적으로 재발하는 염증성 질환이다(Tsakok et al., 2019). 아토피 피부염은 T림프구와 Th1/Th2 세포에서 발현되는 Cytokines, 수지상 세포(dendritic cell)에서 발현되는 항원에 특이적인 IgE(Immunoglobulin E) 등 여러 종류의 세포와 인자들이 관여한다(Liu et al., 2022). 정상적인 상태에서는 Th1/Th2 세포가 상호간의 균형을 이루면서 면역반응을 유지하지만, 아토피 피부염에서는 T림프구의 Th2 세포 전환이 촉진되어 증가된 Th2 세포가 많은 양의 염증성 cytokine을 분비시키고, 혈중 IgE의 상승을 가져오므로써 염증반응이 증폭되는 것으로 알려져 있으며, thymus and activation-regulated chemokine (TARC/CCL17)과 macrophage-deraised chemokine (MDC/CCL22)는 Th2 림프구를 염증부위로 이동을 유도하여 아토피 피부염을 유발하는 chemokine으로 보고되고 있다(Liu et al., 2022; Jahnz-Rozyk et al., 2005). 현재 아토피 피부염 증상 완화

및 치료제로 면역조절제, 부신피질호르몬제, 항히스타민제 및 스테로이드가 사용되고 있으나 항히스타민제와 스테로이드의 장기간 사용은 부작용 및 내성을 초래할 수 있어 사용이 제한된다(양희진 외, 2010; Lee et al., 2006). 그러므로 아토피 피부염 환자들을 위해 부작용을 최소화하고 장기간 사용할 수 있는 안전한 천연물 유래 소재의 개발이 필요하다.

맥문동(*Liriope platyphylla*)은 백합과(*Liliaceae*)에 속하는 상록 다년생 초본으로 한국, 대만, 일본 등에 분포하며, 우리나라를 비롯하여 중국, 일본 등의 동아시아권에서 약용과 식용 및 조경용으로 재배되고 있다(Park et al., 2019). 맥문동은 혈당강하, 항산화, 항염증, 항균, 간보호, 신경보호 및 항암효과가 보고되어 있으며 우리나라에서는 주로 한약재로 사용되고 있다(임정규 외, 2005; 이숙경 외, 2009; 노성주 외, 2008; Park et al., 2015). 맥문동의 유효성분으로 스테로이계 사포닌인 스피카토사이드(spicatoside) A 및 오피포고닌(ophipogonin)이 있으며, polysaccharide 및 oligosaccharide 등이 함유되어 있다(이숙경 외, 2009).

본 연구에서는 맥문동이 항염증 또는 항아토피의 효능을 평가하여 기능성 소재로써 의약품, 화장품 및 식품 등에 적용 가능성을 확인하고자 하였다. 맥문동의 항염증효능에 대한 연구는 nonobese diabetic (NOD) 동물모델에서 췌장의 항염증 효능과 Raw264.7 세포에서 염증 매개물질인 TNF- α 및 NO의 생산 저해능이 보고되었다(노성주 외, 2008; 강누리 외, 2021). 상기 보고된 연구는 맥문동의 열수 추출물에 대한 연구이며, 맥문동의 항아토피에 대한 연구는 보고된 바 없다. 따라서 본 연구는 소재의 효능을 평가하기 위해 건조된 맥문동과 열처리된 맥문동을 용매별로 추출하여 시료를 제작하고, 제작된 시료를 LPS로 자극된 대식세포인 J774 세포에 처리한 후 염증성 매개 인자인 NO 생성 억제 효과를 확인하였으며, 각질형성세포인 HaCaT 세포에서 아토피 유발인자로 알려진 chemokine (CCL22/MDC) 생성 억제 효과를 조사하였다.

II. 재료 및 방법

1. 시료의 제조

본 실험에서 사용된 맥문동(*Liriope platyphylla*) 뿌리(root)는 충청남도농업기술원 구기자연구소에서 재배된 것을 구입하여 실험에 사용하였다. 구기자연구소에서 제공된 맥문동은 세척 후 열풍건조기를 사용하여 50°C에서 48시간

건조 시킨 후 잔뿌리를 탈망기를 통해 제거한 시료이다. 건조된 맥문동은 추출을 용이하게 하기 위해 단순 파쇄 후 실험에 사용하였으며, 100%, 80%, 60%, 40%, 20% 에탄올 및 100% 물의 6가지의 다른 용매 비율로 혼합하여 추출하였다. 추출조건은 8배수의 추출용매로 70°C 온도에서 6시간 동안 1회 추출하였다. 추출시간 동안 1시간에 한번씩 추출용기를 흔들면서 교반하였다. 추출액은 다시 여과지 Whatman No.2 (Cytiva, Marlborough, MA, USA)로 여과 후, 농축기(EYELA, Tokyo, Japan)를 사용하여 35°C에서 감압 농축한 다음 실험에 사용하였다. 맥문동 열처리기는 로스팅기(Samsung food machine, Pocheon, Korea)를 사용하여 250°C에서 20분 동안 볶은 후 건조된 맥문동과 같은 방법으로 파쇄, 추출, 농축하여 실험에 사용하였다. 실험에 사용된 건조된 맥문동(LP)과 열처리된 맥문동(LP-H)은 [그림 1]과 같다.

2. 세포배양

마우스 대식세포인 J774 세포주와 human keratinocyte 세포주인 HaCaT 세포는 한국세포주은행(Korean Cell Line Bank, Seoul, Korea)에서 분양받아 실험에 사용하였다. 1% penicillin-streptomycin (Gibco, Grand Island, NY, USA)와 10% fetal bovine serum (Hyclone, Victroia, Australia)을 포함하는 Dulbecco's modified eagle's medium (Gibco, Grand Island, NY, USA) 배지를 사용하여 5% CO₂를 함유한 37°C incubator (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA)에서 배양하였다.

3. 세포 독성 평가

세포독성 측정을 위해 J774 세포와 HaCaT 세포는 96 well plate에 1×10⁴ cell/well로 분주한 후, 37°C incubator에서 24시간 동안 배양하였다. 그 후, 추출물 12.5, 25, 50 μ

g/mL을 처리 후 24시간 배양하였다. 세포배양액에는 EZ-Cytox WST assay reagent (Daeil lab service, Seoul, Korea) 10 μ L를 첨가하고 3시간 후에 microplate reader (Bio-Rad, Hercules, CA, USA)를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였다. J774 세포와 HaCaT 세포의 생존율은 추출물 처리를 하지 않은 대조군 세포의 생존율 대비 상대 세포 생존율(%)을 계산하여 나타내었다.

4. 항염증 활성 Nitric oxide(NO) 생성량 측정

NO 생성량 측정을 위해 J774 세포는 2×10⁵ cells/mL 농도로 희석하여 96 well plate에 200 μ L씩 분주하고 24시간 동안 배양하였으며, 추출물 12.5, 25, 50 μ g/mL 농도로 처리 후 1시간 뒤 1 μ g/mL 농도의 LPS를 처리하고 24시간 배양하였다. 양성대조군으로 dexamethasone (10 μ M)을 사용하였으며 24시간 후, NO 생성량 측정을 위해 100 μ L의 세포배양액에 100 μ L의 Griess reagent (Promega, Madison, WI, USA)과 혼합하여 10분간 암반응시킨 후 550 nm에서 흡광도(Bio-Rad, Hercules, CA, USA)를 측정하였다. 세포로부터 생성된 NO의 함량은 sodium nitrite(NaNO₂)를 사용하여 작성한 표준검량곡선에 대입하여 산출하였다.

5. CCL22/MDC 생성량 측정

배양된 HaCaT cell에 TNF- α /IFN- γ 를 50 ng/mL 농도로 처리하여 아토피 유사 환경을 유도한 뒤에 LP 및 LP-H 시료를 10, 30, 60 μ g/mL로 처리하여 24시간 배양하였다. Cyclosporin A (10 μ M)를 양성 대조군으로 사용하였으며 24시간 후, 배지를 회수하여 Human CCL22/MDC Quantikine ELISA kit (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA)를 이용하여 chemokine 생성량을 측정하였다.



건조 맥문동
(*Liriope platyphylla* root, LP)



열처리 맥문동
(Heat treated *Liriope platyphylla* root, LP-H)

[그림 1] 맥문동 시료

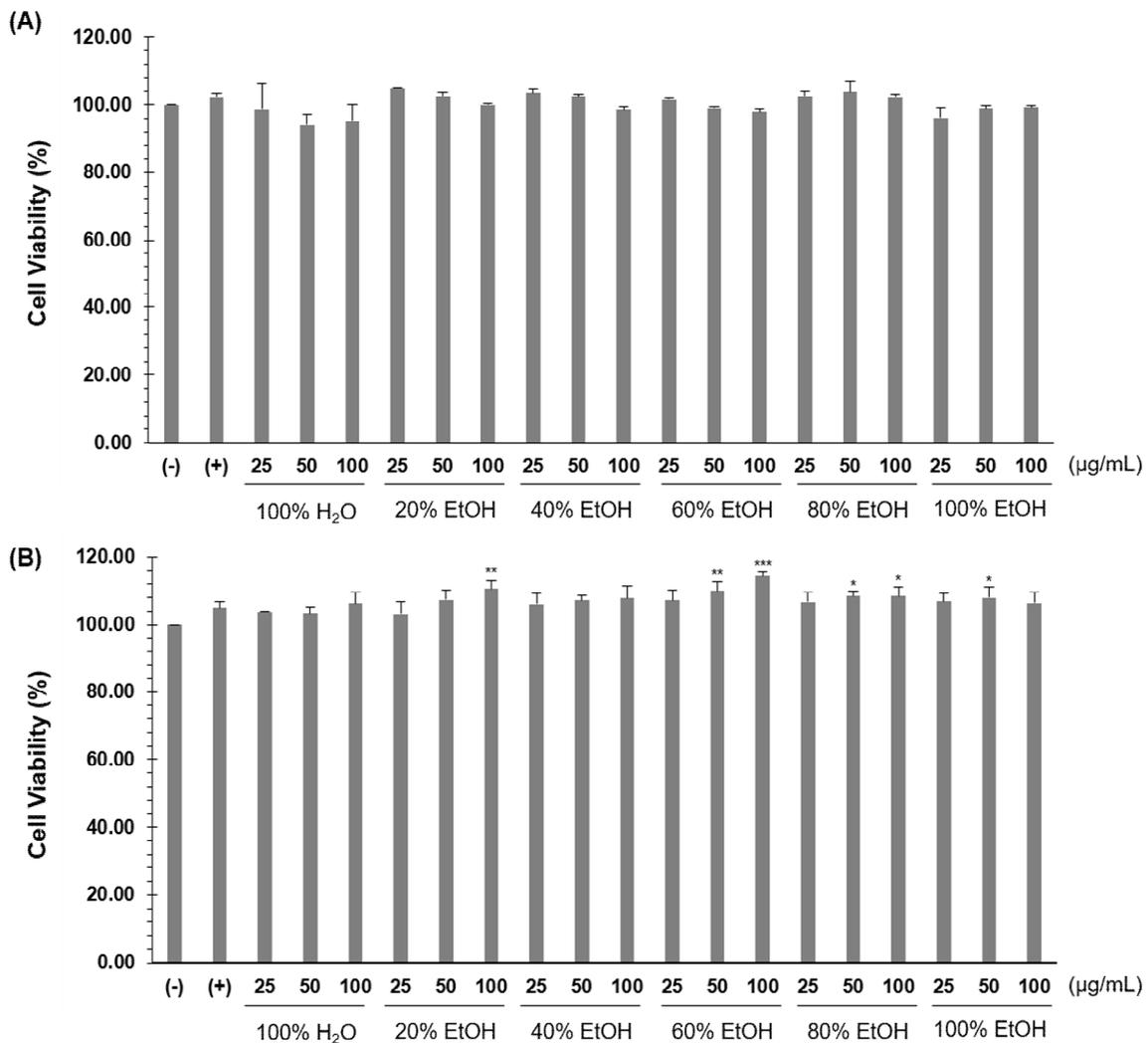
6. 통계분석

실험 결과 분석은 SPSS(SPSS Statistics 26, Statistical Packgae for the Social Science, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 이용하여 통계분석을 실시하였다. 모든 실험은 3회 반복하였으며, 실험 결과는 평균±표준편차로 나타내었다. 각 군간의 평균값의 차이는 일원배치 분산분석(one-way ANOVA)과 사후검증으로 Duncan's multiple test를 이용하였으며 $\alpha=0.05$ 수준에서 유의성을 검증하였다.

III. 결과 및 고찰

1. J774 세포에서 맥문동 추출물의 세포독성 평가

건조 맥문동(LP)과 열처리된 맥문동(LP-H)의 용매별 추출물(100%, 80%, 60%, 40%, 20% 에탄올 추출물 및 100% 물 추출물)이 J774 세포의 생존율에 미치는 영향을 확인하기 위해서 각 추출물 25, 50, 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 농도를 적용하여 측정된 결과는 [그림 2]와 같다. 본 연구 결과 LP와 LP-H 용매별 추출물의 고농도인 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 까지 모든 농



[그림 2] J774 세포에서 맥문동 추출물의 세포 생존율

(A) 건조 맥문동 추출물(LP), (B) 열처리된 맥문동 추출물(LP-H). (-), LPS 무처리군; (+), LPS 처리군. 실험 결과는 평균±표준편차로 나타냄. 각 군간의 평균값의 차이는 일원배치 분산분석(one-way ANOVA)과 사후검증으로 Duncan's multiple test를 이용하였으며 $\alpha=0.05$ 수준에서 유의성을 검증함. LPS 무처리군과 비교함, * $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$.

측정되었으며, 각각 17.68, 29.81, 49.75%의 NO 생성 저해율을 나타냈다. 또한, 80%, 60%, 40% 및 20% 에탄올 추출물에 대한 농도별 NO 생성 저해 효과를 측정된 결과, 각각의 농도에서 최저 10.00 μM 와 최고 12.38 μM 의 NO를 생성하였다. 각각의 에탄올 추출물은 고농도인 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 농도에서만 11.84-16.32%의 저해율을 보였으며, 나머지 농도에서는 낮은 저해율을 보였다. 100% 물 추출물의 경우 10.89-11.53 μM 의 NO를 생성하였으며, 3.47-8.95%의 저해율을 나타냈다. 상기의 결과로, 양성대조군으로 사용된 Dexamethasone (NO 생성량 5.00 μM , 저해율 58.17%)과 비교하여 건조 맥문동 100% 에탄올 추출물은 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 고농도에서 NO 생산량 억제 효과가 유사하게 측정되었으며, 염증 억제 개선효능이 있음을 확인하였다.

맥문동은 일반적으로 식품으로 섭취할 때 전처리(열처리) 과정을 거치는 것으로 알려져 있다. 이에 본 연구에서는 맥문동을 250°C의 온도에서 20분 동안 처리한 후, 열처리된 원료의 NO 생성 저해능에 변화가 있는지 확인하는 실험을 진행하였다. 열처리된 맥문동 원료는 건조된 맥문동과 동일한 방법으로 추출하여 NO 생성 저해능을 측정하였다. [그림 3B]에 나타난 결과와 같이 열처리된 맥문동 용매별 추출물의 NO 생성 저해 효과 실험에서는 100%, 80% 및 60% 에탄올 추출물에서 우수한 저해 효과를 확인할 수 있었다. 열처리된 맥문동의 100% 에탄올 추출물을 25, 50, 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 농도로 처리하였을 때 생성되는 NO 생성량은 각각 16.20, 13.43, 8.76 μM 로 측정되었으며, NO 생성 저해능은 14.59, 29.27, 53.84% 을 나타냈다. 이와 같은 수치는 열처리되지 않은 건조 맥문동 100% 에탄올 추출물과 유사한 NO 생성 저해능을 보여준다. 그러나 열처리된 맥문동의 80% 에탄올 추출물을 농도별 처리하였을 때 생성되는 NO 생성량은 각각 16.87, 14.43, 10.28 μM 로 NO 생성 저해능으로는 11.10, 23.97, 45.77%로 나타났다. 이와 같은 결과는 열처리되지 않은 건조 맥문동 80% 에탄올 추출물의 농도별 NO 생성 저해능(농도별 1.78, 6.16, 16.32%)와 비교하여 열처리된 맥문동의 80% 에탄올 추출물에서 NO 생성 저해능이 3배 이상 향상된 것을 보여준다. 또한, 맥문동 60% 에탄올 추출물에서도 열처리 전 14.80%의 NO 생성 저해능이 열처리 후 41.53%로 3배 이상 향상된 결과를 보여주고 있다. 열처리 맥문동 40%, 20% 에탄올 및 100% 물 추출물은 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 농도에서 각각 28.12, 26.48, 20.66% NO 생성 저해능을 보였으며, 같은 농도에서의 열처리되지 않은 맥문동 40%, 20% 에탄올 및 100% 물 추출물과 비교하여 각각 약 2배 정도의 NO 생성 저해능이 향상된 결과를

보여준다. 양미옥(2013)의 연구에 의하면 열처리된 붉은 맥문동 시료가 건조 맥문동 시료와 비교하여 아질산염(Nitrite) 소거능이 유의적으로 높게 측정되었으며, 배경미 외(2010)은 열처리 하지 않은 맥문동 시료보다 로스팅 온도가 증가함에 따라 아질산염 소거능이 증가되는 것을 확인하였다(양미옥, 2013; 배경미 외, 2010). 맥문동의 열처리 시, 갈변도가 높아지는데 이러한 갈변도는 맥문동에 함유된 당이 고온의 열에 의해 비효소적 갈변 반응이 진행되어 갈색의 멜라노이딘 색소가 증가하였기 때문이다(양미옥, 2013; 배경미 외, 2010). 맥문동을 열처리할 경우 다양한 이화학적 변화 및 생리활성물질이 변화되고, 열처리 조건에 따라 페놀 화합물의 증감 및 구조변화를 일으키는 것으로 보고되고 있으며, 부가적으로 maillard 반응 산물에 의해 열처리 동안 항산화 활성, 향미 성분 및 갈색색소가 증가하는 것으로 보고되고 있다(Choi et al., 2012; Dewanto et al., 2002; Choi et al., 2006; Kim et al., 2011). 맥문동은 열처리 시 항산화 활성을 갖는 페놀성 물질의 증가와 비효소적 갈변반응인 maillard 반응의 중간 생성물중 일부가 항산화 활성을 나타내는 것으로 높은 항산화력이 NO 생성 저해능에 영향을 끼치는 것으로 사료된다(Dewanto et al., 2002; Manzocco et al., 2000). 이전 연구의 결과와 같이 세포 내에서도 건조 맥문동 보다 붉은 맥문동이 NO 생성 저해능이 높게 측정되었으며, 염증 저해의 소재로써 가능성을 확인하였다.

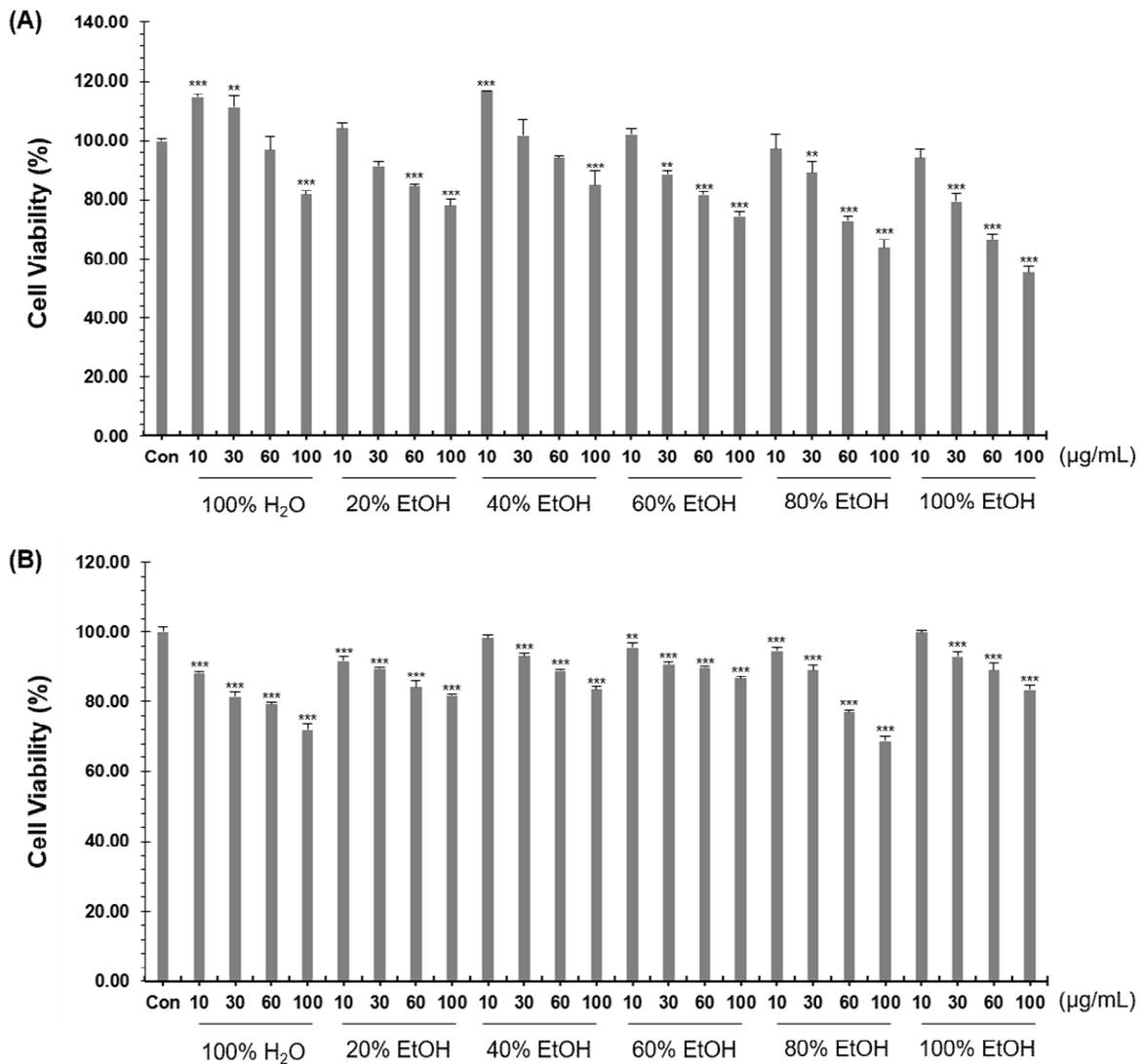
3. HaCaT 세포에서 맥문동 추출물의 세포독성 평가

아토피 유발인자인 CCL22의 저해능을 조사하기 앞서 human keratinocyte 세포주인 HaCaT 세포에서 맥문동 추출물의 세포독성을 확인하였다[그림 4]. 측정결과, 건조 맥문동 용매별 추출물 중 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 처리한 고농도 군에서 대부분 약 80% 미만의 세포 생존율을 보여 세포 독성을 나타내는 것을 확인하였다. 80%와 100% 에탄올 추출물은 60 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서도 80% 미만의 세포 생존을 보였다[그림 4A]. 또한, 열처리 맥문동 에탄올 추출물에서도 세포독성을 측정된 결과, 건조 맥문동 추출물과 같이 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 처리한 세포에서 80% 이하의 세포 생존율을 보였다[그림 4B]. 세포독성 평가를 바탕으로 CCL22 저해능을 평가하기 위해 세포독성을 보이는 고농도(100 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 처리군을 제외한 후 조사하였다.

4. HaCaT 세포에서 맥문동 추출물의 염증성 사이토카인 수준 측정

CCL22는 염증 시 유도될 수 있는 케모카인 그룹으로 대식세포, 수지상 세포(Dendritic cell, DC), B 세포 및 T 세포와 같은 여러 유형의 면역 세포가 활성화 시 분비되는 것으로 알려져 있다(Saeki & Tamaki, 2006). 또한, CCL22는 알레르기 발병에서 중요한 역할을 하며 천식과 아토피성 피부염의 경우 폐와 피부에서 각각 높은 수준이 검출되는 것으로 알려져 있다(Saeki & Tamaki, 2006; Vijayanand et al., 2010; Hirahara et al., 2006). J774 세포를 이용한 맥문동 용매별 추출물에 대한 효능 검증 결과, 다른 추출물과 비교하여 100% 에탄올 추출물에서 NO 생성 저해 활성이 높게

나타나는 것을 확인하였다. 이에 항염증 활성을 보이는 맥문동 에탄올 추출물들에 대하여 피부각질 세포인 HaCaT 세포에서 TNF- α /IFN- γ 자극에 의해 발현되는 CCL22 단백질 발현량이 저해되는지 확인하는 실험을 진행하였다. [그림 5A]에서 보듯이 건조 맥문동의 경우, TNF- α /IFN- γ 처리한 군에서의 CCL22 발현량은 265.62 \pm 2.97 pg/mL이었으며, 처리하지 않은 군에서는 약 73.24 pg/mL의 CCL22 발현량을 보였다. 건조 맥문동 에탄올 농도별 추출물 중 우수한 NO 저해 활성을 나타낸 100% 에탄올 추출물의 경우 10, 30 μ g/mL의 처리농도에서 각각 189.9 \pm 7.33 및



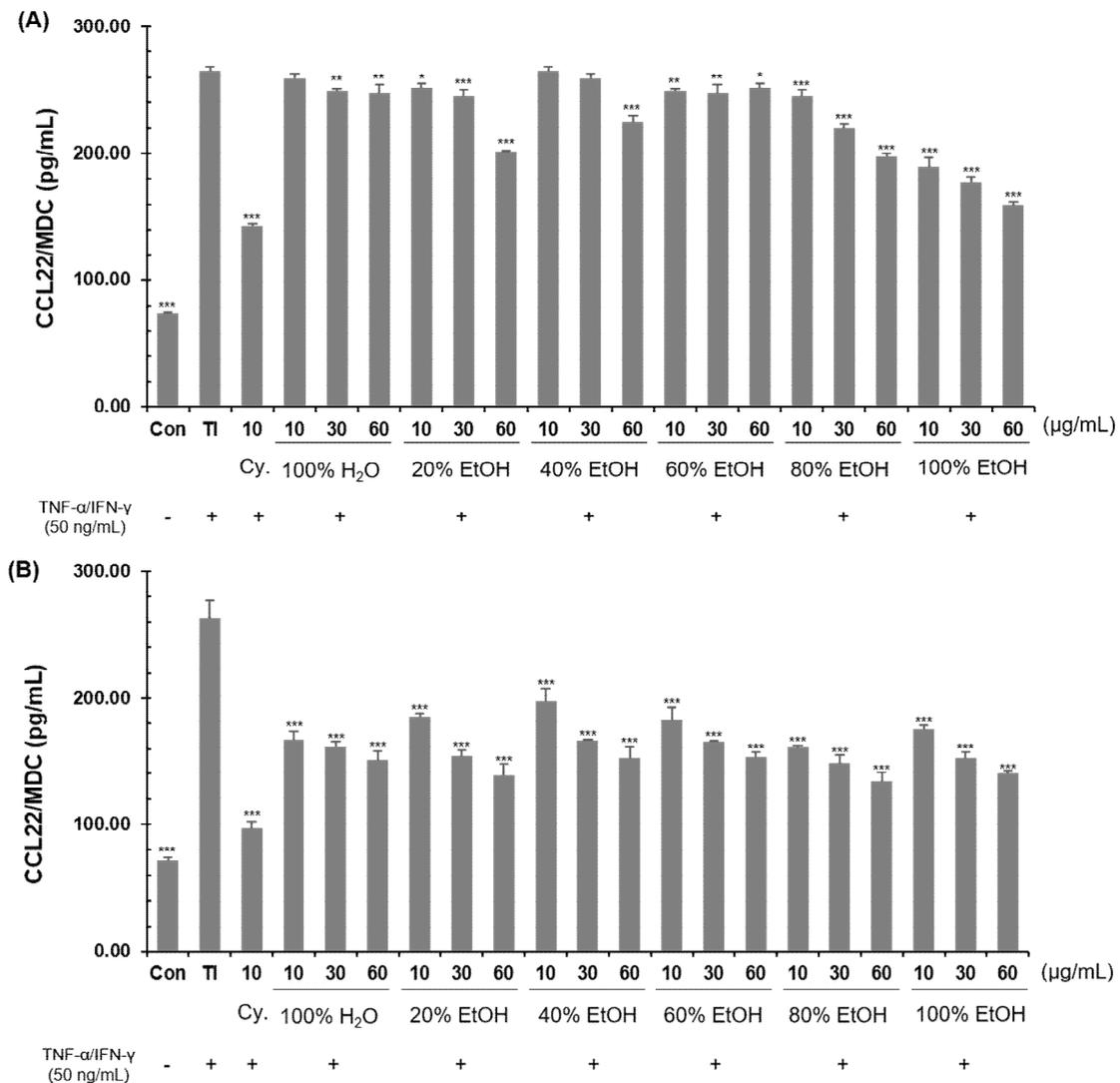
[그림 4] HaCaT 세포에서 맥문동 추출물의 세포 생존율

(A) 건조 맥문동 추출물(LP), (B) 열처리된 맥문동 추출물(LP-H). Con, 무처리 대조군. 실험 결과는 평균 \pm 표준편차로 나타냄. 각 군간의 평균값의 차이는 일원배치 분산분석(one-way ANOVA)과 사후검증으로 Duncan's multiple test를 이용하였으며 $\alpha=0.05$ 수준에서 유의성을 검증함. 대조군(Con)과 비교함, * $p<.05$, ** $p<.01$, *** $p<.001$.

177.52±4.59 pg/mL CCL22 발현량을 보였으며, 39.4, 45.8%의 CCL22 발현량 저해 효과를 나타냈다. 다음으로 NO 생성 저해 활성이 우수한 80% 에탄올 추출물은 10, 30 µg/mL의 처리농도에서 각각 245.62±4.59, 219.43±4.29 pg/mL CCL22 발현량을 보였으며, 10.4 및 24.0%의 저해 효과를 보였다. 20% 에탄올 추출물의 경우 60 µg/mL의 처리농도에서만 201.81±0.81 pg/mL의 CCL22 발현량을 보여 33.2%의 저해율을 나타내었으며, 나머지 추출물들은 처리농도에서 낮은 저해율을 나타냈다. NO 생성 저해능이 우

수한 건조 맥문동 80% 및 100% 에탄올 추출물의 경우 60 µg/mL 농도에서 각각 CCL22 발현량이 197.52±2.18, 158.95±22.97 pg/mL으로 나타났다. CCL22 발현 저해율은 각각 35.4, 55.4%으로 우수한 저해율을 보였지만, 각각 세포 생존율이 72.8, 66.6%로 나타나 CCL22 발현량 저해 효과가 약간의 세포독성에 기인하는 것을 확인할 수 있었다.

열처리 맥문동 추출물에서도 건조 맥문동 추출물과 같이 피부각질 세포인 HaCaT 세포에서 CCL22 발현량이 저해되는지 확인 실험을 진행하였다. [그림 5B]에서 보듯이, 열



[그림 5] TNF- α /IFN- γ 로 유도된 HaCaT 세포에서 맥문동 추출물의 CCL22 생성에 미치는 효과

(A) 건조 맥문동 추출물(LP), (B) 열처리된 맥문동 추출물(LP-H). Con, 무처리 대조군; TI, TNF- α /IFN- γ ; Cy, Cyclosporin. 실험 결과는 평균±표준편차로 나타냄. 각 군간의 평균값의 차이는 일원배치 분산분석(one-way ANOVA)과 사후검정으로 Duncan's multiple test를 이용하였으며 $\alpha=0.05$ 수준에서 유의성을 검증함. TNF- α /IFN- γ 처리군(TI)과 비교함, * $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$.

처리 맥문동의 100% 에탄올 추출물은 10, 30, 60 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도로 처리 시 각각 175.20 ± 3.46 , 152.53 ± 5.03 , 139.87 ± 2.31 pg/mL 의 CCL22 발현량을 보였으며, 45.7, 57.7, 64.3%의 농도 의존적인 CCL22 발현량 저해효과를 나타냈다. 이와 같은 결과는 열처리되지 않은 건조 맥문동의 100% 에탄올 추출물과 비교하여 CCL22 발현량 저해효과가 향상된 것을 확인할 수 있었다. 또한, 건조 맥문동 80% 에탄올 추출물의 경우 10, 30, 60 $\mu\text{g/mL}$ 의 처리농도에서 각각 10.4, 24.0 및 35.4%의 저해 효과를 보였으나, 열처리 후 CCL22 발현량 저해효과는 53.2, 59.7 및 67.6%로 저해효과가 32-42%정도 향상된 것을 확인할 수 있었다. 건조 맥문동의 20% 에탄올 추출물의 경우 60 $\mu\text{g/mL}$ 의 처리농도에서만 33.2%의 CCL22 발현량 저해효과를 보였으나, 열처리 맥문동 추출물은 64.77%의 저해효과를 나타내 31% 저해 효과가 개선된 것을 확인하였다. 낮은 저해율을 나타냈던 나머지 추출물들의 경우 열처리에 의해 29%-54%의 CCL22 발현량 저해 효과가 개선된 것을 확인할 수 있었다. 이가순 외(2009)은 맥문동의 유효성분으로 스테로이드 사포닌인 스피카토사이드 A가 생맥문동보다 열처리된 맥문동에 약 3배 정도 많이 함유하고 있다고 보고하였으며, 맥문동의 스피카토사이드 A는 LPS로 자극된 Raw264.7에서 항염효능 및 친식산화, 항과골세포 생성 활성 등의 다양한 생물학적 활성을 발휘하는 것으로 보고되고 있다(이가순 외, 2009; 박운규 2021; Lim et al., 2015). 피부의 외부자극으로부터 노출될 때 발생하는 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)은 생체 내에서 혈관 및 조직의 손상을 통해 염증을 유발하는데, 이들은 생체 내 항산화 작용으로 제거된다(Ozben, 2007). 양미옥(2013)은 이러한 항산화능이 건조 맥문동보다 열처리된 볶은 맥문동에서 유의하게 증가됨을 보고하였다(양미옥, 2013). 열처리 맥문동 추출물이 건조 맥문동 추출물보다 CCL22 발현량 저해 효과가 더 높은 것은 열처리로 증가된 맥문동의 유효성분 및 항산화능에 의한 것으로 사료된다.

IV. 요약 및 결론

본 연구는 맥문동을 이용하여 기능성 소재의 가능성을 확인하고자 NO 생성 및 CCL22 발현량 저해 효과를 조사하였다. 건조 맥문동 및 열처리 맥문동의 용매별 추출물에 대하여 J774 세포주를 이용해 염증 완화 효능을 검증한 결과, 100% 에탄올 추출물에서 LPS 처리에 의한 NO 수치가 감

소 되는 것을 확인하였다. HaCaT 세포주를 이용한 CCL22 발현량 억제 효과 실험 결과, 100% 및 80% 에탄올 추출물에서 CCL22 발현량 억제 효과를 확인할 수 있었다. 또한, 맥문동을 열처리한 후 에탄올 추출물에 대한 NO 생성 및 CCL22 발현량 억제 효과를 검증한 결과, 열처리 전과 비교하여 저해 활성이 상당히 개선된 것을 확인할 수 있었다. 맥문동의 열처리 전과 후의 피부염증 완화와 관련된 연구결과가 보고되지 않아 맥문동의 항아토피 연구에 기초자료로 활용될 수 있을 것으로 사료된다. 본 연구결과 열처리 맥문동 에탄올 추출물은 향후 항염증 및 피부질환에 관련된 기능성 소재로서 사용이 가능할 것으로 예상된다. 또한, 추후 연구를 통해서 열처리로 인해 변화되는 맥문동의 유효성분에 대한 비교연구가 필요하며, 염증 및 아토피 피부염에 관련된 사이토카인 억제 검증, mRNA 수준에서 확인 및 기전 연구도 추가적으로 진행되어야 할 것으로 사료된다.

제시어: 맥문동, 염증, 산화질소, 아토피 피부염, 케모카인

REFERENCES

- 강누리, 황덕상, 이진무, 이창훈, 장준복(2021). 맥문동 물 추출물의 선천면역 활성화와 염증억제 효과. *대한한방부인과학회지*, 34(3), 15-28.
- 노성주, 최학주, 김동희, 서영배(2008). NOD 당뇨병 생쥐에 미치는 맥문동의 항염증 효과. *동의생리병리학회지*, 22(4), 766-770.
- 박운규(2021). Ovalbumin 유도 천식 마우스 모델에서 맥문동 추출물의 항염증 효능 연구. 대전대학교 박사학위논문.
- 배경미, 박소혜, 정경희, 김미진, ... 이희섭(2010). 로스팅 조건이 맥문동의 이화학적 특성 및 기호도에 미치는 영향. *한국식품영양과학회지*, 39(10), 1503-1508.
- 양미옥(2013). 전처리방법에 따른 맥문동 열수 추출물의 항산화성과 관능 특성. *동아시아식생활학회지*, 23(5), 645-653.
- 양희진, 박계원, 김현석, 조수목, 박기문(2010). 생약재 추출물의 아토피 완화효과. *한국식품과학회지*, 42(1), 109-114.
- 이가순, 김관후, 김현호, 최중우, ... 이규희(2009). 건조처리에 따른 맥문동의 품질학적 특성. *한국식품영양과학*

- 회지, 38(8), 1104-1110.
- 이숙경, 박중호, 김연태(2009). 맥문동 열수추출물의 항산화력과 항균력에 관한 연구. *한국식품영양학회지*, 22(2), 279-285.
- 임정규, 강명수, 박인경, 김순동(2005). 맥문동 물 추출물의 식이가 Streptozotocin으로 유도한 당뇨 흰쥐의 혈당과 혈청 콜레스테롤 함량에 미치는 영향. *동아시아식생활학회지*, 15(1), 20-28.
- Aktan F. (2004). iNOS-mediated nitric oxide production and its regulation. *Life Sciences*, 75(6), 639-653.
- Aktan, F., Henness, S., Roufogalis, B. D., & Ammit, A. J. (2003). Gynostemma pentaphyllum suppress NO synthesis in murine macrophages by inhibiting iNOS enzymatic activity and attenuating NF-kappaB-mediated iNOS protein expression. *Nitric Oxide*, 8(4), 235-242.
- Ashley, N. T., Weil, Z. M., & Nelson, R. J. (2012). Inflammation: Mechanisms, costs, and natural variation. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 43, 385-406.
- Choi, J. S., Kim, H. Y., See, W. T., Lee, J. H., & Cho, K. M. (2012). Roasting enhances antioxidant effect of bitter melon (*Momordica charantia* L.) increasing in flavan-3-ol and phenolic acid contents. *Food Science and Biotechnology*, (21), 19-26.
- Choi, Y., Lee, S. M., Chun, J., Lee, H. B., & Lee, J. (2006). Influence of heat treatment on the antioxidant activities and polyphenolic compounds of Shiitake (*Lentinus edodes*) mushroom. *Food Chemistry*, 99(2), 381-387.
- Coleman, J. W. (2001). Nitric oxide in immunity and inflammation. *International Immunopharmacology*, 1(8), 1397-1406.
- Cooper, K. D. (1994). Atopic dermatitis: recent trends in pathogenesis and therapy. *Journal of Investigative Dermatology*, 102(1), 128-137.
- Dewanto, V., Wu, X., Adom, K. K., & Liu, R. H. (2002). Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(10), 3010-3014.
- Guzik, T. J., Korbust, R., & Adamek-Guzik, T. (2003). Nitric oxide and superoxide in inflammation and immune regulation. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 54(4), 469-487.
- Hirahara, K., Liu, L., Clark, R. A., Yamanaka, K., ... & Kupper, T. S. (2006). The majority of human peripheral blood CD4+ CD25^{high}Foxp3+ regulatory T cells bear functional skin-homing receptors. *The Journal of Immunology*, 177(7), 4488-4494.
- Kim, H. G., Kim, G. W., Oh, H., Yoo, S. Y., ... & Oh, M. S. (2011). Influence of roasting on the antioxidant activity of small black soybean (*Glycine max* L. Merrill). *LWT-Food Science and Technology*, 44(4), 992-998.
- Lee, J. H., Kim, K. H., Kim, M. N., Kim, J. W., ... & Choi, J. H. (2006). Report from ADRG: The treatment guideline of Korean atopic dermatitis. *Korean Journal of Dermatology*, 44(8), 907-913.
- Lim, H., Min, D. S., Kang, Y., Kim, H. W., ... & Kim, H. P. (2015). Inhibition of matrix metalloproteinase-13 expression in IL-1 β -treated articular chondrocytes by a steroidal saponin, spicatoside A, and its cellular mechanisms of action. *Archives of Pharmacal Research*, 38, 1108-1116.
- Liu, P., Kang, C., Zhang, J., Liu, Y., ... & Zeng, X. (2022). The role of dendritic cells in allergic diseases. *International Immunopharmacology*, 113, 109449.
- Maleki, S. J., Crespo, J. F., & Cabanillas, B. (2019). Anti-inflammatory effects of flavonoids. *Food Chemistry*, 299(30), 125124.
- Manzocco, L., Calligaris, S., Mastrocola, D., Nicoli, M. C., & Lerici, C. R. (2000). Review of non-enzymatic browning and antioxidant capacity in processed foods. *Trends in Food Science & Technology*, 11(9-10), 340-346.
- Moeslinger, T., Friedl, R., & Spieckermann, P. G. (2006). Inhibition of inducible nitric oxide synthesis by azathioprine in a macrophage cell line. *Life Sciences*, 79(4), 374-381.
- Oizumi, A., Nakayama, H., Okino, N., Iwahara, C., ...

- & Iwabuchi, K. (2014). Pseudomonas-derived ceramidase induces production of inflammatory mediators from human keratinocytes via sphingosine-1-phosphate. *Plos One*, 9(2), e89402.
- Ozben, T. (2007). Oxidative stress and apoptosis: impact on cancer therapy. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 96(9), 2181-2196.
- Park, C. H., Morgan, A. M., Park, B. B., Lee, S. Y., ... & Park, S. U. (2019). Metabolic analysis of four cultivars of *Liriope platyphylla*. *Metabolites*, 9(3), 59.
- Park, H. R., Lee, H., Park, H. P., Jeon, J. W., ... & Ma, J. Y. (2015). Neuroprotective effects of *Liriope platyphylla* extract against hydrogen peroxide-induced cytotoxicity in human neuroblastoma SH-SY5Y cells. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 15, 171.
- Jahnz-Rozyk, K. J., Targowski, T., Paluchowska, E., Owczarek, W., & Kucharczyk, A. (2005). Serum thymus and activation-regulated chemokine, macrophage-derived chemokine and eotaxin as markers of severity of atopic dermatitis. *Allergy*, 60(5), 685-688.
- Saeki H, & Tamaki, K. (2006). Thymus and activation regulated chemokine (TARC)/CCL17 and skin diseases. *Journal of Dermatological Science*, 43(2), 75-84.
- Tsakok, T., Woolf, R., Smith, C. H., Weidinger, S., & Flohr, C. (2019). Atopic dermatitis: the skin barrier and beyond. *British Journal of Dermatology*, 180(3), 464-474.
- Vijayanand, P., Durkin, K., Hartmann, G., Morjaria, J., ... & Djukanović, R. (2010). Chemokine receptor 4 plays a key role in T cell recruitment into the airways of asthmatic patients. *The Journal of Immunology*, 184(8), 4568-4574.
- Zamora, R., Vodovotz, Y., & Billiar, T. R. (2000). Inducible nitric oxide synthase and inflammatory diseases. *Molecular Medicine*, 6(5), 347-373.
- Zhao, Y., Vanhoutte, P.M., & Leung, S. W. (2015). Vascular nitric oxide: Beyond eNOS. *Journal of Pharmacological Sciences*. 129(2), 83-94.

Received 17 October 2023;

1st Revised 2 November 2023;

Accepted 3 November 2023