

# HaCaT 세포에서 비파엽추출물(Loquat Leaf Extract, LLE)의 TNF- $\alpha$ /IFN- $\gamma$ 유도 염증반응 억제 효과: LLE의 TNF- $\alpha$ /IFN- $\gamma$ 유도 염증반응 억제 및 Th2 케모카인 발현 조절 효과

## Anti-inflammatory Effects of Loquat Leaf Extract (LLE) on TNF- $\alpha$ /IFN- $\gamma$ -Induced Inflammatory Responses in HaCaT Keratinocytes: Suppression of Th2-Related Chemokines and PzD 8ro-Inflammatory Mediators

전홍규<sup>1)</sup> · 서지희<sup>1)</sup> · 남유리<sup>2)</sup> · 김경아<sup>3)</sup> · 박신영<sup>4)\*</sup>  
배재대학교 생명공학과 석사과정<sup>1)</sup> · 충남대학교 식품영양학과 박사과정<sup>2)</sup>  
충남대학교 식품영양학과 교수<sup>3)</sup> · 배재대학교 생명공학과 교수<sup>4)\*</sup>

Chun, Hong-Kyu<sup>1)</sup> · Seo, Ji-Hee<sup>1)</sup> · Nam, You-Ree<sup>2)</sup> · Kim, Kyoung-Ah<sup>3)</sup> · Park, Shin-Young<sup>4)\*</sup>  
Department of Biotechnology, Paichai University<sup>1),4)</sup>  
Department of Food & Nutrition, Chungnam National University<sup>2),3)</sup>

### Abstract

This study assessed the anti-inflammatory effects of Loquat Leaf Extract (LLE) on TNF- $\alpha$ /IFN- $\gamma$ -stimulated HaCaT keratinocytes. LLE demonstrated normal cell viability up to 60  $\mu$ g/mL, indicating that its inhibitory effects were not due to cytotoxicity. Notably, LLE significantly suppressed the expression of Th2-type chemokines CCL17 and CCL22 at both the protein and mRNA levels. Among various solvent extracts, the 70% ethanol extract showed the strongest inhibitory effect, likely due to its effective extraction of bioactive triterpenoids and flavonoids. Furthermore, LLE reduced the mRNA expression of iNOS and IL-6, suggesting its potential to attenuate inflammatory responses beyond Th2-type chemokine regulation. Overall, these findings indicate that LLE exerts potent, multi-targeted anti-inflammatory effects by suppressing key cytokines and chemokines in TNF- $\alpha$ /IFN- $\gamma$ -induced HaCaT cells. The 70% ethanol extract of *Eriobotrya japonica* leaves may be a promising natural agent for preventing or alleviating inflammatory skin disorders, such as atopic dermatitis.

**Keywords:** *Eriobotrya japonica*, Anti-inflammatory, CCL17, CCL22, HaCaT cell

### I. 서론

피부는 외부 환경으로부터 신체를 보호하는 일차 방어 선이자, 복잡한 면역 시스템을 갖춘 중요한 면역기관이다

(김혜원, 2019). 이 중 각질세포(keratinocyte)는 단순한 구조적 역할뿐만 아니라, 외부 자극이나 염증 신호에 반응하여 다양한 사이토카인 (cytokine)과 케모카인(chemokine)을 분비하며 피부 면역반응을 개시하고 조절하는 핵심 면

본 논문은 2025년도 교육부 및 대전광역시 지원으로 대전 RISE 센터의 지원을 받아 수행된 지역혁신중심 대학지원체계 (RISE)의 결과임. (2025-RISE-06-008)

\* Corresponding author: Park, Shin-Young  
Tel: +82-42-520-5547  
E-mail: sypark@pcu.ac.kr

© 2025, Korean Association of Human Ecology. All rights reserved.

역활성 세포로 기능한다(Beck et al., 2022; Jiang et al., 2020).

아토피피부염(Atopic Dermatitis, AD)은 만성적·재발성 염증성 피부질환으로, 전 세계적으로 유병률이 증가하는 주요 공중보건 문제이다(Bylund et al., 2020). AD의 병태생리는 피부장벽 기능 손상과 Th2 유형 면역반응의 과도한 활성화가 복합적으로 작용하여 발생하며(Beck et al., 2022), 급성 병변에서는 Th2 림프구가 침윤하여 interleukin-4 (IL-4), interleukin-5(IL-5), interleukin-13(IL-13) 등의 염증 매개물질을 과다 분비함으로써 염증을 증폭시킨다(Jiang et al., 2020).

Tumor Necrosis Factor- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )와 interferon- $\gamma$ (IFN- $\gamma$ )는 AD 환자의 피부 병변에서 높은 수준으로 검출되는 대표적인 염증성 사이토카인이다(Lee et al., 2018). 이 두 인자를 각질세포에 복합적으로 처리하는 것은 AD의 급성 염증 환경을 가장 효과적으로 모사하는 표준 in vitro 모델로 널리 사용된다(De Vuyst et al., 2017; Lee et al., 2018). 각질세포는 이 복합 자극에 반응하여 T 림프구의 피부 유입을 유도하는 케모카인을 대량으로 생성한다(Lee et al., 2018). 특히 CC 케모카인 계열에 속하는 chemokine (C-C motif) ligand 17(CCL17, also known as thymus and activation-regulated chemokine; TARC)과 chemokine (C-C motif) ligand 22(CCL22, also known as macrophage-derived chemokine; MDC)는 Th2 림프구를 특이적으로 유인하는 케모카인 수용체 C-C motif chemokine receptor 4(CCR-4)의 주요 리간드로 알려져 있다(Viney et al., 2014). CCL17과 CCL22의 높은 발현은 AD의 질병 활동도 및 중증도와 밀접하게 관련되어 있으며, 이 두 케모카인의 생성억제는 알레르기성 염증반응의 완화 및 Th2 면역반응의 조절을 위한 핵심적인 치료 전략으로 간주된다(양현중, 2012). 현재 AD 치료에는 국소 스테로이드제, 칼시뉴린 억제제 그리고 중증 환자에게는 강력한 전신 면역억제제인 사이클로스포린 A(cyclosporine A, CyS A) 등이 사용되고 있다(지혜미, 한만용, 2022). CyS A는 T세포 활성화를 억제하여 강력한 면역조절 효과를 나타내지만, 장기 투여 시 신독성·고혈압 등 부작용으로 인해 사용이 제한된다(Kim et al., 2015). 이에 따라 안전성이 높고 부작용이 적은 천연물 유래 항염·면역조절 소재 개발이 요구된다.

비파(*Eriobotrya japonica*)는 장미과에 속하는 상록수로, 그 잎인 비파엽은 예로부터 피부염증 치료에 사용되어 왔다(박정옥 외, 2015). 비파엽 추출물(Loquat Leaf Extract, LLE)은 트리테르페노이드(triterpenoid), 플라보

노이드(flavonoid), 폴리페놀(polyphenols) 등 다양한 생리활성 화합물을 풍부하게 함유하고 있으며, 기존 연구를 통해 항산화, 항바이러스, 항염증 활성이 확인되었다(김수지 외, 2012; 김현희 외, 2019). 특히 LLE는 Nitric oxide (NO) 및 prostaglandin E<sub>2</sub>(PGE<sub>2</sub>) 생성 억제, iNOS(inducible Nitric Oxide Synthase) 및 COX-2(Cyclooxygenase-2) 발현 감소를 통해 일반적인 염증반응을 억제하는 것으로 알려져 있다(고현서 외, 2024).

그러나 TNF- $\alpha$ /IFN- $\gamma$ 로 유도된 인간 각질세포의 Th2 유형 케모카인(CCL17, CCL22) 발현 조절에 미치는 LLE의 영향 및 그 구체적인 기전에 대한 연구는 거의 이루어지지 않았다. 이러한 배경을 바탕으로, 본 연구에서는 인간 각질세포주(HaCaT cell)를 이용하여 LLE의 용매별(30%, 70%, 100% 에탄올 및 증류수) 추출 조건에 따른 Th2 유형 케모카인 CCL17 및 CCL22 발현 억제 효능을 비교·분석하고, LLE가 Th2 면역반응을 매개하는 알레르기성 염증 질환의 예방 및 치료에 응용 가능한 천연 기능성 소재로서의 잠재적 작용 기전을 규명하고자 하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 시료 및 추출

실험에서 사용한 비파엽(*Eriobotrya japonica* leaf)은 광명당제약(주) (부산, 대한민국)에서 구입하여 실험에 사용하였다. 비파엽을 분쇄한 후, 10배 수의 30%, 70%, 100% 에탄올 및 증류수를 사용하여 추출온도 70°C에서 6시간 동안 추출하였으며, 여과지 Whatman No.2(Cytiva, Logan, UT, USA)로 여과한 후 35°C에서 감압 농축하여 실험에 사용하였다. 실험 직전, 분말 추출물은 di-methyl sulfoxide(DMSO, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)에 녹여 최종 농도가 0.1%를 넘지 않도록 세포 처리에 사용하였다.

### 2. 세포배양 (Cell Culture)

인간 피부각질세포주 HaCaT는 한국세포주은행(KCLB, Seoul, Korea)에서 분양받아 사용하였다. 세포는 10% FBS (HyClone, Cytiva)와 1% penicillin-streptomycin (Welgene, Gyeongsan, Korea)이 포함된 Dulbecco's modified eagle's medium (DMEM, Gibco, Grand Island, NY, USA) 배지에서 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 조건으로 배양하였다.

### 3. 세포 독성 평가(MTT assay)

LLE의 세포 독성을 확인하기 위해 3-(4,5-dimethylthazo-2-yl)-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide(MTT, Sigma-Aldrich)를 처리하여 세포 생존율을 측정하였다. HaCaT 세포를 96-well plate에  $5 \times 10^3$  cells/well 씩 분주하여 24 시간 동안 배양시킨 후, 다양한 방법의 LLE를 농도별로 24 시간 처리하였다. MTT 용액 0.5 mg/mL을 첨가하여 4시간 동안 반응시키고, 배양액을 제거한 다음 DMSO 용액을 200  $\mu$ L 넣고, 15분 동안 흔들어 준 후, iMark™ Microplate Absorbance Reader(Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA)로 450 nm에서 흡광도를 측정하였다. 세포 생존율(cell viability)은 각 실험군의 흡광도 값을 대조군(control)의 평균 흡광도에 대한 백분율로 환산하여 계산하였다. 세포 생존율은 처리군의 흡광도를 대조군의 흡광도로 나눈 후 100을 곱하여 산출하였다.

### 4. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

HaCaT 세포를 96-well plate에  $5 \times 10^3$  cells/well 씩 분주하여 24시간 동안 배양시킨 후, HaCaT 세포에 다양한 농도의 시료를 24시간 동안 처리한 후, ELISA assay를 수행하였다. CCL17/TARC 및 CCL22/MDC 농도는 Quantikine® Human CCL17/TARC ELISA kit(DDN00, R&D Systems, Minneapolis, MN, USA)와 Quantikine® Human CCL22/MDC ELISA kit(DMD00, R&D Systems)를 사용하여 측정하였다. IL-6는 Quantikine® Human IL-6 Immunoassay(D6050, R&D Systems)를 이용하여 분석하였으며, iNOS는 Human iNOS ELISA kit(EEL035, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA)를 사용하였다. 각 실험군의 세포 상등액 100  $\mu$ L를 항체가 코팅된 96-well plate에 첨가한 후 실온에서 2시간 동안 반응시켰다. 각 well에 TMB(3,3',5,5'-tetramethylbenzidine; 테트라메틸벤지딘) 기질 용액을 첨가한 뒤 상온에서 30분 동안 반응시키고, 반응 정지 용액(인산용액)을 각 well에 첨가하여 반응을 정지시켰다. 그 후, iMark™ Microplate Absorbance Reader(Bio-Rad Laboratories)를 사용하여 540 nm에서 각 well의 흡광도를 측정하였다.

### 5. Quantitative real-time polymerase chain reaction (qRT-PCR)

HaCaT 세포를 24-well plate에  $2.0 \times 10^4$  cells/mL씩

분주하여 24시간 동안 배양시킨 후, HaCaT 세포에 TNF- $\alpha$ /IFN- $\gamma$ (50 ng/mL), LLE(30, 60  $\mu$ g/mL) 또는 CyS A(Sigma-Aldrich, 10  $\mu$ g/mL)를 24시간 동안 처리하여 qRT-PCR을 수행하였다. RNAiso Plus(Takara Bio Inc., Shiga, Japan)를 사용하여 total RNA를 추출하고, Bio FACT™ RT-Kit(Biofact Co., Ltd., Daejeon, Korea)로 cDNA를 합성하였다. QuantStudio™ Real-Time PCR System (Applied Biosystems, Thermo Fisher Scientific)을 이용하여 qPCR을 수행하였으며, GAPDH를 internal control로 사용하였다. PCR 조건은 95  $^{\circ}$ C: 20 sec, 55  $^{\circ}$ C: 30 sec, 72  $^{\circ}$ C: 30 sec로 40 cycles 반응시켰다. 프라이머 서열은 다음과 같다.

human CCL17/TARC Forward Primer: 5'-ACTGCAC TCCTGGTTGTCT-3', human CCL17/TARC Reverse Primer: 5'-AAGGTTAGCAACACCACGCC-3', human CCL22/MDC Forward Primer: 5'-CAGCRCGAGGGG CCAATGTG-3', human CCL22/MDC Reverse Primer: 5'-CTTGGGGTCCGAACAGATGG-3', human IL-6 Forward Primer: 5'-AGACAGCCACTCACCTCTTCAG-3', human IL-6 Reverse Primer: 5'-TTCTGCCAGTGC CTCTTTGCTG-3', human iNOS Forward Primer: 5'-GCTCTACACCTCCAATGTGACC-3', human iNOS Reverse Primer: 5'-CTGCCGAGATTTGAGCCTCATG-3', human GAPDH Forward Primer: 5'-GTCTCCTCTGAC TTCAACAGCG-3', human GAPDH Reverse Primer: 5'-ACCACCCTGTTGCTGTAGCCAA-3'. Real-time PCR 결과는  $\Delta\Delta$ Ct method(Livak & Schmittgen, 2001)를 이용해 정량하였다.

### 6. 통계 분석

모든 실험은 3회 이상 반복하였으며, 통계 분석은 Graph Pad PRISM 8.0(GraphPad Software, San Diego, CA, USA)을 사용하였고, 결과는 평균 $\pm$ 표준편차(mean  $\pm$  SD)로 나타냈다. 실험군 간 유의성은 일원분산분석(one-way ANOVA)로 검정하였으며, 사후 검증은 Tukey's multiple comparison test를 사용하여 p<0.05를 통계적 유의 수준으로 평가하였다.

## III. 결과 및 고찰

## 1. HaCaT 세포에서 LLE의 세포 독성

본 실험에서는 LLE의 HaCaT 세포 생존율에 미치는 영향을 확인하기 위해 MTT assay를 수행하였다. LLE는 에탄올 농도(30%, 70%, 100%) 별 및 물 추출물로 구분하여 각각 30, 60, 90, 120 µg/mL의 농도로 처리하였다. 그 결과, [그림 1]에 나타난 바와 같이 물 추출물과 30% 에탄올 추출물은 실험한 모든 농도 범위(30, 60, 90, 120 µg/mL)에서 대조군(control)대비 유의한 세포 독성을 나타내지 않았다. 반면, 고농도 에탄올 추출물에서는 고농도 처리 시에만 제한적인 세포 독성이 관찰되었으며, 70% 에탄올 추출물은 120 µg/mL에서 대조군 대비 유의한(75±5% 생존율,  $p<0.05$ ) 세포 독성을 나타내었고, 100% 에탄올 추출물은 90 µg/mL(72±2% 생존율,  $p<0.05$ ) 및 120 µg/mL(76±6% 생존율,  $p<0.05$ )에서 각각 유의한 세포 독성을 나타냈다.

따라서, 본 연구에서는 HaCaT 세포에서 LLE는 세포 독성을 유발하지 않으면서 생리활성을 평가할 수 있는 안전 농도 범위로 30 µg/mL 및 60 µg/mL를 선정하였다. 이후 진행된 염증 억제 관련 실험(예: CCL17/TARC 및 CCL22/MDC 발현 억제 분석)은 이러한 세포 생존이 충분히 확보된 농도 범위 내에서 수행되었다.

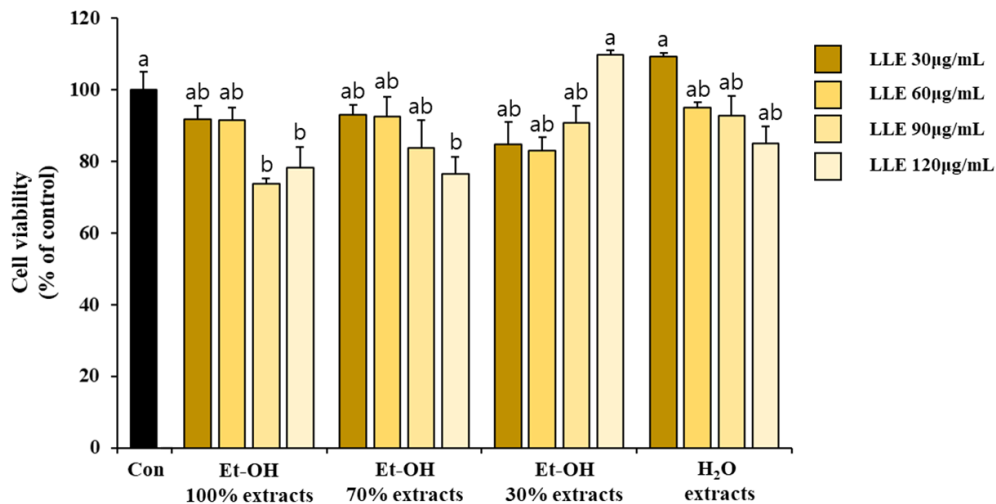
## 2. LLE의 CCL17/TARC 및 CCL22/MDC 생성 억제 효과

아토피 피부염의 주요 발병 기전은 Th2 면역반응의 과

도한 활성화와 깊은 관련이 있으며, 이 과정에서 CCL17/TARC 및 CCL22/MDC와 같은 케모카인이 중요한 역할을 한다고 알려져 있다(Brandt & Sivaprasad, 2011). 이러한 케모카인들은 Th2 림프구를 염증 부위로 유인함으로써 면역반응의 불균형을 유도하므로, 이들의 생성 억제는 항염 및 면역조절 효과를 평가하는 주요 지표로 사용된다.

이에 본 연구에서는 TNF- $\alpha$  및 IFN- $\gamma$  자극에 의해 유도된 염증 환경에서 LLE의 CCL17과 CCL22 생성 억제 효과를 평가하였다. HaCaT 세포에 각각 30 µg/mL 및 60 µg/mL 농도의 LLE를 처리하였으며, 추출 용매에 따라 30%, 70%, 100% 에탄올 및 물 추출물로 구분하여 실험을 진행하였다. 양성대조군으로는 면역억제제 CyS A를 사용하였다.

TNF- $\alpha$ /IFN- $\gamma$  자극에 의해 HaCaT 세포에서 CCL17 및 CCL22의 생성량은 대조군 대비 유의하게 증가하였다( $p<0.001$ ). 반면, LLE 처리군에서는 모든 추출 조건에서 케모카인 생성량이 감소하는 경향을 보였으며, 특히 70% 에탄올 추출물 처리군에서 상대적으로 큰 억제 효과가 관찰되었다. 또한, 70% 에탄올 추출물 30 및 60 µg/mL 처리군에서 CCL17 생성량은 TNF- $\alpha$ /IFN- $\gamma$  단독 처리군 대비 유의하게 감소하였으며( $p<0.01$ ), 60 µg/mL 처리군에서 가장 낮은 생성량을 나타냈다. CCL22 생성량 역시 70% 에탄올 추출물 처리 시 농도 의존적인 감소를 보였고, 특히 60 µg/mL 처리군에서는 양성대조군으로 사용한 CyS A 처리군과 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다. 이러한 결과는 LLE, 특히 70% 에탄올 추출물이 TNF- $\alpha$ /IFN- $\gamma$



[그림 1] HaCaT 세포에서 LLE의 농도별 세포 생존율

LLE 처리에 따른 세포 생존율. 서로 다른 문자 (a-b)는 일원분산분석(ANOVA) 후 Tukey's multiple comparison test에 따라 통계적으로 유의한 차이가 있음을 의미함. Data are expressed as mean  $\pm$  SD (n=3).

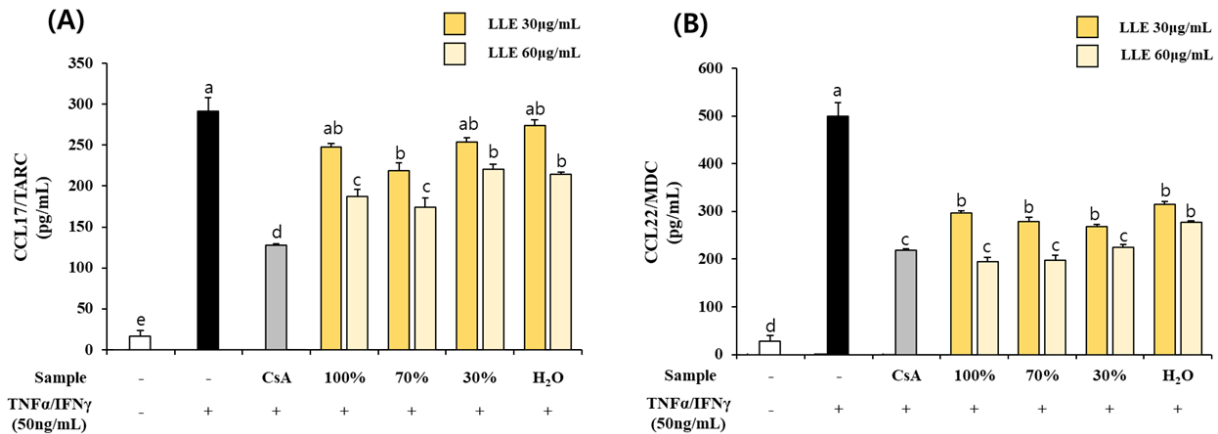
에 의해 유도된 염증성 케모카인의 생성량을 통계적으로 유의하게 억제함을 보여주며, 해당 효과는 추출 조건 및 처리 농도에 따라 차이를 보였다[그림 2].

### 3. LLE의 CCL17 및 CCL22 mRNA 발현 억제 효과

LLE가 CCL17 및 CCL22의 전사 수준에서의 발현 조절 여부를 확인하기 위해 qRT-PCR 분석을 수행하였다. LLE가 CCL17 및 CCL22의 전사 수준에서의 발현 조절 여부를 확인하기 위해 qRT-PCR 분석을 수행하였다. TNF- $\alpha$ /IFN- $\gamma$  자극에 의해 HaCaT 세포에서 CCL17 및 CCL22 mRNA 발현은 대조군 대비 유의하게 증가하였다( $p < 0.01$ ). 반면, 70% 에탄올 추출물(LLE) 처리 시, 두 케모카인의

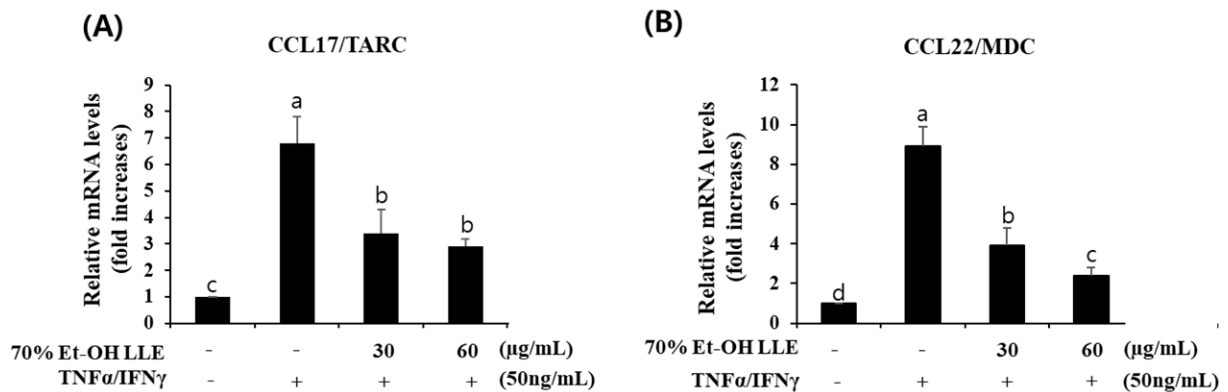
mRNA 발현은 농도 의존적으로 감소하는 경향을 보였다. 특히, CCL17 mRNA 발현은 30  $\mu\text{g/mL}$  처리군에서 TNF- $\alpha$ /IFN- $\gamma$  단독 처리군 대비 약 40% 감소하였으며( $p < 0.01$ ), 60  $\mu\text{g/mL}$  처리군에서는 약 50% 이상 유의하게 감소하였다( $p < 0.01$ ). CCL22 mRNA 발현 역시 30  $\mu\text{g/mL}$  및 60  $\mu\text{g/mL}$  처리군에서 각각 유의한 감소를 보였으며, 특히 60  $\mu\text{g/mL}$  처리군에서는 TNF- $\alpha$ /IFN- $\gamma$  처리군 대비 약 50% 이상의 발현 억제가 관찰되었다( $p < 0.01$ ). 이러한 결과는 LLE가 TNF- $\alpha$ /IFN- $\gamma$ 에 의해 유도된 염증성 케모카인의 전사 수준 발현을 통계적으로 유의하게 억제함을 보여준다[그림 3].

특히, 70% 에탄올 추출물은 30% 또는 100% 에탄올 추출물에 비해 더 강력한 억제 효과를 보였는데, 이는 적정 농



[그림 2] LLE의 처리에 따른 CCL17 및 CCL22 생성 억제 효과

(A) CCL17/TARC, (B) CCL22/MDC의 생성량 변화. 서로 다른 문자 (a-e)는 일원분산분석(ANOVA) 후 Tukey's multiple comparison test에 따라 통계적으로 유의한 차이가 있음을 의미함. Data are expressed as mean  $\pm$  SD (n=3).



[그림 3] LLE의 처리에 따른 CCL17 및 CCL22 mRNA 발현 억제 효과

(A) CCL17, (B) CCL22의 mRNA 발현량 변화. 서로 다른 문자 (a-d)는 일원분산분석(ANOVA) 후 Tukey's multiple comparison test에 따라 통계적으로 유의한 차이가 있음을 의미함. Data are expressed as mean  $\pm$  SD (n=3).

도의 에탄올이 비극성 및 극성 생리활성 성분을 동시에 효율적으로 추출하여 복합적인 항염 활성을 나타낸 것으로 보인다. 또한, LLE 처리군에서 두 케모카인의 발현 감소가 농도 의존적으로 관찰된 점은 비파열 유래 성분이 세포 독성을 유발하지 않는 범위 내에서 안정적으로 작용함을 보여준다. 따라서 본 결과는 LLE가 Th2형 케모카인의 발현 억제를 전사 수준에서 매개하며, CCR4 수용체 리간드로 작용하는 CCL17 및 CCL22의 생성을 직접적으로 차단함으로써 Th2 세포 유입 억제 및 염증 완화에 핵심적인 역할을 수행함을 입증한다.

#### 4. LLE의 iNOS 및 IL-6 발현 억제 효과

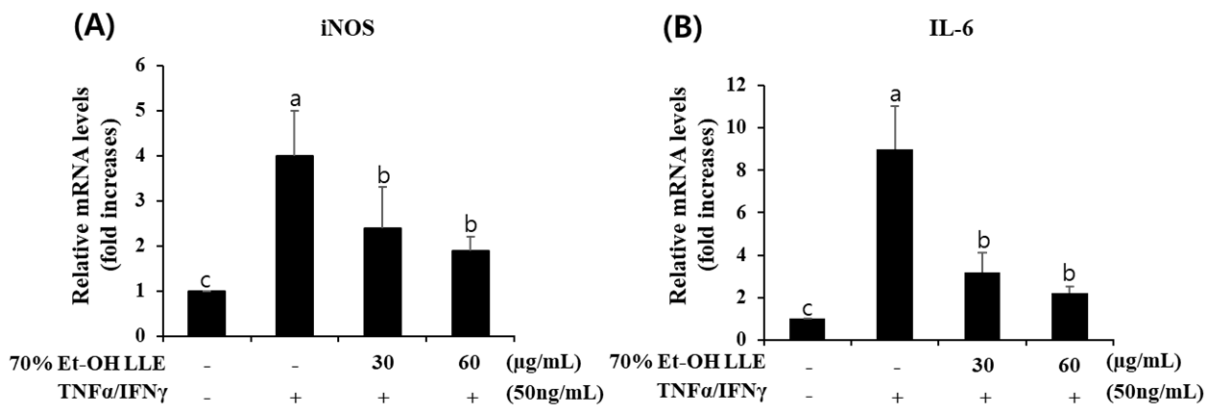
LLE의 광범위한 염증 조절 효과를 평가하기 위해 iNOS 및 IL-6의 mRNA 발현 수준을 qRT-PCR로 분석하였다. TNF- $\alpha$ /IFN- $\gamma$  자극에 의해 HaCaT 세포에서 iNOS 및 IL-6 mRNA 발현은 대조군 대비 유의하게 증가하였다 ( $p < 0.01$ ). 반면, 70% 에탄올 추출물(LLE) 처리군에서는 두 염증 매개 인자의 mRNA 발현이 농도 의존적으로 감소하는 양상을 보였다. 구체적으로, iNOS mRNA 발현은 70% 에탄올 추출물 30  $\mu\text{g/mL}$  처리군에서 TNF- $\alpha$ /IFN- $\gamma$  단독 처리군 대비 유의하게 감소하였으며 ( $p < 0.05$ ), 60  $\mu\text{g/mL}$  처리군에서는 보다 뚜렷한 억제 효과가 관찰되었다 ( $p < 0.05$ ). IL-6 mRNA 발현 역시 30 및 60  $\mu\text{g/mL}$  처리군에서 각각 유의한 감소를 보였으며, 특히 60  $\mu\text{g/mL}$  처리군에서는 TNF- $\alpha$ /IFN- $\gamma$  처리군 대비 약 60% 이상의 발현 감소가 관찰되었다 ( $p < 0.01$ ). 이러한 결과는 LLE가 TNF- $\alpha$ /IFN- $\gamma$ 에 의해 유도된 염증반응에서 iNOS 및 IL-6의 전

사 수준 발현을 통계적으로 유의하게 억제함을 보여준다 [그림 4].

특히, LLE 60  $\mu\text{g/mL}$  처리군에서 iNOS 발현은 대조군 대비 약 50% 이상 억제되었으며, IL-6 발현 또한 농도 의존적으로 감소하는 경향을 보였다. 이러한 결과는 LLE가 Th2 관련 케모카인 억제 효과뿐만 아니라, 광범위한 염증 신호 경로 전체를 조절할 수 있음을 시사한다. 즉, LLE는 NO 생성 경로를 억제함으로써 산화 스트레스 완화에 기여하고, 동시에 IL-6 매개 염증성 사이토카인 네트워크의 활성화를 억제함으로써 세포 수준의 염증반응을 전반적으로 완화시킨 것으로 해석된다.

본 연구에서는 TNF- $\alpha$ /IFN- $\gamma$ 로 자극된 HaCaT 각질세포 모델을 이용하여 비파열 LLE의 항염증 및 면역조절 효과를 평가하였다. 기존의 비파열 관련 연구들은 주로 대식세포를 이용한 일반적인 염증 억제 기전에 초점을 두었으며, 각질세포에서 Th2 면역반응을 매개하는 케모카인 조절에 대한 분석은 제한적이었다. 이러한 점에서 본 연구는 아토피 피부염(AD)의 핵심 병리 기전으로 알려진 ‘각질세포-Th2 세포 간의 상호작용’에 직접 접근했다는 점에서 기존 연구와 차별성을 가진다.

AD 병변에서 각질세포는 CCL17 및 CCL22를 분비하여 Th2 세포의 피부 유입을 촉진하고, 이는 염증반응의 지속과 악순환을 유도한다. 본 연구에서 LLE, 특히 70% 에탄올 추출물이 CCL17 및 CCL22의 mRNA 및 단백질 발현을 동시에 억제한 결과는, LLE가 단순한 염증 완화 효과를 넘어 Th2 면역 활성의 초기 단계에 관여할 가능성을 시사한다. 이러한 결과는 각질세포 유래 케모카인 조절이 AD 치료 전략에서 중요한 표적임을 강조한 최근 연구 흐름



[그림 4] LLE의 처리에 따른 iNOS 및 IL-6 mRNA 발현 억제 효과

(A) iNOS, (B) IL-6의 mRNA 발현량 변화. 서로 다른 문자 (a-c)는 일원분산분석(ANOVA) 후 Tukey's multiple comparison test에 따라 통계적으로 유의한 차이가 있음을 의미함. Data are expressed as mean  $\pm$  SD (n=3).

과도 일치한다.

또한 70% 에탄올 추출물에서 가장 우수한 활성이 관찰된 것은 비파엽에 함유된 생리활성 성분의 용출 특성과 관련이 있을 것으로 판단된다. 비파엽에는 우르솔산, 코로솔산 등의 트리테르페노이드와 케르세틴 계열 플라보노이드가 풍부하게 존재하며, 이들 성분은 NF- $\kappa$ B 및 STAT 신호 전달 경로 억제를 통해 염증성 유전자 발현을 조절하는 것으로 보고된 바 있다(Waly et al., 2025; Zhao et al., 2021). 70% 에탄올 조건은 극성 및 비극성 성분을 균형 있게 추출할 수 있어, 다수의 유효 성분이 복합적으로 작용했을 가능성이 크다. 본 연구에서 관찰된 강력한 케모카인 억제 효과는 이러한 성분 간의 복합적 작용에 의해 상위 염증 신호 전달 경로가 조절된 결과로 해석될 수 있다.

한편, LLE는 Th2 특이적 케모카인뿐만 아니라 iNOS 및 IL-6의 발현도 동시에 억제하여, 단일 표적이 아닌 다중 염증 인자를 조절하는 특성을 보였다. 이는 천연물 유래 추출물이 갖는 다중 타겟 항염 특성과 부합하는 결과이다. 다만 본 연구는 70% 에탄올 추출물 내 주요 활성 성분의 정량 분석이 수행되지 않았으며, NF- $\kappa$ B 및 STAT 경로의 활성 변화에 대한 직접적인 분자 수준 검증이 이루어지지 않았다는 한계를 가진다. 또한 in vitro 세포 모델에 국한되어 있어, 향후 동물 모델을 통한 전임상적 검증이 필요할 것으로 판단된다.

#### IV. 결론

본 연구에서는 TNF- $\alpha$ 와 IFN- $\gamma$ 로 유도된 HaCaT 각질 세포의 염증 환경 모델을 이용하여 LLE의 항염증 효능을 검증하였다. 실험 결과, LLE는 30~60  $\mu$ g/mL 농도 범위에서 세포 독성을 나타내지 않으면서 Th2 케모카인인 CCL17과 CCL22의 단백질 및 mRNA 발현을 유의하게 억제하였다. 특히, 70% 에탄올 추출물은 타 용매 조건 대비 가장 우수한 억제 활성을 보였으며, 양성 대조군인 CyS A와 대등한 수준의 효능을 나타내었다. 더불어 iNOS와 IL-6의 발현 또한 효과적으로 차단하여 광범위한 염증 제어 능력을 입증하였다.

결론적으로, 비파엽 70% 에탄올 추출물은 각질세포의 염증반응을 다각도로 억제함으로써 아토피 피부염 등 Th2 매개 피부 질환을 위한 안전한 천연 기능성 소재로서 높은 잠재력을 가진다. 향후 활성 성분의 규명 및 동물 모델 기반의 심화 연구를 통해 LLE의 임상적 유용성을 더욱 구체화

할 필요가 있다.

주제어: 비파엽, 항염증, CCL17, CCL22, HaCaT 세포

#### REFERENCES

- 고현서, 황혜정, 방경원, 황경아(2024). NF- $\kappa$ B/MAPK 신호 전달 경로 조절을 통한 비파잎(*Eriobotrya japonica* Lindl.)의 항염증 효능. *한국식품영양과학회지*, 53(8), 771-779.
- 김수지, 박진오, 박수남(2012). 비파엽 추출물의 항산화 효능과 성분 분석. *대한화장품학회지*, 38(1), 57-65.
- 김현희, 허미라, 이송미, 임순호(2019). 추출용매 조건에 따른 비파잎 추출물의 항산화 활성 및 유효성분의 분석법 밸리데이션. *한국식품과학회지*, 51(4), 301-308.
- 김혜원(2019). 피부면역과 피부장벽. *한국피부장벽학회지*, 21(1), 53.
- 박정옥, 박진오, 주철규(2015). 추출 방법에 따른 비파엽 추출물의 미백 및 항염 활성에 관한 연구. *대한화장품학회지*, 41(2), 151-157.
- 양현중(2012). TARC(CCL17), MDC(CCL22): 알레르기 염증반응의 생체 지표로서의 의의. *대한천식알레르기학회지*, 32(4), 213-215.
- 지혜미, 한만용(2022). 소아 아토피피부염의 약물치료. *대한의사협회지*, 65(10), 675-680.
- Beck, L. A., Cork, M. J., Amagai, M., De Benedetto, A., ... & Rossi, A. B. (2022). Type 2 inflammation contributes to skin barrier dysfunction in atopic dermatitis. *JID Innovations*, 2(5), 100131.
- Brandt, E. B., & Sivaprasad, U. (2011). Th2 cytokines and atopic dermatitis. *Journal of Clinical & Cellular Immunology*, 2(3), 110.
- Bylund, S., von Kobyletzki, L. B., Svalstedt, M., & Svensson, Å. (2020). Prevalence and incidence of atopic dermatitis: A systematic review. *Acta Dermato-Venereologica*, 100(12), 5765.
- De Vuyst, E., Salmon, M., Evrard, C., Lambert de Rouvroit, C., & Poumay, Y. (2017). Atopic dermatitis studies through in vitro models. *Frontiers in Medicine*, 4, 119.

- Jiang, Y., Tsoi, L. C., Billi, A. C., Ward, N. L., ... & Gudjonsson, J. E. (2020). Cytokines: The diverse contribution of keratinocytes to immune responses in skin. *JCI Insight*, *5*(20), e142067.
- Kim, J. E., Kim, H. J., Lew, B.-L., Lee, K. H., ... & Roh, J. Y. (2015). Consensus guidelines for the treatment of atopic dermatitis in Korea (Part II): Systemic treatment. *Annals of Dermatology*, *27*(5), 578-592.
- Lee, K.-S., Chun, S.-Y., Lee, M.-G., Kim, S., ... & Nam, K.-S. (2018). The prevention of TNF- $\alpha$ /IFN- $\gamma$  mixture-induced inflammation in human keratinocyte and atopic dermatitis-like skin lesions in Nc/Nga mice by mineral-balanced deep sea water. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, *97*, 1331-1340.
- Livak, K. J., & Schmittgen, T. D. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) method. *Methods*, *25*(4), 402-408.
- Viney, J. M., Andrew, D. P., Phillips, R. M., Meiser, A., ... & Pease, J. E. (2014). Distinct conformations of the chemokine receptor CCR4 with implications for its targeting in allergy. *Journal of Immunology*, *192*(7), 3419-3427.
- Waly, D. A., Abou Zeid, A. H., Mohammed, R. S., Moustafa, S. F., ... & El-Kashoury, E. A. (2025). UPLC/HR-ESI-MS/MS and GC/MS profiling of *Eriobotrya japonica* L. fruit in correlation to its antioxidant, anti-inflammatory, and anti-arthritis effects. *Journal of Food Science*, *89*(12), 9879-9900.
- Zhao, J., Zhou, H., An, Y., Shen, K., & Yu, L. (2021). Biological effects of corosolic acid as an anti-inflammatory, anti-metabolic syndrome and anti-neoplastic natural compound. *Oncology Letters*, *21*(2), 84.

Received 29 October 2025;

1st Revised 14 December 2025;

Accepted 22 December 2025