

구절초 추출물이 전층피부손상 마우스의 피부 재생에 미치는 영향

정규진

한남대학교 문화예술대학원 향장미용학과

Effect of Gujeolcho Extract on Skin Regeneration in Mice with Full-thickness Skin Damage

Kyu-Jin Chung

Division of Cosmetic Beauty, Graduate School of Culture and Arts, Hannam University

요약 조직 재생은 상처 치유 과정에서 필수적인 단계로 세포 이동, 증식, 신생혈관 형성, 그리고 기질 재형성을 포함한다. 본 연구는 구절초 추출물이 조직 재생에 미치는 영향을 평가하기 위한 것이다. 쥐의 등 부위에 상처를 유발한 후, 구절초 추출물 (CD, CE)를 다양한 농도(200, 400)로 경구 투여하였다. 이후 상처 부위의 피부 조직에서 재생 관련 인자들의 유전자 발현량과 조직학적 변화를 평가하였다. CTGF와 TGF- β 1은 CD 400과 CE 200, 400에서 대조군과 비해 발현량이 증가했고, 조직 내 VEGF 발현량은 CD와 CE 모든 투여군에서 유의하게 증가하였고, IGF-1 발현량과 TIMP-1은 저농도(CD 200, CE 200) 투여군은 대조군에 비해 감소했으나, 고농도(CD 400, CE 400) 투여군에서 유의하게 증가했다. MMP-2 발현량은 CD 400, CE 400에서, MMP-9는 CD 200, 400에서 유의미하게 감소했다. H&E 염색 결과 대조군에 비해 CD와 CE 투여군에서 염증세포 침윤이 적고 신생혈관과 피지선이 증가된 것을 확인했다. 결론적으로 구절초 추출물은 CTGF, VEGF, TGF- β 1, IGF-1, TIMP-1의 발현을 증가시키고, MMP-2와 MMP-9의 발현을 억제하였으며 조직학적 분석 결과에서도 조직의 재생이 잘 이루어지고 있음을 확인하였다.

Abstract Tissue regeneration is a vital phase in wound healing, involving cell migration, proliferation, neovascularization, and matrix remodeling. This study evaluated the effects of Gujeolcho extract on tissue regeneration. After inducing wounds on rats' backs, Gujeolcho extract (CD, CE) was orally administered at 200 and 400 mg/kg. Gene expression of regeneration-related factors and histological changes were assessed. Results showed increased expression of connective tissue growth factor (CTGF) and transforming growth factor beta 1 (TGF- β 1) in the CD 400 and CE 200 and 400 groups. Vascular endothelial growth factor (VEGF) expression significantly increased in all treatment groups, while insulin-like growth factor-1 (IGF-1) and tissue inhibitor of metalloproteinases-1 (TIMP-1) levels decreased in the CD 200 and CE 200 groups but increased in the CD 400 and CE 400 groups. Matrix metalloproteinase 2 (MMP-2) expression significantly decreased in the CD 400 and CE 400 groups, and MMP-9 expression decreased in the CD 200 and 400 groups. Histological analysis revealed reduced inflammatory cell infiltration but increased neovascularization and sebaceous gland formation in the CD and CE groups. In conclusion, Gujeolcho extract enhanced the expression of CTGF, VEGF, TGF- β 1, IGF-1, and TIMP-1, but suppressed MMP-2 and MMP-9 expression, and effectively promoted tissue regeneration, as confirmed by histological analysis.

Keywords : Gujeolcho, Regeneration, Wound Healing, VEGF, TIMPs, MMPs

본 논문은 저자의 박사 논문 일부를 발췌하여 수정 보완한 것임.

*Corresponding Author : Kyu-Jin Chung(Hannam Univ.)

email: doccap@naver.com

Received June 26, 2024

Accepted August 2, 2024

Revised August 1, 2024

Published August 31, 2024

1. 서론

피부는 외부 자극 및 병원체의 침투로부터 신체를 보호하는 장벽 역할을 하며, 이 외에도 수분과 체온 유지, 감각 전달 등 다양한 생리적 기능을 담당한다. 인체 어떤 조직보다도 각종 해로운 요소들에 가장 많이 노출되어 다양한 손상의 가능성이 있으며, 실제로 크고 작은 물리·화학적 손상을 입는다. 표피의 복구 기전에 따라 대체로 빠르게 회복하나 손상 범위가 넓거나 손상 복구가 지연되면 피부의 다양한 기능이 정상적으로 기능하지 않을 뿐만 아니라 감염과 합병증 등으로 미용상의 문제를 넘어 생명을 위협할 수 있다.

상처에 대한 조직의 반응을 크게 3단계로 구분하면, 염증, 증식, 재형성 단계를 거친다[1]. 상처를 입은 즉시 시작되는 염증 단계에서는 상처 부위의 혈관이 수축하고, 혈소판이 응집해 형성된 혈전이 출혈을 멈추게 하고, 개방된 상처 부위를 덮는다[1]. 이후 염증 세포들이 상처 부위로 이동하여 추가적인 감염을 막고 손상 부위의 세균과 이물질을 제거하는 염증 반응이 일어난다[2]. 증식 단계에서는 섬유모세포 등의 세포 이동과 증식으로 육아 조직과 세포외기질, 신생혈관이 생성된다[3]. 새롭게 생성된 결합 조직은 신생혈관을 통해 영양분과 산소를 공급받으며 상처 부위의 결손을 메운다. 재형성 단계에서는 증식 단계에서 생성된 일차 조직이 원 조직에 가깝게 최적화되는 개선 과정이 일어나는데, 수개월에서 수년이 걸린다.

상처 치유 과정은 단계별로 조화롭게 진행되어야 하나, 상처 조직에서 반응하는 세포들의 유입과 상호작용을 조절하는 성장인자가 이상 발현되면 정상적인 상처 치유 과정을 지연시켜 만성 창상을 초래한다[4]. 상처가 아물지 않으면, 외부 자극이나 감염 등 이차적인 합병증의 우려가 높아짐과 동시에 치유 후에도 흉터가 남을 가능성이 높기 때문에 상처 조직의 재생은 상처 치료 전반에 있어 매우 중요한 과제다[5].

상처 치유에 일반적으로 사용되는 합성 의약품은 정상 세포의 기능 저하[6], 반흔 및 조직 유착을 형성하는 등의 부작용이 보고[7,8]되고 있다. 합성 의약품의 부작용에 대한 우려는 식물 소재 개발에 대한 요구로 이어지며, 전통적으로 사용된 약용식물들의 경험적 효능을 과학적으로 검증하려는 연구가 활발하다. 천연물은 다양한 생리활성 물질을 다량 함유하고 있어 복잡한 과정이 연쇄적으로 일어나는 상처 치유에 유용하게 작용할 수 있으며, 동시에 안전하고 부작용이 적다는 장점이 있다.

국화과에 속하는 구절초는 국내 자생하는 다년생 초본으로, 민간에서 다양한 염증 질환에 사용해 왔다. 구절초에 함유된 주요 약리효능 성분으로 리나린(linarin), 퀴논(quinoid compounds), 아카세틴(acacetin)이 보고되었다[9-11]. 리나린은 항산화 및 항염 효과가 뛰어난 플라보노이드로 TXNIP/NLRP3와 NF- κ B 경로를 조절하여 염증 반응을 완화하며[12] 퀴논은 항암, 항염, 항산화 작용을 하는 생리활성 물질로, 세포 내 산화 스트레스를 줄이고 암세포의 성장을 억제하는 것[13]으로 보고된 바 있다. 아카세틴 역시 항산화 및 항염 작용을 통해 염증 매개 물질의 발현을 억제하여 염증 조절에 중요한 역할을 하는 것으로 보고[14]되었다. 이들 주요 성분들의 종합적인 효과로 항산화, 항염, 항암, 간 보호, 항비만, 미백 활성이 보고되었다[11,15-18]. 다수의 연구에서 구절초의 항산화와 항염 활성이 우수한 것으로 평가되어 상처 치유에 효과가 있을 것으로 예측되지만 실제로 상처 치유에 미치는 영향에 관한 연구는 아직 부족한 실정이다. 특히 경구용 상처 치료제로서의 가능성을 평가한 연구는 거의 없다.

이에 본 연구에서는 사용상의 편리함과 전신적 효과가 있으며 나아가 장기 내부 손상 치료 등에도 활용될 수 있는 다양한 이점이 있는 경구용 상처 치료제로서 구절초의 활용 가치를 확인하고자 하였다. 이를 위해 피부에 상처를 유도한 뒤, 구절초 전초 추출물을 경구 투여한 동물 모델의 조직에서 재생 관련 유전자의 발현량을 관찰하였고, 조직병리검사를 통해 조직 재생 정도를 파악하였다.

2. 실험재료 및 연구방법

2.1 시료 추출

주식회사 옴니허브에서 구입한 구절초를 증류수 및 80% 에탄올로 각각 추출하였으며, 이 과정에서 얻은 여과액을 감압 농축한 후 동결건조하여 -80°C 냉동고에서 보관하였다. 실험 시 필요 농도로 증류수에 희석하여 사용하였다.

2.2 실험동물 및 상처 유발

동물은 6주령의 수컷 SD-rat(Sprague Dawley rat, 170~200 g)을 (주)샘타코에서 구입하였고, 적절한 환경(온도 $22\pm 2^{\circ}\text{C}$, 습도 $55\pm 5\%$, 12h(light)-12h(dark) cycle)에서 1주일간 적응시킨 후 사용하였다. 안정기를

거친 7주령의 rat을 Zoletil 50으로 마취한 뒤 등 피부를 제모하고 피하층까지 상처를 유발하였다. 동물실험 윤리 위원회의 승인을 받았으며, 동물 윤리 규정에 맞게 실험 하였다(DJUARB 2017-003).

2.3 실험군 분류 및 시료 처리

상처를 입히지 않은 정상군과 상처 유발 후 증류수를 경구투여 한 대조군, 추출물을 농도별로 경구투여 한 실험군(CD 200, 400 mg/kg/day, CE 200, 400 mg/kg /day)으로 총 6개 군으로 나누었으며, 각 군 당 6마리의 쥐를 배정하였다. 3주간 매일 정해진 시각에 대조군과 실험군에 2 ml씩 경구 투여하였다. 투여량은 성인 체중 60 kg에 1회 분량으로 하여 rat 평균 체중을 300 g으로 기준으로 계산하였다.

2.4 피부 조직 내 유전자 발현량

동물실험 종료 후에 채취한 등 피부조직 0.1 g을 파쇄 하여 total RNA prep kit을 사용하여 RNA를 추출하였다. 역전사 반응은 RT premix kit의 mixture를 사용하여 first-strand cDNA를 합성하였으며, M-MLV RT를 불활성화시킨 후 합성이 완료된 cDNA를 PCR에 사용하였다. PCR은 DNA polymerase 1U/tube에 250mM dNTPs mix, PCR buffer를 포함한 PCR premix에 primer와 각 샘플을 넣고 시행하였다. 94℃에서 5분 동안 1 cycle을 진행한 다음 94℃에서 15초, 각 primer의 annealing 온도에서 30초, 72℃에서 15초를 30~40 cycle 진행하였고 마지막으로 72℃에서 5분 후 서서히 온도가 내려가 4℃가 되었을 때 증폭이 완료된 DNA 샘플을 얻었다. 증폭된 DNA는 1% agarose gel에 전기영동 하여 유전자 발현의 여부를 측정하였다. UV로 촬영하여 각 그룹별로 band를 확인하였고 사용된 primer의 sequence와 annealing 온도는 Table 1과 같다.

2.5 조직병리학적 관찰

동물실험 종료 후 각 실험군 별로 상처 피부 조직을 채취하여 10% 중성 포르말린에 48시간 고정한 뒤 케이 피엔티 (Korea)에 haematoxylin and eosin (H&E) 염색을 의뢰한 뒤 염색된 조직을 수령하여 광학현미경을 통해 조직 변화를 확인하였다.

2.6 통계처리

본 연구의 실험 결과는 평균값±표준 편차(mean±S.D.)

로 표시하였다. 각 처리군의 비교는 one-way analysis of variance (ANOVA) 방법을 이용하였고, Student's t-test를 사용하여 통계적 유의성을 검증하였다 ($p < 0.05$, $p < 0.01$, $p < 0.001$).

Table 1. The Sequences of Primers in Used Wound Skin

Primer	F/R	Sequences	Annealing temp.(℃)
CTGF	F	ACC TGT GCC TGC CAT TAC AA	55.7
	R	CTC ACT TCG GTG GGG TGT TT	
VEGF	F	CCA CCA TGC CAA GTG GTG AA	50.0
	R	TAG TGA CGT TGC TCT CCG AC	
TGF-β1	F	GGC CAG ATC CTG TCC AAA CT	61.7
	R	CGT GTT GCT CCA CAG TTG AC	
IGF-1	F	AAT GTG CGG TTC TGT GGG AG	55.7
	R	CTC ATC CAC AAT GCC CGT CT	
TIMP-1	F	GGA CAT TTA TTC TCC ACC GCC	57.6
	R	CAG CGT CGA ATC CTT TGA GC	
MMP-2	F	GGT GGC AAT GGA GAT GGA CA	55.7
	R	CCC GGT CAT AAT CCT CGG TG	
MMP-9	F	AAA CCT CCA ACC TCA CGG AC	55.7
	R	GGC CTT TAG TGT CTC GCT GT	
β-actin	F	CAC CCG CGA GTA CAA CCT TC	60.4
	R	CCC ATA CCC ACC ATC ACA CC	

3. 연구 결과

3.1 피부 조직 내 재생 관련 유전자 발현량

3.1.1 CTGF

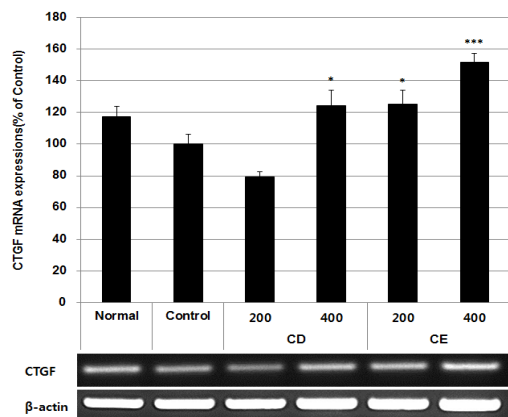


Fig. 1. Effect of CD and CE on CTGF mRNA expressions in wound tissues of wound-induced rats.

조직 내 CTGF 유전자 발현량을 측정된 결과, Fig. 1에서 보는 바와 같이 대조군을 100.0±6.2%로 나타냈을 때, 정상군은 117.3±6.7%로 나타났다. 반면, CD 200, 400은 79.2±3.2%, 124.4±9.7%로 나타났으며, CE 200, 400은 125.4±8.5%, 151.7±5.6%로 나타나, CD 400, CE 200, 400 투여군에서 대조군에 비해 유의성 있는 (* : p<0.05, *** : p<0.001) 증가가 나타났다.

3.1.2 VEGF

조직 내 VEGF 유전자 발현량을 측정된 결과, Fig. 2에서 보는 바와 같이 대조군을 100.0±8.6%로 나타냈을 때, 정상군은 68.9±5.2%로 나타났다. 반면, CD 200, 400은 134.0±14.1%, 144.3±18.8%로 나타났으며, CE 200, 400은 126.1±10.5%, 146.4±9.3%로 나타나, CD와 CE 투여군에서 대조군에 비해 유의성 있는 (** : p<0.01, *** : p<0.001) 증가가 나타났다.

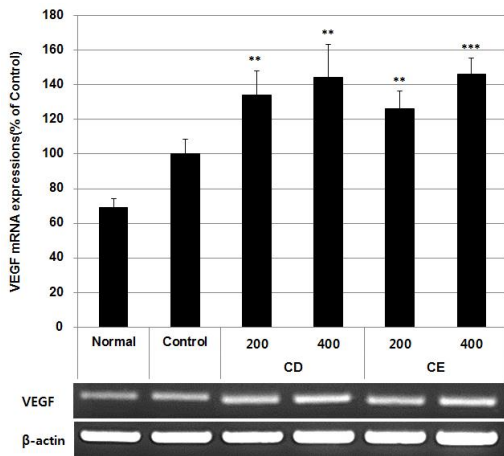


Fig. 2. Effect of CD and CE on VEGF mRNA expressions in wound tissues of wound-induced rats.

3.1.3 TGF-β1

조직 내 TGF-β1 유전자 발현량을 측정된 결과, Fig. 3에서 보는 바와 같이 대조군을 100.0±8.3%로 나타냈을 때, 정상군은 61.6±15.8%로 나타났다. 반면, CD 200, 400은 66.6±8.4%, 108.4±14.7%로 나타났으며, CE 200, 400은 117.1±7.9%, 134.6±8.6%로 나타나, CE 400 투여군에서 대조군에 비해 유의성 있는 (*** : p<0.001) 증가가 나타났다.

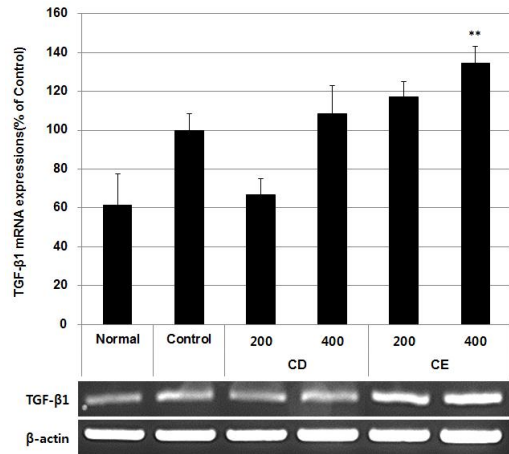


Fig. 3. Effect of CD and CE on TGF-β1 mRNA expressions in wound tissues of wound-induced rats.

3.1.4 IGF-1

조직 내 IGF-1 유전자 발현량을 측정된 결과, Fig. 4에서 보는 바와 같이 대조군을 100.0±12.7%로 나타냈을 때, 정상군은 113.1±13.2%로 나타났다. 반면, CD 200, 400은 65.6±17.5%, 299.1±15.2%로 나타났으며, CE 200, 400은 87.9±14.6%, 316.4±17.9%로 나타나, CD 400, CE 400 투여군에서 대조군에 비해 유의성 있는 (*** : p<0.001) 증가가 나타났다.

3.1.5 TIMP-1

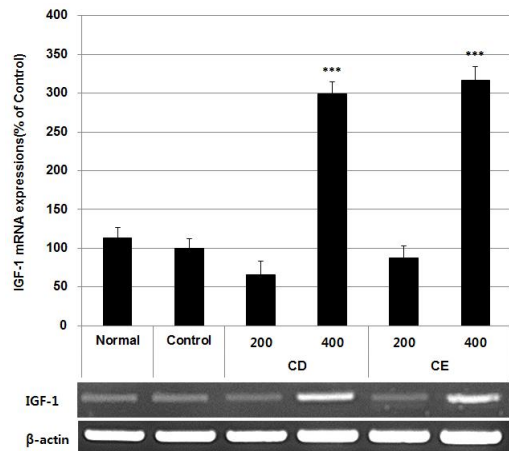


Fig. 4. Effect of CD and CE on IGF-1 mRNA expressions in wound tissues of wound-induced rats.

조직 내 TIMP-1 유전자 발현량을 측정한 결과, Fig. 5에서 보는 바와 같이 대조군을 100.0±13.9%로 나타냈을 때, 정상군은 71.5±14.8%로 나타났다. 반면, CD 200, 400은 94.3±7.5%, 210.9±16.2%로 나타났으며, CE 200, 400은 82.5±13.8%, 171.9±15.2%로 나타나, CD 400, CE 400 투여군에서 대조군에 비해 유의성 있는 (***) : p<0.001) 증가가 나타났다.

3.1.6 MMP-2

조직 내 MMP-2 유전자 발현량을 측정한 결과, Fig. 6에서 보는 바와 같이 대조군을 100.0±12.7%로 나타냈을 때, 정상군은 29.6±12.2%로 나타났다. 반면, CD 200, 400은 104.7±16.9%, 62.3±12.1%로 나타났으며, CE 200, 400은 110.9±12.5%, 47.1±9.5%로 나타나, CD 400, CE 400 투여군에서 대조군에 비해 유의성 있는 (** : p<0.01, *** : p<0.001) 감소가 나타났다.

3.1.7 MMP-9

조직 내 MMP-9 유전자 발현량을 측정한 결과, Fig. 7에서 보는 바와 같이 대조군을 100.0±12.7%로 나타냈을 때, 정상군은 59.3±12.3%로 나타났다. 반면, CD 200, 400은 77.4±7.7%, 67.1±6.8%로 나타났으며, CE 200, 400은 99.0±10.5%, 95.4±12.5%로 나타나, CD 200, 400 투여군에서 대조군에 비해 유의성 있는 (* : p<0.05, ** : p<0.01) 감소가 나타났다.

3.2 조직 염색

상처 부위 조직을 H&E 염색한 결과는 Fig. 8에서 보는 바와 같다.

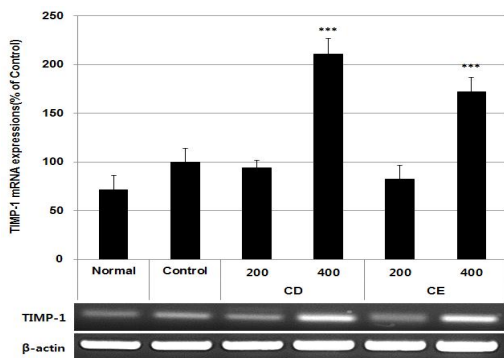


Fig. 5. Effect of CD and CE on TIMP-1 mRNA expressions in wound tissues of wound-induced rats.

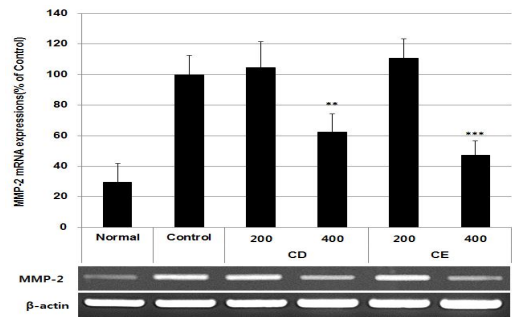


Fig. 6. Effect of CD and CE on MMP-2 mRNA expressions in wound tissues of wound-induced rats.

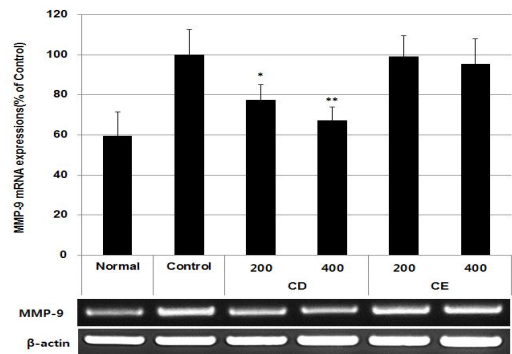


Fig. 7. Effect of CD and CE on MMP-9 mRNA expressions in wound tissues of wound-induced rats.

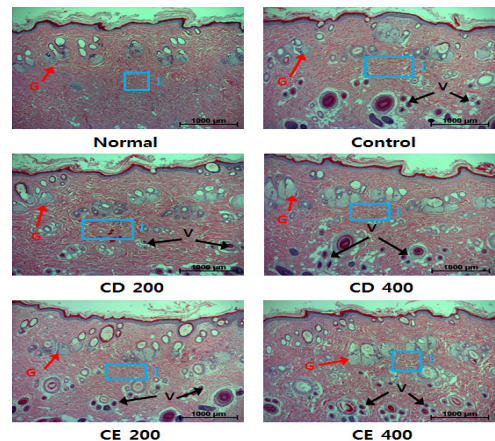


Fig. 8. Histopathological findings of wound tissues section in wound-induced SD-rats administered CD or CE orally. The wound tissue section of rat was stained with Hematoxylin & Eosin. The dermis was observed using a visible-light microscope at a magnification of 200×. G ; sebaceous gland, V ; blood vessel, I ; inflammatory cells.

4. 고찰

상처가 장시간 노출되면 감염 위험이 증가하고 치유를 지연시키며 추가적인 합병증을 유발할 수 있다. 따라서 상처를 신속하게 치유하여 이러한 위험을 최소화하는 것이 상처 관리의 중요한 목표 중 하나이다. 이를 위해서는 조직 재생 인자들의 기능과 상호작용을 이해하는 것이 필수적이다.

정상적인 치유 과정에서는 염증 단계 초기에 염증 세포의 이동과 세포 외 기질 분해를 촉진하는 성장 인자들의 발현이 증가하며, 증식기와 재형성기 동안에는 세포 증식, 신생혈관 형성, 세포 외 기질 생성 및 안정화를 촉진하는 성장 인자들의 발현이 증가한다. 즉, 각 성장 인자들의 발현량이 단계별로 변화를 겪으며, 각각의 역할에 맞추어 조절된다.

CTGF (Connective Tissue Growth Factor, 결합 조직 성장 인자)는 섬유아세포의 증식과 세포외기질 합성을 촉진하는 주요 성장 인자이다[19]. CTGF 발현량 증가는 세포외기질의 합성 증가를 유도[20]하여 상처 부위의 조직 재생을 촉진하지만, CTGF 발현이 지속되면 과도한 섬유화를 유발해 비후성 반흔이 형성될 수 있다. 따라서 CTGF 발현 조절은 정상적인 상처 치유에 필수적이다[21]. 한편, CTGF 발현은 TGF- β 1이 유도하는 것으로 알려져 있는데[22], 본 연구에서도 시료 농도에 따라 나타난 TGF- β 1과 CTGF의 발현양상이 유사했다.

TGF- β 1 (Transforming Growth Factor Beta 1, 형질전환 성장 인자 베타 1)은 다기능을 하는 사이토카인으로 상처 치유의 모든 과정, 즉 염증세포에 대한 화학주성[23], 신생혈관생성[24], 세포외기질 합성, 육아조직 형성에 관여해 조직 재생에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. TGF- β 1의 과발현이 반흔을 감소시키며, 콜라겐 합성을 촉진하여[25] 상처 치유를 빠르게 한다는 것이 보고된 바 있다[26]. 본 연구에서 TGF- β 1과 CTGF의 발현량이 CD 400과 CE 200, 400에서 증가했는데, 이는 CD와 CE가 섬유화 작용을 통해 조직 재생 촉진 활성이 있으며 동시에 과발현 양상이 지속되면 흉터가 생길 수 있다는 점을 시사한다.

증식 단계에서는 섬유아세포, 각질세포, 내피세포 등이 상처 부위로 이동하여 새로운 혈관이 형성된다. 이 과정에서 세포 이동과 증식이 활발하게 일어나며 VEGF와 IGF-1과 같은 성장 인자가 중요한 역할을 한다. 조직 내 VEGF 발현량은 CD와 CE 모든 투여군에서 유의하게 증가하였고, IGF-1 발현량은 저농도(CD 200, CE 200)

투여군에서 대조군에 비해 감소한 결과가 나타났다. 반면 고농도(CD 400, CE 400) 투여군에서는 유의미하게 증가하여 농도 의존적인 발현량 변화를 확인했다.

IGF-1 (Insulin-like Growth Factor, 인슐린 유사 성장인자 1)은 성장 호르몬에 의해 합성이 촉진되는데, 주로 간에서 생성된다[27,28]. IGF-1은 섬유모세포와 각질세포의 증식과 이동을 촉진하며, 진피의 주요 구성 성분인 type I collagen의 합성을 유도하여 상처 부위의 구조적 완전성을 갖추고 상처 치유를 가속화하는 것으로 보고되었다[29]. 상처 부위에 생성된 육아조직에 산소와 영양이 공급되어야 하는데, VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor, 혈관 내피세포 성장인자)는 혈관 내피세포의 이동과 분화를 촉진해[30,31] 신생혈관 형성에 핵심적인 역할을 한다. 조직 내 VEGF와 IGF-1의 발현량의 농도 의존적 증가는 CD와 CE가 조직의 증식과 복구에 긍정적 영향을 미칠 수 있음을 시사한다.

MMPs (Matrix Metalloproteinases, 기질 금속단백 분해효소)는 아연을 포함한 endopeptidase의 일종으로, 단백질 분해를 통해 세포 이동, 신생혈관 형성, 상처 치유 등에 중요한 역할을 한다[32]. MMP-2와 MMP-9는 기저막의 주요 성분인 젤라틴을 분해하는 효소로서[33] 상처 치유 초기 염증 단계에서 이 효소들의 발현이 급격히 증가하여 손상된 기질을 분해하여 염증세포의 이동과 침윤을 촉진한다[34]. 이후 증식 및 수축 단계에서는 MMP-2와 MMP-9의 발현량이 점차 감소하는 것으로 보고된다[35]. 특히, 반흔이 없는 성인의 창상에서 MMP-2의 감소가 관찰된 바 있으며, 이는 콜라겐 축적이 줄어들고 세포 이동에 적합한 액상 기질이 만들어져 반흔이 남지 않는 성공적인 상처 치유 과정으로 이해된다[36]. 그러나 만성 창상에서는 MMP-2와 MMP-9 발현량이 높은 농도로 지속되는데[37], MMP-2와 MMP-9가 세포외기질 성분을 분해해 세포 이동에 적합하지 않은 세포외기질이 만들어지고, 궁극적으로 육아조직의 형성이 실패하기 때문이다[38]. 따라서 MMPs의 작용은 적절히 조절되어야 하는데, MMPs의 조절에는 TIMP-1이 중요한 역할을 한다. TIMP-1 (Tissue Inhibitor of Metalloproteinases, 조직 금속단백분해효소 억제제)은 활성화된 MMP-2, MMP-9와 1:1로 결합하여 이들의 단백질 분해 작용을 억제하며, 세포외기질의 과도한 분해를 방지하고 조직의 통합성을 유지한다[39]. 상처 부위에서 TIMP-1 발현이 증가하면 상처 부위에서 기질 형성이 촉진되며, 이와 동시에 MMPs의 발현이 감소하는 경향이 나타난다[40]. TIMP-1의 발현 증가로 MMPs의 활성

이 적절히 조절될 때 세포외기질의 보존과 재형성이 원활하게 이루어질 수 있다. 본 연구에서 조직 내 MMP-2와 MMP-9의 유전자 발현량을 조사한 결과, MMP-2는 CD 400, CE 400에서 유의미하게 감소하였고, MMP-9는 CD 200, 400에서 유의미하게 감소한 것으로 나타났다. 반면, TIMP-1 발현량은 CD 400과 CE 400에서 유의미하게 증가하여 시료를 고농도로 처리한 군에서 육아조직의 형성과 세포외기질의 재형성이 효과적으로 이루어질 것으로 추측할 수 있다.

상처 피부 조직을 Hematoxylin & Eosin 염색을 통해 관찰한 결과, 대조군에서는 염증세포의 침윤이 관찰되었고, 동시에 자연적으로 피부 회복에 따른 신생혈관과 피지선 형성을 관찰하였다. CD와 CE 투여군에서는 대조군에 비해 염증세포의 침윤 정도가 낮고, 신생혈관과 피지선이 더 많이 생성되었다.

5. 결론

본 연구에서는 구절초 추출물(CD, CE)이 상처 치유에 미치는 영향을 분석하기 위해 쥐 모델을 이용하여 재생 관련 유전자 발현 양상과 조직 변화를 관찰하였다. CD와 CE의 고농도 투여군(CD 400, CE 400)에서 CTGF, TGF- β 1, VEGF, IGF-1, TIMP-1의 발현이 증가하고, MMP-2, MMP-9 발현이 감소하는 결과를 확인했다.

이러한 결과는 구절초 추출물이 조직 재생과 신생혈관 형성을 촉진하며, 세포외기질의 안정성을 유지하여 상처 치유를 가속화시킬 수 있음을 시사한다.

다만, 추출물 농도에 따른 활성 변화를 명확히 규명하여 최적의 사용 조건을 설정하고, 성분 분석 및 작용 기전 연구가 더 필요할 것으로 사료된다.

본 연구의 결과가 향후 화장품 및 의약품 분야에서 국산 식물자원 활용을 위한 기초 자료로 활용될 수 있기를 기대한다.

References

- [1] McCauley RL, Li YY, Chopra V, Herndon DN, Robson MC. "Cytoprotection of human dermal fibroblasts against silver sulfadiazine using recombinant growth factors." *Journal of Surgical Research*, Vol. 56, No. 4, pp. 378-384, 1994.
DOI: <https://doi.org/10.1006/jsre.1994.1059>
- [2] Lewis JS, Lee JA, Underwood JC, Harris AL, Lewis CE, 1999. "Macrophage responses to hypoxia: relevance to disease mechanisms". *Journal of leukocyte biology*, Vol. 66, No. 6, pp. 889-900, 1999.
DOI: <https://doi.org/10.1002/jlb.66.6.889>
- [3] Hasan W, Zhang R, Liu M, Warn JD, Smith PG. "Coordinate expression of NGF and α -smooth muscle actin mRNA and protein in cutaneous wound tissue of developing and adult rats.". *Cell and Tissue Research*, Vol. 300, pp. 97-109, 2000.
DOI: <https://doi.org/10.1007/s004410000175>
- [4] MJ Kwon, JH Park. "Impaired wound healing in diabetes mellitus.". *Korean Diabetes Journal*, Vol. 33, No. 2, pp. 83-90, 2009.
DOI: <https://doi.org/10.4093/kdj.2009.33.2.83>
- [5] SY Kim, HG Lee, CH Lee, CJ Lee. "A Study on the Proliferation and the Collagen Synthesis of the Fibroblast Cultured from Normal Skin and Hypertrophic Scar.". *Korean Journal of Dermatology*, Vol. 40, No. 7, pp. 751-758, 2002.
- [6] SK Han, HJ You. "Wound coverage using advanced technology in Korea.". *Journal of the Korean Medical Association/Taehan Uisa Hyophoe Chi*, Vol. 54, No. 6, pp. 594-603, 2011.
- [7] AY Lee. "Allergic contact dermatitis due to sodium fusidate, an ingredient of fucidin ointment.". *Medical Postgraduates*, Vol. 5, pp. 261-263, 2005.
- [8] DO Han, GH Kim, YB Choi, IS Shim, HJ Lee, YG Lee, JH Kim, GT Chang, DH Hahm. "Healing effects of Astragali radix extracts on experimental open wounds in rats.". *Journal of Physiology & Pathology in Korean Medicine*, Vol. 19, pp. 92-97, 2005.
- [9] KM Chang, GH Kim. "Volatiles of Chrysanthemum zawadskii var. latilobum K.". *Preventive Nutrition and Food Science*, Vol. 17, pp. 234-238, 2012.
DOI: <https://doi.org/10.3746/pnf.2012.17.3.234>
- [10] SY Shim, HS Kang, HJ Sun, YJ Lee, JR Park, SS Chun, YH Song, DS Byun. "Isolation and identification of flavonoids from Gujeolcho(Chrysanthemum zawadskii var. latilobum) as inhibitor of histamine release.". *Food Science And Biotechnology*, Vol. 21, pp. 613-617, 2012.
DOI: <https://doi.org/10.1007/s10068-012-0079-0>
- [11] SY Shim, JR Park, DS Byun. "6-Methoxyluteolin from Chrysanthemum zawadskii var. latilobum suppresses histamine release and calcium influx via down-regulation of Fc ϵ RI α chain expression.". *Journal of Microbiology and Biotechnology*, Vol. 22, pp. 622-62, 2012.
DOI: <https://doi.org/10.4014/jmb.1111.11060>
- [12] Han, X., Wu, Y. C., Meng, M., Sun, Q. S., Gao, S. M., Sun, H. "Linarin prevents LPS-induced acute lung injury by suppressing oxidative stress and inflammation via inhibition of TXNIP/NLRP3 and NF- κ B pathways.". *International journal of molecular medicine*, Vol. 42, No. 3, pp. 1460-1472, 2018.

- DOI: <https://doi.org/10.3892/ijmm.2018.3710>
- [13] Beken, B., Serttas, R., Yazicioglu, M., Turkecul, K., Erdogan, S. "Quercetin Improves Inflammation, Oxidative Stress, and Impaired Wound Healing in Atopic Dermatitis Model of Human Keratinocytes.", *Pediatric allergy, immunology, and pulmonology*, Vol. 33, No. 2, pp. 69-79, 2020.
DOI: <https://doi.org/10.1089/ped.2019.1137>
- [14] Xiao, Y., Zhang, B., Hou, S., Shen, X., Wu, X., Liu, R., Luo, Y. "Acacetin Attenuates Sepsis-induced Acute Lung Injury via NLR3-NF- κ B Pathway.", *Inflammation*, 10.1007/s10753-024-02040-3. Advance online publication. 2024.
DOI: <https://doi.org/10.1007/s10753-024-02040-3>
- [15] YL Hsu, PL Kuo, CC Lin. "Acacetin inhibits the proliferation of Hep G2 by blocking cell cycle progression and inducing apoptosis.", *Biochemical Pharmacology*. Vol. 67, pp. 823-829, 2004.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2003.09.042>
- [16] RP Singh, P Agrawal, D Yim, C Agarwal, R Agarwal. "Acacetin inhibits cell growth and cell cycle progression, and induces apoptosis in human prostate cancer cells: Structure-activity relationship with linarin and linarin acetate.", *Carcinogenesis*, Vol. 26, pp. 845-854. 2005.
DOI: <https://doi.org/10.1093/carcin/bgi014>
- [17] JY Seo, SS Lim, J Park, J, JS Lim, HJ Kim, HJ Kang, JHY Park, JS Kim. "Protection by Chrysanthemum zawadskii extract from liver damage of mice caused by carbon tetrachloride is maybe mediated by modulation of QR activity.", *Nutrition Research and Practice*, Vol. 4, No. 2, pp. 93-98, 2010.
DOI: <https://doi.org/10.4162/nrp.2010.4.2.93>
- [18] S You, J Moon. "A Study on Anti-Oxidative, Anti-Inflammatory, and Melanin Inhibitory Effects of Chrysanthemum Sibiricum Extract.", *Journal of the Korean Applied Science and Technology*, Vol. 33, No. 4, pp. 762-770. 2016.
DOI: <https://doi.org/10.12925/JKOCs.2016.33.4.762>
- [19] DR Brigstock, CL Steffen, GY Kim, RK Vegunta, JR Diehl, PA Harding. "Purification and Characterization of Novel Heparin-binding Growth Factors in Uterine Secretory Fluids identification as heparin-regulated Mr 10.000 forms of connective tissue growth factor.", *Journal of Biological Chemistry*, Vol. 272, No. 32, pp. 20275-20282, 1997.
DOI: <https://doi.org/10.1074/jbc.272.32.20275>
- [20] KH Hong, SA Yoo, SS Kang, YJ Shin, WU Kim, CS Cho. "Hypoxia Induces the Expression of Connective Tissue Growth Factor in Dermal Fibroblasts.", *The Journal of the Korean Rheumatism Association*, Vol. 11, No. 4, pp. 387-397, 2004.
- [21] E Gore-Hyer, D Shegogue, M Markiewicz, S Lo, D Hazen-Martin, EL Greene, G Grotendorst, M Trojanowska. "TGF- β and CTGF have overlapping and distinct fibrogenic effects on human renal cells.", *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, Vol. 283, No. 4, pp. F707-716, 2002.
DOI: <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00007.2002>
- [22] DM Park, DG Son, KH Han, SY Lee, YM Chae, YC Chang, KK Park. "The Effect of the Transcriptional Regulation of Sp1 for TGF- β 1 and CTGF Expression in Scar Formation.", *Archives of Plastic Surgery*, Vol. 33, No. 1, pp. 39-45, 2006.
- [23] SM Wahl, DA Hunt, LM Wakefield, N McCartney-Francis, LM Wahl, AB Roberts, MB Sporn. "Transforming growth factor type beta induces monocyte chemotaxis and growth factor production", *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, Vol. 84, No. 16, pp. 5788-5792, 1987.
DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.84.16.5788>
- [24] AB Roberts, MB Sporn, RK Assoian, JM Smith, N S Roche, LM Wakefield, UI Heine, LA Liotta, V Falanga, JH Kehr. "Transforming growth factor type : rapid induction of fibrosis and angiogenesis in vivo and stimulation of collagen formation in vitro.", *Proceedings of the National Academy of Sciences*, Vol. 83, No. 12, pp. 4167-4171, 1986.
DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.83.12.4167>
- [25] KJ Rolfe, J Richardson, C Vigor, LM Irvine, AO Grobbelaar, C Linge. "A role for TGF- β 1-induced cellular responses during wound healing of the non-scarring early human fetus?", *Journal of Investigative Dermatology*, Vol. 127, No. 11, pp. 2656-2667, 2007.
DOI: <https://doi.org/10.1038/sj.iid.5700951>
- [26] TA Mustoe, GF Pierce, A Thomason, P Gramates, MB Sporn, TF Deuel. "Accelerated healing of incisional wounds in rats induced by transforming growth factor- β .", *Science*, Vol. 237, No. 4820, pp. 1333 - 1336, 1987.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1126/science.2442813>
- [27] DL Goad, J Rubin, H Wang, AH Tashjian Jr, C Patterson. "Enhanced expression of vascular endothelial growth factor in human SaOS-2 osteoblast-like cells and murine osteoblasts induced by insulin-like growth factor I.", *Endocrinology*, Vol. 137, No. 6, pp. 2262-2268, 1996.
DOI: <https://doi.org/10.1210/endo.137.6.8641174>
- [28] CT Brighton. "Structure and function of the growth plate.", *Clinical Orthopaedics and Related Research*, Vol. 136, pp. 22-32, 1978.
- [29] DR Hodgson. "Free-ligand accelerated dissociation of insulin-like growth factor 1 (IGF-1) from the type I IGF receptor is reduced by insulin-like growth factor binding protein 3.", *Regulatory Peptides*, Vol. 90, No. 1, pp. 33-37, 2000.
DOI: [https://doi.org/10.1016/S0167-0115\(00\)00099-9](https://doi.org/10.1016/S0167-0115(00)00099-9)
- [30] RF Diegelmann, MC Evans. "Wound healing: an overview of acute, fibrotic and delayed healing.", *Front biosci*, Vol. 9, No. 1, pp. 283-289, 2004.
DOI: <https://doi.org/10.2741/1184>
- [31] JH Hong, HS Kim, HR Kim, MK Park, CH Yoon, SH

Lee, HY Kim, SH Park. "Elevated serum levels of vascular endothelial growth factor in Behcet's syndrome.", *The Journal of the Korean Rheumatism Association*, Vol. 12, No. 3, pp. 189-196, 2005.

- [32] Jr Woessner, J Frederick. "The family of matrix metalloproteinases." *Annals of the New York Academy of Sciences*, Vol. 732, No. 1, pp. 11-21, 1994.
- [33] JO Kim, CW Lee, EK Kim, SJ Lee, NH Park, HS Kim, HK Kim, KH Char, YP Jang, JW Kim. "Inhibition effect of Gynura procumbens extract on UV-B-induced matrix-metalloproteinase expression in human dermal fibroblasts.", *Journal of Ethnopharmacology*, Vol. 137, No. 1, pp. 427- 433, 2011.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2011.04.072>
- [34] T Nakagawa, T Kubota, M Kabuto, K Sato, H Kawano, T Hayakawa, Y Okada. "Production of matrix metalloproteinases and tissue inhibitor of metalloproteinases-1 by human brain tumors.", *Journal of neurosurgery*, Vol. 81, No.1, pp. 69-77, 1994.
DOI: <https://doi.org/10.3171/jns.1994.81.1.0069>
- [35] C Soo, "Differential expression of matrix metalloproteinases and their tissue-derived inhibitors in cutaneous wound repair.", *Plastic and Reconstructive Surgery*, Vol. 105, No. 2, pp. 638-647, 2000.
- [36] CM Dang, SR Beanes, H Lee, X Zhang, C Soo, K Ting. "Scarless fetal wounds are associated with an increased matrix metalloproteinase-to-tissue-derived inhibitor of metalloproteinase ratio.", *Plastic and reconstructive surgery*, Vol. 111, No. 7, pp. 2273-85, 2003.
DOI: <https://doi.org/10.1097/01.PRS.0000060102.57809.DA>
- [37] AB Wysocki, L Staiano-Coico, F Grinnell. "Wound fluid from chronic leg ulcers contains elevated levels of metalloproteinases MMP-2 and MMP-9.", *Journal of Investigative Dermatology*, Vol. 101, No. 1, pp. 64-68, 1993.
- [38] HK Kim, JS Hong, SH Kim, MK Lee, SH Kim, WS Kim. "Effect of Heparin on Expression of mRNA of MMP 1,2,9 in Adult Rat Wound.", *Archives of plastic surgery*, Vol. 34, No. 2, pp. 149-155, 2007.
- [39] SM Wojtowicz-Praga, RB Dickson, MJ Hawkins. "Matrix metalloproteinase inhibitors.", *Investigational New Drugs*, Vol. 15, No. 1, pp. 61-75, 1997.
DOI: <https://doi.org/10.1023/A:1005722729132>
- [40] H Cook, P Stephens, KJ Davies, DW Thomas, KG Harding. "Defective extracellular matrix reorganization by chronic wound fibroblasts is associated with alterations in TIMP-1, TIMP-2, and MMP-2 activity.", *Journal of Investigative Dermatology*, Vol. 115, No. 2, pp. 225-233, 2000.
DOI: <https://doi.org/10.1046/i.1523-1747.2000.00044.x>

정 규 진(Kyu-Jin Chung)

[정회원]



- 2017년 2월 : 충남대학교 약학과 (약학 박사)
- 2017년 8월 : 대전대학교 미용의학과 (보건학 박사)
- 2021년 3월 ~ 현재 : 한남대학교 문화예술대학원 향장미용학과 교수

<관심분야>

향장학, 피부과학, 대체의학