

## The Suppression of Inflammatory Cytokines Induced by *Propionibacterium acnes* Using Bacteriocin Isolated from *Lactobacillus plantarum* K-1 BR

Jin Woong Jeong<sup>1\*</sup>, Yong Hyun Jung<sup>1</sup>, Jong Sung Lee<sup>2</sup>, Seung Won Yoon<sup>2</sup>, Seung Yeon Lee<sup>2</sup>, Hong Chan Lee<sup>3</sup> and Young Geol Yoon<sup>4\*</sup>

<sup>1</sup>Research Institute for Biological Sciences, Biorhythm Co., LTD, Cheongju, Chungbuk 28116, Korea

<sup>2</sup>Bio-Center, Chungbuk Technopark, Cheongju, Chungbuk 28116, Korea

<sup>3</sup>Department of Renewable Energy Resources, Jungwon University, Goesan, Chungbuk 28024, Korea

<sup>4</sup>Department of Biomedical Science, Jungwon University, Goesan, Chungbuk 28024, Korea

Received April 8, 2016 / Revised May 9, 2016 / Accepted May 9, 2016

Acne vulgaris is a common chronic skin disorder that affects millions of people. The pathogenesis of acne has been known to be closely associated with the bacterium *Propionibacterium acnes*. Here we investigated the anti-acne activity of *Lactobacillus plantarum* K-1 BR by observing the expressions of pro-inflammatory cytokines, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  and IL-8, of human keratinocytes. When we applied heat-killed *P. acnes* to HaCaT cells, the inflammatory cytokines were induced by two- to four-fold compared to the normal control. When the bacteriocin, purified from *L. plantarum* K-1 BR, was pretreated to the HaCaT cells, the expression levels of TNF- $\alpha$  and IFN- $\gamma$  stimulated by *P. acnes* significantly decreased to 25% and 30% of the induced levels, respectively. The IL-8 levels also significantly decreased with the concentration dependent manner of the bacteriocin. These results suggest that the bacteriocin from *L. plantarum* K-1 BR could reduce the expression levels of inflammatory cytokines and thus may relieve inflammations caused by acne.

**Key words** : Anti-acne, bacteriocin, inflammatory cytokines, *Lactobacillus plantarum* K-1 BR, *Propionibacterium acnes*

### 서론

여드름 질환(acnes vulgaris)은 젊은 성인의 약 80%에서 나타나는 가장 흔한 피부 질환 중 하나이다[12]. 여드름은 특히 호르몬의 불균형, 세균 감염, 스트레스, 식품, 화장품 등 여러 가지 요인에 의해 일어난다[7]. 여드름의 발생에 있어서 가장 핵심적인 것은 사춘기에 접어들면서 피지선의 증대 및 활성화가 일어나고 피지가 과다 분비되며 각화과정의 이상이 발생하거나 각질형성세포의 이각화증 혹은 과각화증이 발생하는 것이 일차적 원인으로 작용하게 된다. 따라서 피지가 자연스럽게 분비되지 못하고 keratin 및 cell debris와 함께 모낭 내에 저류하게 되면서 여드름의 특징적인 병변인 면포가 생겨 나게 되는데 형태에 따라서는 개방면포(blackhead comedo)와 폐쇄면포(whitehead comedo)로 나누어진다[20]. 보통

혐기성 미생물인 *Propionibacterium acnes*가 염증성 여드름의 발달에 종종 관여를 하며 *P. acnes*가 증식하면 염증성 병변을 일으키게 되어 육안으로 보이는 붉거나 붉은 여드름 병변, 즉 구진, 농포, 결절 등을 만들어 내게 된다[20, 21].

김치는 우리나라 고유의 전통 발효 식품 중 하나이다. 김치의 발효에는 젖산균이 관여하게 되는데, 이 젖산균에 의한 각종 암의 억제효과와 면역증강효과 등의 영양학적 가치가 인정되면서 김치에 대한 관심이 국제적으로도 높아지고 있으며, 김치 발효에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있다[1]. 김치 발효과정에 관여하는 젖산균은 프로바이오틱스로 알려져 있으며, 그람 양성이며 통성 혐기성 세균이다. 또한 프로바이오틱스는 장내 상피세포에 부착하여 박테리오파지와 같은 항균성 단백질, 젖산, 유기산, 과산화수소 등을 합성하여 병원균을 죽이거나 병원균에 의한 독소 생산을 억제하며, 독소 수용체를 분해한다[2-4, 8, 11, 15].

발효된 김치에서 분리한 *L. plantarum* K-1은 면역세포에서의 전사인자인 NF- $\kappa$ B 및 AP-1의 활성화를 억제하여 IgE-switching cytokine인 IL-4의 발현과 염증성 사이토카인인 IL-1 $\beta$ 와 TNF- $\alpha$ 의 발현을 조절하여 항알러지 효과를 보인 연구결과가 제시된 바가 있다[10]. 그러나 현재까지 *L. plantarum* K-1의 여드름균(*P. acnes*)에 대한 억제성 효과는 아직 연구된 바가 없다. 본 연구에서는 인체 각질형성세포(keratinocytes)인 HaCaT 세포에 *P. acnes*를 처리하여 염증성 사이토카

#### \*Corresponding authors

Tel : +82-70-8777-0707, Fax : +82-31-216-7719

E-mail : myfacebuzz@naver.com (Jin Woong Jeong)

Tel : +82-43-830-8417, Fax : +82-43-830-8579

E-mail : ygmoon@jwu.ac.kr (Young Geol Yoon)

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

인의 발현을 유도하고 유도된 사이토카인이 우리가 발효된 김치에서 새로이 분리한 *L. plantarum* K-1 BR 균주에서 생성되는 박테리오신에 의해서 억제되는지를 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 균주와 배지

본 연구에 사용된 유산균주는 (주)바이오리듬에서 분리 동정한 *L. plantarum* K-1 BR을 MRS broth (Difco, USA)를 이용하여 배양하였다. *P. acnes* (KTCC 3318)는 brain heart infusion broth (Difco, USA)를 이용하여 37°C 혐기조건에서 배양하였다. 배양한 여드름균을 1,800× g에서 5분간 원심 분리한 후 PBS (pH 7.4)로 두 번 세척하였다. 세척한 여드름균을 PBS에 다시 풀은 후 80°C에서 30분간 가열하여 열처리한 여드름균을 제조하였다[16]. Human keratinocyte (HaCaT) 세포는 37°C의 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 10% fetal bovine serum (FBS)와 1% antibiotics가 포함된 DMEM 배지를 사용하여 배양하였다.

### 조항균성 물질의 제조

*L. plantarum* K-1 BR이 생산하는 박테리오신을 정제하기 위하여 유산균을 37°C에서 18시간 동안 500 ml의 MRS 액체 배지에서 배양하였다. 배양액을 4°C에서 원심분리(15,000 rpm, 20 min)한 뒤, 배양 상등액을 취하여 막여과 필터(0.22 μm) (Dismic Advantec, USA)를 이용하여 재차 제균하였다. 제균한 상등액에 차가운 아세톤을 1:3 비율로 혼합한 후 -20°C에서 2시간 동안 침전시켰다. 그런 후 이 혼합물을 4°C에서 다시 원심분리(15,000 rpm, 20 min)한 후, 65°C에서 건조시켰다. 시료를 -70°C에 보관하면서 필요할 때마다 2차 증류수에 용해하여 실험의 시료로 사용하였다.

### 세포독성 측정

시료의 세포독성을 확인하기 위하여 세포생존율을 측정하였다. 실험 전에 96-well plate에 1×10<sup>4</sup> cells/well의 세포를 분주하여 배양한 후 다음 날 시료를 농도 별로 처리하였다. 24시간 동안 재배양한 후 cell counting kit-8 (CCK-8) (Dojin-do, USA)을 사용하여 매뉴얼에 명시되어 있는 방법으로 다양한 농도의 시료를 각각의 well에 넣어주고 2시간 동안 5% CO<sub>2</sub>가 포함된 37°C incubator에서 반응시킨 후, microplate reader로 450 nm의 파장에서 CCK-8의 활성을 측정하였고 세포생존율은 평균±표준편차로 나타내었다.

### 여드름균에 의한 염증성 사이토카인의 유도

HaCaT 세포를 5×10<sup>4</sup> cells/well의 양으로 24-well plate에서 배양하였다. 24시간 후에 serum-free medium으로 배지를 교체하고 열처리한 *P. acnes*를 각각 1×10<sup>5</sup>, 1×10<sup>6</sup> 그리고 1×10<sup>7</sup>

CFU/ml를 처리한 후 다시 24시간 동안 배양하여 염증성 사이토카인의 발현을 유도하였다. 그런 후 배양 배지를 따로 모아 사이토카인 ELISA kit (R&D systems, USA)의 매뉴얼에 명시되어 있는 방법에 따라 TNF-α, IFN-γ 그리고 IL-8의 발현량을 측정하였다.

### 조항균성 물질에 의한 염증성 사이토카인의 억제

24-well plate에서 5×10<sup>4</sup> cells/well의 농도로 HaCaT 세포를 배양하였다. 24시간 후에 serum-free medium으로 배지를 교체하고 조항균성 물질 시료를 세포독성이 없는 농도인 0.01, 0.1 그리고 1 mg/ml의 농도로 각각 30분간 전처리한 후에 *P. acnes*를 1×10<sup>7</sup> CFU/ml로 처리하여 24시간 동안 배양하였다. 그런 후 배양 배지를 모아 TNF-α, IFN-γ 그리고 IL-8의 발현량을 사이토카인 ELISA kit를 이용하여 측정하였다.

### 통계처리

모든 데이터는 평균(mean)±표준편차(standard deviation, SD)로 나타내었으며 SPSS program (ver.12.0) (SPSS Inc, USA)을 이용하여 통계해석을 하였다. One-way analysis of variation (ANOVA)를 실시하여 유의성이 관찰되면 대조군과 유의차가 있는 실험군을 확인하기 위해 Dunnett's t-test 다중검정(p<0.05)을 실시하였다.

## 결과 및 고찰

### 박테리오신의 세포독성 분석

조항균성 물질인 박테리오신의 세포독성을 확인하기 위하여 각질세포 유래의 HaCaT 세포를 이용하여 세포생존율을 분석하였다. 박테리오신은 멸균된 증류수에 희석하여 필터(0.22 μm)를 이용하여 정제하였으며 10배의 비율로 순차적으로 희석하여 세포에 처리하였다. 멸균 증류수를 사용한 음성 대조군을 포함하여 처리한 모든 박테리오신 희석액의 양은 동일하게 사용하였다. 결과적으로 박테리오신을 1 mg/ml까지 처리하였을 때 90% 이상의 세포생존율을 보였고 10 mg/ml 처리 농도에서부터 세포 생존률이 80% 이하로 떨어지며 세포 독성을 보이기 시작하였다(Fig. 1). 이 실험을 통해서 박테리오신의 농도가 1 mg/ml 이하일 때는 세포독성이 나타나지 않는다는 것을 알 수 있었으며 따라서 향후의 실험에서 박테리오신의 농도는 1 mg/ml 이하를 사용하였다.

### 여드름균에 의한 염증성 사이토카인의 유도

여드름균 처리에 의해 염증성 사이토카인이 유도되는지를 확인하기 위해 세가지 사이토카인인 TNF-α, IFN-γ 그리고 IL-8의 발현량 변화를 조사하였다(Fig. 2). HaCaT 세포에 열처리한 여드름균을 농도별로 처리하고 24시간 후에 사이토카인 변화량을 측정된 결과, TNF-α의 경우 정상군(Normal con-

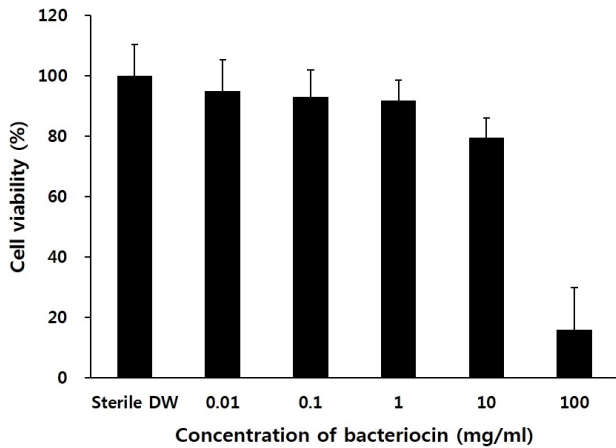


Fig. 1. Cell viability assays. Several different concentrations of bacteriocin that was isolated from *L. plantarum* K-1 BR were applied to HaCaT cells and then the viability of the cells was measured. Until the concentration of bacteriocin reached 1 mg/ml, the viability of the cells was maintained above 90% whereas the viability was decreased below 80% when the bacteriocin was treated with the concentration of 10 and 100 mg/ml. DW, distilled water.

tol, NC)의 발현량이 6.91±1.17 pg/ml이었지만 여드름균 1×10<sup>5</sup>, 1×10<sup>6</sup> 그리고 1×10<sup>7</sup> CFU/ml를 처리한 세포에서의 발현량은 각각 9.79±0.86, 11.37±2.42, 그리고 16.63±0.73 pg/ml로 여드름균의 농도가 높아질수록 TNF-α의 발현량도 증가하였다(Fig. 2A). IFN-γ의 발현량은 정상군(NC)이 37.12±1.83 pg/ml인 반면, 여드름균을 1×10<sup>5</sup>, 1×10<sup>6</sup> 그리고 1×10<sup>7</sup> CFU/ml의 농도별로 처리한 세포군에서는 각각 39.41±5.45, 49.71±12.37, 그리고 64.51±5.97 pg/ml로서, 여드름균을 1×10<sup>7</sup> CFU/ml로 처리했을 때 IFN-γ의 발현량은 정상군의 두 배 정도 증가하였다(Fig. 2B). 마지막으로 IL-8의 경우 182.21±16.80 pg/ml이었던 정상군(NC)의 발현량이 여드름균을 1×10<sup>7</sup> CFU/ml 처리하였을 때 910.06±26.70 pg/ml으로 네 배 정도 증가하였다(Fig. 2C). 이와 같은 결과로부터 우리는 여드름균의 처리에

의해 HaCaT 세포에서 염증성 반응이 유도되고 있음을 확인할 수 있었다.

**박테리오신에 의한 여드름균 유도 염증성 사이토카인의 억제 효과**

여드름균 처리에 의해 증가되었던 염증성 사이토카인의 발현량이 박테리오신을 함께 처리한 세포에서는 어떠한 변화를 보이는지에 대해 테스트하였다(Fig. 3). 여드름균의 처리 농도는 1×10<sup>7</sup> CFU/ml로 하였고, 박테리오신의 농도는 세포 독성실험 결과로서 독성이 나타나지 않은 농도인 0.01, 0.1 그리고 1 mg/ml의 세가지 농도로 결정하여 분석하였다. 결과에서 보듯이 TNF-α의 발현량은 여드름균 처리군(*P. acnes*, PA)에서 16.20±1.78 pg/ml로 정상군(NC)의 7.14±2.21 pg/ml보다 두 배 이상 증가하였고, 박테리오신 0.01, 0.1 그리고 1 mg/ml를 함께 처리한 세포군에서는 각각 13.95±0.76, 12.21±0.39, 11.90±0.85 pg/ml로 박테리오신의 농도가 점점 높아질수록 TNF-α의 발현량이 농도 의존적으로 감소하였다(Fig. 3A). IFN-γ 경우, 염증 유발균 즉 여드름균 처리군(PA)에서 73.88±9.76 pg/ml로 정상군(NC)의 37.26±0.86 pg/ml과 비교하여 두 배 정도 증가하였고, 박테리오신을 0.01 mg/ml로 처리한 세포군에서는 74.85±8.39 pg/ml로서 염증 유발균과 별 차이를 보이지 않았다. 그러나 박테리오신을 0.1 그리고 1 mg/ml를 처리한 세포군에서는 각각 60.60±8.69 pg/ml과 51.88±6.98 pg/ml의 농도로 감소하였다(Fig. 3B). 마지막으로 IL-8의 발현량은 염증 유발균에서 968.53±21.79 pg/ml로 정상군의 241.30±50.70 pg/ml에 비해 네 배 정도 증가하였고 박테리오신을 0.01과 0.1 mg/ml을 처리한 세포군에서 각각 904.16±17.67, 871.58±43.11 pg/ml의 농도로 IL-8의 발현량은 감소하는 경향을 보였으며 특히 1 mg/ml의 처리군에서의 IL-8의 발현량은 769.92±26.56 pg/ml로서 IL-8의 발현을 유의적으로 억제하는 효과를 보였다(Fig. 3C). 이와 같은 결과는 여드름균의 처리에 의해 HaCaT 세포에서 유도된 염증성 반응이 *L. plantarum* K-1 BR로부터 유래한 박테리오신의 처리

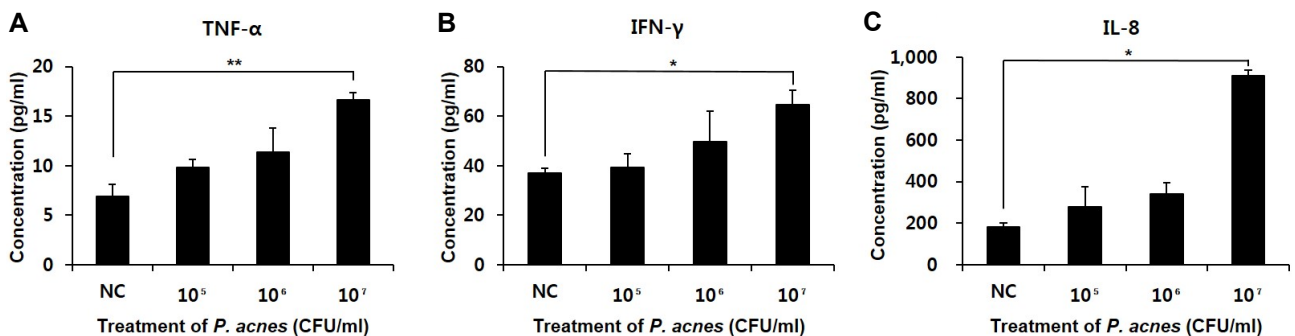


Fig. 2. Expression of the inflammatory cytokines from HaCaT cells that were treated with *P. acnes*. (A-C) TNF-α, IFN-γ and IL-8 expression in HaCaT cells that were treated with 1×10<sup>5</sup>, 1×10<sup>6</sup> and 1×10<sup>7</sup> CFU/ml of *P. acnes*, respectively. Significant difference from normal control (NC) group by Dunnett's t-test (\* p<0.05 and \*\* p<0.01).

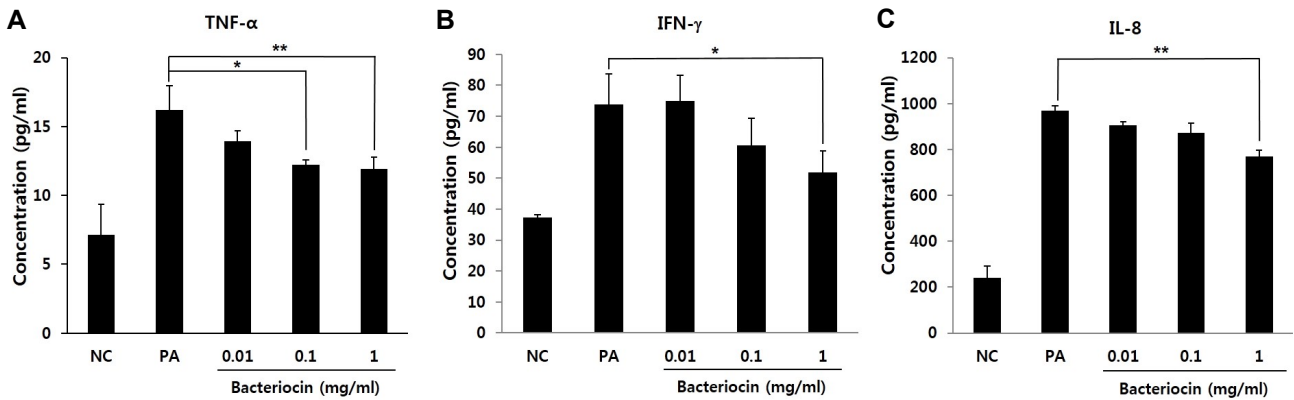


Fig. 3. Suppression of expression of the inflammatory cytokines by bacteriocin isolated from *L. plantarum* K-1 BR. (A-C) TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  and IL-8 expression in HaCaT cells with the treatment of *P. acnes* ( $1 \times 10^7$  CFU/ml) and three different concentrations (0.01, 0.1 and 1 mg/ml) of bacteriocin, respectively. Significant difference from *P. acnes*-treated (PA) group by Dunnett's t-test (\*  $p < 0.05$  and \*\*  $p < 0.01$ ). NC, normal control.

에 의해 억제될 수 있음을 의미한다.

각질형성세포는 표피세포의 대부분을 구성하고 피부 면역계 방어 선두에 있는 세포로서 다양한 종류의 염증성 사이토카인과 케모카인을 생산하여 염증반응과 면역반응에 관여한다[6]. 특히 *P. acnes*는 각질형성세포에서 IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-8과 같은 사이토카인 및 케모카인의 분비를 촉진시킨다고 알려져 있다[13, 16, 18, 19]. IFN- $\gamma$ 는 선천적 면역 반응 (innate immune response)의 사이토카인으로서 피부에 바이러스와 같은 침입자가 감염될 때 발현되어 각질형성세포의 분화를 억제함으로써 감염된 바이러스의 성장을 방해하는 기작이 있으며 또한 pro-inflammatory 사이토카인인 TNF- $\alpha$ 의 발현을 유도하여 각질형성세포에서 apoptosis 반응을 유발하는 인자로 보고되었다[5, 14]. *P. acnes* 등의 박테리아에서 유래한 세포벽 구성분인 당지질도 또한 TNF- $\alpha$ 의 생산을 촉진하여 염증성 반응을 일으키는 것으로 보고되었다[19].

Lipopolysaccharide와 peptidoglycan 등의 박테리아 세포벽의 주요 구성분은 병원균 관련 분자 패턴(pathogen-associated molecular patterns, PAMPs)으로 알려져 있으며 이들은 Toll-like receptor (TLR)와 같은 수용체에 결합함으로써 면역 및 염증반응을 유도할 수 있다고 보고되었다[9, 19]. 사람의 각질형성세포와 피지선세포에서 TLR2와 TLR4가 발현됨은 잘 알려져 있으며 *P. acnes*에서 유래한 PAMPs가 TLR로 전달되면서 세포 내 신호전달체계를 활성화시켜 IL-8을 비롯하여 IL-1 $\beta$ 와 TNF- $\alpha$  등 여러 염증 관련 사이토카인의 생성을 유도한다[9]. 최근의 보고에서도 *P. acnes*를 처리한 각질형성세포에서 TLR2와 TLR4의 발현이 증진되었으며 이로 인해 IL-8의 발현과 분비가 증가하였고 여기에 *Enterococcus faecalis*에서 유래한 박테리옌인 CBT-SL5를 처리하였을 때 IL-8의 발현을 억제할 수 있음을 확인하였다[16]. 또한 Kim 등도 *P. acnes*를 인체각질형성세포에 처리하였을 때 IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  그리고 IL-8의 발현이 증가됨을 확인하였고 여기에 봉독을 투여

하였을 때 IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-8의 발현량이 감소함을 보고하였다[13]. 이와 같은 연구결과들은 우리가 본 논문에서 제시한 결과와도 매우 잘 일치하고 있다. 즉, Fig. 2에 제시된 바와 같이 각질형성세포에 *P. acnes*를 처리하였을 때, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  그리고 IL-8의 발현은 정상군과 비교하여 유의적으로 증가하였으며 Fig. 3에서 보듯이 *L. plantarum* K-1 BR에서 분리한 박테리옌을 처리했을 때 IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-8 각각의 발현량이 박테리옌의 농도가 증가함에 따라 농도 의존적으로 감소하고 있음을 알 수 있었다.

본 실험을 통해 우리는 김치유산균인 *L. plantarum* K-1 BR에서 분리한 박테리옌이 여드름균에 의해 유발되는 세가지 염증성 사이토카인의 발현을 억제할 수 있음을 확인하였다. 인간의 각질세포인 HaCaT 세포에 열처리한 여드름균인 *P. acnes*를 농도별로 처리하여 염증반응을 유발하였고, *L. plantarum* K-1 BR에서 분리한 박테리옌이 세포독성을 일으키지 않는 농도를 결정하여 박테리옌을 여드름균과 함께 처리한 후 염증성 사이토카인인 TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , 그리고 IL-8의 발현량의 변화를 측정하였다. 결과적으로 박테리옌은 TNF- $\alpha$ 와 IFN- $\gamma$  및 IL-8의 발현량을 약 20~30% 정도 감소시켜 염증성 사이토카인의 발현을 억제하는 효과가 있는 것으로 나타났다. 즉, 열처리한 여드름균을  $1 \times 10^7$  CFU/ml의 양으로 각질세포에 처리하였을 때 사이토카인의 발현량이 증가하여 염증이 유발되었음을 확인할 수 있었고 박테리옌을 30분 전처리하였을 때 TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-8의 발현량 모두 농도 의존적으로 감소하는 경향을 보여 *L. plantarum* K-1 BR에서 분리한 박테리옌이 각질형성세포에서 항염증 효과를 보이고 있음을 확인할 수 있었다.

### 감사의 글

본 연구는 2015학년도 중원대학교 교내연구비 지원에 의

해 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

## References

- Ahn, S. C., Kim, T. K., Lee, H. J., Oh, Y. J., Lee, J. S., Kang, D. U., Oh, W. K., Mheen, T. I. and Ahn, J. S. 2001. Fermentation patterns of leek kimchi and chinese cabbage kimchi. *Kor. J. Microbiol.* **37**, 234-238.
- Savadogo, A., Ouattara, C. A. T., Bassole, I. H. N. and Traore, A. S. 2004. Antimicrobial activities of lactic acid bacteria strains isolated from burkina faso fermentated milk. *Pakistan J. Nutri.* **3**, 174-179
- Bae, S. S. and Ahn, C. 1997. Antibiosis and bacteriocin production of lactic acid bacteria isolated from Kimchi. *J. Food Sci. Nutr.* **2**, 109-120.
- Baek, Y. J. and Bae, H. S. 1988. Growth inhibition of enteropathogenic *Escherichia coli* A2 and *Escherichia coli* G7 by the organic acid producing bacteria. *Kor. J. Appl. Microbiol. Bioeng.* **16**, 111-118.
- Banno, T., Adachi, M., Mukkamala, L. and Blumenberg, M. 2003. Unique keratinocyte-specific effects of interferon-gamma that protect skin from viruses, identified using transcriptional profiling. *Antivir. Ther.* **8**, 541-554.
- Beissert, S., Cavazzana, I., Mascia, F., Meroni, P., Pastore, S., Tessari, G. and Girolomoni, G. 2006. Mechanisms of immune-mediated skin diseases: an overview. *Clin. Exp. Rheumatol.* **24**, S1-S6.
- Burkhardt, C. G., Burkhardt, C. N. and Lehmann, P. F. 1999. Acne: a review of immunologic and microbiologic factors. *Postgrad. Med. J.* **75**, 328-331.
- Cho, J. S., Jung, S. J., Kim, Y. M. and Chun, U. H. 1994. Detection of the bacteriocin from lactic acid bacteria involved in Kimchi fermentation. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **22**, 700-706.
- Grange, P. A., Weill, B., Dupin, N. and Batteux, F. 2010. Does inflammatory acne result from imbalance in the keratinocyte innate immune response? *Microbes Infect.* **12**, 1085-1090.
- Jang, S. E., Han, M. J., Trinh, H. T., Chung, Y. H. and Kim, D. H. 2011. Inhibitory Effect of *Lactobacillus plantarum* K-1 on passive cutaneous anaphylaxis reaction and scratching behavior in mice. *Arch. Pharm. Res.* **34**, 2117-2123.
- Johansson, M. L., Molin, G., Jeppsson, B., Nobaek, S., Ahrne, S. and Bengtmark, S. 1993. Administration of different *Lactobacillus* strains in fermented oatmeal soup: *in vivo* colonization of human intestinal mucosa and effect on the indigenous flora. *Appl. Environ. Microbiol.* **59**, 15-20.
- Johnson, M. L., Johnson, K. G. and Engel, A. 1984. Prevalence, morbidity, and cost of dermatological diseases. *J. Am. Acad. Dermatol.* **11**, 930-936.
- Kim, J. Y., Lee, W. R., Kim, K. H., An, H. J., Chang, Y. C., Han, S. M., Park, Y. Y., Pak, S. C., and Park, K. K. 2015. Effects of bee venom against *Propionibacterium acnes*-induced inflammation in human keratinocytes and monocytes. *Int. J. Mol. Med.* **35**, 1651-1656.
- Konur, A., Schulz, U., Eissner, G., Andreesen, R. and Holler, E. 2005. Interferon (IFN)- $\gamma$  is a main mediator of keratinocyte (HaCaT) apoptosis and contributes to autocrine IFN- $\gamma$  and tumour necrosis factor- $\alpha$  production. *Br. J. Dermatol.* **152**, 1134-1142.
- Lee, C. W., Ko, C. Y. and Ha, D. M. 1992. Microfloral changes of the lactic acid bacteria during Kimchi fermentation and identification of the isolates. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **20**, 102-109.
- Lee, Y. J., Choi, H. J., Kang, T. W., Kim, H. O., Chung, M. J. and Park, Y. M. 2008. CBT-SL5, a bacteriocin from *Enterococcus faecalis*, suppresses the expression of interleukin-8 induced by *Propionibacterium acnes* in cultured human keratinocytes. *J. Microbiol. Biotechnol.* **18**, 1308-1316.
- Leeming, J. P., Holland, K. T. and Cunliffe, W. J. 1985. The pathological and ecological significance of microorganisms colonizing acne vulgaris comedones. *J. Med. Microbiol.* **20**, 11-16.
- Lyte, P., Sur, R., Nigam, A. and Southall, M. D. 2009. Heat-killed *Propionibacterium acnes* is capable of inducing inflammatory responses in skin. *Exp. Dermatol.* **18**, 1070-1072.
- Marta Guarna, M., Coulson, R. and Rubinchik, E. 2006. Anti-inflammatory activity of cationic peptides: application to the treatment of acne vulgaris. *FEMS Microbiol. Lett.* **257**, 1-6.
- Suh, D. H. 2010. Pharmacologic treatment of acne. *J. Kor. Med. Assoc.* **53**, 623-629.
- Webster, G. F., Leyden, J. J., Tsai, C. C., Baehni, P. and McArthur, W. P. 1980. Polymorphonuclear leukocyte lysosomal release in response to *Propionibacterium acnes* *in vitro* and its enhancement by sera from inflammatory acne patients. *J. Invest. Dermatol.* **74**, 398-401.

## 초록 : *Lacotbacillus plantarum* K-1 BR 유래 박테리오신의 여드름균에 의한 염증성 사이토카인 억제 효과

정진웅<sup>1\*</sup> · 정용현<sup>1</sup> · 이종성<sup>2</sup> · 윤승원<sup>2</sup> · 이승연<sup>2</sup> · 이홍찬<sup>3</sup> · 윤영걸<sup>4\*</sup>

(<sup>1</sup>㈜바이오리듬 생명공학연구소, <sup>2</sup>충북테크노파크 바이오센터, <sup>3</sup>중원대학교 신재생에너지공학과, <sup>4</sup>중원대학교 의생명과학과)

본 실험은 유산균 유래의 박테리오신이 여드름균에 의한 염증성 사이토카인의 발현을 억제하는 효능을 가지는지를 확인하기 위해 수행되었다. 본 실험을 위해 인간의 각질형성세포인 HaCaT 세포에 열처리한 여드름균인 *P. acnes*을 농도별로 처리하여 염증성 사이토카인인 TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-8의 발현을 유도하였고, 여드름균과 박테리오신을 HaCaT 세포에 함께 처리하여 여드름균에 의해 증가된 사이토카인의 양이 박테리오신에 의해 어떻게 변화하는지를 확인하였다. *P. acnes* 균을  $1 \times 10^5$ ,  $1 \times 10^6$  그리고  $1 \times 10^7$  CFU/ml와 같이 농도별로 처리한 결과, 사이토카인의 발현량이 농도 의존적으로 증가하였는데 TNF- $\alpha$ 와 IFN- $\gamma$ 의 발현량은 여드름균을  $1 \times 10^7$  CFU/ml로 처리했을 때 두 배 이상 증가하였고 IL-8의 발현량은 네 배 이상 증가하였다. 그러나 여드름균에 의해 증가되었던 TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  그리고 IL-8의 발현량은 박테리오신을 처리하였을 때 농도 의존적으로 유의하게 감소하였다. 이상의 결과로 보아 김치유산균인 *L. plantarum* K-1 BR 균주에서 분리한 박테리오신은 여드름균에 의한 염증유발을 완화시키는 효과가 있다고 할 수 있다.