



The protective effect of berberine on *Propionibacterium acnes*-induced inflammatory response in human monocytes

Hyun Pyo Kim¹ · Young Geol Yoon¹

여드름균에 의해 염증 반응이 유도된 인간 단핵구 세포에서 알칼로이드 화합물 berberine의 항염증 효과

김현표¹ · 윤영걸¹

Received: 11 April 2018 / Accepted: 23 May 2018 / Published Online: 30 June 2018
© The Korean Society for Applied Biological Chemistry 2018

Abstract In this study, we investigated the anti-inflammatory activity of berberine using human monocytes. Infection of *Propionibacterium acnes* induced the production of nitric oxide (NO) and the pro-inflammatory cytokines such as, TNF- α , IL-8 and IL-1 β in THP-1 monocytic cells. However, when berberine was supplemented in these *P. acnes*-induced THP-1 cells, the production of pro-inflammatory cytokines and NO was significantly reduced. We also analyzed signaling pathways of the anti-inflammatory function of berberine and found that berberine suppressed the phosphorylation of ERK1/2, JNK and p38 and the expression and nuclear translocation of NF- κ B p65 in the *P. acnes*-induced cells. From these results, we concluded that berberine can effectively exert the anti-inflammatory activity via suppressing the NF- κ B and mitogen-activated protein kinases signaling pathways in human monocytes. Moreover, these results suggest the feasibility of developing natural therapeutics using berberine for the treatment of *P. acnes*-induced inflammatory diseases.

Keywords Berberine · Inflammation · Monocytes · Pro-inflammatory

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

¹Department of Biomedical Science, Jungwon University, 85 Munmu-ro, Goesan-eup, Goesan-gun, Chungbuk 367-700, Republic of Korea

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.

cytokines · *Propionibacterium acnes*

서론

여드름(acne vulgaris)은 모공의 막힘이나 염증으로 인해 나타나는 매우 흔한 만성 피부 질환으로 전 세계의 6억6천만명 정도의 인구가 영향을 받는 세계에서 8번째로 가장 흔한 질병이며 심한 경우 환자의 삶의 질에 큰 영향을 미칠 수 있는 인체 질환 중 하나이다[1,2]. 여드름은 특히 호르몬의 불균형, 세균감염, 스트레스, 식품, 화장품 등 여러가지 요인에 의해 일어나며 과거에는 주로 사춘기 남녀에게 주로 발생하였으나, 환경오염, 약물남용 등으로 인하여 근래에는 나이와 상관없이 여드름이 나타나는 연령층이 넓어지고 있다[3]. 여드름 질환의 주요 원인은 모낭에서 여드름균인 *Propionibacterium acnes*가 콜로니를 형성하여 증식함으로써 세포의 면역계를 활성화하고 염증성 캐스케이드를 유발하는 것으로 궁극적으로는 염증성 병변을 일으켜 육안으로 보이는 붉거나 붉은 여드름 병변, 즉 구진, 농포, 결절 등을 만들어 내게 된다[4]. 따라서, 현재 *P. acnes*는 여드름 치료의 중심 표적으로 인식되고 있으며 *P. acnes*에 의해 유도된 염증을 억제하는 것이 여드름을 치료하기 위한 중요 전략이 되고 있다[5].

*P. acnes*는 그람 양성 혐기성 세균으로 각질세포와 접촉되어 있는 모낭과 피지선 주위에 있는 세포에 주로 존재한다[6]. *P. acnes*는 각질형성세포의 분화를 조절하고 국소적인 염증반응을 증가시켜 염증성 여드름 병변의 발생에 중요한 역할을 하며 여드름의 초기 단계에 미세면포(microcomedo)를 형성하여 피지가 피부 표면으로 방출되는 것을 방해하기도 한다[5]. 염증 자

극제로서 *P. acnes*는 다양한 세포에서 tumor necrosis factor (TNF)- α , interleukin (IL)-8, 그리고 IL-1 β 등의 전염증성 사이토카인의 분비를 유도하는 것으로 알려져 있다[7]. *P. acnes*에 의해 유도되는 염증반응은 toll-like receptor (TLR)인 TLR2와 TLR4에 의해 매개되며 이 TLR들과 *P. acnes*의 상호작용에 의해 염증경로가 활성화되어 염증성 사이토카인 및 케모카인 등 다양한 염증중재자를 분비하고 피부자극을 유발하는 것으로 보고되었다[8,9]. TLR2 수용체를 통한 염증반응의 활성화는 주로 mitogen-activated protein kinases (MAPKs) 신호 경로와 nuclear factor (NF)- κ B 신호 경로에 의해 수행되며 이 두 가지 경로를 통해 염증성 피부질환과 관련된 중요 염증관련 유전자의 발현이 조절되는 것으로 알려졌다[10].

Berberine은 황련(*Coptis chinensis*)과 황백(*Phellodendri cortex*)의 주성분인 알칼로이드 물질로서 항염증 활성 등 다양한 약리학적 효능을 가지고 있다[11]. 특히 berberine은 강한 항염증 활성을 지니고 있는데 그 기작으로는 MAPK 신호 전달과 세포질 내 활성 산소종의 생산을 억제함으로써 전염증성 반응을 저해하는 것으로 알려져 있다. 또한 berberine은 다양한 종류의 암세포의 성장을 억제하고, 종양 세포의 세포 자멸을 촉진하며, 종양 세포의 분화를 유도하고, 종양 세포의 전이를 억제하며 미토콘드리아 막 전위를 변화시키고 Bcl-2 계열 단백질의 발현을 조절하는 등 몇몇 세포 신호전달 경로를 억제하는 활성을 지니고 있다[11]. 특히 berberine은 염증과 암 발생 사이에 중요한 역할을 하는 전사인자인 activator protein-1과 NF- κ B의 결합을 방해함으로써 염증반응을 억제한다는 결과도 보고되었다[11, 12]. 더불어 최근에 보고된 바로는 berberine이 활성산소종의 억제와 TIMP-1 및 TIMP-2의 발현 조절에 의한 MMP-2와 MMP-9의 감소로 항산화 및 항주름에 효과가 있는 것으로 밝혀졌다[13].

비록 berberine의 다양한 생물학적 효능이 많은 세포를 대상으로 연구되었으나 여드름의 원인균인 *P. acnes*의 감염에 의해 유발되는 염증반응에 대한 berberine의 항염증 활성은 아직 포괄적으로 연구되지 못했다. 따라서 본 연구에서는 인간 단핵구 세포(human leukemia monocytic cell)인 THP-1 세포에 여드름균인 *P. acnes*를 처리하여 염증반응을 유도하고 여기에 berberine을 처리했을 때 염증 매개체 및 염증성 사이토카인의 생성 억제 효과를 조사하였다. 또한 *P. acnes*의 자극에 의한 염증반응에서 berberine에 의한 염증 보호 메커니즘을 분석하였다.

재료 및 방법

시약 및 항체

3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT), Griess reagent 및 berberine chloride (PHR1502)는 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)에서 구입하였다. 항체는 Abcam (Cambridge, MA, USA) 및 Cell Signaling Technology (Danvers, MA, USA)에서 구입하였다.

세포배양 및 세포독성 측정

*P. acnes*는 한국생물자원센터에서 분양받아 BBL Gas-Pak 시스템 (Becton Dickinson Microbiology Systems, Cockeysville,

MD, USA)을 이용하여 구축한 혐기성 조건 하에서 reinforced clostridial medium (Difco, Detroit, MI, USA)을 사용하여 배양하였다. 인간 THP-1 단핵구 세포는 미국생물자원센터 (American Type Culture Collection, ATCC) (Manassas, VA, USA)에서 구매하여 RPMI1640 배지에 10% inactivated fetal bovine serum (HyClone Laboratories, Logan, UT, USA)과 1% penicillin/streptomycin을 첨가하여 37°C, 5% CO₂ 조건의 배양기에서 배양하였다. Berberine chloride의 세포독성은 MTT assay 방법으로 측정하였다[14,15].

Western blot analysis

THP-1 세포를 12-well plate에 1×10^6 cells/well로 접종하고 37°C의 5% CO₂ incubator에서 20시간 전 배양하였다. 이 세포에 berberine을 2시간 동안 전처리한 후, 열처리한 *P. acnes*를 50 μ g/mL의 농도로 24시간 동안 처리하였다. PBS lysis buffer를 이용하여 전체 세포 단백질을 추출한 후 SDS-PAGE를 이용하여 단백질을 분리하였다. PVDF membrane에 단백질을 옮긴 후 tris-buffered saline tween-20 (TBST)에 용해된 5% skim milk에 1시간 동안 실온에서 blocking하였다. Primary antibody (Cell Signaling Technology)를 4°C에서 overnight 동안 반응한 후 TBST로 10분간 3회 세척하고 HRP-conjugated secondary antibody (Cell Signaling Technology)로 1시간 동안 실온에서 반응하였다. 단백질 밴드는 ECL kit (Biosesang, Gyeonggi, Korea)로 발광시키고 ChemiDoc (Bio-rad, Hercules, CA, USA)을 이용해 확인하였다[14].

Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

THP-1 세포의 배양 및 berberine과 *P. acnes*의 처리는 Western blot analysis와 같은 방법으로 수행하였다. 세포 배양 후 상층액을 이용하여 ELISA 분석을 수행하였다. Capture antibody (TNF- α , IL-8, IL-1 β)를 $1 \times$ PBS에 1/200로 희석한 뒤 96-well plate에 각각 200 μ L씩 분주하여 넣고 12시간 동안 4°C에서 반응하였다. 반응 후 1% BSA를 포함하는 $1 \times$ PBS 용액을 넣어준 후, 상온에서 1시간 동안 blocking 하였다. 이 후의 실험 방법은 ELISA kit (BioLegend, San Diego, CA, USA)에 제시되어 있는 방법을 따라 수행하였다. 이 후 microplate reader (Bio-Rad)를 이용하여 450 nm와 540 nm에서 흡광도를 측정하였다 [16,17].

Immunofluorescence

*P. acnes*균으로 자극된 THP-1 세포에 berberine을 처리한 후 4% paraformaldehyde로 15분간 고정하였다. 0.25% Triton X-100으로 15분간 처리한 후 세포를 primary antibody (NF- κ B p65) (Cell Signaling Technology)로 4°C에서 overnight으로 반응하였다. 이 후 세포를 PBS로 3회 세척하고 biotin conjugated secondary antibodies (Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA)로 반응시키고 다시 Cy2-streptavidin (GE Healthcare, Pittsburgh, PA, USA)로 overnight으로 반응하였다. Hoechst 33258 (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)로 5분 동안 핵을 염색하였다. 그런 후 형광현미경으로 세포의 형태를 관찰하였다 [18].

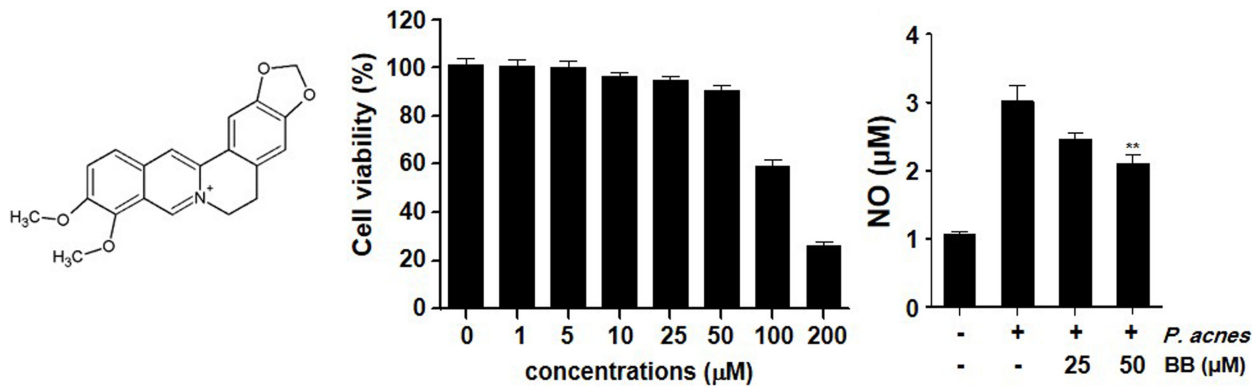


Fig. 1 *In vitro* cytotoxicity of berberine and effect on the *P. acnes*-stimulated production of nitric oxide (NO). (A) Structure of berberine. (B) Viability of THP-1 cells with the treatment of berberine. Berberine was treated with the indicated concentrations (0, 1, 5, 10, 25, 50, 100 and 200 μM) for 24 h. Cell viability was assayed using the tetrazolium MTT method. Data represent the mean ± SD of three independent experiments. (C) NO production assay. THP-1 cells that were pre-treated with berberine (BB) (25 and 50 μM) were incubated with the heat-killed *P. acnes* (50 μg/mL) for 24 h. NO production was measured with Griess reagent. Results were obtained with three independent experiments. ***p* < 0.01 compared with the heat-killed *P. acnes* treated cells

통계분석

모든 실험은 3회 반복하여 실시하였고 평균±표준편차로 나타냈다. 실험 결과 분석은 Graph pad Prism 5.0 프로그램 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA)을 통해 진행하였다. 각 군 간의 비교를 위해 one way analysis of variance를 실시하였으며, Tukey’s multiple comparison test를 이용하여 대조군과 실험군 사이의 유의성을 *p* < 0.05 수준에서 분석하였다 (**p* < 0.05; ***p* < 0.01; ****p* < 0.001).

결과 및 고찰

Berberine의 세포독성

다양한 농도(1, 5, 10, 25, 50, 100, 200 μM)의 berberine을 THP-1 세포에 24시간 동안 처리한 후 MTT 분석을 통하여 berberine의 세포독성을 테스트하였다(Figs. 1A, B). 1과 5 μM 농도의 berberine을 처리했을 때는 세포독성이 나타나지 않았고, 10-50 μM 사이의 농도에서는 최소의 세포독성이 나타났다(Fig. 1B). 그러나, 100 및 200 μM 수준의 고농도를 처리하였을 때는 명백한 세포독성을 보여주었다. 이러한 결과로부터 우리는 THP-1 단핵구 세포에서 *P. acnes*에 의한 염증반응을 억제하는 berberine의 항염증 활성을 측정할 때 비교적 낮은 세포독성을 나타내는 25 및 50 μM의 농도의 berberine을 사용하기로 결정하였다.

***P. acnes* 처리로 인한 nitric oxide의 생성과 berberine의 영향**

Nitric oxide (NO)는 lipopolysaccharide, lipoteichoic acid 그리고 peptidoglycan과 같은 염증성 자극에 의해 유도되는 세포 내 염증 매개 물질로서 inducible NO synthase의 활성화를 통해 생성된다[19]. NO는 염증의 발병 기전에서 핵심적인 역할을 하는 신호 분자이며 세포가 비정상적인 상황에 놓일 때 과발현되기 때문에 전 염증성 매개체로서 인식되고 있다[20]. 생성된 NO는 과산화물 라디칼과 반응하여 과산화수소 이온을 생성하며,

그 결과 다양한 유해한 염증성 상태를 야기한다. 따라서, 우리는 *P. acnes*로 자극된 THP-1 세포에서 berberine의 처리를 통해 NO 생산이 억제되는지의 여부를 조사하였다(Fig. 1C). Fig. 1C에서 보듯이 *P. acnes*를 처리하여 THP-1 세포를 자극했을 때 자극하지 않은 정상 대조군에 비해 NO의 생성이 약 3배 정도 유의하게 증가하였으나 berberine을 처리했을 때 NO의 생성은 명백하게 저해되었다. 특히, berberine 50 μM을 처리했을 때 NO의 생성은 *P. acnes*로 자극을 받은 세포에 비해 약 30% 정도까지 현저하게 감소되었으며 이러한 결과는 berberine이 강한 항염증 활성을 보유하고 있음을 의미한다.

***P. acnes* 자극에 의한 전 염증성 cytokine의 생성과 berberine의 영향**

*P. acnes*는 단핵구 세포에서 TNF-α, IL-1β, IL-8 등의 전 염증성 사이토 카인의 발현을 유도하는 것으로 보고되었으며, 피지선 모낭 주위에서 만성 염증성 질환을 일으키는 주요 병원 인자로 알려져 있다[21,22]. 본 실험에서도 열처리한 *P. acnes*를 THP-1 세포에 처리했을 때 TNF-α, IL-1β 및 IL-8과 같은 전 염증성 사이토카인의 발현 수준이 크게 증가함을 확인하였다 (Figs. 2A-C). 그러나 *P. acnes*로 THP-1 세포를 자극하기 전에 berberine을 전 처리 하였을 때 이들 사이토카인의 발현은 *P. acnes*로 자극한 후에도 농도 의존적으로 유의하게 억제되었다 (Figs. 2A-C). 특히, 25 및 50 μM 농도의 berberine 처리는 *P. acnes*로 자극된 THP-1 세포에서 TNF-α, IL-1β 및 IL-8의 생성을 현저하게 억제시켰으며 이는 berberine이 전 염증성 사이토카인 및 케모카인의 생성을 조절함으로써 항염증 활성을 보인다는 것을 의미하고 있다.

***P. acnes*로 자극된 세포에서 MAPK 신호경로에 대한 berberine의 영향**

MAPK 신호경로는 염증반응의 조절에 중요한 역할을 하므로 본 연구에서도 *P. acnes*로 자극된 THP-1 세포에서 berberine에 의해서 MAPK 신호경로가 영향을 받는지 조사하였다[23] (Fig.

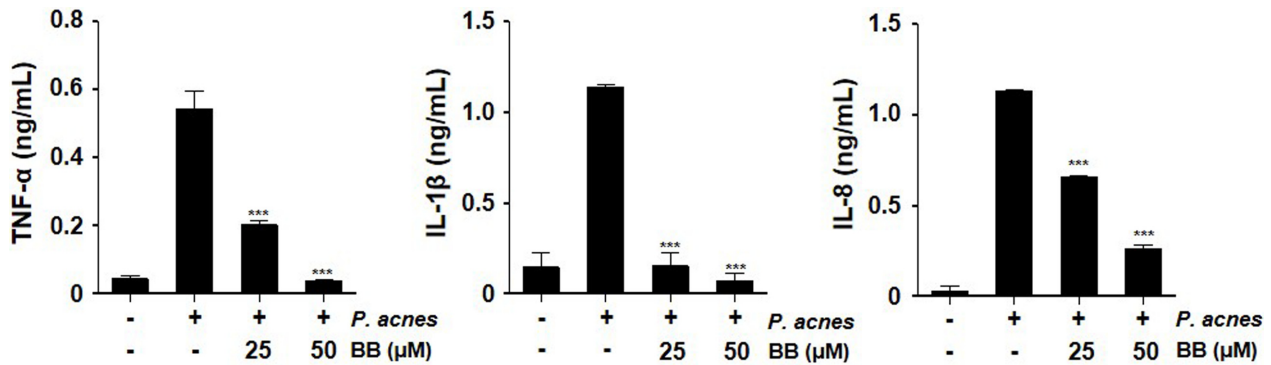


Fig. 2 Effect of berberine on the production of inflammatory cytokines in the *P. acnes*-stimulated THP-1 cells. The production of TNF- α (A), IL-1 β (B) and IL-8 (C) with the treatment of berberine. The cells were pre-treated with 25 and 50 μ M of berberine (BB) for 2 h and then stimulated with *P. acnes* (50 μ g/mL) for 24 h. Cytokine production in the culture medium was measured by ELISA. The assay was conducted thrice in triplicate. *** p < 0.001 compared with the heat-killed *P. acnes* treated cells

3). 열처리한 *P. acnes*를 세포에 처리하였을 때 인산화 형태인 phospho-p38, phospho-ERK 및 phospho-JNK의 발현 수준은 유의하게 증가되었으나 berberine을 전 처리 한 후에는 phospho-p38, phospho-ERK 및 phospho-JNK의 발현 수준이 현저하게 감소하였다(Fig. 3A). 특히, ERK의 인산화는 50 μ M berberine 처리에서 현저하게 억제되었으며, 또한 p38 및 JNK의 인산화는 berberine의 농도 의존적으로 억제되었다(Fig. 3A). 이러한 결과는 berberine이 THP-1 세포에서 MAPK 신호 전달 경로의 조절을 통해 항염증 효과를 나타냄을 의미한다.

*P. acnes*로 자극된 세포에서 NF- κ B 신호경로에 대한 berberine의 영향

염증반응을 매개하는 전 염증성 사이토카인과 매개체들의 조절은 중요한 전사인자인 NF- κ B와 연관되어 있으므로 berberine이 *P. acnes*로 자극된 THP-1 세포에서 NF- κ B의 발현을 억제하는지 여부를 조사하였다(Fig. 3). NF- κ B의 활성화는 주로 억제성 I κ B 단백질(NF- κ B의 억제제) 및 I κ B를 인산화시키는 I κ B kinase (IKK)를 통해 조절된다. NF- κ B 전사 인자 패밀리 중 하나는 p65로서 이 단백질 두 개가 서로 결합하거나 또는 p50과 결합하여 호모 또는 헤테로 이량체 복합체를 형성하는 것으로 알려졌다[24]. IKK는 NF- κ B의 활성을 억제하는 단백질인 I κ B α 를 인산화시키며 그 결과 I κ B α 가 NF- κ B에서 분리된다. 이로 인해 NF- κ B는 핵으로 이동되며 전사인자로 작동하여 염증 신호 전달에 관여하는 유전자의 발현을 활성화시킨다[25]. 따라서 본 연구에서도 phospho-I κ B 및 phospho-NF- κ B p65의 발현 수준을 분석하였다(Fig. 3B). *P. acnes*를 처리하여 THP-1 세포를 자극하였을 때 인산화된 형태인 phospho-I κ B 및 phospho-NF- κ B p65의 발현 수준은 *P. acnes*를 처리하지 않은 대조군과 비교했을 때 크게 증가되었다(Fig. 3B, lanes 2). 그러나, 25 및 50 μ M 농도의 berberine을 처리했을 때는 phospho-I κ B 및 phospho-NF- κ B p65의 발현은 농도 의존적으로 현저하게 억제되었으며(Fig. 3, lanes 3과 4) 특히 50 μ M의 berberine을 처리

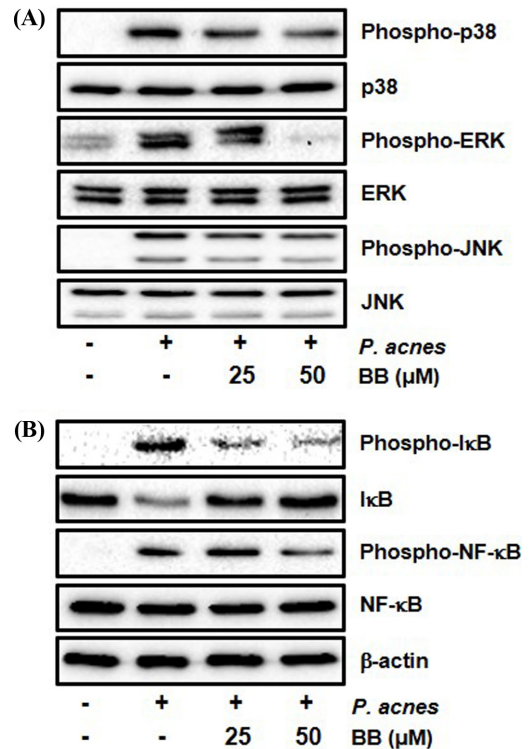


Fig. 3 Suppression of MAPK and NF- κ B signaling pathways in the *P. acnes*-stimulated THP-1 cells. (A) Suppression of the MAPK signaling pathway by berberine (BB). Cells were pre-treated with BB (25 and 50 μ M) for 2 h and then stimulated with *P. acnes* (50 μ g/mL) for 24 h. Phosphorylation of MAPK was analyzed by western blotting. (B) Suppression of the NF- κ B signaling pathway by berberine (BB). Cells were prepared same as in the analysis of the MAPK pathway. Phosphorylation of NF- κ B was analyzed by western blotting. Western blot analysis shows that phosphorylation of p38, ERK, JNK, I κ B and NF κ B were suppressed by berberine in the *P. acnes*-stimulated THP-1 monocytic cells

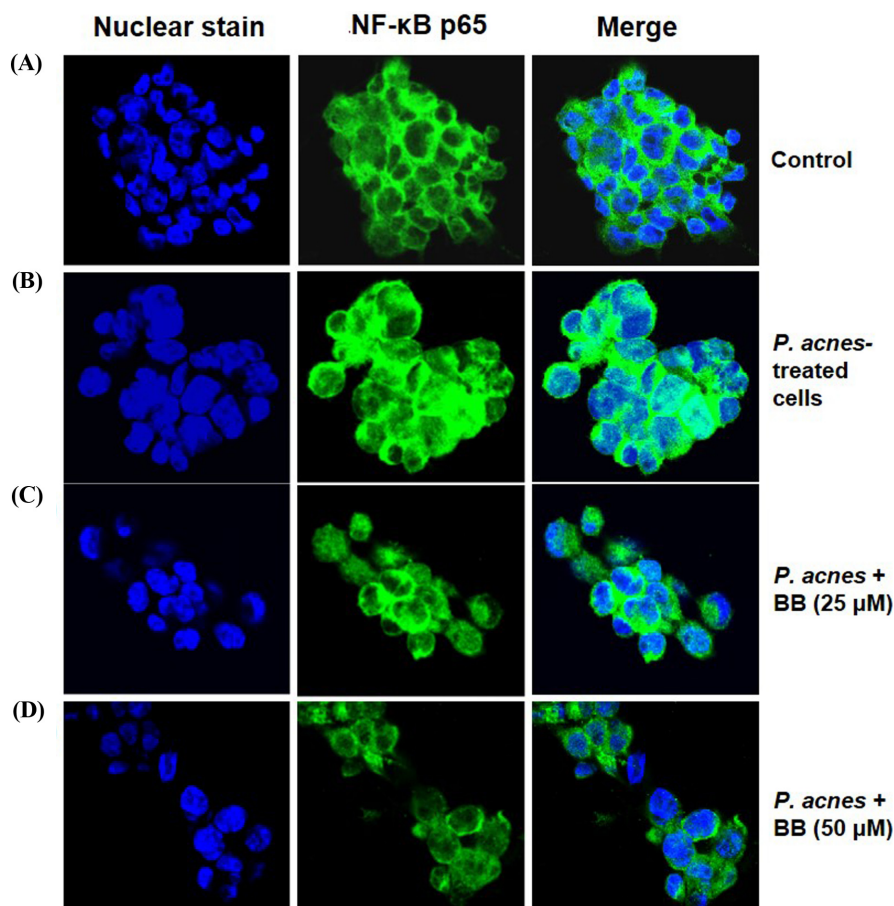


Fig. 4 Effect of berberine on the translocation of NF-κB p65 in the *P. acnes*-stimulated THP-1 cells. (A-D) Representative photomicrographs of NF-κB p65 (green) and nuclear with Hoechst 33258 (blue) in the *P. acnes*-stimulated THP-1 cells. Cells were fixed and stained with NF-κB p65 monoclonal antibody and Hoechst nuclear stain. Without the treatment of *P. acnes*, NF-κB is predominately found in the cytoplasm (A) while *P. acnes* stimulation, NF-κB is translocated into the nucleus (B). The addition of berberine (BB) clearly suppresses the NF-κB translocation (C and D), as nuclear p65 staining is barely found (D)

했을 때 IκB와 NF-κB p65의 인산화는 유의성 있게 억제되었다(Fig. 3, lanes 4). 또한, berberine은 IκB의 인산화를 감소시켜 염증 매개체인 IL-8, TNF-α 및 IL-1β의 생성을 감소시키므로 berberine의 존재 하에서는 반대로 IκB 발현이 *P. acnes*를 처리하지 않은 정상 상태의 세포 수준으로 증가하고 있음을 알 수 있었다(Fig. 3B, IκB panel).

***P. acnes*로 자극된 세포에서 NF-κB의 핵 이동에 대한 berberine의 영향**

대부분의 정상적인 세포에서는 NF-κB는 IκB 단백질과의 상호 결합하여 복합체의 형태의 비활성 상태로 세포질에 존재한다. 이러한 IκB 단백질이 IKK 복합체에 의해 인산화되면 IκB 단백질이 분해되어 NF-κB 복합체로부터 떨어져 나오게 되고 따라서 NF-κB 이량체는 세포질에서 핵으로 이동하여 염증성 사이토카인 및 염증성 매개체 유전자의 전사를 유도한다[24]. 본 연구에서도 *P. acnes*의 처리로 염증이 유도된 THP-1 세포에서 NF-κB p65의 변화를 면역 형광법으로 분석했을 때 NF-κB p65의 핵 이동 및 축적이 명확하게 일어남을 알 수 있었다(Figs. 4A, B). 25 μM의 berberine을 처리했을 때는 p65 염색이 일부

여전히 핵에 남아있으므로 NF-κB의 핵 이동을 약간 억제하는 효과가 있음을 알 수 있으며 50 μM의 berberine을 처리했을 때는 핵에서의 p65 염색이 거의 나타나지 않았으므로 NF-κB p65의 핵 이동이 *P. acnes*만을 처리한 세포와 비교하여 극적으로 억제됨을 확인할 수 있었다(Figs. 4C, D). 이러한 결과는 berberine이 *P. acnes*에 의해 유도된 NF-κB 관련 단백질의 발현 및 핵 전좌를 억제할 수 있으며 NF-κB 신호의 억제로 인해 전 염증성 사이토카인 및 염증성 매개체의 발현이 억제되며 궁극적으로 항염증 반응으로 이어질 수 있음을 제시하였다.

결론적으로, berberine은 THP-1 세포에서 NF-κB 및 MAPK 활성화 경로를 억제함으로써 *P. acnes*에 의해 유도된 NO 및 염증성 사이토카인의 생산을 억제하여 강력한 항염증 활성을 나타냈다. 이러한 결과는 천연물 소재에서 유래한 알칼로이드 화합물인 berberine을 *P. acnes*와 같은 여드름균의 감염으로 인해 유발된 염증성 질환의 치료를 위해 활용할 수 있는 천연치료를 개발할 수 있는 가능성을 제시하였다. Berberine은 현재 국내 우수 제약회사에서 시판하는 정장제에 장내 방부살균제 성분으로 사용되고 있으며 또한 berberine을 함유하는 추출물 형태의 건강보조식품으로 국내외의 시장에서 판매되고 있다.

초 록

본 연구에서는 인간 단핵구 세포인 THP-1 세포를 이용하여 berberine의 항염증 활성을 조사 하였다. *Propionibacterium acnes*의 감염은 THP-1 세포에서 산화질소(NO)와 TNF- α , IL-8 및 IL-1 β 와 같은 전 염증성 사이토카인의 생산을 유도했다. 그러나, *P. acnes*에 의해 유도된 THP-1 세포에 berberine을 처리했을 때, 전 염증성 사이토카인 및 NO의 생성이 유의하게 감소하였다. 또한 우리는 berberine의 항염증 기능의 신호 전달 경로를 분석하여 berberine이 *P. acnes* 유도 세포에서 ERK1/2, JNK 및 p38의 인산화를 억제하고 NF- κ B p65의 발현 및 핵이동을 억제한다는 것을 발견했다. 이러한 결과로부터 berberine은 인간 단핵구 세포에서 NF- κ B 및 MAPK 신호 전달 경로를 억제함으로써 항염증 활성을 효과적으로 발휘할 수 있다고 결론지었다. 또한, 이러한 결과는 *P. acnes*에 의해 유발된 염증성 질환의 치료를 위해 천연물 소재에서 유래한 알칼로이드 화합물인 berberine을 사용하여 천연 치료제를 개발할 수 있는 가능성을 제시하였다.

Keywords 단핵구 · 베르베린 · 여드름균 · 염증 · 전 염증성 사이토카인

감사의 글 본 연구는 중원대학교 교내학술연구비(과제관리번호: 2017-020) 지원에 의해 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

References

- Wang YY, Ryu AR, Jin S, Jeon YM, Lee MY (2017) Chlorin e6-mediated photodynamic therapy suppresses *P. acnes*-induced inflammatory response via NF κ B and MAPKs signaling pathway. PLoS One 12: e0170599
- Omer H, McDowell A, Alexeyev OA (2017) Understanding the role of *Propionibacterium acnes* in acne vulgaris: The critical importance of skin sampling methodologies. Clin Dermatol 35: 118–129
- Suh DH, Kwon HH (2015) What's new in the physiopathology of acne? Br J Dermatol 172 Suppl 1: 13–19
- Suh DH (2010) Pharmacologic treatment of acne. J Kor Med Assoc 53: 623–629
- Dessinioti C, Katsambas AD (2010) The role of *Propionibacterium acnes* in acne pathogenesis: facts and controversies. Clin Dermatol 28: 2–7
- Thiboutot DM, Layton AM, Eady EA (2014) IL-17: a key player in the *P. acnes* inflammatory cascade? J Invest Dermatol 134: 307–310
- Farrar MD, Ingham E (2004) Acne: inflammation. Clin Dermatol 22: 380–384
- Kim J, Ochoa MT, Krutzyk SR, Takeuchi O, Uematsu S, Legaspi AJ, Brightbill HD, Holland D, Cunliffe WJ, Akira S, Sieling PA, Godowski PJ, Modlin RL (2002) Activation of toll-like receptor 2 in acne triggers inflammatory cytokine responses. J Immunol 169: 1535–1541
- Jugeau S, Tenaud I, Knol AC, Jarrousse V, Quereux G, Khammari A, Dreno B (2005) Induction of toll-like receptors by *Propionibacterium acnes*. Br J Dermatol 153: 1105–1113
- Grange PA, Raingeaud J, Calvez V, Dupin N (2009) Nicotinamide inhibits *Propionibacterium acnes*-induced IL-8 production in keratinocytes through the NF- κ B and MAPK pathways. J Dermatol Sci 56: 106–112
- Zou K, Li Z, Zhang Y, Zhang HY, Li B, Zhu WL, Shi JY, Jia Q, Li YM (2017) Advances in the study of berberine and its derivatives: a focus on anti-inflammatory and anti-tumor effects in the digestive system. Acta Pharmacol Sin 38: 157–167
- Li JY, Wang XB, Luo JG, Kong LY (2015) Seasonal variation of alkaloid contents and anti-inflammatory activity of *Rhizoma coptidis* based on fingerprints combined with chemometrics methods. J Chromatogr Sci 53: 1131–1139
- Jang YA, Lee JT (2018) Anti-wrinkle effect of berberine by inhibition of MMP-2 and MMP-9 activity in fibroblasts. J Appl Biol Chem 61: 9–15
- Cha JH, Kim WK, Ha AW, Kim MH, Chang MJ (2017) Anti-inflammatory effect of lycopene in SW480 human colorectal cancer cells. Nutr Res Pract 11: 90–96
- Mosmann T (1983) Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. J Immunol Methods 65: 55–63
- Leal NRF, Vigliano MV, Pinto FA, de Sousa TV, Velozo LSM, Sabino KCC, Justo MDG, Coelho MGP (2018) Anti-inflammatory effect of diterpenes-enriched fractions from *Pterodon polygalaeiflorus* through inhibition of macrophage migration and cytokine production. J Pharm Pharmacol 70: 808–820
- Voller A, Bartlett A, Bidwell DE (1978) Enzyme immunoassays with special reference to ELISA techniques. J Clin Pathol 31: 507–520
- Lee JW, Kang YJ, Choi HK, Yoon YG (2018) Fractionated *Coptis chinensis* extract and its bioactive component suppress *Propionibacterium acnes*-stimulated inflammation in human keratinocytes. J Microbiol Biotechnol, doi:10.4014/jmb.1712.12051
- Tsai HH, Lee WR, Wang PH, Cheng KT, Chen YC, Shen SC (2013) *Propionibacterium acnes*-induced iNOS and COX-2 protein expression via ROS-dependent NF- κ B and AP-1 activation in macrophages. J Dermatol Sci 69: 122–131
- Sharma JN, Al-Omran A, Parvathy SS (2007) Role of nitric oxide in inflammatory diseases. Inflammopharmacol 15: 252–259
- Nagy I, Pivarcsi A, Koreck A, Szell M, Urban E, Kemeny L (2005) Distinct strains of *Propionibacterium acnes* induce selective human β -defensin-2 and interleukin-8 expression in human keratinocytes through toll-like receptors. J Invest Dermatol 124: 931–938
- Qin M, Pirouz A, Kim MH, Krutzyk SR, Garban HJ, Kim J (2014) *Propionibacterium acnes* induces IL-1 β secretion via the NLRP3 inflammasome in human monocytes. J Invest Dermatol 134: 381–388
- Lee WR, Kim KH, An HJ, Kim JY, Han SM, Lee KG, Park KK (2014) Protective effect of melittin against inflammation and apoptosis on *Propionibacterium acnes*-induced human THP-1 monocytic cell. Eur J Pharmacol 740: 218–226
- Oeckinghaus A, Ghosh S (2009) The NF- κ B family of transcription factors and its regulation. Cold Spring Harb Perspect Biol 1: a000034
- Bonizzi G, Karin M (2004) The two NF- κ B activation pathways and their role in innate and adaptive immunity. Trend Immunol 25: 280–288