

## LG-HMC의 미세먼지 유발 염증의 완화와 생체이물대사완화 효과

신재영<sup>†</sup> · 김윤선 · 안영제 · 강내규 · 이상화

LG 생활건강 기술연구원 기반연구소  
(2020년 3월 18일 접수, 2020년 3월 27일 수정, 2020년 3월 27일 채택)

### Effect of LG Herbal Medicine Complex (LG-HMC) on Diesel Particulate Matter (DPM) Induced Skin Inflammation and Xenobiotic Response Activity *In Vitro*

Jae Young Shin<sup>†</sup>, Yun Sun Kim, Young Je Ahn, Nae-Gyu Kang, and Sang Hwa Lee

LG Household & Healthcare Ltd., LG Science Park, 70 Magok jungang10ro, Gagnseo-gu, Seoul 07795, Korea  
(Received March 18, 2020; Revised March 27, 2020; Accepted March 27, 2020)

**요약:** Diesel particulate matter (DPM)은 피부각질세포에서 염증을 일으킨다. 또 aryl hydrocarbon receptor (AhR)을 통한 xenobiotic response element (XRE) promoter activity에 영향을 주어 cytochromeP (CYP) family의 발현을 촉진시킨다. 이 연구에서는 LG-HMC의 미세먼지 유발 피부 염증완화 및 XRE 발현 조절기능에 대하여 연구를 진행하였다. 먼저, HaCaT에서 DPM이 XRE promoter를 과활성화 시켜주는 것을 확인하였고, 이를 LG-HMC가 완화 시켜주는 것을 확인하였으며 이들 원료 중, 상백피추출물, 황금추출물이 XRE promoter의 과활성화 억제에 관여하는 것을 확인하였다. 이어, HaCaT에서 DPM에 의해 발현이 증가하는 염증성 사이토카인에 대해 LG-HMC 및 상백피추출물, 황금추출물이 염증성 사이토카인의 발현을 줄여주는 것을 확인하였다. 추가적으로 상백피추출물과 황금추출물이 DPPH 라디칼을 효과적으로 줄여줌으로써 미세먼지에 의한 라디칼 손상도 효과적으로 방어할 수 있는 소재임을 확인하였다. 결과적으로 LG-HMC가 미세먼지에 의한 피부염증완화와 피부방어효과를 갖는 것을 확인하였고, LG-HMC를 구성하는 상백피추출물과 황금추출물이 미세먼지에 의한 손상방어에 중요한 역할을 하는 것을 확인하였다.

**Abstract:** Diesel particulate matter (DPM) induces inflammatory cytokines in HaCaT and stimulates XRE promoter activity through AhR binding. Thus, it increases CYP gene family expression. In this study, we have elucidated inhibitory effect of LG Herbal Medicine Complex (LG-HMC) on DPM-induced XRE promoter activity and inflammatory cytokine expression. First of all, the XRE promoter activity was overexpressed by DPM treatment and the LG-HMC abrogated the XRE promoter activity. *Morus alba* bark extract, *Scutellaria baicalensis* root extract and constituents of LG-HMC, were found to be main effectors against DPM induced XRE promoter activation. We also found that DPM treatment elevated inflammatory cytokines in HaCaT and the treatment of LG-HMC, *Morus alba* bark extract and *Scutellaria baicalensis* root extract down-regulated the DPM induced inflammatory cytokine expression. Additionally, *Morus alba* bark extract and *Scutellaria baicalensis* root extract were found to act as free radical scavengers. In conclusion, we confirmed skin protective effect of LG-HMC and uncovered two components, *Morus alba* bark extract and *Scutellaria baicalensis* root extract, that play major role in protecting epidermal keratinocytes from damage.

**Keywords:** diesel particulate matter, HacaT, inflammation, Xenobiotic response element, herbal medicine complex

<sup>†</sup> 주 저자 (e-mail: sjy2811@lghnh.com)  
call: 02-6980-1211

## 1. 서 론

피부는 최외각에서 외부 유해물질로부터 내부기관을 보호하는 장벽기능을 수행하고, 미세먼지, 자외선, 중금속, 각종 산화 물질들과 같은 외부의 위협에 항상 노출되어 있다. 미세먼지 및 디젤기관의 연소물(diesel particulate matter, DPM)은 폐 세포를 통해 호흡기 질환을 유발 할 뿐만 아니라, 피부세포 사이에도 침투하여 피부장벽을 손상시킨다[1]. 손상된 피부장벽으로 인해 외부 유해인자의 침투는 더욱 심화되고, 아토피, 여드름, 피부염, 알레르기 등의 염증 매개 반응 뿐 아니라, 가려움, 색소침착을 심화시켜 전체적인 피부노화를 촉진시킨다[2-4]. 디젤 연소물은 대기중 미세먼지(PM 10, PM 2.5), 질소산화물(NOx), 황산화물(SOx), 일산화탄소(CO), 미연탄화수소(Unburned hydrocarbon, HC), 오존(O<sub>3</sub>)의 주된 배출원이다[5,6]. Aryl hydrocarbon receptor (AhR)는 피부에 광범위하게 존재하며 해당 endogenous ligand와의 결합을 통해 피부 항상성을 유지하는 역할을 한다. 특히, 건강한 피부에서는 FICZ (6-formylindolo[3,2-b]carbazole)와 같은 endogenous agonist를 통해서 keratinocyte의 분화, 피부장벽유지, 피부 색소 유지의 항상성을 담당한다[7-9]. 하지만 환경적인 독소들에의 노출은 피부에 지속적인 AhR 활성화를 야기하고, 이로 인해 피부의 항상성이 무너지게 된다. 예를 들어, 피부에서 반응 대사체(phase 1 reactive metabolite)의 생성, 활성산소(ROS)의 생성, 세포분열 및 이동 사멸에 관련된 인자들의 조절장애를 야기하게 된다. 세포마다의 활성화된 AhR 하위 신호체계에 대한 각각의 수용한계치에 따라 다르지만, 과활성화된 AhR은 extra cellular matrix (ECM)의 분해, 외부인자에 의한 피부노화를 가속화 시킬 뿐 아니라, pre-carcinogen들의 대사를 활성화 시키고 각종 염증반응 유도과 세포사멸조절 장애야기를 통해 피부암으로의 발전가능성 또한 매우 높다[10].

본 연구에서는 표준화된 DPM을 이용하여 대기 중 미세먼지 유사 *in vitro* 평가 모델을 확립하였고, 이를 통해 미세먼지의 피부세포에 미치는 영향을 연구하였다. 미세먼지가 일으키는 피부 염증과 LG-HMC에 의한 염증 완화 및 예방효과를 통해 피부세포를 보호하는 효과가 있음을 확인할 수 있었다. 이를 통해 LG-HMC는 미세먼지가 많은 요즘 피부를 보호할 수 있는 화장품으로써 이용 가능성이 있음을 시사한다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1. LG-HMC (Herbal Medicine Complex)의 제조

LG-HMC는 미세먼지, 호흡기, 피부에 유용한 처방을 차용하여 만든 추출물로 12종의 약재를 포함한다.

맥문동(*Ophiopogon japonicus* root), 오미자(*Schizandra chinensis* fruit), 인삼(*Panax ginseng* root), 목단피(*Paeonia suffruticosa* cortex), 일당귀(*Angelica acutiloba* root), 도인(*Prunus persica* seed), 작약(*Paeonia albiflora* root), 황금(*Scutellaria baicalensis* root), 차전초(*Plantago asiatica* leaf), 감초(*Glycyrrhiza glabra* root), 백출(*Atractyloides japonica* rhizome), 상백피(*Morus alba* bark) 12 종 약재를 휴먼허브 (Korea)로부터 구입하여 사용하였다. 건조된 12 종 약재를 Table 1과 같은 비율로 섞어 총 120 g을 70% 에탄올 1 L로 70 °C에서 2 회 추출하고 감압 농축하여 에탄올 추출물을 얻었다.

**Table 1.** Composition of LG-HMC extract in 120 g mass.

Herbal Medicine (Scientific name)	Contents in 120 g
<i>Ophiopogon japonicus</i> root	14.4 g
<i>Schizandra chinensis</i> fruit	13.2 g
<i>Panax ginseng</i> root	13.2 g
<i>Paeonia suffruticosa</i> cortex	4.95 g
<i>Angelica acutiloba</i> root	4.95 g
<i>Prunus persica</i> seed	4.95 g
<i>Paeonia albiflora</i> root	4.95 g
<i>Scutellaria baicalensis</i> root	4.95 g
<i>Plantago asiatica</i> leaf	4.95 g
<i>Glycyrrhiza glabra</i> root	4.95 g
<i>Atractyloides japonica</i> rhizome	4.95 g
<i>Morus alba</i> bark	39.6 g

상백피추출물과 황금추출물은 혼합추출물과는 별도로 제작을 하였다. 상백피, 황금 각각 10 g을 70% 에탄올 100 mL로 70 °C에서 2 회 추출하고, 감압 농축하여 에탄올 추출물을 얻었다.

### 2.2. DPM의 구매 및 성분, 입도분석

DPM1650b는 미국의 national institute of standard and

technology (NIST)에서 구매를 진행하였다. DPM을 구성하는 성분에 대한 분석은 NIST에서 제공하는 분석을 참고하였고, 입자크기에 대한 분석은 입도분석기(Mastersizer2000, Malvern instruments, UK)를 이용해 진행하였다. dH<sub>2</sub>O에 DPM을 고르게 분산시킨 뒤, 균질하게 분산되어 있는 DPM을 교반되고 있는 입도분석기에 넣어 입자크기 분석을 진행하였다.

### 2.3. 인간유래 피부 각질세포주 배양

인간유래 피부각질세포주(HaCaT)는 Dulbecco's modified eagle medium (Gibco-BRL, Gaithersburg, USA)에 10% fetal bovine serum (FBS)와 1% penicillin/streptomycin solution이 첨가된 배양액 조건에서 배양하였다. 세포가 배양용 플라스크에 약 80% 찼을 때 0.25% trypsin-EDTA (Invitrogen, USA)를 이용하여 계대 배양을 진행하였다.

### 2.4. LG-HMC 및 DPM의 독성평가

LG-HMC와 DPM의 HaCaT에서의 독성을 평가하기 위해 cell counting kit-8 (CCK8) assay (Dojindo molecular technologies, USA)를 진행하였다. HaCaT에 LG-HMC와 DPM을 각각 처리 후, 해당 업체에서 제공하는 프로토콜에 따라 CCK8 assay를 실행하였다. Epoch microplate spectrophotometer (BioTelk, USA)를 이용해 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### 2.5. Real-Time PCR (qPCR)

DPM에 의해 유발된 염증이 LG-HMC에 의해 조절되는 것을 확인하기 위해, HaCaT에서 염증성 cytokine에 대한 mRNA 분석을 실시하였다. DPM과 해당농도의 LG-HMC를 동시 처리 후, 24 h동안 37 °C, 5% CO<sub>2</sub> 인큐베이터에서 24 h 배양하였다. 이후, RNA easy mini kit (Qiagen, USA)으로 RNA를 분리하여 정량 하였고, 1.0 µg의 cDNA synthesis kit (philekorea, Korea)를 이용하여 역전사(reverse transcription)하였다. 역전사 반응은 Mycycler<sup>®</sup> PCR 기기 (#1709703, Biorad, USA)를 이용하여 수행하였다. 합성된 cDNA를 Taqman universal master mix (Applied biosystems, USA)와 유전자 특이적인 프라이머를 이용하여 real-time PCR system (Applied biosystems, USA)으로 발현을 측정하였다. Real-time PCR에 사용된 프라이머는 GAPDH, IL-1β, IL-6, IL-8 이다.

### 2.6. XRE Luciferase Activity Assay

DPM에 의한 XRE promoter의 반응정도를 확인하기 위해, HaCaT을 48 well plate에 3 × 10<sup>4</sup> cells/well로 깔고, 37 °C, 5% CO<sub>2</sub> 인큐베이터에서 24 h 배양하였다. pGL4.43 [luc2P/XRE/Hygro] Vector (Promega, USA)를 구입하였고, 해당 vector를 K2 transfection reagent (Biontex, Germany)를 이용하여 HaCaT에 일시적으로 과발현 시켰다. pRL-TK vector가 세포 내부 대조군으로 함께 co-transfection 되었다. Transfection 6 h 후, DPM과 LG-HMC가 각각 또는 함께 처리되었고, 37 °C, 5% CO<sub>2</sub> 인큐베이터에서 24 h 배양하였다. 24 h 배양 후, dual luciferase reporter assay system (Promega, USA)를 이용해 luciferase activity를 측정하였다.

### 2.7. DPPH 항산화효과 검증

상백피, 황금 추출물 시료를 100 µL씩 96 well plate에 농도별로 분주하고, 1.5 mM 농도의 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH, Sigma, USA)용액 100 µL를 37 °C에서 30 min 간 배양하였다. 배양 후 microplate reader를 이용하여 540 nm로 흡광도를 측정하였다.

### 2.8. 통계적 분석

실험 결과는 평균값과 표준편차로 나타내었고, student's *t*-test법을 이용하여 *p*-value가 0.05 미만인 경우 통계적으로 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

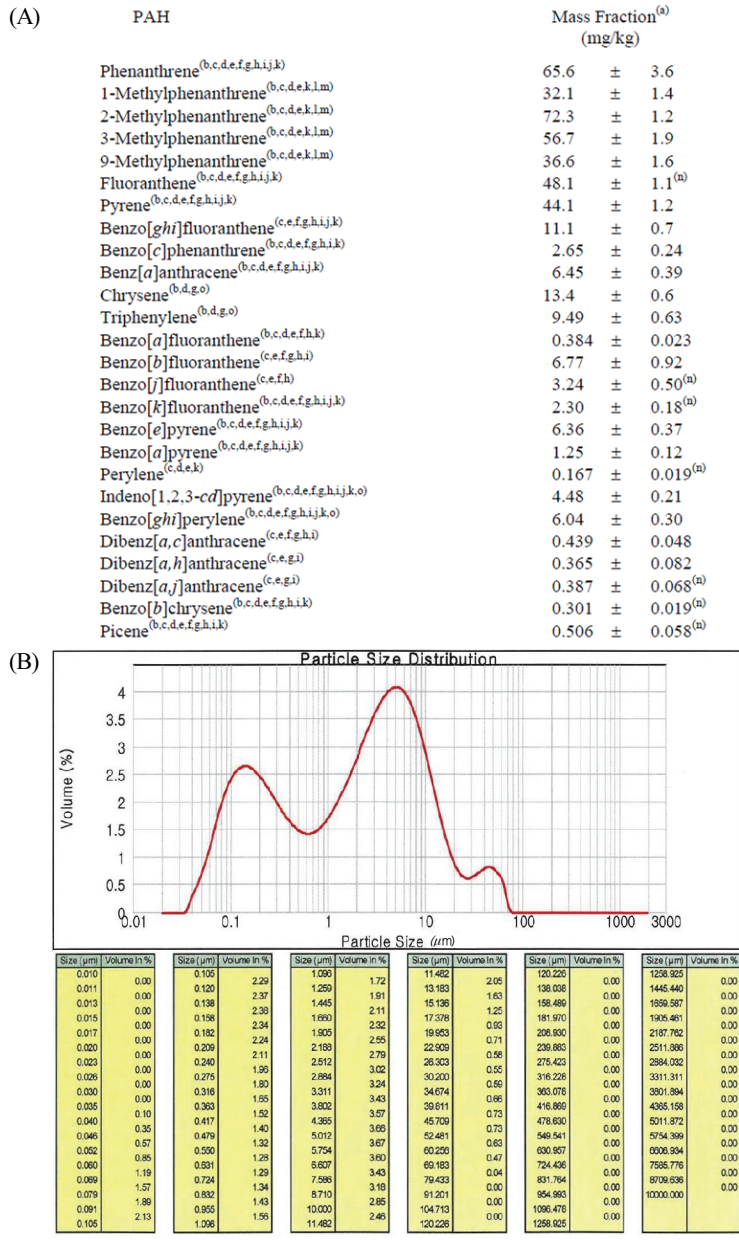
## 3. 결과 및 고찰

### 3.1. DPM의 성분확인, 입도크기분석, 염증반응 및 xre활성 유도 확인

DPM1650b가 대기중에 존재하는 미세먼지와 성분 및 입도크기가 유사함을 입증하기 위해 NIST에서 제공되는 성분분석표 참조 및 자체 입도분석을 실시하였다. 특히, 성분 중 자동차 배기가스나 공장으로부터 배출되는 poly aromatic hydrocarbons (PAHs)류 들은 디젤류의 연소이후에 발생하는 C, H, S와 공기 중의 N<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>가 반응하여 생기는 기체, 고체상의 입자로 피부 염증을 유발하여 아토피, 급성·만성 피부 알러지를 유발하고, TEWL증가, 홍반형성 증가 등의 피부 질환을 야기한다[11,12]. 그리고 피부세포에 존재하는 aryl hydrocarbon receptor (AhR)에 반

응하여 xenobiotic response를 야기한다. 과하게 유도된 xenobiotic response는 피부염증을 일으키고 심하게는 피부암으로까지 발전이 되기도 한다[13,14]. 이에 DPM1650b에 포함되어 있는 각종 PAHs 종류를 확인하였다(Figure 1A).

다음으로 200 µg/mL의 농도로 DPM을 dH<sub>2</sub>O에 균질하게 분산시켜 입도 분석을 실시하였고, 결과는 0.05 µm ~ 40 µm 사이에 분포하고 있음을 확인하였다(Figure 1B). 평균 입자크기는 2.2 µm로 현재 기상청에서 고시되는 PM 2.5



**Figure 1.** DPM1650b (also SRM1650b) characterization compared to real Particulate Matter collected in DAEJEON Province. (A) PAHs analysis data were derived from NIST without any modification. (B) DPM1650b were dispersed equally in distilled water, and then particle size distribution was analyzed by MASTERSIZER 2000. (C) Real Particulate Matter from DAEJEON province and DPM1650b were treated with HaCaT cell to evaluate cell viability. (D) Cytokines, IL-1β, IL-6, IL-8, mRNAs were induced by real Particulate Matter from DAEJEON province and DPM1650b after 24 h treatment in HaCaT. (E) XRE promoter activity in HaCaT were compared between real Particulate Matter from DAEJEON province and DPM1650b. Each bar in the graph represents mean ± SD.

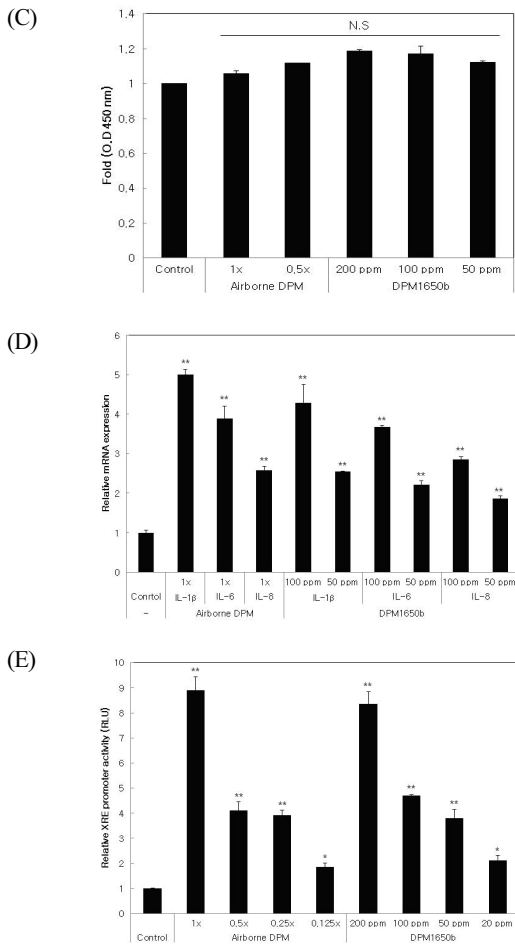


Fig. 1. (Continued)

와 PM 10을 아우를 수 있는 크기의 범위를 확인하였다. 이어, 실제 대기 중에 있는 미세먼지에 의한 피부세포에서의 염증반응과 DPM1650b에 의한 염증반응이 비슷한 정도임을 확인하기 위해 실제 대기 중의 미세먼지를 포집 후, DPM1650b와 비교 실험을 진행하였다. 실제 대기 중 미세먼지는 PAHs류 등을 많이 함유한 디젤자동차의 배기가스 및 대기관측소의 PM 2.5, PM 10 필터 미세먼지를 직접 포집하여 사용하였다. 우선 세포독성이 없는 구간에서 실험을 진행하기 위해 실제 대기 중 미세먼지 (airborne DPM)와 DPM1650b의 HaCaT에서의 세포독성을 확인하였다(Figure 1C). 세포독성이 없는 범위에서 실제 대기 중 미세먼지와 DPM1650b를 HaCaT에 처리하였고, 24 h 배양하여 비슷한 정도의 IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8의 mRNA가 증가하는 것을 확인하였다(Figure 1D). 또 XRE promoter가 transfection 된 HaCaT에 실제 대기 중 미세먼지와

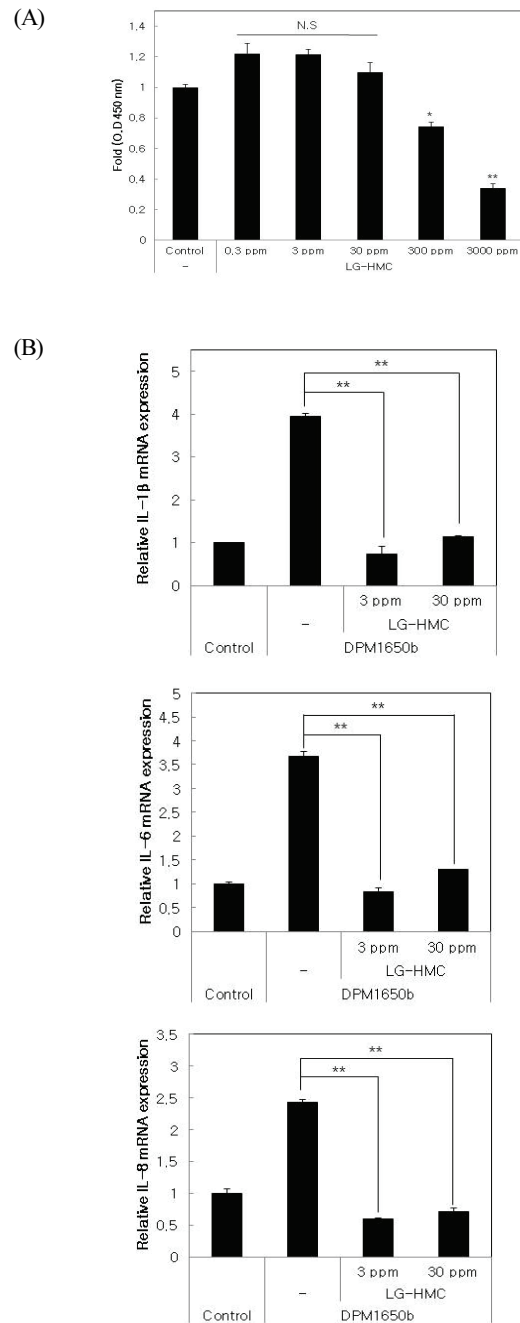


Figure 2. Inhibitory effect of LG-HMC on DPM induced cytokine expression and XRE promoter activity. (A) LG-HMC was treated in various concentration to evaluate cytotoxicity in HaCaT. (B) LG-HMC abrogated DPM induced cytokine expression after 24 h incubation with both DPM and LG-HMC treatment. (C) XRE activity was down-regulated by LG-HMC in dose dependent manner. Each bar in the graph represents mean  $\pm$  SD.

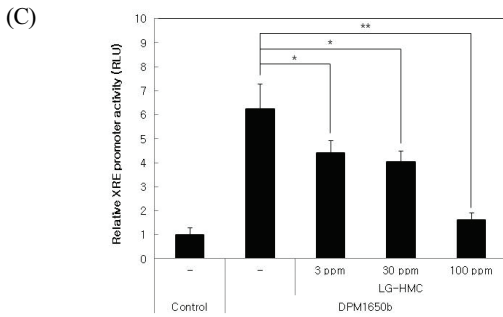


Fig. 2. (Continued)

1650b를 각각 처리하여 xenobiotic response가 비슷한 정도로 증가하는 것을 확인하였고, 이후 균질한 실험진행을 위해 DPM1650b를 사용하였다(Figure 1E).

### 3.2. LG-HMC에 의한 DPM 유발 HaCaT 염증반응 및 XRE활성 완화

DPM1650b에 의해 염증인자들이 유발되는 것을 확인하였고, 이에 LG-HMC가 DPM1650b 유발 사이토카인과 XRE 활성을 조절하는 것을 확인하였다. DPM1650b와 LG-HMC는 독성이 보이지 않는 범위에서 실험을 진행하기 위해 LG-HMC의 HaCaT에서의 독성을 평가하였다. 30 ppm까지는 독성이 없었고, 그 이상의 농도부터는 독성을 보이는 구간이 관측되었다(Figure 2A). 이후, 3 ppm, 30 ppm의 LG-HMC와 100ppm의 DPM1650b를 HaCaT에 동시에 처리하였다. 24 h 배양 후, IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8 mRNA 발현을 확인하였을 때, 각각 3.96 배, 3.68배, 2.43 배씩 증가한 사이토카인이 대조군 수준으로 발현이 줄어든 것을 확인할 수 있었다(Figure 2B). 이어 XRE활성조절을 알아보기 위해, XRE promoter가 transfection 된 HaCaT에 DPM1650b와 LG-HMC를 처리하였다. 각 3 ppm, 30 ppm, 100 ppm의 LG-HMC와 100 ppm의 DPM1650b를 동시에 처리하여 luciferase assay를 진행하였고, 6 배 이상 상승된 XRE promoter의 활성을 농도 의존적으로 1.6 배까지 줄여주었다(Figure 2C).

### 3.3. LG-HMC의 구성성분에 의한 DPM 유발 HaCaT 염증반응 및 XRE활성 완화

LG-HMC를 구성하는 12 종의 한약재에 대해 DPM1650b 유발 HaCaT의 염증반응 완화 및 XRE활성 완화하는 효과를 확인하였다. 그중 가장 효과가 좋은 상백피추출물과

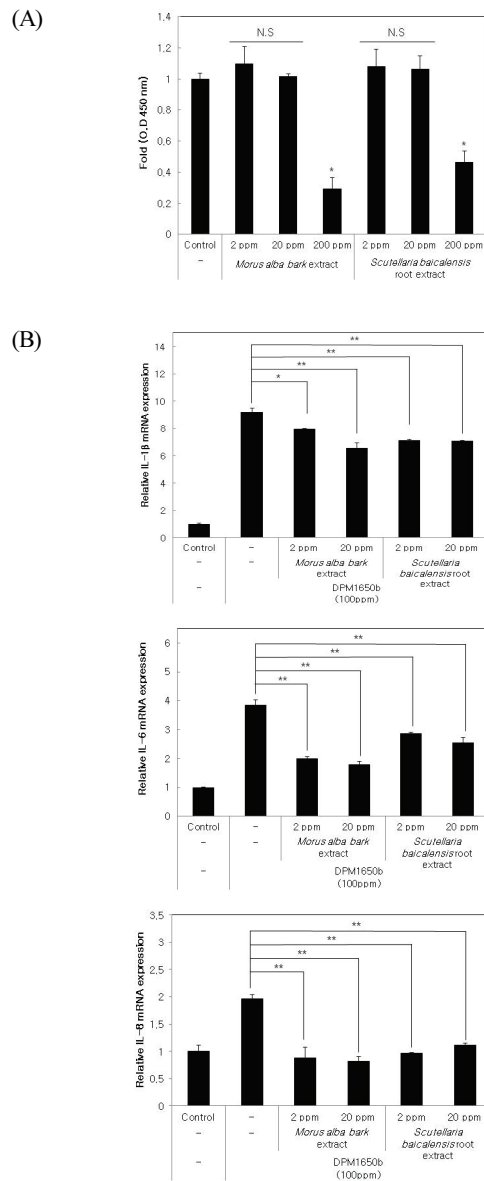


Figure 3. Inhibitory effect of *Morus alba* bark extract and *Scutellaria baicalensis* root extract, components of LG-HMC on DPM induced cytokine expression and XRE promoter activity. (A) *Morus alba* bark extract root extract and *Scutellaria baicalensis* root extract were treated to HaCaT at various concentrations to evaluate cytotoxicity. (B) *Morus alba* bark extract and *Scutellaria baicalensis* root extract counteracted DPM induced cytokine expression after 24 h treatment with both DPM and *Morus alba* bark extract and *Scutellaria baicalensis* root extract. (C) XRE activity was down-regulated by *Morus alba* bark extract and *Scutellaria baicalensis* root extract in dose dependent manner. Each bar in the graph represents mean  $\pm$  SD.

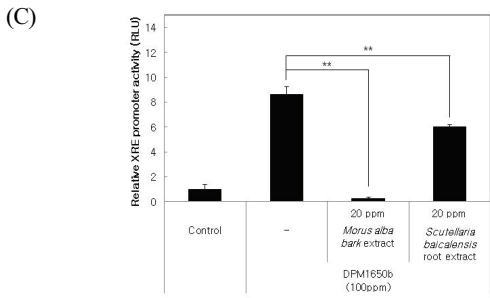


Fig. 3. (Continued)

황금추출물에 대해 실험을 진행하였다. 먼저 상백피추출물과 황금추출물 자체의 HaCaT에서의 세포독성을 확인하였다(Figure 3A). 또 독성이 없는 범위에서 DPM에 의해 유발된 염증완화 및 XRE활성을 조절해주는 효과를 확인할 수 있었다. 100 ppm의 DPM에 의한 IL-1 $\beta$  mRNA 발현이 상백피추출물과 황금추출물에 의해 각각 26%, 32%가량 발현 억제가 되었고, IL-6는 72%, 45%가량 억제가 되었으며, IL-8은 120%, 87%가량 억제가 되었다(Figure 3B). 또, XRE promoter가 transfection된 HaCaT에서 100ppm의 DPM에 의해 증가한 XRE 활성이 상백피와 황금에 의해 각각 100%이상, 35%가량 억제되는 것을 확인할 수 있었다(Figure 3C).

### 3.4. 상백피추출물(*Morus alba* bark extract)과 황금추출물(*Scutellaria baicalensis* root extract)의 항산화 효과

미세먼지는 free radical을 함유하고 있고, 이는 인간세포에서 DNA damage를 야기하여 피부세포를 손상시킨다 [15]. 또 미세먼지는 AhR과 XRE에 의존적, 비의존적인 경로를 통해 intracellular ROS의 production을 증가시켜 피부세포에 각종 염증성 사이토카인류의 생성을 증가시킨다 [16]. 이에 미세먼지에 의해 발생할 수 있는 ROS 손상에 대하여, 상백피추출물(*Morus alba* bark extract)과 황금추출물(*Scutellaria baicalensis* root extract)이 항산화 효과를 가짐을 예측해 보기위해 DPPH를 이용한 라디칼 소거능을 평가하였다. 평가결과 상백피추출물, 황금추출물 각각 25 ppm, 50 ppm 전후에서 L-ascorbic acid의 IC<sub>50</sub>와 비슷한 라디칼 소거능을 보였다(Figure 4). 이는 상백피추출물과 황금추출물이 미세먼지에 의해 유발된 free radical을 효과적으로 줄일 수 있음을 암시한다.

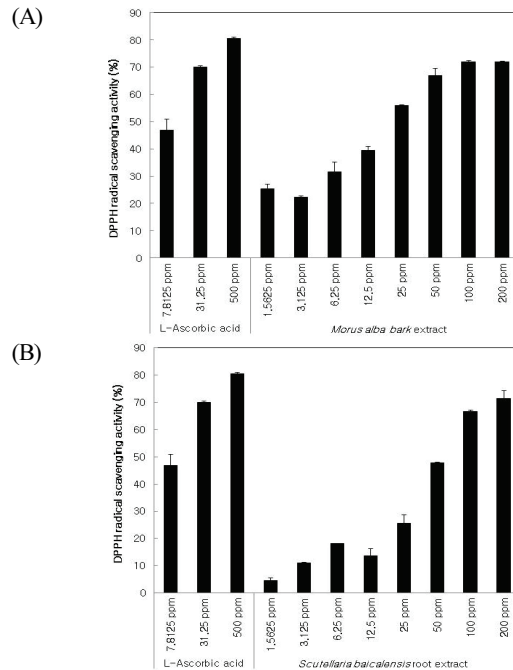


Figure 4. The radical scavenging activity of *Morus alba* bark extract and *Scutellaria baicalensis* root extract using DPPH. Each bar in the graph represents mean  $\pm$  SD.

## 4. 결론

본 연구에서는 한방 복합 화장품 원료인 LG-HMC의 미세먼지에 의한 피부각질세포 염증방어 및 세부기전인 XRE활성 억제에 대해 확인하였다. 또, 구성성분 중 특히 상백피추출물과 황금추출물이 미세먼지에 의한 염증과 XRE활성을 억제시켜줄 것을 확인하였고, 항산화효능까지 갖춘 원료임을 확인하였다. *In vivo*적인 효능에 대한 추가적인 실험이 필요하지만, 이번 논문에서는 LG-HMC가 미세먼지에 의해 유발되는 염증과 생체이물대사 억제를 *in vitro*수준에서 유의하게 줄여주는 것을 확인하였고, 세부 구성 추출물에 대해서도 그 효능을 확인함으로써 미세먼지에 대응할 수 있는 화장품 원료로서의 활용가능성을 입증하였다.

## Reference

1. M. J. Piao, M. J. Ahn, K. A. Kang, Y. S. Ryu, Y. J. Hyun, K. Shilnikova, A. X. Zhen, J. W. Jeong, Y. H. Choi, H. K. Kang, Y. S. Koh, and J. W. Hyun,

- Particulate matter 2.5 damages skin cells by inducing oxidative stress, subcellular organelle dysfunction, and apoptosis, *Arch. Toxicol.*, **92**(6), 2077 (2018).
2. K. E. Kim, D. Cho, and H. J. Park, Air pollution and skin diseases: Adverse effects of airborne particulate matter on various skin diseases, *Life Sci.*, **152**, 126 (2016).
  3. J. Krutmann, W. Liu, L. Li, X. Pan, M. Crawford, G. Sore, and S. Seite, Pollution and skin: From epidemiological and mechanistic studies to clinical implications, *J. Dermatol. Sci.*, **76**(3), 163 (2014).
  4. J. Soeur, J. P. Belaïdi, C. Chollet, L. Denat, A. Dimitrov, C. Jones, P. Perez, M. Zanini, O. Zobiri, S. Mezzache, D. Erdmann, G. Lereaux, J. Eilstein, and L. Marrot, L2.Photo-pollution stress in skin: Traces of pollutants (PAH and particulate matter) impair redox homeostasis in keratinocytes exposed to UVA1, *J. Dermatol. Sci.*, **86**(2), 162 (2017).
  5. F. Liang, M. Lu, T. C. Keener, Z. Liu, and S. J. Khang, The organic composition of diesel particulate matter, diesel fuel and engine oil of a non-road diesel generator, *J Environ Monit*, **7**(10), 983 (2005).
  6. M. A. Robert, M. J. Kleeman, and C. A. Jakober, Size and composition distributions of particulate matter emissions: Part 2—heavy-duty diesel vehicles, *J Air Waste Manag Assoc*, **57**(12), 1429 (2007).
  7. Y. D. Wei, L. Bergander, U. Rannug, and A. Rannug, Regulation of CYP1A1 transcription via the metabolism of the tryptophan-derived 6-formylindolo [3,2-b]carbazole. *Arch. Biochem. Biophys.*, **383**(1), 99 (2000).
  8. E. Wincent, N. Amini, S. Luecke, H. Glatt, J. Berfman, C. Crescenzi, A. Rannug, and U. Rannug, The suggested physiologic aryl hydrocarbon receptor activator and cytochrome P4501 substrate 6-formylindolo [3,2-b]carbazole is present in humans, *J. Biol. Chem.*, **284**(5), 2690 (2009).
  9. E. H. van den Bogaard, J. G. Bergboer, M. Vonk-Bergers, van I. M. Vlijmen-Willems, S. V. Hato, P. G. van der Valk PG, J. M. Schröder, I. Joosten, P. L. Zeeuwen, and J. Schalkwijk, Coal tar induces AHR-dependent skin barrier repair in atopic dermatitis, *J. Clin. Invest.*, **123**(2), 917 (2013).
  10. T. Haarmann-Stemmann, C. Esser, and J. Krutmann, The janus-faced role of aryl hydrocarbon receptor signaling in the skin: Consequences for prevention and treatment of skin disorders, *J. Invest. Dermatol.*, **135**(11), 2572 (2015).
  11. N. D. Magnani, X. M. Muresan, G. Belmonte, F. Cervellati, C. Sticozzi, A. Pecorelli, C. Miracco, T. Marchini, P. Evelson, and G. Valacchi, Skin damage mechanisms related to airborne particulate matter exposure, *Toxicol. Sci.*, **149**(1), 227 (2015).
  12. S. P. Jin, Z. Li, E. K. Choi, S. Lee, Y. K. Kim, E. Y. Seo, J. H. Chung, and S. Cho, Urban particulate matter in air pollution penetrates into the barrier-disrupted skin and produces ROS-dependent cutaneous inflammatory response *in vivo*, *J. Dermatol. Sci.*, **91**(2), 175 (2018).
  13. J. J. Tsay, K. M. Tchou-Wong, A. K. Greenberg, H. Pass, and W. N. Rom, Aryl hydrocarbon receptor and lungcancer, *Anticancer Res.*, **33**(4), 1247 (2013).
  14. S. Portal-Nunez, U. T. Shankavaram, M. Rao, N. Datrice, S. Atay, M. Aparicio, K. A. Camphausen, P. M. Fernandez-Salguero, H. Chang, P. Lin, D. S. Schrupp, S. Garantziotis, F. Cuttitta, and E. Zudaire, Aryl hydrocarbon receptor-induced adrenomedullin mediates cigarette smoke carcinogenicity in humans and mice, *Cancer Res.*, **72**(22), 5790 (2012).
  15. B. Dellinger, W. A. Pryor, R. Cueto, G. L. Squadrito, V. Hegde, and W. A. Deutsch, Role of free radicals in the toxicity of airborne fine particulate matter, *Chem. Res. Toxicol.*, **14**(10), 1371 (2001).
  16. M. Furue, M. Takahara, T. Nakahara, and H. Uchi, Role of AhR/ARNT system in skin homeostasis, *Arch. Dermatol. Res.*, **306**(9), 769 (2014).