

Effect of Essential Oil from *Cuscuta japonica* CHOISY on Proliferation and Migration in Human Skin Keratinocyte

In Ho Choi¹, Do Yoon Kim² and Hwan Myung Lee^{2*}

¹Department of Plant and Biomaterials Science, Gyeongsang National University, 33, Dongjin-ro, Jinju, Gyeongnam 52725, Korea

²Division of Cosmetics and Biotechnology, College of Life and Health Science, Hoseo University, 20, Hoseo-ro 79 beon-gil, Baebang-eup, Asan-city, Chungcheongnam-do 31499, Korea

Received September 23, 2021 / Revised November 25, 2021 / Accepted November 25, 2021

The migration and proliferation of keratinocytes are key events in re-epithelization, itself a major phase in the wound healing process. *Cuscuta japonica* Choisy (CJC) is used as a traditional medicine to improve liver, heart, and intestinal function, and its extracts are reported to have various biological properties such as whitening, anti-oxidancy, and an anti-acne effect. However, it is not yet known in particular whether or not CJC essential oil (CJCEO) affects skin regeneration. In the present study, we isolated CJCEO by solvent extraction and tested its effect on wound healing responses using normal human keratinocytes, namely HaCaT cells. We found that CJCEO induced proliferation as well as migration in HaCaT cells in a dose-dependent manner. Compared with a control group, CJCEO treatment at 250 µg/ml increased proliferation by 239.98±5.51% in HaCaT cells in a dose and migration by 124.86±6.06%. Moreover, the oil induced sprout outgrowth and, at 250 µg/ml, increased collagen synthesis by 148.56±15.47% in HaCaT cells. These results demonstrate that CJCEO may promote skin regeneration and wound healing by increasing the migration, proliferation, and collagen synthesis of HaCaT cells. We therefore suggest that CJCEO could be used as a cosmetic material.

Key words : Collagen synthesis, *Cuscuta japonica* CHOISY, keratinocyte, migration, proliferation

서 론

피부 표피의 90% 이상을 구성하는 각질형성세포(keratinocyte)는 피부의 재생피화(re-epithelialization)와 상처치유 과정에서 핵심적인 역할을 한다[3-5, 10]. 화학적·물리적 자극 및 손상에 의한 피부 상처 부위에는 keratinocyte growth factor, epidermal growth factor, transforming growth factor-β, interleukin-1 등의 다양한 사이토카인(cytokine) 및 증식인자(growth factor)들이 분비되기 시작하며[10, 18], 이러한 인자들에 의해 각질형성세포는 상처부위로 이주(migration)하기 시작하고, 동시에 세포의 증식(proliferation)이 유도된다[10, 15, 18, 24, 26]. 각질형성세포의 증식과 이주 활성화는 collagen, fibronectin 등 세포외기질 단백질의 합성을 촉진하여 피부 주름 및 탄력 개선과 피부 재생피화를 매개한다[10, 15, 19]. 이를 통해, 피부재생과 상처치유, 피부조직의 복원 및 장벽 강화 유도 등이 이루어지며, 피부의 노화 억제에 유도한다[5, 10, 15, 19, 23, 25].

메꽃과(Convolvulaceae)에 속하는 일년생 기생성 덩굴식물인 새삼(*Cuscuta japonica* CHOISY)은 산기슭, 길옆, 밭두렁 등에 많이 자생하고 주로 콩과 식물 및 국화과 식물에 기생한다[9]. 또한 우리나라에서는 새삼의 잘 익은 씨앗(종자) 말린 것을 토사자(생약명: *Cuscutae semen*)로 사용하고 있으며, 새삼(*Cuscuta japonica* CHOISY)과 실새삼(*C. australis* R.Be) 및 갯실새삼(*C. chinensis* Lam.)의 3종이 사용되고 있다[9, 21].

토사자는 혈압 강하 작용, 비장의 용적 감소, 장운동감소, 심장 수축력 증감, 심박수 감소[9], 항산화, 항돌연변이, 항균활성[14], 간장보호 기능[12] 및 아질산염소기능 활성이 있음이 보고되었고[6, 9, 12, 14], “천금요방 및 천금약방에 외용 도포시 여드름이나 기미를 제거하는데 효과가 있다고 기록되어 있다”[9]. 새삼 즙을 기미, 여드름 및 반점에 사용한다고 동의보감 본초에 기록되어 있으며[9, 21], 안면에 도포하고 마사지를 하면 여드름 및 주근깨와 잔주름에 대한 치료 효과가 있다고 하여 민간에서 사용하기도 한다[9, 21]. 또한 새삼추출물의 약리작용은 미백작용, 항산화, 여드름균 억제 효과가 있음이 보고되었다[2, 20, 21]. 그러나 새삼 유래 정유(*Cuscuta japonica* CHOISY Essential Oil, CJCEO) 성분 에 대한 피부생리활성에 관한 연구는 확인되지 않았다. 따라서 본 연구는 새삼 유래 정유(CJCEO)가 인체 각질형성세포의 증식과 이주 등에 미치는 효능을 확인함으로써 피부조직 재형성 및 상처치유 등의 소재로서 화장품 산업의 기능성 소재 응용 가능성을 검토하고자 하였다.

*Corresponding author

Tel : +82-41-540-9551, Fax : +82-41-540-9538

E-mail : kacsital@hoseo.edu

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.

재료 및 방법

시약

본 실험에 사용된 Phosphate buffered saline (PBS), fetal bovine serum (FBS), Dulbecco's modified Eagle medium (DMEM), penicillin/streptomycin (P/S)은 WelGENE (Deagu, Korea) 또는 Gibco BRL (Grand Island, NY, USA)로부터 구입하여 사용하였다. Type I collagen과 bovine serum albumin (BSA)은 BD Bioscience (Franklin Lakes, NJ, USA)와 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)로부터 구입하여 사용하였다. EZ-CyTox kit는 DAEIL LAB Service (Seoul, South Korea)로부터 구입하였고, recombinant human epidermal growth factor (EGF)는 R&D Systems (Minneapolis, MN, USA)에서 구입하여 사용하였다. Type I 및 IV collagen monoclonal antibody 과 type I 및 IV collagen polyclonal antibody는 abcam (Cambridge, MA, USA)에서 구입하였다.

새삼 유래 정유 추출

새삼 유래 정유는 용매추출법을 활용하여 추출하였으며, 건조하지 않은 새삼 5.145 kg을 헥산(Samchun, Korea) 18 l 넣어 실온에서 1 hr 동안 침지시켰다. 새삼 헥산 침지물은 여과 후 25°C에서 감압회전 농축(EYELA, Japan)하여 용매를 제거하고, 유백색의 콘크리트(concrete)를 확보하였다. 새삼 콘크리트는 에탄올(99% ethyl alcohol, Samchun, Korea) 1 l에 용해하고 -20°C에서 12 hr 정지 및 여과(Advantec No.5C, Toyo, Tokyo, Japan)하여 왁스(wax)성분을 제거하였다. 콘크리트 에탄올 추출액은 35°C에서 감압회전 농축하여, 에탄올을 제거하고 새삼 유래 정유를 확보하였다.

새삼 유래 정유의 성분분석

새삼 유래 정유의 성분분석은 한국기초과학지원연구원 (Korea Basic Science Institute; KBSI)에 의뢰하여 Gas Chromatography/Mass Spectrometer (GC/MS)를 이용하여 분석하였다. GC/MS는 6890N GC/5975i MS (Agilent, USA)를 사용하고, 컬럼(column)은 DB-5MS (30 m × 0.25 μm)를 사용하여 분석하였다. 새삼 유래 정유의 성분분석과 동정은 mass spectral data (Wiley7NIST05.L Mass Spectral library)를 이용하여 비교 분석하였으며, 각 분석성분의 retention index (RI) value는 표준물질 n-alkanes (C₇ - C₄₀)과 Kovats index를 이용하여 비교 분석 및 동정하였다.

세포 배양 및 생존율 측정

본 연구에 사용된 각질형성세포(human skin keratinocyte cell line; HaCaTs)은 대구 경북 한방산업진흥원에서 분양 받아 사용하였다. HaCaTs은 DMEM 배지에 10% FBS와 1% P/S를 첨가하여 37°C, 5% CO₂ 조건 하에서 배양(passage 20~35)

하여 실험에 사용하였다. 세포생존율 측정은 HaCaTs을 96 well plate에 3×10³ cells/well로 분주한 후, 37°C, 5% CO₂ 조건에서 12 hr 배양하고, 새삼 유래 정유를 0.1 μg/ml, 1 μg/ml, 10 μg/ml, 100 μg/ml, 250 μg/ml로 처리하여 48 hr 배양하였다. Ez-Cytox solution을 10 μl/well로 처리하여 37°C에서 30 분 동안 반응 시킨 후 multi-well plate reader (Synergy 2, Bio-Tek Instruments, Winooski, VT, USA)를 사용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

세포 증식률 측정

HaCaTs의 증식률은 5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU) incorporation assay (Roche, Indianapolis, IN, USA)를 이용하여 확인하였다. HaCaTs을 96-well plate에 3×10³ cells/well로 분주하고, 새삼 유래 정유 0.1 μg/ml, 1 μg/ml, 10 μg/ml, 50 μg/ml, 100 μg/ml, 250 μg/ml과 양성대조군으로 EGF 50 ng/ml을 처리한 후, 36 hr 배양하였다. BrdU-labeling solution을 각 well에 처리한 후, 12 hr 배양하고 세포고정 및 peroxidase-labeled anti-BrdU monoclonal antibody을 넣고 90분 동안 실온에서 배양 후 luminometer (Synergy 2, Bio-Tek Instruments, Winooski, Vermont, USA)을 이용하여 BrdU antibody complexes를 측정하였다.

세포 이주률 측정

HaCaTs의 이주률의 측정은 48-well microchemotaxis Boyden chambers (Neuro-Probe, Gaithersburg, Maryland, USA)를 이용하였다. Lower chamber에 새삼 유래 정유를 0.1 μg/ml, 1 μg/ml, 10 μg/ml, 50 μg/ml, 100 μg/ml, 250 μg/ml 및 양성대조군인 EGF를 1 ng/ml로 주입하고, 0.1 mg/ml type I collagen으로 코팅된 polycarbonate membrane (8 μm pores, Neuro-Probe)을 올려주었다. Upper chamber에 HaCaTs을 5×10⁴ cells/well로 주입하고 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 3 hr 동안 배양한 후, membrane을 Diff-Quick solution (Kobe, Japan)으로 고정 및 염색하여 이주된 세포를 측정하였다.

Collagen Sprout Assay

HaCaTs (2×10⁷ cells/ml)과 type I collagen, 10× DMEM 및 1 N NaOH (pH 7.2)를 혼합하여, 24 well plate에 5 μl 씩 spotting하고, 20분간 상온에서 건조하였다. Collagen spot에 새삼 유래 정유를 50 μg/ml, 250 μg/ml과 양성대조군인 EGF (50 ng/ml)을 각각 처리하고 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 48 hr 동안 배양하였다. Diff-Quik을 이용하여 collagen spot을 고정 및 염색시킨 후 Scion Image software로 collagen spot의 outgrowth를 측정하고 백분율로 환산하였다.

Collagen 생합성을 측정

HaCaTs의 collagen 생합성은 sandwich ELISA를 이용하여

측정하였다. 96-well plate에 capture antibody (type I & IV collagen monoclonal antibody)를 코팅한 후, blocking buffer (1% BSA/5% Sucrose/PBS)로 실온에서 90분 동안 blocking 하였다. 새삼 유래 정유 처리(0 µg/ml, 50 µg/ml, 100 µg/ml, 250 µg/ml) 후, 준비된 HaCaTs conditioned medium을 capture antibody가 coating된 well에 각각 주입하고 실온에서 90분간 반응시켰다. Biotin-conjugation된 type I과 IV collagen polyclonal antibody를 처리하고, 실온에서 90분간 반응시킨 후, streptavidin-horseradish peroxidase conjugate를 각 well에 처리 후 실온에서 1 hr 반응시켰다. Chemiluminescent substrate (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA)를 처리 후 luminometer를 이용하여 세포의 type I과 type IV collagen의 생합성율을 비교하였다.

통계처리

실험결과는 mean ± S.E.M으로 표기하였으며, Graphpad Prism software (version 5.00 for Windows, San Diego, CA, USA) 프로그램을 이용한 student's *t*-test 방법을 통해 유의성 여부를 분석하였고, 그 결과 *p*<0.05일 경우에 한하여 유의성을 인정하였다.

결과 및 고찰

새삼 유래 정유의 성분분석

GC/MS를 이용하여 분석한 새삼 유래 정유의 성분은 (+)-Asarinin이 48.74%로 가장 높은 함량을 차지하고 Nonacosane

Table 1. The component in the *Cuscuta japonica* CHOISY essential oil

Component name	RT ^a	RI ^b		Area (%)
		Observed	Literature	
1 Pentacosane	94.583	2,500	2,500	8.70
2 Heptacosane	100.403	2,700	2,700	4.45
3 Nonacosane	104.284	2,900	2,900	32.45
4 (+)-Asarinin	107.984	3,142	-	48.74
5 γ-Sitosterol	110.105	3,294	3,790	5.65

^aRetention time, ^bRetention indices (RI) on a DB5-MS capillary column.

(32.45%), Pentacosane (8.70%), γ-Sitosterol (5.65%), Heptacosane (4.45%) 순으로 확인되었다(Table 1, Fig. 1).

(+)-Asarinin은 피부 섬유아세포(fibroblast)의 콜라겐 합성, collagenase 활성 억제, 피부 탄력 향상 및 미백 효과가 확인되었고, γ-Sitosterol은 항암, 항동맥경화 및 항당뇨 효과 등이 보고되었다[1, 8, 13, 22]. 이러한 기존 연구결과는 새삼 유래 정유가 (+)-Asarinin 및 γ-Sitosterol 등의 활성 물질로 구성되어 있음으로 인해, 피부조직을 구성하는 섬유아세포 및 melanocyte 이외의 세포에서도 조직재형성 및 상처치유 등의 다양한 생리 활성을 나타낼 수 있음을 예측할 수 있다.

새삼 유래 정유의 각질형성세포 세포생존율

새삼 유래 정유가 각질형성세포(HaCaTs)의 세포생존율에 미치는 농도 범위를 결정하기 위하여 새삼 유래 정유를 0.1 µg/ml ~ 250 µg/ml로 처리한 후 48 hr 배양 후 대조군과 비교

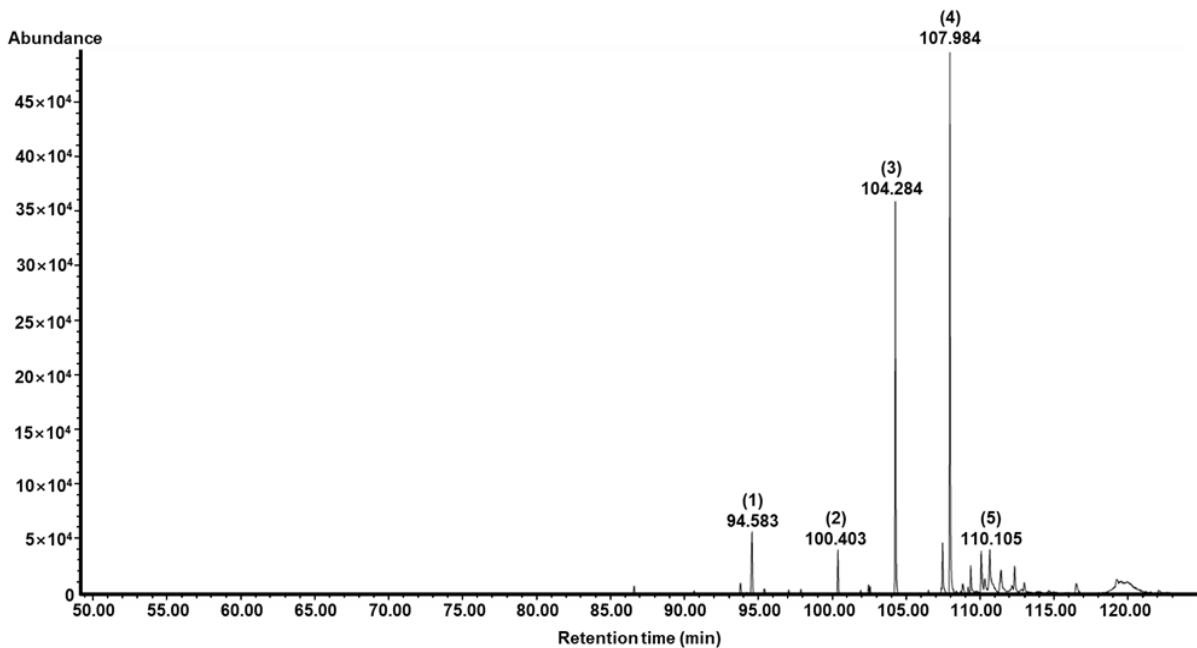


Fig. 1. GC/MS total ion chromatogram of *Cuscuta japonica* CHOISY essential oil. Numbers in each peak indicate compound numbers (upper) and retention times (lower) of the 5 compounds shown in Table 1.

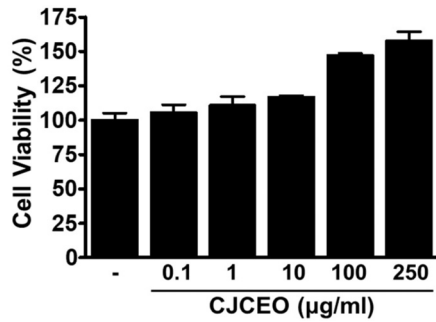


Fig. 2. Cell viability in HaCaT exposed to *Cuscuta japonica* CHOISY essential oil (CJCEO). The HaCaTs were incubated with in the presence or absence of CJC essential oils (0.1 µg/ml~250 µg/ml) for 48 hr. Cell viability in the quiescent state was expressed as 100% (n=3). Each value represents the mean ± S.E.M. **p*<0.05 compared with the quiescent state. CJCEO, Essential oil from *Cuscuta japonica* CHOISY.

하였다(Fig. 2). 새삼 유래 정유는 대조군에 비해 0.1 µg/ml (105.63±5.62%), 10 µg/ml (116.88±0.85%), 250 µg/ml (157.79±6.67%)의 세포생존율을 나타내어, 세포에 미치는 독성 및 세포 증식 억제 현상은 관찰되지 않았다. 본 새삼 유래 정유의 세포 생존율 결과를 바탕으로 세포증식, 세포이주 및 collagen sprout growth assay 및 collagen 생합성 측정에 적용하였다.

새삼 유래 정유의 각질형성세포 증식 유도 효능

각질형성세포의 증식은 피부재생과 상처치유 등의 진행에서 필수적인 과정이며, 본 연구에서는 BrdU incorporation assay를 활용하여 새삼 유래 정유가 HaCaTs의 증식에 미치는 영향을 확인하였다. 새삼 유래 정유는 대조군에 비해, 10 µg/ml에서부터 127.69±9.14%의 유의한 각질형성세포 증식을 유도하였으며, 250 µg/ml까지 농도의존적 유도활성을 나타내었

다. 특히, 새삼 유래 정유 250 µg/ml에서는 239.98±5.51%의 증식을 유도하여, 양성대조군인 EGF (50 ng/ml)에 의해 유도된 214.16±13.80% 보다 높은 증식률을 나타내었다(Fig. 3A).

새삼 유래 정유의 각질형성세포 이주 유도활성

새삼 유래 정유의 각질형성세포 이주에 미치는 영향은 Microchemotaxis Boyden chamber를 이용하여 확인하였다. 양성대조군인 EGF (1 ng/ml)은 303.71±18.06%의 이주를 유도하였으며, 새삼 유래 정유는 각질형성세포의 이주를 농도의존적으로 유도하였으며, 250 µg/ml에서 대조군(control)에 비해 124.86±6.06%의 유의한 이주 유도활성을 나타내었다(Fig. 3B).

새삼 유래 정유의 HaCaT Collagen Sprout Out Growth 에 미치는 영향

새삼 유래 정유의 HaCaTs 증식과 이주 유도 활성을 3차원적 epidermis 모델에서 재확인하고자 collagen sprout out growth 모델을 이용하여 입체적인 세포의 증식과 이주 유도 활성을 측정하였다[10]. 양성대조군인 EGF (50 ng/ml)에서는 457.92±28.66%의 out growth를 나타내었으며, 새삼 유래 정유는 50 µg/ml에서 140.20±11.83%, 250 µg/ml에서는 191.81±13.00%의 out growth 유도 활성을 나타내었다(Fig. 4A, Fig. 4B). 이러한 결과는 새삼 유래 정유의 HaCaTs 증식 및 이주 유도활성(Fig. 3A, Fig. 3B)이 3차원적 모델에서도 나타남으로써, *in vivo*에서 적용 가능성을 예견할 수 있다.

새삼 유래 정유의 Collagen 합성 평가

Extracellular matrix (ECM)의 주요 구조 성분인 collagen은 피부의 탄력에 기여하며[7, 11], 피부 및 인체의 유기 물질의 대부분을 형성하는데, 특히 피부의 진피조직에 다량 존재한다 [11, 16]. Collagen은 type I collagen이 대부분을 차지하며, 자외선으로부터 피부 손상을 막아주고 수분 균형을 유지하여

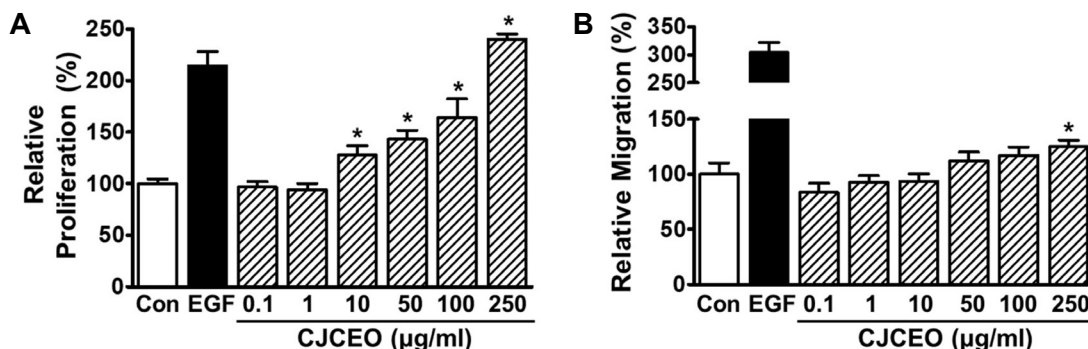


Fig. 3. Effect of *Cuscuta japonica* CHOISY essential oil on proliferation and migration in HaCaTs. (A) The HaCaTs were incubated with in the presence or absence of *Cuscuta japonica* CHOISY essential oils (0.1 µg/ml ~ 250 µg/ml) for 48 hr and then subject to BrdU assay. (B) Cell migration analysis using Boyden chamber assay. Cell proliferation and migration in the quiescent state was expressed as 100% (n=3). Each value represents the mean ± S.E.M. EGF (50 ng/ml in proliferation assay; 1 ng/ml in migration assay) response in each assay was used as a positive control. **p*<0.05 compared with the quiescent state. Con, Control; EGF, epidermal growth factor; CJCEO, essential oil from *Cuscuta japonica* CHOISY.

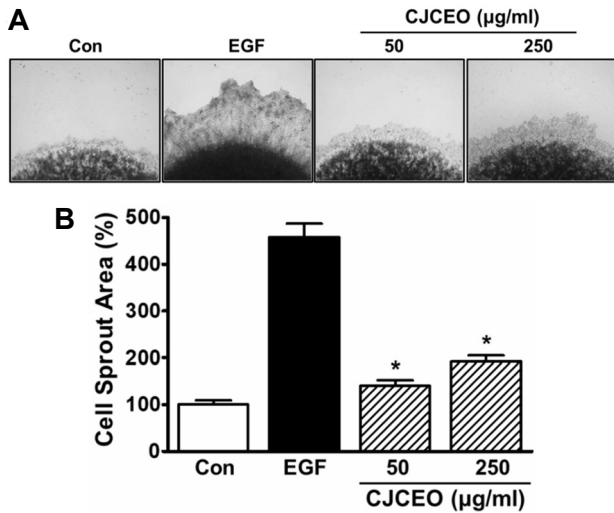


Fig. 4. Effect of CJCEO on the sprout formation of HaCaT. (A) Cells were mixed with collagen and then the mixture was dropped on a 24-well plate. Spots were incubated without or with CJCEO (50 µg/ml ~ 250 µg/ml) for 48 hr. Spots and sprout outgrowth cells were stained with Diff-Quick solution and then images were obtained using a microscopy. (B) The statistical results obtained from panel (A). The level in the quiescent state (Control) was expressed as 100% (n=3). EGF (50 ng/ml) response was used as a positive control. Each value represents the mean ± S.E.M. *Denotes a significant difference from control group, with $p < 0.05$. Con, Control; EGF, epidermal growth factor; CJCEO, Essential oil from *Cuscuta japonica* CHOISY.

주름 예방 및 탄력적인 피부를 유지하는데 필수적인 요소이다 [11, 25]. 피부 조직에서 collagen의 항상성 조절은 주름 생성, 상처치유 및 피부재생 등과 밀접한 연관성을 가지며, 인체를 구성하는 대부분의 조직을 구성하는 세포에서 생성되어 세포 외기질로 분비된다[15, 16]. 각질형성세포에서 collagen의 생합성이 보고되었으며, 특히 type I 및 type IV collagen의 합성

은 basement membrane을 포함한 피부조직의 재형성 및 유지에 기여하게 된다[17].

새삼 유래 정유의 각질형성세포의 collagen 합성에 미치는 영향을 확인하기 위해 sandwich ELISA로 분석하였다. 새삼 유래 정유는 HaCaTs의 type I collagen 합성을 농도 의존적으로 유도함을 확인하였다(Fig. 5A). 특히, 100 µg/ml에서 대조군(control)에 비해 $135.97 \pm 5.76\%$ 및 250 µg/ml에서 $148.56 \pm 15.47\%$ 로 type I collagen의 세포내 합성 및 세포외 분비를 유도하였다. 반면, type IV collagen의 생합성 및 분비 과정에는 통계적으로 유의한 영향을 미치지 않았다(Fig. 5B).

본 연구는 새삼 유래 정유의 인체 유래 각질형성세포에 대한 세포생존율, 증식,이주 및 collagen 생합성에 대한 효능 확인을 통해, 기능성 화장품 소재로서 활용 가능성을 규명하고자 하였다. 새삼 유래 정유는 피부조직을 형성하는 각질형성세포에 대한 유의한 독성이 확인되지 않았으며, 조직 재형성과 상처치유 과정에서 필수적 요소인 세포 증식과 이주를 농도 의존적으로 유도함으로써, 피부조직 모델인 “bricks and mortar model” 중 벽돌(brick)의 기능을 강화할 수 있는 소재로서의 가능성을 확인 할 수 있었다. 또한 새삼 유래 정유는 각질형성세포에서 type I collagen 생합성과 분비를 효과적으로 유도하여, 회반죽(mortar) 기능 유지 및 조절 과정에서도 유의한 효과를 나타낼 수 있을 것으로 사료된다.

피부조직 및 장벽의 구조는 벽돌담에 비유하여 ‘bricks and mortar model’로 설명할 수 있으며[27], 본 연구 결과의 새삼 유래 정유는 피부조직 모델인 “bricks and mortar model” 중 벽돌의 역할을 하는 각질형성세포의 증식과 이주를 유도하고, 회반죽의 역할을 하는 collagen의 생합성 및 분비를 활성화함으로써, 피부의 재형성과 상처치유 및 장벽강화 등의 활성을 예측할 수 있게 해 준다. 그러나, 새삼 유래 정유를 기능성 화장품, 의약품 및 기능성식품 소재로 활용하기 위해서는, 구성성분 및 안전성에 대한, 지속적인 연구와 분석과정이 필요할 것으로 사료된다.

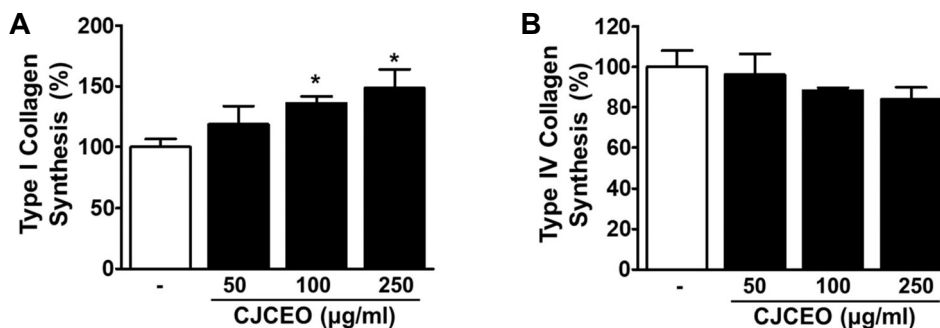


Fig. 5. Effect of *Cuscuta japonica* CHOISY essential oil on the synthesis of collagen type I and IV in HaCaT. HaCaT was incubated with or without *Cuscuta japonica* CHOISY essential oil (50 µg/ml ~ 250 µg/ml) for 48 hr. The synthesis of collagen type I and IV was examined by sandwich ELISA. The synthesis of collagen type I and IV in the quiescent state was considered as 100%, respectively (n=3). Results represent the mean ± S.E.M. * $p < 0.05$ compared with the quiescent state. CJCEO, Essential oil from *Cuscuta japonica* CHOISY.

감사의 글

이 논문은 2020~2021년도 경상국립대학교 대학회계 연구비 지원에 의하여 연구되었음.

The Conflict of Interest Statement

The authors declare that they have no conflicts of interest with the contents of this article.

References

- Balamurugan, R., Durairandityan, V. and Ignacimuthu, S. 2011. Antidiabetic activity of γ -Sitosterol isolated from *Lippia nodiflora* L. in streptozotocin induced diabetic rats. *Eur. J. Pharmacol.* **667**, 410-418.
- Chang, S. J. and Suk, K. D. 2006. Inhibitory effects on melanin biosynthesis and tyrosinase, cytotoxicity in clone M-3 and antioxidant activity by *Cuscuta japonica*, *C. australis*, and *C. chinensis* extracts. *Yakhak Hoeji* **50**, 421-428.
- García, J. L., Asadinezhad, A., Pacherník, J., Lehocký, M., Junkar, I., Humpolíček, P., Sába, P. and Valášek, P. 2010. Cell proliferation of HaCaT keratinocytes on collagen films modified by argon plasma treatment. *Molecules* **15**, 2845-2856.
- Gibbs, S., Backendorf, C. and Ponec, M. 1996. Regulation of keratinocyte proliferation and differentiation by all-trans-retinoic acid, 9-cis-retinoic acid and 1, 25-dihydroxy vitamin D3. *Arch. Dermatol. Res.* **288**, 729-738.
- Haase, I., Evans, R., Pofahl, R. and Watt, F. M. 2003. Regulation of keratinocyte shape, migration and wound epithelialization by IGF-1-and EGF-dependent signalling pathways. *J. Cell Sci.* **116**, 3227-3238.
- Heon, Y. H., Kim, M. H. and Lee, M. R. 2008. Antioxidative and antimutagenic activity of ethanol extracts from *Cuscutae Semen*. *Kor. J. Food Cook. Sci.* **24**, 46-51.
- Huang, C., Ma, W. Y., Dawson, M. I., Rincon, M., Flavell, R. A. and Dong, Z. 1997. Blocking activator protein-1 activity, but not activating retinoic acid response element, is required for the antitumor promotion effect of retinoic acid. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **94**, 5826-5830.
- Jin, M. H., Park, S. K. and Hwang, S. J. 2018. Composition for enhancing elasticity and whitening. Korea patent 10-1909237.
- Joe, W. A., Cheon, S. J., Jang, M. J., Sung, J. Y., Jung, S. H., Kang, B. Y., Choi, E. Y., Jeong, Y. S., Lee, J. S., Choi, H. J., Baek, W. J., An, B. J., Lee, C. E. and Lee, J. T. 2006. Study of the cosmeceutical activities of *Cuscuta japonica* Choisy. *Kor. J. Herbology* **21**, 103-108.
- Kim, D. Y., Hwang, D. I., Yoon, M. S., Choi, I. H. and Lee, H. M. 2016. Effect of hydrosol extracted from *Chrysanthemum boreale* Makino flower on proliferation and migration in human skin keratinocyte. *J. Soc. Cosmet. Sci. Kor.* **42**, 95-101.
- Kim, M. S., Park, T. J., Lim, J. S. and Kim, S. Y. 2019. Effect of *Agaricus biorenovate* extract on collagen synthesis and matrix metalloproteinase-1 production in human dermal fibroblast. *KSBB J.* **34**, 49-53.
- Lee, M. Y. and Joo, J. S. 1989. Effect of *Cuscutae* extract on experimentally induced liver damage in rabbits. *J. Kor. Soc. Food Nutr.* **18**, 333-337.
- Li, C. M., Liu, Y., Xie, Z. and Lu, Q. L. 2015. Stigmasterol protects against Ang II-induced proliferation of A7r5 aortic smooth muscle cell-line. *Food Funct.* **6**, 2266-2272.
- Oh, D. H., Ham, S. S., Park, B. K., Ahn, C. and Yu, J. Y. 1998. Antimicrobial activities of natural medicinal herbs on the food spoilage or foodborne disease Microorganisms. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **30**, 957-963.
- O'Toole, E. A. 2001. Extracellular matrix and keratinocyte migration, *Clin. Exp. Dermatol.* **26**, 525-530.
- Perlish, J. S., Lemlich, G. and Fleischmajer, R. 1988. Identification of collagen fibrils in scleroderma skin. *J. Invest. Dermatol.* **90**, 48-54.
- Petersen, M. J., Woodley, D. T., Stricklin, G. P. and O'Keefe, E. J. 1990. Enhanced synthesis of collagenase by human keratinocytes cultured on type I or type IV collagen. *J. Invest. Dermatol.* **94**, 341-346.
- Santoro, M. M. and Gaudino, G. 2005. Cellular and molecular facets of keratinocyte reepithelialization during wound healing. *Exp. Cell Res.* **304**, 274-286.
- Schultz, G. S. and Wsocki, A. 2009. Interactions between extracellular matrix and growth factors in wound healing. *Wound Repair Regen.* **17**, 153-162.
- Suk, K. D., Lee, S. H. and Shin, K. K. 2004. Growth-inhibitory effects of *Cuscuta japonica* Choisy's and *C. australis* R.Be's extracts against *Propionibacterium acnes*. *Kor. J. Pharmacogn.* **35**, 375-379.
- Suk, K. D., Lee, S. H. and Bae, J. M. 2004. Inhibitory effects of *Cuscuta japonica* extract and *C. australis* extracts on mushroom tyrosinase activity. *Kor. J. Pharmacogn.* **35**, 380-383.
- Sundarraj, S., Thangam, R., Sreevani, V., Kaveri, K., Gunasekaran, P., Achiraman, S. and Kannan, S. 2012. γ -Sitosterol from *Acacia nilotica* L. induces G2/M cell cycle arrest and apoptosis through c-Myc suppression in MCF-7 and A549 cells. *J. Ethnopharmacol.* **141**, 803-809.
- Tuan, T. L., Keller, L. C., Sun, D., Nimni, M. E. and Cheung, D. 1994. Dermal fibroblasts activate keratinocyte outgrowth on collagen gels. *J. Cell Sci.* **107**, 2285-2289.
- Xue, M., Thompson, P., Kelso, I. and Jackson, C. 2004. Activated protein C stimulates proliferation, migration and wound closure, inhibits apoptosis and upregulates MMP-2 activity in cultured human keratinocytes. *Exp. Cell Res.* **299**, 119-127.
- Yang, B., Ji, C., Kang, J., Chen, W., Bi, Z. and Wan, Y. 2009. Trans-Zeatin inhibits UVB-induced matrix metalloproteinase-1 expression via MAP kinase signaling in human skin fibroblasts. *Int. J. Mol. Med.* **23**, 555-560.
- Yoon, M. S., Won, K. J., Kim, D. Y., Hwang, D. I., Yoon, S. W., Kim, B. and Lee, H. M. 2014. Skin regeneration effect and chemical composition of essential oil from *Artemisia Montana*. *Nat. Prod. Commun.* **9**, 1619-1622.
- Hong, S. P. 2010. Bricks and mortar: two compartment system. *Kor. Soc. Skin Bar. Res.* **12**, 35-40.

초록 : 새삼(*Cuscuta japonica* CHOISY) 유래 정유의 피부 각질형성세포 증식 및 이주에 미치는 효과

최인호¹ · 김도윤² · 이환명^{2*}

(¹경상국립대학교 항노화신소재과학과, ²호서대학교 생명보건대학 화장품생명공학부)

피부의 재생피화는 상처 치유의 주요 과정으로 각질형성세포의 이주과 증식을 포함한다. 본 연구는 새삼 유래 정유(*Cuscuta japonica* CHOISY essential oil, CJCEO)의 피부각질형성세포(HaCaTs) 증식 및 이주 유도 활성 평가를 통해 피부재상피화 및 상처치유 활성을 확인하였다. 새삼 유래 정유에 의한 HaCaTs의 증식은 10~250 µg/ml까지 농도의존적인 유도활성을 나타내었으며, 250 µg/ml에서 대조군(control)에 비해 239.98±5.51%의 증식을 유도하였다. 또한, 새삼 유래 정유는 250 µg/ml에서 HaCaTs의 이주를 124.86±6.06% 증가시켰다. 새삼 유래 정유의 증식과 이주 유도 활성은 collagen sprout out growth를 통해 재확인되었으며, 50 µg/ml에서 140.20±11.83% 및 250 µg/ml에서 191.81±13.00%의 유도를 각각 나타내었다. 뿐만 아니라, 새삼 유래 정유는 type I collagen의 세포 내 생합성을 유의하게 증가시켰다. 이러한 결과들은 새삼 유래 정유가 정상적인 피부재상피화 과정뿐만 아니라, 상처치유 등의 과정에서 피부조직재생 촉진을 유도할 수 있을 것으로 예측되어 향후, 화장품 소재로서 응용가능성이 검증되었다.