



*Propionibacterium acnes*에 의한 염증반응에서 *Eurya persicifolia* Gagnep. 추출물의 억제효과

신진학 · 서수련* 

강원대학교 분자생명과학과

Anti-inflammatory activity of *Eurya persicifolia* Gagnep. extract in *Propionibacterium acnes*-induced inflammatory signaling by regulation of NF- κ B activity

Jin Hak Shin and Su Ryeon Seo* 

Department of Molecular Bioscience, College of Biomedical Science, Institute of Bioscience & Biotechnology, Kangwon National University, Chuncheon 24341, Republic of Korea

(Received July 31, 2019; Revised August 13, 2019; Accepted August 14, 2019)

Acne is a chronic inflammatory disease outbreak in the sebaceous glands within the hair follicle. The proliferation of *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*) causes monocytes to stimulate secretion of inflammatory cytokines. A number of studies proposed the inhibitory effects of *P. acnes*-mediated inflammation by several natural extracts. However, studies on the effect of *Eurya persicifolia* Gagnep. (*E. persicifolia*) extracts on the inflammatory responses by *P. acnes* have not been explored yet. In this study, we investigated the anti-inflammatory effect of *E. persicifolia* extract in the inflammatory reactions induced by *P. acnes*. We found that *E. persicifolia* extract successfully diminished the expression levels of inflammatory mediators such as IL-1 β , IL-6, TNF- α , and iNOS in *P. acnes*-activated mouse macrophage RAW 264.7 cells. We found that the immunosuppressive effect of *E. persicifolia* extract in the *P. acnes*-activated inflammatory signaling is mediated by the regulation of NF- κ B transcriptional activation, which is a key regulator of inflammatory cytokine expression. Our results suggest that *E. persicifolia* extract held potentials for the treatment of *P. acnes* by suppressing NF- κ B signaling pathways.

Keywords: *E. persicifolia* Gagnep., *Propionibacterium acnes*, acne, inflammation, pro-inflammatory cytokine

여드름은 과도한 피지생성으로 인한 모공막힘이나 피지선에서의 염증반응으로 나타나는 만성 염증 질환으로, 세계적으로 흔한 질병이다(Omer *et al.*, 2017; Wang *et al.*, 2017). 여드름은 스트레스, 유전, 호르몬의 불균형, 스트레스, 세균감염과 같은 여러 가지 요인에 의해 일어나는 것으로 알려져 있다. 최근에는 환경오염, 약물남용으로 인해 다양한 연령층에서 여드름이 나타난다(Suh and Kwon, 2015).

Propionibacterium acnes (*P. acnes*)는 그람 양성 혐기성 세균으로 여드름의 염증반응을 증가시키는데 중요한 역할을 수행한다(Thiboutot *et al.*, 2014). *P. acnes*는 대식세포에서 인터루킨(interleukin)-1 β 와 IL-8, 종양괴사인자(tumor necrosis factor)- α 를 포함한 염증성 사이토카인을 생산하도록 유도하여 여드름을 유발한다. *P. acnes*는 TLR2와 TLR4에 의해 매개되어 nuclear factor- κ B (NF- κ B)를 활성화하여 염증성 사이토카인의 발현을 유도하는 것으로 알려져 있다(Heymann, 2006; Grange *et al.*, 2009).

전사인자인 NF- κ B는 염증반응을 매개하는 염증성 사이토

*For correspondence. E-mail: suryeonseo@kangwon.ac.kr;
Tel.: +82-33-250-8541; Fax: +82-33-241-4627

카인의 발현을 조절한다(Liu *et al.*, 2017). NF- κ B의 활성화는 NF- κ B의 억제제인 I κ B에 의해 조절된다. NF- κ B는 I κ B와 상호작용하여 비활성 상태로 세포질내에 존재한다. I κ B가 인산화되면 NF- κ B에서 분리된다. 이로 인해 NF- κ B는 활성화되어 핵으로 이동하여 IL-1 β , IL-6, COX-2, iNOS와 같은 염증성 사이토카인의 발현을 유도한다(Libermann and Baltimore, 1990; Bonizzi and Karin, 2004).

여드름 치료에는 항안드로겐제와 같은 스테로이드 제제와 항생제 및 비타민 A 유도체를 많이 사용하고 있다(Yoon *et al.*, 2006). 특히 항생제는 여드름의 치료제로 가장 많이 사용되고 있지만, 부작용이 큰 문제점으로 여겨지고 있다. Doxycycline, tetracycline, clindamycin 및 erythromycin과 같은 항생제를 오랫동안 사용하면 내성균의 생성과 기관의 손상을 유발하는 것으로 알려져 있다(Swanson, 2003; Tan, 2003; Park *et al.*, 2004). 최근에는 기존의 항생제에서 나타나는 독성과 부작용은 적고, 항균작용은 강한 식물성 천연물질을 찾기 위한 연구가 활발히 진행되고 있다.

E. persicifolia Gagnep. (*E. persicifolia*)는 차나무과에 속하며, 한국, 중국, 일본, 인도에 분포한다(Motooka *et al.*, 2015). 예로부터 중국에서는 잎과 열매를 관절염과 고창에 사용했다(Yang Kuo *et al.*, 2013). 또한 항산화제(Rosalind *et al.*, 2013), 항균활성(Thingbaijam *et al.*, 2011)을 가지고 있는 것으로 알려져 있다.

그러나, *P. acnes*에 의한 염증반응에서 *E. persicifolia* 추출물의 억제효과에 관한 연구는 알려져 있지 않다. 따라서, 본 논문에서는 *P. acnes*에 의해 유도되는 염증반응에서 *E. persicifolia* 추출물이 항염효과를 가지는 지 확인하고자 하였으며, 그 신호 전달 경로를 탐색하였다.

재료 및 방법

실험재료

E. persicifolia Gagnep. (*E. persicifolia*)의 잎과 줄기를 99.9% 메탄올로 상온에서 3일 동안 2시간 간격으로 15분씩 초음파 처리하였다. 추출물은 여과 후 회전증발기(N-1000S WD, EYELA)를 이용하여 농축하였다. 농축된 시료는 건조기(Modulspin 40, Biotron Corporation, Modul spin 40)로 건조하였다. 추출과정은 한국생명공학연구원 해외생물소재센터에서 이루어졌고, 분양 받은 추출물은 DMSO에 녹여서 실험에 사용하였다(분양번호 FBMI39-028). DMSO를 처리한 균을 대조군으로 모든 실험을 수행하였다.

P. acnes 준비

KCTC생물자원센터에서 여드름 유발균인 *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*)(KCTC3314)를 분양 받아 사용하였다. 여드름 유발균은 reinforced clostridial medium (Merck Millipore)에서 37°C, 혐기 조건으로 배양하였다. *P. acnes*를 80°C에서 30분간 열처리하여 사멸 시킨 후 실험을 수행하였다.

세포배양

RAW 264.7 세포주는 ATCC에서 구입하였고, 10% fetal bovine serum (FBS) (Gibco), 1% penicillin과 streptomycin (Gibco)을 DMEM (Gibco) 배지에 첨가하여 37°C, 5% CO₂ incubator에서 배양하였다.

Cell viability assay

RAW 264.7 세포주를 24시간 배양한 후 100 μ g/ml 농도의 *E. persicifolia* 추출물을 처리하여 3, 6, 12시간 배양하거나 10, 50, 100, 200 μ g/ml 농도의 *E. persicifolia* 추출물을 처리하여 12시간 배양하였다. Trypan blue dye (Sigma Aldrich)를 사용하여 세포를 염색한 후 hemocytometer로 살아있는 세포의 수를 센 후 단위 부피당 세포의 수를 계산하였다.

Reporter gene assay

RAW 264.7 세포주에 NF- κ B reporter gene을 transfection 하고 24시간 후 50 μ g/ml의 *E. persicifolia* 추출물을 30분 전 처리한다. Heat-killed *P. acnes*를 1×10^6 CFU 처리하여 6시간 동안 배양하였다. 이후 세포를 lysis하여 luminometer를 이용해 luciferase activity를 측정하였다.

RNA 분리 및 quantitative PCR

배양한 세포에서 배지를 제거하고 TRIzol reagent (Invitrogen) 1 ml을 처리하여 RNA를 분리한다. cDNA는 MMTV reverse transcriptase (Promega)를 이용하여 합성하고 quantitative PCR을 수행한다. Quantitative PCR은 SYBR Green real-time PCR master mix (TOYOBO)를 사용하여 수행한다. 모든 결과는 CFX Manager™ software version 3.0 (Bio-Rad)을 이용하여 분석하였으며, β -actin을 이용하여 normalization 하였다. 사용한 primer는 다음과 같다. β -Actin forward: 5'-AGAGGGA AATCGTGCGTGAC-3', β -actin reverse: 5'-CGATAGTGAT GACCTGACCGT-3'; IL-1 β forward: 5'-CCTCACAAGCAG AGCACAAG-3', IL-1 β reverse: 5'-TGTCTTGCCGAGGA CTAAG-3', IL-6 forward: 5'-AGTTGCCTTCTGGGACTGA-3',

IL-6 reverse: 5'-TTCTGCAAGTGCATCATCGT-3', iNOS forward: 5'-ATCATGGACCACCACACAGC-3', iNOS reverse: 5'-GGTGTGAAGGCGTAGCTGA-3'; TNF- α forward: 5'-TAGCCACGTCGTAGCAAAC-3', TNF- α reverse: 5'-GGAGGGTGACTTTCTCCTGG-3'.

Western blot

RAW 264.7 세포주에 *E. persicifolia* 추출물 25 또는 50 $\mu\text{g/ml}$ 을 30분간 전처리 한 후 heat-killed *P. acnes*를 1×10^6 CFU로 6시간 처리한다. Lysis buffer [150 mM NaCl, 1 mM EGTA, 10% glycerol, 20 mM Tris-Cl; pH 7.9, 1% Nonidet P-40, 10 mM NaF, 1 mM Na_3VO_4 , 1 $\mu\text{g/ml}$ aprotinin, 1 $\mu\text{g/ml}$ leupeptin, and 0.2 mM phenylmethylsulfonyl fluoride]를 이용하여 세포를 lysis한다. Cell lysates는 SDS-PAGE를 수행한 후 anti- β -actin (Cell Signaling Technology)와 anti-mouse IL-1 β /IL-1F2 (R&D Systems), anti-p-I κ B α (Cell Signaling Technology) antibody를 이용하여 단백질 발현여부를 확인하였다.

통계처리

모든 실험결과는 3회 반복 실험에 대한 평균(mean) \pm 표준편차(SD)로 표시하였고, unpaired student's *t*-test를 시행하여 $p < 0.05$ 인 경우 유의적인 것으로 판정하였다.

결 과

E. persicifolia 추출물에 의한 세포독성 측정

*P. acnes*에 의해 유도된 염증반응에서 *E. persicifolia* 추출물의 항염효과를 확인하기 위해, 염증반응의 주요 조절 세포인 대식세포에 *E. persicifolia* 추출물이 독성을 나타내는 농도와 시간을 확인하였다. 농도에 따른 세포독성 효과를 확인하기 위해서, RAW 264.7 세포주에 *E. persicifolia* 추출물을 10, 50, 100, 200 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도로 처리하였다. 12시간 후 Trypan blue dye exclusion으로 세포생존율을 확인한 결과 10 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 세포생존율은 97.6%, 50 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 93.1%, 100 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 85.1%, 200 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 75.2%로 나타났다(Fig. 1A). 또한, 시간에 따른 세포독성 효과를 확인하기 위해서, *E. persicifolia* 추출물을 100 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도로 처리하고 3, 6, 12시간 동안 배양하였다. 그 결과 *E. persicifolia* 추출물을 100 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도로 처리한 후 3시간이 지났을 때 세포생존율은 97%, 6시간에서는 94%, 12시간에서는 85%로 나타났다(Fig. 1B). 이러한 결과를 바탕으로 이후의 모든 실험에

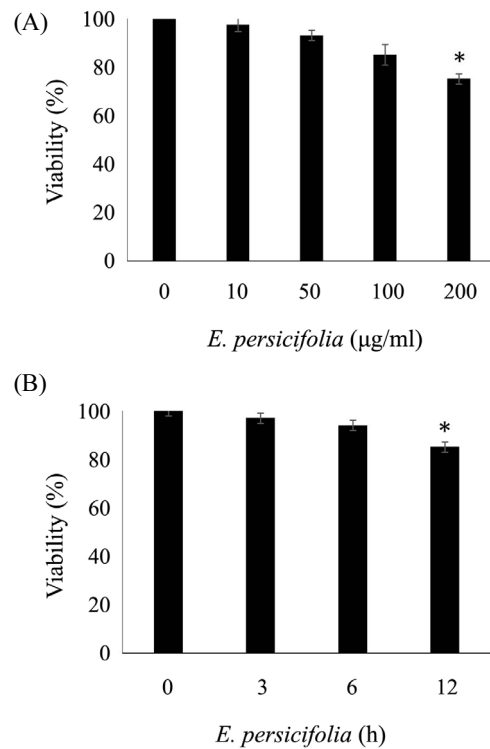


Fig. 1. Determination of cytotoxic concentration of *E. persicifolia* extract. (A) RAW 264.7 cells were treated with indicated concentrations of *E. persicifolia* extract for 12 h. The viability of cells was measured using the trypan blue dye exclusion. (B) RAW 264.7 cells were treated with *E. persicifolia* extract (100 $\mu\text{g/ml}$) for indicated time periods and the viability of cells was measured using the trypan blue dye exclusion. The results are represented as the means \pm SD of three independent experiments. * $p < 0.05$ versus control.

서는 세포생존율을 90% 이상을 유지하는 25, 50 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도로 6시간 처리 조건으로 실시하였다.

E. persicifolia 추출물에 의한 염증성 사이토카인의 mRNA 발현 억제 효과

*P. acnes*는 대식세포에서 IL-1 β , IL-6, TNF- α 와 같은 염증성 사이토카인의 발현을 유도하는 것으로 알려져 있다. *E. persicifolia* 추출물이 *P. acnes*에 의해 유도되는 염증성 사이토카인의 발현을 감소시킬 수 있는지 여부를 확인하기 위해 mRNA 발현량을 확인하였다. RAW 264.7 세포주에 *E. persicifolia* 추출물을 25 $\mu\text{g/ml}$ 과 50 $\mu\text{g/ml}$ 로 30분간 전처리 한 후 *P. acnes*를 1×10^6 CFU로 6시간 처리하였다. 6시간 후, RNA를 분리하여 quantitative PCR을 수행하였다. 그 결과, *P. acnes*에 의해 유도되었던 IL-1 β , IL-6, TNF- α , iNOS의 mRNA 발현량이 *E. persicifolia* 추출물에 농도 의존적으로 감소하는 것을 확인하였다(Fig. 2A-D). 따라서, *E. persicifolia* 추출물은 *P. acnes*에

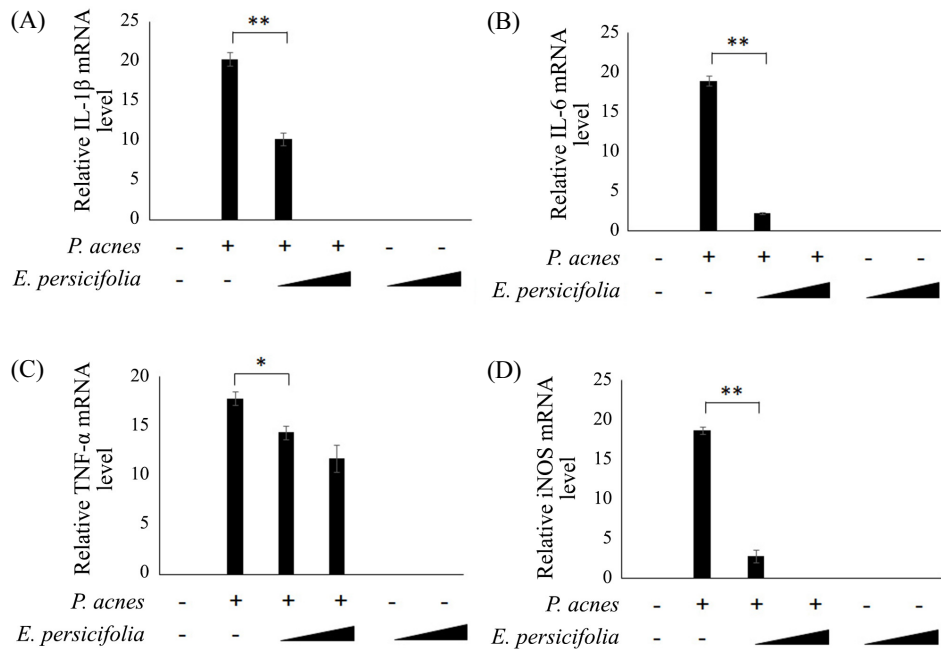


Fig. 2. The effects of *E. persicifolia* extract in *P. acnes*-induced cytokine expression. RAW 264.7 cells were treated with *E. persicifolia* extract (25 or 50 $\mu\text{g/ml}$) for 30 min before treatment with heat-killed *P. acnes* (1×10^6 CFU) for 6 h. The mRNA levels of IL-1 β (A), IL-6 (B), TNF- α (C) and iNOS (D) were determined by qPCR. The results are represented as the means \pm SD of three independent experiments. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

의해 유도되는 염증성 사이토카인 유전자의 발현을 감소시키는 것을 확인하였다.

E. persicifolia 추출물에 의한 IL-1 β 의 단백질 발현 조절 효과

다음으로 *E. persicifolia* 추출물이 *P. acnes*에 의해 유도되는 염증성 사이토카인 IL-1 β 단백질 발현을 감소시킬 수 있는지 확인하였다. 먼저, RAW 264.7 세포주에 *E. persicifolia* 추출물을 25 $\mu\text{g/ml}$ 과 50 $\mu\text{g/ml}$ 로 30분간 전처리 하였다. 이후 *P. acnes*를 1×10^6 CFU로 6시간 처리하고, 6시간 후 Western blot을 통해 IL-1 β 의 단백질 발현량을 확인하였다. 그 결과 *P. acnes*에 의해 유도되었던 IL-1 β 의 단백질 발현이 *E. persicifolia* 추출물에 농도 의존적으로 감소함을 확인하였다(Fig. 3A and B).

E. persicifolia 추출물에 의한 NF- κB 활성 조절 효과

IL-1 β 를 포함한 많은 염증성 사이토카인의 발현의 조절은 전사인자인 NF- κB 와 연관이 있다(Liu *et al.*, 2017). 따라서 *E. persicifolia* 추출물이 NF- κB 의 활성을 감소시킴으로써, IL-1 β 의 발현을 조절하는지 확인하였다. NF- κB 의 활성은 억제인자인 I κB 에 의해 결합되어, 비활성 상태로 세포질내에 존재한다. 외부 신호에 의해 I κB 가 인산화되면 NF- κB 는 I κB 로부터 떨어져 나와 핵으로 이동하여 사이토카인의 발현을 유도한다(Liu *et al.*, 2017). 먼저, *E. persicifolia* 추출물이 I κB 의 인산화에 영

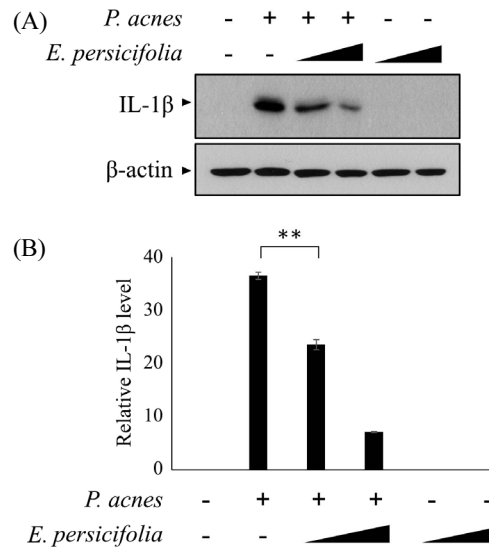


Fig. 3. The effect of *E. persicifolia* extract in *P. acnes*-induced IL-1 β protein expression. (A, B) RAW 264.7 cells were treated with *E. persicifolia* extract (25 or 50 $\mu\text{g/ml}$) for 30 min before treatment with heat-killed *P. acnes* (1×10^6 CFU) for 6 h. IL-1 β and β -actin protein levels were analyzed by Western blot analysis (A) and quantified (B). The results are represented as the means \pm SD of three independent experiments. ** $p < 0.01$.

향을 미치는지 확인하였다. *P. acnes*는 I κB 의 인산화를 유도하였으며, 이러한 *P. acnes*에 의해 증가했던 I κB 의 인산화는 *E. persicifolia* 추출물에 의해 농도 의존적으로 감소함을 확인

하였다(Fig. 4A and B).

다음으로 *E. persicifolia* 추출물에 의한 염증성 사이토카인의 단백질 발현 감소가 NF- κ B의 전사 활성을 직접적으로 조절하는지 reporter analysis를 통해 확인하였다. Reporter analysis를 통해 분석한 결과에서도, *P. acnes*에 의해 증가했던 NF- κ B의존적인 luciferase 활성이 *E. persicifolia* 추출물에 의해 감소됨을 확인하였다(Fig. 4C). 이를 통해 *E. persicifolia* 추출물은 염증성 사이토카인의 주요 조절인자인 NF- κ B의 전사 활성을 억제함으로써 염증성 사이토카인의 단백질 발현을 감소시킨다는 것을 확인할 수 있었다.

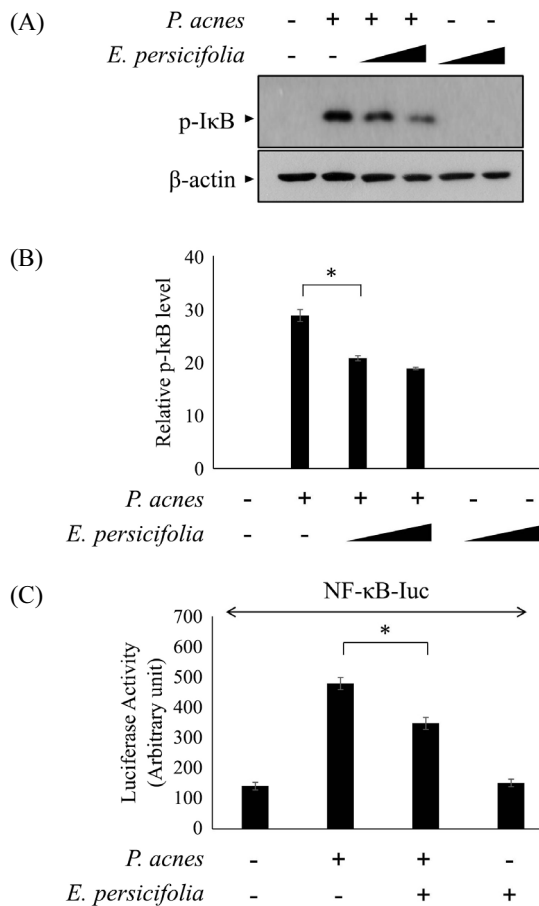


Fig. 4. The effect of *E. persicifolia* extract in *P. acnes*-induced NF- κ B signaling pathway. RAW 264.7 cells were treated with *E. persicifolia* extract (25 or 50 μ g/ml) for 30 min before treatment with *P. acnes* (1×10^6 CFU) for 6 h. p-I κ B and β -actin protein levels were analyzed by Western blot analysis (A) and quantified (B). (C) NF- κ B-luciferase reporter vectors was transfected into Raw 264.7 cells. After 24 h, cells were treated with *E. persicifolia* extract (50 μ g/ml) for 30 min before treatment with *P. acnes* (1×10^6 CFU) for 6 h. Cell lysates were analyzed for luciferase activity. The results are represented as the means \pm SD of three independent experiments. * $p < 0.05$.

고찰

여드름은 과도한 피지생성, 모낭의 막힘, *P. acnes*의 증식과 대식세포 활성화를 통한 염증성 사이토카인의 생성을 통해 유발이 되는 것으로 알려져 있다(Webster and Leyden, 1980; Suh, 2010). 대식세포는 Toll-like receptors (TLRs), retinoic acid-inducible gene 1 (RIG1)-like helicase receptors (RLRs), NOD-like receptors (NLRs)와 같은 pattern recognition receptors (PRRs)를 발현하여 병원균들을 인지한다(Murray and Wynn, 2011). *P. acnes*는 TLR2와 TLR4에 의해 인지된다(Jugeau *et al.*, 2005). TLR2를 통한 NF- κ B 전사인자의 활성화는 IL-1 β , IL-6, TNF- α , IL-8 및 IL-12를 포함한 염증성 사이토카인 유전자의 발현을 유도하는 것으로 알려져 있다(Kim *et al.*, 2002).

여드름 치료에 사용되는 테트라사이클린 계열의 화학적 항생제를 장기간 사용시 내성균의 생성과 부작용을 유발한다. 이러한 항생제의 부작용을 인식하여 최근에는 다양한 천연추출물을 이용한 항염증제 개발의 연구가 활발히 이루어지고 있다. 그러나, *P. acnes*에 의한 염증반응에서 *E. persicifolia* 추출물의 억제효과와 관련된 연구는 알려져 있지 않다.

*E. persicifolia*는 한국, 일본, 타이완, 중국, 인도 등에 분포하며 바닷가의 산기슭에 서식한다. 예로부터 부종, 관절염, 구강건조증, 복통, 발열 등에 사용하였다. 염증성 질환에는 잎을 말린 후 물에 넣어 달여 마셨고, 환부에 붙여 지혈에 사용하였다.

본 연구에서는 여드름 원인균인 *P. acnes*를 대식세포주인

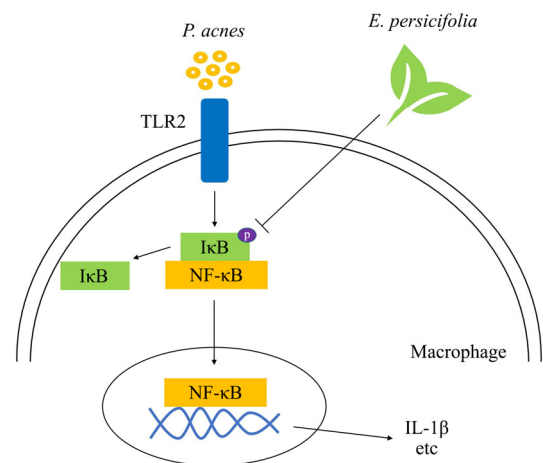


Fig. 5. A model of *E. persicifolia* extract in the suppression of *P. acnes*-induced inflammatory responses. *E. persicifolia* extract exerts anti-inflammatory function by inhibiting NF- κ B signaling pathways in response to *P. acnes*.

Raw 264.7에 처리하였을 때 증가하는 IL-1 β , IL-6, TNF- α 과 같은 염증성 사이토카인과 iNOS와 같은 염증 반응 관련 유전자의 발현이 *E. persicifolia* 추출물에 의해 억제될 수 있다는 것을 최초로 확인하였다. 이러한 염증반응의 억제 효과는 *E. persicifolia* 추출물이 전사인자인 NF- κ B의 활성을 억제함으로써 나타난다는 것을 확인하였다(Fig. 5). 본 연구에서는 *E. persicifolia* 추출물을 대식세포에 전처리 함으로서 *P. acnes*에 의해 유도되는 면역세포의 활성화를 최소화 할 수 있었다. 이는 *E. persicifolia* 추출물이 *P. acnes*에 대한 예방적인 효과를 가질 수 있음을 의미한다.

따라서 본 논문을 통해서 *E. persicifolia* 추출물이 *P. acnes*에 의해 유발되는 여드름의 치료제나 보조제로 사용될 가능성을 제시하였다.

적 요

여드름은 일반적인 피부 염증성 질환으로 알려져 있다. 여드름은 모낭 내 피지선에서 나타나는 만성 염증 질환이다. *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*)의 증식은 대식세포가 염증성 사이토카인을 분비하도록 자극한다. 최근 연구에서 여러 천연 추출물이 *P. acnes*에 의해 매개되는 염증반응을 감소시키는 것을 확인하였다. 그러나 *P. acnes*에 의한 염증반응에서 *E. persicifolia* Gagnep. (*E. persicifolia*) 추출물의 억제효과에 관한 연구는 수행되지 않았다. 따라서 본 연구에서는 *P. acnes*에 의해 유도된 염증 반응에서 *E. persicifolia* 추출물의 항 염증 효과를 조사하였다. *P. persicifolia* 추출물은 마우스 대식세포주인 RAW 264.7에서 *P. acnes*에 의해 유도된 IL-1 β , IL-6, TNF- α 및 iNOS와 같은 염증 매개체의 발현 수준을 억제하였다. 또한 *E. persicifolia* 추출물이 염증성 사이토카인 발현의 주요 조절인자인 NF- κ B 전사 활성화를 억제한다는 것을 발견했다. 본 연구 결과는 *P. acnes*의 치료를 위한 잠재적인 치료물질로서 *E. persicifolia* 추출물을 제안한다.

감사의 말

이 논문은 2017년도 강원대학교 학술연구조성비(관리번호 520170400), 한국연구재단(NRF-2018R1A2B6006286), KRIBB Initiative Program의 지원을 받아 수행되었음. 실험에 도움을 준 학부생 신재석에게도 감사의 말을 전함.

References

- Bonizzi G and Karin M.** 2004. The two NF- κ B activation pathways and their role in innate and adaptive immunity. *Trends Immunol.* **25**, 280-288.
- Grange PA, Raingeaud J, Calvez V, and 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.
- Heymann WR.** 2006. Toll-like receptors in acne vulgaris. *J. Am. Acad. Dermatol.* **55**, 691-692.
- Jugeau S, Tenaud I, Knol AC, Jarrousse V, Quereux G, Khammari A, and Dreno B.** 2005. Induction of toll-like receptors by *Propionibacterium acnes*. *Br. J. Dermatol.* **153**, 1105-1113.
- Kim J, Ochoa MT, Krutzik SR, Takeuchi O, Uematsu S, Legaspi AJ, Brightbill HD, Holland D, Cunliffe WJ, and Akira S.** 2002. Activation of toll-like receptor 2 in acne triggers inflammatory cytokine responses. *J. Immunol.* **169**, 1535-1541.
- Libermann TA and Baltimore D.** 1990. Activation of interleukin-6 gene expression through the NF- κ B transcription factor. *Mol. Cell. Biol.* **10**, 2327-2334.
- Liu T, Zhang L, Joo D, and Sun SC.** 2017. NF- κ B signaling in inflammation. *Signal Transduct. Target Ther.* **2**, 17023.
- Motooka R, Usami A, Nakahashi H, Koutari S, Nakaya S, Shimizu R, Tsuji K, Marumoto S, and Miyazawa M.** 2015. Characteristic odor components of essential oils from *Eurya japonica*. *J. Oleo Sci.* **64**, 577-584.
- Murray PJ and Wynn TA.** 2011. Protective and pathogenic functions of macrophage subsets. *Nat. Rev. Immunol.* **11**, 723.
- Omer H, McDowell A, and Alexeyev OA.** 2017. Understanding the role of *Propionibacterium acnes* in acne vulgaris: The critical importance of skin sampling methodologies. *Clin. Dermatol.* **35**, 118-129.
- Park J, Lee J, Jung E, Park Y, Kim K, Park B, Jung K, Park E, Kim J, and Park D.** 2004. *In vitro* antibacterial and anti-inflammatory effects of honokiol and magnolol against *Propionibacterium* sp. *Eur. J. Pharmacol.* **496**, 189-195.
- Rosalind T, Dutta B, and Paul S.** 2013. Evaluation of *in vitro* anti-oxidant activity, estimation of total phenolic and flavonoid content of leaf extract of *Eurya japonica* Thunb. *Asian J. Pharm. Clin. Res.* **6**, 152-155.
- Suh DH.** 2010. Pharmacologic treatment of acne. *J. Korean Med. Assoc.* **53**, 623-629.
- Suh DH and Kwon H.** 2015. What's new in the physiopathology of acne? *British J. Dermatol.* **172**, 13-19.
- Swanson JK.** 2003. Antibiotic resistance of *Propionibacterium acnes* in acne vulgaris. *Dermatol. Nurs.* **15**, 359-363.
- Tan HH.** 2003. Antibacterial therapy for acne. *Am. J. Clin. Dermatol.* **4**, 307-314.
- Thiboutot DM, Layton AM, and Eady EA.** 2014. IL-17: A key player in the *P. acnes* inflammatory cascade? *J. Invest. Dermatol.* **134**,

307–310.

- Thingbaijam R, Dutta B, and Paul S.** 2011. Phytochemical screening and antibacterial studies of the leaf extract of *Eurya japonica* Thunb. and *Ficus auriculata* Lour. *J. Pure Appl. Microbiol.* **5**, 909–916.
- Wang YY, Ryu AR, Jin S, Jeon YM, and Lee MY.** 2017. Chlorin e6-mediated photodynamic therapy suppresses *P. acnes*-induced inflammatory response via NFκB and MAPKs signaling pathway. *PLoS One* **12**, e0170599.
- Webster GF and Leyden JJ.** 1980. Characterization of serum-independent polymorphonuclear leukocyte chemotactic factors produced by *Propionibacterium acnes*. *Inflammation* **4**, 261–269.
- Yang Kuo LM, Zhang LJ, Huang HT, Lin ZH, Liaw CC, Cheng HL, Lee KH, Morris-Natschke SL, Kuo YH, and Ho HO.** 2013. Antioxidant lignans and chromone glycosides from *Eurya japonica*. *J. Nat. Prod.* **76**, 580–587.
- Yoon CS, Kim HJ, Lim HW, Kim BH, Kim HS, and Choi SW.** 2006. Studies on the anti-acne effect of *Agrimonia pilosa* Ledeb. *J. Soc. Cosmet. Sci. Korea* **32**, 53–58.