

HaCaT 세포에서 머느리 배꼽 추출물의 AP-1, PI3K/Akt 및 MAPK 활성 조절을 통한 광손상 억제 효과

윤현서^{1,3} · 박충무^{2*,3}

¹동의대학교 치위생학과 교수, ^{2*}동의대학교 임상병리학과 교수, ³동의대학교 기능성 소재 연구소

Ameliorative Effect of Persicaria Poliata Extract through the Regulation of AP-1, PI3K/Akt and MAPK Signaling Molecules in UVB-Irradiated HaCaT Cells

Hyun-Seo Yoon, Ph.D^{1,3} · Chung-Mu Park, Ph.D^{2*,3}

¹Dept. of Dental Hygiene, Dong-Eui University, Professor

^{2*}Dept. of Clinical Laboratory Science, Dong-Eui University, Professor

³The Research Institute for Health Functional Materials, Dong-Eui University

Abstract

Purpose : Skin is the primary barrier to protect the body from various exogenous factors. Among them, UVB exposure can cause the induction of not only excessive inflammatory responses but also the degradation of extracellular matrix (ECM), including collagen and elastin. This study tried to investigate the ameliorative effect of Persicaria perfoliata ethanol extract (PPEE) on UVB-irradiated photodamage through the regulation of activator protein (AP)-1, phosphoinositide 3-kinase (PI3K)/Akt, and mitogen-activated protein kinase (MAPK) signaling molecules in HaCaT cells.

Methods : The cytotoxicity of PPEE on HaCaT cells was evaluated by the WST-1 assay. The 80 mJ/cm² of UVB (312 nm) was irradiated on HaCaT cells to induce the photodamage.

Western blot analysis was conducted to investigate the protein expression levels of cyclooxygenase (COX)-2, matrix metalloproteinase (MMP)-9, and heme oxygenase (HO)-1 for ameliorative status by PPEE treatment in UVB-exposed HaCaT cells. In addition, the activated status of the inflammatory transcription factor, AP-1, as well as upstream signaling molecules, PI3K/Akt, and MAPK, were also evaluated by Western blot analysis.

Results : Any cytotoxic effect was not induced at the concentration up to 200 µg/ml by PPEE treatment. Protein expression levels of COX-2 and MMP-9 were significantly down- and up-regulated by PPEE treatment. The inflammatory transcription factor AP-1, stimulated by UVB irradiation, was also significantly attenuated by PPEE treatment. The phosphorylated status of PI3K/Akt and MAPK were mitigated by PPEE treatment in UVB-exposed HaCaT cells. Moreover, PPEE treatment potently accelerated the expression of HO-1 and its transcription factor, nuclear factor-erythroid 2-related factor (Nrf)2, which is known for its anti-inflammatory activity.

Conclusion : Consequently, PPEE treatment significantly regulated COX-2 and MMP-9 expressions in UVB-irradiated HaCaT cells. The inflammatory transcription factor AP-1, along with upstream signaling molecules PI3K/Akt and MAPKs, were also attenuated by PPEE treatment in UVB-exposed HaCaT cells. Additionally, PPEE treatment exaggerated HO-1 expression and Nrf2 activation, which might have contributed to the anti-inflammatory activity of PPEE. These results indicate that PPEE could be a candidate for attenuating UVB-induced photodamage in human skin.

Key Words : activator protein-1, cyclooxygenase-2, matrix metalloproteinase-9, mitogen-activated protein kinase, persicaria perfoliata ethanol extract

*교신저자 : 박충무, cmpark@deu.ac.kr

제출일 : 2023년 11월 7일 | 수정일 : 2024년 1월 9일 | 게재승인일 : 2024년 1월 12일

I. 서론

1. 연구의 배경 및 필요성

환경 오염으로 인하여 오존층이 파괴되고, 그로 인해 자외선의 노출량이 크게 증가하였다. 태양으로부터 전달되는 자외선 중 특히 209 nm-320 nm의 파장을 가진 UVB는 피부에 강한 자극을 유발하고 표피를 구성하는 상피세포의 급성염증을 발생시키고, 세포 사멸을 유발하기도 하여 잠재적인 피부암의 위험인자가 될 수 있는 중요한 환경 요인 중 하나이다(Chen 등, 2014). UVB의 조사는 hydroxyl radical, superoxide radical, peroxy radical과 같은 다양한 reactive oxygen species(ROS)의 생성을 촉진하고, 그로 인한 지질 과산화는 UVB에 의한 피부 광 손상의 주요한 기전 중 하나로 보고되고 있다(Liu 등, 2009; Svobodova 등, 2006). 또한 만성적인 노출에 의한 화상 세포 발생, matrix metalloproteinase와 같은 collagenase의 활성화로 extracellular matrix(ECM)의 주성분인 collagen, elatin의 파괴로 인한 주름과 염증반응의 발생뿐만 아니라 피부암도 발생하게 된다(LEE 등, 2023). UVB에 의해 과량 생성된 ROS는 증식, 세포생존, 염증과 관련된 세포 내 신호전달물질인 mitogen activated protein kinase(MAPK)와 phosphoinositide 3-kinase(PI3K)/Akt를 활성화하기도 한다(Ren 등, 2016; Vivanco & Sawyers, 2002). 그리고 이 신호체계의 활성화는 염증 매개 물질인 prostaglandin(PG)E2의 생성을 조절하는 효소인 cyclooxygenase(COX)-2의 유전자를 과발현함으로써 피부의 염증반응과 피부 세포 사멸을 유도한다(Cho 등, 2005). MAPK는 extracellular signal regulated protein kinase(ERK), c-Jun NH2-terminal kinase(JNK), p38 MAPK로 구성되고, 특히 이들의 활성화를 통한 COX-2의 과발현의 유도가 급성염증 및 피부암의 발생과 높은 관련이 있는 것으로 보고되기도 하였다(Cho 등, 2005).

며느리배꼽(*Persicaria perfoliata*)은 한국의 길가나 집 주변에서 자라는 흔한, 마디풀과에 속하는 덩굴성 식물로 식용과 약용으로 널리 이용되어왔다. 전통 의학에서는 인후염, 기침, 부종 및 빈뇨, 설사 등 다양한 증상의 치료를 위해 사용해왔고, 최근의 연구에서는 flavonoids, anthraquinones, terpenoids, phenolic acids, phenylpropanoids

등의 성분들이 항염증, 항균, 항바이러스, 항종양, 항산화 효과 등의 다양한 약리 효과를 나타내는 것으로 보고되고 있다(Liu 등, 2020). 다양한 생리활성 중 며느리배꼽 추출물은 뛰어난 활성산소 소거능과 다양한 염증 동물실험 모델에서 효과적인 항염증제로서의 역할을 나타냈으나 사람의 피부에서 발생할 수 있는 UVB에 의한 광손상에 대한 연구는 없었으므로 본 논문에서는 며느리배꼽 에탄올 추출물(*P. perfoliata* ethanol extract; PPEE)이 UVB로 광손상이 유발된 인간각질형성세포인 HaCaT 세포에 미치는 효과를 항염증 기전을 중심으로 분석하였다.

2. 연구의 목적

본 연구에서는 UVB에 의해 유발된 HaCaT 세포의 광손상에 대한 PPEE의 효과를 분석하기 위하여 COX-2와 MMP-9의 조절효과 및 염증 전사인자, 그리고 상위 신호전달물질의 발현 정도를 Western blot으로 분석하였다. 이를 통해 태양광의 만성적인 노출에 의해 발생할 수 있는 피부 손상을 완화할 수 있는 기능성 소재 개발을 위한 후보 물질을 도출하고자 하였다.

II. 연구방법

1. 연구대상 및 방법

1) 세포배양 및 시약

인간 각질형성세포인 HaCaT 세포는 10 % fetal bovine serum(FBS, Cytiva, USA)의 영양성분과 항생제인 100 unit/ml penicillin, 100 µg/ml streptomycin(Cytiva)이 첨가된 배지인 Dulbecco's Modified Eagle Medium(DMEM, Cytiva, USA)을 사용하여 37 °C, 5 % CO₂, 습윤조건에서 배양하였다. 1차 항체로 사용한 COX-2, matrix metalloproteinase(MMP)-9, heme oxygenase(HO)-1, phospho-c-jun, nuclear factor-erythroid 2-related factor(Nrf)2, phospho-Akt, Akt, phospho-ERK, ERK, phospho-JNK, JNK, phospho-p38, p38, actin과 2차 항체인 horseradish peroxidase (HRP)-conjugated anti-rabbit IgG 항

체는 Cell Signaling Technology(USA)에서, dimethyl sulfoxide(DMSO, Sigma-Aldrich, USA)는 에서 구입하였다.

2) PPEE 준비 및 광손상 조건

건조 후 분쇄한 머느리배꼽 시료에 4배 부피의 70 % 식용 에탄올(주정)을 이용하여 50 °C에서 24시간동안 환류하며 추출하였다. 추출 시료는 1 μ m 필터로 여과하고 진공농축기(N-110, Eyla Co., Japan)를 이용하여 농축 후 다시 DMSO에 농도별로 희석하여 실험에 사용하였다. 광손상을 유발하기 위하여 UV 조사기(Bio-Link-BLX, VILBER, France)를 이용하여 UVB 파장인 312 nm에서 80 mJ/cm²를 HaCaT 세포에 조사하였다. 배지의 간섭을 최소화하기 위하여 DMEM을 완전히 제거 후 1x phosphate buffered saline(PBS)로 세척하고 1 ml의 1xPBS를 첨가한 상태에서 UV를 조사하였다.

3) 세포독성 분석

HaCaT 세포에 대한 PPEE의 독성은 기존의 연구(Park & Yoon, 2023)와 동일한 방법을 활용하여 분석하였다.

4) Western blot 분석

HaCaT 세포에서 광 손상을 분석하기 위하여 COX-2와 같은 염증 관련 마커와 아교섬유를 분해하는 MMP-9과 같은 collagenase의 활성을 분석하였다. UVB로 자극된 HaCaT 세포에서 PPEE에 의해 조절되는 마커의 발현 분석을 위하여 100-mm dish에 HaCaT 세포를 파종하였다. 하루 동안 세포를 부착하고 80 mJ/cm²의 UVB를 조사하여 광 손상을 유발한 후 25, 50, 100, 200 μ g/ml 농도의 PPEE를 처리하고 20시간 동안 더 배양하여 COX-2, MMP-9의 발현을 분석하였다. 그리고 전사인자와 상위 신호전달 물질을 분석하기 위하여 100-mm dish에 파종된 HaCaT 세포에 동일한 조건에서 광 손상을 유발하고 시료를 처리한 후 4시간 동안 배양하였다. 시료가 처리된 세포로부터 protein extraction buffer(PRO-PREP, Intron Biotechnology, Korea)를 이용하여 단백질을 추출하였고, 농도는 Bradford법으로 결정하였다. 추출한 검체 시료는 4x Laemmli sample buffer(XT sample buffer #1610791,

Bio-Rad Laboratories, USA)와 섞고 80 °C에서 5분 가열 후 10 % SDS-polyacrylamide gel에 전기영동을 하였다. 그리고 전기영동된 검체 시료를 polyvinylidene fluoride(PVDF, Bio-Rad Laboratories) membrane으로 이동시킨 후 5 % non-fat dry milk로 blocking을 진행하였다. 그리고 1:1,000의 비율로 희석한 1차 항체와 4 °C에서 24 시간 동안 반응을 유도하고 실온에서 2시간 동안 2차 항체와 반응을 진행한 후 기질인 enhanced chemiluminescence solution(ECL, Santa Cruz Biotechnology, USA)을 이용하여 ChemiDoc system(ChemiDoc XRS+, Bio-Rad Laboratories, USA)에서 발현을 측정하고, Gel Doc EQ system(Bio-Rad Laboratories, USA)로 정량분석을 진행하였다.

2. 통계 분석

실험 결과는 3회 반복하여 시행 후 SPSS 프로그램(version 25.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 mean \pm SD로 표현하였다. 실험군 간의 유의성 검증은 일원배치 분산분석법(one-way ANOVA)으로 진행하였고 사후분석은 Duncan's multiple range test를 사용하였다.

III. 결과

1. UVB 광손상이 유발된 HaCaT 세포에서 PPEE의 COX-2와 MMP-9 발현 억제 효과

HaCaT 세포에 미치는 PPEE의 독성을 분석하기 위하여 25, 50, 100, 200 μ g/ml의 농도에 대한 WST-1 assay를 수행한 결과 Fig 1에서 보는 것과 같이 PPEE는 가장 높은 농도인 200 μ g/ml에서도 HaCaT 세포의 생존에 영향을 주지 않았다. 그리고 HaCaT 세포에서 80 mJ/cm²의 UVB에 의해 광 손상이 유도되는지를 확인하기 위하여 Western blot으로 COX-2와 MMP-9의 발현을 분석한 결과 Fig 2와 같이 UVB 조사에 의해 COX-2와 MMP-9이 과발현되었고, PPEE의 처리로 인해 두 마커의 발현이 유의적으로 감소하는 결과를 확인할 수 있었다. 따라서 PPEE는 HaCaT 세포에서 80 mJ/cm²의 UVB에 의해 염증 매개 물질인 PGE2의 생성효소인 COX-2와 ECM을 분해

하는 collagenase 중 하나인 MMP-9의 발현을 유의적으로 억제함으로써 광 손상을 완화하는 것으로 나타났다.

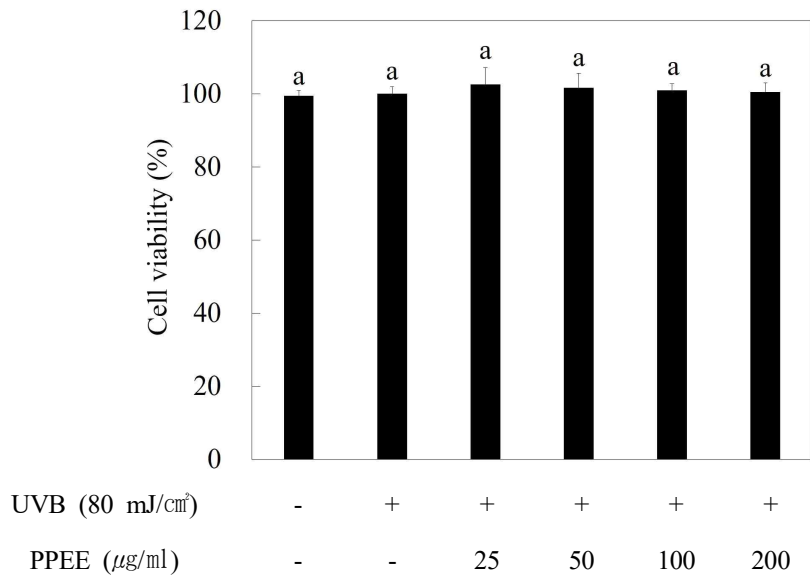


Fig 1. Cytotoxic effect of PPEE treatment in UVB-irradiated HaCaT cells

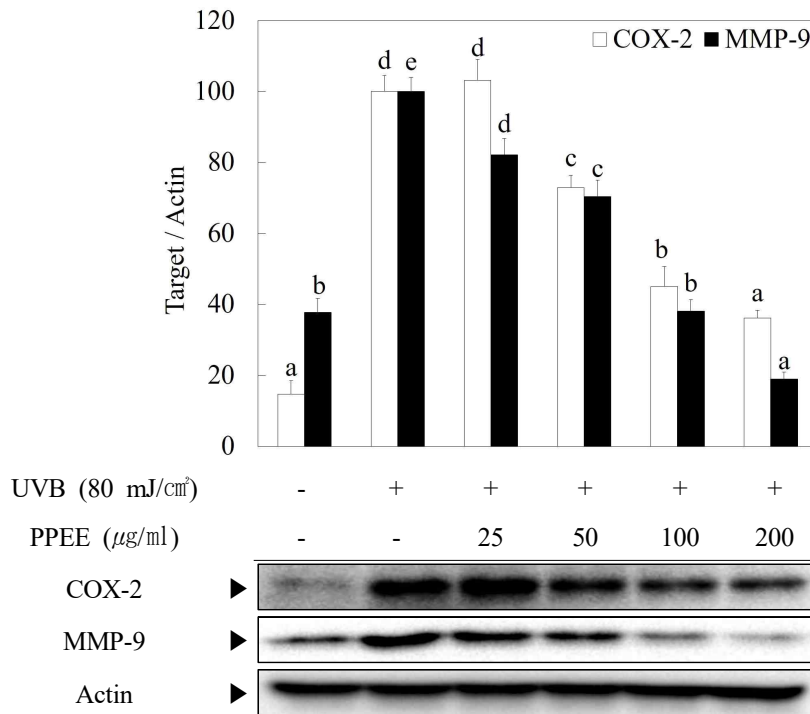


Fig 2. Inhibitory effect of PPEE on COX-2 and MMP-9 expressions in UVB-irradiated HaCaT cells

2. PPEE의 AP-1과 MAPK의 인산화 조절 효과

염증 전사인자인 AP-1은 HaCaT 세포에서 UVB 노출에 의해 유발되는 COX-2와 MMP-9의 과발현을 매개하는 것으로 알려져 있다. 자극이 없는 환경에서 AP-1은 세포질내에서 비활성형으로 존재하지만 UV와 같은 자극에 의해 활성화되고, 활성화된 AP-1은 핵막을 통과하여 염증과 관련된 다양한 인자의 전사를 조절하는 promoter region에 결합하여 그들의 전사를 유도한다 (Surh, 2003). PPEE의 처리에 인한 AP-1의 활성 조절은 Fig 3에서 보는 것과 같이 80 mJ/cm²의 UVB에 의해 AP-1

의 구성 단백질인 c-jun이 인산화되고 PPEE의 처리에 의해 활성이 유의적으로 억제되었다. 그리고 AP-1의 활성을 조절하는 상위 신호전달 물질로 알려진 PI3K/Akt와 MAPK의 인산화 정도 또한 Western blot을 통해 분석하였고, 그 결과 PPEE는 Akt, ERK, JNK, p38 모든 신호전달물질의 인산화를 유의하게 억제하는 것을 볼 수 있었다(Fig 3). 이 결과를 통해 PPEE는 PI3K/Akt와 MAPK의 인산화를 유의적으로 억제함으로써 AP-1의 활성을 조절하고, 따라서 UVB에 의한 HaCaT 세포의 광 손상을 조절할 수 있다는 것을 확인하였다.

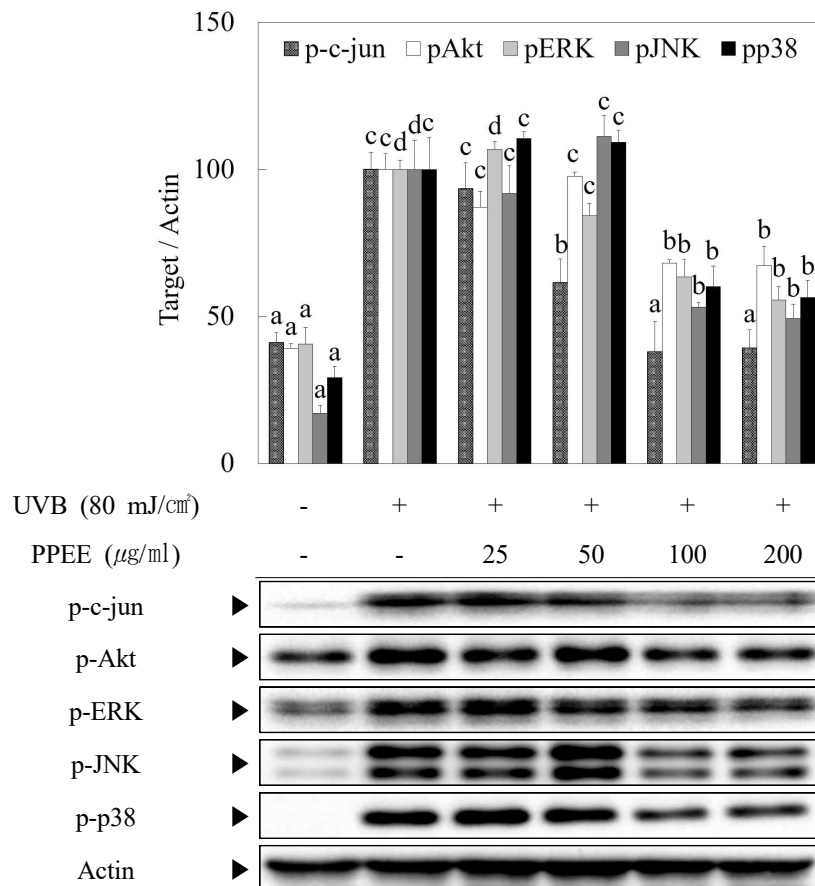


Fig 3. Regulatory effect of PPEE on AP-1, PI3K/Akt, and MAPK activations in UVB-irradiated HaCaT cells

3. PPEE의 Nrf2와 HO-1 발현 유도 효과

세포 내 제2상 효소계에 속하는 효소들 중 heme을 biliverdin, 일산화탄소, 유리철로 분해함으로써 항산화

효과를 나타내는 HO-1은 HaCaT 세포내에서도 전사인자인 Nrf2에 의해 발현이 유도된다(Kundu 등, 2014). PPEE의 처리에 인한 HO-1의 발현 조절은 Fig 4에서 보는 것

과 같이 HaCaT 세포에서 UVB의 노출에 의해서도 HO-1과 Nrf2의 발현이 두드러지게 유도되지 않았으나 PREE의 농도가 높아짐에 따라 농도 의존적으로 강한 HO-1과 Nrf2의 발현을 확인할 수 있었다. 이 결과를 통해 PREE

는 항산화 효소인 HO-1와 전사인자인 Nrf2,의 발현을 강하게 유도함으로써 UVB에 의한 광 손상을 조절할 수 있다는 것을 확인할 수 있었다.

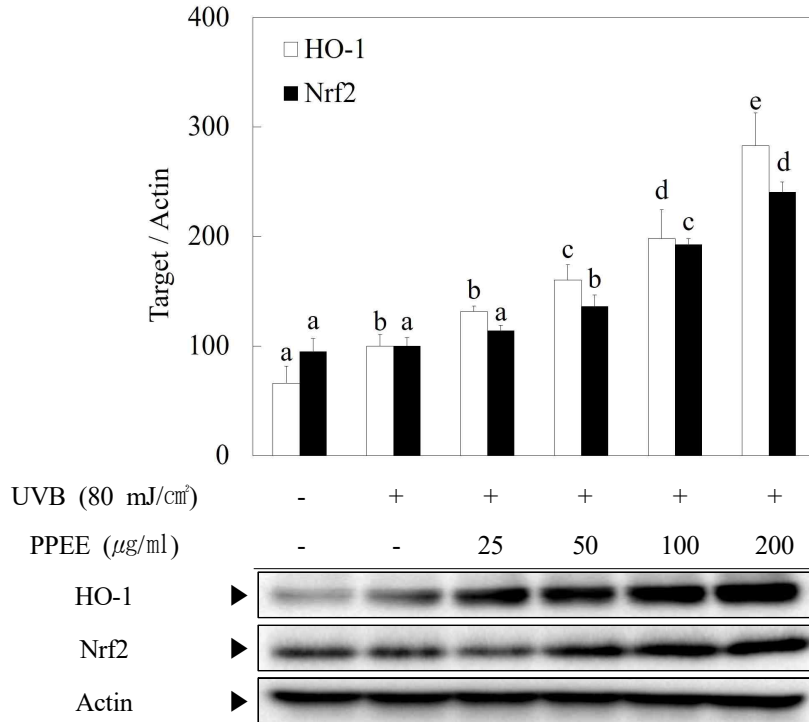


Fig 4. Regulatory effect of PREE on HO-1 and Nrf2 activations in UVB-irradiated HaCaT cells

IV. 고 찰

만성적인 UVB의 노출로 인한 ROS의 증가는 세포내 DNA, 단백질, 세포막 등에 산화적 손상을 유발하고, 화상세포와 피부 ECM의 주성분인 collagen, elastin 등을 분해하는 MMP-1,2,9와 같은 효소 활성을 증가시킨다(Yoo 등, 2014). 또한 ECM인 collagen과 elastin을 분절화함으로써 주름을 발생시키고 염증반응 뿐만 아니라 피부암을 유발하기도 한다(Lee 등, 2023). 특히, 염증반응과 관련된 중요한 효소인 cyclooxygenase의 두 isoform에는 세포의 필수 구성요소의 생산에 COX-1이 작용하는 반면 다양한 세포내·외부의 자극으로 인해 유도되는 COX-2의

과발현은 만성 염증을 유발하고 노화과정에서도 중요한 역할을 하는 것으로 보고되고 있다(Lee 등, 2012). 그러므로 염증을 매개하는 물질인 COX-2와 MMP-9의 발현 조절에 관한 연구는 광 손상으로 유발된 피부 손상을 억제할 수 있는 후보 소재의 개발에 있어 중요한 부분이라 할 수 있다.

본 연구에서는 인간각질형성세포인 HaCaT 세포에서 PREE의 광 손상 억제 기전을 분석하고자 하였다. UVB를 이용하여 세포에 광손상을 유도한 후 염증 매개 물질인 PGE2의 생성효소인 COX-2와 ECM의 주요 섬유 성분인 collagen을 분해하는 collagenase 중 하나인 MMP-9의 발현과 전사인자 및 상위신호전달물질인 AP-1 및

PI3K/Akt, MAPK의 활성 정도를 Western blot으로 확인하였다. 그리고 PPEE가 제2상 효소 중 하나인 HO-1과 전사인자인 Nrf2의 발현을 유도함으로써 HaCaT세포에서 UVB에 의한 광 손상을 억제하는지도 분석하였다. 실험 결과, PPEE는 세포독성 없이 UVB에 의해 과발현된 COX-2와 MMP-9을 농도 의존적으로 억제하는 결과를 보임으로써 HaCaT 세포에서 광 손상에 대한 완화효과가 있음을 확인할 수 있었다(Fig 1, 2). 이러한 결과는 *Antidesma thwaitesianum* Mull. Arg. 열매 추출물과 potato exosome이 COX-2와 MMP-1,2,9의 발현을 억제함으로써 UVB에 의해 유발된 광 손상을 완화하는 효과가 있음을 보고한 연구와 같은 경향을 보였다(Lee 등, 2023; Natewong 등, 2022).

염증 매개 물질은 AP-1, PI3K와 MAPK 같은 염증 전사인자와 상위 신호전달 물질간의 네트워크를 통해 조절이 이루어진다(Kwon & Lee, 2023). C-jun과 c-fos의 두 subunit이 결합하여 heterodimer로 이루어진 AP-1은 비활성의 형태로 세포질에 존재하지만 자극물질에 노출되었을 때 c-jun이 인산화되면서 활성형으로 바뀌고 핵내로 이동하면서 염증 매개인자의 과발현을 유도하게 된다(Surh, 2003). 그리고 세포의 분화·증식·사멸의 조절과 세포 내 스트레스의 조절 등 다양한 세포내 활성을 조절하는 신호전달물질인 PI3K/Akt와 MAPK는 AP-1과 같은 염증 전사인자의 조절을 통해 COX-2와 MMP-9의 발현을 조절하는 것으로 보고되고 있다(Li 등, 2017; Qu 등, 2023). 이러한 신호전달물질은 세포내·외부에서 자극이 발생했을 때 일련의 신호전달체계를 통해 염증성 전사인자의 활성을 조절함으로써 염증 매개 물질을 생산하는 효소인 COX-2나 주요한 세포외기질인 아교섬유를 분해하는 MMP-9의 발현을 유도하기 때문에 PI3K/Akt나 MAPK의 활성 조절은 HaCaT 세포에서 UVB에 의해 유도되는 광손상 반응의 억제에 주요한 목표로 생각할 수 있다. 본 연구에서는 COX-2와 MMP-9의 발현 및 이들의 상위 신호전달물질인 AP-1, PI3K/Akt와 MAPK의 활성에 PPEE가 미치는 영향을 Western blot으로 분석한 결과 PPEE는 c-jun의 인산화를 효과적으로 억제하였고 Akt, ERK, JNK, p38 MAPK의 인산화 또한 유의적으로 억제하는 것을 확인할 수 있었다. 추출물뿐만 아니라 phytochemical인 curcumin과 cyanidin-3-O-glucoside도 전

사인자인 AP-1과 상위 신호전달물질인 p38, JNK MAPK의 인산화를 억제함으로써 HaCaT 세포에서 UVB에 의해 유도된 광 손상을 억제하는 것으로 보고되어 이러한 신호전달물질이 광 손상을 유발하는 과정에서 중요한 역할을 하는 것으로 보고되었고, 따라서 이들의 활성을 억제하는 것이 광 손상 완화에 중요한 부분이라는 것을 시사하는 부분인 것으로 생각된다(Cho 등, 2005; He 등, 2017).

HO-1은 heme을 biliverdin, free iron 및 carbon monoxide로 분해하는 효소로서, HO-1에 의해 대사된 물질들은 뛰어난 항산화 활성뿐만 아니라 항염증 활성도 보여왔다(Park 등, 2021). 따라서 PPEE가 제2상 효소 중 하나로 알려진 HO-1과 전사인자인 Nrf2의 유도를 통해 HaCaT 세포에서 UVB에 의해 유발된 산화적 스트레스와 염증 반응을 억제하는지에 대한 실험을 진행한 결과 PPEE의 처리는 농도 의존적으로 강하게 HO-1과 Nrf2의 발현을 유도하였고 이를 통해 PPEE는 제2상 효소의 유도를 통해 광 손상 억제 효과를 나타내는 것을 확인할 수 있었다. 이러한 결과는 *Laminaria japonica* fermentation broth의 처리로 UVB에 노출된 HaCaT 세포에서 HO-1, NAD(P)H quinone oxidoreductase(NQO)-1과 같은 제2상 효소의 발현 유도를 통해 광 손상에 대한 보호 효과를 보고한 실험과 동일한 경향을 보여주었다(Sun 등, 2022).

이러한 결과를 통해 PPEE는 PI3K/Akt, MAPK의 활성 조절을 통해 AP-1의 활성을 억제하고, 항산화 효소인 HO-1와 전사인자인 Nrf2의 발현을 유도함으로써 UVB로 유도된 HaCaT 세포의 광 손상을 억제하는 것으로 사료된다.

V. 결론

본 연구에서는 HaCaT 세포에 UVB를 이용하여 광 손상을 유도하고 PPEE의 COX-2와 MMP-9 억제 효과뿐만 아니라 염증 전사인자와 상위 신호전달물질의 발현을 Western blot으로 분석하였다. 또한 제2상 효소 중 하나인 HO-1과 전사인자인 Nrf2의 발현 또한 분석함으로써 항산화 효소 유도를 통한 광 손상 억제 효과도 확인하였

다. 그 결과 UVB에 의해 과발현된 COX-2와 MMP-9의 발현은 PPEE에 의해 유의적으로 억제되었다. 또한 전사인자인 AP-1과 신호전달물질인 PI3K/Akt, MAPK의 인산화 또한 PPEE에 의해 유의적으로 억제되었다. 그리고 염증을 억제하는 것으로 알려져 있는 항산화 효소인 HO-1과 전사인자인 Nrf2의 발현은 PPEE에 의해 유의적으로 유도되는 결과를 확인하였다. 따라서 PPEE는 AP-1과 PI3K/Akt, MAPK의 활성을 억제하고 HO-1과 Nrf2의 발현을 유도함으로써 HaCaT 세포에서 UVB에 의한 광손상을 억제하는 것으로 생각된다.

참고문헌

- Chen H, Weng QY, Fisher DE(2014). UV signaling pathways within the skin. *J Invest Dermatol*, 134(8), 2080-2085. <https://doi.org/10.1038/jid.2014.161>.
- Cho JW, Park K, Kweon GR, et al(2005). Curcumin inhibits the expression of COX-2 in UVB-irradiated human Keratinocytes (HaCaT) by inhibiting activation of AP-1: p38 MAP kinase and JNK as potential upstream targets. *Exp Mol Med*, 37(3), 186-192. <https://doi.org/10.1038/emm.2005.25>.
- He Y, Hu Y, Jiang X, et al(2017). Cyanidin-3-O-glucoside inhibits the UVB-induced ROS/COX-2 pathway in HaCaT cells. *J Photochem Photobiol B*, 177, 24-31. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2017.10.006>.
- Kundu J, Kim DH, Kundu JK, et al(2014). Thymoquinone induces heme oxygenase-1 expression in HaCaT cells via Nrf2/ARE activation: Akt and AMPK α as upstream targets. *Food Chem Toxicol*, 65, 18-26. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.12.015>.
- Kwon SP, Lee SR(2023). Inhibitory effect of *Rosa davurica* Pall. on LPS-mediated Nitric Oxide Production via NF- κ B signaling. *J Life Sci*, 33(1), 50-55. <https://doi.org/10.5352/JLS.2023.33.1.50>.
- Lee ME, Kim SR, Lee S, et al(2012). Cyclooxygenase-2 inhibitors modulate skin aging in a catalytic activity-independent manner. *Exp Mol Med*, 44(9), 536-544. <https://doi.org/10.3858/emm.2012.44.9.061>.
- Lee Y, Jeong DY, Jeun YC, et al(2023). Preventive and ameliorative effects of potato exosomes on UVB-induced photodamage in Keratinocyte HaCaT cells. *Mol Med Rep*, 28(3), Printed Online. <https://doi.org/10.3892/mmr.2023.13054>.
- Li H, Li Z, Peng L, et al(2017). Lycium barbarum polysaccharide protects human Keratinocytes against UVB-induced photo-damage. *Free Radic Res*, 51(2), 200-210. <https://doi.org/10.1080/10715762.2017.1294755>.
- Liu J, Zeng Y, Sun G, et al(2020). Polygonumperfoliatum L., an excellent herbal medicine widely used in china: a review. *Front Pharmacol*, 11, Printed Online. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.581266>.
- Liu X, Shi S, Ye J, et al(2009). Effect of polypeptide from *Chlamys farreri* on UVB-induced ROS/NF-kappaB/COX-2 activation and apoptosis in HaCaT cells. *J Photochem Photobiol B*, 96(2), 109-116. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2009.04.010>.
- Natewong S, Niwaspragrit C, Ratanachamnong P, et al(2022). Photo-protective and anti-Inflammatory effects of *Antidesma thwaitesianum* Müll. Arg. fruit extract against UVB-Induced Keratinocyte Cell Damage. *Molecules*, 27(15), Printed Online. <https://doi.org/10.3390/molecules27155034>.
- Park C, Park J, Kim WJ, et al(2021). Malonic acid isolated from *pinus densiflora* inhibits UVB-induced oxidative stress and inflammation in HaCaT Keratinocytes. *polymers (basel)*, 13(5), Printed Online. <https://doi.org/10.3390/polym13050816>.
- Park CM, Yoon HS(2023). Anti-inflammatory effects of actinidia polygama ethanol extract in through the regulated NF- κ B and MAPKs activation in LPS stimulated RAW 264.7 cells. *Korean Soc Interg Med*, 11(2), 119-128. <https://doi.org/10.15268/ksim.2023.11.2.119>.
- Qu L, Wang F, Chen Y(2023). Protective effect and mechanism research of *Phyllanthus emblica* Linn. fruit

- extract on UV-induced photodamage in Keratinocytes. *Photochem Photobiol Sci*, 22(8), 1945-1959. <https://doi.org/10.1007/s43630-023-00423-3>.
- Ren X, Shi Y, Zhao D, et al(2016). Naringin protects ultraviolet B-induced skin damage by regulating p38 MAPK signal pathway. *J Dermatol Sci*, 82(2), 106-114. <https://doi.org/10.1016/j.jdermsci.2015.12.008>.
- Sun Q, Fang J, Wang Z, et al(2022). Two laminaria japonica fermentation broths alleviate oxidative stress and inflammatory response caused by UVB damage: photoprotective and reparative effects. *Mar Drugs*, 20(10), Printed Online. <https://doi.org/10.3390/md20100650>.
- Surh YJ(2003). Cancer chemoprevention with dietary phytochemicals. *Nat Rev Cancer*, 3(10), 768-780. <https://doi.org/10.1038/nrc1189>.
- Svobodova A, Walterova D, Vostalova J(2006). Ultraviolet light induced alteration to the skin. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*, 150(1), 25-38. <https://doi.org/10.5507/bp.2006.003>.
- Vivanco I, Sawyers CL(2002). The phosphatidylinositol 3-Kinase AKT pathway in human cancer. *Nat Rev Cancer*, 2(7), 489-501. <https://doi.org/10.1038/nrc839>.
- Yoo HG, Lee BH, Kim W, et al(2005). Lithospermum erythrorhizon extract protects Keratinocytes and fibroblasts against oxidative stress. *J Med Food*, 17(11), 1189-1196. <https://doi.org/10.1089/jmf.2013.3088>.