ISSN 2466-2046 (Print)
ISSN 2466-2054 (Online)
Asian J Beauty Cosmetol 2024; 22(3): 393-402
http://dx.doi.org/10.20402/ajbc.2024.0018

RESEARCH ARTICLE Open Access

Melanin Synthesis Gene Inhibition Effect through Inhibition of Tyrosinase and TRPs Expression of *Coriandrum sativum*-derived Exosome

Ha Young Park, Seon Yong Lee, Min Ho Kang, Jung Eun Park, Jin Woo Kim*
Department of Food Science, Sunmoon University, Asan-si, Chungcheongnam-do, Korea

*Corresponding author: Jin Woo Kim, Department of Food Science, Sunmoon University, 70, Sunmoon-ro 221 beon-gil, Tangjeong-myeon, Asan-si, Chungcheongnam-do 31460, Korea
Tel.: +82 41 530 2278
Fax: +82 41 530 2114
Email: kimjw1028@sunmoon.ac.kr

Ha Young Park and Seon Yong Lee contributed equally to this work.

Received March 20, 2024
Revised July 30, 2024
Accepted August 1, 2024
Published September 30, 2024

Abstract

Purpose: This study investigated the skin-whitening effects achieved through suppressing melanin synthesis using exosomes derived from *Coriandrum sativum* (*C. sativum*). **Methods:** We examined the characteristics of C. sativum exosomes (CSEs) using nanoparticle tracking analysis, which revealed an average size of 152.3 nm and a concentration of 3.0×10^{10} particles/mL. A cytotoxicity evaluation was conducted on B16F0 cells to assess cellular safety of CSEs. We investigated the skin-whitening effects of CSEs by quantifying melanin synthesis gene expression using RT-PCR. **Results:** CSE concentrations less than 1.5×10^{8} particles/mL did not negatively affect cellular activity. Furthermore, CSE treatment significantly decreased the expression of key genes involved in melanin synthesis such as *tyrosinase*, *TRP-1*, and *TRP-2* by 75.6%, 89.1%, and 88.7%, respectively. **Conclusion:** CSEs hold promise as functional cosmetic ingredients that promote skin whitening by inhibiting key genes involved in melanin production.

Keywords: *Coriandrum sativum*, Exosome, Melanin, Tyrosinase, Skin-whitening

Introduction

사람의 피부색은 피부내에 존재하는 멜라닌, 카로틴, 헤모글로빈과 같은 색소들에 의해 결정되는데 이중 가장 큰 영향을 미치는 것이 멜라닌으로 피부 표피의 기저층에 존재하는 멜라노사이트에서 아미노산인 타이로신이 타이로시나제에 의해 L-DOPA로 전환되어 멜라닌 생성을 개시하고 효소적 산화과정을 통해 도파퀴논을 형성하고 연속적인 산화과정을 통해 유멜라닌(eumelanin) 또는 페오멜라닌(pheomelanin)을 형성한다(Cha *et al*., 2010; Park *et al*., 2019). 지난 20년간 분자 생물학 기법의 발전에 의해 멜라닌 합성에 관여하는 효소들에 대한 많은 연구가 진행되었으며 타이로시나제, tyrosinase related protein (TRP)이 멜라닌 합성의 핵심 유전자로 보고되고 있다(So *et al*., 2023). 멜라닌 생성과정에서 타이로시나제에 의해 도파퀴논이 도파크롬으로 전환되고 tyrosinase related protein-2 (TRP-2)에 의하여 5,6-dihydroxyindol-2-carboxylic acid (DHICA)로 산화가 이루어지며 tyrosinase related protein-1 (TRP-1)에 dihydroxyindole (DHI)가 생성되어 최종적으로 멜라닌이 생성된다(Fang *et al*., 2001; del Marmol *et al*., 1993). 멜라닌은 자외선을 흡수하여 들뜬상태로 전환된 후 바닥상태로의 복원을 통해 흡수한 전자를 열에너지로 방출하여 피부를 자외선으로부터 보호하지만 과도한 자외선 노출과 염증 반응 등에 의해 멜라닌이 과량 합성되면 색소침착에 의해 기미나 주근깨 등을 유발한다(Park *et al*., 2019; Ku *et al*., 2023). 따라서 피부 건강과 미용을 위해 TRP 계열의 유전자 활성 저해를 통한 멜라닌의 과량 합성 억제와 멜라닌 합성 과정 저해가

Copyright ⓒ Korea Institute of Dermatological Sciences.
This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0), which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

수행되어야 한다.

엑소좀은 최근 생물학 및 의학 연구 분야에서 주목받고 있는 세포 유래 소낭의 일종으로 세포간 정보 전달과 상호작용을 위해 분비되는 50–200 nm 크기의 세포외 소포체를 지칭한다(Li *et al*., 2017). 엑소좀은 동물, 식물 및 미생물 세포 등을 포함한 모든 세포에서 분비되며 인지질 이중막으로 구성되어 있고 단백질, 지질, 핵산과 DNA 등 을 담지하여 다른 세포에 전달된 후 신호전달, 면역시스템 조절, 세포성장 및 분화조절 등의 다양한 생리학적 기능을 수행한다(Jiang *et al*., 2020; Wortzel *et al*., 2019). 엑소좀은 면역 반응, 신호 전달, 항원 제시와 같은 다양한 세포 과정에서 중요한 역할을 할 수 있는 새로운 세포간 정보 전달체로 주목받음에 따라 혈액응고, 항암, 멜라닌 생성 억제 및 항염증 활성과 같은 잠재적인 치료제로 크게 각광받고 있다(An *et al*., 2023). 특히 엑소좀은 흑색종 세포에서 산화질소 생성 억제에 따른 멜라닌 생성을 감소시켜 피부 미백효과가 있다고 보고되어 의약품 및 화장품 소재로 활용도가 높을 것으로 보고되고 있다(Fang & Liu, 2022; You *et al*., 2021).

일반적으로 동물 엑소좀은 인체 세포에 대한 면역독성을 가지고 있어 임상 실험 적용에 어려움을 가지는 반면 식물 엑소좀은 동물 엑소좀에 비해 낮은 독성과 면역원성을 가져 신규 의약품 및 화장품 소재로 주목받고 있다(Dad *et al*., 2021). 하지만 식물 엑소좀을 분리를 위한 세포벽 파쇄공정이 필수적이고 식물의 종류와 부위 별로 엑소좀 크기와 농도에 차이가 있어 실제 화장용 소재로 사용을 위해서는 생산공정의 표준화와 더불어 다양한 천연물로부터 기능성이 우수한 품질이 균일한 엑소좀 생산이 필수적이다(de la Canal & Pinedo, 2018).

고수(*Coriandrum sativum*)는 미나리과의 한해살이 풀이며 주로 식품으로 사용될 뿐만 아니라 소화촉진, 항 당뇨, 지질 흡수억제 등의 다양한 질병에 대한 약재로 사용되고 있다(Ning & Lee, 2023). 고수를 이용한 연구들은 주로 항염증, 항당뇨 및 항암 분야에서 활발하게 이루어지고 있으며 우수한 생리활성 기능성에도 불구하고 엑소좀에 기반 멜라닌 생성 억제를 통한 피부 미백 관련 연구는 전무한 실정이다(Kim *et al*., 2001; Nan *et al*., 2019). 따라서 본 연구에서는 고수로부터 엑소좀을 수득하고 이를 피부세포에 처리하여 멜라닌 생성 억제에 기반한 미백 효과를 평가하여 향후 고수 엑소좀을 기능성 화장품 및 의약품 소재로서 활용함에 기초자료를 제공하고자 한다.

Methods

1. 엑소좀 분리 및 특성 평가

본 연구에서 사용된 고수는 충남 아산에 소재한 하나로 마트에서 구매하였으며 엑소좀 분리를 위해 고수와 PBS 용액을 1:10으로 혼합하고 균질기로 3,000 rpm에서 3 min 파쇄를 수행하고 원심분리기를 이용하여 9,500 rpm에서 10 min 고액 분리하였다. 세포 파쇄 후 수득한 상등액을 bottle top filter (0.22 μm, PS/PP/PES; SCL Life Sci., Korea)로 1 차 분리를 수행하였고 Vivaspin filter (Vivaspin® 20 Ultrafiltration Unit, Sartorius, Germany)로 엑소좀을 수득 및 농축한 후, Xeno-EVIMEDI Kit (Cell To Bio, Korea)을 이용한 고분자 침전법으로 엑소좀을 2 차 분리하였다. 고수 엑소좀의 크기 및 농도 측정 분석을 위해 ZetaView (PMX 430; Particle Metrix GmbH, Germany)에 내장되어 있는 488 nm 레이저를 이용하여 nanoparticle tracking analysis (NTA)를 수행하였다.

2. 세포 배양

고수 엑소좀의 피부에 대한 안전성과 멜라닌 생성 유전자 발현에 따른 미백 기능성 평가를 위해 인간 섬유아 세포(human dermal fibroblast, HDF)와 마우스 유래 흑색종 세포(B16F0)를 한국 세포주은행(Korea Cell Line Bank, Korea)에서 분양 받아 사용하였다. 세포 배양을 위해 10% fetal bovine serum (FBS)와 1% penicillin이 혼합된 Dulbecco Modified Eagle Medium (DMEM; Gibco, USA)을 사용하였으며, 세포 배양 플라스크에 5.0×10^4 cell/mL로 접종하여 동물세포 배양기(MCO-5AC; Sanyo, Japan)에서 37.0℃와 5% CO_2를 유지하며 배양하였다.

3. 세포 활성 측정

고수 엑소좀의 인간 섬유아 세포와 흑색종 세포 활성에 미치는 영향을 평가하고자 미토콘드리아의 탈수소 효소 활성을 측정하는 MTT assay를 수행하였다. 세포주를 0.18 mL씩 96 well plate에 1.0×10^4 cell/mL 분주 후 24 h 배양한 후 DMEM을 제거한 뒤 고수 엑소좀을 농도별로 희석하고 0.02 mL씩 분주하여 48 h 배양하였다. 이후 0.25 mg/mL의 MTT 용액(Sigma-Aldrich, USA)을 첨가하여 4 h 반응 후 형성된 포르마잔을 dimethyl sulfoxide (DMSO; Sigma-Aldrich) 0.1 mL로 용해한 후 microplate reader (AMR-100; Alsherng, Korea)에서 540 nm로 흡광도를 측정하였다. 대조군과 고수 엑소좀 첨가군의 흡광도를 아래 식을 이용하여 세포 활성을 백분율로 산출하였다.

Cell viability (%)=(1−A/B)×100

A: 고수 엑소좀 첨가군 흡광도

B: 대조군 첨가군의 흡광도

4. 멜라닌 생성 억제능 측정

세포 내 멜라닌 생성 억제능을 측정하기 위해 Hosei 등의 방법을 일부 변형하여 사용하였다(Hosoi *et al*., 1985). 세포주를 0.1 mL씩 96 well plate에 5.0×10^3 cells/mL 분주하여 24 h 배양한 후 상층액을 제거하여 100 nM의 α-melanocyte stimulating hormone (α-MSH)를 처리하였다. 고수 엑소좀을 농도별로 희석해 각 well에 분주한 후 72 h 동안 배양하고 상층액 100 μL를 96 well plate에 옮겨 microplate reader에서 405 nm로 흡광도를 측정하였다.

5. 멜라닌 생성 유전자 발현 측정

http://dx.doi.org/10.20402/ajbc.2024.0018

Table 1. Primer design for evaluating the expression levels of major genes related to melanin production

Primer	Forward (5'-3')	Reverse (3'-5')
Tyrosinase	AATGCTGCCCACCATGGAT	ACACAGAGGGCCAGGACTCA
[1)]*TRP-1*	GCTGCAGGAGCCTTCTTTCTC	AAGACGCTGCACTGCTGGTCT
[2)]*TRP-2*	AGAAGTTTGACAGCCCTCC	CTAACCGCAGAGCAACTTG
[3)]*GAPDH*	GATGGGCATGAAGCATGAGA	TGGCATGGACTGTGGTCATT

[1)]*TRP-1*, tyrosinase-related protein-1; [2)]*TRP-2*, tyrosinase-related protein-2; [3)]*GAPDH*, glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase.

고수 엑소좀의 멜라닌 생성 유전자 발현에 대한 영향을 측정하기 위해 B16F0를 2.0×10^3 cells/well로 24 well plate에 분주하고 고수 엑소좀을 농도 별로 처리하고 48 h 배양하였다. 회수된 세포를 Accuprep® Universal total RNA extraction kit (Bioner, Korea)를 이용하여 RNA를 추출하고 NanoDrop™ 2000/2000c spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific Inc., USA)을 이용하여 total RNA를 정량하였다. cDNA 합성을 위해 amfiRivert cDNA Synthesis Platinum Master Mix (GenDEPOT, USA)를 이용하였다. 발현 평가를 위한 대조군으로 항존유전자인 GAPDH를 사용하였으며 유전자 발현을 위한 프라이머 염기서열은 Table 1에 요약하였다. 각 유전자 발현 측정 결과는 gel red® nucleic acid gel stain (Komabiotech, Korea)을 포함한 1.5% 아가로스 겔에 전기영동 후 Davinch-Gel (Davinch-K, Korea)을 이용하여 발색강도를 수치화하였다.

6. 통계 분석

통계 분석을 위해 모든 실험은 3회 반복 진행하여 평균±표준편차로 표시하였고 통계 프로그램은 GraphPad Prism software (San Diego, USA)를 이용하였다. 유의성 평가를 위해 일원 분산 분석과 독립 표본 t 검정을 사용해 실험군 간의 평균 차이를 확인하여 $p<0.05$ 수준에서 통계적 유의성을 평가하였다. 유전자 발현 평가는 일원 분산 분석을 통해 수행한 후 독립 표본 t 검정으로 사후분석을 진행하였으며 세포 독성 평가는 각 세포의 활성을 음성 대조군과 비교하는 방식으로 결정하여 독립 표본 t 검정으로 통계적으로 분석되었다.

Results and Discussion

1. 고수 엑소좀 특성 분석

엑소좀은 세포의 외부에서 분비되는 소포체로, 세포 간 신호 전달 및 상호작용에 중요한 역할을 수행하는데 분리를 위해 나노 필터링, 초고속 원심분리, 크로마토그래피와 유체역학 분리 등 다양한 기술이 개발되고 있다. 그 중, 나노필터링은 크기에 기반한 분리와 함께 엑소좀의 물리적 변형의 최소화를 위해 널리 사용되며 이후 원심분리를 통해 크기에 기반하여 엑소좀 농축을 진행하고 고순도 엑소좀 생산을 위해 크기 배제 크로마토그래피(size exclusion chromatography, SEC)를 추가적으로 사용하여 엑소좀을 정제하는 방법이 일반적으로 적용되고 있다.

본 연구에서는 나노필터와 SEC를 이용하여 엑소좀을 분리한 후, 레이저 산란을 기반으로 엑소좀의 크기와 농도를 측정하는 ZetaView를 활용하여 NTA를 수행하였다. 그 결과, 고수 엑소좀의 평균 크기와 농도는 각각 152.3 nm와 3.0×10^{10} particles/mL로 확인되었다(Figure 1). 이는 기존 연구에서 보고된 사과, *Aloe vera*와 생강 유래 엑소좀의 농도인 6.42×10^9, 1×10^8와 3.6×10^7 particles/mL 비교할 때, 고수 엑소좀이 사과 캘러스 엑소좀에 비해 농도가 높아 본 연구의 엑소좀 분리방법이 고순도 엑소좀 분리에 적합함을 입증하였다(Kim *et al.*, 2023; Ratnadewi *et al.*, 2023; Seo *et al.*, 2021). 특히 엑소좀의 직경이 100–200 nm 범위에 분포함으로써 기존 식물 유래 엑소좀의 평균 크기인 40–650 nm에 비해 적은 크기 범위내에 고수 엑소좀이 더욱 효과적으로 세포 간 소통에 기여할 수 있을 것으로 추론된다. 이로 인해 엑소좀이 세포 간 신호 전달, 유전자 전달, 면역반응 조절 등과 같은 미생물 관련 상호작용에서 중요한 역할을 할 수 있으며 이는 화장품 및 의약품 분야에서의 응용 가능성을 더욱 확대할 수 있을 것으로 기대된다.

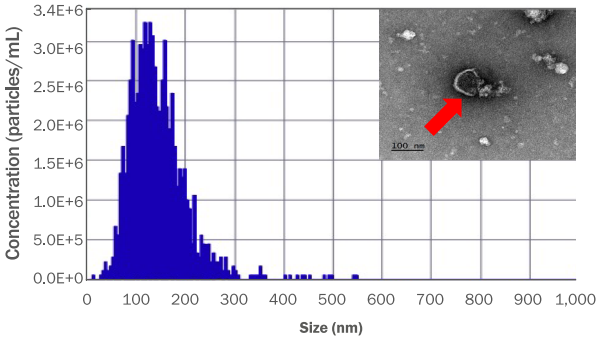

Figure 1. Characterization of *C. Sativum* exosomes using transmission electron microscope (TEM) and nanoparticle tracking analysis (NTA).

이전 연구에 따르면 고수 추출물은 항산화, 항염증 효과를 통해 피부 건강에 긍정적인 영향을 미치며, 타이로시나제 효소 활성 효과도 보고된 바 있다(Al-Khayri *et al.*, 2023; Scandar *et al.*, 2023). 이러한 배경을 바탕으로 본 연구에서는 고수로부터 분리된 고수 엑소좀의 미백 기능성을 탐색하고자 하였다.

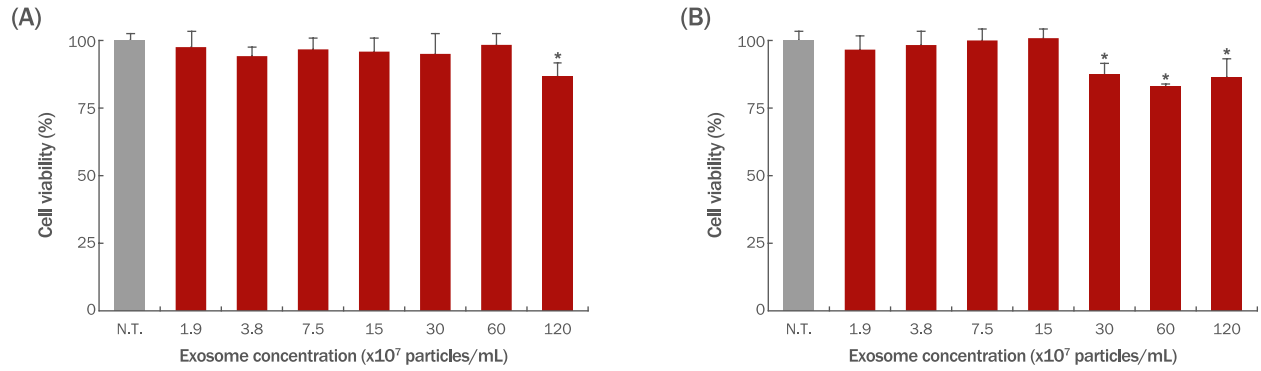

Figure 2. Effect of *C. Sativum* exosomes treatment on (A) HDF and (B) B16F0 cell viability as a function of treatment concentration.
Bars indicating significantly different concentrations of viable cells from the non-treated group (N.T.) are marked with an asterisk (*p<0.05).

2. 세포독성 평가

피부미백에 있어 멜라닌 생성 억제능 측정과 멜라닌 생성 관련 주요 유전자인 *TRP-1*과 *TRP-2* 발현 평가에 앞서 B16F0와 HDF에 대한 세포 활성을 측정하여 엑소좀의 최대 무독성 농도를 확인하고자 하였다. 그 결과 인간피부세포인 HDF에 6.0×10^8 particles/mL의 고수 엑소좀 처리 시, 세포 활성이 98.5±4.7% (p〉0.05)로 나타나 미처리군 대비 세포독성이 확인되지 않았으나 1.2×10^8 처리 시 세포활성이 87.0±5.1% (p〈0.05) 로 세포독성이 확인되어 일반피부세포에 고수 엑소좀 6.0×10^8 particles/mL 이하 농도 처리 시 세포에 무독함을 확인하였다(Figure 2A). 반면에 흑색종 세포인 B16F0에 1.5×10^8와 3.0×10^8 particles/mL의 엑소좀 처리 시 세포 활성이 각각 101.3±3.3% p〉0.05)와 87.5±4.2% p〈0.05)로 나타나 3.0×10^8 particles/mL 이상의 엑소좀 처리에 있어 세포독성이 확인되었다(Figure 2B). 두 세포의 활성비교에 있어, 고수 엑소좀 처리농도 1.5×10^8 particles/mL에서 일반세포인에 대한 세포독성이 없는 반면 B16F0에 대한 선택적 활성 저해 효과가 확인됨으로 고수 엑소좀이 인체 피부에 무해한 기능성 화장품 소재로 활용될 수 있을 것으로 사료되며 향후 피부 흑색종 세포의 활성 저해를 통한 항암소재로 후보로 활용될 가능성이 있다고 예상된다. 따라서 고수 엑소좀 처리에 따른 미백의 핵심유전자인 *TPR-1*과 *TRP-2*의 발현 저해를 평가하기 위해 세포활성에 영향을 미치지 않는 $0.0-1.5\times10^8$ particles/mL를 처리 농도로 설정하였다.

3. 멜라닌 생성 억제 효과 측정

피부에 자외선이 노출되면 피부 최외각 층에 존재하는 생체 내 멜라닌 생성 촉진 호르몬 α-MSH가 증가해 cyclic adenosine monophosphate (cAMP)와 protein kinase A (PKA)를 통해 멜라닌 생성이 증가된다(Yoon *et al.*, 2013). 이에 따라 α-MSH를 세포에 처리하여 멜라닌 생성을 과도하게 유도하였을 때, 고수 엑소좀의 멜라닌 생성 억제 효과를 조사하고자 하였다(Figure 3). 그 결과, 고수 엑소좀 $3.8\times10^7-1.5\times10^8$ particles/mL에서 농도 의존적으로 멜라닌 생성을 감소시키는 것을 확인하였다(p〈0.05). 특히 1.5×10^8 particles/mL에서 상대적 멜라닌 함량은 87.0±3.5%로 나타나 피부미백 소재로 높은 부가가치와 활용성을 가질 것으로 기대되며 이를 확인하기 위해 피부 미백 유전자 발현을 통한 관련 기작 규명 연구가 필요할 것으로 판단된다.

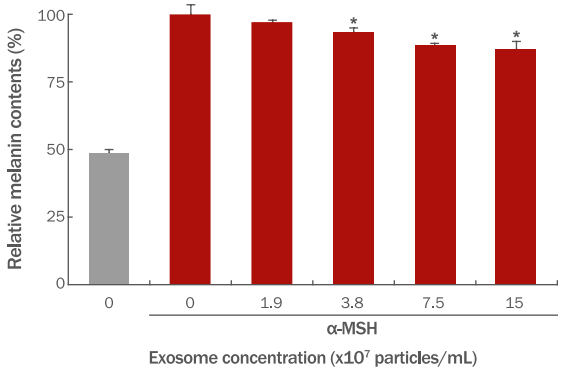

Figure 3. Inhibitory effect of *C. Sativum* exosomes on melanin production in B16F0 cells.
All values are presented as mean±standard deviation. Bars indicating significantly different melanin production from the non-treated group (N.T.) are marked with an asterisk (*p<0.05).

4. 멜라닌 합성 유전자 발현 평가

피부 미백용 소재 개발에 있어 주로 타이로시나제와 TRP 계열 효소의 활성감소를 통한 멜라닌 생성저감이 효과적인 전략으로 인식되고 있어 미백 효능을 확인하고자 고수 엑소좀이 멜라닌 생성 관련 유전자 발현에 미치는 영향을 평가하였다(Choi *et al.*, 2006). 고수 엑소좀(1.5×10^8 particles/mL)을 처리한 결과, 멜라닌의 초기 생성 단계에서 티로신을 DOPA로 전환하는 타이로시나제의 발현이 75.6±4.6%로 유의적으로 저해됨이 확인되어 고수 엑소좀이 멜라닌 생성의 초기 율속단계인 타이로시나제 활성을 감소시켜 멜라닌 합성을 효과적으로 억제함이 확인되었다. 또한, 고수 엑소좀의 첨가가 *TRP-1*과

http://dx.doi.org/10.20402/ajbc.2024.0018

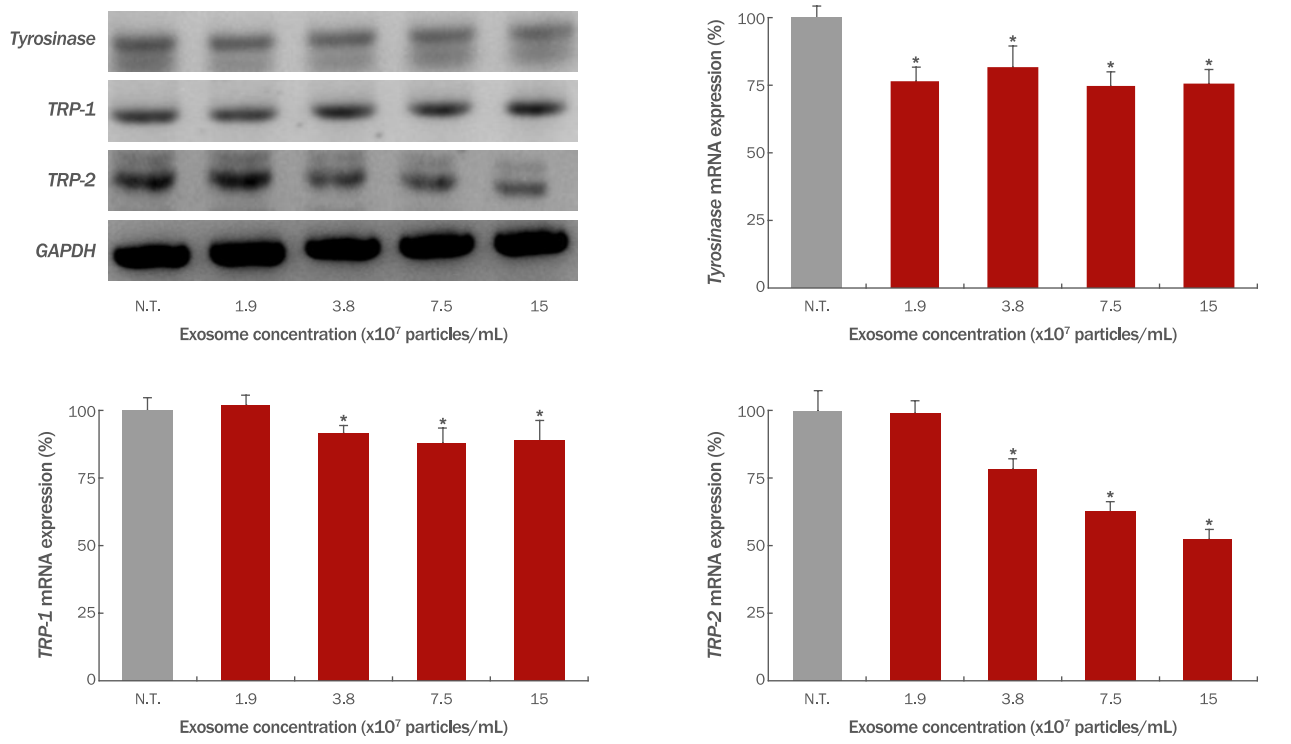

Figure 4. Effect of *C. Sativum* exosomes on the expression of genes related to melanin synthesis, *tyrosinase*, *TRP-1*, and *TRP-2*, and *GAPDH* in B16F0.
All values are presented as mean±standard deviation. Bars indicating significantly different gene expression from the non-treated group (N.T.) are marked with an asterisk (*p<0.05).

TRP-2 발현에 미치는 영향을 평가하였을 때, 1.9×10^7 particles/mL 처리 시 유전자 발현에 유의한 영향이 확인되지 않았으나 1.5×10^8 particles/mL에서 두 유전자가 각각 89.1±6.6%와 51.8±4.1%로 유의하게 감소하여 고수 엑소좀이 멜라닌 생성의 후단 유전자인 TRP를 효과적으로 저해함이 증명되었다(Figure 4). 이는 기존 연구에서 엑소좀 첨가농도가 증가할수록 *TRP-1*과 *TRP-2*의 발현이 감소된 것과 유사한 결과이며 고수 엑소좀이 *Aspergillus fumigatus* 발효물, *Rhodiola rosea* 추출물과 당귀 추출물에 비해 TRP-1의 발현을 1.05-1.25 배 높게 저해한 결과와 비교할 때 엑소좀의 우수한 미백 효능이 확인되었다(Al-Mofleh *et al*., 2006; Chiang *et al*., 2014; Kim *et al*., 2022; Song *et al*., 2021). 위의 결과를 통해 고수 엑소좀이 타이로시나제, *TRP-1*, *TRP-2* 발현을 억제하여 멜라닌 생성을 효과적으로 저해함으로써, 피부 미백용 소재로 활용 시 우수한 효능이 예상된다.

Conclusion

본 연구에서는 고수로부터 엑소좀을 분리하고 세포 안정성과 멜라닌 생성 주요 유전자 발현의 저해를 통한 미백 기능성을 확인하여 화장품 소재로서 의약품 분야에서 고수 엑소좀의 활용 가능성을 제시하고자 하였다. 고수 엑소좀을 NTA로 분석하였을 때 평균 크기는 152.3 nm, 농도는 3.0×10^{10} particles/mL로 확인되어 SEC 방법이 고순도 엑소좀 분리에 적합함을 입증하였다. 고수 엑소좀의 세포성장 저해 활성을 통한 미백 효과 확인을 위해 HDF와 B16F0에서 세포독성 평가를 수행하였을 때 흑색종 세포 활성을 효과적으로 억제하는 반면 일반세포 활성은 억제하지 않아 고수 엑소좀이 일반 세포에 독성이 없으나 흑색종 활성을 선택적으로 저해하여 피부세포에 안전함과 동시에 향후 피부암 치료에 효과적인 후보임을 제안하였다. 고수 엑소좀의 멜라닌 생성에 미치는 영향을 평가했을 때, 고수 엑소좀은 농도 의존적으로 멜라닌 생성을 감소시키며 1.5×10^8 particles/mL에서 상대적 멜라닌 함량이 87.0±3.5%로 나타나 피부 미백 소재로 높은 부가가치와 활용성을 가질 수 있음을 시사하였다. 추가적으로 고수 엑소좀이 피부 미백에 미치는 영향을 평가하고자 멜라닌 생성 주요 유전자인 타이로시나제, *TRP-1*과 *TRP-2*의 발현을 평가했을 때, 고수 엑소좀 처리에 의해 두 유전자의 발현이 효과적으로 감소함이 확인되어 고수 엑소좀은 피부 미백 기능성 소재로 활용이 가능함을 확인하였다. 다만 본 연구는 HDF와 B16F0을 사용하여 실제 인체 피부에 적용될 때의 효과를 정확히 반영하지 않을 수 있으며 고순도 및 고농도의 엑소좀 확보를 위한 추출 및 분리 공정의 최적화가

필요하다. 따라서 이러한 제한점을 보완하기 위한 후속 연구가 필요하며 이를 통해 고수 엑소좀이 피부 미백 기능성 소재로 실제 활용 가능성을 높일 수 있을 것으로 사료된다.

Author's contribution

Conceptualization, H.Y.P.; methodology, H.Y.P. and S.Y.L.; data curation, H.Y.P., S.Y.L., M.H.K., and J.E.P.; writing–original draft preparation, H.Y.P. and M.H.K.; validation, H.Y.P., M.H.K., and J.E.P.; project administration, J.W.K.; supervision, J.W.K.; All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Author details

Ha Young Park (Master's Degree)/Seon Yong Lee (Graduate Student)/Min Ho Kang (Graduate Student)/Jin Woo Kim (Professor), Department of Food Science, Sunmoon University, 70, Sunmoon-ro 221 beon-gil, Tangjeong-myeon, Asan-si, Chungcheongnam-do 31460, Korea.

References

Al-Mofleh IA, Alhaider AA, Mossa JS, Al-Sohaibani MO, Rafatullah S, Qureshi S. Protection of gastric mucosal damage by *Coriandrum sativum* L. pretreatment in wistar albino rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 22: 64–69, 2006.

Al-Khayri JM, Banadka A, Nandhini M, Nagella P, Al-Mssallem MQ, Alessa FM. Essential oil from *Coriandrum sativum*: a review on its phytochemistry and biological activity. *Molecules*, 28: 696, 2023.

An SY, Park JS, Chung YM. Current applications of biomolecules as cosmetics ingredients. *Journal of the Korea Academia-Industrial Cooperation Society*, 24: 21–31, 2023.

Cha JY, Yang HJ, Jeong JJ, Seo WS, Park JS, Ok M, Cho YS. Tyrosinase inhibition activity and antioxidant capacity by fermented products of some medicinal plants. *Journal of Life Science*, 20: 940–947, 2010.

Chiang HM, Chien YC, Wu CH, Kuo YH, Wu WC, Pan YY, Su YH, Wen KC. Hydroalcoholic extract of *Rhodiola rosea* L. (*Crassulaceae*) and its hydrolysate inhibit melanogenesis in B16F0 cells by regulating the CREB/MITF/tyrosinase pathway. *Food and Chemical Toxicology*, 65: 129–139, 2014.

Choi SY, Kang NJ, Kim HC. Inhibitory effects of root extracts on melanin biosynthesis in *Rodgersia podophylla* A. Gray. *Korean Journal of Medicinal Crop Science*, 14: 27–30, 2006.

Dad HA, Gu TW, Zhu AQ, Huang LQ, Peng LH. Plant exosome-like nanovesicles: emerging therapeutics and drug delivery nanoplatforms. *Molecular Therapy*, 29: 13–31, 2021.

Fang D, Kute T, Setaluri V. Regulation of tyrosinase-related protein-2 (TYRP2) in human melanocytes: relationship to growth and morphology. *Pigment Cell Research*, 14: 132–139, 2001.

Fang Z, Liu K. Plant-derived extracellular vesicles as oral drug delivery carriers. *Journal of Controlled Release*, 350: 389–400, 2022.

Hosoi J, Abe E, Suda T, Kuroki T. Regulation of melanin synthesis of B16 mouse melanoma cells by 1α, 25-dihydroxyvitamin D3 and retinoic acid. *Cancer Research*, 45: 1474–1478, 1985.

Jiang P, Zhang S, Cheng C, Gao S, Tang M, Lu L, Yang G, Chai R. The roles of exosomes in visual and auditory systems. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8: 525, 2020.

Kim JH, Hwang YS, Kang MH, Yeom SH, Park JH, Kim JW. Enhancement of the skin-whitening and UV-absorption effects of *Angelica gigas* extract by *Lactiplantibacillus plantarum* fermentation. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, 51: 412–418, 2022.

Kim YD, Kang SK, Choi OJ. Antimicrobial activity of coriander (*Coriandrum sativum* L.) extract. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, 30: 692–696, 2001.

Kim DM, Kim WJ, Lee HK, Kwon YS, Choi YM. Skin improvement of the composition containing nano-exosome derived from *Aloe vera* Bark Callus as new type of transdermal delivery system. *Asian Journal of Beauty and Cosmetology*, 21: 117–130, 2023.

Ku HB, Park K, Cheon MG, Choi SW, Kim GN. Whitening effect of *Thinned Immature* apple mango (*Mangifera indica* L. Irwin) extract. *Asian Journal of Beauty and Cosmetology*, 21: 675-685, 2023.

http://dx.doi.org/10.20402/ajbc.2024.0018

de la Canal L and Pinedo M. Extracellular vesicles: a missing component in plant cell wall remodeling. *Journal of Experimental Botany*, 69: 4655–4658, 2018.

Li P, Kaslan M, Lee SH, Yao J and Gao Z. Progress in exosome isolation techniques. *Theranostics*, 7: 789–804, 2017.

del Marmol V, Ito S, Jackson I, Vachtenheim J, Berr P, Ghanem G, Morandini R, Wakamatsu K and Huez G. TRP-1 expression correlates with eumelanogenesis in human pigment cells in culture. *FEBS Letters*, 327: 307–310, 1993.

Nan L, Lee CH, You-Na C and Byung-Kil C. Anti-oxidant and anti-inflammatory effects of ethanol extracts from aerial part of *Coriandrum sativum* L. *Korean Association of Organic Agriculture*, 27: 513–528, 2019.

Ning C, Lee JA. Anti-oxidant, anti-inflammatory, and skin barrier function of *Coriandrum sativum* extract. *Journal of Health and Beauty*, 17: 56–66, 2023.

Park JY, Lee HN, Hu MY, Park JH. Kojic acid derivatives, have tyrosinase inhibitory activity to suppress the production of melanin in the biosynthetic pathway. *Journal of Life Science*, 29: 755–761, 2019.

Ratnadewi D, Widjaja CH, Barlian A, Amsar RM, Ana ID, Hidajah AC, Notobroto HB, Wungu TDK. Isolation of native plant-derived exosome-like nanoparticles and their uptake by human cells. *HAYATI Journal of Biosciences*, 30: 182–192, 2023.

Scandar S, Zadra C, Marcotullio MC. Coriander (*Coriandrum sativum*) polyphenols and their nutraceutical value against obesity and metabolic syndrome. *Molecules*, 28: 4187, 2023.

Seo YR, Lee KS, Kang YW. Study on reinforcing skin barrier and anti-aging of exosome-like nanovesicles isolated from malus domestica fruit callus. *Journal of the Society of Cosmetic Scientists of Korea*, 47: 139–145, 2021.

So KS, Kim JH, Lim YJ, Jeong JT, Seo JY, Cha YK, Cho HD, Bae S, So KS, Kim JH. Anti-oxidant and whitening effect of low molecular weight Kaki-tannin with gamma irradiation. *Asian Journal of Beauty and Cosmetology,* 21: 131–140, 2023.

Song TY, Kim CW, Kang MO, Gal SW, Hwang EM. The melanin synthesis inhibitory effect of *Aspergillus fumigatus* fermented extract. *Korean Journal of Pharmacognosy*, 52: 84–91, 2021.

Wortzel I, Dror S, Kenific CM, Lyden D. Exosome-mediated metastasis: communication from a distance. *Developmental Cell*, 49: 347–360, 2019.

Yoon Y, Bae S, An S, Choe YB, Ahn KJ, An IS. Effects of ultraviolet radiation on the skin and skin cell signaling pathways. *Asian Journal of Beauty and Cosmetology*, 11: 417–426, 2013.

You JY, Kang SJ, Rhee WJ. Isolation of cabbage exosome-like nanovesicles and investigation of their biological activities in human cells. *Bioactive Materials*, 6: 4321–4332, 2021.

국문초록

고수 엑소좀의 Tyrosinase와 TRPs 발현 억제를 통한 피부 미백 증진 효과

박하영, 이선용, 강민호, 박정은, 김진우*
선문대학교 식품과학과, 충청남도 아산시, 한국

목적: 본 연구에서는 *Coriandrum sativum* (*C. sativum*) 유래 엑소좀을 이용하여 멜라닌 합성을 억제함으로써 피부 미백 효과를 알아보고자 하였다. **방법:** 나노입자 추적 분석을 사용하여 *C. sativum* 유래 엑소좀(*C. sativum exosome*, CSE)의 특성을 조사한 결과, 평균 크기는 152.3 nm이고 농도는 3.0×10^{10} particles/mL인 것으로 나타났다. 세포 안전성을 평가하기 위해 B16F0 세포에 대한 세포독성 평가를 실시하였고, RT-PCR을 통해 멜라닌 합성 유전자의 발현 수준을 정량하는 방법을 사용하여 CSE의 피부 미백 효과를 조사하였다. **결과:** 1.5×10^{8} particles/mL 미만의 CSE 농도가 세포 활동에 부정적인 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다. CSE 처리는 *tyrosinase*, *TRP-1*와 *TRP-2* 등 멜라닌 합성에 관여하는 주요 유전자의 발현을 각각 75.6%, 89.1%, 88.7% 유의하게 감소시켰다. **결론:** CSE는 멜라닌 생성에 관여하는 핵심 유전자를 효과적으로 억제함으로써 피부 미백 촉진 기능성 화장품 원료로서 높은 잠재력을 보였다.

핵심어: 고수(*Coriandrum sativum*), 엑소좀, 멜라닌, Tyrosinase, 미백

참고문헌

구희빈, 박경미, 천미건, 최상우, 김교남. 애플망고(*Mangifera indica* L. Irwin) 적과 추출물의 미백 활성. *아시안뷰티화장품학술지*, 21: 675-685, 2023.

김동명, 김원진, 이형곤, 권용성, 최연매. *Aloe vera* 껍질 캘러스에서 유래된 나노 엑소좀에 대한 신규 피부전달체로써의 피부개선효과 연구. *아시안뷰티화장품학술지*, 21: 117-130, 2023.

김용두, 강성구, 최옥자. 고수(*Coriandrum sativum* L.) 추출물의 항균활성. *한국식품영양과학회지*, 30: 692-696, 2001.

김준희, 황윤선, 강민호, 염서희, 박제훈, 김진우. 당귀 추출물의 *Lactiplantibacillus plantarum* 발효에 의한 미백 및 자외선 흡수 효과 증대. *한국식품영양과학회지*, 51: 412-418, 2022.

난리, 이창현, 최유나, 추병길. 고수(*Coriandrum sativum* L.) 지상부 추출물의 항산화 및 항염증 활성 효과. *한국유기농업학회지*, 27: 513-28, 2019.

박정열, 이하늘, 후맹양, 박정호. 생체 내 경로에서 멜라닌 생성을 억제하는 타이로신 억제제로서의 코직산 유도체. *생명과학회지*, 29: 755-761, 2019.

서유리, 이광수, 강용원. 사과 캘러스로부터 분리된 엑소좀-유사 Nanovesicles의 피부 장벽 및 피부 노화 방지 개선 연구. *대한화장품학회지*, 47: 139-145, 2021.

소경석, 김진현, 임여진, 정주태, 서재용, 차영권, 조현대, 조항의, 배승희. 감마선 조사를 통한 저분자 감 탄닌의 제조와 미백, 항산화 효능 연구. *아시안뷰티화장품학술지*, 21:131-140, 2023.

송태양, 김창원, 강미옥, 갈상완, 황을문. *Aspergillus fumigatus* 발효 추출물의 멜라닌 합성 억제 효과. *생약학회지*, 52: 84-91, 2021.

안소연, 박종순, 정영미. 화장품 소재로의 생체분자 활용 동향. *한국산학기술학회 논문지*, 24: 21-31, 2023.

영치의, 이지안. 고수 추출물의 항산화, 항염 및 피부장벽 기능 효과. *국제보건미용학회지*, 17: 56-66, 2023.

윤영민, 배승희, 안성관, 최용범, 안규중, 안인숙. 자외선(Ultraviolet)이 피부 및 피부세포 내 신호전달체계에 미치는 영향. *아시안뷰티화장품학술지*, 11: 417-426, 2013.

http://dx.doi.org/10.20402/ajbc.2024.0018

차재영, 양현주, 정재준, 서원석, 박준석, 옥민, 조영수. 한방 생약재 발효액의 항산화 활성 및 tyrosinase 저해 활성. *생명과학회지*, 20: 940-947, 2010.
최상윤, 강난주, 김호철. 도깨비부채 뿌리 추출물의 멜라닌 생성억제효과. *한국약용작물학회지*, 14: 27-30, 2006.

中文摘要

通过抑制芫荽来源的外泌体的酪氨酸酶和TRPs表达来抑制黑色素合成基因

朴荷泳，李先鏞，康民湖，朴正恩，金鎭佑*
鲜文大学食品科学科，忠清南道牙山市，韩国

目的： 调查了使用源自芫荽(*C. sativum*)的外泌体通过抑制黑色素合成而实现的皮肤美白效果。**方法：** 我们利用纳米粒子追踪分析检查了芫荽外泌体(CSE)的特征，结果显示其平均大小为152.3 nm，浓度为 3.0×10^{10} 个粒子/mL。对B16F0 细胞进行细胞毒性评估，以评估CSE的细胞安全性。我们通过使用 RT-PCR 定量黑色素合成基因表达来研究 CSE 的皮肤美白效果。**结果：** CSE浓度低于1.5×10^{8} 颗粒/mL，对细胞活性不产生负面影响。此外，CSE处理使*tyrosinase*、*TRP-1*和*TRP-2*等参与黑色素合成的关键基因的表达显着降低，分别降低了75.6%、89.1%和88.7%。**结论：** CSE有望成为功能性化妆品成分，通过抑制参与黑色素生成的关键基因来促进皮肤美白。

关键词： 芫荽，外泌体，黑色素，酪氨酸酶，美白肌肤

http://dx.doi.org/10.20402/ajbc.2024.0018