



RESEARCH ARTICLE

Open Access

Assessment of the Bioactivity of Elixir Stone™ as a Far-Infrared Therapeutic Agent for Treating Chronic Inflammatory Diseases

Ji-Seon Kim^{1†}, Seokmuk Park^{1†}, Bo Liu^{1,2}, Jaereen Kim¹, Hee-Jae Shin¹, Seok Yun Jeong¹, Seyeol Baek¹, Eun Kyung Kim³, Jun-Hyeok Kang⁴, Seunghee Bae^{1*}

¹Department of Cosmetics Engineering, Konkuk University, Seoul, Korea

²Department of Beauty Health, Namseoul University, Cheonan-si, Chungchengnam-do, Korea

³ANX Healthcare and Social Welfare Research Center, Seoul, Korea

⁴Department of Social Welfare, Eulji University, Seongnam-si, Gyeonggi-do, Korea

*Corresponding author: Seunghee Bae,
Department of Cosmetics Engineering,
Konkuk University, 120 Neungdong-ro,
Gwangjin-gu, Seoul 05029, Korea
Tel.: +82 2 450 0463
Fax: +82 7 702 2277
Email: sbae@konkuk.ac.kr

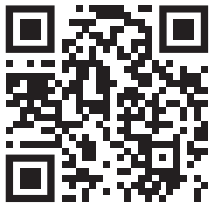
[†]Ji-Seon Kim and Seokmuk Park contributed equally to this work.

Received October 2, 2024

Revised November 12, 2024

Accepted November 28, 2024

Published December 30, 2024



Abstract

Purpose: This study aimed to evaluate the potential of Elixir Stone™ as a therapeutic material against chronic inflammatory diseases by testing its anti-inflammatory, pain-relieving, and wound-healing effects in lipopolysaccharide (LPS)-induced hyperinflammation models. **Methods:** Hyper-inflammatory responses were induced via LPS treatment. The effects of Elixir Stone™ Patch on inflammatory cytokines and pain-related factors were analyzed using reverse transcription polymerase chain reaction to determine gene expression levels as well as using the nitric oxide (NO) and enzyme-linked immunosorbent assays. The impact of nuclear factor kappa B (NF-κB) activation was assessed via plasmid transfection, while the wound-healing capacity was examined by evaluating cell migration. **Results:** Elixir Stone™ and Elixir Stone™ Patch demonstrated excellent far-infrared emission properties. Elixir Stone™ Patch significantly reduced the production of inflammatory cytokines and NO, which are key mediators of inflammation. In addition, it inhibited the nuclear translocation of NF-κB, thereby suppressing the activation of this signaling pathway. Elixir Stone™ Patch also decreased the expression of pain-related factors cyclooxygenase-2 and prostaglandin E2, while enhancing wound-healing abilities. **Conclusion:** The results of this study confirm that Elixir Stone™ Patch is effective in alleviating LPS-induced chronic inflammation and pain in addition to promoting wound healing. These findings suggest the utility of the Elixir Stone™ as a functional transdermal patch material to treat chronic inflammatory diseases.

Keywords: Chronic inflammatory disease, Elixir stone, Far-infrared therapy, Pain relief, Wound healing

Introduction

인간은 다양한 환경 요인에 의해 급성(acute) 또는 만성(chronic) 염증에 노출된다. 일반적으로 급성 염증은 신체가 손상을 복구하기 위해 단기간 동안 발생하지만, 만성 염증은 염증 과정이 장기화되어 류마티스 관절염 등의 자가면역질환이나 심혈관 질환 및 암 등 다양한 질병을 유발할 수 있다(Araki & Mimura, 2016). 현대 사회로 접어들면서 고령화와 대기 오염이 심각해지고, 식생활이 서구화됨에 따라 만성 염증성 질환(chronic inflammatory diseases)은 사회적

로 중요한 문제로 인식되고 있다(Baechle *et al.*, 2023). 특히 해당 질환은 단일 원인보다는 여러 가지 요인이 복합적으로 작용하여 발생하기 때문에, 원인을 정확히 파악하고 표적화하여 치료하기가 어렵다는 특징이 있다(Tabas & Glass, 2013). 또한 지속적인 통증과 불편을 초래하고 경제적 부담을 유발할 수 있으므로, 건강한 삶을 유지하는데 있어 큰 위협이 된다(Fazal *et al.*, 2018). 따라서 만성 염증성 질환을 효과적으로 해결할 수 있는 다양한 치료법 및 대체요법의 개발이 필요한 실정이다.

한편, 만성 염증성 질환의 효과적인 치료를 위해서는 염증을 억제

하는 접근이 필수적이다. Jung (2017)의 연구에서는 류마티스 관절염 등의 자가면역질환에서 항염 요법은 증상을 완화하고 질병의 진행을 억제하는 데 기여할 수 있음을 밝혔다. 또한 염증성 마커(marker)인 interleukin, chemokine류의 발현 억제는 만성 염증성 질환의 치료를 위해 주로 활용되고 있는 전략이다(Laveti *et al.*, 2013). 이처럼 항염 치료는 질환 및 통증을 완화함으로써 전반적인 건강을 유지하는 데 필수적이다. 최근에는 만성 염증성 질환의 치료를 위해 다양한 항염증제(anti-inflammatory drugs)가 처방되고 있다(Chen *et al.*, 2021). 그러나 염증 질환에 처방되는 의약품, 특히 비스테로이드성 항염증제(non-steroidal anti-inflammatory drugs; NSAIDs)는 위장관 출혈 및 감염의 위험을 높이며(Lanas *et al.*, 2005), 코르티코스테로이드(corticosteroid)와 같은 일부 항염증제는 장기간 사용하는 경우 내성이 발생할 수 있는 등 약물 부작용에 대한 우려가 제기되고 있다(Smith, 2013). 또한 만성 염증성 질환은 단기간의 약물 요법으로는 치료가 어렵고, 장기적인 관리와 약물 복용이 필요하므로 비교적 부작용이 적은 대체 요법을 선호하는 추세이다(Pinto *et al.*, 2020). 허브(herbal medicine) 등의 약용 식물(medical plant)을 이용하여 염증을 완화하는 파이토테라피(phytotherapy)는 당뇨병, 심혈관 질환 등 염증 매개 질환의 치료에 효과적인 것으로 보고되어 있다(Chávez-Castillo *et al.*, 2020). 그러나 이러한 대체요법은 알레르기 반응 등 안전성의 위험이 있으며, 재배 조건에 따라 치료 효과가 일관되지 않을 수 있다는 문제가 있다(Mainardi *et al.*, 2009). 이에 따라, 기존의 치료법보다는 부작용이 적고 장기간 안전하게 적용할 수 있는 보완책의 필요성이 증가되고 있는 실정이다.

원적외선(far-infrared radiation, FIR)은 적외선 스펙트럼 중에서 파장이 긴 부분에 해당하는 전자기파로, 3-100 μm 의 파장을 갖는 적외선을 지칭한다. 원적외선은 중간 매개 없이 직접적으로 복사 에너지를 전달하기 때문에 온열 특성을 지니며, 인체에 투과되었을 때 세포를 미세하게 진동시켜 생체 조직을 활성화하는 것으로 알려져 있다(Qin *et al.*, 2024). 이러한 세포 자극은 혈액 순환 촉진 및 혈류량을 증가시키고, 상처 치유 속도를 높이고 통증과 염증을 완화하는 등 생리 활성을 통해 건강을 개선하는 임상적인 효과가 보고되어 있다(Hong & Jeoung, 2020; Li *et al.*, 2017). 그러나 기계 장비를 이용하여 원적외선을 조사하는 것은 공간적·비용적 부담이 있으므로, 최근에는 원적외선을 방출하는 소재를 활용하여 다양한 치료 효과를 규명하는 연구가 활발히 진행되어 왔다. Choi *et al.* (2024)의 연구에서는 원적외선을 방출하는 황토에 의해 체온과 혈류량이 증가됨을 확인하였다(Choi *et al.*, 2024). 인간 제대정맥내피세포(human umbilical vein endothelial cell)에서는 원적외선을 방출하는 far infrared technology (FIT) patch를 처리하였을 때 항염 및 산화 스트레스로부터의 세포 보호 효과가 확인되었다(Pastore *et al.*, 2020). 이처럼, 원적외선 치료가 다양한 생리적 효과를 나타낸다는 사실이 다수의 연구에서 관찰된 반면, RAW 264.7 및 HaCaT 세포를 사용한 *in vitro* 모델에서 원적외선 방출 성분이 포함된 패치의 효과 및 작용

기전을 입증한 연구는 아직 확인되지 않았다. 따라서 본 연구에서는 원적외선이 방출되는 것으로 알려진 화산암, 버드나무속, 운모 및 규산염 암석(Dolgorsuren *et al.*, 2014; Liang *et al.*, 2008; Lin *et al.*, 2007; Shin & Han, 2000; Yamashita, 2012) 등을 특허출원된 특수 배합비율로 Elixir Stone™을 제조하였고, 이를 기반으로 피부에 부착할 수 있도록 Elixir Stone™ Patch (일명 Legendary Patch)를 개발하였으며, 상기 원적외선 방출 소재가 항염, 항통증 및 상처 치유 효과를 가지는지 평가하고자 하였다. 또한 Elixir Stone™ Patch의 다양한 생리적 효능을 입증하여 만성 염증성 질환의 치료 수단을 대체할 수 있는 안전하고도 효과적인 기능성 경피 패치의 개발 가능성을 검토하고자 하였다.

Methods

1. 시료 준비

본 연구는 세포 내 원적외선 요법(far-infrared therapy; FIT)을 적용하기 위해 Elixir Stone™과 Elixir Stone™ Patch (일명 Legendary Patch)를 사용하였으며, 해당 시료들은 에이엔엑스 헬스케어사회복지 연구센터(Korea)에서 제공받았다. 구체적으로, Elixir Stone™은 화산암, 버드나무속, 운모 및 규산염 암석(Dolgorsuren *et al.*, 2014; Liang *et al.*, 2008; Lin *et al.*, 2007; Shin & Han, 2000; Yamashita, 2012) 등을 특허출원된 특수 배합비율과 제조공정을 통해 미립자화, 세라믹화 시킨 원적외선 방출 약돌(medical stone)이다. Elixir Stone™ 분말은 점착제 등과 혼합한 후 부직포(polyester 97%, rayon 3%)에 도포 및 건조시켜 패치(Elixir Stone™ Patch) 형태로 제조되었으며, 이를 적절한 크기로 절단하여 실험에 이용하였다. Pastore *et al.* (2020) 등의 선행연구에서 기술한 방법을 응용하였으며, 패치는 cell culture dish 크기에 맞게 재단한 뒤 외측 상단 또는 하단면에 부착하여 각 실험에 적용하였다(Pastore *et al.*, 2020).

2. 원적외선 방사율 및 방사에너지 측정

Elixir Stone™의 원적외선 방사율과 방사에너지는 (사)한국원적외선협회 부설 한국원적외선응용평가연구원에 분석 의뢰하여 측정하였다. 이는 FT-IR Spectrometer (M2400-C; MIDAC, USA)를 이용하여 인체의 평균 체온인 37°C 조건에서 5-20 μm 의 파장영역에서의 흑체(black body) 대비 방사율과 방사에너지($\text{W}/\text{m}^2 \cdot \mu\text{m}$)로 나타내었다.

3. 세포 배양

본 시험에서 사용한 마우스 대식세포(macrophage) RAW 264.7 세포주(No. 40071)는 한국세포주은행(Korean Cell Line Bank, Korea)으로부터 분양 받아 사용되었다. 배지로는 Roswell Park Memorial Institute (RPMI) 1640 medium (L0498; Biowest,

France)을 사용하였으며, fetal bovine serum (FBS; 35-015-CV; Corning, USA)이 10% (v/v) 포함될 수 있도록 제조하였다. 인간 각질형성세포(keratinocyte) HaCaT 세포주는 German Cancer Research Center (Germany)사에서 구매하여 사용했으며, 10% FBS 및 1% penicillin/streptomycin (15140-122; Gibco, USA)이 함유된 Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM; LM001-05; Welgene, Korea)을 배양에 이용하였다. 세포는 37°C, 5% CO₂ 상태의 incubator에서 배양 및 유지하였다.

4. 역전사 중합효소 연쇄 반응

Elixir Stone™ Patch 및 lipopolysaccharide (LPS)를 병용처리한 세포에서 전염증성 사이토카인(pro-inflammatory cytokines) 유전자 발현량을 확인하기 위하여 reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR)을 수행하였다. Total RNA는 RiboEX reagent (301001; GeneAll Biotechnology, Korea)를 사용하여 추출하였고, 이로부터 Moloney murine leukemia virus reverse transcriptase (28025-013; Invitrogen, USA)를 이용하여 cDNA를 합성하였다. 합성된 cDNA와 1.5 mM dNTPs, reaction buffer, primers, Taq polymerase를 적절히 혼합하여 PCR을 수행하였다. 이

후 합성된 PCR 산물은 1% agarose gel에 30 min 동안 전기영동 하였으며, UV transilluminator (FUSION SOLO S; Vilber, France)를 활용하여 mRNA 발현 정도를 band로 시각화하였다. 분석에 사용된 특정 유전자의 primer sequence는 Table 1과 같다.

5. Quantification of nitric oxide (NO) production

RAW 264,7 및 HaCaT 세포를 96 well plate에 1×10⁵ cells/well 이 되도록 접종한 뒤 24 h 동안 배양하였다. 이후 RAW 264,7 및 HaCaT 세포에 각각 10 ng/mL, 20 µg/mL 농도의 LPS (L2630; Sigma-Aldrich)를 처리하였고, culture plate에는 Elixir Stone™ Patch를 부착하여 24 h 동안 추가 배양하였다. 세포 배양액은 Griess reagent (G4410; Sigma-Aldrich)와 1:1로 혼합한 후 상온에서 30 min 동안 incubation 하였다. 생성된 NO양은 Synergy HTX Multi-Mode Microplate Reader (Bioteck, Italy)를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였으며, sodium nitrite (237213; Sigma-Aldrich)로 작성한 표준 곡선(standard curve)으로 정량하였다.

6. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

RAW 264,7 및 HaCaT 세포에 각각 10 ng/mL, 20 µg/mL 농도

Table 1. Primer sequences for reverse transcription polymerase chain reaction

Gene		Sequence (5' to 3')
<i>Tnf-α</i>	Forward	CATCACTGCCACCCAGAAGACTG
	Reverse	ATGCCAGTGAGCTTCCCGTTCCAG
<i>IL-1β</i>	Forward	GCCCATCCTCTGTGACTCAT
	Reverse	AGGCCACAGGTATTTTGTCTG
<i>IL-6</i>	Forward	GAGGATACCACTCCCAACAGACC
	Reverse	AAGTGCATCATCGTTGTTCATACA
<i>Cox-2</i>	Forward	GAAGTCTTTGGTCTGGTGCCTG
	Reverse	GTCTGTCTGTTTGGAAATAGTTGC
<i>Gapdh</i>	Forward	CATCACTGCCACCCAGAAGACTG
	Reverse	ATGCCAGTGAGCTTCCCGTTCCAG
<i>TNF-α</i>	Forward	CTCTTCTGCCTGCTGCACTTTG
	Reverse	ATGGGCTACAGGCTTGTCACTC
<i>IL-1β</i>	Forward	TTCCCTGCCACAGACCTTCC
	Reverse	TGCATCGTGCACATAAGCCTCG
<i>IL-6</i>	Forward	GTAGCCGCCACACAGA
	Reverse	CATGTCTCCTTTCTCAGGGCTG
<i>COX-2</i>	Forward	CGGTGAAACTCTGGCTAGACAG
	Reverse	GCAAACCGTAGATGCTCAGGGA
<i>GAPDH</i>	Forward	GTCTCCTCTGACTTCAACAGCG
	Reverse	ACCACCCTGTTGCTGTAGCCAA

Tnf-α, tumor necrosis factor alpha; *IL-1β*, interleukin 1 beta; *IL-6*, Intereukin-6; *Cox-2*, cyclooxygenase-2; *Gapdh*, glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase; *TNF-α*, tumor necrosis factor alpha; *IL-1β*, interleukin 1 beta; *IL-6*, Intereukin-6; *COX-2*, cyclooxygenase-2; *GAPDH*, glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase. The primers of *Tnf-α*, *IL-1β*, *IL-6*, *Cox-2*, *Gapdh* were designed to target gene sequences in the species *Mus musculus* (house mouse). The primers of *TNF-α*, *IL-1β*, *IL-6*, *COX-2*, *GAPDH* were designed to target gene sequences in the species *Homo sapiens* (human).

의 LPS와 Elixir Stone™ Patch를 24 h 동안 병용 처리하였다. 이후 배양 배지를 12,000 rpm, 5 min의 조건으로 원심 분리하여 수득한 상등액 내 prostaglandin E2 (PGE₂)의 분비량을 측정하기 위해서 PGE₂ ELISA kit (ADI-900-001; ENZO Life Sciences, USA)를 사용하였으며, 제조사의 지침에 따라 분석하였다.

7. Wound healing assay

Elixir Stone™ Patch의 상처 치유 능력을 분석하기 위해 wound healing assay를 수행하였다. HaCaT 세포를 60 mm dish에 2×10^6 cells이 되도록 접종한 후 24 h 동안 배양하였다. 이후 60 mm dish에 가득 자란 HaCaT 세포에 멸균된 tip으로 scratch를 낸 후, 100 µg/mL의 LPS를 처리하거나 plate 외측에 Elixir Stone™ Patch를 부착하였다. 추가 배양된 세포는 6 h 간격으로 위상차 현미경(phase-contrast microscopy)을 통해 관찰 및 촬영되었다. 상처 치유 능력은 Image J software (ImageJ 1.53t, National Institutes of Health, USA)를 이용하여 scratch 면적을 수치화하여 그래프로 나타내었다.

8. Transient transfection

LPS 및 Elixir Stone™ Patch가 병용 처리된 세포에서 p65의 핵 내 이동 정도를 분석하고자 transient transfection을 진행하였다. Translocation 정도는 GFP-RelA (23255; Addgene, USA) plasmid를 이용하여 분석하였다. RAW 264.7 및 HaCaT 세포를 6 well plate에 9.0×10^5 cells/well이 되도록 접종한 후 24 h 동안 배양하였다. 배양된 세포는 lipofectamine transfection reagent (11514015; Thermo fisher scientific, USA)를 이용하여 GFP-p65 plasmid를 24 h 동안 transfection시켰다. 이후 RAW 264.7 및 HaCaT 세포에 각각 10 ng/mL, 20 µg/mL 농도의 LPS와 Elixir Stone™ Patch를 병용 처리하였고, 8 h 뒤 형광 현미경(Axiovert 200; Carl Zeiss, Germany)으로 세포를 관찰 및 분석하였다.

9. 통계분석

본 연구는 동일하고 독립적인 조건하에 3회 이상의 반복 실험을 실시하였다. 통계 분석에는 GraphPAD Prism 8.0 (GraphPad Software, USA)이 사용되었으며, 각 결과에 따라 평균값과 표준편차를 계산하여 나타낸 후 one-way ANOVA 분석을 이용하여 p-value 0.05 (*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001) 이하인 경우 통계적으로 유의하다고 평가하였다.

Results and Discussion

1. Elixir Stone™의 원적외선 방사율 및 방사에너지 측정

원적외선 요법은 인공 방열기(radiator)에서 방출되는 낮은 에너지의 빛을 제공하는 방식으로(Yu *et al.*, 2006) 세포 내 항염, 항통증, 혈류 개선 및 상처 치유 등의 생물학적 효능이 있는 것으로 알려져 있다. 이로 인해 원적외선 요법은 심혈관 질환, 자가면역질환 등 기타 만성 건강 문제의 치료를 위해서 주로 시행된다(Tsai & Hamblin, 2017). 이에, 세라믹(ceramic) 소재를 비롯한 원적외선을 방사하는 다양한 원료에 관한 연구가 지속되고 있으며, 특히 피부에 적용할 수 있는 생체 친화적인 원적외선 방출 소재의 개발이 필요한 실정이다(Leung *et al.*, 2013; Pastore *et al.*, 2020). 따라서 본 연구에서는, Elixir Stone™의 신규 FIT 소재로의 가능성을 확인하기 전에, 해당 시료가 원적외선 방사 특성을 가지는지 확인하고자 하였다. Table 2에서는 푸리에 변환 적외선 분광법(Fourier-transform infrared spectroscopy)을 통해서 Elixir Stone™에서 방출되는 원적외선의 양과 강도를 정량화하였다. 그 결과, 5-20 µm 파장범위에서 Elixir Stone™의 원적외선 평균방사율과 평균방사에너지는 각각 0.919, 3.54×10^2 W/m²·µm의 값을 나타내었다. 또한 Elixir Stone™ Patch의 원적외선 평균방사율과 평균방사에너지는 각각 0.901, 3.47×10^2 W/m²·µm으로 나타났다. 이러한 결과는 화산암, 버드나무속, 운모 및 규산염 광석을 주요 성분으로 하는 Elixir Stone™ 뿐만 아니라, 이의 경피 패치인 Elixir Stone™ Patch도 상당한 원적외선 방출 효과를 가짐을 보여준다. 산업 내 적용 가능성을 고려하였을 때, 이후 실험은 Elixir Stone™ Patch를 이용하여 세포 내 항염, 항통증 및 상처 치유 효능을 분석하였다. 따라서 Table 2의 결과는 Elixir Stone™ 및 Patch가 상당한 양의 원적외선을 방사하는 특성을 가지며, 이를 통해 원적외선 치료 요법의 신규 소재로의 적용 가능성을 보여준다.

2. Elixir Stone™ Patch의 세포 내 항염 효과

1) Elixir Stone™ Patch의 전염증성 사이토카인 발현 억제 효과
전염증성 사이토카인은 체내 염증 반응을 촉진하는 핵심 조절 분자이다. 이는 주로 활성화된 대식세포(macrophage)에 의해서 생성되며, 단기적으로는 병원체의 감염을 막고 조직 항상성을 유지시키지만, 장기간 발현하는 경우 암, 심혈관 질환, 당뇨병 및 골다공증 등 만성 질환을 야기하는 것으로 알려져 있다(Laveti *et al.*, 2013). 특히 tumor necrosis factor (TNF)-α, interleukin (IL)-1β, IL-6가 과도하게 분비되면 류마티스 관절염, 건선, 크론병 등의 난치성 염증 질환

Table 2. Far-infrared radiance emissivity and radiance energy of Elixir Stone™ and Elixir Stone™ Patch

Gene	Radiance emissivity (5-20 µm)	Radiance energy (W/m ² ·µm, 37 °C)
Elixir Stone™	0.919	3.54×10^2
Elixir Stone™ Patch	0.901	3.47×10^2

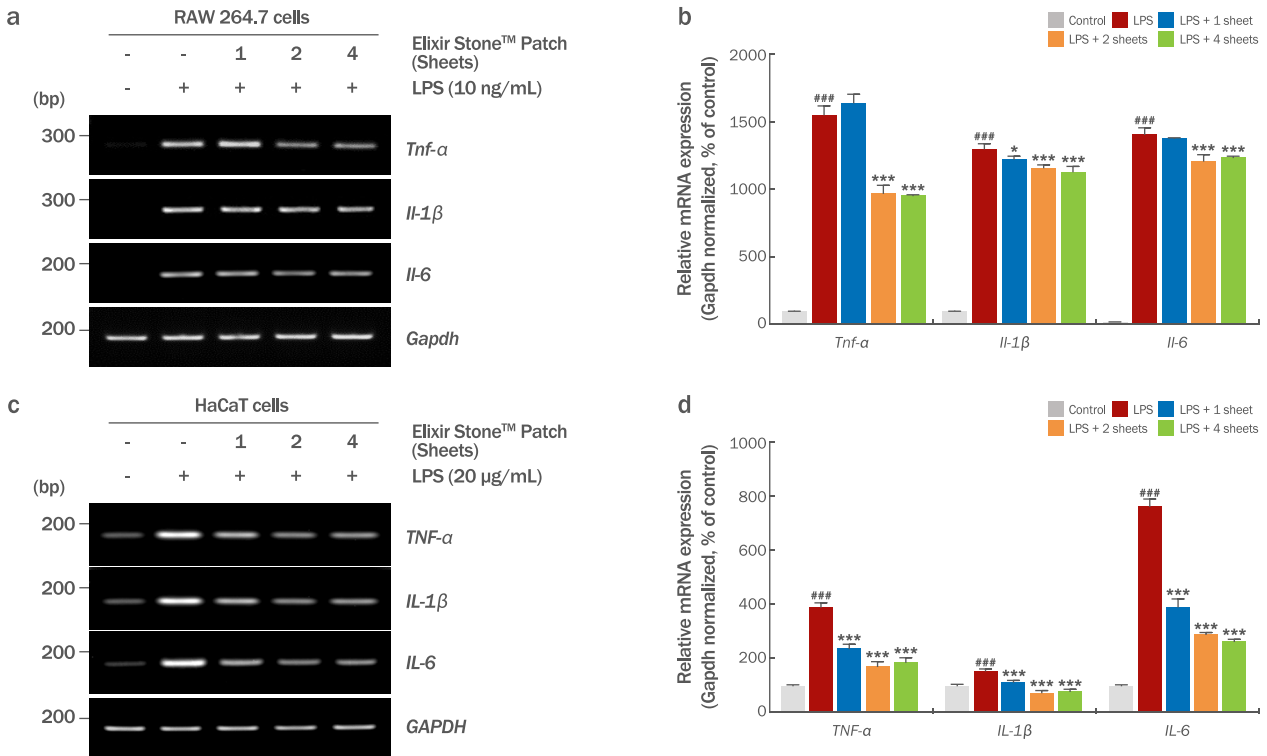


Figure 1. Anti-inflammatory effects of Elixir Stone™ Patch on the expression of pro-inflammatory cytokines in LPS-induced inflammatory RAW 264.7 and HaCaT cells.

(a) RAW 264.7 and (c) HaCaT cells were treated with LPS and/or Elixir Stone™ Patch for 8h, and the mRNA expression levels of pro-inflammatory cytokine-related genes were analyzed using RT-PCR. (b, d) The mRNA levels were quantified using ImageJ with GAPDH serving as a loading control. The data are presented as the mean±SD of three independent experiments and analyzed using one-way ANOVA followed by Tukey's test. ###*p*<0.001 compared with untreated cells; **p*<0.05, ****p*<0.001 compared with LPS-treated cells. LPS, lipopolysaccharide; RT-PCR, reverse transcription polymerase chain reaction; GAPDH, glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase.

환(intractable inflammatory disease)을 유발할 수 있다(Jang *et al.*, 2021). 이에 현재까지는 염증성 질환의 치료를 위해 glucocorticoid와 같은 약물이 주로 사용되고 있으나, 면역억제제의 장기간 사용이 다양한 면역학적 부작용과 내성을 야기함을 고려할 때, 천연물 유래 비경구 항염 소재의 개발이 필요할 것으로 사료된다(Oray *et al.*, 2016).

따라서 이후 실험에서는 원적외선 방사 특성을 보인 Elixir Stone™이 대식세포 내에서 전염증성 사이토카인 발현을 조절하는지 확인하고자 하였다(Figure 1). 이를 위해, Figures 1a 및 1b에서는 RAW 264.7 세포에 LPS를 처리하여 과염증 반응을 유도한 뒤 *Tnf-α*, *Il-1β*, *Il-6*의 유전자 발현 양상을 확인하였다. 그 결과, LPS (10 ng/mL)를 단독으로 처리한 군에서 상기 유전자 발현량이 대조군 대비 각각 1553.25%, 1301.26%, 7043.65% 정도로 상당히 증가함을 확인하였다. 반면, Elixir Stone™ Patch (1-4 sheets)를 병용 처리한 군에서는 LPS로 증가된 유전자 발현이 *Tnf-α*에서 1641.09%, 971.81%, 954.39%, *Il-1β*에서 1225.51%, 1160.53%, 1131.25%, *Il-6*에서 6892.45%, 6052.11%, 6178.92% 수준으로 감

소되었다. 이와 유사하게, HaCaT 세포에 LPS (20 μg/mL)를 단독으로 처리한 군에서 해당 유전자 발현량이 대조군 대비 각각 390.42%, 154.84%, 762.50% 정도로 증가하였다. 그러나, Elixir Stone™ Patch (1-4 sheets)를 병용 처리한 군에서는 LPS로 증가된 수치가 *TNF-α*에서 231.18%, 171.17%, 185.82%, *IL-1β*에서 112.62%, 73.57%, 78.47%, *IL-6*에서 391.34%, 289.42%, 263.57% 수준으로 억제되었다(Figures 1c-1d). 이러한 결과는 Elixir Stone™ Patch가 RAW 264.7 및 HaCaT 세포에서 전염증성 사이토카인의 발현을 조절하여 항염 효과를 나타낼 수 있음을 시사한다.

2) Elixir Stone™ Patch의 NO 생성 억제 효과

염증반응이 활발히 일어나는 면역세포에서는 inducible nitric oxide synthase (iNOS)가 강하게 발현되는데, 활성화된 iNOS는 L-arginine을 기질(substrate)로 사용해 NO를 합성한다(Carlson *et al.*, 1999). 생성된 NO는 염증반응에 있어 면역세포 기능의 조절 및 혈관 확장을 통한 백혈구 이동 촉진 등 다양한 이점을 제공하지만, 과도한 NO의 생성은 염증을 심화시키거나 만성적인 염증 반응을 야

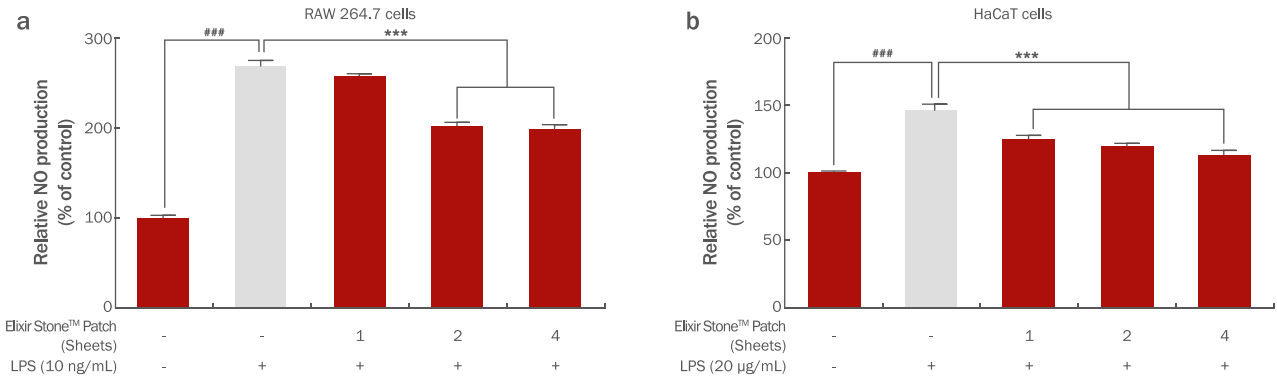


Figure 2. Anti-inflammatory effects of Elixir Stone™ Patch on NO production in LPS-induced hyper-inflammatory RAW 264.7 cells and HaCaT cells.

(a) RAW 264.7 and (b) HaCaT cells were treated with LPS and/or Elixir Stone™ Patch for 24 h and NO production was measured. The data are presented as the mean±SD of three independent experiments and analyzed using one-way ANOVA. ###*p*<0.001 compared with untreated cells; ****p*<0.001 compared with LPS-treated cells. NO, nitric oxide.

기할 수 있다(Laroux *et al.*, 2000). 따라서 NO는 염증반응의 주요 매개체이므로, NO 생성량을 측정하는 것은 염증 반응의 정도를 측정하는 핵심 지표가 될 수 있다. 따라서 Elixir Stone™ Patch의 NO 생성량 조절에 대한 효능을 평가하기 위해 Griess reagent를 이용하여 세포 배양액에 존재하는 NO₂의 양을 측정하였다. 그 결과, RAW 264.7 세포에 LPS를 처리했을 때 NO 생성량이 268.13%로 유의하게 증가하였으나, Elixir Stone™ Patch (1-4 sheets)를 병용 처리한 세포에서 257.69%, 202.2%, 198.35%로 함량 의존적으로 감소함을 확인하였다(Figure 2a). HaCaT 세포에서도 유사한 경향이 관찰되었는데, LPS 처리에 의해 증가된 NO 생성량은 Elixir Stone™ Patch의 병용 처리에 의해 124.57%, 119.43%, 112.86%로 감소하였다(Figure 2b). 이러한 결과는 Elixir Stone™ Patch가 LPS에 의한 과염증 반응을 억제하고 세포 내에서 항염 효능을 가질 수 있음을 시사한다.

3) Elixir Stone™ Patch의 NF-κB 전사 인자 억제 효과

NF-κB는 염증 반응을 조절하는 중요한 전사 인자로 p65, p50, c-Rel, RelB, p52 등 다양한 subunit으로 구성될 수 있으며, 이 중 가장 일반적인 활성화 형태는 p65/p50의 이종이합체(heterodimer)로 알려져 있다(Serasanambati & Chilakapati, 2016). NF-κB는 세포 내에서 inhibitory kappa B (IκB)에 의해 활성이 억제된 상태로 존재한다. 그러나 LPS가 toll-like receptor 4에 의해 인식되면, NF-κB와 결합되어 있던 IκB가 분해되면서 NF-κB가 핵으로 이동(translocation)하게 된다. 이렇게 활성화된 NF-κB는 전사인자로서 작용하며, TNF-α, IL-1β, IL-6, COX-2, iNOS 등 다양한 염증성 인자들의 전사를 촉진하여 염증 반응을 유도한다(Liu *et al.*, 2017). 따라서 p65의 핵으로의 translocation 정도를 평가하는 것은 염증 반응의 정도를 분석하는데 활용될 수 있다.

Figures 1 내지 2에서 나타난 바와 같이, Elixir Stone™ Patch는 전염증성 사이토카인 및 염증 관련 효소의 발현을 억제하는 항염 효능을 보였다. 이러한 Elixir Stone™ Patch의 작용이 어떤 신호 전달 경로를 통해 이루어지는 것인지 확인하기 위해 염증 매개물질의 상위 기전인 NF-κB p65 활성화에 대한 Elixir Stone™ Patch의 효과를 조사하였다(Figure 3). 이를 위해 GFP-p65 fusion protein을 코딩하는 plasmid를 사용해 RAW 264.7과 HaCaT 세포를 형질 감염시켜 p65의 핵 내 translocation 수준을 분석하였다. Figure 3의 결과에서 보여준 바와 같이, LPS를 처리하지 않은 세포에서 GFP-p65는 주로 세포질에 분포하였으나, LPS 처리 시 세포의 핵에 국한되는 분포를 보였다. 그러나 Elixir Stone™ Patch처리 시 GFP-p65가 다시 핵 주변의 세포질로 분포하는 세포 비율이 증가함을 관찰할 수 있었다(Figure 3). 이러한 결과는 Elixir Stone™ Patch가 NF-κB p65의 핵으로의 이동과 활성화를 억제할 수 있음을 시사한다.

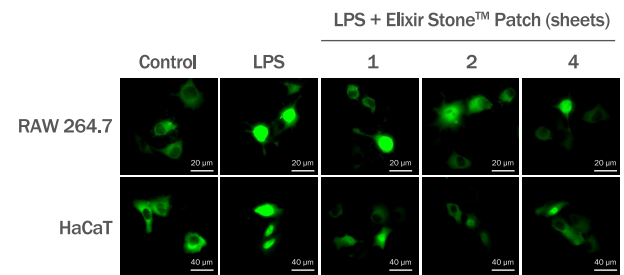


Figure 3. Effects of Elixir Stone™ Patch on nuclear translocation of the p65 subunit of the NF-κB signaling pathway in LPS-induced RAW 264.7 and HaCaT cells.

RAW 264.7 and HaCaT cells were transfected with the GFP-tagged p65 plasmid. The cells were treated with LPS and/or Elixir Stone™ Patch for 8 h, and green fluorescence images were analyzed using a fluorescence microscope (scale bar, 20 µm and 40 µm).

3. Elixir Stone™ Patch의 세포 내 통증 완화 효과

염증 반응에서 통증은 다양한 인자들에 의해 복합적으로 제어된다. 여기서 COX (cyclooxygenase)는 통증 반응에 깊이 관여하는 효소로, 두 종류의 isoform이 생체에서 다양한 기능을 수행한다. COX-1은 혈소판 응집, 위 점막 보호 등의 생리적 기능을 담당하며,

COX-2는 세포 자극에 의해 발현되어 염증 반응을 조절하는 효소로 알려져 있다. 막 인지질로부터 arachidonic acid가 만들어지는 것을 시작으로, COX-2의 효소 작용에 의해 PGE₂ (prostaglandin E₂), PGD₂, PGE₂, PGF₂ 및 thromboxane 등의 다양한 대사 산물이 생성될 수 있다. 이중 PGE₂는 초기 염증 반응에 관여하며 혈관 확장, 발

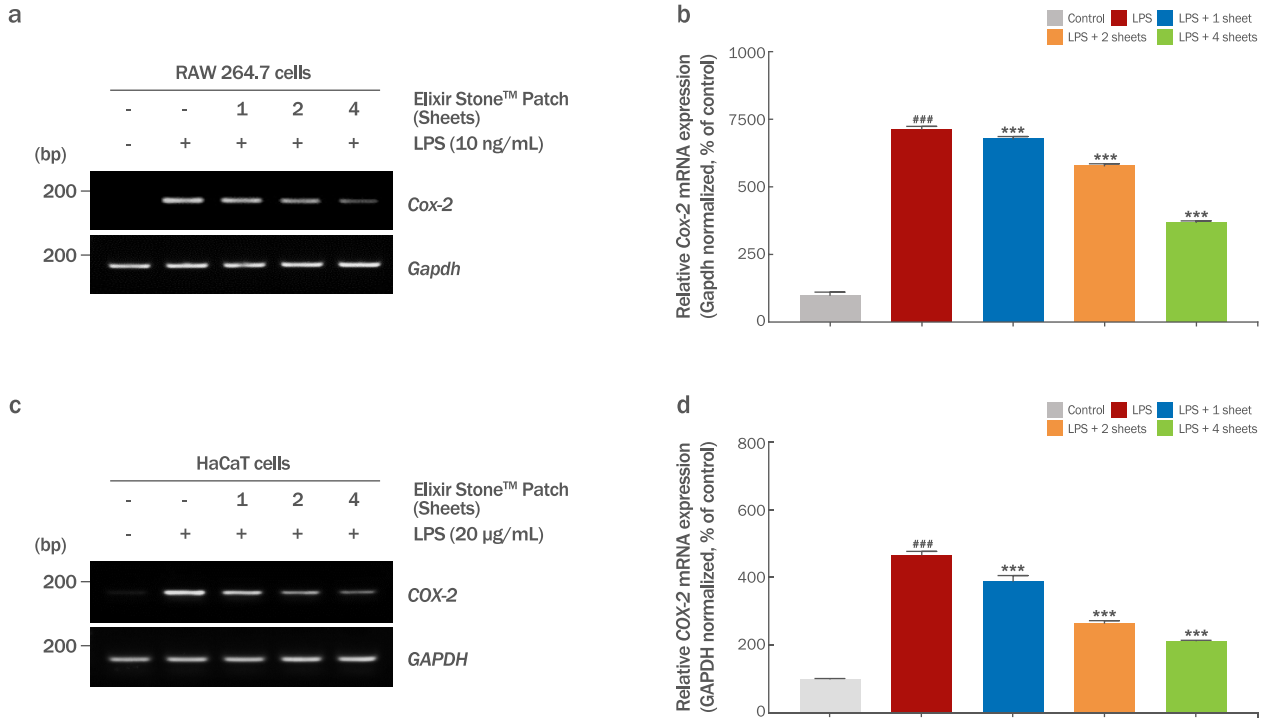


Figure 4. *In vitro* pain-relieving effects of Elixir Stone™ Patch in LPS-induced RAW 264.7 cells and HaCaT cells.

(a) RAW 264.7 and (c) HaCaT cells were treated with LPS and/or Elixir Stone™ Patch for 8 h, and the mRNA expression level of pain-related genes was examined via RT-PCR. (b, d) The GAPDH-normalized mRNA levels were quantified using ImageJ software. The data are presented as the mean±SD of three independent experiments. ^{###}*p*<0.001 compared with untreated cells; ^{***}*p*<0.001 compared with LPS-treated cells. COX-2, cyclooxygenase-2.

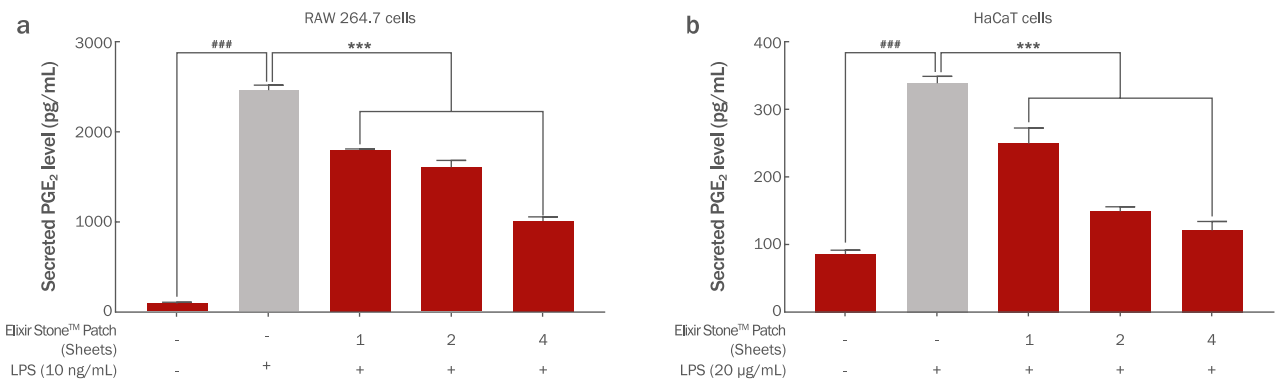


Figure 5. *In vitro* pain-relieving effects of Elixir Stone™ Patch on PGE₂ production in LPS-induced RAW 264.7 cells and HaCaT cells.

(a) RAW 264.7 and (b) HaCaT cells were treated with LPS and/or Elixir Stone™ Patch for 24 h. PGE₂ production was measured using an enzyme-linked immunosorbent assay kit. The data are presented as the mean±SD of three independent experiments and analyzed using one-way ANOVA followed by Tukey's test. ^{###}*p*<0.001 compared with untreated cells; ^{***}*p*<0.001 compared with LPS-treated cells. PGE₂ prostaglandin E₂.

열, 통증 등 광범위한 작용을 유도하는 주요한 인자이다. 특히 PGE₂는 통증 수용체인 EP receptor에 의해 인식되어 신경 세포를 자극하고 통증과 관련된 신경 경로를 활성화시킨다(Lee, 2014). 따라서 COX-2 및 PGE₂ 생성을 억제하는 것은 통증 및 염증에 대한 효과적인 치료 전략이 될 수 있다(Lee *et al.*, 2005).

Figures 4와 5에서는 Elixir Stone™ Patch의 세포 내 항통증 효과를 확인하기 위해, RT-PCR 및 ELISA 분석을 수행하였다. Figure 4에서, RAW 264.7 및 HaCaT 세포에 LPS를 단독으로 처리하였을 때 통증 연관 인자인 *Cox-2* 및 *COX-2*의 유전자 발현이 대조군 대비 각각 712.31%, 468.32%로 상당히 증가함을 확인하였다. 반면, LPS와 Elixir Stone™ Patch (1-4 sheets)를 병용 처리한 세포에서는 RAW 264.7 세포에서 675.65%, 576.55%, 368.76%, HaCaT 세포에서 389.55%, 265.66%, 213.71% 수준으로 함량 의존적인 유전자 발현 감소 양상을 보였다(Figures 4a-4d).

Figure 4에서는 Elixir Stone™ Patch가 통증 연관 유전자인 *COX-2*의 발현을 저해하는 효과를 확인하였기 때문에, 이후 실험에서는 *COX-2*에 의해 생산되는 염증 매개 물질인 PGE₂의 분비 억제 효과가 있는지 확인하였다(Figure 5). 그 결과, RAW 264.7 및 HaCaT 세포에 LPS를 단독으로 처리한 음성 대조군에서는 PGE₂ 농도가 각각 2448.35 pg/mL 및 338.6 pg/mL로 대조군에 비해 유의하게 증가함을 확인하였다. 반면, LPS와 Elixir Stone™ Patch (1-4 sheets)를 병용 처리한 세포에서는 함량 의존적으로 PGE₂ 분비량이 감소함을 확인하였다. 특히 RAW 264.7 세포에서는 음성대조군에서 증가한 PGE₂ 양이 최대 999.29 pg/mL까지, HaCaT에서는 최대 121.27 pg/mL 수준까지 저해되었다(Figures 5a-5b).

이러한 결과는 Elixir Stone™ Patch가 면역 세포(RAW 264.7 cells) 및 각질형성세포(HaCaT cells) 내 *COX-2*의 유전자 발현을 억제하고, 이를 통해 PGE₂의 분비량 또한 유의하게 감소시킬 수 있음을 보여준다. 현재, 편두통과 같은 난치성 통증의 치료를 위해서 상기 인자들의 발현을 억제하는 NSAIDs 계열 약물이 주로 사용되고 있으므로, Elixir Stone™ Patch의 *COX-2* 및 PGE₂ 발현 억제 효능은 과잉 염증 반응에 의해 동반되는 통증에 대해 진통 효과를 가질 수 있음을 보여준다(Kawabata, 2011).

4. Elixir Stone™ Patch의 세포 내 상처 회복 개선 효과

감염을 예방하고 조직을 회복하는 데 있어 상처 치유 기능은 개체의 생존과 건강 유지에 있어 매우 필수적이다(Piipponen *et al.*, 2020). 조직의 상처 회복 과정은 매우 복잡한데 지혈, 염증, 혈관 신생 및 재상피화 등의 단계를 포함하는 것으로 알려져 있다(Li *et al.*, 2021). 상처에 대한 초기 반응으로는 손상된 혈관을 수축시키고, 혈소판을 활성화시켜 과도한 혈액 손실을 막는다(Li *et al.*, 2021). 이후 단핵구는 상처 후 48-96시간 이내에 모집되어 상처 부위에서 활성화된 대식세포로 전환된다(Park & Barbul, 2004). 이외에도 랑게르한스 세포(langerhans cells) 및 T세포(T lymphocyte) 등 다양한 면

역 세포가 상처 부위에 있는 항원에 대응하기 위해 활성화되며, 면역 세포에서 분비되는 다양한 염증 인자들은 혈관 신생과 조직 재생을 돕는다(Davies *et al.*, 2013). 상처 회복의 후기 과정에서는 섬유아세포(fibroblast)가 상처 주위로 이동하여 새로운 세포 외 기질을 합성하고, 이를 통해 조직의 미세환경을 염증 상태에서 성장 상태로 전환한다(Gurtner *et al.*, 2008). 마지막으로는 각질형성세포가 재상피화되는데, 손실된 상피층을 복구하여 조직을 최종적으로 회복하게 된다(Gurtner *et al.*, 2008).

최근에는 당뇨병, 혈관 질환 등의 만성 퇴행성 질환을 겪는 환자들 이 늘어남에 따라서 만성 상처를 치료하기 위한 노력이 이어지고 있다(Han & Ceilley, 2017). 회복되지 않는 만성 상처의 원인은 다양하지만, 일반적으로 지속적인 과염증 반응이 만성 상처의 뚜렷한 병리학적 원인인 것으로 알려져 있다(Han & Ceilley, 2017). 비록 상처 치유 과정에서 염증 반응은 세균(bacteria)과 같은 병원체를 제거하고, 조직 재생 및 복구에 유리한 환경을 조성하는데 필수적인 과정이지만, 과잉 염증 반응은 조직 재생과 재상피화 과정을 지연시킨다(Schirreff & Alexiev, 2022). 따라서 선행 연구에서는 만성 상처를

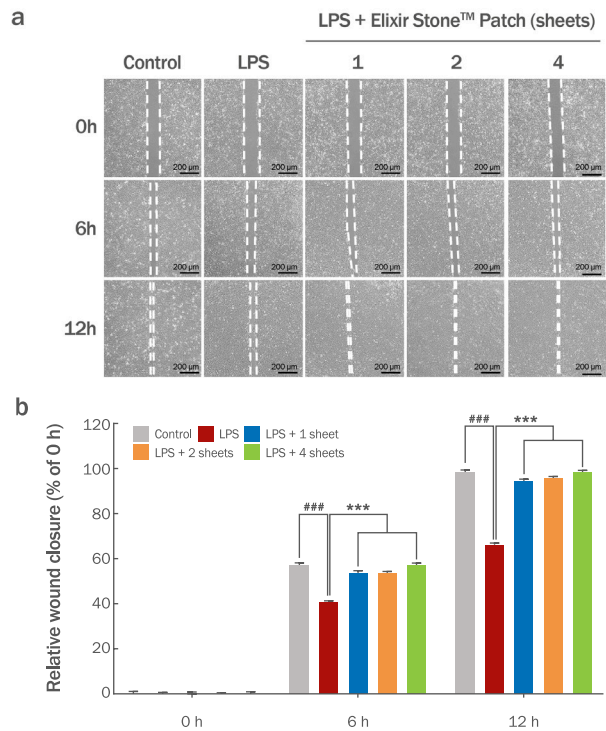


Figure 6. In vitro wound-healing effects of Elixir Stone™ Patch in LPS-induced HaCaT cells.

(a) HaCaT cells under treatment with LPS and/or the indicated sheets of Elixir Stone™ Patch were observed for 12 h and then visualized using a microscope (scale bar, 200 μm). (b) The data were quantified using ImageJ software and are expressed as the mean±SD (n=3). ###p<0.001 compared with untreated cells; ***p<0.001 compared with LPS-treated cells.

회복하기 위한 신규 상처 치료제로서 항염증, 항산화 및 항균 효능을 가지는 천연 유래 생리활성 화합물들을 제안하고 있으며, 이외에도 상처 치유를 위한 새로운 약물 및 대체요법에 대한 필요성이 요구되고 있는 실정이다(Schilrreff & Alexiev, 2022).

Figures 1-3에서는 Elixir Stone™ Patch의 세포 내 항염 효능을 확인하였기 때문에, 이후 실험에서는 Elixir Stone™ Patch가 과염증(hyper-inflammation)으로 인한 상처 치유 손상에 대해 개선 효과를 가지는지 확인하고자 하였다. 100 µg/mL의 LPS를 처리한 인간 각질형성세포에서 wound healing assay를 수행하였으며, micropipette tip으로 상처(scratch)를 유발하고 난 처음 상태가 0%, 상처가 완전히 다 닫힌 상태를 100%이라고 설정하였다. 그 결과, 무처리군에서는 6 h 후 상처 회복률(wound closure rate)이 57.14%, 12 h 뒤에는 98.32%였다. 그러나 LPS를 처리한 세포에서는 6 h 후 40.61%, 12 h 후 66.25%로 대조군 대비 상처 치유 속도가 지연되었음을 확인할 수 있었다. 반면에, cell culture dish에 Elixir Stone™ Patch (1-4 sheets)를 처리한 실험군에서는 6 h에서 각각 55.83%, 53.85%, 57.15%, 12 h에서는 94.45%, 96.00%, 98.32%의 회복률이 관찰되어 함량 의존적인 상처 치유 회복 효능을 보였다(Figures 6a-6b). 따라서 이러한 결과들을 종합하여 볼 때, Elixir Stone™ Patch는 각질형성세포의 이동 및 증식을 촉진하며 피부 상처 치유 및 회복에 긍정적인 영향을 줄 수 있을 것으로 사료된다.

Conclusion

본 연구에서는 화산암, 버드나무수, 운모 및 규산염 암석 등을 특수 배합비율과 제조공정을 통해 개발된 원격외선(FTT) 방출 천연 유래 약물(medical stone)인 Elixir Stone™과 이를 기반으로 패치 형태로 제작한 Elixir Stone™ Patch (일명 Legendary Patch)의 항염, 항통증, 상처 치유 효능을 확인하였다. 먼저 Elixir Stone™과 Elixir Stone™ Patch의 원격외선 방출 성능을 검증하기 위하여 원격외선 방사율과 방사 에너지를 분석한 결과, 생체와 유사한 조건인 37°C에서 원격외선 방사율은 0.919와 0.901, 방사에너지는 3.54×10^2 과 3.47×10^2 W/m²·µm으로 측정되었다. 다른 연구 결과에서 원격외선 방사 효과가 있는 것으로 알려진 게르마늄에 대한 방사에너지는 3.44×10^2 로 측정되었으며(Lee & Lee, 2006), 이종규, 여운호의 연구에서는 맥반석의 방사 에너지가 3.53×10^2 로 측정된 결과가 있다(Lee & Yeo, 2017). 또한 원격외선 방사물질 제조에 관한 연구에서는 백토의 방사율은 0.91, 황토의 방사율은 0.90으로 측정되었다(Cho, 2008). 이처럼 다른 원격외선 방출 광물 특성에 관한 연구의 기록들을 보았을 때, 원격외선 방출로 잘 알려진 여러 광물들의 방출 성능과 비교하여 Elixir Stone™이 상당히 높은 수치를 보이고 있음을 알 수 있다. 이러한 결과는 원격외선 치료에 의해 얻을 수 있는 생체 효과를 Elixir Stone™을 통해서도 기대할 수 있음을 나타낸다.

다음으로 RAW 264.7 및 HaCaT 세포에서 Elixir Stone™ Patch의 항염 효능을 확인하였다. 실험 결과 LPS 처리를 통해 과염증을 유발하였을 때, Elixir Stone™ Patch는 염증성 사이토카인의 발현을 유의하게 억제하였다. 이와 유사하게 NO 생성량 또한 Elixir Stone™ Patch의 처리로 인해 뚜렷하게 감소하였다. 이러한 결과는 Elixir Stone™ Patch가 염증이 발생한 세포에서 명확한 항염 효능을 가진다는 것을 입증한다. 이후 염증 매개 물질 발현의 상위 기전인 NF-κB 전사인자의 활성화에 대해 Elixir Stone™ Patch가 어떤 영향을 미치는지 분석한 결과, Elixir Stone™ Patch는 NF-κB (p65)가 핵으로 이동하는 것을 억제하는 효과를 보였다. 본 결과들을 종합해보면, Elixir Stone™ Patch의 염증 완화 효과는 관련 NF-κB 신호 전달 경로의 조절을 통한 염증 매개 인자 발현 저해를 통해서 나타남을 알 수 있다.

현재까지 수많은 연구에서 염증 반응 시 발생하는 통증에 대한 개선은 COX-2 및 PGE₂를 억제하려는 전략으로 접근되었다. 실제로 2019년 실시된 Chen의 연구에서 ginsenoside 처리는 염증이 유도된 쥐의 통증의 역치를 증가시켰는데, 이러한 진통 효과는 COX-2 활성 및 PGE₂ 생성의 억제에 기인한 것임을 밝혀내었다(Chen *et al.*, 2019). 유사한 다른 연구에서는 COX-2 및 PGE₂생성을 억제하는 tetrandrine을 투여하였을 때 LPS를 통한 통각 과민(hyperalgesia) 상태의 쥐에서 진통 효과를 확인하였다(Zhao *et al.*, 2014). 따라서 이후 실험에서는, 항염 효능을 보인 Elixir Stone™ Patch가 세포 내에서 항통증 효과를 가지는지 확인하고자 하였다. 실험 결과, LPS 처리 시 RAW 264.7 및 HaCaT 세포에서 증가했던 COX-2와 PGE₂의 유전자 및 단백질 발현 수준이 Elixir Stone™ Patch의 병용 처리에 의해 감소함이 관찰되었다. 따라서 본 실험 결과는 Elixir Stone™ Patch가 원격외선 방출을 통해 항통증 효과를 나타낼 수 있음을 시사한다.

상처 치유 과정에서 염증 반응의 조절은 매우 필수적이다. 염증 반응은 초기 단계에서 백혈구 및 대식세포 등의 면역 세포를 동원시키며 감염에 대한 방어 역할을 수행한다(Ali *et al.*, 1997). 그러나 과도하거나 장기화된 만성 염증은 상처 치유를 방해하고 흉터를 유발할 수 있어, 보다 원활한 상처 회복을 위해 항염 효능을 가진 화합물의 개발이 지속적으로 연구되어 왔다(Toyokawa *et al.*, 2003). 본 연구에서 Elixir Stone™ Patch가 상처치유 과정 중 과도한 염증이 유발되었을 때 각질 세포의 손상 회복을 개선할 수 있는지 평가한 결과, 패치를 배양 접시에 부착한 HaCaT 세포에서 상처가 더 빠르게 닫히는 것을 확인할 수 있었다. 이러한 결과는 Elixir Stone™ Patch의 원격외선 방출 특성이 피부 상처를 회복에 효과적임을 시사한다.

결론적으로, 본 연구에서는 과염증 반응이 유도된 세포 모델에서 원격외선을 방출하는 Elixir Stone™과 Elixir Stone™ Patch의 항염, 항통증, 상처 치유 개선의 효과를 입증하였다. 이를 통해, Elixir Stone™이 뛰어난 원격외선 방출 신소재 및 만성 염증성 질환 요법 신소재로써 활용될 가능성을 확인하였다. 또한 Elixir Stone™ Patch

는 비의약품 형태로 피부에 부착하는 간편한 방식으로 만성 염증성 질환 치료 효과를 가져올 수 있음을 제시하였다.

Author's contribution

Conceptualization, JSK, SP, and SB (Seunghee Bae); Methodology, JSK, SP, and SB; Software, JSK and SP; Validation, JSK, SP, BL, JK, HJS, SYJ, SB (Seyeol Baek), EKK, JHK, and SB (Seunghee Bae); Formal analysis, JSK and SP; Investigation, JSK, SP, BL, JK, HJS, SYJ, SB (Seyeol Baek), EKK, JHK, and SB (Seunghee Bae); Resources, EKK and SB (Seunghee Bae); Data curation, JSK and SP; Writing—original draft preparation, JSK, SP, BL, and SB (Seunghee Bae); Writing—review and editing, JSK, SP, BL, JK, HJS, SYJ, SB (Seyeol Baek), EKK, JHK, and SB (Seunghee Bae); Visualization, JSK, SP, and SB (Seunghee Bae); Supervision, SB (Seunghee Bae); Project administration, SB (Seunghee Bae); Funding acquisition, SB (Seunghee Bae). All authors read and agreed to the published version of the manuscript.

Author details

Ji-Seon Kim (Graduate Student), Department of Cosmetics Engineering, Graduate School of Konkuk University, 120 Neungdong-ro, Gwangjin-gu, Seoul 05029, Korea; Seokmuk Park (Graduate Student), Department of Cosmetics Engineering, Graduate School of Konkuk University, 120 Neungdong-ro, Gwangjin-gu, Seoul 05029, Korea; Bo Liu (Graduate Student), Department of Cosmetics Engineering, Graduate School of Konkuk University, 120 Neungdong-ro, Gwangjin-gu, Seoul 05029, Korea and (Assistant Professor), Department of Beauty Health, Namseoul University, Cheonan-si, Chungcheongnam-do 31020, Korea; Jaereen Kim (Graduate Student), Department of Cosmetics Engineering, Graduate School of Konkuk University, 120 Neungdong-ro, Gwangjin-gu, Seoul 05029, Korea; Hee-Jae Shin (Graduate Student), Department of Cosmetics Engineering, Graduate School of Konkuk University, 120 Neungdong-ro, Gwangjin-gu, Seoul 05029, Korea; Seok Yun Jeong (Graduate Student), Department of Cosmetics Engineering, Graduate School of Konkuk University, 120 Neungdong-ro, Gwangjin-gu, Seoul 05029, Korea; Seyeol Baek (Graduate Student), Department of Cosmetics Engineering, Graduate School of Konkuk University, 120 Neungdong-ro, Gwangjin-gu,

Seoul 05029, Korea; Eun Kyung Kim (Research Director), ANX Healthcare and Social Welfare Research Center, ANX, Inc., 97 Saemal-ro, Guro-gu, Seoul 08288, Korea; Jun-Hyeok Kang (Professor), Department of Social Welfare, Eulji University, 553 Sanseong-daero, Sujeong-gu, Seongnam-si, Gyeonggi-do 13135, Korea; Seunghee Bae (Professor), Department of Cosmetics Engineering, Graduate School of Konkuk University, 120 Neungdong-ro, Gwangjin-gu, Seoul 05029, Korea.

References

- Ali H, Haribabu B, Richardson RM, Snyderman R. Mechanisms of inflammation and leukocyte activation. *Medical Clinics*, 81: 1-28, 1997.
- Araki Y, Mimura T. The mechanisms underlying chronic inflammation in rheumatoid arthritis from the perspective of the epigenetic landscape. *Journal of Immunology Research*, 2016: 6290682, 2016.
- Baechele JJ, Chen N, Makhijani P, Winer S, Furman D, Winer DA. Chronic inflammation and the hallmarks of aging. *Molecular Metabolism*, 74: 101755, 2023.
- Carlson NG, Wieggl WA, Chen J, Bacchi A, Rogers SW, Gahring LC. Inflammatory cytokines IL-1 α , IL-1 β , IL-6, and TNF- α impart neuroprotection to an excitotoxin through distinct pathways. *The Journal of Immunology*, 163: 3963-3968, 1999.
- Chávez-Castillo M, Ortega Á, Duran P, Pirela D, Marquina M, Cano C, Salazar J, Gonzalez MC, Bermúdez V, Rojas-Quintero J, *et al.* Phytotherapy for cardiovascular disease: A bench-to-bedside approach. *Current Pharmaceutical Design*, 26: 4410-4429, 2020.
- Chen J, Si M, Wang Y, Liu L, Zhang Y, Zhou A, Wei W. Ginsenoside metabolite compound K exerts anti-inflammatory and analgesic effects via downregulating COX2. *Inflammopharmacology*, 27: 157-166, 2019.
- Chen YC, Gad SF, Chobisa D, Li Y, Yeo Y. Local drug delivery systems for inflammatory diseases: Status quo, challenges, and opportunities. *Journal of Controlled Release*, 330: 438-460, 2021.
- Cho BH. Manufacture of the far infrared ray emission materials and analysis of the characterization of materials. *Journal of Analytical Science and Technology*, 21: 279-283, 2008.

- Choi YJ, Choi WC, Jeon GR, Kim JH, Kim MS, Kim JH. Characteristics of far-infrared ray emitted from functional loess bio-balls and its effect on improving blood flow. *Bioengineering*, 11: 380, 2024.
- Davies LC, Jenkins SJ, Allen JE, Taylor PR. Tissue-resident macrophages. *Nature Immunology*, 14: 986-995, 2013.
- Dolgorsuren A, Yamashita K, Dalkhsuren SO, Sumida K, Seki S, Kitamura S. The ceramics radiating far infrared ray energy (Rhyolite) promote the formation of bone. *Journal of Hard Tissue Biology*, 23: 423-434, 2014.
- Fazal SA, Khan M, Nishi SE, Alam F, Zarin N, Bari MT, Ashraf GM. A clinical update and global economic burden of rheumatoid arthritis. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders-Drug Targets*, 18: 98-109, 2018.
- Gurtner GC, Werner S, Barrandon Y, Longaker MT. Wound repair and regeneration. *Nature*, 453: 314-321, 2008.
- Han G, Ceilley R. Chronic wound healing: a review of current management and treatments. *Advances in Therapy*, 34: 599-610, 2017.
- Hong AR, Jeoung BJ. The effect of far-infrared thermotherapy on blood and range of motion in middle aged women. *Journal of Wellness*, 15: 501-510, 2020.
- Jang DI, Lee AH, Shin HY, Song HR, Park JH, Kang TB, Lee SR, Yang SH. The role of tumor necrosis factor alpha (TNF- α) in autoimmune disease and current TNF- α inhibitors in therapeutics. *International Journal of Molecular Sciences*, 22: 2719, 2021.
- Jung KH. Diagnosis and treatment of arthritis. *Journal of the Korean Neurological Association*, 35: 25-30, 2017.
- Kawabata A. Prostaglandin E2 and pain—an update. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 34: 1170-1173, 2011.
- Lanas A, Perez-Aisa MA, Feu F, Ponce J, Saperas E, Santolaria S, Rodrigo L, Balanzo J, Bajador E, Almela P *et al.* A nationwide study of mortality associated with hospital admission due to severe gastrointestinal events and those associated with nonsteroidal antiinflammatory drug use. *The American Journal of Gastroenterology*, 100: 1685-93, 2005.
- Laroux FS, Lefer DJ, Kawachi S, Scalia R, Cockrell AS, Gray L, Van der Heyde H, Hoffman JM, Grisham MB. Role of nitric oxide in the regulation of acute and chronic inflammation. *Antioxidants and Redox Signaling*, 2: 391-396, 2000.
- Laveti D, Kumar M, Hemalatha R, Sistla R, Gm Naidu V, Talla V, Verma V, Kaur N, Nagpal R. Anti-inflammatory treatments for chronic diseases: a review. *Inflammation & Allergy-Drug Targets*, 12: 349-361, 2013.
- Lee DK. Clinical understanding of coxibs. *Journal of Pain and Autonomic Disorders*, 3: 52-59, 2014.
- Lee HK, Lee KM. Far infrared radiation characteristics of germanium compounds. *Applied Chemistry for Engineering*, 17: 597-603, 2006.
- Lee JG, Yeo WH. Characteristics of bottom ash generated from coal fired power plants' bottom ash as an eco-friendly bio-composite material. *Journal of the Korea Organic Resources Recycling Association*, 25: 51-60, 2017.
- Lee Y, Rodriguez C, Dionne RA. The role of COX-2 in acute pain and the use of selective COX-2 inhibitors for acute pain relief. *Current Pharmaceutical Design*, 11: 1737-1755, 2005.
- Leung TK, Liu YC, Chen CH, Fang HN, Chen KC, Lee CM. In vitro cell study of the possible anti-inflammatory and pain relief mechanism of far-infrared ray emitting ceramic material. *Journal of Medical and Biological Engineering*, 33: 179-184, 2013.
- Li K, Zhang Z, Liu NF, Feng SQ, Tong Y, Zhang JF, Constantinides J, Lazzeri D, Grasseti L, Nicoli F. Efficacy and safety of far infrared radiation in lymphedema treatment: clinical evaluation and laboratory analysis. *Lasers in Medical Science*, 32: 485-494, 2017.
- Li M, Hou Q, Zhong L, Zhao Y, Fu X. Macrophage related chronic inflammation in non-healing wounds. *Frontiers in Immunology*, 12: 681710, 2021.
- Liang J, Zhu D, Meng J, Wang L, Li F, Liu Z, Ding Y, Liu L, Liang G. Performance and application of far infrared rays emitted from rare earth mineral composite materials. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 8: 1203-1210, 2008.
- Lin CA, An TC, Hsu YH. Study on the far infrared ray emission property and adsorption performance of bamboo charcoal/polyvinyl alcohol fiber. *Polymer-Plastics Technology and Engineering*, 46: 1073-1078, 2007.
- Liu T, Zhang L, Joo D, Sun SC. NF- κ B signaling in inflammation. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 2: 17023, 2017.
- Mainardi T, Kapoor S, Bielory L. Complementary and alternative medicine: herbs, phytochemicals and vitamins and their immunologic effects. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 123: 283-294, 2009.
- Oray M, Abu Samra K, Ebrahimiadib N, Meese H, Foster CS.

- Long-term side effects of glucocorticoids. *Expert Opinion on Drug Safety*, 15: 457-465, 2016.
- Park JE, Barbul A. Understanding the role of immune regulation in wound healing. *The American Journal of Surgery*, 187: S11-S16, 2004.
- Pastore D, Pacifici F, Cio G, Bedin V, Pasquantonio G, Della Morte D. Far infrared technology (FIT) therapy patches, protects from inflammation, oxidative stress and promotes cellular vitality. *Current Pharmaceutical Design*, 26: 4323-4329, 2020.
- Piipponen M, Li D, Landén NX. The immune functions of keratinocytes in skin wound healing. *International Journal of Molecular Sciences*, 21: 8790, 2020.
- Pinto RD, Pietropaoli D, Monaco A, Desideri G, Ferri C, Grassi D. Non-pharmacological strategies against systemic inflammation: molecular basis and clinical evidence. *Current Pharmaceutical Design*, 26: 2620-2629, 2020.
- Qin B, Fu SJ, Xu XF, Yang JJ, Wang Y, Wang LN, Huang BX, Zhong J, Wu WY, Lu HA, *et al.* Far-infrared radiation and its therapeutic parameters: a superior alternative for future regenerative medicine?. *Pharmacological Research*, 208: 107349, 2024.
- Schilrreff P, Alexiev U. Chronic inflammation in non-healing skin wounds and promising natural bioactive compounds treatment. *International Journal of Molecular Sciences*, 23: 4928, 2022.
- Serasanambati M, Chilakapati SR. Function of nuclear factor kappa B (NF- κ B) in human diseases-a review. *South Indian Journal of Biological Sciences*, 2: 368-387, 2016.
- Shin DY, Han SM. Development of Al₂TiO₅-clay composites for far infrared radiator. *Journal of the Korean Ceramic Society*, 37: 122-127, 2000.
- Smith W. Adverse drug reactions-allergy? side-effect? intolerance?. *Australian Family Physician*, 42: 12-16, 2013.
- Tabas I, Glass CK. Anti-inflammatory therapy in chronic disease: challenges and opportunities. *Science*, 339: 166-172, 2013.
- Toyokawa H, Matsui Y, Uhara J, Tsuchiya H, Teshima S, Nakanishi H, Kwon AH, Azuma Y, Nagaoka T, Ogawa T, *et al.* Promotive effects of far-infrared ray on full-thickness skin wound healing in rats. *Experimental Biology and Medicine*, 228: 724-729, 2003.
- Tsai SR, Hamblin MR. Biological effects and medical applications of infrared radiation. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 170: 197-207, 2017.
- Yamashita K. The effects of the far-infrared ray (FIR) energy radiation on living body. In: Blood Cell-An Overview of Studies in Hematology. Moschandreu T (ed.), IntechOpen Publ. Corp., London, pp272-302. 2012.
- Yu SY, Chiu JH, Yang SD, Hsu YC, Lui WY, Wu CW. Biological effect of far-infrared therapy on increasing skin microcirculation in rats. *Photodermatology, Photoimmunology & Photomedicine*, 22: 78-86, 2006.
- Zhao H, Luo F, Li H, Zhang L, Yi Y, Wan J. Antinociceptive effect of tetrandrine on LPS-induced hyperalgesia via the inhibition of IKK β phosphorylation and the COX-2/PGE₂ pathway in mice. *PLOS ONE*, 9: e94586, 2014.

국문초록

만성 염증성 질환 치료를 위한 원적외선 요법의 소재로서 Elixir Stone™의 생리활성 평가

김지선^{1†}, 박석목^{1†}, 유보^{1,2}, 김재린¹, 신희재¹, 정석윤¹, 백세열¹, 김은경³, 강준혁⁴, 배승희^{1*}

¹건국대학교 화장품공학과, 서울, 한국

²남서울대학교 뷰티보건학과, 충청남도 천안시, 한국

³에이엔엑스 헬스케어사회복지 연구센터, 서울, 한국

⁴을지대학교 사회복지학과, 경기도 성남시, 한국

목적: 본 연구는 마우스 대식세포와 인간 각질형성세포의 LPS 유도 과염증 모델에서, 원적외선 방사 특성을 가진 Elixir Stone™의 항염, 항통증 및 상처 치유 효능을 규명함으로써 만성 염증성 질환 치료 소재로의 활용 가능성을 검토하였다. **방법:** LPS 처리를 통해 염증 반응을 유도하였으며, Elixir Stone™ Patch의 염증성 사이토카인 및 통증 관련 인자에 대한 영향을 평가하기 위해 역전사 중합효소 연쇄 반응을 통한 유전자 분석과 NO assay, ELISA를 활용하였다. 또한 형질감염을 통해 NF-κB의 활성화에 대한 영향을 평가하였고, wound healing assay를 통해 상처 치유 능력을 검증하였다. **결과:** Elixir Stone™과 Elixir Stone™ Patch는 우수한 원적외선 방출 성능을 나타내는 것으로 확인되었다. Elixir Stone™ Patch는 염증성 사이토카인과 염증매개물질인 산화 질소 생성을 효과적으로 감소시켰으며, NF-κB가 핵으로 이동하는 것을 억제하여 본 신호전달 경로의 활성화를 차단하였다. 또한 통증을 유도하는 인자인 COX-2와 PGE₂의 발현을 감소시켰고, 상처 치유 기능을 개선함을 확인하였다. **결론:** 본 연구는 Elixir Stone™이 LPS로 유도된 염증 반응에서 염증 및 통증을 효과적으로 완화하고 상처 치유 능력을 개선함을 확인하였으며, 만성 염증성 질환 치료를 위한 기능성 경피 패치 소재로의 활용 가능성을 제시하였다.

핵심어: 만성 염증성 질환, 엘릭서 스톤, 원적외선, 항통증, 상처 치유

참고문헌

이동국. Coxibs의 임상적 이해. *대한통증·자율신경학회지*, 3: 52-59, 2014.

이종규, 여운호. 친환경 바이오 혼합소재로서 화력발전소 유연탄 Bottom ash의 특성 연구. *유기물자원화*, 25: 51-60, 2017.

조봉희. 원적외선 방사물질 제조 및 물질의 특성 분석. *분석과학*, 21: 279-283, 2008.

한상목, 신대용. Al₂TiO₅-점토 복합체를 이용한 원적외선방사재료의 개발. *산업기술연구*, 20: 1-7, 2000.

홍아름, 정복자. 중년여성의 원적외선 온열요법이 혈액 및 관절가동범위에 미치는 영향. *한국웰니스학회지*, 15: 501-510, 2020.

中文摘要

Elixir Stone™作为治疗慢性炎症疾病的远红外治疗剂的生物活性评估

金知善^{1†}, 朴碩默^{1†}, 刘博^{1,2}, 金載璘¹, 慎熙綽¹, 鄭哲允¹, 白世烈¹, 金恩鏡³, 康浚赫⁴, 裴承熙^{4*}

¹建国大学化妆品工学科, 首尔, 韩国

²南首尔大学美容保健学科, 忠清南道天安市, 韩国

³ANX医疗保健社会福利研究中心, 首尔, 韩国

⁴乙支大学社会福利学科, 京畿道城南市, 韩国

目的: 本研究旨在通过在脂多糖(LPS)诱导的过度炎症模型中测试其抗炎、止痛和伤口愈合作用, 评估Elixir Stone™作为慢性炎症疾病治疗原料的潜力。**方法:** 通过LPS处理诱导炎症反应。使用逆转录聚合酶链反应测定基因表达水平以及使用一氧化氮(NO)和酶联免疫吸附测定法分析Elixir Stone™贴片对炎症细胞因子和疼痛相关因子的影响。通过质粒转染评估核因子κB (NF-κB) 激活的影响, 同时通过评估细胞迁移来检查伤口愈合能力。**结果:** Elixir Stone™和Elixir Stone™贴片表现出优异的远红外发射性能。Elixir Stone™贴片显着减少炎症细胞因子和NO的产生, 它们是炎症的关键介质。此外, 它还抑制NF-κB的核转位, 从而抑制该信号通路的激活。Elixir Stone™贴片还可以降低疼痛相关因子COX-2和PGE₂的表达, 同时增强伤口愈合能力。**结论:** 本研究结果证实, Elixir Stone™贴片除了促进伤口愈合外, 还能有效缓解LPS引起的慢性炎症和疼痛。这些发现表明Elixir Stone™作为功能性透皮贴剂原料可用于治疗慢性炎症性疾病。

关键词: 慢性炎症, Elixir Stone™, 远红外线疗法, 止痛, 伤口愈合