마우스에서 보중익기탕이 자외선 B 조사에 의한 표피멜라닌세포 변화에 미치는 영향

이해준, 김환청, 박영종*, 김중선*, 문창종*, 김종춘*, 배춘식*, 조성기**, 김성호*
원자력의학원, *전남대학교 수의과대학, **한국원자력연구원 방사선과학연구소

2008년 4월 28일 접수 / 2008년 6월 23일 1차수정 / 2008년 7월 28일 2차수정 / 2008년 8월 20일 채택

C57BL/6 마우스에서 자외선(Ultraviolet, UV) B 조사에 의한 표피 멜라닌세포의 변화에 대한 보중익기탕(Bu-Zhong-Yi-Qi-Tang, BZYQT)의 효과를 관찰하였다. 마우스에 UVB를 매일 80 mJ/cm^2 (0.5 mW/sec)씩 7일간 조사하고, BZYQT를 UV 조사 전 또는 조사 후에 복강내주사 또는 피부에 도포하여, 멜라닌세포 형성 억제효과 및 형성된 멜라닌세포에 대한 미백 효과를 dihydroxyphenylalanine (DOPA) 염색으로 관찰하였다. 마우스의 귀등쪽 표피를 분리하여 관찰한바, 대조군에서는 mm^2 당 11-16개의 멜라닌세포가 관찰되었으며, UV 조사 일주일 후 발달된 가지를 가진 DOPA 양성 멜라닌세포는 급격히 증가하였다. 멜라닌세포 형성 억제 실험에서는 평균치를 기준으로 복강 내 주사군에서 16.3%, 피부도포군에서 26.6%(p<0.01)의 효과가 관찰되었으며, 형성된 멜라닌세포의 감소 효과 실험에서는 평균치를 기준으로 복강 내 주사군의 경우 3주에 24.0%(p<0.01), 6주에 26.0%(p<0.01)의 효과가 관찰되었고, 피부도포군의 경우 3주에 11.2%, 6주에 12.5%(p<0.05)의 효과를 보였다. 이상의 결과는 BZYQT가 UV에 의한 멜라닌세포 형성 억제제 및 미백제로서의 적용 가능성을 제시하였다.

중심어 : 자외선 B, 멜라닌세포, 보중익기탕

1. 서론

한의학에서 보중익기탕(Bu-Zhong-Yi-Qi-Tang, BZYQT)은 황기와 인삼을 주된 약으로 하고 감초, 백출, 당귀, 진피, 승마, 시호를 보조약으로 사용하는 처방제이다[1]. 중국에서는 각종 암의 치료에 사용되어 왔고 최근 동물실험과 임상에서 화학적 발암 억제 및 항암 효과가 보고되었으며 일부 유효성분이 밝혀지고 있다[2-5]. 최근 면역증강 효과[6], 남성불임 개선 효과[7], 아토피성 피부염 개선 효과[8], 항노화 효과[9]가 알려졌으며 이외 저중력 상태의 우주환경에서의 장해 경감 효과가 보고[10]되기도 하였다. 방사선 장해에 대한 효과는 소장움(intestinal crypt)의 보호와 비장집락의 형성 촉진이 보고되었고 구성 단미 중 인삼, 당귀, 승마, 시호가 효과가 있는 것으로 알려졌다[11].

멜라닌 생성 억제 물질의 탐색법으로는 tyrosinase 활성 저해실험, 배양색소세포를 이용한 실험, 실험동물에서의 생체시험, 사람피부를 대상으로 한 실험 등이 실시되고 있으며, 그중 멜라닌 합성의 주효소인 tyrosinase 활성 저해 실험이 멜라닌 중합체 억제제 개발의 초기 단계에서 주로 채택되고 있다[12]. 그러나 최근 멜라닌 생성이 tyrosinase에 의한 산화반응 뿐만 아니라, 여러 가지 복잡한 요인에 의해 진행된다는 것이 밝혀졌고, 또한 *in vitro*에서의 tyrosinase활성 억제물질이 melanoma세포주에서는 활성이 전혀 나타나지 않는 등의 문제로 멜라닌 생성을 종합적으로 억제하는 물질의 개발이 요구되고 있다[13]. 따라서 피부의 멜라닌 생성을 억제하거나 탈색 효과의 확인은 종래에 주로 이용되던 tyrosinase 활성 억제 확인법과 함께 상피조직에서의 멜라닌세포의 수적 변화를 현미경 표본에서 형태학적으로 직접 관찰하는 실험이 더욱 정확하리라 생각된다.

현재까지 다양한 피부보호제 및 미백제가 개발되어 사용되고 있으나, 여러 가지 문제점이 제기되고 있다. 미백제로서, 4-hydroxyanisole 및 hydroquinone 등은 기미, 주근깨, 검버섯 및 임신기 과색소 침착과 같은 과잉 색소증 치료에 국부적으로 사용되고 있다. 그러나 이들 화합물은 강력한 멜라닌 생성 저해 활성을 보이지만 색소 세포의 변성 또는 치사를 일으키고 세포 본래의 기능을 손상시키는 등의 부작용을 나타낸다. 특히 hydroquinone 계열은 강력한 멜라닌 생합성 저해 활성을 나타내어 미백용 크림으로 개발되었으나, 세포 독성으로 인한 피부자극과 피부병을 유발하여 일부 국가에서만 사용이 허가되고 있는 실정이다[14]. 코직산은 현재 arbutin, ascobic acid 등과 함께 식품의 갈변 방지제, 화장품, 의약품용 미백제 성분으로 사용되고 있으며, 세정제, 세안제, 육류 갈변 방지제, 항산화제, 선도 유지제 등의 기능도 보고되고 있다. 그러나 코직산의 낮은 저해활성, 사용 중의 변색, 물질

책임저자 : 김성호 shokim@chonnam.ac.kr, 전남대학교 수의과대학
광주광역시 북구 용봉동 300번지 전남대학교 수의과대학

자체의 불안정성 등의 문제점이 제기되고 있다[14,15]. 그밖에 4-hydroxyindole, 4-hexylresorcinol, 2-mercapto-benzothiazole, cinamic acid, p-coumaric acid, salicyl-hydroxamic acid, tropolone, mimosine, methimazole, 2,3-napthalenediol 등의 물질이 tyrosinase 저해 활성을 나타내지만, 대부분의 물질이 암, 돌연변이 등을 유발시키거나, 강한 독성을 나타낸다고 보고[16, 17]되어, 보다 안전한 천연물 유래의 새로운 무독성 물질의 발굴이 필요하다.

BZYQT는 각종 생리활성 효과[2-10] 및 일부 전리방사선 장해 경감 효과가 보고되었으나[11] UV에 의한 피부손상에 대한 연구보고는 없다. 본 연구에서는 BZYQT의 UV에 의한 멜라닌세포 형성 억제 및 형성된 멜라닌세포의 감소 효과를 표피조직에서 직접 관찰 측정하였다.

2. 재료 및 방법

2.1 실험동물

미국NIH에서 분양받아 원자력의학원에서 사육한 7-8주령의 C57BL/6 마우스를 사용하였고, 각 실험에서 6마리를 하나의 실험군으로 적용하였다. 동물의 사육은 온도 22 ± 2 ℃, 상대습도 50 ± 10%, 조명시간은 12시간 (오전 8시 점등-오후 8시 소등) 및 조도 200-300 lux로 설정된 시설에서 수행하였다. 순화기간을 거쳐 polycarbonate 사육상자에 3마리씩 수용하였고 실험동물용 고형사료 (삼양사료, 한국)와 정수장치를 통과한 수도수를 자유롭게 섭취하도록 하였다. 모든 실험동물은 Institute of Laboratory Animal Resources의 'Guide for the Care and Use of Laboratory Animal' (1996, USA)에 준하여 취급하였으며 동물실험은 전남대학교 수의과대학 동물실험윤리위원회의 승인 하에 수행되었다.

2.2 UV조사

UVB 조사는 광원으로 UVB lamp GL20SE (Sankyo denki, Japan)를 이용하여 제작한 UVB 조사기를 사용하였으며 광량은 Solarmeter®(Solartech Inc., USA)로 측정하였다. 대조군을 제외한 실험군 마우스 양쪽 귀 등쪽 면에 매일 오전 UVB를 80 mJ/cm^2(0.5 mW/sec)씩 7일 또는 조사하였다[11].

2.3 보중익기탕 시료제조 및 투여

BZYQT를 구성하는 황기, 감초, 인삼, 백출, 당귀, 승마 및 시호를 시중에서 구입하여 순천대학교 한약자원학과에서 분류학적 동정을 실시한 후 시료로 사용하였다. BZYQT는 한의서인 화제국방의 처방을 적용하여 황기 45 g, 감초, 인삼, 백출 각 30 g, 당귀, 진피 각 15 g과 승마, 9 g 씩 혼합하였다. 각 단미생약을 세절하여, 건조중량 100 g 당 증류수 1,000 ml의 비율로 혼합하고 80℃ 수조에서 8시간 중탕 추출하였다. 고형분을 제거한 현탁액을 1,000 g에서 30분간 원심분리시키고 상층액을 여과하여 감압농축하고 동결건조시켰다.

멜라닌세포 형성 억제 실험에서는 체중 kg당 25 mg을 최초 UV 조사 전 12 시간에 투여하고 이 후 격일로 동일 용량을 각 UV 조사 전 12시간에 복강 내 주사하거나, 연고기재 (한국콜마 주식회사)에 BZYQT를 0.2%로 혼합 제조하여 최초 UV 조사 전 24시간과 15분에 마우스 귀 등쪽 피부에 도포하고 이후 매일 UV 조사 전 15분에 반복 도포하였다. 도포는 귀 등쪽 전면에 얇은 막을 형성할 정도로 시행하였으며 여분의 연고는 가능한 제거하였다.

형성된 멜라닌세포의 감소 효과 실험에서는 멜라닌세포 형성 억제 실험에서와 같은 용량을 적용하였으며 복강 내 주사군의 경우 최종 UV 조사 후 30분, 48시간, 96시간 및 144시간에 투여하였고, 피부도포군은 최종 UV 조사 후 15분 및 매일 1회씩 부검 시까지 도포하였다.

2.4 조직학적 관찰

멜라닌세포 형성 억제 실험에서는 최종 UV 조사 후 24시간에, 형성된 멜라닌세포의 감소 효과 실험에서는 최종 UV 조사 후 3주 및 6주에 마우스를 경부탈구 방법으로 희생시켰다. 마우스의 양쪽 귀를 등쪽과 배쪽 피부로 분리한 후 등쪽의 표피쪽이 테이프의 접착면을 향하도록 투명 테이프에 표피를 부착시켰다. 37℃ 완충 EDTA 용액에서 2시간 동안 처리 후 겹자로 진피부분을 제거하여 표피를 분리한 후 조직을 생리식염수로 세척한 다음 4 ℃ cacodylate 완충포르말린용액에 20분 동안 고정시켰다. 고정 후 0.1% levodihydroxyphenylalanine (L-DOPA)용액에 37 ℃ 에서 1시간, 그리고 용액을 바꾸어 2시간을 배양한 후 glycerol로 봉입하여 광학현미경으로 검경하였다. 현미경 100배 시야에서 눈금이 있는 렌즈로, 세포의 분포가 비교적 균일한 귀 등쪽 중간부위에서 2시야를 측정하고 mm^2 당 세포수로 환산하였다.

2.5 통계분석

모든 성적은 평균 및 표준편차로 표시하였으며, 통계처리는 Graph PAD In Plot program(GPIP, Graph PAD software, USA)을 사용하여 Student's t-test로 분석하였다.

3. 결과 및 고찰

정상대조군에서 표피 mm^2 당 약 11-16개의 DOPA 양성 멜라닌세포가 관찰되었으며, 자외선조사에 따라 멜라닌세포의 세포체가 커지고 가지돌기의 수와 길이도 증가하였으며, 분지의 정도도 잘 발달된 양상을 보였다. 멜라닌세포 형성 억제 실험에서는 평균치를 기준으로 복강 내 주사군에서 16.3%, 피부도포군에서 26.6%($p<0.01$)의 효과가 관찰되었다[Table 1]. 형성된 멜라닌세포의 감소 효과 실험에서는 평균치를 기준으로 복강 내 주사군의 경우 3주에 24.0%($p<0.01$), 6주에 26.0%($p<0.01$)의 효과가 관찰되었다. 피부도포군의 경우 3주에 8.2%, 6주에 12.5%($p<0.05$)의 효과를 보였다[Table 2]. BZYQT 투여군에서는 세포의 가지돌기 형성도 미약하였다.

UV 조사에 대해 멜라닌은 피부보호기능을 수행하지만 멜라닌의 과잉생산은 기미, 주근깨를 형성하고, 피부노화를 촉진하며, 피부암 발생에 관여하는 것으로 알려져 있다. 기존의 몇 가지 멜라닌 생합성 저해제가 활성 및 안전성에 문제점을 가지고 있어, 세포독성이 낮고 멜라닌 생합성 저해 활성이 높은 천연물유래의 멜라닌 생합성저해물질의 연구가 관심의

Table 1. Effect of Bu-Zhong-Yi-Qi-Tang (BZYQT) on the Formation of UVB-induced DOPA-positive Epidermal Melanocytes.

Experimental groups	Number of DOPA-positive melanocytes per mm^2 of epidermis (mean ± SD)
Normal control	15.13 ± 10.32
Radiation control[a]	171.00 ± 27.30
BZYQT[a] + radiation + BZYQT	143.08 ± 38.60
Normal control	14.40 ± 9.45
Radiation control[b]	95.90 ± 13.10
BZYQT[b] + radiation + BZYQT	70.42 ± 11.02*

The C57BL/6 mice (n=6) were treated with UVB (80 mJ/cm^2/day) for 7days, and were sacrificed at 24 hours after last irradiation.
a: BZYQT (25 mg/kg of body weight) or saline (vehicle) was given i.p. at 12 hours before first irradiation, and 12 hours before each irradiation every other day.
b: BZYQT cream (0.2% in cream base) or cream base (vehicle) was topically treated at 24 hours and 15 minutes before first irradiation, and 15 minutes before each irradiation.
*$p<0.01$ as compared with radiation control group.

Table 2. Effect of Bu-Zhong-Yi-Qi-Tang (BZYQT) on the Skin Whitening in UVB Irradiated Mice.

Experimental groups	Number of DOPA-positive melanocytes per mm^2 of epidermis (mean ± SD)	
	3rd week	6th week
Normal control	11.34 ± 9.14	12.45 ± 8.16
Radiation control[a]	406.50 ± 20.08	327.50 ± 30.96
BZYQT[a] + radiation + BZYQT	308.88 ± 29.82*	242.38 ± 23.20*
Normal control	12.57 ± 9.65	12.44 ± 10.26
Radiation control[b]	344.00 ± 33.75	259.50 ± 11.79
BZYQT[b] + radiation + BZYQT	326.00 ± 5.72	227.00 ± 21.37**

The C57BL/6 mice (n=6) were treated with UVB (80 mJ/cm^2/day) for 7days, and were sacrificed 3 and 6 weeks after last irradiation.
a: BZYQT (25 mg/kg of body weight) or saline (vehicle) was given i.p. at 30 minutes, 48, 96 and 144 hours after last irradiation.
b: BZYQT cream (0.2% in cream base) or cream base (vehicle) was topically treated everyday for 3 and 6 weeks after last irradiation.
*$p<0.01$ as compared with radiation control group.
**$p<0.05$ as compared with radiation control group.

대상이 되고 있다. 현재까지 천연물에서 분리된 멜라닌 생성 억제 물질로는 감초에서 분리된 formononectin, glabrene, glabridin, glabrol, 누룩곰팡이(*Aspergillus oryzae*)의 이차대사산물인 kojic acid, 우바우르시엽(Uvae Ursi Folium)의 arbutin, 상백피의 oxyresveratrol, dihydromoriin, artocarbene, 4-prenyloxyresveratrol 등이 알려져 있으며[19-22], 최근 국내에서 대극과 식물[23], 전호[24], 홍경천[25], 소목[26], 대잎샐 추출물[27] 등의 추출물에 대한 연구가 보고되었다.

UVB 조사 후 발생하는 표피 내 멜라닌 세포수의 증가는 활동성 멜라닌세포의 활성화, 멜라닌세포의 분열과 이동, 줄기세포에서의 기원, 표피 내 다른 수지상세포에서의 변화 등과 관련된다고 보고되어있다[28, 29]. C57BL/6 마우스에서 출생 시 체간에 존재하던 멜라닌세포는 생후 12일경 소실되나, 귀, 발바닥, 꼬리 부위에서는 정상적으로 활동성 멜라닌세포가 성년까지 남아있다. 귀 등쪽 표피 내 멜라닌세포는 불균등 분포를 하고 있으며, 상부 변연부는 세포수가 많은 반면 하부 기저부로 갈수록 세포수가 감소한다[30,31]. 따라서 본 실험에서는 부위에 따른 세포수의 차이를 감안하여 세포의 분포가 비교적 균일한 귀 등쪽 중간부위에서 수를 측정하였다. 본 실험에서 관찰된 바와 같이 정상적으로 활동성 멜라닌세포가 존재하는 귀 등쪽 표피에서의 수적 증가는 주로 기존하는 멜라닌세포의 증가에 기인할 것으로 사료되나, C57BL/6 마우스의 체간과 같이 정상적으로 활동성 멜라닌세포가 존재하지 않는 부위에서도 UV 조사에 의해 양성 멜라닌세포가 출현한다는 보고[32]가 있어, 비활동성 멜라닌세포의 활성화나 전구세포에서의 기원 등도 배제할 수 없으며, 이와 같은

복합적 요인에 대한 연구가 필요할 것으로 생각된다.

본 연구에서 UV 조사 전 BZYQT 투여에 의한 멜라닌세포 형성억제는 복강 내 주사군에서 평균치의 감소 효과를 나타냈으며, 피부도포군에서는 유의성 있는 억제 효과가 관찰되었다. UV조사에 의해 멜라닌 세포수가 증가된 마우스에 BZYQT를 적용하여 세포수의 감소 유도효과를 확인한 바, 복강 내 투여군에서는 3주 및 6주에, 피부도포군에서는 6주에 유의성 있는 감소효과가 관찰되었다. 본 연구의 결과에서 복강 내 투여군에 비하여 피부도포군의 경우 UV조사 및 BZYQT투여군 공히 상대적으로 낮은 멜라닌세포 수치를 나타낸 것은 연고기재의 도포에 의한 물리적 차단 효과가 관계된 것으로 사료된다. 산화적 스트레스는 활성산소종이나 기타 유리기의 생성 증가에 의해 유도된다. UV는 피부에 활성산소종 형성을 유도할 수 있고 이 활성산소종은 멜라닌의 생합성 및 DNA 손상을 증가시키며, 멜라닌세포의 증식을 유도한다. 피부질환의 병인으로 산화적 스트레스의 역할이 보고되었으며, 항산화제와 같은 유리기 포착제나 발생 억제제가 과색소침착을 완화함이 알려졌다[33]. 따라서 본 연구의 결과 BZYQT의 효과는 항산화작용[34]에 의한 효과로 추측되나 이에 대한 추가 연구가 요구된다. 본 연구의 결과는 BZYQT의 멜라닌 색소 형성 억제 및 형성된 멜라닌 색소의 감소 효과에 대한 최초의 보고로서, 멜라닌 침착 방지 및 피부미백제로서의 개발 가능성도 제시하였다 이는 BZYQT의 피부 장해 연구에 기초자료가 될 것이며 추후 생리활성 및 유효성분에 대한 보다 많은 연구가 계속되어야 할 것이다.

감사의 글

이 연구는 한국과학재단을 통하여 과학기술부가 시행한 원자력연구개발사업 연구비지원에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. 한약위원회, 조제지침연구소위원회. 한약조제 지침서 해설, 사단법인 대한약사회. 1995.
2. Cho JM, Sato N, Kikuchi K. Prophylactic anti-tumor effect of Hochu-ekki-to (TJ41) by enhancing natural killer cell activity. In Vivo. 1991;5:389-391.
3. Harada M, Seta K, Ito O, Tamada K, Li T, Terao H, Takenoyama M, Kimura G, Nomoto K. Concomitant immunity against tumor development is enhanced by the oral administration of a kampo medicine, Hochu-ekki-to (TJ-41: Bu-Zhong-Yi-Qi-Tang). Immunopharmacol Immunotoxicol. 1995;17:687-703.
4. Kao ST, Yang SL, Hsieh CC, Yang MD, Wang TF, Lin JG. Immunomodulation of Bu-Zhong-Yi-Qi-Tang on in vitro granulocyte colony-stimulating-factor and tumor necrosis factor-alpha production by peripheral blood mononuclear cells. Immunopharmacol Immunotoxicol. 2000;22:711-720.
5. Kao ST, Yeh CC, Hsieh CC, Yang MD, Lee MR, Liu HS, Lin JG. The Chinese medicine Bu-Zhong-Yi-Qi-Tang inhibited proliferation of hepatoma cell lines by inducing apoptosis via G0/G1 arrest. Life Sci. 2001;69:1485-1496.
6. Kuroiwa A, Liou S, Yan H, Eshita A, Naitoh S, Nagayama A. Effect of a traditional Japanese herbal medicine, Hochu-ekki-to (Bu-Zhong-Yi-Qi Tang), on immunity in elderly persons. Int Immunopharmacol. 2004;4:317-324.
7. Furuya Y, Akashi T, Fuse H. Effect of Bu-zhong-yi-qi-tang on seminal plasma cytokine levels in patients with idiopathic male infertility. Arch Androl. 2004;50:11-14.
8. Kobayashi H, Mizuno N, Kutsuna H, Teramae H, Ueoku S, Onoyama J, Yamanaka K, Fujita N, Ishii M. Hochu-ekki-to suppresses development of dermatitis and elevation of serum IgE level in NC/Nga mice. Drugs Exp Clin Res. 2003;29:81-84.
9. Shih HC, Chang KH, Chen FL, Chen CM, Chen SC, Lin YT, Shibuya A. Anti-aging effects of the traditional Chinese medicine bu-zhong-yi-qi-tang in mice. Am J Chin Med. 2000;28:77-86.
10. Song QH, Kobayashi T, Hosoi T, Cyong JC. Effects of traditional Chinese medicines on murine bone metabolism in a microgravity environment. Am J Chin Med. 2003;31:739-749.
11. Kim SH, Lee SE, Oh H, Kim SR, Yee ST, Yu YB, Byun MW, Jo SK. The radioprotective effects of bu-zhong-yi-qi-tang: a prescription of traditional Chinese medicine. Am J Chin Med. 2002;30:127-137.
12. Laskin JD, Piccinini LA. Tyrosinase isozyme heterogeneity in differentiating B16/C3 melanoma. J Biol Chem. 1986;261:16626-16635.
13. Naeyaert JM, Eller M, Gordon PR, Park HY, Gilchrest BA. Pigment content of cultured human melanocytes does not correlate with tyrosinase message level. Br J Dermatol. 1991;125:297-303.
14. Maeda K, Fukada M. In vivo effectiveness of several whitening cosmetic components in human melanocytes. J Soc Cosmet Chem. 1991;42:361-368.
15. 이충환, 고영희. 멜라닌 생합성 저해물질의 탐색. 생물산업 1996;9:32-35.
16. Dawley RM, Flurkey WH. 4-hexylresocinol, a potent inhibitor of mushroom tyrosinase. J Food Sci. 1993;58:609-610.
17. Tomita K, Oda N, Ohbayashi M, Kamei H, Miyaki T, Oki T. A new screening method for melanin biosynthesis inhibitors using *Streptomyces bikiniensis*. J Antibiot (Tokyo). 1990;43:1601-1605.
18. 김영근, 박윤기, 김홍직. 자외선B의 조사가 C57BL마우스 표피의 멜라닌세포에 미치는 영향. 대한피부과학회지 1988;26(2):139-144.
19. Nerya O, Vaya J, Musa R, Izrael S, Ben-Arie R, Tamir S. Glabrene and isoliquiritigenin as tyrosinase inhibitors from licorice roots. J Agric Food Chem. 2003;51:1201-1207.
20. Kahn V. Effect of kojic acid on the oxidation of DL-DOPA, norepinephrine, and dopamine by mushroom tyrosinase. Pigment Cell Res. 1995;8:234-240.
21. Chakraborty AK, Funasaka Y, Komoto M, Ichihashi M. Effect of arbutin on melanogenic proteins in human melanocytes. Pigment Cell Res. 1998;11:206-212.
22. Shin NH, Ryu SY, Choi EJ, Kang SH, Chang IM, Min KR, Kim Y. Oxyresveratrol as the potent inhibitor on dopa oxidase activity of mushroom tyrosinase. Biochem Biophys Res Commun. 1998;243:801-803.
23. 김정아, 최지영, 손애랑, 박성희, 허광화, 이종구, 오인석, 김진준, 장현욱, 정시령, 장태수, 이승호. 대극과 식물로부터 분리한 천연폴리페놀의 멜라닌 생성 억제효과. 생약학회지 2004;35:157-163.
24. 김청택, 김원찬, 진무현, 김호정, 강상진, 강세훈, 정민환, 임영희. 전호의 멜라닌 생성억제 물질. 생약학회지 2002;33:395-398.
25. 최두영, 안소영, 이승기, 한정선, 김은철, 이향복, 신정현, 김은기, 노경호. 홍경천에 포함된 미백성분의 분리 및 성능검사. 한국생물공학회지 2004;19:169-173.
26. 천현자, 황상구, 이진선, 백승화, 전병훈, 우원홍. 소목의 부탄올 추출물에 의한 Melan-a 세포의 멜라닌생성 억제효과. 생약학회지 2002;33:130-136.
27. 이해준, 채세림, 김성호. 자외선 B를 조사한 마우스 표피멜라닌세포 변화에 대한 분죽(Phyllostachys nigra var. henenis

Strapf)잎 추출물의 효과. Journal of Radiation Protection. 2007;32(2):59-64.
28. 김유찬, 윤재일. 자외선을 조사한 C57BL mice에서 자외선 조사부 및 차단부 표피내 멜라닌 세포의 변화에 관한 연구. 대한피부과학회지 1988;26:283-291.
29. Slominski A, Tobin DJ, Shibahara S, Wortsman J. Melanin pigmentation in mammalian skin and its hormonal regulation. Physiol Rev. 2004;84:1155-1228.
30. Gerson DE, Szabo G. Effect of single gene substitution on the melanocyte system of the C57BL mouse: quantitative and qualitative histology. Nature 1968;218:381-382.
31. Reynolds J. The epidermal melanocytes of mice. J. Anat. 1954;88:45-58.
32. Jimbow K, Uesugi T. New melanogenesis and photobiological processes in activation and proliferation of precursor melanocytes after UV-exposure: ultrastructural differentiation of precursor melanocytes from Langerhans cells. J Invest Dermatol. 1982;78:108-115.
33. Yamakoshi J, Otsuka F, Sano A, Tokutake S, Saito M, Kikuchi M, Kubota Y. Lightening effect on ultraviolet-induced pigmentation of guinea pig skin byoral administration of a proanthocyanidin-rich extract from grape seeds. Pigment Cell Res. 2003;16(6):629-638.
34. Jafari M, Felgner JS, Bussel II, Hutchili T, Khodayari B, Rose MR, Vince-Cruz C, Mueller LD. Rhodiola: a promising anti-aging Chinese herb. Rejuvenation Res. 2007;10(4):587-602.

The Effect of Bu-Zhong-Yi-Qi-Tang on Epidermal Melanocytes in Ultraviolet B-irradiated Mice

Hae-June Lee, Hwan-Sung Kim*, Young-Jong Park*, Joong-Sun Kim*, Changjong Moon*, Jong-Choon Kim*, Chun-Sik Bae*, Sung-Kee Jo** and Sung-Ho Kim*
Korea Institute of Radiological & Medical Science, *College of Veterinary Medicine, Chonnam National University, **Advanced Radiation Technology Institute, KAERI

Abstract - We induced the activation of melanocytes in the epidermis of C57BL/6 mice by ultraviolet B (UVB) irradiation and observed the effect of Bu-Zhong-Yi-Qi-Tang (BZYQT) on the formation, and decrease of UVB-induced epidermal melanocytes. C57BL/6 mice were irradiated by UVB 80 mJ/cm^2 (0.5 mW/sec) daily for 7 days, and BZYQT was intraperitoneally or topically applied pre- or post-irradiation. For the estimation of change of epidermal melanocytes, light microscopic observation with dihydroxyphenylalanine (DOPA) stain was performed. Split epidermal sheets prepared from the ear of untreated mice exhibited 11-16 melanocytes/mm^2, and one week after UV irradiation, the applied areas show an increased number of strongly DOPA-positive melanocytes with stout dendrites. But intraperitoneal or topical treatment with BZYQT before each irradiation interrupted UVB-induced pigmentation and resulted in a marked reduction in the number of epidermal melanocytes as compared to radiation control skin. The number and size of DOPA-positive epidermal melanocytes were also significantly decreased in intraperitoneally injected or topically applicated group after irradiation with BZYQT at 3rd and 6th weeks after irradiation. The present study suggests the BZYQT as inhibitor of UVB-induced pigmentation and depigmenting agent.

Keywords : Ultraviolet B, Melanocyte, Bu-Zhong-Yi-Qi-Tang