

## 형질전환된 각질형성세포에서 생약추출물에 의한 NF- $\kappa$ B 활성화 억제효과 탐색

안광석 · 김성기<sup>1</sup> · 문기영<sup>2</sup> · 한범수<sup>3</sup> · 강삼식 · 김영식\*  
서울대학교 천연물과학연구소/약학대학, <sup>1</sup>한국화학연구원,  
<sup>2</sup>광주보건대학 임상병리과, <sup>3</sup>농업생명공학연구원 신기능소재개발과

## Screening of Crude Drugs for the Inhibitory Effect on NF- $\kappa$ B Activation in Transfectant HaCaT Cells

Kwang Seok Ahn, Seong-Kie Kim<sup>1</sup>, Ki-Young Moon<sup>2</sup>, Bum-Soo Hahn<sup>3</sup>,  
Sam Sik Kang, and Yeong Shik Kim\*

Natural Products Research Institute, College of Pharmacy,  
Seoul National University, 28 Yeonkun-Dong, Jongno-Ku, Seoul 110-460, Korea

<sup>1</sup>Korea Research Institute of Chemical Technology, Daejeon 305-343, Korea

<sup>2</sup>Department of Clinical Pathology, Kwangju Health College, 683-3 Shinchang-Dong, Kwangsan-Ku, Kwangju 506-701, Korea

<sup>3</sup>Metabolic Engineering Division, National Institute of Agricultural Biotechnology, Suwon 441-707, Korea

**Abstract** – NF- $\kappa$ B (nuclear factor- kappa B) plays a particularly central role in epidermal biology. It has been established that ultraviolet radiation (UVR) is one of the mechanisms to induce the activation of NF- $\kappa$ B in human skin. We previously demonstrated that melanogenic inhibitors may act through the inhibition of NF- $\kappa$ B activation in keratinocytes. In order to find another type of melanogenic inhibitors of NF- $\kappa$ B activation, various kinds of the extracts from crude drugs (30  $\mu$ g/ml) were preincubated with transfectant HaCaT cells for 3 hrs and then UVR (60 mJ/cm<sup>2</sup>) was irradiated. UVR-exposed cells were incubated for another 6 hrs to measure the NF- $\kappa$ B activity. NF- $\kappa$ B activation was measured with the secretory alkaline phosphates (SEAP) reporter gene assay using a fluorescence detection method. Among natural products, *Lycium chinense*, *Acanthopanax senticosus*, *Angelica koreana*, *Kalopanax pictus* and *Asparagus cochinchinensis* were the most potent inhibitors of NF- $\kappa$ B activation by UVR. These observations suggest that some crude drugs might act partially through the modulation of the synthesis of melanotrophic factors to decrease melanogenesis in keratinocytes.

**Key words** – Transfectant HaCaT Cells, Ultraviolet radiation, Nuclear factor-kappa B activity, Melanotrophic factors, Melanogenesis

피부는 종종 염증을 일으키는 다양한 화합물이나 외부의 자외선 조사(UVR)으로부터 첫번째로 표적이 되는 인체기관이다. 특히, 피부의 과색소 침착 과정에서 UVR에 의한 멜라닌화(melanogenesis)가 유도된다는 것은 잘 알려진 사실이다.<sup>1,2)</sup> 각질형성세포와 멜라닌세포는 상피의 멜라닌단위로 되어진 기능적 복합체를 구성하고 있다. 멜라닌 생성과정을 자세히 살펴보면 멜라닌 세포에서 멜라닌이 만들어지지만, 이렇게 형성된 멜라닌은 멜라닌 세포에서 그대로 가

지고 있지 않고 이웃하고 있는 각질 형성 세포로 이동을 하게 된다. 반면에 각질형성세포는 멜라닌세포의 증식, 피부의 수상화(dendricity), 멜라닌 형성에 영향을 주는 것으로 알려져 있다.<sup>3-5)</sup>

Nuclear factor-kappaB (NF- $\kappa$ B)는 세포의 성장, 분화, 발생 등에 관계된 많은 유전자의 전사활성인자(transcriptional activator)로써 특별히 다양한 면역과 염증반응에 중요한 역할을 수행하고 있다.<sup>6-9)</sup> 이 중에서 피부세포를 살펴보면, 자극이 없는 상태의 각질 형성 세포에서 세포질에 있는 I $\kappa$ B는 NF- $\kappa$ B와 결합되어 핵으로 이동하는 것을 억제하고 있다. 그러나, 외부로부터 신호를 받게 되면 (예, TNF- $\alpha$ , lipo-

\*교신저자(E-mail) : kims@plaza.snu.ac.kr  
(FAX) : 02-765-4768

polysaccharides, UVR, cytokines), I $\kappa$ B는 인산화(phosphorylation)와 분해 과정을 거치면서 활성화된 NF- $\kappa$ B를 이끌어낸다.<sup>10)</sup> 이러한 과정을 거치면서 각질 형성 세포에 활성화된 NF- $\kappa$ B는 멜라닌 세포에 영향을 미치는 세포외부 신호전달 물질의 분비에 관여하고 있는 유전자를 변이 시키거나 변경할 수가 있다.<sup>11-14)</sup> 저자들은 각질 형성 세포에서 UVR에 의해 증가된 NF- $\kappa$ B의 활성화를 억제함으로써 멜라닌 형성 과정도 함께 저해할 수 있다는 결과를 이미 얻었다.<sup>15,16)</sup> 또한, 항산화작용을 가지고 있는 멜라닌화 저해제가 interleukin-6의 분비를 저해 시키면서 UV에 의한 NF- $\kappa$ B의 활성화를 저해시키는 것을 확인하였다.<sup>17,18)</sup> 이에 본 연구팀은 식물자원으로부터 NF- $\kappa$ B 활성화 저해물질들을 탐색하고자 200여 가지 약용 추출물을 대상으로 활성을 검색하여 10여종의 시료가 유의성 있는 결과를 보여줌을 확인하여 이를 보고하고자 한다.

## 재료 및 방법

**실험재료 및 시료의 조작** - 국내 한약 재료상에서 구입한 약용 식물들을 충분한 양의 메탄올에 7일간 실온에서 침제한 후 여과 감압 농축하여 메탄올 추출물을 얻었으며 더 이상의 조작 없이 검체로 사용하였다.

**검액조제** - 시료로 사용한 천연물은 DMSO에 먼저 녹인 후, 저장용액으로 -20°C에 보관하였다가 세포에 투여하기 전 실험농도 (30  $\mu$ g/ml)에 알맞게 DMEM 배지로 조정된 후 사용하였다.

**세포주 및 세포배양** - 인간 HaCaT 세포는 Dr. Norbert E. Fusenig (German Cancer Research Center, Heidelberg, Germany) 의해서 죽지 않게 만들어진 각질형성세포이다.<sup>19)</sup> 형질전환된 HaCaT 세포의 선별을 위해서 geneticin (500  $\mu$ g/ml)을 넣어주고 세포는 37°C, 5%, CO<sub>2</sub>의 조건을 갖춘 CO<sub>2</sub> 세포배양기에서 배양되었다. 사용된 배양 배지는 10% fetal bovine serum (Gibco Co.)이 포함된 DME 배지에 penicillin-streptomycin (Sigma Chemical Co., USA)을 첨가하였으며, 약 24 시간 주기로 DMEM 배양액을 교체하였다.

**MTT 측정** - 적정수의 세포를 180  $\mu$ l의 배지에 부유시켜 96-well plate에 접종하였다. 난용성 시료는 0.02% DMSO (dimethyl sulfoxide)에 용해시키고, 수용성 시료는 PBS (phosphate buffered saline)에 용해시킨 후 20  $\mu$ l씩 각 well에 가하여 시료의 최종 농도는 well당 각각 30  $\mu$ g/ml이 되도록 하였다. 한 종류 농도군에 대해서는 5 wells을 동일한 조건으로 사용하며, 나머지는 약물 대신 PBS만을 20  $\mu$ l 첨가하였다. 형질 전환된 HaCaT 세포와 약물이 접종된 plate를 CO<sub>2</sub> 배양기에 배양 후, 0.1 mg의 MTT (Sigma M 2128)

를 모든 well에 가해주고 다시 배양기에서 6시간 더 배양하였다. 배양 종료 후에 각 well의 바닥에 형성된 formazan 결정이 흐트러지지 않도록 하기 위하여 plate를 원심 분리한 후 배지를 모두 제거하였다. 배지가 제거된 각 well에 DMSO를 200  $\mu$ l씩 가한 후에 formazan 결정이 녹을 때까지 약 10분간 가볍게 진탕해 주고 바로 microplate reader로 540 nm에서의 흡광도를 측정하였다. 이 흡광도는 MTT가 세포에 의해 formazan (blue)으로 분해된 양을 나타내며, 따라서 각 well에 살아있는 세포 (viable cells)수와 비례한다.

**NF- $\kappa$ B 활성화 측정** - NF- $\kappa$ B 활성을 측정하기 위한 형질 전환된 세포수 ( $2 \times 10^5$ )를 계수하여 12-well plate에 24시간 배양하고, Dulbecco-PBS로 2번 닦아준 후에, 새로운 배지를 넣고 각각의 시료 (30  $\mu$ g/ml)를 넣고 2시간 배양해 주고 (대조군으로서, 바로 초기에 30  $\mu$ l 배지를 취하여 65°C에서 6분 끓여준 후 냉동시켰다.) 2시간이 지난 후, HaCaT 세포에 직접 UVR [Spectrolinker XL-1000 UV (Spectronics Co., USA)]을 60 mJ/cm<sup>2</sup>의 세기로 조절하여 조사하였다. 6시간 배양 시킨 후, 30  $\mu$ l 배지를 취하여 65°C에서 6분 끓여준 다음 냉동시켰다. 냉동시킨 배지를 실온에서 녹인 후에, FluoroNunc™ plate (Nunc Co.)에 25  $\mu$ l씩 넣고, 1X SEAP 완충용액을 (25  $\mu$ l) 넣고 진탕시킨 후에 37°C에서 15분 방치 후에 2X SEAP (100  $\mu$ l)을 넣고 다시 진탕시켜 주었다. FluoroNunc™ plate를 암실에 놓고, 10 mM MUP (10  $\mu$ l)를 첨가하였다. FluoroNunc™ plate를 빛이 들어가지 않게 호일로 감싼 후에 37°C에 1시간 방치하였다. 이 FluoroNunc™ plate를 형광분석계 (Molecular Devices, Gemini XS)를 이용하여 360 nm와 449 nm에서 RFU값을 읽었다.<sup>16)</sup>

**통계방법** - 모든 실험의 측정치는 Student's *t*-test로 통계 처리하여 대조군과의 유의성 차를 검정하였다.

## 결과 및 고찰

**각질 형성 세포에서 메탄올 생약추출물이 UVR에 의한 NF- $\kappa$ B 활성화 저해 효과** - 여러 가지의 생약추출물에 대한 NF- $\kappa$ B 활성화에 미치는 영향을 알아보기 위하여 우선적으로, 각각 시료에 대한 세포독성을 확인하였다. 각 시료들의 농도는 30  $\mu$ g/ml로 처리하고, 세포에 UVR를 쬐어 6시간 배양한 후에 MTT 측정 방법으로 세포의 독성을 관찰하였다. 이러한 농도와 시간에서는 대조군과 실험군에서 시료와 UVR에 의한 세포독성은 보여주지 않았다. 따라서, HaCaT 세포에서 NF- $\kappa$ B 활성화의 억제작용은 세포독성의 의한 저해 작용이 아닌, 생약 추출물에 의한 작용이라고 할 수가 있다. 여러 가지 생약 추출물을 가지고 NF- $\kappa$ B 활성화의 억제작용을 측정하였다. 60% 이상의 NF- $\kappa$ B 활성화 억

**Table I.** Inhibitory effect of various methanol extracts (30 µg/ml) on NF-κB activity by UVR (60 mJ/cm<sup>2</sup>) in transfectant HaCaT cells

학 명(생약명)	과 명	NF-κB Inhibition Activity (RFU)	Inhibition (%)
<i>Acanthopanax senticosus</i> (가시오가피)	Araliaceae	7.6	90
<i>Acanthopanax sessiliflorum</i> (오가피)	Araliaceae	7.9	81
<i>Aconitum ciliare</i> (초오)	Ranunculaceae	7.9	81
<i>Aconitum Carmichaeli</i> (부자)	Ranunculaceae	9.8	18
<i>Adenophora remotiflorus</i> (제니)	Campanulaceae	8.9	46
<i>Agastache rugosa</i> (곽향)	Labiatae	9.7	23
<i>Alpinia katsumadai</i> (초두구)	Zingiberaceae	8.9	48
<i>Amomum tsao-ko</i> (초과)	Zingiberaceae	9.6	28
<i>Amomum xanthioides</i> (사인)	Zingiberaceae	9.2	37
<i>Angelica dahurica</i> (백지)	Umbelliferae	9.6	28
<i>Angelica gigas</i> (당귀)	Umbelliferae	8.1	74
<i>Angelica koreana</i> (강활)	Umbelliferae	8.1	74
<i>Angelica tenuissima</i> (고본)	Umbelliferae	8.8	52
<i>Aralia cordata</i> (독활)	Araliaceae	8.2	69
<i>Areca catechu</i> (빈랑자)	Palmae	9.9	14
<i>Arisaema amurense</i> (천남성)	Arceae	8.8	50
<i>Asparagus cochinchinensis</i> (천문동)	Liliaceae	7.6	90
<i>Belamcanda chinensis</i> (사간)	Iridaceae	11.4	NI
<i>Biota orientalis</i> (측백엽)	Cupressaceae	9.1	42
<i>Bupleurum falcatum</i> (시호)	Umbelliferae	9.7	23
<i>Celosia argentea</i> (청상자)	Amaranthaceae	12.1	NI
<i>Citrus unshiu</i> (청피)	Rutaceae	9.6	26
<i>Cnidium officinale</i> (천궁)	Umbelliferae	8.7	55
<i>Commiphora molmol</i> (몰약)	Bursaceae	13.8	NI
<i>Cornus officinalis</i> (산유수)	Cornaceae	9.3	35
<i>Croton tiglium</i> (괘두)	Euphorbiaceae	10.7	NI
<i>Curcuma longa</i> (울금)	Zingiberaceae	8.6	60
<i>Cuscusta chinensis</i> (토사자)	Convolvulaceae	10.5	NI
<i>Dendrobium nobile</i> (석곡)	Orchidaceae	8.7	53
<i>Dioscorea tokoro</i> (비해)	Dioscoreaceae	11.1	NI
<i>Diospyros kaki</i> (시체)	Ebenaceae	9.8	18
<i>Eriobotrya japonica</i> (비파열)	Rosaceae	10.6	NI
<i>Forsythia viridissima</i> (연교)	Oleaceae	9.4	NI
<i>Gentiana macrophylla</i> (진교)	Gentianaceae	11.1	31
<i>Ginkgo biloba</i> (백과)	Ginkgoaceae	9.9	14
<i>Imperata cylindrica</i> (모근)	Gramineae	10.8	NI
<i>Isatis tinctoria</i> (판랍근)	Cruciferae	11.6	NI
<i>Kalopanax pictum</i> (해동피)	Araliaceae	8.2	69
<i>Kochia scoparia</i> (지부자)	Chenopodiaceae	8.3	71
<i>Ledebouria seseloides</i> (방풍)	Umbelliferae	9.3	35
<i>Lycium chinense</i> (구기자)	Solanaceae	7.7	86
<i>Lycopus coreanus</i> (택란)	Labiatae	8.6	59

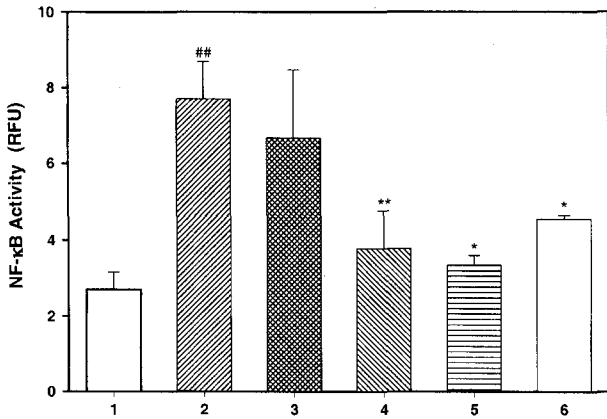
**Table I.** Continued

학 명(생약명)	과 명	NF-κB Inhibition Activity (RFU)	Inhibition (%)
<i>Melia azedarach</i> (천련자)	Meliaceae	9.8	18
<i>Momordica cochinchinensis</i> (목별자)	Cucurbitaceae	12.5	NI
<i>Morinda officinalis</i> (파극천)	Rubiaceae	10.9	NI
<i>Morus alba</i> (상백피)	Moraceae	11.5	NI
<i>Morus alba</i> (상삼자)	Moraceae	10.6	NI
<i>Morus alba</i> (상엽)	Moraceae	10.4	NI
<i>Persicaria tinctoria</i> (청대)	Polygonaceae	10.1	NI
<i>Phyllostachys bambusoides</i> (천축황)	Gramineae	9.9	14
<i>Phytolacca esculenta</i> (상륙)	Phytolaccaceae	10.6	NI
<i>Pinus densiflora</i> (솔잎분말)	Pinaceae	9.7	23
<i>Pinus densiflora</i> (호박)	Pinaceae	10.2	NI
<i>Piper nigrum</i> (후추)	Piperaceae	8.7	55
<i>Plantago asiatica</i> (차전자)	Plantaginaceae	10.2	NI
<i>Quisqualis indica</i> (사군자)	Combretaceae	8.8	50
<i>Rhus javanica</i> (오배자)	Anacardiaceae	9.9	14
<i>Rubia alkan</i> (천초근)	Rubiaceae	10.1	NI
<i>Sanguisorba officinalis</i> (지유)	Rosaceae	9.4	30
<i>Saussurea lappa</i> (목향)	Compositae	10.4	NI
<i>Scirpus flaviatilis</i> (삼릉)	Cyperaceae	12.2	NI
<i>Smilax china</i> (토복령)	Liliaceae	10.1	10
<i>Sophora subprostrata</i> (산두근)	Leguminosae	8.8	50
<i>Spirodela polyrhiza</i> (부평)	Lemnaceae	10.6	NI
<i>Torilis japonica</i> (사상자)	Umbelliferae	10.1	10
<i>Tribulus terrestris</i> (질려자)	Zygophyllaceae	10.2	NI
<i>Triticum aestivum</i> (부소맥)	Gramineae	10.4	NI
<i>Vitex rotundifolia</i> (만형자)	Verbenaceae	12.5	NI
<i>Xanthium strumarium</i> (창이자)	Compositae	10.1	NI
<i>Zizyphus jujuba</i> (산조인)	Rhamnaceae	9.2	38

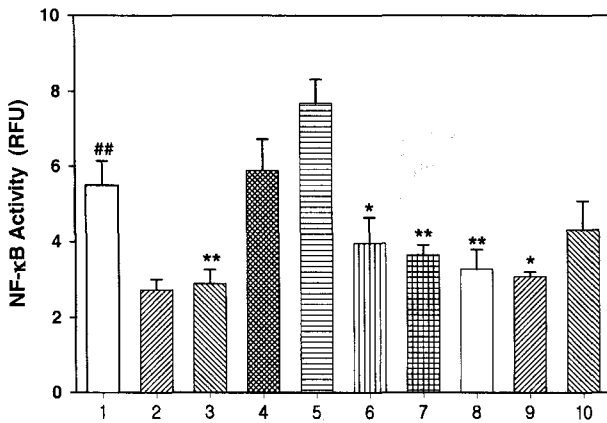
\* RFU stands for relative fluorescence unit

\* NI (No Inhibition)

제 작용이 있는 생약 추출물로서는 구기자, 울금, 독활, 오가피, 가시오가피, 해동피, 강활, 당귀, 지부자, 천문동, 초오를 선별할 수가 있었다. 또한, 다른 실험실에서도 139종의 메탄올 생약 추출물에 대한 라디칼 소거활성을 조사하여 이 중에서 구기자와 해동피 추출물이 대조군에 비하여 80% 이상 강한 라디칼 소거 활성을 나타내었다.<sup>20)</sup> 이러한 결과는 우리의 NF-κB 활성화 억제작용과도 유사한 경향성을 확인할 수가 있었다. 따라서 강한 NF-κB 활성화의 억제작용이 있는 생약추출물들은 역시, 항산화효과 특성도 가지는 식물로서, 이러한 천연물들을 이용하면 피부질환 치료제나 미백제로 개발하는데 있어서 유용한 정보가 될 것으로 생각되어지고 있다 (Table I).



**Fig. 1.** Suppression of UV-upregulating NF-κB activity in transfectant HaCaT cells by further purified compounds from *Acanthopanax senticosus*.  
 1. UV-irradiated; 2. UV-unirradiated control; (3-6) compounds-treated before UV-irradiation; 3. scoparone; 4. caepensin; 5. fraxidin; 6. 1-eicosanol. Data are expressed as mean±SD (n=3). Significant differences in NF-κB activities between UV-irradiated and compounds-treated before UV irradiation are indicated by \*p<0.05 and \*\*p<0.01. Significant differences in NF-κB activities between UV-irradiated samples and UV-unirradiated control are indicated by ###p<0.01.



**Fig. 2.** Suppression of UV-upregulating NF-κB activity in transfectant HaCaT cells by other region extracts from *Rosa davurica* Palls.  
 1. UV-irradiated; 2. UV-unirradiated control; 3. 10 mM kojic acid; (4-11) the extracts from the part of *Rosa davurica* Palls (생열귀) before UV-irradiation; 4. leaves; 5. stems; 6. roots; 7. fruits; 8. extracts from *Rhynchosia volubilis* (쥐눈이콩깍질); 9. extracts from *Hericium erinaceum* (노루궁둥이버섯); 10. extracts from *Astragalus membranaceus* (Fischer) Bunge (황기). Data are expressed as mean±SD (n=3). Significant differences in NF-κB activities between UV-irradiated and samples treated before UV irradiation are indicated by \*p<0.05 and \*\*p<0.01. Significant differences in NF-κB activities between UV-irradiated and UV-unirradiated control are indicated by ##p<0.01.

**각질형성세포에서 다종 생약분획물이 UVR에 의한 NF-κB 활성화 억제효과** - 더 나아가 아주 강한 NF-κB 활성화 억제 작용을 지닌 오가피와 같은 추출물을 좀더 분리하여 단일 화합물 4가지를 가지고 NF-κB 활성화의 억제작용을 관찰하였다. 단일 화합물 중에서 scoparone을 제외하고 나머지 3종류의 화합물 (caepensin, fraxidin, 1-eicosanol)에서 높은 활성 억제효과를 가지는 것을 알 수가 있었다 (Fig. 1). 생열귀는 민간에서 식용으로 쓰이며, 뿌리와 열매는 건위이기, 양혈조경, 소화불량, 기대복사, 위통, 월경부조 등의 치료에 사용하는 유용한 약용 식물로서 보고하고 있다.<sup>21)</sup> 생열귀 열매는 ascorbic acid (344~911 mg/100 g)가 레몬보다 10~30배 가량이나 높고, 당근보다 β-carotene (208~286 mg/100 g)이 8~10배 가량 높다는 연구결과가 보고 되었는데,<sup>22)</sup> 우리는 생열귀 잎, 줄기, 열매, 뿌리의 추출물을 가지고 실험을 수행하였다. 이 중에서 뿌리와 열매부분에서 강한 NF-κB 활성화 억제 작용을 확인할 수가 있었다. 따라서 전에 보고된 결과와 유사하게 생열귀의 뿌리와 열매부분에서 활성 물질이 다량으로 함유 되었을 것으로 생각한다. 또한, 황기,<sup>23)</sup> 노루궁둥이버섯의 메타놀 추출물에서도 전반적인 억제 작용을 확인할 수가 있었다 (Fig. 2).

**결 론**

인간피부에서 자외선에 의한 NF-κB 활성화에 어떠한 영향을 미치는지를 측정하기 위해서 각질 형성 세포에 메탄올 생약 추출물을 처리한 후, 형광측정법을 이용하여 NF-κB 활성도를 측정하여 다음과 같은 결과를 얻었다. 여러 가지 종류의 생약 추출물들이 높은 NF-κB 저해활성을 가지는 것으로 나타내었다. 그 중에서도 가시오가피의 추출물이 제일 높은 활성저해효과를 가지고 있었고, 이러한 가시오가피의 높은 활성은 자외선에 의해 생성된 라디칼의 소거작용에 기인하는 것으로 생각되어진다. 다음으로 생열귀 식물의 서로 다른 부위의 추출물에 대한 NF-κB 활성화에 어떠한 영향을 미치는지를 측정해 본 결과 뿌리와 열매 부위에서 아주 강한 활성억제효과를 보였다. 이로서 뿌리와 열매에서 라디칼 소거작용 성분이 대량으로 함유되었을 것으로 생각이 되어진다. 이러한 효과는 자외선에 의해서 증가되는 NF-κB 활성을 억제함으로써 피부에서 유도되는 melanotrophic factor를 억제하므로 과색소 침착을 억제하고 피부 질환을 치유하는데 사용될 수가 있을 것으로 사료되어진다. 따라서 각질 형성 세포에서 자외선에 의한 NF-κB의 활성화를 억제 시키는 생약을 탐색함으로써 초기의 작용기전을 밝혀내고 NF-κB 활성화에 따른 과색소 침착이나 피부염증을 예방하는 생약을 찾을 수 있을 것으로 판단된다. 이러한

결과로부터 천연물로부터 피부질환 치료제 및 미백제 개발을 수행하는데 있어서 유용한 정보를 제공할 것으로 사료되어진다.

### 감사의 말씀

본 연구는 보건복지부 천연물신약개발사업(01-PJ2-PG6-01NA01-002)의 지원으로 수행되었으며 이에 감사 드립니다.

### 인용문헌

- Aberdam, E., Romero, C. and Ortonne, J.P. (1993). Repeated UVB irradiations do not have the same potential to promote stimulation of melanogenesis in cultured normal human melanocytes. *J. Cell. Sci.* **106**(Pt 4), 1015-1022.
- Ramirez-Bosca, A., Bernd, A., Werner, R., Dold, K. and Holzmann, H. (1992). Effect of the dose of ultraviolet radiation on the pigment formation by human melanocytes in vitro. *Arch. Dermatol. Res.* **284**(6): 358-362.
- Seiberg, M., Paine, C., Sharlow, E., Andrade-Gordon, P., Costanzo, M., Eisinger, M. and Shapiro, S.S. (2000). The protease-activated receptor 2 regulates pigmentation via keratinocyte-melanocyte interactions. *Exp. Cell. Res.* **254**(1): 25-32.
- Donatien, P., Surleve-Bazeille, J.E., Thody, A.J. and Taieb, A. (1993). Growth and differentiation of normal human melanocytes in a TPA-free, cholera toxin-free, low-serum medium and influence of keratinocytes. *Arch. Dermatol. Res.* **285**(7) 385-392.
- Saliou, C., Kitazawa, M., McLaughlin, L., Yang, J.P., Lodge, J.K., Tetsuka, T., Iwasaki, K., Cillard, J., Okamoto, T. and Packer, L. (1999). Antioxidants modulate acute solar ultraviolet radiation-induced NF-kappa-B activation in a human keratinocyte cell line. *Free. Radic. Biol. Med.* **26**(1-2): 174-183.
- Baeuerle, P.A. and Henkel, T. (1994). Function and activation of NF-kappa B in the immune system. *Annu. Rev. Immunol.* **12**: 141-179.
- Baeuerle, P.A. and Baichwal, V.R. (1997). NF-kappa B as a frequent target for immunosuppressive and anti-inflammatory molecules. *Adv. Immunol.* **65**: 111-137.
- Wulczyn, F.G., Krappmann, D. and Scheidereit, C. (1996). The NF-kappa B/Rel and I kappa B gene families: mediators of immune response and inflammation. *J. Mol. Med.* **74**(12): 749-769.
- Auphan, N., DiDonato, J.A., Rosette, C., Helmsberg, A. and Karin, M. (1995). Immunosuppression by glucocorticoids: inhibition of NF-kappa B activity through induction of I kappa B synthesis. *Science* **270**(5234): 286-290.
- Baldwin, A.S., Jr. (1996). The NF-kappa B and I kappa B proteins: new discoveries and insights. *Annu. Rev. Immunol.* **14**: 649-683.
- Birchall, N., Orlow, S.J., Kupper, T. and Pawelek, J. (1991). Interactions between ultraviolet light and interleukin-1 on MSH binding in both mouse melanoma and human squamous carcinoma cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **175**(3): 839-845.
- Wintzen, M., Yaar, M., Burbach, J.P. and Gilchrist, B.A. (1996). Proopiomelanocortin gene product regulation in keratinocytes. *J. Invest. Dermatol.* **106**(4): 673-678.
- Kadono, S., Manaka, I., Kawashima, M., Kobayashi, T. and Imokawa, G. (2001). The role of the epidermal endothelin cascade in the hyperpigmentation mechanism of lentigo senilis. *J. Invest. Dermatol.* **116**(4): 571-577.
- Gilchrist, B.A., Park, H.Y., Eller, M.S. and Yaar, M. (1996). Mechanisms of ultraviolet light-induced pigmentation. *Photochem. Photobiol.* **63**(1): 1-10.
- Moon, K.Y., Ahn, K.S., Lee, J. and Kim, Y.S. (2001). Kojic acid, a potential inhibitor of NF-kappaB activation in transfectant human HaCaT and SCC-13 cells. *Arch. Pharm. Res.* **24**(4): 307-311.
- Moon, K.Y., Hahn, B.S., Lee, J. and Kim, Y.S. (2001). A cell-based assay system for monitoring NF-kappaB activity in human HaCat transfectant cells. *Anal. Biochem.* **292**(1): 17-21.
- Ahn, K.S., Moon, K.Y., Lee, J. and Kim, Y.S. (2003). Downregulation of NF-kB activation in human keratinocytes by melanogenic inhibitors. *J. Derm. Sci.* **31**: 193-201.
- Chung, J. H., Youn, S. H. and Koh, W. S. (1996). Ultraviolet B irradiation-enhanced interleukin (IL)-6 production and mRNA expression are mediated by IL-1 alpha in cultured human keratinocytes. *J. Invest. Dermatol.* **106**: 715-720.
- Boukamp, P., Petrussevska, R. T., Breitkreutz, D., Hornung, J., Markham, A. and Fusenig, N. E. (1998). Normal keratinization in a spontaneously immortalized aneuploid human keratinocyte cell line. *J. Cell. Biol.* **106**(3): 761-771
- Na, M.K., An, R.B., Lee, S.M., Hong, N.D., Yoo, J.K., Lee, C.B., Kim, J.P. and Bae, K.H. (2001). Screening of crude drugs for antioxidative activity. *Kor. J. Pharmacogn.* **32**(2): 108-115.
- 육창수(1989). 원색한국약용식물도감, 272, 아카데미서적, 서울
- 신국현, 정한숙, 조선행(1995). 생열귀나무 열매의 비타민 함량. *한국약용 작물학회지*, **3**: 21-24.
- 우원홍, 김정훈, 문연자, 이성원, 이승연, 박정숙(2002). 황기 부탄을 분획물이 생위의 세포성 면역기능에 미치는 영향. *약학회지*, **46**(1): 52-57.

(2003년 5월 15일 접수)