

자외선 B를 조사한 마우스 표피멜라닌세포 변화에 대한 홍삼의 효과

이해준* · 김세라* · 김중선* · 문창종* · 김종춘* · 배춘식* · 장종식** · 조성기*** · 김성호*,#

*전남대학교 수의과대학, **상주대학교 축산학과, ***한국원자력연구소 방사선연구원

(2006년 10월 9일 접수, 2006년 12월 11일 수리)

The Effect of Red Ginseng on Epidermal Melanocytes in Ultraviolet B-irradiated Mice

Hae-June Lee*, Se-Ra Kim*, Joong-Sun Kim*, Changjong Moon*, Jong-Choon Kim*,
Chun-Sik Bae*, Jong-Sik Jang**, Sung-Kee Jo*** and Sung-Ho Kim*,#

*College of Veterinary Medicine, Chonnam National University, Gwangju 500-757, Korea

**Department of Animal Science, Sangju National University, Sangju 742-711, Korea

***Advanced Radiation Technology Institute, KAERI, Jeongeup 580-185, Korea

(Received October 9, 2006; Accepted December 11, 2006)

Abstract : We induced the activation of melanocytes in the epidermis of C57BL/6 mice by ultraviolet B (UVB) irradiation and observed the effect of red ginseng (RG) on the formation, and decrease of UVB-induced epidermal melanocytes. C57BL/6 mice were irradiated by UVB 80 mJ/cm² (0.5 mW/sec) daily for 7 days, and RG 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/mm², 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 RG 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 applied group after irradiation with RG at 3rd and 6th weeks after irradiation. The present study suggests the RG as inhibitor of UVB-induced pigmentation and depigmenting agent.

Key words : ultraviolet, melanocyte, red ginseng

서 론

멜라닌은 자연계에 널리 분포하는 페놀류의 생체고분자 물질로 물과 대부분의 유기용매에 녹지 않으며, 화학적으로는 극히 비활성을 나타낸다. 검은 색소와 단백질의 복합체이며 사람의 머리카락과 피부색을 이루는 색소중 하나로 그 양이 많으면 피부색이 황갈색에서 흑갈색을 띠고, 적을수록 색이 연해진다.¹⁾ 멜라닌은 세포소기관인 리보소체에서 tyrosinase라는 효소의 생합성에서 합성되기 시작한다. 표피의 기저층에

존재하는 멜라닌세포에서 아미노산의 일종인 tyrosine이 tyrosinase를 주효소로 하는 효소의 작용으로 멜라닌이 합성되어 멜라노좀 과립을 형성하고, 생성된 멜라닌은 각질형성세포로 이동되어 자외선 등에 의한 피부의 노화나 일광각화증을 억제하여 피부를 보호하는 긍정적인 기능을 가지고 있는 반면에, 과잉생산에 의한 피부의 색소침착 및 멜라닌 전구물질들에 의한 독성으로 세포사멸을 촉진하는 부정적인 기능을 동시에 가지고 있다.²⁻⁴⁾

멜라닌 색소 생산에 관여하는 인자로는 tyrosinase 이외에도 각종 prostaglandin류, interferon, melanocyte stimulating hormone(MSH), vitamin D3, histamin, gene expression에 관여하는 인자 등이 보고되었다.⁵⁻¹⁰⁾ 멜라닌 생성 억제 물질의

#본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
(전화) 82-62-530-2837; (팩스) 82-62-530-2841
(E-mail) shokim@chonnam.ac.kr

탐색법으로는 tyrosinase 활성저해실험, 배양색소세포를 이용한 실험, 실험동물에서의 생체시험, 사람피부를 대상으로 한 실험 등이 실시되고 있으며, 그중 멜라닌 합성의 주효소인 tyrosinase 활성저해실험이 멜라닌 중합체 억제제 개발의 초기 단계에서 주로 채택되고 있다.¹¹⁾ 그러나 최근 멜라닌 생성이 tyrosinase에 의한 산화반응 뿐만 아니라, 여러 가지 복잡한 요인에 의해 진행된다는 것이 밝혀졌고, 또한 *in vitro*에서의 tyrosinase활성 억제물질이 melanoma cell line에서는 활성이 전혀 나타나지 않는 등의 문제로 멜라닌 생성을 종합적으로 억제하는 물질의 개발이 요구되고 있다.¹²⁾ 따라서 피부의 멜라닌 생성을 억제하거나 탈색 효과의 확인은 종래에 주로 이용되던 tyrosinase 활성 억제 확인법과 함께 상피조직에서의 멜라닌세포의 수적변화를 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, 반점 및 임신기 hyperpigmentation과 같은 과잉 색소증 치료에 국부적으로 사용되고 있다. 그러나 이를 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 저해활성을 나타내어 미백용 크림으로 개발되었으나, 세포 독성으로 인한 피부자극과 피부병을 유발하여 일부 국가에서만 사용이 허가되고 있는 실정이다.¹³⁾ Kojic acid는 현재 arbutin (hydroquinone- β -D-glucopyranoside), ascorbic 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 kojic acid의 낮은 저해활성, 사용중의 변색, 물질자체의 불안정성 등의 문제점이 제기되고 있다.^{13,14)} 그밖에 4-hydroxyindole, 4-hexylresorcinol, 2-mercapto-benzo-thiazole, cinamic acid, p-coumaric acid, salicyl-hydroxamic acid, tropolone, mimosine, methimazole, 2,3-naphthalenediol 등의 물질이 tyrosinase 저해활성을 나타내지만, 대부분의 물질이 암, 돌연변이 등을 유발시키거나, 강한 독성을 나타낸다고 보고^{15,16)}되어, 보다 안전한 천연물유래의 새로운 무독성 물질의 발굴이 필요하다.

본 연구에서는 전리방사선 장해 경감효과^{17,18)}가 있는 것으로 알려져 있으나 UV에 의한 멜라닌세포 변화에 대한 연구가 극히 미미한 홍삼의 UV에 의한 멜라닌세포 형성 억제 및 형성된 멜라닌세포의 감소 효과를 표피조직에서 직접 관찰 측정하였다.

재료 및 방법

실험동물

미국NIH에서 분양받아 원자력의학원에서 사육한 7-8주령의 C57BL/6N 마우스를 사용하였고, 각 실험에서 6마리를 하나의 실험군으로 적용하였다. 동물의 사육은 온도 $22\pm 2^{\circ}\text{C}$, 상대습도 $50\pm 10\%$, 조명시간은 12시간 (오전 8시 점등-오후 8시 소동) 및 조도 200-300 lux로 설정된 시설에서 수행하였다. 순화기간을 거쳐 polycarbonate 사육상자에 3마리씩 수용하였고 실험동물용 고형사료 (삼양사료, 원주)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 취급하였다.

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 등쪽면에 매일 오전 자외선 B를 $80 \text{ mJ/cm}^2(0.5 \text{ mW/sec})$ 씩 7일 동안 조사하였다.

홍삼 시료 및 투여

홍삼시료는 KT&G에서 제조한 홍삼정을 사용하였다. 홍삼정을 동결건조하여 분말화 하였으며, 멜라닌세포 형성 억제 실험에서는 복강내 주사군의 경우 체중 kg당 25 mg을 최초 UV 조사 전 12시간에 투여하고 이 후 격일로 동일 용량을 각 UV 조사전 12시간에 투여하였으며, 피부도포군의 경우는 연고기제 (한국콜마 주식회사)에 홍삼을 0.2%로 혼합 제조하여 최초 UV 조사 전 24시간과 15분에 마우스 귀등쪽 피부에 도포하고 이 후 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 복강내 주사군의 경우 최종 UV 조사 후 30분, 48시간, 96시간 및 144시간에 투여하였고, 피부도포는 최종 UV 조사 후 15분 및 매일 1회씩 부검 시까지 도포하였다.

현미경적 검사 및 성적처리

멜라닌세포 형성 억제 실험에서는 최종 UV 조사 후 24시간에, 형성된 멜라닌세포의 감소 효과 실험에서는 최종 UV 조사 후 3주 및 6주에 마우스를 경부탈구 방법으로 희생시켰

다. 마우스의 양쪽 귀를 등쪽과 배쪽 피부로 분리한 후 등쪽의 표피쪽이 테이프의 접착면을 향하도록 투명 테이프에 표피를 부착시켰다. 37°C buffered EDTA 용액에서 2시간 동안 처리 후 겹자로 진피부분을 제거하여 표피를 분리한 후 조직을 생리식염수로 세척한 다음 4°C cacodylate buffered formaldehyde solution에 20분 동안 고정시켰다. 고정 후 0.1% levodihydroxyphenylalanine (L-DOPA)용액에 37°C에서 1시간, 그리고 용액을 바꾸어 2시간을 배양한 후 glycerol로 봉입하여 광학현미경으로 검증하였다. 현미경 100배 시야에서 눈금이 있는 렌즈로, 세포의 분포가 비교적 균일한 귀등쪽 중간부위에서 2시야를 측정하고 mm² 당 세포수로 환산하였다. 모든 성적의 분석은 Graph PAD In Plot program (GPIP, Graph PAD software, USA)을 사용하였다.

결 과

정상대조군에서 표피 mm² 당 약 11-16개의 DOPA 양성 멜라닌세포가 관찰되었으며, 자외선조사에 따라 멜라닌세포의 세포체가 커지고 가지돌기의 수와 길이도 증가하였으며 분지의 정도도 잘 발달된 양상을 보였다(Fig. 1).

멜라닌세포 형성 억제 실험에서는 평균치를 기준으로 복강내 주사군에서 21.8%, 피부도포군에서 24.3%의 유의성 있는 억제 효과가 관찰되었다 (Table 1).

형성된 멜라닌세포의 감소 효과 실험에서는 평균치를 기준으로 복강내 주사군의 경우 3주 및 6주에 각각 18.0%; 16.8%의 감소 효과가 관찰되었고, 피부도포군의 경우 3주에 11.6%, 6주에 12.0%의 감소 효과를 보였다(Table 2). 홍삼 투여 군에서는 세포의 가지돌기 형성도 미약하였다.



Fig. 1. Melanocytes morphology as seen under the light microscope of UVB irradiated skin. DOPA stain, x 400.

고 찰

UV 조사에 대해 멜라닌은 피부보호기능을 수행하지만 멜라닌의 과잉생산은 기미, 주근깨를 형성하고, 피부노화를 촉진하며, 피부암 발생에 관여하는 것으로 알려져 있다. 기존의 몇가지 멜라닌 생합성 저해제가 활성 및 안전성에 문제점을 가지고 있어 세포독성이 낮고 멜라닌 생합성 저해 활성이 높은 천연물유래의 멜라닌 생합성저해물질의 연구가 관심의 대상이 되고 있다. 현재까지 천연물에서 분리된 멜라닌 생성 억제 물질로는 감초에서 분리된 formononetin, glabrene, glabridin, glabrol, 누룩곰팡이(*Aspergillus oryzae*)의 이차대사 산물인 kojic acid, 우바우르시엽(Uvae Ursi Folium)의 arbutin, 상백피의 oxyresveratrol, dihydromoriin, artocarbene, 4-prenyloxyresveratrol 등이 알려져 있으며¹⁹⁻²²⁾, 최근 국내에서 대극과 식물²³⁾, 전호²⁴⁾, 홍경천²⁵⁾, 소목²⁶⁾ 등의 추출물에

Table 1. Effect of intraperitoneal injection or topical application of red ginseng (RG) on the formation of UVB-induced DOPA-positive epidermal melanocytes.

Experimental group	Number of DOPA-positive melanocytes per mm ² of epidermis (mean ± SD)
Normal control ^a	15.13 ± 10.32
Radiation control ^a	171.00 ± 27.30
RG (i.p.) ^a +radiation	133.75 ± 24.88*
Normal control ^b	14.40 ± 9.45
Radiation control ^b	95.90 ± 13.10
RG (topical) ^b +radiation	72.58 ± 8.31**

The C57BL/6 mice (n=6) were treated with UVB (80 mJ/cm²/day for 7days) and were sacrificed 24 hours later.

^aRG (25 mg/kg of body weight) or saline (vehicle) was intraperitoneally injected at 12 hours before first irradiation, and 12 hours before each irradiation every other day.

^bRG cream (0.2%) or cream base (vehicle) was topically treated at 24 hours and 15 minutes before first irradiation, and 15 minutes before each irradiation.

*p<0.05 as compared with radiation control group.

**p<0.01 as compared with radiation control group.

Table 2. Effect of RG on the decrease of DOPA-positive epidermal melanocyte number after UVB irradiation at 3rd and 6th week.

Experimental group	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
Radiation + RG (i.p.) ^a	333.13 ± 55.44*	272.38 ± 45.38
Normal control	12.57 ± 9.65	12.44 ± 10.26
Radiation control ^b	344.00 ± 33.75	259.50 ± 11.79
Radiation + RG (topical) ^b	304.00 ± 54.41	228.25 ± 11.24**

The C57BL/6 mice (n=6) were treated with UVB (80 mJ/cm²/day for 7days) and were sacrificed 3 and 6 weeks later.

^aRG (25 mg/kg of body weight) or saline (vehicle) was given i.p. at 30 minutes, 48, 96 and 144 hours after last irradiation.

^bRG cream (0.2 % in cream base) or cream base (vehicle) was topically treated per day for 3 and 6 weeks after last irradiation.

*p<0.05 as compared with radiation control group.

**p<0.01 as compared with radiation control group.

대한 연구가 보고되었다.

UVB 조사 후 발생하는 표피내 멜라닌 세포수의 증가는 활동성 멜라닌세포의 활성화, 멜라닌세포의 분열과 이동, 줄기 세포에서의 기원, 표피내 다른 수지상세포에서의 변화 등과 관련된다고 보고되어 있다.^{27,28)} C57BL 마우스에서 출생시 체간에 존재하던 멜라닌세포는 생후 12일경 소실되나, 귀, 발바닥, 꼬리 부위에서는 정상적으로 활동성 멜라닌세포가 성년까지 남아있다. 귀등쪽표피내 멜라닌세포는 불균등분포를 하고 있으며 상부 변연부는 세포수가 많은 반면 하부 기저부로 갈수록 세포수가 감소한다.^{29,30)} 따라서 본 실험에서는 부위에 따른 세포수의 차이를 감안하여 세포의 분포가 비교적 균일한 귀등쪽 중간부위에서 수를 측정하였다. 본 실험에서 관찰된 바와 같이 정상적으로 활동성 멜라닌세포가 존재하는 귀등쪽 표피에서의 수적 증가는 주로 기존하는 멜라닌세포의 증기에 기인할 것으로 사료되나, C57BL 마우스의 체간과 같이 정상적으로 활동성 멜라닌세포가 존재하지 않는 부위에서도 UV 조사에 의해 양성 멜라닌세포가 증가한다는 보고³¹⁾가 있어 비활동성 멜라닌세포의 활성화나 전구세포에서의 기원 등도 배제할 수 없으며 이와 같은 복합적 요인에 대한 연구가 필요할 것으로 생각된다.

홍삼은 6년근 인삼을 증기 열처리 후 건조한 제품으로, 뇌졸중,³²⁾ 간손상,³³⁾ 발기부전,³⁴⁾ 암전이,³⁵⁾ 율혈성 심부전³⁶⁾ 및 암예방³⁷⁾ 등에 효과를 나타내며, 사포닌 성분이 중국 또는 일본에서 가공된 제품에 비하여 한국 홍삼이 가장 많이 함유되어 있고,³⁸⁾ 혈액순환 개선효과, 항혈전효과, 섬유소 용해작용, 세망내피계세포의 탐식능 증강 및 노화방지 효과가 백삼에 비하여 우수하다고 보고³⁹⁾되고 있다. 피부에 대한 인삼의 효과는 전리 방사선에 의한 텔루머니 세포에서 apoptosis의 발생을 억제한다는 보고⁴⁰⁾와 최근 시험관내 시험에서 인삼이 배양 표피세포의 apoptosis 발생을 억제한다는 보고⁴¹⁾가 있으며,

B16 melanoma 세포주에 대한 연구에서 세포증식의 억제와 tyrosinase 활성의 감소가 보고⁴²⁾되었으나 생체 피부에서 UVB에 의한 멜라닌세포의 변화에 대한 형태학적 연구는 전무한 실정이다.

본 연구에서 UV 조사전 홍삼투여에 의한 멜라닌세포 형성 억제는 복강내 주사군에서 강한 억제 효과를 나타냈으며, 피부도포군에서도 유의성 있는 효과가 관찰되었다. UV조사에 의해 세포수가 증가된 마우스에 홍삼을 적용하여 세포수의 감소 유도효과를 확인한 바 복강내 투여군에서는 3주에, 피부도포군에서는 6주에 유의성 있는 감소효과가 관찰되었다. 본 연구의 결과에서 복강내 투여군에 비하여 피부도포군의 경우 UV조사 및 홍삼투여군 공히 상대적으로 낮은 멜라닌세포 수치를 나타낸 것은 연고기재의 도포에 의한 약간의 물리적 차단 효과가 관계된 것으로 사료된다. UV에 의한 피부손상은 일부 물리적 작용을 포함하나 대부분 활성산소에 의한 DNA 손상이 주원인^{43,44)}으로 작용한다. 따라서 본 연구의 결과 RG의 효과는 항산화작용⁴⁵⁾에 의한 효과로 추측되나 이에 대한 추가 연구가 요구된다. 본 연구의 결과는 RG는 물론 기타 인삼제품에서도 확인된 바 없는 멜라닌 색소 형성 억제 및 형성된 멜라닌 색소의 감소 효과에 대한 최초의 보고로서, 멜라닌 침착 방지 및 피부미백제로서의 개발 가능성도 제시하였다. 이는 인삼의 피부 장해 연구에 기초자료가 될 것이며 추후 생리활성 및 유효성분에 대한 보다 많은 연구가 계속되어야 할 것이다.

감사의 말씀

이 연구는 과학기술부 시행 원자력연구개발사업 연구비지원에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

인용문헌

1. Bell, A.A. and Weeler, M.H. : Biosynthesis and function of fungal melanin. *Ann. Rev. Phytopathol.* **24**, 411-451 (1986).
2. Weixiong, L. and Helene, Z.H. : Induced melanin reduces mutations and killing in mouse melanoma. *Phytochem. Phytobiol.* **65**, 480-484 (1997).
3. Kaufman, R.J. : Vectors used for expression in mammalian cells. *Meth. In. Enzymol.* **205**, 87-92 (1991).
4. Kameyama, K., Takemura, T., Hamada, Y., Sakai, C., Konodoh, S., Nishiyama, S., Urabe, K. and Hearing, V.J. : Pigment production in murine melanoma cells is regulated by tyrosinase, tyrosinase-related protein 1 (TRP1), DOPAchrome tautomerase (TRP2), and a melanogenic inhibitor. *J. Invest. Dermatol.* **100**, 126-131 (1993).
5. Hearing, V.J. and Jimenez, M. : Mammalian tyrosinase-the critical regulatory control point in melanocyte pigmentation. *Int. J. Biochem.* **19**, 1141-1147 (1987).
6. Kreiner, P.W., Gold, C.J., Keirns, J.J., Brock, W.A. and Bitensky, M.W. : Hormonal control of melanocytes: MSH-sensitive adenyl cyclase in the Cloudman melanoma. *Yale J. Biol. Med.* **46**, 583-591 (1973).
7. Giacomini, P., Imbert, L., Aguzzi, A., Fisher, P.B., Trinchieri, G. and Ferrone, S. : Immunochemical analysis of the modulation of human melanoma-associated antigens by DNA recombinant immune interferon. *J. Immunol.* **135**, 2887-2894 (1985).
8. Aroca, P., Urabe, K., Kobayashi, T., Tsukamoto, K. and Hearing, V.J. : Melanin biosynthesis patterns following hormonal stimulation. *J. Biol. Chem.* **268**, 25650-25655 (1993).
9. Tomita, Y., Fukushima, M. and Tagami, H. : Stimulation of melanogenesis by cholecalciferol in cultured human melanocytes : a possible mechanism underlying pigmentation after ultraviolet irradiation. *Tohoku J. Exp. Med.* **149**, 451-452 (1986).
10. Ando, S., Ando, O., Suemoto, Y. and Mishima, Y. : Tyrosinase gene transcription and its control by melanogenic inhibitors. *J. Invest. Dermatol.* **100**, 150S-155S (1993).
11. Laskin, J.D. and Piccinini, L.A. : Tyrosinase isozyme heterogeneity in differentiating B16/C3 melanoma. *J. Biol. Chem.* **261**, 16626-16635 (1986).
12. Naeyaert, J.M., Eller, M., Gordon, P.R., Park, H.Y. and Gilchrist, B.A. : Pigment content of cultured human melanocytes does not correlate with tyrosinase message level. *Br. J. Dermatol.* **125**, 297-303 (1991).
13. Maeda, K. and Fukada, M. : In vivo effectiveness of several whitening cosmetic components in human melanocytes. *J. Soc. Cosmet. Chem.* **42**, 361-368 (1991).
14. 이충환, 고영희 : 멜라닌 생합성 저해물질의 탐색. *생물산업* **9**, 32-35 (1996).
15. Dawley, R.M. and Flurkey, W.H. : 4-hexylresocinol, a potent inhibitor of mushroom tyrosinase. *J. Food Sci.* **58**, 609-610 (1993).
16. Tomita, K., Oda, N., Ohbayashi, M., Kamei, H., Miyaki, T. and Oki, T. : A new screening method for melanin biosynthesis inhibitors using *Streptomyces bikiniensis*. *J. Antibiot. (Tokyo)* **43**, 1601-1605 (1990).
17. Attele, A.S., Wu, J.A. and Yuan, C.S. : Ginseng pharmacology: multiple constituents and multiple actions. *Biochem. Pharmacol.* **58**, 1685-1693 (1999).
18. Shibata, S. : Chemistry and cancer preventing activities of ginseng saponins and some related triterpenoid compounds. *J. Korean. Med. Sci.* **16**, S28-37 (2001).
19. Nerya, O., Vaya, J., Musa, R., Israel, S., Ben-Arie, R. and Tamir, S. : Glabrene and isoliquiritigenin as tyrosinase inhibitors from licorice roots. *J. Agric. Food Chem.* **51**, 1201-1207 (2003).
20. Kahn, V. : Effect of kojic acid on the oxidation of DL-DOPA, norepinephrine, and dopamine by mushroom tyrosinase. *Pigment Cell Res.* **8**, 234-240 (1995).
21. Chakraborty, A.K., Funasaka, Y., Komoto, M. and Ichihashi, M. : Effect of arbutin on melanogenic proteins in human melanocytes. *Pigment Cell Res.* **11**, 206-212 (1998).
22. Shin, N.H., Ryu, S.Y., Choi, E.J., Kang, S.H., Chang, I.M., Min, K.R. and Kim, Y. : Oxyresveratrol as the potent inhibitor on dopa oxidase activity of mushroom tyrosinase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **243**, 801-803 (1998).
23. 김정아, 최지영, 손애랑, 박성희, 허광화, 이종구, 오인석, 김진준, 장현숙, 정시령, 장태수, 이승호 : 대곡과 식물로부터 분리한 천연폴리페놀의 멜라닌 생성 억제효과. *생약학회지* **35**, 157-163 (2004).
24. 김청택, 김원찬, 진무현, 김호정, 강상진, 강세훈, 정민환, 임영희 : 전호의 멜라닌 생성억제 물질. *생약학회지* **33**, 395-398 (2002).
25. 최두영, 안소영, 이승기, 한정선, 김은철, 이향복, 신정현, 김은기, 노경호 : 홍경천에 포함된 미백성분의 분리 및 성능검사. *한국생물공학회지* **19**, 169-173 (2004).
26. 천현자, 황상구, 이진선, 백승화, 전명훈, 우원홍 : 소목의 부탄을 추출물에 의한 Melan-a 세포의 멜라닌생성 억제효과. *생약학회지* **33**, 130-136 (2002).
27. 김유찬, 윤재일 : 자외선을 조사한 C57BL Mice에서 자외선 조사부 및 차단부 표피내 멜라닌 세포의 변화에 관한 연구. *대한피부과학회지* **26**, 283-291 (1988).
28. Slominski, A., Tobin, D.J., Shibahara, S. and Wortsman, J. : Melanin pigmentation in mammalian skin and its hormonal regulation. *Physiol. Rev.* **84**, 1155-1228 (2004).
29. Gerson, D.E. and Szabo, G. : Effect of single gene substitution on the melanocyte system of the C57BL mouse:

- quantitative and qualitative histology. *Nature* **218**, 381-382 (1968).
30. Reynolds, J. : The epidermal melanocytes of mice. *J. Anat.* **88**, 45-58 (1954).
 31. Jimbow, K. and 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.* **78**, 108-115 (1982).
 32. Lim, J.H., Wen, T.C., Matsuda, S., Tanaka, J., Maeda, N., Peng, H., Aburaya, J., Ishihara, K. and Sakanaka, M. : Protection of ischemic hippocampal neurons by ginsenoside Rb1, a main ingredient of ginseng root. *Neurosci. Res.* **28**, 191-200 (1997).
 33. Jeong, T.C., Kim, H.J., Park, J.I., Ha, C.S., Park, J.D., Kim, S.I. and Roh, J.K. : Protective effects of red ginseng saponins against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in Sprague Dawley rats. *Planta Med.* **63**, 136-140 (1997).
 34. Choi, H.K., Seong, D.H. and Rha, K.H. : Clinical efficacy of Korean red ginseng for erectile dysfunction. *Int. J. Impot. Res.* **7**, 181-186 (1995).
 35. Mochizuki, M., Yoo, Y.C., Matsuzawa, K., Sato, K., Saiki, I., Tono-oka, S., Samukawa, K. and Azuma, I. : Inhibitory effect of tumor metastasis in mice by saponins, ginsenoside-Rb2, 20(R)- and 20(S)-ginsenoside-Rg3, of red ginseng. *Biol. Pharm. Bull.* **18**, 1197-1202 (1995).
 36. Ding, D.Z., Shen, T.K. and Cui, Y.Z. : Effects of red ginseng on the congestive heart failure and its mechanism. *Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi* **15**, 325-327 (1995).
 37. Yun, T.K. and Choi, S.Y. : Preventive effect of ginseng intake against various human cancers: a case-control study on 1987 pairs. *Cancer Epidemiol. Biomarkers. Prev.* **4**, 401-408 (1995).
 38. Samukawa, K., Yamashita, H., Matsuda, H. and Kubo, M. : Simultaneous analysis of ginsenosides of various ginseng radix by HPLC. *Yakugaku Zasshi* **115**, 241-249 (1995).
 39. Li, X., Guo, R. and Li, L. : Pharmacological variations of Panax ginseng C.A. Meyer during processing. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi* **16**, 3-7 (1991).
 40. Kim, S.H., Jeong, K.S., Ryu, S.Y. and Kim, T.H. : *Panax ginseng* prevents apoptosis in hair follicles and accelerates recovery of hair medullary cells in irradiated mice. *In Vivo* **12**, 219-222 (1998).
 41. Hosono-Nishiyama, K., Matsumoto, T., Kiyohara, H., Nishizawa, A., Atsumi, T. and Yamada, H. : Suppression of Fas-mediated apoptosis of keratinocyte cells by chikusetsu saponins isolated from the roots of *Panax japonicus*. *Planta Med.* **72**, 193-198 (2006).
 42. Im, S.J., Kim, K.N., Yun, Y.G., Lee, J.C., Mun, Y.J., Kim, J.H. and Woo, W.H. : Effect of Radix Ginseng and Radix Trichosanthis on the melanogenesis. *Biol. Pharm. Bull.* **26**, 849-853 (2003).
 43. Black, H.S. : Reassessment of a free radical theory of cancer with emphasis on ultraviolet carcinogenesis. *Integr. Cancer Ther.* **3**, 279-293 (2004).
 44. Ichihashi, M., Ueda, M., Budiyanto, A., Bito, T., Oka, M., Fukunaga, M., Tsuru, K. and Horikawa, T. : UV-induced skin damage. *Toxicology* **189**, 21-39 (2003).
 45. Lee, T.K., Johnke, R.M., Allison, R.R., O'Brien, K.F. and Dobbs, L.J.Jr. : Radioprotective potential of ginseng. *Mutagenesis* **20**, 237-243 (2005).