

인체 피부세포의 공동배양계를 이용한 멜라닌 생합성 조절물질의 검색

김 문정, 장 동일, 신 의석*, 이 진선*, 노 민수*
*주식회사 태평양 기술연구원 피부과학연구소

Evaluation of Natural Extracts for Their Anti-melanogenicity Using Human Keratinocyte-Melanocyte Co-culture System

Moonjeong Kim, Dongil Jang, Euseok Shin*, Jinseon Lee*, Minsoo Noh*
*Skin Research Institute, Pacific R&D Center

요 약

Keratinocyte 는 피부 표피층의 대부분을 차지하고 있으며, 세포간 신호전달물질 cytokine을 생성분비함으로써 주위의 다른 피부세포의 활성 및 분화능력을 조절한다. 특히 melanocyte 한 세포는 keratinocyte 30 여 세포와 직접적으로 접촉하고 있으며 활발한 신호 전달을 통하여 피부생리의 동적평형 유지에 기여하고 있다. 본 연구에서는 실제 피부에서와 유사한 조건에서 keratinocyte 의 세포의 배출 신호물질인 cytokine 의 변화를 유도하는 물질이 melanocyte 의 피부색소형성과정에 기여하는 바를 평가하기 위하여 keratinocyte-melanocyte 의 공동배양계 실험조건과 아울러, UVB 조사에 의해 keratinocyte 로부터 유리되는 물질이 melanocyte를 자극하여 melanin 생합성 유도를 촉진하는 기본 실험 system 을 확립하였고, 가능성있는 천연추출물 원료, 즉, 신이, 강황등

의 melanin 생합성 억제능을 본 공동배양계에서 1차 평가한 후 소규모 임상실험에서 미백효능을 최종 평가하였다.

1. 서론

미백원료의 개발은 일반적으로 melanocyte 내의 tyrosine 이 일련의 산화환원반응을 거쳐 생합성되는 melanin을 피부내에서 감소시키기 위한 목적이다 (Nordlund et al., '92; Quevedo et al., '87). 피부내 색소함량을 줄이기 위한 목적을 달성하기 위해서는 여러 가지 접근이 가능하다. 이를테면, (1) 일차적으로 사용되는 비 세포생리적인 방법으로서 자외선 차단제의 사용으로부터 시작하여, (2) 이미 생성되어 표피의 keratinocyte 로 전달된 색소를 신속하게 exfoliation 시키는 방법, (3) 생합성된 melanin 이 melanosome 에 실려 keratinocyte 로 전달되는 단계를 차단하는 방법, (4) melanin 중 흑색을 띠는 eumelanin 보다는 밝은 노란색을 띠는 pheomelanin 이 더 효율적으로 생합성되도록 유도하는 방법, 혹은 (5) melanin 생합성의 속도결정 단계인 tyrosinase 활성을 억제하는 방법, (6) 그 효소의 mRNA 혹은 단백질 생합성을 억제하는 방법, 혹은 (7) 거슬러 올라가 melanocyte 의 세포막으로부터 tyrosinase 효소활성 및 생합성 촉진을 유도하는 신호전달을 차단하는 방법, (8) melanocyte 외부로부터 melanocyte 세포막으로의 신호전달 - 주로 cytokine 이나 hormone receptor를 통한 - 을 방해하는 방법이 있을 수 있는데 많은 경우, 한가지 이상의 방법을 병용하는 것이 통례이다. Melanocyte를 포함한 모든 세포는 외부와의 신호교환에 있어서 세포막상의 receptor를 이용하는데(Yada et al., '91; Nordlund et al., '86), 피부색소를 생성시키는 melanogenesis 과정은 정상 세포에서와 달리, 외부로부터의 불균형된 신호가 전달됨으로서 발생하는 것으로 추측된다. 이러한 예는 염증진행과정에서 발생하는 색소침착이(Rheins et al., '87) 염증이 해소되면 자연적으로 정상복귀되는 현상을 통하여 입증된다. 따라서, melanogenesis를 억제하기 위해서는 melanocyte 에 도달하는 여러 가지 melanogenic(Imokawa et al., '91) 혹은 antimelanogenic cytokine 들이 균형을 이룰 필요가 있게된다.

현실적으로 미백원료가 함유된 외용제제를 피부에 도포하여 미백효과를 얻고자 하는 경우, 그 원료물질은 피부표층의 keratinocyte를 피해 suprabasal layer 에 위치한

melanocyte 에 도달하던가, 그렇지 않으면 keratinocyte 에 일단 작용하여 그 세포생리를 변화시킨후 그로부터 발생하는 세포간 신호전달물질의 작용을 이용하여 melanocyte 의 melanogenesis 기능을 변형시키게 되는 것이다((Grenham et al., '96; Nordlund, et al., '88). 많은 수용성 향장원료들은 인체표피를 자유로 침투할 수 있는 것들이 아니므로, 후자와 같은 간접적인 방법으로 그 효과를 유도하는 것이 일반적이다.

따라서 본 연구에서는 (1) *in vivo* 에서의 이러한 신호전달을 실험실적으로 재현코자 keratinocyte 와 melanocyte를 독립적으로 배양한 후 다시 서로 접촉하지 않는 상태의 동일한 배양 시스템내에서 두 종류의 피부세포를 공동배양하였고, (2) UVB 나 천연추출물과 같은 세포생리 작용인자들을 keratinocyte 에 처리한 후 keratinocyte 로부터 배출되는 세포간 신호전달물질을 통하여 melanocyte 내 neomelanin 생합성 촉진과 억제에 어떠한 영향을 미치는가를 측정하였으며(Romero-Graillet et al., '96, '97; Swope et al., '71), 나아가 (3) 이러한 *in vitro* 결과가 인체 피부에서도 실증될 수 있는지 여부를 평가하여 보고자 하였다.

2. 실험재료 및 방법

2-1. Keratinocyte-melanocyte 공동배양계 확립

2-1-1. 인체 각질세포(keratinocyte)분리 및 배양

인체 각질세포는 신생아의 포피로부터 분리하였다 (Eisinger et al. 1982). 0.25% Trypsin을 처리하여 포피조직으로부터 epidermis를 분리한 다음, 7.5 mg/ml bovine pituitary extract, 0.1mg/ml human epidermal growth factor, 0.5 mg/ml hydrocortisone, 50 mg/ml gentamicin, 50 mg/ml amphotericin, 5 mg/mL insulin을 첨가한 KGM(Clonetics) 배지로 vortex하여 세포를 분리한 후, T75 flask에서 배양하였다.

2-1-2. 인체 색소세포(melanocyte)의 배양

인체 색소세포는 신생아의 포피로부터 분리하였다 (Eisinger et al. 1982). 0.25% Trypsin을 처리하여 포피조직으로부터 epidermis를 분리한 다음, 7.5 mg/ml bovine pituitary extract, 1 mg/ml human fibroblast growth factor, 10

mg/ml phorbol myristate acetate, 0.5 mg/ml hydrocortisone, 50 mg/ml gentamicin, 50 mg/ml amphotericin을 첨가한 MGM 배지로 vortex하여 세포를 분리한 후, T75 flask에서 배양하였다.

2-1-3. keratinocyte와 melanocyte 색소세포의 공동배양

실험을 위하여 배양한 keratinocyte가 5×10^5 이 되도록 filter에 binding시켜 배양하고, melanocyte도 5×10^5 이 되도록 6 well plate에 seeding하여 배양하였다. 실험에 앞서 24시간 전에 keratinocyte와 melanocyte의 공동배양 배지(KGM+(MGM-TPA-hydrocortisone))에서 배양하였다(Romero-Graillet et al.,1997).

2-2. UVB 조사 실험

Filter binding 한 keratinocyte의 media를 제거하고 PBS로 washing 한다. UVB 등을 미리 쬐 안정화시킨 다음, 30-50 mJ/cm² 를 keratinocyte위에 조사하였다. Keratinocyte에서 PBS를 제거하고 6 well안의 melanocyte위에 올리고 공동배양액으로 치환하였다. 실험시료도 이 단계에서 추가하였다.

2-3. 공동배양계에서 melanocyte 유래의 새로이 생합성된 melanin양 측정

Keratinocyte에 UVB 조사 후 ¹⁴C 또는 ³H로 표지된 L-DOPA나 Thiouracil을 0.5 mCi 포함한 배지에서 keratinocyte와 melanocyte를 공동배양하였다. 48시간 후 keratinocyte filter unit를 제거하고 melanocyte를 ice-cold PBS로 세척한 후 lysis buffer (0.1M phosphate buffer, 1% Triton X-100)로 lysis 하였다. Glass filter에 흡착시키고 incorporation된 isotope을 scintillation counter로 측정하여, 새로 합성된 melanin양을 대조군과 비교하였다. 일부는 덜어내어, protein 양을 BCA assay kit(Pierce)로 정량한 후 측정값을 normalize하였다.

2-4. 공동배양계에서 keratinocyte로부터 배출된 prostaglandin E₂ 및 cytokine 정량

천연물 검색시료 적정량을 처리한후, 배양기에서 16시간 배양한 다음, 상층액 50

ml 을 회수하여 유리된 prostaglandin E₂ 및 cytokine 10종, 즉, IL1a, IL2, IL4, IL5, IL6, IL8, IL10, IL15, GM-CSF (R&D systems), ET-1 (Cayman), NGF (Promega)양을 ELISA 방법으로 정량하였다.

2-5. 인공적인 인체피부 색소침착 및 미백 효능검사

건강한 12명의 남자를 대상으로 피검자의 윗팔뚝부위에 직경 1.5cm 의 구멍 6개가 뚫린 불투명 테이프를 부착한 뒤 각 피검자의 최소 홍반량의 1.5 - 2 배정도의 UVB를 2-3회에 걸쳐 조사하여 피부의 흑화를 유도한 1주일 후, 시험물질들을 도포하고 시간에 따라 사진촬영을 실시하였다. 생약제의 추출물은 표 1의 로션제형에 각각 1% 의 농도로 첨가하였으며, 이 로션을 하루에 아침, 저녁 2회씩 바르게 하였다.

표 1. 천연물추출물을 포함하는 임상실험용 제형 (성분, 중량 %)

밀납	4.0	
polysorbate	1.5	
sorbitan sesquioleate	0.5	
유동 paraffin	5.0	
squalane		5.0
caprylic/capric triglyceride	5.0	
glycerin		3.0
butylene glycol	3.0	
propylene glycol		3.0
carboxylvinyl polymer	0.1	
triethanolamine	0.2	
방부제	미량	
정제수	to 100	
생약추출물	1.0	

3. 결과 및 고찰

3-1. 인체각질세포에 대한 UV 조사 최적량

피부세포 공동배양계 (co-culture system) 에서 melanocyte의 neomelanin 생합성을 유도시키기위해 keratinocyte 에대한 UVB 조사 최적량의 확립을 목적으로. 다양한 조사량으로 UVB를 쬐인후 melanocyte와 공동배양하여 melanin 합성량의 변동을 추적하였다. Melanocyte는 UVB에 노출되지 않았음에도 불구하고 UVB에 노출된 keratinocyte에서 방출되는 물질에 의해 melanocyte 내 neomelanin 생합성이 증가하였다(그림 1). 30 mJ/cm² 의 UVB는 50 mJ/cm² 보다 일관성있게 생합성을 대조군 대비 150-200% 까지 증가시키고 있음이 관찰되었다.

3-2. 천연추출물이 공동배양계내 melanin 생합성에 미치는 영향

신이 (Magnolia Flos) 추출물이 UVB에 의해 keratinocyte에서 유리되는 신호에 영향을 주고, 그로 인하여 공동배양계내 melanocyte의 neomelanin 생합성에 미치는 영향을 확인하고자 하였다. 공동배양계의 melanocyte는 단독 배양계에서보다 공통적으로 neomelanin 생합성이 억제되고 있음이 관찰되었으며 (그림 2b), 공동배양 실험계에 신이 추출물을 첨가하였을 때 UVB에 의해 유도되어 keratinocyte에서 방출되는 신호물질에 의한 melanocyte 내 neomelanin 생합성이 대조군에 비해 감소되었다 (그림 2a, 2b). 공동배양계에서는 0.1 ppm 정도의 신이 추출물도 keratinocyte 의 UVB 조사에 의한 neomelanin 생합성 촉진을 효과적으로 억제하는 결과를 보였다 (그림 2b).

또한 다른 천연추출물, 즉 목향 (Saussureae Radix), 학슬 (Carpesii Herba), 강황(Curcumae Rhizoma) 등의 효과검증을 위하여 동일한 방법으로 실험을 수행하였다. 신이의 경우와 유사하게 UVB에 의해 유도되어 keratinocyte에서 방출되는 물질에 의한 melanocyte 내 neomelanin 생합성이 대조군에 비해 효과적으로 감소시킴이 관찰되었다 (그림 3a, 3b). 실험결과 해석에 있어서 주의를 요하는 것은 피부실험에 대한 개인적인 차이가 있는 것과 같이, 본 실험에 사용된 피부세포의 제공자 의존도 (donor dependency)도 유사하게 관찰되고 있었다. 즉 donor keratinocyte 에따라 UVB 혹은 천연추출물에 대한 민감도가 서로 다르게 나타나는 것이 흔하게 목격되었다 (그림 2b, 3b). 목향추출물은 그 자체로는 자극의 가능성이 있으나, UVB 조사후 neomelanin 생합성은 억제하는 경향을 보였다.

3-3. 천연추출물 혼합물이 공동배양계내 neomelanin 생합성에 미치는 영향 (I)

상기의 anti-melanogenic 천연추출물은 그 생물학적 효과가 서로 차이를 나타내는 것으로서, 함께 처리했을 때 상승효과를 제공할 수 있는 가능성을 타진하기 위해, 추출물의 복합처방이 UVB를 조사한 keratinocyte를 포함하는 공동배양계내 melanocyte의 neomelanin 생합성에 미치는 영향을 추적하였다. M1, M3, M5가 공동배양계내 neomelanin 생합성을 대조군에 비해 유의하게 감소시켰다. 동일한 성분비라도 농도가 높으면 neomelanin 생합성 억제효과가 감소하며 (M3, M4), 학술의 성분비율이 높거나 농도가 증가해도 유사한 효과가 관찰되었다 (M1, M2, M3).

항염증성 물질은 anti-melanogenic 성질을 띄고 있는 경우가 많다. 따라서, 각 천연추출물의 복합처방이 공동배양액 중에 배출되는 prostaglandin E₂ 를 통하여 궁극적으로 neomelanin 생합성에 영향을 미치는가를 추적하여 보았다(그림 4b). 학술의 성분비율이 증가하거나 농도가 높아지면 prostaglandin E₂의 양이 감소하는 것으로 나타났으나, 오히려 과량 함유하면, melanogenesis 를 유발하는 등(그림 4a), neomelanin 생합성감소와 prostaglandin E₂ 감소와는 별다른 상관성을 찾기 어려웠다.

3-4. 천연추출물 혼합물이 공동배양계내 neomelanin 생합성에 미치는 영향 (II)

고유의 황색으로 인한 착색 가능성의 부담은 있으나, 강황은 그림 3a 에서와 같이 anti-melanogenic 성질을 가지고 있으므로, 천연추출물 혼합물 시험에 사용하여 UVB를 조사한 keratinocyte를 포함하는 공동배양계내 melanocyte의 neomelanin 생합성 억제에 미치는 상승효과를 추적하고자 하였다. 실제로 공동배양계내 시료물질의 종류가 다양하여지므로 neomelanin 생합성억제능에 있어서 혼합물간의 변별력이 전체적으로 약화되는 결과가 나타났다(그림 5a). 좀 더 미세하게 분석할 경우, C5 는 그림 4 의 M1 과 유사한 성분비를 가지고 있어 이를 비교의 기준으로 사용한다면, 자극원인 추정물질인 목향을 제외시킨 C2, C4 의 경우, 강황이 첨가된 C2 의 효과가 학술까지 첨가된 C4 보다 neomelanin 생합성 억제효과가 나은 것으로 나타났다(그림 5a).

또한 앞서 3-2, 3-3 실험에서와 같이, 공동배양액내 prostaglandin E₂ 의 수준과

neomelanin 생합성 억제수준의 상관성이 뚜렷하지 않았다(그림 5a, 5b). 특히 C2, C3 를 처리한 경우, UVB에 의해 keratinocyte 로부터 방출되는 PGE₂ 양이 대조군에 비해 감소되므로 그들의 공통성분인 강황은 PGE₂를 매개로 하여 작용할 가능성을 시사하고 있다. 감초추출물 역시 UVB(+) 조건하에서 PGE₂의 수준을 상당히 낮추었다(그림 5b).

3-5. 공동배양계내 neomelanin 생합성과 배출 cytokine 의 관계

UVB에 의해 keratinocyte 로부터 배출되는 공동배양계내 10종의 cytokine 수준과 neomelanin 생합성 수준과의 상관성이 있는지 여부의 검증을 시도하였다 (표 2). 그 결과, IL2, IL4, NGF는 공동배양계내에서 검출되지 않았고, IL6, IL8 의 배출량이 상대적으로 많았으며 기타의 cytokine은 적은 양이 배출된 것으로 나타났다. Hydrocortisone 과 bovine pituitary extract 를 모두 제거한 media에 세포를 배양하면 neomelanin 생합성에 있어서 UVB 처리군과 비처리군과의 차이가 분명히 나타나지 않았으며, 추출물이 복합처리의 효과는 *in vitro* 에서 기대할 만한 수준의 분별력을 보여주지는 못하였다. 그러나, 신이(MF) 혹은 학슬(CH) 추출물 혹은 이들의 혼합물(C4) 에 의한 neomelanin 생합성저하는 IL-15, ET-1의 저하와 상관성이 있는 것으로 추정되었다.

3-6. 천연물 추출물의 소규모 임상실험

천연물 추출물의 실제 인체피부에서의 melanin 색소 저하효과를 검증하기 위해 건강한 남자를 대상으로 팔뚝부위에 각 피검자의 최소 홍반량의 1.5 - 2 배정도의 UVB 를 2-3회에 걸쳐 조사하여 피부의 흑화를 유도한 1주일 후, 시험물질들을 도포하고 시간에 따라 사진촬영을 실시하며 물질의 미백효과를 실증코자 하였다 (사진). 처리한 물질 들은 비처리군과 차별되게, 개인차는 있으나, 처치 12-20일후부터 색소침착부위의 경계선이 불분명하여지면서 25-45일이 지나면 대부분은 정상 피부색 가까이 회복되는 결과를 보였다. 처치물질 간의 피부색 정상화 속도는 역시 개인차에 의존하나, 천연물 혼합물이 일반적으로 우수한 것으로 나타났다.

4. 결론

정상적인 인체 피부세포의 유지배양 및 실험 양 확보를 위한 시간투여 및 고비용 발생으로 말미암아 공동배양계를 screening system 으로부터는 평가 system으로 사용하는 것이 바람직한 것으로 사료된다. 피부세포 제공자에 따라 UVB 및 천연추출물에 대한 민감도가 서로 다르게 나타나는 경우가 많아 궁극적으로 melanogenesis 정도에 큰 편차를 발생시키고 있는 것으로 추정되며, 이는 외부 물리화학적 자극에 반응하는 피부세포가 제공자 면역상태에 매우 의존하여, keratinocyte 의 cytokine 수준의 변동을 초래하기 때문인 것으로 판단되었다. 또한 세포수준의 실험결과가 임상실험결과와 완전히 일치하지는 않았다. 따라서 single donor 로부터의 세포를 사용하여 일련의 연관된 실험이 이루어져야 결과의 일관성이 향상될 것으로 판단된다.

천연혼합물을 이용하여 *in vitro* 에서 anti-melanogenesis 기능의 mechanism 을 cytokine 등 분자수준에서 추적하는 것은 용이하지 않으며, 상관성이 뚜렷한 특정 원인 cytokine 추적이 어려워, 경향성을 추적하는 것이 바람직할 것을 판단되었다. 그럼에도 불구하고, prostaglandin E₂ 보다는 IL-15 의 생성수준이 neomelanin 생합성 능력을 지시할 수 있는 지표 cytokine 의 하나가 될 수 있다는 가능성을 확보하였다.

많이 사용되는 천연추출물중의 하나인 감초추출물을 비롯하여 목향 및 학슬추출물은 neomelanin 생합성의 억제 기능이 있으나, 높은 농도에서 자극을 유발할 수 있는 가능성이 있는 물질로 판단되었다. 따라서, 신이가 neomelanin 생합성억제에 주도적인 역할을 하도록 하고, 목향과 학슬은 상대적으로 적은 농도/비율로 유지시키는 조성이 미백효과를 유도하는데 바람직한 것으로 보였다. 이러한 *in vitro* 실험결과를 바탕으로, 신이 추출물과 학슬, 강황을 적정비율로 배합한 경우, 임상실험에서 우수한 미백효과를 보였다.

본 연구는 보건의료기술연구개발사업 (관리번호 HMP-98-D-5-0049) 연구개발과제 "피부 신호전달을 이용한 미백제 개발" 의 산출물의 일부이며 본 내용의 일부는 제 17차 International Pigment Cell Conference (1999년 10월 30일 - 11월 3일, 일본, 나고야)에서

"Modulation of Melanin Neosynthesis By Plant Extracts in Human Keratinocyte-Melanocyte Co-Culture System" 의 제목으로 구두 발표되었음

참 고 문 헌

- Eisinger et al., Selective proliferation of normal human melanocytes *in vitro* in presence of phorbol ester and cholea toxin. Proc. Natl. Acad. Sci, 79: 2018-2022, 1982.
- Grenham et al., Epidermal and oral keratinocytes are induced to produce RANTES and IL-8 by cytokine stimulation. J Invest. Dermatol, 106: 661-666, 1996.
- Imokawa et al., Effects of endothelins on signal transduction and proliferation in human melanocytes, J. Biol. Chem, 266: 18352-18357, 1991.
- Kondo et al., IL-8 gene expression and production in human keratinocytes and their modulation by UVB. J Invest. Dermatol, 101: 690-694, 1993.
- Nordlund JJ: Biology of the pigment system. In: Moschella S, Hurley H(eds.) Dermatologic medicine and Surgery, Saunders Press, 1992.
- Nordlund JJ, Amornsiripanitch S, Rheins LA, Abdel-Malek ZA, Boissy RE, Bell M: Role of the melanocyte in epidermal inflammatory and immune responses, Pigment Cell Res. Suppl. 1:101-112, 1988.
- Nordlund JJ, Collins CE, Rheins LA: Prostaglandin E2 and D2 but not MSH stimulate the proliferation of pigment cells in the pinnal epidermis of the DBA2 mouse. J Invest. Dermatol. 86:433-437, 1986.
- Quevedo Jr WC, Fitzpatrick TB, Szabo G, Jimbow K: Biology of melanocyte. In: Fitzpatrick TB, Eisen AZ, Wolff K, Freedberg IM, Austen KF(eds). Dermatology in general medicine. McGraw-Hill, 1987, pp 225-250.
- Rheins LA, Collins CE, Nordlund JJ: Suppression of the cutaneous immune response following topical application of the prostaglandin PGE₂. Cell Immunol. 106:33-42, 1987.
- Romero-Graillet C, Aberdam E, Biagoli N, Massabni W, Ballotti R: UVB radiation acts through the NO and cGMP signal transduction pathway to stimulate melanogenesis in human melanocytes. J Biol. Chem. 271:28052-28056, 1996.
- Romero-Graillet C, Aberdam E, Clement M, Ortonne JP, Ballotti R: Nitric oxide produced by

ultraviolet-irradiated keratinocytes stimulates melanogenesis, J Clin. Invest. 99(4):635-42, 1997.

Swope VB, Abdel-Malek Z, Kassem LM, Nordlund JJ: Interleukin 1 α and 6 and tumor necrosis factor- α are paracrine inhibitors of human melanocyte proliferation and melanogenesis. J Invest. Dermatol. 96:180-185, 1991.

Yada Y, Higuichi K, Imokawa G: Effects of endothelin on signal transduction and proliferation in human melanocytes. J Biol. Chem. 266:18352-18357, 1991.

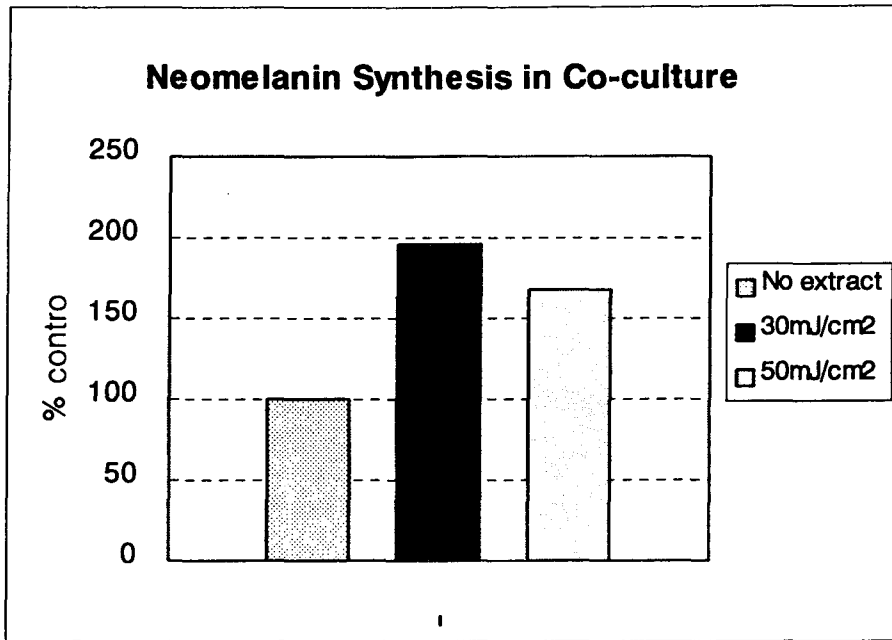


그림 1. Keratinocyte 에의 UVB 조사량에 따른 공동배양계에서의 neomelanin 생합성 유도효과

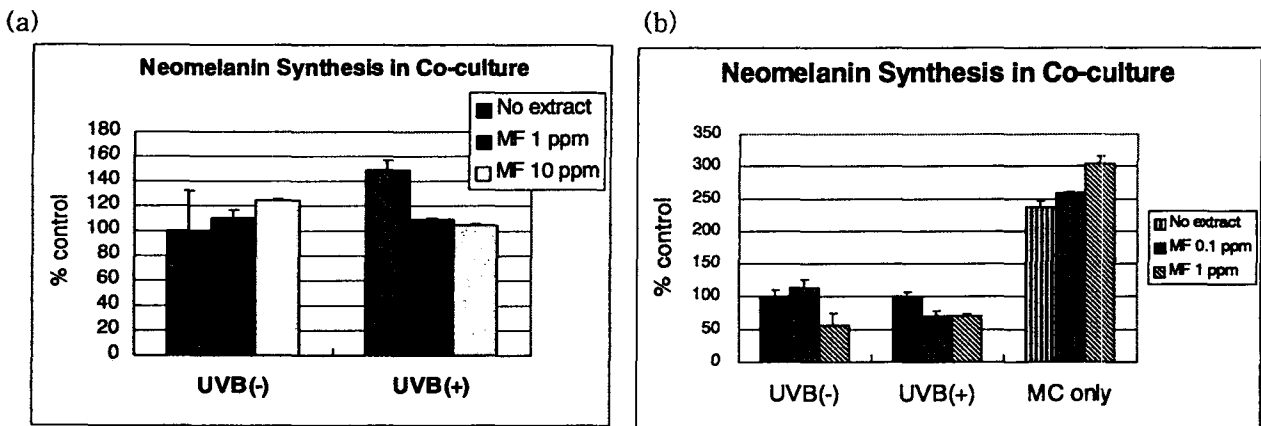
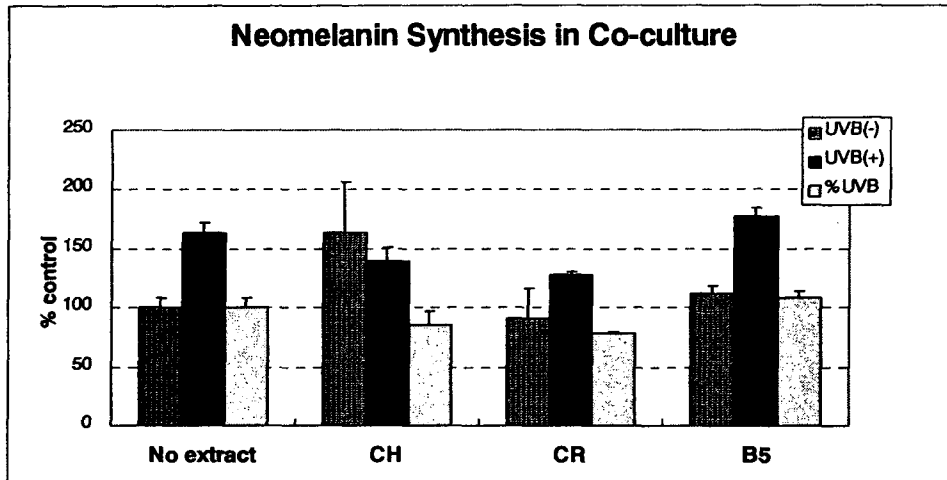


그림 2. 신이 (MF) 추출물의 공동배양계 및 단독배양계내 neomelanin 생합성 억제효과

UVB(-) 의 경우, 신이추출물 첨가시 neomelanin 생합성이 증가될 가능성도 있으며, UVB(-) 혹은 UVB(+) 에 의한 neomelanin 생합성이 세포제공자에 따라 차이가 불분명할 수 있음. Melanocyte only 의 단독배양 실험결과는 공동배양계의 결과와 상반될 수 있음

(a)



(b)

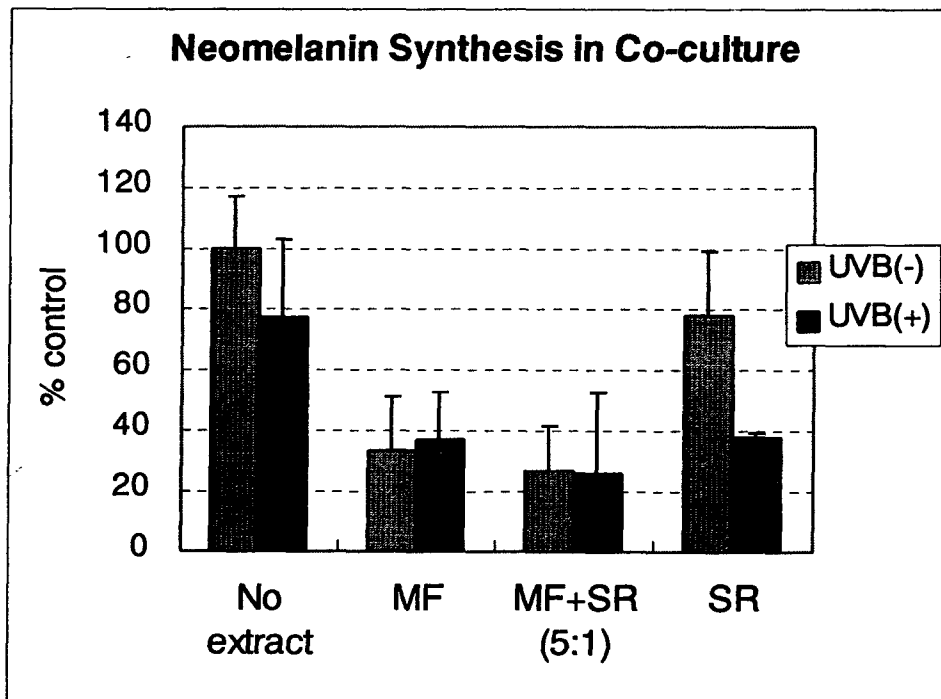
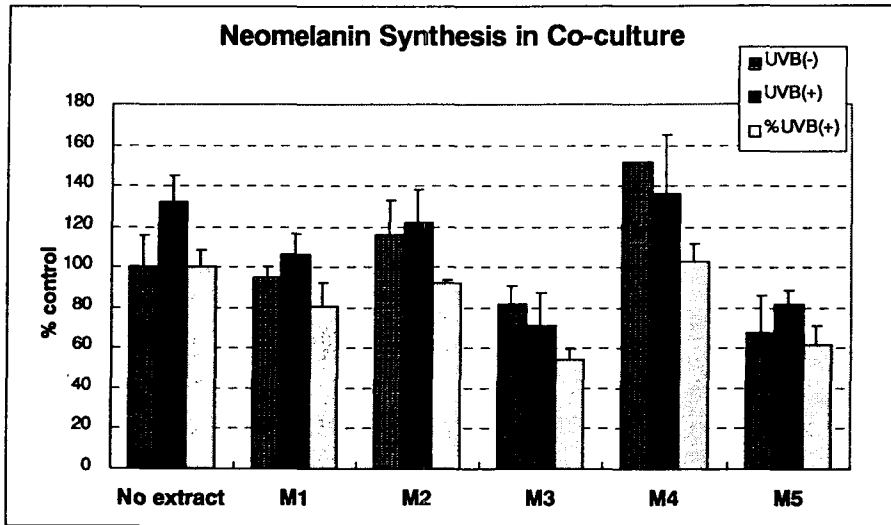


그림 3. 신이(MF), 목향(SR), 학슬(CH), 강황(CR) 추출물의 공동배양계내 neomelanin 생합성 억제 효과

UVB(-) 혹은 UVB(+)-에 의한 neomelanin 생합성이 세포제공자에 따라 역전되는 가능성이 있을 수 있음. UVB(-)의 경우, 천연추출물 첨가에 의해 neomelanin 생합성이 저해될 가능성도 있음

(a)



		Mixture of Extracts (ppm)				
		M1	M2	M3	M4	M5
Component Extracts	MF	5	2.5	1	3	9
	SR	1	1	1	3	-
	CH	2.5	5	1	3	-

(b)

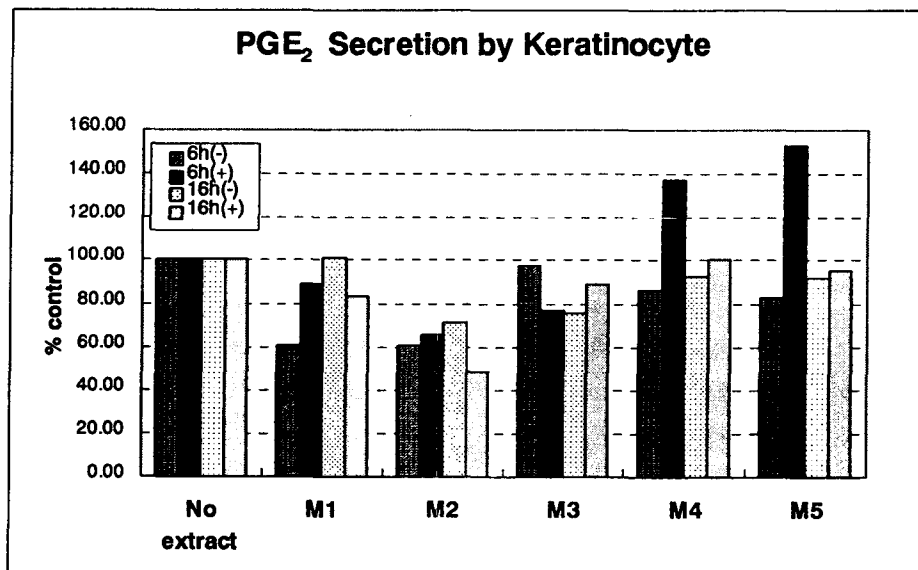
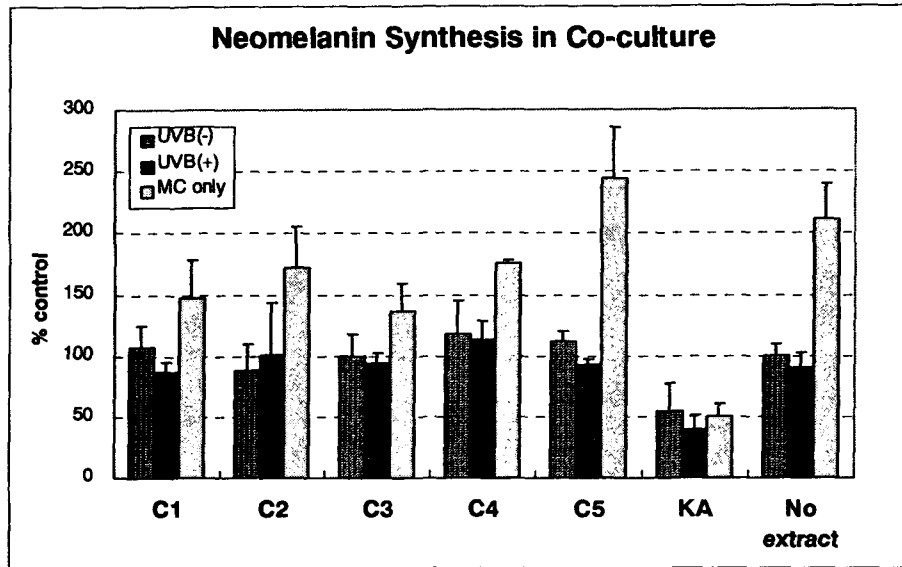


그림 4. 천연추출물 3종, 즉 신이(MF), 목향(SR), 학슬(CH) 추출물, 혼합비에 따른 공동배양계내 (a) neomelanin 생합성 억제효과 및 (b) prostaglandin E₂ 함량

학슬의 성분비율이 상대적으로 높거나 농도가 높을 경우, 혹은 동일한 성분비라도 농도가 높을 경우, neomelanin 생합성 억제효과가 감소함. 신이가 neomelanin 생합성 억제효과에 주도적인 역할을 함.

(a)



		Mixture of Extracts (ppm)				
		C1	C2	C3	C4	C5
Component Extracts	MF	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
	SR	1.0	-	1.5	-	1.5
	CH	1.0	-	-	1.5	1.5
	CR	1.0	3.0	1.5	1.5	-

(b)

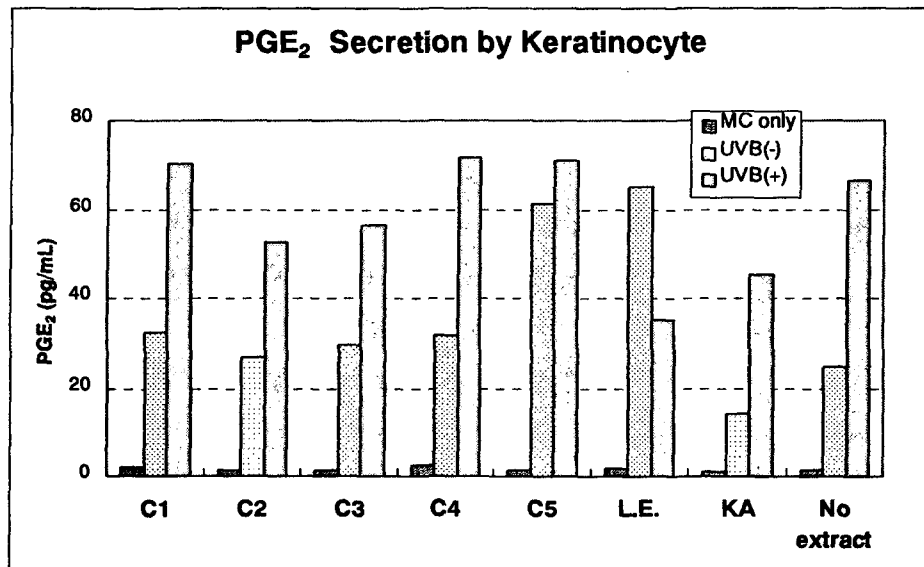


그림 5. 천연추출물 4종, 즉 신이(MF), 목향(SR), 학슬(CH), 강황(CR)추출물, 복합비에 따른 공동배양계내 (a) neomelanin 생합성 억제효과 및 (b) prostaglandin E₂ 합량

C5 는 그림 4 의 M1 과 유사한 성분비임. 자극원인 추정물질인 목향을 제외시키고 강황이 첨가된 C2의 효과가 학슬까지 첨가된 C4 보다 neomelanin 생합성 억제효과가 나은 것으로 관찰됨. 강황이 PGE₂ 생합성 저하에 상당히 기여하고 있는 것으로 판단됨

표 2. 천연물, 합성물에 의한 공동배양계내 Cytokine 의 함량과 멜라닌 생합성 비교

	IL-1 α	IL-5	IL-6	IL-8	IL-10	IL-15	ET-1	GM-CSF	PGE ₂	Neomelanin Synthesis
UVB(-)	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
UVB(+)	187	211	855	222	93	76	67	122	203	122
MF(-)	77	334	101	99	113	112	80	100	154	121
MF(+)	153	341	814	218	95	96	60	150	202	98
SR(-)	37	352	77	84	121	98	96	106	103	97
SR(+)	155	340	769	218	105	235	67	153	202	122
CH(-)	40	620	94	66	150	195	69	66	113	147
CH(+)	162	647	428	214	183	118	57	129	170	120
CR(-)	61	667	83	76	120	121	58	106	48	88
CR(+)	216	563	353	222	96	111	59	157	89	144
LE(-)	58	755	101	88	128	152	68	177	64	220
LE(+)	125	114	505	243	143	170	66	227	98	183
KA(-)	19	321	65	119	62	106	28	32	54	86
KA(+)	105	212	282	120	65	110	24	56	43	63
C1(-)	53	695	94	66	159	138	67	103		142
C1(+)	229	655	734	254	159	160	55	153		90
C4(-)	78	605	114	72	112	169	62	103		69
C4(+)	259	579	767	252	105	111	55	149		44
C5(-)	49	638	111	67	124	104	66	93		55
C5(+)	213	533	792	223	67	73	50	151		113

신이 혹은 학술 추출물 혹은 이들의 혼합물 (C4) 에 의한 neomelanin 생합성 저하는 IL-15, ET-1의 저하와 상관성이 있는 것으로 추정됨