

# 沙參 물 추출물의 멜라닌 형성 억제 효과

강현성 · 임난영<sup>1</sup> · 문연자<sup>1</sup> · 임홍진 · 박민철 · 임규상 · 김남권 · 우원홍<sup>1\*</sup>

원광대학교 한의과대학 안이비인후피부과, 1: 한의학전문대학원 한약자원개발학과

## Inhibitory Effect of Water Extract of *Adenophorae Radix* on the Melanogenesis

Hyun Sung Kang, Nan Young Lim<sup>1</sup>, Yeun Ja Mun<sup>1</sup>, Hong Jin Lim, Min Chul Park, Kyu Sang Lim, Nam Kwen Kim, Won Hong Woo<sup>1\*</sup>

Department of Ophthalmology, Otolaryngology and Dermatology, College of Oriental Medicine, 1: Department of Herbal Resources, Professional Graduate School of Oriental Medicine, Wonkwang University

The aim of this study was to investigate the effect of *Adenophorae Radix* (AR) on melanogenesis of B16F10 mouse melanoma cells. The cells were treated for 5 days with AR at several concentrations. Treatment with AR suppressed melanin contents as a dose dependent manner without cytotoxicity and morphological change. And the extract of AR also inhibited tyrosinase activity, a key enzyme forming melanin, in a dose-dependent manner. Treatment of the cells with *Adenophorae Radix* also suppressed the increase of  $\alpha$ -MSH (10 nM)-induced melanin contents and tyrosinase activity. These results suggest that AR inhibits melanogenesis and abrogates  $\alpha$ -MSH-induced melanogenesis in B16 melanoma cells

Key words : *Adenophorae Radix*, melanogenesis, tyrosinase, melanin

### 서 론

멜라닌은 表皮의 基底層 사이나 基底層의 아래, 털주머니 등에 존재하는 멜라닌 세포로부터 합성되며, 이는 遺傳的 要因과, 代謝, 內分泌, 炎症, 感染, 腫瘍 等과 같은 物理的 및 化學的 要因들에 의해 크게 좌우되는데<sup>1,2</sup>, 이런 原因들로 인한 멜라닌 합성이상이 기미, 주근깨 등의 過色素 沈着症을 發生시킨다<sup>3,4</sup>.

韓醫學 文獻에는 皮膚의 過色素 沈着症에 대해 《黃帝內經·素問》〈至真要大論〉<sup>5</sup>에 “歲陽明在天, 燥淫所勝... 面黑, 身無膏澤, 足外反熱”이라 하여 처음 收錄되었고, 이후 여러 醫家들은 發疹의 形態와 原因에 따라 黧黯, 面黑, 雀斑 등으로 다양하게 언급하였으며<sup>6-15</sup>, 治療方法으로는 虛證과 實證으로 각각 辨證하여 內服藥과 外用藥들을 使用하였다<sup>6-20</sup>.

沙參은 도라지과(Campanulaceae)에 속한 다년생 초본인 잔대(*Adenophora triphylla* var. *japonica* HARA)와 그 동속식물의 根을 건조한 것으로<sup>21,22</sup>, 《神農本草經》에 “微苦微寒 主血脈

驚氣 除寒熱 補中 益肺氣 久服利人 一名 知母 生 川谷”이라 記錄된 이래 養陰清肺, 益胃生津, 祛痰止咳, 排膿消腫, 祛風止痒 등의 效能으로 肺熱咳嗽, 口渴, 胃痛, 皮膚瘙癢 등의 治療에 使用되었으며, 《太平聖惠方》에서는 面黧黯을 治療하고 滅癍去黑痣하는 處方에 沙參을 活用하였다<sup>23</sup>.

沙參의 種類에 대한 記錄은 《本經逢源》에 처음 記錄되어 있는데 “沙參 南北二種 南者質堅性寒 北者體虛力微”라고 南·北沙參을 나누어 놓았으며, 申 등은 沙參은 잔대의 根, 薺芩는 모시대의 根, 羊乳는 더덕의 根으로 文獻 考察 후 각각 分類하였다<sup>24</sup>.

韓藥複合製劑에 대한 美白 研究로는 麻黃 및 麻黃膏의 미백 효과<sup>25</sup>에 관한 연구와 瀉白散의 미백효과 검증에 관한 연구<sup>26</sup>, 加減西施玉容散의 미백효과에 관한 연구<sup>27-29</sup> 등이 있으나 구성 本草 각각의 미백효과보다는 미약하게 나타났다. 皮膚의 멜라닌 形成에 미치는 單一 韓藥材에 대한 實驗的 研究로 이 등<sup>30</sup>은 天花粉 抽出物이 B16 melanoma 세포의 멜라닌 生成을 억제하였으며,  $\alpha$ -MSH와 c-AMP에 의한 酪氨酸 生成 유도시에도 멜라닌 生成을 감소시켰다고 報告하였고, 윤 등<sup>31</sup>은 白芨이 멜라닌 生成억제 효과를 가지고 있으며, 이러한 과정은 B16 흑색종 세포의

\* 교신저자 : 우원홍, 전북 익산시 신용동 344-2, 원광대학교 한의학전문대학원 · E-mail : whwoo@wonkwang.ac.kr Tel : 063-850-6845 · 접수 : 2004/01/17 · 수정 : 2004/02/27 · 채택 : 2004/03/25

tyrosinase 활성과 tyrosinase protein 발현을 억제하여 멜라닌 형성을 억제시켰다고 報告하였으나, 面黥癩을 치료하고 滅癩去黑瘰한다고 알려진 沙蔘의 美白 효과에 대한 實驗報告는 없었다. 이에 著者は 沙蔘이 皮膚의 멜라닌 形成에 미치는 影響을 알아보고자, 沙蔘 물 추출물을 제조하여, B16 흑색종세포에서 tyrosinase 활성과 멜라닌 量, 세포증식에 미치는 영향을 측정하였으며, 멜라닌 생성을 촉진시키는 물질로 알려진  $\alpha$ -MSH (melanocyte stimulating hormone)를 처리하여 과색소 형성을 유도한 뒤 沙蔘의 멜라닌 생성 억제효과를 관찰하였고, 실험 결과의 세포 독성 여부를 알아보기 위해 B16 흑색종세포의 증식과 형태 변화에 대해 조사하여 有意性있는 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

## 재료 및 방법

### 1. 시료 제조

本 實驗에 사용한 沙蔘은 전라북도 진안 속근 약초 시험장에서 재배되는 3年 根을 제공(2002년 9월30일) 받아 충분히 음건한 후 본 실험에 사용하였다. 沙蔘 100g에 물 1ℓ를 가하여 3시간 동안 끓인 후 거즈로 여과하고 3,200rpm으로 30분간 원심분리하여 상층액을 취하였다. 감압 농축 후 -70℃에서 freeze dryer로 동결건조 하여 30.13g의 試料(수득률: 30.13%)를 얻었다. 試料는 DMEM (Dulbecco's Modified Eagle medium (DMEM, Gibco BRL Co, Gaithersburg, MD)에 녹인 뒤 세포에 투여하기 전 0.22 $\mu$ m pore의 여과지로 멸균하여 사용하였다.

### 2. B16 흑색종세포주 배양

B16 흑색종세포의 배양은 CO<sub>2</sub> 배양기(37℃, 5%)에서 10% fetal bovine serum(Hyclones)이 포함된 Dulbecco's Modified Eagle medium (DMEM, Gibco BRL Co, MD) 배지를 이용하여 으며 약 48시간 주기로 배양액을 교체하여주었다.

### 3. 세포 증식 측정

세포를 배양판(6 cm dish)에 1×10<sup>5</sup> 개씩 분주하고 24시간 배양하여 배양용기에 세포를 부착하였다. 沙蔘 물 추출물을 각 농도별로 처리하고 5일간 배양하였고, 배양 완료 후 각 용기에 0.05% trypsin-0.02% EDTA 용액을 가하여 세포를 분리하고, PBS로 2회 세척 한 후 혈구 계산판을 이용하여 각 배양용기의 세포수를 측정하였다.

### 4. 세포내 tyrosinase 활성 측정

Tyrosinase 활성은 Martinez-Esparza M 등<sup>32)</sup>의 방법에 의하여 측정하였다. 멜라닌세포를 수확하여 세포 침전물을 만들고, 100 $\mu$ l 세포용해액(lysis buffer; 1% Triton X-100, 10mM sodium phosphate, pH 7.0, 0.1 mM PMSF)에 30분간(4℃) 때때로 흔들어주면서 세포를 파괴하여 원심분리 하고 상층액을 tyrosinase 활성측정용액으로 사용하였다. 50 $\mu$ l의 상층액에 100mM sodium phosphate(pH 7.0) 100 $\mu$ l를 넣고 30℃ 물중탕기에서 5분간 보온

한 후 100mM catechol 50 $\mu$ l를 넣고 온도조절장치가 있는 분광광도계로 37℃, 405nm에서 흡광도의 변화를 1시간 관찰하였다.

### 5. 세포내 멜라닌 정량

멜라닌 정량은 Hosei 등<sup>33)</sup>의 방법을 변형하여 사용하였다. 배양세포는 phosphate buffered saline(PBS)으로 2회 세척, 원심분리 하여 수확하였다. 세포침전물에 1ml의 증류수를 넣어 현탁 후 초음파로 분쇄하고 원심분리 하여 침전물을 수확하였다. Acid-insoluble material을 얻기 위해 10%의 dimethyl sulfoxide(DMSO)가 첨가된 1N NaOH 300 $\mu$ l를 넣어 80℃에서 1시간 동안 처리하여 용해시켰다. 475nm에서 흡광도를 측정하였으며 멜라닌 정량은 합성멜라닌(Sigma chemical Co.)을 대조군으로 사용하여 작성된 표준곡선에서 구하였다.

### 6. 광학현미경적 관찰

세포의 형태적 관찰은 배양 완료 후 Inverted Microscope (phase contrast, Leica, Germany)를 이용하여 관찰하였다.

### 7. 통계학적 분석

자료는 Origin 50을 이용해 분석하였고 평균과 표준편차로 요약하였다. 통계적 유의성에 대한 차이는 일원분산분석(ANOVA)을 이용하였다.

## 실험성적

### 1. 沙蔘이 세포내 tyrosinase 활성에 미치는 영향

沙蔘추출물을 0.5 - 2 mg/ml 농도로 5일 동안처리하고 tyrosinase 활성을 측정한 결과, 沙蔘 0.5 mg/ml 처리군은 대조군에 비하여 tyrosinase 활성이 89%로 감소되었으며, 1 mg/ml 처리군은 80%, 2 mg/ml 처리군은 70%로 감소하였다(Fig. 1).

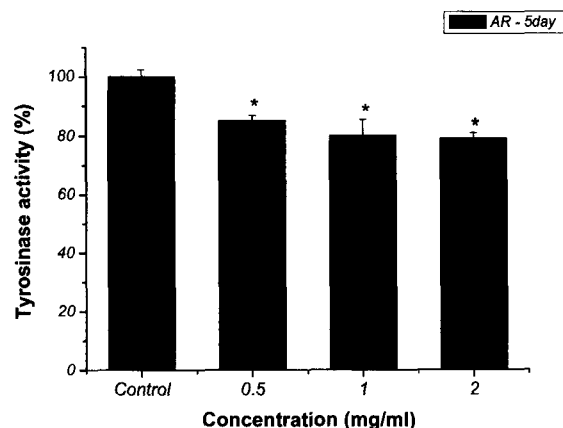


Fig. 1. Effect of Adenophorae Radaix extract on tyrosinase activity in B16 mouse melanoma cells. Cells were seeded at 1×10<sup>5</sup> cells/dish. After 24 hours, cells were treated with several concentrations of AR extract and cultured for 5 d. Then, tyrosinase assay was performed as described in Materials and Methods. Data are means±S.D. of three experiments performed in triplicate. Asterisks indicate a significant difference compared with control group, \*P < 0.05.

2. 沙蔘이 멜라닌 생성에 미치는 영향

沙蔘추출물을 0.5 - 2 mg/ml 농도로 5일 동안처리하고 103 cell당 멜라닌 양을 측정된 결과, 沙蔘 0.5 mg/ml 처리군은 대조군에 비하여 멜라닌 생성량이 89%, 1 mg/ml 처리군은 80%, 2 mg/ml 처리군은 70%로 감소하였다. 이상의 결과 沙蔘추출물은 멜라닌 생성을 억제하였고, 沙蔘의 농도가 높아짐에 따라 멜라닌 생성도 감소하였다(Fig. 2).

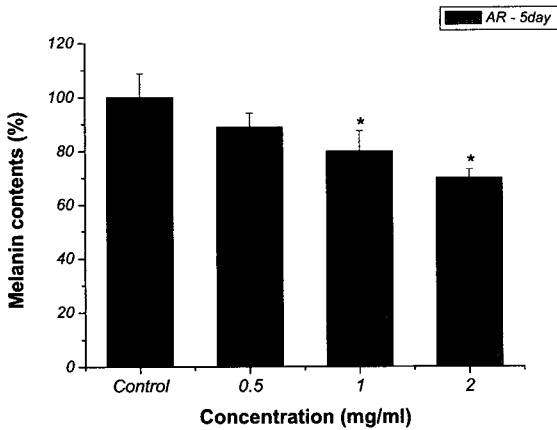


Fig. 2. Effect of Adenophorae Radix extract on melanin contents in B16 cells. Cells were seeded at  $1 \times 10^5$  cells/dish. After 24 hours, cells were treated with several concentrations of AR extract and cultured for 5 d. Then, melanin contents were measured as described in Materials and Methods. Data are means $\pm$ S.D. of three experiments performed in triplicate. Asterisks indicate a significant difference compared with control group, \*P < 0.05.

3.  $\alpha$ -MSH 에 의한 과색소 유발시 沙蔘의 tyrosinase 억제효과

멜라닌 생성을 촉진시키는 호르몬인  $\alpha$ -MSH(melanocyte stimulating hormone)은 뇌하수체에서 ACTH(adrenocorticotrophic hormone), Lipotropic 호르몬과 Endopine의 전구체인 POMC(proopiomelanocortin)의 형태로 분리되며, 흑색종세포와 실험동물의 멜라닌세포의 멜라닌화를 자극하는 것으로 알려져 왔다<sup>67)</sup>. 과색소침착시 沙蔘추출물의 억제효과를 알아보기 위하여  $\alpha$ -MSH와 沙蔘추출물에 대한 tyrosinase 활성과 멜라닌 양을 측정하였다.  $\alpha$ -MSH 처리군(10nM)의 경우 tyrosinase 활성이 대조군에 비하여 206%로 현저히 증가 되었고,  $\alpha$ -MSH와 沙蔘추출물(2 mg/ml) 동시 처리군은 146%로  $\alpha$ -MSH에 의해 증가된 tyrosinase 활성이 감소되었음을 알 수 있었다(fig. 3A). 멜라닌 양도  $\alpha$ -MSH 처리군의 경우 대조군에 비하여 1500%로 현저히 증가 하였으나,  $\alpha$ -MSH와 沙蔘추출물 동시 처리군은 1000%로  $\alpha$ -MSH 단일 처리군에 비하여 유의하게 감소하였다(fig. 3B).

4. 沙蔘이 B16 흑색종세포의 증식에 미치는 영향

沙蔘추출물의 멜라닌 생성 억제 효과가 沙蔘추출물 자체의 세포 독성에 의한 것인지 알아보기 위하여 沙蔘추출물의 B16 흑색종세포에 대한 증식에 미치는 영향을 관찰하였다. 沙蔘추출물을 0.05 - 2 mg/ml 농도로 5일 동안 처리한 후 세포수를 계측한 결과, 沙蔘추출물만을 처리한 군의 경우 대조군에 비하여 각각

95%, 94%, 93%, 91%로 나타났다. 또한  $\alpha$ -MSH 와 沙蔘추출물 0.05, 0.5, 1, 2 mg/ml 농도로 동시에 처리한 실험군의 경우 각각 대조군에 비하여 103%, 105%, 110%, 113%로 나타나 沙蔘추출물에 의한 세포독성은 관찰되지 않았다(Fig. 4).

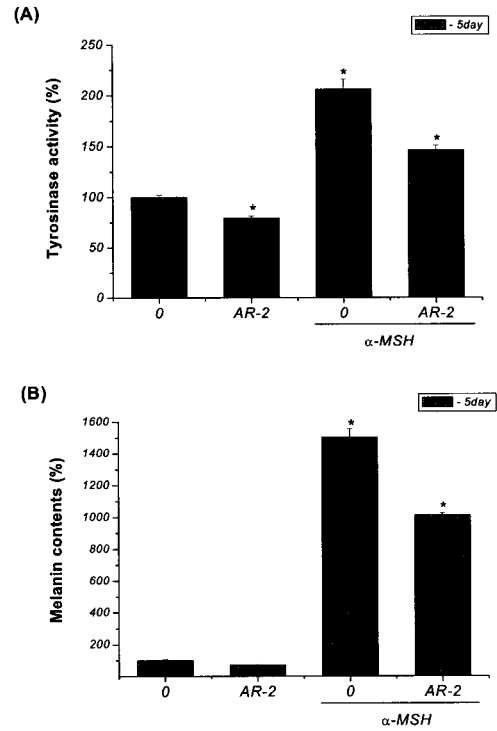


Fig. 3. Effects of Adenophorae Radix extract on tyrosinase activity and melanin contents in B16 cells. Cells were seeded at  $1 \times 10^5$  cells/dish. After 24 hours, cells were treated with several concentrations of AR extract only or AR with  $\alpha$ -MSH, and cultured for 5 d. Then, tyrosinase activity and melanin contents were measured as described in Materials and Methods. Data are means $\pm$ S.D. of three experiments performed in triplicate. Asterisks indicate a significant difference compared with control group, \*P < 0.05.

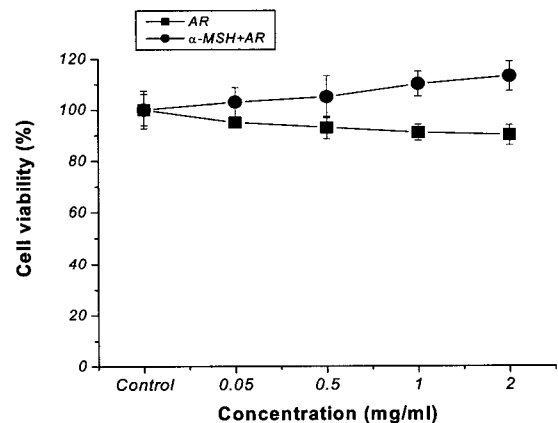


Fig. 4. Effect of the Adenophorae Radix extract on the cell proliferation in B16 cells. Cells were seeded at  $1 \times 10^5$  cells/dish. After 24 hours, cells were treated with several concentrations of AR extract only or AR with  $\alpha$ -MSH and cultured for 5 d. ■: AR ●: AR and  $\alpha$ -MSH. Data are means $\pm$ S.D. of experiments performed in triplicate. Asterisks indicate a significant difference compared with control group, \*P < 0.05.

5. 세포의 형태학적 관찰

沙蔘추출물에 의한 B16 흑색종세포의 형태학적 변화를 관찰한 결과, 沙蔘(2 mg/ml) 처리군의 경우 대조군과 거의 유사한 정상세포 소견을 나타냈으며, 10 nM의  $\alpha$ -MSH를 처리한 군에서는 대조군에 비하여 세포체가 커지고 수직상의 세포돌기 수가 증가하였음이 관찰되어  $\alpha$ -MSH에 의한 멜라닌세포의 분화가 촉진되었음을 알 수 있었다. 아울러  $\alpha$ -MSH와 沙蔘추출물(2 mg/ml)을 동시에 처리한 군의 세포의 모양은  $\alpha$ -MSH만을 단독 처리한 군의 형태와 유사하게 관찰되어 沙蔘추출물의 처리는 B16흑색종세포에 독성을 나타내지 않았으며 세포의 형태학적인 변화에도 영향을 미치지 않았다(Fig. 5).

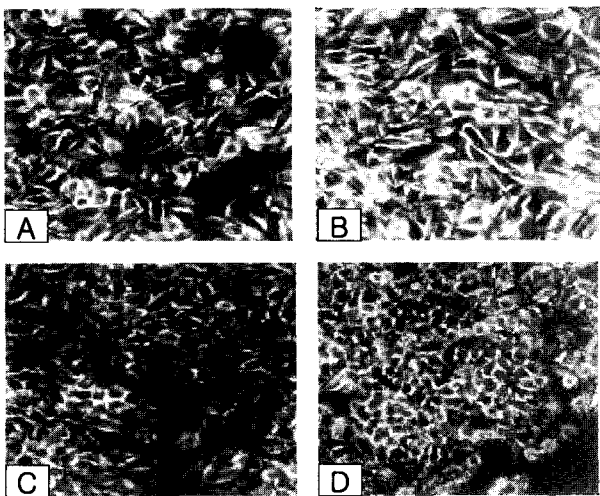


Fig. 5. Light micrographs of B16 cells observed for 5 days. A) Control, B) ARI(2mg) treated, C)  $\alpha$ -MSH(10nM) treated, D) ARI(2mg) and  $\alpha$ -MSH(10nM) treated.

고찰

멜라닌 색소는 멜라닌 세포內的 멜라닌 소체(melanosome)에서 만들어지는데, 멜라닌 소체는 수상돌기를 통하여 부근에 인접되어 있는 각질화세포(keratinocyte)로 이동하고, 각질화세포가外皮로 부상하면서 피부색을 나타내게 된다<sup>1)</sup>. 이렇게 각질화세포(keratinocyte)로 이동된 멜라닌 소체는 자외선(UV)에 의한 광노화나日光角化症으로부터 피부를 保護하는 機能을 하고 있다<sup>34,35)</sup>. 멜라닌 색소의 減少나 異常 分布는 白皮症(albinism)이나 白斑症(vitiligo) 등의 皮膚疾患을 誘發하고, 에디슨병(Addison's disease)은 반대로 副腎皮質에서 코티솔의 生成이 缺乏되어 副腎皮質刺戟호르몬이 과잉 生産됨으로써 色素沈着을 증가시키기도 한다<sup>36,37)</sup>. 환자들은 자신의 皮膚색에 異常이 있을 때 美容의 문제를 이유로 1차적인 治療를 구하게 되며 皮膚색이 너무 黧거나 黧은 경우에 정신적 부담을 느낀다. 비록 皮膚색의 變化가 症狀이나 後遺症이 없을지라도 이는 身體에 疾病이 있는 것을 意味하기도 한다<sup>38)</sup>.

韓醫學에서는 기미, 주근깨 등의 過色素 沈着症에 해당하는 疾患이 《黃帝內經·素問》<至眞要大論><sup>5)</sup>에 "歲陽明在天, 燥淫所勝...面塵, 身無澤澤, 足外反熱"이라 하여 처음 기록된 이래, 巢<sup>6)</sup>

는 《諸病源候論·面皯黑證候》에서 風邪가 皮膚에 侵入하고 痰飲이 臟腑에 쌓이면 '烏麻'나 '雀卵上之色'이 얼굴에 나타난다 하여 原因과 症狀를 비교적 자세히 言及하였고, 이후 많은 醫家<sup>6-15)</sup>에 의해 面黑, 黧黧, 雀斑, 鰲黑斑 等の 異名으로 記錄되었다.

過色素 沈着症의 原因을 樓等<sup>10)</sup>은 內經의 面塵에 대한 文獻을 引用하여 陽明病으로 보았으며 또 顧等<sup>7,9,15)</sup>은 憂思過多와 飲食失調로 인한 脾胃損傷을 原因으로 보았는데, 이는 最近 鞠<sup>39)</sup>이 臨床 論文에서 밝힌 胃腸機能 障礙 患者에게서 기미가 많이 나타난다는 것과 관련이 있는 것으로 思考된다. 또, 陣等<sup>18)</sup>은 發病 機轉 中에서 女性에게 주로 나타난다는 言及과 함께 陰虛火動을 原因으로 보았는데 이는 高等<sup>17)</sup>이 臨床 論文에서 밝힌 기미환자 中에서 月經不調를 호소하는 女性이 많다는 內容과 일맥상통한 것으로 思考된다. 近來 文獻들<sup>18-20)</sup>은 肝鬱氣滯, 瘀血內停, 腎陰不足, 陰虛火旺, 脾虛不運, 濕熱內蘊, 日曬熱毒, 火鬱孫絡, 風邪外搏 等の 原因으로 자세히 分類하였다.

以上の 病因病機를 綜合하면 內因으로는 肝鬱氣滯, 瘀血內停, 腎陰不足, 陰虛火旺, 脾虛不運 等이, 外因으로는 風邪, 火邪, 濕熱邪, 熱毒 等이 각각 過色素 沈着症을 誘發하는 것으로 思考된다. 治療方法으로는 辨證施治에 의한 內治法과, 軟膏劑나 粉末洗劑 等を 使用하는 外治法, 體鍼, 耳鍼 等を 利用하는 鍼治療法으로 分類할 수 있다. 內治法은 肝鬱氣滯에 疏肝解鬱하는 逍遙散을, 瘀血內停에는 通經活絡하는 通竅活血湯을, 腎陰不足에는 滋補肝腎하는 知柏地黃丸을, 脾虛不運에는 健脾益氣하는 加味歸脾湯 等を 爲主로 加味하여 각각 使用하였다. 外治法에 使用된 外用藥은 玉容散, 紅玉散, 西氏玉容散, 玉肌散, 黃柏霜, 祛斑霜 等を 여러 가지 製法으로 얼굴에 使用하였다.

沙蔘은 도라지과(Campanulaceae)에 屬한 多年生 草本인 잔대(Adenophora triphylla var. japonica HARA)와 그 同屬植物의 根을 乾燥한 것<sup>21,22)</sup>으로 《神農本草經》에 "微苦微寒 主血脈驚氣 除寒熱 補中 益肺氣 久服利人 一名 知母 生川谷"이라 記載된 以來 養陰清肺, 益胃生津, 祛痰止咳, 排膿消腫, 祛風止痒 等の 效能으로 久咳肺痿, 肺熱咳嗽, 口渴, 胃痛, 皮膚瘙癢 等の 症狀에 應用되고 있다. 또한 現代 科學的 實驗을 통해 精油, 澱粉, Saponin 等の 成分이 含有되어 祛痰 強心 抗真菌作用 等 有效한 藥理作用이 있는 것으로 밝혀져 中國에서는 冠心病, 心筋炎, 慢性氣管支炎, 百日咳, 赤白帶下, 產後無乳, 牙痛 等に 臨床活用하고 있으며<sup>24)</sup>, 《太平聖惠方》에서는 面黧黧을 治療하고 滅瘢去黑痣하는 處方에 沙蔘을 活用하였다<sup>23)</sup>. 이에 著者는 韓醫學的으로 皮毛는 肺의 合이므로, 肺·胃 二經으로 歸經하면서 滋陰清肺, 祛痰止咳, 益胃生津의 作用이 있는 沙蔘이 멜라닌 形成에 어떤 影響을 미치는지에 關하여 研究하였다.

生體에서 皮膚 色素沈着을 일으키는 가장 主要한 刺戟은 자외선으로서, UV radiation은 멜라닌세포를 직접 자극하게 된다. 멜라닌세포에서 멜라닌은 tyrosine으로부터 세가지 단계, 즉 tyrosinase, tyrosinase related protein 1(TPR-1), DOPAchrome tautomerase (TRP-2)에 의해서 합성되는데, 이 중 tyrosinase는 rate-limiting step으로 멜라닌색소 형성과정 중 가장 중요한 효소이다<sup>40,41)</sup>. 따라서 本 研究에서는 沙蔘이 멜라닌 細胞에서 멜라

닌 생성에 미치는 영향을 조사하기 위하여 B-16 흑색종 세포를 이용하여 멜라닌 생성의 최종산물인 멜라닌 및 tyrosinase 효소 활성을 측정하였고, 아울러 α-MSH와 사삼 추출물을 같이 처리했을 때와 사삼 단독으로 처리했을 때 농도에 따른 세포에 미치는 영향을 조사하였다.

먼저 사삼추출물이 B-16흑색종세포의 tyrosinase의 활성에 미치는 영향을 조사하기 위하여 사삼추출물을 5일 동안처리하고 tyrosinase 활성을 측정한 결과, 사삼 0.5 mg/ml에서부터 2 mg/ml농도까지 tyrosinase의 활성이 대조군에 비하여 감소하였고, 사삼추출물이 멜라닌 양에 미치는 영향을 조사하기 위해 10<sup>3</sup>cell당의 멜라닌 양을 측정한 결과, 사삼의 농도가 높아짐에 따라 멜라닌 생성도 감소하였다(Fig. 2). 또한 과색소 형성시 사삼추출물의 억제효과를 알아보기 위하여 α-MSH와 사삼추출물에 대한 tyrosinase 활성을 측정한 결과, 사삼추출물은 α-MSH에 의해 증가된 tyrosinase 활성을 억제하였고, α-MSH 단일 처리군에 비하여 멜라닌 양도 현저히 감소하였다.

사삼추출물의 멜라닌 생성 억제효과가 사삼추출물 자체의 세포 독성에 의한 것인지 조사하기 위하여 B16 흑색종 세포의 형태학적 변화를 관찰한 결과, 대조군과 거의 유사한 정상세포 소견을 나타냈으며, α-MSH 단일 처리군에서는 세포체가 커지고 수지상의 세포돌기 수가 증가하여 멜라닌세포의 분화가 촉진되었음을 알 수 있었다. 아울러 사삼추출물 처리군의 세포의 모양은 α-MSH만을 단독처리한 군의 형태와 유사하게 관찰되어 사삼추출물의 처리는 B16흑색종 세포에 독성을 나타내지 않았으며 세포의 형태학적인 변화에도 영향을 미치지 않았다.

以上的 研究結果를 종합하면 사삼추출물은 B16 melanoma 세포의 멜라닌 생성을 억제하였으며, α-MSH에 의한 과색소생성 유도시에도 멜라닌 생성을 감소시켰고, tyrosinase 활성 억제를 통하여 멜라닌 형성을 감소시켰음을 알 수 있었다.

## 결론

滋陰清肺, 祛痰止咳, 益胃生津의 효능이 있는 사삼이 피부의 멜라닌 생성에 미치는 영향을 알아보기 위하여 B16 흑색종 세포에서 tyrosinase 활성과 멜라닌 양, 세포증식에 미치는 영향을 조사하였으며, 멜라닌 생성 촉진 호르몬인 α-MSH(melanocyte stimulating hormone)를 처리하여 과색소 형성을 유도하고 사삼의 억제효과를 관찰한 결과, 사삼추출물은 B16 흑색종세포의 tyrosinase 활성을 농도 의존적으로 억제하였고, 멜라닌 생성 또한 농도 의존적으로 억제하였으며, α-MSH에 의한 과색소 생성시 사삼추출물은 tyrosinase 활성을 억제하였고, 멜라닌 생성을 효과적으로 억제하였다. 사삼추출물은 2 mg/ml 농도에서도 B16 흑색종세포에 독성을 나타내지 않았다.

以上的 研究結果를 종합하면 사삼추출물은 B16 melanoma 세포의 멜라닌 생성을 억제하였으며, α-MSH에 의한 과색소 생성 유도시에도 멜라닌생성을 감소시켰고, tyrosinase 활성을 억제하여 멜라닌 형성을 감소시켰음을 알 수 있었다. 따라서 사삼의 멜라닌 생성 억제효과는 피부 부작용을 줄이는 화장품의 미

白物質로서 개발 가능성이 높으며, 더욱 정확한 作用機轉의 규명과 應用法 等の 研究가 필요할 것으로 思料된다.

## 참고문헌

1. 박경아 등 : 조직학, 서울, 고려의학, pp.405-411, 1999.
2. Sandra M. De Leeuw, Nico P. M. Smit, Monique Van Veldhoven, Ed M. Pennings, Stan Pavel, Johannes W. I. M. Simons, Albert A. Schothorst: Melanin content of cultured human melanocytes and UV-induced cytotoxicity. J. Photochemistry and Photobiology B. Biology 61: 106-113, 2001.
3. Walter Englaro, Philippe Bahadoran, Corine Bertolotto, Roser Busca, Benoit Derijard, Antonia Livolsi, Jean-Francois Peyron, Jean-Paul Ortonne, and Robert Ballotti: Tumor necrosis factor alpha-mediated inhibition of melanogenesis is dependent on nuclear factor kappa B activation. Oncogene 18: 1553-1559, 1999.
4. 대한피부과학회 : 피부과학, 서울, 여문각, pp.1-9, 409-412, 2001.
5. 楊維傑 編 : 黃帝內經 素問, 臺北, 樂羣出版事業有限公司, pp.624-679, 1994.
6. 巢元方 : 巢氏諸病原候論, 서울, 大星文化社, p.200, 1992.
7. 顧世澄 : 瘍醫大全, 北京, 人民衛生出版社, pp.479, 481-482, 1987.
8. 龔延賢 : 萬病回春, 서울, 醫聖堂, p.271, 1993.
9. 祁坤 : 外科大成, 臺北, 文光圖書有限公司, p.218, 1968.
10. 樓英 : 醫學綱目, 서울, 大星文化社, p.1081, 1989.
11. 武之望 : 濟陰綱目, 서울, 柳林文化社, p.484, 1990.
12. 薛瑜 : 編輯外科心法要訣, 臺灣, 大中國圖書公社, p.85, 1984.
13. 孫震元 譯 : 瘍科會粹, 北京, 人民衛生出版社, pp.364-365, 1987.
14. 沈金鰲 : 沈氏尊生書, 臺北, 自由出版社, p.530, 1979.
15. 吳謙 : 醫宗金鑑, 北京, 中國醫藥學出版社, pp.1680-1682, 1982.
16. 楊思澍 外 : 中醫臨床大全, 中國, 北京科學技術出版社, pp.923-924, 1991.
17. 高云 外 : 中西醫結合治療女性黃褐斑 36例臨床觀察, 杏林中醫藥, 第6期, 1995.
18. 陳貴延 外 : 實用中西醫結合診斷治療學, 서울, 一中社, p.524, 1987.
19. 徐宜厚 外 : 皮膚病中醫診療學, 北京, 人民衛生出版社, pp.8-17, 1997.
20. 梁勇才 : 實用皮膚病診療全書, 北京, 學苑出版社, pp.17-24, 27-30, 1996.
21. 신민교 : 임상본초학, 영림사, 서울, pp.270-271, 1992.
22. 최태섭 : 한국의 보약, 열린책들, 서울, pp.300-301, 1990.
23. 이경순 외 : 中藥大辭典, 서울, 정담, pp.4927-4928, 1998.

24. 신동훈 외 : 沙參에 관한 문헌적 고찰, 대전대학교 한의학연구소 논문집, 8(2): 107-122, 2000.
25. 이상희 : 麻黃 및 麻黃膏의 미백효과에 관한 연구, 경희대학교 동서의학대학원, 2001.
26. 김성옥 : 瀉白散의 미백효과 검증에 관한 연구, 경희대학교 한의과대학, 1991.
27. 손동석 외 : 加減西施玉容散의 미백효과에 관한 연구, 대한안이비인후피부과학회지15(2):104-117, 2002.
28. 박지선외 : B16 melanoma 세포주의 멜라닌 합성에 대한 西施玉容散의 효과, 대한동의병리학회지, 14(1):160-170, 2000.
29. 전병훈 외 : 멜라닌 합성의 신호전달기전에 미치는 西施玉容散의 효과, 대한동의병리학회지, 15(1): 73-83, 2001.
30. 이관순 외 : 天花粉이 멜라닌 형성에 미치는 영향, 대한외관과학회지, 14(1): 209-225, 2001.
31. 윤화정 외 : 白芨이 멜라닌 형성 억제에 미치는 영향, 대한안이비인후피부과학회지, 16(1): 100-111, 2003.
32. Martinez - Esparza, M., Jimenez-Cervantes, C., Solano, F., Lozano, J.A. and Garcia - Borron, J. C. Mechanism of melanogenesis inhibition by tumor necrosis factor - alpha in B16/F10 mouse melanoma cells. Eur. J, Biochem. 255, 139 - 146, 1998.
33. Hosei, J., E., Suda, T., Kuroki, T. Regulation of melanin synthesis of B16 mouse melanoma cells by 1 $\alpha$ ,25 - dehydroxyvitamin D3 and retinoic acid. Cancer Res, 45, 1474 - 1478, 1985.
34. Bloom W, Fawcett DW: A textbook of histology, 11th ed, W.B. Saunders Company, USA, pp. 543-558, 1986.
35. Korner A, Pawelek J: Mammalian tyrosinase catalases three reactions in the biosynthesis of melanin. Science. 217(4565): 1163-1165, 1982.
36. 박지선 외 : 백출추출물이 멜라닌 생성에 미치는 영향, 대한동의병리학회지, Vol. 13, No. 2, p. 91, 1999
37. J.A.A.Hunter, J.A.Satin, M.V.Dahl : Clinical Dermatology, London, Blackwell Science, pp.210-218, 1994.
38. 안성구 외 : 흔히 보는 피부질환, 서울, 고려의학, pp.131, 1993.
39. 국홍일 : 기미환자의 임상소견과 신체정신건강상태에 관한 연구, 대한피부과학회지, 17:1, 1979.
40. Prota G.: Recent advances in the chemistry of melanogenesis in mammals. J. Invest. Dermatol. 75(122): 31-36, 1990.
41. K. Wakamatsu and S. Ito: Advanced Chemical Methods in Melanin Determination. pigment cell Res 15, 174-183, 2002.