

Ascorbic Acid의 국소도포가 자외선을 조사한 흑색 마우스의 표피 멜라닌 세포에 미치는 영향

이화여자대학교 의과대학 피부과학교실
최혜영 · 함정희 · 국홍일

= Abstract =

The Effect of Topical Ascorbic Acid on Epidermal Melanocytes in UV-irradiated Black Mice

Hae Young Choi, Jeong Hee Hahm, Hong Il Kook

Department of Dermatology, College of Medicine, Ewha Womans University

Melanin is synthesized by tyrosine by tyrosinase. The synthesis of melanin is influenced by several factors, of which ultraviolet radiation results in increased pigmentation by increase of tyrosinase activity and melanocyte number.

To observe the effect of depigmentation of ascorbic acid, we induced activation of melanocytes and melanin pigmentation by UVB irradiation and then topically applied ascorbic acid.

Sixty four mice were irradiated UVB 100mJ/cm²/day for 10 days. After then they were divided into 8 groups in random and the topical application of ascorbic acid on each group is as follows, lotion base(control), 3% lotion, 5% lotion, 10% lotion, cream base(control), 3% cream, 5% cream and 10% cream. After irradiation ascorbic acid had been topically applied twice a day on both ears of mice, respectively, for 7 weeks. Two mice in each group were sacrificed by the end of the 1st, 3rd, 5th and 7th week of the application. To observe the size and number of melanosomes, electron microscopic examination was done. To estimate the number of the melanocytes, light microscopic preparation of split-DOPA stain was done.

The results are summarized as follows :

- 1) In all groups except 3% lotion group(3% magnesium ascorbic acid phosphate), the number of DOPA positive melanocytes began to decrease from 1 week but rather increased at 7 weeks.
- 2) In 5% lotion group(5% magnesium ascorbic acid phosphate) the number of DOPA positive melanocytes was significantly decreased less than that in 5% cream group(5% ascorbic acid palmitate).
- 3) In the electron microscopic findings, the number of melanosomes and the ratio of the stage IV melanosomes markedly decreased from 1 week to 7 weeks in 10% lotion group(10% magnesium ascorbic acid phosphate) and 10% cream group(10% ascorbic acid palmitate) compared to lotion base and cream base, respectively.

서 론

인종간 피부색의 차이는 멜라닌소체의 수, 크기, 멜라닌 침착정도 및 각질세포내의 멜라닌소체 분포양상과 멜라닌 분해율에 의하여 결정된다¹⁾.

Ascorbic acid(이하 AA로 약함)는 환원제로 타이로신이 DOPA로 산화되는 것을 돕는 한편, DOPA가 dopaquinone로 산화되는 것을 방해한다²⁾³⁾. 또한, 엷은 색의 수용성 멜라닌으로 환원시키므로써 탈색소제제로 작용한다³⁾. 그러나 과량의 AA는 생체조직에서 쉽게 산화되며, AA가 일정농도로 유지되는 경우에 한하여서 탈색효과가 있기 때문에 임상적용 및 실험에 어려움이 있다.

본 실험도 AA의 탈색효과를 보기 위해서 흑색마우스의 양쪽 귀배부에 자외선을 조사하여 멜라닌세포수의 증가를 유도하고 탈색소제제로 알려져 온 두 종류의 AA를 국소도포한 후 광학현미경과 전자현미경으로 멜라닌세포 수 및 멜라닌소체의 변화를 관찰하였다.

대상 및 방법

1) 실험대상

실험동물로는 체중 25~30gm의 성숙한 웅성 흑색마우스(C57 Bl mice) 64마리를 대상으로 하였다.

사용한 광원은 ultraviolet B(UVB) FL20S·E30 형 광램프(Eisai Co., Japan)를 사용하였으며, 파장은 280~370nm(주파장 : 305 ± 5 nm), UVB 조사량은 1일 100mJ/cm²이었다.

실험약물로는 Magnesium AA phosphate와 AA palmitate의 2종류를 사용하였다. Magnesium AA phosphate는 친수성 용매에 용해되므로 용액기제를 대조군으로 하고 3%, 5% 및 10% 농도의 용액으로 만들었으며 AA palmitate는 지용성 용매에 용해되므로 연고기제를 대조군으로 3%, 5% 및 10%의 연고를 만들었다.

2) 실험방법

1. 실험군 분류

흑색마우스 양쪽 귀배부에 매일 오전 UVB를 100 mJ/cm²씩 10일간 조사한 후, 무작위로 8마리씩 나누

어서 8군으로 세분하고 용액기제, 3% 용액, 5% 용액 10% 용액, 연고기제, 3% 연고, 5% 연고, 10% 연고 각각을 각 군에 도포하였다.

2. 광학현미경 및 전자현미경 관찰

실험약물을 매일 2회 국소도포하고 1주, 3주, 5주 및 7주에 각 군당 2마리의 마우스를 에테르 마취하에 양쪽 귀에서 피부조직을 생검하였다.

광학현미경하에서 멜라닌세포 수를 측정하기 위하여 다음과 같이 split-DOPA염색을 하였다.

생검한 조직을 2N NaBr에 6시간 담근 후 진피로부터 표피를 분리시키고 0.1% levo-dihydroxyphenylalanine (L-DOPA) 용액에 37°C에서 1시간 incubation하고 용액을 바꾸어 8시간동안 다시 incubation한 후 10% formaline에 고정시켜서 alcohol과 xylene으로 탈수하였다. 기저세포층이 위로 오게 슬라이드에 봉입하여 광학현미경하에서 관찰하였다. 멜라닌세포수를 40배 시야에서 무작위로 10곳에서 DOPA양성세포를 세어서 산술평균을 구했으며 세포수/mm²단위로 환산하였다. 전자현미경 관찰을 위해서 생검한 조직절편을 2% glutaraldehyde phosphate 용액(pH 7.4)과 1% O₃O₄에 고정하고 무수 알콜로 탈수시킨 다음 Epon 812에 포매하고 Reichertjung ultracut로 초박절편을 만들고 uranyl acetate, lead citrate로 염색한 후 Hitachi H-500형 투과전자현미경으로 관찰하였다(탈색효과가 큰 10% 용액 및 10% 연고도포군에서 시행하였다).

실험성적

1) 광학현미경 소견

1. 용액제제 도포군에서의 멜라닌세포 수의 변화
도포기간에 따른 변화를 살펴보면 도포 1주에는 대조군(용액기제 도포군)은 멜라닌세포 수가 217.4 ± 24.5 이었으며, 3% 용액도포군은 220.0 ± 11.1 으로 대조군과의 유의한 차이를 보이지 않았다. 이에 비하여 5% 용액도포군과 10% 용액도포군은 각각 190.0 ± 32.7 과 165.0 ± 26.6 으로 대조군에 비하여 유의한 감소를 보였다 ($p < 0.05$). 도포 1주에는 10% 용액군이 멜라닌세포 수가 가장 많이 감소하였다(Table 1).

도포 3주에는 대조군의 멜라닌세포 수는 157.4 ± 19.1 이었고, 3% 용액군의 멜라닌세포 수는 175.5 ± 35.0 이었으며, 1주에서와 마찬가지로 대조군과의 차이는 없

Table 1. The number of epidermal melanocytes in magnesium ascorbic acid phosphate groups

Conc.	Week 1	Week 3	Week 5	Week 7
control	217.4± 24.5	157.4± 19.1	171.1± 15.4	137.9± 21.3
3%	220.0± 11.1	175.5± 35.0	143.2± 17.1*	161.6± 33.2
5%	190.0± 32.7*	148.1± 16.4*	163.3± 27.1*	181.2± 13.2
10%	165.0± 26.6*	126.0± 16.5*	147.4± 19.7*	139.5± 17.6

Values are mean±SD(/mm²)

*P<0.05 Magnesium ascorbic acid phosphate vs. control

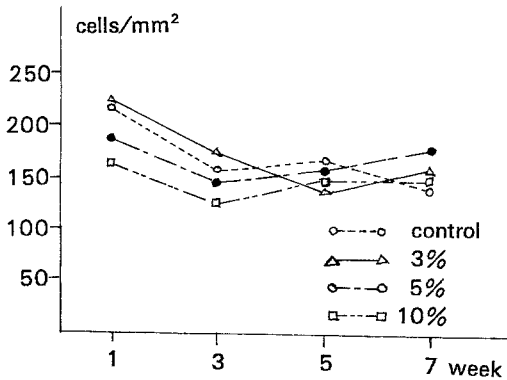


Fig. 1. The number of melanocytes in magnesium ascorbic acid phosphate groups.

었다. 5% 도포군과 10% 도포군도 각각 148.1±16.4와 126.0±16.5로 대조군에 비하여 유의있는 감소를 보였다. 도포 1주에서와 같이 10% 도포군에서 가장 많이 감소하였다(Table 1).

도포 5주에 멜라닌세포 수는 대조군에서 171.1±15.4이었으며 3% 도포군에서는 143.2±17.1이었다. 5% 도포군에서는 163.3±27.1이었으며, 10% 도포군에서는 147.4±19.7이었다. 따라서 도포 5주에는 3%와 10% 용액도포군만이 대조군에 비하여 유의있게 멜라닌 세포가 감소한 것을 볼 수 있으며 이들 중 3% 용액도포군에서 가장 많은 감소를 보였다(Table 1).

도포 7주에는 멜라닌세포 수가 대조군에서 137.8±21.3, 3% 용액군에서는 161.6±33.2이었으며, 5% 용액도포군에서는 181.2±13.2, 10% 용액도포군에서는 139.5±17.9이었다. 따라서 3%, 5% 및 10% 용액도포군 모두에서 대조군보다 멜라닌세포 수가 증가하였다.

이상 도포기간에 따른 변화를 종합해보면, 용액제제 도포군은 도포 1주부터 5%와 10% 도포군에서 감소를 보이기 시작하여 도포 3주에도 계속 감소하였으며, 3%

용액도포군은 도포 5주에 처음으로 유의있는 감소를 보였다. 또한 5%와 10% 도포군은 도포 3주에 가장 많은 감소를 보였다. 그러나 도포 7주에서는 3%, 5%, 10% 도포군 모두 유의한 감소를 보이지 않았다. 도포 1주에는 3%보다 5% 도포군에서 멜라닌세포가 유의있게 감소하였고 5%보다 10% 도포군에서 유의있게 감소하였다. 도포 3주에도 도포 1주와 마찬가지로 3%보다 5%도포군에서, 5%보다 10% 도포군에서 유의있는 감소를 보였다. 도포 5주에는 5%보다 10% 도포군에서 유의있는 감소를 보였다. 즉 도포 1주부터 3주까지는 농도가 증가할수록 멜라닌세포 수도 감소하였다(Table 1). 오직 도포 7주에만 멜라닌세포 수가 증가하였다.

농도에 따른 변화를 살펴보면 3% 용액도포군은 도포 1주에는 멜라닌세포 수가 220.0±11.1이었고 3주에는 175.5±35.0이었다. 5주에는 143.2±17.1로 감소하였으며 도포 7주에는 161.6±33.2로 다시 멜라닌세포 수가 증가하였다. 즉 3% 용액도포군은 멜라닌세포 수가 점차 감소하여 도포 5주에 대조군보다 유의있게 감소하였다(Table 1, Fig. 1). 5% 용액도포군은 도포 1주에는 멜라닌세포 수가 190.0±32.7이었으며, 도포 3주에는 148.1±16.4이었다. 즉, 도포 1주부터 현저한 감소를 보여 1주와 3주에 각각 대조군에 비하여 유의있게 감소하였다. 도포 5주에는 163.3±27.1있었고, 도포 7주에는 181.2±13.2로 도포 5주부터는 지속적인 도포에도 멜라닌세포 수가 증가하였다(Table 1, Fig. 1).

10% 용액도포군은 도포 1주에는 165.0±26.6이었고, 도포 3주에는 126.0±16.5이었다. 도포 5주에는 147.4±19.7이었으며 도포 7주에는 139.5±17.9로 5% 대조군에서와 같이 도포 1주부터 대조군에 비해 유의있는 감소를 보였고 도포 3주에 가장 많이 감소하였으나, 도포 5주까지 유의한 감소를 관찰할 수 있었다(Table 1, Fig. 1). 이상의 결과를 종합해 보면, 용액의 농도가

Table 2. The number of epidermal melanocytes in ascorbic acid palmitate groups

Conc.	Week	1	3	5	7
control		255.8± 28.6	177.2± 18.3	163.5± 21.0	149.1± 19.1
3%		198.7± 21.2*	155.7± 21.0*	167.7± 21.3	150.8± 14.9
5%		225.8± 35.6*	168.9± 14.6*	179.9± 20.3	154.7± 14.9
10%		168.9± 44.0*	185.3± 15.5	149.6± 21.7*	145.9± 25.0

Values are mean±SD(/mm²)

*P<0.05 Ascorbic acid palmitate vs. control

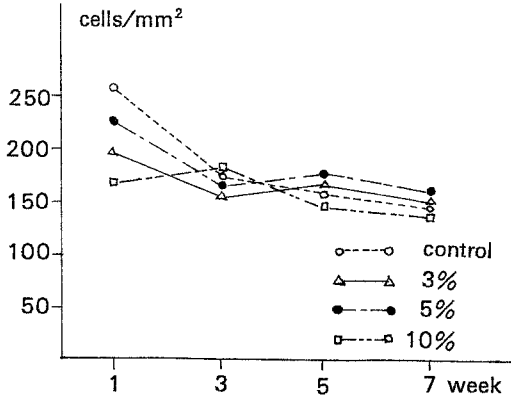


Fig. 2. The number of melanocytes in ascorbic acid palmitate groups.

증가할 수록 멜라닌세포 수가 더욱 감소했지만 고농도라 하더라도 도포 7주에는 대조군과 유의한 차이를 관찰할 수 없었다.

2. 연고제제 도포군에서의 멜라닌세포 수의 변화

도포기간에 따른 변화를 살펴 보면 도포 1주에는 대조군에서 멜라닌세포수는 255.8±28.6이며, 3%, 5%, 10% 도포군에서는 각각 198.7±21.2, 225.8±35.6, 168.9±44.0이었다. 따라서 도포 1주부터 연고도포군에서는 3%, 5%, 10% 도포군 모두에서 유의있는 감소를 보였다. 멜라닌세포 수는 10% 도포군에서 가장 많이 감소하였다(Table 2).

도포 3주에는 대조군에서는 177.2±18.3이었고, 3% 도포군에서는 155.7±21.0이었다. 5% 도포군은 168.9±14.6 10% 연고도포군은 185.3±15.5였다. 대조군에 비하여 유의있는 감소는 3%와 5% 도포군에서 관찰되었다. 10% 도포군은 도포 1주에 비하여 오히려 수가 증가함으로써 대조군보다 멜라닌세포 수가 많았다(Table 2).

도포 5주에는 대조군의 멜라닌세포수는 163.5±21.0이었으며, 3% 도포군에서는 167.7±21.3이었다. 5% 도포군에서는 179.9±20.3이었으며, 10% 도포군에서는 149.6±21.7이었다. 따라서 도포 5주에는 10% 도포군에서만 유의있는 멜라닌세포 수의 감소를 보였으며, 연고도포군 중 가장 많은 감소를 보였다.

도포 7주에는 대조군의 멜라닌세포수는 149.1±19.1이었고 3% 연고도포군의 멜라닌세포 수는 150.8±14.9이었다. 5% 도포군에서는 154.7±14.9이었고 10% 도포군에서는 145.9±25.0이었다. 따라서 3%와 5% 도포군에서는 도포 7주에 대조군보다 멜라닌세포 수가 많았으며, 10% 도포군에서는 대조군보다 수는 적으나 유의있는 감소를 보이지 않았다(Table 2).

이상의 결과를 종합해 보면, 도포 1주에는 3%, 5% 및 10% 연고도포군 모두에서, 도포 3주에는 3%와 5% 연고도포군에서, 도포 5주에는 10% 도포군에서만 대조군에 비하여 유의한 감소를 보였다. 즉 도포 1주부터 연고도포군 모두에서 현저한 멜라닌세포 수의 감소를 보였으며, 도포 3주 또는 도포 5주에 유의있는 감소를 보이며 용액도포군과 마찬가지로 도포 7주에는 멜라닌세포 수의 증가를 관찰할 수 있었다. 농도에 따른 변화를 살펴보면 3% 연고도포군에서는 도포 1주에 198.7±21.2이었고, 도포 3주에 155.7±21.0이었다. 도포 5주에는 167.7±21.3이었으며, 도포 7주에는 150.8±14.9이었다. 도포 1주에 대조군보다 유의있게 수적인 감소를 보였으며, 도포 3주에도 유의한 감소를 보였다. 전체 7주동안 도포 7주에 멜라닌세포 수가 가장 많이 감소하였으나, 이는 대조군과 비교해 볼 때 유의는 없었다. 또한 도포 1주에 현저한 감소를 보였으나 도포 3주, 5주 및 10주에는 멜라닌세포 수에 별다른 차이를 보이지 않았다(Table 2, Fig. 2).

5% 연고도포군의 멜라닌세포 수는 도포 1주에는

225.8±35.6이었고, 3주에는 168.9±14.6이었다. 도포 5주에는 179.9±20.3이었으며, 7주에는 154.7±14.9이었다. 즉 5% 연고도포군에서는 도포 1주와 3주에만 대조군에 비하여 유의있는 감소를 보였다(Table 2, Fig. 2).

10% 연고도포군에서는 도포 1주에는 멜라닌세포 수가 168.9±44.0이었으며, 도포 3주에는 185.3±15.5이었다. 도포 5주에는 149.6±21.7이었으며, 도포 7주에는 145.9±25.0이었다. 따라서 10% 연고도포군에서는 도포 1주와 도포 5주에 대조군에 비하여 유의있는 감소를 보였다. 도포 1주에는 10% 도포군이 3%와 5% 도포군보다 멜라닌세포 수의 현저한 감소를 보였으나 도포 3주에는 수가 증가하였으며, 도포 5주에는 연고도포군 중 10% 도포군에서 가장 많은 감소를 보였다(Table 2, Fig. 2).

이상의 결과를 종합해 보면, 3% 연고도포군이 5% 도포군보다 멜라닌세포 수가 더 많이 감소하였으며, 10% 연고 도포군은 1주와 5주에는 멜라닌세포 수의 현저한 감소가 관찰되나 도포 3주에는 다른 농도의

도포군보다 오히려 수가 증가하였다. 따라서 연고의 농도와 멜라닌세포 수와의 연관성은 찾아볼 수 없었다.

2) 전자현미경 소견

10% 연고 1주 도포군에서는 대조군에 비하여 멜라닌소체가 감소하였으며, 멜라닌이 침착된 주기성의 층판을 보이는 stage II와 stage III의 멜라닌소체를 관찰할 수 있었다(Fig. 4a). 3주 도포군에서는 감소된 멜라닌소체와 파손된 세포막을 보였고 주위의 각질세포와의 경계가 불분명해지며 다수의 공포와 괴사된 부분을 관찰할 수 있었다(Fig. 4b). 도포 5주와 7주에는 표본 내에서 멜라닌세포를 거의 찾을 수 없었으며, 7주 도포군에서는 멜라닌이 불규칙하게 치우쳐서 침착되어 있거나 전자밀도가 높은 등근 소체와 이중막을 보이는 변형된 멜라닌소체가 보였고, 내부구조가 소실되고 심한 종창을 보이는 미토콘드리아가 보였다(Fig. 4c).

10% 용액도포군은 10% 연고도포군과 유사한 전자현미경 소견을 보이며 7주 도포군에서는 세포질내 막성 소기관의 종창과 파괴가 보이고, 불규칙하게 비

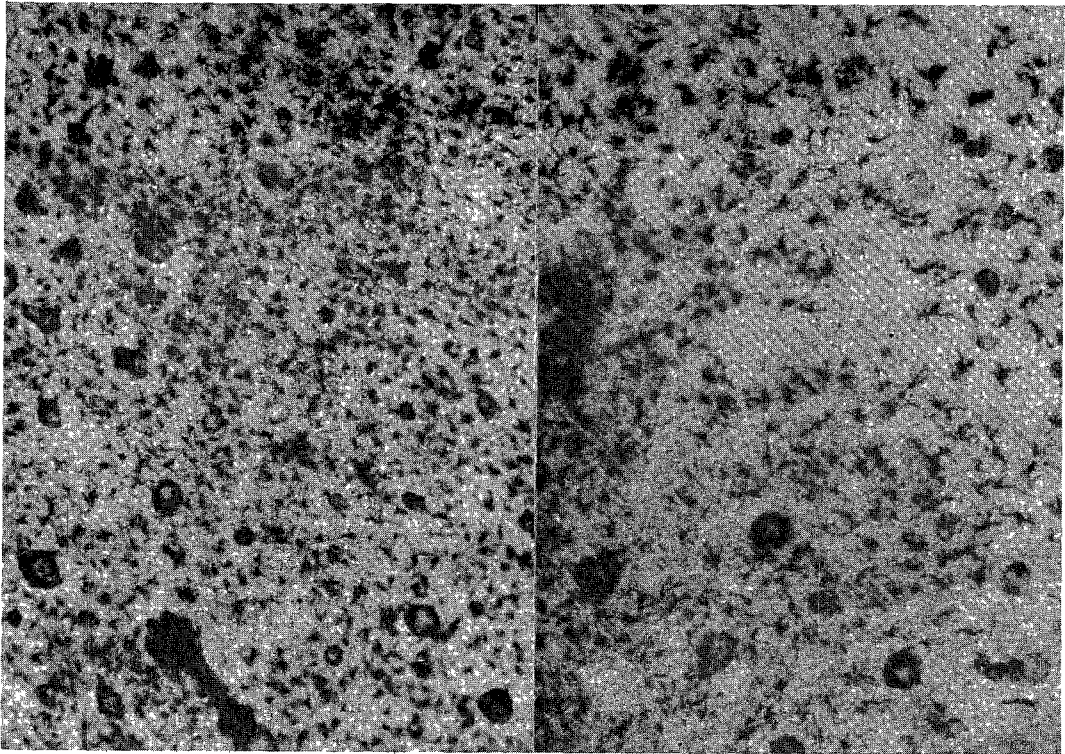


Fig. 3. Light microscopic findings of DOPA positive melanocytes of the lotion base (a) and 10% lotion group (b) at 5th week (DOPA×100).

대칭적으로 침착된 멜라닌과 편축된 층판을 갖는 멜라닌소체와 거대멜라닌소체를 볼 수 있었다(Fig. 4d). 결론적으로 전자현미경 소견상 10% 용액과 연고도포군 모두에서 도포 1주부터 도포 7주까지 멜라닌소체수의 감소가 관찰되었으며 변형된 멜라닌소체가 7주까지 관찰되었다.

고 찰

건강인에서 일광에 계속적으로 노출되지 않는 피부는 단위면적(mm²)당 약 1,500개의 멜라닌세포가 존재하며⁴⁾, 멜라닌세포의 크기, 모양 및 수는 유전적으로

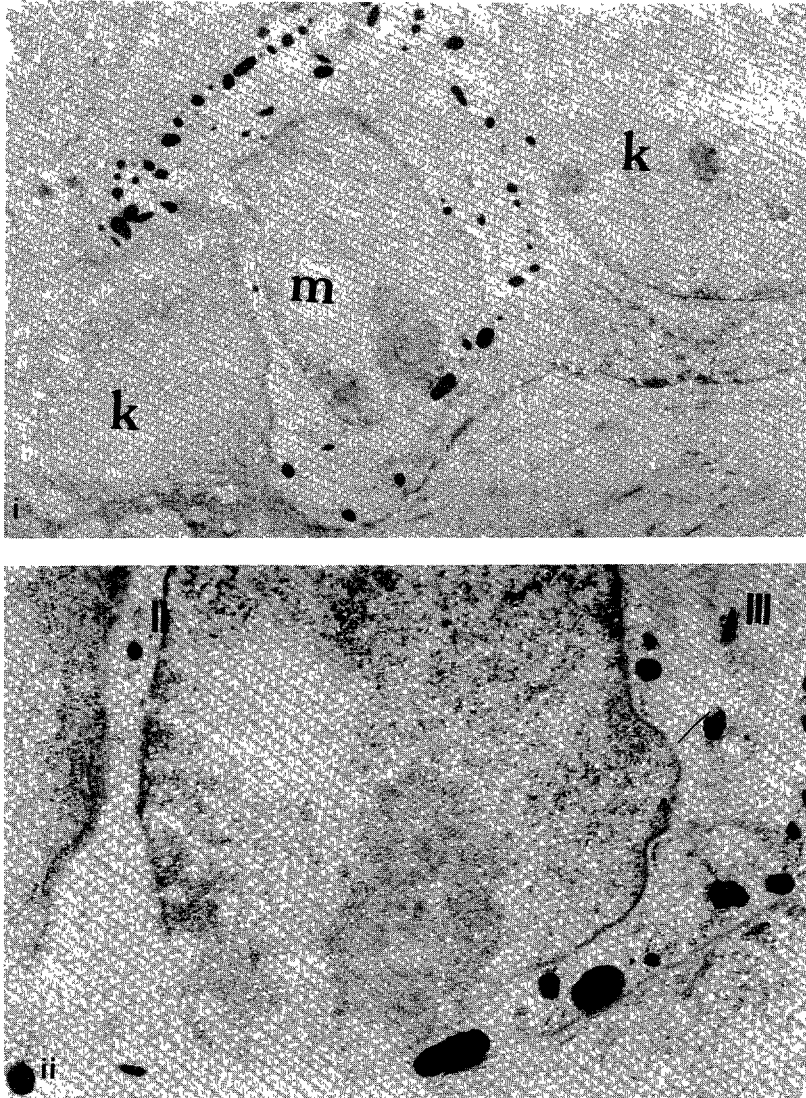


Fig. 4a. Electron microscopic finding of melanocyte 10% cream, 1 week, showing decrease of the melanosomes in number and relatively increase of the stage II and stage III melanosomes in number. k : keratinocyte, m : melanocyte, II : stage II melanosome, III : stage III melanosome (i : $\times 4,000$, ii : $\times 10,000$).

결정된다¹⁾. 피부색 결정에 주된 인자인 멜라닌소체는 tyrosinase, 단백질, 소체막 및 보조효소로 구성되며⁵⁾, 멜라닌화 정도와 tyrosinase 활성도에 따라 4단계로 나누어진다. Stage I 멜라닌소체의 비율도 12.3%이며⁶⁾, 거대멜라닌소체는 멜라닌세포내 멜라닌소체의 자가탐식에 의한 것이다⁷⁾.

멜라닌도 산화된 비교적 짙은 멜라닌과 수용성의

환원된 옅은 멜라닌으로 나뉜다³⁾.

멜라닌형성의 주된 요소인 tyrosinase는 4종류의 동위효소로 나뉘며 이 중에 T₁과 T₂는 수용성으로 멜라닌세포의 구성 단백질과 결합한다. 또한 DOPA염색은 tyrosinase 활동성에 대한 간접적인 관찰방법이다⁸⁾.

멜라닌 형성은 여러 인자에 의하여 영향을 받으며 멜라닌 자극호르몬이나 에스트로젠은 glutathione re-

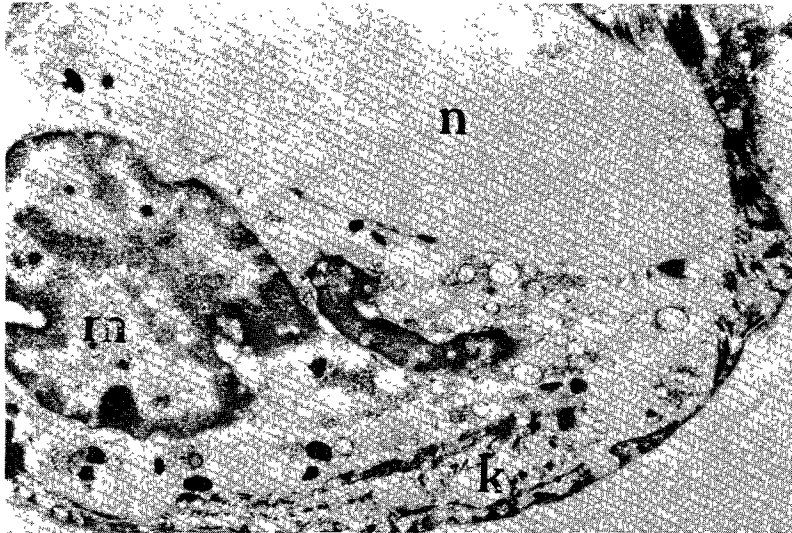


Fig. 4b. Electron microscopic finding of melanocyte 10% cream, 3 weeks, showing vacuolization of the cytoplasm and marked decrease of melanosome in number, k : keratinocyte, m : melanocyte, n : nucleus ($\times 6,000$).

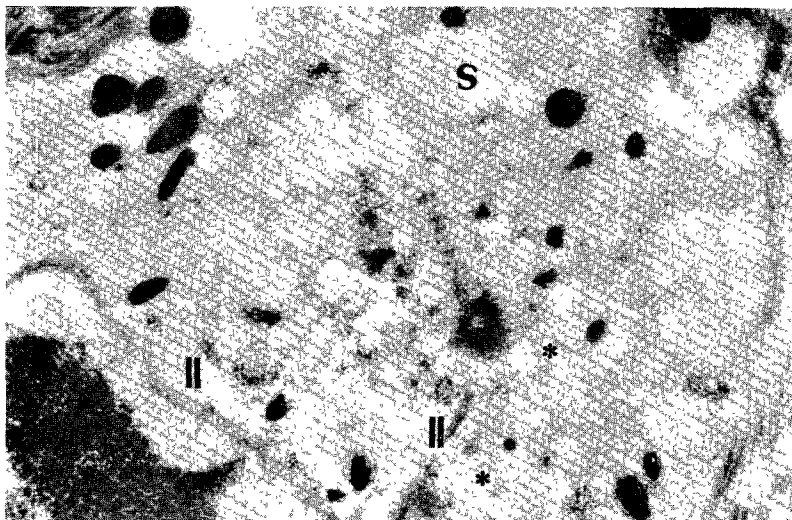


Fig. 4c. Electron microscopic finding of melanocyte 10% cream, 7 weeks, showing abnormal melanization of melanosomes, swelling and loss of internal structure of mitochondria. asterisk : abnormal melanosome with double membrane and eccentrically deposited melanin, s : swollen mitochondria ($\times 12,000$).

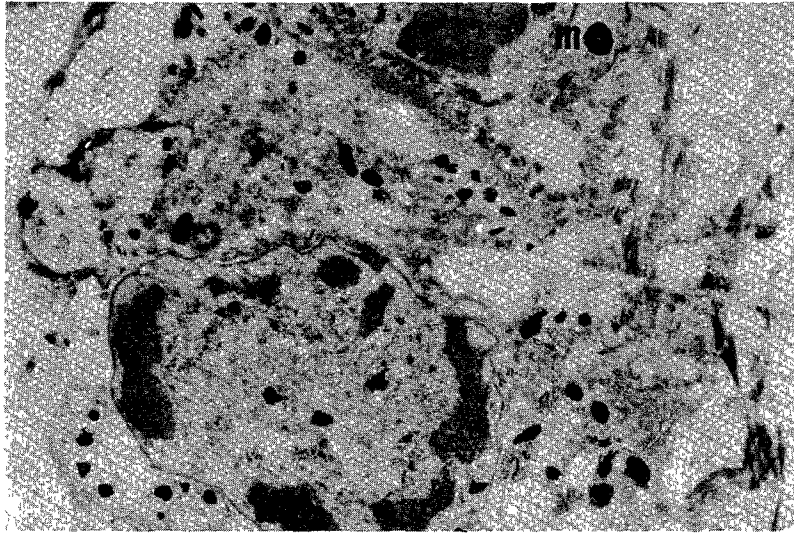


Fig. 4d. Electron microscopic finding of melanocyte 10% lotion, 7 weeks, showing abnormal melanization of melanosomes. m : macromelanosome, asterisk : abnormal melanosome showing myeline structure ($\times 6,000$).

ductase 활성을 억제시키므로써 색소침착이 증가된다⁹⁾. 피부의 염증반응은 glutathione의 산화, 멜라닌세포 수 및 tyrosinase 활성도의 증가를 통해 멜라닌 형성이 항진된다¹⁰⁾. 일광노출 후 멜라닌세포의 세포분열, 수 상돌기 수의 증가, 거대멜라닌세포가 관찰됐다¹¹⁾¹²⁾. 자외선 조사후, 멜라닌색소의 증가는 주로 멜라닌세포내 tyrosinase 활성화와 활동성 멜라닌세포 수의 증가에 기인하여¹³⁾¹⁴⁾¹⁵⁾, 자외선 반복노출 후 백인의 멜라닌세포에서는 Stage II, III 멜라닌소체 수가 증가하였다¹⁶⁾. 1979년 Rosdahl은 C57Bl 마우스에 자외선을 일정량 반복조사할 경우, 증가된 DOPA양성 멜라닌세포 수가 자외선조사 중단후 20주까지 지속됨을 보고하였으며, 이러한 결과에 의거하여 논자는 7주까지 실험하였다. 또한 자외선으로 활성화된 멜라닌세포에 탈색소제제가 미치는 영향을 관찰하고자 C57Bl 마우스에 UVB 조사하고 발모에 의한 멜라닌세포 수의 증가를 피하기 위하여 비교적 털이 적은 귀배부에 AA를 국소도포하였다.

피부의 탈색효과는 tyrosinase에 의하여 타이로신에서 형성된 멜라닌이 멜라닌소체에 침착하고 멜라닌세포내에서 멜라닌소체의 수상돌기로의 이동 및 멜라닌소체의 각질세포로의 이동하는 세 과정 중 한 과정을 차단시킴으로써 가능하다¹⁷⁾.

탈색소제제로서는 수은제제, 페놀화합물, 황화수소화합물, 하이드로퀴논, azelaic acid등이 있다. 수은제

제는 tyrosinase의 구리이온과 경쟁적 억제작용은 한다²⁾.

페놀화합물은 과산화효소반응에서 해당량(equivalent)을 환원시킴으로써 자유기(free radical)가 발생하며 이로 인한 세포 독성작용으로 탈색효과를 가져온다¹⁸⁾. 황화수소화합물은 dopaquinone에 첨가되는 경우, thiol유도산물인 cysteinyl dopa를 형성하므로써 멜라닌형성을 억제하는 것으로 추정되며¹⁹⁾, 한 등²⁰⁾의 전자현미경 관찰에서는 전자밀도가 높고 내부구조를 보이지 않으며, tyrosinase 활성도는 매우 낮은 stage IV 멜라닌소체의 비율이 감소됨이 보고되었다.

하이드로퀴논은 도포 결과 세가지 형의 멜라닌세포를 관찰할 수 있음이 보고되었다²¹⁾. 첫째, 종창된 외측막과 편심적으로 침착된 멜라닌과 불규칙하고 붕괴된 층판을 보이는 멜라닌소체를 갖는 멜라닌세포이며, 둘째로 감소된 멜라닌소체의 형성과 수소상(myeline)의 파립이 보이며, 세째는 세포질의 공포화와 막성구조물의 종창 등 변성된 멜라닌세포를 볼 수 있었다. 이 보고에서는 하이드로퀴논에 의한 멜라닌의 이상침착의 원인을 세가지로 추측하였다. 첫째, tyrosinase에 대한 경쟁적 억제작용, 둘째로 멜라닌형성 중간산물과 반응하므로써 그 이상의 멜라닌침착을 방해하거나, 세째는 멜라닌 형성과정에서 생산된 자유기(free radical)의 발생으로 보았다.

Tyrosinase의 경쟁적 억제제인 C₉ dicarboxylic acid

(Azelaic acid)를 국소도포한 결과, 대조군에 비해 표피 멜라닌세포 수, 크기, 둘레길이가 유의한 정도로 감소하였으며²²⁾, 전자현미경상 멜라닌세포내 미토콘드리아의 종창 및 변성과 세포질내 지질축적으로 세포의 죽음을 초래함을 보고하였다²³⁾²⁴⁾.

도코페롤, 타치온과 함께 항산화제²⁵⁾를 사용되어 온 AA의 탈색효과를 DOPA양성 멜라닌세포 수와 전자현미경을 통하여 관찰한 보고는 없었던 바, 본 실험을 통하여 지금까지 알려져 온 AA의 작용기전을 광학 및 전자현미경을 통하여 관찰하였다.

AA는 환원된 멜라닌의 형성을 통하여 탈색을 유발하며, 또한 산성 배지에서 타이로신에서부터 DOPA로의 산화과정을 촉진시키는 반면, DOPA가 dopaquinone로의 과정을 일시적으로 억제함으로 DOPA의 축적을 가져온다³⁾²⁾²⁶⁾. 1980년 Tomita 등²⁷⁾의 보고에서 tyrosinase는 멜라닌의 형성과정 중 멜라닌소체내에서 불활성화되는 것과, AA를 첨가하였을 때 불활성화가 증진됨을 관찰하였다.

본 실험에서 AA 국소도포는 멜라닌 세포 수와 멜라닌소체 수의 감소, stage IV 멜라닌소체 비율의 감소, 세포질내 소기관의 변화를 보였다. 이것은 멜라닌세포의 구성단백과 결합하는 tyrosinase가 AA에 의하여 불활성화에는 영향을 미치지 못하나 멜라닌세포에 독성을 초래할 수 있으므로 AA의 자유산소기 발생여부는 좀 더 연구되어야 할 것으로 사료된다.

용액도포군이 연고도포군에 비하여 멜라닌세포 수의 유의한 감소를 보인 것은 용액도포군은 친수성기체에 사용하였으므로 수용성 환원멜라닌이 좀더 분해되기 때문이며 연고는 지용성기체에 사용하였으므로 인체의 피부보다 얇은 흑색마우스의 피부가 자극을 받아 멜라닌세포 수의 증가를 초래하였다고 생각된다.

7주 도포군에서의 멜라닌세포 수의 증가는 계속된 자극으로 인한 표피의 염증변화에 기인한 것인지는 단언할 수 없다.

결 론

흑색마우스 64마리의 양쪽 귀배부에 UVB를 매일 100mJ/cm²씩 10일간 조사하여 멜라닌 형성을 증가시킨 후 용액도포군과 연고 도포군으로 나누어 이를 각각 3%, 5%, 10%로 세분하여 1일 2회 AA를 국소도포하였다. 도포 1주, 3주, 5주 및 7주에 광학 및 전자현미경

관찰을 위하여 농도별로 각각 2마리의 마우스 양쪽 귀배부를 생검하여 다음과 같은 성적을 얻었다.

1) 3% 용액도포군을 제외한 모든 AA 도포군에서 DOPA 양성 멜라닌세포수가 도포 1주부터 대조군에 비하여 유의있게 감소하였다($p < 0.05$).

2) 용액도포군은 농도가 증가함에 따라 멜라닌세포 수가 감소하였다.

3) 5% 용액도포군은 5% 연고도포군에 비하여 멜라닌세포 수가 유의있게 감소하였다.

4) 전자현미경 소견상 10% 도포군 모두에서 도포 1주부터 도포 7주까지 멜라닌소체의 수 및 stage IV 멜라닌소체의 비율이 감소하였다.

이상의 결과로 AA가 일시적으로 멜라닌세포 수, 멜라닌소체 수를 감소시키며, 불규칙한 멜라닌색소침착과 미토콘드리아의 종창을 초래하므로 탈색효과를 나타냄을 알았다.

References

- 1) Quevedo WC, Fitzpatrick TB, Szabo G, Jimbow K : *Dermatology in general medicine*. 3rd ed, New York, McGrawhill 1987 : pp 224-258
- 2) Denton CR, Lerner AB, Fitzpatrick TB : *Inhibition of melanin formation by chemical agents*. *J Invest Dermatol* 1952 : 18 : 119
- 3) Rothman S : *In vitro studies on pigmentation*. *J Invest Dermatol* 1942 : 5 : 67
- 4) Rosdahl IK, Swanbeck G : *Effect of PUVA on the epidermal melanocytes population in psoriatic patients*. *Acta Dermatovener (Stockholm)* 1980 : 60 : 21
- 5) Reek K : *Increased size of stage II and III melanosomes during PUVA therapy*. *Acta Dermatovener (Stockholm)* 1983 : 63 : 15
- 6) Mishima Y, Imokawa G : *Selective aberration and pigment loss in melanosomes of malignant melanoma cells in vitro by glycosylation inhibitors, pre-melanosomes as glycoprotein*. *J Invest Dermatol* 1983 : 81 : 106
- 7) Ito M, Hashimoto K, Organisciak DT : *Ultrastructural, histochemical and biochemical studies of the melanin metabolism in eye and skin of pallid mice*. *J Invest Dermatol* 1982 : 78 : 414
- 8) hearing VJ, Korner AM, Pawlek JM : *New regula-*

- tors of melanogenesis are associated with purified tyrosinase isoenzymes. *J Invest Dermatol* 1982 : 79 : 16
- 9) Halprin KM, Ohkawara A : *Glutathione and human pigmentation. Arch Dermatol* 1966 : 94 : 355
 - 10) Papa CM, Kligman AM : *The behavior of melanocytes in inflammation. J Invest Dermatol* 1965 : 45 : 465
 - 11) Rosdahl IK, Szabo G : *Thymidine labelling of epidermal melanocytes in UV irradiated skin. Acta Dermatovener(Stockholm)* 1976 : 56 : 159
 - 12) Rosdahl IK : *Melanocyte mitosis in UVB irradiated mouse skin. Acta Dermatovener(Stockholm)* 1978 : 58 : 217
 - 13) Snell RS : *The effect of ultraviolet irradiation on melanogenesis. J Invest Dermatol* 1963 : 40 : 127
 - 14) Pathak MA, Sinesi SJ, Szabo G : *The effect of a single dose of ultraviolet radiation on epidermal melanocytes. J Invest Dermatol* 1965 : 45 : 520
 - 15) Quevedo WC, Szabo G, Virks J, Sinesi SJ : *Melanocytes population in UV irradiated human skin. J Invest Dermatol* 1965 : 45 : 295
 - 16) Szabo G, Gerald AB, Pathak MA, Fitzpatrick TB : *Racial differences in human pigmentation on the ultrastructural level. J Cell Biol* 1968 : 39 : 132 a
 - 17) McGuire J, Hendee J : *Biochemical basis for depigmentation of skin by phenolic germicides. J Invest Dermatol* 1917 : 57 : 256
 - 18) Frenk E, Ott F : *Evaluation of the toxicity of the monoethyl ether of hydroquinone for mammalian melanocytes and melanoma cells. J Invest Dermatol* 1971 : 56 : 287
 - 19) Seiji M, Yoshida T, Itakara H, Irimajiri T : *Inhibition of melanin formation by sulfhydryl compounds. J Invest Dermatol* 1969 : 52 : 280
 - 20) 한경원 · 명기범 · 함정희 · 국홍일 : 황화수소화합물이 자외선을 조사한 흑색마우스의 표피 멜라닌 세포내 멜라닌소체에 형태에 미치는 영향. 대한 피부과학회지 1987 : 25 : 253
 - 21) Jimbow K, Obata H, Pathak MA, Fitzpatrick TB : *Mchanism of depigmentation by hydroquinone. J Invest Dermatol* 1974 : 62 : 436
 - 22) 김영근 · 김홍직 · 박요기 · 이성락 : 흑색마우스에서 자외선을 조사한 표피색소세포에 탈색소제제가 미치는 영향. 연세의대논문집 1985 : 18 : 382
 - 23) Hu F, Mah K, Teramura JD : *Effect of dicarboxylic acids on normal and malignant melanocytes in culture. Br J Dermatol*, 1986 : 114 : 117
 - 24) Robins EJ, Brethnach AS, Bennett D : *Ultrastructural observation on the effect of azelaic on normal human melanocytes and a human melanoma cell line in tissue culture. Br J Dermatol* 1985 : 113 : 687
 - 25) Riley PA, Sawyer B, Wolff WA : *The melanocytotoxic action of 4-hydroxyanisole. J Invest Dermatol* 1875 : 64 : 86
 - 26) lerner AB, Hendee JR : *A rapid histochemical that for mammalian tyrosinase. J Invest Dermatol* 1973 : 60 : 16
 - 27) Tomita Y Hariu A, Mizuno C, Seiji M : *Inactivation of tyrosinase by Dopa. J Invest Dermatol* 1980 : 75 : 379