

자외선 B 조사 마우스에서 피부손상에 대한 보중익기탕의 효과

김중선¹ · 이해준² · 송명섭¹ · 서홍식¹ · 문창중¹ · 김종춘¹ · 배춘식¹ · 조성기³ · 김성호^{1,*}

¹전남대학교 수의과대학 및 동물의학연구소, ²한국원자력의학원, ³한국원자력연구원 정읍방사선과학연구소
(게재승인: 2009년 2월 2일)

The effect of Bu-Zhong-Yi-Qi-Tang on ultraviolet B-induced skin damages in mouse

Joong-Sun Kim¹, Hae-June Lee², Myoung-Sub Song¹, Heung-Sik Seo¹, Changjong Moon¹,
Jong-Choon Kim¹, Chun-Sik Bae¹, Sung-Kee Jo³, Sung-Ho Kim^{1,*}

¹College of Veterinary Medicine and Institute of Veterinary Science, Chonnam National University,
Gwangju 500-757, Korea

²Korea Institute of Radiological & Medical Science, Seoul 139-240, Korea

³Advanced Radiation Technology Institute, KAERI, Jeongseup 580-185, Korea

(Accepted: February 2, 2009)

Abstract : The effect of Bu-Zhong-Yi-Qi-Tang (BZYQT) on the changes of ultraviolet (UV) light B radiation-induced apoptotic sunburn cell (SBC) and epidermal ATPase-positive dendritic cell (DC) in SKH1-hr or ICR mouse were investigated. The mice were treated with UVB (200 mJ/cm²) and were sacrificed 24 h later. BZYQT (50 mg/kg of body weight) or vehicle (saline) was given i.p. at 36 and 12 h before irradiation, and 30 min after irradiation or BZYQT cream (0.2%) or cream base (vehicle) was topically treated at 24 h and 15 min before irradiation, and immediately after irradiation. The skin of SKH1-hr mouse prepared from the back of untreated mice exhibited about 0.3 SBC/cm length of epidermis, and 24 h after UV irradiation, the applied areas show an increased number of SBCs. But the frequency of UVB-induced SBC formation was reduced by intraperitoneal injection of BZYQT extract ($p < 0.01$). The numbers of DC in normal ICR mouse were 628.00 ± 51.56 or 663.20 ± 62.58 per mm² of ear epidermis. By 1 day after UVB treatment, the number of ATPase-positive cells/mm² were decreased by 39.0% or 27.1% in i.p. or topical application group with vehicle. Treatment of BZYQT was associated with increase of 33.9% in i.p. group ($p < 0.05$) or 2.7% in topical application group in the number of ATPase positive cells compared with the irradiation control group. The results presented herein that BZYQT administration could reduce the extent of skin damages produced by UVB.

Keywords : ATPase-positive dendritic cell, Bu-Zhong-Yi-Qi-Tang, sunburn cell, ultraviolet B

서 론

일반적으로 자외선(Ultraviolet, UV)의 영역은 크게 UVA, UVB, 그리고 UVC의 3부분으로 나뉘어 있는데 각각 명백한 생물학적 특성을 가지고 있으며 파장이 짧을수록 광에너지의 양은 증가되고, 이는 구성분자간의 결합을 파괴할 정도로 커서 생체에 많은 변화를 가져온

다. UVC(200-280 nm)는 오존층에 의해 대부분 흡수되고, UVA(320-400 nm) 및 UVB(280-320 nm)만이 지표에 도달되며 UV중 UVB는 1-10%를 차지한다. 피부에 대한 파장별 UV의 영향을 살펴보면, UVA는 진피의 유두층, 그물층까지 영향을 미치고 탄력소와 아교질의 붕괴로 탄력감소, 조기노화, 모세혈관의 확장 및 손상으로 피부의 기저층을 와해시키며, 피부암 발생 가능성도 가진

*Corresponding author: Sung-ho Kim

College of Veterinary Medicine, Chonnam National University, Gwangju 500-757, Korea
[Tel: +82-62-530-2837, Fax: +82-62-530-2841, E-mail: shokim@chonnam.ac.kr]

다. UVB는 진피 상층부까지 도달하고, 급속한 화상이나 홍반을 일으킨다. 더욱 진행되면 멜라닌 색소 형성, 색소 침착으로 선전이 일어나고, 손상된 피부세포를 수복하여 각화 이상을 일으키게 되는데 각질층의 수분감소와 만성적으로 노출되면 주름 및 피부암을 유발한다 [2, 27]. UVB는 일명 ‘burning ray’로 알려져 있으며 UV의 약 4-5%에 해당되어 태양광의 적은 부분에 해당되지만 UVA에 비하여 1,000배 이상의 일광화상을 일으키는 가장 강력한 요소이다. 또한 UVA에 비하여 유전독성이 강하고 주로 표피 기저세포층에 작용하는 것으로 알려져 있다 [34].

UV 조사에 의한 표피의 손상은 2시간 이내에 시작된다. 가장 초기의 손상지표는 keratinosome의 감소이며, 조사 후 16-18시간에 세포내 부종(intracellular edema)이 일어나고 30-48시간에 세포사이 부종(intercellular edema)이 일어나며 주위 각질세포의 손상으로 발전된다. 일광화상세포(sunburn cell, SBC)는 부종이 관찰되기 직전에 잠시 나타나는 것으로 알려져 있다 [26]. SBC는 apoptosis의 가장 초기 발생의 예 중 한가지로 간주되며 [5], UV에 의해 유도된 apoptotic cell은 주위 각질세포에 의해 신속하게 탐식된다 [30]. 큰포식세포 또한 탐식에 참여하고 UVB 조사 후 피부내 수도 급격히 증가된다 [6]. 또한 피부는 항원제시세포의 역할 및 T세포, T세포의 림프구와 교통하는 표피가지세포(dendritic cell, DC)를 가지고 있으며 이외 각질세포의 일부와 함께 피부 관련 림프조직(skin-associated lymphoid tissue)을 형성한다. UV는 이와 같은 조직체계에 영향을 미쳐 면역기능 억제반응을 초래한다. 이러한 피부 및 전신 면역억제는 궁극적으로 피부암 발생위험을 높이는 원인이 된다 [27].

SBC의 확인은 통상적인 hematoxylin-eosin염색(H&E) 및 TUNEL염색이 시행되고 있으며, 표피 DC를 인지할 수 있는 방법으로 Juhlin과 Shelly [16]에 의한 ATPase의 조직화학적 염색과 Greveson 등 [8]에 의해 보고된 avidin-biotin-peroxidase complex를 이용한 Ia 항원에 대한 면역과산화효소 염색법이 쓰이고 있다.

최근 평균수명의 연장과 레저활동의 증가로 인한 UV 노출의 기회증가와 더불어 환경오염에 의한 오존층 파괴 및 이에 따른 지표도달 UV의 절대량 증가로 UV에 의한 피부 변화가 증가되고 있는 추세이다 [27]. 본 연구에서는 UV에 의한 피부손상의 지표로서 SBC의 발생과 DC의 변화를 관찰하고, 각종 생리활성 효과 [13-15, 22, 25, 28] 및 일부 전리방사선 장해경감 효과가 보고되었으나 [19] 자외선에 의한 피부손상에 대한 연구는 전무한 보중익기탕(Bu-Zhong-Yi-Qi-Tang)의 효과를 관찰하였다.

재료 및 방법

실험동물

SBC관찰 시험을 위하여 일본 Charles River사에서 구입한 7-8주령의 성숙 hairless 마우스(SKH1-hr)를 사용하였고, DC관찰 시험에는 미국NIH에서 분양받아 원자력 의학원에서 사육한 ICR마우스를 사용하였다. 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 소등) 및 조도 200-300 lux로 설정된 시설에서 수행하였다. 순화기간을 거쳐 polycarbonate 사육상자에 3마리씩 수용하였고 실험동물용 고형사료(삼양사료, 한국)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 취급하였으며 동물실험은 전남대학교 수의과대학 동물실험윤리위원회(Institutional Animal Care and Use Committee)의 승인하에 수행되었다.

자외선조사

UVB 조사는 광원으로 UVB lamp GL20SE(Sankyo denki, Japan)를 이용하여 제작한 UVB 조사기를 사용하였으며 광량은 Solarmeter(Solartech, USA)로 측정하였다. 대조군을 제외한 실험군 마우스 등쪽 피부에 UVB를 0.5 mW/sec 의 강도로 200 mJ/cm^2 을 1회 조사하고 24시간 후에 변화를 관찰하였다.

보중익기탕 시료제조 및 투여

보중익기탕은 구성 단미 생약을 시중에서 구입하여 순천대학교 한약자원학과에서 분류학적 동정을 실시한 후 시료로 사용하였다. 보중익기탕은 한의서인 화제국방의 원방을 적용하여 황기 45g, 감초, 인삼, 백출 각 30g, 당귀, 진피 각 15g과 승마, 시호 각 9g씩 혼합하였다. 각 단미생약을 세절하여, 건조중량 100g 당 증류수 1,000ml의 비율로 혼합하고 80°C 수조에서 8시간 중탕 추출한 뒤 고형분을 제거한 현탁액을 1,000g에서 30분간 원심분리시키고 상층액을 여과하여 감압농축하고 동결 건조시켰다. 북강내 투여군에서는 보중익기탕을 방사선 조사 전 36, 12시간 및 방사선 조사 후 30분에 체중 kg 당 50mg의 양으로 3회 주사하였다. 피부도포시험은 연고기재(한국콜마, 한국)에 보중익기탕을 0.2%로 혼합 제조하여 UV 조사 전 24시간, 15분 및 UV 조사 후 즉시 도포하였다. 시료의 도포부위는 SBC변화 실험군은 마우스 등쪽 피부의 중앙을 기준으로 가로 3cm, 세로 4cm의 범위를 적용하였고, DC변화 실험군은 귀

등쪽 피부에 도포하였으며, 얇은 막을 형성할 정도로 시행하였고 여분의 연고는 가능한 제거하였다.

부검 및 현미경적 검사

UV 조사 후 24시간에 부검을 실시하였다. SBC 관찰 실험군은 마우스의 등쪽 중양을 기준으로 가로 2 cm, 세로 3 cm 범위의 피부를 채취하고 현미경 표본제작시 정확한 횡단면을 얻기 위하여 피부조직을 두터운 종이에 부착하고 10% 중성포르말린액에 고정하였다. 고정된 조직은 근육과 지방을 제거하고 적당한 두께로 자른 후 마리당 3-4개씩 원통모양으로 감아 통상적인 방법에 따라 파라핀 포매, 절편을 제작하여 통상적인 방법으로 H&E 및 TUNEL(APOPTAG; Oncor, USA) 염색을 실시하였다. 현미경 400배 배율로 20 시야에서 나타나는 SBC의 수를 측정하고 cm당 수로 환산하였다. DC 관찰실험군은 마우스의 양쪽 귀를 등쪽과 배쪽 피부로 분리한 후 등쪽의 진피쪽이 테잎의 접착면을 향하도록 투명 테잎에 표피를 부착시켰다. ATPase 염색을 실시하였으며 간단히 기술하면, 37°C buffered EDTA 용액에서 2시간 동안 처리 후 포셉으로 진피부분을 조심스럽게 제거하여 표피를 분리한 후 조직을 생리식염수로 세척한 다음 4°C cacodylate buffered formaldehyde solution에 20분 동안 고정시켰다. 고정 후 세척한 표피층을 37°C 수조에서 5% magnesium sulfate 및 2% lead nitrate가 포함된 ATPase 용액에 2시간 반응하고 5% amomnium sulfide 용액에 실온에서 3분간 발색시켜 glycerol에 봉입하여 현미경으로 검경하였다. 현미경 400배 시야에서 눈금이 있는 렌즈로 10시야를 측정하고 mm² 당 세포수로 환산하였다.

통계분석

모든 성적은 평균 및 표준편차로 표시하였으며, 통계 분석은 Graph PAD In Plot 프로그램(Graph PAD software, USA)을 사용하였다.

결 과

SBC발생에 대한 효과

복강내 투여실험과 피부도포실험에서 정상대조군에서는 각각 0.31개 및 0.25개의 SBC가 관찰되었으며, UVB 조사에 따라 H&E 염색에서 농축된 핵과 강한 산성호성의 세포질을 특징으로 하는 SBC가 각각 74.6개 및 60.8개로 급격히 증가되었으며 TUNEL염색에서 양성세포로 나타났다. 평균치를 기준으로, 보중익기탕 복강주사군은 UV조사대조군에 비하여 65.8% 감소를 보여 통계적 유의성을 나타냈으며($p < 0.01$), 피부도포군은 16.8% 감소하였으나 개체차에 따라 유의성은 없었다(Table 1).

Table 1. Effect of intraperitoneal injection or topical application of Bu-Zhong-Yi-Qi-Tang (BZYQT) on UVB-induced increases in apoptotic sunburn cells

Experimental group	Number of sunburn cells per cm length of epidermis (mean ± SD)
Normal control	0.31 ± 0.36
Radiation control [†]	74.57 ± 10.74
BZYQT + radiation + BZYQT [†]	25.53 ± 8.08*
Normal control	0.25 ± 0.21
Radiation control [‡]	60.77 ± 13.49
BZYQT + radiation + BZYQT [‡]	50.63 ± 10.42

The SKH1-hr mice (n = 6) were treated with UVB (200 mJ/cm²) and were sacrificed 24 h later. * $p < 0.01$ as compared with radiation control group. [†]Bu-Zhong-Yi-Qi-Tang (50 mg/kg of body weight) or saline (vehicle) was given i.p. at 36 and 12 h before irradiation, and 30 min after irradiation. [‡]Bu-Zhong-Yi-Qi-Tang cream (0.2%) or cream base (vehicle) was topically treated at 24 h and 15 min before irradiation, and immediately after irradiation.

Table 2. Effect of intraperitoneal injection or topical application of Bu-Zhong-Yi-Qi-Tang (BZYQT) on UVB-induced decreases in ATPase-positive dendritic cell (DC)

Experimental group	Number of DC per mm ² of epidermis (mean ± SD)
Normal control	628.00 ± 51.56
Radiation control [†]	383.17 ± 70.36
BZYQT + radiation + BZYQT [†]	513.00 ± 93.14*
Normal control	663.20 ± 62.58
Radiation control [‡]	483.33 ± 49.62
BZYQT + radiation + BZYQT [‡]	496.40 ± 58.99

The ICR mice (n = 6) were treated with UVB (200 mJ/cm²) and were sacrificed 24 h later. * $p < 0.05$ as compared with radiation control group. [†]Bu-Zhong-Yi-Qi-Tang (50 mg/kg of body weight) or saline (vehicle) was given i.p. at 36 and 12 h before irradiation, and 30 min after irradiation. [‡]Bu-Zhong-Yi-Qi-Tang cream (0.2%) or cream base (vehicle) was topically treated at 24 h and 15 min before irradiation, and immediately after irradiation.

DC변화에 대한 효과

ATPase 염색의 결과 많은 가지돌기를 가진 진한 갈색의 DC가 관찰되었다. 복강내 투여실험과 피부도포실험에서 정상대조군에서는 각각 628.00개 및 663.20개의 DC가 관찰되었으며, UVB조사에 따라 각각 383.2개 및 483.3개로 급격히 감소하였으며, 가지돌기의 소실 및 과립화가 관찰되기도 하였다. 평균치를 기준으로, 보중익기탕 복강주사군은 UV조사대조군에 비하여 33.9% 감

소억제를 보여 통계적 유의성을 나타냈으며($p < 0.05$), 피부도포군은 2.7% 경미한 감소 억제를 나타냈다(Table 2). 억제효과가 관찰된 군에서 형태적으로도 가지돌기의 상당부분이 유지되었다.

고 찰

보충익기탕은 항암, 항균, 진통, 조혈증강, 남성생식기능 강화 및 항스트레스 등의 효과가 알려져 있으며 [13-15, 22, 25, 28], 한의학에서는 이 방제가 황기를 중용하여 비폐의 기를 보하고 인삼, 백출, 감초를 가하여 익기하고 건비하게 하며, 당귀가 양혈하여 기의 운행을 보조하고 진피가 이기하며, 소량의 승마와 시호가 승양거함의 작용이 있다 하였다 [1]. 보충익기탕은 중국에서 각종 암의 치료에 사용되어 왔고 최근 동물실험과 임상에서 화학적 발암 억제 및 항암 효과가 보고되었으며 일부 유효성분이 밝혀지고 있다 [4, 10, 17, 18]. 최근 노령인에서 면역증강 효과 [23], 남성불임 개선효과 [7], 아토피성 피부염 개선 효과 [21], 항노화 효과 [31]가 알려졌다. 이의 저증력상태의 우주환경에서의 장해 경감효과 [33]가 보고되기도 하였다. 방사선 장해에 대한 효과는 소장염의 보호와 비장집락의 형성 촉진이 보고되었고 구성 단미 중 인삼, 당귀, 승마, 시호가 효과가 있는 것으로 알려졌다 [19].

본 연구에서 보충익기탕의 UV에 의한 피부 손상 경감효과를 평가하기 위해 SBC와 DC의 변화를 관찰한 바, SBC와 DC 실험군 공히 복강 내 주사군에서 유의성 있는 결과를 나타냈다. 복강내 주사군에서는 UV 단독조사 대조군과 비교하여 SBC의 발생은 65.8% 감소되었고, UV에 의한 DC의 수적 감소를 33.9% 억제하였다. 피부도포군에서도 평균값을 기준으로 UV 단독조사 대조군과 비교하여 SBC의 발생은 16.8% 감소되었고, UV에 의한 DC의 수적 감소를 2.7% 억제하였으나 유의성은 없었다. 이는 복강내 투여군에 비해 피부도포군의 경우 연고기재의 도포에 의한 UV의 물리적 차단 효과에 따라 UV 단독조사군에서 SBC의 발생 증가와 DC의 수적 감소가 다소 경미하였던 점과, 각종 원인에 의한 보충익기탕의 피부를 통한 흡수 부족과 관계된 것으로 사료된다. 본 연구에서 보충익기탕은 UV에 의한 SBC의 발생을 억제하였고, 전리 방사선에 의한 소장염 및 털주머니 세포에서 apoptosis의 발생을 억제한다는 보고 [19]와 같은 결과를 나타내어 비전리방사선인 UV에 의한 apoptosis도 억제됨을 재확인하였다.

UV에 의한 손상은 활성산소에 의한 DNA 손상 [3, 12], 이에 수반된 염증반응 및 면역기능 억제 [9]가 주원인으로 작용한다. 따라서 본 연구의 결과 보충익기탕의

효과는 항염증 [32, 35] 및 DC에 대한 직접작용 [29]을 포함한, 면역증강 [20]에 의한 효과로 추측되며, 보충익기탕의 구성 단미 중 인삼, 승마, 시호가 소장염세포의 apoptosis를 억제한다는 보고 [19]가 있고 이중 인삼 [24] 및 시호 [11]의 항산화 효과가 피부의 SBC의 감소에 관여하는 것으로 사료되나 이들에 대한 추가 연구가 요구된다. 또한 본 연구에서 효과 판정의 극대화를 위한 복강내 투여 실험에서 효과가 확인된 바, 일반적인 섭취 경로가 경구인 점을 감안하여 경구 투여에 대한 추가 연구 또한 필요하다.

본 연구의 결과는 보충익기탕의 피부손상 억제 효과에 대한 최초의 보고로서, UV와 관련된 피부손상에서 SBC 발생억제에 의한 노화 방지 효과와 함께, DC의 손상에 의한 피부 국소면역 및 전신면역계의 변화에도 개선효과가 기대되며 추후 생리활성 및 유효성분에 대한 보다 많은 연구가 계속되어야 할 것이다.

결 론

자외선에 의한 피부손상의 지표로서 SBC의 발생과 DC의 변화를 관찰하고, 각종 생리활성 효과 및 일부 전리방사선 장해경감 효과가 보고되었으나 자외선에 의한 피부손상에 대한 연구는 전무한 보충익기탕의 효과를 관찰하였다. 복강내 주사군에서는 UV 단독조사 대조군과 비교하여 SBC의 발생은 65.8% 감소되었고, UV에 의한 DC의 수적 감소를 33.9% 억제하였다. 피부도포군에서도 평균값을 기준으로 UV 단독조사 대조군과 비교하여 SBC의 발생은 16.8% 감소되었고, UV에 의한 DC의 수적 감소를 2.7% 억제하였으나 유의성은 없었다. 이는 복강내 투여군에 비해 피부도포군의 경우 연고기재의 도포에 의한 UV의 물리적 차단 효과에 따라 UV 단독조사군에서 SBC의 발생 증가와 DC의 수적 감소가 다소 경미하였던 점과, 각종 원인에 의한 보충익기탕의 피부를 통한 흡수 부족과 관계된 것으로 사료된다.

감사의 글

이 연구는 한국과학재단을 통하여 과학기술부가 시행한 원자력연구개발사업 연구비지원에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. 한약위원회, 조제지침연구소위원회. 한약조제 지침서 해설. 사단법인 대한약사회, 서울, 1995.
2. Bissett DL, Hannon DP, Orr TV. An animal model

- of solar-aged skin: histological, physical, and visible changes in UV-irradiated hairless mouse skin. *Photochem Photobiol* 1987, **46**, 367-378.
3. **Black HS.** Reassessment of a free radical theory of cancer with emphasis on ultraviolet carcinogenesis. *Integr Cancer Ther* 2004, **3**, 279-293.
 4. **Cho JM, Sato N, Kikuchi K.** Prophylactic anti-tumor effect of Hochu-ekki-to (TJ41) by enhancing natural killer cell activity. *In Vivo* 1991, **5**, 389-391.
 5. **Clydesdale GJ, Dandie GW, Muller HK.** Ultraviolet light induced injury: immunological and inflammatory effects. *Immunol Cell Biol* 2001, **79**, 547-568.
 6. **Cooper KD, Duraiswamy N, Hammerberg C, Allen E, Kimbrough-Green C, Dillon W, Thomas D.** Neutrophils, differentiated macrophages, and monocyte/macrophage antigen presenting cells infiltrate murine epidermis after UV injury. *J Invest Dermatol* 1993, **101**, 155-163.
 7. **Furuya Y, Akashi T, Fuse H.** Effect of Bu-zhong-yi-qi-tang on seminal plasma cytokine levels in patients with idiopathic male infertility. *Arch Androl* 2004, **50**, 11-14.
 8. **Greveson JP, Robertson D, Everall JD.** Immunoperoxidase visualization of Langerhans cells in human epidermal sheets by light and electron microscopy. *Br J Dermatol* 1982, **107**, 225-228.
 9. **Halliday GM.** Inflammation, gene mutation and photoimmunosuppression in response to UVR-induced oxidative damage contributes to photocarcinogenesis. *Mutat Res* 2005, **571**, 107-120.
 10. **Harada M, Seta K, Ito O, Tamada K, Li T, Terao H, Takenoyama M, Kimura G, Nomoto K.** Concomitant immunity against tumor development is enhanced by the oral administration of a kampo medicine, Hochu-ekki-to (TJ-41: Bu-Zhong-Yi-Qi-Tang). *Immunopharmacol Immunotoxicol* 1995, **17**, 687-703.
 11. **Hung-Ming W, Liu CS, Tsai JJ, Ko LY, Wei YH.** Antioxidant and anticonvulsant effect of a modified formula of chaihu-longu-muli-tang. *Am J Chin Med* 2002, **30**, 339-346.
 12. **Ichihashi M, Ueda M, Budiyo A, Bito T, Oka M, Fukunaga M, Tsuru K, Horikawa T.** UV-induced skin damage. *Toxicology* 2003, **189**, 21-39.
 13. **Ikeda S, Kaneko M, Kumazawa Y, Nishimura C.** Protective activities of a Chinese medicine, Hochu-ekki-to, to impairment of hematopoietic organs and to microbial infection. *Yakugaku Zasshi* 1990, **110**, 682-687.
 14. **Ishikawa H, Manabe F, Zhongtao H, Yoshii S, Koiso K.** The hormonal response to HCG stimulation in patients with male infertility before and after treatment with hochuekkito. *Am J Chin Med* 1992, **20**, 157-165.
 15. **Ito H, Shimura K.** Studies on the antitumor activity of traditional Chinese medicines (1). *Gan To Kagaku Ryoho* 1985, **12**, 2145-2148.
 16. **Juhlin L, Shelley WB.** New staining techniques for the Langerhans cell. *Acta Derm Venereol* 1977, **57**, 289-296.
 17. **Kao ST, Yang SL, Hsieh CC, Yang MD, Wang TF, Lin JG.** Immunomodulation of Bu-Zhong-Yi-Qi-Tang on in vitro granulocyte colony-stimulating-factor and tumor necrosis factor-alpha production by peripheral blood mononuclear cells. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 2000, **22**, 711-720.
 18. **Kao ST, Yeh CC, Hsieh CC, Yang MD, Lee MR, Liu HS, Lin JG.** The Chinese medicine Bu-Zhong-Yi-Qi-Tang inhibited proliferation of hepatoma cell lines by inducing apoptosis via G0/G1 arrest. *Life Sci* 2001, **69**, 1485-1496.
 19. **Kim SH, Lee SE, Oh H, Kim SR, Yee ST, Yu YB, Byun MW, Jo SK.** The radioprotective effects of bu-zhong-yi-qi-tang: a prescription of traditional Chinese medicine. *Am J Chin Med* 2002, **30**, 127-137.
 20. **Kimura M, Sasada T, Kanai M, Kawai Y, Yoshida Y, Hayashi E, Iwata S, Takabayashi A.** Preventive effect of a traditional herbal medicine, Hochu-ekki-to, on immunosuppression induced by surgical stress. *Surg Today* 2008, **38**, 316-322.
 21. **Kobayashi H, Mizuno N, Kutsuna H, Teramae H, Ueoku S, Onoyama J, Yamanaka K, Fujita N, Ishii M.** Hochu-ekki-to suppresses development of dermatitis and elevation of serum IgE level in NC/Nga mice. *Drugs Exp Clin Res* 2003, **29**, 81-84.
 22. **Koshikawa N, Imai T, Takahashi I, Yamauchi M, Sawada S, Kansaku A.** Effects of Hochu-ekki-to, Yoku-kan-san and Saiko-ka-ryukotsu-borei-to on behavioral despair and acetic acid-induced writhing in mice. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 1998, **20**, 47-51.
 23. **Kuroiwa A, Liou S, Yan H, Eshita A, Naitoh S, Nagayama A.** Effect of a traditional Japanese herbal medicine, Hochu-ekki-to (Bu-Zhong-Yi-Qi Tang), on immunity in elderly persons. *Int Immunopharmacol* 2004, **4**, 317-324.

24. **Lee TK, Johnke RM, Allison RR, O'Brien KF, Dobbs LJ Jr.** Radioprotective potential of ginseng. *Mutagenesis* 2005, **20**, 237-243.
25. **Li XY, Takimoto H, Miura S, Yoshikai Y, Matsuzaki G, Nomoto K.** Effect of a traditional Chinese medicine, bu-zhong-yi-qi-tang (Japanese name: Hochu-ekki-to) on the protection against *Listeria monocytogenes* infection in mice. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 1992, **14**, 383-402.
26. **Logan G, Wilhelm DL.** Vascular permeability changes in inflammation. I. The role of endogenous permeability factors in ultraviolet injury. *Br J Exp Pathol* 1966, **47**, 300-314.
27. **Matsumura Y, Ananthaswamy HN.** Toxic effects of ultraviolet radiation on the skin. *Toxicol Appl Pharmacol* 2004, **195**, 298-308.
28. **Murakami Y.** Clinical effect of hotyuekkito (buzhongyiqitang) on symptoms due to renal ptosis and stress incontinence. *Hinyokika Kyo* 1988, **34**, 1841-1843.
29. **Nabeshima S, Murata M, Hamada M, Chong Y, Yamaji K, Hayashi J.** Maturation of monocyte-derived dendritic cells by Hochu-ekki-to, a traditional Japanese herbal medicine. *Int Immunopharmacol* 2004, **4**, 37-45.
30. **Olson RL, Everett MA.** Epidermal apoptosis: cell deletion by phagocytosis. *J Cutan Pathol* 1975, **2**, 53-57.
31. **Shih HC, Chang KH, Chen FL, Chen CM, Chen SC, Lin YT, Shibuya A.** Anti-aging effects of the traditional Chinese medicine bu-zhong-yi-qi-tang in mice. *Am J Chin Med* 2000, **28**, 77-86.
32. **Shinozuka N, Tatsumi K, Nakamura A, Terada J, Kuriyama T.** The traditional herbal medicine Hochuekkito improves systemic inflammation in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *J Am Geriatr Soc* 2007, **55**, 313-314.
33. **Song QH, Kobayashi T, Hosoi T, Cyong JC.** Effects of traditional Chinese medicines on murine bone metabolism in a microgravity environment. *Am J Chin Med* 2003, **31**, 739-749.
34. **Svobodová A, Psotová J, Walterová D.** Natural phenolics in the prevention of UV-induced skin damage. A review. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* 2003, **147**, 137-145.
35. **Yang SH, Yu CL.** Antiinflammatory effects of Bu-zhong-yi-qi-tang in patients with perennial allergic rhinitis. *J Ethnopharmacol* 2008, **115**, 104-109.