

TPA로 유도된 마우스 귀 부종 동물모델에서 소목추출물의 항염증 효과

음원식^{1*} · 이광재^{2*} · 김대원¹ · 임순성³ · 강일준³ · 박진서¹ · 최수영^{1†}

¹한림대학교 바이오메디컬학과 및 생명공학연구소

²강원도농업기술원

³한림대학교 식품영양학과 및 RIC 센터

Anti-Inflammatory Effects of Extracts from *Caesalpinia sappan* L. on Skin Inflammation

Won Sik Eum^{1*}, Kwang-Jae Lee^{2*}, Dae Won Kim¹, Soon Sung Lim³,
Il-Jun Kang³, Jinseu Park¹, and Soo Young Choi^{1†}

¹Dept. of Biomedical Science and Research Institute of Bioscience and Biotechnology, Hallym University

²Gangwon Agricultural Research and Extension Services, Gangwon 200-822, Korea

³Dept. of Food Sciences and Nutrition and RIC Center, Hallym University, Gangwon 200-702, Korea

Abstract

This study investigated the anti-inflammatory effects of extracts from *Caesalpinia sappan* L. (CSL) on 12-*O*-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA)-induced ear edema in mice. Skin inflammation was detected by immunohistochemistry and the protein and mRNA expression levels of cyclooxygenase-2 (COX-2) and cytokines (IL-6, IL-1 β and TNF- α) detected by Western blotting and RT-PCR. The activation of nuclear factor- κ B (NF- κ B) and mitogen-activated protein kinase (MAPK) were analyzed by Western blotting. CSL extracts markedly inhibited the TPA-induced expression of COX-2 and pro-inflammatory cytokines. Also, CSL extracts significantly reduced the activation of NF- κ B and MAPK. These results suggest that CSL extracts may serve as therapeutic agents against skin diseases related to inflammation.

Key words: inflammation, TPA, *Caesalpinia sappan* L., NF- κ B, MAPK

서 론

염증반응은 자극에 대한 생체조직의 방어반응의 하나로 다양한 질병의 생리 및 병리학적인 과정에 관여한다. 여러 가지 염증매개인자들이 생성되는 염증으로 인하여 발열, 홍반, 부종 등의 증상이 나타난다. 또한 지속적인 염증반응은 다양한 난치성 질환들(치매, 심혈관질환, 암, 비만, 관절염, 당뇨병 및 동맥경화증 등)의 원인이 된다고 보고되고 있다(1-6). 생체 내 염증반응을 촉진하는 효소 및 인자들로서 cyclooxygenase-2(COX-2), tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin(IL)-6, IL-1 β 과 신호전달경로인 nuclear factor kappa-B(NF- κ B) 및 mitogen-activated protein kinase(MAPK)가 잘 알려져 있으며, 이들은 염증반응뿐 아니라 다양한 난치성질환에서도 관여하기 때문에 이들 효소 및 인자들을 억제하는 물질은 염증성 질환에 대한 항염증제로 개발될 가능성이 매우 높다(7-10).

소목(*Caesalpinia sappan* L.)은 인도, 말레이시아 등 아시아에 분포하는 낙엽 관목의 콩과(Leguminosae)식물로 약용

및 염료로 이용되고 있으며, 소목추출물은 항통증, 항경련, 항산화, 면역조절, 항바이러스 효과(11-15) 등이 보고되었다. 소목의 주요성분으로 brazilin, campesterol, stigmastanol, hematein, sappanin 등이 밝혀졌으며, 이중 brazilin은 무색의 flavonoid 구조를 가지고 있으며 공기 중에 산화되어 brazilein이 된다(16-18). 한방에서 brazilin은 어혈, 월경통 및 출산 후 다양한 증상에 사용해 왔다(19,20). 지금까지 소목추출물의 생리활성에 관한 많은 연구가 보고되었으나, 염증동물모델에서 소목추출물의 생리활성에 관한 연구는 미비한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 소목추출물의 항염증 효능과 기전을 TPA로 유도한 마우스 귀 부종 동물모델에서 규명하고자 하였다.

재료 및 방법

실험재료

수컷 ICR 마우스(6주령)은 한림대학교 실험동물센터에서 구입하여 사용하였다. COX-2, β -actin, p65, Lamin B 항체

*The first two authors contributed equally to this work.

†Corresponding author. E-mail: sychoi@hallym.ac.kr
Phone: 82-33-248-2112, Fax: 82-33-241-1463

는 Santa Cruz Biotechnology(Santa Cruz, CA, USA)에서 구입하였고, p38, p-p38, ERK, p-ERK 항체는 Cell Signaling Technology(Beverly, MA, USA)에서 구입하였다. 그 밖에 사용된 시약들은 Sigma-Aldrich(St. Louis, MO, USA)의 특급시약을 사용하였다.

소목추출물 제조

실험에 사용한 소목은 춘천 대광약업사에서 구입하여 사용하였다. 건조된 소목 100 g을 70% 에탄올 1 L에 넣어 3시간 동안 환류추출 하였으며, 이를 3회 반복하였다. 추출 후 Whatman No.2 filter paper(GE Healthcare, Little Chalfont, UK)를 이용하여 여과한 후 감압회전 농축기(Rotavapor R-220, Buchi, Flawil, Switzerland)를 이용하여 에탄올을 제거하였고, 이를 동결건조 하여 분말 상태의 소목추출물을 획득하여 실험에 사용하였다(21).

실험동물

실험동물은 6주령 ICR 수컷 마우스 21마리를 한림대학교 실험동물센터에서 구입하여 사용하였으며, 온도 23°C, 습도 60%, 12시간 명암조건에서 사육하였다. 실험동물은 구입 후 1주일 동안 순화한 다음, 각 군당 7마리씩을 배치하여 총 3군으로 실험군을 분류하였다. 본 연구에 사용된 마우스는 한림대학교 동물실험윤리위원회의 사전심의와 윤리 규정을 준수하여 수행되었다.

염증동물모델

염증동물모델은 12-*O*-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA)를 마우스 귀에 도포하여 귀 부종을 유발하였다(22). TPA(1 µg)를 아세톤 20 µL에 녹인 후 마우스 귀에 하루 한번씩 3일 동안 도포하였다. 실험동물은 정상군(Control)과 TPA만 처리한 대조군(TPA), 그리고 TPA 처리 후 *Caesalpinia sappan* L.(CSL)을 같이 처리한 군(CSL)의 3군으로 구성하였다. TPA 처리 후 하루 한번씩 1시간 동안 CSL 시료(2 mg/kg)를 처리하였다. 마지막으로 TPA와 시료를 처리한 다음, 24시간 후 직경 5 mm 펀칭을 이용하여 귀 조직을 얻어 귀의 무게와 두께를 측정하고, 면역조직염색 및 염증인자 발현 분석을 수행하였다.

면역조직염색

실험동물은 질소와 산소 혼합가스가 들어있는 3% 이소플루레인(isoflurane)으로 마취시킨 후 관류 세척하였다. 관류 세척이 끝난 후, 적출된 장기는 파라포름알데히드를 함유한 0.1 M PBS(phosphate buffered saline, pH 7.4)로 고정하고 고정이 끝난 조직은 조직을 떼어내어 4% 파라포름알데히드 용액에 담가 보존하였다. 조직을 임베딩 배지(Reichert-Jung, Nußloch, Germany)로 포매하고 동결박절기(cryostat, Reichert-Jung)를 이용하여 5 µm 절편으로 만든 다음 사용하였다.

조직 절편은 0.01 M PBS로 10분간 완충시킨 후 다시 증류

수로 10분간 세척하였다. PBS로 7분씩 3회 세척한 후 비특이적 반응을 방지하기 위하여 조직을 PBS에 들어있는 5% 정상 염소 혈청에 30분간 반응시킨 다음 통상적인 헤마토자일린 및 에오신(hematoxyline and eosin) 염색을 하였다. 그 다음 현미경 관찰 후 사진촬영(axioscope microscope, Carl Zeiss, Jena, Germany) 하였다(23,24).

Western blot analysis

귀 조직 시료를 분쇄하여 sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis(SDS-PAGE)에 의해 분리된 단백질을 polyvinylidene difluoride(PVDF) membrane (Millipore, Bedford, MA, USA)으로 이동시켰다. Membrane은 5% milk-TBST(tris buffered saline, pH 7.5)로 1시간 incubation한 후, TBST로 10분간 3회 세척하였다. 각각의 1차 항체를 5% TBST로 희석(1:1,000)한 후, membrane을 1시간 incubation하고 TBST로 10분간 3회 세척하였다. 2차 항체로 anti-rabbit IgG를 TBST에 희석(1:10,000)하여 membrane을 1시간 incubation하고 TBST로 10분간 3회 세척하였다. 항체에 결합된 단백질들은 chemiluminescence 방법을 통하여 가시화하였다(23,24).

Reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR)

귀 조직에서 total RNA는 TRIzol[®] reagent kit(Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)를 이용하여 분리하였다. Oligo dT와 reverse transcriptase를 이용하여 template RNA로부터 cDNA를 합성하고 TNF-α, IL-6, IL-1β의 primer를 사용하여 PCR를 수행하였다. PCR product는 1% agarose gel에서 전기영동하고 ethidium bromide를 사용하여 가시화하였다(23,24). TNF-α, IL-6, IL-1β 각각의 primer는 다음과 같다.

TNF-α sense primer:

5'-AAGTTCCCAAATGGCCTCCC-3'

TNF-α antisense primer:

5'-TGGCACCAGTAGTTGGTTGTCTTT-3'

IL-6 sense primer:

5'-CAAGAAAGACAAAGCCAGAGTCCTT-3'

IL-6 antisense primer:

5'-TGGATGGTCTTGGTCCTTAGCC-3'

IL-1β sense primer:

5'-TGCAGAGTCCCCAACTGGTACATC-3'

IL-1β antisense primer:

5'-GTGCTGCCTAATGTCCCCTTGAATC-3'

통계분석

실험결과는 평균±표준편차로 나타내었고, 유의성을 검증하기 위하여 SAS program(v9.1, SAS Institute Inc, Cary, NC, USA)의 one-way ANOVA를 p<0.05 수준으로 실시하였으며, 군 간의 변화값 비교분석은 Student's t-test로 0.05 유의수준에서 검증하였다.

결과 및 고찰

소목추출물의 귀 부종 억제 효능

마우스의 귀에 반복적인 TPA 처리는 만성적인 피부염을 유발하기 때문에 TPA로 유도한 마우스 귀 부종은 오랫동안 염증동물모델로 사용되어 왔다(22). 따라서 본 연구에서는 TPA로 유도한 마우스 귀 부종 동물모델에서 소목추출물의 염증억제 효능을 조사하였다. 하루에 한번씩 3일 동안 TPA를 마우스 귀에 처리하였을 경우 염증반응에 의한 귀의 무게와 두께가 크게 증가되었다. 같은 조건하에 TPA를 처리한 다음 소목추출물을 같이 처리한 경우 마우스 귀의 무게와 두께가 현저히 감소되는 것을 확인하였다(Fig. 1). 이러한 결과는 소목추출물이 귀 부종에 대한 염증억제 효능이 있음을 의미한다. 따라서 소목추출물에 의한 염증반응 관련 단백질인 COX-2와 염증반응에 관여하는 cytokine의 mRNA 발현억제 및 염증작용 기전 실험을 진행하였다.

소목추출물의 COX-2 및 cytokine 발현에 미치는 영향

COX는 2가지 isoform(COX-1, COX-2)으로 존재한다. COX-1과 달리 COX-2의 발현은 성장인자, cytokine 등 pro-inflammatory agent에 의하여 과대발현 되어 염증뿐 아니라 퇴행성 질환에서도 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다(25,26). 따라서 소목추출물이 TPA에 의한 COX-2 단백질 발현에 대한 억제효과를 Western blot을 통해 확인한 결과

COX-2 단백질의 발현이 TPA 처리에 의해 현저히 증가하였으며, 소목추출물 처리에 의해 감소되었다(Fig. 2A). 또한 TPA에 의한 pro-inflammatory cytokine인 IL-6, TNF- α 그리고 IL-1 β 의 mRNA(27,28) 수준을 RT-PCR로 확인한 결과 TPA 처리에 의해 cytokine의 mRNA 발현 수준이 현저히 증가하였고, 소목추출물에 의해 증가된 cytokine의 mRNA 발현 수준이 유의성 있게 감소하였다(Fig. 2B). 위 결과는 소목추출물이 염증반응에 관여하는 단백질 및 cytokine의 mRNA 발현 수준을 억제하므로 염증반응 관련 다양한 질병에도 치료물질로 이용될 수 있을 것으로 사료된다.

소목추출물이 신호전달에 미치는 영향

염증반응에서 중요한 역할을 NF- κ B는 cytokine의 합성을 조절하는 전사인자로 정상적인 세포에서는 p50과 p65의 heterodimer 형태로 cytosol에 존재하며, I κ B와 결합되어 있어 전사인자로의 작용을 하지 못한다. 그러나 외부의 자극에 의해 I κ B가 인산화되어 degradation되면 NF- κ B는 핵안으로 이동하여 전사인자로 작용하여 COX-2 및 염증관련 cytokine을 합성한다(29-33). 또한 염증반응은 MAPK의 활성을 유도하며, MAPK는 extracellular signal-regulated protein kinase(ERK), c-Jun terminal kinase(JNK), 그리고 p38이 있다(34,35). 소목추출물이 NF- κ B 및 MAPK signaling을 통하여 염증관련 인자들을 조절하는지 확인하기 위해 Western blot를 수행하였다. TPA에 의해 cytosol에 존재하

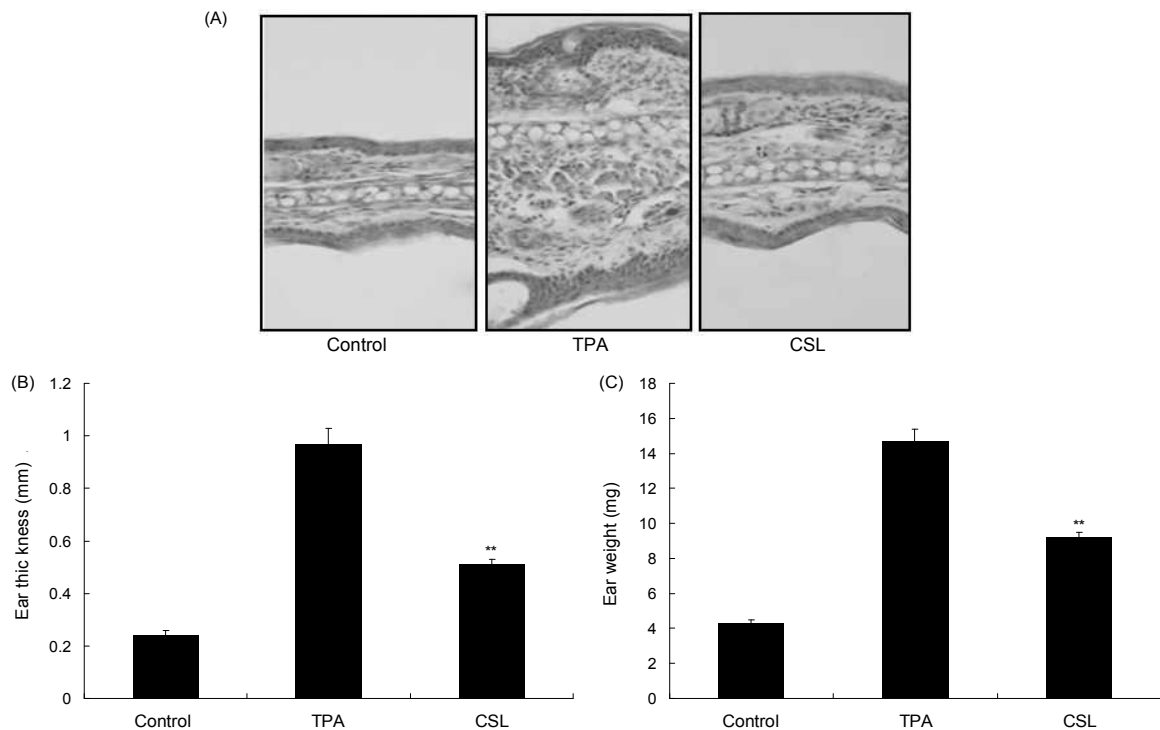


Fig. 1. Inhibitory effect of *Caesalpinia sappan* L. (CSL) extracts on TPA-induced ear edema. The ears of mice were treated with TPA (1 μ g/ear) once a day for 3 days. CSL topically applied to mice ears 1 h after TPA treatment for 3 days. For histological analysis, ear skin sections were prepared and then stained with hematoxylin and eosin (A). Inhibition of TPA-induced ear edema by topically application of CSL was analyzed by measuring changes in ear thickness (B) and ear weight (C). ** $p < 0.01$ compared with mice treated with TPA alone.

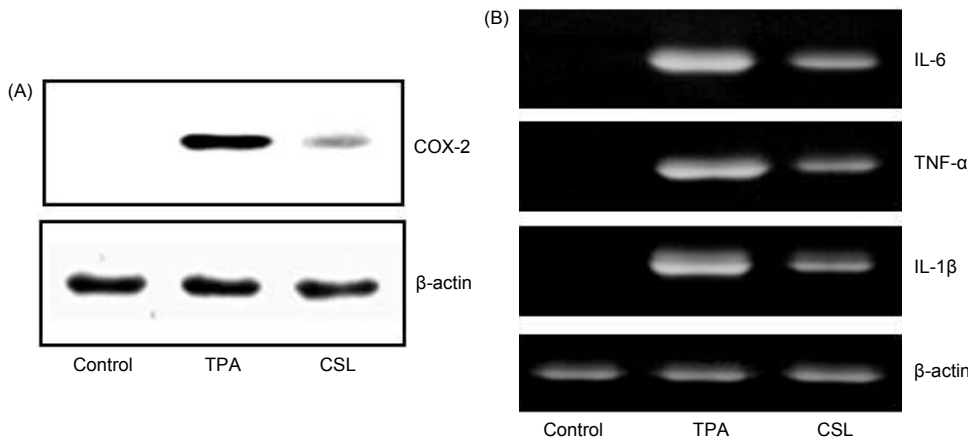


Fig. 2. Inhibitory effect of *Caesalpinia sappan* L. (CSL) on TPA-induced COX-2 expression and pro-inflammatory cytokines in mice ears. Mice were stimulated with TPA and treated with CSL. Ear biopsies were homogenized. Mice ear extracts were prepared and analyzed for COX-2 protein expression (A). The production of cytokine (IL-6, TNF- α , IL-1 β) and β -actin mRNA was analyzed by RT-PCR using specific primers (B).

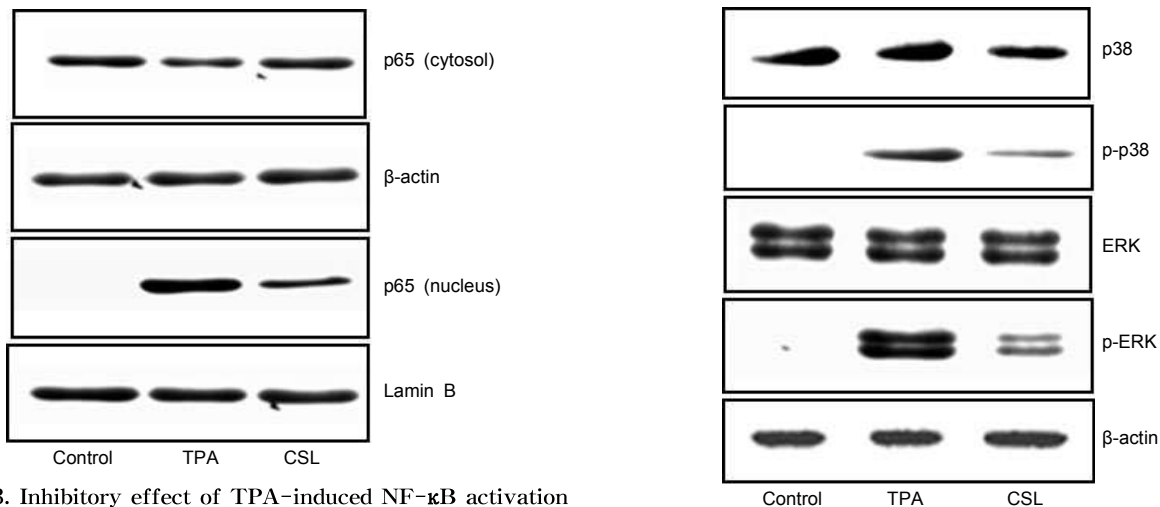


Fig. 3. Inhibitory effect of TPA-induced NF- κ B activation by *Caesalpinia sappan* L. (CSL) in mice ears. The ears of mice were treated with TPA (1 μ g/ear) once a day for 3 days. CSL topically applied to mice ears 1 h after TPA treatment for 3 days. The activity of NF- κ B was analyzed by Western blotting.

Fig. 4. Inhibitory effect of TPA-induced MAPK activation by *Caesalpinia sappan* L. (CSL) in mice ears. The ears of mice were treated with TPA (1 μ g/ear) once a day for 3 days. CSL topically applied to mice ears 1 h after TPA treatment for 3 days. Extracts from ear biopsies were prepared and analyzed for MAPK protein activation by Western blotting.

는 p65가 감소하였고, 핵에서 p65가 증가하는 것을 확인하였다(Fig. 3). 또한 p-p38과 p-ERK가 TPA에 의해 현저히 증가되었고, 증가된 p-p38과 p-ERK은 소목추출물에 의해 감소하는 것을 확인하였다(Fig. 4). 이러한 결과는 소목추출물이 NF- κ B 및 MAPK signaling을 통하여 염증관련 인자들(COX-2 및 cytokine)의 단백질 및 mRNA 발현을 억제하는 항염증 효능이 있음을 의미한다.

의 신호전달을 억제함으로써 항염증 효능을 나타내었다.

요 약

본 연구를 통하여 TPA로 유도한 마우스 귀 부종 염증반응에 대한 소목추출물의 항염증 효능과 기전을 확인하였다. 소목추출물은 TPA로 유도한 마우스 귀 부종을 억제하였으며, TPA에 의한 염증관련 단백질인 COX-2 발현 및 cytokine(IL-6, TNF- α 그리고 IL-1 β)의 mRNA 발현을 현저히 감소시켰다. 또한 TPA에 의한 NF- κ B 및 MAPK의 활성을 억제하였다. 본 연구 결과, 소목추출물은 NF- κ B 및 MAPK

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청(PJ907105) 및 교육과학기술부의 지원으로 한국연구재단의 중점연구소사업(2009-0093812)에 의해 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

문 헌

- Liao JF, Chiou WF, Shen YC, Wang GJ, Chen CF. 2011. Anti-inflammatory and anti-infectious effects of *Evodia rutaecarpa* (*Wuzhuyu*) and its major bioactive components. *Chin Med* 6: 6.
- Medzhitov R. 2008. Origin and physiological roles of inflammation. *Nature* 454: 428-435.
- Chung HY, Cesari M, Anton S, Marzetti E, Giovannini S,

- Seo AY, Carter C, Yu BP, Leeuwenburgh C. 2009. Molecular inflammation: underpinnings of aging and age-related diseases. *Ageing Res Rev* 8: 18-30.
4. Sarkar D, Fisher PB. 2006. Molecular mechanisms of aging-associated inflammation. *Cancer Lett* 236: 13-23.
 5. Fierro IM, Serhan CN. 2001. Mechanisms in anti-inflammation and resolution: the role of lipoxins and aspirin-triggered lipoxins. *Braz J Med Biol Res* 34: 555-566.
 6. Yun HJ, Hoe SK, Yi HS, Kim CH, Kim BW, Park SD. 2008. Anti-inflammatory effect of Injinho-tang in RAW 264.7 cells. *Kor J Herbology* 23: 169-178.
 7. Matsuda H, Kageura T, Morikawa T, Toguchida I, Harima S, Yoshikawa M. 2000. Effects of stilbene constituents from rhubarb on nitric oxide production in lipopolysaccharide-activated macrophages. *Bioorg Med Chem Lett* 10: 323-327.
 8. Leem HH, Kim EO, Seo MJ, Choi SW. 2011. Antioxidant and anti-inflammatory activities of Eugenol and its derivatives from clove (*Eugenia caryophyllata* Thunb.). *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40: 1361-1370.
 9. Sung MS, Kim YH, Choi YM, Ham HM, Jeong HS, Lee JS. 2011. Anti-inflammatory effect of *Erigeron annuus* L. flower extract through heme oxygenase-1 induction in RAW264.7 macrophages. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40: 1507-1511.
 10. Cho HJ, Shim JH, So HS, Park JHY. 2012. Mechanism underlying the anti-inflammatory action of piceatannol induced by lipopolysaccharide. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 41: 1226-1234.
 11. Back NI, Jeon SG, Ahn EM, Hahn JT, Bahn JH, Jang JS, Cho SW, Park JK, Choi SY. 2000. Anticonvulsant compounds from the wood of *Caesalpinia sappan* L. *Arch Pharm Res* 23: 344-348.
 12. Chiang LC, Chiang W, Liu MC, Lin CC. 2003. *In vivo* antiviral activities of *Caesalpinia pulcherrima* and its related flavonoids. *J Antimicrob Chemother* 52: 194-198.
 13. Choi SY, Yang KM, Jeon SD, Kim JH, Khil LY, Chang TS, Moon CK. 1997. Brazilin modulates immune function mainly by augmenting T cell activity in halothane administered mice. *Planta Med* 63: 405-408.
 14. Kim DS, Back NI, Oh SR, Jung KY, Lee IS, Lee HK. 1997. NMR assignment of brazilin. *Phytochemistry* 46: 177-178.
 15. Nguyen MT, Awale S, Tezuka Y, Ueda JY, Tran QI, Kadota S. 2006. Xanthine oxidase inhibitors from the flowers of *Chrysanthemum sinense*. *Planta Med* 72: 46-51.
 16. Zhao H, Bai H, Wang Y, Li W, Koike K. 2008. A new homoisoflavan from *Caesalpinia sappan*. *J Nat Med* 62: 325-327.
 17. de Oliveira LFC, Edwards HGM, Velozo ES, Nesbitt M. 2002. Vibrational spectroscopic study of brazilin and brazilin, the main constituents of brazilwood from Brazil. *Vib Spectrosc* 28: 243-249.
 18. Kwon HJ, Kim YH, Nam KW, Kim SK, Bang IS, Han MD. 2010. Antibacterial activities of *Caesalpinia sappan* L. extract and structural analysis of its related brazilin. *Kor J Microbiol Biotechnol* 38: 105-111.
 19. Shin DW. 2003. Screening and using of antioxidative effect and antimicrobial activity from plant. *Food Science and Industry* 36(3): 81-89.
 20. Xie YW, Ming DS, Xu HX, Dong H, But PP. 2000. Vasorelaxing effects of *Caesalpinia sappan* involvement of endogenous nitric oxide. *Life Sci* 67: 1913-1918.
 21. Park YH, Kim HY, Lim SH, Kim KH, Park DS, Lee JH, Park CG, Park CB, Kim S. 2011. Effect of *Aceriphyllum rossii* ethanol extract on lipid metabolism in rats fed a high-fat diet. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40: 1411-1416.
 22. Stanley PL, Steiner S, Havens M, Trampusch KM. 1991. Mouse skin inflammation induced by multiple topical applications of 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate. *Skin Pharmacol* 4: 262-271.
 23. Kim SY, Jeong HJ, Kim DW, Kim MJ, An JJ, Sohn EJ, Kang HW, Shin MJ, Ahn EH, Kwon SW, Kim DS, Cho SW, Park J, Eum WS, Choi SY. 2011. Transduced PEP-1-FK506BP inhibits the inflammatory response in the Raw 264.7 cell and mouse models. *Immunobiology* 216: 771-781.
 24. Lee SH, Kim DW, Eom SA, Jun SY, Park M, Kim DS, Kwon HJ, Kwon HY, Han KH, Park J, Hwang HS, Eum WS, Choi SY. 2012. Suppression of 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA)-induced skin inflammation in mice by transduced Tat-Annexin protein. *BMB Rep* 45: 354-359.
 25. Crofford LJ. 1997. COX-1 and COX-2 tissue expression: implications and predictions. *J Rheumatol Suppl* 49: 15-19.
 26. Chun KS, Surh YJ. 2004. Signal transduction pathways regulating cyclooxygenase-2 expression: potential molecular targets for chemoprevention. *Biochem Pharmacol* 15: 1089-1100.
 27. De Vry CG, Valdez M, Lazarov M, Muhr E, Buelow R, Fong T, Iyer S. 2005. Topical application of a novel immunomodulatory peptide, RDP58, reduces skin inflammation in the phorbol ester-induced dermatitis model. *J Invest Dermatol* 125: 473-481.
 28. Murakawa M, Yamaoka K, Tanaka Y, Fukuda Y. 2006. Involvement of tumor necrosis factor (TNF)- α in phorbol ester 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA)-induced skin edema in mice. *Biochem Pharmacol* 71: 1331-1336.
 29. Ghosh S, Hayden MS. 2008. New regulators of NF- κ B in inflammation. *Nat Rev Immunol* 8: 837-848.
 30. Majdalawieh A, Ro HS. 2010. Regulation of I κ B α function and NF- κ B signaling: AEBP1 is a novel proinflammatory mediator in macrophages. *Mediators Inflamm* 2010: 823821.
 31. Hawiger J. 2001. Innate immunity and inflammation: a transcriptional paradigm. *Immunol Res* 23: 99-109.
 32. Nam NH. 2006. Naturally occurring NF- κ B inhibitors. *Mini Rev Med Chem* 6: 945-951.
 33. Lee HN, Kim JK, Kwon GT, Shim JH, Kim JD, Park JHY. 2012. Anti-inflammatory effects of ethanol extract from bark of *Acer barbinerve* Maxim. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 41: 1242-1247.
 34. Ho YS, Lai CS, Liu HI, Ho SY, Tai C, Pan MH, Wang YJ. 2007. Dihydrolipoic acid inhibits skin tumor promotion through anti-inflammation and anti-oxidation. *Biochem Pharmacol* 73: 1786-1795.
 35. Song HY, Lee JA, Ju SM, Yoo KY, Won MH, Kwon HJ, Eum WS, Jang SH, Choi SY, Park J. 2008. Topical transduction of superoxide dismutase mediated by HIV-1 Tat protein transduction domain ameliorates 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA)-induced inflammation in mice. *Biochem Pharmacol* 75: 1348-1357.

(2012년 11월 12일 접수; 2012년 12월 14일 채택)