

Effect of Occlusion upon Rat Skin on the Activities of Cutaneous Oxygen Free Radical Metabolizing Enzymes in Rats

Sun-II Han, Chong-Guk Yoon[†] and Hyun-Gug Cho*

[†]Department of Pubic Health, Keimyung University, Taegu 704-701, Korea

*Department of Visual Optics, Kyungwoon University, Kyungbuk 730-852

To evaluate the effect of occlusive skin on the activity of cutaneous oxygen free radical metabolizing enzymes in rats, the dorsal skin was covered with closed glass chamber shaped petri dish, 46 mm in diameter and 10 mm in height and sealed by an adhesive. Five day-occluded group showed more increased activity of xanthine oxidase (XO) than that of control, and the activity of five day-occluded group was higher than that of ten day-occluded group. The activities of superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GPx) were significantly higher in ten day-occluded group than in control or five day-occluded group. All the more, five day-occluded group showed the decreasing tendency of SOD and GPx activities compared to those of control. On the other hand, the cerrous perhydroxide deposits were observed in the intercellular space of the stratum basale in five day-occluded group under the electronic microscope using a cytochemistry method. Futhermore, the degree of cerrous perhydroxide reaction was lower in ten day-occluded group than in five day-occluded group. In conclusion, the increased XO activity and the decreased SOD and GPx activities are likely to responsible for the accumulation of H₂O₂ in five day-occluded group.

Key Words: Cutaneous oxygen free radical metabolizing enzymes, Occluded skin, Rat

서 론

피부는 외부로부터 미생물을 비롯한 이물질 등의 침입을 방어해 줄 뿐만 아니라 유해한 물질이나 주위환경으로부터 생체를 보호하고, 땀의 분비를 통해 체온조절과 노폐물 배설에도 관여하며, 감각을 감지하는 중요한 감각수용기로서의 역할을 수행한다. 또한 피부는 체표면으로부터 증발에 의한 체액의 손실을 막아주고 비타민 합성에도 관여한다¹⁾.

일반적으로 피부의 건강상태는 체내 건강상태에 따라 영향을 받는다고 하며²⁾, 또한 피부의 건강은 미용관리^{21,23)}와 더불어 의상의 착용상태와도 관련이 있는 것으로 알려져 있다³⁾. 그리고 피부와 공기간의 접촉을 차단했을 때 피부의 주름현상이 초래되며 조직병리학적 형태 변화가 야기된다는 보고^{9,16,25,32)}와 피부의 형태학적 변화는 피부자극과 상당한 관련이 있다는 보고²⁰⁾를 종합해 볼 때, 피부의 건강상태는 체내 병태생리적 기능 뿐만 아니라 피부와 공기간 접촉의 양상 및 화학물질과의 접촉여부와도 상당한 관련이 있을 것으로 생각된다.

한편 피부의 노화현상과 질병은 oxygen free radical과 관련

성이 있다는 보고^{29,31)}가 있다. 그리고 독성물질에 의한 급성 간손상된 실험동물의 피부에 oxygen free radical에 의한 형태학적 변화가 초래된다고²⁷⁾ 하였으며 채 등²⁶⁾은 실험동물의 피부에 toluene과 같은 화학물질을 도포했을 때 oxygen free radical의 생성 및 해독기구의 불균형으로 야기된 과도한 H₂O₂에 의하여 피부조직의 손상이 초래된다고 하였다.

특히 한 등³⁰⁾은 실험동물에 있어서 피부를 공기와 차단했을 때 피부에 땀의 배설장애와 더불어 superoxide 생성에 관여하는 xanthine oxidase 효소가 유도됨이 관찰되어 피부조직에 있어서 superoxide와 같은 oxygen free radical이 외부환경에 대한 방어장벽 역할을 할 수 있을 것이라고 하였다. 그러나 이러한 경우에 oxygen free radical의 과다는 오히려 피부조직에 손상을 초래할 수도 있어 이를 확인하는 데는 oxygen free radical 생성 및 해독의 기구에 관여하는 전반적인 효소기구와 더불어 피부조직의 형태학적 변화의 검토가 필요하리라 생각된다.

이에 본 연구에서는 피부의 공기차단이 oxygen free radical 생성 및 해독기구에 관여하는 효소활성에 어떠한 영향을 미치는지를 알아보기 위하여 흰쥐의 피부를 chamber로 차단한 다음 피부조직의 superoxide의 생성효소인 xanthine oxidase (XO) 및 cytochrome P-450 활성효소인 aniline hydroxylase (AH) 활성¹¹⁾과 oxygen free radical의 해독기구에 관여하는 superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx), catalase (CAT),

*논문 접수: 2001년 4월 13일
수정재 접수: 2001년 6월 25일

[†]To whom correspondence should be addressed: Chong-Guk Yoon

glutathione (GSH), glutathione reductase (GSSG-Rd) 및 glutathione-S-transferase (GST) 활성²⁷⁾을 피부조직에서 측정하여 상호 비교하였으며, 피부조직의 형태학적 변화를 전자현미경과 동시에 세포화학적 검사를 병행해서 관찰하였다.

재료 및 방법

1. 동물 및 처치

동물은 체중 300 g 내외의 외견상 건강한 Sprague-Dawley 종의 웅성 흰쥐를 대한실험동물센터로부터 구입한 후 사육실 (온도 25±1°C 및 습도 50±5%)에서 1주일 적응시켜 실험에 사용하였다. 전 실험기간동안 물과 동물사료 (삼양사 제품)의 양은 제한 없이 공급하였다.

실험군은 제모기를 이용하여 피부의 털을 제거한 후 5일간 및 10일간 피부와 공기간의 접촉을 차단한 군 (피부 차단군)과 털을 제거한 후 피부와 공기와의 접촉을 하지 않고 방치한 군 (대조군)으로 나누어 각 군은 6마리씩 분리수용 하였다. 대조군은 전기 제모기를 이용하여 등 부위에 있는 털을 제거한 다음 공기 중에 방치하였으며, 피부 차단군은 대조군과 동일한 방법으로 털을 제거한 후 시중에서 제작한 petri dish 모양인 chamber (내경; 46 mm, 높이; 10 mm)에 순간접착제 (α -cyanoacrylate)를 이용하여 등 부위에 부착시켜 공기와의 접촉을 차단하였다. 실험군의 털의 제거는 2일 간격으로 시행하여 실험에 사용하였다.

동물의 처치는 효소활성의 일 중 변동을 고려하여 일정시간에 실시할 수 있도록 시간을 조절하였다. 동물은 ether 마취 하에서 복부 정중선을 따라 개복한 후 복부대동맥으로부터 채혈하여 실험사 시켰다. 피부조직은 표피와 진피부분을 모두 적출한 후 생리 식염수로 조직의 표면을 닦은 다음 효소활성도 측정 및 전자현미경 검사에 사용하였다.

2. 효소시료의 조제

피부조직은 빙냉 하에서 미세 절편으로 만들고 그 중 일정량을 칭량한 후, 4배량의 0.1 M 인산완충용액 (pH 7.4)을 가하여 biohomogenizer와 glass teflon homogenizer로 20% (w/v) 마쇄균질액을 만들었다. 이 마쇄균질액을 600×g에서 10분간 원심분리하여 핵 및 미마쇄부분을 제거하고 10,000×g에서 20분간 원심분리하여 mitochondria 분획을 얻고 그 상층액을 105,000×g에서 1시간 동안 초원심분리하여 cytosol 분획과 microsome 분획을 분리하였다.

3. 피부조직 중 oxygen free radical의 generating 및 scavenging 효소활성 측정

1) 유해산소 생성 관련 효소활성

XO 활성 측정은 xanthine을 기질로 하여 30°C에서 20분간

반응시켜 생성된 uric acid를 292 nm에서 흡광도를 측정하는 Stirpe와 Della Corte의 방법²⁸⁾에 의하여 측정하였으며 효소활성 단위는 피부조직의 효소시료액 중에 함유된 단백질 1 mg이 1분 동안 반응하여 기질인 xanthine으로부터 생성된 uric acid의 양을 nmole로 표시하였다.

한편 microsomal aniline hydroxylase (AH) 활성 측정은 aniline을 기질로 하여 37°C에서 15분간 반응시킨 후, 생성된 *p*-aminophenol을 phenol 시약으로 발색시켜 640 nm에서 흡광도를 측정하는 Bidlack과 Lowry의 방법²⁾에 준하여 측정하였다. 활성 단위는 효소시료 중 함유된 단백질 1 mg이 1시간 반응하여 생성된 *p*-aminophenol의 양을 nmole로 표시하였다.

2) 유해산소 해독 관련 효소활성

Cytosolic superoxide dismutase (SOD) 활성 측정은 hematoxylin 자동산화의 억제정도를 관찰하는 Martin 등의 방법¹⁹⁾에 준해 0.1 mM EDTA가 함유된 50 mM 인산완충액 (pH 7.5)에 10 μ M hematoxylin 및 효소액을 가해 25°C에서 반응시켜 생성된 hemein을 560 nm에서 측정하여 효소의 활성을 산정하였다. 활성 단위는 효소액을 넣지 않고 반응시킨 액 중의 hematoxylin의 자동산화를 50% 억제하는 정도를 1 unit로 하였다.

Cytosolic glutathione S-transferase (GST) 활성 측정은 Habig 등의 방법¹⁰⁾에 준해 1-chloro-2,4-dinitrobenzene (CDNB)과 glutathione을 기질로 하여 25°C에서 10분간 반응시키는 동안 생성된 2,4-dinitrobenzene-glutathione의 conjugate량을 340 nm에서 흡광도를 측정하였다. 활성도 단위는 효소 반응액 중에 함유된 단백질 1 mg이 1분 동안 반응하여 생성된 conjugate양을 nmole로 표시하였다.

또한 cytosolic glutathione peroxidase (GPx) 활성 측정은 Paglia와 Valentine의 방법²²⁾에 따라 glutathione 기질과 조효소인 NADPH를 시료와 함께 25°C에서 5분간 반응시켜 생성된 흡광도의 변동을 340 nm에서 측정하였으며 활성도 단위는 단백질 1 mg이 1분 동안 산화시킨 NADPH 양을 nmole로 표시하였다.

Cytosolic GSSG-Rd 활성 측정은 Carlberg와 Mannervik의 방법³⁾에 준하였다. 산화형 glutathione 기질과 조효소인 NADPH를 시료와 함께 30°C에서 10분간 반응시켜 340 nm에서 NADPH의 산화로 인한 흡광도 감소율을 측정하였다. 활성도 단위는 단백질 1 mg이 1분 동안 산화시킨 NADPH 양을 nmole로 표시하였다.

Mitochondrial catalase (CAT) 활성 측정은 hydrogen peroxide (H₂O₂)를 기질로 하여 환원되는 정도를 240 nm에서 흡광도를 읽고 분자흡광계수 (0.041 mM⁻¹ · cm⁻¹)를 이용하여 활성을 측정하는 Aebi의 방법¹⁾에 준하였으며 활성 단위는 효소시료 중에 함유된 단백질 1 mg이 1분간 반응하여 감소된 H₂O₂ 양을 nmole로 표시하였다.

효소액 중 단백질 정량은 Lowry 등의 방법¹⁸⁾에 의해 bovine

albumin을 표준품으로 하여 측정하였다.

4. 피부조직의 reduced glutathione (GSH) 함량 측정

GSH 함량은 Ellman의 방법⁶⁾에 준하였다. 피부조직 마쇄균 질액 일정량에 4% sulfosalicylic acid 0.5 ml를 가하고 원심분리한 후, 상등액 일정량을 0.1 mM 5,5'-dithio-bis(2-nitrobenzoic acid) 함유한 0.1 M sodium phosphate buffer (pH 8.0)에 넣고 반응시켜 생성된 *p*-nitrothiophenol을 측정하였다. GSH 함량은 피부조직 g 당 μ mole로 표시하였다.

이상 모든 효소활성 단위는 본문에서 대조군에 대한 백분율(%)로 표시하였다.

5. 전자현미경적 관찰

전자현미경적 관찰을 위하여 5일 및 10일 대조군, 그리고 5일 및 10일 피부 차단군에서 적출한 피부조직을 적출 즉시 1 mm³ 크기로 세절하고, 2.5% glutaraldehyde (0.1 M phosphate buffer pH 7.4)로 고정한 다음 전고정이 끝난 조직을 0.1 M phosphate buffer (pH 7.4)로 수세한 후 1% osmium tetroxide (0.1 M phosphate buffer pH 7.4)로 1시간 동안 후 고정하였다. Alcohol-propylene oxide 계열로 순차적으로 증가하는 농도에 따라 탈수한 다음, epoxy resin에 포매하였다. 포매된 조직은 열중합시키고 60~70 nm로 초박절편한 다음 uranyl acetate와 lead citrate로 이중 염색한 후 투과전자현미경으로 관찰하였다.

6. Hydrogen peroxide 분포 관찰을 위한 세포화학적 방법

정상군, 5일 및 10일 대조군, 그리고 5일 및 10일 피부 차단

군에서 피부조직을 적출하여 1 mm³ 크기로 세절한 다음 즉시 2.0 mM cerium chloride, 10 mM 3-amino-1,2,4-triazole, 0.1 M trismaleate buffer (pH 7.5), 7% sucrose, 0.0002% triton X-100으로 조제된 기질에 담그고, 37°C에서 1시간 반응시켰다. 반응이 끝난 조직을 0.1 M tris-maleate buffer (pH 7.5)와 0.1 M sodium cacodylate buffer (pH 7.4)로 각각 차례로 수세한 후 1% osmium tetroxide (0.1 M phosphate buffer (pH 7.4)로 고정하여 통상의 전자현미경 표본제작법으로 탈수, 포매, 중합, 절편을 만들어 uranyl acetate 단염색한 후 투과전자현미경으로 관찰하였다.

7. 성적 검정

실험성적의 통계처리는 Student's *t*-test²⁴⁾로 하였으며 유의수준은 0.05 이하로 하였다.

결 과

1. 실험군별 피부조직의 미세구조적 변화

대조군 (Fig. 1a)은 기저막 위로 작은 돌기를 가진 입방형의 기저층 세포들이 인접하고 있는 가시층 세포들과 연결을 구성하며 정상적인 형태로 관찰되었고, 가시층의 세포질 내에 풍부한 tonofibrils를 함유하고 있었다. 그리고 H₂O₂와 반응한 cerrous perhydroxide 과립분포를 알아보기 위하여 세포화학적 관찰 결과 기저층과 세포간질과 지저층과 가시층 세포간질, 그리고 일부 진피층 내에서 부분적으로 관찰되었다 (Fig. 1b). 그러나 5일 피부 차단한 군 (Fig. 2a)과 10일 피부 차단한 군

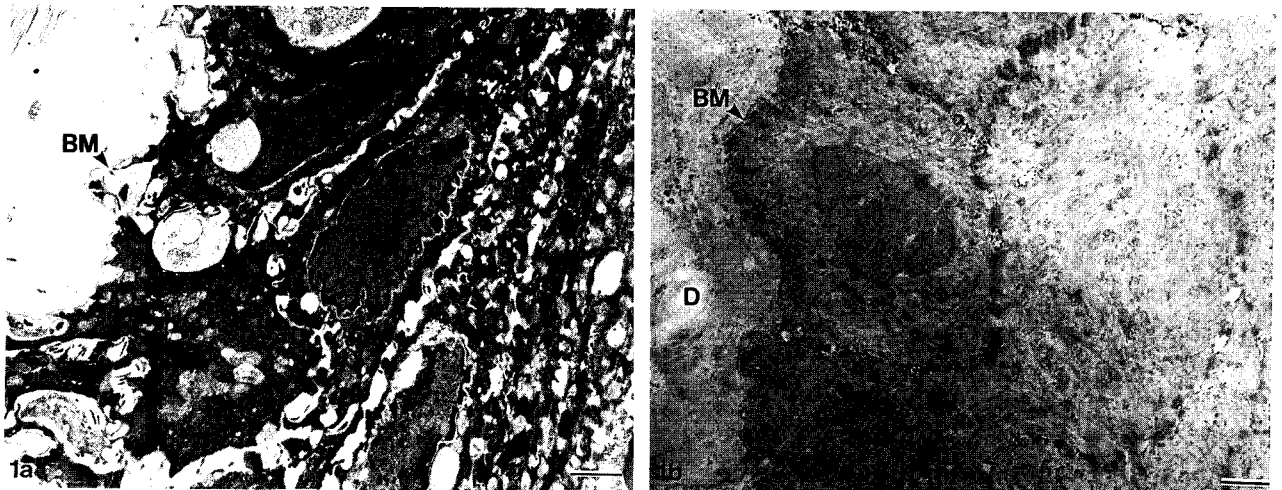


Fig. 1. Electron micrographs of the stratum basale, the stratum spinosum and the stratum granulosum of skin tissue on five day-control group. (a) In the stratum basale and the stratum spinosum, the cells contact with the other cells by cytoplasmic processes. The cells of stratum granulosum have granules of keratohyaline. Uranyl acetate and lead citrate, $\times 5,000$, BM: basement membrane. (b) In the intercellular spaces of the stratum basale, cerrous perhydroxide deposits were found. Uranyl acetate and lead citrate, $\times 4,000$, BM: basement membrane.

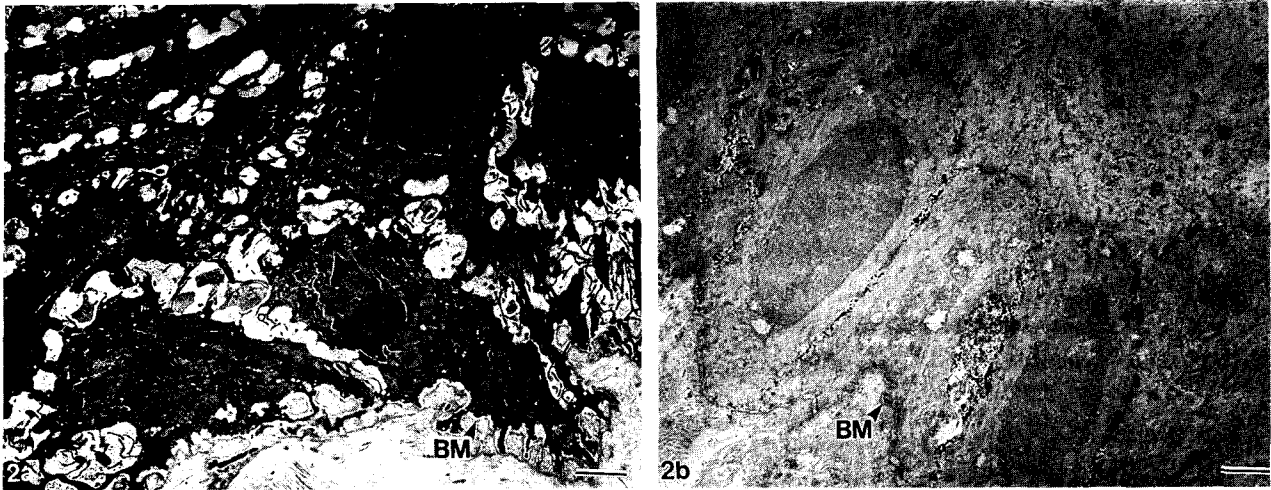


Fig. 2. Electron micrographs of the stratum basale, the stratum spinosum of skin tissue on five day-occluded group. (a) The stratum basale consisted of a single layer of cuboidal cells having many cytoplasmic processes, which adhered to latter layer by desmosomes. Uranyl acetate and lead citrate, $\times 4,000$, BM: basement membrane. (b) In the intercellular spaces of the stratum basale, cerrous perhydroxide deposits were found. Uranyl acetate, $\times 4,000$, BM: basement membrane.

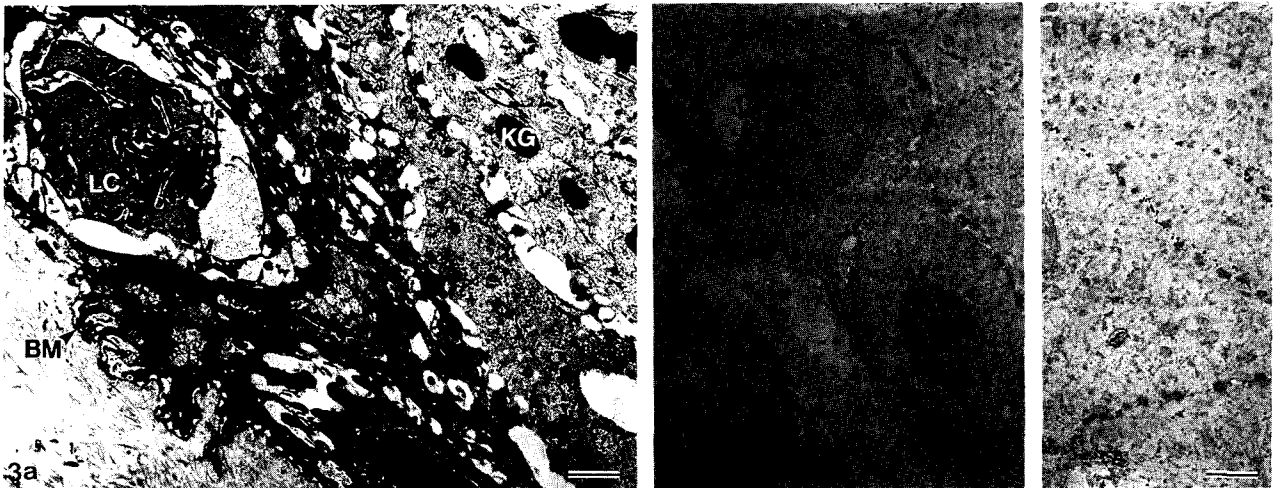


Fig. 3. Electron micrographs of the stratum basale, the stratum spinosum and stratum granulosum of skin tissue on ten day-occluded group. (a) Mitochondrial degeneration (arrow head) was shown in the cytoplasm of the stratum basale. Uranyl acetate and lead citrate, $\times 4,000$, BM: basement membrane, KG: keratohyaline granule, LC: langerhans's cell. (b) Cerrous perhydroxide deposits were found in dermal connective tissue, stratum basale (left), and stratum spinosum (right). Uranyl acetate, $\times 4,000$, Co: collagen fiber.

(Fig. 3a)에서의 미세구조는 대조군과 별다른 차이를 발견할 수 없었으나, 10일 피부 차단한 군의 기저층 세포질 내에 약한 사립체의 변성이 관찰되었다.

Cerrous perhydroxide 과립의 반응양상과 분포는 5일 피부 차단한 군과 10일 피부 차단한 군 모두 대조군과 비교하여 볼 때 넓은 지역에서 강한 반응을 보였다. 즉 5일 피부 차단한 군 (Fig. 2b)에서는 기저층 세포들의 간질부분을 따라 강한 과립의 양상이 관찰되었다.

10일 피부 차단한 군 (Fig. 3b, left)은 5일 피부 차단한 군과

비교하여 반응의 정도는 약하였으나 진피층과 기저층, 그리고 가시층 (Fig. 3b, right)에서도 cerrous perhydroxide 과립들이 세포간질 부분에 연속적으로 반응하고 있음이 관찰되었다.

2. Oxygen free radical 생성효소활성

피부와 공기와의 접촉을 차단했을 때 피부조직의 oxygen free radical 생성효소활성을 나타낸 것이 Fig. 4와 같다.

5일 피부 차단군은 대조군에 비하여 XO 활성이 약 26%의 유의한 ($P < 0.05$) 증가를 보였으나, 10일 피부 차단군은 대조군

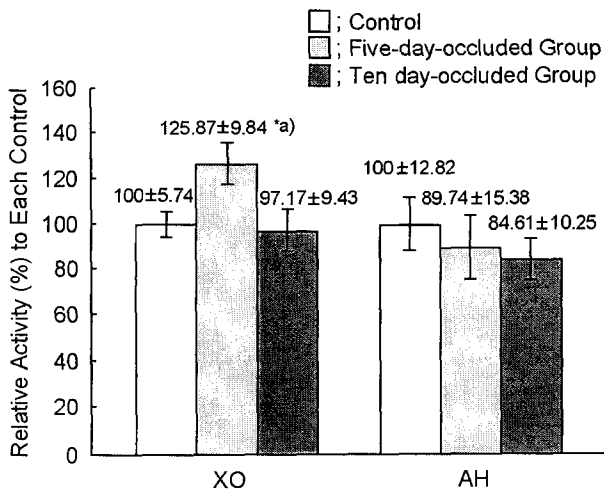


Fig. 4. Effect of occlusion on the activities of cutaneous oxygen free radical generating enzymes. Each value represents the mean \pm S.E of 6 rats.
^{a)} Significantly different from control group (*; $P < 0.05$).

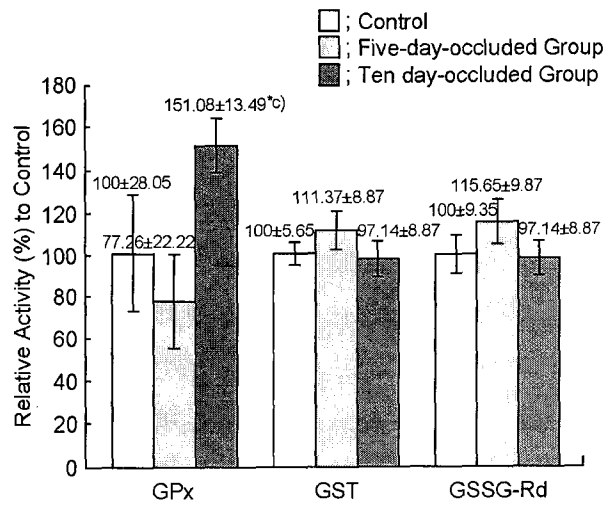


Fig. 6. Effect of occlusion on the activities of glutathione related oxygen free radical scavenging enzymes. Each value represents the mean \pm S.E of 6 rats.
^{c)} Significantly different from five day-occluded group (*; $P < 0.05$).

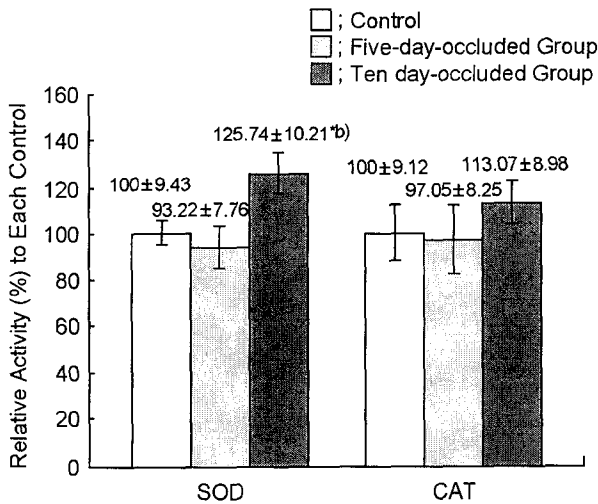


Fig. 5. Effect of occlusion on the activities of cutaneous oxygen free radical scavenging enzymes. Each value represents the mean \pm S.E of 6 rats.
^{b)} Significantly different from five day-occluded group (*; $P < 0.05$).

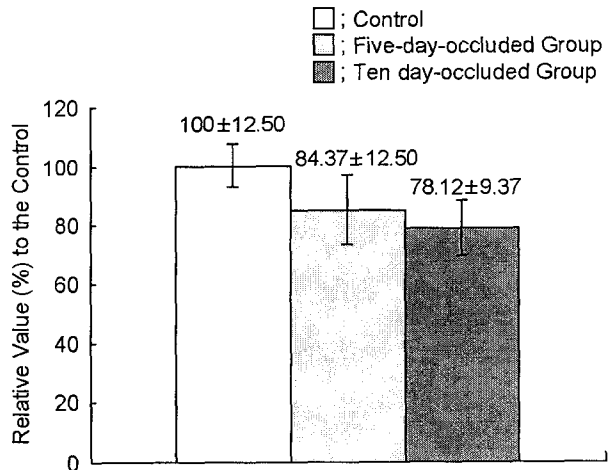


Fig. 7. Effect of occlusion on the cutaneous glutathione content. Each value represents the mean \pm S.E of 6 rats.

과 별다른 차이를 볼 수 없었으며 5일 피부 차단군에 비해서는 오히려 23% 감소되었다.

AH 활성은 5일 피부 차단군은 대조군에 비하여 약 10% 감소되는 경향을 보였으며, 10일 피부 차단군은 대조군에 비하여 약 15% 감소되는 경향을 보였다

3. Oxygen free radical 해독효소활성

피부와 공기의 접촉을 차단했을 때 피부조직의 oxygen free

radical의 해독 효소인 SOD 및 CAT 활성을 나타낸 것이 Fig. 5이다. SOD 활성은 대조군과 5일 피부 차단군 간에는 별다른 차이를 볼 수 없었으나 10일 피부 차단군은 5일 피부 차단군보다 약 34%의 유의한 ($P < 0.05$) 증가를 보였으며 CAT 활성은 3군간에 별다른 차이를 볼 수 없었다.

GPx 활성은 5일 피부 차단군에서 대조군보다 오히려 약 22% 감소되었으나 10일 피부 차단군은 대조군에 비해서 약 51% 증가를 보였으나 유의성은 없었다. 그러나 5일 피부 차단군에 비해서는 약 95% 유의한 ($P < 0.05$) 증가를 보였다. 그리고 GSSG-Rd 활성은 피부 5일 차단군과 대조군 간에는 별다른 차

이가 없었으나, 피부 10일 차단군은 대조군에 비해서 약 29% 증가되는 경향을 보였으며, GST 활성은 3군간에 별다른 차이를 볼 수 없었다 (Fig. 6).

4. GSH 함량

피부와 공기의 접촉을 차단했을 때 피부조직의 GSH 함량을 측정할 성적이 Fig. 7와 같다. 5일 피부 차단군은 대조군에 비해서 GSH 함량은 약 16% 감소되는 경향을 보였으며, 10일 피부 차단군은 대조군에 비해서 약 21% 감소되는 경향을 나타내었다.

고 찰

본 실험에서 피부에 chamber를 사용해서 5일간 및 10일간 피부와 공기간의 접촉을 차단한 후 전자현미경하에 피부조직을 관찰한 결과, 대조군과는 별다른 차이를 볼 수 없었으며 다만 10일 피부 차단군의 기저층 세포질 내의 약한 사립체의 변성 관찰될 뿐이었다. 그러나 세포화학적 전자현미경적 관찰에서 5일 및 10일 차단군 모두 대조군에 비해서 cerrous perhydroxide 과립반응이 강하게 나타났다. 특히 5일 피부 차단군이 10일 피부 차단군 보다 cerrous perhydroxide 과립반응이 크게 나타났다. 최근 채 등²⁷⁾은 급성 간손상이 유도된 실험동물의 피부조직에 cerrous perhydroxide 과립반응이 강하게 나타남을 관찰하였으며, 이는 oxygen free radical 생성과 해독기구의 불균형으로 인한 조직 내 H₂O₂ 축적이 기인되어 나타난 결과라고 보고하였다. 그리고 채 등²⁶⁾은 피부조직에 톨루엔과 같은 화학물질의 도포시에도 oxygen free radical 대사기구의 불균형으로 cerrous perhydroxide 과립의 축적을 관찰한 바 있다. 따라서 피부조직 손상은 oxygen free radical에 상당한 영향을 받을 수 있음을 시사해 주고 있다. 한 등³⁰⁾은 피부와 공기간의 접촉을 차단한 경우에 피부조직의 땀 축적량과 관련하여 oxygen free radical의 일종인 superoxide 생성에 관여하는 XO 효소가 유도된다고 하였다. 따라서 피부조직에 있어서 생체 내 병태생리적 조건, 화학물질과 더불어 공기차단과 같은 물리적 요인이 oxygen free radical 대사에 상당한 영향을 미치고 있음을 알 수 있다.

특히 피부조직과 공기간의 접촉을 차단한 경우에 XO 효소가 유도된다는 한 등의 보고³⁰⁾와 본 실험에서 피부조직의 공기와의 차단시에 피부조직에 cerrous perhydroxide 과립반응이 강하게 나타남은 바로 oxygen free radical의 생성 및 해독기구에 어떠한 변화가 있을 것이라는 것을 시사해 주고 있다. 따라서 이를 확인할 목적으로 본 실험에서 oxygen free radical의 생성 및 해독기구에 관여하는 효소활성을 측정할 결과, 5일간 피부를 차단한 경우에 XO 활성이 대조군에 비해서 유의하게 증가되었으며, 이는 한 등의 보고³⁰⁾와 일치하였다. 그러나 10일 피부 차단군은 대조군과 별다른 차이를 볼 수 없었다. 이는 어떻

게 해석하기는 어려우나, 생리적 적응현상일 것으로 생각된다. 또한 superoxide 생성에 관여하는 cytochrome P450 활성인 AH 활성¹¹⁾은 피부 차단군과 대조군 간에 별다른 차이를 볼 수 없었다. 따라서 피부를 공기와 차단한 경우 피부조직에 superoxide 생성은 주로 XO 효소에 기인됨을 알 수 있다. Superoxide는 세포조직에 상해를 초래하며 이때 상해의 정도 및 상해의 예방은 superoxide 해독기구에 상당한 영향을 받고 있다^{4,15)}. 그러므로 본 실험조건에서 superoxide 해독에 관여하는 효소활성을 피부조직에서 측정할 결과, CAT는 대조군과 실험군간에 별다른 차이가 없었으며 SOD 활성은 5일 피부 차단군에서는 대조군과 별다른 차이가 없었으나, 10일 피부 차단군은 대조군에 비해서 유의한 감소를 보였다. 특히 H₂O₂ 제거효소인 GPx 활성^{5,13,17)}은 5일 피부 차단군에서는 대조군과 별다른 차이가 없었고, 10일 차단군에서는 유의한 증가를 보였다. 따라서 피부에 공기와의 접촉을 5일간 차단시에 oxygen free radical 생성효소인 XO 활성^{8,11)}이 높게 나타나는 반면 superoxide의 해독효소인 SOD¹¹⁾와 H₂O₂ 해독효소인 GPx 활성^{5,13,17)}은 10일 피부 차단군 보다 낮게 나타남과 본 실험조건에서 피부에 공기차단기간에 따라서 H₂O₂의 직접 해독에 관여하는 GSH 함량이 감소되는 경향^{5,13,17)}을 고려해 볼 때 피부에 공기를 5일 차단한 경우 피부조직에 oxygen free radical의 축적을 시사해 주고 있으며, 이는 전자 현미경하에서 10일 피부 차단군 보다 5일간 피부를 차단한 경우 H₂O₂ 과립반응이 오히려 강하게 나타난 사실이 이를 뒷받침해 주고 있다.

이상 문헌상의 지견과 본 실험 결과를 종합해 볼 때 피부조직에 단기간 동안 공기와의 접촉차단은 피부조직에 oxygen free radical에 의한 상해에 영향을 미칠 것으로 생각되며, 또한 장기간 동안 공기와의 접촉차단이 단기간 동안 접촉차단 보다 oxygen free radical의 반응이 약한 것은 생체 내 생리적 적응현상으로 생각된다.

참 고 문 헌

- 1) Aebi H (1974): Catalase. In *Methods of Enzymatic Analysis* Bergmeyer HU (ed), Vol 2, pp 673-684. *Academic Press, New York*.
- 2) Bidlack WR and Lowery GL (1982): Multiple drug metabolism: p-nitroanisoole reversal of acetone enhanced aniline hydroxylation. *J Biochem Pharmacol*, **31(3)**: 311-317.
- 3) Carlberg I and Mannervik B (1975): Purification and characterization of the flavoenzyme glutathione reductase from rat liver. *J Bio Chem*, **250(14)**: 5475-5480.
- 4) Chow CK and Tappel AL (1974): Response of glutathione peroxidase to dietary selenium in rats. *J Nutr*, **104(4)**: 444-451.

- 5) Christophersen BO (1968): Formation of monohydroxy-polyenic fatty acids from lipid peroxides by a glutathione peroxidase. *Biochem Biophys Acta*, **164(1)**: 35-46.
- 6) Ellman GL (1959): Tissue sulfhydryl groups. *Arch Biochem Biophys*, **82**: 70-77.
- 7) Elsner P (1994): Allergic and irritative textile dermatitis. *Schweiz Med Wochenschr*, **124(3)**: 111-118.
- 8) Freeman BA and Crapo JD (1982): Biology of disease: Free radicals and tissue injury. *Lab Invest*, **47(5)**: 412-426.
- 9) Forslind B and Wahlberg JE (1977): Assessment of chromium allergy: Features of patch test reactions at electron microscopic resolution. *Acta Derm Venereol*, **57(1)**: 29-35.
- 10) Habig WH, Pabist MJ and Jakoby WB (1974): Glutathione S-transferase: The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J Biol Chem*, **249(22)**: 7130-7139.
- 11) Haugon DA and Coon MJ (1976): Properties of electrophoretically homogenous phenobarbital-inducible and β -naphthoflavone-inducible forms of liver microsomal cytochrome P450. *J Biol Chem*, **251(24)**: 7929-7939.
- 12) Holbrook KA (1991): Structure and function of the developing human skin. In Physiology, Biochemistry, and Molecular Biology of the skin. Goldsmith LA (ed), pp 63-110. *Oxford University Press, New York*.
- 13) Holmberg NJ (1968): Purification and properties of glutathione peroxidase from bovine lens. *Exp Eye Res*, **7(4)**: 570-580.
- 14) Johnson ML (1982): Skin disease. In Cecil Textbook of Medicine. Wyngaarden JB and Smith LH (ed), pp 2249-2292. *WB Saunders Com, Philadelphia*.
- 15) Leibovitz BE and Siegel BV (1980): Aspects of free radical reactions in biological systems: aging. *J Gerontol*, **35(1)**: 45-56.
- 16) Lindberg M and Forslind B (1981): The effects of occlusion of the skin on the Langerhans' cell and the epidermal mononuclear cells. *Acta Derm Venereol*, **61(3)**: 201-205.
- 17) Little C and O'Brien PJ (1968): An intracellular GSH-peroxidase with a lipid peroxide substrate. *Biochem Biophys Res Commun*, **31(2)**: 145-150.
- 18) Lowry OH, Rosenbrough NJ, Farr AL and Randall RJ (1951): Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Bio Chem*, **193**: 265-275.
- 19) Martin JP Jr, Dailey M and Sugarman E (1987): Negative and positive assays of superoxide dismutase based on hematoxylin autooxidation. *Arch Biochem Biophys*, **255(2)**: 329-336.
- 20) Matsumura H, Oka K, Umekage K, Akita H, Kawai J, Kitazawa Y, Suda S, Tsubota K, Ninomiya Y and Hirai H (1995): Effect of occlusion on human skin. *Contact Dermatitis*, **33(4)**: 231-235.
- 21) Muizzuddin N, Marenus KD and Maes DH (1998): Factors defining sensitive skin and its treatment. *Am J Contact Dermat*, **9(3)**: 170-175.
- 22) Paglia ED and Valentine WN (1967): Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocytes glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med*, **70(1)**: 158-169.
- 23) Pierard GE, Arrese JE, Rodriguez C and Daskaleros PA (1994): Effect of softened and unsoftened fabrics on sensitive skin. *Contact Dermatitis*, **30(5)**: 286-291.
- 24) Scheffler WC (1980): Statistics for the biological sciences. pp 84-88, Addison-Wesley Publishing Co, USA.
- 25) Sjöborg S, Axelsson S, Falck B, Jacobsson S and Ringberg A (1978): A new method for the visualization of the epidermal Langerhans cell and its application on normal and allergic skin. *Acta Derm venereol Suppl (Stockh)*, **58(79)**: 23-30.
- 26) Soon-Nim Chae, Chong-Guk Yoon and Won-Hark Park (2001): Effect of toluene application to the rat skin on the oxygen free radical metabolizing system. *J Toxicol Pub Health*, **17(1)**: 33-39.
- 27) Soon-Nim Chae, Tae-Won Jeon and Chong-Guk Yoon (1999): Change of dermal oxygen free radical metabolizing enzyme activities in acute liver damage induced with CCl_4 in rats. *Kor J biochem Lab Sci*, **5(1)**: 51-58.
- 28) Stirpe F and Della Corte E (1969): The regulation of rat liver xanthine oxidase. Conversion in vitro of the enzyme activity from dehydrogenase (type D) to oxidase (type O). *J Biol Chem*, **244(14)**: 3855-3863.
- 29) Stohs SJ (1995): The role of free radicals in toxicity and disease. *J Basic Clin Physiol Pharmacol*, **6(3-4)**: 205-228.
- 30) Sun-il Han, Tae-Won Jeon and Chong-Guk Yoon (2000): Effect of occlusion on the activities of dermal xanthine oxidase in rats. *Kor J biochem Lab Sci*, **6(1)**: 37-43.
- 31) Tauber AI, Borregaard N, Simons E and Wright J (1983): Chronic granulomatous disease: a syndrome of phagocyte oxidase deficiencies. *Medicine (Baltimore)*, **62(5)**: 286-309.
- 32) Willis CM, Young E, Brandon DR and Wilkinson JD (1986): Immunopathological and ultrastructural findings in human allergic and irritant contact dermatitis. *Br J Dermatol*, **115(3)**: 305-316.