

피지선세포에서 Retinoic Acid의 피지생성억제효과

문연자 · 김윤석 · 권강주 · 이희섭¹ · 노성택 · 김양진² · 이장천² · 우원홍*

원광대학교 한의학전문대학원 한약자원개발학과, 1:미즈베병원 산부인과

2:상지대학교 한의과대학 본초방제학교실

Inhibitory Effect of Retinoic Acid on lipid Synthesis in Human Sebocyte

Yeun Ja Mun, Youn Seok Kim, Gang Joo Kwon, Hee Sub Rhee¹,
Seong Taek Roh, Yang Jin Kim², Jang Cheon Lee², Won Hong Woo*

Department of Herbal Resources, Professional Graduate School of Oriental Medicine, Wonkwang University,

1:Department of Obstetrics and Gynecology, Missbebe Hospital, Iksan, Korea.

2:Department of Herbology & Prescriptionology, Orental Medicine College, Sangji University

The differentiation of the sebaceous gland is remarkably species-specific and sebocytes may play crucial parts in the pathophysiologic processes and disorders of pilosebaceous unit. SZ95 cell is an immortalized human sebaceous gland cell line that shows characteristics of normal human sebocytes. In this study, we investigated the effect of testosterone and the anti-androgenic effect of 13-cis-retinoic acid (13-cis-RA) on lipid synthesis in SZ95 cells. Cytoplasmic lipid droplets were shown by Oil-red staining. The majority of the SZ95 cells positively labeled with Oil-red dye, while HaCaT cells negatively labeled with Oil red dye. Total lipid level of SZ96 cells is higher 4 times than that of HaCat cells. Testosterone markedly increased 2 times lipid synthesis of SZ95 cells in compared with control. 13-cis-RA significantly inhibited lipid synthesis and cell proliferation in SZ95 cells. Combined treatment with testosterone and 13-cis-RA resulted in a lower total lipid levels than that with androgen alone. In conclusion, SZ95 cells well resembled the morphologic and functional characteritics of normal human sebocytes. This in vitro model could provide a valuable tool for the study of sebocytes with a key role in pathophysiology and differentiation of sebaceous glands.

Key words : sebaceous gland, SZ95 cell, testosterone, 13-cis-retinoic acid

서론

毛囊 皮脂腺의 만성 염증성 疾患의 하나인 여드름은 尋常性 痤瘡으로 대개 사춘기 전, 후에 발생하기 시작하여 성인기까지 지속되며 毛皮脂腺 單位가 가장 밀집되어 있는 얼굴, 가슴 등에 호발한다. 여드름의 病因으로는 androgen에 의한 皮脂分泌의 增加와 비정상적인 毛囊의 정체각화, 毛囊 내 상주하는 Propionibacterium acne의 增殖, 毛囊 내 물질이 眞皮로 유출됨에 따라 생기는 염증반응 등이 알려져 있다^{1,2)}. 따라서 여드름의 치료는 皮脂分泌의 증가, 皮脂腺管의 과각화, 毛囊 내 세균집락의 형성 및 염증반응의 4가지 병인에 준하여 시행되며, 皮脂分泌

를 억제하는 여성호르몬이나 13-cis-retinoic acid(isotretinoin) 등의 치료로 皮脂分泌量의 감소와 여드름 병변의 호전을 가져오는 것은 널리 알려진 사실이다^{3,4)}.

皮脂腺의 分化는 種 特異的이며 皮脂腺細胞는 毛皮脂腺 單位(pilosebaceous unit)의 이상과 병태생리적 과정에 중요한 역할을 하고 있다. 특히 피부에서 testosterone의 DHT (dihydrotestosterone)로의 變換은 사춘기에 2차 성장을 나타나게 하고 이 시기가 지나면 DHT로의 變換이 감소하게 되나, 종종 과도하게 생산된 DHT로 인해 여드름, 여성에서의 다모증, 유전성 안드로젠 탈모증 등이 유발되기도 한다⁵⁾. 특히 androgen의 대사는 주로 세포 내에서 일어나는 과정으로 세포의 형태에 따라, 분포의 위치에 따라 대사 작용이 다르게 나타나기 때문에 사람의 정상 皮脂腺細胞의 특징을 지닌 細胞株에서 anti-androgenic 효과를 조사하고 그 작용 기전을 분석함은 절대적으로 필요하다^{6,7)}. 그러

* 교신저자 : 우원홍, 익산시 신용동 원광대 한의학전문대학원 한약자원개발학과

E-mail : whwoo@wonkwang.ac.kr, Tel : 063-850-6845

접수 : 2004/07/13 · 수정 : 2004/08/13 · 채택 : 2004/09/21

나 皮脂腺의 분화와 기능, 약리적인 분석을 하기 위한 long-lasting culture model이 없어 현재까지 皮脂腺의 병태생리학의 대부분의 연구는 in vivo와 animal model에서 이루어졌으며, short-term organotypic culture와 primary culture에서 일부 보고 되었다^{2,4)}. 그러므로 본 연구에서는 primary human sebocyte의 특징을 지닌 SZ95 human sebaceous gland cell line을 이용하여 testosterone의 皮脂腺細胞에서 皮脂生成 효과와 13-cis-retinoic acid(isotretinoin)의 anti-androgenic 효과를 조사하였다.

재료 및 방법

1. 세포배양

사람의 皮脂腺細胞住인 SZ95 細胞는 독일 베를린자유대학의 대학의학센터 벤자민프랭클린(The Free University of Berlin, University Medical Center Benjamin Franklin)의 Dr. Zouboulis로부터 寄贈 받아서 사용하였다. SZ95 細胞는 사람의 皮脂腺細胞(sebaceous gland cell)와 SV40 (Simian virus-40)과 융합하여 얻은 細胞住로서 사멸되지 않는 성상을 가지고 있으며, 본 실험에서는 SZ95 細胞를 10% fetal bovine serum (FBS, Hyclone), 2mM N-acetyl-L-glutamine, 50 µg/ml, gentamycin이 포함된 modified DME medium/Ham's F12 medium (1:1) (Biochrome, Germany) 배지에서 배양하였다.

2. 細胞增殖

SZ95 細胞의 增殖에 미치는 영향은 시료를 일정 시간 처리한 후 細胞의 生存率을 측정하였다. 細胞 生存率은 3-(4,5-dimethyl-thiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-tetrazoliumbromide (MTT) assay를 이용하였다²⁵⁾. MTT는 세포내로 흡수된 후 사립체의 succinate dehydrogenase에 의해 불용성의 formazan을 형성하는데 이 물질의 세포내 축적은 사립체의 활성, 넓게는 세포의 활성을 의미하므로 細胞의 生存率을 측정하는 방법으로 이용되고 있다. 세포 배양판(96 well plate)에 4×10^3 cell/well의 세포를 분주하고 24시간 동안 37°C, 5% CO₂ 세포배양기에서 안정화시킨 후 실험에 필요한 시료를 처리하였다. 배양이 끝난 세포는 배양액에 MTT(100 µg/ml)를 첨가하고 4시간 후 세포내에 생성된 불용성의 formazan은 DMSO 용액에 녹여 ELISA reader에서 540 nM의 흡광도로 O.D. (optical density) 값을 측정하였다. 모든 시험결과는 세포를 배양하지 않은 대조군에서 측정된 흡광도에 대하여 보정한 값으로 산출하였다.

3. Oil Red 염색

SZ95 細胞를 슬라이드 배양판(slide chamber, Nunc)에 분주하고 24시간 안정화시킨 후 시료를 처리하여 5일 동안 배양하였다. 배양이 끝난 후 세포내 지방소적(lipid droplet)을 관찰하기 위하여 SZ95 細胞를 0.6% Oil Red solution(Sigma)에 1시간 염색하고 85% propylene glycol에 1분간 처리하였다. 물로 2회 세척한 후 Harris hematoxylin에 1분간 염색하고 물로 세척하였다. glycerin jelly로 봉입하여 세포내 지방소적을 광학현미경으로 관찰하였다.

4. 脂質의 정량측정

SZ95 세포를 10 cm dish (Nunc)에 분주하고 24시간 안정화시킨 후 시료를 처리하여 5일 동안 배양하였다. 세포내 지질(lipid)의 정량측정은 먼저 Folch-Lees 추출법에 따라 SZ95 세포의 脂質을 추출하고, sulfo-phospho-vanillin 발색법을 이용한 총지질 측정용시약(국제시약, 일본)으로 측정하였다. 배양이 끝난 세포는 수집하여 초음파로 분쇄하고 chloroform:methanol(2:1) 용액을 첨가하여 세포내 脂質을 용해시켰다. 원심분리(2000 rpm, 10분)하여 지질이 용해된 상층액을 취한 후 질소 gas로 농축하고 필요에 따라 -20°C에 보관하였다. 농축된 脂質은 chloroform에 녹인 후 먼저 H₂SO₄로 산화 처리하여 keton body를 형성하고 이를 phospho-vanillin 시약으로 발색시켜서 나타난 적자색을 540 nM에서 측정하였다.

결과

1. SZ95 皮脂腺細胞의 脂質合成

정상 皮脂腺細胞의 특징을 지니고 있는 SZ95 細胞의 脂質合成 정도를 Oil Red 염색을 통하여 형태적으로 조사한 결과 SZ95 細胞의 세포질 내에 다수의 지방소적이 관찰되었고, 피부의 角質化細胞住인 HaCaT 細胞의 세포질에서는 지방소적이 관찰되지 않았다(Fig. 1).

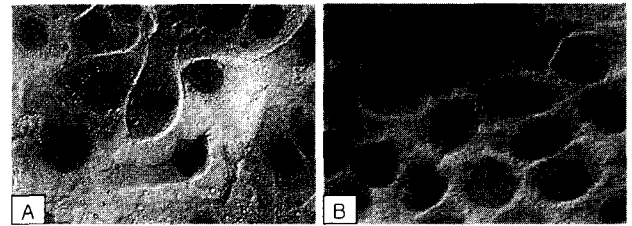


Fig. 1. Observation of cytoplasmic lipid droplets in SZ95 cells. Cytoplasmic lipid droplets were stained with Oil Red dye as described in Materials and Methods. (A) SZ95 cells positively labeled with Oil Red dye identifying lipids, (B) white HaCaT cells negatively labeled with Oil Red dye.

Sulfo-phospho-vanillin 발색법을 이용한 脂質의 정량측정 결과에서 SZ95 細胞는 HaCaT 細胞에 비하여 약 4배 정도 많은 지질을 함유하고 있는 것으로 나타났다(Fig. 2).

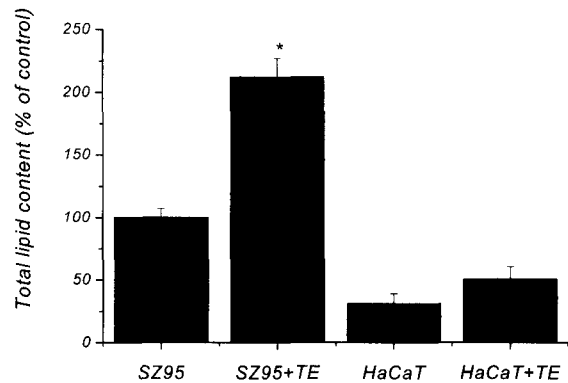


Fig. 2. Lipid synthesis in SZ95 cells. Cells were treated with or without testosterone (10^{-5} M) for 5 d. Total lipid content was assessed by the sulfo-phospho-vanillin colorimetric method as described in Materials and Methods. Values are mean \pm SD and are presented as percent of controls. * P < 0.01, compared with controls.

또한 皮脂腺細胞의 皮脂生成과 分泌를 촉진시키는 것으로 알려진 testosterone을 10^5 M 농도로 5일 간 처리한 결과 SZ95 세포에서 脂質合成이 대조군에 비하여 약 2배($212.2 \pm 15\%$) 정도 증가하였다. HaCaT 세포에서도 testosterone 처리시 脂質이 약간 증가하였으나 유의성은 없는 것으로 나타났다.

2. SZ95 피지선세포 대한 13-cis-retinoic acid의 효과

SZ95 細胞에 13-cis-RA를 5일 동안 처리하고 세포내 총지질량을 측정 한 결과, 13-cis-RA 10^{-7} M 처리군에서는 總脂質이 대조군의 $93.8 \pm 5\%$, 10^{-6} M 처리군에서는 $65.4 \pm 8\%$ 로 감소하였다. 한편 testosterone(10^5 M) 처리군에서는 總脂質이 대조군의 $212.2 \pm 15\%$ 로 증가하였으며, 13-cis-RA와 testosterone을 병용 처리하였을 때 13-cis-RA 10^{-7} M과 10^{-6} M 처리군은 각각 $169.4 \pm 10\%$, $130.2 \pm 8\%$ 로 testosterone 단일 처리군에 비하여 감소하였다(Fig. 3).

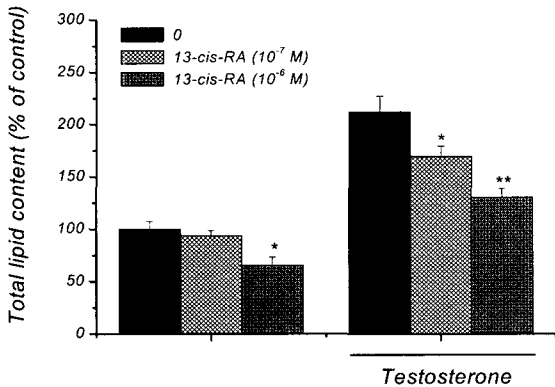


Fig. 3. Effects of 13-cis-RA on lipid synthesis. SZ95 cells were treated with 13-cis-RA (10^{-7} M or 10^{-6} M) or combined 13-cis-RA (10^{-7} M or 10^{-6} M) and testosterone (10^5 M), for 5 d. Total lipid content was assessed by the sulfo-phospho-vanillin colorimetric method. Values are mean \pm SD and are presented as percent of controls. * P < 0.05, ** P < 0.01, compared with controls.

SZ95 細胞의 지질합성에 대한 testosterone과 13-cis-RA의 영향을 형태적으로 관찰한 결과, testosterone을 처리한 SZ95 細胞에서는 지방소적이 增加되었으며, 13-cis-RA과 testosterone 처리군에서는 減少되었음이 관찰되었다(Fig. 4).

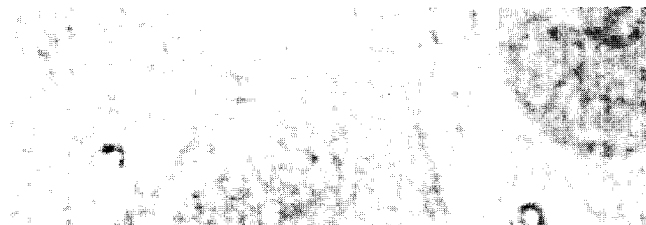


Fig. 4. Effect of 13-cis-RA on cytoplasmic lipid droplets formation. SZ95 cells were treated with testosterone or combined 13-cis-RA and testosterone for 5 d. Cytoplasmic lipid droplets were stained with Oil Red dye. A: control, B: testosterone (10^5 M), C: combined 13-cis-RA (10^{-6} M) and testosterone (10^5 M).

13-cis-RA가 SZ95 細胞의 증식에 미치는 영향을 조사한 결과 13-cis-RA 10^{-7} M처리군은 대조군의 $92.6 \pm 5\%$, 13-cis-RA 10^{-6} M 처리군은 $91.5 \pm 3\%$ 로 감소하였으나 통계적 유의성은 없었고, 13-cis-RA 10^{-5} M 처리군은 $85.4 \pm 4\%$ 로 대조군에 비하여 SZ95 細胞

의 增殖이 유의하게 減少한 것으로 나타났다.

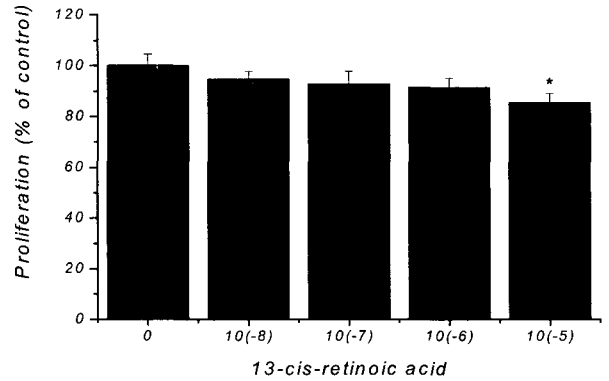


Fig. 5. Effect of 13-cis-RA on cell proliferation in SZ95 cells. SZ95 cells were treated with 13-cis-RA (10^{-8} - 10^{-5} M) for 5 d. The cell proliferation was measured by MTT assay as described in Materials and Methods. Values are mean \pm SD and are presented as percent of controls. * P < 0.05, compared with controls.

고찰

여드름은 가장 광범위한 질병 중의 하나로 皮脂腺 分化는 種 特異적이고 毛皮脂腺 單位(pilosebaceous unit)의 이상과 병태생리적 과정에 皮脂腺細胞가 중요한 역할을 하고 있다. 그러므로 사람의 皮脂腺細胞의 기능과 조절에 대한 기초적인 연구를 할 수 있는 in vitro 모델이 필요하다. 사람의 皮脂腺細胞 배양 모델은 1989년에 도입되었으며⁹⁾, SZ95 세포는 사람의 얼굴 피지선세포에 Simian virus(SV)-40 large T antigen으로 形質 轉換된 細胞로서 사람의 정상 皮脂腺細胞의 특징을 지니고 있는 細胞주이다¹⁰⁾.

皮脂腺의 發達과 皮脂의 生成 및 分泌는 여러 가지의 호르몬의 영향을 받는데, 특히 생식선이나 부신에서 분비되는 androgen의 영향을 받는 것으로 알려져 있다. 남성호르몬 중 피부의 모낭에 작용하는 대표적인 호르몬은 부신에서 생성되는 DHEA(dehydroepiandrosterone)와 DHEA-S(dehydroepiandrosterone sulfate)가 있고, DHEA-S는 피부, 지방, 근육 등 표적기관으로 이동한 후 DHEA, androstenedione, testosterone으로 전환되며 testosterone은 5 α -reductase에 의해 보다 강력한 DHT로 변환된다¹¹⁻¹³⁾.

사람에서 皮脂腺에 대한 androgen의 영향에 대한 연구는 1962년 Strauss 등이 경구로 methyltestosterone 투여 후 皮脂分泌가 증가하고 皮脂腺의 크기가 커지는 것을 보고하였고, 1963년 Pochi 등은 DHEA를 투여한 결과 皮脂分泌率이 증가되는 것을 보고한 바 있으며, De Raev¹⁴⁾ 등은 사춘기 전에 초발한 早發性 여드름 환자에 있어 부신 분비성 남성호르몬의 과다를 중요한 病因이라고 제시하였다.

그러나 여드름과 연관한 남성호르몬의 작용에 대해 많은 연구가 있어 왔으나 DHEA, DHEA-S, Androstenedione(A), 유리 testosterone, 총 testosterone, DHT 등과 같은 전구 남성호르몬이나 호르몬 대사형들의 혈중 농도는 관찰자, 환자의 성, 나이, 임상정도 등에 따라 현격히 상이한 增減 變化를 보여 왔다. 때문에

참고문헌

최근에는 전구 남성호르몬이나 호르몬 대사형들의 혈중 농도 뿐 아니라 毛皮脂腺 單位와 같은 말단 표적기관에서의 남성호르몬의 대사변화나 호르몬 수용체의 반응성 등을 포함하는 종말기관 감수성 (end organ sensitivity)이 발병에 관여한다고 하였다¹⁵⁻¹⁷⁾.

생체에서 皮脂腺의 分化는 세포 내 脂質의 蓄積, antigen 발현변화, 세포 크기의 증가 등의 특징적인 형태로 나타나며, 피지선세포의 일차배양(primary culture)에서도 皮脂腺細胞 分化에 따라 脂質의 合成이 증가하였고 분화 후기세포는 anti-keratin mAb 6B10(K4), OM-1(sebaceous gland antigen) 등이 발현된다고 보고하였다¹⁰⁾.

본 연구 결과에서 SZ95細胞는 角質化細胞와는 다르게 세포 내에 지방소체를 많이 함유하고 있었으며, testosterone에 의해서 脂質合成이 현저히 증가되어 정상 皮脂腺細胞의 특징을 지니고 있는 細胞住로 확인되었다. Vitamin A acid 도포제가 여드름 치료에 효과가 있음은 Kligman 등이 처음으로 보고한 이래, 국내에서는 김 등이 Vitamin A acid 도포제의 임상적 효과에 대해 보고하였으며 현재 Vitamin A의 대사물질인 Retinoid는 피부를 포함하는 여러 조직의 정상적인 분화를 조절하는 물질로 乾癬, 痤瘡 등 異常角化를 보이는 피부질환과 악성종양 등의 치료에 널리 이용되고 있다¹⁸⁾.

13-cis-RA는 Vitamin A의 유도체로서 皮脂腺의 크기와 피지선세포의 증식을 감소시키고 피지선세포의 분화를 억제시키며 항염증작용을 가지고 있다고 하였으며¹⁹⁾, 전격성 여드름(Acne fulminans)의 치료로는 고용량의 전신 스테로이드제와 경구 13-cis-RA를 복용하는 것이 가장 효과적이라고 알려져 있다^{20,21)}. 또한 Seukeran & Cunliffe (1999)은 전격성 여드름에 4-6주 동안 prednisolone 0.5-1.0 mg/kg/day을 경구 투여하여 초기의 염증 반응을 조절한 후 점차 감량시키고 13-cis-RA을 0.5 mg/kg/day를 복용하는 것이 효과적이라고 하였다.

본 연구 결과, SZ95 세포에서 13-cis-RA는 脂質合成을 억제하였으며, testosterone으로 脂質生成이 항진된 경우 더욱 효과적으로 SZ95 세포의 脂質合成을 억제하였다. 한편 Tsukada 등(2000)은 SZ95 세포에 13-cis-RA를 10^{-7} M 농도로 9일간 배양하였을 때 세포 증식이 대조군의 약 30-40% 정도 억제한다고 보고하였고, 본 실험에서는 13-cis-RA을 10^{-5} M 농도로 5일 동안 처리한 경우 SZ95 세포의 세포증식을 약간 억제한 것으로 나타났는데, 이는 13-cis-RA의 처리 농도와 시간이 다르기 때문인 것으로 생각된다.

결론적으로 사람의 皮脂腺 細胞住인 SZ95 細胞는 角質化細胞와는 다르게 testosterone에 의해 脂質合成이 증가되었고, 13-cis-retinoic acid에 의해 皮脂腺細胞의 分化와 細胞增殖이 억제되었으며, 정상 皮脂腺細胞의 특징을 지니고 있는 SZ95 皮脂腺 細胞住는 향후 皮脂腺의 생리적 기능과 분화를 연구하는 좋은 모델이 될 것으로 생각된다.

감사의 글

이 논문은 2003년도 원광대학교 교비 지원에 의해서 수행되었습니다.

1. Burton JL, Shuster S : The relationship between seborrhea and acne vulgaris, Br J Dermatol 84: 600-602, 1971.
2. Gollnick H, Zouboulis CC, Akamatsu H, Kurokawa I, Schulte A : Pathogenesis and pathogenesis related treatment of acne, J Dermatol 18: 489-499, 1991.
3. Geiger JM : Retinoids and sebaceous gland activity, Dermatology 191: 305-310, 1995.
4. Wu SF, Klinder BN, Trunnell TN, Fulton JE : Role of anxiety and anger in acne patients: a relationship with the severity of the disorder, J Am Acad Dermatol 18(2 Pt 1): 325-333, 1988.
5. Price VH : Testosterone metabolism in the skin, Arch Dermatol 111: 1496-1502, 1975.
6. Pochi PE : Sebaceous gland assay. In: Lowe N, Maibach H, eds, Models in Dermatology Vol. 2. Basel: Karger 70-75, 1985.
7. Luu-The V, Sugimoto Y, Puy L, Labrie Y, Lopez SI, Singh M, Labrie F : Characterization, expression, and immunohistochemical localization of 5 α -reductase in human skin, J Invest Dermatol 102(2): 221-226, 1994.
8. Akamatsu H, Zoubolis CC, Orfanos CE : Spironolactone directly inhibits proliferation of cultured human facial sebocytes and 5 α -Dihydrotestosterone in vitro, J Invest Dermatol 100: 660-662, 1993.
9. Xia L, Zouboulis CC, Detmar M, Mayer-da-Siva A, Stadler R, Orfanos CE : Isolation of human sebaceous glands and cultivation sebaceous gland-derived cells as an in vitro model, J Invest Dermatol 93: 315-321, 1989.
10. Zouboulis CC, Krieter A, Gollnick H, Mischke D, Orfanos C : Progressive differentiation of human sebocytes in vitro is characterized by increasing cell size and altering antigen expression and is regulated by culture duration and retinoids, Exp Dermatol. 3(4): 151-160, 1994.
11. Lucky AW : Hormonal correlates of acne and hirsutism, Am J Med 98: 89-94, 1995.
12. Darley CR, Moore JW, Besser GM, Munro DD, Edwards CR, Rees LH, Kirby JD : Androgen status in women with late onset or persistent acne vulgaris, Clin Exp Dermatol 9: 28-35, 1984.
13. Sperling LC, Heimer WL : Androgen biology as a basis for the diagnosis and treatment of androgenic disorders in women. I, J Am Acad Dermatol 28(5 Pt 1): 669-683, 1993a.
14. De Raeve L, De Schepper J, Smutz J : Prepubertal acne : A cutaneous marker of androgen excess? J Am Acad Dermatol 32: 181-184, 1995.
15. Sansone G, Reisner RM : Differential rates of conversion of testosterone to dihydrotestosterone in acne and in normal

- human skin-A possible pathogenic factor in acne, *J Invest Dermatol* 56: 366-372, 1971.
16. Schmidt JB, Spona J : Hormone receptors in normal skin and acne, *Endocrinol Exp* 17: 137-144, 1983.
 17. Webster GF : Inflammation in acne vulgaris, *J Am Acad Dermatol* 33: 247-253, 1995.
 18. Davies PJA Basilion JP, Haake AR : Intrinsic biology of retinoids in the skin. In : Goldsmith LA, eds, *Physiology, biochemistry, and molecular biology of the skin*, 2nd ed. New York : Oxford University Press, 385-409, 1991.
 19. Paraskevaidis A, Drakoulis N, Roots I, Orfanos CE, Zouboulis CC : Polymorphisms in the human cytochrome P-450 1A1 gene (CYP1A1) as a factor for developing acne, *Dermatology* 196(1): 171-175, 1998.
 20. Jansen T, Plewig G : Acne fulminans, *Int J Dermatol* 37: 254-257, 1998.
 21. Seukeran DC, Cunliffe WJ : The treatment of acne fulminans: a review of 25 cases, *Br J Dermatol* 141: 307-309, 1999.
 22. 김성운, 이성낙 : Vitamin A acid에 의한 좌창 치료의 임상적 고찰, *대한피부과학회지* 14: 305-312, 1976.
 23. Folch J, Lees M, Stanley GHS : A simple method for the isolation and purification of total lipids, *J Biol Chem* 226: 497-509, 1957.
 24. Kligman AM, Fulton JE Jr, Plewig G : Topical vitamin A acid in acne vulgaris, *Arch Dermatol* 99: 469-479, 1969.
 25. Mosmann T : Rapid colorimetric assay for the cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxic assay, *J Immunol Methods* 65: 55-63, 1983.
 26. Pochi PE, Strauss JS, Mescon H : The role of adrenocortical steroids in the control of human sebaceous gland activity, *J Invest Dermatol* 41: 391-399, 1963.
 27. Sperling LC, Heimer WL : Androgen biology as a basis for the diagnosis and treatment of androgenic disorders in women. I, *J Am Acad Dermatol* 28(6): 901-916, 1993b.
 28. Strauss JS, Kligman AM, Pochi PE : The effect of androgens and estrogens on human sebaceous glands, *J Invest Dermatol* 39: 139-155, 1962.
 29. Tsukada M, Schroder M, Roos TC, Chandraratna RAS, Reichert U, Me가 HF, Orfanos C, Zouboulis CC : 13-cis-retinoic acid exerts its specific activity on human sebocytes through selective intracellular isomerization to all-trans retinoic acid and binding to retinoid acid receptors, *J Invest Dermatol* 115: 321-327, 2000.
 30. Zouboulis CC, Seltmann H, Neitzel H, Orfanos C : Establishment and characterization of an immortalized human sebaceous gland cell line (SZ95), *J Invest Dermatol* 113: 1011-1020, 1999.