

## UVB 조사로 인한 마우스 피부조직의 산화적 손상

이 승 자, 김 영 철<sup>1,\*</sup>

건동대학교 사회복지학과, <sup>1</sup>계명대학교 공중보건학과

### A Study on the Oxidative Damage Induced by UVB Irradiation to Mouse Skin

Sungja Rhie and Youngchul Kim<sup>1,\*</sup>

*Department of Social Welfare, Kundong University, Gyungbuk 760-833, Korea*

<sup>1</sup>*Department of Public Health, Keimyung University, Daegu 704-701, Korea*

#### ABSTRACT

The backs with a hair cut of 6-week-old healthy ICR male mice were once exposed to a dose of 400 mJ/cm<sup>2</sup> UVB. An acute dermal inflammation was observed, and the inflamed skins were almost completely cured after 6 days of the exposure. At 24 hours after exposure, the epidermal keratinocytes showed a cell-membrane damage with the destruction of intercellular junctions, agglutination of tonofilaments within the cytoplasm and nucleus damage. The activity of XO showed a significant increase ( $p < 0.05$ ) in up to 144 hours. The activities of CAT and SOD showed a significant decrease ( $p < 0.05$ ) in up to 96 hours, but they were not significantly different from the normal value at 144 hours. The GST activity was significantly decreased ( $p < 0.01$ ) in up to 96 hours, not so at 24 hours. However, that was not significantly different from the normal value at 144 hours. There was a significant decrease ( $p < 0.01$ ) in the contents of TBARS at 48 and 96 hours, without any significant difference at 144 hours. While the content of GSH was significantly lower ( $p < 0.05$ ) at 24 hours, that was not significantly different thereafter up to 144 hours from the normal value. Therefore, it is assumed that skin damage with a dose of 400 mJ/cm<sup>2</sup> UVB irradiation might be caused by the oxidative stress which was resulted from the unbalance of oxygen free radical generating and scavenging enzymes.

**Key words :** UVB, oxygen free radical, antioxidant enzymes, mouse skin

#### 서 론

피부는 바깥으로부터 표피층, 진피층 및 피하조직으로 구성되어 있으며, 인체의 내부와 외부환경 사이에 방벽 역할을 함으로써 화학물질이나 자외

선 (ultraviolet, UV)을 포함한 외부 환경오염 물질 및 미생물의 침입을 방어하여 주위환경으로부터 생체를 보호한다. 또한 땀의 분비를 통해 체온 조절과 노폐물 배설 뿐만 아니라 체액의 손실을 막아주고 비타민 D 합성에도 관여한다(대한피부과학회, 1994). 최근 삶의 질 향상과 더불어 웰빙 열풍으로 인해 피부 건강에 대한 관심이 증가하고 있다. 더불어 환경오염으로 인해 지표면에 도달하는 자외선 양이 증가하는 반면 야외활동의 증가, 서구

\* To whom correspondence should be addressed.  
Tel: +82-53-580-5931, Fax: +82-53-588-5233  
E-mail: yckim@kmu.ac.kr

화된 생활습관 및 스트레스와 같이 피부건강을 위협하는 요소들 또한 증가하고 있어 피부 건강을 유지하기 위한 다양한 방법들이 활발하게 연구되고 있다.

특히 피부 건강을 위협하는 요인 중의 하나인 UV는 자연 환경에서 쉽게 피부에 직접적으로 노출될 수 있어 이에 대한 관심이 급증하고 있다 (Kripke, 1991). UV가 원인이 되어 노화를 촉진시키는 현상을 광노화라 하는데, 보통 일광에 장기적으로 노출될 때 일어나는 현상이다. 햇볕 노출하의 작업환경에 종사하는 어부나 농부 등에게는 피부 노화가 촉진됨과 더불어 이 상태가 더욱 심화되면 피부암으로 발생할 가능성이 많다(김기연, 1997). 그리고 최근에는 환경오염으로 인한 오존층의 파괴로 지표에 도달하는 자외선 양이 많아 피부의 질환에 자외선이 미치는 영향에 대한 보고가 증가되고 있는 추세이다. UV는 그 파장에 따라 UVA (320~400 nm), UVB (280~320 nm) 및 UVC (200~280 nm)로 나누어지며, UVC는 대부분 성층권에서 흡수되어 지표에 도달하지 못하므로 대기 중의 자외선은 UVA와 UVB로 구성된다. UVA와 UVB 모두 피부 조사 시 그 양과 질적인 면에서 염증반응이 달리 나타날 수 있다. UVA는 표피 내에서의 흡수가 적고 UVB보다 좀 더 피부 깊숙이 침투할 수 있으며, 홍반을 유발시키기 위해서는 UVB보다 1,000배의 광량이 필요하다 (Soter, 1990). 또한 UVA의 홍반유발용량은 주로 혈관의 손상과 진피 내 세포침윤을 일으키는 반면 (Raab, 1990), 동량의 홍반을 유발할 수 있는 UVB는 주로 일광화상세포와 같은 표피에 변화를 일으킨다 (Lavker *et al.*, 1980). 환경적인 문제로 인한 자외선의 영향은 1차적으로 UVB에 의한 것으로 급성노출 시에는 피부 홍반, 열, 부종, 통증, 그리고 소양증이 일어나고, 그 다음에 피부에 색소침착이 일어나며 표피가 비후되는 현상이 나타나고 만성적으로 노출되면 피부의 노화와 육종형성이 유발된다 (Fuchs and Packer, 1993). 그리고 UVB는 화상, 면역억제, DNA손상, 광노화 및 피부암을 일으키는 주요 요인으로 작용하며 (Mukhtra and Elmetts, 1996), superoxide anion radical, hydroxyl radical과 같은 reactive oxygen species (ROS)의 생성을 유도함으로써 oxidative stress 및 항산화 방어기전의 불균형을 초래하여 염증반응, 광노화 및 피부암 등의 질병을 심화시킬

수 있다 (Pathak and Stratton, 1968).

이에 이 연구는 제모한 마우스 배부에 UVB를 조사하여 피부조직의 형태학적 변화와 함께 유해 산소 생성계와 해독계 효소 활성변동을 관찰함으로써 자외선에 의한 피부 손상 정도를 알아보았다.

## 재료 및 방법

### 1. 시약 및 기기

Hydrogen peroxide는 Junsei 사(Japan)의 제품을, Folin & ciocalteu's phenol reagent, hematoxylin, bovine serum albumin,  $\beta$ -NADPH 등은 Sigma 사(USA)의 제품을 사용하였으며, 그 외 일반시약들은 특급품을 사용하였다.

실험기기로는 UV spectrophotometer (Shimazu, UV-1601, Japan), incubator (Adventec, TC-1, Japan), refrigerated centrifuge (Herolab, Hicen21, Japan), glass teflon homogenizer (Ultra Turrax, T25 basic, Japan), UVB sunlamp (UVL-26, UVP Co., USA), UV-radiometer (UVB LP9021, Italy), light microscope (Olympus DP50, Japan), transmission electron microscope (Hitachi H-7100, Japan) 및 실험실에서 사용하는 일반기기를 사용하였다.

### 2. 실험동물 및 처치

실험동물은 생후 6주령 된 외견상 건강한 웅성 ICR 마우스를 (주)대한 바이오링크(Korea)로부터 구입한 다음 1주일간 사육실(온도는  $22 \pm 1^\circ\text{C}$ , 습도는  $50 \pm 5\%$ )에서 적응시킨 후 사용하였다. 전 실험기간 동안 물과 사료의 양은 제한 없이 공급하였다.

실험동물은 아무런 처치를 하지 않은 정상군, 자외선을 1회 조사한 후 일정기간(24, 48, 96 및 144 시간) 경과한 조사군으로 나누었다. 자외선을 조사하기 하루 전에 제모기를 사용하여 마우스 배부의 털을 제거하였다.

실험동물의 처치는 각 군별로(자외선 조사 후 24, 48, 96 및 144시간 군) ether 마취하에 경추 탈구 사 시킨 후 표피와 진피를 모두 포함한 피부조직을 적출하여 이 중 일부는 10% 포르말린 용액 및 2.5% glutaraldehyde 용액에 고정시켜 조직학적 검

사에 사용하였고, 나머지는 마쇄 균질화시켜 원심분리한 후 효소활성도 측정에 사용하였다.

### 3. 자외선 조사

자외선 조사장치의 광원은 302 nm 파장의 UVB를 방출하는 sunlamp를 사용하였다. 실험동물을 자체 고안하여 제작한 자외선 조사용 cage에 가둔 후, 제모한 배부피부에 400 mJ/cm<sup>2</sup>의 광량으로 자외선을 조사하였으며, 자외선 광량은 UV-radiometer로 측정하였다.

### 4. 피부의 조직학적 관찰

#### 1) 광학 현미경적 관찰

광학현미경적 관찰을 위해 적출한 피부조직을 10% 중성포르말린 용액에 고정하고 계열 에탄올로 탈수한 후 침투과정을 거쳐 파라핀에 포매한 다음 4 µm의 박절편을 만들어 hematoxylin and eosin (H&E) 염색을 하여 광학현미경으로 관찰하였다.

#### 2) 전자 현미경적 관찰

투과전자현미경적 관찰을 위해 적출한 피부조직을 1 mm<sup>3</sup> 크기로 세절하여 2.5% glutaraldehyde 용액 (0.1 M 인산완충액, pH 7.4, 1~4°C)에 2시간 전고정하고 0.1 M 인산완충액으로 세척한 후 1% osmium tetroxide 용액에 2시간 후 고정을 실시하고 같은 완충액으로 세척하여 계열 에탄올로 탈수하고, propylene oxide로 치환한 후 Luft (1961) 방법에 의한 Epon 혼합물로 포매하여 37°C에 12시간, 45°C에 12시간, 60°C에 48시간 동안 방치하여 열중합을 시켰다. 포매된 조직을 유리칼을 사용하여 1 µm로 박절하고 toluidine blue 염색을 실시한 후 광학현미경 상에서 관찰부위를 선택한 다음 RMC MT-XL형 초박절기로 Dupont 다이아몬드칼을 부착하여 회색 (40~60 nm)의 간접색을 나타내는 초박절편을 얻어 grid에 부착시킨 뒤 Watson (1958)과 Reynolds (1963) 방법에 의한 uranyl acetate와 lead citrate로 이중전자염색을 실시하여 투과전자현미경으로 가속전압 75 kV로 관찰하였다.

### 5. 효소시료의 조제

일정량의 피부조직에 4배량의 0.25 M sucrose 용액을 넣고 glass teflon homogenizer를 이용하여

20% (w/v) 마쇄균질액을 만들었다. 이 균질액을 600 × g에서 10분간 원심분리한 후 핵 및 미마쇄 부분을 제거한 상층액을 취하여 10,000 × g에서 20분간 원심분리한 후 효소활성도 측정에 사용하였다.

### 6. 피부조직의 유해산소 대사 효소 활성도 측정

#### 1) Xanthine oxidase (XO)

XO의 활성도는 Stripe and Della (1969)의 방법에 준하여 측정하였다. 활성도 단위는 효소액 중에 함유된 단백질 1 mg이 1분 동안 반응하여 기질인 xanthine으로부터 생성된 uric acid의 양을 nmole로 표시하였다.

#### 2) Superoxide dismutase (SOD)

SOD의 활성도는 hematoxylin 자동산화의 억제 정도를 관찰하는 Martin *et al.* (1987)의 방법에 따라 0.1 mM EDTA가 함유된 50 mM 인산 완충액 (pH 7.5)에 10 µM hematoxylin 및 효소액을 가해 25°C에서 반응시켜 생성된 hematoin을 560 nm에서 측정하여 효소의 활성도를 산정하였다. 활성도 단위는 효소액을 넣지 않은 반응액 중의 hematoxylin 자동산화를 50% 억제하는 정도를 1 unit로 하여 단백질 1 mg이 1분 동안 반응한 unit로 표시하였다.

#### 3) Catalase (CAT)

CAT 활성도는 hydrogen peroxide를 기질로 하여 환원되는 정도를 파장 240 nm에서 그 흡광도를 읽고 분자흡광계수 ( $E=0.04 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ )를 이용하여 활성을 산출하는 Aebi (1974)의 방법에 준하였다. 활성도 단위는 피부조직 중에 함유된 단백질 1 mg이 1분 동안 반응하여 감소되는 hydrogen peroxide 양을 nmole로 표시하였다.

#### 4) Glutathione peroxidase (GPX)

GPX의 활성도는 Paglia and Valentine (1967)의 방법에 따라 측정하였다. Glutathione 기질과 조효소인 NADPH를 시료와 함께 25°C에서 5분간 반응시켜 340 nm에서 NADPH의 산화로 인한 흡광도 감소율을 측정하였다. 활성도 단위는 효소반응액 중에 함유된 단백질 1 mg이 1분 동안 산화시킨 NADPH의 양을 nmole로 표시하였다.

#### 5) Glutathione S-transferase (GST)

GST의 활성도는 Habig *et al.* (1974)의 방법에 따

라 측정하였다. 1-chloro-2,4-dinitrobenzene과 glutathione을 기질로 하여 25°C에서 10분간 반응하여 생성된 2,4-dinitrobenzene-glutathione conjugate 양을 340 nm에서 측정하였다. 활성도 단위는 효소 반응액 중에 함유된 단백질 1 mg이 1분 동안 반응하여 생성한 conjugate의 양을 nmole로 나타내었다.

### 7. 피부조직의 thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) 함량 측정

TBARS 함량은 Ohkawa *et al.* (1979)의 방법에 따라 측정하였다. 효소 시료 속의 과산화지질을 산성조건 하에서 2-thiobarbituric acid 용액과 가열 반응시켜 생긴 TBARS의 흡광도를 532 nm에서 측정하였다. TBARS 함량은 단백질 mg 당 nmole로 표시하였다.

### 8. 피부조직의 환원형 glutathione (GSH) 함량 측정

환원형 GSH 함량은 Ellman (1959)의 방법에 따라 측정하였다. 조직 마쇄균질액 일정량에 4% sulfosalicylic acid 0.5 mL 넣고 원심분리한 후, 상층액 일정량을 0.1 mM 5,5'-dithio-bis (2-nitrobenzoic acid) 함유 0.1 M sodium phosphate buffer (pH 8.0)에 넣고 반응시켜 생성된 *p*-nitrophenol을 측정하였다. 환원형 GSH 함량은 단백질 mg당  $\mu$ mole로 표시하였다.

### 9. 피부조직의 단백질 함량 측정

피부조직 중 단백질 함량은 Lowry *et al.* (1951)

의 방법에 따라 bovine serum albumin을 표준물질로 사용하여 측정하였다.

## 10. 자료 분석

SPSS (v10.0) 통계 프로그램을 이용하여 정상군과 조사군 간의 각각의 생화학적 분석 자료의 평균비교를 위하여 *t*-test를 실시하였다. 유의수준은 0.05로 하였다.

## 연구 결과

### 1. 피부조직의 유해산소 대사 효소 활성 변동

#### 1) Xanthine oxidase (XO)

400 mJ/cm<sup>2</sup> 광량의 UVB 조사 24, 48, 96 및 144 시간 후에 마우스 피부조직의 XO 활성도를 관찰한 결과는 Table 1과 같다.

조사군의 XO 활성도는 24, 48, 96 및 144시간에서 정상군보다 각각 약 45%, 41%, 34% 및 45% 유의하게 ( $p < 0.05$ ) 높았다.

#### 2) Superoxide dismutase (SOD)

400 mJ/cm<sup>2</sup> 광량의 UVB 조사 24, 48, 96 및 144 시간 후에 마우스 피부조직의 SOD 활성도를 관찰한 결과는 Table 1과 같다.

UVB 조사 후 24, 48 및 96시간에 조사군의 SOD 활성도는 정상군보다 각각 약 24% ( $p < 0.05$ ), 42% ( $p < 0.001$ ) 및 33% ( $p < 0.01$ ) 유의하게 낮았다. 144 시간에는 조사군과 정상군 사이에 유의한 차이가

**Table 1.** Effects of UVB irradiation with a dose of 400 mJ/cm<sup>2</sup> to mouse skin on dermal oxygen free radical generating and scavenging enzyme activities

Enzyme	Normal	Time after UVB irradiation			
		24 h	48 h	96 h	144 h
XO <sup>1)</sup>	1.20 ± 0.15	1.74 ± 0.10*	1.70 ± 0.07*	1.61 ± 0.07*	1.74 ± 0.06*
SOD <sup>2)</sup>	15.60 ± 0.93	11.89 ± 0.91*	9.11 ± 0.42***	10.38 ± 0.52**	20.49 ± 1.94
CAT <sup>3)</sup>	41.36 ± 7.42	21.04 ± 3.25*	13.98 ± 2.07**	13.44 ± 3.06**	18.96 ± 5.38
GPX <sup>4)</sup>	2.96 ± 0.53	2.93 ± 0.53	2.80 ± 0.19	2.35 ± 0.30	2.96 ± 0.53
GST <sup>5)</sup>	233.3 ± 16.3	205.9 ± 15.48	69.80 ± 5.44***	108.7 ± 15.90**	196.3 ± 9.05

Each value represents the mean ± S.E. of 6 mice. Unit: <sup>1)</sup>nmole uric acid formed/mg protein/min.

<sup>2)</sup>U (50% inhibition of autoxidation of hematoxylin)/mg protein/min. <sup>3)</sup>nmole H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> reduced/mg protein/min.

<sup>4)</sup>nmole NADPH oxidized/mg protein/min. <sup>5)</sup>nmole 2,4-dinitrobenzene-glutathione conjugate/mg protein/min.

The value with an asterisk is significantly different from the normal group by *t*-test (\*:  $p < 0.05$ , \*\*:  $p < 0.01$ , \*\*\*:  $p < 0.001$ ).

없었다.

3) Catalase (CAT)

400 mJ/cm<sup>2</sup> 광량의 UVB 조사 24, 48, 96 및 144 시간 후에 마우스 피부조직의 CAT 활성도를 관찰한 결과는 Table 1과 같다.

UVB 조사 후 24, 48 및 96시간에 조사군의 CAT 활성도는 정상군보다 각각 약 49% (p<0.05), 66% (p<0.01) 및 68% (p<0.01) 유의하게 낮았다. 144 시간에는 조사군과 정상군 사이에는 유의한 차이가 없었다.

4) Glutathione peroxidase (GPX)

400 mJ/cm<sup>2</sup> 광량의 UVB 조사 24, 48, 96 및 144 시간 후에 마우스 피부조직의 GPX 활성도를 관찰한 결과는 Table 1과 같다.

조사 후 144시간까지 조사군의 GPX 활성도는 정상군과 유의한 차이가 없었다.

5) Glutathione S-transferase (GST)

400 mJ/cm<sup>2</sup> 광량의 UVB 조사 24, 48, 96 및 144 시간 후에 마우스 피부조직의 GST 활성도를 관찰한 결과는 Table 1과 같다.

조사군의 GST 활성도는 24시간을 제외하고는 96시간까지는 정상군보다 유의하게 낮게 나타났으며 144시간에는 유의한 차이가 없었다. 48 및 96시간에서 조사군은 정상군보다 각각 약 70% (p<0.001) 및 53% (p<0.01) 유의하게 낮았다.

2. 피부조직의 TBARS 함량 변동

400 mJ/cm<sup>2</sup> 광량의 UVB 조사 24, 48, 96 및 144 시간 후에 마우스 피부조직의 TBARS 함량 변동을 관찰한 결과는 Table 2와 같다.

48 및 96시간에 조사군의 TBARS 함량은 정상군보다 각각 약 72% 및 69% 유의하게 (p<0.01) 낮았으며 144시간에는 정상군과 유의한 차이가 없었다.

3. 피부조직의 GSH 함량 변동

400 mJ/cm<sup>2</sup> 광량의 UVB 조사 24, 48, 96 및 144 시간 후에 마우스 피부조직의 GSH 함량 변동을 관찰한 결과는 Table 3과 같다.

조사군의 GSH 함량은 24시간을 제외하고는 정상군과 유의한 차이가 없었다. 조사군은 24시간에

**Table 2.** Effects of UVB irradiation with a dose of 400 mJ/cm<sup>2</sup> to mouse skin on dermal TBARS contents

Normal	Time after UVB irradiation			
	24 h	48 h	96 h	144 h
25.14 ±4.68	23.87 ±4.96	7.00 ±1.08**	7.83 ±1.70**	21.06 ±2.82

Each value represents the mean ± S.E. of 6 mice.

Unit: nmole/mg protein.

\*\*Significantly different from the normal group by t-test (p<0.01).

**Table 3.** Effects of UVB irradiation with a dose of 400 mJ/cm<sup>2</sup> to mouse skin on dermal GSH contents

Normal	Time after UVB irradiation			
	24 h	48 h	96 h	144 h
0.21 ±0.01	0.15 ±0.01*	0.19 ±0.02	0.23 ±0.02	0.23 ±0.01

Each value represents the mean ± S.E. of 6 mice.

Unit: μmole/mg protein.

\*Significantly different from the normal group by t-test (p<0.05).

서 정상군보다 약 29% 유의하게 (p<0.05) 낮았다.

고 찰

태양광선은 인간이 생명과 자연계를 유지하는데 꼭 필요한 것이며 광합성으로 우리에게 영양분을 공급하고, 피부에서 비타민 D 합성을 유도하며, 건선이나 백반증의 광선치료에 이용되기도 하는 등 매우 유익한 역할을 한다. 그러나 광과민성 질환, 광노화(photoaging), 피부암 발생 등과 같은 나쁜 영향을 주기도 한다.

피부를 자외선에 일정시간 노출하게 되면 피부의 초기반응으로 염증이 생긴다. 염증반응은 조직상해 시 생체 내 면역 방어에 역할을 하며 호중성 백혈구(neutrophil)는 염증 부위에 제일 먼저 이주한다. 자외선에 노출되면 즉시 피부반응이 나타나는 것이 아니라 어느 정도 시간이 경과되어야 피부홍반이 유발되고, 피부홍반의 발생은 자외선 파장과 관련이 있다(Cotran and Pathak, 1968). 짧은 파장(200~320 nm)의 광선은 피부의 표피 부분과 진피 부분 모두에 영향을 미치며 가시적으로 현저한 피부 손상은 긴 파장의 광선에 의해 발생한다.

염증의 양상에서 이러한 차이가 나는 것은 자외선의 광선 파장이 피부를 통과하는 능력이 서로 다르기 때문이다.

이 연구에서 400 mJ/cm<sup>2</sup> 광량의 UVB 자외선을 정상마우스의 제모한 배부에 1회 조사하고 각각 자외선 조사 24, 48, 96 및 144시간 후에 피부조직을 광학 현미경과 투과전자 현미경으로 비교 관찰하였다. 광학 현미경으로 표피의 화농 상태와 진피의 염증 상태를 관찰한 결과, 자외선 조사 후 96시간 경에 진피에서의 염증도와 표피에서의 화농 정도가 가장 심하게 나타났으며 144시간 경에는 표피와 진피가 거의 정상적인 상태로 치유된 것을 관찰할 수 있었다. 자외선을 조사한 후 24시간에 전자 현미경적인 관찰에서, 세포질 내 tonofilament의 응집과 함께 keratinocytes 배열의 붕괴, 세포막의 손상과 핵의 손상으로 인한 부분적인 apoptosis가 나타났다(투고준비 중).

생체조직에 존재하면서 세포 상해의 원일물질로 알려져 있는 유해산소 생성계 효소인 XO는 피부조직의 화상이나 저산소증 시 그 활성이 증가되는 것으로 알려져 있다. 그리고 이 효소에 의해 생성된 superoxide anion radical이 조직병변의 직접적인 원인으로 알려져 있다(McCord and Fridovich, 1978). UVB 조사시 피부조직의 손상이 유해산소에 기인하는지를 알아보기 위해 유해산소의 생성계인 XO 활성을 측정하였다.

이 실험에서 XO의 활성은 UVB 조사군의 경우 자외선 조사 후 144시간까지 정상군보다 유의하게 높게 나타나 UVB 조사에 의한 피부조직 손상은 XO의 활성 증가에 따른 유해산소 생성량의 증가가 직접적인 원인으로 작용한 것으로 생각된다.

각종 원인에 의해 생성된 유해산소는 SOD에 의해 hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)로 전환되며 hydrogen peroxide는 다시 CAT 및 GPX에 의해서 물로 전환되어 해독화 되고 GST도 유해산소 해독에 관여하는 것으로 알려져 있어 유해산소 해독계 효소인 SOD, CAT, GPX와 GST를 측정하였다. 이 연구에서 SOD 활성은 UVB 조사군에서 96시간까지는 정상군보다 유의하게 낮게 나타났으며 144시간에는 정상군과 유의한 차이가 없었다. 이러한 결과는 UVB 조사가 피부조직의 SOD 활성을 저하시킨다는 기존의 연구보고(Miyachi *et al.*, 1987)와 부합된다. CAT 활성은 UVB 조사 시 두드러지게 감소하

고 UVB 조사량에 비례하여 감소한다는 보고(Okada *et al.*, 1994)가 있었는데, 이 실험에서도 UVB를 조사한 군에서 96시간까지는 정상군보다 유의하게 낮게 나타났으며, 144시간에는 정상군과 유의한 차이가 없었다. GPX 활성은 조사군은 정상군과 유의한 차이를 보이지 않았다. 이와 같은 결과를 볼 때 UVB 조사에 의해 생성된 유해산소는 SOD에 의해 hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)로 전환되고, 이 때 생성된 hydrogen peroxide의 해독에는 GPX보다 CAT가 중요한 역할을 담당하는 것으로 생각된다. GST 활성은 조사군에서 UVB 조사 후 24시간을 제외하고 96시간까지는 정상군보다 유의하게 낮게 나타났으며, 144시간에는 정상군과 유의한 차이가 없었다. 유해산소의 생성계와 해독계의 불균형이 조직 손상을 야기시키는 원인으로 작용한다는 여러 선행 연구보고(Deneke and Fanburg 1980; Leiboritz and Siegel, 1980)는 이 연구에서 UVB 조사 후 정상군과 유해산소의 생성계와 해독계 효소 활성도와 유의한 차이를 초래함으로써, 조직 손상을 일으키는 원인으로 작용할 것이라고 해석할 수 있는 과학적인 근거를 제공해 주고 있다.

지질과산화는 oxygen free radical에 의해 유도되며, prostaglandin과 같은 지질 매개체의 생성이 증가되어 부수적으로 나타나는 현상이다. 일반적으로 UVB 조사 후 즉시 또는 수 시간 이내에 피부에 지질과산화를 야기시킨다고 한다(Stewart *et al.*, 1996). UVB에 의한 피부의 지질과산화 유도는 in vitro와 in vivo에서 많은 연구가 수행되었지만, 대부분의 연구에서 염증성 또는 혈관역동성과 같은 전신적인 요소(systemic factor)의 관계에 대한 연구는 미흡한 편이다. In vitro에서 UVB 조사량에 따라 피부의 지질과산화 증가를 야기하였지만, in vivo에서는 UVB 조사량이 1.0 J/cm<sup>2</sup> 이하에서는 변화가 없다가 1.5 J/cm<sup>2</sup>로 조사 후에는 유의하게 감소하였다는 Lee *et al.* (2000)의 보고는 in vitro와 in vivo에서 지질과산화 정도의 차이에는 전신적인 요소(systemic factor)가 관계된다는 좋은 증거다.

이 실험에서 과산화지질(TBARS) 함량을 측정할 결과, UVB 조사군에서 48시간과 96시간에는 정상군보다 유의하게 ( $p < 0.01$ ) 낮게 나타났고, 144시간에는 정상치로 회복되었다. 이와 같은 결과는 UVB 조사 후 과산화지질 함량이 유의하게 감소하였다는 Lee *et al.* (2000)의 보고와 부합된다. 한편 염증

성 반응이 지질과산화의 산화적 손상으로부터 피부조직을 보호한다는 연구보고(Lee *et al.*, 2000)를 고려해 볼 때, 자외선 조사 시 염증반응 초래와 과산화지질 함량의 감소, 그리고 피부표피에서 keratinocyte의 세포막 손상(intercellular junction의 배열 불규칙적)과의 관련성 규명을 위해서는 추후 면밀한 연구가 필요할 것으로 생각된다.

인체 내에 존재하는 중요한 항산화물질이며 피부조직에서 다양한 보조역할을 하는 GSH 함량은 UVB에 노출된 피부조직에서 단시간에 급격한 변동이 일어나 산화현상을 유발한다. Connor and Wheeler (1987)는 UVB나 UVA를 조사하면 피부의 GSH 함량이 현저히 떨어진다고 보고하였다. 이 연구에서 자외선을 조사한 대조군은 24시간에서 유의하게 감소되었다가 그 이후에는 정상적인 수준으로 회복되었다. 이는 자외선 조사 시 생성된 유해산소를 제거하기 위해서 GSH가 단기간에 많이 소모된 것으로 해석된다.

이상의 실험 결과를 통해 제모한 마우스배부에 400 mJ/cm<sup>2</sup> 광량의 UVB 자외선을 조사한 결과 피부 각질세포의 손상과 함께 진피조직에 급성염증 반응이 초래되고 조사 후 6일에는 염증반응이 회복되는 것으로 관찰되었다. UVB 조사군에서는 유해산소를 생성하는 XO 활성이 정상군보다 전반적으로 유의하게 높게 나타난 반면에, 해독에 관여하는 효소들은 정상군보다 유의하게 감소하였다가 시간이 흐름에 따라 서서히 정상적인 수준으로 회복되는 경향을 관찰할 수 있었다. 이와 같은 결과는 생체 피부에 UVB를 조사하면 유해산소 생성제 효소와 해독제 효소간의 불균형이 초래됨으로써, 즉 XO 활성의 증가로 인한 유해산소의 과다 생성과 이들 유해산소를 제거하기 위한 생체 방어기전으로서 유해산소 해독제 효소들이 활성이 저하되고 산화적 손상이 일어나며 일정량 이하의 UVB 노출 시에는 시간이 경과함에 따라 이들 효소계간의 불균형이 정상수준으로 회복되어 조직손상은 치유됨을 가늠케 해준다는 것을 보여주었다.

## 참 고 문 헌

- 김기연. 피부의 자연노화와 광노화에 대한 비교연구, 한국미용학회지 1997; 3(1): 21-43.
- 대한피부과학회. 피부과학, 여문각, 1994.
- Aebi H. Methods of Enzymatic Analysis, Vol. 2. New York, Academic Press, 1974.
- Connor MJ and Wheeler LA. Depletion of cutaneous glutathione by ultraviolet radiation, Photochem and Photobiol 1987; 46(2): 239-245.
- Cotran RS and Pathak MA. The pattern of vascular leakage induced by monochromatic UV irradiation in rats, guinea pigs and hairless mice, J Invest Dermatol 1968; 51: 155-164.
- Deneke SM and Fanburg BL. Normobaric oxygen toxicity of the lung, N Engl J Med 1980; 303(2): 76-86.
- Ellman GL. Tissue sulfhydryl groups, Arch Biochem Biophys 1959; 82: 70-77.
- Fuchs J and Packer L. Oxidative stress in dermatology, New York, Marcel Dekker, 1993.
- Habig WH, Pabst MJ and Jakoby WB. Glutathione S-transferase, The first enzymatic step in mercapturic acid formation, J Biol Chem 1974; 249(22): 7130-7139.
- Kripke ML. Immunological effects of ultraviolet radiation, J Dermatol 1991; 18: 429-433.
- Lavker RM, Fred KF and Kligman AM. Changes in skin surface patterns with age, Gerontol 1980; 35: 348-354.
- Lee SC, Lee JW, Jung JE, Lee HW, Chun SD, Kang IK, Won YH and Kim YP. Protective role of nitric oxide-mediated inflammatory response against lipid peroxidation in ultraviolet B-irradiated skin, Brit J Dermatol 2000; 142: 653-659.
- Leibovitz BE and Siegel BV. Aspects of free radical reaction in biological system, J Gerontol 1980; 35: 45-56.
- Lowry OH, Rosenbrough NJ, Far AL and Randall RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent, J Biol Chem 1951; 193: 265-275.
- Luft, JH. Improvement in epoxy resin embedding method, J Biophys Biochem Cytol 1961; 9: 409-414.
- Martin JP, Dailey M and Sugarman E. Negative and positive assays of superoxide dismutase based on hematoxylin autoxidation, Arch Biochem Biophys 1987; 255: 329-336.
- McCord JM and Fridovich I. The biology and pathology oxygen radicals, Am Intern Med 1978; 89: 122-127.
- Miyachi Y, Imamura S and Niwa Y. Decreased skin superoxide dismutase activity by a single exposure of ultraviolet radiation is reduced by liposomal superoxide dismutase pretreatment, J Invest Dermatol 1987; 89: 111-112.
- Mukhtara H and Elmetts CA. Photocarcinogenesis: mechanisms, models and human health implications, Photochem Photobiol 1996; 63: 355-360.
- Ohkawa H, Ohishi N and Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction, Anal

- Biochem 1979; 95: 351-358.
- Okada K, Takahashi Y, Ohnishi K, Ishikawa O and Miyachi Y. Time-dependent effect of chronic UV irradiation on superoxide dismutase and catalase activity in hairless mice skin, *J Dermatol Sci* 1994; 8(3): 183-186.
- Paglia DE and Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase, *J Lab Clin Med* 1967; 70: 158-169.
- Pathak MA and Stratton K. Free radical in human skin before and after exposure to light, *Arch Biochem Biophys* 1968; 123: 468-476.
- Raab WP. The skin surface and stratum corneum, *Br J Dermatol* 1990; 35: 37-41.
- Reynolds ES. The use of lead citrate at high pH as electron opaque stain in electron microscopy, *J Cel Biol* 1963; 17: 208-212.
- Soter NA. Acute Effects of Ultraviolet Radiation on the Skin, *Sem Dermatol* 1990; 9(1): 11-15.
- Stewart MS, Cameron GS and Pence BC. Antioxidant nutrients protect against UVB-induced oxidative damage to DNA of mouse keratinocytes in culture, *J Invest Dermatol* 1996; 106: 1086-1089.
- Stirpe F and Della CE. 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* 1969; 244: 3855-3863.
- Watson ML. Staining of tissue sections for electron microscopy with heavy metals, *J Biophys Biochem Cytol* 1958; 226: 475-479.