

자초 (*Lithospermum erythrorhizon*) 추출물이 UVB로 조사된 생쥐 피부에 미치는 영향

송 선 영*

광주보건대학 피부미용과

The Effect of *Lithospermum erythrorhizon* Extracts in UVB-Irradiated Mouse Skin

Seon-Young Song*

Department of Skin and Beauty, Gwangju Health College University

(Received July 29, 2008; Accepted September 18, 2008)

ABSTRACT

This study was intended to identify the effectiveness of *Lithospermum erythrorhizon* in the UVB-irradiated mouse skin. The C57BL mice were divided into three groups; the control group, the UVB irradiated group (UVB group), and the group treated with *Lithospermum erythrorhizon* extracts after UVB irradiation (UVB+Le group). 10 mice were collected and sacrificed at 24 hrs, 48 hrs, 72 hrs, 120 hrs, and 168 hrs, respectively.

In the result, the transepidermal water loss (TEWL) was decreased the UVB+Le group than UVB groups by time. At the 168 hrs group was significantly lower ($p < 0.05$).

In the result, the melanin value was decreased in the UVB+Le group than UVB group, but meaningless ($p > 0.05$). In the result of erythema index, the UVB+Le group was meaningfully lower at 24 hrs, 48 hrs, and 72 hrs group than UVB group ($p < 0.05$). In the result of scanning electron micrograph observation, the UVB+Le group was alleviated swelling than UVB group at the 24 hrs, formation of the scab at the 48 hrs, regular plate shape at the 72 hrs, new keratin observed at the 120 hrs partially, and fine fiber covered epidermis surface at the 168 hrs.

In the result of transmission electron micrograph observation, the UVB+Le group was facilitation of increased lamellar bodies and reformation lamellar bodies than UVB group at the all groups. Almost all the structures were recovered at the 168 hrs group. In conclusion, *Lithospermum erythema* extracts may recovery on the UVB-irradiated mouse skin.

Keywords : UVB, *Lithospermum erythrorhizon*, Transepidermal water loss, Melanin value, Erythema index, TEM

서 론

피부는 바깥으로부터 표피층, 진피층, 피하조직으로 구성되어 있다. 표피의 각질층은 약 40%의 단백질, 40%의 수분

그리고 10~20%의 지질로 구성되어 있고 그 구조는 단백질이 풍부한 각질세포와 그 사이를 채우고 있는 지질로 이루어져 있다. 피부 표면 지질 중 각질 세포간 지질은 주로 세라마이드, 콜레스테롤, 자유 지방산으로 구성되어 있으며, 피부투과장벽으로써 중요한 기능을 담당한다. 피부를 통한

이 논문은 2007년도 광주보건대학 학술연구비 지원을 받아 연구되었음(3007028).

* Correspondence should be addressed to Seon-Young Song, Department Skin and Beauty, Gwangju Health College University, 683-3, Shinchang-dong, Gwangsan-gu, Gwangju, Korea. Ph.: (062) 958-7735, Fax: (062) 958-7795, E-mail: sss5608@ghc.ac.kr

체액과 전해질의 과도한 손실을 억제함으로써 표피의 건조를 막고, 표피가 정상적인 신진대사를 할 수 있는 환경을 제공한다(Elias et al., 1977; Alan et al., 1994). 또한 장벽 기능 외에도 각질층 내의 각질세포의 결합과 정상적인 탈락 과정에도 관여한다(Landmann, 1986; Wertz et al., 1989; Rawlings et al., 1994; Lee et al., 1999).

UVB(자외선 B)는 주로 일광화상세포와 같은 표피에 변화를 일으킨다. 급성노출시 피부홍반, 열, 부종, 통증 그리고 소양증이 일어나고 그 후에 피부에 색소침착이 일어나고(Lee et al., 2006) 표피가 비후되는 현상이 나타나며 만성적으로 노출되면 피부의 노화와 육종형성을 유발한다(Rhodes et al., 1991; Hahm, 1992; Yoon, 1994; Cho et al., 2003; Johanna et al., 2004). 또한 superoxide anion radical, hydroxyl radical과 같은 활성산소종(reactive oxygen species: ROS)의 생성을 유도하여 oxidative stress 및 항산화 방어기전의 불균형을 초래함으로써 염증반응, 광노화 및 피부암 등의 질병을 심화시킬 수 있다는 보고가 있다(Pathak et al., 1968). 이러한 자외선이 최근 환경오염으로 인한 오존층의 감소로 자외선 조사량이 늘어나고, 수명의 연장과 야외 여가활동으로 인해 노출이 많아 자외선으로 인한 피부손상이 증가되고 있다. 이에 최근에는 다양한 분야에서 자외선에 의한 피부의 손상 및 노화를 예방하거나 치료할 수 있는 물질을 개발하려는 노력이 진행되고 있다.

자초(*Lithospermum erythrorhizon* S. et Z)는 생약명은 자초(紫草), 자단(紫丹)이고 지초(芝草), 자근(紫根), 자지(紫芝), 지치, 자경, 자초자, 자근주치 등의 여러 이름으로 불리는 여러해살이 풀로 우리나라 전역에 야생하고 있다(Cho et al., 1999).

현재까지 알려진 성분으로는 shikonin(Kim, 2001; Kim et al., 2006), acetylshikonin 등이 있다(Yoon et al., 1988; Hwang et al., 2000). 약리 작용으로는 shikonin에 의한 신진대사의 산화환원반응 조절 및 창상과 화상의 신생촉진(Min et al., 2005), acetylshikonin과 shikonin에 의한 항염증 작용(Kang, 2005)과 shikonin과 그 유도체에 의한 항종양 작용 등(Kim & Ahn, 1990; Hisa et al., 1998; Kim, 1999; Singh et al., 2003; Staniforth et al., 2004; Hou et al., 2006)이 보고되어 있다.

최근에는 아토피 피부 환자를 위한 건강식품 개발 등 다양한 연구가 시도되고 있으며(Kim et al., 2004; Ministry for health welfare, 2006), 멜라닌 생합성 억제효과가 있다고 보고되었다(Lee et al., 2005). 민간에서는 자초의 항균, 항염작용으로 아토피 등 피부질환 등의 화장품과 비누로 자초추출물을 활용하고 있다.

자초는 다양한 생리학적·약리학적 효능을 지니고 있는 것으로 알려져 있으나, 국내에서는 다양한 활성 분석 및 그 기작에 관한 연구가 미흡한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 UVB에 손상된 생쥐 피부에서의 자초추출물의 효과를

조사함으로써 자외선에 의한 피부의 손상 및 광노화를 예방할 수 있는 물질의 개발을 증대시키고자 하였다.

재료 및 방법

1. 재료

1) 실험 동물

생후 5주의 C57BL/6 암컷 생쥐를 대한바이오링크 실험동물 센터에서 구입하여 사용하였다. 모든 생쥐는 온도 $23 \pm 2^\circ\text{C}$, 습도 $50 \pm 5\%$ 로 최적 환경조건을 유지시킨 실험실에서 12시간 명암주기로 1주일간 사육하였으며 먹이는 자유롭게 먹을 수 있게 하였다. 아무 처치를 하지 않은 생쥐를 대조군, UVB 조사군(UVB군), UVB 조사 후 자초추출물 도포한 군(UVB+Le군)으로 나눈 다음 24시간, 48시간, 72시간, 120시간, 168시간 경과 군으로 세분하여 각 군당 10마리씩 사용하였다.

2) 자초추출물 추출방법

실험에 이용한 자초는 경북 영천에서 생산된 것으로 시중 약재상인 갑당약초(Seoul, Korea)에서 구입하였다. 자초 500g에 3차 증류수를 가하여 냉각기가 부착된 진탕기에서 2시간 동안 100°C 로 가열하여 액상으로 추출하여 여과지로 여과하였다. 추출된 액체를 G5 glass filter로 여과하여 Vacuum evaporator(Tokyo Rekakikai Co. Ltd., Japan)로 감압 진공 농축한 후 Freeze dryer(Ilshin Lab, Korea)를 이용하여 동결건조하여 사용하였다.

2. 실험 방법

1) 자외선 조사

자외선 조사장치의 광원은 302 nm파장의 UVB를 방출하는 lamp(Sankyo denki, Japan)를 사용하였다. 자외선 조사 하루 전 생쥐를 제모기(Oster Model 5-50 Clipper, USA)를 이용하여 배부를 $3\text{ cm} \times 3\text{ cm}$ 의 크기로 제모한 후 실험동물을 자체 고안·제작한 자외선 조사용 cage에 가둔 후 제모한 배부위에 0.23 mW/sec 의 광량으로 1회 조사하여 총 800 mJ/cm^2 을 조사하였다.

2) 경표피수분손실량 측정

경표피수분손실량(trans-epidermal water loss: TEWL) 측정은 Tewameter TM 300(Courage+Khazaka electronic GmbH, Mathias, Germany)을 이용하였으며 측정시 실내온도는 $21 \sim 22^\circ\text{C}$, 실내습도는 55%인 동일 환경에서 시행하였다.

3) 멜라닌 양과 홍반 지수 측정

멜라닌 양(Melanin value)과 홍반 지수(Erythema index) 측정은 Mexameter MX18(Courage+Khazaka electronic

GmbH, Mathias, Germany)을 이용하였으며 Courage+Kha-zaka electronic GmbH (Mathias, Germany)사의 기계사용방법에 따라 제모된 생쥐 배부위 피부 3 cm×3 cm 부분을 측정하였다. 측정시 실내온도는 21~22°C, 실내습도는 55%인 동일 환경에서 시행하였다.

4) 주사전자현미경적 관찰

주사전자현미경적 관찰을 위하여 피부조직을 신속하게 4×1×4 mm³ 크기로 세절한 후 2.5% glutaraldehyde (4°C, pH 7.4, 0.1 M cacodylate buffer) 용액에서 2시간 전고정한 후 0.1 M cacodylate buffer로 20분간 3회에 걸쳐 수세 하였다. 1% osmium tetroxide (4°C, pH 7.4, 0.1 M cacodylate buffer) 로 실온에서 2시간 정도 후고정하여 일련의 ethanol 농도 50, 60, 70, 90, 95, 100%의 순으로 탈수시킨 뒤 isoamyl acetate로 20분간 치환하였다. 이후 liquid CO₂에 의한 동결건조 과정을 거쳐 aluminum stud에 고정하고 약 20 nm의 gold ion particle로 coating하여 주사전자현미경 (Hitachi S-4800형, 3.0 kV, Japan)으로 피부조직 표면을 관찰하였다.

5) 투과전자현미경적 관찰

투과전자현미경 표본을 제작하기 위해 적출된 피부조직을 1 mm³ 크기로 세절하여 모든 조직을 2.5% glutaraldehyde (pH 7.4, 0.1 M cacodylate 완충액) 용액으로 4°C에서 2시간 전고정 하였다. 1% osmium tetroxide 용액 (pH 7.4, 4°C) 으로 1시간 동안 후고정하여 통상적인 전자현미경 시료 처리법에 따라 처리한 후 Reynold's method에 따라 4% uranyl acetate와 lead citrate로 이중염색하여 투과전자현미경 (JEOL, 2000 FX-II형, 80kV, Japan)을 이용하여 관찰하였다.

결 과

1. 경표피수분손실량

UVB 조사군은 시간 경과에 따라 대조군에 비하여 경표피수분손실량이 높게 나타났으며 통계학적으로 유의하였다 (p<0.05). 특히 UVB 24시간군에서는 대조군(12.42±1.05)과 비교하여 높은 경표피수분손실량(62.96±18.29)을 보였다. UVB+Le군은 대조군에 비해 높은 경표피수분손실량을 보여 통계학적으로 유의하게 나타났다 (p<0.05). 168시간에서는 UVB+Le군(24.76±3.99)이 UVB군(37.17±10.36)보다 낮게 나타났으며 통계학적으로 유의성을 나타냈다 (Fig. 1).

2. 멜라닌 양

UVB 군은 시간 경과에 따라 대조군에 비해 높게 나타났다. 그러나 통계학적으로 72시간군(603.78±99.66)과 120시

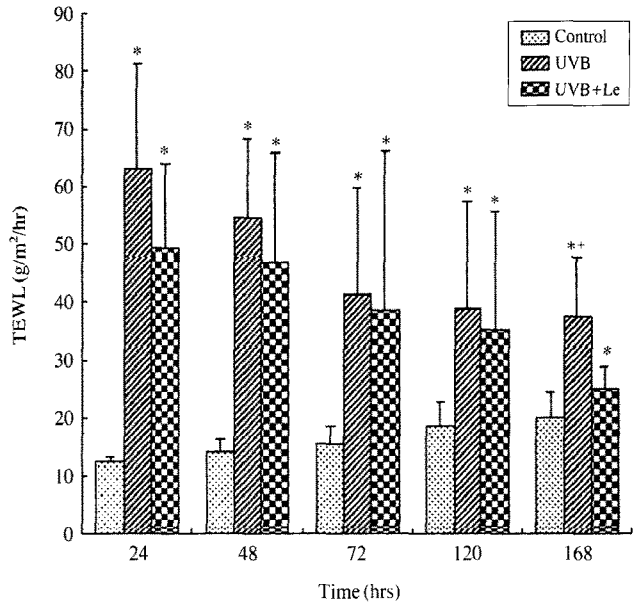


Fig. 1. The changes of transepidermal water loss (TEWL). *: p<0.05 compared with control, +: p<0.05 compared with UVB to UVB+Le.

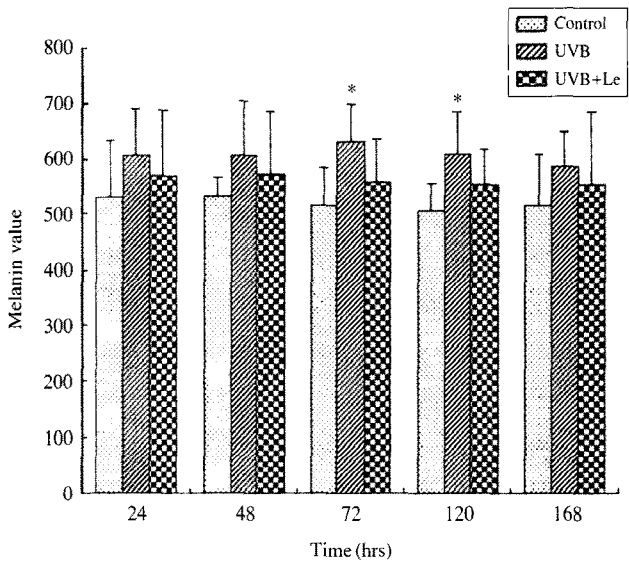


Fig. 2. The changes of melanin value. *: p<0.05 compared with control, +: p<0.05 compared with UVB to UVB+Le.

간군(630.56±69.35)에서만 유의하였다 (p<0.05). UVB+Le 군에서는 시간 경과에 따라 대조군보다는 높게, UVB 군에 비해서는 낮게 나타났으나 통계학적으로 유의성은 없었다 (Fig. 2).

3. 홍반 지수

UVB 군의 홍반 지수는 시간 경과에 따라 대조군보다 높게 나타났다. 통계학적으로 168시간을 제외한 모든 군에서

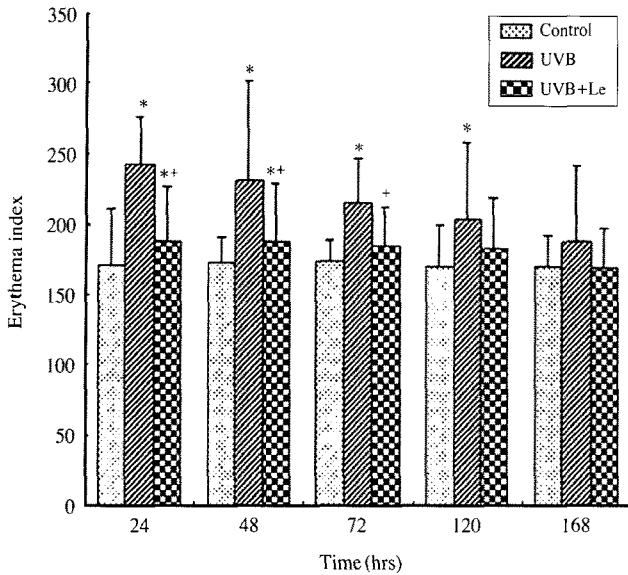


Fig. 3. The changes of erythema index. *: $p < 0.05$ compared with control, +: $p < 0.05$ compared with UVB to UVB+Le.



Fig. 4. A scanning electron micrograph of skin surface from control group. $\times 1,500$

유의하였다($p < 0.05$). UVB+Le군은 시간경과에 따라 대조군보다는 높게 나타났다. 24시간과 48시간에서 유의성이 있게 나타났으며($p < 0.05$) 72시간, 120시간, 168시간에서는 유의성이 없게 나타났다. 또한 UVB 군보다 24시간, 48시간, 72시간군에서 통계학적으로 유의성이 있게 낮게 나타났으며($p < 0.05$), 120시간과 168시간에서는 유의성이 없었다(Fig. 3).

4. 주사현미경적 관찰

UVB group 24시간군에서 대조군에 비해(Fig. 4) 표피표면이 팽윤되고(Fig. 5A), 48시간군에서는 피부표면이 건

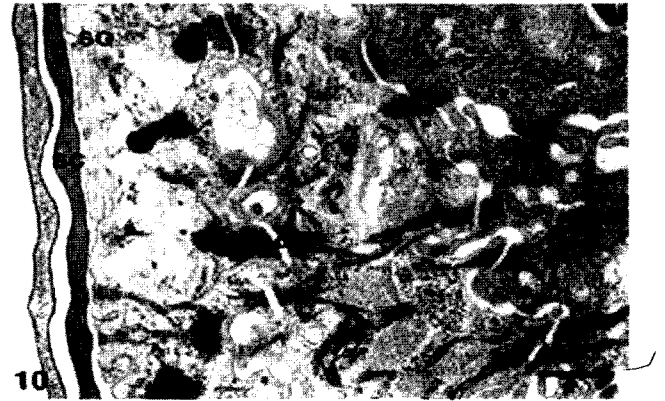


Fig. 10. A transmission electron micrograph of skin from control group. The intracellular spaces of the outer stratum corneum are filled with intact materials. SC: Stratum corneum, SG: Stratum granulosum, d: desmosome. Scale Bar=1 μ m.

조(Fig. 6A), 72시간군에서는 불규칙한 판상을 가지며 미세한 주름들이 관찰(Fig. 7A), 120시간군에서는 가피형성(Fig. 8A), 168시간군에서 규칙적인 판상의 구조가 중첩되어 관찰되었다(Fig. 9A). UVB+Le group 24시간군에서는 UVB group 보다 팽윤현상이 완화되게 관찰되었다(Fig. 5B). 48시간군에서는 가피형성(Fig. 6B), 72시간군에서는 규칙적인 판상구조(Fig. 7B), 120시간군에서 새로운 각질세포 생성(Fig. 8B), 168시간군에서는 얇은 섬유망으로 덮혀 있는 것이 관찰되었다(Fig. 9B).

5. 투과전자현미경적 관찰

투과전자현미경적 관찰 결과, UVB group 24시간군에서는 지질이중막 손상, 층판소체 분비 증가가 나타나며(Fig. 11A), 48시간군에서는 층판소체의 세포외분출(Fig. 12A), 72시간군에서는 층판소체 증가(Fig. 13A), 120시간군과 168시간군에서는 새로운 층판소체 형성이 관찰되어 졌다(Figs. 14A, 15A). UVB+Le group은 층판소체의 증가와 층판소체의 재형성이 UVB group 보다 모든 군에서 촉진되었다(Figs. 11B, 12B, 13B, 14B, 15B). 특히 168시간군에서는 지질이중막의 구조가 거의 회복되어졌다(Fig. 15B).

고찰

피부의 가장 바깥에 위치하여 외계와 접촉하고 있는 각질층은 비록 세포가 죽어 있는 상태이지만 피부 장벽 기능을 수행한다. 즉 각질층은 피부를 통한 수분과 전해질의 손실을 억제함으로써 피부가 정상적인 생물학적 기능을 유지할 수 있는 환경을 제공하고, 외부 환경으로부터 유해한 인자가 피부를 통해 침범할 때 이를 제 일선에서 막아내는 중

요한 역할을 한다(Rawlings et al., 1994; Ahn et al., 1998; Bouwstra et al., 2000; Zhai et al., 2002; Lee et al., 2004).

각질층 지질 장벽대의 손상 후 공기중에 노출시켰을 때 24시간까지는 유의하게 경표피수분손실 증가가 지속되었으나 48시간에 피부 장벽의 기능이 거의 대조군 수준으로 회복(Choi et al., 1997)되었으며 hairless mice의 배부에 2% benzalkonium tetroxide (BKC)로 자극하여 각질층을 손상시킨 후 desoxymethasone 연고, vaseline 및 hydrobase를 도포한 후 피부장벽의 회복을 관찰한 결과 경표피수분손실의 회복률은 도포 3~6시간 후에는 모두 완전한 증가 양상을 보이다가 도포 6~24시간 후의 경우 매우 완전한 회복이 관찰되었다(Ahn et al., 1998). 또한 Lim et al. (2006)의 연구에서는 태양광선과 유사한 파장을 방출하는 solar simulator를 이용하여 인위적으로 일광손상을 유발한 후 경표피수분손실량을 측정된 결과 24시간 경과 후 급격히 증가하다가 48시간이 경과하면서 회복되기 시작하였고 7일이 경과하면서 정상으로 회복되었다. 본 연구에서는 UVB+Le군 168시간에서 대조군에 유사하게 회복된 결과를 나타냈다.

저용량의 UVB를 반복조사한 군에서의 경표피수분손실량의 측정치가 각 시점에서 감소하는 양상을 보였지만 통계적 유의성은 없었고, 반복조사한 군에서는 측정 7일에 최고치를 보여 대조군에 비해 매우 유의하게 증가하였고 14일과 21일째는 대조군에 비해 각각 증가는 하였지만 그 유의성은 감소하였다. 고용량의 자외선 B를 1회 조사한 군에서는 경표피수분손실량이 2일째 가장 높은 값을 보여 대조군과 유의한 차이를 보였고 7일째 측정치도 대조군에 비하여 유의하게 높았으나 14일째는 대조군에 비하여 유의한 차이 없이 대조군 수준으로 감소되었다(Yoon et al., 1995). 본 연구에서는 800 mJ/cm²의 광량을 조사하여 24시간 군에서 경표피수분손실량이 가장 높게 나타났으며 시간경과에 따라 감소하였으나 168시간에 완전한 회복을 보이지는 않았다. 그러나 UVB+Le군은 UVB군에 비해 모든 군에서 경표피수분손실량이 낮게 나타났으며 특히 168시간 군에서는 대조군의 수준으로 회복되어 Lim et al. (2006)의 연구결과와 같으며 회복률의 차이는 UVB의 광량에 따라 경표피수분손실량의 증가와 감소율이 다소 차이를 보이며 자초추출물이 회복률을 촉진시킨 것으로 사료된다.

자외선 조사 3일 경과 후부터 증가하기 시작하여 7일 경과 후 최대값을 보이다가 14일 경과하면서 점차 회복되는 양상을 보였다고 보고하였다(Lim et al., 2006). 또한 Park et al. (1997)은 UVB 조사 7일 후의 멜라닌 양은 광량이 증가할 수록 통계적으로 유의하게 증가되었다고 보고하였다(Kim et al., 1988; Kim & Yoon, 1988; Lee, 1992; Park, 1998; Bae, 2002). Lee et al. (2005)은 자초뿌리 추출물 처리 시 멜라닌 생합성 억제 효과를 보였다고 보고하였으나, 본 연구에서는 UVB 조사군은 시간 경과에 따라 대조군에 비

해 높게 나타났으나 통계학적으로 72시간군(603.78 ± 99.66)과 120시간군(630.56 ± 69.35)에서만 유의성이 있게 높게 나타났다(p < 0.05). UVB+Le군에서는 시간 경과에 따라 대조군보다는 높게, UVB 조사군에 비해서는 낮게 나타났으나 통계학적으로 유의성은 없게 나타났다(p > 0.05). 이는 UVB 조사로 인해 멜라닌 양은 높게 나타났으나 자초추출물 도포가 멜라닌 양에는 크게 영향을 주지 않는 것으로 사료된다.

Ahn et al. (1998)은 hairless mice의 배부에 2% benzalkonium tetroxide (BKC)로 자극하여 각질층을 손상시킨 후 desoxymethasone 연고, vaseline 및 hydrobase를 도포한 후 피부장벽의 회복 및 RuO₄ 후고정법에 의한 각질세포간 지질막구조의 변화를 전자현미경적으로 관찰한 결과 각질층의 지질막 구조의 변화는 도포군 3시간 경과시 각질층의 이중 지질막은 분리되거나 매우 불규칙한 배열 양상을 보였으며 3시간과 24시간 경과시 층판소체의 즉각적인 분비 및 새로운 층판소체의 형성, 분비된 층판소체에서 배출된 지질의 재배열이 현저하였다고 보고하였다. 본 연구에서도 UVB 조사 24시간군에서 이중 지질막은 분리되거나 매우 불규칙한 배열 양상을 보였으며 기존에 있는 층판소체 분비가 일어나며 시간 경과에 따라 새로이 층판소체가 형성되면서 지질막의 재배열이 이루어지는 결과를 나타냈다. UVB+Le군 168시간에서는 Control군과 같이 피부장벽 회복이 이루어져 여러학자들(Imokawa et al., 1989; Fartasch et al., 1993; Feingold, 1997; Ahn et al., 1998; Lee et al., 2004)의 연구보고와 같은 결과를 얻었다.

생쥐 피부의 창상치유과정에 대해 주사현미경적으로 관찰한 결과 상처부위의 주된 결합조직인 교원섬유는 창상 후 1일부터 점점 증가하다가 2주일 후에는 정상피부보다 훨씬 밀집되어 있었다. 또한 신생된 피부는 창상 1주일에는 정상적인 표피보다 약간 두꺼워져 있었고 가피에 섬유망이 형성되기 시작하여 1주일에는 발달되었으나 2주일에는 부정형의 요철이 심한 가피로 변화하였다고 보고하였다(Lee et al., 1989). Hahm (1992)의 보고에서는 건선 피부 환자의 피부표면을 주사현미경으로 관찰한 결과 건선 환자의 병변 부위에서는 주름선을 관찰할 수 없었고, 표면도 정상 각질층에서 보는 미세주름은 볼 수 없었고 아주 불규칙한 판상 모양의 증착된 표면을 보였다. 본 연구에서 UVB 조사군은 시간경과에 따라 각질의 탈락현상이 나타나며 매우 건조함으로 피부표면의 요철 현상과 갈라짐과 많은 미세한 주름들이 관찰되었고 UVB+Le군은 습윤효과와 가피형성으로 피부재생이 촉진됨을 관찰할 수 있었다. 이는 자초추출물이 UVB에 의해 손상된 피부에 대해 회복효과가 있는 것으로 사료되며, 현재 자초의 독성에 대해 아직 논란이 되고 있는 실정이므로 향후 민간에서 알려진 자초에 대한 여러가지 유효성을 검증하기 위해 더 많은 연구가 필요 하다고 사료

된다. 또한 광노화를 예방하거나 치료할 수 있는지에 대한 적극적인 연구가 더욱 진행되어 화장품원료로 뿐만 아니라 건강보조식품으로의 활용을 기대해본다.

참 고 문 헌

- Ahn SK, Choi EH, Hwang SM, Lee SH: Barrier recovery after topically applied desoxymethasone ointment, vaseline and hydrobase on benzalkonium chloride-irritated hairless mice skin. *Korean J Dermatol* 36(5) : 820-826, 1998. (Korean)
- Alan N, Moshell MD: Stratum corneum moisturization at the molecular level. *J Invest Dermatol* 103 : 731-74, 1994.
- Bae JH: A long-term comparative study of erythema and pigmentation induced by UVA-1, broad band UVA, narrow band UVB, and broad band UVB. *Kosin University*, 2002. (Korean)
- Bouwstra JA, Dubbelaar FER, Gooris GS, Ponc M: The lipid organization in the skin barrier. *Acta Derm Venereol supp* 208 : 23-30, 2000.
- Cho KH, Lee MK, Jo SJ, Kim KH, Park KC, Eun HC, Chung JH: Histologic changes in the skin with photoaging. *Korean J Dermatol* 41(6) : 754-760, 2003. (Korean)
- Cho MH, Paik YS, Hahn TR: Physical stability of shikonin derivatives from the roots of lithospermum erythrorhizon cultivated in Korea. *J Aerio Food Chem* 47 : 4117-20, 1999.
- Cho YH, Lee MH: Viability of cultured human keratinocyte and melanocyte after UVB exposure. *Korean J Dermatol* 35(2) : 258-265, 1997. (Korean)
- Choi TJ, Yoon DH, Kim HO, Kim JW: The effect of solvents polarity on the skin barrier in hairless mice. *Korean J Dermatol* 35(4) : 660-666, 1997. (Korean)
- Elias PM, Coerke J, Friend DS: Mammalian epidermal barrier layer lipids: Composition and influence on structure. *J Invest Dermatol* 69 : 355-546, 1977.
- Fartasch M, Bassukas ID, Diepgen TL: Structural relationship between epidermal lipid lamellae, lamellar bodies and desmosomes in human epidermis: an ultrastructural study. *Brit J Dermatol* 128 : 1-9, 1993.
- Feingold KR: Permeability barrier homeostasis: Its biochemical basis and regulation. *Cosmetic & Toiletries* 112 : 49-59, 1997.
- Hahm JH: A study on the morphological changes of stratum corneum in psoriatic patient. *Kor Res Inst Better Living* 50 : 165-172, 1992. (Korean)
- Hisa T, Kimura Y, Takada K, Suzuki F, Takigawa M: Shikonin, an ingredient of Lithospermum erythrorhizon, inhibits angiogenesis in vivo and in vitro. *Anticancer Res* 18(2A) : 783-90, 1998.
- Hou Y, Guo T, Wu C, He X, Zhao MH: Effect of shikonin on human breast cancer cells proliferation and apoptosis *in vitro*. *Yakugaku Zasshi* 12 : 1383-1386, 2006.
- Hwang SY, Hwang BY, Kang SS, Kim CM, Park JI, Bae KH, Son KH, Lee SH, Chang SY, Kang SJ, Ro JS, Lee KS: Isolation and quantitative analysis of acetylshikonin from Lithospermi Radix. *Kor J Pharmacogn* 31(3) : 295-299, 2000. (Korean)
- Imokawa G, Akasaki S, Minematsu Y, Kawai M: Importance of intracellular lipids in water-retention properties of the stratum corneum: induction and recovery study of surfactant dry skin. *Arch Dermatol Res* 281 : 45-51, 1989.
- Johanna THM, van den Akker JT, Holroyd JA, Vernon DI, Henricus JCM, Sterenberg Brown SB: Chronic UVB exposure enhances in vitro percutaneous penetration of 5-aminolonic acid in hairless mouse skin. *Laser Surg Med* 34 : 141-145, 2004.
- Kang JH: The anti-inflammatory effect of Lithospermi Radix and suppression of iNOS and TNF-alpha production. *Kyunghee University*, 2005. (Korean)
- Kim AN: Anticancer effect of Lithospermum erythrorhizon against L1210 cell in relation with Catalase, SOD & GPx. *Sangmeong University*, 1999. (Korean)
- Kim H, Ahn BZ: Antitumor effects of acetylshikonin and some synthesized naphthazarins on L1210 and S-180 systems. *Yakhak Hoeji* 34(4) : 262-266, 1990. (Korean)
- Kim JM: Dietary effect of Lithospermum erythrorhizon Siebold & Zuccarini on ceramides and natural moisturizing factor in the skin of NC/Nga mice. *Kyunghee University*, 2006. (Korean)
- Kim JS, Han YS, Kang MH: Identification of shikonin and its derivatives from Lithospermum erythrorhizon. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 35(2) : 177-181, 2006. (Korean)
- Kim MN: Studies on the constituents of Lithospermum erythrorhizon. *J Sun Moon University Natural Science* 4 : 25-39, 2001. (Korean)
- Kim SH, Jeung HS, Cho BK, Lee JY, Kim DK: Effects of the Lithospermum erythrorhizon on the atopic dermatitis. *Association Korean Oriental Pediatrics* 18 : 63-75, 2004. (Korean)
- Kim SY: Effect of Lithospermi Radix on the allergic inflammatory response. *Kyunghee University*, 2006. (Korean)
- Kim YC, Yoon JI: The effect of repeated ultraviolet irradiation on epidermal melanocyte of the exposed and shielded ear in C57BL mice. *Korean J Dermatology* 26(3) : 283-291, 1988. (Korean)
- Kim YK, Park YK, Kim HJ: The effect of UV-B radiation on epidermal melanocytes of C57BL mouse. *Korean J Dermatol* 26(2) : 139-144, 1988. (Korean)
- Landmann L: Epidermal permeability barrier: transformation of lamellar granule-disks into intercellular sheets by a freeze-fracture study. *J Invest Dermatol* 87(2) : 202-209, 1986.
- Lee HH, Bai S, Chin JE: Inhibitory effect of Lithospermum erythrorhizon extracts on melanin biosynthesis. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34(9) : 1325-1329, 2005. (Korean)
- Lee HJ, Kim SR, Kim JS, Moon CJ, Kim JC, Bae CS, Jang JS, Jo SK, Kim SH: The effect of red ginseng on ultraviolet B-induced skin damages in mouse. *J Ginseng Res* 30(4) : 194-198, 2006. (Korean)
- Lee HJ, Lee YH, Kim HS, Kim WS: The morphological observation on the cutaneous wound healing of mouse. *Chungnam Medical Journal* 16(1) : 29-37, 1989. (Korean)

- Lee JO, Park HN, Ahn SK, Choi EH, Lee SH: The effect of high dose systemic steroid and its long-term usage on the skin barrier of hairless mice. Korean J Dermatology 42(3) : 281-289, 2004. (Korean)
- Lee SH: The effects of a single exposure of UVB on morphologic changes and proliferation in cultured normal melanocytes. Kyunghee University, 1992. (Korean)
- Lee SH, Ahn SK, Jeung SK: Skin Barrier. Ryomoongak, Korea, 2004.
- Lee SH, Hwang SM, Choi EH, Ahn SK: Skin barrier. Korean J Dermatol 37 : 825-837, 1999. (Korean)
- Lim SH, Kim SM, Song YC, Lim SM, Kee YW, Choi YB: A case of localized Scleroderma treated with low-dose UVA1 phototherapy. Korean J Dermatol 44(4) : 474-478, 2006. (Korean)
- Min DH, Kim DK, Lim JP, Yang JH: Transdermal drug delivery & therapeutic effect of the preparations of Lithospermi Radix and Gardeniae extracts on the burn & wound healing. J Kor Pharm Sci 35(4) : 255-263, 2005. (Korean)
- Ministry for Health welfare: Development of Gromwell as a functional health food for skin moisturizing improvement and treatment of atopic dermatitis, 2006. (Korean)
- Park HJ: Effect of ginseng Alkaloid on epidermal melanocytes in UVB-Irradiated black mice. Ehwa Womens University, 1998. (Korean)
- Park SB, Kim BK, Eun HC, Yoon JI: Erythema and melanin index according to UVB radiation doses by use of a reflectance spectrophotometer in Korean young adults. Korean J Dermatol 35(4) : 729-735, 1997. (Korean)
- Pathak MA, Stratton K: Free radical in human skin before and after exposure to light. Arch Biochem Biophys 123 : 468-476, 1968.
- Rawlings AV, Scott IR, Harding CR, Bowser PA: Stratum corneum moisturization at the molecular level. J Invest Dermatol 103 : 731-740, 1994.
- Rhodes AR, Albert LS, Barnhill RL, Weinstock MA. Sun-induced freckles in children and young adults. Cancer 67 : 1990-2001, 1991.
- Singh F, Gao D, Lebowohl MG, Wei H: Shikonin modulates cell proliferation by inhibiting epidermal growth factor receptor signaling in human epidermoid carcinoma cells. Cancer Lett 200 : 115-121, 2003.
- Staniforth V, Wang SY, Shyur LF, Yang NS: Shikonins, phyto-compounds from Lithospermum erythrorhizon, inhibit the transcriptional activation of human tumor necrosis factor α promoter in vivo. J Bio Chem 279 : 5877-5855, 2004.
- Van der Valk PGM, Maibach HI: A functional study of the skin barrier to evaporative water loss by means of repeated cellophane-tape stripping. Clinical and Experimental Dermatol 15 : 180-182, 1990.
- Wertz PW, Swartzendruber DC, Kitko DJ, Madison KC, Downing DT: The role of the corneocytes lipid envelopes in cohesion of the stratum corneum. J Invest Dermatol 93 : 169-172, 1989.
- Yoon DH, Kim HO, Kim TY, Kim CW, Song KY: The effect of ultraviolet B irradiation on the skin barrier function in hairless mice-the change of transepidermal water loss and stratum corneum lipids composition. Kor J Dermatol 33(4) : 669-678, 1995. (Korean)
- Yoon KJ, Park, Lee HW, Yook CS: Studies on the constitutements and their antibacterial effect of the root of Lithospermum erythrorhizon Sieb. et Zucc. Bul K H Pharm Sci 16 : 155-161, 1988. (Korean)
- Youn JI: Photomedicine. Ryomoongak, Korea, pp. 110-116, 1994.
- Zhai H, Maibach HI: Occlusion vs. skin barrier function. Skin Research and Technology 8 : 1-6, 2002

< 국문 초록 >

본 연구는 UVB 조사로 인해 손상된 피부에 있어서 자초추출물의 유효성을 검증하기 위해 시도되었다. 생후 6주령된 제모한 C57BL/6 마우스를 대상으로 대조군, UVB 조사군 (UVB군), UVB 조사 후 자초추출물처리군 (UVB+Le군)으로 구분하여 24시간, 48시간, 72시간, 120시간, 168시간의 시간대별로 관찰하였다.

경표피수분손실량을 측정된 결과, UVB+Le군이 UVB군 보다 시간이 경과함에 따라 TEWL이 감소하였다. 특히 168시간군에서 유의하게 낮게 나타났다($p < 0.05$). 멜라닌 양 측정 결과, UVB+Le군이 UVB군 보다 낮게 나타났으나 통계학적으로 유의성은 없게 나타났다($p > 0.05$). 홍반 지수 측정 결과, UVB+Le group 24시간, 48시간, 72시간군에서 UVB group 보다 유의하게 낮게 나타났다($p < 0.05$).

주사전자현미경적 관찰 결과, UVB group 24시간군에서는 UVB group보다 팽윤현상이 완화되었다. 48시간군에서는 가피형성, 72시간군에서는 규칙적인 판상구조, 120시간군에서 새로운 각질세포 생성, 168시간군에서는 얇은 섬유망으로 덮혀 있는 것이 관찰되었다.

투과전자현미경적 관찰 결과, UVB+Le group은 층판소체의 증가와 층판소체의 재형성이 UVB group 보다 모든 군에서 촉진되었다. 특히 168시간군에서는 지질이중막의 구조가 거의 회복되어졌다.

이상의 모든 실험결과를 통해 자초추출물이 UVB 조사로 손상된 생쥐 피부를 회복시키는 효과가 있는 것으로 사료된다.

FIGURE LEGENDS

- Fig. 5.** A scanning electron micrograph of skin surface from 24 hrs group. $\times 1,500$. A: UVB group, B: UVB+Le group.
- Fig. 6.** A scanning electron micrograph of skin surface from 48 hrs group. $\times 1,500$. A: UVB group, B: UVB+Le group.
- Fig. 7.** A scanning electron micrograph of skin surface from 72 hrs group. $\times 1,500$. A: UVB group, B: UVB+Le group.
- Fig. 8.** A scanning electron micrograph of skin surface from 120 hrs group. $\times 1,500$. A: UVB group, B: UVB+Le group.
- Fig. 9.** A scanning electron micrograph of skin surface from 168 hrs group. $\times 1,500$. A: UVB group, B: UVB+Le group.
- Fig. 11.** A transmission electron micrograph of skin from 24 hrs group. A: UVB group, B: UVB+Le group, SC: Stratum corneum, SG: Stratum granulosum, LS: Lamellar stack. Scale Bar=1 μm .
- Fig. 12.** A transmission electron micrograph of skin from 48 hrs group. A: UVB group, Lipid bilayer are impaired, fragmented or partially absent. Lamellar body "roll up" (★). B: UVB+Le group, Formation and secretion of new lamellar bodies. SC: Stratum corneum, SG: Stratum granulosum, LB: Lamellar body, d: desmosome, G: Granulosum. Scale Bar=1 μm .
- Fig. 13.** A transmission electron micrograph of skin from 72 hrs group. A: UVB group. Reflecting a lack of secretion of lamellar body contents (★). B: UVB+Le group, d: desmosome. Scale Bar=1 μm .
- Fig. 14.** A transmission electron micrograph of skin from 120 hr group. A: UVB group, Lamellar bodies were empty (★). B: UVB+Le group, Return to lipid to SC. SC: Stratum corneum, SG: Stratum granulosum, Tf: Tonofilament. Scale Bar=1 μm .
- Fig. 15.** A transmission electron micrograph of skin from 168 hrs group. A: UVB group, B: UVB+Le group, Barrier repair is complete. Scale Bar=1 μm .

