

제주산양산삼이 세린-팔미토일 전이효소(Serine-Palmitoyltransferase)를 통해 피부 장벽에 미치는 효과에 대한 연구

김 호 민 · 이 정 노* · 김 재 문 · 김 성 규** · 박 성 민†

(주)코씨드바이오팜 바이오융합연구소, *충북대학교 약학대학, **성균관대학교 산학협력단
(2016년 1월 29일 접수, 2016년 5월 31일 수정, 2016년 6월 10일 채택)

The Effect of Jeju Wild Ginseng Extracts on Skin Barrier via Serine-Palmitoyltransferase

Hyo Min Kim, Jung No Lee*, Jae Moon Kim, Sung Kyu Kim**, and Sung-Min Park†

R&D Center, CoSeedBioPharm Corporation, 68 Osongsaeangmyeong 2-ro, Osong-eup,
Heungdeok-gu, Cheongju-si, Chungcheongbuk-do 28161, Korea

*College of Pharmacy, Chungbuk National University, Chungcheongbuk-do 28644, Korea

**SungKyunKwan University Research & Business Foundation, Seoul 03063, Korea

(Received January 29, 2016; Revised May 31, 2016; Accepted June 10, 2016)

요 약: 피부는 스모그, 담배연기 및 UV와 같은 외부환경으로부터 신체를 보호하는 가장 큰 기관이며, 보호 기작으로서 각질세포와 그 사이를 메우고 있는 세라마이드, 콜레스테롤, 지방산 등의 세포간지질이 라멜라 액정 구조로 피부 장벽을 이루고 있다. 본 연구에서는 세포간지질 중 세라마이드 생합성과 관련되어 있는 세린-팔미토일 전이효소(serine-palmitoyltransferase, SPT) 발현을 western blot으로 확인한 결과, 제주산양산삼 추출물이 농도의존적으로 SPT 단백질 발현을 증가시킴을 확인하였다. 또한 제주산양산삼 추출물을 5% 함유한 제형을 2주간 피부에 도포 후 TEWL을 측정하였을 때, 제주산양산삼 추출물을 함유한 에멀전 도포부위의 TEWL이 대조군에 비해 유의적으로 감소하는 것을 확인하였다. 이 연구결과는 제주산양산삼 추출물이 SPT의 발현 증가를 통해 세포간 지질의 핵심성분인 세라마이드의 생합성을 증가시켰음을 보여준다. 따라서 제주산양산삼 추출물은 피부장벽기능을 개선시켜 TEWL 감소 효과를 나타내며, 이를 통해 화장품 분야에서 피부장벽 강화 및 보습소재로서 사용될 수 있다고 사료된다.

Abstract: Skin is the largest organ that protects the body from the external environmental factors such as smog, cigarette smoke, UV. Protective skin barrier is composed with keratinizational keratinocytes and intercellular lipids such as ceramides, cholesterol and fatty acids combined by the lamellar liquid crystal structure. In this research, we confirmed that the Jeju wild ginseng (JWG) extracts dose-dependently increased the expression of serine-palmitoyltransferase (SPT) protein which is associated with ceramide biosynthesis. In addition, emulsion containing 5% JWG extract was applied on skin of human volunteers for 2 weeks and then significantly reduced transepidermal water loss (TEWL) compared to that of control group. As a results, JWG extract increased the biosynthesis of ceramides that is the key components of the skin lipid through enhancing expression of SPT. In addition, JWG extract reduced TEWL resulting in improvement of skin barrier function. In this context, we suggest that JWG extract could be used as a skin barrier enhancer and moisturizing agents in cosmetic fields.

Keywords: Jeju wild ginseng (JWG), ceramide, SPT, TEWL, skin barrier

1. 서 론

피부는 생체의 최외각층에서 우리 몸을 보호하고 외부 환경으로부터 피부의 항상성을 유지하는 가장 중요한 기관으로, 최근 자외선 및 스트레스 등의 환경적 요인으로 인하여 피부 장벽 기능이 약화되고 악진성 및 민감성 피부가 증가하고 있다[1]. 한편 인체 표피의 각질세포 사이의 지질은 세라마이드, 콜레스테롤 및 지방산 등으로 구성되어 있으며, 특유의 라멜라 액정 구조를 형성하여 각질세포와 결합하여 피부 장벽을 구성하는 것으로 브릭 & 몰타르(bricks and mortar)이론으로 피부 장벽 분야에서 통용되고 있다[2,3]. 각질층의 피부장벽에서 가장 중요한 지질성분은 스프링고신(sphingosine)유도체와 지방산(fatty acid)유도체가 amide 형태로 결합된 세라마이드가 약 40%를 차지하고 있고, 세라마이드가 피부장벽(skin barrier) 측면에서 매우 중요한 요소로 연구되고 있다. 아토피환자와 자외선에 의한 피부장벽 등의 손상피부에서 세라마이드의 함량이 유의적으로 감소되는 것이 보고되어 있다[4]. serine-palmitoyl transferase (SPT) knock out mice 의 피부에서 세라마이드 함량이 감소하며, 피부 가려움증과 아토피가 유발된다는 연구결과와[5], 식물유래의 스프링고지질은 세라마이드 생합성 효소 발현을 증가시키며, 세라마이드 함량을 증가시키는 연구결과가 보고되어 있다[6]. 그리고 히드록시프롤린 유사체는 SPT를 활성화하여 세라마이드 함량을 증가시켜 소양증을 완화하고[7], 피부세포에서 SPT 효소의 부족이 가려움증에 주원인이 된다는 연구결과가 보고되어 있다(Figure 1)[8]. 각질형성세포의 어느 층에서 세라마이드의 합성 과정이 가장 먼저 시작되는지는 확실히 알려져 있지 않지만, 일반적으로 분화가 시작되는 유극층으로 알려져 있다. 세라마이드 합성은 세포 내의 endoplasmic reticulum (ER)에서 SPT에 의해서 가장 먼저 palmitoyl-CoA와 serine이 결합되어 3-ketodihydrosphingosine 이 만들어지고, 이후 sphinganine와 dihydroceramide로 합성되어 과립층에 도달하여 세라마이드가 만들어진다. Golgi체로 이동한 세라마이드는 sphingomyeline 혹은 당치환 세라마이드로 생체 기능기가 부가된 후, 총판 소체의 형태로서 exocytosis에 의해 피부세포 외벽에 분포하여 피부세포의 고유기능 수행에 핵심역할을 담당한다[10-12].

최근 많은 피부 병변자들의 치료를 위하여 많은 연구자들이 각질세포와 유사한 구조를 갖는 세라마이드를 함유한 리포솜 제형이나 보습제를 함유한 제형을 개발하는 연구가 집중되어 있다. 하지만 이러한 연구자들의 노력에도 불구하고, 아토피, 건선 및 가려움증과 같은 피부 질환자의 수가 지속적으로 늘어나고 있는 실정이다.

한편, 산양산삼(*Panax ginseng* (C. A. MEY))은 오갈피과로 우리나라 각처 깊은 산림 속에서 자라는 다년초로 한의학적으로는 인삼과 같이 성미는 온(溫), 감(甘), 고(苦)로 알려져 있으며 간기능 개선, 항암작용, 면역력 개선, 혈관개통에 대한 효능, 강정작용 등이 있는 것으로 알려져 있다[13]. 산양산삼은 산삼의 일종으로써 인삼에 비해 다양한 사포닌을 함유하고 있어 피부 생리학적으로 다양한 생리활성이 기대되지만 가격 등의 문제로 인해 성분과 그 효능에 대한 연구가 많이 보고되어 있지는 않은 실정이다.

따라서 본 연구에서는 각질층에 일시적인 세라마이드 또는 보습제의 공급으로는 근본적 해결방법이 될 수 없다는 문제점을 확인하고, 생체 내의 세라마이드 생합성의 핵심 효소인 SPT의 발현을 조절하고 피부장벽개선 효과를 갖는 소재를 개발하고자, 제주지역에서 자생하는 산양산삼을 이용하여 SPT 발현 조절에 대한 연구와 이를 함유한 제형의 임상학적 효능연구 (TEWL)를 진행하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 시료의 추출

본 실험에서 사용한 제주산양산삼은 제주산삼영농조합법인에서 구매하여 사용하였다. 제주산양산삼의 전초를 음건 후 세절하여 분쇄기(HBL-3500S, ELEXION, Korea)로 분쇄한 후 70% 에탄올로 2회 반복 추출하고 감압 농축하고 동결건조하여 추출물을 수득하였다. 본 연구에서는 제주산양산삼 추출물을 Jeju wild ginseng (JWG)라고 약칭하였다.

2.2. 세포배양

인간 유래 각질형성 세포주(HaCaT)는 ATCC 사에서 구매하였고, 10% fetal bovine serum (FBS, Gibco, USA), 1% penicilline/streptomycin (P/S, Gibco, USA)을 첨가한

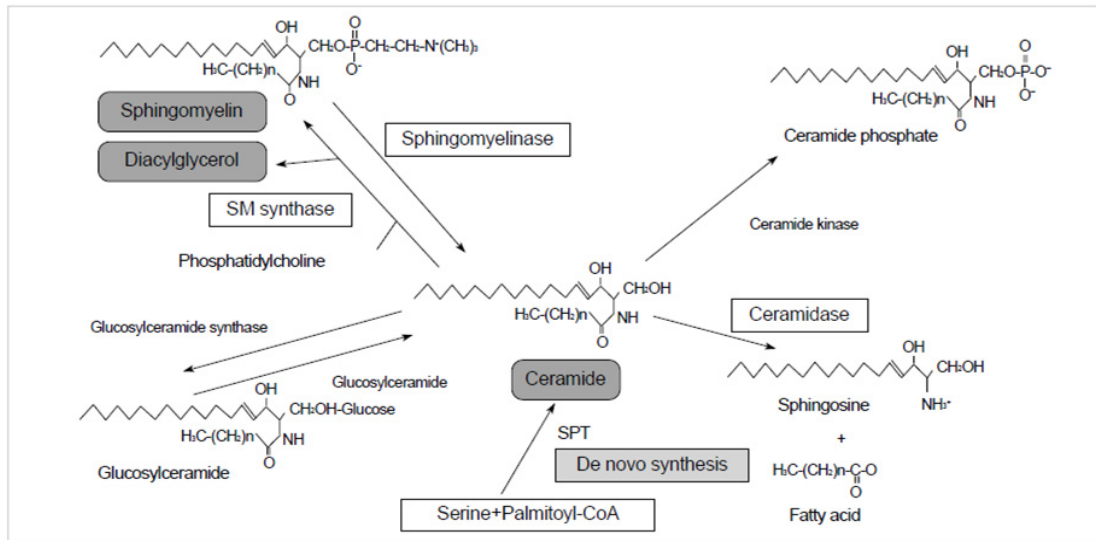


Figure 1. The synthesis of ceramide is regulated by SPT functions as the key pathway[8].

Dulbecco's modified Eagle medium (DMEM, Gibco, USA) 배지를 사용하여 100 mm 배양접시에서 37 °C, 5% CO₂ 조건 하에서 배양하였으며, 48 h마다 trypsin-EDTA로 계대 배양하였다.

2.3. 세포생존을 측정

JWG 추출물이 세포의 생존율에 미치는 영향은 3-[4,5-dimethylthiazole-2-yl]-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide (MTT, Sigma, USA) 정량법을 Mosmann[14]의 방법을 변형하여 실시하였다. HaCaT 세포를 1 × 10⁴ cells/well의 수로 96-well plate에 세포를 접종하고 24 h 안정화 시킨 후, JWG 추출물을 배지에 농도별로 희석하여 각 well에 처리하여 48 h 동안 배양하였다. MTT 용액(5 mg/mL in PBS)을 첨가하여 37 °C에서 2 h 반응시킨 후 배지와 MTT solution을 제거하고 생성된 formazan을 dimethyl sulfoxide (DMSO, Daejung Chemical, Korea)를 첨가하여 20 min간 plate shaker로 흔들어 녹인 후 540 nm에서 microplate reader (Multiskan, Thermo, USA)를 이용하여 흡광도를 측정하였다.

2.4. Western Blot을 통한 단백질 발현 확인

본 연구에서 확인한 단백질의 발현 양상을 western blot 실험을 통하여 확인하였다. 각각의 세포를 10% FBS와 1% P/S가 포함된 DMEM 배지를 이용하여 2 × 10⁵ cells/well로 6-well plate에 분주한 뒤 24 h 동안 안

정화 시켰다. 이 후, 1% FBS를 포함한 DMEM으로 교체하고 동일 배지로 세포독성이 없는 농도의 추출물을 희석하여 처리하고 24 h 동안 추가 배양하였다. 배양한 세포를 PBS로 조심스럽게 세척하고 제거한 후, 각 well에 1 × RIPA buffer (Thermo, USA)를 처리하여 세포를 lysis 하고 수거한 후 저온 원심분리(15,000 rpm, 15 min, 4 °C)하여 상등액을 획득하고 BCA protein assay를 이용하여 정량하였다. 20 μg의 단백질을 sample loading buffer와 혼합하여 100 °C에서 5 min간 가열하여 SDS-PAGE를 수행하였다. 전기영동 후 젤에 있는 단백질을 polyvinylidene fluoride (PVDF) membrane으로 전이하였다. Membrane을 5% skim milk를 포함한 TBST (TBS containing 0.1% Tween 20) 완충액 상에서 1 h 동안 blocking하였다. Anti-serine-palmitoyltransferase (Abcam, USA)와 anti-β-actin (Sigma, USA) 1차 항체를 각각 1 : 1,000, 1 : 2,000의 농도로 처리하여 4 °C에서 membrane을 overnight 반응하였다. 1차 항체 반응 후, TBST완충액으로 3회 세척하고, horseradish peroxidase가 결합되어 있는 2차 항체를 5% skim milk 상에서 1 h 실온에서 반응시켰다. Membrane을 TBST로 세척한 후, SuperSignal[®] West femto chemiluminescent Substrate (Thermo, USA) 용액으로 반응시키고, Chemi Doc[™] XRS+ (Hercules, USA)를 이용하여 각각의 밴드를 정량하였다. Bio-Rad 전용프로그램을 이용하여 밴드를 수치화 하였다.

Table 1. Composition of Control Samples (O/W Emulsion) Containing JWG

Components (INCI name)	Unit (wt%)	
Control (water)	5.00	-
<i>Panax ginseng</i> extract (JWG)	-	5.00
Glycerin	5.00	5.00
Butylene glycol	10.00	10.00
Sodium hyaluronate	3.00	3.00
Xanthan gum	0.20	0.20
Carbomer	0.20	0.20
Cetearyl olivate/Sorbitan olivate	3.00	3.00
PEG-100 stearate/Glyceryl stearate	1.50	1.50
Cetyl alcohol	2.00	2.00
Beeswax	0.50	0.50
Caprylic/Capric triglyceride	10.00	10.00
<i>Helianthus annuus</i> (sunflower) seed oil	2.00	2.00
Dimethicone	2.00	2.00
Cyclopentasiloxane/Cyclohexasiloxane	3.00	3.00
Cyclopentasiloxane/Dimethiconol	0.50	0.50
Ethyl hexanediol/Glyceryl caprylate	0.60	0.60
Arginine	Q.S	Q.S
Fragrance	Q.S	Q.S
Water	To. 100	To. 100

2.5. 경피수분손실량(Transepidermal Water Loss, TEWL) 측정

경피수분손실량 측정은 세명대학교 한방바이오 임상지원센터에 의뢰하여 수행하였다(IRB 승인번호 SMCTC-50-15- 02). 시험 참가자는 만 35세에서 50세의 성인 여성 중에서 선정기준에 만족하고 제외기준에 해당하는 사항이 없는 사람을 선정하였다. JWG 추출물을 함유한 에멀전 샘플의 보습효과를 확인하기 위하여 TEWL을 측정하였다. 피험자들의 측정 조건을 동일하게 하고 최소 30 min간 항온항습(22 ± 2 °C, R.H. 40 ~ 60%)이 유지되는 곳에서 피부 안정을 취한 후 진행하였다. JWG 추출물을 함유한 시험군과 대조군을 함유한 emulsion을 제조하여(Table 1), 각 시험 제품을 전완부의 선정된 시험 부위(1.5 cm × 1.5 cm)에 micro pipette을 사용하여 각각 2 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ 의 양으로 2주간 도포하였으며, 제품 도포 전과 도포 후로 총 2회 측정하였다. 경피수분손실량은 Tewameter TM300 (Courage +

Table 2. Composition of the Mobile Phase Employed in the Gradient HPLC System

Time (min)	Composition of mobile phase (%)	
	0.1% TFA in water	0.1% TFA in acetonitrile
0	80	20
5	80	20
40	20	80
45	20	80

Khazaka electronic GmbH, Germany)을 이용하여 측정하였다. 평가는 약 20 s간, 수치가 안정화 될 때까지 측정을 하였으며, 안정화된 5개의 값 중 최대값과 최소값을 제외한 3개의 값에 대한 평균을 사용하였다. 피부의 수분손실이 클수록 측정값이 높아졌으며, 측정계수는 $\text{g}/\text{m}^2/\text{h}$ 로 나타내었다.

2.6. 진세노사이드 분석

제주산양산삼과 다른 2곳의 지역(제천, 산청) 산양산삼에 함유된 진세노사이드의 분석을 위하여 각 산양산삼의 70% 에탄올 추출물과 80% 메탄올 추출물을 Agilent社의 LC-MS (Agilent 1200 HPLC, 15T FT-ICR MS, USA)를 이용하여 진세노사이드 profile을 분석하였다. 컬럼은 Luna C18 (Phenomenex, 250×4.6 mm, 5 μm , USA)을 사용하였고, 용매는 0.1%의 trifluoroacetic acid (TFA)를 함유한 증류수와 0.1%의 TFA를 함유한 acetonitrile을 초음파 세척기로 사용하였고, 각 용매의 기울기 용리조건(gradient system)으로 1 mL/min의 유속으로 분석하였다(Table 2).

2.7. 통계처리

통계처리는 시험군과 대조군의 차이 비교를 위해 3회 이상 수행하였으며 독립검정 *t*-test를 이용하여 $p^* < 0.05$ 이하일 때 통계적 유의성이 있다고 간주하였고, 분석은 graphpad prism으로 분석하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. MTT Assay를 통한 세포생존율 측정

HaCaT 세포에 대한 JWG 추출물의 세포독성을 확인하기 위하여 MTT assay를 수행하였다. JWG 추출물을 농도별로 처리한 결과 최고 농도인 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에

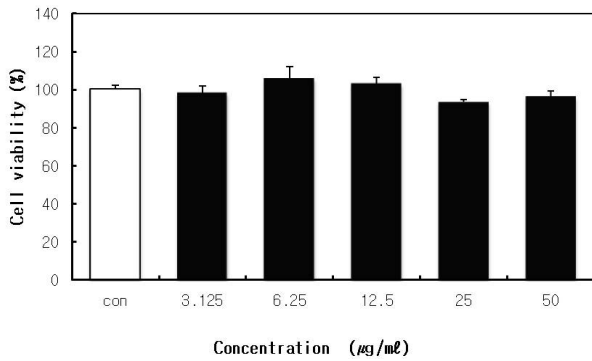


Figure 2. Effect of JWG extracts on the cell viability in HaCaT keratinocytes by MTT assay. The cells were treated with various dose of JWG extracts. The results were revealed as the means of triplicate samples with S.D.

서부터 유의적인 생존을 감소가 나타나지 않았다 (Figure 2). 이후의 실험에는 최고 50 µg/mL의 농도로 처리하였다.

3.2. JWG 추출물의 SPT 발현 확인

스핑고지질은 스핑고신의 유도체로서 신경조직이나 세포막에 존재하는 물질이다. 이는 세포막의 가장 중요한 구성성분이며 세포간의 신호전달, 세포 내 신호전달 등에 있어 매우 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 스핑고지질의 생합성은 serine과 palmitoyl-CoA가 축합되면서 시작되는데, 이 과정에서 SPT의 촉매 반응에 의해서 3-ketodihydrosphingosine이 생성되며 이를 통하여 세라마이드의 생성이 시작되어 SPT는 세라마이드 생합성의 key enzyme으로 보고되어 있다[15]. 따라서 본 연구에서는 JWG 추출물이 각질세포의 세라마이드 생합성에 미치는 영향을 확인하기 위하여 SPT의 단백질 발현을 확인하였다. HaCaT 각질세포에 JWG 추출물을 10, 25 및 50 µg/mL의 농도로 처리하였을 때, SPT 단백질의 발현이 농도 의존적으로 증가함을 확인할 수 있었다(Figure 3). 본 연구에서 확인된 바와 같이 JWG 추출물은 SPT의 발현 증가를 통해 생체 내 세라마이드 생합성을 증가시켜 피부장벽 개선 및 보습 소재로서 활용할 수 있을 것이라 사료된다[9].

3.3. JWG 추출물의 TEWL 측정

JWG 추출물을 함유한 에멀전을 2주간 도포한 후 대조군, 시험군간 TEWL을 측정하였다. TEWL 분석 결과

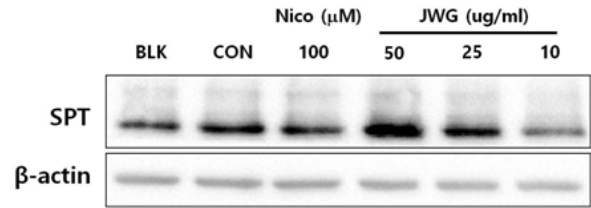


Figure 3. The effect of JWG extracts on the protein level of SPT. The protein expression of SPT was determined by western blot analysis. Nico.: Nicotinamide

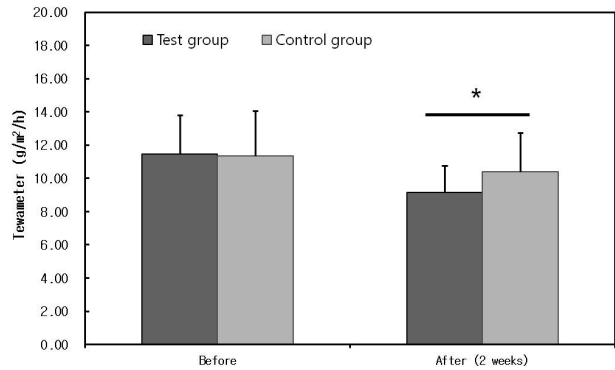


Figure 4. The mean change of TEWL by stratum corneum conditions. TEWL was measured in relative humidity of 40 ~ 60% and temperature of 22 ± 2 °C.

대조군의 경우 11.367 g/m²/h에서 시료 도포 후 10.410 g/m²/h로 나타났으며, 시험군의 경우 시료 도포 전 11.472 g/m²/h에서 시료 도포 후 9.137 g/m²/h로 나타났다. TEWL은 피부장벽기능을 말해주는 지표로서 시험군과 대조군 사이에 통계학적으로 유의미한 차이를 확인할 수 있었다(Figure 4).

아토피 피부염 등의 피부장벽이상에 의한 질환에는 피부장벽기능의 회복 및 수분의 공급이 매우 중요한 요인으로 작용한다. 또한 피부각질층은 외부의 물리적 손상과 자극으로부터 전해질과 수분의 손실을 억제하여 인체를 보호하는 장벽으로 작용하며, 최근 연구에 의하면 아토피피부염 및 건선은 세라마이드의 결핍에 의한 장벽 손상과 밀접하게 연관되어 있으며 이는 피부의 지질성분에 의한 수분보유와도 상관성이 있다고 보고되었다[16,17]. 이는 JWG 추출물을 함유한 에멀전의 TEWL 측정을 통해 피부의 수분손실 방지와 피부장벽 기능의 회복에 일정 부분 기여할 수 있을 것으로 사료된다.

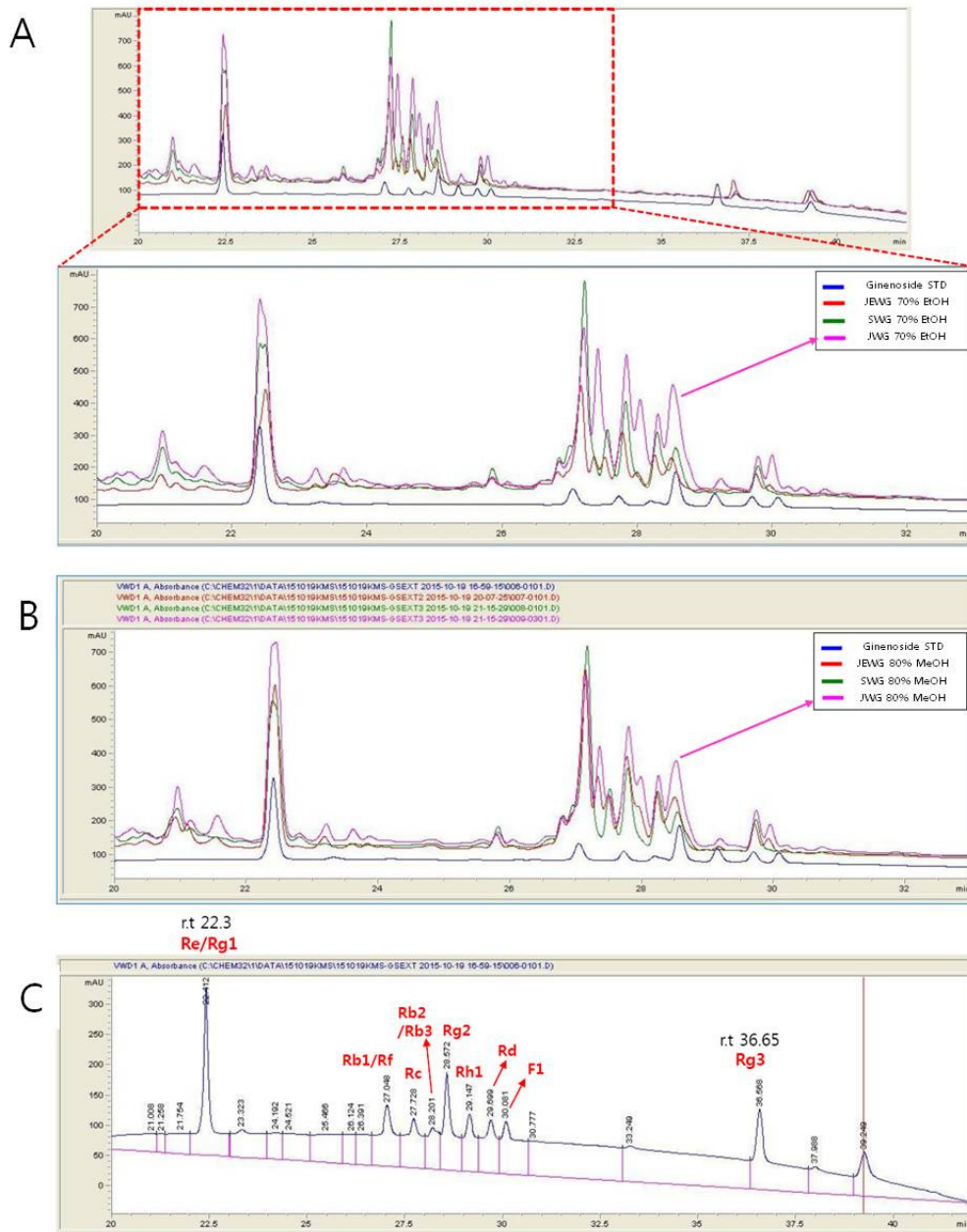


Figure 5. HPLC chromatograms of 70% EtOH extracts of wild ginseng (A), 80% MeOH extract of wild ginseng (B) and ginsenoside stand (C). ginsenoside STD; ginsenoside standard, JEWG; Jecheon wild ginseng, SWG; Sancheong wild ginseng

3.4. JWG 추출물의 진세노사이드 분석

JWG 추출물이 다른 2곳(제천, 산청)의 산양산삼과 다른 특이점을 확인하기 위하여 진세노사이드 profile 을 통해 패턴을 분석하였다. 70% 에탄올 추출물과 80% 메탄올 추출물의 경우 JWG에서 진세노사이드

Rg 2의 함량이 타지역의 산양산삼 추출물보다 많은 것으로 확인되었다(Figure 5).

이 결과를 통해 제주도 산양산삼에서 대략적인 진세노사이드의 함량 패턴 차이를 확인할 수는 있었으나 정량적인 분석과 함량에 따른 SPT 활성화에 미치는 영

향에 대한 추가 연구가 필요할 것으로 사료된다.

4. 결 론

본 연구에서는 JWG 추출물이 serine과 palmitoyl-CoA를 통해 세라마이드 생합성을 촉매하는 SPT 효소 단백질의 발현에 미치는 영향과 이를 바탕으로 한 TEWL을 측정하였다. HaCaT keratinocytes에서 JWG 추출물이 세포생존율에 미치는 영향을 확인한 결과 최대 50 µg/mL의 농도까지 세포생존율에 영향을 미치지 않았고, 피부장벽 지질에서 가장 많은 비율로 존재하고 있는 세라마이드의 생성에 있어 가장 중요한 역할을 하는 효소인 SPT 단백질의 발현을 확인한 결과 JWG 추출물을 처리한 군에서 농도 의존적으로 단백질 발현이 증가하였음을 확인하였다. 또한 TEWL 측정을 통하여 JWG 추출물이 경피수분 손실 방지 효과를 나타내는 것을 확인하였다. 이를 통해 JWG 추출물 생체 내 세라마이드 생합성을 증가시켜 피부 장벽 기능이 개선되어 TEWL의 유의적 감소결과를 얻은 것으로 사료된다. 그러나 본 연구에서는 세포수준과 임상학적으로 세라마이드의 증가를 확인할 수 없었다. 향후, 세포수준에서 tandem-mass를 통해 세라마이드를 확인할 수 있는 방법과 각질층에서 세라마이드의 양을 측정할 수 있는 분석법의 연구가 필요하다. 본 연구를 통해 제주산삼 추출물이 화장품 분야에서 피부장벽 강화 및 보습소재로써 활용가능성이 있을 것이라 사료된다.

Reference

1. K. R. Feingold and P. M. Elias, Role of lipid in the formation and maintenance of the cutaneous permeability barrier, *Biochim. Biophys. Acta*, **1841**(3), 280 (2003).
2. A. D. Nardo, P. Wertz, A. Giannetti, and S. Seidenari, Ceramide and cholesterol composition of the skin of patients with atopic dermatitis, *Acta Derm. Venereol.*, **78**, 27 (1998).
3. G. Imokawa, S. Akasaki, Y. Minematsu, and M. Kawai, Importance of intercellular lipids in water-retention properties of the stratum corneum: induction and recovery study of surfactant dry skin, *Arch.*

- Dermatol. Res.*, **281**(1), 45 (1989).
4. J. L. Sugaman, The epidermal barrier in atopic dermatitis, *Semin. Cutan. Med. Surg.*, **27**(2), 108 (2008).
5. K. Nakajima, M. Terao, M. Takaishi, S. Kataoka, N. Goto-Inoue, M. Setou, K. Horie, F. Sakamoto, M. Ito, H. Azukizawa, S. Kitaba, H. Murota, S. Itami, I. Katayama, K. Takeda, and S. Sano, Barrier abnormality due to ceramide deficiency leads to psoriasiform inflammation in a mouse model, *J. Invest. Dermatol.*, **133**(11), 2555 (2013).
6. Y. Shirakura, K. Kikuchi, K. Matsumura, K. Mukai, S. Mitsutake, and Y. Igarashi, 4,8-Sphingadienine and 4-hydroxy-8-sphingenine activate ceramide production in the skin, *Lipids Health Dis.*, **11**(1), 108 (2012).
7. E. Hashizume, T. Nakano, A. Kamimura, and K. Morishita, Topical effects of N-acetyl-L-hydroxyproline on ceramide synthesis and alleviation of pruritus, *Clin. Cosmet. Investig. Dermatol.*, **6**, 43 (2013).
8. K. K. Hong, H. R. Cho, W. C. Ju, Y. Cho, and N. I. Kim, A study on altered expression of serine palmitoyltransferase and ceramidase in psoriatic skin lesion, *J. Korean Med. Sci.*, **22**(5), 862 (2007).
9. W. M. Holleran, K. R. Feingold, M. Q. Man, W. N. Gao, J. M. Lee, and P. M. Elias, Regulation of epidermal sphingolipid synthesis by permeability barrier function, *J. Lipid Res.*, **32**(7), 1151 (1991).
10. P. W. Wertz, D. T. Downing, R. K. Freinkel, and T. N. Traczyk, Sphingolipids of the stratum corneum and lamellar granules of fetal rat epidermis, *J. Invest. Dermatol.*, **83**(3), 193 (1984).
11. W. M. Holleran, M. Mao-Qiang, W. N. Gao, G. K. Menon, P. M. Elias, and K. R. Feingold, Sphingolipids are required for mammalian barrier function: inhibition of sphingolipid synthesis delays barrier recovery after acute perturbation, *J. Clin. Invest.*, **88**(4), 1338 (1991).
12. S. Stachowitz, F. Alessandrini, D. Abeck, J. Ring, and H. Behrendt, Permeability barrier disruption increases the level of serine palmitoyltransferase in human epidermis, *J. Invest. Dermatol.*, **119**(5), 1048 (2002).

13. S. A. Anoja, J. A. Wu, and C. S. Yuan, Ginseng pharmacology: multiple constituents and multiple actions, *Biochem. Pharmacol.*, **58**(11), 1685 (1999).
14. M. S. Blois, Antioxidant determinations by the use of a stable free radical, *Nature*, **181**, 1199 (1958).
15. K. Hanada, Serine palmitoyltransferase, a key enzyme of sphingolipid metabolism, *Biochim. Biophys. Acta*, **1632**(1), 16 (2003).
16. H. Farwanah, K. Raith, R. H. H. Neubert, and J. Wohlrab, Ceramide profiles of the uninvolved skin in atopic dermatitis and psoriasis are comparable to those of healthy skin, *Arch. Dermatol. Res.*, **296**(11), 514 (2005).
17. M. A. Lee and J. H. Ham, Stratum corneum ceramides and free amino acids in the lesion of scaly hand eczema, *Kor. J. Dermatol.*, **38**(7), 893 (2000).