



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

2008年 2月

博士學位 論文

*UVB*에 손상된 생쥐의 피부에
미치는 자초 (*Lithospermum*
erythrorhizon) 추출물의 효과

朝鮮大學校 大學院

生物學科

宋 善 英

*UVB*에 손상된 생쥐의 피부에
미치는 자초 (*Lithospermum
erythrorhizon*) 추출물의 효과

*The Effects of Lithospermum erythrorhizon Extracts
on UVB-Damaged Mouse Skin*

朝鮮大學校 大學院

生物學科

宋 善 英

UVB에 손상된 생쥐의 피부에
미치는 자초 (*Lithospermum
erythrorhizon*) 추출물의 효과

指導教授 盧 永 福

이 論文을 理學 博士學位申請 論文으로 제출함

2007年 10月

朝鮮大學校 大學院

生物學科

宋 善 英

宋善英의 博士學位論文을 認准함

委員長 朝鮮大學校 教授 _____

委員 朝鮮大學校 教授 _____

委員 朝鮮大學校 教授 _____

委員 朝鮮大學校 教授 _____

委員 朝鮮大學校 教授 _____

2007年 12月

朝鮮大學校 大學院

목 차

ABSTRACT	vii
I. 서 론	1
II. 재료 및 방법	15
A. 실험재료	15
1. 시약	15
2. 실험동물	15
3. 자초 추출방법 및 에멀전 제조	16
B. 실험방법	19
1. 실험동물의 구분	19
2. 자외선 조사	19
3. 피부 적출	19
4. 경표피수분손실량 (transepidermal water loss: TEWL) 측정	20
5. 멜라닌 양 (Melanin value), 홍반 지수 (Erythema index) 측정	20
6. 항산화 효소의 활성 측정	21
a. 피부 균질액의 조제	21
b. 피부조직의 단백질 함량 측정	21
c. DPPH법에 의한 항산화 활성 평가	22
d. Superoxidase dismutase (SOD) 활성 측정	22
e. Catalase (CAT) 활성 측정	22
7. 피부의 조직학적 관찰	23
a. 광학현미경적 관찰	23
b. 전자현미경적 관찰	23
(1) 주사전자현미경적 관찰	23
(2) 투과전자현미경적 관찰	23
8. 자료분석	24

III. 연구결과	29
A. 경표피수분손실량 (transepidermal water loss: TEWL)	29
B. 멜라닌 양 (Melanin value)	32
C. 홍반 지수 (Erythema index)	35
D. DPPH법에 의한 항산화 활성 분석 결과	38
E. 항산화 효소의 활성	39
1. SOD 활성	39
2. CAT 활성	42
F. 피부의 조직학적 변화	45
1. 광학현미경적 관찰	45
a. Control	45
b. 24시간군	45
c. 48시간군	45
d. 72시간군	45
e. 120시간	46
f. 168시간군	46
2. 전자현미경적 관찰	49
a. 주사전자현미경적 관찰	49
b. 투과전자현미경적 관찰	57
IV. 고찰	65
V. 결론	78
참 고 문 헌	80

표 목 차

Table 1. Characterization and classification of Ultraviolet.	8
Table 2. Classification of sun-reactive skin types I through VI.	9
Table 3. Powdered matter extracted from the <i>Lithospermum erythrorhizon</i>	17
Table 4. Composition of 0.5% <i>Lithospermum erythrorhizon</i> emulsion.	18
Table 5. Methods of SEM & TEM.	25
Table 6. The changes of transepidermal water loss (TEWL) in repeated 800 mJ/cm ² UVB irradiation group and the group with treated 0.5% <i>Lithospermum erythrorhizon</i> emulsion after UVB irradiation (800 mJ/cm ²).	30
Table 7. The changes of melanin value in repeated 800 mJ/cm ² UVB irradiation group and the group with treated 0.5% <i>Lithospermum erythrorhizon</i> emulsion after UVB irradiation (800 mJ/cm ²).	33
Table 8. The changes of erythema index in repeated 800 mJ/cm ² UVB irradiation group and the group with treated 0.5% <i>Lithospermum</i> <i>erythrorhizon</i> emulsion after UVB irradiation (800 mJ/cm ²).	36
Table 9. Comparison of DPPH radical scavenging activity of ethanol extract from <i>Lithospermum erythrorhizon</i>	38
Table 10. Effects of 800 mJ/cm ² UVB irradiation group and the group with treated 0.5% <i>Lithospermum erythrorhizon</i> emulsion after UVB irradiation (800 mJ/cm ²) on epidermal SOD activities.	40
Table 11. Effects of 800 mJ/cm ² UVB irradiation group and the group with treated 0.5% <i>Lithospermum erythrorhizon</i> emulsion after UVB irradiation (800 mJ/cm ²) on epidermal CAT activities.	43

도 목 차

Figure 1. Structure of skin.	1
Figure 2. The formation of lipid bilayer on human epidermis.	3
Figure 3. <i>Lithospermum erythrorhizon</i>	11
Figure 4. The changes of transepidermal water loss (TEWL) in repeated 800 mJ/cm ² UVB irradiation group and the group with treated 0.5% <i>Lithospermum erythrorhizon</i> emulsion after UVB irradiation (800mJ/cm ²).	31
Figure 5. The changes of melanin value in repeated 800 mJ/cm ² UVB irradiation group and the group with treated 0.5% <i>Lithospermum</i> <i>erythrorhizon</i> emulsion after UVB irradiation (800mJ/cm ²).	34
Figure 6. The changes of erythema index in repeated 800 mJ/cm ² UVB irradiation group and the group with treated 0.5% <i>Lithospermum</i> <i>erythrorhizon</i> emulsion after UVB irradiation (800 mJ/cm ²).	37
Figure 7. Effects of 800 mJ/cm ² UVB irradiation group and the group with treated 0.5% <i>Lithospermum erythrorhizon</i> emulsion after UVB irradiation (800 mJ/cm ²) on epidermal SOD activities.	41
Figure 8. Effects of 800 mJ/cm ² UVB irradiation group and the group with treated 0.5% <i>Lithospermum erythrorhizon</i> emulsion after UVB irradiation (800 mJ/cm ²) on epidermal CAT activities.	44
Figure 9. A light micrograph of mouse skin. H-E stain, × 200. E:epidermis.	47
A: Control group.	
B: UVB irradiation 24 hrs. Sunburn cell, inflammation lesion(↓).	
C: UVB + <i>Le</i> group 24 hrs. Inflammation lesion(↓).	
D: UVB irradiation 48 hrs. Sunburn cell(↓).	
E: UVB + <i>Le</i> group 48 hrs. Epidermis was proliferation (↑).	

Figure 10. A light micrograph of mose skin. H-E stain, × 200. E: epidermis.

..... 48

A. UVB group 72 hrs. Epidermis was proliferation (↑).

B. UVB + *Le* group 72 hrs. Epidermis was proliferation (↑).

C: UVB group 120 hrs. Epidermis was inhibited proliferation (↑).

D: UVB + *Le* group 120 hrs. Epidermis was proliferation (↑).

E: UVB group 168 hrs. Epidermis was proliferation (↑).

F: UVB + *Le* group 168 hrs. Epidermis was inhibited roliferation(↑).

Figure 11. A scanning electron micrograph of skin surface from control

group. × 1,500. 51

Figure 12. A scanning electron micrograph of skin surface from 24 hrs

group. × 1,500. A: UVB group, B: UVB + *Le* group. 52

Figure 13. A scanning electron micrograph of skin surface from 48 hrs

group. × 1,500. A: UVB group, B: UVB + *Le* group. 53

Figure 14. A scanning electron micrograph of skin surface from 72 hrs

group. × 1,500. A: UVB group, B: UVB + *Le* group. 54

Figure 15. A scanning electron micrograph of skin surface from 120 hrs

group. × 1,500. A: UVB group, B: UVB + *Le* group. 55

Figure 16. A scanning electron micrograph of skin surface from 168 hrs

group. × 1,500. A: UVB group, B: UVB + *Le* group. 56

Figure 17. 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 , × 16,000. 59

Figure 18. A transmission electron micrograph of skin from 24 hrs group.

A: UVB group, × 28,000. B: UVB + *Le* group, × 28,000. SC:Stratum

corneum, SG:Stratum granulosum, LS:Lamellar stack.	60
Figure 19. A transmission electron micrograph of skin from 48 hrs group.	
A: UVB group, × 28,000. Lipid bilayer are impaired, fragmented or partially absent. Lamellar body “roll up” (★). B: UVB + <i>Le</i> group, × 16,000. Formation and secretion of new lamellar bodies.	
SC:Stratum corneum, SG:Stratum granulosum, LB:Lamellar body, d:desmosome, G:Granulosum.	61
Figure 20. A transmission electron micrograph of skin from 72 hrs group.	
A: UVB group, × 28,000. Reflecting a lack of secretion of lamellar body contents(★). B: UVB + <i>Le</i> group, × 20,000. d:desmosome. ...	62
Figure 21. A transmission electron micrograph of skin from 120 hr group.	
A: UVB group, × 8,800. Lamellar bodies were empty(★). B: UVB + <i>Le</i> group, × 16,000. Return to lipid to SC. SC:Stratum corneum, SG:Stratum granulosum, Tf: Tonofilament.	63
Figure 22. A transmission electron micrograph of skin from 168 hr group.	
A: UVB group, × 20,000. B: UVB + <i>Le</i> group, × 5,300.	64

ABSTRACT

The Effects of Lithospermum erythrorhizon Extracts on UVB-Damaged Mouse Skin

Song Seon-Young

Advisor : Prof. Roh, Young-Bok Ph.D.

Department of Biology,

Graduate school, Chosun University

This study was intended to identify the effectiveness of *Lithospermum erythrorhizon* in the UVB-damaged mouse skin. The C57BL mice that weighted about 18 g were divided into three groups; the control group (A group), the UVB irradiated group (B group), and the group treated with 0.5% *Lithospermum erythrorhizon* emulsion after UVB irradiation (C group). *Lithospermum erythrorhizon* was massaged on finger the shaved skin for 3~5 second. 10 mice were collected and sacrificed at 24 hrs, 48 hrs, 72 hrs, 120 hrs, and 168 hrs, respectively. The values of the transepidermal water loss (TEWL) were observed by Tewameter TM 300 (Courage + Khazaka electronic GmbH, Germany), melanin values and erythema index by Mexameter MX 18 (Courage + Khazaka electronic GmbH, Germany). The morphological changes of the skin tissues were observed by the light micrograph (ZEISS, Germany), the scanning electron micrograph (Hitachi S-4800, Japan), the transmission electron micrograph (JEOL, 2000 FX-II 형, Japan). The superoxidase dismutase (SOD) activity were observed by the Beauchamp and Fridovin's method and the catalase (CAT) activity by the Aebi's method.

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

In the result of melanin value, the C group was decreased than B group, but meaningless ($p > 0.05$).

In the result of erythema index, the C group was meaningfully lower at 24 hrs, 48 hrs, and 72 hrs group than B group ($p < 0.05$).

In the results of SOD activities, the C group was meaningfully lower at the 48 hrs, 120 hrs, and 168 hrs group than B group ($p < 0.05$).

In the result of CAT activities, the C group was decreased at the 120 hrs and 168 hrs group, but meaningless ($p > 0.05$).

In the result of light micrograph observation, the B group observed sunburn cells in the epidermis and acute inflammation in the dermis at the 24 hrs and 48 hrs. And proliferation of the epidermis and the stratum granulosum, and found the hyperkeratosis at the 72 hrs, 120 hrs, and 168 hrs group than C group. The C group alleviated inflammation in the dermis than B group at the 24 hrs and 48 hrs. And inhibited the proliferation of the epidermis at the 72 hrs, 120 hrs, and 168 hrs groups than B group.

In the result of scanning electron micrograph observation, the B group was swelling in epidermis surface at the 24 hrs, seemingly dry skin surface at the 48 hours, irregular plate shape and fine wrinkles at the 72 hrs, founded scab at the 120 hours, and the overlapped surface with the irregular plate shape without any fine wrinkle at the 168 hrs. The C group was alleviated swelling than B 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 B group was disruption of lipid layer and increased lamellar bodies at the 24 hrs, exocytosis of lamellar bodies at the 48 hrs, increased lamellar bodies at the 72 hrs, formation new lamellar bodies at the 120 hrs and 168 hrs. The C group was facilitation of increased lamellar bodies and reformation lamellar bodies than B group at the all groups. Almost all the structures were recovered at the 168 hrs group.

The results of all the tested after UVB irradiation were better the C group than B group.

As shown in this study, therefore, the application of the *Lithospermum erythrorhizon* treatment to the UVB-damaged skin can be effective in treatment for the damaged skin from the viewpoint of national health care or alternative medicine.

I. 서론

피부는 바깥으로부터 표피층, 진피층, 피하조직으로 구성되어 있으며 (Fig. 1), 외부의 환경과 항상 접하고 있는 기관으로 주된 기능은 화학물질이나 자외선을 포함한 외부 환경오염 물질, 미생물의 침입 및 수분손실을 막는 보호장벽의 역할이다. 또한 땀의 분비를 통해 체온조절과 노폐물 배설뿐만 아니라 체액의 손실을 막아주고 비타민 D 합성에도 관여한다 (함, 1992; 대한피부과학회, 1994; 윤, 1994; Feingold, 1997; Leyden *et al.*, 2002).

피부의 가장 바깥에 위치하여 외계와 접촉하고 있는 각질층은 비록 세포가 죽어 있는 상태이지만 피부의 장벽의 기능의 중요한 역할을 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 역할을 한다 (Rawlings *et al.*, 1994; 안 등, 1998; Bouwstra *et al.*, 2000; Zhai *et al.*, 2002; 이 등, 2004).

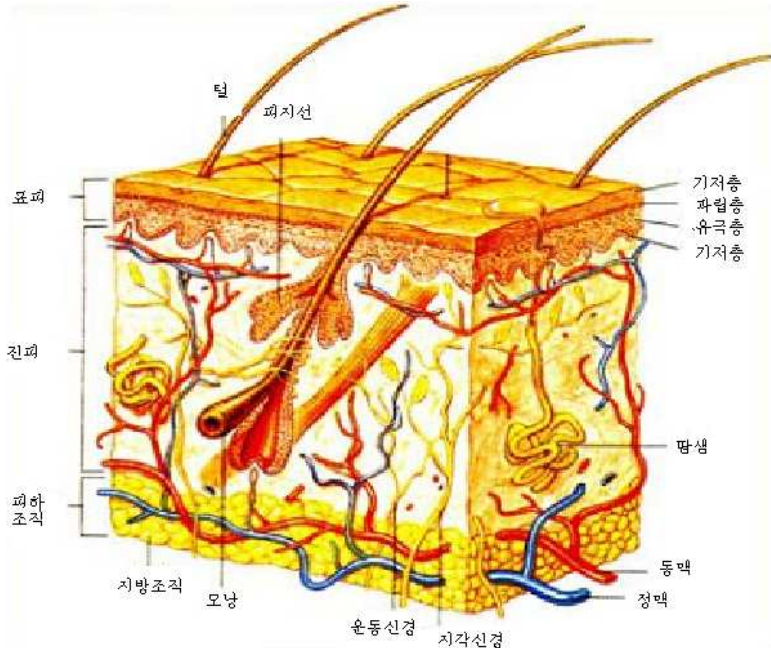


Fig. 1. Structure of skin (대한피부과학회, 1994)

건강한 피부는 표면이 매끄럽고 윤기가 있으며 탄력과 부드럽고 촉촉한 느낌이 있는 것을 의미하며 피부의 탄력성이나 부드럽고 촉촉한 느낌은 피부의 가장 외측인 각질층에 존재하는 수분에 의해 유지되며 건강한 표피의 각질층은 15~20%의 수분을 함유하고 있다 (현 등, 1991; 강 등, 1993; 대한피부과학회, 1994).

각질층의 수분 함량은 표피에서 생성 분비되는 지질 혼합체인 피지막과 각질층 내에 존재하는 수용성 성분인 자연보습인자 (NMF: Natural Moisturizing Factor)에 의해 결정된다 (Rawlings *et al.*, 1994). 자연보습인자는 아미노산, pyrrolidine carboxylic acid (PCA), uronic acid (UCA), lactase, 요소, Na, Ca, K, Mg, phosphate, chloride, 암모니아, 요산, glucosamine 및 creatine의 혼합체로서 각질층의 탄력 유지 및 기능을 증가시키는 작용을 하고 하부 각질세포사이에서 매우 큰 삼투압을 형성하는 기능을 한다. 기후, 계절, 자외선 등의 환경적 요인 및 유전, 노화, 호르몬, 면역, 스트레스, 영양상태 등의 내인성 인자들의 변화에 의해 피지막과 자연보습인자의 생성이 감소하면 표피의 수분손실량 (transepidermal water loss : TEWL)이 증가하여 피부가 건조해지고 표면이 메마르며 꺼칠꺼칠하여 각질이 일어난다 (Potts *et al.*, 1984; 이, 1988; Rawlings *et al.*, 1994).

표피의 피지막은 세라마이드, 콜레스테롤 등의 지질혼합체와 이 지질들은 표피의 대표적인 불포화지방산인 linolic acid, arachidonic acid, γ -linolic acid와 결합되어 정상적인 intracellular lamella 구조를 유지하며 피부 표면을 덮어 수분이 방출되는 것을 막는다 (Feingold, 1997; Leyden *et al.*, 2002).

각질층은 약 40%의 단백질, 40%의 수분 그리고 10~20%의 지질로 구성되는데, 그 구조는 단백질이 풍부한 각질세포와 그 사이를 채우고 있는 지질로 이루어지며 이중 특히 지질은 장벽의 주된 역할을 담당한다 (Elias *et al.*, 1977).

각질세포간 지질은 표피내 과립층의 층판소체 (lamellar body)에서 유래하며 층판소체 내의 지질성분은 각질세포간 지질의 전구체 형태인 인지질 (phospholipids), 스피נג고마이엘린 (sphingomyeline), 콜레스테롤 설페이트 (cholesterol sulfite), 글루코실세라마이드 (glucosylceramide), 아실글루코실세라마이드 (acylglucosylceramide) 등이다 (Yardley *et al.*, 1990; Bouwstra *et al.*, 2000). 이들은 각질형성세포가 분화되는 마지막 단계에서 세포외유출 (exocytosis) 과정을 거쳐 과립층과 각질층 경계

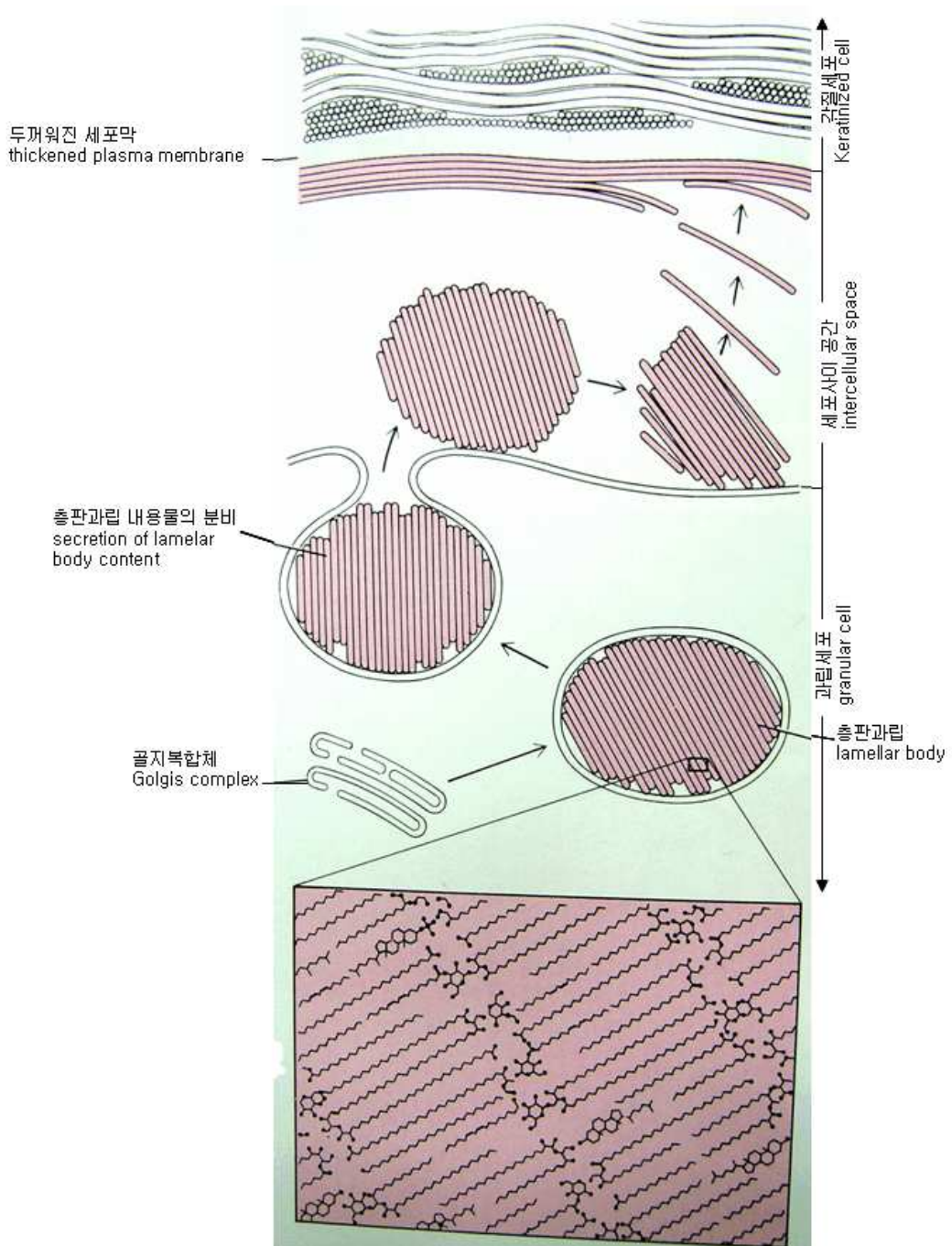


Fig. 2. The formation of lipid bilayer on human epidermis (강 등, 1993)

부위에 배출 된다 (Fig. 2. Feingold, 1977; Elias *et al*, 1998; 이 등, 2004) 이러한 유출단계에서 각 지질의 전구체가 층판소체 내부의 효소에 의한 작용과 세포외 변환 (extracellular processing) 과정을 거쳐 각질세포간 지질 성분인 세라마이드, 콜레스테롤 및 자유지방산 등으로 변환되어 피부장벽대 (skin barrier) 가 형성되며 이는 다중 지질이중막의 구조를 이룬다 (Landmann, 1986; Hou *et al*, 1991; 강호석 등, 1993; Leyden *et al*, 2002). 이 중의 세라마이드는 피부의 수분 보유와 투과장벽기능의 중요한 역할을 한다 (Mao-Qiang *et al*, 1993; Ohnishi *et al*, 1999; Leyden *et al*, 2002; 권, 2005). 세라마이드는 단백질 및 인지질의 분해 과정에서 제공되는 serine과 palmitol-CoA의 합성에 의해 생성되며 sphingosine metabolism 을 거친 후 최종적으로 ceramidase에 의해 분해된다 (Long *et al*, 1985; Denda *et al*, 1994; Bouwstra *et al*, 1999; Raith *et al*, 2004; Tsuji *et al*, 2006). 아토피 피부염, 건선, 가려움과 같은 피부 질환에서 세라마이드의 감소가 보고되고 있다 (Fulmer *et al*, 1986; Denda *et al*, 1994; Rawlings *et al*, 1994; Ghadially *et al*, 1995; Loden, 2003; 보건복지부, 2006). 따라서 피부 표면 지질 중 각질 세포간 지질은 피부투과장벽의 생성과 유지에 있어 중요한 기능을 담당하며, 피부를 통한 체액과 전해질의 과도한 손실을 억제함으로써 표피의 건조를 막고, 표피가 정상적인 생화학적 대사를 할 수 있는 환경을 제공하며, 외부의 물리적 손상과 화학물질로부터 인체를 보호하고, 세균, 곰팡이, 바이러스 등이 피부로 침범하는 것을 방지하는 역할을 한다 (Bommanna *et al*, 1990). 또한, 외부물질의 흡수와 투과를 제어하는 장벽 기능에서 중요한 역할을 수행한다 (Potts *et al*, 1991). 또한 장벽 기능 외에도 각질층 내의 각질세포의 결합과 정상적인 탈락 과정에도 관여한다 (Landmann, 1986; Wertz *et al*, 1989; Rawlings *et al*, 1994; 이 등, 1999; 이 등, 2004).

각질층의 피부장벽 기능을 조사하는 방법으로는 기능적 검사, 형태학적 검사, 물리적 검사, 생화학적 검사, 분자생물학적 검사 등이 있다. 이중 널리 쓰이고 있는 검사는 기능적 검사로 경표피수분손실량(transepidermal water loss : TEWL), transcutaneous oxygen tention, 피부 혈류 등을 측정하는 방법 등이 있으며 경표피수분손실량 측정이 가장 손쉽고 흔하게 쓰이고 있다 (Van der Valk *et al*, 1984; Pinnagoda *et al*, 1990; 이 등, 1999; Zhai *et al*, 2002; 이 등, 2004).

경표피수분손실량이란 피부표면에서 증발되는 수분량을 나타낸다. 피부를 통한 수분의 손실은 두가지 경로, 즉 땀과 표피를 통한 증발로 이루어지며 이중 표피를 통한 수분의 증발은 각질층을 통한 수동확산 (passive diffuse) 으로 나타난다. 경표피수분손실량의 측정은 비침습적이며 간편하게 피부 장벽 기능을 측정할 수 있는 장점이 있어 널리 이용되고 있으나 온도, 습도, 피부 표면 등 여러 가지 인자에 의해 영향을 받는 문제점도 있다 (Pinnagoda *et al.*, 1990; 민, 1996; 원 등, 1999; 이 등, 2004).

인체의 경표피수분손실량은 나이가 들에 따라 큰 변화는 없으나 원 등 (1999)은 연령 및 성별에 따른 경표피수분손실량을 측정한 결과 청년층보다 노년층에서 경표피수분손실량이 낮다라고 보고하였고, Ghadially 등 (1995)의 보고에서도 동일한 결과를 보고하였다. Levequ 등 (1984)은 60세 이후에 경표피수분손실량이 의의있게 감소되는 것은 고령에서 표피가 위축되고 이로 인해 표피 수분 함량이 저하되면서 표피를 통한 수분의 발산량이 저하되기 때문이라고 보고하였다. 또한 인체부위에 따라 경표피수분손실량은 현저한 차이가 있다. 즉 손바닥이 가장 높으며 이마 > 커뒤 > 등 > 팔, 배의 순이다 (Pinnagoda *et al.*, 1990; 원 등, 1999; 이 등, 2004). 피부장벽대 지질이 여러 가지 용매에 노출되거나 테이프에 의해 일부분에 자극을 일으키는 물질에 노출되면 각질층의 손상과 함께 경표피수분손실량이 증가하게 된다 (Van der valk *et al.*, 1990; 윤 등, 1995; 민 등, 1996; 최 등, 1997; Feingold, 1997; Hildebrandt *et al.*, 1998; 안 등, 1998; 신 등, 2000; 정 등, 2002; 이 등, 2004; 박 등, 2005; 안 등, 2007).

피부장벽이 급격히 손상되면 즉각적인 회복과정이 시작되는데, 초기 단계의 회복은 과립층 내에서 기존에 만들어져 있는 층판소체의 분비, 콜레스테롤과 자유지방산 합성의 증가, 새로운 층판소체의 형성과 분비의 과정으로 일어난다 (Feingold, 1997; 이 등, 1999; 이 등, 2004; 김, 2006; 민, 2007). 무모생쥐에서 아세톤과 같은 비극성 용매를 사용한 경우, 장벽과피 직후의 초기단계 (장벽손상 직후~30분)에는 경표피수분손실의 회복이 거의 나타나지 않으며(10% 이하), 중간 단계 (3~6시간)는 급격한 회복 (60~70%)을 나타내고, 후기 단계 (6~24시간)에는 다시 완전한 회복률을 나타내며, 피부장벽 손상 후 약 24시간 후에는 85~98% 회복률을

보인다 (이 등, 1999; 박 등, 2000; 이 등, 2004; 이, 2005; 김 등, 2006; 안 등, 2007). 사람의 경우 전체적으로 유사한 경향성을 나타내지만, 회복속도는 비교적 느다. 즉 손상 후 6시간 뒤에 50~60% 회복률을 보이며, 완전히 회복되는 데에는 5~6일이 소요된다 (Ghadially *et al.*, 1992; 신 등, 2000; 조 등, 2006).

자외선은 피부표면에 있는 균을 죽이는 살균작용은 물론 갈슘의 신진대사를 통해 뼈를 만드는데 필요한 비타민D 합성을 촉진하는 역할을 한다. 또한, 자외선 B (290 nm ~ 320 nm)를 이용한 건선 치료, 자외선 A (320 nm ~ 400 nm)와 Psoralen을 함께 사용하는 광화학치료 (PUVA)는 심한 건선, 백반증, 균상 식육증 등의 치료에 적용되고 있다 (함, 1992; 윤, 1994; 임 등, 2001; 최와 이, 2003; 박 등, 2004; 정 등, 2005). 그러나 피부가 자외선에 과도하게 노출되게 되면 피부의 물리적 생화학적 성상의 변화를 초래하여 홍반의 발생, 상피세포의 증식, 과색소 침착, DNA 손상, 각종 효소와 단백질의 활성 혹은 비활성, 활성산소종 (reactive oxygen species: ROS)의 형성 등이 있다 (Picardo *et al.*, 1991; Takahashi *et al.*, 2007). 또한 광 독성, 광 알러지를 일으키는 급성 유해자극반응과 광노화 (photoaging)를 촉진하거나 피부암을 유발하는 만성반응으로 나뉘어 진다 (함, 1992; 윤, 1994; 신 등, 1996; 임 등, 1998).

자외선은 태양광선 중 방사량이 5%에 불과하나 피부에 물리적 생화학적 성상의 변화를 초래하는 가장 유해한 환경인자의 하나로 알려져 있다, 과장의 길이에 따라 자외선 A (Ultraviolet A; UVA, 320 nm ~ 400 nm), 중간과장인 자외선 B (UVB, 290nm ~ 340 nm) 및 가장 짧은 과장인 자외선 C (UVC, 200 nm ~ 290 nm)로 나누어지며 그중 자외선 A와 B가 지상에 도달되어 사람의 피부에 영향을 미치게 된다 (최, 1997). 특히 UVB는 주로 일광화상세포와 같은 표피에 변화를 일으킨다. 급성노출시 피부홍반, 열, 부종, 통증, 그리고 소양증이 일어난 후 피부에 색소침착이 일어나고 (김 등, 1994; 임 등, 2006; 이 등, 2006) 표피가 비후되는 현상이 나타나며 만성적으로 노출되면 피부의 노화와 육종형성을 유발한다 (Rhodes *et al.*, 1991; 함, 1992; 윤, 1994, 최 등, 1996; 조 등, 2003; Johanna *et al.*, 2004)). 홍반 반응은 피부가 자외선에 일정기간 노출되었을 때 붉게 되는 현상으로 일시적으로 나타났다가 없어지는 즉시형 (immediate phase)과 자외선 조사 후 30분에서 4~5시

간 후까지 나타났다가 1~2일 정도 지속되는 지연형 (delayed phase)으로 나타난다 (임 등, 2006). 이는 4~6시간의 잠복기를 거친 다음에 자외선을 흡수한 각질형성세포에서 분비되는 혈관확장물질 (프로스타글란딘, 히스타민, 세로토닌, 인터루킨) 등에 의해 유도된 염증반응에 의해 국소적인 통증과 부종이 나타나며 그 부위가 심해지면 오한과 발열 같은 전신 증상으로 이어지는 일광화상 (sunburn)으로 발전된다 (정 등, 1988; 윤 등, 1990; 윤 등, 1992; 함, 1992; 윤, 1994; 김, 1996; 소, 2004; 임 등, 2006).

자외선 A (UVA, 320 nm ~ 400 nm)는 긴 파장의 광선으로 에너지는 약하지만 유리를 통과할 수 있으며 피부의 진피 망상층까지 깊게 침투하고 피부에 색소침착을 일으키며, 콜라겐과 엘라스틴을 변형시켜 탄력을 감소시킴으로써 피부노화를 유발하고, 광과민성 피부병의 발병에 관여한다. 자외선이 피부에 도달하는 경우 자외선 B의 대부분이 표피에서 흡수되는데 비해 자외선 A는 진피층 깊숙이 침입하므로 장시간 노출 시 피부의 탄력이 소실되는 원인이 될 수 있다 (Table 1). 이러한 자외선이 최근 환경오염으로 인한 오존층의 감소로 자외선 조사량이 늘어나고, 수명의 연장과 야외 여가활동의 증가로 인해 노출 또한 늘어 자외선으로 인한 피부 손상이 증가될 것으로 예상되고 있다.

Fitzpatrick (1988)은 자외선에 반응하는 피부의 특성에 따라 광 피부유형 (phototype)을 6단계로 분류하였다. 이 분류 기준은 설문에 의해 평소 일광의 조사를 받은 후 피부가 반응하는 양태를 홍반의 발생과 피부 색소침착의 발생양태에 따라 개인의 태양 감수성을 나타내는데 유용하긴 하지만, 주관적인 판단에 의한 것이므로 절대적인 것은 아니다. Fitzpatrick의 분류에 따른 최소 홍반량은 '식품의약품안전청고시 제 2001-64호, 화장품법 제4조 및 같은 법 시행규칙 제6조의 규정에 의한 자외선차단효과측정방법 및 기준'에 나타나 있다 (Table 2). 그러나 광 피부유형을 결정하는 것은 실제 매우 복잡하며 일반적으로 우리나라 사람은 거의 피부유형 II ~ V에 해당한다고 볼 수 있다. 윤 (1999)에 의하면 한국인의 경우 III형이 48.8%로 가장 많으며 III, IV, V형이 88.8%를 차지한다고 보고하였으며, 소 (2004)의 연구에서는 한국인 360명을 대상으로 한 멜라닌 지수표의 통계자료에서 III, IV, V형이 93.7%로 나타났다.

Table 1. Characterization and classification of Ultraviolet (윤, 1994; 윤, 1995; 안, 2003).

구분	UVA	UVB	UVC
wavelength	320~400 nm	290~320 nm	200~290 nm
홍반유발정도	약	강	강
발현시기	4~6시간	2~6 시간	0.5~1.5 시간
최고반응	10~12 시간	24~36시간	6~8 시간
반응기간	24~120시간	72~120시간	12~36시간
즉시색소침착	강	약	무
색소유발정도	중	강	약
일광화상세포 생성	미약	강	강

Table 2. Classification of sun-reactive skin types I through VI (Fitzpatrick, 1988; Olson et al, 1973).

Photo type	Description	평균최소홍반량 (MED, mJ/cm ²)	Average Melanin content
I	Celtic type; 항상 쉽게(매우 심하게) 붉어지고, 거의 검게 되지 않는다. 피부가 쉽게 벗겨진다.	2~30	0~49
II	Caucasian type; 쉽게(심하게) 붉어지고, 약간 검게 된다. 피부가 벗겨진다.	25~35	50~99
III	European mixed type; 보통으로 붉어지고 중간정도로 검 게 된다.	35~50	100~149
IV	Mediterranean type; 그다지 붉어지지 않고 쉽게 검어 진다.	45~60	150~199
V	Asian/Indian type; 거의 붉게 되지 않고 매우 검게 된다.	60~80	200~299
VI	Black skin type; 전혀 붉게 되지 않고, 매우 검게 된다.	80~200	300~999

오존층의 파괴로 인한 환경 변화에 의해서 지표에 도달하는 자외선의 양은 점점 증가하고 있다. 피부는 신체의 제일 바깥층에 위치하기 때문에 이 자외선의 영향을 받기 쉬운 기관이다. 피부에 대한 자외선의 작용으로 피부에서는 free radical인 활성산소종이 생성된다. 피부가 계속적으로 자외선에 노출되게 되면 과잉의 활성산소가 생성되고 이들 활성산소종들은 피부 항산화방어계를 붕괴시키고 이어서 피부세포 및 조직 손상 그리고 세포사멸을 초래, 피부 광노화가 촉진되어 색소침착, 즉, 기미 등이 생성되기도 한다. 또한 최근 노화와 성인병의 질환의 원인이 생체 내에서 발생하는 하이드록실라디칼 ($\cdot\text{OH}$), 슈퍼옥사이드라디칼 (O_2^-), 과산화수소 (H_2O_2) 등과 같은 활성산소종 (reactive oxygen species)에 의한 산화적 대사 부산물이 중요한 원인이 된다는 학설이 있으며 (Wiseman, 1996) 또한 활성산소종이 단백질, 생체막, DNA 등에 유해한 작용을 하게 됨에 따라 활성산소종을 조절할 수 있는 물질로 알려진 항산화제에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다 (Chang *et al.*, 1977; 이 등, 2001). 활성산소종을 제거하는 생체내 항산화 물질로는 superoxidase dismutase, peroxidase, catalase, glutathione peroxidase 등의 항산화효소와 tocopherol, ascorvate, carotenoid, flavonoid 등의 많은 종류의 저분자 항산화물질이 있으며 이에 대한 많은 연구가 이루어지고 있으며 (Hammerschmidt & Pratt, 1977; Kitahara *et al.*, 1992; 이 등, 2001; 김, 2004) Butylated hydroxytoluene(BHT), Butylated hydroxyanisole(BHA), Troxol C 등의 합성 항산화제들이 독자적인 작용이나 다른 작용을 보조하는 과정을 통해 활성 산소로부터 생체를 보호하는 작용을 한다 (박 등, 2007).

최근에는 다양한 분야에서 자외선에 의한 피부손상 및 광노화를 예방하거나 치료할 수 있는 물질을 개발하려는 노력이 진행되고 있으며 여러 가지 환경요인으로 피부질환이 많이 발생하고 있다. 특히 피부장벽 파괴로 인한 아토피환자들이 많이 발생함에 따라 개선을 위한 다양한 연구가 진행되는 가운데 자초추출물을 이용한 연구가 진행되고 있다.



Fig. 3. *Lithospermum erythrorhizon*
A. Flower B. Root

자초 (생약명: 자초(紫草), 자단(紫丹); 학명: *Lithospermum erythrorhizon* S. et Z.)는 지초(芝草), 자근(紫根), 자지(紫芝), 지치, 자경, 자초자, 자근주치 등의 여러 이름으로 불리우는 여러해살이 풀 (Cho *et al.*, 1999)로 우리나라 전역에 야생하고 있으며 높이 30~70 cm로 잎과 줄기 전체에 흰빛의 거친 털이 뽁뽁하게 나 있으며 잎은 잎자루가 없는 피침꼴로 돌려나기로 난다. 줄기는 연한 녹색이고 잎은 진한 녹색이며 꽃은 5~6월에 피기 시작하여 7~8월까지 계속 핀다. 꽃은 흰빛이며 작아서 거의 볼 수 없다. 꽃이 지고 난 뒤에 둥글고 하얀 씨앗이 달린다 (안, 1985; 이, 2005; 최, 2006).

뿌리가 진자주빛을 띠기 때문에 자초라는 이름이 붙은 자초는 노란색과 빨간색 물감을 얻는 홍화, 파란색 물감을 얻는 쪽과 더불어 옛날부터 우리 선조들이 적자색의 물감으로 요긴하게 이용해 왔으며 이것이 일본에까지 전파되었다. 또한 자초의 뿌리는 약으로 사용되는데 재배종은 염료로 사용하고 약재로는 야생종을 쓴다 (이, 2005; 최, 2006). 한방에서 양혈(涼血), 활혈, 해독제로 홍역의 예방, 토혈, 하혈, 황달, 변비 등에 처방 배합되며, 외용으로는 뿌리를 짓이겨서 습진, 화상, 동상 등의 치료에 사용한다. 자초는 암치료에도 사용하는데 강한 거약생신작용과 소염, 살균작용으로 암세포를 녹여 없애고 새살이 돌아 나오게 한다고 알려져 있다 (김과 안, 1990; 윤 등, 1993; 황, 1995). 술로 담가서 늘 마시면 남성의 기를 좋아지게 하고, 살을 빼는 데도 효과가 좋다고 하여 오래 전부터 진도지방에서는 도지정무형문 화재 제 26호인 ‘진도홍주 (자초뿌리로 담근 술)’를 만들어 먹어 왔다 (최, 2006). 또 자초를 참기름 100g, 당귀 10g, 밀랍 38g, 돈지 2.5g 등으로 함께 처방하여 자운고(慈雲膏)라는 피부연고로 사용하여 왔는데 주로 동상, 화상, 탈항, 치질, 습진 등에 효과가 있다고 알려져 있다 (전, 2007).

옛 문헌에 나오는 자초의 약성을 보면 <향약집성방>에는 다음과 같이 쓰여져 있다. “지치는 맛은 쓰고 성질은 차며 독이 없다. 명치 끝에 사기(邪氣)가 있는 것과 다섯가지 황달을 치료하고 비위를 보하며 기운을 돕는다. 또 막힌 것을 잘 통하게 하고 오줌을 잘 나가게 한다. 배가 부은 것, 아픈 것 등도 치료한다. 고약에 섞어 어린아이의 살이 험 데와 얼굴에 난 뽕루지를 치료한다. … 옛날 처방에는 자초를 드물게 썼는데 지금 의사들은 흔히 돌림병을 치료하거나 홍역으로 발진이 잘 돋지 않는

데 이것으로 약을 만들어 쓰고 있다.” <신씨본초학>에 자초는 청열, 해독, 소염제로서 홍역의 예방과 치료 및 두창, 성홍열, 단독, 패혈증, 악창 같은 일체의 급성염증과 화농성 질병에 탁월한 효과가 있고 화상, 동상, 습진에도 쓴다고 적혀 있다.

현재까지 알려진 성분으로는 naphthoquinone pigment로 shikonin (김, 2001; 김 등, 2006), acetylshikonin (윤 등, 1988; 황 등, 2000), isobutylshikonin, isovalerylshikonin 등과 lithospermic acid, polysaccharide로 lithospermum A, B, C 등이 있다 (Yamamoto, 2002). 약리 작용으로는 shikonin에 의한 신진대사의 산화환원반응 조절 및 창상과 화상면의 신생촉진 (민 등, 2005), acetylshikonin과 shikonin에 의한 항염증 작용 (강, 2005)과 창상치유촉진 효과 (황, 2000), shikonin과 그 유도체에 의한 항종양 작용 등 (김과 안, 1990; Hisa *et al.*, 1998; 김안나, 1999; Singh *et al.*, 2003; Staniforth *et al.*, 2004; Hou *et al.*, 2006)이 인정되었으며 lithospermic acid에는 항성선자극호르몬 작용이 있어서 피임효과가 밝혀졌다 (Findley *et al.*, 1985). 이외에도 식중독성을 포함한 미생물에 대한 항균작용 (박 등, 1992; 배, 2004; 김 등, 2006)과 항알러지에 대한 항염효과가 보고되었으며 (민, 1993; 권, 2005; Ishida, 2007)), 비만세포의 탈과립 및 histamine의 유리정도를 억제함으로써 아토피 피부염에도 유효한 효과를 얻어내는 등 다양한 생리활성이 보고되고 있다 (김, 2004; 김, 2006).

또한 자초는 지방산화억제효과가 있어 천연항산화제로 사용이 가능할 것이라 보고되었으며 (김 등, 1999), 지방산화에 안정적으로 작용하며 기호측면에서도 양호하여 식품의 보존제로 활용될 수 있음을 보고하였다 (김, 2006). 최근 아토피 피부 환자를 위한 건강식품 개발 등 다양한 연구가 시도되고 있고 (김, 2004; 보건복지부, 2006), 멜라닌 생합성 억제효과가 있다고 보고되며 (이 등, 2005), 민간에서는 자초의 향균, 항염작용으로 아토피 등 피부트러블에 유효할 것으로 보고 자초추출물을 이용한 천연화장품 및 비누를 만들어 쓰고 있다. 이상의 실험결과와 문헌상의 자료들을 살펴볼 때 자외선으로 인한 피부손상에 대해 유효한 효과뿐만 아니라 여러 가지 원인에 의해 피부장벽이 손상된 경우에도 효과가 있을 것으로 사료된다.

이에 본 연구에서는 제모한 C57BL 마우스 배부에 UVB를 조사하여 피부 손상을 유도한 후 피부에 0.5% 자초추출물 함유 에멀전 (O/W)을 만들어 1회 도포량 약 0.2 g을 하루 2회 도포하여 시간대별로 피부장벽의 변화 및 조직학적 변화와 함께

항산화 효소 활성도를 관찰함으로써 UVB로 인한 피부손상 완화에 대한 자초의 유효성을 알아보았다.

II. 재료 및 방법

A. 실험재료

1. 시약

본 연구에 사용된 시약으로 Sodium Chloride, Sodium Hydroxide, Sodium Phosphate monobasic, dibasic은 Sigma제품 (USA)을, Glutaraldehyde, Osmium Tetroxide (OsO_4), Sodium Cacodylate, Toluidine Blue, Epon 812, DDSA (Dodecanyl Succinic Anhydride), MNA (Methyl Nadic Anhydride), DMP-30 (2,4,6-Tridimethyl Aminomethylphenl), Uranyl Acetate, Lead Citrate, Sodium Citrate는 EMS제품 (Electron Microscopy Sciences, Washington, USA)을, Ethanol, Methanol, Xylene은 Merck제품 (Darmstadt, Germany)을, Propylene Oxide는 Aldrich제품 (Germany)을, Isoamyl Acetate는 Junsei제품 (Tokyo., Japan)을, 자초는 원산지가 충북영천이며 갑당약초 (서울, Korea)에서 구입하였다.

DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical), Standard substance: Ascorbic acid는 Sigma제품 (USA)을, Mecoroplate Reader: 96-well microplate reader or Spectrophotometer를 사용하였으며 기타 시약은 Sigma급에 준하는 제품을 사용하였다.

2. 실험동물

실험동물은 생후 5주령된 외견상 건강한 C57BL 옹성 마우스를 (주)대한바이오링크 (충북, Korea)로부터 구입한 다음 온도 $23 \pm 2^\circ\text{C}$, 습도 $50 \pm 5\%$ 로 최적 환경조건을 유지시킨 실험실의 animal cage (HB-404AS)에서 1주일간 사육한 후 실험에 사용하였다. 먹이는 사료 ((주)수퍼피드, 강원도, Korea), 물은 생수를 제한없이 섭취하게 하였으며, 채광은 12시간 주기로 하였고, 깔짚은 매일 갈아주었다. 실험에 사용한 C57BL 옹성 마우스의 무게는 약 $18.14 \pm 2 \text{ g}$ 이었다.

3. 자초 추출방법 및 에멀전 제조

실험에 이용한 자초는 경북영천이 원산지이며 시중 약재상인 갑당약초 (서울, Korea)에서 구입하였다. 자초 500 g에 3차 증류수를 가하여 냉각기가 부착된 진탕기에서 2시간 동안 100℃로 가열하여 액상을 추출하여 여과지로 여과하였다. 추출된 액상을 G5 glass filter로 filtering하여 Vacuum evaporator (Tokyo Rekakikai co. Ltd., Japan)로 감압 진공 농축한 후 Freeze dryer (Ilshin Lab, Korea)를 이용하여 동결건조하여 extract 49.4 g을 얻었다 (Table 3). 자초추출물 피부도포를 위하여 피부흡수에 있어서 가장 효과적인 O/W 에멀전형태 (김 등, 1991; 최, 2006)로 만들었으며 MTT 측정결과 (김, 2006)에 의해 자초함유 0.5%를 첨가하여 Table 4와 같이 0.5% 자초추출물함유 에멀전을 만들었다.

Table 3. Powdered matter extracted from the *Lithospermum erythrorhizon*.

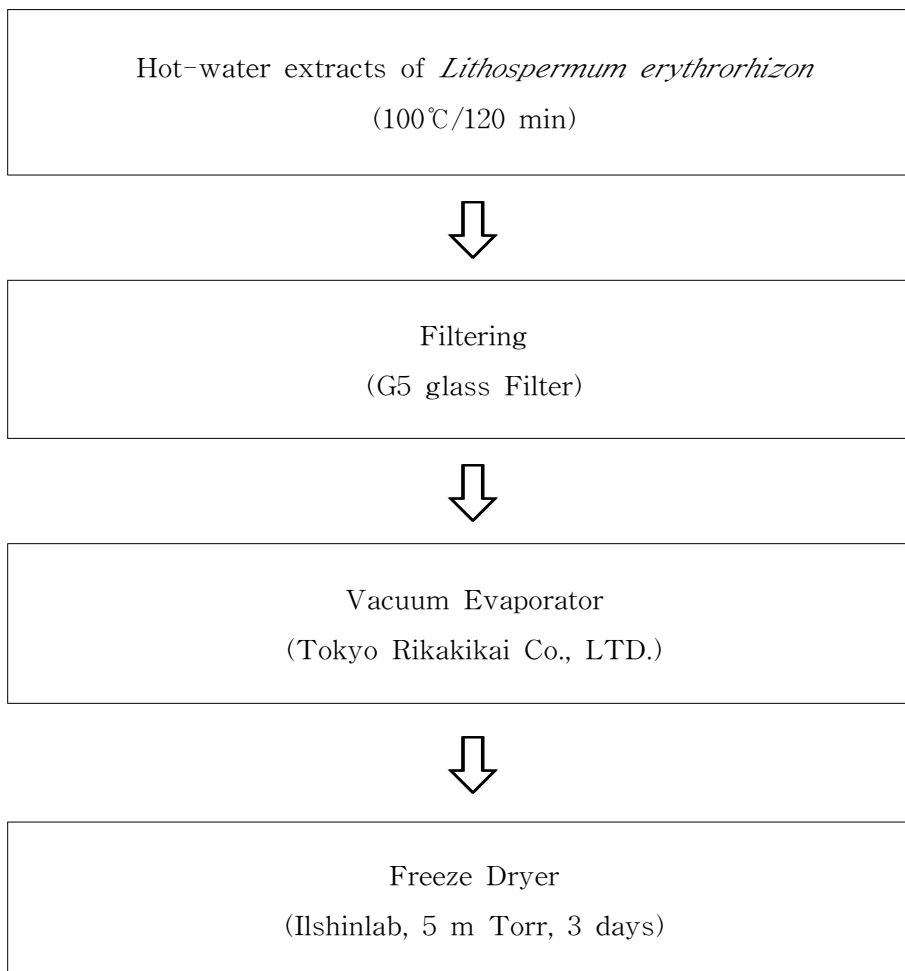


Table 4. Composition of 0.5% *Lithospermum erythrorhizon* emulsion.

Classification	Ingredients	Dose
Oil stratum	Jjoba oil(softener)	10 g
	Avocado oil(softener)	5 g
	Cetostearyl alcohol(thickner)	1.5 g
	Sorbitan olivate(emulsifier)	4.0 g
Water stratum	Distilled water	69 g
	Glycerin(humectant)	7 g
	Grapefruits seed extract concentrate(antiseptic)	1 g
	Sodium hyaluronate(humectant)	1 g
	<i>Lithospermum erythrorhizon</i> extracts	0.5 g
Total dose		100 g

B. 실험방법

1. 실험동물의 구분

실험군은 UVB를 조사 하지 않고 0.5% 자초추출물 함유 에멀전을 도포하지 않은 control군, UVB 조사로 피부손상을 유발한 UVB 조사군, UVB 조사 후 0.5% 자초추출물 함유 에멀전을 도포한 군으로 나눈 다음 24시간, 48시간, 72시간, 120시간, 168시간 경과 군으로 다시 구분하여 각 군당 10마리를 사용하였다.

자초추출물 도포군은 UVB 조사 후 0.5% 자초추출물 함유 에멀전을 오전, 오후 하루 2번 제모된 배부 부위에 약 0.2 g 씩 도포하였다.

2. 자외선 조사

자외선 조사장치의 광원은 302 nm파장의 UVB를 방출하는 lamp (Sankyo denki, Japan)를 사용하였다. 자외선 조사 하루 전 마우스를 제모기 (Oster Model 5-50 Clipper, USA)를 이용하여 배부를 3 cm × 3 cm의 크기로 제모한 후 실험동물을 자체 고안·제작한 자외선 조사용 cage에 가둔 후 제모한 배부에 0.23 mW/sec의 광량으로 총 800 mJ/cm²을 조사하였다. 자외선 광량은 UV Light meter (YK-34UV+CA-06, Taiwan)로 측정하였으며 조사 시 광원과 마우스 배부와의 거리는 약 30 cm로 하였다.

3. 피부 적출

각 군별로 마취한 후 배부의 상부에서 피부조직을 3 cm × 3 cm의 크기로 적출하여 패트리디쉬 위에 놓고 핀셋으로 붙들어 칼을 사용하여 수직으로 절단한 후 시료로 이용하였다. 이 중 일부는 10% 포르말린 용액 및 2.5% glutaraldehyde 용액에 고정시켜 조직학적 검사에 사용하였고, 나머지는 액체질소에 동결시켜 효소활성도 측정에 사용하였다.

4. 경표피수분손실량 (*transepidermal water loss: TEWL*) 측정

경표피수분손실량 측정은 Tewameter TM 300 (Courage + Khazaka electronic GmbH, Mathias, Germany)을 이용하였으며 측정시 실내온도는 21~22℃, 실내습도는 55%인 동일 환경에서 시행하였다.

피부표면의 수분손실량 (TEWL = transepidermal Waterloss)의 측정원리는 open chamber 안에서의 확산 원리 (수분이동/시간 = 확산지수 × m² 당 피부표면적 × 대기중 수증기압력 / 피부표면으로부터 측정 포인트까지의 거리) 를 토대로 한 g/m²/h로 표시한다.

Courage + Khazaka electronic GmbH (Mathias, Germany)사의 기계사용방법에 따라 측정면은 항상 평행하게 하고, 탐침은 제모된 마우스 배부피부 3 cm × 3 cm의 측정면에 직각으로 놓이게 하였으며, 탐침의 측정면에 대한 압력을 강하지 않게 일정하게 유지하였다. 측정치는 그 수치가 안정된 값을 가질 때 filter 단추를 눌러 최종 값으로 결정하였다.

5. 멜라닌 양 (*Melanin value*) , 홍반 지수 (*Erythema index*) 측정

멜라닌 양과 홍반지수 측정은 Mexnmeter MX18 (Courage + Khazaka electronic GmbH, Mathias, Germany)을 이용하였으며 Courage + Khazaka electronic GmbH (Mathias, Germany)사의 기계사용방법에 따라 제모된 마우스 배부피부 3 cm × 3 cm 부분을 측정하였다. 측정 시 실내온도는 21~22℃, 실내습도는 55%인 동일 환경에서 시행하였다. 흡수/반사를 기본으로 각기 다른 색조에 적합한 3종류의 흡수파장 (wavelength)을 가진 광선을 피부에 조사하여 반사되어 나오는 정도를 광학적 측정기법을 통해 수치로 표시하였다.

피부색조는 멜라닌과 혈색소 (hemoglobin)의 함량과 분포에 의해 결정된다. 기존의 피부색조 측정 장비인 Chromameter (CR-300, Minolta, Japan)는 피부에 반사되는 광원을 표준색조도기준의 3차원 분석 그래프 각축에 해당하는 L, a, b값을 측정하는데 Mexameter는 피부 색조 분석에 가장 적합한 멜라닌과 혈색소 (혹은

bilirubin)에 대응하는 서로 다른 3종의 파장대를 갖는 광원 (다이오드) 16개가 원형으로 배치된 센서 probe를 특징으로 하는 측정기법 (narrow-band reflectance spectrophotometric measurement)을 사용하였다. 특히 피부 반사색조의 측정과정에서 불필요하게 과도한 압력을 주어 생기는 측정오차를 최소화하도록 센서 head에 별도의 탄성스프링이 내장되어 있어 피부 접촉간격과 압력에 일정한 결과를 얻어 내었다. 측정결과는 피부에 센서를 접촉한 1초 이내에 index value (melanin, erythema)로 표시하였다 (Yoshimura *et al.*, 2001; Hueley *et al.*, 2002; Christian, 2003; Manuskiatti *et al.*, 2003).

6. 항산화 효소의 활성 측정

a. 피부 균질액의 조제

적출된 피부를 -80°C 에 보관하였다가 0.2 g의 무게를 단 후 피부조직에 액체질소를 이용하여 분말로 만들어 4배량의 0.25M sucrose 용액을 넣고 균질액을 만들었다. 이 균질액을 600 rpm에서 10분간 원심분리한 후 상층액을 취하여 10,000 rpm에서 20분간 원심분리한 후 상층액을 취하여 효소활성도 측정에 사용하였다.

b. 피부조직의 단백질 함량 측정

피부조직 중 단백질 함량은 Lorwy 등 (1951)의 방법에 따라 bovine serum albumin을 control로 사용하여 측정하였다. 균질액을 20 μl 씩 취하고 여기에 1.0% SDS 용액을 각각 24 μl 및 16 μl 를 혼합하고, 증류수로써 240 μl 및 160 μl 가 되도록 희석 (12배 및 8배) 한다. 희석된 용액 15 μl , 20 μl 를 취해 증류수를 80 μl , 85 μl 씩 넣고 희석시킨다. 여기에 반응시약 (0.5% copper sulfate solution : 1.0% sodium tartrate solution : 2.0% sodium carbonate solution = 0.5 : 0.5 : 49, v/v)을 1.0 ml씩 첨가하여 혼합하고 실온에서 30분간 방치한 다음, 분광광도계를 사용하여 525 nm에서 흡광도를 측정하여 표준검량선에 의하여 단백질의 함량 (mg protein/ml fraction)을 정량하였다.

c. DPPH법에 의한 항산화 활성 평가

시료의 항산화 검색법으로서 free radical의 소거작용 실험은 Yoshida 등 (1989)이 사용한 방법에 따라 자초 에탄올 추출물의 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) 라디칼에 대한 소거 효과를 측정하였다. 자초 (10~480 µg/ml) 를 에탄올에 녹인 뒤 4 ml씩 취하여 1.5×10^{-4} M 농도로 에탄올에 용해시켜 DPPH용액 1 ml와 잘 혼합한다. 이 반응 혼합액을 실온에서 30분간 방치한 후, 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. 자초 에탄올 추출액을 첨가하지 않은 대조군과 비교하여 free radical의 소거활성을 50% 저해 농도 (IC₅₀)로 계산하였다.

d. Superoxidase dismutase (SOD) 활성 측정

SOD 활성은 Beauchamp and Fridovin (1971)의 방법에 따라 50 mM carbonic buffer (pH 10.2), 0.1 mM EDTA, 0.1 mM xanthine, 0.025 mM nitroblue tetrazolium 그리고 추출액이 포함된 용액을 25°C에서 10분간 반응시킨 후 xanthine oxidase ($3.3 \cdot 10^{-6}$ mM)를 첨가하고 550 nm에서 NBT의 광환원 정도를 측정하였다.

$$\text{SOD activity (units / mg protein)} = \Delta A_{570}/\text{min} \times \text{dilution factor} \times 1,000$$

e. Catalase (CAT) 활성 측정

Catalase 활성은 Aebi (1984) 방법에 따라 50 mM potassium phosphate (pH 7.0)에 10 mM H₂O₂와 추출액을 가한 후 240 nm에서 2분간의 흡광도 변화를 관찰하였다. 이때 1분 동안에 1 uM의 H₂O₂를 분해하는 효소의 양을 1 unit으로 하였다.

$$\text{CAT activity (units / mg protein)} = \frac{\Delta A_{240}/\text{min} \times \text{dilution factor}}{2 \times 43.6} \times 1,000$$

7. 피부의 조직학적 관찰

a. 광학현미경적 관찰

광학현미경적 관찰을 위하여 적출한 피부조직을 10% neutral buffered formalin (NBF)에 24시간 고정한 후, 수세한 다음 에탄올 계열 (70%, 80%, 90%, 95%, 100%)로 탈수하였다. xylene을 이용해 투명화시킨 후 paraffin 침투과정을 거쳐 경질 paraffin에 포매하였다. paraffin block을 microtome을 이용하여 4~5 μm 으로 박절한 다음, Hematoxylin-Eosin 염색하여 광학현미경으로 관찰하였다.

b. 전자현미경적 관찰

(1) 주사전자현미경적 관찰

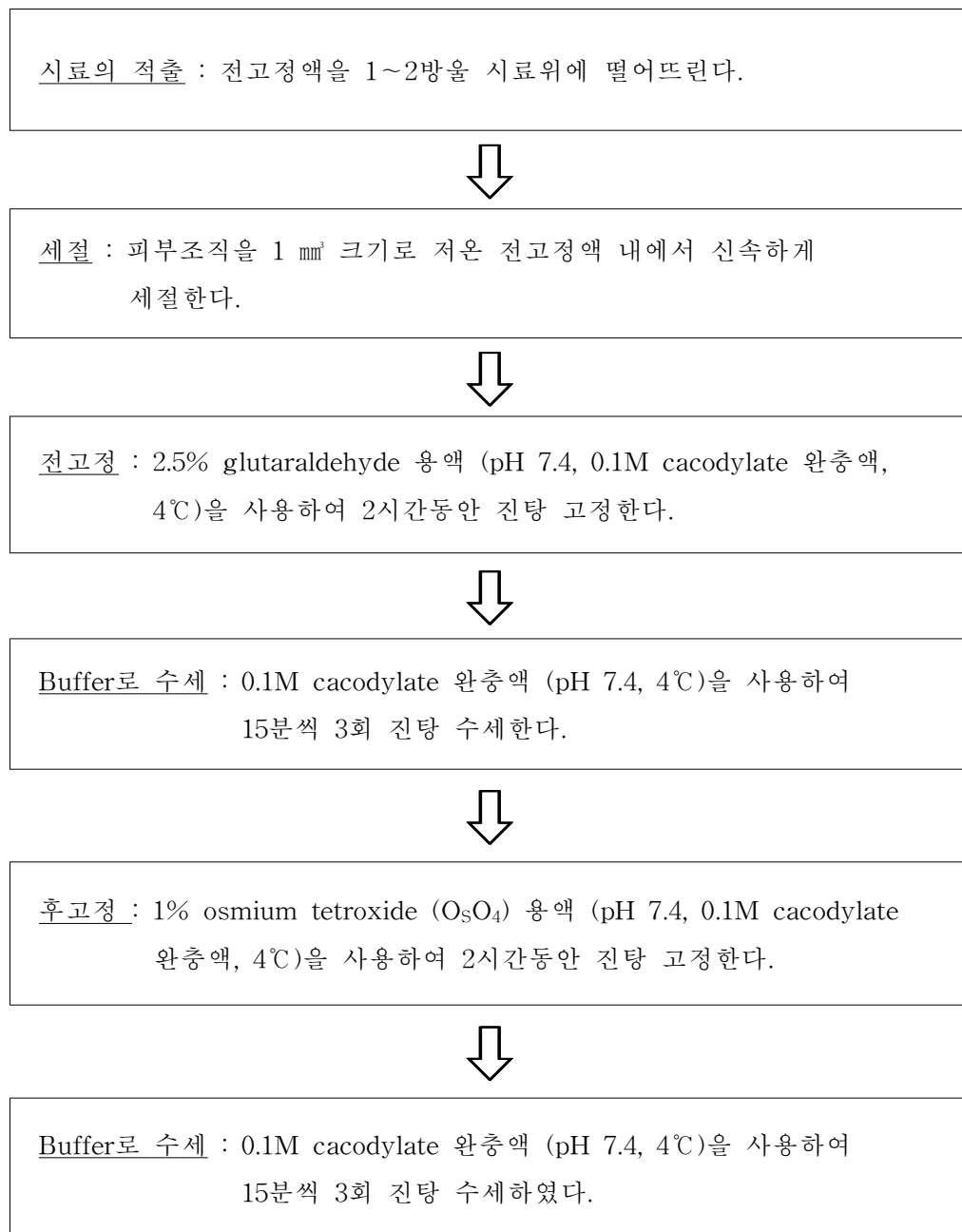
주사전자현미경적 관찰을 위하여 mouse의 피부조직을 신속하게 $4 \times 1 \times 4 \text{ mm}^3$ 크기의 조직표본으로 세절한 후 2.5% glutaraldehyde (4°C, pH 7.4, 0.1M cacodylate buffer) 용액에서 2시간 전고정한 후 0.1M cacodylate buffer로 20분간 3회에 걸쳐 수세한 후, 1% osmium tetroxide (4°C, pH 7.4, 0.1M cacodylate buffer)로 실온에서 2시간 정도 후고정하고, 후고정하여 산화된 시료들을 일련의 ethanol 농도 50%, 60%, 70%, 90%, 95%, 100%의 상승순으로 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, 3.0kV, Japan)으로 피부조직 표면을 촬영하여 관찰하였다 (Table 5).

(2) 투과전자현미경적 관찰

투과전자현미경 표본을 제작하기 위해 적출된 피부조직을 1 mm³ 크기로 세절하여 모든 조직을 2.5% glutaraldehyde (pH 7.4, 0.1M cacodylate 완충액) 용액으로 4°C에서 2시간 전고정하고, 동일 완충액으로 수세하였다. 1% osmium tetroxide 용액 (pH 7.4, 4°C)으로 1시간 동안 후고정하고 동일 완충액으로 수세하였다. Ethanol의 상승 농도순으로 탈수하고 propylene oxide로 치환하였으며, epon 812로 포매하여 37°C에서 12시간, 45°C에서 12시간, 60°C에서 48시간 열 중합하였다.

Ultramicrotome (MT-7000)을 이용하여 1 μm 두께의 준초박절편을 만들어 1% toluidine blue로 염색한 후 광학현미경으로 관찰하여 특정부위를 정하고 나머지 부분을 삭정하였다. Diatome (LKB-V형)으로 60 μm 두께의 초박절편을 만들어 Reynold's method에 따라 4% uranyl acetate와 lead citrate로 이중염색하여 투과 전자현미경 (JEOL, 2000 FX-II형, 80kV, Japan)으로 피부장벽을 관찰하였다 (Table 5).

Table 5. Methods of SEM & TEM.



1

탈수 : 50%, 60%, 70%, 90%,
95% ethanol에서 20분씩
1회, 100% ethanol에서
20분씩 3회 탈수한다.



치환 : isoamyl acetate : ethanol
1 : 3(10-15분) 1회
1 : 1(10-15분) 1회
3 : 1(10-15분) 1회
isoamyl acetate (10-20분)2회



동결건조 : liquid CO₂에 의한
동결건조



코팅 : aluminum stud에 고정하고
약 20 nm의 gold ion
particle로 coating

탈수 : 50%, 75%, 80%, 90%,
95% ethanol에서 20분씩
1회, 100% ethanol에서
20분씩 3회 탈수한다.



치환 : propylene oxide로
30분간 2회 치환한다.



포매 : propylene: epon
1:1(2-3시간)
1:2(2-3시간)
epon 혼합물 overnight후 포매
37°C(12시간), 45°C (12시간),
60°C EM oven(48시간) 열 중합



박절 : 1 μm두께의 준초박절편
↓
1% toluidine blue로 염색한 후
LM으로 관찰하여 특정부위를
정하고 삭정한다.
↓
Ultrathinsection(60 nm)한 후,
grid에 부착한다.



주사전자현미경 (Hitachi S-4800형, Japan)으로 3.0kV로 피부조직 표면을 촬영하여 관찰한다.



전자염색 : 4% uranyl acetate와 lead citrate로 이중염색



투과전자현미경 (JEOL, 2000 FX-II 형, 80kV, Japan)으로 관찰한다.

8. 자료분석

각 실험군 별 통계학적 유의성은 개인용 컴퓨터 프로그램인 SAS를 이용한 T-test에 의하여 검정하였으며, 각 p 값은 0.05 미만의 것을 유의한 수준으로 고려하였다.

III. 연구결과

A. 경표피수분손실량 (*transepidermal water loss: TEWL*)

Control, UVB 조사군, UVB 조사 후 0.5% 자초추출물 함유 에멀전을 도포한 군의 마우스 피부조직에서의 경표피수분손실량을 측정한 결과는 Table 6과 Fig. 4와 같다.

Control의 경표피수분손실량은 시간 경과에 따라 12.42 ± 1.05 , 14.17 ± 2.17 , 15.48 ± 2.96 , 18.60 ± 4.19 , 19.86 ± 4.38 로 나타났고, UVB 조사군은 시간 경과에 따라 62.96 ± 18.29 , 54.48 ± 13.55 , 41.16 ± 18.40 , 38.90 ± 18.37 , 37.17 ± 10.36 로 나타나 control군에 비하여 통계학적으로 유의하게 높게 나타났다 ($p < 0.05$). 특히 UVB 조사 24시간군에서는 control군 (12.42 ± 1.05)과 비교하여 높은 경표피수분손실량 (62.96 ± 18.29)을 보였다. UVB 조사후 0.5% 자초추출물 함유 에멀전 도포군에서는 49.06 ± 14.83 , 46.73 ± 19.02 , 38.56 ± 27.38 , 35.26 ± 20.32 , 24.76 ± 3.99 로 나타나 control군에 비해 높은 경표피수분손실량을 보여 통계학적으로 유의하게 나타났다 ($p < 0.05$). 이는 UVB 조사로 인해 피부장벽이 파괴됨에 따라 경표피수분손실량도 높게 나타난 것으로 사료된다. UVB 조사군에 비해 0.5% 자초추출물 함유 에멀전 도포군에서는 24시간, 48시간, 72시간, 120시간, 168시간에서 경표피수분손실량이 모두 낮게 나타났으나 통계학적으로 유의하지는 않았다 ($p > 0.05$). 그러나 168시간에서 UVB 조사군의 경표피수분손실량은 37.17 ± 10.36 로 나타났으며, 0.5% 자초추출물 함유 에멀전 도포군은 24.76 ± 3.99 로 나타나 통계학적으로 유의하게 0.5% 자초추출물 함유 에멀전 도포군이 낮게 나타났다 ($p < 0.05$).

이상의 결과로 UVB 조사로 인해 파괴된 피부장벽에 대해 0.5% 자초추출물 함유 에멀전 도포가 장벽회복을 촉진시켜 경표피수분손실량을 감소시킨 것으로 사료된다.

Table 6. The changes of transepidermal water loss (TEWL) in repeated 800 mJ/cm² UVB irradiation group and the group with treated 0.5% *Lithospermum erythrorhizon* emulsion after UVB irradiation (800 mJ/cm²).

Group \ Time	Time				
	24 hrs	48 hrs	72 hrs	120 hrs	168 hrs
Control	12.42 ± 1.05	14.17 ± 2.17	15.48 ± 2.96	18.60 ± 4.19	19.86 ± 4.38
UVB	62.96 ± 18.29*	54.48 ± 13.55*	41.16 ± 18.40*	38.90 ± 18.37*	37.17 ± 10.36**
UVB + <i>Le</i>	49.06 ± 14.83*	46.73 ± 19.02*	38.56 ± 27.38*	35.26 ± 20.32*	24.76 ± 3.99*

All values are average ± S.D of 10 mice.

TEWL average of control group is 16.11 ± 2.95.

Control: not UVB irradiation and treated 0.5% *Lithospermum erythrorhizon* emulsion.

UVB: 800 mJ/cm² UVB irradiation.

UVB + *Le*: treated 0.5% *Lithospermum erythrorhizon* emulsion after UVB irradiation (800 mJ/cm²).

The value represents an asterisk and cruciform are significantly different from control group by t-test.

* : p < 0.05, compared with control

+ : p < 0.05, compared with UVB to UVB + 0.5% *Le* emulsion treatment

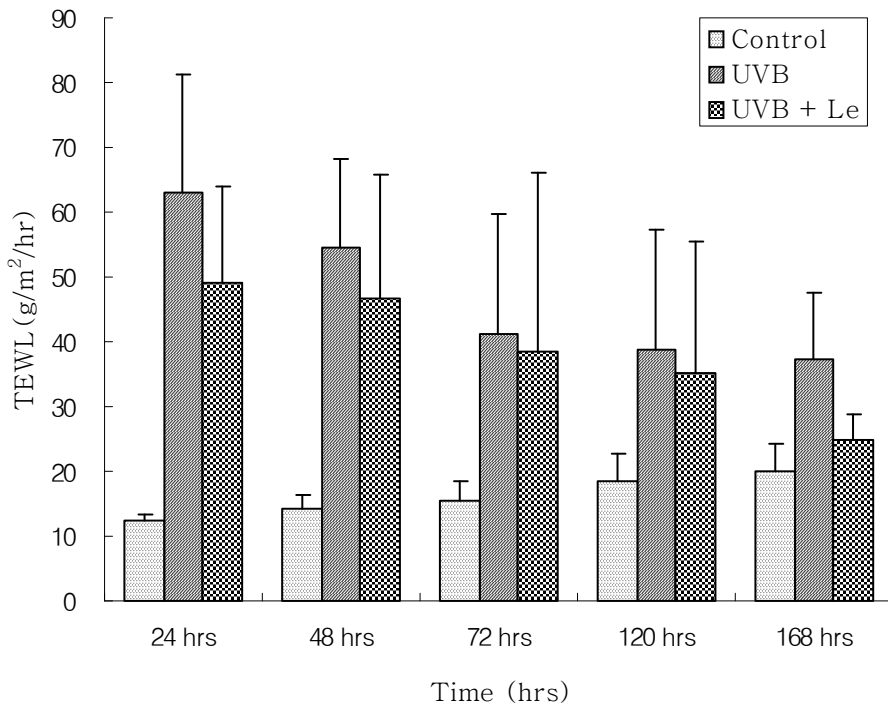


Fig. 4. The changes of transepidermal water loss (TEWL) in repeated 800 mJ/cm² UVB irradiation group and the group with treated 0.5% *Lithospermum erythrorhizon* emulsion after UVB irradiation (800mJ/cm²).

All values are average ± S.D of 10 mice.

TEWL average of control group is 16.11 ± 2.95

Control : not UVB irradiation and treated 0.5% *Lithospermum erythrorhizon* emulsion.

UVB: 800 mJ/cm² UVB irradiation.

UVB + *Le* : treated 0.5% *Lithospermum erythrorhizon* emulsion after UVB irradiation (800 mJ/cm²).

The value represents an asterisk and cruciform are significantly different from control group by t-test.

* : p < 0.05, compared with control.

+ : p < 0.05, compared with UVB to UVB + 0.5% *Le* emulsion treatment.

B. 멜라닌 양 (*Melanin value*)

Control, UVB 조사군, UVB 조사 후 0.5% 자초추출물 함유 에멀전을 도포한 군의 마우스 피부조직에서의 멜라닌 양을 측정된 결과는 Table 7과 Fig. 5와 같다.

Control군의 멜라닌 양은 시간 경과에 따라 529.33 ± 104.17 , 533.11 ± 32.50 , 517.56 ± 63.91 , 505.78 ± 48.87 , 518.00 ± 89.57 로 나타났고, UVB 조사군은 시간 경과에 따라 604.89 ± 84.48 , 603.78 ± 99.66 , 630.56 ± 69.35 , 607.22 ± 78.28 , 584.33 ± 63.74 로 나타나 control 군에 비해 높게 나타났다. 그러나 통계학적으로 72시간군 (603.78 ± 99.66)과 120시간군 (630.56 ± 69.35)에서만 유의성이 있게 높게 나타났다 ($p < 0.05$). UVB 조사 후 0.5% 자초추출물 함유 에멀전 도포군에서는 시간 경과에 따라 570.11 ± 117.52 , 571.22 ± 113.26 , 558.22 ± 77.53 , 552.75 ± 66.93 , 551.25 ± 134.42 로 나타나 control군보다는 높게, UVB 조사군에 비해서는 낮게 나타났으나 통계학적으로 유의성은 없었다 ($p > 0.05$).

이상의 결과로 보아 Fitzpatrick의 광 피부유형별 분류 기준에 따라 피부유형은 VI형으로 black skin type에 해당되며 UVB 조사로 인해 melanin value는 높게 나타났으나 0.5% 자초추출물 함유 에멀전의 도포가 melanin value에는 크게 영향을 주지 않는 것으로 사료된다.

Table 7. The changes of melanin value in repeated 800 mJ/cm² UVB irradiation group and the group with treated 0.5% *Lithospermum erythrorhizon* emulsion after UVB irradiation (800 mJ/cm²).

Time Group	24 hrs	48 hrs	72 hrs	120 hrs	168 hrs
Control	529.33 ± 104.17	533.11 ± 32.50	517.56 ± 63.91	505.78 ± 48.87	518.00 ± 89.57
UVB	604.89 ± 84.48	603.78 ± 99.66	630.56 ± 69.35*	607.22 ± 78.28*	584.33 ± 63.74
UVB + <i>Le</i>	570.11 ± 117.52	571.22 ± 113.26	558.22 ± 77.53	552.75 ± 66.93	551.25 ± 134.42

All values are average ± S.D. of 10 mice.

Melanin value average of control group are 520.72 ± 67.80.

Control : not UVB irradiation and treated 0.5% *Lithospermum erythrorhizon* emulsion.

UVB : 800 mJ/cm² UVB irradiation.

UVB + *Le* : treated 0.5% *Lithospermum erythrorhizon* emulsion after UVB irradiation (800 mJ/cm²).

The value represents an asterisk and cruciform are significantly different from control group by t-test.

* : p < 0.05, compared with control

+ : p < 0.05, compared with UVB to UVB + 0.5% *Le* emulsion treatment.

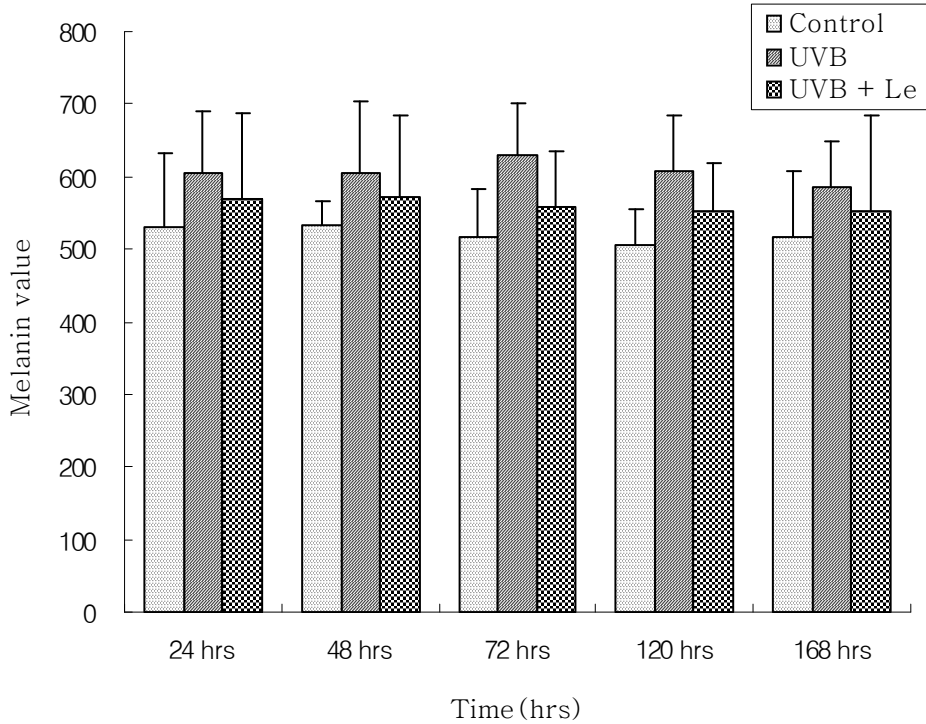


Fig. 5. The changes of melanin value in repeated 800 mJ/cm² UVB irradiation group and the group with treated 0.5% *Lithospermum erythrorhizon* emulsion after UVB irradiation (800mJ/cm²).

All values are average \pm S.D. of 10 mice.

Melanin value average of control group are 520.72 ± 67.80 .

Control : not UVB irradiation and treated 0.5% *Lithospermum erythrorhizon* emulsion

UVB : 800 mJ/cm² UVB irradiation.

UVB + *Le* : treated 0.5% *Lithospermum erythrorhizon* emulsion after 800 mJ/cm² UVB irradiation.

The value represents an asterisk and cruciform are significantly different from control group by t-test.

* : $p < 0.05$, compared with control

+ : $p < 0.05$, compared with UVB to UVB + 0.5% *Le* emulsion treatment

C. 홍반 지수 (*Erythema index*)

Control, UVB 조사군, UVB 조사 후 0.5% 자초추출물 함유 에멀전을 도포한 군의 마우스 피부조직에서의 홍반 지수를 측정된 결과는 Table 8과 Fig. 6과 같다.

Control군의 홍반 지수는 시간 경과에 따라 170.63 ± 39.94 , 173.38 ± 17.66 , 174.75 ± 14.49 , 170.25 ± 29.12 , 170.38 ± 21.25 로 나타났고, UVB 조사군은 시간 경과에 따라 243.38 ± 32.84 , 231.00 ± 70.90 , 215.33 ± 31.74 , 202.78 ± 55.43 , 187.22 ± 55.07 로 나타나 control군보다 높게 나타났다. 통계학적으로 168시간을 제외한 모든 군에서 유의성이 있게 나타났다 ($p < 0.05$). UVB 조사 후 0.5% 자초추출물 함유 에멀전 도포군은 시간 경과에 따라 188.20 ± 37.92 , 187.67 ± 40.84 , 184.22 ± 27.39 , 182.33 ± 27.39 , 169.22 ± 28.20 으로 나타나 control군보다는 높게 나타났다. 24시간과 48시간에서 유의성이 있게 나타났으며 ($p < 0.05$) 72시간, 120시간, 168시간에서는 유의성이 없게 나타났다 ($p > 0.05$). 또한 UVB 조사군보다 24시간, 48시간, 72시간군에서 통계학적으로 유의성이 있게 낮게 나타났으며 ($p < 0.05$) 120시간과 168시간에서는 유의성이 없게 나타났다 ($p > 0.05$).

이상의 결과로 UVB 조사 후 즉시 나타나는 홍반반응에 대해 0.5% 자초추출물 함유 에멀전의 도포가 진정 효과가 있는 것으로 사료된다.

Table 8. The changes of erythema index in repeated 800 mJ/cm² UVB irradiation group and the group with treated 0.5% *Lithospermum erythrorhizon* emulsion after UVB irradiation (800 mJ/cm²).

Group \ Time	Time				
	24 hrs	48 hrs	72 hrs	120 hrs	168 hrs
Control	170.63 ± 39.94	173.38 ± 17.66	174.75 ± 14.49	170.25 ± 29.12	170.38 ± 21.25
UVB	243.38 ± 32.84*	231.00 ± 70.90*	215.33 ± 31.74*	202.78 ± 55.43*	187.22 ± 55.07
UVB + <i>Le</i>	188.20 ± 37.92**	187.67 ± 40.84**	184.22 ± 27.39 ⁺	182.33 ± 27.39	169.22 ± 28.20

All values are average ± S.D. of 10 mice.

Erythema index average of control group is 171.42 ± 24.49.

Control : not UVB irradiation and treated 0.5% *Lithospermum erythrorhizon* emulsion.

UVB : 800 mJ/cm² UVB irradiation.

UVB + *Le* : treated 0.5% *Lithospermum erythrorhizon* emulsion after UVB irradiation (800 mJ/cm²).

The value represents an asterisk and cruciform are significantly different from control group by t-test.

* : p < 0.05, compared with control

+ : p < 0.05, compared with UVB to UVB + 0.5% *Le* emulsion treatment

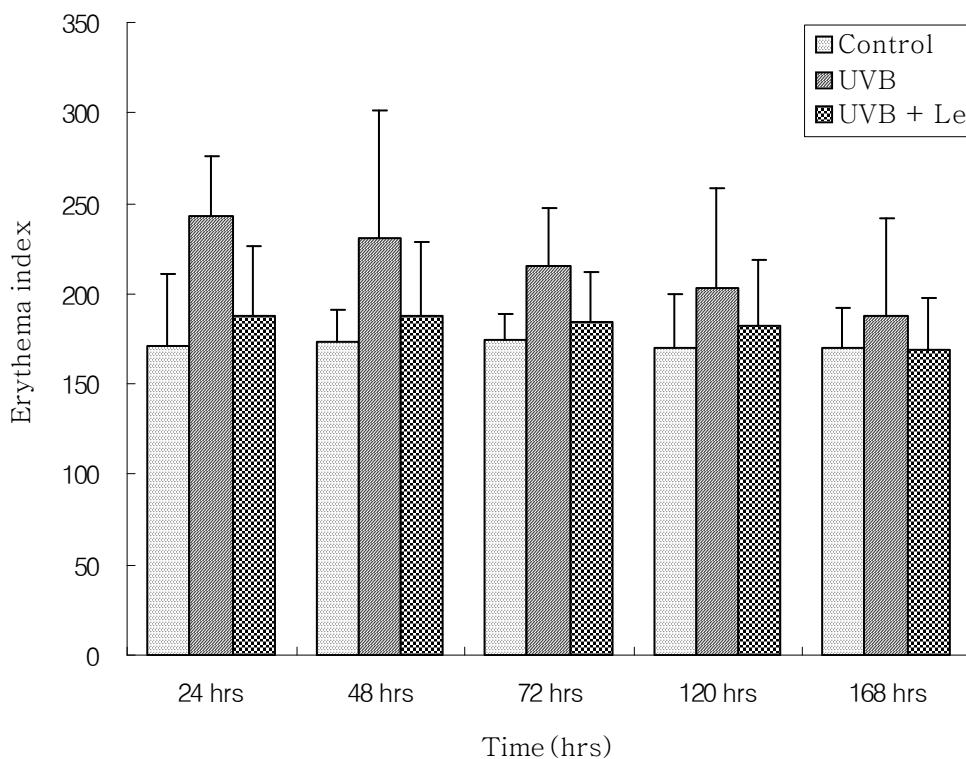


Fig. 6. The changes of erythema index in repeated 800 mJ/cm² UVB irradiation group and the group with treated 0.5% *Lithospermum erythrorhizon* emulsion after UVB irradiation (800 mJ/cm²).

All values are average \pm S.D. of 10 mice.

Erythema index average of control group is 171.42 ± 24.49

Control : not UVB irradiation and treated 0.5% *Lithospermum erythrorhizon* emulsion

UVB : 800 mJ/cm² UVB irradiation.

UVB + *Le* : treated 0.5% *Lithospermum erythrorhizon* emulsion after UVB irradiation (800mJ/cm²).

The value represents an asterisk and cruciform are significantly different from control group by t-test.

* : $p < 0.05$, compared with control

+ : $p < 0.05$, compared with UVB to UVB + 0.5% *Le* emulsion treatment

D. DPPH법에 의한 항산화활성 분석결과

자초 에탄올 추출물의 항산화 활성에 대한 분석결과는 Table 9와 같다. 경단구슬 모자반 (*Sargassum muticum*)은 825.12 (김 등, 2007), 잇꽃 (*Carthamus tinctorius*)은 727.9, 석창포 (*Acorus gramineus*)는 695.2 (박 등, 2006), 필발;후추과 (*Piper longum*)는 881.6, hyssopus의 옛이름 (*Inula racemosa*)은 943.6, 자초 (*Lithospermum erythrorhizon*)는 615.23 으로 나타났다.

Table 9. Comparison of DPPH radical scavenging activity of ethanol extract from *Lithospermum erythrorhizon*.

Scientific name	Antioxidant activity (IC ₅₀)
<i>Sargassum muticum</i>	825.12
<i>Carthamus tinctorius</i>	727.9
<i>Acorus gramineus</i>	695.2
<i>Piper longum</i>	881.6
<i>Inula racemosa</i>	943.6
<i>Lithospermum erythrorhizon</i>	615.23

* Ascorbic acid : 2.94

E. 항산화 효소의 활성

1. SOD 활성

Control군, UVB 조사군, UVB 조사 후 0.5% 자초추출물 함유 에멀전을 도포한 군의 24시간, 48시간, 72시간, 120시간, 168시간 후에 마우스 피부조직의 SOD 활성도에 미치는 효과를 관찰한 결과는 Table 10과 Fig. 7과 같다.

Control군의 SOD 활성도는 18.99 ± 2.48 로 나타났고, UVB 조사군은 시간 경과에 따라 30.41 ± 2.18 , 26.38 ± 6.52 , 25.31 ± 2.80 , 25.01 ± 1.34 , 22.32 ± 7.68 로 나타나 control군보다 높게 나타났다. 통계학적으로 120시간과 168시간을 제외한 모든 군에서 유의성이 있게 나타났다 ($p < 0.05$). UVB 조사 후 자초도포군은 시간 경과에 따라 25.32 ± 11.23 , 22.32 ± 3.64 , 20.12 ± 13.00 , 19.89 ± 1.51 , 19.00 ± 1.45 로 나타나 모든 군에서 control 군보다 높게 나타났으며 24시간, 48시간, 72시간에서 유의성이 있게 나타났다 ($p < 0.05$). 또한 UVB 조사군보다 24시간, 48시간, 72시간 군에서 통계학적으로 유의성이 있게 낮게 나타났으며 ($p < 0.05$), 120시간과 168시간에서는 유의성이 없게 나타났다 ($p > 0.05$).

Table 10. Effects of 800 mJ/cm² UVB irradiation group and the group with treated 0.5% *Lithospermum erythrorhizon* emulsion after UVB irradiation (800 mJ/cm²) on skin SOD activities.

Group \ Time	Time				
	24 hrs	48 hrs	72 hrs	120 hrs	168 hrs
Control	18.99 ± 2.48	18.99 ± 2.48	18.99 ± 2.48	18.99 ± 2.48	18.99 ± 2.48
UVB	30.41 ± 2.18*	26.38 ± 6.52*	25.31 ± 2.80*	25.01 ± 1.34	22.32 ± 7.68
UVB + <i>Le</i>	25.32 ± 11.23 ⁺	22.32 ± 3.64 ⁺	20.12 ± 13.00 ⁺	19.89 ± 1.51	19.00 ± 1.45

SOD activity of control group is 18.99 ± 2.48.

Each value represents the mean ± C57BL of 10 mice.

Unit : U (50% inhibition of autoxidation of hematoxylin)/ mg protein/ min.

Control : not UVB irradiation and treated 0.5% *Lithospermum erythrorhizon* emulsion.

UVB : 800 mJ/cm² UVB irradiation.

UVB + *Le* : treated 0.5% *Lithospermum erythrorhizon* emulsion after UVB irradiation (800 mJ/cm²).

The value represents an asterisk and cruciform are significantly different from control group by t-test.

* : p < 0.05, compared with control

+ : p < 0.05, compared with UVB to UVB + 0.5% *Le* emulsion treatment

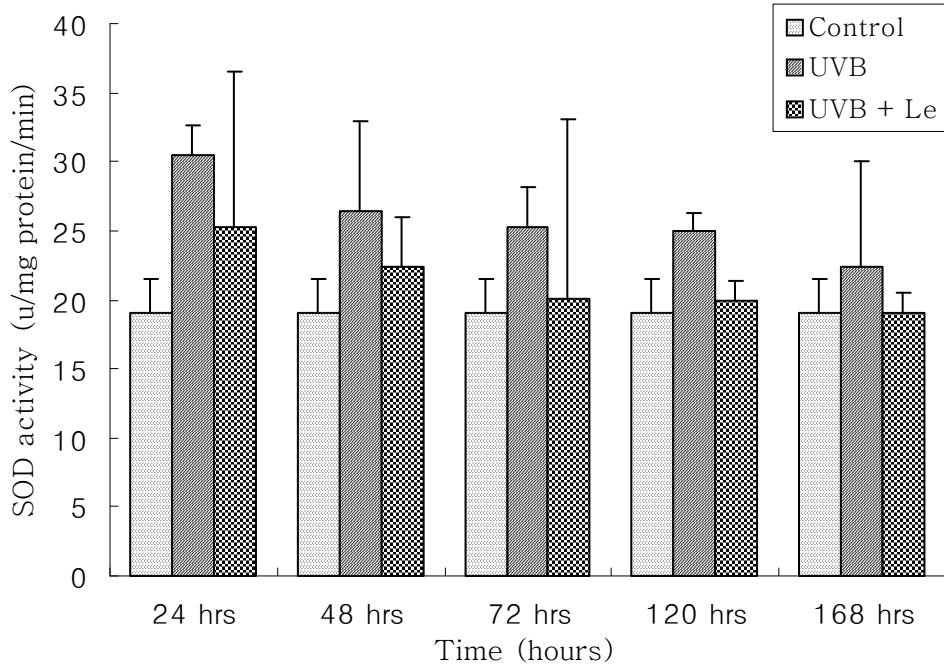


Fig. 7. Effects of 800 mJ/cm² UVB irradiation group and the group with treated 0.5% *Lithospermum erythrorhizon* emulsion after UVB irradiation (800 mJ/cm²) on epidermal SOD activities.

SOD activity of control group is 18.99 ± 2.48.

Each value represents the mean ± C57BL of 10 mice.

Unit : U (50% inhibition of autoxidation of hematoxylin) /mg protein/ min.

Control : not UVB irradiation and treated 0.5% *Lithospermum erythrorhizon* emulsion.

UVB : 800 mJ/cm² UVB irradiation

UVB + *Le* : treated 0.5% *Lithospermum erythrorhizon* emulsion after UVB irradiation (800 mJ/cm²).

The value represents an asterisk and cruciform are significantly different from control group by t-test.

* : p < 0.05, compared with control

+ : p < 0.05, compared with UVB to UVB + 0.5% *Le* emulsion treatment

2. CAT 활성

Control군, UVB 조사군, UVB 조사 후 0.5% 자초추출물 함유 에멀전을 도포한 군의 24시간, 48시간, 72시간, 120시간, 168시간 후에 마우스 피부조직의 CAT 활성도에 미치는 효과를 관찰한 결과는 Table 11과 Fig. 8과 같다.

Control군의 CAT 활성도는 2.41 ± 0.39 로 나타났고, UVB 조사군은 시간 경과에 따라 2.06 ± 0.30 , 2.35 ± 0.55 , 4.84 ± 1.99 , 5.44 ± 1.49 , 5.21 ± 1.01 로 나타나 24시간과 48시간에서는 control군보다 낮게 나타났고 72시간, 120시간, 168시간에서는 control군보다 높게 나타났다. 통계학적으로 24시간과 168시간을 제외한 모든 군에서 유의성이 있게 나타났다 ($p < 0.05$). UVB 조사 후 자초도포군은 시간 경과에 따라 3.33 ± 1.71 , 6.28 ± 0.76 , 6.86 ± 0.87 , 5.30 ± 0.97 , 4.10 ± 3.96 로 나타나 모든 군에서 control과 168시간을 제외한 UVB 조사군 보다는 높게 나타났다. 24시간, 48시간, 72시간에서 유의성이 있게 나타났으며 ($p < 0.05$) 120시간과 168시간에서는 유의성이 없게 나타났다 ($p > 0.05$). 24시간군부터 72시간군까지 UVB 조사군보다 높게 나타난 것은 0.5% 자초추출물 함유 에멀전 도포에 의해 유발되어지는 H_2O_2 에 대해 자신을 방어하기 위해 효소활성이 증가하는 것으로 사료된다.

Table 11. Effects of 800 mJ/cm² UVB irradiation group and the group with treated 0.5% *Lithospermum erythrorhizon* emulsion after UVB irradiation (800 mJ/cm²) on epidermal CAT activities.

Group \ Time	Time				
	24 hrs	48 hrs	72 hrs	120 hrs	168 hrs
Control	2.41 ± 0.39	2.41 ± 0.39	2.41 ± 0.39	2.41 ± 0.39	2.41 ± 0.39
UVB	2.06 ± 0.30	2.35 ± 0.55	4.84 ± 1.99*	5.44 ± 1.49*	5.21 ± 1.01*
UVB + <i>Le</i>	3.33 ± 1.71	6.28 ± 0.76*+	6.86 ± 0.87*	5.30 ± 0.97*	4.10 ± 3.96

CAT activity of control group is 2.41 ± 0.39

Each value represent the mean ± C57BL of 10 mice.

Unit: nmole H₂O₂ reduced/mg protein/min.

Control: not UVB irradiation and treated 0.5% *Lithospermum erythrorhizon* emulsion.

UVB: 800 mJ/cm² UVB irradiation.

UVB + *Le*: treated 0.5% *Lithospermum erythrorhizon* emulsion after UVB irradiation (800 mJ/cm²)

The value represents an asterisk and cruciform are significantly different from control group by t-test.

* : p < 0.05, compared with control

+ : p < 0.05, compared with UVB to UVB+0.5% *Le* emulsion treatment

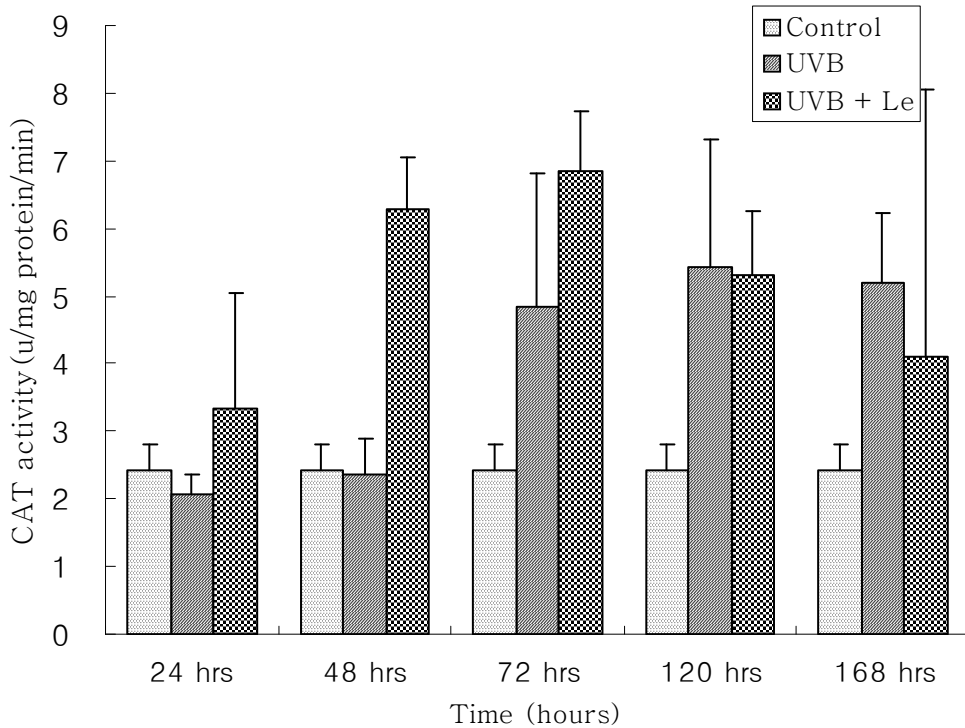


Fig. 8. Effects of 800 mJ/cm² UVB irradiation group and the group with treated 0.5% *Lithospermum erythrorhizon* emulsion after UVB irradiation (800 mJ/cm²) on epidermal CAT activities.

CAT activity of control group is 2.41 ± 0.39.

Each value represent the mean ± C57BL of 10 mice.

Unit : nmole H₂O₂ reduced/mg protein/min.

Control : not UVB irradiation and treated 0.5% *Lithospermum erythrorhizon* emulsion.

UVB : 800 mJ/cm² UVB irradiation

UVB + *Le* : treated 0.5% *Lithospermum erythrorhizon* emulsion after UVB irradiation (800 mJ/cm²).

The value represents an asterisk and cruciform are significantly different from control group by t-test.

* : p < 0.05, compared with control

+ : p < 0.05, compared with UVB to UVB + 0.5% *Le* emulsion treatment

F. 피부의 조직학적 변화

1. 광학현미경적 관찰

a. Control

표피층이 얇고 약 두층으로 배열되어 보인다(Fig. 9A.)

b. 24시간군

UVB 조사 24시간군에서는 표피층이 control군보다 더욱 얇아지며 표피괴사 형태와 진피조직에서 염증세포가 많이 관찰되었다 (Fig. 9B). 또한 UVB 조사 후 0.5% 자초추출물 함유 에멀전 도포군에서는 UVB 조사군과 같이 표피층은 control 군보다 더 얇아졌으나 표피괴사현상은 보이지 않으며 염증부위는 UVB 조사군에 비해 훨씬 경감된 상태이다 (Fig. 9C).

c. 48시간군

UVB 조사 48시간군에서는 각화과정에 의해 염증세포들이 탈락되어지는 모습이 보이며 일광화상세포들을 관찰할 수 있었다 (Fig. 9D). UVB 조사 후 0.5% 자초추출물 함유 에멀전 도포 48시간군에서는 표피층이 재생되어진 것을 관찰할 수 있었으며 약간의 일광화상세포들이 관찰되었다 (Fig. 9E).

d. 72시간군

UVB 조사 72시간군에서는 표피층이 증식되어 있으며 과각화현상이 보이며 과립층의 층도 증가되어 있고 표피-진피 능선도 느슨하게 관찰되어진다. 또한 모낭의 소실을 관찰되었다 (Fig. 10A). UVB 조사 후 0.5% 자초추출물 함유 에멀전 도포 72시간군에서는 UVB 조사군에 비해 표피 증식과 과립층의 배열이 억제되어 있으며 정상적인 모낭과 표피-진피 능선을 관찰할 수 있었다 (Fig. 10B).

e. 120시간

UVB 조사 120시간군에서는 표피층의 증식이 72시간군에 비해 과각화현상이 나타나며 표피층의 두께가 증가되어 있으며 과립층의 배열도 증가되어 있었다. 또한 표피의 능선도 소실되어 보인다 (Fig. 10C). UVB 조사 후 0.5% 자초추출물 함유 에멀전 도포 120시간군에서는 UVB 조사군에 비해 표피층의 증식과 과각화현상이 억제되어 있었다 (Fig. 10D).

f. 168시간군

UVB 168시간군에서 120시간군에 비해 과각화현상이 나타나며 표피층 증식이 억제되어 있으며 과립층의 배열도 증가되었다 (Fig. 10E). 0.5% 자초추출물 함유 에멀전 도포 168시간군에서는 표피의 이상증식이 크게 억제 되어 거의 control 수준으로까지 회복되어진 것을 관찰할 수 있었다 (Fig. 10F).

이상의 결과로 0.5% 자초추출물 함유 에멀전 도포로 인해 일광화상세포와 진피층의 염증세포에 대해 항염증작용을 하며 표피의 이상증식을 억제함으로 UVB 조사로 손상된 피부에 유효하다고 사료된다.

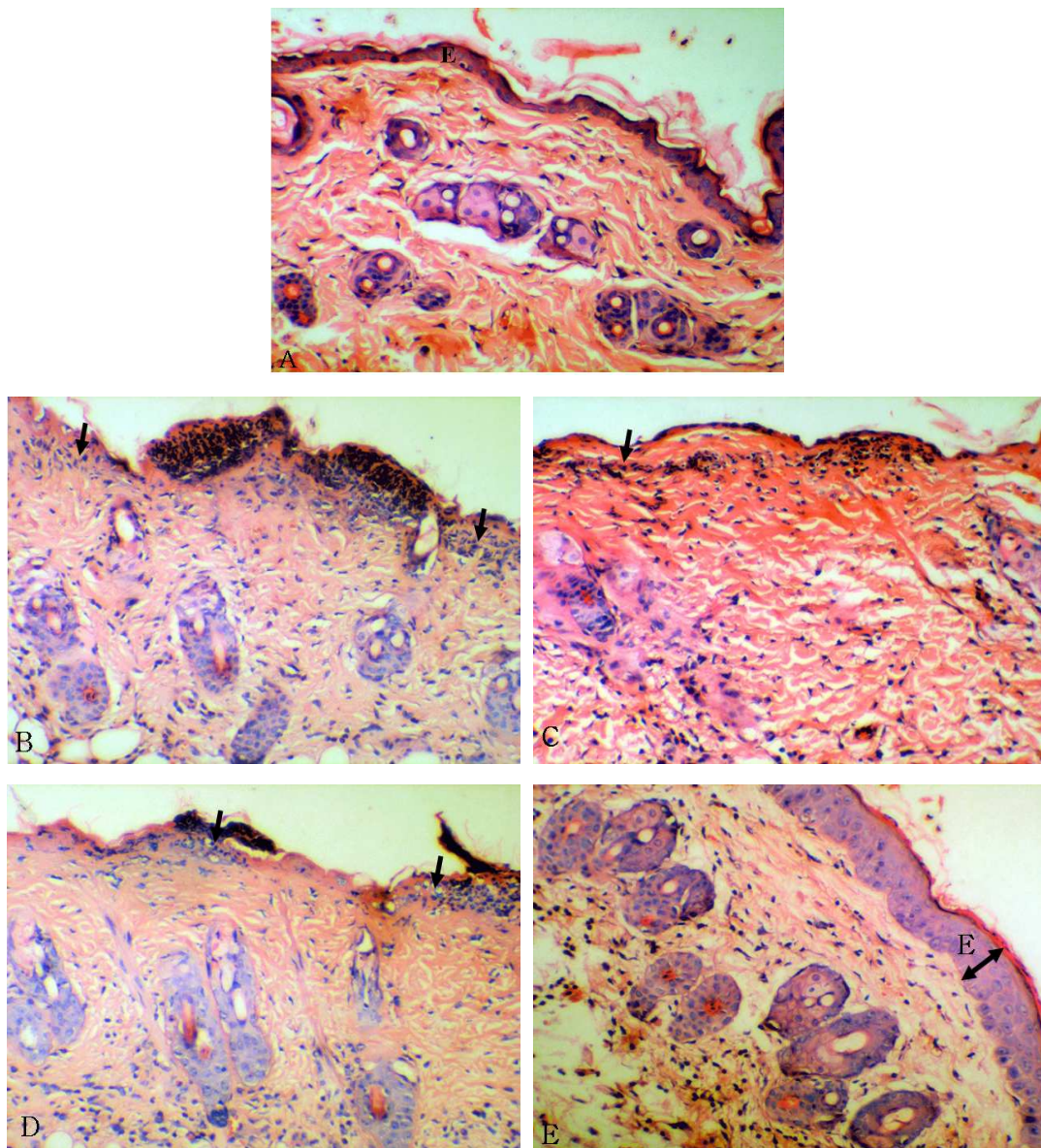


Fig. 9. A light micrograph of mouse skin. H-E stain, $\times 200$. E: epidermis.

A: Control group.

B: UVB irradiation 24 hrs, Sunburn cell, inflammation lesion(↓).

C: UVB + *Le* group 24 hrs. Inflammation lesion(↓).

D: UVB irradiation 48 hrs. Sunburn cell(↓).

E: UVB + *Le* group 48 hrs. Epidermis was proliferation (\updownarrow).

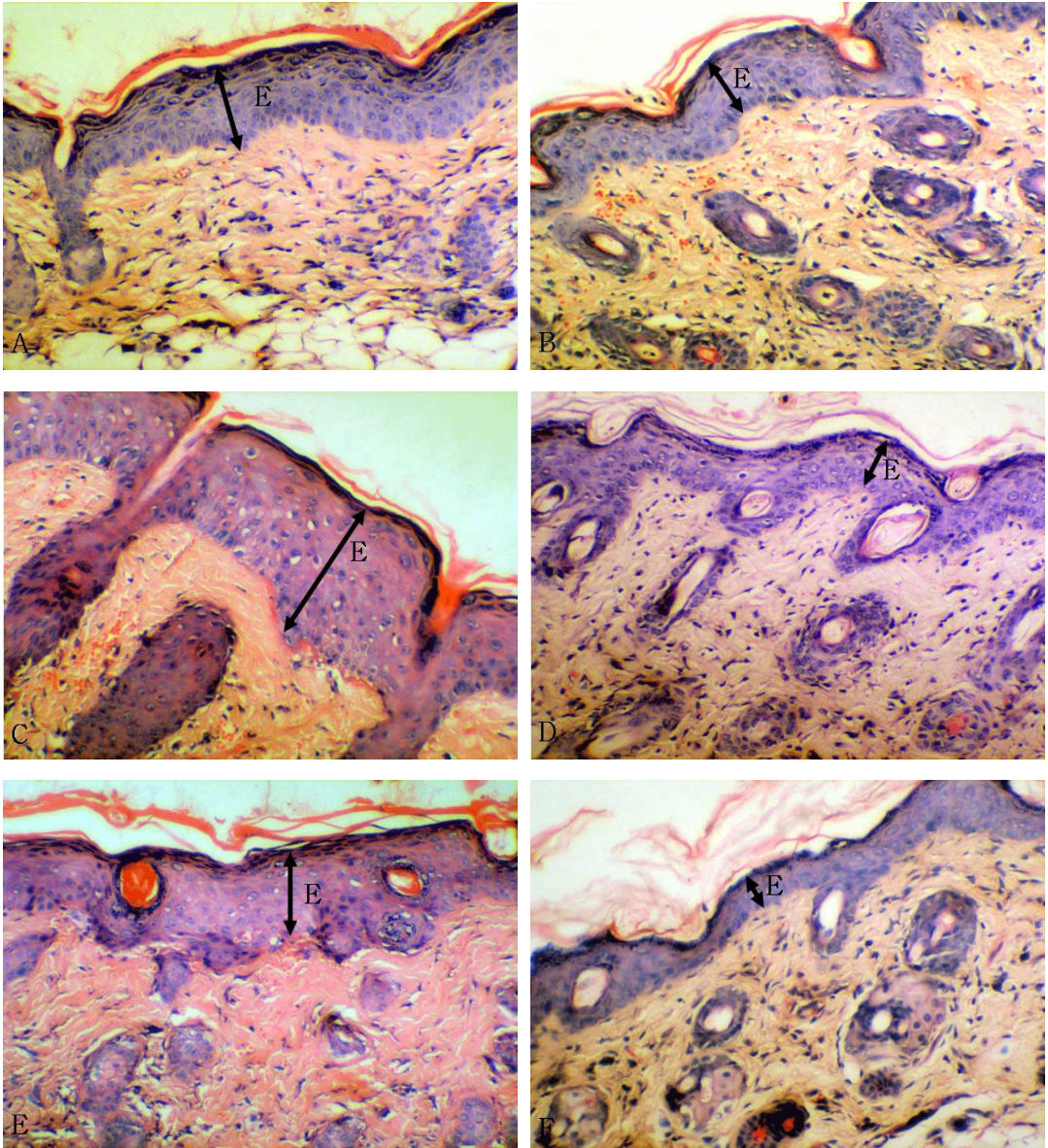


Fig. 10. A light micrograph of mouse skin. H-E stain, $\times 200$. E: epidermis

A. UVB group 72 hrs. Epidermis was proliferation (\Downarrow).

B. UVB + *Le* group 72 hrs. Epidermis was proliferation (\Downarrow).

C: UVB group 120 hrs. Epidermis was inhibited proliferation (\Downarrow).

D: UVB + *Le* group 120 hrs. Epidermis was proliferation (\Downarrow).

E: UVB group 168 hrs. Epidermis was proliferation (\Downarrow).

F: UVB + *Le* group 168 hrs. Epidermis was inhibited proliferation (\Downarrow).

2. 전자현미경적 관찰

a. 주사전자현미경적 관찰

(1) Control

대조군은 각질층의 구조가 정상적인 관찰형태를 갖고 비교적 현저한 주름선들을 볼 수 있었다 (Fig. 11).

(2) 24시간

UVB 조사 24시간군은 피부 표면이 팽윤됨이 관찰되었고 (Fig. 12A), UVB 조사 후 0.5% 자초추출물 함유 에멀전 도포 24시간군은 피부 표면이 팽윤됨이 관찰되었으나 UVB 조사군에 비해 표면이 완화된 상태로 관찰되었다 (Fig. 12B).

(3) 48시간

UVB 조사 48시간군은 각질 탈락의 형태가 보이며 매우 건조해 각질과 각질 사이가 갈라지는 상태를 관찰할 수 있었고 (Fig. 13A), UVB 조사 후 0.5% 자초추출물 함유 에멀전 도포 48시간군은 가피 형성이 시작되는 것을 관찰할 수 있었다 (Fig. 13B).

(4) 72시간

UVB 조사 72시간군은 요철이 심한 불규칙한 상태의 모습이며 많은 미세한 주름선들을 관찰할 수 있었다 (Fig. 14A). UVB 조사 후 0.5% 자초추출물 함유 도포 72시간군은 판상의 각질이 비교적 균일한 형태를 보이며 얇게 가피로 덮어있는 모습을 관찰할 수 있었다 (Fig. 14B).

(5) 120시간

UVB 조사군 12시간군은 탈락된 각질의 조각들이 산재되어 있으며 부분적으로 탈락된 가피가 관찰되었다 (Fig. 15A). UVB 조사 후 0.5% 자초추출물 함유 도포 120시간군은 형성된 가피가 점차 탈락됨으로 새로운 각질의 형태를 부분적으로 관

찰할 수 있었다 (Fig. 15B).

(6) 168시간

UVB 조사 168시간군은 과각화 현상으로 피부 표면이 불규칙한 판상 형태의 중첩된 표면으로 미세주름은 거의 볼 수 없었고 (Fig. 16A), UVB 조사 후 0.5% 자초추출물 함유 에멀전 도포 168시간군에서는 가피가 완전 탈락하면서 미세한 섬유가 피부전체를 덮고 있는 모습으로 관찰되었다 (Fig. 16B).

이상의 결과로 UVB 조사로 손상된 피부에 0.5% 자초추출물 함유 에멀전을 도포 함으로써 피부상처회복을 촉진시켰으리라 사료된다.

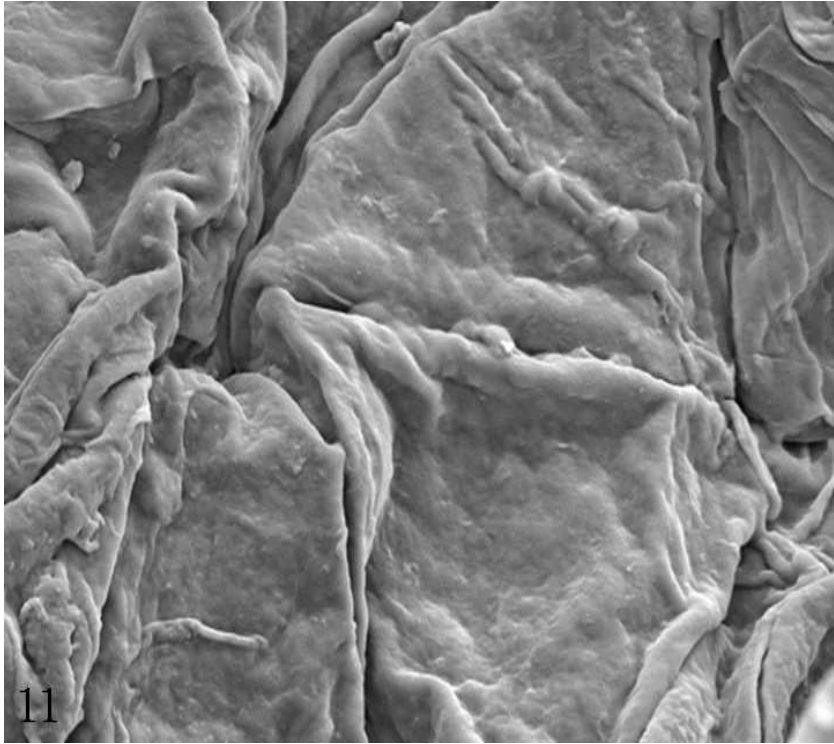


Fig. 11. A scanning electron micrograph of skin surface from control group.
x 1,500

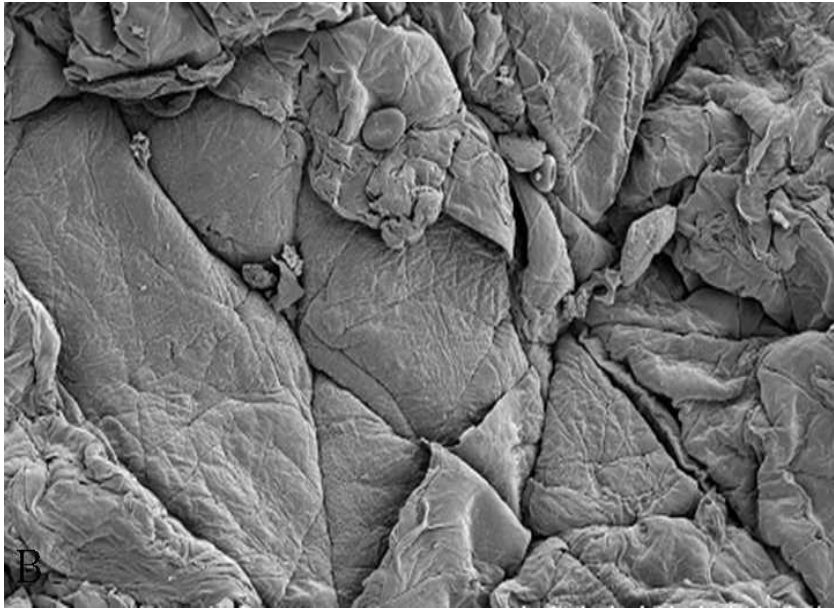
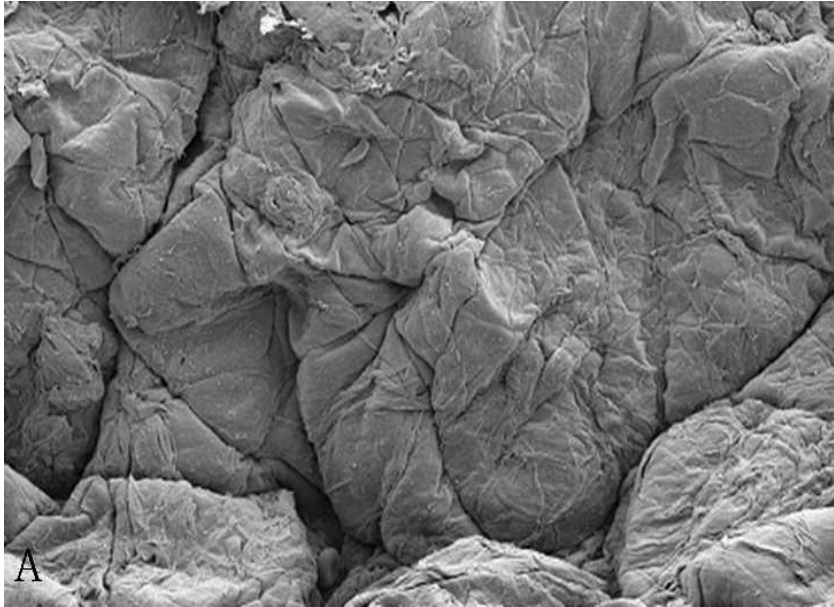


Fig. 12. A scanning electron micrograph of skin surface from 24 hrs group. $\times 1,500$. A: UVB group, B: UVB + *Le* group.

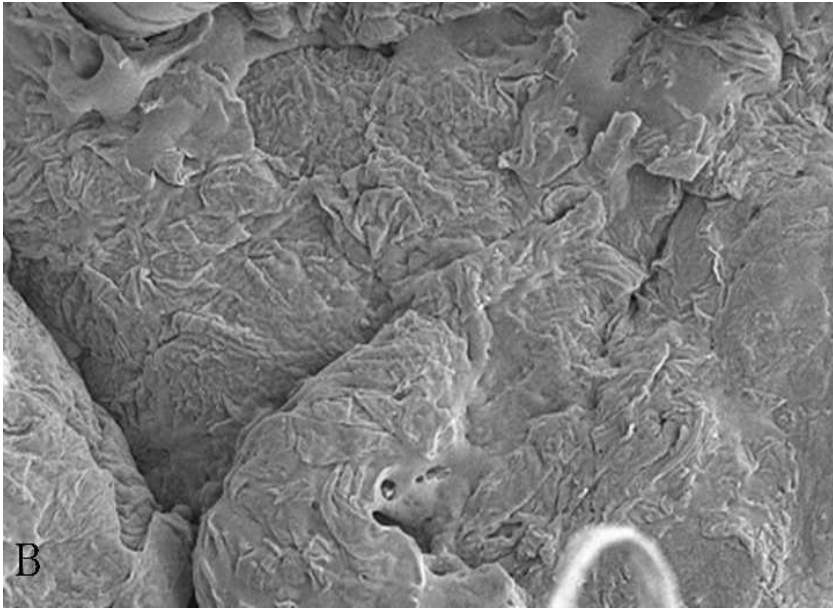
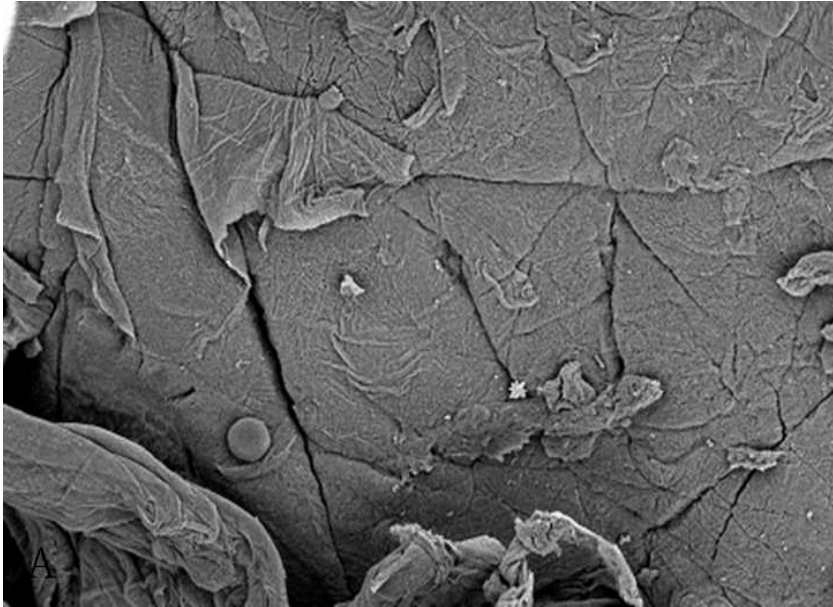


Fig. 13. A scanning electron micrograph of skin surface from 48 hrs group.
× 1,500. A: UVB group, B: UVB + *Le* group.

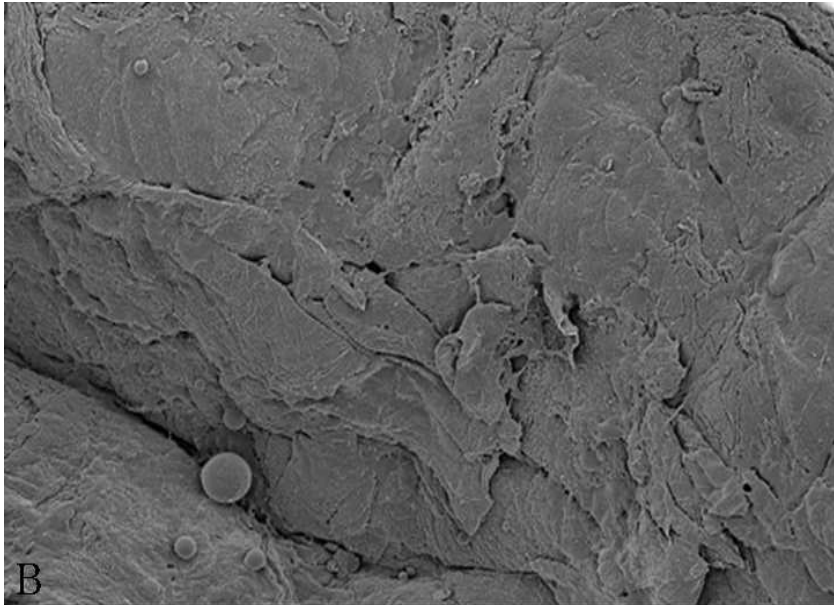
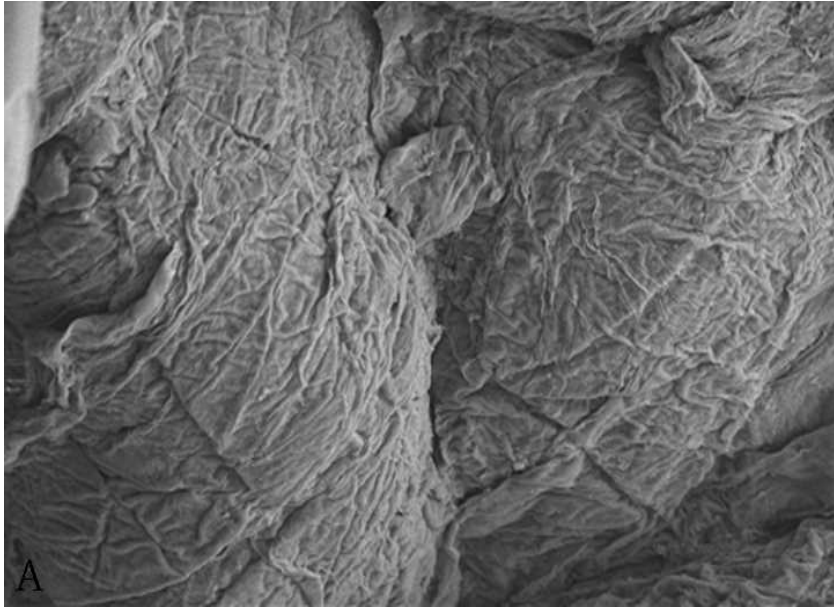


Fig. 14. A scanning electron micrograph of skin surface from 72 hrs group.
× 1,500. A: UVB group, B: UVB + *Le* group.

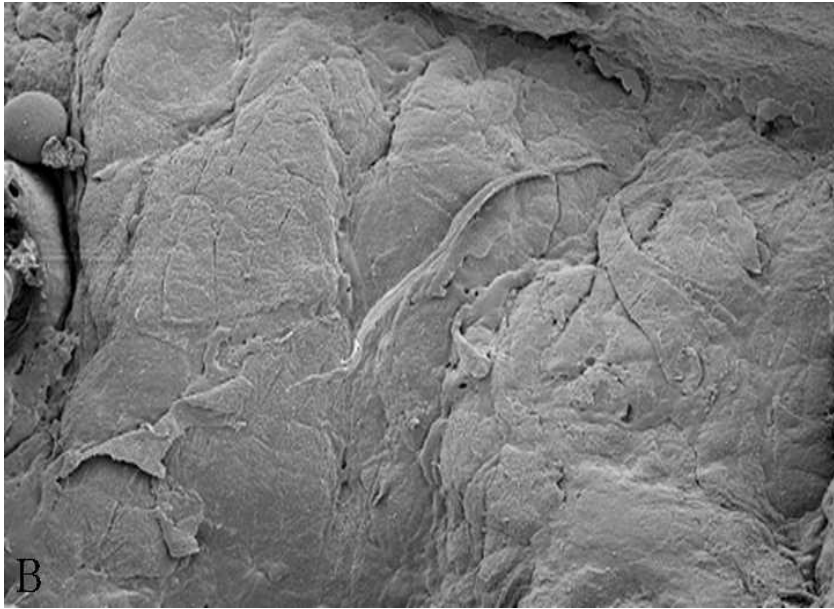
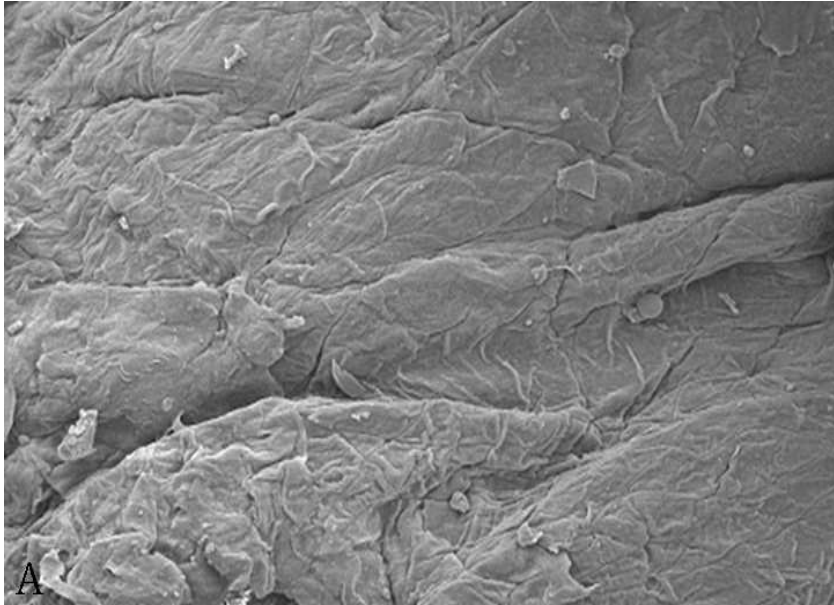


Fig. 15. A scanning electron micrograph of skin surface from 120 hrs group.
× 1,500. A: UVB group, B: UVB + *Le* group.

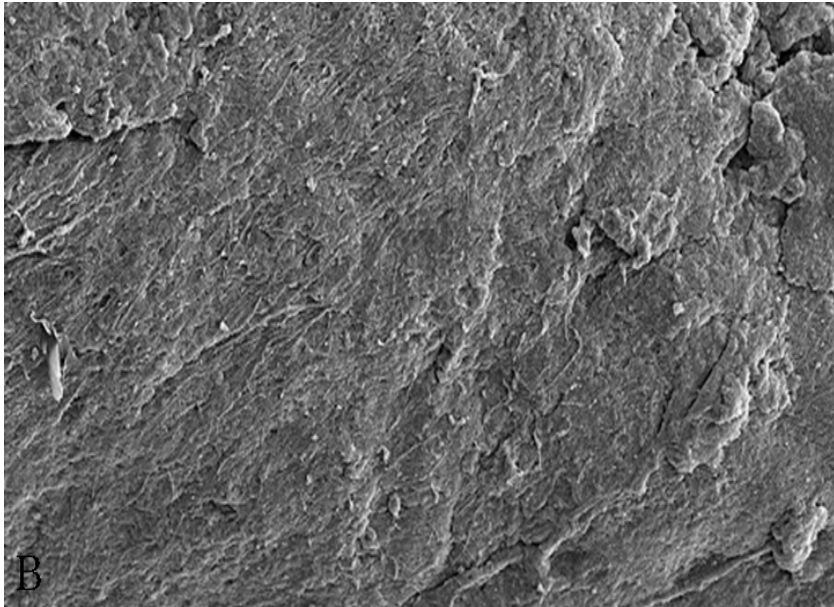
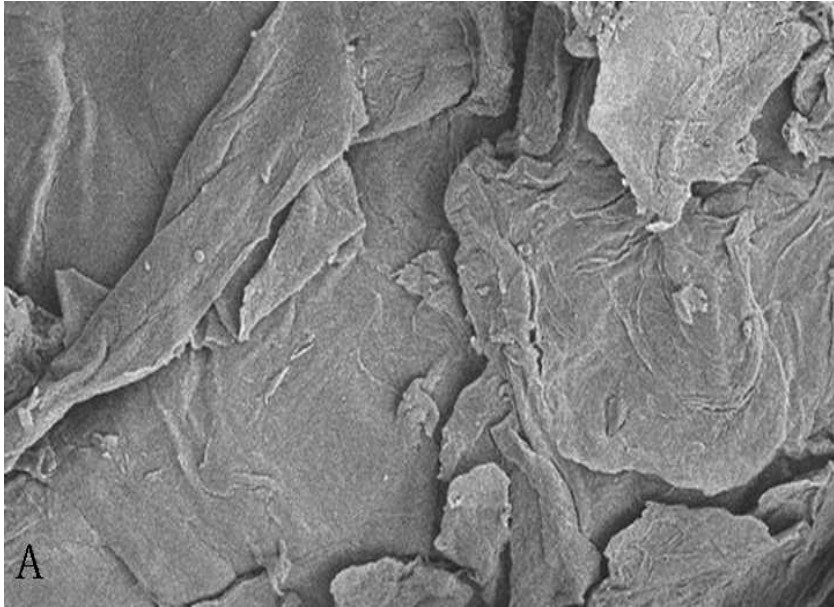


Fig. 16. A scanning electron micrograph of skin surface from 168 hrs group.
× 1,500. A: UVB group, B: UVB + *Le* group.

b. 투과전자현미경적 관찰

(1) Control

각질세포간의 지질막이 완전한 배열을 가지며 규칙성을 갖고 있는 모습을 관찰할 수 있었다 (Fig. 17).

(2) 24시간

UVB조사 24시간군에서 각질층의 이중 지질막은 분리되거나 매우 불규칙한 양상을 보였다. 또한 세포간 공간의 확장과 층판소체의 즉각적인 분리로 세포간에 지질 덩어리 (lamellar stack)를 관찰할 수 있었다 (Fig. 18A). UVB 조사 후 0.5% 자초추출물 함유 에멀전 도포 24시간군에서는 층판소체의 분비가 UVB 조사군에 비해 뚜렷하게 증가된 양상을 관찰할 수 있었으며 층판소체의 분리로 속이 빈 과립의 형태를 관찰할 수 있었다 (Fig. 18B).

(3) 48시간

UVB 조사 48시간군에서는 층판소체의 세포외 유출로 lamellar lipid가 “roll up” 형태를 보이며 부착반을 관찰할 수 있었다 (Fig. 19A).

UVB 조사 후 0.5% 자초추출물 함유 에멀전 도포 48시간군에서는 층판소체의 분비증가 및 새로운 층판소체의 형성을 볼 수 있으나 일부에서는 지질 이중막이 분리됨이 관찰되었다 (Fig. 19B).

(4) 72시간

UVB 조사 72시간군에서는 과립층 전층에서 원형 또는 타원형의 층판소체가 관찰되며 미성숙의 층판소체가 증가되는 모습을 관찰할 수 있었다 (Fig. 20A). UVB 조사 후 0.5% 자초추출물 함유 도포 72시간군에서는 일부에서 지질 이중막이 정상적이며 규칙적으로 배열되어 있었으며, 새로운 층판소체의 합성과 분비가 관찰되었다 (Fig. 20B).

(5) 120시간

UVB 조사 120시간군에서 새로이 형성된 층판소체가 과립층과 각질층사이로 분비하며 부착반이 증가된 모습이 관찰되었다 (Fig. 21A). UVB 조사 후 0.5% 자초추출물 함유 에멀전 도포 120시간군에서는 이중지질막의 재배열이 현저하여 규칙적으로 배열되어 있었다 (Fig. 21B).

(6) 168시간

UVB 조사 168시간군에서 가피탈락함으로 각질층을 관찰하기 힘들었으며 부착반의 증가와 세포질내 tonofilament 응집이 관찰되었다 (Fig. 22A). UVB 조사 후 0.5% 자초추출물 함유 에멀전 도포 168시간군에서는 지질이중막 구조가 정상적으로 배열됨을 관찰할 수 있었다 (Fig. 22B).

이상의 결과로 UVB 조사로 인해 손상된 피부장벽에 0.5% 자초추출물 함유 에멀전을 도포함으로 피부장벽의 회복을 촉진시켰으리라 사료된다.

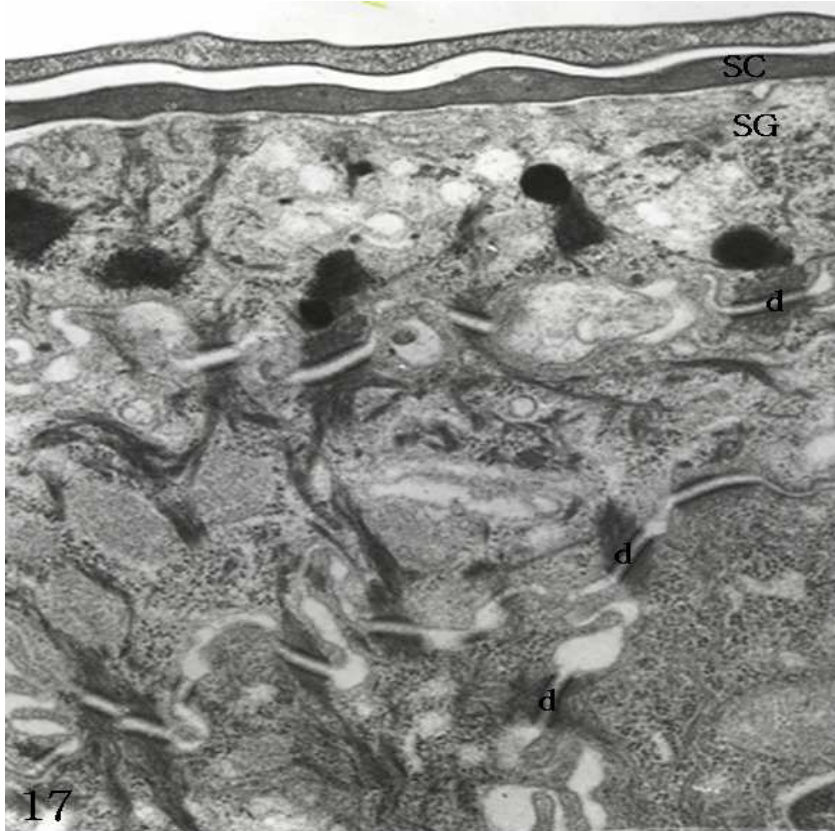


Fig. 17. A transmission electron micrograph of skin from control group. The intracellular spaces of the outer stratum corneum are filled with intact materials. SC:Stratum corneum, SG:Stratum granulosum, d:desmosome ,
× 16,000.

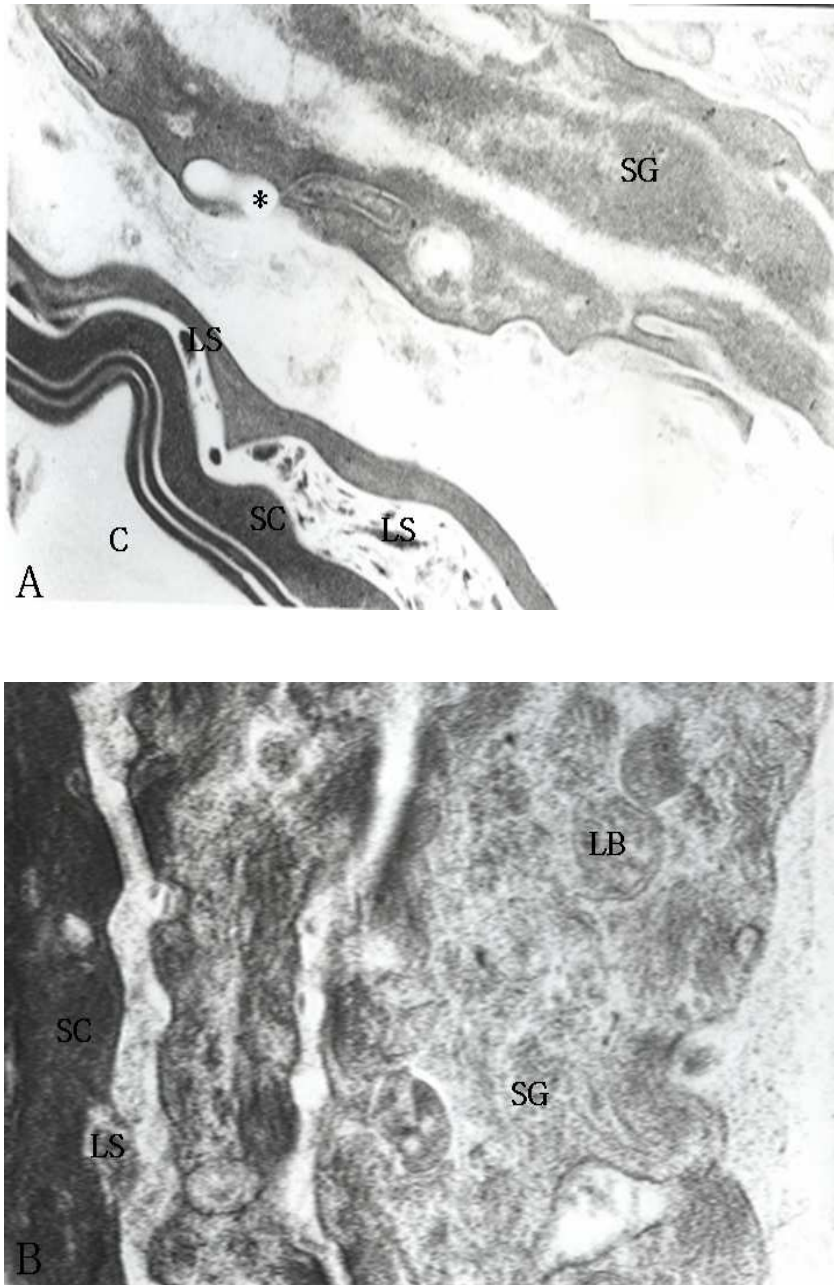


Fig. 18. A transmission electron micrograph of skin from 24 hrs group.
A: UVB group, $\times 28,000$. B: UVB + *Le* group, $\times 28,000$.
SC:Stratum corneum, SG:Stratum granulosum, LS:Lamellar stack.

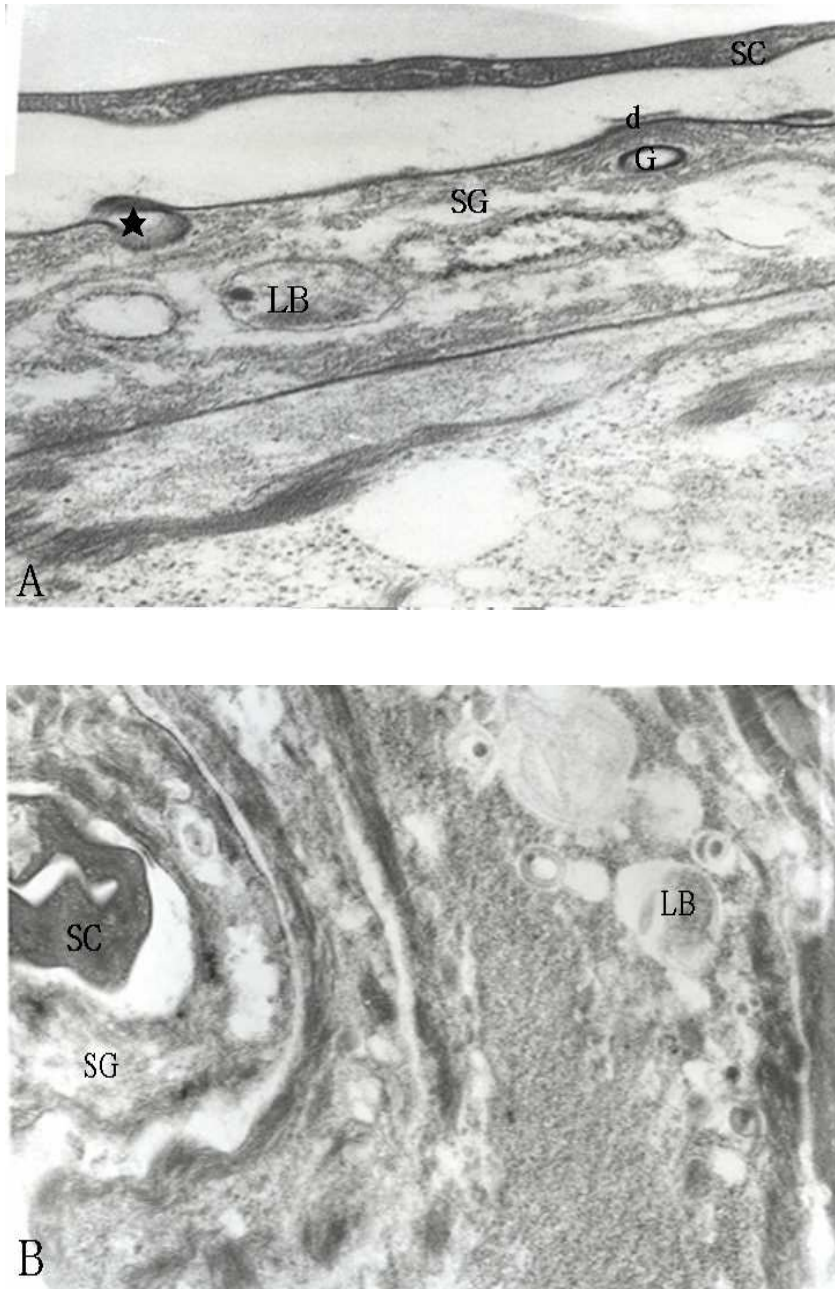


Fig. 19. A transmission electron micrograph of skin from 48 hrs group.
 A: UVB group, $\times 28,000$. Lipid bilayer are impaired, fragmented or partially absent. Lamellar body “roll up” (★). B: UVB + *Ze* group, $\times 16,000$. Formation and secretion of new lamellar bodies. SC:Stratum corneum, SG:Stratum granulosum, LB:Lamellar body, d:desmosome, G:Granulosum.

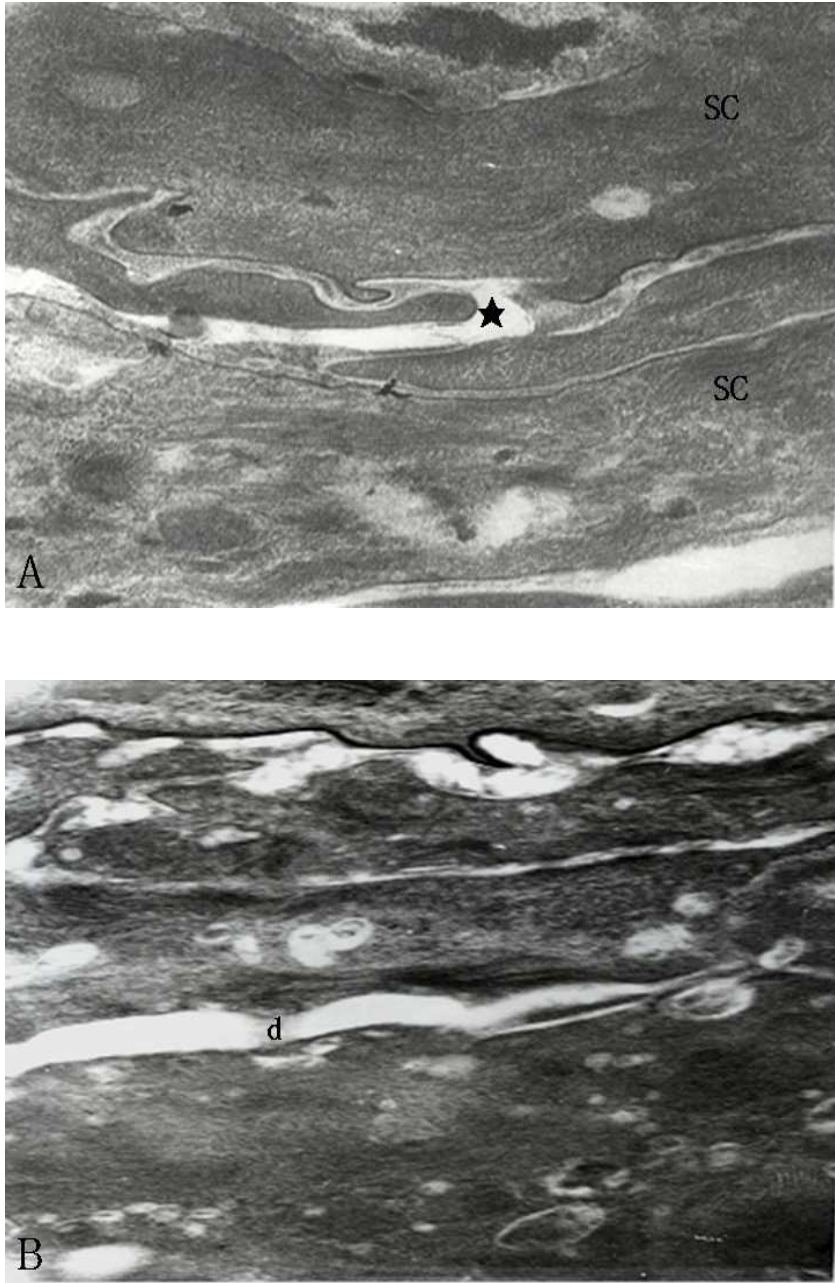


Fig. 20. A transmission electron micrograph of skin from 72 hrs group.
A: UVB group, $\times 28,000$. Reflecting a lack of secretion of lamellar body contents(★). B: UVB + *Le* group, $\times 20,000$. d:desmosome.

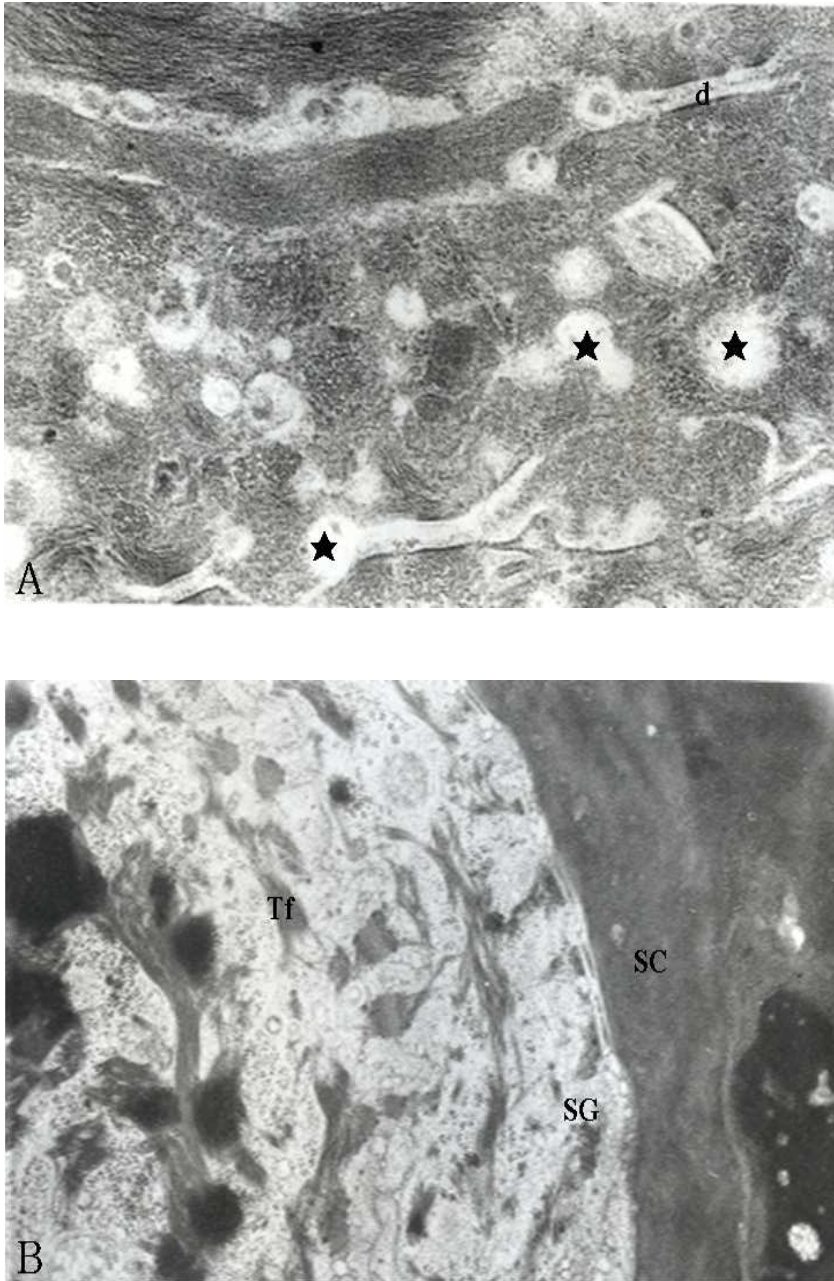


Fig. 21. A transmission electron micrograph of skin from 120 hr group.
 A: UVB group, $\times 8,800$. Lamellar bodies were empty(★). B: UVB +
Le group, $\times 16,000$. Return to lipid to SC. SC:Stratum corneum,
 SG:Stratum granulosum, Tf: Tonofilament.

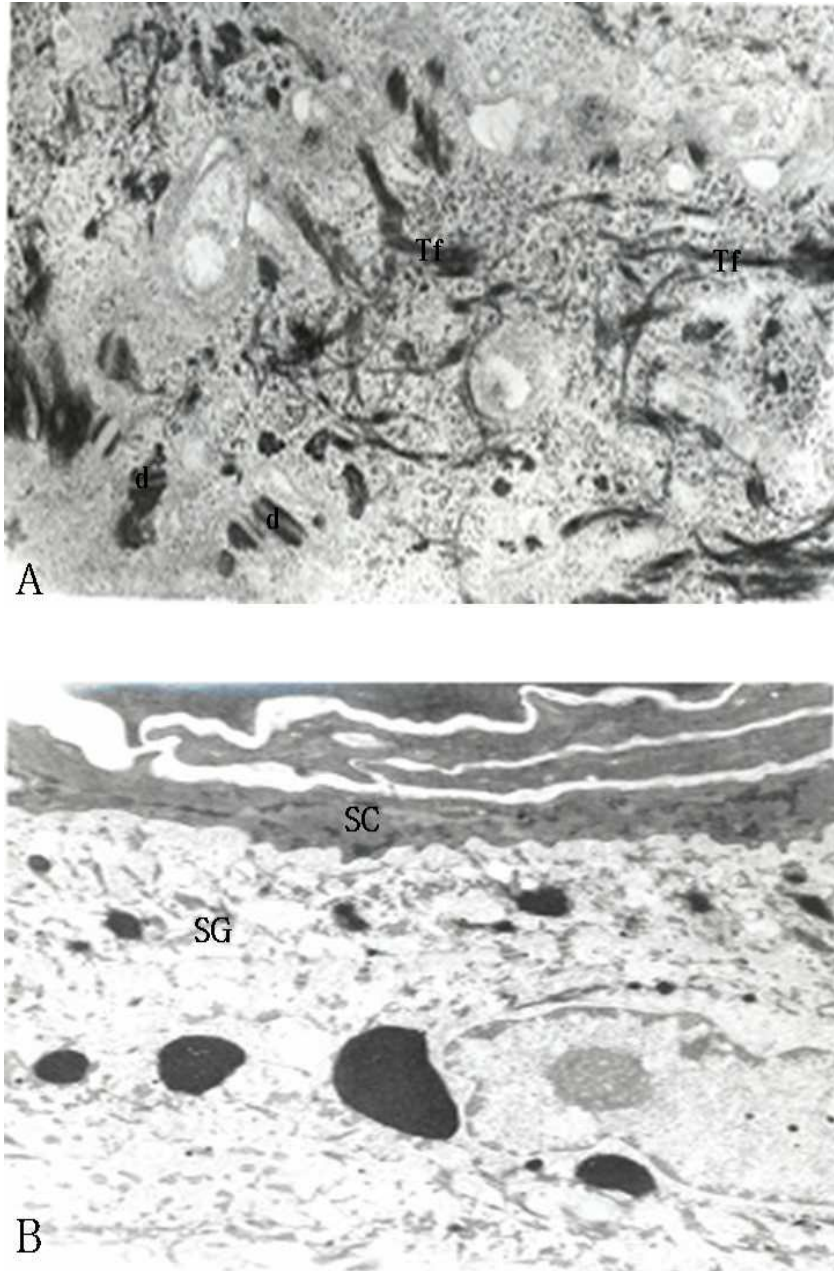


Fig. 22. A transmission electron micrograph of skin from 168 hrs group.
A: UVB group, $\times 20,000$. B: UVB + *Le* group, $\times 5,300$.
Barrier repair is complete.

IV. 고찰

피부장벽의 기능을 주로 담당하는 각질층은 피부의 최외각에 존재하며 편평한 모양의 각질세포가 여러 층으로 이루어진 것으로서, 수분증발을 억제하며, 외부 환경으로부터 인체를 보호하는 기능을 수행한다. 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 이루어지며 이중 특히 지질은 장벽의 주된 역할을 담당한다 (Elias *et al.*, 1977; Alan *et al.*, 1994).

피부장벽은 각질층 내 여러 층의 친지성 막구조를 보이는 각질세포간 지질이 담당하고, 이 각질세포간 지질은 주로 세라마이드, 콜레스테롤, 자유 지방산으로 구성되며, 각질층과 과립층 사이에서 분비되는 층판소체의 지질에서 유래된다.

피부 표면 지질 중 각질 세포간 지질은 피부투과장벽의 생성과 유지에 있어 중요한 기능을 담당하며, 피부를 통한 체액과 전해질의 과도한 손실을 억제함으로써 표피의 건조를 막고, 표피가 정상적인 생화학적 대사를 할 수 있는 환경을 제공하며, 외부의 물리적 손상과 화학물질로부터 인체를 보호하고, 세균, 곰팡이, 바이러스 등이 피부로 침범하는 것을 방지하는 역할을 하며, 외부물질의 흡수와 투과를 제어하는 장벽 기능에서 중요한 역할을 수행한다. 또한 장벽 기능 외에도 각질층 내의 각질세포의 결합과 정상적인 탈락 과정에도 관여한다 (Landmann, 1986; Wertz *et al.*, 1989; Rawlings *et al.*, 1994; 이 등, 1999).

UVB는 주로 일광화상세포와 같은 표피에 변화를 일으킨다. 급성노출시 피부홍반, 열, 부종, 통증, 그리고 소양증이 일어나고, 그 후 피부에 색소침착이 일어나고 표피가 비후되는 현상이 나타나며 만성적으로 노출되면 피부의 노화와 육종형성을 유발한다. 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 여가활동

의 증가로 인해 노출 또한 늘어 자외선으로 인한 피부손상이 증가될 것으로 예상되고 있다 (윤, 1995).

최근에는 다양한 분야에서 자외선에 의한 피부손상 및 광노화를 예방하거나 치료할 수 있는 물질을 개발하려는 노력이 진행되고 있으며 여러 가지 환경요인으로 피부질환이 많이 발생한다. 특히 피부장벽 파괴로 인한 아토피환자들이 많이 발생함에 따라 개선을 위한 다양한 연구가 진행되는 가운데 자초추출물을 이용한 연구가 진행되고 있으나 아직은 미흡한 실정이다.

본 연구에서는 800 mJ/cm² 광량의 UVB를 제모한 마우스 배부에 조사한 후 0.5% 자초추출물 함유 에멀전을 도포한 군과 도포하지 않는 군으로 나누어 경표피수분손실량, 멜라닌 양, 홍반 지수, 항산화 효소 활성도, 조직학적 관찰로 광학현미경과 전자현미경을 통해 비교 관찰하였다.

피부장벽대 지질이 여러 가지 용매에 노출되거나 테이프에 의해 일부분에 자극을 일으키는 물질에 노출되면 각질층의 손상과 함께 경표피수분손실량 (transepidermal water loss : TEWL)이 증가하게 된다 (Van der valk *et al.*, 1990; 민, 1995; 윤 등, 1995; 최 등, 1997; Feingold, 1997; Hildebrandt *et al.*, 1998; 안 등, 1998; 신 등, 2000; 이 등, 2004; 박 등, 2005; 안 등, 2007).

각질층 지질 장벽대의 손상 후 공기 중에 노출시켰을 때 24시간까지는 유의하게 경표피수분손실 증가가 지속되었으나 48시간에 피부 장벽의 기능이 거의 대조군 수준으로 회복 (최 등, 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 완만한 증가 양상을 보이다가 도포 6~24시간 후의 경우 매우 완만한 회복이 관찰되었다 (안 등, 1998). 또한 임 등 (2006)의 연구에서는 태양광선과 유사한 파장을 방출하는 solar simulator를 이용하여 인위적으로 일광손상을 유발한 후 경표피수분손실량을 측정한 결과 24시간 경과 후 급격히 증가하다가 48시간이 경과하면서 회복되기 시작하였고 7일이 경과하면서 정상으로 회복되었다. 본 연구에서 0.5% 자초추출물 함유 에멀전 도포 168시간(7일) 군에서 control군에 유사하게 회복된 결과를 나타냈다.

저용량의 UVB를 반복조사한 군에서의 경표피수분손실량의 측정치가 각 시점에서 감소하는 양상을 보였지만 통계적 유의성은 없었고, 반복조사한 군에서는 측정 7일째에 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 (윤 등, 1995). 본 연구에서는 800 mJ/cm²의 광량을 조사하여 24시간 군에서 경표피수분손실량이 가장 높게 나타났으며 시간경과에 따라 감소하였으나 168시간에 완전한 회복을 보이지는 않았다. 그러나 UVB 조사 후 0.5% 자초추출물 함유 에멀전을 도포한 결과 UVB 군에 비해 모든 군에서 경표피수분손실량이 낮게 나타났으며 특히 168시간 군에서는 control군의 수준으로 회복되어 임 등 (2006)의 연구결과와 같으며 회복률의 차이는 UVB의 광량에 따라 경표피수분손실량의 증가와 감소률이 다소 차이를 보이며 0.5% 자초추출물 함유 에멀전의 도포로 회복률을 촉진시킨 것으로 사료된다.

무모생쥐에서 아세톤과 같은 비극성 용매를 사용한 경우, 장벽과괴 직후의 초기 단계 (장벽손상 직후~30분)에는 경표피수분손실의 회복이 거의 나타나지 않으며 (10% 이하), 중간 단계 (3~6시간)는 급격한 회복 (60~70%)을 나타내고, 후기 단계 (6~24시간)에는 다시 완만한 회복률을 나타내며, 피부장벽 손상 후 약 24시간 후에는 85~98% 회복률을 보인다 (이 등, 1999; Kitamura *et al.*, 2002; 이 등, 2004; 안 등, 2007). 사람의 경우 전체적으로 유사한 경향성을 나타내지만, 회복속도는 비교적 늦다. 즉 손상 후 6시간뒤에 50~60% 회복률을 보이며, 완전히 회복되는 데에는 5~6일이 소요된다 (Ghadially *et al.*, 1992; 신 등, 2000; 조 등, 2006).

인체의 경표피수분손실량은 나이가 들에 따라 큰 변화는 없으나 연령 및 성별에 따른 경표피수분손실량을 측정된 결과 청년층보다 노년층에서 경표피수분손실량이 낮게 나타났고 (Ghadially *et al.*, 1995; 원 등, 1999), 24~65세의 건강한 피부에 cellophane-tape stripping에 의해 피부손상을 유발한 후 경표피수분손실량을 측정된 결과 경표피수분손실량이 점차 증가되었으며 (Van der valk *et al.*, 1990) 알레

르기성 접촉피부염을 유발시킨 뒤 일정한 반응이 나타난 경우를 대상으로 연령에 따라 경표피수분손실량을 비교한 결과 노화에 따라 경표피수분손실량이 높게 나타났다 (방, 2002). 민 등 (1996)은 피부 표면 온도의 변화와 diffusion chamber내의 온도 변화에 따른 경표피수분손실 및 피부장벽 회복률의 변동을 보고자 in vivo에서 외부온도를 바꾸거나 전신마취를 시켜 피부 표면 온도를 변화시킨 신생 흰쥐를 이용하여 tape stripping후의 장벽회복률을 측정하였고, in vitro에서 diffusion chamber의 온도변화에 따른 경표피수분손실의 변동을 조사한 결과 실험온도가 증가할수록 피부 표면 온도는 유의하게 증가하였으며 전신마취군보다 마취하지 않은 군에서 피부표면온도가 유의하게 낮았다. 또한 피부장벽 회복률의 변화는 마취를 하지 않는 군에서 6시간부터 48시간사이에서 실험온도가 높을 때 장벽 회복률이 높아지는 경향을 보였고 전신마취를 유지한 군에서는 2.5시간부터 24시간사이에서 실험온도가 높을때 피부장벽 회복률이 높아지는 경향을 보였다. in vitro 실험에서는 diffusion chamber내의 온도변화에 따라 정상대조군과 용매처치군 모두에서 피부표면 온도가 증가함에 따라 경표피수분손실량이 증가하는 결과를 얻어 본 연구에서와 같은 양상을 나타냈으나 다소 다른 경표피수분손실량을 나타내는 것은 온도, 습도, 피부표면 등 여러 가지 인자에 의해 영향을 받는다는 Pinnagoda *et al.* (1990), 민 (1995), 원 등 (1999)의 연구결과와 부합된다.

자초뿌리로부터 유용성 물질을 추출, 분획하여 tyrosinase 프로모터를 지닌 B16 mouse melanoma cell에 처리한 결과 10 µg/mL의 농도에서 약 33% 이상의 tyrosinase 프로모터 활성 억제효과를 나타내었으며, 세포활성능이 100 µg/mL의 농도에서 약 108%로 매우 안전하였다. 또한 멜라닌 색소의 생성능은 크게 감소하는 결과를 얻어내어 멜라닌 생합성 억제효과를 나타냈으며 (이 등, 2005), 임 등(2006)에서는 자외선 조사 3일 경과 후부터 증가하기 시작하여 7일 경과 후 최대값을 보이다가 14일 경과하면서 점차 회복되는 양상을 보였다고 보고하였다. 또한 박 등(1997)은 UVB 조사 7일후의 melanin value는 광량이 증가할 수록 통계적으로 유의하게 증가되었다고 보고하였다 (김 등, 1988; 김과 윤, 1988; 이, 1992; 조, 1996; 박, 1998; 배, 2002). 그러나 본 연구에서는 Mexnmeter MX18 (Courage + Khazaka, Germany)을 이용하여 멜라닌 양을 측정한 결과 UVB 조사군은 시간 경

과에 따라 control군에 비해 높게 나타났으나 통계학적으로 72시간군 (603.78 ± 99.66)과 120시간군 (630.56 ± 69.35)에서만 유의성이 있게 높게 나타났다 ($p < 0.05$). UVB 조사 후 0.5% 자초추출물 함유 에멀전 도포군에서는 시간 경과에 따라 control군보다는 높게, UVB 조사군에 비해서는 낮게 나타났으나 통계학적으로 유의성은 없게 나타났다 ($p > 0.05$). 이는 UVB 조사로 인해 멜라닌 양은 높게 나타났으나 0.5% 자초추출물 함유 에멀전의 도포가 멜라닌 양에는 크게 영향을 주지 않는 것으로 사료된다.

녹차추출물을 함유한 보습제와 1% hydrocortisone 국소 부신피질 호르몬제가 자외선으로 유도된 홍반반응에 대한 항염증효과를 평가한 결과 녹차추출물을 함유한 보습제를 도포한 부위에서는 홍반지수가 48시간까지 증가하다가 72시간째 감소하는 경향을 보이는 반면, 1% hydrocortisone 도포 부위는 72시간까지 홍반지수가 계속 증가하는 경향을 보여 보습제나 1% hydrocortisone 도포가 자외선 B로 유도된 홍반반응에 대해 염증을 억제하지 못하는 것으로 나타났다 (윤 등, 2003; 이, 2006). 그러나 본 실험에서는 24시간군에서 UVB 조사군은 243.38 ± 32.84 로 나타났고 0.5% 자초추출물 함유 에멀전 도포군은 188.20 ± 37.92 로 나타나 UVB 조사군에 비해 현저하게 낮게 나타났으며 시간경과에 따라 점점 감소하여 168시간군에서는 control군 수준으로 회복되었다. 이는 0.5% 자초추출물 함유 에멀전 도포가 UVB 조사로 나타난 초기 홍반반응에 대해 진정효과가 있다고 사료된다.

홍반반응을 나타내는 홍반지표는 24~48시간 경과 후 급격히 증가하다가 시간이 경과하면서 점차 감소하였고 (임 등, 2006), UVB에 의한 홍반반응은 조사 2~6시간 후에 나타나 24~36시간에 최고에 도달하며 72~120시간에 소멸되고 소멸 후에는 많은 색소침착을 남긴다고 보고하였다 (윤, 1995). 박 등 (1997)은 UVB 조사 24시간 후 각 광량에서의 홍반지수는 유의하게 증가하였다고 보고하였다. 본 연구에서는 UVB 조사로 24시간군에서 홍반지수가 가장 높게 나타났으며 48시간까지 비교적 높은 홍반지수를 나타내며 점차 감소되어졌고 색소침착의 변화는 관찰되지 않았고 0.5% 자초추출물 함유 에멀전 도포로 홍반지수를 감소시키는 결과를 나타냈다. 민 (1993)은 자초의 효능을 실험적으로 연구하여 약간의 해열효과가 있으나 유의성은 인정되지 않으며 항균효과는 *Shigella sonnei*에 대해서만 약간 인정됨으

로 진병과 소염효과가 인정되었으므로 각종 염증성 질환에 효과가 있음을 보고하였다. 본 연구에서도 0.5% 자초추출물 함유 에멀전 도포가 홍반지수를 현저하게 감소시킴으로 UVB로 나타나는 초기 염증반응에 대해 진정 및 항염증반응이 있는 것으로 사료된다.

민 등 (2005)은 부종과 화상 및 창상을 유발하여 자근과 치자 복합제제로 하이드로 겔을 제조하여 약 1.0 g을 취하여 hairless mouse 피부에 도포하여 12시간 후부터 부종억제효과가 나타나기 시작하여 48시간까지 그 효과가 지속되었다. 화상 및 창상 실험에서는 대조군에 비해 도포군에서의 상처크기가 현저하게 작아지는 결과를 관찰하였다. 본 연구에서도 UVB를 조사하여 피부손상을 유발한 뒤 0.5% 자초추출물 함유 에멀전을 약 0.2 g씩 도포한 결과 24시간군에서 UVB 조사군보다 0.5% 자초추출물 함유 에멀전을 도포한 군에서 부종현상이 완화되었으며 상처가 작아지며 피부회복이 촉진되는 것이 관찰되어져 같은 양상의 결과를 보였다.

400 mJ/cm² 광량의 UVB를 정상마우스의 배부에 1회 자외선 조사 후 96시간에 진피에서의 염증정도와 표피에서의 화농정도가 가장 심하게 나타났으며 144시간에 표피와 진피가 거의 정상적인 상태로 치유되는 것을 관찰하였고 자외선 조사 후 라벤더오일을 도포한 군에서는 24시간과 96시간에서 대조군보다 염증반응이 유의하게 낮게 나타났다 (이, 2005). 본 연구에서 800 mJ/cm² 광량의 UVB를 조사하여 24시간군에서 염증정도가 심하게 나타났고 48시간까지 반응이 지속되었으며 0.5% 자초추출물 함유 에멀전 도포군은 UVB 조사군 보다 염증정도가 유의하게 낮게 나타났으며 168시간군에서 control군과 유사하게 회복되어진 것이 관찰되어져 이 (2005)의 연구와 비슷한 양상을 나타냈으나 UVB의 광량에 의해 피부손상도 및 회복율의 차이를 보이는 것으로 사료된다.

자외선 조사 후 피부에 일어나는 다양한 임상적 및 형태학적 변화를 일으키는 피부 세포내의 생화학적 변화에 대해서 많은 보고가 있으며, 이러한 변화를 일으키는 생화학적 기전에 대해 많은 연구가 되고 있다 (Hanwalt *et al.*, 1979). 그 중에 가장 중요한 잘 알려진 반응으로는 자외선에 노출 시 공기 중의 산소로부터 생성되는 것으로 알려진 활성산소가 피부조직 손상과 관련된 다양한 광생물학적 반응(photobiological reaction)을 일으키는 것으로 보고되고 있다 (Ohmori *et al.*,

1978; Yoshioka *et al.*, 1987; Sedwick *et al.*, 1981; 손, 1993; 박, 2007). 각종 원인에 의해 생성된 유해산소는 SOD에 의해 H_2O_2 로 전환되며 H_2O_2 는 다시 CAT에 의해서 물로 전환되어 유해산소 해독에 관여하는 것으로 알려져 있어 본 연구에서 유해산소 해독계 효소인 SOD, CAT를 측정하였다.

UVB 조사가 피부 SOD 활성을 저하시키나 (Miyachi *et al.*, 1987) 자외선에 만성적으로 노출시에는 오히려 SOD 활성이 증가함으로써 활성산소에 의한 조직손상을 막는 방어기전으로 역할을 한다 (Sugiura *et al.*, 1985; Kim *et al.*, 1988). 본 연구에서도 UVB 조사 24시간과 48시간에 SOD 활성이 증가되었다가 점차 감소되는 양상을 보였고 0.5% 자초추출물 함유 에멀전 도포로 인해 48시간부터 168시간까지 현저하게 감소한 결과를 나타냈다. 이는 UVB가 단파장으로 표피에 강하게 영향을 미치므로 SOD가 증가되며 0.5% 자초추출물 함유 에멀전 도포로 유해산소를 제거 시킴으로 점차 감소되는 것으로 사료된다. 400 mJ/cm^2 광량의 UVB를 정상마우스의 배부에 1회 조사한 후 SOD 활성은 UVB를 조사한 대조군과 라벤더오일을 도포군 모두 96시간까지는 정상군보다 유의하게 낮게 나타났으며 144시간에는 정상군과 유의한 차이가 없었다. 또한 CAT 활성은 UVB를 조사한 대조군과 라벤더오일 도포군 모두 96시간까지는 정상군보다 유의하게 낮게 나타났으며, 144시간에는 정상군과 유의한 차이가 없었다. 라벤더오일 도포군은 자외선 조사 후 24시간과 48시간에 대조군에 비해 유의하게 낮게 나타났다 (이, 2005). 강 (1997)의 연구에서는 0.15~10.8 J/cm^2 양의 UVB를 조사 후 약 16시간 후에 SOD는 비교적 안정된 활성을 보였고 국 등(1993)의 연구에서 catalase 효소활성은 조사된 자외선 양에 비례하여 유의하게 감소하였으며 SOD 활성은 자외선 조사량에 따른 차이는 없었지만 1000 mJ/cm^2 의 조사량으로 유의하게 증가되어 있었다. 본 연구의 결과와 비교해 볼 때 자외선의 조사량에 따라 SOD, CAT 활성이 증가되었다가 점차 감소되어 안정된 활성을 보이고 라벤더 오일보다 자초의 도포가 SOD 활성을 감소시켜주는 것으로 사료된다.

전 (2003)은 UVB 조사 전 catechin 섭취가 UVB 조사 후 피부 항산화 효소의 활성도와 피부조직에 미치는 영향을 관찰하고자 200 mJ/cm^2 의 광량을 조사하여 catechin 섭취군과 일반식이군의 SOD, CAT의 활성도를 측정한 결과 일반식이군에

서 SOD 활성은 UVB 조사 후 3시간부터 감소하기 시작하여 6시간 (12.8 ± 1.9)에서 가장 유의하게 감소하였으며, 이후 48시간 (14.1 ± 2.6)까지 지속적으로 감소된 수준을 보였으나 통계적 유의성은 없었다. 그러나 catechin 식이군의 SOD 활성도는 자외선 조사 후 3시간 (18.4 ± 3.0)에서 급격하게 증가하였으며, 이후 감소하기 시작하여 48시간 (15.0 ± 0.7)에 조사 전 수준으로 돌아왔다. UVB 조사 전 catechin 섭취군의 SOD 활성도는 일반식이군보다 낮았으나 통계적 유의성은 없고, 조사 후 3시간과 6시간에서는 일반식이군의 활성도보다 유의하게 높았다. UVB 조사 후 일반식이군의 CAT 활성도는 조사 후 3시간 (10.7 ± 1.3)에서 급격히 감소하였으며, 48시간 (10.7 ± 1.2)까지도 활성도는 계속 감소된 상태였다. Catechin 식이군은 UVB 조사 후 3시간 (14.5 ± 1.5)에서 CAT 활성도가 유의하게 증가하였으나, 48시간에서는 조사 전 수준보다 감소하였다. UVB 조사 전 catechin 식이군의 CAT 활성도는 일반식이군보다 유의하게 낮았으나 조사 후 3시간에서는 일반식이군보다 유의하게 높았다고 보고하였다. 본 연구에서 0.5% 자초추출물 함유 에멀전 도포로 CAT 활성이 높았다가 120시간과 168시간에 유의하게 감소한 결과를 나타내어 전 (2003)의 연구와 비슷한 양상을 나타냈다.

생쥐 백혈병 세포인 L1210세포에 자극을 첨가하여 SOD, catalase, glutathion peroxidase 효소활성을 측정해본 결과 SOD 활성변화가 거의 없으며 catalase와 glutathion peroxidase는 분획 모두에서 매우 큰 활성을 보였는데 특히 catalase는 미토콘드리아 분획에서 대조군에 비해 45배정도, 세포질 분획에서 50배 정도의 활성증가를 보였다 (김, 1999). 본 연구에서는 UVB 조사군의 SOD는 24시간군, 48시간군, 72시간군에서 각각 30.41 ± 2.18 , 26.38 ± 6.52 , 25.31 ± 2.80 으로 나타났으며 0.5% 자초추출물 함유 에멀전 도포군은 25.32 ± 11.23 , 22.32 ± 3.64 , 20.12 ± 13.00 으로 나타났으며, CAT 활성은 120시간군과 168시간군에서 UVB 조사군은 5.44 ± 1.49 , 5.21 ± 1.01 , 0.5% 자초추출물 함유 에멀전 도포군은 5.30 ± 0.97 , 4.10 ± 3.96 으로 나타나 김 (1999)의 연구와 반대의 결과를 나타냈다.

신 (2002)은 아로마 처치를 통하여 rat의 피부에서 정상 및 UVB를 조사한 rat 등쪽 피부에 라벤더 오일, 레몬 오일, 버가못 오일을 72시간동안 처치한 후 조직학적 소견에서는 향 처치와 UVB 조사에 의해서 피부의 표피 바닥층의 세포가 증식

되었고 표피의 상층부에서 각질세포가 많이 증가되었다고 보고하였으며 윤 (1995)의 연구에서 자외선 조사는 표피의 두께를 증가시켜 피부의 지속적인 자외선에 대한 내성을 증가시키며 인체에서 UVB 조사 후 1주~3주내에 유극층은 2배, 각질층은 1.5배~3배 정도 두께가 증가하게 나타났다. Kim *et al.* (2006)의 연구에서는 자초추출물 식이공급으로 표피의 이상증식을 억제한 결과를 나타냈다. UVB 조사 후 일반식이군에서는 조사 후 6시간에 표피의 두께가 다소 감소되었고, 24시간에는 표피층이 더욱 얇아지며 일광화상 세포들이 다수 관찰되었다. 조사 48시간 후에는 대부분의 표피세포들이 괴사되었으며, 표피두께의 상당한 감소가 관찰되었다. Catechin식이군은 UVB 조사 24시간 후 표피두께의 증가가 보였으며, 48시간 후에는 과형성 (hyperplastic change)의 소견을 보여 본 연구 결과와 같은 양상을 나타냈으며, UVB 조사군에서 표피 과각화증 및 표피세포의 비후가 현저하게 나타났고 초기에 표피세포 괴사 및 세포핵의 경한 증대가 관찰되었다 (한, 1985; Carolyn *et al.*, 1989; Haedersdal *et al.*, 1997). 본 연구에서도 UVB 조사 72시간군부터 표피층이 증식되면서 120시간까지 표피의 두께가 증가하였다가 168시간군에서는 약간 감소하는 결과를 나타내 신 (2002)과 윤 (1995)의 연구와 같은 결과가 나타났고, 필수 지방산 결핍을 유발한 후 6% 자초유가 함유된 식이를 8주간 공급한 결과 70.4%의 표피의 이상 증식을 억제하는 효과가 있다고 하여 (정, 2002) 본 연구에서도 시간이 경과함에 따라 UVB 조사군보다 0.5% 자초함유 에멀전 도포군이 표피 이상 증식을 억제함으로써 피부의 재생을 촉진시켜준 것으로 사료된다.

자외선 조사 후 관찰될 수 있는 가장 대표적인 조직 병리소견은 일광화상세포이다. 일광화상세포의 발생은 자외선의 파장과 광량 그리고 time course에 따라 차이를 보이는데, 이들은 주로 260~290 nm의 UVB에 의하여 발생한다. 생쥐에서 80 mJ/cm²을 조사 후 대략 5시간부터 관찰되기 시작하여 24시간 후 최대를 형성하고 (Woodcock과 Magnus, 1976) 사람에서 24시간 후부터 관찰되고 72시간 후에 최대로 관찰된다 (Rosario *et al.*, 1979). 국내에서는 조 등 (1986)의 보고에 의하면 ICR haired mouse에 80 mJ/cm² 조사후 24시간후에 대략 1 cm길이의 표피당 57개의 일광화상세포를 관찰하였다. 또한 국 등 (1993)은 표피 일광화상세포 출현을 관찰하고 자 각 실험군에 120 mJ, 240 mJ, 500 mJ, 1000 mJ의 UVB 조사 24시간 후 관찰한

결과 60 mJ의 조사에서부터 일광화상세포가 관찰되었으며 조사량의 증가에 따른 일광화상세포 수의 증가를 관찰하였다. 이 (2005)의 연구에서도 마우스 등쪽 피부에 0.5 mW/sec의 강도로 200 mJ/cm² 조사 후 일광화상세포의 정량을 측정된 결과 일광화상세포는 조사 3시간 후부터 나타났으며 6시간 후에는 급격히 증가하고 12~24시간까지 비슷한 수준의 최고치를 나타내며 30시간 이후에 감소되었다고 보고하였다. 김 등 (2005)은 hairless mouse에 UVB 조사 후 시간 경과 및 조사용량별 일광화상세포의 형성변화와 녹차투여의 효과를 관찰하고자 UVB 200 mJ/cm² (0.5 mW/sec)을 조사하고 0, 3, 6, 12, 18, 24, 30, 36시간 후에 변화를 관찰한 결과, 조사 후 3시간부터 일광화상세포가 관찰되었고 24시간까지 증가되다가 30시간부터 감소하였다.

본 연구에서는 지금까지의 보고에 근거하여 일광화상세포의 형성이 최고에 도달한다고 사료되는 조사 후 24시간부터 측정하였다. UVB 조사군은 24시간부터 일광화상세포가 관찰되어 120시간까지 드물게 관찰되었으나 0.5% 자초추출물 함유 에멀전 도포군에서는 48시간에서 나타나 120시간에 소멸되어진 것을 관찰할 수 있었다. 이는 0.5% 자초추출물 함유 에멀전 도포가 자외선 조사 후 나타나는 초기 흥반 반응에 대해 유효하게 작용한 것으로 사료되어진다.

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 fibrin network가 형성되기 시작하여 1주일에는 fibrin network가 발달되었으나 2주일에는 부정형의 요철이 심한 가피로 변화하였다고 보고하였다 (이 등, 1989). 함 (1992)의 보고에서는 건선 피부 환자의 피부표면을 주사현미경으로 관찰한 결과 주름선은 상응하는 정상인의 피부에서는 관찰되었으나 건선 환자의 병변부위에서는 주름선을 관찰할 수 없었고, 표면도 정상 각질층에서 보는 미세주름은 볼 수 없었고 아주 불규칙한 판상 모양의 중첩된 표면을 보였다. 본 연구에서 UVB 조사군은 시간경과에 따라 각질의 탈락현상이 나타나며 매우 건조함으로 피부표면의 요철 현상과 갈라짐과 많은 미세한 주름들이 관찰되었고 0.5% 자초추출물 함유 에멀전 도포군은 습윤효과와 가피형성으로 피부재생이

촉진됨을 관찰할 수 있었다. 김 (1994)은 자연적으로 아토피 피부염이 발병하는 아토피 동물모델 NC/Nga mice와 정상 BALB/c mice에 자초추출물을 동결건조하여 얻은 분말을 첨가하여 10주간 식이공급 하였다. 그 결과 자초추출물 공급한 실험군에서 ceramide의 함량과 천연보습인자의 역할을 하는 serine의 함량을 증가시켜 아토피피부염에서의 피부 건조화를 감소시키는 역할 (피부장벽의 개선 효과)로 앞으로 피부관련 건강 기능성 식품 개발 소재로서 가능성이 있을 것으로 보고하였다. 본 연구에서도 0.5% 자초추출물 함유 에멀전을 도포함으로 피부에 습윤효과를 가져와 피부회복률을 촉진시킨 결과를 가져와 김 (1994)의 연구보고와 같은 결과를 얻어 피부장벽의 개선 효과가 있으리라 사료된다.

피부장벽이 급격히 손상되면 즉각적인 회복과정이 시작되는데, 초기 단계의 회복은 과립층 내에서 기존에 만들어져 있는 층판소체의 분비, 콜레스테롤과 자유지방산 합성의 증가, 새로운 층판소체의 형성과 분비의 과정으로 일어난다 (Feingold, 1997; 이 등, 1999; 이 등, 2004).

각질층 지질 장벽대의 손상 후 공기 중에 노출시켰을 때 전자현미경적 소견으로 각 용매 처치 후 각질층 지질의 소실과 그로 인한 극세포층과 과립세포층에서의 층판소체 감소를 관찰하였으며 (최 등, 1997), UVB 조사 후 피부조직의 표피 각화세포의 전자현미경적 관찰에서 핵 주위 부종과 그 주변부에서 tonofilament의 응집, 세포질내의 많은 공포를 관찰하였다 (한 등, 1986). Soter (1990)는 정상적인 인간의 피부에 UVB를 조사 후 나타나는 현상으로 피부표면에서의 keratinocytes의 손상, langerhans cell의 감소, 세포부종, 내세포의 비대화, 정맥주위부종, mast cell의 과립구 파괴, 단핵구의 증가를 보고하였다. 또한 안 등 (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. 0.5% 자초추출물 함유 에멀전 도포 168시간에서는 control군과 같이 피부장벽 회복이 이루어져 안 등 (1998), 이 (2004), Feingold (1997), Fartasch *et al.* (1993), Imokawa *et al.* (1989)의 연구보고와 같은 결과를 얻었다.

층판소체내의 지질은 내부에 작은 판으로 압축되어 있다가 과립층과 각질층이 인접하는 곳에서 세포간격으로 분비된다. 분비된 다음에 판들이 펴지고 길어지기 시작하여 가수분해 효소의 작용에 의해 각질층의 중간부위에서는 편평하고 넓은 세포간 층판구조상의 구조 (intercellular lamellar sheets)를 나타낸다. 피부장벽 기능을 유지하는 데에는 반복적인 소수성과 친수성 층판으로 구성된 이러한 세포간 층판구조가 가장 중요한 역할을 수행함이 알려져 있다.

피부장벽 손상 시 이미 형성된 층판소체의 즉각적인 분비, 새로운 층판소체의 즉각적 생성, 미성숙한 층판소체의 분비 증가, 세포외로 분비된 극성지질 전구체의 비극성생산물로의 전환과정등이 성숙한 층판 이중구조의 재형성을 유발한다는 여러 실험결과와 같이 본 연구에서도 피부장벽 손상이 층판소체의 분비증가를 유도함을 확인하였다 (Wilgram *et al.*, 1970; Madison *et al.*, 1987; Menon *et al.*, 1992; Mao-Qiang *et al.*, 1993; Aszterbaum *et al.*, 1993; Fartasch, 1997; Elias *et al.*, 1977; Melon & Ghadially, 1997; Leyden *et al.*, 2002; Zhai *et al.*, 2002; 임 등, 2006; Carlos *et al.*, 2007).

피부각질층은 수분손실억제와 경피흡수를 조절하는 2-way barrier로 작용하여 경표피수분손실량과 외부물질의 경피흡수는 밀접하게 연관되고, 본 연구에서도 경표피수분손실량이 증가한 경우 lacunae 확장이 뚜렷하고 각질세포간 지질이중구조가 더욱 많이 손상된 모습을 보이고 경표피수분손실량이 정상화되면 다시 정상화됨을 보여 이 부위들이 경피흡수의 경로로 사용될 수 있음을 추측할 수 있었다.

이상의 모든 실험결과와 문헌상의 자료들을 종합해 볼 때 자외선에 의한 피부손상 시 자초추출물 함유 에멀전을 도포할 경우 표피각질세포의 손상을 적게 하고 진피조직에서의 염증반응을 완화시키는 효과가 있다. 또한 유해산소 제거에 효율적

이고, 피부장벽의 회복률을 촉진시키는 것으로 사료되어 UVB 조사에 의한 피부손상 시 자초추출물을 사용하는 것은 보건학적 및 대체의학적인 측면에서 유효할 것으로 생각된다.

본 연구에서는 자초추출물의 피부도포를 위해 에멀전 형태로 만들어 사용하였으므로 다른 성분과 함께 상승작용한 것으로 사료된다. 현재, 자초의 독성에 대해 아직 논란이 되고 있는 실정이므로 향후 자초추출물을 이용하여 제품화하기 위한 적합한 농도를 찾기 위한 추가 연구가 필요하며, 민간에서 알려진 자초에 대한 여러 가지 유효성을 검증하기 위해 더 많은 연구가 필요하리라 사료된다.

V. 결론

본 연구는 UVB 조사로 인해 손상된 피부에 있어서 자초추출물의 유효성을 검증하기 위해 시도되었다. 무게 18 g 내외의 생후 6주령된 제모한 C57BL 마우스를 대상으로 control군 (A group), 800 mJ/cm² 광량의 UVB 조사군 (B group), UVB 조사 후 0.5% 자초추출물 함유 에멀전 도포 군 (C group)으로 구분하여 24시간, 48시간, 72시간, 120시간, 168시간의 시간대별로 피부장벽의 변화, 조직학적 변화 및 항산화 효소 활성도를 관찰함으로써 UVB 조사로 인한 피부손상 완화에 대한 자초의 유효성을 검증하고자 실험을 실시하였다.

경표피수분손실량 (TEWL)을 측정한 결과, C group이 B group 보다 시간이 경과함에 따라 TEWL이 감소하였다. 특히 168시간군에서 유의하게 낮게 나타났다 ($p < 0.05$).

멜라닌 양 (melanin value) 측정 결과, C group 이 B group 보다 낮게 나타났으나 통계학적으로 유의성은 없게 나타났다 ($p > 0.05$).

홍반 지수 (Erythema index) 측정 결과, C group 24시간, 48시간, 72시간군에서 B group 보다 유의하게 낮게 나타났다 ($p < 0.05$).

SOD 활성 측정 결과, C group 48시간, 120시간, 168시간군에서 B group 보다 현저하게 낮게 나타났다 ($p < 0.05$).

CAT의 활성 측정 결과, C group 120시간과 168시간에서 B group 보다 감소하였으나 유의성은 없게 나타났다 ($p > 0.05$).

광학현미경적 관찰 결과, B group 24시간군에서 진피조직에 급성염증 반응과 일광화상세포가 나타나며 72시간군과 120시간군에서 표피의 과증식과 과과립층, 과각화현상이 나타났으며 168시간군에서는 표피증식이 120시간군보다 약간 억제되었다. C group 24시간군에서 진피조직에 염증반응 B group 보다 완화되었으며, 72시간, 120시간, 168시간군에서 표피의 이상증식억제효과를 나타내어 특히 168시간군에서 control군 수준까지 회복되었다.

주사전자현미경적 관찰 결과, B group 24시간군에서 표피표면이 팽윤되고, 48시

간군에서는 피부표면이 건조, 72시간군에서는 불규칙한 판상을 가지며 미세한 주름들이 관찰, 120시간군에서는 가피형성, 168시간군에서 규칙적인 판상의 구조가 중첩되어 관찰되어 졌다. C group 24시간군에서는 B group 보다 팽윤현상이 완화, 48시간군에서는 가피형성, 72시간군에서는 규칙적인 판상구조, 120시간군에서 새로운 각질세포 생성, 168시간군에서는 얇은 fibrin network로 덮혀 있는 것이 관찰되었다.

투과전자현미경적 관찰 결과, B group 24시간군에서는 지질이중막 손상, 층판소체 분비 증가가 나타나며, 48시간군에서는 층판소체의 세포외분출, 72시간군에서는 층판소체 증가, 120시간군과 168시간군에서는 새로운 층판소체 형성이 관찰되어 졌다. C group은 층판소체의 증가와 층판소체의 재형성이 B group 보다 모든 군에서 촉진되었다. 특히 168시간군에서는 지질이중막의 구조가 거의 회복되어 졌다.

이상의 모든 실험결과를 통해 UVB 조사로 손상된 생쥐 피부에 0.5% 자초추출물 함유 에멀전 도포는 경표피수분손실량의 감소와 홍반지수 감소, 피부 각질세포의 손상을 적게 하고 진피조직에서의 염증반응을 완화시키는 효과가 있는 것으로 확인되었다. 이는 SOD, CAT 활성이 감소됨으로 조직손상이 적게 나타나고 염증반응이 완화된 것으로 사료된다. 또한 피부장벽의 재생을 촉진시킨 결과를 나타냈다.

이와 같은 결과를 고려해 볼 때 UVB 조사에 의한 피부 손상시 0.5% 자초추출물 함유 에멀전 도포는 보건학적 및 대체의학적인 측면에서 유효할 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

- Abei, H.E.. "Catalase. in Methods of Enzymatic Analysis, eds." HU Bergmeyer, J Bergmeyer and M Graßl, 3rd ed. Vol. III. pp. 273, 1983.
- Alan, N., Moshell, M.D.. "Stratum corneum Moisturization at the Molecular Level." *J. Invest. Dermatol.* **103**: 731-74, 1994.
- Aszterbaum, M., Feingold, K.R., Menon, G.K., Williams, M.L.. "Glucocorticoids Accelerate Fetal Maturation of the Epidermal Permeability Barrier in the Rat." *J. Clin. Invest.* **91**:2703-2708, 1993.
- Beauchamp, C., Fridovich, I.. "Superoxide dismutase: Improved assays and applicable to acrylamide gels." *Anal. Biochem.* **44**:276-287, 1971.
- Bommanna, D., Potts, R.O., Guy, R.H.. "Examination of Stratum Corneum Barrier Function In Vivo by Infrared Spectroscopy." *J. Invest. Dermatol.* **95**:403-408, 1990.
- Bouwstra, J.A., Dubbelaar F.E.R., Gooris, G.S., Weerheim, A.M., Ponec, M.. "The role of ceramide composition in the lipid organisation of the skin barrier." *Biochimica et Biophysica Acta* **1419**:127-136, 1999.
- Bouwstra, J.A., Dubbelaar, F.E.R., Gooris, G.S., Ponec, M.. "The lipid Oranisation in the Skin Barrier." *Acta Derm Venereol supp* **208**:23-30, 2000.
- Carlos, E.N .de Araujo, Ribeiro M.S., Favaro, R., Zzell, D.M., Zorn, T.M.T.. "Ultrastructural and autoradiographical analysis show a faster skin repair in He-Ne laser-treated wounds." *J. Photochemistry and Photobiology B: Biology.* **86**:87-96, 2007.
- Carolyn, M., Willis, B.S., Catherine, J.M., Stephens, M.R.C.P., Wilkinson, F.R.C.P.. "Epidermal Damage Induced by Irritants in Man: A Light and Electron Microscopic Study." *J. Invest. Dermatol.* **93**:695-699, 1989.

- Chang, S.S., Ostric-Matojasevice B., Hsieholiver, A.I., Hyung, C.L.. " Natural antioxidants from rosemary and sage." *J. Food Sci* **42**:1102-1110, 1977.
- Cho, M.H., Paik, Y.S., Hahn, T.R.. " Physical stability of shilkinon derivatives from the roots of lithospermum erythrorhizon cultivated in Korea." *J. Agric. Food. Chem.* **47**:4117-20, 1999.
- Cho, M.H., Paik, Y.S., Hahn, T.R.. " Propionylshikinin from the roots of Lithospermum erythrorhizon." *Arch. Phaem. Res.* **22**:414-416, 1999.
- Christian, MM.. " Microresurfacing using the variable-pulse erbium:YAG laser: a comparison of the 0.5- and 4-ms pulse durations." *Dermatol Surg.* **29**:605-611, 2003.
- Denda, M., Koyama, J., Namba, R., Horii, I.. " Stratum corneum lipid morphology and transepidermal water loss in normal skin and surfactant-induced scaly skin." *Arch. Dermatol. Res.* **286**:41-46, 1994.
- Elias, P.M., Coerke, J., Friend D.S.. " Mammalian Epidermal Barrier Layer Lipids: Composition and Influence on structure." *J. Invest. Deramatol.* **69**:355-546, 1977.
- Elias, P.M., Cullander, C., Mauro. T., Rassner, U., Komuves, L., Brown, B.E., Menon, G.K.. " The Secretary Granular cell: The Outermost Granular Cell as a Specialized Secretary Cell." *J. Invest. Deramatol. symposium 3*: 87-100, 1998.
- Fartasch, M.. " Ultrastructure of the Epidermsl Barrier After Irritation." *Microscopy research and technique* **37**:193-199, 1997.
- Fartasch, M., Ponec, M.. " Improved Barrier Structure Formation in Air-Exposed Human Kerationcyte Culture Systems." *J. Invest. Deramatol.* **102**:366-374, 1994.
- Fartasch, M., Bassukas, I.D., Diepgen, T.L.. " Structural relationship between epidermal lolid lamellae, lamellar bodies and desmosomes in human epidermis: an ultrastructural study." *Brit. J. Dermatol.* **128**:1-9, 1993.

- Fartasch, M.. "Epidermal Barrier in Disorders of the Skin." *Microscopy research and technique* **38**:361-372, 1997.
- Feingold, K.R.. "Permeability Barrier Homeostasis: Its Biochemical Basis and Regulation." *Cosmetic & Toiletries* **112**:49-59, 1997.
- Feingold, K.R.. "The Regulation and role of epidermal lipid synthesis." *Adv. Lipid. Res.* **24**:57-82, 1991.
- Findley, W.M., Ulrich, H., Besch, P.K.. "Effects of Purified Lithospermic Acid and Its Oxidation Product on Luteinizing Hormone Release In Vitro." *Biology of Reproduction* **33**:309-315, 1985.
- Fitzpatrick, T.B.. "The Validity and Practicality of Sun-Reactive Skin Types I Through VI." *Arch. Dermatol.* **124**:869-871, 1988.
- Fulmer A.W., Gregory, J.K.. "Stratum Corneum Lipid Abnormalities in Surfactant-Induced Dry Scaly Skin." *The Society for Investigative Dermatology* **86**:598-602, 1986.
- Ghadially, R., Brown, B.E., Sequeira-Martin, S.M., Feingold, K.R., Elis, P.M.. "The Aged Epidermal Permeability Barrier: Structural, Functional, and Lipid Biochemical Abnormalities in Humans and a Senescent Murine Model." *J. clin. Invest.* **95**(5):2281-2290, 1995.
- Ghadially, R., Halkier-Sorensen, L., Elias, P.M.. "Effects of petrolatum on stratum corneum structure and function." *J. Am. Acad. Dermatol.* **26**:387-396, 1992.
- Haedersdal, M., Therkildsen, P., Bech-Thomsen, N., Poulsen, T., Wulf, H.C.. "Side Effects From Dermatological Laser Treatment Related to UV Exposure and Epidermal Thickness: A Murine Experiment With the Copper Vapor Laser." *Lasers Surg. Medicine.* **20**:233-241, 1997.
- Hammerschmidt, P.A., Pratt, D.E.. "Phenolic antioxidants of dried soybeans." *J. Food Sci* **43**:556-561, 1977.

- Hanwalt, P.C., Cooper, P.K., Ganesan, A.K.. "DNA repair in bacteria and mammalian cells." *Ann. Rev. Biochem.* **48**:783-836, 1979.
- Hildebrandt, D., Ziegler, K., Wollina, U.. "Electrical impedance and transepidermal water loss of healthy human skin under different conditions." *Skin Research and Technology* **4**:130-134, 1998.
- 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, S.Y.E., Mitra, A.K., White, S.H., Menon, G.K., Ghadially, R., Elias, P.M.. "Membrane Structures in Normal and Essential Fatty Acid-Deficient Stratum Corneum: Characterization by Ruthenium Tetroxide Staining and X-Ray Diffraction." *J. Invest. Dermatol.* **96(2)**:215-223, 1991.
- Hou, Y., Guo, T., Wu, C., He, X., Zhao, M.H.. "Effect of Shikonin on Human Breast Cancer Cells Proliferation and Apoptosis *In Vitro*." *Yakugaku Zasshi* **126**:1383-1386, 2006.
- Hull, M.T., and Warfel, K.A.. "Age-Related Changes in the Cutaneous Basal Lamina: Scanning Electron Microscopic Study." *J. Invest. Dermatol.* **81**:378-380, 1983.
- Imokawa, G., Akasaki, S., Minematsu, Y., and 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.
- Imokawa, G., Akasaki, S., Minematsu, Y., Kawai, M.. "Importance of intercellular lipids in water-retention properties of the stratum corneum: induction and recovery study of surfactant dry skin." *Arch. dermatol. Res.* **281**:45-51, 1989.
- Ishida, T., Sakaguchi, I.. "Protection of Human Keratinocytes from UVB-Induced Inflammation Using Root Extract of *Lithospermum*

- erythrorhizon*. " *Bio. Pharm. Bull.* **30**:928-934, 2007.
- Johanna, T.H.M., van den Akker, Holroyd, J.A., Vernon, D.I., Henricus J.C.M. Sterenborg, Brown, S.B.. "Chronic UVB Exposure Enhances In Vitro Percutaneous Penetration of 5-Aminoluric Acid in Hairless Mouse Skin." *Laser Surg. Med.* **34**:141-145, 2004.
- Kim, J.Y., Kim, H.A., Jeong, D.H., Kim, S.H., Park, S.K., Cho, Y.H.. "Comparative Effect of Gromwell(*Lithospermum erythrorhizon*) Extract and Borage Oil on Reversing Epidermal Hyperproliferation in Guinea Pigs." *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **70**:2086-2095, 2006.
- Kitamura, Y., Teranishi, M.A., Sone, M., Nakashima, T.. "Round window membrane in young and aged C57BL/6 mice." *Hearing Research* **174**:142-148, 2002.
- 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.
- Leyden J.J, Rawlings, A.V.. "Skin Moisturization" *Marcel Dekker*, New York, 2002.
- Loden, M.. "Role of topical emollients and moisturizers in the treatment of dry skin barrier disorder." *Am. J. Clin. Dermatol.* **4**:771-788, 2003.
- Long, S.A., Wertz, P.W., Strauss, J.S., and Downing, D.T.. "Human Stratum Corneum Polar Lipids and Desquamation." *Arch. Dermatol. Res.* **277**:284-287, 1985.
- Lorwy, H., Rosenbrough, N.J., Farr, A.L., and Randall, R.J.. "Protein measurements with the folin phenol reagent." *J. Biol. Chem.* **193**:265-275, 1951.
- Madison, K.C., Swartzendruber, D.C., Wertz, P.W., and Downing, D.T.. "Presence of Intact Intercellular Lipid Lamellae in the Upper Layers of the Stratum Corneum." *J. Invest. Dermatol.* **88**:714-718, 1987.

- Manuskiatti, W., Sivayathorn, A., Leelaudomlipi, P., Fitzpatrick, R.E.. " Treatment of acquired bilateral nevus of Ota-like macules (Hori's nevus) using a combination of scanned carbon dioxide laser followed by Q-switched ruby laser." *J. Am. Acad. Dermatol.* **48**:584-91, 2003.
- Mao-Qiang, M., Elias, P.M., Feingold, K.R.. " Fatty acids Are Required for Epidermal Permeability Barrier Function." *J. Clin. Invest.* **92**:791-798, 1993.
- Melon, G., Ghadially, R.. " Morphology of Lipid Alterations in the Epidermis: A Review." *Microscopy research and technique.* **37**:180-192, 1997.
- Menon, G.K., Feingold, K.R., Elias, P.M.. " Lamellar Body Secretory Response to Barrier Disruption." *J. Invest. Dermatol.* **98**:279-289, 1992.
- Miyachi, Y., Imamura, S., Niwa, Y.. " Decreased skin superoxidase activity by a single exposure of ultraviolet radiation is reduced by liposomal superoxide dismutase pretreatment." *J. Invest. Dermatol.* **89**:111-112, 1987.
- Ohmori, H., Komoriya, K., Azuma, A.. " Xanthine oxidase induced foot edema in rats;involvement of oxygen radicals." *Biochem. Pharmacol.* **27**:1397-1400, 1978.
- Ohnishi, Y., Okino, N., Ito, M., Imayama, S.. " Ceramidase activity in bacterial skin flora as a possible cause of ceramide deficiency in atopic dermatitis." *American Society for Microbiology* **6**:101-104, 1999.
- Olson, R.L., Gaylor, J., Everett, M.A.. " Skin Color, Melanin & Erythema." *Arch. Dermatol.* **108**:541-544, 1973.
- Pathak, M.A., Stratton, K.. " Free radical in human skin before and after exposure to light." *Arch. Biochem. Biophys* **123**:468-476, 1968.
- Picardo, M., Zompetta, C., Luca, C.D.. " Role of skin surface lipids in UV-induced epidermal cell changes." *Arch. Dermatol. Res.* **283**:191-197, 1991.

- Pinnagoda, J., Tupker, R.A., Agner, T., Serup, J.. " Guidelines for transepidermal water loss (TEWL) measurement." *Contact Dermatitis* **22**:164-178, 1990.
- Potts, R.O., Francoeur, M.L.. " The Influence of Stratum Corneum Morphology on Water Permeability." *J. Invest. Dermatol.* **96**:495-499, 1991.
- Potts, R.O., Buras, E.M., Chrisman, D.A.. " Changes with Age in the Moisture Content of Human Skin." *J. Invest. Dermatol.* **82**:97-100, 1984.
- Raith, K, Farwanah, H, Wartewig, S, Neubert, R.H.H.. " Progress in the analysis of the Stratum corneum ceramides." *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **106**:561-571, 2004.
- Rawlings, A.V., Scott, I.R., Harding, C.R., Bowser, P.A.. " Stratum Corneum Moisturization at the Molecular Level." *J. Invest. Dermatol.* **103**:731-740, 1994.
- Rhodes, A.R., Albert, L.S., Barnhill, R.L., Weinstock, M.A.. " Sun-Induced Freckles in Children and Young Adults." *Cancer.* **67**:1990-2001, 1991.
- Sedwick, J.B., Bergstresser, P.R., Hurd, E.R.. " Increased superoxidase generation by normal granulocytes incubated in sera from patients with psoriasis." *J. Invest. Dermatol.* **76**:158-163, 1981.
- Singh, F., Gao, D, Lebwohl, M.G., Wei, H.. " Shikonin modulates cell proliferation by inhibiting epidermal growth factor receptor signaling in human epidermoid carcinoma cells." *Cancer Lett.* **200**:115-21, 2003.
- Soter, N.. " Acute Effects of Ultraviolet Radiation on the skin." *Seminars in Dermatology* **9**:11-15, 1990.
- Staniforth, V., Wang, S.Y., Shyur, L.F., Yang, N.S.. " Shikonins, Phytocompounds from *Lithospermum erythrorhizon*, Inhibit the Transcriptional Activation of Human Tumor Necrosis Factor α Promoter in Vivo." *J. Bio. Chem.* **279**:5877-5885, 2004.
- Sugiura, K., Ueda, H., Hirano, K.. " Studies on the superoxide dismutase of the human skin." *Jpn. J. Dermatol.* **95**:1541-1545, 1985.

- Takahashi, H., Komatsu, N., Ibe, M., Ishida-Yamamoto, A., Hashimoto, Y., Lizuka, H.. "Cystatin A suppresses ultraviolet B-induced apoptosis of keratinocytes." *J. Dermatol. Sci.* **46**:179-187, 2007.
- Tsuji, K., Mitsutake, S., Ishikawa, J., Takagi, Y., Akiyama, M., Shimizu, H., Tomiyama, T., Igarashi, Y.. "Dietary glucosylceramide improves skin barrier function in hairless mice." *J. Dermatol. Sci.* **44**:101-107, 2006.
- Van der Valk, P.G.M., Maibach, H.I.. "A functional study of the skin barrier to evaporative water loss by means of repeated cellophane-tape stripping." *Clinical and Experimental Dermatology* **15**:180-182, 1990.
- Van der Valk, P.G.M., Nater, J.P., Bleumink, E.. "Skin Irritancy of Surfactants As Assessed by Water Vapor Loss Measurements." *J. Invest. Dermatol.* **82**:291-293, 1984.
- Wertz, P.W., Swartzendruber, D.C., Kitko, D.J., Madison, K.C., Downing, D.T.. "The Role of the Corneocytes Lipid Envelopes in Cohesion of the Stratum corneum." *J. Invest. Dermatol.* **93**:169-172, 1989.
- Wilgram, G.F., Kidd, R.L., Krawczyk, W.S., Cole, P.L.. "Sunburn Effect on Keratinosomes: A Report with Special Note on Ultraviolet-Induced Dyskeratosis." *Arch. Derm.* **101**:505-519, 1970.
- Wiseman, H.. "Dietary influences on membrane function; important in protection against oxidative damage and disease." *Nutritional Biochemistry* **7**:2-6, 1996.
- Yamamoto, H., Zhao, P., Yazaki, K., Inoue, K.. "Regulation of Lithospermic Acid B and Shikonin production in *Lithospermum Erythrorhizon* Cells Suspension Cultures." *Chem. Pharm. Bull.* **50**:1086-1090, 2002.
- Yardley, H.J.. "Human epidermal lipids." *Pure & Appl. Chem.* **62(7)**:1373-1376, 1990.
- Yoshida, T., Mori, K., Hatano, T., Okumura, T., Uehara, I., Komagoe, K., Fujita, T., Okuda, T.. "Studies on inhibition mechanism of autoxidation by

- tannins and flavonoids V. Radical-scavenging effects of tannins and related polyphenol on DPPH radical." *Chem. Pharm. Bull.* **37**:1919-1921, 1989.
- Yoshimura, K., Harii, K., Masuda, Y., Takahashi, M., Aoyama, T., Iga, T.. "Usefulness of a narrow-band reflectance spectrophotometer in evaluating effects of depigmenting treatment." *Aesthetic. Plast. Surg.* **25**:129-33, 2001.
- Zhai, H., Maibach, H.I.. "Occlusion vs. skin barrier function." *Skin Research and Technology* **8**:1-6, 2002.
- 강호정, 함정희. "수종 피부질환에서 피부 각질층의 보습기능에 관한 연구." *대한피부과학회지* **31**:890-895, 1993.
- 국연근, 원영종, 김영균, 전실한. "Hairless mouse 피부조직에 자외선 조사에 의한 형태학적 및 생화학적 변화에 관한 연구." *대한피부과학회지* **31**:182-190, 1993.
- 권미화. "자초가 항알러지 염증반응에 미치는 영향." *대한한의학회지* **26**:110-123, 2005.
- 김명녀. "자초의 성분에 관한 연구." *선문대학교 자연과학논총* **4**:25-39, 2001.
- 김성호, 김세라, 이해준, 이진희, 김유진, 김종춘, 장종식, 조성기. "자외선 B 조사 hairless 마우스에서 일광화상세포 발생 억제에 대한 녹차의 효과." *대한수의학회지* **45**:1-6, 2005.
- 김수민, 조영석, 성삼경. "식물체(솔잎, 자초)의 에탄올 추출물이 유타액의 지방산화에 미치는 영향." *한국식품영양과학회지* **28**:984-989, 1999.
- 김시혜, 정혁상, 조백건, 이진용, 김덕곤. "자초가 아토피 피부염에 미치는 영향." *대한한방소아과학회지* **18**:63-75, 2004.
- 김영근, 박윤기, 김홍직. "자외선 B의 조사가 C57BL마우스 표피의 멜라닌세포에 미치는 영향." *대한피부과학회지* **26**:139-144, 1988.
- 김유찬, 윤제일. "자외선을 조사한 C57BL Mice에서 자외선 조사부 및 차단부 표피 내 멜라닌 세포의 변화에 관한 연구." *대한피부과학회지* **26**:283-291, 1988.

- 김윤희, 박영숙. “황금열수추출물이 DNCB로 유도된 알레르기성 접촉피부염 흰쥐의 항산화능 및 표피회복능에 미치는 영향.” *한국식품영양과학회지*. **35**:543-548, 2006.
- 김종일, 김홍직, 현경준. “보습제의 기제에 따른 피부 보습효과에 관한 연구.” *대한피부과학회지* **29**:8-17, 1991.
- 김지영, 이정아, 김길남, 윤원중, 이옥재, 박수영. “경단구슬모자반 (Sargassum muticum) 추출물의 항산화 및 항균활성.” *한국식품영양과학회지* **36**:663-669, 2007.
- 김진숙, 김태영, 김상범. “지치 추출물 첨가에 의한 강정의 저장성 연장 효과.” *한국식품영양과학회지* **35**:791-800, 2006.
- 김진숙, 한영실, 강명희. “야생 및 재배 지치뿌리의 Shikonin 화합물 확인.” *한국식품영양과학회지* **35**:177-181, 2006.
- 김현, 안병준. “Acetylshikonine 및 합성 Naphthalzarine 유도체의 L1210 및 S-180 암에 대한 항암효과.” *약학회지* **34**:262-266, 1990.
- 류복미, 류승희, 전영수, 이유순, 문갑순. “김치종류별 용매 획분의 자외선 B 조사에 의해 유도된 피부산화 및 홍반 생성 억제 효과.” *한국식품영양과학회지*. **35**:785-790, 2004.
- 민동훈, 김대근, 임종필, 양재현. “화상 및 창상에 대한 자근 . 치자 복합제제의 영피 흡수 및 치료효과.” *약제학회지* **35**:255-263, 2005.
- 민복기, 김도원, 전재복, 정상립. “피부 표면 온도의 변화와 diffusion chamber내의 온도 변화에 따른 경표피수분손실 및 피부 장벽 회복률의 변동.” *대한피부과학회지* **34**:875-885, 1996.
- 박상건, 이근수, 박윤기. “백반증에서 narrow-band UVB 광선 요법의 치료효과” *대한피부과학회지* **42**:1121-1129, 2004.
- 박석범, 김병국, 은희철, 윤재일. “한국 청년층에서 reflectance spectrophotometer에 의한 UVB 조사 광량에 따른 홍반지수 및 색소지수.” *대한피부과학회지* **35**:729-735, 1997.

- 박성주, 김종민, 이철현, 이종주. “비후성 반흔/켈러이드에서 경표피수분손실의 측정
을 통한 피부장벽 기능의 연구.” *대한피부과학회지*. **38**:176-182, 2000.
- 박열, 부희옥, 박영란, 조동하, 이현화. “여주 추출물의 항산화 활성.” *K. J. Medicinal Crop Sci.* **15**:56-61, 2007.
- 박옥연, 장동석, 조학래. “자초 (*Lithospermum erythrorhizon*) 추출물의 항균특성.”
한국영양식량학회지 **21**:97-100, 1992.
- 박윤미, 김선재, 조광호, 양은정, 정순택. “생약재의 항충치 및 항산화효과 탐색.” *한
국식품영양과학회지* **35**:284-293, 2006.
- 박장서. “피부장벽과 보습제.” *The Journal of Skin Barrier Research.* 11-17, 2002.
- 박하나, 최응호, 이광길, 홍승필, 이승현, 안성구. “테스테스토론이 피부장벽에 미
치는 효과.” *대한피부과학회지* **43**:167-176, 2005.
- 배지현. “지치추출물의 식중독성 미생물에 대한 항균효과.” *한국식품과학회지* **36**
:823-827, 2004.
- 소병화. “자외선 차단제의 올바른 선택을 위한 피부 측정장비의 응용.” *대한피부미
용교육학술지* **2**:139-148, 2004.
- 신경일, 박천옥, 이철현. “Tape Stripping 과 Sodium Lauryl sulfate에 의한 피부
장벽기능의 손상 및 회복에 관한 연구.” *대한피부과학회지* **38**:183-190, 2000.
- 신동철, 이용태, 정용, 강나경, 양지연. “자외선(UVB)노출 증가에 대한 피부암 위해
도 예측 모델의 적용.” *한국환경독성학회지* **11**:1-10, 1996.
- 안성구, 이은희, 홍승필, 최응호, 이승현. “장시간 수화가 표피투과장벽에 미치는 영
향.” *대한피부과학회지*. **45**:23-33, 2007.
- 안성구, 최응호, 황상민, 이승현. “Benzalkonium chloride 자극후 desoxymethasone
연고, vaseline 및 hydrobase 도포에 따른 피부장벽의 회복.” *대한피부과학회
지*. **36**:820-826, 1998.
- 원영호, 전선도, 김성진, 이승철, 김영표. “연령에 따른 경표피 수분 손실, 피지량 및
피부표면 pH의 변화에 관한 연구.” *대한피부과학회지* **6**:192-198, 1999.
- 윤광재. “자초뿌리의 성분 및 항균력에 관한 연구.” *경희약대논문집* **16**:155-161,
1988.

- 윤두희, 김형욱, 김태윤, 김정원, 송계용. “자외선 B가 무모생쥐의 피부 장벽대 기능에 미치는 영향- 경피적 수분손실과 피부각질층 지질의 변화.” *대한피부과학회지* **33**:669-678, 1995.
- 윤상용, 황인아, 유종엽, 박경찬. “녹차추출물을 함유한 보습제의 항염증 효과 평가.” *대한피부과학회지* **41**:15-20, 2003.
- 윤수홍, 박은주, 오관현, 정명건, 권오진. “Benzo(a)pyrene에 의해 유도된 간기능장애에 미치는 자근 추출액의 영향.” *한국영양식량학회지* **22**:144-148, 1993.
- 윤재일, 김방순, 김태홍 등. “자외선에 의한 일광화상세포 형성에 미치는 세포분열 변화의 영향.” *대한피부과학회지* **28**:269-272, 1990.
- 윤재일, 김방순, 문상은. “Tape stripping을 이용한 세포증식이 자외선 B에 의한 일광화상세포 형성에 미치는 영향.” *대한피부과학회지* **30**:162-167, 1992.
- 윤재일. “자외선에 의한 피부반응” *방사방어학회지* **20**:181-186, 1995.
- 이민선, 김현위, 방선권, 강명화. “Sesamol 급여 흰쥐의 대사물질 측정 및 항산화 효과.” *한국식품영양과학회지* **34**:21-26, 2005.
- 이성낙. “각질층에 대한 형태학적 연구.” *대한피부과학회지* **26**:489-495, 1988.
- 이승현, 황상민, 최응호, 안성구. “피부장벽.” *대한피부과학회지* **37**:825-837, 1999.
- 이정희, 박경애, 이희주, 박명숙, 전상은, 박경찬, 최스미. “UVB 1회 조사 후 시간에 빠른 BALB/c 마우스의 피부 항산화효소 활성화도 변화.” *대한기초간호자연과학회지* **3**:53-61, 2001.
- 이진욱, 박하나, 안성구, 최응호, 이승현. “장기간 및 고용량의 전신 스테로이드 투여가 hairless mice의 피부장벽에 미치는 영향.” *대한피부과학회지* **42**:281-289, 2004.
- 이해준, 김세라, 김중선, 문창종, 김종훈, 배춘식, 장종식, 조성기, 김성호. “자외선 B 조사 마우스에서 피부손상에 대한 홍삼의 효과.” *J.Ginseng Res.* **30**:194-198, 2006.
- 이향주, 이영호, 김홍선, 김원식. “생쥐 피부의 창상치유에 관한 형태학적 관찰.” *충남의대잡지* **16**:29-37, 1989

- 이황희, 배석, 진종언. “지치 (*Lithospermum erythrorhizon*) 추출물의 멜라닌 생합성 억제효과.” *한국식품영양과학회지* **34**:1325-1329, 2005.
- 임상희, 김상민, 송영찬, 임선미, 이양원, 최용범., “자외선에 의해 유발된 일광손상에 의한 피부장벽기능의 변화에 관한 연구” *대한피부과학회지* **58**:182-183, 2006.
- 임연일, 김중예, 김봉희. “UVB조사에 의한 Phenothiazine의 광독성에 미치는 Ascorbic A 100mg/ml 영향.” *충남대 약학논집* **13**:232-237, 1998.
- 임종현, 최용범, 윤재일. “한국인 건선 환자에서 narrow band UVB 에 의한 최소 홍반량.” *대한피부과학회지* **39**:883-886, 2001.
- 정도상, 진현우, 장호선, 김문범, 조주현, 오창근, 권경술. “Acitretin 경구 요법과 Narrow Band UVB 병용 치료로 호전을 보인 초기 균상 식육종 2예.” *대한피부과학회지* **43**:650-654, 2005.
- 정세규, 김산, 이은희, 최응호, 안성구, 이승현. “화학적 박피가 피부장벽에 미치는 영향에 대한 비교연구.” *대한피부과학회지* **40**:1181-1187, 2002.
- 정진호, 윤재일, 이유신. “Superoxidase dismutase가 자외선 조사에 의한 생쥐 피부에서의 일광화상세포 형성에 미치는 영향.” *대한피부과학회지* **26**:636- 644, 1988.
- 조광열, 윤재일, 이유신. “자외선 조사에 의한 생쥐 피부에서의 일광화상세포의 정량적 변화에 관한 연구.” *대한피부과학회지* **24**:8-15, 1986.
- 조광현, 이미경, 조성진, 김규한, 박경찬, 은희철, 정진호. “광노화에 따른 피부의 조직학적 변화.” *대한피부과학회지* **41**:754-760, 2003.
- 조한경, 김현정, 최선영, 이상은, 정세규, 최응호, 안성구, 이승현. “해양심층수가 피부장벽에 미치는 영향.” *대한피부연구학회지* **13**:59-65, 2006.
- 최응호, 안성구, 이승현. “Oleic Acid 도포에 의한 Hairless mouse 피부투과장벽 및 표피의 변화.” *대한피부과학회지*. **35**:702-711, 1997.
- 최태진, 윤두희, 김형옥, 김정원. “무모생쥐에서 용매의 극성에 따른 피부장벽대의 변화.” *대한피부과학회지*. **35**:660-666, 1997.

- 한경원, 한혜기, 명기범, 국홍일., “자외선 및 광화학 처치에 의한 흑색 마우스의 표피 변화.” *대한피부과학회지* **24**:586-593, 1986.
- 함정희. “건선환자에서 피부각질층의 형태학적 변화에 관한 연구.” *Kor. Res. Inst. Better Living* **50**:165-172, 1992.
- 현경준. 김홍직, 김종일. “보습제의 기제에 따른 피부 보습효과에 관한 연구” *대한 피부과학회지* **29**:8-17, 1991.
- 황석연. 황방연, 강삼식, 김창민, 박정일, 배기환, 손건호. “자근으로부터 acetylshikonin의 분리 및 함량분석.” *생약학회지* **31**:295-299, 2000.
- 황호준. “자초의 주치와 효능에 대한 문헌적 고찰.” *상지논총* **1**:272-280, 1995.
- 강재훈. “자초의 피부염을 포함한 염증에 미치는 항염작용 및 TNF - alpha, iNOS 생성 억제효과에 관한 연구.” 박사학위논문, *경희대학교*, 2005.
- 권민수, “천연세라마이드와 유사세라마이드의 피부 보습효과와 장벽기능에 관한 비교 연구.” 석사학위논문, *건국대학교*, 2005.
- 김수용. “자초가 비만세포의 알레르기 염증 반응에 미치는 영향.” 석사학위논문, *경희대학교*, 2006.
- 김안나. “지치(Lithospermum erythrorhizon)추출물이 L1210 cell에 미치는 항암효과와 Catalase, SOD 및 GPx와의 관계.” 석사학위논문, *상명대학교*, 1999.
- 김영석. “표피 성장 인자가 마우스의 전층 피부 결손의 창상 치유시 반흔 형성에 미치는 영향.” 석사학위논문, *연세대학교*, 2006.
- 김정민. “자초추출물의 식이공급이 아토피 동물 모델 NC/Nga mice의 세라마이드 함량 및 천연보습인자의 함량에 미치는 영향.” 박사학위논문, *경희대학교*, 2006.
- 김정인. “각종 항산화제가 자외선 조사에 의한 일광 화상세포 형성에 미치는 영향.” 석사학위논문, *전남대학교*, 1996.
- 민대기. “급성 피부장벽과피 동물모델에 대한 스트론튬의 피부보습효과.” 박사학위논문, *경희대학교 한의학과*, 2007.
- 민영기. “자초의 효능에 관한 실험적 연구.” 석사학위논문 *경희대학교 대학원*. 1993.

- 박정민. “황정 추출물이 랫트의 피부조직에 미치는 항산화 효과.” 석사학위논문, 부경대학교, 2007.
- 박혜진. “자외선B를 조사한 흑색 마우스의 표피 멜라닌세포에 미치는 인삼 Alkaloid의 영향.” 석사학위논문, 이화여자대학교, 1998.
- 방형돈. “알레르기성 접촉피부염에서 노화에 따른 피부 항산화효소 활성화도 변화.” 석사학위논문, 서울대학교, 2002.
- 배주한. “UVA-1, Broad band UVA, Narrow band UVB에 의해 유도된 홍반과 색소침착의 경과 비교.” 박사학위논문, 광신대학교, 2002.
- 손세호. “흰쥐의 나이에 따른 피부조직의 산화상태와 항산화효소 활성의 변화.” 박사학위논문, 전남대학교, 1993.
- 신지순. “랫드 피부에서 아로마처치가 항산화 및 면역관련 유전자 발현에 미치는 영향.” 석사학위논문, 충북대학교, 2002.
- 안영미. “한국산 지치과의 화분분류학적 연구.” 석사학위논문, 성균관대학교, 1985.
- 이승자. “자외선으로 손상된 피부의 라벤더오일 유효성 연구.” 박사학위논문, 계명대학교, 2005.
- 이승한. “배양된 멜라닌 세포에서 UVB 일회 조사후 형태 및 증식의 변화에 관한 연구.” 석사학위논문, 경희대학교, 1992.
- 이용근. “황귀가 백서의 피부 창상조직 재생에 미치는 영향.” 박사학위논문, 동국대학교, 2005.
- 이진희. “마우스에서 녹차 추출물의 자외선 피부손상 경감효과에 관한 형태학적 연구.” 석사학위논문, 전남대학교, 2006.
- 전상은. “Catechin 식이섭취가 자외선 B조사후 BALB/c 마우스의 피부 항산화효소계와 피부조직에 미치는 영향.” 석사학위논문, 서울대학교, 2003.
- 전재홍. “紫雲膏가 자외선에 의한 피부손상 및 光老化에 미치는 영향.” 박사학위논문, 동국대학교, 2007.
- 정수현. “달맞이꽃 기름과 지치유의 표피이상 증식 치료 효과 비교.” 석사학위논문, 경희대학교, 2002.

- 조양훈. “UVB조사 후 각질형성세포와 멜라닌세포의 생존률의 변화.” 경희대학교, 석사학위논문, 1996.
- 최유원. “인체 표피의 자외선 투과율에 관한 연구.” 석사학위논문, 이화여자대학교, 1997.
- 한혜기. “자외선 및 광화학적 처치에 의한 흑색 마우스 표피변화에 대한 형태학적 연구.” 박사학위논문, 이화여자대학교, 1985.
- 강호석, 고정식, 김무강, 김용길, 김재봉, 김진정, *et al.*. “조직학” pp.322, 1993.
- 김영곤. “Antioxidants.” 여문각, 2004.
- 대한피부과학회. “피부과학” 여문각, 1994.
- 보건복지부. “자초를 이용한 피부보습 증진 및 아토피 피부 질환개선용 건강기능 식품 개발” 보건복지부, 2006.
- 윤재일. “광의학.” 여문각, 1994.
- 이승헌, 안성구, 정세규. “피부장벽” 여문각, 2004.
- 이종남. “우리가 정말 알아야 할 천연염색.” 현암사, 2005.
- 최경임. “화장품학” 광문각, 2006.
- 최진규. “약이 되는 우리풀 · 꽃 · 나무 1.” 한문화, 2006.
- 함용운. “광선치료학.” 현문사, 1992.