

# 광노화와 탄력소의 변화

이 규 석

(계명대학교 의과대학 피부과)

## 요 약

최근 오존층의 파괴로 인한 지구 자외선량의 증가로 피부암 및 광노화의 발생가능성이 증가되고 있다. 광노화의 주요한 현상중의 하나는 탄력섬유상 물질이 축적되는 일광탄력 섬유증이다. 자외선은 탄력소 유전자의 전사과정증가를 유도하며 결국 비정상적인 탄력소의 증가를 유발한다는 보고가 있다.

본 연구에서는 피부 섬유아세포 및 각질형성세포를 배양하여 자외선이 탄력소 유전자발현에 미치는 영향 및 전사조절인자에 미치는 영향을 알아보려고 하였다.

피부섬유아세포에 UVB를 30mJ-200J/m 조사하여 northern blotting한 결과 UV양이 증가함에 따라 탄력소 전사물이 증가되었고, 100J/m<sup>2</sup> 에서 최대의 증가를 보였다.

탄력소 promoter와 CAT을 접합시킨 pEP62 vector를 섬유아세포에 형질전환 시키고 UV에 의한 promoter 활성을 본 결과 UV조사량이 증가할수록 활성이 증가되었고 200J/m<sup>2</sup> 에서 대조군에 비해 5배의 활성 증가를 보였다. 이 system에 광노화 억제물질로 알려진 retinoid를 5 x 10<sup>-6</sup> M 처리하였을 때 UV에 의한 탄력소 promoter활성을 약 1/3로 감소시켰다.

각질 형성세포에서 UVB에 의한 transcription factor의 활성을 mobility shift assay에 의해 조사한 결과 AP-1 및 NFkB가 활성화됨을 볼 수 있었다.

## 1. 서론

피부의 노화에는 생리적인 노화외에 광노화가 중요한 역할을 한다. 과거에는 생리적인 노화가 더욱 촉진되어 나타난 것으로 생각하여 조숙성 노화등으로 표시하였으나 이제는 광생물 및 광의

학의 다양한 연구 결과 생리적인 노화와 질적으로 완전히 다른 현상임이 확인되었다. 이러한 광노화를 유발하는 광선은 주로 UVA와 UVB인데, 최근, CFC를 위시한 여러가지 오존층을 파괴하는 물질의 증가로 지구상의 오존층의 점차 감소되고 있으며 이러한 현상은 지표에 도달하는 자외선량을 증가시켜 피부암의 발생과 광노화를 촉진시키고, 또한 인간의 수명이 길어지고 있고 우리나라도 최근의 경제적 성장은 많은 사람들에게 여가활동의 기회를 제공하여 스포츠나 레저 등의 야외활동의 인구가 증가일로에 있는데 이러한 활동등이 모두 햇빛의 과다 노출을 동반하므로 광노화에 대한 관심이 높아지고 있는 실정이다. 일반적으로 과도한 광노출의 광노화와의 위해를 간과하기가 쉬운데 이는 광노출과 광노화와의 시간 간격이 너무나 길 뿐만 아니라 그 인과관계가 확연히 눈에 보이지 않기 때문이다. 장기간에 걸친 광노출로 광노화가 발생하게 되면 임상적으로 피부가 두꺼워지고 주름살이 형성되며 비정상적인 색소침착이 나타나고, 조직학적으로는 상부 진피내 특징적으로 탄력섬유양 물질이 축적되는 일광탄력섬유증소견이 뚜렷이 관찰된다. 이러한 기전은 아직 확실히 밝혀지지 않았으나 최근 자외선이 이부위의 탄력소 유전자의 전사과정에 영향을 미쳐 비정상적인 탄력소를 합성한다는 것이 보고 되어지고 있다.

자외선과 탄력소변화와의 관계에 대하여 알아보기 위하여 피부섬유아세포를 배양하여 다양한 양의 자외선을 조사한 후 세포내에 증가된 탄력소를 면역형광 조직화학염색으로 확인하고, 탄력소 유전자의 전사과정의 변화에 대해서도 Northern blot분석과 탄력소의 promotor부위 유전자를 transfection하여 CAT assay를 실시해 확인하였다. 최근 광노화에 치료제로 시도되는 레티노이드를 배양한 세포에 투여하여 자외선에 의해 증가된 탄력소의 변화에 대해서도 조사하였다. 그리고 자외선이 배양된 피부 각질형성세포에서 면역기능을 담당하는 유전자의 전사과정에 관여하는 여러가지 인자들의 활성도에 어떤 영향을 미치는지도 조사하였다.

## 2. 방법

### 1. 피부 각질형성세포 및 섬유아세포배양

### 2. UVB 조사

; FS 20 bulbs (Westinghouse Electric Co.)

; 100J/m<sup>2</sup> -- 300J/m<sup>2</sup>

### 3. 레티노이드 처치

; All-trans retinoic acid (Sigma Co.) 5 x 10<sup>-7</sup> M. for 48hr.

#### 4. 탄력소 유전자 발현량 측정

; 배양한 세포에서 RNA 분리 & Northern blot 분석  
 $^{32}\text{P}$  labelled elastin cDNA로 hybridization.

#### 5. 탄력소 유전자 promotor의 활성화 측정

; Transfection : 5.2kb elastin promotor(pEP 62)  
CAT 분석 :  $^{14}\text{C}$ -Chloramphenicol 사용

#### 6. 세포내 탄력소 변화의 측정

; Recombinant Human elastin antibody(Genzyme)  
면역 형광조직화학염색

#### 7. NF-kappa B, AP-1 등의 transcriptional factor활성도 측정

; 자외선 조사 후 핵단백질 분리 및 Gel mobility shift assay

### 3. 결과

1. 탄력소 mRNA의 Northern blot analysis 결과,  $30\text{J/m}^2$  - $200\text{J/m}^2$ 의 증가된 dose로 UVB를 조사한 결과 UV 양이 증가할수록 탄력소의 발현양이 증가하는 pattern을 보였으며 정량한 결과  $100\text{J/m}^2$  에서 최대치를 나타내었다.
2. UVB가 elastin gene promotor activity에 미치는 영향을 알아 보기 위하여 시행한 CAT assay 결과, 역시 UV 양이 증가할 수록 탄력소 promotor유전자의 활성이 증가하였고  $200\text{J/m}^2$  에서 12.5%로 대조군에 비하여 약5배 증가하였다.
3. Retinoid가 탄력소 유전자발현에 미치는 영향을 조사한 결과 retinoid와 UVB를 동시에 처리한 경우, UVB 조사군에 비하여 발현양의 감소를 보였다.
4. Retinoid가 elastin gene promotor activity에 미치는 영향을 알아 보기 위해 CAT assay시행 결과, UVB조사군에서 activity가 10.1%로 대조군의 4.2%에 비해 2.4배 증가 하였고 retinoid와 동시에 처리한 군에서는 3.4%로 감소한 소견을 보였다.

5. 배양한 각질형성세포에서 UVB를 처리한 후 추출한 핵 단백질로 gel mobility shift assay를 시행한 결과, AP-1과 NFkB 등의 transcriptional factor 등이 활성화됨을 확인하였다.

## 4. 결론

1. 자외선 조사후 탄력소 유전자의 promotor 부위가 활성화되었고 이에 따라 이 유전자의 발현이 증가 되었으며 배양한 세포내에서 탄력소의 합성이 증가됨을 확인하였다.
2. Retinoid투여 후 자외선에 의한 탄력소 유전자의 전사와 promotor activity가 억제되었으며 세포내의 탄력소의 양도 감소하였다.
3. 배양한 피부 각질 형성세포에서 자외선 조사에 의한 transcriptional factor, AP-1, NF-kappa B, 등의 활성도가 증가하였다.
4. Curcumin은 일반적으로 잘 알려져 있는 카레의 독특한 맛과 색깔을 내는 물질로 인도산 심황, turmeric, 이란 식물의 주요구성성분이다. 보고에 의하면 benzopyrene, phorbol ester, dimethyl benzenoan anthracene 등에 의해 야기되는 carcinogenic property를 감소시키는데, 일련의 과정중에 TNF-a 등에 의해 증가된 NF-kB의 활성정도를 억제시킴으로 항암효과에 나타낸다고 합니다. UVB에 의한 NF-kB의 활성정도와의 관계에 대해서도 curcumin이 영향을 미치는지도 현재 본 교실에서도 연구 중에 있습니다.

## 참고문헌

1. Eric F. Bernstein, Douglas B. Brown, Donald Forbes, et al. Ultraviolet radiation activate the human elastin promotor in transgenic mice. The J of Invest Dermatol; 105, No2: 269-273 (1995)

2. Simon Chen, Ilona Kiss, Kenneth M. Tramposch. Effect of all-trans retinoic acid on UVB-irradiated and non-irradiated hairless mouse skin. *The J of Invest Dermatol*; No2: 248-2254(1992)
3. Montagna W, Kirchner S, Carlisle K. Histology of sun-damaged skin. *J Am Acad Dermatol*; 21: 907-918(1989)
4. Taylor CR, Stern RS, LeydenJJ, et al. Photoaging/photodamage and photoprotection. *J Am Acad Dermatol*; 25: 751-670(1989)
5. Frances C, Robert L: Elastin and elastic fibers in normal and pathological skin. *Int J Dermatol*; 23: 166-179(1984)