한국환경보건학회지, 제34권 제1호(2008)
J. Env. Hlth. Sci., Vol. 34, No. 1, pp 49~54(2008)

ICR mouse의 피부와 간에서 자외선 B파에 의한 Heme Oxygenase-1의 유도

최욱희*,** · 김태환*** · 안령미*†
*동덕여자대학교 보건관리학과, **국립환경과학원 환경건강연구부 환경역학과,
***경북대학교 수의학과
(2007. 10. 24. 접수/2008. 1. 21. 채택)

Heme Oxygenase-1 (HO-1) Induction by UVB (290-320 nm) Radiation in ICR Mice

Wook-Hee Choi*, · Tae-Hwan Kim*** · Ryoung-Me Ahn*†**
**Department of Health Science, Dongduk Women's University, Seoul 136-714, Korea*
***Environmental Epidemiology Division, Environmental Health Research Department, National Institute of Environmental Research, Incheon 404-708, Korea*
****College of Veterinary Medicine, Kyungbook National University, Daegu 702-701, Korea*
(Received October 24, 2007/Accepted January 21, 2008)

ABSTRACT

The induction of heme oxygenase-1(HO-1) by UV radiation provides a protective defence against oxidative stress, and has been well demonstrated in skin irradiated with UVA, but not UVB. In this study, we show that the induction of cutaneous HO-1 can be attributed to UVB radiation. The expression of HO-1 mRNA was assessed in vivo by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) analysis, and HO-1 enzyme activity was measured in microsomal preparation from irradiated mice. The mRNA level of HO-1 increases in liver and skin from 1d to 3d after UVB (3 KJ/m^2) exposure. The results of gene expression were same pattern of HO-1 enzyme activity in skin, but not in liver. HO-1 mRNA in liver resulted in a progressive increase to 4d after UVB exposure, but HO-1 activity in liver increased to 2d.This finding indicates that UVB radiation is an important inducer of HO-1 and increases in HO activity may protect tissue directly or indirectly from oxidative stress.

Keywords: UVB radiation, Heme Oxygenase-1, mouse skin & liver

I. 서 론

Heme Oxygenase(HO)는 여러 조직세포에 존재하는 microsomal 효소로, hemoglobin을 비롯한 heme을 biliverdin/bilirubin, 일산화탄소(CO) 및 free iron(Fe_2^+)으로 유리시킨다.[1] HO는 HO-1, HO-2와 HO-3의 세 가지 isozyme이 존재하는데, HO-2와 HO-3은 구성형 효소로 HO-2는 자극에 상관없이 발현되는 반면, HO-1은 각종 스트레스원인 중금속, 자외선, heat shock, 저산소증(hypoxia)활성산소, NO 등에 의해 발현되는 효소로, HO-1의 활성은 산화적 스트레스로부터 조직세포를 보호하는 작용을 하는 것으로 알려져 있다.[2-5]

HO-1에 의해 분해된 biliverdin/bilirubin은 항세포사멸 기전을 유도하여 항산화 효과를 나타내며, HO-1의 발현은 세포 내 free radical을 낮추는 ferritin synthesis를 강화한다. CO 역시 cytoprotective 작용을 하여 혈소판 응집을 저해하고 세포의 사멸을 막는다.[6,7]

HO-1은 스트레스 마커 효소로 많은 연구에서 활용되고 있으며, 특히 피부에 광화학 반응을 일으켜 피부염증성 발현을 유발하는 자외선에 방호기전을 가지고 있는 것으로 보고되고 있다.[3] HO-1 효소를 유도해내는 스트레스 인자 중 자외선은 주로 UVA의 파장을 이용한 연구가 대다수이다. UVA(320-400 nm)는 에너지 강도가 UVB의 1/1000 밖에 되지 못하나 지구상에 도달

†Corresponding author : Department of Health Science, Dongduk Women's University
Tel: 82-2-940-4481, Fax: 82-2-940-4193
E-mail : lucia@dongduk.ac.kr

하는 빛의 양은 UVB의 100배 정도 많으며, UVB와 마찬가지로 피부 홍반과 색소 침착을 유발시키며, 장시간 노출되면 피부 노화는 물론 피부암과 백내장 등을 유발할 수 있다.[8] 또한 UVA의 파장은 그 영향력이 주로 표피층에 제한되어 있는 UVB의 파장과는 달리 진피층 깊숙이 침투하여 다양한 활성산소를 매개하는 요소로 작용하고 있다. 진피의 fibroblast에서 광화학적으로 발생된 Singlet molecular oxygen($^1O_2$)은 UVA 파장이 HO-1를 유도해내는 데 있어서 가장 주된 요소로 알려져 있어, UVA를 조사시킨 피부에서의 HO-1가 유도되는 기전에 대한 연구가 많이 이루어지고 있다.[9]

그러나, 태양광선에 대한 피부의 노출은 UVA뿐만 아니라 인체에 독성이 강한 UVB의 위험성 또한 내포하고 있어, UVA에 대한 연구와 동시에 UVB에 대한 연구가 시급하다.

따라서 본 연구에서는 UVB로 인한 HO-1의 유도에 대한 연구가 미흡한 점을 보완하고자 하였으며, UVB 조사에 따른 HO-1의 생체지표로서의 가능성에 대한 기초연구를 수행하였다. 또한, HO-1 효소 작용으로 유리된 bilirubin이 심혈관계 질환 및 중금속에 노출되어 있는 동물모델의 간에서 산화적 스트레스를 방호하는 것으로 증명된 바 있어,[10-12] UVB에 의한 피부손상이 간조직의 HO-1 작용에 어떠한 영향을 미치는지 알아보고자 하였다.

UVB파는 실험동물의 등 부위에 조사하였으며, 조사부위인 등 피부와 비조사부위인 간조직을 적출하여 HO-1 mRNA의 발현정도 및 HO 효소 활성도를 분석하였다.

II. 연구방법

1. 실험동물 사육

실험동물은 (주)샘타코 Bio Korea에서 분양받아 사육한 약 7~8주령된 ICR mouse(female)를 사용하였으며, 사육조건은 온도 231℃, 상대 습도 555%의 항온 항습실에서 사료와 식수를 자유로이 공급하였다.

정상쥐군은 "Normal 군"으로 표기하여 1주일간 정상사육하였으며, 자외선 조사군은 대조군으로 하였다. Normal군과 양성대조군은 자외선 조사 24시간 전에 등 부위를 clipper로 shaving하였으며, 4마리를 한 군으로 하였다.

2. 자외선 조사

Normal군을 제외한 나머지 군은 등 부위만 노출되도록 자체 고안한 cage에 넣은 후, 자체 제작한 조사기에 cage를 넣고 UVB(312 nm)를 조사시켰다.

자외선 조사기에는 총 4개의 UVB lamp(phillips)를 설치하였으며, mouse는 자외선 lamp로부터 20 cm 떨어진 곳에서 조사하였다.[13] UVB 실험 농도는 3 KJ/m^2 이었으며, 자외선 조사는 radiometer(6501-54 VLX-3W, France)를 사용하여 약 5분간 UVB를 조사하였다. 자외선 조사 후 하루 간격으로 4일 후까지의 실험동물을 CO_2 가스로 희생시켜 피부와 간을 적출하였다.

3. *Semi-quantitative reverse transcriptase-polymerase chain reaction* (RT-PCR)

TRIzol을 이용하여 total RNA를 추출한 후에 사용전까지 -80℃에서 보관하였다. PCR에서 사용한 primer는 Bioneer(Korea)에서 구입 합성하였으며, RT-PCR (Bioneer, Korea)은 RT-PCR premix(K-2057)를 사용하였다.[14]

RT reaction은 42℃에서 1시간 반응시켰으며, PCR cycle은 95℃/1 min, 55~60℃/1 min 그리고 72℃/1 min 씩 각각 30~32 cycle을 돌렸다. PCR 결과는 ethidium bromide를 첨가한 1% agarose gel을 통해 전기영동한 후, UV transilluminatior로 PCR product를 확인하였다. 3번 이상 RNA를 추출하여 각 실험마다 triplicate로 실험하였다. primer sequence는 Table 1에 명시하였다.

4. Heme Oxygenase 활성도(HO activity) 측정

Heme Oxygenase는 Lincoln 등[15]의 방법에 의해 37℃에서 생성되는 bilirubin 생성율을 흡광도 470 nm와 540 nm로 측정하였다.

준비된 피부 시료와 간 시료에 9배의 PBS buffer (containing soybean inhibitor)를 가한 뒤, homogenization하여 4℃에서 20분간 10,000×g의 속도로 한번, 20,000×g의 속도로 20분간 다시 원심분리 하여 상층액을 떠냈다. 옮겨진 상층액을 100,000×g에서 1시간 동안 원심분리하여 pellet을 취했다. 이때, pellet은 brief homogenization(glass homogenizer)하여 tissue 무게의

Table 1. Cytokine-specific primer pair sequences used in PCR

CYT[a]	Oligonucleotide sequence 5'-3'[b]	Size[c]
HO-1	F 5'-GTC TAT GCC CCA CTC TAC TTC C-3'	444
	R 5'-CAT CAC CTG CAG CTC CTC AAA C-3'	
GAPDH	F 5'-GTC ATT GAG AGC AAT GCC AG-3'	215
	R 5'-GTG TTC CTA CCC CCA ATG TG-3'	

[a].cytokine.
[b].F, foward sequence. R, reverse sequence.
[c].predicted size of PCR product (base pair).

2배에 해당하는 cold PBS buffer를 넣어 재 부유시키고, microsomal homogenate는 즉시 -80°C 냉동고에 보관하였다.

HO 활성도 측정을 하기 위해 1 m*l* incubation mixture를 sample 당 2개씩 준비하였으며, incubation mixture에는 0.15M PBS, 42 um hemin(ferroprotoporphyrin-IX, sigma), 5 mM desferrioxamine(sigma), 2-3 mg microsomal protein, 1:5 dilution of the cytosolic fraction(100,000×g supernatant) of normal mouse liver 30% homogenate, 100 um NADPH(sigma), 1 mM glucose 6-phosphate(sigma)와 0.2 unis of glucose 6-phosphate dehydrogenase(sigma)를 포함하였다.

준비된 1 m*l* incubation mixture를 37°C에서 30분간 shaking 되는 water bath에서 incubation시키고, control을 1 m*l* incubation mixture를 100°C에서 10분간 끓인 후, 2°C에서 20분간 14,000×g의 속도로 원심분리하였다. 상층액은, 470 nm와 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

단백질 정량은 Lowry 등[16]의 뷰렛법에 따라 측정하였으며, 표준물질은 BSA(Bovine serum albumin)를 사용하였다.

5. 실험 데이터 검정

실험 데이터의 통계처리는 SAS를 사용하여 실시하였으며, 유의수준은 0.05 이하로 하였다.

III. 결과 및 고찰

1. UVB 조사로 인한 피부와 간에서의 HO-1 gene 발현

UVB를 ICR mouse의 등 부위에 3 KJ/m^{2}의 농도로 조사시킨 후, 자외선에 노출된 등 부위와 간을 적출하여 mRNA 발현정도를 측정하였다. Fig. 1과 Fig. 2는 UVB 비조사군과 조사군의 시간별 변화를 보여준다.

피부에서의 HO-1 발현정도를 보면, 시간이 지남에 따라 증가하는 경향을 보여주고 있으며, 간에서의 발현정도 역시 같은 경향을 나타내었다. 이는 자외선 조사가 직접적으로 이루어진 피부에서의 손상이 체내 조직인 간의 손상에까지 영향을 주는 결과로 사료되며, HO-1의 발현 정도는 HO-1의 발현이 주로 비장과 간에 강하게 나타난다는 이전 연구결과[17]에서 보여지듯이 피부의 발현정도와 비교해 보았을 때 상대적으로 간의 발현정도가 큰 것으로 나타났으며, UVB 조사가 피부와 간에서 HO-1 발현을 유도하는 것을 알 수 있었다.

본 연구자의 이전 논문에서 증명된 바 있는 지질과산화 생성 양과 비교해 보았을 때, 지질과산화 생성량이

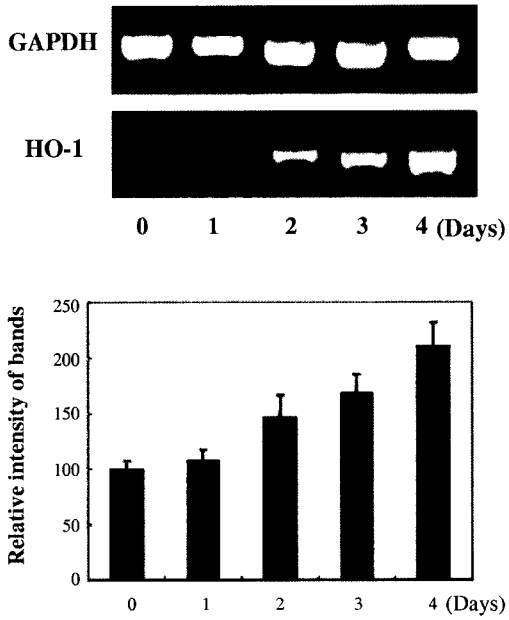

Fig. 1. Alterations of HO-1 mRNA level determined with RT-PCR in mice skin exposed UVB (3 KJ/m^2) according to time course.
In irradiated skin, HO-1 mRNA expression resulted in strong and time-dependent increase.

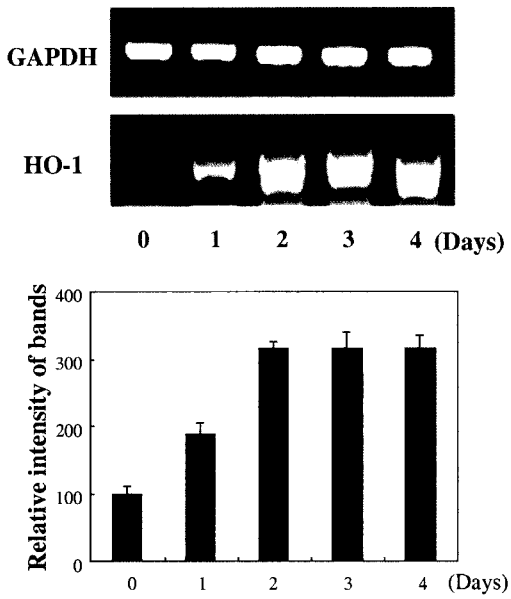

Fig. 2. Alterations of HO-1 mRNA level determined with RT-PCR in mice liver exposed UVB (3 KJ/m^2) according to time course.
A significantly increase in HO-1 expression was first measured at 1d post-irradiation and peaked at 4d.

자외선 조사 24시간 후에 비조사군과 비슷한 수준으로 감소된 반면, HO-1 mRNA의 발현은 24시간 이후부터 증가하는 경향을 보인 것은 자외선 조사로 인한 염증 손상을 보호하려는 HO-1의 항염증 효과가 유도되고 있는 것으로 사료된다. 이는 간에서의 연구결과와도 같아, 지질과산화물이 감소하는 24시간 이후부터 간의 HO-1 mRNA 발현은 증가하였다. 이러한 실험결과는 지질과산화와 HO-1 mRNA의 발현관계를 보인 Basu-Modak 등[17]의 연구결과와도 일치하였다.

UVB 조사로 인한 HO-1의 발현은 매우 미미하거나 3MED의 UVB를 조사한 hairless mouse에서는 발현이 되지 않는 것으로 연구된 바 있다.[1,18] 이는 UVA로 인한 HO-1의 발현이 표피의 각질세포에서 보다 진피의 fibroblast에서 더 강하게 발현되는 연구결과로 볼 때, UVB의 파장이 주로 표피층에 작용하는 점과 UVA 파장에 비해 oxidative component가 작기 때문인 것으로 보고된 바 있다.[6,19,20] 그러나 정확한 원인은 알 수 없으며, HO-1 발현이 미약하지만 표피의 각질세포에서도 발현이 되며, in vivo와 in vitro 및 동물모델과 사람에서의 HO-1 발현에 대한 연구결과[1,21]가 일치하지 않는 점을 볼 때, 추후 이에 대한 체계적인 연구가 이루어져야 하겠다.

2. UVB 조사로 인한 피부와 간에서의 HO 활성도 변화

HO-1 mRNA의 발현에 따른 효소 활성도를 알아보기 위하여 피부와 간에서의 시간별 HO 활성도를 측정하였다. Fig. 3과 Fig. 4는 UVB 비조사군과 조사군의 활성도 변화를 나타낸다. 피부의 HO 활성도는 gene의

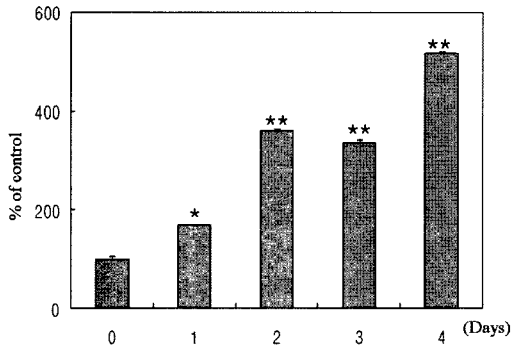

Fig. 3. Time course of HO-1 Activity in UVB(3 KJ/m^2) irradiated skin.
Dorsal skin microsomal HO activity was assayed before and at various time intervals between 1d and 4d post-UVB irradiation. The HO-1 activity increased steadily to a 4-fold increase of control by 4d.
*p<0.05, **p<0.01.

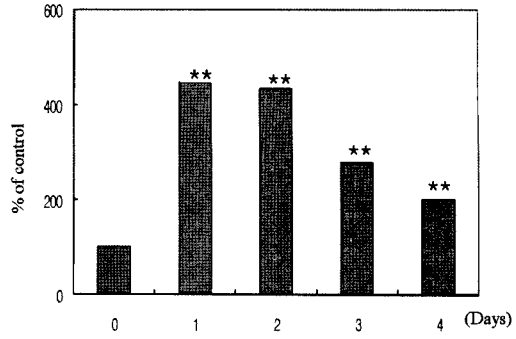

Fig. 4. Time course of HO-1 Activity in UVB(3 KJ/m^2) irradiated mice liver.
Liver microsomal HO activity was assayed before and at various time intervals between 1d and 4d post-UVB irradiation. A significant increase of HO activity in liver was peaked at 1d, and then decreased steadily by 4d.
**P<0.01.

발현정도와 같이 증가하는 결과를 보인 반면, 간의 활성도는 24시간이 지난 이후 감소하는 경향을 나타내었다. 이러한 결과는 UVA를 조사한 후 rat의 간에서의 HO 활성도가 조사 24시간이 지난 후 비조사군의 수준으로 감소하는 Ossola 등[12]의 연구결과와 일치한다. UVB 조사로 유도된 피부에서의 지질과산화 생성은 HO-1 mRNA의 발현 및 활성도를 2-6배 정도까지 증가시켰으나, 간에서는 HO-1 mRNA의 발현은 증가한 반면, 활성도는 24시간이 지난 후부터 감소하는 결과를 나타내었다.

본 연구실에서 이전에 발표[13]한 바 있는 항산화 효소인 SOD, CAT의 발현 및 활성도 변화측정 결과를 살펴보면, UVB 조사부위인 피부에서는 자외선 조사 후 SOD, CAT의 발현 증가가 지질과산화량의 감소를 이끌어낸 반면, 간에서는 SOD, CAT의 발현이 UVB 조사에 유의한 반응을 보이지 않았으며, 간에서의 지질과산화량 역시 조사 24시간 이후 감소하는 경향을 보이긴 했으나, 피부에서의 결과와 달리 조사 3일 후 비조사군의 지질과산화량 수준으로 감소하지는 못했다.

UVB와 같은 산화적 스트레스원이 생체에 손상을 주게 되면 체내 존재하는 항산화 효소가 활성산소로 인한 세포손상을 감소시키기 위해 세포로부터 유리된다.[22,23] 이러한 효소 중 하나가 HO-1로 본 연구결과에서도 보여지듯이 UVB는 HO-1를 유도해내는 스트레스원임을 알 수 있다. UVB파의 직접적 손상부위인 피부에서의 SOD, CAT 및 HO-1의 항산화 효소는 손상작용 중 하나인 지질과산화량을 감소시켰으나, UVB 조사로 간접적 손상을 입은 간은 SOD, CAT의 항산화 작용이 간의 지질과산화량을 조절하지 못했으며,[13] HO

역시 HO-1 mRNA의 발현은 증가하였으나, HO 효소 활성도의 증가는 계속적이지 못해 UVB파로 인한 자극이 간의 항산화 체계에 심각한 손상을 주는 것으로 사료된다.

염증성 피부 질환에 있어서 HO-1 발현은 건선증 환자의 상처 난 피부와 염증관련 세포 및 두꺼워진 표피의 각질세포에서 강한 활성을 보였으며,[3] UVA 조사로 유도된 HO-1 발현이 UVB로 인한 면역억제 반응을 감소시키는 등 HO-1 세포보호 작용은 다양한 질병에 관련되어 연구가 이루어지고 있다.[24,25] 그러나, 암세포의 경우 HO-1는 산화적 스트레스로부터 세포사멸을 억제하여 암세포가 과도하게 성장 촉진되기도 한다. 이러한 이유로 HO-1의 효소를 억제하는 ZnPP나 SnPP 등을 사용하여 항암효과를 보기도 하나, 이러한 물질의 사용으로 인해 HO-1의 활성으로 완화되거나 억제되는 다른 질병이 유발되기도 한다.[26-28]

따라서, HO-1 효소의 세포보호 기능에 대한 다양한 질병의 작용기전 연구가 선행되어야 하겠다.

IV. 결 론

HO-1 효소는 자외선으로 인한 피부염증을 보호하는 효소로 알려져 있다. 그러나 이러한 연구는 UVA에 국한되어 있어 UVB에 대한 HO-1의 생체지표로서의 가능성에 대한 기초연구가 부족한 실정이다. 이에 본 연구에서는 UVB로 인해 HO-1가 유도되는지를 살펴보았다. UVB파는 실험동물의 등 부위에 조사하였으며, 조사부위인 등 피부와 HO-1가 주로 발현되는 간조직을 적출하여 HO-1 mRNA의 발현정도 및 HO 효소 활성도를 측정하였으며, 그 결과는 다음과 같다.

1. 자외선 조사군의 HO-1 mRNA 발현은 피부와 간에서 모두 조사 후 첫날부터 4일째에 이르기까지 증가하였다.

2. 자외선 조사군의 피부에서 HO 효소 활성도는 시간이 경과함에 따라 계속적으로 증가하는 경향을 보였으나, 간에서는 활성도의 증가가 차츰 감소하는 경향을 보였다.

이상 실험결과를 종합해 볼 때, UVB의 조사는 피부 및 간에서의 HO-1 mRNA 발현 및 효소 활성을 유도하며, UVB로 인한 산화적 스트레스에 대한 생체지표로서의 역할을 할 수 있을 것으로 사료된다.

참고문헌

1. Allanson, M. and Reeve, V. E. : Immunoprotective UVA(320-400 nm) irradiation upregulates Heme Oxygenase-1 in the dermis and epidermis of hairless mouse skin. *The Journal of Investigative Dermatology,* **122**, 1030-1036, 2004.
2. Yachie, A. : Heme oxygenase and its role in defense system; paradigm shift of anti-inflammatory therapy. *Japanese Journal of Clinical Immunology,* **30**(1), 11-21, 2007.
3. Hanselmann, C., Mauch, C. and Werner, S. : Haem oxygenase-1: a novel player in cutaneous wound repair and psoriasis? *The Biochemical Journal,* **353**, 459-466, 2001.
4. Kikuchi, G., Yoshida, T. and Noguchi, M. : Heme oxygenase and heme degradation. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **338**(1), 558-567, 2005.
5. Cooper, K. L., Liu, K. J. and Hudson, L. G. : Contributions of reactive oxygen species and mitogen-activated protein kinase signaling in arsenite-stimulated hemeoxygenase-1 production. *Toxicology and Applied Pharmacology*, **218**(2), 119-127, 2007.
6. Tyrrell, R. M. and Reeve, V. E. : Potential protection of skin by acute UVA irradiation-from cellular to animal models. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, **92**(1), 86-91, 2006.
7. Dong, Z., Lavrovsky, Y., Venkatachalam, M. A. and Roy, A. K. : Heme Oxygenase-1 in tissue pathology. *American Journal of Pathology*, **156**(5), 1485-1488, 2000.
8. Lee, M. K., Yi, S. Y., Ann, H. S. and Ahn, R. M. : Lipid Peroxidation and Antioxidase Activities on hairless mouse induced by UVB irradiation and effects of tannic acid. *Korean Journal of Environmental Health*, **22**(4), 102-108, 1996.
9. Obermüller-Jevic, U. C., Schlegel, B., Flaccus, A. and Biesalski, H. K. : The effect of beta-carotene on the expression of interleukin-6 and heme oxygenase-1 in UV-irradiated human skin fibroblasts in vitro. *FEBS Letters*, **509**(2), 186-190, 2001.
10. Llesuy, S. F. and Tomaro, M. L. : Heme oxygenase and oxidative stress. Evidence of involvement of bilirubin as physiological protector against oxidative damage. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1223**(1), 9-14, 1994.
11. Yamaguchi, T., Terakado, M., Horio, F., Aoki, K., Nakajima, M. and Nakajima, H. : Role of bilirubin as an antioxidant in an ischemia-reperfusion of rat liver and induction of heme oxygenase. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **223**(1), 129-135, 1996.
12. Ossola, J. O. and Tomaro, M. L. : Heme oxygenase induction by UVA radiation. A response to oxidative stress in rat liver. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, **30**(2), 285-292, 1998.
13. Choi, W. H., Ahn, R. M., Do, S. H., Jeong, D. H., Ryu, S. Y., Kwak, D. M., Kwon, O. D., Jeong, K. S. and Kim, T. H. : Changes of lipid peroxide and antioxidant enzymes by UVB-induced oxidative stress.

Laboratory Animal Research, **22**(3), 227-232, 2006.
14. Ahn, R. M. : Effects of natural extracts on COX-1 and COX-2 mRNA expression on UVB-induced skin inflammation in C57BL/6 mouse. *Korean Journal of Environmental Health*, **32**(6), 566-570, 2006.
15. Lincoln, B. C., Healey, J. F. and Bonkovsky, H. L. : Regulation of hepatic haem metabolism. Disparate mechanisms of induction of haem oxygenase by drugs and metals. *The Biochemical Journal*, **250**(1), 189-196, 1988.
16. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. : Protein measurement with the Folin phenol reagent. *The Journal of Biological Chemistry*, **193**(1), 265-275, 1951.
17. Basu-Modak, S., Lüscher, P. and Tyrrell, R. M. : Lipid metabolite involvement in the activation of the human heme oxygenase-1 gene. *Free Radical Biology & Medicine*, **20**(7), 887-897, 1996.
18. Reeve, V. E and Tyrrell, R. M. : Heme oxygenase induction mediates the photoimmunoprotective activity of UVA radiation in the mouse. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **96**(16), 9317-9321, 1999.
19. Applegate, L. A., Noël, A., Vile, G., Frenk, E. and Tyrrell, R. M. : Two genes contribute to different extents to the heme oxygenase enzyme activity measured in cultured human skin fibroblasts and keratinocytes: Implications for protection against oxidant stress. *Photochemistry and Photobiology*, **61**(3), 285-291, 1995.
20. Tyrrell, R. M. : Activation of mammalian gene expression by the UV component of sunlight from models to reality. *BioEssays*, **18**(2), 139-148, 1996.
21. Vile, G. F., Basu-Modak, S., Waltner, C. and Tyrrell, R. M. : Heme oxygenase 1 mediates an adaptive response to oxidative stress in human skin fibroblasts. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **91**(7), 2607-2610, 1994.
22. Yasuko, S. and Takashi, H. : Time course of changes in antioxidant enzymes in human skin fibroblasts after UVA irradiation. *Journal of Dermatological Science*, **14**, 225-232, 1997.
23. Choi, W. H., Ann, H. S. and Ahn, R. M. : Prevention of ultraviolet B radiation(280-320 nm) induced contact hypersensitivity by EGb 761. *Korean Journal of Environmental Health*, **31**(1), 7-14, 2005.
24. Allanson, M. and Reeve, V. E. : Ultraviolet A (320-400 nm) modulation of ultraviolet B (290-320 nm)-induced immune suppression is mediated by carbon monoxide. *The Journal of Investigative Dermatology*, **124**(3), 644-650, 2005.
25. Quan, S., Kaminski, P. M., Yang, L., Morita, T., Inaba, M., Ikehara, S., Goodman, A. I., Wolin, M. S. and Abraham, N. G. : Heme oxygenase-1 prevents superoxide anion-associated endothelial cell sloughing in diabetic rats. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **315**(2), 509-516, 2004.
26. Fang, J., Nakamura, H. and Iyer, A. K. : Tumor-targeted induction of oxystress for cancer therapy. *Journal of Drug Targeting*, **15**(7-8), 475-486, 2007.
27. Khelifi, A. F., Prise, V. E. and Tozer, G. M. : Effects of tin-protoporphyrin IX on blood flow in a rat tumor model. *Experimental Biology and Medicine*, **228**(5), 481-485, 2003.
28. Jozkowicz, A., Was, H. and Dulak, J. : Heme Oxygenase-1 in Tumors: Is It a False Friend? *Antioxidants & Redox Signaling*, **9**(12), 1-19, 2007.